

УДК 543.544:681.3

**ИОНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
КОЭФФИЦИЕНТОВ КАТИОННОГО ОБМЕНА $K(H^+, Na^+)$ НА
СОРБИРОВАННЫХ ДИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТАХ ДЛЯ
РАСЧЕТОВ ГРАДИЕНТОВ pH В ХРОМАТОФОКУСИРОВАНИИ**

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

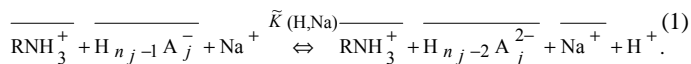
(кафедра аналитической химии)

Определены коэффициенты катионного обмена протонов на натрий на дикарбоксикислотах, сорбированных на кремнеземе с привитыми олигоэтиленаминами. Диапазон экспериментально определенных коэффициентов катионного обмена $K(H, Na)$ соответствует параметру, ранее использованному нами при моделировании внутренних градиентов pH в хроматофокусировании.

Ионообменная динамическая модель формирования внутренних градиентов pH в хроматофокусировании учитывает гомогенные и гетерогенные равновесия в хроматографической системе, содержащей анионообменник на основе модифицированного кремнезема с привитыми олигоэтиленаминами RNH_2 и набор слабых кислот $H_{ij}A_j$ в составе элюента [1–3]. Для получения бо-

лее линейного, плавного градиента pH в элюент добавляют сильный электролит [4], следовательно, элюент может содержать ионы Na^+ , Cl^- . К варьируемым параметрам разработанной нами модели формирования градиентов pH относятся коэффициенты анионного обмена Cl^- на анион слабой кислоты $K(Cl, A)$, входящей в состав элюента. При сорбции анионообменным сорбентом с привитыми

олигоэтиленаминами многоосновных (т.е. при $n_j > 1$) кислот из элюента возможны процессы катионного обмена H^+ на Na^+ в фазе сорбента:



В этом случае к варьируемым параметрам модели относятся коэффициенты катионного обмена $K(H, Na)$ на сорбированных кислотах:

$$\tilde{K}(H, Na) = \frac{[H_{n_j-2} A_j^{2-}] [Na^+] [H^+]}{[H_{n_j-1} A_j^-] [Na^+]}. \quad (2)$$

Применение многоосновных (хотя бы двухосновных) кислот позволяет достичь существенно более линейных градиентов рН по сравнению с одноосновными [4]. При использовании многосновных кислот не возникает нежелательный эффект фронтального разделения компонентов элюента, характерный для многокомпонентных смесей одноосновных кислот [2, 3].

Однако параметр $K(H, Na)$, необходимый для точного описания модели, наиболее трудно поддается оценке. Литературные данные о значениях $K(H, Na)$ отсутствуют, приведены только крайне немногочисленные сведения об условных константах диссоциации K'_H для сорбированных (нековалентно связанных) 6-аминопеницилановой кислоты и глицина на ионообменных смолах [5, 6], а также коэффициенты катионного обмена H^+ на Na^+ на карбоксильных катионитах [5, 7, 8]. Данные о K'_H привитых к кремнезему карбоксильных групп кислот по сравнению с гомогенными аналогами приведены в [9]. Вероятно, оценки $K(H, Na)$ на сорбированных кислотах ранее не проводили вследствие сложности эксперимента.

В настоящей работе экспериментально определены коэффициенты катионного обмена $K(H, Na)$ на дикарбоксикислотах, сорбированных на кремнеземе с привитыми группами диэтилентриамин (Dien-SiO₂).

Экспериментальная часть

Аппаратура и реагенты. Использовали хроматографическую систему высокого давления, состоящую из насоса «Beckman-114M» (США), инжектора «Rheodyne-7125» с петлей объемом 100 мкл, стальной хроматографической колонки для ВЭЖХ (250 × 4,6 мм), заполненной сорбентом Нурго-SiO₂ с привитыми группами оксипролина [10], кондуктометрического детектора «Conductolyzer 5300» (LKB-Bromma, Швеция). Сигнал детектора регистрировали на самописце «LKB» (Швеция). Пробы растворов отбирали с помощью микрошприца объемом 25 мкл.

