

**ПЛОВДИВСКИ УНИВЕРСИТЕТ
„ПАИСИЙ ХИЛЕНДАРСКИ“**

**НАУЧНИ
ТРУДОВЕ**
ТОМ 34, кн. 5, 2006

Химия

**университетско издателство
Паисий Хилендарски**

UNIVERSITY OF PLOVDIV „PAISII HILENDARSKI“ – BULGARIA
SCIENTIFIC PAPERS – CHEMISTRY
VOL. 34, BOOK 5, 2006

Редакционна колегия:

Председател: доц. д-р Магдален Златанов

Членове: доц. д-р Елена Гергова
Ирина Кожухарова

ISSN 0204-5346

Проф. Никола Михайлов Моллов на 80 години



Проф. Никола Михайлов Моллов е роден на 11 май 1926 г. в гр. Бургас, където завършва средното си образование, а висшето – специалност Химия във Физикоматематическия факултет на Софийски университет “Климент Охридски” през 1951 г. Постъпва като асистент към катедрата по Органична химия на Химическия факултет на Софийския университет, където работи през периода 1952 - 1962 г. През 1957 г.

защитава своята дисертация, която е **първата защитена в България дисертация за к.х.н.** по новата тогава номенклатура. След конкурс през 1962 г. той се хабилитира за старши научен сътрудник II ст. към секцията по Химия на природните органични вещества към Института по органична химия при БАН, София, където работи до 1974 г. През 1972 г. Н. Моллов защитава докторска дисертация – **първата защитена в България дисертация за д.х.н.**

През 1974 г. Н. Моллов печели конкурс за професор по Органична химия в Пловдивски университет “Паисий Хилендарски”. В продължение на 15 години той създаде най-стабилната катедра в Химическия факултет, която продължава да поддържа високото научно равнище наложено от него, дори и след неочакваната кончина на двама от най-изтъкнатите негови ученици – проф. Венков и доц. Малаков.

Научната работа на проф. Н. Моллов е в областта на природните и синтетични физиологичноактивни вещества. Под научното ръководство на акад. Б. Куртев той разработва нов синтетичен метод за получаване на естери на алфа, бета-диарил-бета-аминопропанови киселини от естери на арилоцетни киселини и азометинови съединения в присъствие на безводен алуминиев хлорид, добила популярност като **реакция на Куртев-Моллов**.

В своето самостоятелно развитие като изследовател проф. Н. Моллов работи над 10 години в областта на природните органични вещества от растителен произход. Изследвал е химическия състав на поредица наши растения за алкалоиди и дитерпенови лактони. Изолирани, идентифицирани и

структурно са изследвани голям брой новооткрити алкалоиди и дитерпенови лактони, както и идентифициран химическия състав на поредица от наши растения и билки. Особено значими са изследванията на растения от рода *Таликтрум* (обичниче), които доведоха до откриването на богата колекция от алкалоиди, някои от нов структурен тип. Резултатите са представени в монографичен труд, отпечатан на английски език в издание на Унгарската академия на науките (1971 г.).

Съществени резултати са получени от проф. Моллов и при изследване съдържанието на дитерпенови лактони на растения от рода *Теокриум* (подъбиче). Изолирани са и са проучени в структурно и стереохимично отношение поредица от нови дитерпенови лактони. Изследванията са извършени главно в Института по Органична химия на БАН, отчасти и в катедрата по Органична химия на Пловдивския университет с поредица от сътрудници на проф. Моллов в съответните звена. Върху тях са защитени кандидатски дисертации от 12 научни сътрудници и асистенти.

Втората научно изследователска област на работа на проф. Н. Моллов е развита главно в катедрата по Органична химия на ПУ “П. Хилендарски” и Лабораторията по биологично активни вещества на БАН в Пловдив през годините от 1974 до 1992. Разработени са нови синтетични методи за получаване на изохинолинови съединения и техни производни. На базата на известната в синтетичната органична химия реакция на алфаамидоалкилиране са развити няколко варианта на вътрешно алфаамидоалкилиране, водещи до изграждането на разнообразни структури от изохинолинови съединения. Получени са голям брой нови изохинолинови структури и са синтезирани няколко природни изохинолинови алкалоиди. Тази проблематика е разширена и за получаване на няколко амидни хербициди като алахлор, дуал и др., за които заедно със сътрудници от Базата за развитие и внедряване на химическия завод “Агрия” в Пловдив са разработени лабораторни и производствени технологии. Получени са и много нови вещества с очаквана пестицидна активност, която е установена за някои от тях от проведен биологичен скрининг у нас и в чужбина. По тази проблематика са защитени две кандидатски дисертации и много дипломни работи.

Като резултат от всички тези изследвания са публикувани над 120 научни публикации в наши и чужди специализирани списания и на 14 авторски свидетелства.

За нуждите на обучението проф. Моллов е написал в съавторство учебник “Органична химия”, претърпял две издания (1981 г. и 1988 г.). През 1994 г. излиза и неговия самостоятелен учебник по Органична химия.

През целия период на работа в Химическия факултет на ПУ “П. Хилендарски” проф. Моллов работи по съвместителство и към Института по

Органична химия на БАН, като от 1980 г. оглавява Лабораторията по биологично активни вещества на ИОХ при БАН в Пловдив. Той беше по един мандат заместник-декан, а също и Декан на факултета.

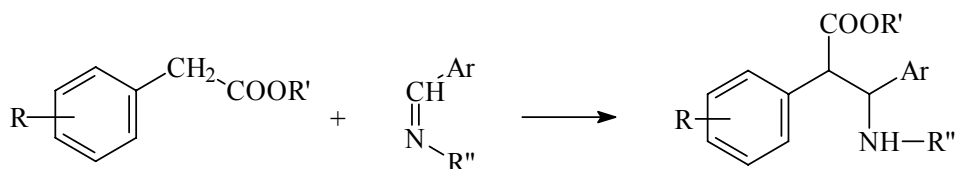
За научната си и педагогическа дейност проф. Н. Моллов е награждаван с ордени и медали. Получил е и званието “Заслужил деятел на науката” (1987 г.).

ХИМИЯ НА ПРИРОДНИ И СИНТЕТИЧНИ ИЗОХИНОЛИНОВИ СЪЕДИНЕНИЯ

ОБЗОР

проф. д.х.н. Никола Моллов

Химията на природните и синтетични изохинолини се развива непрекъснато като област на научно изследване. Постоянният интерес към нея се определя от широкото разпространение на изохинолинови вещества в природата, важната им роля като молекули с биологична активност и като съединения, намерили широко практическо приложение в медицината и много други области на практиката. Сред тях са голяма група алкалоиди, наречени изохинолинови алкалоиди, разпространени най-вече в растенията. Обзорът ни е насочен към представяне на изследователските резултати на група химици от катедрите по органична химия на СУ "Климент Охридски" и ПУ "Паисий Хилендарски", както и на Института по органична химия на БАН, дейността на които беше свързана с горната проблематика. Около 1950 година в катедрата по органична химия на СУ „Климент Охридски“ възникна група, оглавена от Богдан Куртев, тогава доцент, наскоро завърнал се от аспирантура в Москва. Дисертационната проблематика на аспирантската му теза беше разработване на синтетичен метод за получаване на 3-аминопропанови киселини от маленова киселина и азометинови съединения. У нас, Куртев и Моллов създадоха нов синтетичен метод за получаване на естери на 2,3-диарил-3-аминопропанови киселини състоящ се във взаимодействие на естери на арилоцетни киселини и Шифови бази в присъствието на безводен алуминиев хлорид: /1-12/



Синтетичните продукти от тези изследвания съдържаха 2-фенилетиламинов фрагмент в структурата си, която стои в основата на широко известните реакции за синтеза на изохинолини на Бишлер-Напиралски и на

Пикте-Шпенглер. Още тогава, беше обърнато внимание на тази възможност и затова се потърси по-широка информация върху химията на природните и синтетични изохинолини.

През 1960 г. към БАН се изгради Институт по органична химия, един от най-старите институти към това научно учреждение. За директор на този институт беше назначен проф. Богдан Куртев, който остана като такъв в продължение на много години. Към института се създаде секция по "Химия на природните органични вещества", а към тази секция се организира група по "Химия на алкалоидите". Към последната преминах и аз, като ст. н. сътрудник. По-късно със субсидия на ПРООН към ИОХ се изгради Центъра по фитохимия. Името на института са промени в Институт по органична химия с Център по фитохимия /ИОХ-ЦФ/ и към него се създаде лаборатория по "Химия на алкалоидите", чиито главен научен проблем стана химията на изохинолиновите алкалоиди. Освен мен към проблема се включиха да работят Хедвина Дучевска, Васил Георгиев, Орлин Петров, Стефан Филипов и Васил Огнянов. В дейността на лабораторията участваха и някои аспиранти и специализанти, от страната и чужбина. Постиженията на изследователския колектив са отразени в десетки публикации и няколко дисертации "Кандидат на химическите науки" и една на „Доктор на химическите науки”.

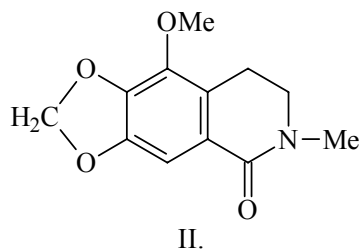
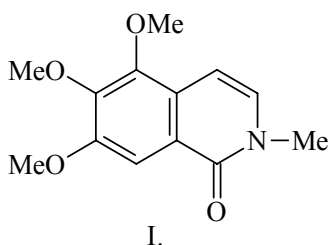
Поредица растения растящи в страната бяха изследвани за алкалоиди, но най-важни са резултатите получени за растенията от рода Таликтрум /Обичниче/ и Фумария /Росопас/, богати на изохинолинови алкалоиди. Проучванията на разпространените в страната представители доведоха до откриването на около 20 неописани алкалоиди и още толкова познати за науката, но за първи път установени в наши растения. При проучването на химичните свойства на алкалоидите бяха използвани актуални за времето си методи и резултатите се споделяха от учени от целия свят. Много от резултатите бяха представени на световни научни форуми и най-вече на Международния симпозиум по химия на природните вещества на ЮПАК, който през 1978 година беше организиран от ИОХ-ЦФ във Варна – „Златните пясъци”. Написана е и монография "Таликтрум алкалоиди", с автори Н. Моллов, Х. Дучевска и В. Георгиев, издадена от Издателството на Унгарската академия на науките.

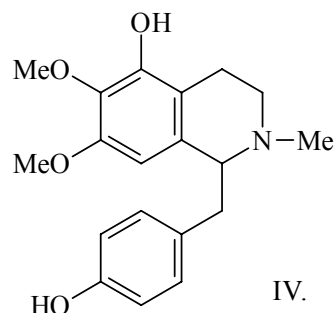
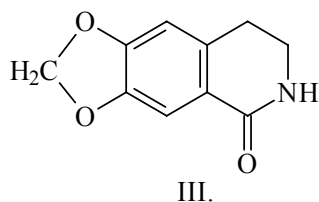
Родът Таликтрум от сем. Ранункулацее обединява многогодишни тревисти растения, разпространени предимно в умерените географски области на северното полукълбо. Най-често тези растения са алкалоидоносни, съдържащи от следи до 2% алкалоиди. Изследвани са растения от този род в САЩ, Япония и СССР. У нас най-разпространен е Т. минус, вероятно в няколко вариации, но по онова време родът не беше разработен ботанически. Други спонтанно растящи видове бяха Т. фетидум, Т. симплекс, Т. аквилегифолиум и Т. луцидум. Последният съдържаеше само следи от алкалоиди и не беше подложен на проучване. Детайлни изследвания бяха направени на няколко представители на Т. минус в страната, главно на надземни части на растенията и на един от тях, този намерен край Сливен, и корените и цветовете.

Изследваните растения съдържаха около 27 алкалоида, от които 14 се оказаха новоописани, а останалите се описваха за първи път за нашите растения. Новите алкалоиди бяха структурно проучени с помощта на съвременни спектрални методи, химически трансформации, някои насрещни синтези и в много случаи, чрез сравнения с познати вещества. Всички изолирани и идентифицирани алкалоиди се оказаха от групата на изохинолините, няколко просто построени изохинолини, няколко примера на бензилизохинолини и апорфини. По-голям беше броят на бисбензилизохинолините, главно, със свързване на двете бензилизохинолинови части с два етерни моста. Най-важни, обаче, се оказаха бензилизохинолин-апорфиновите алкалоиди, една сравнително нова група за химията на алкалоидите. Изохинолините, бензилизохинолините и апорфините може да са изходни вещества в биохимичното изграждане на по-сложните бисструктури, а може да са и тяхни разпадни продукти. Това все още не е уточнено, но по-важно е откритието им и структурното проучване. По-долу се описват резултатите за изследваните от нас растения от рода Таликтрум, без да са реферирани по-нови химични данни.

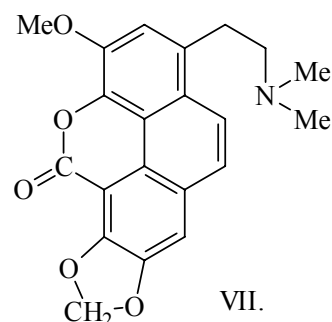
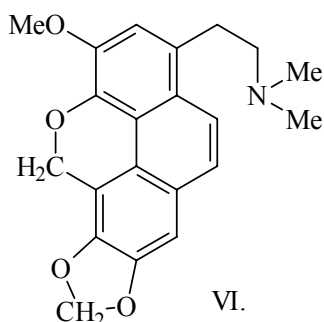
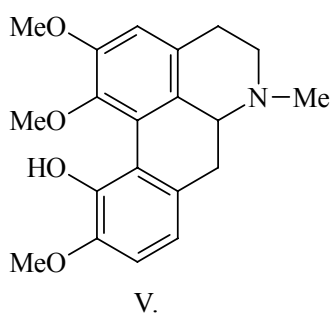
Алкалоидите, които са изградени само от изохинолинова пръстенна система, съответно заместена, се означават като прости изохинолинови алкалоиди. В изследваните от нас растения бяха намерени талактамин /I/ в надземните части на Т. минус, събран край Балчик. Структурата му се изясни с химически и спектрални изследвания и чрез насрещната му синтеза /13,14/. От надземните части на Т. минус намерен в Лозенска планина, край София, беше изолиран талфлавин /II/, открит и от други автори. Третият алкалоид, намерен от нас в Т. минус от находище край Сливен, се оказа добре известния нор-оксохидрастинин /III/.

Броят на бензилизохинолиновите алкалоиди в растенията от рода Таликтрум е силно ограничен. Такъв алкалоид беше намерен само в корените на Т. минус от Сливен. Той се оказа новоизолиран и наречен ТАЛМЕЛИН /IV/, а структурата му е потвърдена и чрез синтез на рацемата. Тя е посочена по-долу /15-16/:

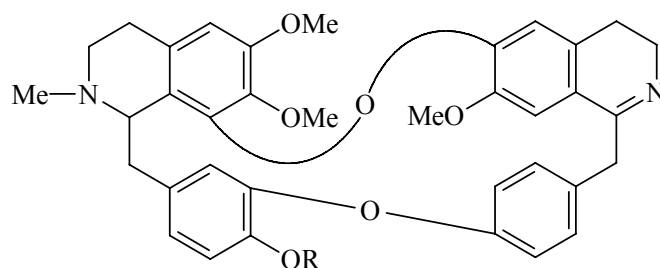




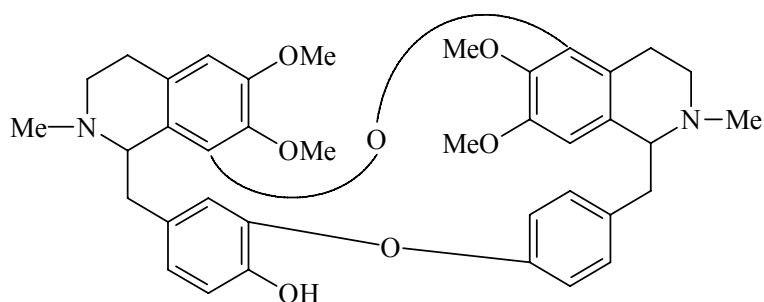
Апорфинови алкалоиди също са срещани рядко сред Таликтрум - растенията. Ние намерихме само ИЗОКОРИДИН /V/ в Т. аквилегафолиум. При изследването, обаче, на алкалоидната смес на Т. ругозум култивиран в градината на Ботаническият институт при БАН, бяха открити новите алкалоиди ТАЛИГЛУЦИН /VI/ и ТАЛИГЛУЦИНОН /VII/. Ние ги отнесохме към групата на апорфините, тъй като могат да се разглеждат, че са получени от съответните апорфини в резултат на биохимичен или фотохимичен процес, подобен на Хофмановото разпадане на апорфинови алкалоиди /17, 18/:



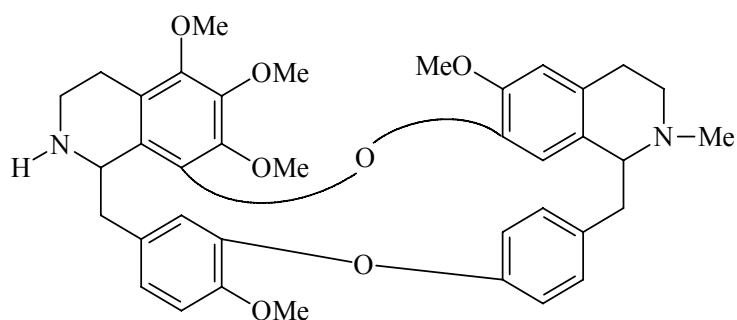
Най-широко са представени бисбензилизохинолиновите алкалоиди в растенията от рода Таликтрум. Изолирани и идентифицирани в изследваните от нас растения са познатите бербамин, изотетрандрин, хернандезин, талсимин, талидезин, таликберин и О-метилталикберин. Освен посочените, бяха открити и четири нови алкалоида, два от които от сравнително новата група с въглерод-азот двойна връзка в едната част на бисбензилизохолиновата молекула, наречени от нас ТАЛМЕТИН /VIII/ и О-МЕТИЛТАЛМЕТИН /IX/. Те се различават по това, че първият съдържа фенолна хидроксилна група, която може да се метилира и превърне във втория. Тези алкалоиди бяха открити във формата на Т. минус, разпространена в Лозенска планина /19/. От Т. фетидум намерен в Родопите, над Бачковския манастир, беше изолиран друг нов бисбензилизохинолинов алкалоид, наречен ТАЛФЕТИДИН /X/ /20, 21/, а от Т. симплекс, намерен в Рила, алкалоида ТАЛИСАМИН /XI/ /21/:



VIII. R=H
IX. R=Me



X.

