

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

им. М.В. Ломоносова

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи

УДК 547.992.2

Жилин Денис Михайлович

**ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ И
ДЕТОКСИЦИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ ПО
ОТНОШЕНИЮ К СОЕДИНЕНИЯМ РТУТИ (II)**

02.00.03 – Органическая химия

11.00.11 – Охрана окружающей среды и рациональное
использование природных ресурсов

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва-1998

Работа выполнена в лаборатории физической органической химии (ФОХ) кафедры органической химии Химического факультета МГУ им М.В. Ломоносова.

- Научные руководители: доктор химических наук, академик РАЕН
В.С. Петросян
кандидат химических наук
И.В. Перминова
- Научный консультант: кандидат химических наук
А.В. Гармаш
- Официальные оппоненты: доктор химических наук, член-корреспондент РАН
Н.П. Тарасова
доктор химических наук
В.П. Литвинов
- Ведущая организация: Институт почвоведения и фотосинтеза РАН

Защита состоится "14" октября 1998 года в 11 часов на заседании Диссертационного Совета Д 053.045.46 по химическим наукам при Московском Государственном Университете им. М.В. Ломоносова по адресу: 119899, ГСП-3, Москва, В-234, Воробьевы горы, МГУ, Химический факультет, аудитория 337.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Химического факультета МГУ.

Автореферат разослан 14 сентября 1998 года.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
кандидат химических наук

Т.В. Магдесиева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Гумусовые кислоты (ГФК) представляют собой наиболее обширный и реакционноспособный класс природных соединений, входящих в состав органического вещества почв, природных вод и твердых горючих ископаемых. Наличие в молекулах ГФК широкого спектра функциональных групп, таких как карбоксильные, гидроксильные, карбонильные, азот и серусодержащие в сочетании с присутствием ароматических фрагментов обуславливает их высокую реакционную способность по отношению к металлам. В силу указанных свойств ГФК играют важную роль в процессах миграции тяжелых металлов, контролируя их геохимические потоки в окружающей среде. Кроме того, они обладают способностью снижать токсичность тяжелых металлов. Следовательно, создание моделей биогеохимических циклов тяжелых металлов адекватных реально протекающим процессам, а также прогноз развития токсикологической ситуации в загрязненных тяжелыми металлами природных средах невозможны без учета роли ГФК. При этом взаимодействие ГФК с наиболее токсичным металлом - Hg(II) - представляет собой один из наименее изученных процессов, сведения о котором отрывочны и противоречивы.

Данное обстоятельство определяет важность и актуальность изучения реакционной способности ГФК по отношению к Hg(II) и установления ее количественных взаимосвязей со строением и детоксицирующими свойствами ГФК по отношению к этому опасному экотоксиканту. При этом вследствие нестехиометричности состава и нерегулярности строения макромолекул гумусовых кислот существующие способы описания реакционной способности ГФК либо термодинамически некорректны, либо громоздки и плохо применимы для практических целей. Как результат - отсутствуют подходы к получению количественных соотношений структура - реакционная способность для ГФК; практически не исследована природа реакционных центров ГФК. Указанные проблемы определили постановку целей и задач настоящей работы.

Цель работы: изучить реакционную способность гумусовых кислот по отношению к соединениям Hg(II) и установить ее взаимосвязи со строением и детоксицирующими свойствами гумусовых кислот по отношению к Hg(II).

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- разработать адекватный способ описания реакционной способности ГФК по отношению к Hg(II) с помощью кажущихся констант устойчивости и применить его для характеристики представительного ряда препаратов ГФК
- выявить природу ртутьсвязывающих центров (РСЦ) в ГФК с целью поиска закономерностей между характером химического окружения РСЦ и реакционной способностью ГФК
- установить корреляционные соотношения между структурами ГФК и константами устойчивости гуматов Hg(II)
- разработать способ количественной оценки детоксицирующих свойств ГФК по отношению к Hg(II) и применить его для исследуемых препаратов ГФК
- установить количественную взаимосвязь между реакционной способностью и детоксицирующими свойствами ГФК по отношению к Hg(II).

Научная новизна

На основании концепции ртутьсвязывающих центров обосновано использование кажущейся константы устойчивости для характеристики реакционной способности ГФК по отношению к Hg(II).

На основании изучения условий образования нерастворимых гуматов Hg(II) предложен способ определения концентрации ртутьсвязывающих центров в растворах ГФК через содержание ртути в гуматах.

Предложен и термодинамически обоснован способ использования кажущихся констант устойчивости гуматов Hg(II) для определения природы ртутьсвязывающих центров в ГФК.

На основании применения подхода Гаммета к расчету константы σ , характеризующей суммарные эффекты заместителей у РСЦ, установлена количественная взаимосвязь между структурами ГФК и кажущимися константами устойчивости гуматов ртути.

На основании токсикологических экспериментов установлена и количественно охарактеризована детоксицирующая способность ГФК по отношению к Hg(II).

На основании сопоставления данных по реакционной способности и

детоксицирующим свойствам ГФК по отношению к Hg(II) количественно подтверждено, что механизмом детоксицирующего действия ГФК является образование нетоксичных гуматов Hg(II).

Практическая значимость работы.

Полученные значения констант устойчивости гуматов ртути могут быть использованы для расчета распределения Hg(II) по формам существования в природных средах и создания моделей биогеохимических циклов Hg(II).

Установленные количественные зависимости “структура - константы устойчивости гуматов ртути” для ГФК могут быть использованы для разработки способов модификации ГФК, позволяющих получать гумусовые препараты с повышенной реакционной способностью по отношению к Hg(II), с целью их применения для рекультивации загрязненных ртутью сред.

Полученные данные по влиянию ГФК на токсичность различных форм ртути могут быть использованы для прогноза развития токсикологической ситуации в экосистемах, загрязненных ртутью.

Апробация работы. Отдельные части работы представлены на Международном симпозиуме “Тяжелые металлы в окружающей среде” (Пушино, 1996), Ломоносовской конференции молодых ученых (Москва, 1996), VII, VIII и IX Конференциях Международного общества по изучению гумусовых веществ (Санкт-Августин, 1994; Вроцлав, 1996; Аделаида, 1998), Ломоносовских чтениях (Москва, 1998), XVI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург, 1998).

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 2 статьи и 7 тезисов докладов.

Структура диссертационной работы. Диссертация состоит из литературного обзора, результатов и их обсуждения, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы и приложений.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Краткая характеристика объекта исследования

Гумусовые кислоты (ГФК), представляющие собой сумму гуминовых (ГК) и фульвокислот (ФК), образуются в природных средах в результате химического и биологического разложения растительных и животных остатков. В основе данного процесса лежит отбор кинетически устойчивых структур и объединение их в макромолекулы случайным образом.

По своему химическому строению ГФК представляют собой высокомолекулярные ароматические полиоксикарбоновые кислоты с включением азотсодержащих фрагментов. Для них характерно наличие ароматического углеродного скелета, замещенного различными функциональными группами, а также периферических полисахаридных и полипептидных фрагментов. В молекулы ГФК часто включаются и неорганические компоненты, в первую очередь, силикаты и алюмосиликаты, а также ионы алюминия и железа (Рис. 1).