В качестве элюента использовали раствор 0,8 М фталевой кислоты при рН 3,5 [11]. Для регулирования рН в элюент добавляли рассчитанное по программе «Acid-Base Calculator» [12] количество 1М раствора LiOH («Реахим», Россия). Скорость подачи элюента во всех случаях составляла 1 мл/мин. Кислотность растворов контролировали с помощью универсального рН-метра «TOA Electronics HM-20S» (Япония) с комбинированным электродом. 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 фиксанала (VEB-Feinchemie, Германия).

Методика эксперимента

1. Точную навеску сорбента Dien-SiO₂ (0,50 г) вносили в пластмассовую пробирку емкостью 15 мл, добавляли 10 мл 0,1 М раствора щавелевой, малоновой, янтарной, или малеиновой кислоты; встряхивали в течение 5 мин; сорбент Dien-SiO₂ отфильтровывали на стеклянном фильтре и промывали 10 мл деионизованной воды. Объединяли фильтрат и промывные воды, отбирали аликвоту 2–5 мл и разбавляли до 10 мл водой. Из полученного раствора отбирали пробу микрошприцем и хроматографировали при кондуктометрическом детектировании. Измеряли высоты (для щавелевой кислоты – площади) хроматографических пиков и рассчитывали содержание аниона кислоты по градуировочному графику. В случае фумаровой кислоты к точной навеске сорбента Dien-SiO₂ (0,25 г) добавляли 10 мл 0,05 М раствора кислоты. После этого оставшийся на стеклянном фильтре сорбент промывали 10 мл 0,020 М раствором NaCl, отбирали микрошприцем пробу фильтрата и хроматографировали в тех же условиях. Измеряли высоты (или площади) хроматографических пиков и рассчитывали содержание натрия, хлорида и аниона десорбированной кислоты по градуировочному графику.

2. Для определения констант обмена при 50%-й запро-тонированности аминогрупп точную навеску сорбента (0,30 г) вносили в пластмассовую пробирку емкостью 15 мл, добавляли рассчитанное по программе «Acid-Base Calculator» [12] количество 0,050 М раствора кислоты, доводили объем до 10 мл (рН 5); встряхивали пробирку в течение 5 мин; сорбент отфильтровывали на стеклянном фильтре. Отбирали аликвоту микрошприцем и хроматографировали в аналогичных условиях. Оставшийся на стеклянном фильтре сорбент промывали 10 мл 0,010 М раствором NaCl, отбирали микрошприцем пробу фильтрата и хроматографировали. Содержание натрия, хлорида и аниона десорбированной кислоты рассчитывали по градуировочному графику.

Построение градуировочных графиков. Готовили ряд стандартных растворов дикарбоновых кислот и хлорида натрия с концентрацией 0,001–0,005 М, отбирали микрошприцем пробу (2–25 мкл) и хроматографировали при кондуктометрическом детектировании. Строили зависимость высоты (или площади) хроматографического пика от содержания компонента в пробе.

Обсуждение результатов

Влияние значений рК(H, Na) на профиль расчетных градиентов рН. Моделирование поведения многоосновных кислот при формировании внутреннего градиента рН представляет весьма трудную задачу вследствие существенно большей (по сравнению с одноосновными кислотами) неопределенности как в механизмах их сорбции, так и в величинах параметров, характеризующих эти процессы, а также в силу вычислительных трудностей (время расчета градиента рН для системы, содержащей

