

УДК 543.544

**ПРИМЕНЕНИЕ КРЕМНЕЗЕМА С ПРИВИТЫМИ ГРУППАМИ
ОКСИПРОЛИНА ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО
ИОНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НАТРИЯ,
ХЛОРИДА И АНИОНОВ ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ**

А. В. Иванов, П. Н. Нестеренко, А. Б. Тессман

(кафедра аналитической химии)

Предложено использовать сорбент на основе кремнезема с привитыми биполярными группами оксипролина (Hupro-SiO_2) для одновременного ионохроматографического определения ионов сильных электролитов (Na^+ , Cl^-) и анионов дикарбоновых кислот при кондуктометрическом детектировании. Подобные задачи могут возникать при расчете коэффициентов катионного обмена $K(\text{H}^+, \text{Na}^+)$ на сорбированных дикарбоновых кислотах. Достигнуто разделение 4–5 дикарбоновых кислот, хлорида и натрия при использовании в качестве элюента 0,8 мМ фталевой кислоты.

Аминокислоты, привитые к поверхности химически модифицированных кремнезёмов, как амфолиты в зависимости от pH могут обладать катионообменными или анионообменными свойствами (либо и теми, и другими вместе [1–4]). Так, сорбенты на основе кремнезёма с привитыми циклическими аминокислотами – пролином (Pro-SiO₂) и оксипролином (Hupro-SiO₂) успешно применяли для одновременного ионохроматографического определения катионов щелочных и щелочноземельных металлов (Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺) и неорганических анионов (NO₃⁻, Cl⁻, SO₄²⁻) [2, 3, 5]. Продемонстрировано селективное разделение 9–10 неорганических ионов в течение 10 мин на сорбенте Hupro-SiO₂ [1, 2]. Однако селективность таких сорбентов по отношению к органическим анионам – например, анионам дикарбоновых кислот – ранее не изучали. Возможность одновременного определения органических и неорганических анионов и катионов щелочных металлов на биполярных сорбентах до сих пор даже не оценивали. Между тем подобная задача возникает, например, при определении коэффициентов обмена протонов на натрий $K(H^+, Na^+)$ на сорбированных дикарбоновых кислотах в присутствии сильного электролита (NaCl) – параметров, необходимых при компьютерном расчете внутренних градиентов pH в хроматофокусировании [6–8]. В этом случае после сорбции дикарбоновой кислоты на анионообменнике в статических условиях в одной пробе необходимо ионохроматографически определять концентрации натрия, однозарядных анионов дикарбоновых кислот и неорганического аниона (хлорида) [9].

В данной статье рассматривается применимость сорбентов с привитыми группами пролина и оксипролина для селективного разделения анионов дикарбоновых кислот и одновременного определения в присутствии ионов сильного электролита.

Экспериментальная часть

Аппаратура и реагенты. В работе использовали хроматографическую систему, состоящую из насоса высокого давления «Beckman 114M» (США), инжектора «Rheodyne 7125» с петлей объемом 100 мкл, стальной хроматографической колонки для ВЭЖХ (250×4,6 мм), заполненной сорбентом на основе кремнезёма с привитыми группами оксипролина (Hupro-SiO₂) или пролина (Pro-SiO₂), кондуктометрического детектора «Conductolyzer 5300» (LKB-Bromma, Швеция). Сигнал детектора регистрировали на самописце «LKB» (Швеция). Пробы растворов отбирали с помощью микрошприца «Hamilton» (США) объемом 25 мкл.

В качестве элюента использовали растворы бензойной или фталевой кислот переменной концентрации (0,8–5 мМ). Для регулирования pH в элюент добавляли рассчитанное по программе «Acid-Base Calculator» [10] количество 1M раствора LiOH («Рехим», Россия). Скорость подачи элюента во всех случаях составила 1 мл/мин.

Кислотность растворов контролировали с помощью универсального pH-метра «pH-340» (ЗИП, Россия) со стеклянным индикаторным электродом и хлорид-серебряным электродом сравнения.