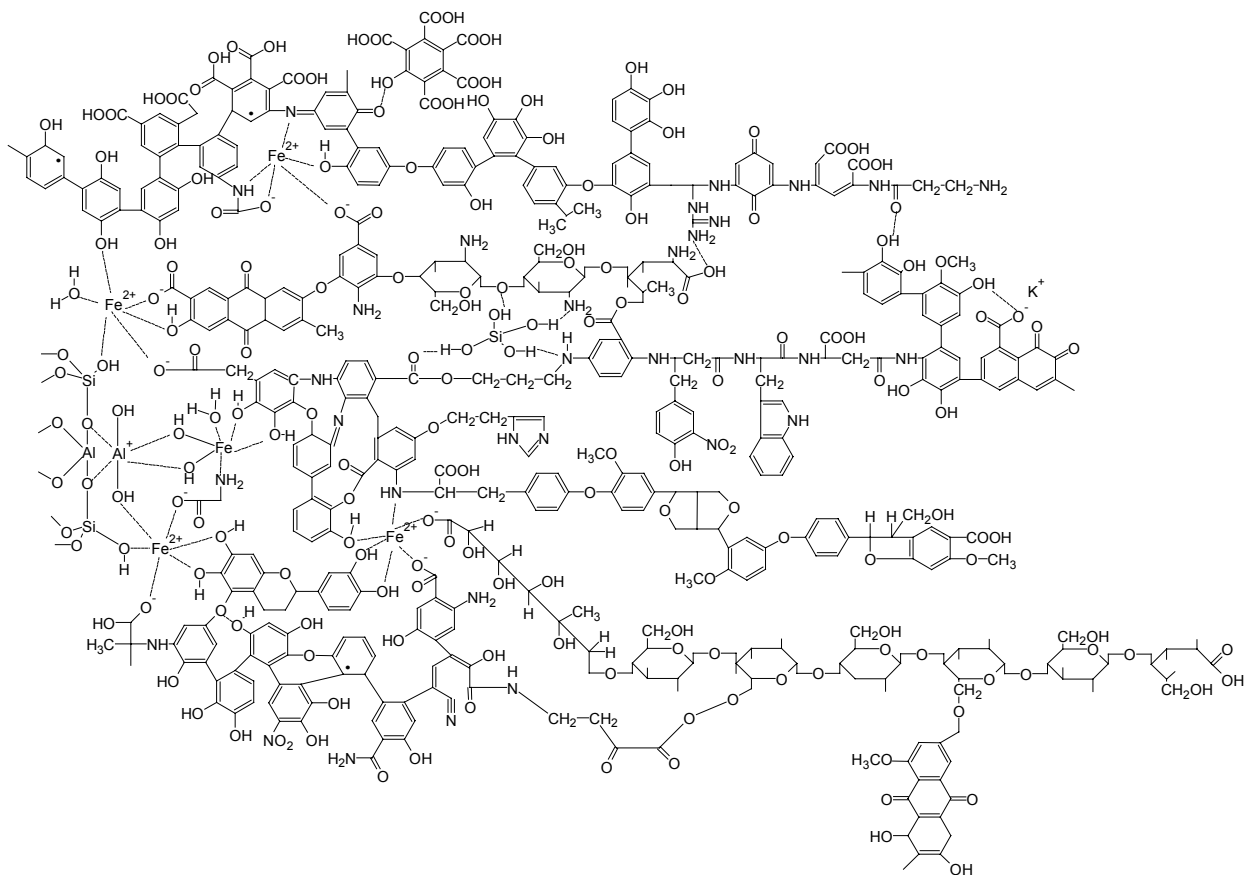


Рис. 1. Гипотетический средний структурный фрагмент ГФК почв [1]

Содержание кислорода в ГФК составляет от 30 до 40%, азота и серы - на порядок ниже. Обилие функциональных групп в сочетании с ароматическими фраг-

ментами обеспечивает высокую реакционную способность ГФК по отношению к тяжелым металлам. Важнейшими экологическими последствиями этого является изменение биогеохимических циклов и биологической активности тяжелых металлов. При этом, несмотря на интенсивные исследования в данной области, взаимодействие ГФК с одним из наиболее токсичных металлов - Hg(II) - практически не изучено.

Выделение и общая характеристика препаратов гумусовых кислот

Для проведения исследований были выделены в препаративных количествах десять образцов ГФК различного происхождения: из торфа (MT4), донных отложений (МИ2, МИ13, Лух), почв (МП9, МП12) и природных вод (MX7, MX8, MX11, MX14). Препараты из торфа, донных отложений и почв выделяли экстракцией раствором NaOH, из вод - адсорбцией на смоле "Amberlite XAD-2" с последующим элюированием раствором NaOH. Все препараты обессоливали на катионите. Кроме того, упариванием проб болотных вод получили два препарата растворенного органического вещества (РОВ) поверхностных вод (МН4, МН8), которые на 80% состоят из ГФК.

Полученные препараты представляют собой аморфные порошки от темно-желтого до коричневого цвета, причем более светлая окраска характерна для образцов водного происхождения. Препараты практически нерастворимы в большинстве органических растворителей, ограниченно растворимы в биполярных апротонных растворителях (ДМФА и ДМСО) и дистиллированной воде, но хорошо растворимы в растворах щелочей.

Кроме вышеуказанных, использовались 11 препаратов ГФК, предоставленных лабораторией ФОХ и Факультетом почвоведения: ГФК торфа (Т4, Т5, Т6, Т7, верх, низ); ГФК вод (бв1); ГФК почв (ЧД); ГК почв (ПДл, ПДл(Н), СЛл), а также коммерческие ГК бурого угля (Алд, АГК).

Все выделенные препараты были охарактеризованы методами элементного анализа. При этом полученные данные корректировали на зольность (несгораемый остаток), а содержание кислорода определяли по разности между общим содержанием беззольного органического вещества (ОВ) в препарате и суммой C, H, N, S. Элементный состав препаратов ГФК в пересчете на ОВ приведен в Табл.1. Препараты, выделенные в ходе настоящей работы, отмечены жирным курсивом.

Элементный и фрагментный состав препаратов ГФК.