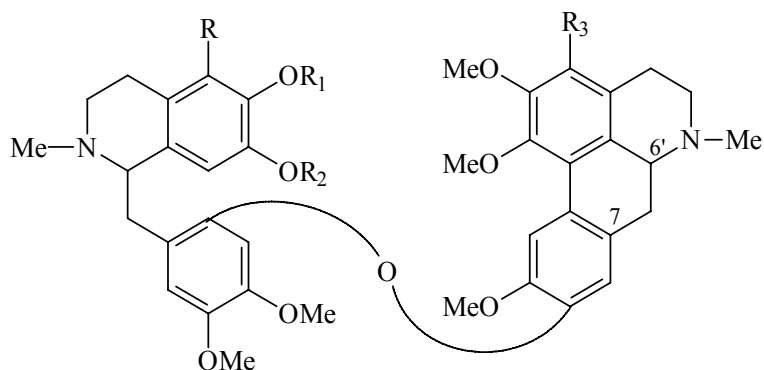


XI.

Апорфин-бензилизохинолините са нова група алкалоиди. Първият алкалоид от групата беше изолиран от разпространения в САЩ *T. dasycarpum*, наречен Таликарпин /XII/. Той беше широко изследван за антитуморните му качества, но до медицинско приложение не се стигна. Ние изолирахме таликарпин от надземните части на растението, намерено край Сливен. Превърнат в хлороводородна сол, таликарпинът беше подложен на широки лабораторни фармакологични изследвания и у нас. По-късно интересът към него се загуби.

Растението *T. minus*, разпространено край Сливен се оказа богато на апорфин-бензилизохинолини, някои от които в хода на изследването му бяха изолирани и химически проучени. Нов за групата се оказа и втория по количество алкалоид ТАЛМЕЛАТИН /XIII/. В по-малки количества бяха открити новите ДЕХИДРОТАЛИКАРПИН /XIV/ и ДЕХИДРОТАЛМЕЛАТИН /XV/ /24-28/. От корените на растението изолирахме ОДЕЗМЕТИЛАДИАНТИФОЛИН /XVI/ и ТАЛМЕЛАТИДИН /XVII/ с

посочените по-долу структури, както и познатия АДИАНТИФОЛИН /XVIII/ /29/:



XII. $R=R_3=H$
 $R_1=R_2=Me$

XIII. $R=R_2=R_3=H$
 $R_1=Me$

XIV. $R=R_3=H$
 $R_1=R_2=Me$
6',7 – двойна връзка

XV. $R=R_3=H$
 $R_1=Me$
 $R_2=H$
6',7 – двойна връзка

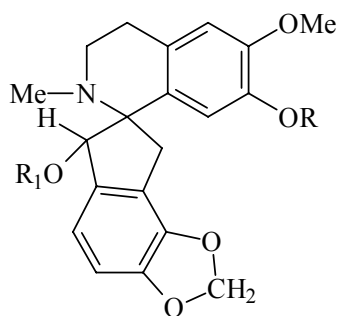
XVI. $R=H$
 $R_1=R_2=Me$
 $R_3=OMe$

XVII. $R=R_3=OMe$
 $R_1+R_2=CH_2$

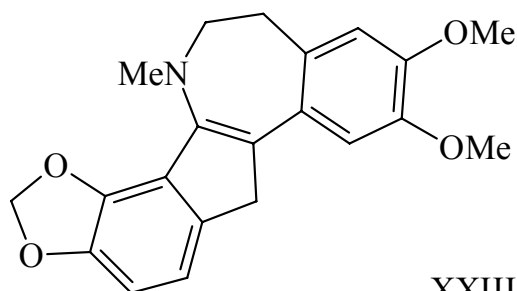
XVIII. $R=R_2=H$
 $R_1=Me$
 $R_3=OMe$

Върху алкалоидите на рода ТАЛИКТРУМ беше написана от Моллов, Дучевска и Георгиев монография, публикувана от издателството на Унгарската академия на науките /30/.

Около 1970 г., растенията от рода ФУМАРИЯ на сем. Fumariaceae предизвикаха интереса на няколко химически групи по света със съдържанието си на нови спиробензилизохинолинови алкалоиди. Техните структури, химични и спектрални отнасяния бяха оскъдно проучени. Нашият задочен аспирант Георги Якимов от ВМИ-Варна беше натоварен със задача да изследва алкалоидите на разпространените у нас Ф. официналис /росопас/, Ф. ростелата и събираната от „Билкокооп” смес от фумарии, като droga за билколечение. Открити бяха няколко нови спиробензилизохинолинови алкалоиди, чиито структури бяха изяснени във взаимодействие с две изследователски групи, от Канада и САЩ. Намереният от нас ФУМАРОФИЦИН се оказа със структура XIX, О-МЕТИЛФУМАРОФИЦИН – с XX, а ФУМАРИТРИН и ФУМАРИТРИДИН – с XXI и XXII, съответно. Наред с тези спиробензилизохинолини беше открит още БУЛГАРАМИН /XXIII/, вероятно получен от термичната прегрупировка на спиробензилизохинолините в растението /31-37/.

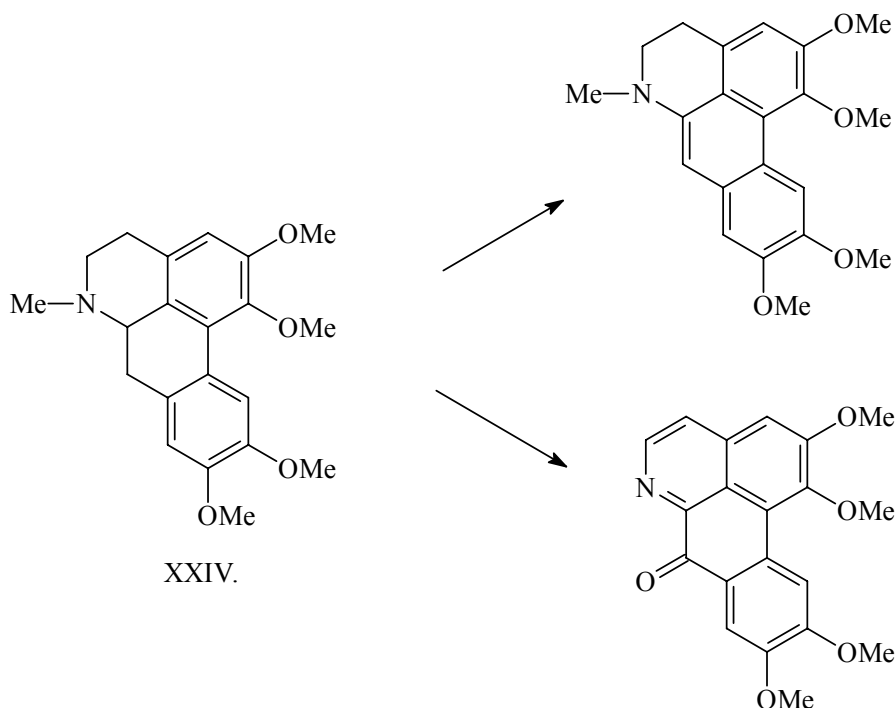


- XIX. R=H
R₁=Ac
XX. R=Me
R₁=Ac
XXI. R=R₁=H
XXII. R=H
R₁=Me



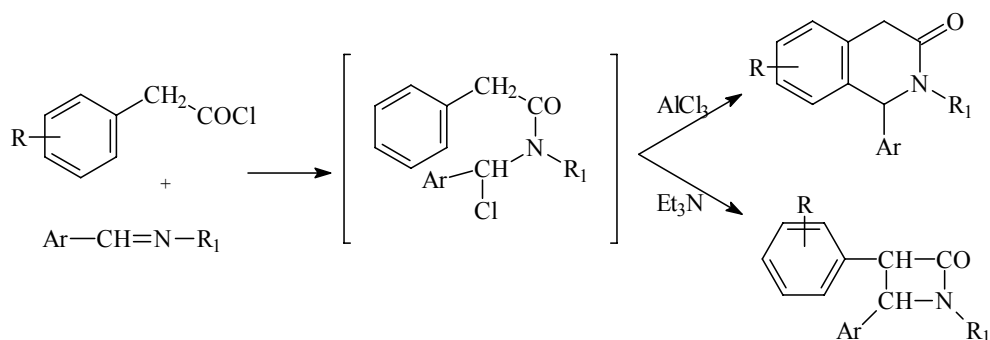
XXIII.

Накрая трябва да отбележа и нашите изследвания на разпространения в страната Глауциум флаум /жълт мак/. Известно е, че той съдържа като главен алкалоид ГЛАУЦИН /XXIV/, използван за получаването на противокашлячните препарати глаувент и глаутерпин. Глауцинът е сравнително стабилно съединение във вид на хлороводородна сол, но като база е нетраен и се променя на въздух и светлина. Нетрайни са и разтворите на базата в алкохол и хлороформ. За да се изяснят причините и продуктите на разпадане на глауцин в разтвори се проведе проучване на фотохимичното му отнасяне при облъчване с ултравиолетова светлина. Изследванията се извършиха от доц. Виолета Червенкова, член на катедрата по органична химия на Пловдивския университет в сътрудничество с проф. Стефан Пашич, от Познанския университет в Полша. Откриха се няколко, повече или по-малко, окислени производни на глауцин, някои от които със структури, предполагащи цвят на химическата молекула /38/.



Синтетични химически изследвания върху изохинолинови алкалоиди бяха предприети във връзка със структурното им проучване като се използваха познати методики [14,16,40]. През 1974 г., след преминаването ми като ръководител на катедрата по органична химия на ПУ „Паисий Хилендарски“, започнахме системно търсене на нови синтетични способи за добиване на разнообразни изохинолини, включително и на природни такива. Вниманието ни се насочи към синтетичното приложение на N-ацилиминиеви реагенти в реакции на амидоалкилиране на ароматни съединения и особено на вътрешномолекулно амидоалкилиране. В колектива взеха участие доц. Атанас Венков, по-късно професор и ръководител на катедрата до неговата смърт. Участваха още и преподавателите Людмил Луканов, Илиян Иванов и Стела Статкова, както и химичката Магдалена Николова и много студенти, дипломанти и кръжочници.

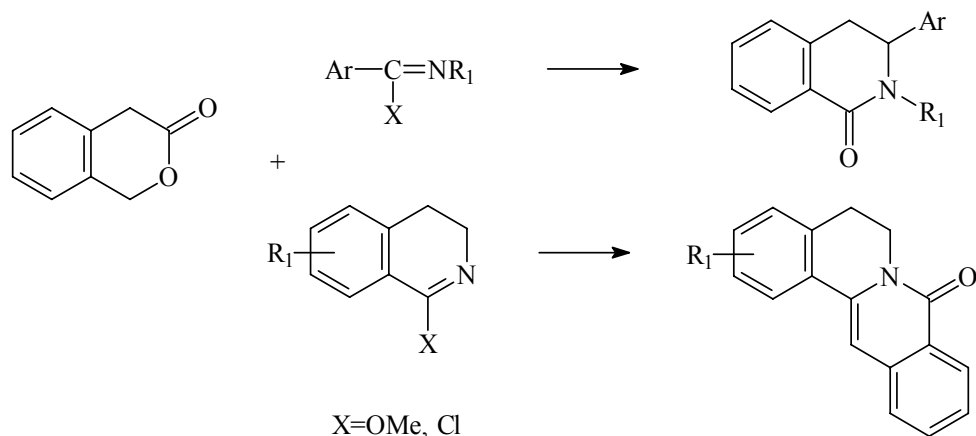
N-ацилиминиеви реагенти се получават лесно и с добри добиви от азометинови съединения и киселинни халогениди. Те се оказаха с добра реактивоспособност в реакции на електрофилно заместване на ароматни молекули. В първото направление на посочената схема, реакцията може да се ускори с безводен алуминиев хлорид. При вътрешномолекулното амидоалкилиране продуктите са изохинолинови съединения. Когато СН-киселинността на алфа-въглеродните атоми на киселинният халогенид е по-голяма, протичат електрофилни замествания при този въглерод с получаване на бета-лактами, както е посочено в схемата:



Второто направление също може да се използва за получаване на β -лактами, особено в присъствие на основен катализатор /40-44/.

По-късно се развиха още варианти, например с използването на киселини, вместо ацилхалогениди, в реакционна среда тионилхлорид или фосфореноксихлорид /45,46/. Когато Шифовата база е образувана от 2-фенетиламин и алдехид, при горните условия с карбоксилна киселина се получава N-ацилтетрахидроизохинолин, чиято структура може да се моделира до природен алкалоид /47,48/. Показано е и получаването на тетрахидроизохинолини от амиди на фенилетиламин, например формамид и фосфореноксихлорид.

В катедрата по органична химия на СУ "Климент Охридски" беше разработена дисертационната работа на научния сътрудник от групата по алкалоиди при ИОХЦФ-БАН Васил Огнянов, под ръководството на професорите Мариета Хаимова и Н. Моллов. В нея се изследваха системно реактивоспособността на хомофталови анхидриди и различни ациклични и циклични съединения, с двойна C,N-връзка. Ацикличните имини продуцираха в реакционните условия 1(2H)-изохинолинони, а цикличните – бербин-8-они /49,50/.



На базата на всички гореописани изследвания бяха защитени голям брой дипломни работи, три дисертации за получаване на старата научна степен "Доктор на химичните науки" и четиринадесет дисертации от типа "Кандидат на химическите науки".

Изказвам дълбока благодарност на всички споменати и не споменати мои сътрудници, специализанти и дипломанти. Мнозина от тях израснаха в научното поприще и работят успешно до днес. Други се пенсионираха. Да са живи и здрави! Някои ни напуснаха за винаги, но ние ще съхраним спомена за тях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Б. Й. Куртев, Н. М. Моллов, ДАН СССР, 101, №6, 1069 (1955).
2. Н. М. Моллов, Б. И. Куртев, ДАН СССР, 102, №2, 287 (1955).
3. Б. Й. Куртев, Н. М. Моллов, CR. Acad. Bulg. Sci, 8, №4, 21 (1955).
4. Н. М. Моллов, ДАН СССР, 106, №3, 482 (1956).
5. Н. М. Моллов, М. А. Митева, CR. Acad. Bulg. Sci, 9, №1, 31 (1956).
6. Н. М. Моллов, Н. Х. Спасовска, CR. Acad. Bulg. Sci, 9, №4, 45 (1956).
7. Б. Куртев, Н. Моллов, Изв. БАН, ОГГХН, IV, 411, (1956).
8. B. J. Kurtev, N. Mollov, Acta Chim. Hung., 18, 429, (1959).
9. Н. М. Моллов, Н. Х. Спасовска, П. Ч. Петрова, CR. Acad. Bulg. Sci, 13, №4, 419 (1960).
10. Н. М. Моллов, М. В. Божилова, В. И. Баева, CR. Acad. Bulg. Sci, 13, №3, 307 (1960).
11. Н. М. Моллов, Годишник Соф. Университет, 54, 189, (1959/60).
12. Н. М. Моллов, П. Ч. Петрова, Изв. БАН, ОХН, т.1, кн. 1, 51, (1968).
13. N. M. Mollov, H. B. Dutschewska, Tetrahedron Let., №24, 1951, (1968).
14. H. B. Dutschewska, N. M. Mollov, Commun. Bulg. Acad. Sci., Vol. VIII, №1, 134, (1975).
15. N. M. Mollov, P. P. Panov, Le Nyat Thuan, L. N. Panova, CR. Acad. Bulg. Sci, 23, №10, 1243 (1970).
16. V. St. Georgiev, N. M. Mollov, Commun. Dept. Chem., Vol. III, №4, 775, (1970).
17. N. M. Mollov, P. P. Panov, Le Nyat Thuan, L. N. Panova, CR. Acad. Bulg. Sci, 23, №2, 181 (1970).
18. N. M. Mollov, Le Nyat Thuan, P. P. Panov, CR. Acad. Bulg. Sci, 24, №28, 1043 (1971).
19. N. M. Mollov, H. B. Dutschewska, H. G. Kirjakov, Chem. and Ind., 1595, (1965).
20. N. M. Mollov, V. St. Georgiev, Chem. and Ind., 1178, (1966).
21. N. M. Mollov, V. St. Georgiev, CR. Acad. Bulg. Sci, 20, №4, 329 (1967).
22. V. St. Georgiev, N. M. Mollov, Phytochemistry, 10, 2161, (1971).
23. N. M. Mollov, V. St. Georgiev, D. Jordanov, P. Panov, CR. Acad. Bulg. Sci, 19, №6, 491 (1961).
24. N. M. Mollov, H. B. Dutschewska, P. Panov, CR. Acad. Bulg. Sci, 17, 709, (1964).
25. N. M. Mollov, H. B. Dutschewska, Tetrahedron Let., №8, 853, (1966).
26. N. M. Mollov, H. B. Dutschewska, CR. Acad. Bulg. Sci, 19, №6, 495, (1966).
27. H. B. Dutschewska, N. M. Mollov, Chem. and Ind., 770, (1966).