Растворы щавелевой, малоновой, янтарной, фталевой и малеиновой кислот готовили растворением точных навесок препаратов в бидистилляте. Все реагенты имели

квалификацию «ч.д.а.» Раствор хлорида натрия готовили из фиксаля (VEB-Feinchemie, Германия).

Методика эксперимента. Хроматографическую колонку, заполненную сорбентом Hupro-SiO₂ или Pro-SiO₂, уравнивали элюентом в течение 50–60 мин, вводили в инжектор с помощью микрошприца раствор индивидуального вещества или модельную смесь и регистрировали хроматограмму по электропроводности эффлюента.

Обсуждение результатов

Выбор условий разделения. Сорбенты с привитыми группами пролина и оксипролина проявляют одновременно и анионо-, и катионообменные свойства в области pH от 3,5–4 до 6, что объясняется переходом привитых аминокислот в структуры, подобные внутренним солям [2, 4, 5]. При увеличении pH элюента до 5–6 удерживание анионов уменьшается, и селективность их разделения снижается, как было показано ранее на примере неорганических анионов; для катионов удерживание, наоборот, возрастает, и селективность разделения улучшается. Поскольку перед нами стояла задача селективного разделения ряда анионов дикарбоновых кислот и только одного катиона – Na⁺, мы выбрали для работы область pH 3,5–3,6 (табл. 1). В качестве элюентов выбрали растворы бензойной (pK₁ = 4,20) и фталевой (pK₁ = 2,95, pK₂ = 5,41) кислот, часто используемых для разделения органических анионов методами ионной хроматографии на анионообменных сорбентах [5, 11–15] и ион-эксклюзионной хроматографии [11, 14, 15]. Растворы этих кислот обладают низкой электропроводностью, что необходимо при одновременном кондуктометрическом детектировании катионов и анионов; кроме того, неорганические и органические анионы можно косвенно детектировать фотометрически в УФ-области спектра благодаря заметному поглощению бензольного кольца в молекулах бензойной и фталевой кислот.

Бензойная кислота как одноосновная более слабый элюент, чем двухосновная фталевая кислота, и, хотя при использовании ее 1 мМ раствора получили селективное разделение хлорида и ряда органических ионов (малоната, сукцината, малеата) на сорбенте Pro-SiO₂, оксалат и фумарат в этих условиях элюировать за приемлемое время не удалось (табл. 1). Повышение концентрации бензойной кислоты до 4–5 мМ приводит к тому, что хлорид и большинство изученных анионов элюируются в диапазоне времени 3–6 мин, причем системный пик мешает определению хлорида и малоната. Поэтому в дальнейшем мы использовали в качестве элюента растворы фталевой кислоты.

При использовании 1 мМ раствора фталевой кислоты (pH 3,5) удерживание Na⁺, Cl⁻ и анионов дикарбоновых кислот на сорбенте Pro-SiO₂ уменьшилось (в течение 12–13 мин удалось элюировать наиболее удерживаемый оксалат), хроматографические пики хлорида, малеата и фумарата в этих условиях заметно перекрываются (табл. 1). Уменьшение концентрации элюента до 0,8 мМ привело к незначительному увеличению времен удерживания, однако селективного разделения хлорида, малеата и фумарата осуществить не удалось (более того, пик оксалата в данных условиях частично перекрывается с системным пиком).

Ранее было показано, что двухзарядные неорганические анионы существенно лучше удерживаются на сорбенте

Нурго-SiO₂, чем на Pro-SiO₂ [5], что, вероятно, связано с присутствием OH-группы в молекуле оксипролина. Резонно предположить, что анионы дикарбоновых кислот будут прочнее удерживаться на Нурго-SiO₂ вследствие образования водородных связей между карбоксильной группой аниона и OH-группой оксипролина. Заметим, что такие взаимодействия возможны даже при pH среды ~3,5, когда одна карбоксильная группа дикарбоновой кислоты протонирована. Вместе с тем можно ожидать более селективного разделения изучаемых ионов на сорбенте Нурго-SiO₂.