Препарат ГФК	Элементный состав, %					Зольность, %	Н/С	О/С	С/Н	Фрагментный состав по ¹³ С-ЯМР, % от С общ.			
	С	Н	N	O	S					С _{COOH}	С _{ArO}	С _{Ar}	С _{Alk}
ГФК торфа													
MT4	49.2	5.1	1.4	42.4	1.9	0.0	1.24	0.65	41	15	11	28	15
T4	49.1	5.2	2.4	42.1	1.1	1.5	1.26	0.64	24	16	12	31	16
T5	49.4	4.9	2.3	42.4	1.0	3.0	1.20	0.64	25	16	10	27	24
T6	50.2	4.8	1.1	42.0	2.0	3.3	1.14	0.63	51	15	14	36	15
T7	49.2	4.8	1.8	41.4	2.8	2.0	1.17	0.63	31	–	–	–	–
верх	50.1	4.8	2.1	41.6	1.4	1.4	1.14	0.62	27	15	14	31	17
низ	50.7	4.7	2.5	40.6	1.6	2.1	1.11	0.60	24	15	13	32	17
ГФК донных отложений													
МИ2	48.6	4.9	2.1	41.1	3.4	6.0	1.20	0.63	27	15	13	31	21
МИ13	47.9	5.7	1.9	39.1	5.4	4.0	1.43	0.61	30	–	–	–	–
Лух	39.8	5.1	3.0	52.1	–	35.0	1.54	0.98	16	–	–	–	–
ГФК поверхностных вод													
МХ11	41.6	7.0	1.4	46.3	3.7	19.2	2.02	0.83	36	–	–	–	–
МХ7	38.1	5.4	н/о	54.0	2.5	48.0	1.70	1.06	–	–	–	–	–
МХ8	45.7	4.9	0.6	44.9	3.9	18.0	1.28	0.74	87.5	–	–	–	–
МХ14	33.5	5.0	н/о	61.6	–	57.6	1.77	1.38	–	–	–	–	–
бв1	41.0	3.7	3.1	50.5	1.6	19.6	1.09	0.92	15	–	–	–	–
РОВ поверхностных вод													
МН4	43.8	4.7	0.5	49.9	1.1	19.6	1.30	0.85	103	17	11	19	18
МН8	43.0	6.5	н/о	50.5	–	30.7	1.81	0.88	–	–	–	–	–
ГФК почв													
МП9	44.7	6.8	2.2	42.8	3.6	27.5	1.81	0.72	24	17	14	26	19
МП12	48.4	5.1	3.0	39.0	4.6	5.9	1.27	0.60	19	9	4	33	26
ЧД	46.4	5.1	3.4	42.7	2.5	5.3	1.31	0.69	16	18	13	32	14
ГК почв													
ПДл(Н)	53.1	5.0	3.7	38.2	–	1.7	1.13	0.54	17	15	13	30	19
СЛл	42.1	4.6	4.1	47.1	2.1	6.8	1.32	0.84	12	20	13	35	15
ПДл	44.6	4.7	4.2	43.8	2.7	8.9	1.27	0.74	12	17	13	33	17
Коммерческие ГК угля													
Алд	59.2	5.2	0.9	34.7	–	–	1.06	0.44	0.01	15	13	43	21
АГК	57.3	4.8	0.6	36.0	1.3	–	1.01	0.47	0.01	17	10	48	21

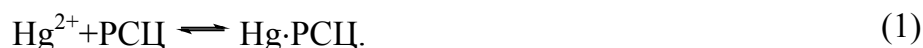
Ввиду высокой зольности многих препаратов был определен состав минеральных компонентов в ГФК методом ИСП-АЭС. Анализ показал, что основными зольными элементами в ГФК являются Si, K и Ca.

Исследование выделенных препаратов ГФК методами ИК- и ^{13}C -ЯМР-спектроскопии показало наличие в их структурах ароматических, алифатических и углеводных фрагментов, гидроксильных и карбоксильных групп (Табл.1).

Средние молярные массы, определенные методом гель-хроматографии, составляли для торфяных ГФК ~ 18000 , почвенных ГФК и ГК, а также ГФК донных отложений ~ 13500 , водных ГФК ~ 6000 г/моль.

Изучение реакционной способности ГФК по отношению к Hg(II)

Для описания взаимодействия ГФК с Hg(II) было введено понятие ртутьсвязывающего центра (РСЦ). Под РСЦ понимали комбинацию фрагментов молекулы ГФК, участвующих в связывании одного атома ртути. Он может включать в себя от одной до четырех функциональных групп. Если ГФК рассматривать как набор невзаимосвязанных РСЦ, то взаимодействию ГФК с Hg(II) соответствует следующее уравнение:



Тогда реакция (1) описывается константой равновесия:

$$K(\text{РСЦ}) = \frac{[\text{Hg} \cdot \text{РСЦ}]}{[\text{Hg}^{2+}] \cdot [\text{РСЦ}]}, \quad (2)$$

которая, с учетом неравноценности РСЦ по силе связывания, представляет собой кажущуюся константу устойчивости гуматов ртути.

Как следует из (2), для расчета $K(\text{РСЦ})$ необходимо знать концентрацию РСЦ в растворе ГФК. Было выдвинуто предположение, что содержание РСЦ в ГФК можно определить, получив гуматы ртути, в которых все РСЦ заполнены. Содержание ртути в таких гуматах будет эквивалентно содержанию РСЦ в соответствующих ГФК.

В результате проведенных экспериментов было установлено, что такие гуматы образуются при смешении насыщенных растворов $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ и ГФК (>0.5 г/л) при pH 2.9-3.4 (соотношение Hg:ГФК > 0.01 моль/г).

В указанных условиях были получены гуматы ртути для всех исследованных препаратов ГФК. Определение содержания Hg(II) позволило рассчитать содержание РСЦ в исходных ГФК. Полученные результаты приведены на Рис. 2.

Как видно из Рис. 2, большинство препаратов ГФК характеризовалось близким содержанием РСЦ. Исключение составляли два препарата ГК почв и один - ГК угля.

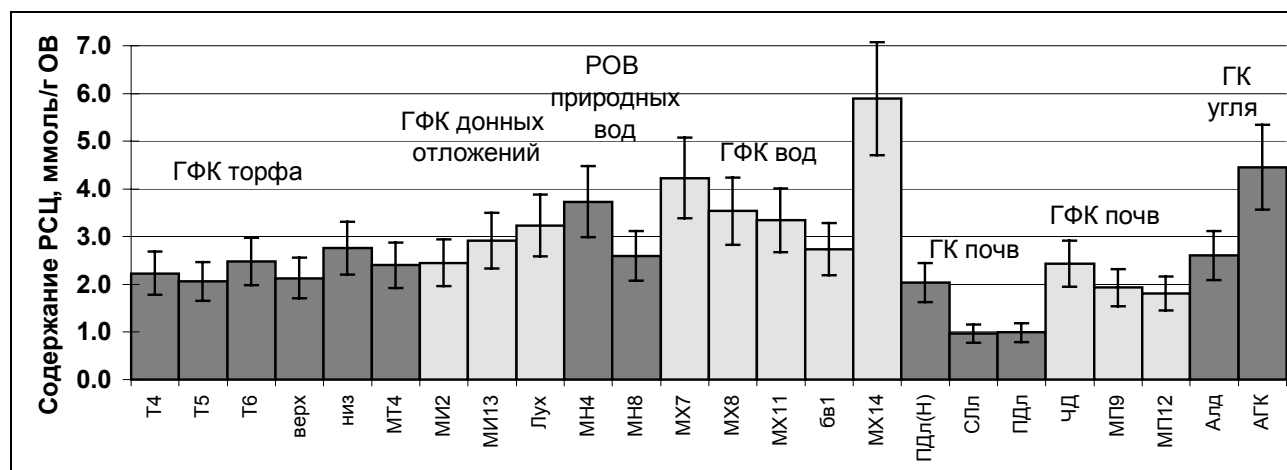
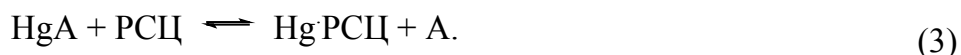


Рис. 2. Содержание РСЦ в ГФК различного происхождения.