28. H. B. Dutschewska, N. M. Mollov, Chem. Ber., 100, 3135 (1967).
29. N. M. Mollov, Le Nyat Thuan, CR. Acad. Bulg. Sci, 24, №5, 601, (1975).
30. N. M. Mollov, H. B. Dutschewska, V. St. Georgiev, Thlictrum Alcaloids, Recent Development in the Chemistry of Natural Carbon Compound (монография). Academiai Kiado, Budapest, Vol. 4, 192, (1971).
31. N. M. Mollov, G. I. Jakimov, P. Panov, CR. Acad. Bulg. Sci, 20, №6, 557, (1967).
32. N. M. Mollov, G. I. Jakimov, CR. Acad. Bulg. Sci, 24, №7, 1325, (1971).
33. N. M. Mollov, G. I. Jakimov, CR. Acad. Bulg. Sci, 25, №1, 59, (1972).
34. N. M. Mollov, H. G. Kirjakov, G. I. Jakimov, Phytochemistry, 11, 2331, (1972).
35. M. Castillo, J. K. Sanders, D. B. Mac Lean, N. Mollov, G. Jakimov, Canad J. Chem., 49, №1, 139, (1971).
36. B. Gözver, M. Shamma, H. G. Kirjakov, G. I. Jakimov, N. M. Mollov, J. Natural Prod., 46, №3, 433, (1983).
37. G. I. Jakimov, N. M. Mollov, J. E. Leet, H. Guinandeau, A. J. Freyer, M. Shama, J. Natural Prod., 47, №6, 1048, (1984).
38. V. Chervenкова, N. M. Mollov, S. Paszyc, Phytochemistry, 20, №9, 2285 (1981).
39. N. M. Mollov, A. P. Venkov, S. Nikolova, CR. Acad. Bulg. Sci, 30, №2, 253, (1977).
40. N. M. Mollov, A. P. Venkov, CR. Acad. Bulg. Sci, 28, №8, 1055, (1975).
41. N. M. Mollov, A. P. Venkov, Commun. Dept. Chem., 10, 616, (1977).
42. N. M. Mollov, A. P. Venkov, Acta Chim. Hung., 98, 315, (1978).
43. A. P. Venkov, N. M. Mollov, CR. Acad. Bulg. Sci, 32, №37, 895, (1979).
44. A. P. Venkov, N. M. Mollov, CR. Acad. Bulg. Sci, 34, №10, 1405, (1981).
45. A. P. Venkov, N. M. Mollov, Synthesis, №3, 216, (1982).
46. A. P. Venkov, L. K. Lukanov, N. M. Mollov, Synthesis, №2, 204, (1987).
47. N. M. Mollov, A. P. Venkov, Synthesis, №1, 62, (1978).
48. L. K. Lukanov, A. P. Venkov, N. M. Mollov, Synthesis, №11, 1031, (1987).
49. V. I. Ognyanov, M. A. Haimova, N. M. Mollov, Heterocycles, 19, №4, 1069, (1982).
50. M. A. Haimova, V. I. Ognyanov, N. M. Mollov, Synthesis, №10, 845, (1980).

СЪЩЕСТВУВА ЛИ ЛИНЕЙНА ЗАВИСИМОСТ МЕЖДУ МОЛЕКУЛНАТА МАСА НА ТЕТРАЗОЛОВИТЕ КАТИОНИ И СТАБИЛНОСТТА НА ЙОННО-АСОЦИИРАНИТЕ ИМ КОМПЛЕКСИ?

К. Гавазов, А. Димитров, В. Лекова, Е. Караасенова
Катедра Обща и неорганична химия, Пловдивски университет
„П. Хилендарски“, ул. „Цар Асен“ 24, Пловдив 4000,

ABSTRACT

A thesis is supported in the literature for existence of a linear relationship between the association constants of the tetrazolium ion-associated complexes β_{TIAc} and their molecular weights. The present investigations show that β_{TIAc} of the complexes containing nitro-groups are significantly lower than the calculated ones by equation of a straight line. That is why these constants must not be used for calculation of β_{TIAc} of new complexes and for correction of experimentally obtained values. A new mode for calculation and correction of β_{TIAc} is proposed.

Keywords: tetrazolium, ion-associated complexes, linear relationship, association constant, molecular weight

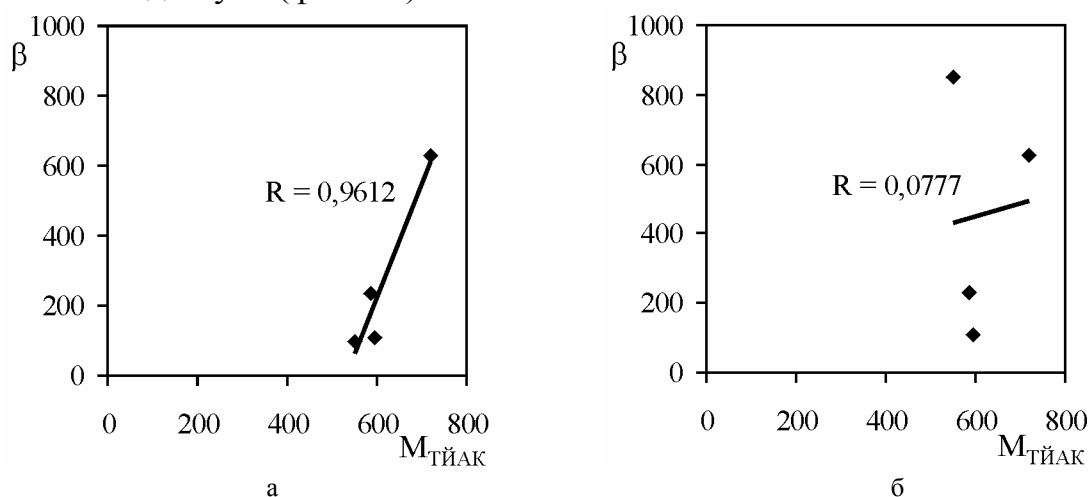
ВЪВЕДЕНИЕ

В литературата [1-3] е съобщено, че съществува линейна зависимост между асоциационните константи на тетразоловите йонно-асоциирани комплекси ($\beta_{\text{ТИАК}}$) и молекулната им маса ($M_{\text{ТИАК}}$). Тази зависимост е използвана за изчисляване на стойностите на β на неизследвани комплекси [2,3], за коригиране на определени по експериментален път $\beta_{\text{ТИАК}}$ [1-3] и за предсказване на възможността за асоциация между йони с дадена молекулна маса [1,2].

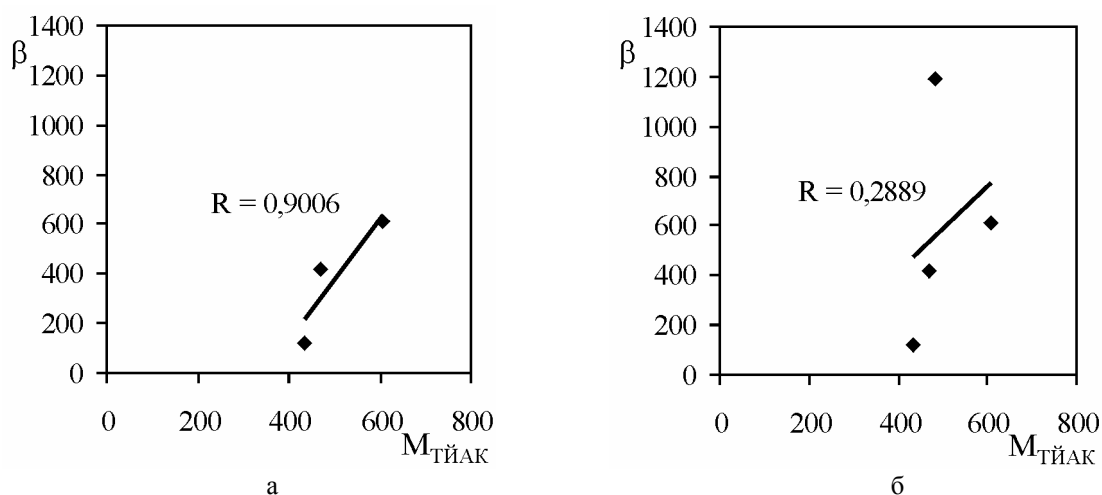
С течение на времето се натрупаха голям брой експериментални резултати, които противоречат на изводите направени в [1-3]. Въпреки, че „определянето на асоциационните константи по експериментален път е свързано със значителни случайни и методични грешки“ [2,3] тези резултати не трябва да се пренебрегват, тъй като същото е в сила и за данните „доказващи“ наличието на линейна зависимост. Освен това последните са малко на брой (факт признат от

авторите на [2,3]), а и тяхната надеждност е незадоволителна (виж по-долу). В [4] са посочени примери на противоречие с тезата застъпена в [1-3], които се обясняват с „конкуриращи равновесия“. В същия литературен източник, озаглавен „Потвърждаване на зависимостта $\beta = f(M)$ с помощта на различни екстракционни системи“ се забелязват неточности и пропуски, отричащи заглавието му. По-долу са представени някои критични бележки към изследванията [1-4], а необходимите за вникването в съдържанието им молекулни маси и съкращения са показани в таблица 1:

1. Системата тетразолова сол – ReO_4^- е главна опора на „доказателството“ за линейна зависимост между β и M . Експерименталните данни според [1-3] са показани на фиг. 1а и стойността на β за $(\text{TT})\text{ReO}_4$ е $(0.96 \pm 0.11) \times 10^2$. Съгласно първоизточника [5] (виж [2,3,6]), обаче, тази стойност е с един порядък по висока ($\beta = 0.851 \times 10^3$). В такъв случай коефициентът на корелация (R) между β и M е близък до нула (фиг. 1б).



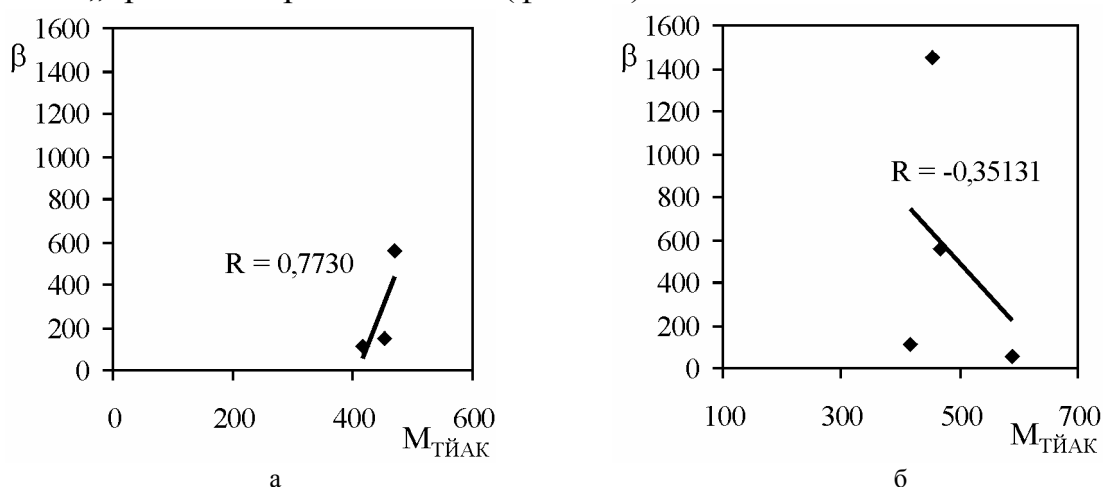
Фигура 1. Графична зависимост между β и молекулната маса на йонно-асоциирания комплекс на ReO_4^- с TT^+ , MTT^+ , $p\text{-NT}^+$ и INT^+ . а) съгласно данни от [1-3]; б) съгласно данни за $(\text{TT})\text{ReO}_4$ от първоизточника [5]



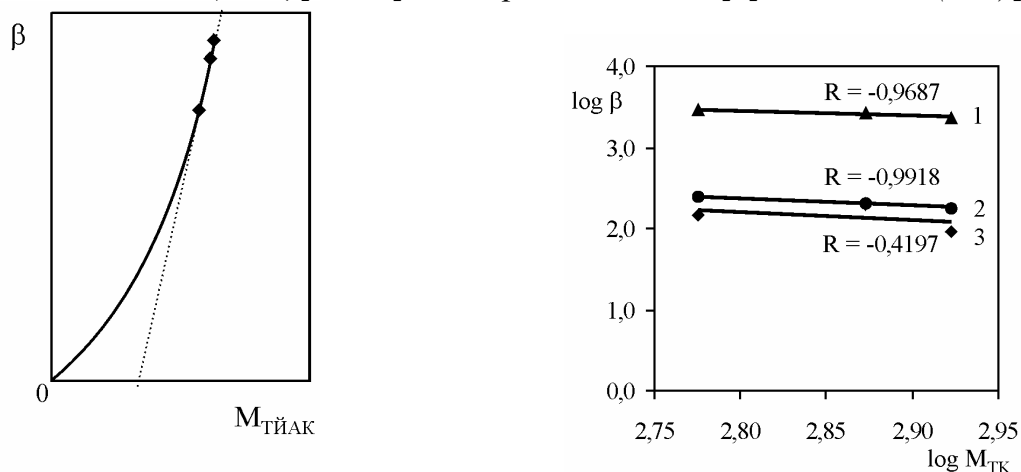
Фигура 2. Графична зависимост между β и молекулната маса на ТИЯК на $[\text{CrO}_3\text{Cl}]^-$ а) съгласно [4] (данни за комплексите с TT^+ , MTT^+ и INT^+); б) съгласно [4] плюс данни за $(\text{TV})[\text{CrO}_3\text{Cl}]$ [7].

2. Системата тетразолова сол – $[\text{CrO}_3\text{Cl}]^-$ е един от двата единствени аргумента „потвърждаващи“ наличието на линейна зависимост между β и M [4]. В посочените данни [4], обаче, не са включени (но са цитирани по друг повод) изследванията [7] на същия автор за комплекса с TV (фиг. 2а). Ако тези данни се вземат под внимание (фиг. 2б) се вижда, че стойността на R е ниска и не може да докаже съществуването на линейна зависимост.

3. Другият аргумент в полза на „линейната зависимост“ в [4] е системата тетразолова сол – MnO_4^- (фиг. 3а). Той е още по-неприемлив, защото стойността на β за комплекса $(\text{MTT})\text{MnO}_4$ не е $1,45 \times 10^2$, а $1,45 \times 10^3$ [8]. Освен това не са включени изследванията на същия автор [9] за комплекса с INT. Като се нанесат съответните поправки и се процедира по начина описан в [1-4] се получава „права“ с обратен наклон (фиг. 3б).



Фигура 3. Графична зависимост между β и молекулната маса на ТИАК на $[\text{MnO}_4]^-$ а) съгласно [4] (данни за комплексите с TT^+ , MTT^+ и TV^+); б) коригирано, съгласно данни за $(\text{MTT})[\text{MnO}_4]$ от първоизточника [8] и данни за $(\text{INT})[\text{MnO}_4]$ [9].



Фигура 4. Не е изключено експериментално получената „права“ да е част от крива, достигаща началото на координатната система.

Фигура 5. β намалява с нарастване на M за системите съдържащи дитетразоловите катиони NT^{2+} , NBT^{2+} и TNBT^{2+} : $(\text{TK})[\text{Zn}[\text{SCN}]_4]$ [6,11-13] (права 1), $(\text{TK})[\text{Co}[\text{SCN}]_4]$ [6,12,13] (права 2) и $(\text{TK})[\text{Cd}[\text{SCN}]_4]$ [6,12-14] (права 3).

Таблица 1. Съкращения и молекулни маси на тетразоловите соли и техните катиони

Тетразолова сол (ТС)	Съкращение на ТС	$M_{ТС}$	Съкращение на ТК	$M_{ТК}$
2,3,5-трифенил-2Н-тетразолов хлорид	TTC	334.41	TT^+	298,96
3-(4,5-диметил-2-тиазол)-2,5-дифенил-2Н-тетразолов бромид	MTT	414.31	MTT^+	334,41
2-фенил-3-(4-нитрофенил)-5-фенил-2Н-тетразолов хлорид	p-NT	379.82	$p-NT^+$	344,37
3-(2-нафтил)-2,5-дифенил-2Н-тетразолов хлорид (Тетразолвиолет)	TV	384.86	TV^+	349,41
2-(4-йодофенил)-3-(4-нитрофенил)-5-фенил-2Н-тетразолов хлорид	INT	505.70	INT^+	470,25
3,3'-(4,4'-бифенилен)бис(2,5-дифенил-2Н-тетразолов хлорид) (Неотетразолов хлорид)	NTC	667.60	NT^{2+}	596,70
3,3'-[3,3'-диметокси(1,1'-бифенил)-4,4'-диил]-бис[2,5-дифенил-2Н-тетразолов]хлорид (Блаутетразолов хлорид)	BTC	727.66	BT^{2+}	656,76
3,3'-(3,3'-диметокси-4,4'-бифенилен)бис[2-(4-нитрофенил)-5-фенил-2Н-тетразолов хлорид] (Нитроблаутетразолов хлорид)	NBT	817.65	NBT^{2+}	746,75
3,3'-[3,3'-диметокси (4,4'-бифенилен)]-бис[2,5-бис(4-нитрофенил)-2Н-тетразолов хлорид] (Тетранитроблаутетразолов хлорид)	TNBT	907.6	$TNBT^{2+}$	836,70

4. Най-убедителните прави в [1], а именно за асоциатите на TT^+ , $p-NT^+$, TV^+ и INT^+ с SCN^- и на TT^+ с Cl^- , Br^- и I^- се базират на „непубликувани резултати“.