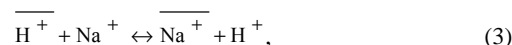
двухосновную кислоту, по сравнению с аналогичной системой, содержащей одноосновную кислоту, может возрасти в 10 и более раз). Поэтому для таких систем мы ограничились лишь отдельными компьютерными экспериментами. В то же время и модель, и эксперименты подтверждают преимущества использования двухосновных кислот для получения линейного градиента в более широком диапазоне pH [2, 4]. На рис. 1 приведен ряд pH-выходных кривых для элюентов, содержащих двухосновную кислоту H_2A , при различных значениях $pK(H, Na)$. Наиболее плавные градиенты pH получаются при больших значениях $pK(H, Na)$, т.е. когда кислота H_2A сорбируется преимущественно в форме HA^- , а не A^{2-} (с противоионом Na^+) (рис. 1, кривые 2–4). При меньших значениях $pK(H, Na)$ градиент может иметь сложный вид с чередующимися минимумами и максимумами pH (кривая 1). Такое поведение дикарбоновых кислот в рамках моделей, разработанных Слайтерманом [13] и Мурелом [14], считается аномальным. Начальное падение pH на профиле градиента в этом случае объясняется значительной сорбцией Na^+ [2]. Зависимость градиента pH от коэффициентов катионного обмена выражена достаточно резко: изменение величины $pK(H, Na)$ от 5 до 6 значительно изменяет профиль градиента, а при дальнейшем увеличении до 8 профиль практически не изменяется (рис. 1).

Экспериментальное определение $K(H, Na)$. В качестве исследуемых слабых двухосновных кислот были выбраны представители гомологического ряда предельных дикарбоновых кислот (щавелевая, малоновая и янтарная) и непредельных кислот, являющихся *цис*- и *транс*-изомерами (фумаровая и малеиновая). Эти кислоты связываются с аминогруппами сорбента $Dien-SiO_2$ по одной карбоксильной группе, а вторая может быть либо в кислотной форме, либо в виде натриевой соли. Слабыми двухосновными

кислотами трудно запротонировать аминогруппы сорбента более чем на 90–95% [4]. Это связано с тем, что значения pK_a большинства дикарбоновых кислот лежат в слабокислой области pH, а растворимость кислот в воде ограничена, что не позволяет получить более концентрированные растворы. Однако более сильные дикарбоновые кислоты (например, щавелевая или малоновая) позволяют создать значение pH, при котором степень протонирования аминогрупп $Dien-SiO_2$ близка к 90–100%. Проводить эксперимент в условиях, при которых анионообменник на основе модифицированного кремнезема практически не запротонирован (т.е. при $pH > 8$), нежелательно, так как при этом происходит частичное растворение кремнеземной матрицы сорбента. Поэтому мы выбрали значения pH, равные 5, что соответствует примерно 50%-й запротонированности групп анионообменника, а также 2–3, когда аминогруппы запротонированы почти полностью.

Для экспериментального определения значений $K(H, Na)$ использовали следующую схему: олигоэтиленаминный анионообменник ($Dien-SiO_2$) в максимально протонированной форме обрабатывали в статических условиях раствором дикарбоновой кислоты ($pH < 2,5$) и затем раствором $NaCl$. Задача одновременного определения равновесных концентраций Na^+ , Cl^- и анионов кислот в растворах решена с использованием метода ионной хроматографии на биполярной колонке $Hурго-SiO_2$. Ранее нами были найдены оптимальные условия для селективного разделения Na^+ , Cl^- и анионов дикарбоновых кислот на колонке $Hурго-SiO_2$ при элюировании фталевой кислотой и кондуктометрическом детектировании [11].

Расчет коэффициентов катионного обмена протонов на натрий. Расчет $K(H, Na)$ на сорбированной дикарбоновой кислоте основан на упрощенном описании равновесия (черта над ионом означает его нахождение в фазе сорбента):



$$K_{H^+/Na^+} = \frac{\overline{[H^+]} \cdot [Na^+]}{[H^+] \cdot \overline{[Na^+]}} \quad (4)$$

где равновесную концентрацию Na^+ в подвижной фазе определяли ионохроматографически. Равновесную концентрацию Na^+ в фазе сорбента определяли косвенно:

$$\overline{[Na^+]} = C_{Na^+} - [Na^+], \quad (5)$$

где c_{Na^+} – концентрация введенного Na^+ , а $[Na^+]$ – концентрация Na^+ в растворе после ионного обмена на сорбированных кислотах.