Константы устойчивости гуматов ртути определяли адсорбционным методом с использованием конкурентного комплексообразования. Основанием для выбора данного метода послужила обнаруженная в предварительных экспериментах способность ГФК снижать адсорбцию Hg(II) на поверхностях стекла, кварца и полиэтилена (ПЭ). Данное свойство ГФК рассматривали как результат конкурентного комплексообразования между сорбируемым соединением ртути(II) (HgA) и РСЦ, протекающего по уравнению:



Условная (при $[A]=\text{const}$) константа равновесия данного процесса ($K_{[A]}(\text{РСЦ}/\text{A})$) определяется соотношением $K(\text{РСЦ})$ и условной (при $[A]=\text{const}$) константы устойчивости сорбируемого соединения $K_{[A]}(\text{HgA})$ согласно следующему уравнению:

$$K_{[A]}(\text{РСЦ} / \text{A}) = \frac{[\text{Hg} \cdot \text{РСЦ}]}{[\text{HgA}] \cdot [\text{РСЦ}]} = \frac{K(\text{РСЦ})}{K_{[A]}(\text{HgA})}. \quad (4)$$

Преобразуя последнее выражение, получаем формулу расчета $K(\text{РСЦ})$:

$$K(\text{РСЦ}) = K_{[A]}(\text{РСЦ}/\text{A}) K_{[A]}(\text{HgA}). \quad (5)$$

Следовательно, определив экспериментально условную константу конку-

рентного комплексообразования из изотерм адсорбции Hg(II) в присутствии различных концентраций ГФК, и зная константу $K_{[A]}(\text{HgA})$, можно рассчитать $K(\text{РСЦ})$.

Соответствующие адсорбционные эксперименты проводили на полиэтиленовых поверхностях в среде 0.0025 М углекислотно-гидрокарбонатного буфера (рН 7). Указанные условия определения (рН и тип буфера) были выбраны из соображений их близости природным водным средам. Полученные изотермы адсорбции приведены на Рис. 3. Их обработка позволила рассчитать значения $K_{[A]}(\text{РСЦ}/\text{A})$ по уравнению:

$$K_{[A]}(\text{РСЦ} / \text{A}) = \frac{1}{C(\text{РСЦ})} \cdot \left(\frac{\lambda_0}{\lambda} - 1 \right), \quad (6)$$

где λ_0 и λ - тангенс угла наклона изотермы в отсутствие и в присутствии ГФК.

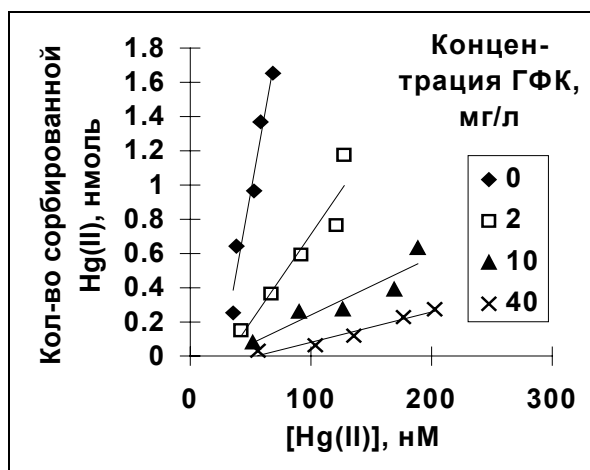


Рис. 3. Изотермы адсорбции Hg(II) на полиэтилене в присутствии ГФК.

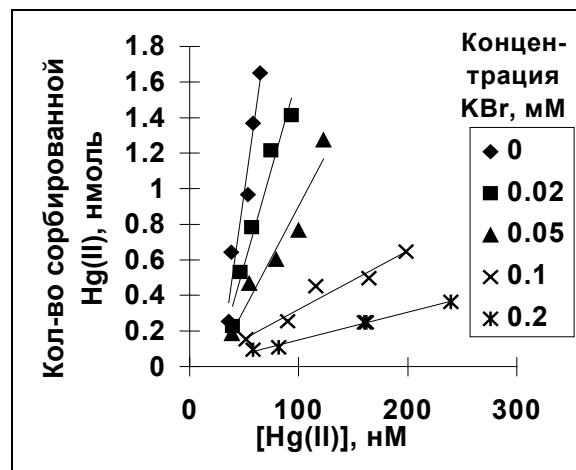


Рис. 4. Изотермы адсорбции Hg(II) на полиэтилене в присутствии KBr .

Так как в качестве сорбируемого соединения могли выступать различные гидроксиды и гидрокарбонаты Hg(II) , константу $K_{[A]}(\text{HgA})$ определяли экспериментально по аналогии с $K(\text{РСЦ})$. В качестве конкурентного комплексообразователя использовали бромид, константа устойчивости комплекса которого с Hg(II) известна. Соответствующие изотермы адсорбции приведены на Рис. 4. Их обработка позволила рассчитать $K_{[A]}(\text{Br}/\text{A})$ и затем - $K_{[A]}(\text{HgA})$. Подставляя $K_{[A]}(\text{HgA})$ в уравнение (5), рассчитывали $K(\text{РСЦ})$ для всех препаратов ГФК. Полученные значения логарифмировали и усредняли (Рис. 5).

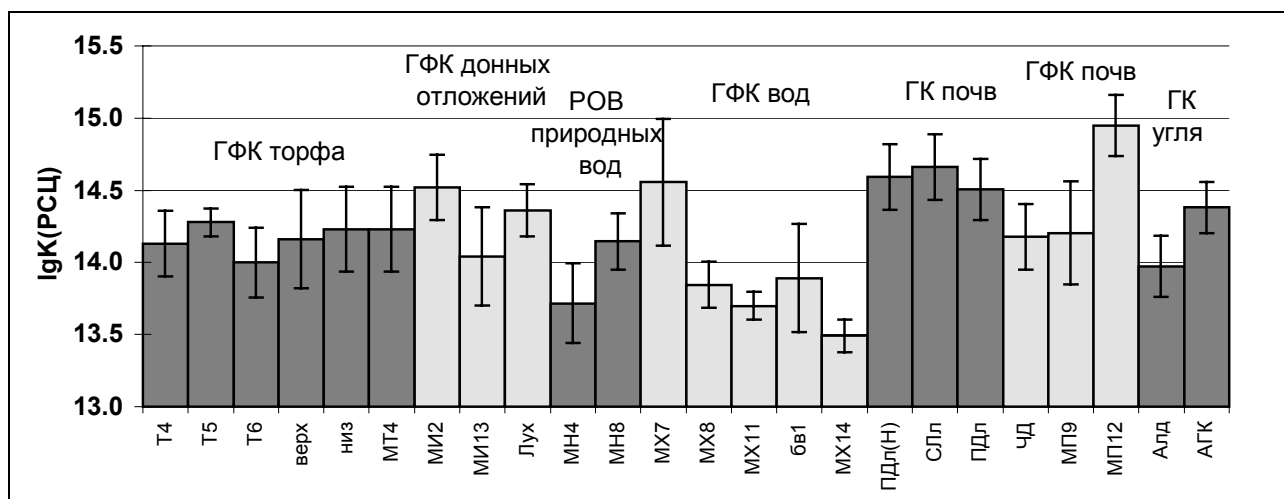


Рис. 5. Устойчивость различных гуматов ртути.

По величине $IgK(RSC)$ большинство групп препаратов близки друг к другу. Заметно отличаются некоторые ГК и ГФК почв, а также ГФК вод. Наблюдаемые различия, по-видимому, определяются особенностями РСЦ в ГФК различного происхождения.