5. Липсва статистическа оценка на „линейността“. Съвпадането на експерименталните и теоретично изчислените стойности на β в [2] има единствено естетическа стойност и маскиращ ефект.

6. В [2] се посочва, че „не биха могли да се намерят сериозни мотиви да не бъде извършена екстраполация извън експерименталните точки. От едната страна правите са неограничени, а от другата пресичат координатата на молекулните маси ...“. Подобно твърдение е некоректно, защото: а) Не е изключено експериментално получените „прави“ да са част от криви, достигащи началото на координатната система (фиг. 4) ¹. Такова допускане най-добре отразява факта, че „стойността за β за даден ЙАК може да бъде само точно определена положителна величина“ [2]; б) При високи молекулни маси, асоциационните константи ще нарастват, а с това разстоянието между асоцииращите се йони ще намалява, като при достатъчно малки разстояния могат да се намесят стеарични фактори.

Изброените критични бележки показват, че източниците [1-4] не съдържат убедителна информация ², доказваща съществуването на линейна зависимост

¹ За да се потвърди или отхвърли съществуването на подобна зависимост са необходими допълнителни изследвания с по-голям брой ТЙАК.

² От представените в [1-4] общо седем примера на „линейна зависимост“ некоментирани останаха само два. Те също не са достатъчно убедителни: а) разсейването на резултатите за системата тетразолова сол - $[Co(SCN)_4]^{2-}$ е голямо и не е възможно да се докаже, че R е статистически неотличим от +1; б) липсват данни за β на $(TV)TiCl_4$ и изводът за „линейност“ се прави само на

между β и $M_{\text{ТЙАК}}$. За да се направят правилни изводи за връзката между β и M е необходим по-задълбочен и безпристрастен анализ на натрупаните експериментални факти. Това е целта на настоящата работа. Постигането ѝ си струва усилията, особено ако води до практически резултати – изчисляване на стойностите на β на нови ТЙАК със задоволителна точност.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Изчерпателна литературна справка за изследванията върху ТЙАК е представена в [10]. Могат да се обособят три типа поведение на екстракционните системи по отношение на зависимостта $\beta = f(M)$:

1) β и M са независими величини (коефициентът на корелация K_{xy} е статистически неотличим от нула).

2) Обратнопропорционална зависимост: β намалява с нарастване на M (K_{xy} е близък до -1) (фиг. 5). Такова поведение е за очакване, според уравнението на Биерум, свързващо асоциационната константа и размера на йоните [15]. Алтернативно обяснение на хода на правите от фиг. 5 е представено по-долу.

3) Правопропорционална зависимост за част от експерименталните точки (K_{xy} е близък до +1). Природата ѝ логично е обоснована в [3]: „Вероятно с нарастване на молекулата на ЙАК, електронната плътност на асоцииращите се йони, разпределяйки се равномерно по повърхността им, намалява. Това би довело до намаляване на хидратацията на йоните, което е благоприятна предпоставка за асоциирането им. Въпреки, че различните тетразолови катиони са изградени от атоми с различна електроотрицателност, относителното им въздействие върху равномерното разпределение на плътността на заряда е малко и от там хидратацията съществено не се променя. По тази причина съществено не се променя и линейната зависимост $\beta = f(M_{\text{ЙАК}})$.”

На фиг. 6а са представени данни за серии ТЙАК в координати $\log\beta$ и $\log M_{\text{ТК}}$ (където $M_{\text{ТК}}$ е молекулната маса на тетразоловия катион). Считаме такова представяне за по-подходящо в сравнение с използваното в [1-4], защото молекулната маса на използвания анион е еднаква в рамките на дадена серия. Освен това няколко серии от опитни резултати нагледно могат да се представят в едни и същи координати. На фигурата са представени всички налични експериментални данни за ТЙАК на даден анион с TT^+ , MTT^+ , TV^+ и INT^+ . Те са публикувани от авторите на [1-4]. При осредняване на стойностите на β за ТЙАК с един и същ катион с цел намаляване на влиянието на случайните грешки (фиг. 6б) се получава интересен резултат. Коефициентът на корелация за точките отговарящи на TT^+ , MTT^+ и TV^+ е близък до единица ($R=0.9793$), а този за точките отговарящи на TT^+ , MTT^+ и TV^+ и INT^+ е близък до нула ($R=0.0922$). Фиг. 6б дава основание да се допусне че, линейна зависимост съществува само при определени условия – отсъствие в тетразоловия катион на

базата на три експериментални точки. Има основания да се счита (фигури 2б и 3б), че $(\text{TV})\text{TiCl}_4$ може да е по-стабилен от $(\text{INT})\text{TiCl}_4$.

-NO₂ група. При наличието на такава група (в случая в INT⁺), асоциационната константа има стойност по-ниска от изчислената, съгласно уравнението на права, определена от останалите експериментални точки. Такова допускане е в съгласие и с резултатите представени на фиг. 5. NT²⁺ не съдържа нитрогрупа. NBT²⁺ и TNBT²⁺ съдържат съответно две и четири нитрогрупи и наблюдаваните коефициенти на корелация са близки до -1. Подобни коефициенти на корелация се наблюдават и при представяне на данните в координати β_{ТЙАК} и брой на нитрогрупите в тетразоловия катион – N (фиг. 7).

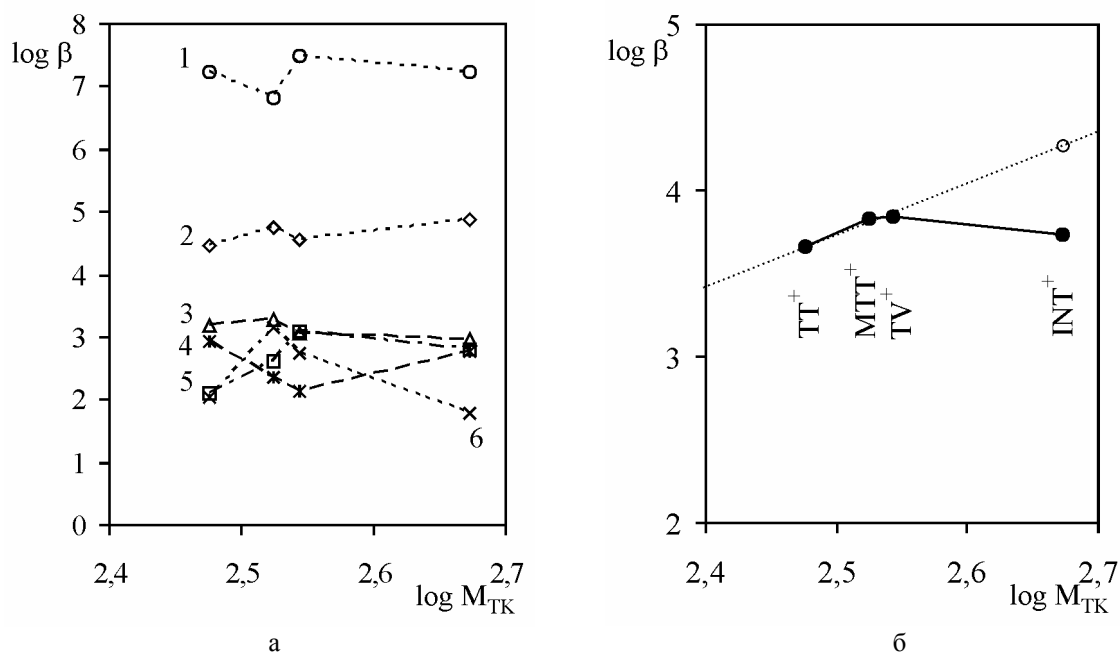
Друго указание, че направеното допускане е правилно са експерименталните резултати [29]. Стойността на β за ТЙАК на ReO₄⁻ с p-NT⁺ е $(1,10 \pm 0,07) \times 10^2$ [2,3,29] (виж фиг.1а,б). Тази стойност е около два пъти по-ниска от стойността за по-лекия комплекс с МТТ [23], както и от „предсказаната” в таблица 1 от [1] стойност.

На фиг. 8 са показани резултати от изследвания на ТЙАК на V(V) с азопроизводни на резорцина и тетразолови соли [10,30-34]. Асоциационните константи на всички комплекси са определени по един и същ метод (на Комар-Толмачев) и са използвани реактиви с един и същ произход и еднакви или близки концентрации. Системата V(V)-PAR-INT-H₂O-хлороформ е изследвана повторно, поради откриване на методични грешки при определянето на състава [35] (подробности са представени в [10]). От фиг. 8 се вижда, че ходът на кривите е близък до този, показан на фиг. 6б и стойностите на асоциационните константи за комплексите с NO₂-съдържащи тетразолови катиони са значително по-ниски от очакваните, изчислени по уравнение на права определена от останалите експериментални точки от съответната серия. Коефициентите на корелация за точките за комплексите на [VO₂(PAR)]³⁻ и [VO₂(TAR)]³⁻ с TT⁺, МТТ⁺ и TV⁺ съответно са 0,9999 и 0,9994, което е достатъчно основание да се твърди, че в посочения интервал съществува линейна зависимост.

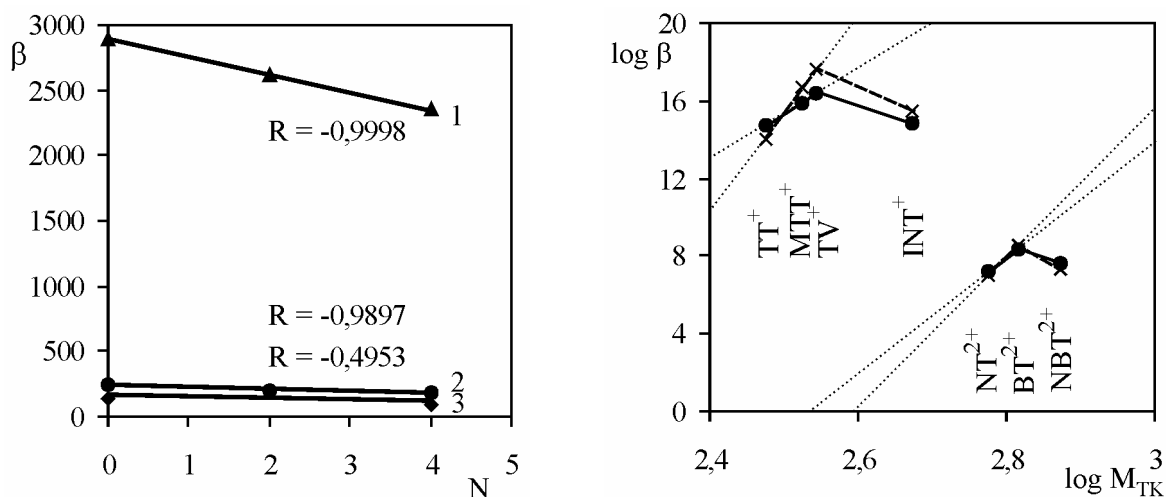
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В резултат на анализирането на повече от 100 литературни източника се стигна до заключението, че направените изводи [1-4] за наличие на линейна зависимост между β_{ТЙАК} и M_{ТЙАК} са принципно верни, но се нуждаят от съществени корекции и уточнения. Показано е, че асоциационните константи на комплексите с тетразолови катиони, съдържащи нитрогрупи са значително по-ниски от очакваните³. Ето защо изчисляването на β_{ТЙАК} на нови комплекси, по уравнението на права трябва да се извършва на базата на експериментално получени асоциационни константи на комплекси с тетразолови катиони, които не съдържат –NO₂, например TT⁺, МТТ⁺ и TV⁺ (или NT²⁺ и BT²⁺). Извършването на изчисления чрез екстраполация не е препоръчително. Такива изчисления трябва да се разглеждат като ориентировъчни.

³ Това вероятно се дължи на силно изразените електроноакцепторни свойства на –NO₂, но не е изключено намесването и на стеарични фактори.



Фигура 6. Зависимост между $\log \beta$ и $\log M_{TK}$. а) експериментални резултати: $(TK^+)_2[Zn(SCN)_4]$ [11,13,16,17] (крива 1), $(TK^+)_2[Co(SCN)_4]$ [1,13,16-18] (крива 2), $(TK^+)[HgI_3]$ [19-22] (крива 3), $(TK^+)[ReO_4]$ [5,23,24] (крива 4), $(TK^+)[CrO_3Cl]$ [4,7,25,26] (крива 5) и $(TK^+)[MnO_4]$ [8,9,17,27,28] (крива 6); б) след усредняване на стойностите на β за ТЙАК с един и същ катион (!); " - изчислено, съгласно уравнението на права, определена от точките за TT^+ , MTT^+ и TV^+ .



Фигура 7. β намалява с нарастване на броя на нитрогрупи (N) в дитетразоловите катиони NT^{2+} , NBT^{2+} и $TNBT^{2+}$: $(TK)[Zn[SCN)_4]$ [6,11-13] (права 1), $(TK)[Co[SCN)_4]$ [6,12,13] (права 2) и $(TK)[Cd[SCN)_4]$ [6,12-14] (права 3).

Фигура 8. Резултати от изследвания [10,30-34] на ТЙАК на $V(V)$ с азопроизводни на резорцина (! - 4-(2-пиридилазо)-резорцин, $\times$ - 4-(2-тиазолилазо)-резорцин) и тетразолови соли.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alexandrov A., Simeonova Zh., Kamburova M., *Bulgarian Academy of Science. Communications of the Department of Chemistry*, 1990, **23**, 542.
2. Александров А., Тетразоловите соли като реактиви в аналитичната химия, Автореферат на дисертация за получаване на научната степен „Доктор на химическите науки”, София, 1987, стр. 22.
3. Симеонова Ж., Екстракционни изследвания на тетразоловите соли като аналитични реактиви за рений, Автореферат на дисертация за получаване на научната степен „кандидат на химическите науки”, София, 1987, стр. 20.
4. Камбурова М., *Висш селскостопански институт – Пловдив, Научни трудове*, 1998, **43**, 31.
5. Александров А., Будевски О., Симеонова Ж., *Пловдивски университет „Паисий Хилендарски”*, *Научни трудове*, 1975, **13**(3), 239.
6. Alexandrov A. Tertazolium Salts for Solvent Extraction of Elements as Ion association Complexes, Universität des Saarlandes, Saarbrücken, 1984.
7. Камбурова М., Попов Т., Александров А., *Висш селскостопански институт – Пловдив, Научни трудове*, 1990, **35**, 41.
8. Kamburova M., *Microchim. acta*, 1996, **124**, 129.
9. Камбурова М., *ЖАХ*, 1995, **50**(6), 614.
10. Караасенова Е., Дипломна работа за получаване на образователната степен „бакалавър”, ПУ „П. Хилендарски”, 2006.
11. Alexandrov A., Kamburova M., *Microchim. acta* 1985, **3**(3-4), 159.
12. Камбурова М., *ЖАХ*, 1993, **48**(7), 1161.
13. Камбурова М., Изследвания върху тройните йонно-асоциирани тиоцианатни комплекси на цинк(II), кобалт(II) и кадмий(II) с тетразолови соли за определяне на цинк в кадмий, Автореферат на дисертация за получаване на научната степен „кандидат на химическите науки”, София, 1986, стр. 25.
14. Александров А., Камбурова М., *Пловдивски университет „Паисий Хилендарски”*, *Научни трудове*, 1984, **22**(1), 35.
15. Пилипенко А.Т., Тананайко М.М, Разнолигандные и разнометалльные комплексы и их применение в аналитической химии, М., Химия, 1983, стр. 74.
16. Александров А., Камбурова М., *Висш селскостопански институт „Васил Коларов” Пловдив, Научни трудове*, 1987, **32**, 155.
17. Камбурова М., Определяне на микроелементи с тетразолови соли в растения и почви, Дисертация за получаване на научната степен „Доктор на химическите науки”, София, 1999.
18. Alexandrov A., Kamburova M., *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1986, **97**, 271.
19. Kamburova M., *Talanta*, 1993, **40**, 719.
20. Камбурова М., Попов Т., Никитова Д. *ЖАХ*, 1992, **47**(5), 799.
21. Камбурова М., *Висш селскостопански институт – Пловдив, Научни трудове*, 1990, **35**(1), 61.
22. Kamburova M., Nikolov N., Nikolov A., *Chem. Anal. (Warsaw)*, 1993, **38**(2), 161.

23. Александров А., Симеонова Ж., *Пловдивски университет „Паусий Хилендарски”*, *Научни трудове*, 1981, **19**(3), 39.
24. Симеонова Ж., Александров А., Стоименов Н., *Пловдивски университет „Паусий Хилендарски”*, *Научни трудове*, 1989, **27**(5), 39.
25. Камбурова М., *ЖАХ*, 1990, **45**(4), 678.
26. Камбурова М., *ЖАХ*, 1991, **46**(8), 1538.
27. Kamburova M., *Chem. Anal. (Warsaw)*, 1995, **40**, 93.
28. Kamburova M., *Anal. Lett.*, 1994, **27**(10), 1999.
29. Александров А., Симеонова Ж., Василева М., *Пловдивски университет „Паусий Хилендарски”*, *Научни трудове*, 1987, **25**(5), 47.
30. Gavazov K., Simeonova Zh., Alexandrov A., *Anal. Lab.* 1998, **7**(3), 127.
31. Gavazov K., Simeonova Zh., Alexandrov A., *J. Univ. Chem. Tech. Met. (Sofia)* 2003, **38**(3), 909.
32. Gavazov K., Simeonova Zh., *Пловдивски университет „Паусий Хилендарски”*, *Научни трудове*, 2004, **32**(5), 15.
33. Gavazov K., Lekova V., Dimitrov A., *J. Univ. Chem. Tech. Met. (Sofia)* 2006, **41**(2), 61.
34. Gavazov K., Lekova V., Dimitrov A., *Cent. Eur. J. Chem.*, 2007, **5**(1) приета за печат.
35. Simeonova Zh., Gavazov K., Alexandrov A., *Zh. Neorg. Khim.*, 1999, **44**, 676.