Концентрацию $[H^+]$ рассчитывали через измеренное значение pH раствора, находящегося в равновесии с сорбентом $Dien-SiO_2$: $[H^+] = 10^{-pH}$. Равновесную концентрацию рассчитывали косвенно

$$\overline{[H^+]} = (C_{Cl^-} - [Cl^-]) + (C_{A^{2-}} - [A^{2-}]), \quad (6)$$

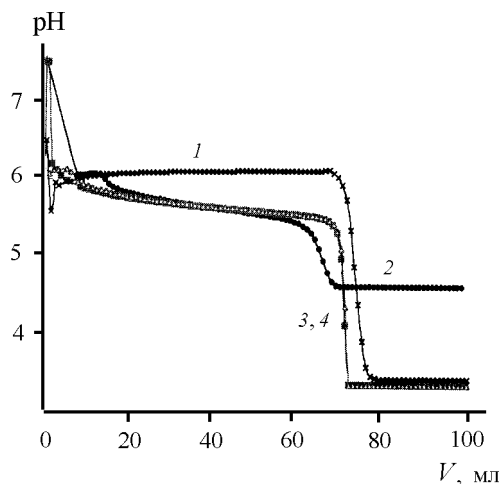


Рис. 1. Модельные внутренние градиенты pH для элюента с двухосновной кислотой H_2A ; $c_{HA} = 1 \times 10^{-3}$ М; $pK_{a1} = 3,0$, $pK_{a2} = 5,0$, $K(Cl, HA^-) = 0,1$; $pK(H, Na)$: 1 – 3,0; 2 – 5,0; 3 – 6,0; 4 – 8,0, сильный электролит: $NaCl$, $c_{NaCl} = 1 \times 10^{-3}$ М. Сорбент – анионообменник с аминогруппами ($\lg K_p = 8,0$)

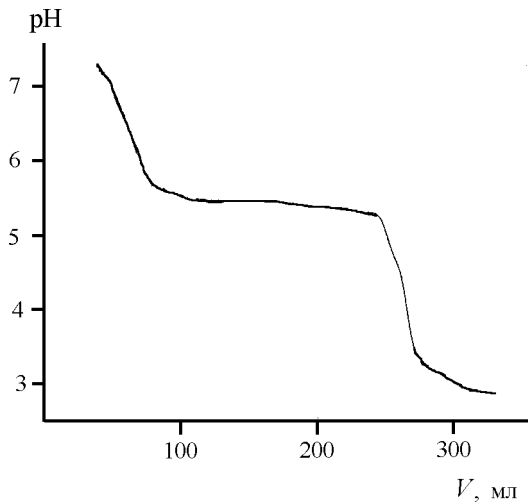


Рис. 2. Экспериментальный внутренний градиент pH. Колонка: 300 × 9 мм, Dien-SiO₂, 100–120 мкм, стартовый раствор: 0,025 М Трис-HCl (pH 7,5); элюент: 0,002 М щавелевая кислота (pH 2,7), 1 мл/мин; pH эфлюента непрерывно контролировали в потоке

где $(c_{Cl^-} - [Cl^-])$ – концентрация сорбированного Cl⁻, а $(c_{A^{2-}} - [A^{2-}])$ – концентрация сорбированной дикарбоксикислоты.

Концентрации всех ионов (кроме H⁺) в подвижной фазе определяли из градуировочных графиков (табл. 1).

В итоге получаем выражение для коэффициента катионного обмена:

$$K_{H^+/Na^+} = \frac{[H^+] \cdot (C_{Na^+} - [Na^+])}{[Na^+] \cdot \{(C_{Cl^-} - [Cl^-]) + (C_{A^{2-}} - [A^{2-}])\}} \quad (7)$$

Для каждой двухосновной кислоты проводили 3–5 параллельных определений. Результаты обрабатывали статистически (табл. 2). Полученные значения $K(H,Na)$ уменьшаются в ряду

щавелевая > малеиновая > фумаровая > янтарная > малоновая,

что для первых трех кислот соотносится с уменьшением их констант диссоциации. Кроме того, известно, что щавелевая и малеиновая кислоты более прочно удерживаются на сорбентах с привитыми олигоэтиленаминами, поскольку расстояние между карбоксильными группами близко к расстоянию между первичными аминогруппами сорбента [4, 15]. Снижение степени протонирования аминогрупп ионообменника до ~50% (pH раствора, находящегося в равновесии с сорбентом, кислот ~5) приводит к незначительному уменьшению коэффициентов катионного обмена $pK(H, Na)$ для малоновой и янтарной кислот. В случае малеиновой кислоты $pK(H, Na)$ изменяется значительно, что может объясняться вероятным присоединением малеата к двум карбоксильным группам (табл. 3).