При использовании 1 мМ раствора фталевой кислоты катион натрия элюируется практически сразу после инъекционного пика; сукцинат удерживается значительно слабее остальных анионов; наиболее сильно удерживаемые анионы (фумарат и оксалат) элюируются в течение 15–20 мин (табл. 1). Как и на сорбенте Pro-SiO₂ в аналогичных условиях, наблюдали значительное перекрытие пиков хлорида, малеата и малоната. Интересно отметить, что пики малоната и фумарата меняют направление и становятся «отрицательными». Отметим также (рис. 1), что хроматографические пики в системе «Нурго-SiO₂ – 1 мМ фталевая кислота» более симметричные и узкие, чем в системе «Pro-SiO₂ – 1 мМ фталевая кислота»; чувствительность определения в этом случае также выше.

При использовании 0,8 мМ фталевой кислоты времена удерживания анионов дикарбоновых кислот и хлорида различаются наиболее сильно, а удерживание натрия не изменилось, что связано со слабыми катионообменными свойствами привитых молекул оксипролина при pH ниже 4. Оксалат элюируется на 26–27 мин (табл. 1), при этом его пик достаточно размывается. Снижение концентрации фталевой кислоты в элюенте до 0,6 мМ, хотя и приводит к дальнейшему улучшению разделения хлорида, малоната и малеата, вызывает размывание хроматографического пика фумарата, а оксалат в данных условиях не элюируется в

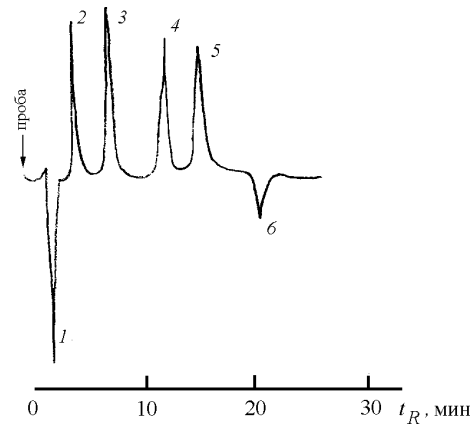


Рис. 1. Разделение модельной смеси. Хроматографические пики: 1 – натрий, 2 – сукцинат, 3 – системный, 4 – хлорид, 5 – малеат, 6 – фумарат. Условия: колонка Нурго-SiO₂, 250×4,6 мм; элюент – 0,8 мМ фталевая кислота, pH 3,5; 1 мл/мин; детектирование – кондуктометрическое. Объем пробы 20 мкл. Концентрации кислот в смеси 1–5 мМ

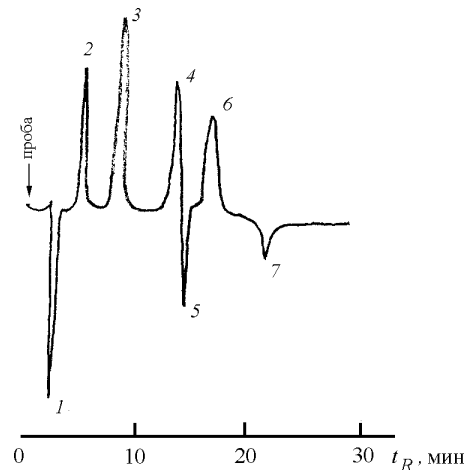


Рис. 2. Разделение модельной смеси. Хроматографические пики: 1 – натрий, 2 – сукцинат, 3 – системный, 4 – хлорид, 5 – малонат, 6 – малеат, 7 – фумарат. Условия см. в подписи к рис. 1. Объем пробы 25 мкл. Концентрации кислот в смеси 2–5 мМ