MODELING OF BOILING POINTS OF HYDROCARBON COMPOUNDS

*Nikolay T. Kochev, Ognyan Pukalov, George N. Andreev
Bulgaria, Plovdiv 4000, Tsar Assen St. 24, University of Plovdiv,
Department of Analytical Chemistry*

ABSTRACT

A method for calculation of boiling points of hydrocarbons is described. The method is based on the topological index of Wiener improved with additional topological descriptors. The descriptor values were calculated with in-house developed software JBSMM. Basic boiling point model is a quadratic function of the logarithm of Wiener index. The coefficient values are calculated by means of linear regression applied for a set of hydrocarbon compounds. Test results are presented and discussed.

Keywords: QSPR, QSAR, additive scheme, linear regression.

INTRODUCTION

Applied chemistry is interested in creating chemical compounds with particular properties. Chemoinformatics identifies relationships known in the literature as QSPR/QSAR. These models are generally based on the abstract equation:

$$\text{property} = F(\text{structure, other properties}) \quad (1)$$

A cascading procedure is needed for calculation/prediction of chemical properties:

$$\text{structure} \rightarrow \text{property1} \rightarrow \text{property2} \rightarrow \dots \quad (2)$$

Boiling point (BP) is an important physicochemical property for modeling of other properties with practical value in environmental protection and pharmaceutical industry. However, BP data often is not available, and therefore it must be estimated.

Experimental boiling points are expected to be highly accurate, but it must be noted that the presence of impurities can cause inaccurate experimental measurement.

So far there were reported many QSPR approaches for modeling of BP. The latter shows the importance of this issue. Dearden [1] did a very good review of the most popular methods for BP prediction. Generally a sophisticated set of molecular descriptors is applied and very often high quality commercial software package is needed to make a QSPR model.

In this work we present very simple approach for estimation of normal boiling points of hydrocarbon compounds.

THEORETICAL MODEL

Our model uses the early results of Wiener where he reported very good correlation between Wiener index and some properties of the organic compounds [2].

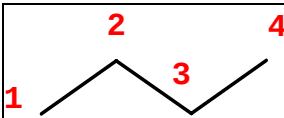
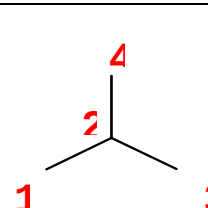
Wiener index [3] **W** is defined as the sum of shortest paths between all possible pairs of atoms in the structural graph. Mathematically it can be obtained from the distance matrix **D** as follows:

$$W = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n d_{ij} \quad (3)$$

where d_{ij} is the shortest graph path connecting atoms i and j .

Generally **W** describes the degree of branching. If a structure is more branched then the paths are shorter and accordingly the value of **W** decreases as well as the boiling point decreases. Also when **W** increases, BP increases accordingly as well as the path lengths in the structure since it is less branched.

To illustrate **W** calculation eq. 3 was applied for normal butane and for isobutane:

	$\begin{pmatrix} 0 & 1 & 2 & 3 \\ 1 & 0 & 1 & 2 \\ 2 & 1 & 0 & 1 \\ 3 & 2 & 1 & 0 \end{pmatrix}$		$\begin{pmatrix} 0 & 1 & 2 & 2 \\ 1 & 0 & 1 & 1 \\ 2 & 1 & 0 & 2 \\ 2 & 1 & 2 & 0 \end{pmatrix}$
W = 10		W = 9	

This is a version of the Wiener index where the hydrogen atoms are not taken into account. For the models described below, H atoms were counted in the **W** index calculation.

The original formula of Wiener described **BP** as a linear function of **W** plus a correction, **P** called polarity number [2]:

$$BP = aW + bP + c \quad (4)$$

Trying to establish a relationship of the type $BP=f(W)$ without taking the correction of Wiener, it was obvious from the plot that **BP** depends from **W** in a logarithmic manner.

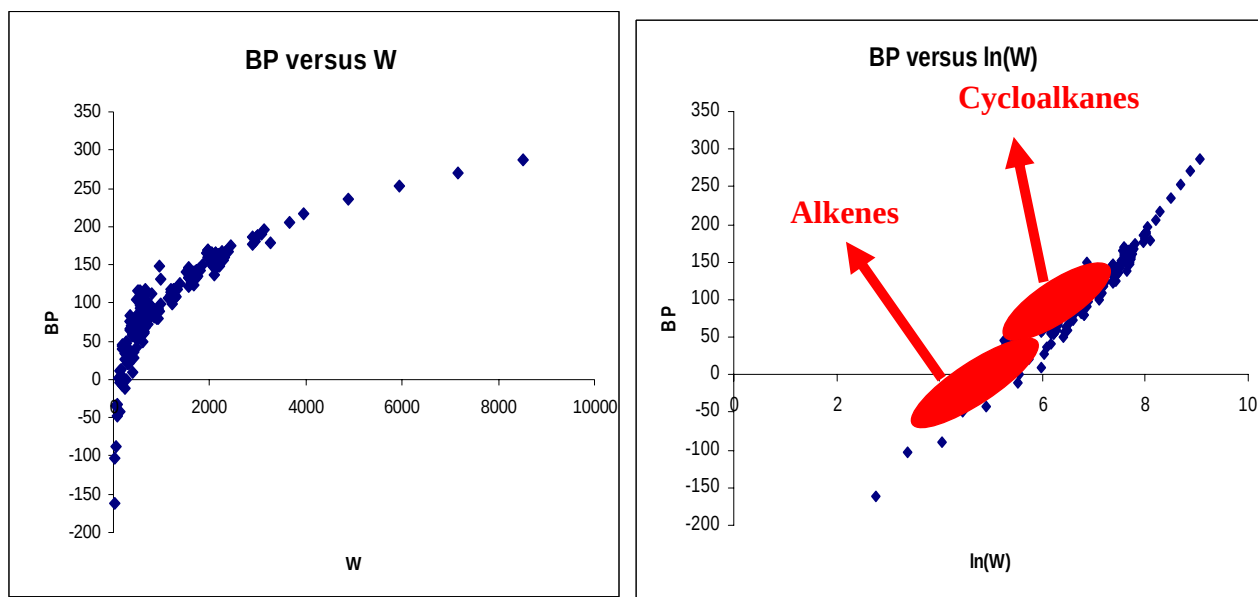


Figure 1. Graphical comparison of the values of W and BP .

Comparison of the values of $\ln(W)$ and BP (see fig.1) showed that the relation is not a straight line. There is a small curve which successfully can be fixed with a quadratic function. Thus we obtained the basic model type for alkanes:

$$BP = a.\ln(W)^2 + b.\ln(W) + c \quad (5)$$

In order to improve model (5), there were needed corrections with simple descriptors. Alkenes were modeled by adding two parameters: N_{2BR} – the relative number of double bonds, and N_{AA} – the number of Alene atoms. The correction for cyclic structures is N_R – the number of rings.

$$BP = a.\ln(W)^2 + b.\ln(W) + c + d.N_{2BR} + e.N_{AA} + f.N_R \quad (6)$$

RESULTS AND DISCUSSION

All calculations were performed with **JBSMM** (Java Based System for Molecular Modeling). It is an in-house developed software system. It supports the main stages of the molecular modeling: structure representation $\rightarrow$ descriptor calculation $\rightarrow$ model creation and statistics $\rightarrow$ prediction.

Model of type (5) was generated for a training set of 160 alkanes: $BP(W) = 4.3 \ln(W)^2 + 19.6 \ln(W) - 247.0$ with a very good statistics: RMS Error = 6.4, $R=0.993$. When including alkenes and cyclic hydrocarbons the model of type (5) was not enough accurate prediction of BP. As it can be seen from fig.1, above the basic cluster of objects (they form a quadratic curve) two smaller clusters can be

recognized - alkenes and cyclic hydrocarbons. The cluster deviations were fixed by the correction terms introduced in equation (6).

The final model of the type (6) was generated with a training data set of 272 compounds:

$$BP = 3.35\ln(W)^2 + 31.86\ln(W) - 282.62 + 264.82N_{2BR} + 4.35N_{AA} + 29.87N_R$$

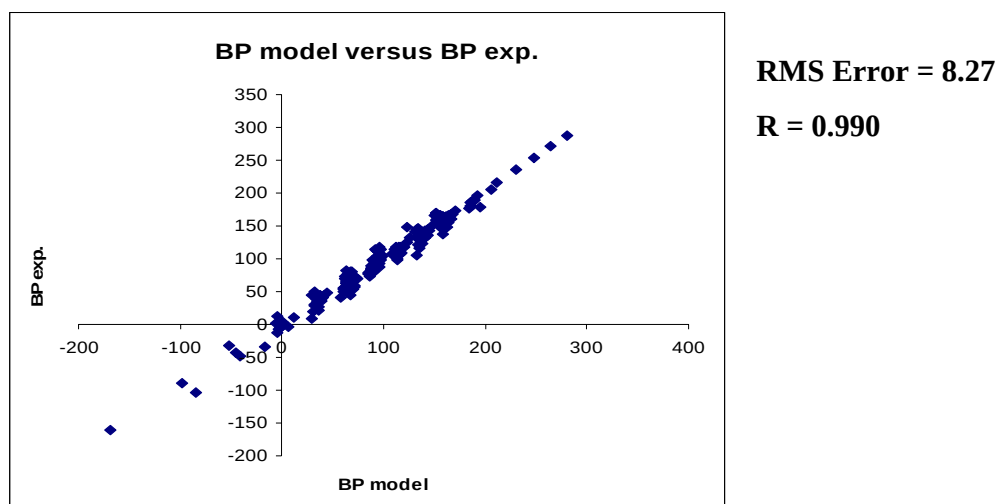


Figure 2. Graphical comparison of the values of modelled and experimental values of BP.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the Bulgarian National Fund for Scientific Research NFNI (project VUH-17/05) and Plovdiv University Scientific Fund (project 05-X-64) for supporting this scientific work.

REFERENCES

1. Dearden J. C. Quantitative Structure–Property Relationships For Prediction Of Boiling Point, Vapor Pressure, And Melting Point, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 22, No. 8, pp. 1696–1709 (2003).
2. H. Wiener, Structural Determination of Paraffin Boiling Points *J. Am. Chem. Soc.* **69** 17–20 (1947).
3. Diudea M.V., Gutman I. Wiener-Type Topological Indices, *Croatica Chemica Acta*, **71**(1)21-51 (1998).

ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕН МЕТОД ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ФЛУОРИДНИ ЙОНИ В ОТПАДЪЧНИ И ПИТЕЙНИ ВОДИ

Н. К. Николов, Ж. И. Денчев

Катедра „Аналитична химия“, ПУ „Паисий Хилендарски“

ул. “Цар Асен” 24, 4000 Пловдив

e-mail: *jid@argon.acad.bg*

ABSTRACT

Fluoride 0,2–2000 mg.l⁻¹, was determined potentiometrically with fluor selective electrode. As we have suggested, we need an analytical technique for analysis of fluoride in waste and drink water. The potential, then, is a straight line function of concentration.

Ключови думи: флуор селективен електрод, вода, потенциометричен анализ.

Флуорът се съдържа както в природни, така и в редица отпадни води. Той и неговите съединения са силно отровни и контролът върху съдържанието му е наложителен [1,2].

В настояще време са известни разнообразни методи за определяне на F⁻ [3-6]. Ефективен метод се явява йонселективната потенциометрия [7,8]. Флуорселективният електрод /ФСЕ/ се характеризира с Нернстова електродна функция за концентрационен интервал от 0,2–2000 мг.л⁻¹ на F⁻. В концентрационния интервал 0.02–0.20 мг.л⁻¹ ФСЕ се характеризира с нелинейна електродна функция, която е достатъчно възпроизводима и ако се построи съответна калибровъчна графика, той може да бъде използван за анализ.

Целта на настоящото изследване е анализ на три различни обекта за съдържание на флуор с ФСЕ и статистическа оценка на резултатите.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ЧАСТ

1. Апаратура: ФСЕ, сравнителен /наситен каломелов/ електрод с електролитен мост 1М KNO₃, магнитна бъркалка, пластмасови чаши и шишета, йонметър /Radelkis – Hungary/.

Както стандартните, така и анализиранияте разтвори е необходимо да бъдат в пластмасови шишета, ако те са силно разреждени.

2. *Реактиви:* За приготвяне на стандартните разтвори и буфер се използва дестилирана H_2O .

Стандартен разтвор “А” $/0.1 \text{ г.л}^{-1} F^-/$. 0.221 г NaF, предварително изсушен при 120°C се разтварят в мерителна колба от 1 л с дестилирана вода. След разтварянето веднага се прехвърля в полиетиленово шише. Устойчив е повече от 3 месеца.

Стандартен разтвор “Б” $/0.01 \text{ г.л}^{-1} F^-/$. В мерителна колба от 1 л се отпипетират 20 мл от стандартен разтвор А и се долива до марката с дестилирана вода.

Цитратен буфер с рН 6,05 л. В мерителна колба от 1 л се разтварят 72.3 г натриев цитрат, 12 г натриев хлорид и 3,93 г комплексон III. След доливане до марката с дестилирана вода, буферът се налива в полиетиленово шише.

3. *Калибровъчна графика.* Строи се по 5 стандартни разтвора флуоридни йони $/5 \cdot 10^{-5}; 5 \cdot 10^{-4}; 2,5 \cdot 10^{-3}; 5 \cdot 10^{-3}$ и $2,5 \cdot 10^{-2} \text{ г.л}^{-1}/$ в координати е.д.н./ pC_{F^-} .

4. *Методика за определяне на F^- в природни и отпадни води.*

Директно определяне на F^- в природни и отпадни води с ЙСЕ.

Етап 1: Отпипетират се 50 мл от предварително филтруваната за анализ вода и се поставя в мерителна колба от 100 мл. Долива се до марката с дестилирана H_2O .

Етап 2: От получения разтвор се отпипетират 20 мл и се поставят в друга мерителна колба от 100 мл. Добавят се 20 мл буферен разтвор, индикатор метилрот, 1М HCl /до червено оцветяване/. Следва неутрализация на разтвора с 1М NaOH /до жълто оцветяване/ и се долива до марката.

Етап 3: Измерва се е.д.н. $/E_x/$ на анализирания разтвор. Определя се концентрацията на пробата по калибровъчната графика.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

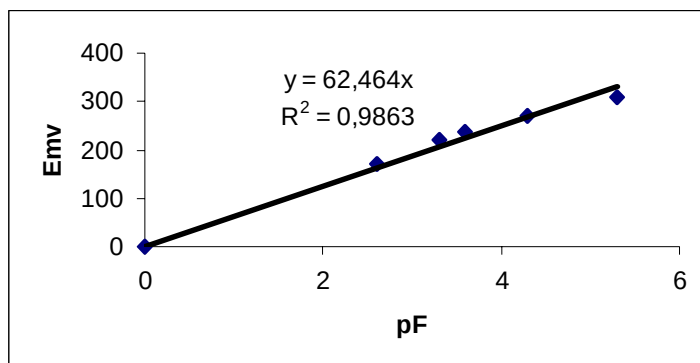
Изследвани са три проби за съдържание на флуор, чийто примерен състав е показан в таблица 1.

Таблица 1. Състав на водите за анализ $/\text{мг.л}^{-1}/$

	Проба 1	Проба 2	Проба 3
Хлориди	40.0	15.2	7.8
Нитрати	192.0	30.0	54.9
Сулфати	1569	2556	24.9
Фосфати	495	2945	24.8
Манган	4.2	4.5	-
Неразтв. в-ва	145.6	142.4	-
рН	5.8	3.2	-
Карбонати	-	-	6.0
Хидрогенкарбонати	-	-	85.4

Проба 1 и 2 са отпадни води, в които се контролира флуора, проба 3 е хисарска вода, която се дава като противоотрова на контактуващите с флуор.

Построена е калибровъчна графика /фигура 1/ по описаната методика, чрез която се намира концентрацията на флуора в пробите.



Фигура 1. Калибрационна графика

От уравнението на правата се вижда, че отрезът ѝ е статистически неотличим от нула. Корелационният коефициент показва линейност на връзката между концентрацията на F^- и аналитичния сигнал. Линейният динамичен обхват е от $5 \cdot 10^{-5}$ до $2,5 \cdot 10^{-2}$ г.л $^{-1}$, с относително стандартно отклонение от 0,2 до 0,3%.

По описаната по-горе методика трите проби са анализирани петкратно и са получени следните резултати:

	$X \pm \Delta X$	C_{F^-}
Проба 1	3.55 ± 0.19	мг.л $^{-1}$
Проба 2	55.62 ± 0.65	мг.л $^{-1}$
Проба 3	4.42 ± 0.25	мг.л $^{-1}$

Относителното стандартно отклонение е от 0,15 до 0,20 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изследвани са възможностите за потенциометрично определяне на флуор в отпадни и минерални води. При анализа на обектите е използван ФСЕ, който в изследвания линеен обхват от концентрации притежава стабилен Нернстов потенциал. Това позволява да се получат надеждни аналитични данни, свързани с директно количествено определяне на флуор в посочените обекти.