Диапазон значений экспериментально определенных коэффициентов катионного обмена $K(H, Na)$ соответствует диапазону параметра, ранее использованного нами

при моделировании внутренних градиентов pH в хроматофокусировании (рис. 1, кривые 1–2). Градиенты pH, экспериментально полученные в колонках, заполненных сорбентом Dien-SiO₂ и аналогичными сорбентами с привитыми олигоэтиленаминами [16], на качественном уровне согласуются с расчетными (рис. 2).

Таблица 1

Градуировочные графики и пределы обнаружения Na⁺, Cl⁻ и анионов дикарбоксикислот

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

Примечания. ГГ – градуировочный график; h – высота хроматографического пика, мм; S – площадь пика, мм²; n – содержание иона, мкмоль, во введенном объеме пробы.

Таблица 2

Коэффициенты катионного обмена $pK(H, Na)$ при максимальной степени протонирования анионообменника Dien-SiO₂ ($n = 3, p = 0,95$)

Кислота	pH	$pK(H, Na)$
Щавелевая	3,11	2,2±0,1
Малоновая	3,45	3,5±0,1
Янтарная	4,35	3,4±0,1
Малеиновая	3,22	2,3±0,3
Фумаровая	3,76	2,7±0,1

Примечание. pH раствора, находящегося в равновесии с сорбентом Dien-SiO₂.

Таблица 3

Коэффициенты катионного обмена $pK(H, Na)$ при ~50%-й степени протонирования анионообменника Dien-SiO₂ ($n = 3, p = 0,95$)

Кислота	pH	$pK(H, Na)$
Малоновая	5,22	4,3±0,3
Янтарная	5,30	5,3±0,9
Малеиновая	5,20	4,5±0,1

Примечание. pH раствора, находящегося в равновесии с сорбентом Dien-SiO₂.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гармаиш А.В., Тессман А.Б., Иванов А.В., Нестеренко П.Н. // ЖФХ. 1997. **71**. С. 1683.
2. Гармаиш А.В., Тессман А.Б., Иванов А.В., Нестеренко П.Н. // ЖФХ. 1997. **71**. С. 1872.
3. Гармаиш А.В., Тессман А.Б., Иванов А.В., Нестеренко П.Н. // ЖФХ. 1997. **71**. С. 2054.
4. Тессман А.Б., Иванов А.В., Вахштейн М.С., Нестеренко П.Н. // ЖФХ. 2001. **75**. №1.
5. Либинсон Г.С. Физико-химические свойства карбоксильных катионитов. М., 1969.
6. Либинсон Г.С. Сорбция органических соединений ионитами. М., 1979.
7. Трёмийон Б. Разделение на ионообменных смолах. М., 1967.
8. Мамченко А.В., Валуйская Е.А. // ЖФХ. 1999. **73**. С. 1443.
9. Мильченко Д.В. Дис. ... канд хим. наук. М., 1987.
10. Nesterenko P.N. // J. High. Resolut. Chromatogr. 1991. **14**. P. 768.
11. Иванов А.В., Нестеренко П.Н., Тессман А.Б. // Вестн. Моск. ун-та. Сер.2. Химия. 2000. **41**. С. 255.
12. Тессман А.Б., Иванов А.В. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2001. **42**. С. 19.
13. Slyterman L.A.AE., Elgersma O. // J.Chromatogr. 1978. **150**. P. 17.
14. Murel A., Vilde S., Pank M. et al. // J. Chromatogr. 1985. **347**. P. 325.
15. Subramonian S., Clifford D. // Reactive Polymers. 1988. **9**. P. 195.
16. Иванов А.В., Тессман А.Б. // Вестн. Моск. ун-та. Сер.2. Химия. 1999. **40**. №4. С. 241.

Поступила в редакцию 03.07.00