Установление природы ртутьсвязывающих центров методами элементного анализа и ИК-спектроскопии

Для установления зависимости реакционной способности ГФК от их строения необходимо было установить химическую природу РСЦ, то есть выяснить, какие структурные фрагменты ГФК непосредственно участвуют в связывании $Hg(II)$. В дальнейшем под ртутьсвязывающим фрагментом (РСФ) понимали координирующую ртуть функциональную группу (РСГ) и связанный с ней атом углерода. В случае, если соответствующие функциональные группы находятся у соседних атомов углерода, их рассматривали как один РСФ. В качестве РСГ в ГФК могут выступать серу- и азотсодержащие, карбоксильные и гидроксильные группы. Рассматривалась и возможность протекания реакции меркурирования ароматических колец.

Для установления природы РСЦ в ГФК было проведено сравнительное исследование исходных препаратов ГФК и соответствующих гуматов $Hg(II)$ методами элементного анализа и ИК-спектроскопии.

Анализ элементного состава ГФК и гуматов ртути позволил установить, что серу- и азотсодержащие группы не играют существенной роли в связывании $Hg(II)$, так как их содержание существенно меньше, чем общее содержание РСЦ.

Сравнение ИК-спектров ГФК и гуматов ртути (Рис. 6) показало, что в области 400-600 см^{-1} , где лежат колебания Hg-C, спектры идентичны, что может свидетельствовать об отсутствии связей Hg-C в гуматах ртути. При этом в ИК-спектре гуматов ртути наблюдается значительное ослабление полосы 1700-1750 см^{-1} , обусловленной колебаниями карбоксильной группы, по сравнению с полосой 1600-1650 см^{-1} , соответствующей колебаниям карбонильной группы и карбоксилат-иона. Такой характер изменения ИК спектров свидетельствует о существенной роли карбоксильных групп в связывании Hg(II), что было подтверждено ИК-спектроскопическим исследованием ряда синтезированных карбоксилатов Hg(II).

Предпринятые попытки применить для более детальной характеристики РСЦ ^{199}Hg -ЯМР-спектроскопию не удалось из-за низкой чувствительности данного метода.

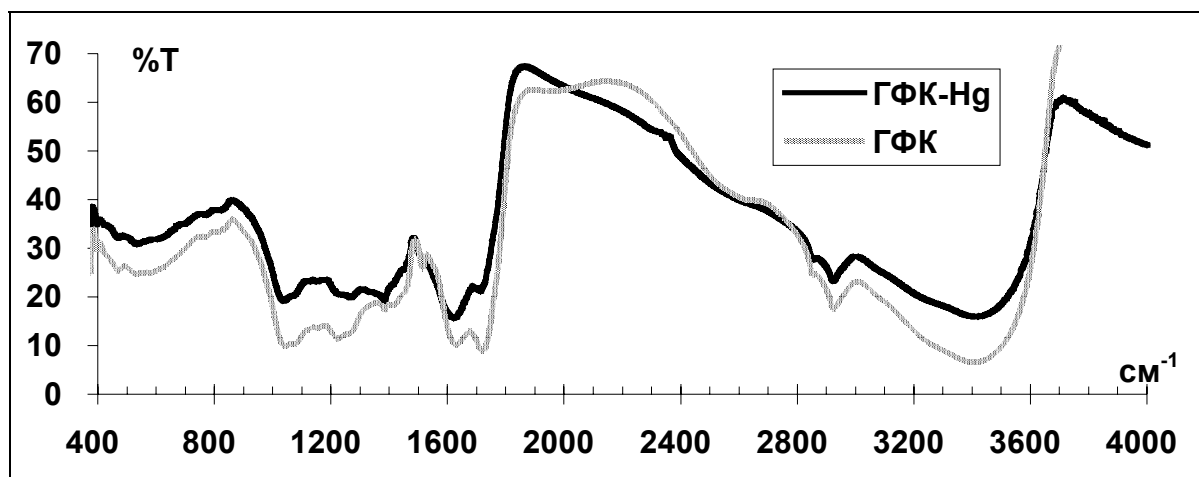


Рис. 6. ИК-спектры препарата Т4 и его комплекса с Hg(II).

Установление природы ртутьсвязывающих центров на основании констант устойчивости гуматов ртути

Установление природы РСЦ, играющих доминирующую роль в условиях разбавленных растворов, предполагалось осуществить с помощью сопоставления констант связывания отдельных РСФ с Hg(II) и констант устойчивости комплексов Hg(II) с низкомолекулярными органическими лигандами (НМЛ), моделирующими вероятные РСФ в ГФК. Для этой цели необходимо было установить, в какой мере $K(\text{РСЦ})$ характеризует отдельные РСФ, входящие в состав РСЦ. При этом следовало учесть неравноценность РСЦ по силе связывания, определяемую составом РСФ.

Для учета неравноценности РСЦ ГФК рассматривали как набор существенно различающихся по силе типов РСЦ ($РСЦ^i$), вводили понятие степени заполнения РСЦ (θ):

$$\theta = [HgРСЦ] / C(РСЦ) \quad (7)$$

и выражали $K(РСЦ)$ через θ следующим образом:

$$K(РСЦ) = \frac{\theta}{1-\theta} \cdot \frac{1}{[Hg^{2+}]} \quad (8)$$

Тогда выражение для соотношения констант каждого типа ($K(РСЦ^i)$) к $K(РСЦ)$ приобретало следующий вид (θ_i - степень заполнения $РСЦ^i$):

$$\frac{K(РСЦ^i)}{K(РСЦ)} = \frac{\theta_i}{1-\theta_i} \cdot \frac{1-\theta}{\theta} \quad (9)$$

Как следует из (9), анализируя степени заполнения РСЦ и $РСЦ^i$ в условиях эксперимента, можно оценить соотношение их констант. В условиях адсорбционного эксперимента θ составляла не более 0.05. При этом уменьшения $K(РСЦ)$ по мере увеличения θ от 0 до 0.05 не наблюдалось, что говорит об участии в связывании $Hg(II)$ только одного типа наиболее сильных РСЦ - $РСЦ^1$, степень заполнения которых (θ_1) не превышала 0.9 (условие изменения $K(РСЦ)$ менее, чем на порядок). При $\theta \leq 0.05$ и $\theta_1 < 0.9$, с учетом $\theta \leq \theta_1$ выражение (9) для $РСЦ^1$ примет следующий вид:

$$K(РСЦ^1) / K(РСЦ) < 200 \quad \text{или} \quad \lg K^1(РСЦ) < \lg K(РСЦ) + 2.3. \quad (10)$$

Неравенство (10) позволяет оценить верхний предел $\lg K(РСЦ^1)$ как 17.2. Нижний предел $\lg K(РСЦ^1)$ определяется минимальной величиной $\lg K(РСЦ)$ и равен 13.5.

Полученная оценка $\lg K(РСЦ^1)$ может служить характеристикой отдельного наиболее сильного РСФ ($РСФ^1$) только в том случае, если РСЦ состоит из одного РСФ, когда $\lg K(РСЦ^1)$ равен $\lg K(РСФ^1)$. Для $РСЦ^1$, в состав которого входят два удаленных РСФ молекулы ГФК, образующих хелатный цикл, справедливо следующее выражение:

$$\lg K(РСЦ^1) = \lg k' + \lg k'' + \zeta, \quad (11)$$

где k' и k'' - константы устойчивости $РСФ'$ и $РСФ''$, ζ - поправка на хелатный эффект.