Т а б л и ц а 1

Времена удерживания натрия, хлорида и анионов дикарбоновых кислот

Ион	Pro-SiO ₂		Нурго-SiO ₂	
	1 мМ бензойная кислота, pH 3,6	1 мМ фталевая кислота, pH 3,5	1 мМ фталевая кислота, pH 3,5	0,8 мМ фталевая кислота, pH 3,5
Натрий	2'50"±0'05"	1'58"±0'05"	1'55"±0'05"	1'55"±0'05"
Хлорид	11'10"±0'10"	8'45"±0'15"	12'20"±0'10"	12'55"±0'10"
Оксалат	не элюируется	11'00"±0'30"	20'30"±0'30"	26'40"±0'30"
Малонат	12'00"±0'10"	6'20"±0'10"	12'30"±0'10"	13'30"±0'10"
Сукцинат	4'50"±0'05"	3'15"±0'05"	4'20"±0'05"	4'40"±0'05"
Фумарат	не элюируется	7'45"±0'20"	15'30"±0'25"	20'20"±0'25"
Малеат	15'50"±0'30"	8'20"±0'15"	13'00"±0'20"	15'40"±0'20"
Инъекционный пик	1'45"±0'02"	1'42"±0'02"	1'42"±0'02"	1'42"±0'02"
Системный пик	6'30"±0'15"	12'00"±0'30"	7'30"±0'20"	8'00"±0'30"

течение 40 мин. Поэтому для построения градуировочных графиков остановились на оптимальной системе «Нурго-SiO₂ – 0,8 мМ фталевая кислота, pH 3,5».

Построение градуировочных графиков. Готовили ряд растворов дикарбоновых кислот и хлорида натрия в диапазоне концентраций 0,001–0,005 М, отбирали микрошприцем пробу (2–25 мкл) и вводили в инжектор хроматографа. Строили зависимость высоты хроматографического пика от содержания компонента (мкмоль) во введенном объеме раствора. Для оксалата строили зависимость площади пика от содержания, поскольку пик оксалата сильно размывает. Уравнения градуировочных графиков и пределы обнаружения натрия, хлорида и анионов дикарбоновых кислот представлены в табл. 2. Почти все графики линейны в диапазоне концентраций 0,01–0,15 мкмоль, для оксалата диапазон линейности ГГ составляет 0,10–0,40 мкмоль. Пределы обнаружения, рассчитанные по 3s-критерию, составляют 0,003–0,005 мкмоль для хлорида, малеата, фумарата и малоната; для натрия и сук-

Таблица 2

Градуировочные графики и пределы обнаружения Na^+ , СГ и анионов дикарбоновых кислот*

Ион	Диапазон линейности ГГ, мкмоль	Уравнение ГГ	Предел обнаружения, мкмоль
Натрий	0,01 0,20	$h = 328,57n + 11,447$	0,002
Хлорид	0,01 0,15	$h = 346,71n + 10,701$	0,005
Оксалат	0,10 0,40	$S = 168,06n - 11,664$	0,050
Малонат	0,01 0,15	$h = 117,65n + 1,8197$	0,005
Сукцинат	0,005 0,120	$h = 434,78n + 4,5754$	0,001
Фумарат	0,01 0,15	$h = 196,61n + 1,079$	0,005
Малеат	0,01 0,15	$h = 308,34n + 4,2295$	0,003

Примечания. ГГ – градуировочный график; h – высота хроматографического пика, мм; S – площадь пика, мм^2 ; n – содержание иона, мкмоль, во введенном объеме пробы.

*Условия: колонка Нупро-SiO₂, 250×4,6 мм; элюент – 0,8ММ фталевая кислота, рН 3,5; 1 мл/мин; кондуктометрическое детектирование).

цината они несколько ниже (0,001–0,002 мкмоль), что связано с высокой чувствительностью в условиях детектирования, симметричностью хроматографических пиков и меньшим удерживанием этих ионов. Предел обнаружения оксалата на порядок выше, чем для остальных анионов, вследствие сильного удерживания и значительного размывания пика.