Методът е внедрен в заводската лаборатория на ОТКК в “НЕОХИМ” ЕАД Димитровград.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лазарева Н.В., И.Д. Градинской, Вредные вещества в промышленности – III часть, изд. Химия, Ленинград, 1977.
2. Станев С. Ив., Инженерна защита на околната среда, ДИ Техника, София, 1983.
3. Бабачев Г., Анализ на води, Изд. Техника, София, 1967.
4. БДС № 3571 – 79, ДВ бр. 96/1988.
5. Лурье Ю.Ю., И.А. Рибникова, Химический анализ производственных и сточных вод, Госхимиздат, Москва, 1963.
6. РЖ Химии, 1990-1994 г.
7. Кольчевой, Н.В., А.Р. Тимербаева, Справочное руководство по применению йоно-селективных электродов, изд. Мир, Москва, 1987.
8. Мидгли Д., К. Торренс, Потенциометрический анализ воды, изд. Мир, Москва, 1980.

НОВИ N-СЪДЪРЖАЩИ СЪЕДИНЕНИЯ КАТО ИНДИКАТОРИ

*Христина Малакова и Диана Добрева
Пловдивски университет „П. Хилендарски”,
ул. „Цар Асен” 24, Пловдив, 4000*

ABSTRACT

Applications of nitrogen-containing compounds as indicators in titrimetric analysis were investigated. Some physical and physicochemical characteristics of these compounds were determined. The composition of the protonated complex was 1:1. The degree of dissociation and the stability constant resolved suggested deficient stability of the complex formed in water-alcohol mixtures. The results obtained under acid-base titration of strong protolytes support their possible use as titrimetric indicators in suitable non-aqueous medium.

Keywords: indicators, titrimetric analysis.

ВЪВЕДЕНИЕ

Изучаване на свойствата на веществата като индикатори е свързано с чувствителността при възприемане на промяната на цвета, тяхната разтворимост и стабилност в средата, в която се провежда титруването, приложимостта им в зависимост от химичната реакция между анализа и титранта /1/. Изследвания с такава цел се провеждат в две направления – целенасочен синтез на нови индикатори и проучване възможностите за прилагане като индикатори на известни вещества /2/.

В настоящата статия са представени резултати от изследванията на синтезирани N-съдържащи съединения като индикатори за титриметричен анализ.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ЧАСТ

Реактиви:

Изследванията са проведени с предоставени за анализ 5 нови N-съдържащи съединения. Приготвяни са етанолни разтвори с концентрация $4 \cdot 10^{-3}$ mol/l по директен начин и работни разтвори чрез разреждане. За разтвори с определена стойност на pH са използвани универсална буферна смес и стандартни разтвори на 0,1M HCl и NaOH /3/.

Апарати:

Апарат на Кофлер; Perkin-Elmer Lambda 15 UV/VIS Spektrophotometer.

Методики:

Влияние на киселинността на средата върху цвета: към 10 ml разтвор с определено рН се прибавят 3 капки (пипета от 1 ml) от 0,1% етанолни разтвори на съединенията.

Титруване: стандартна методика за киселинно-основно титруване /4/

Определяне на състава на протонния комплекс: метод на изомоларните серии, метод на изместване на равновесието и метод на насищане /1, 5, 6/.

Определяне на степен на дисоциация и стабилитетна константа: метод на изомоларната серия и метод на пресечените прави /1/.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Структурата на изследваните съединения е подобна на тази на азоиндикаторите. Те са неразтворими във вода и се разтварят в разтворители, използвани при титруване в неводна среда като етонол, метанол, ацетон, ДМФА, CH_3COOH , диоксан. В табл. 1 и 2 са посочени някои техни свойства.

Таблица 1. Характеристика на N-съдържащи съединения.

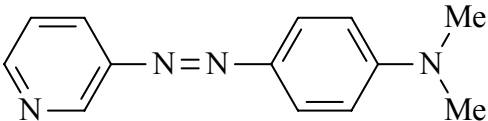
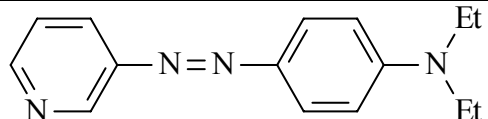
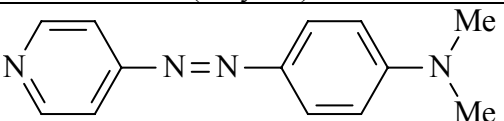
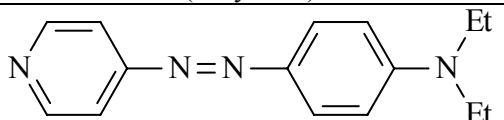
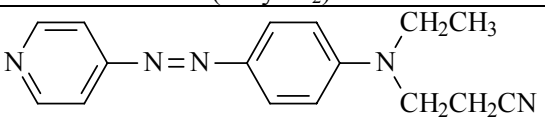
Химична формула (означение)	Вид	Цвят	M_r g.mol^{-1}	т.т. $^{\circ}\text{C}$
 (3-Py-Me ₂)	Блестящи иглести кристали	Оранжев	226	120-121
 (3-Py-Et ₂)	Блестящи люспи	Оранжев	254	112-114
 (4-Py-Me ₂)	Прахообразно	Червено-оранжев	226	207-208
 (4-Py-Et ₂)	Прахообразно	Червено-оранжев	254	187-188
 (4-Py-CN)	Прахообразно	Червен	255	138-139

Таблица 2. Влияние на киселинността на средата върху цвета на 0,1% етанолни разтвори на съединенията.

Съединение				pH				
	1	2	3	4	5	7	9	12
3-Py-Me ₂	жълт	жълт	оранж	червен	оранж	жълт	жълт	жълт
3-Py-Et ₂	жълт	жълт	оранж	червен	оранж	жълт	жълт	жълт
4-Py-Me ₂	жълт	жълт	оранж	червен	виолетов	ч -в	оранж	жълт
4-Py-Et ₂	л.жълт	л.жълт	л.жълт	червен	виолетов	оранж	оранж	оранж
4-Py-CN	л.жълт	л.жълт	ч.оранж	виолетов	виолетов	жълт	жълт	жълт

Определящо за промяната на цвета е структурата на съединенията, а не видът на заместителите и природата на разтворителя (ацетонът не е подходящ). С оглед на целта на изследването интерес представляват съединения 4-Py-Me₂, 4-Py-Et₂ и 4-Py-CN тъй като наблюдаваната промяна в цвета визуално се възприема най-добре.

За приложение на съединенията като индикатори в протонометрията бяха снети абсорбционните спектри на етанолни и водно-етанолни разтвори. При всички съединения бяха наблюдавани следните закономерности:

1. Възможност за приложение на метода на изобестичната точка;
2. За киселата форма се наблюдава батохромен и хиперхромен ефект за $\lambda_{\max}$ във видимата област.
3. Спектралните характеристики на етанолни и водно-етанолни разтвори на съединенията са подобни като $\lambda_{\max}$ във видимата област е 427-454 nm и $\varepsilon = 2,8 \cdot 10^4 - 4,4 \cdot 10^4$

При киселинно-основно титруване с помощта на изследваните съединения като индикатори промяната в цвета на разтвора е най-рязка при съединения 4-Py-Me₂ и 4-Py-Et₂ при титрант NaOH (жълт-виолетов). В обратния случай, когато титрантът е киселината промените са жълт-червен-виолетов. Съставът на протонния комплекс беше определен по метода на изомоларните серии; метода на изместване на равновесието и метода на насищане. По първите два метода съставът е 1:1 и се съгласува с предложени механизъм за азоиндикаторите. Резултатът по метода на насищането (1:19) наложи изследване на стабилността на протонния комплекс (табл. 3).

Таблица 3. Степен на дисоциация и стабилитетна константа на протонния комплекс на 4-Рy-Me₂

In : HCl	Отклонение от закона на Беер	α	lg β
1:1	0,901	0,727	4,01
1:4	-	-	3,93*
1:5	0,768	0,619	4,30
1:8	-	-	3,84**
1:15	0,643	0,329	4,99
1:30	0,590	0,383	5,10
1:50	0,470	0,376	5,35

α - степен на дисоциация

* - по метода на изомоларната серия

** - по метода на пресечените прави

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стабилността на протонния комплекс ($\lg \beta < 7$) не е достатъчна за провеждане на количествени определения във водно-етанолна среда. Опитите при киселинно-основно титруване на силни протолити дават основание за изследване на възможността за титруване в подходяща неводна среда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Индикаторы, М, Мир, 1976.
2. D.Kara, M.Alkan, Spectrochimica acta A, Dec. 56(14) 2753, 2000.
3. Лурье, Ю.Ю. Справочник по аналитической химии, М, Химия, 1989.
4. Христова, Р., Ст.Александров, Д. Цалев, Б.Желязкова, В.Михайлова, Ръководство по количествен анализ, "Наука и изкуство", София, 1986.
5. Булатов, М.И., И.П. Калинкин, Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа, Л, Химия, 1976.
6. Булатов, М.И., Расчеты равновесии в аналитической химии, Л, Химия, 1984.

STUDY OF THE CLOUD POINT OF NONIONIC SURFACTANT AND NONIONIC-CATIONIC SURFACTANT MIXTURE: EFFECT OF ELECTROLYTES

Çiğdem KARTAL, Halide AKBAŞ

*Department of Chemistry, Faculty of Sciences and Letters,
Trakya University, 22030, Edirne, Turkey*

ABSTRACT

Clouding phenomenon generally occurs with nonionic surfactants when the temperature of the system is raised to a certain value. This critical temperature is termed the cloud point (CP). The aqueous solutions of nonionic surfactants show complex phase behaviour including liquid-liquid phase separation at this temperature. The cloud point of aqueous surfactant solutions is influenced by the presence of other materials. In this study, we used cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) as cationic surfactant and polyoxyethylene (10) lauryl ether ($C_{12}EO_{10}$) as nonionic surfactant. We report the effect of electrolytes (NaCl, KCl, $CaCl_2$ and $MgCl_2$) on the CP of nonionic surfactant and nonionic with cationic surfactant mixture. All the electrolytes have a large amount of effect on CP.

INTRODUCTION

Surfactants contain both hydrophobic and hydrophilic regions, which make possible molecular aggregate dissolution in water. This amphiphilic molecules form dynamic aggregates namely micelles, which makes the solubilization of water-insoluble molecules in an aqueous matrix possible [1, 2].

Clouding is a phenomenon familiar in nonionic surfactants; upon raising the temperature, the system becomes cloudy and phase-separates at a well-defined temperature. The phase separation in nonionic micellar solutions is due to the van der Waals attractive forces between the micelles, and there exists a temperature at which the degree of hydration of the hydrophilic portion is just insufficient to solubilize the remaining hydrocarbon portion. At this temperature, surfactant is no longer soluble in water and solution becomes hazy and cloudy. Nonionic surfactants are widely used as solubilizers, emulsifiers and detergents in many industrial processes. Furthermore, they are used as auxiliaries improving dye adsorption and levelling or dispersing agents [3, 4, 5]. Therefore, the cloud point (CP) data are of considerable practical

interest and also this parameter is important, for example, when designing detergents for use in hot water.

Many research activities have been focused on mixed systems of anionic-anionic, cationic-cationic and ionic-nonionic surfactants but systematic investigations of cationic-anionic surfactant mixtures are sparse. Mixtures are usually preferred in commercial applications not only due to the increased expense with pure surfactant preparations but also because mixed systems often exhibit enhanced properties through synergism. In this study, we report the effect of kind and concentration of electrolytes on CP nonionic surfactant and cationic-nonionic surfactant mixture.

MATERIALS AND METHODS

Cationic surfactant, cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) and the electrolytes (NaCl, KCl, MgCl₂ and CaCl₂) were supplied by Merck. Nonionic surfactant, polyoxyethylene (10) lauryl ether (C₁₂EO₁₀) was received from Aldrich.



Cloud points of surfactant solutions were determined visually noting the temperature at which the turbidity was observed.

RESULTS AND DISCUSSION

For the C₁₂EO₁₀ / CTAB / NaCl system, results obtained after CP formation are shown in Fig. 1. When only C₁₂EO₁₀ was used a temperature as 89 °C for CP was obtained. When CTAB was added to system (0.01, 0.02 and 0.04 % w/v), without NaCl addition, the CP of C₁₂EO₁₀ – CTAB mixtures was above 100 °C. According to the literatures, the CP of nonionic surfactants was dramatically increased with small amounts of ionic surfactants. As the ionic surfactant molecules are added to the system, part of them is incorporated into the nonionic micelles, thus charging the micelle surface. This increases the micelle-micelle repulsion and makes the micelles more hydrophilic [6, 7].

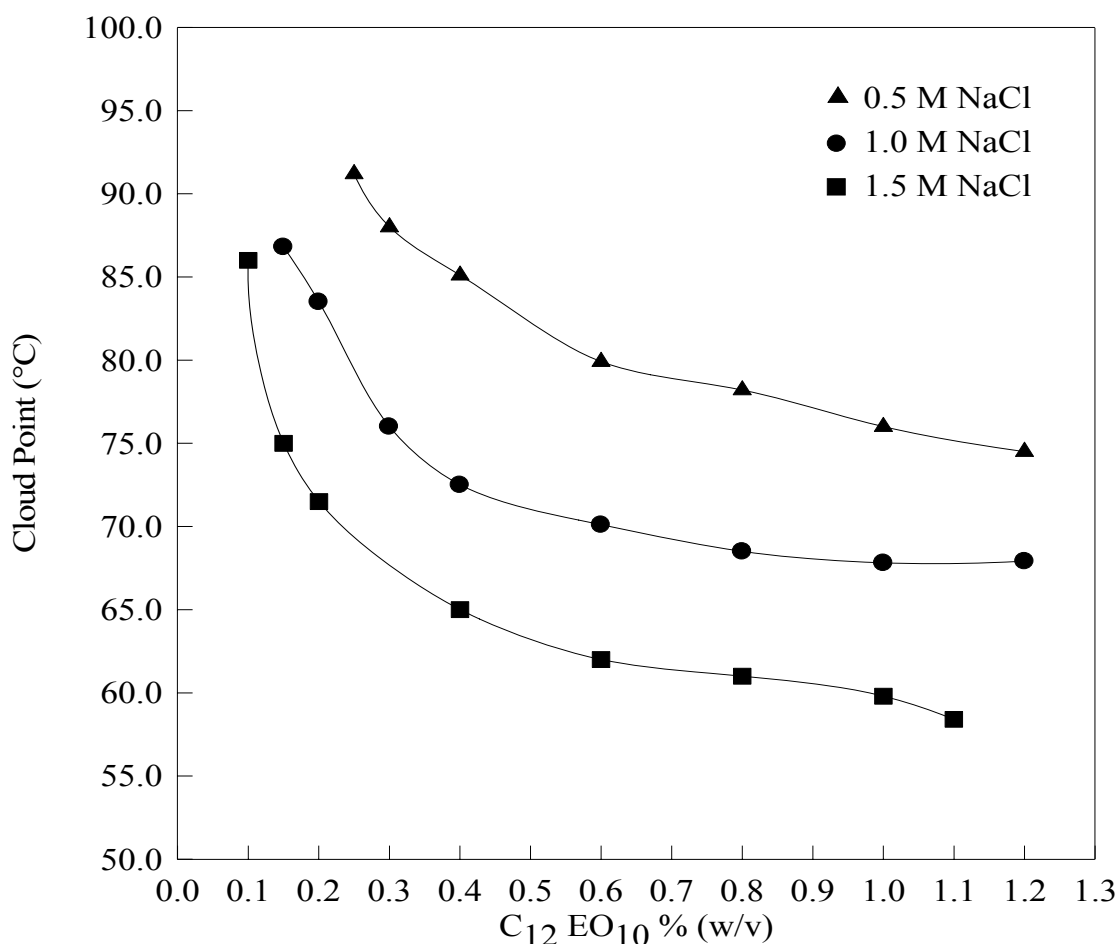


Figure 1: Effect of NaCl concentrations on cloud point using $C_{12}EO_{10}$ solutions at different concentrations

The electrolyte effect on the CP from mixed nonionic-ionic surfactant systems plays an important role. When small amounts of inorganic salts are added to the system, a decrease in the CP was noted. If the concentration of the added electrolyte is high enough, the cloud points of some mixed systems could be even lower than those of pure nonionic surfactant solution. The addition of electrolytes affects both the hydration amount and the properties of hydration water. The influence of electrolytes can be separated into the effect of cations and that of anions. In the Fig. 2, the effect of NaCl, KCl, $CaCl_2$ and $MgCl_2$ on the CP of $C_{12}EO_{10}$ (1% w/v) are shown.