Для оценки хелатного эффекта сопоставляли литературные данные по константам устойчивости комплексов $Hg(II)$ с НМЛ с двумя удаленными РСФ и с лигандами, содержащими данные РСФ в отдельности. Это позволило оценить

величину ζ , которая для всех рассмотренных РСФ не превышала -1.4. Тогда константу связывания более сильного из двух удаленных РСФ ($\lg k'$) можно оценить как:

$$(\lg K(\text{РСЦ}^1) + 1.4)/2 < \lg k' < \lg K(\text{РСЦ}^1), \quad (12)$$

где 2 в знаменателе - нормировка на количество РСФ, входящих в РСЦ.

При этом константу связывания более слабого РСФ можно оценить как:

$$\lg K(\text{РСЦ}^1) - (\lg k' + 1.4) < \lg k'' < \lg k'. \quad (13)$$

Тогда для ГФК значения $\lg k'$ лежат в диапазоне от 7.5 до 17.3, а $\lg k''$ - меньше 7.5.

Для сопоставления $K(\text{РСФ}^1)$ или k' и k'' с константами устойчивости комплексов Hg(II) с НМЛ ($K(\text{Hg})$), последние рассчитывали по методу корреляционных соотношений на основании литературных данных для меди. Этот прием использовали из-за недостатка данных по комплексам Hg(II). Рассчитанные корреляционные уравнения для комплексов Hg(II) и Cu(II) с одинаковыми лигандами приведены ниже:

$$\lg K_1(\text{Hg}) = 1.6 \cdot \lg K_1(\text{Cu}) + 0.3 \quad (14)$$

для O-доноров ($r^2=0.97$, 15 констант) и

$$\lg \beta(\text{Hg}) = 1.04 \cdot \lg \beta(\text{Cu}) + 3.4 \quad (15)$$

для N-доноров ($r^2=0.95$, 34 константы). Уравнение (15) верно как для K_1 (лиганды любой дентатности), так и для β_2 (бидентатные лиганды).

С помощью полученных соотношений были рассчитаны $K(\text{Hg})$ для 109 O-донорных НМЛ с различной конфигурацией РСФ. Всего было выделено 12 структурных типов O-донорных РСФ, причем в пределах каждого типа $K(\text{Hg})$ различались не более, чем на 3 порядка. Из 12 структурных типов O-донорных РСФ 8 могут присутствовать в значительных количествах в ГФК. Кроме того, ГФК могут содержать и N-донорные РСФ - алифатические и ароматические амины. Для всех типов РСФ, которые могут присутствовать в ГФК, были рассчитаны условные константы устойчивости их комплексов с Hg(II) для pH 7 (K_{y1}). По значению K_{y1} РСФ были разделены на три группы: $\lg K_{y1}=3-7$ - ацетатный, гликолятный, бензоатный, сукцинатный, фталатный, фенольный и оба аминных; $\lg K_{y1}=11-12$ - салицилатный; $\lg K_{y1}=14-15$ - пирокатехиновый.

Сопоставление значения $K^1(\text{РСЦ})$ с $K_{y1}(\text{РСФ})$ показывает, что если Hg(II) координируется одним РСФ, то им может быть только пирокатехиновый. В случае же,

если РСЦ состоит из двух фрагментов, то один из них должен быть салицилатным, а другой - любым из группы РСФ с $\lg K_{y1}=3-7$ (ацетатный, фенольный и др.).

Установление количественных соотношений между структурами ГФК и их реакционной способностью по отношению к Hg(II)

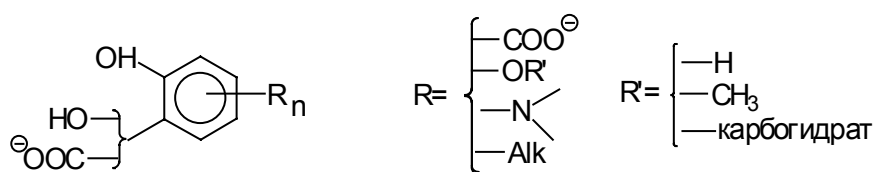
Для установления количественных соотношений между структурами ГФК и их реакционной способностью по отношению к Hg(II) был применен подход Гаммета. До сих пор указанный подход не использовался для описания влияния заместителей у фрагментов салицилатного или пирокатехинового типа на константы устойчивости комплексов металлов с соответствующими лигандами.

На основании обработки литературных данных по константам устойчивости комплексов меди с лигандами пирокатехинового типа было показано, что вне зависимости от положения заместителя, его влияние на константу устойчивости определяется величиной соответствующей $\sigma_{\text{пара}}$:

$$\lg K(L) - \lg K(L_0) = -1.8 \cdot \sigma_{\text{пара}} + 0.2, \quad (16)$$

где L_0 - пирокатехин, L - замещенный пирокатехин ($r^2=0.83$, 6 лигандов). Исключение составляет пирогаллол, влияние OH-группы которого описывается константой $\sigma_{\text{мета}}$.

Для применения подхода Гаммета к комплексообразованию ГФК с Hg(II), РСФ рассматривали как салицилатный или пирокатехиновый фрагмент с заместителями, присутствие которых наиболее вероятно в ГФК:



Воздействие карбоксильных, алкильных и азотсодержащих заместителей на электронную плотность в РСФ оценивали константой $\sigma_{\text{пара}}(\text{COO}^-)$, $\sigma_{\text{пара}}(\text{CH}_3)$ и $\sigma_{\text{пара}}(\text{NH}_2)$ [2], заместителей -OR - $\sigma_{\text{мета}}(\text{OH})$. Считали также, что влияние заместителей пропорционально их содержанию, определяемому из данных ^{13}C -ЯМР-спектроскопии и элементного анализа. Средний электронный эффект заместителей рассчитывали по формуле:

$$\sigma = \sigma_{\text{пара}}(\text{COO}^-) \cdot \omega(\text{COO}^-) + \sigma_{\text{мета}}(\text{OH}) \cdot \omega(\text{ArO}) - \sigma_{\text{пара}}(\text{CH}_3) \cdot \omega(\text{Alk}) - \quad (17)$$

$$\sigma_{\text{пара}}(\text{NH}_2) \cdot (\text{N}/\text{C}),$$

где ω - доля углерода соответствующей функциональной группы в общем количестве углерода (определена по данным ^{13}C -ЯМР-спектроскопии), а N/C - атомное соотношение, определенное из данных элементного анализа.

Зависимость константы устойчивости гуматов от средней константы σ для 15 препаратов ГФК, охарактеризованных методом ^{13}C -ЯМР, приведена на Рис. 7.

Как видно из рисунка, $\lg K(\text{РСЦ})$ линейно зависит от σ , причем соответствующее уравнение Гаммета записывается следующим образом:

$$\lg K(\text{РСЦ}) = 14.1 - 15.9 \cdot \sigma. \quad (18)$$

Объединяя (17) и (18), и подставляя значения σ заместителей, получаем итоговое уравнение, позволяющее рассчитывать константы устойчивости гуматов ртути на основании данных по элементному и фрагментному составу ГФК:

$$\lg K(\text{РСЦ}) = 14.1 + 1.8 \cdot \omega(\text{COO}^-) - 2.1 \cdot \omega(\text{ArO}) + 1.8 \cdot \omega(\text{Alk}) + 9.1 \cdot (\text{N}/\text{C}). \quad (19)$$

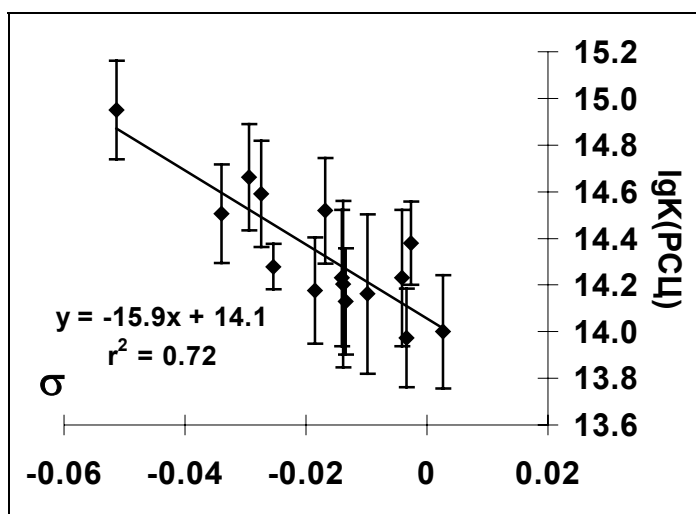


Рис. 7. Зависимость констант устойчивости гуматов ртути от средней константы σ (17).