Разделение модельных смесей. Составляли модельные смеси, содержащие рассчитанное количество дикарбоновых кислот и хлорида натрия, отбирали микрошприцем пробу (20–25 мкл) и вводили в инжектор и хроматографировали в оптимальных условиях (колонка – Нупро-SiO₂, 250×4,6 мм, элюент – 0,8 мМ фталевая кислота, рН 3,5, 1 мл/мин). Ионы идентифицировали по временам удерживания и по форме пиков, по градуировочным графикам рассчитывали содержание компонентов в модельной смеси. Во всех случаях относительное стандартное отклонение составило 0,10–0,12, для оксалата – 0,15–0,20.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Nesterenko P.N. // J. High. Resolut. Chromatogr. 1991. **14**. P. 768.
- Нестеренко П.Н., Шпигун О.А., Золотов Ю.А. // ДАН. 1992. **324**. С. 107.
- Nesterenko P.N. // J. Chromatogr. 1992. **605**. P. 199.
- Нестеренко П.Н., Копылов Р.В., Тарасенко Д.А. и др. // ДАН. 1992. **326**. С. 838.
- Тарасенко Д.А. Ионнообменные свойства силикагелей с привитыми циклическими аминокислотами. Дис. ... канд. хим. наук. М., 1996.
- Гармаш А.В., Тессман А.Б., Иванов А.В., Нестеренко П.Н. // ЖФХ. 1997. **71**. №9. С. 1683.
- Гармаш А.В., Тессман А.Б., Иванов А.В., Нестеренко П.Н. // ЖФХ. 1997. **71**. №10. С. 1872.
- Тессман А.Б., Иванов А.В., Нестеренко П.Н., Гармаш А.В. // ЖФХ. 1999. **73**. №8. С. 1476.
- Иванов А.В., Тессман А.Б., Нестеренко П.Н., Гармаш А.В. / Всеросс. симп. по химии поверхности, адсорбции и хроматографии. М., 1999. С. 107.
- Тессман А.Б. / Тез. Межд. конференции «Ломоносов-98». М., 1998. С. 6.
- Шпигун О.А., Золотов Ю.А. Ионная хроматография и ее применение в анализе вод. М., 1990.
- Gjerde D.T., Fritz J.S. // Anal. Chem. 1981. **53**. P. 2324.
- Пенчук А.О., Пухл В.О., Ильмова К.А. // Уч. зап. Тарт. ун-та. 1986. **743**. С. 153.
- Иванов А.А. Определение карбоновых кислот ионной хроматографией. Дис. ... канд. хим. наук. М., 1989.
- Tanaka K., Fritz J.S. // J. Chromatogr. 1986. **361**. P. 151.

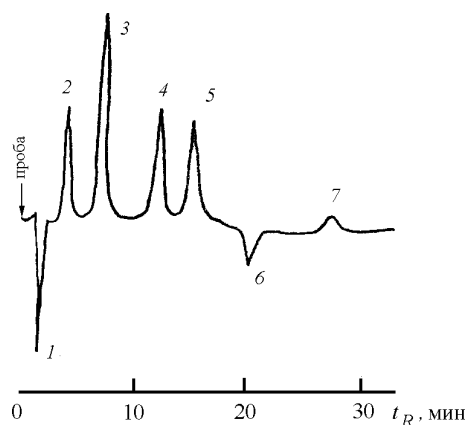


Рис. 3. Разделение модельной смеси. Хроматографические пики: 1 – натрий, 2 – сукцинат, 3 – системный, 4 – хлорид, 5 – малеат, 6 – фумарат, 7 – оксалат. Условия см. в подписи к рис. 1. Объем пробы 25 мкл. Концентрации кислот в смеси 2–5 мМ

В указанных условиях достигнуто экспрессное селективное разделение модельных смесей хлорида натрия, янтарной, малеиновой, малоновой и фумаровой кислот в течение 20–22 мин (рис. 1, 2), хлорида натрия, янтарной, малеиновой, фумаровой и щавелевой кислот в течение 30 мин (рис. 3).

Данные хроматографические условия также применили для оценки коэффициентов катионного обмена протонов на натрий $K(\text{H}^+, \text{Na}^+)$ на сорбированных дикарбоновых кислотах. После сорбции в статических условиях аниона дикарбоновой кислоты на анионообменном сорбенте в присутствии сильного электролита (NaCl), отбирали пробу раствора и определяли в ней содержание несорбированных ионов натрия и хлорида и десорбированного в результате ионного обмена аниона дикарбоновой кислоты. Таким образом оценили значения $K(\text{H}^+, \text{Na}^+)$ на сорбированных оксалате, малонате, сукцинате, фумарате и малеате [9].

Итак, биполярный сорбент Нупро-SiO₂ впервые применен для разделения органических анионов; показана возможность экспрессного и селективного разделения хлорида, натрия и 4–5 анионов дикарбоновых кислот.