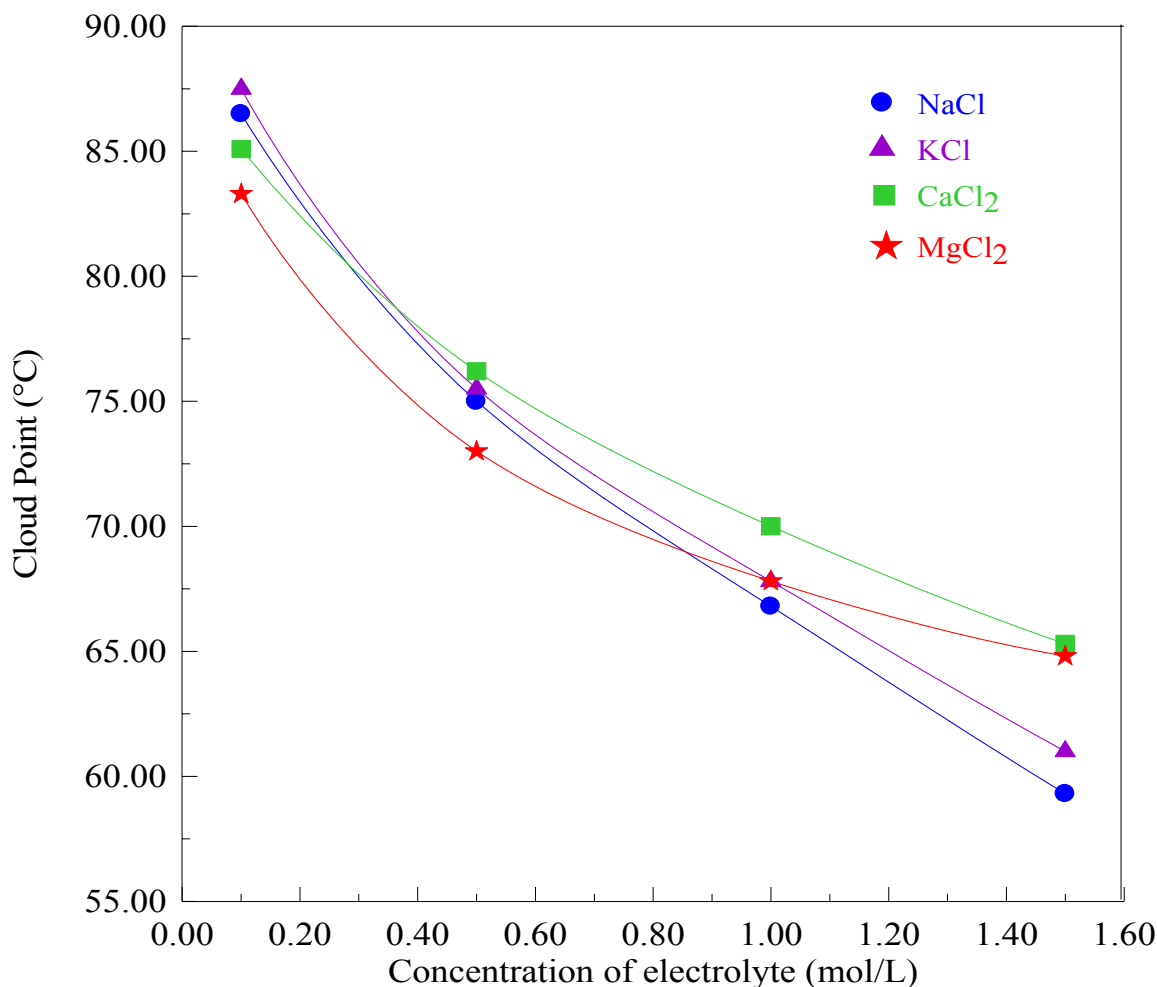


Figure 2: Effect of different electrolytes on the CP of $C_{12}PO_{10}$ (1% w/v).

The CP of $C_{12}PO_{10}$ – CTAB mixed surfactant system in presence of NaCl and KCl decreases and these electrolytes have almost similar effect on the CP of $C_{12}PO_{10}$ in all electrolyte concentrations. In the small electrolyte concentrations, $MgCl_2$ be of the higher effect than other electrolytes but in the high electrolyte concentrations, its effect decreases. $CaCl_2$ has the smallest effect and the CP of $C_{12}PO_{10}$ lower decreases.

REFERENCES

1. E. Pellizzetti, E. Pramauro, Anal. Chem. Acta, 169 (1985) 1
2. M. F. Silva, L. Fernandez, R.A. Olsina, D. Stacchiola, Anal. Chem. Acta, 342 (1997) 229
3. J.B. Hayter, M. Zulauf, Colloid Polym. Sci., 260 (1982) 1023
4. H. Akbaş, Ç. Kartal, Spectrochim. Acta A, 65 (2006) 95
5. T. Gu, S. Qin, C. Ma, J. Colloid Interf. Sci., 127 (1989) 586
6. C.C. Nascentes, M.A. Z. Arruda, Talanta, 61 (2003) 759
7. T. Gu, P.A. Galera-Gomez, Colloids Surf. A, 104 (1995) 307

ТЕСТВАНЕ НА МЕТАЛНИ ПРИБОРИ ЗА ХРАНЕНЕ ОТНОСНО МИГРАЦИЯТА НА Al, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Pb И Cd В МОДЕЛНИ РАЗТВОРИ

Какалова М., Г. Бежаров
РЦНПО – Пловдив, бул. „Васил Априлов“ № 154

ABSTRACT

This study is focused on one of the potential sources for contamination of food – the metal cutlery and kitchen utensils. There are analyzed metal forks, spoons, knives and mortars made of aluminium and bronze alloys.

There is developed a method for examination of metal utensils for Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Cd, Pb and Al migration in simulant acids solutions. Concentrations of the elements are determined via ICP-OES SPECTROFLAME, Germany.

Analyzed cutleries show insignificant migration except of elements Cr and Fe – for spoons and forks migration of Fe is in interval 0.02 – 0.12 mg/l and migration from the knives is 125 mg/l for Fe and 13.6 mg/l for Cr.

The tests with the mortars ascertain the fact that migration of Pb in 4% aqueous solution of acetic acid is in range of 83 – 148 mg/l.

Keywords: metal migration, contamination of food, ICP-OES

ВЪВЕДЕНИЕ

Въпросът за замърсяването на околната среда, както и замърсяването на хранителните продукти е един от най-дискутираните и обсъждани в съвременната наука.

В настоящия момент, когато глобалното замърсяване е реален факт, страните от цял свят в една или друга степен са ангажирани в решаване на този проблем. Във връзка с това през 1992 г. ФАО предлага програма за създаване на балансирано селскостопанско производство, като се предполага, че първия резултат е безопасното хранене. За реализиране на тази цел се счита, че е необходимо производството на екологично чисти, “био”-продукти, осигуряващи храна с добро качество. Но замърсяването на селскостопанските продукти освен чрез почва, вода, въздух, наторяване би могло да настъпи и в следствие на технологичните процеси на преработка, опаковка, съхранение и

др. (1). Своя принос за замърсяване с тежки метали дават и съдовете, използвани за тяхната термична подготовка и съхранение. Нормативният документ за хигиенните изисквания към материалите и предметите, различни от пластмаси, предназначени за контакт с храни е наредба № 24/17.05.2001 г. Според тази наредба обект на контрол са само съдове от керамика, стъклокерамика и стъкло, следователно на контрол не подлежат металните съдове (2). Освен това се контролира само миграцията на елементите олово и кадмий, а съдържанието на Al, Cr, Fe, Ni, Cu и Zn не се контролира, въпреки че в домакинството се използват много съдове, произведени от сплави на тези елементи.

В настоящия етап контролът, който се осъществява върху суровините е значително по-голям от контрола върху домакинските и производствени съдове въпреки, че замърсяването, в следствие на тяхното използване, в редица случаи надвишава с десетки пъти разрешената норма за суровините.

Настоящото изследване има за цел да изостри внимание върху един ежедневно съпътстващ съвременното домакинство, потенциален източник на замърсяване на храните, а именно металните домакински хавани и комплекти прибори за хранене. Както и да се създаде методика за тяхното тестване. В стремежа да се консумират храни произведени по “стара бабина рецепта” в съвременното домакинство се налага и използването на старото “бабино хаванче”, след което произведения екопродукт се оказва замърсен. За изпълнение на поставената цел в настоящата работа е решена следната задача:

- ✓ Проследяване миграцията на Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Cd, Pb и Al от метални домакински хавани и прибори за хранене към моделни разтвори и храни.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Три произволно избрани метални домакински хавана, два от които са произведени от бронзова сплав и един от алуминиева, както и по десет броя домакински вилици, лъжици и ножове са използвани за целите на настоящата работа.

Трите хавана са тествани, както с моделни разтвори, така и при реален режим на експлоатация – смилане на 1 g черен пипер. След хомогенизирането пробите от пипер са минерализирани киселинно с 65% HNO_3 . Разработена е и проба от черен пипер, предварително стрит през филтърна хартия, с цел определяне концентрацията на изследваните елементи в него.

Тестът за миграция на елементите Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Cd, Pb и Al от изследваните хавани е осъществен и чрез напълването им с два вида моделни разтвори: 50 ml 4% (v/v) воден разтвор на оцетна киселина и бидестилирана вода за период от 4 часа при $25 \pm 2^\circ \text{C}$.

Според действащата в момента наредба № 1 от 07.01.2002 г. за материалите и предметите от пластмаси предназначени за контакт с храни, когато материалът или предметът е предназначен за повторен контакт с храни, анализът за миграция трябва да бъде проведен трикратно върху една и съща

проба от материала или предмета, като при всяко изследване се взима нова порция моделен разтвор, а резултатът за миграцията се получава от третото изпитване (3).

Вземайки под внимание тази наредба и поради липса на друга такава, уреждаща изискванията за материали и предмети от метал и метални сплави, предназначени за контакт с храни, в настоящата работа проведехме трикратен тест за миграция на домакински набор от по десет броя вилици, лъжици и ножове чрез последователно заливане с 1 литър моделен разтвор на оцетна киселина (4% v/v воден разтвор на оцетна киселина – ч.а.) за период от 24 часа при $25 \pm 2^{\circ} \text{C}$.

За определяне концентрациите на изследваните елементи е използван Атомно-емисионен спектрометър с индуктивно свързана плазма (ICP-OES) SPECTROFLAME – Germany при следните апаратурни параметри:

- Пулверизатор тип Mainhard TR 30 A3
- Дебит на пробата 1.2 ml/min
- Coolant gas 14 l/min Ar
- Auxiliary gas 0.5 l/min Ar
- Nebulizer gas 1.4 l/min Ar
- Energy 1200 W

В таблица 1 са представени работните дължини на вълните за изследваните елементи.

Таблица 1. Дължини на вълните λ (nm) на елементите

Елем.	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Ni	Cd	Pb	Al
λ	283.563	257.610	259.940	324.754	213.856	352.454	228.802	220.340	167.080

За калибриране използвахме мултиелементен стандартен разтвор V на фирма Merck – Germany с концентрации:

- ✓ Al, Pb – 20 mg/l
- ✓ Ni – 5 mg/l
- ✓ Cr, Cd, Cu, Fe, Zn – 2 mg/l
- ✓ Mn – 1 mg/l

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИИ

Концентрациите на изследваните елементи в черния пипер и тяхното нарастване след счукване в избраните за тестване хавани са представени в таблица 2. При елемента Ni не се наблюдават статистически значими разлики в съдържанието му в черния пипер и след неговото счукване в трите вида хавани. Концентрациите на Cd и в четирите минерализата са под границата на откриване. Високи са концентрациите на Pb, което преминава в черния пипер след счукването му в двата бронзови хавана.

Таблица 2. Концентрации на изследваните елементи в mg/kg в проби от черен пипер – CP0, черен пипер счукан в бронзови хавани – CPG и CPM и черен пипер счукан в алуминиев хаван – CPB

	CP0	CPG	CPM	CPB
Cr	0.53	0.62	0.46	1.08
Mn	147	149	148	160
Fe	21.6	33.5	28.2	110
Ni	3.36	3.43	3.37	3.36
Cu	9.29	33.7	51.3	9.81
Zn	4.41	14.5	14.1	8.86
Pb	< 0.10	1.60	1.85	< 0.10
Al	85.1	84.7	85.6	116

Независимо от факта, че предназначението на хаваните е за смилане и счукване, тяхното тестване извършихме с моделни разтвори на оцетна киселина и бидестилирана вода (виж фиг.1). В таблица 3 са посочени концентрациите на елементите Fe, Cu, Zn, Cd, Pb и Al в моделния разтвор на киселина (mg/l) и мигриралите от единица площ елементи от трите хавана ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) след престой от 4 часа при $25\pm 2^\circ\text{C}$. Най-голяма миграция имаме за елемента олово при бронзовите хавани.

Между резултатите показани в таблици 2 и 3 няма корелация, но тези за черният пипер по отношение на Pb надвишават с един порядък ПДК

Таблица 3. Концентрации на елементите Fe, Cu, Zn, Cd, Pb и Al, мигрирали, при еднократно (за алуминиев В) и двукратно (за бронзови хавани G и M) анализирани с моделен разтвор на оцетна киселина.

Проба	Елемент											
	Fe		Cu		Zn		Cd		Pb		Al	
	mg/l	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	mg/l	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	mg/l	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	mg/l	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	mg/l	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	mg/l	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$
G1	9.22	7.68	9.74	8.12	5.87	4.89	0.02	0.016	94.7	78.9	0.02	0.016
G2	5.66	4.72	46.7	38.9	13.5	11.3	0.01	0.008	82.8	69.0	0.02	0.016
M1	0.47	0.35	17.1	12.8	16.9	12.6	0.023	0.017	148.2	110.6	0.02	0.014
M2	0.30	0.22	33.1	24.7	13.0	9.70	0.01	0.007	108.1	80.7	0.02	0.014
B	0.064	0.05	0.19	0.15	0.20	0.16	<0.001	-	<0.02	-	1.66	1.32

Резултатите за елементите Cr и Fe в mg/l, получени при трикратното тестване на домакинските прибори с моделен разтвор са представени на таблица 4. За останалите елементи и в трите случая резултатите не са статистически различни от съответните граници на определяне. За всички изследвани прибори /вилаици, лъжици и ножове/ най-голяма е миграцията на Fe, следвана от тази на Cr при ножовете. Вероятно ножовете за рязане са хромирани за разлика от другите прибори.

Таблица 4. Концентрации на елементите Cr и Fe в mg/l, определени в три последователни оцетни извлеци от домакински прибори.

Елемент	Ножове			Вилици			Лъжици		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Cr	13.6	0.03	0.01	0	0	0	0	0	0
Fe	125	0.66	0.12	0.12	0.04	0.02	0.10	0.10	0.09

Липсата на нормативна база не ни позволява да твърдим, че изследваните домакински ножове са безопасни за човешкото здраве.

ИЗВОДИ

1. Определена е миграцията на елементите Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Ni, Cd, Pb и Al в домакински прибори за хранене и кухненски метални хавани.
2. Миграцията на олово от бронзови метални хавани към черен пипер, счукан в тях превишава ПДК с един порядък.
3. За тестване на хавани е приложена методика с моделни разтвори, с която установихме, че миграцията на олово в 4% v/v воден разтвор на оцетна киселина е много по-голяма от тази към черния питер.
4. При изследваните прибори за хранене миграцията на определяните елементи е незначителна с изключение на Cr и Fe при домакинските ножове.

ЛИТЕРАТУРА

1. Reilly C. 1991. Metal contamination of food. Elsevier Applied Science. London
2. ДВ. бр.56/2001, Наредба № 24/17.05.2001 за хигиенните изисквания към материалите и предметите различни от пластмаси, предназначени за контакт с храни.
3. ДВ. бр.13/2002, Наредба №1/07.01.2002 за материалите и предметите от пластмаси, предназначени за контакт с храни.

SPOVEN – ОТВОРЕНА СИСТЕМА ЗА ПРОБОПОДГОТОВКА В ICP И AAS

Бекяров Г., М. Какалова, К. Данчев

РЦНПО – Пловдив, бул. „В. Априлов“ 154

ABSTRACT

There is developed a system for sample preparation – SPOVEN 25 that works with alternative source for heating without microware. The oven is ecological efficient, easy to service and support. SPOVEN 25 works without waste and does not pollute workplace and environmental.

The oven enables the preparation of 25 samples simultaneously at the same conditions with good repeatability. Top heating prevents “explosion” of samples, the process of mineralization going calmly and it can be traced. The system can be applied for sample preparation in AAS and ICP.

Keywords: sample preparation, AAS, ICP, IR.

ВЪВЕДЕНИЕ

Пробоподготовката е критичната стъпка, на която и да било аналитична методика, тя включва етапи на частично или сумарно разтваряне на твърдата проба и привеждането ѝ в разтвор. Методиките включват суха или мокра минерализация на пробите в отворени или затворени системи. За нагриване на пробите се използва термична, ултразвукова или лъчиста (инфракчервена, ултравиолетова и микровълнова) енергия (1). Преди няколко години, ултразвуковата екстракция бе предложена като проста и евтина алтернатива за пробоподготовка при биологични и неорганични матрици. Екстракционният ефект е разгледан, като причинен от акустична кавитация, това е, образуване на мехури и последващо разрушаващо действие. Колапсът на мехурчетата води до произвеждане на много висока температура (5000 K) и налягане (10 GPa), които спомагат пробоподготовката (2).

Инфракчервеното елементно извличане е било прилагано за органични и биологични проби (3). Инфракчервено излъчване (1.2×10^{-14} на 6.0×10^{-12} Hz) причинява увеличение на молекулната вибрация и изменение в молекулната ротация, генерира топлина и също така нейното разпространение. Обикновено,

малко количество биологична мостра 200 мг., плюс 2 mL азотна киселина в малка стъклена колба (4 mL) се поставя във фокуса на три IR лампи. След прилагане на 10 V през 120 до 180 s, се прибавя 1 mL на водороден пероксид, следван от прилагане на 10 V за 60 s. Анализите се анализират направо в същите съдове, което предпазва от замърсяване на разтворите (4). Другите приложения са, например, загряване на течности и твърди проби за определение на летливи анализи, и за подготовката с по-ниско врящи киселини (5).