Чтобы из уравнения (18) получить значение константы реакции ρ , которое можно было бы сопоставить с ρ для комплексообразования $\text{Hg}(\text{II})$ с НМЛ, величину -15.9 нормировали на число атомов углерода в РСФ салицилатного типа, то есть на 7. Полученное значение $\rho = -2.3$ хорошо согласуется с $\rho = -2.8$, рассчитанным из (14) и (16) для реакции комплексообразования $\text{Hg}(\text{II})$ с лигандами пирокатехинового типа.

Вышеописанный подход, по-видимому, можно распространить и на комплексообразование ГФК с другими металлами. Кроме того, полученное уравнение (19) показывает, какие фрагменты способствуют связыванию Hg(II) с ГФК. Это открывает возможность направленной модификации препаратов ГФК для повышения их комплексообразующей способности по отношению к Hg(II).

Исследование детоксицирующей способности гумусовых кислот по отношению к Hg (II)

Как показало исследование реакционной способности, ГФК образуют с Hg(II) прочные комплексные соединения. Принимая во внимание, что биологическая активность токсиканта определяется концентрацией его свободной формы, комплексообразование с ГФК может существенно снижать концентрацию токсичных форм Hg(II) и лежать в основе детоксицирующего действия ГФК по отношению к Hg(II).

Основными формами существования Hg(II) в пресных водах являются $\text{Hg}(\text{OH})_2$ и HgCl_2 , причем их соотношение зависит от pH и концентрации хлорид-ионов в среде. Поэтому для исследования детоксицирующей способности ГФК по отношению к Hg(II) необходимо было количественно оценить токсичность данных соединений Hg(II).

Токсичность Hg(II) определяли методом альгологического биотестирования с использованием в качестве тест-объекта зеленой микроводоросли *Chlorella pyrenoidosa*. Тест-функцией служил относительный выход переменной флуоресценции R, характеризующий фотосинтетическую активность водоросли. Время экспозиции составляло 4 часа.

Токсичность Hg(II) исследовали в средах с различным соотношением $\text{HgCl}_2:\text{Hg}(\text{OH})_2$, которое составляло 0, 0.3 и >10. Результаты альгологического тестирования в указанных средах приведены на Рис. 8.

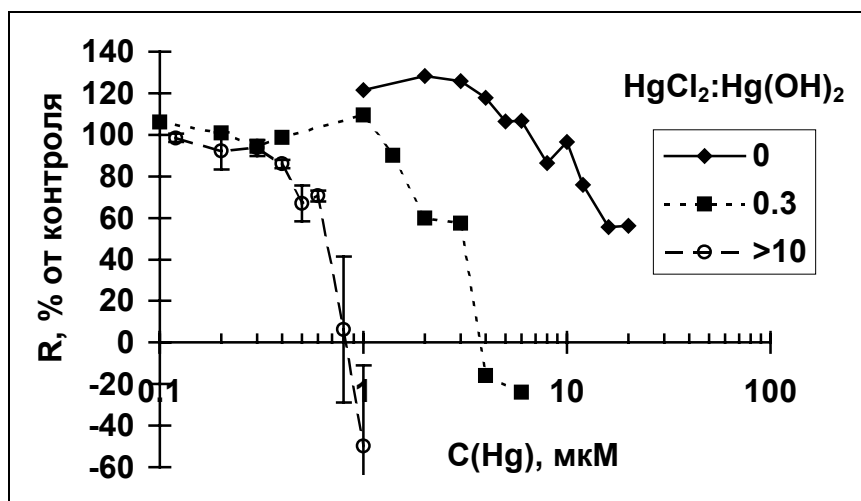


Рис. 8. Токсическое действие Hg(II) на водоросль *Chlorella pyrenoidosa* в средах с различным соотношением HgCl₂:Hg(OH)₂.

Как видно из Рис. 8, HgCl₂ проявляет на порядок большую токсичность, чем Hg(OH)₂. При этом Hg(OH)₂ накапливается в биомассе водорослей гораздо сильнее, чем HgCl₂. Так, к концу токсикологического эксперимента в биомассе водорослей определялась половина от введенной Hg(OH)₂ и только четверть - от HgCl₂.

Принимая во внимание низкую токсичность Hg(OH)₂, детоксицирующее действие ГФК определяли по отношению к HgCl₂. При этом во всех токсикологических экспериментах использовали концентрацию HgCl₂ 0.8 мкМ, которая вызывала 100%-ное угнетение фотосинтетической активности водоросли. Для количественной характеристики детоксицирующего действия ГФК рассчитывали коэффициент детоксикации:

$$D = 1 - \frac{R_0 - R_{d+t}}{R_0 - R_t}, \quad (20)$$

где R_0 - тест-отклик в контроле, R_t - тест-отклик в присутствии 0.8 мкМ HgCl₂, R_{d+t} - тест-отклик в присутствии 0.8 мкМ HgCl₂ и ГФК.

Зависимость D от концентрации ГФК приведена на Рис. 9.

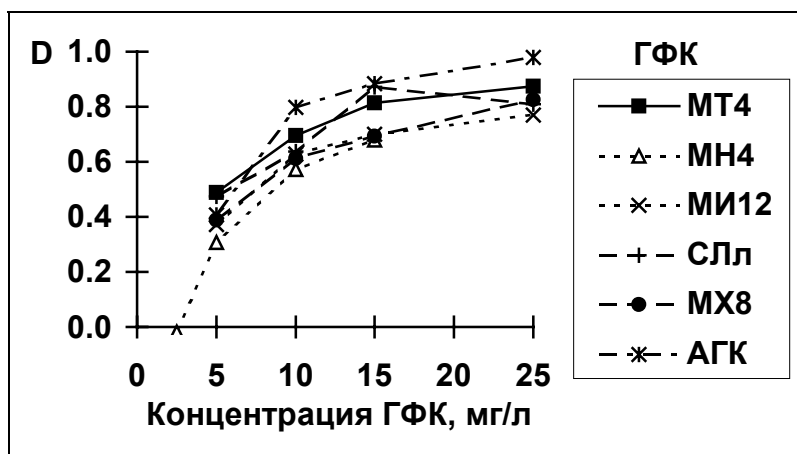


Рис. 9. Зависимость коэффициента детоксикации от концентрации ГФК при 0.8 мкМ HgCl_2 .

Как видно из Рис. 9, ГФК в концентрациях 5-20 мг/л, характерных для природных вод, существенно снижают токсичность HgCl_2 при его концентрации 0.8 мкМ. Для сопоставления детоксицирующего действия различных препаратов ГФК по отношению к HgCl_2 использовали параметр ДК_{50} - концентрацию ГФК, которая вызывает 50%-ное снижение токсичности HgCl_2 в концентрации 0.8 мкМ. Для нахождения значений ДК_{50} из данных токсикологических экспериментов, зависимость D от $C(\text{ГФК})$ (Рис. 9) для каждого препарата ГФК была аппроксимирована гиперболой:

$$D = \frac{-b}{C(\text{ГФК})} + D_{\max}, \quad (21)$$

где b - параметр гиперболы, D_{\max} - максимальный коэффициент детоксикации.

Интерполяция полученной зависимости на $D=0.5$ позволила найти значения ДК_{50} (Рис. 10). Существенных различий в детоксицирующей способности препаратов ГФК различного происхождения не обнаружено, хотя можно сказать, что для торфяных ГФК она в целом несколько ниже, чем для почвенных и водных.

В отношении механизма детоксицирующего действия ГФК была выдвинута гипотеза, что оно обусловлено конкурентным комплексообразованием Hg(II) с ГФК, протекающим согласно следующему уравнению реакции:



Тогда ДК_{50} можно рассчитать, исходя из констант устойчивости гуматов и хлоридов ртути. Для этого из данных по токсичности HgCl_2 находили концентрацию HgCl_2 , соответствующую 50%-ному токсическому эффекту. Она составила 0.55 мкМ.

Затем рассчитывали концентрации ГФК, необходимые для достижения $[HgCl_2]=0.55$ мкМ при $C(Hg)=0.8$ мкМ. Рассчитанные таким образом DK_{50} сопоставляли с экспериментальными (Рис. 10).

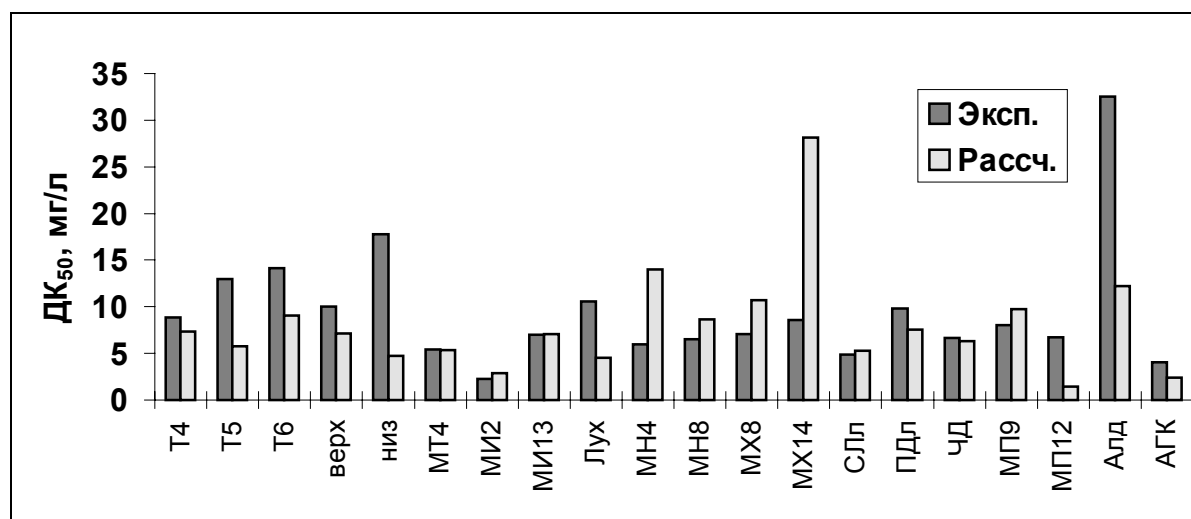


Рис. 10. Экспериментальные и рассчитанные DK_{50} для препаратов ГФК различного происхождения.

Как видно из рисунка, для 20 препаратов ГФК экспериментальные и рассчитанные значения DK_{50} совпадают по порядку величины, причем для 13 препаратов они различаются не более, чем в два раза. Данный факт подтверждает справедливость гипотезы о том, что в основе механизма детоксицирующего действия ГФК лежит связывание $Hg(II)$ в нетоксичные гуматы. Кроме того, это свидетельствует об адекватности описания реакционной способности ГФК по отношению к $Hg(II)$ с помощью кажущихся констант устойчивости гуматов - $K(РСЦ)$.

Для получения дополнительной информации о механизме детоксицирующего действия ГФК, было изучено их влияние на накопление $Hg(II)$ в биомассе водорослей в присутствии хлоридов. При этом ожидалось, что сорбция $Hg(II)$ биомассой водорослей в присутствии ГФК будет, как и в случае токсического эффекта, определяться равновесной концентрацией $HgCl_2$.

$[HgCl_2]$ в присутствии различных концентраций ГФК может быть рассчитана из известных $K(РСЦ)$ и $\beta(HgCl_2)$. Строя зависимость экспериментально определяемых количеств сорбированной на биомассе хлореллы $Hg(II)$ ($C_{chl}(Hg)$) от рассчитанных $[HgCl_2]$ можно получить график, эквивалентный изотерме сорбции $HgCl_2$ на хлорелле в отсутствие ГФК. Построенная таким образом зависимость и экспериментальная изотерма сорбции $HgCl_2$ в отсутствие ГФК приведены на Рис. 11.

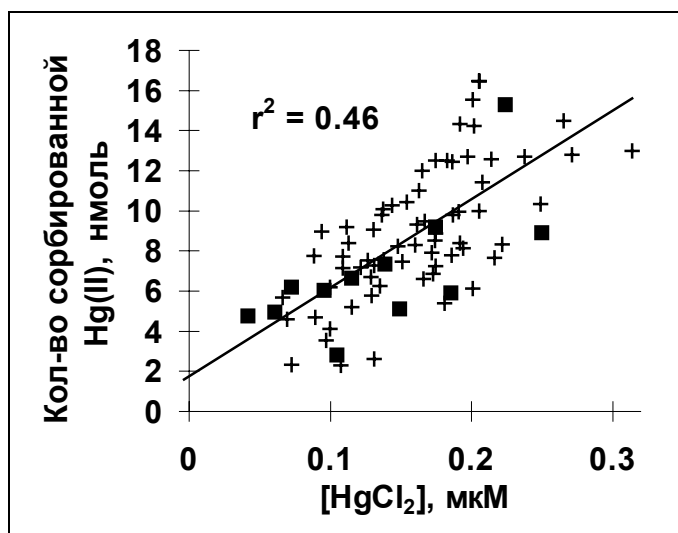


Рис. 11. Сорбция HgCl₂ биомассой водорослей в присутствии и отсутствии ГФК (+ - рассчитанные, ■ - экспериментальные величины).

Как видно из Рис. 11, рассчитанная зависимость и экспериментальная изотерма практически совпадают, что подтверждает вышеприведенную гипотезу, и демонстрирует применимость К(РСЦ) для расчета распределения Hg(II) по формам существования в средах, содержащих ГФК.

Литература

1. Kleinhempel D. // Albrecht-Thaer-Archiv. 1970. Bd. 14. H. 1. S. 3-14.
2. Марч Дж. Органическая химия. Т. 1. М.:Мир, 1987, С. 367.