Най често в атомната спектрометрия за разтваряне на пробите се използват като разтворители неорганични киселини или смеси от тях. Изискванията, на които трябва да отговаря една съвременна методика за пробоподготовка са: да се получи най-добрият резултат, за най-кратко време, използвайки минимално количество реагенти, проби и енергия; да е проста за изпълнение, с минимално замърсяване, но характеризираща се с проследими, възпроизводими и точни резултати (6). Системите, използвани за пробоподготовка трябва да предоставят възможност за едновременна подготовка на минимум дузина проби без замърсяване при едни и същи условия на енергийно въздействие. Основно изискване при работа с тях е да няма токсично въздействие върху оператора и околната среда. В България най-често използваните уреди за мокра минерализация към днешна дата са водни и пясъчни бани, както и лабораторни, домакински или келдал котлони. Тези уреди се поставят в камини. Вентилационните системи на тези камини имат кратък живот и са много трудни и скъпи за поддръжка и ремонт. Истински кошмар за всеки лаборант е поддържането на необходимата чистота в камината, за да не се допусне замърсяване на анализираните проби.

ЦЕЛ

Целта, която си поставихме е да разработим система за пробоподготовка, която да отговаря на следните изисквания:

- да използва алтернативни източници на нагряване без микровълни
- да е екологически ефективна
- да е лесна за обслужване и поддръжка
- да позволява едновременна подготовка на до две дузини проби при еднакви условия
- да води до икономия на енергия и време
- да е с добра възпроизводимост
- да е безопасна за работа

СИСТЕМА ЗА ПРОБОПОДГОТОВКА

Разработената от нас система за разтваряне на проби нарекохме SPOVEN – 25. Нейна блок-схема е показана на фиг. 1.

ТЕХНИЧЕСКИ ПАРАМЕТРИ

Габаритни размери- 45/35/30 см

Работна камера – 30/30/25 см

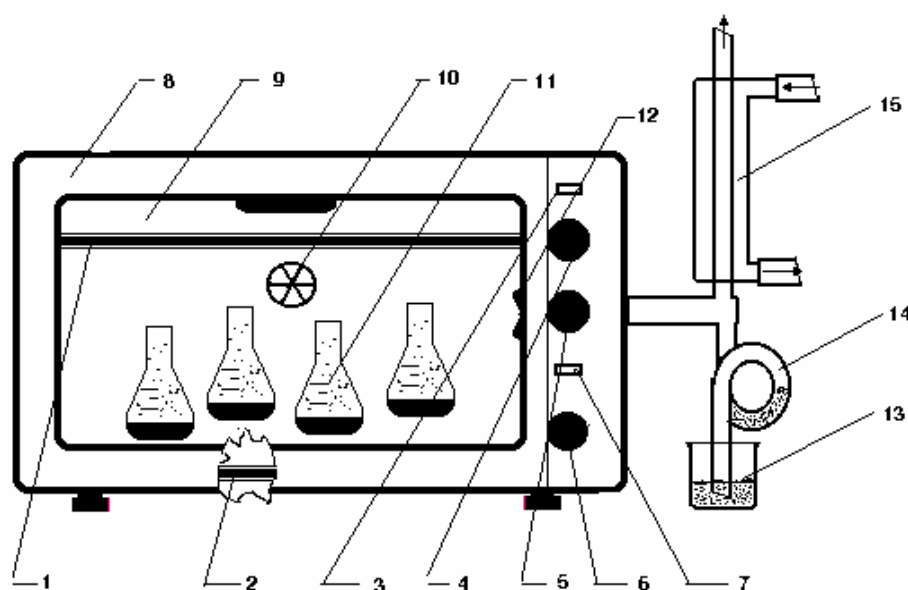
Тегло – 5.5 кг

Захранващо напрежение – 220 V, 50 Hz

Максимална мощност – 2000 W

Работна мощност – 1000 W

Фигура 1. Блок схема на SPOVEN 25



УСТРОЙСТВО И ПРИНЦИП НА ДЕЙСТВИЕ

Системата за пробоподготовка SPOVEN–25 се състои от основен корпус и кондензорен блок фиг.1.

Основният корпус включва:

- 1- инфрачервени нагреватели 2 бр.
- 2- термични нагреватели 2 бр.
- 3- индикатор за включено/изключено
- 4- ключ за избор на температурата
- 5- ключ за включване/изключване
- 6- ключ за избор на време за работа
- 7- индикатор за работа на 1
- 8- корпус
- 9- стъклена врата
- 10- осветително тяло
- 11- проби
- 12- вентилатор

Кондензорният блок се състои от:

13- дренажен съд

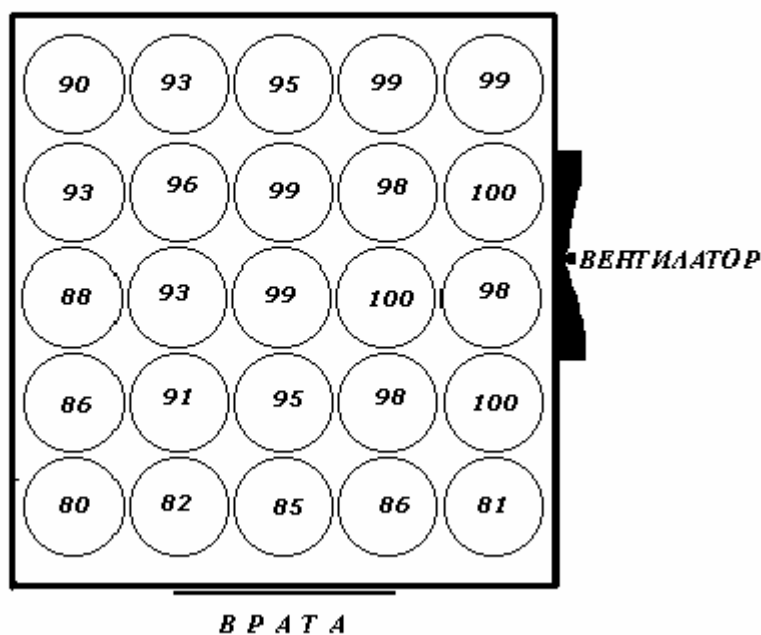
14- хидравлична клапа

15- хладник

В работния обем на системата могат да се съберат едновременно 25 ерленмайрови колби с обем от 50 мл. Нагряването на пробите до зададената от оператора температура става при едновременна работа на четирите нагревателя, за икономия на време. След това достигнатата температура се поддържа автоматично само от двата горни нагревателя излъчващи енергия в инфрачервената област. Отделените изпарения от колбите се засмукват от вентилатора, и преминавайки през хладника кондензират и се стичат в дренажа с възможност за многократна употреба. След изтичане на зададеното от оператора време системата се изключва автоматично, като остава да работи вентилатора за да изсмуква отделящите се пари и след прекратяване на отделянето им за охлаждане на пробите при отворена врата. Всички детайли на системата, имащи достъп до изпаренията от разтворителите за минерализация, са защитени от пълно или частично разрушение, или са устойчиви на киселинно въздействие. Горните нагреватели могат да бъдат термични, инфрачервени или ултравиолетови.

РАЗПРЕДЕЛЕНИЕ НА НАГРЯВАНЕТО

Фигура 2. *Разпределение на нагряването*



За да изследваме до каква степен е хомогенността на нагряване в работния обем на SPOVEN –25, предварително в 25 ерленмайрови колби с обем от 50 мл наляхме по 35 мл дестилирана вода и ги нагрявахме в

продължение на 45 мин. при определена температура (200 единици). След това за всяка от тях измерихме количеството на останалата вода. Приехме за 100% нагриването в колбата(ите) с най-голямо количество изпарена течност. За останалите колби изчислихме процента на нагриване като пропорционален на разликата в обемите преди и след нагриване. Резултатите от изследването са показани на фиг.2.

Разликата в нагриването на вътрешните 20 колби е по-малко от 10%. По-ниска енергия получават колбите разположени до вратата и на страната срещу вентилатора.

ИЗВОДИ

Разработена е система за пробоподготовка при AAS и ICP в отворени съдове с малки габаритни размери.

Едновременно могат да бъдат минерализирани до 25 проби при почти еднаква степен на нагриване.

Начинът на равномерно нагриване не позволява “избухване” на пробите, процесът на минерализация протича спокойно и проследимо с добра повтораемост.

SPOVEN 25 е с безотпадна технология и не замърсява околната среда и работното място.

Полу автоматичната система е лесна за обслужване и поддръжка.

Работата със SPOVEN 25 води до икономия на време, енергия и разтворители.

Цената на SPOVEN 25 я прави достъпна за всяка лаборатория.

ЛИТЕРАТУРА

1. Elisabeth de Oliveira, J. Braz. Chem. Soc. vol.14 no.2 São Paulo Mar./Apr. 2003
2. Schwedt, G.; The Essential Guide to Analytical Chemistry, John Wiley and Sons: Chichester, 1997.
3. Knapp, G.; Raptis, S.E.; Kaiser, G.; Tölg, G.; Schramel, P.; Schreiber, B.; Frezenius Z. Anal. Chem. 1981, 308, 97.
4. Gouveia, S.T; Nóbrega, J.A.; Fatibelo-Filho, O.; J. Braz. Chem. Soc. 2000, 11, 261.
5. Howard, A. G.; Statham, P. J.; Inorganic Trace Analysis. Philosophy and Practice, John Wiley and Sons: Chichester, 1993.
6. Стоян Александров, “Методи за разтваряне, разделяне и концентриране в аналитичната химия”, Народна култура, София, 1995

ИЗЧИСЛИТЕЛЕН МОДЕЛ ЗА КОРЕКЦИЯ НА МЪРТВО ВРЕМЕ И ЕФЕКТ НА МАС-ДИСКРИМИНАЦИЯ ПРИ ICP-MS ИЗОТОПЕН АНАЛИЗ НА УРАН

В. Стефанова¹, В. Кметов¹, А. Каналс²

***¹ Катедра Аналитична химия, ПУ „П. Хилендарски”,
Пловдив, България***

² Department of Analytical Chemistry, University of Alicante, Alicante, Spain

ABSTRACT

The method for uranium isotope analysis by air segmented discrete introduction (ASDI) into ICP-MS Elan 500 upgraded with Elan 5000 software was created. Measurement parameters were optimized in respect to maximum precision of ^{238}U and ^{235}U signals. Referent solution form $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (E.Merck, produced before 1970) with natural abundance of ^{238}U and ^{235}U was used. The linear dynamic range for testing solutions that allows simultaneous measuring of both U isotopes was found to be 0.005 - 1.6 mg/l of total uranium concentration.

A protocol for actual dead time calculation was based on measurement of 12 standard solutions with U concentration within the dynamic range. The signals were corrected by 12 proposed values of the dead time (from 10 to 120 ns) and isotope ratios for corrected signals were calculated. The linear regression coefficients of isotope ratio versus U concentration were calculated for any proposed dead time. The actual dead time was determined as the value at which the ratio $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ was constant over the whole tested concentration interval of uranium solutions. The actual dead time for the CEM detector of Elan 500 was found to be 35,1 ns.

The correction factor for mass-discrimination effect was statistically estimated as deviation of the average intercept of 12 regression lines from the natural distribution of the U isotopes. The determined mass-discrimination correction factor for ASDI-ICP-MS measurement of isotope ratio $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ (by Elan 500) was found to be 0.978.

The efficiency of correction procedure was verified by inter laboratory comparison for isotope analysis of U in an ore sample. It was prepared at Institute of Nuclear Research and Nuclear Energy at Bulgarian Academy of Science, and tested as candidate certified reference material for α -spectrometry calibration. The method was applied for risk assessment of possible contamination with depleted Uranium in

water samples taken near to the west border of Bulgaria after the military intervention in Kosovo.

Ключови думи: ICP-MS, уран, анализ на изотопни отношения.

ВЪВЕДЕНИЕ

Определянето на изотопни отношения (IR) се прилага за геохронологични изследвания, изучаване на метаболитни процеси и екологични експертизи. Чрез изотопен анализ на Pb на морска вода е идентифициран източник на замърсяване [1], а отношението $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ е използвано като пръстов отпечатък за произхода на вина [2]. Най-голям брой изследвания са посветени на ICP-MS методи за определяне изотопните отношения на уран. Замърсяване с обеднен уран е установено в Кувейт след войните в Персийския залив [3] и в Косово - през 1999г [4], също и за оценка на последствията от Чернобилската авария 1986г [5]. Измерването на IR на U в дървесна кора е предложено като нова стратегия за мониторинг на замърсяване от ядрени и конвенционални източници [6]. Изследването на експерти от IRMM, ЕС-JRC доказва, че чисти реагенти и стандартни разтвори, предлагани от химически концерни са произведени от обеднен уран [7].

За да се оценят приносите на много малки количества замърсители, които променят нищожно изотопния състав на обекта, са необходими строги изисквания към точността и прецизността при изотопните анализи. Чрез ICP-MS се измерват сигнали на йони разделени по масови числа (отношение маса/заряд), при което възможни източници на системни грешки при отчитане на различните изотопи са ефектите: мас-дискриминация и мъртво време на детектора. Сравнително изследване на прецизността на три вида ICP-MS инструменти показва, че неопределеността расте в реда TOFMS < мултиколектор MS < QMS [8]. Мъртвото време зависи и от типа на импулсния детектор [9]. Корекция на ефекта мас-дискриминация обикновено се извършва след измерване на скъпи изотопни стандарти. Ограничен брой автори изследват изчислителни модели за корекция на мас-дискриминационен ефект [10] и мъртво време на детектора със серии от изотопни стандарти [11, 12].

Техниките за импулсно пробовъвеждане в ICP-MS като FI и ETV успешно се прилагат за изотопен анализ в съчетание с методи за концентриране [13-16].

В рамките на съвместен проект с Института по ядрена енергетика и ядрени изследвания към БАН бе поставена задача да се определи съдържанието и изотопния състав на уран в образец уранова руда, подготвян като сравнителен материал за калибриране при α -спектрометрия. За решаване на изследователската задача използвахме система за инжекционно въвеждане на проба във въздушно-сегментиран поток (ASDI) и разработени от нас алгоритми за отчитане на псевдо-постоянни сигнали, осигуряващи максимална прецизност на измерването. За корекция на систематичните отклонения при измерванията,

причинени от мъртво време на детектора и ефект на мас-дискриминация бе създаден модифициран изчислителен подход.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ЧАСТ

Използван бе масспектрометър Perkin-Elmer ELAN 500 ICP-MS модифициран със софтуер на ELAN 5000.

Инжекционното дозиране бе осъществено със система за въздушно сегментирано дискретно пробовъвеждане ASDI.

Лабораторните проби са разложени чрез киселинна минерализация след микровълново третиране в затворени съдове със система CEM

За да намалим инструменталната неопределеност при ASDI-ICP-MS изотопен анализ на уран предприехме следните стъпки:

1) чрез сканиране на масовия спектър са определени точните стойности на максимумите на спектралните пикове: съответно – 238,2 amu за ^{238}U и 235,2 за ^{235}U ;

2) сигналите са измервани в псевдо-постоянен режим в зоната на платото при инжектиране с ASDI на 250 μl пробен p-p;

3) оптимизирани са интеграционните времена: 200 ms за ^{238}U и петкратно удължено време за ^{235}U - 1000 ms;

4) от всяка инжекция са регистрирани по 5 измервания в псевдо-постоянен режим;

5) за всяка проба са измервани по 5 паралелни инжекции. Инструменталните параметри на измерването са представени в Таблица 1.

Таблица 1. Апаратурни условия за изотопен анализ на уран при измерване на псевдо-постоянен сигнал с ASDI-ICP-MS

Description:	U Isotope Ratio	Dwell time:	200 ms	Normal Resolution:		
Sweeps/Reading	1	Replicate time:	0.08	Elem.	Mass	Time factor
Replic. per inj:	5	Replicate inj.	5	U	238.2	1
Measur. mode	Continuos	Points per peak:	1	U	235.2	5

При измерване на серия от фирмени стандартни разтвори - две партии на *E. Merck № 10580 ICP-Multi VI 30* елемента и едноелементен стандартен разтвор за U на *E. Merck* установихме, че изотопните отношения $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ в трите стандарта са съответно: за двата многоелементни стандартни разтвора на Merck - IR е 0.00240 и 0.00246, а при моно стандарта - IR=0.00329 (RSD<1%). Това показва, че фирмата производител на стандартни p-ри за елементен анализ използва продукти, съдържащи обеднен уран, които са неподходящи за изотопни анализи. Получените резултати са в съгласие с публикуваните данни [7], където за продукти на фирмата E.Merck са определени $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ в интервала 0.00209-0.00326. За да решим проблема със стандартните разтвори, бе

приготвен разтвор от кристална сол $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (E.Merck, производство преди 1970 г.). Измереното изотопно отношение в този разтвор е близко до естественото процентно разпространение на U изотопи в природата.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИИ

Проблемът при прецизно определяне на изотопния състав на уран с ICP-MS е, че естественото разпространение на основните му изотопи се различава с повече от два порядъка - ^{238}U (99.28%), а ^{235}U е 0.715%. При тези условия метрологичните характеристики и доминиращите шумови ефекти при ICP-MS регистриране на двата сигнала значително се различават. При ниски сигнали шумът може да се намали чрез удължено интегриране. При високи сигнали се увеличава приносът на мъртвото време (dead time – t_d) и затрудненията при масов транспорт на йонния поток. В допълнение, систематичното отклонение, породено от мас-дискриминация е засилено, защото разликата в масите на двата изотопа е 3 а.м.у.

За импулсните детектори, с какъвто е екипиран и ELAN 500 спектрометъра, мъртвото време (t_d) се дефинира като време, през което детекторът не регистрира йони, след удара на предишния йон. Тогава времето за интегриране на сигнала t_i се разделя на време за измерване и мъртво време (уравн. 1).

$$t_i(s) = t_{\text{measured}}(s) + t_d(s) \quad (1)$$

Честотата на детекция S (counts per second – cps) е брой йони (N), регистриран за t_i интеграционно време (уравн. 2):

$$S = \frac{N}{t_i(s)} \quad (2)$$

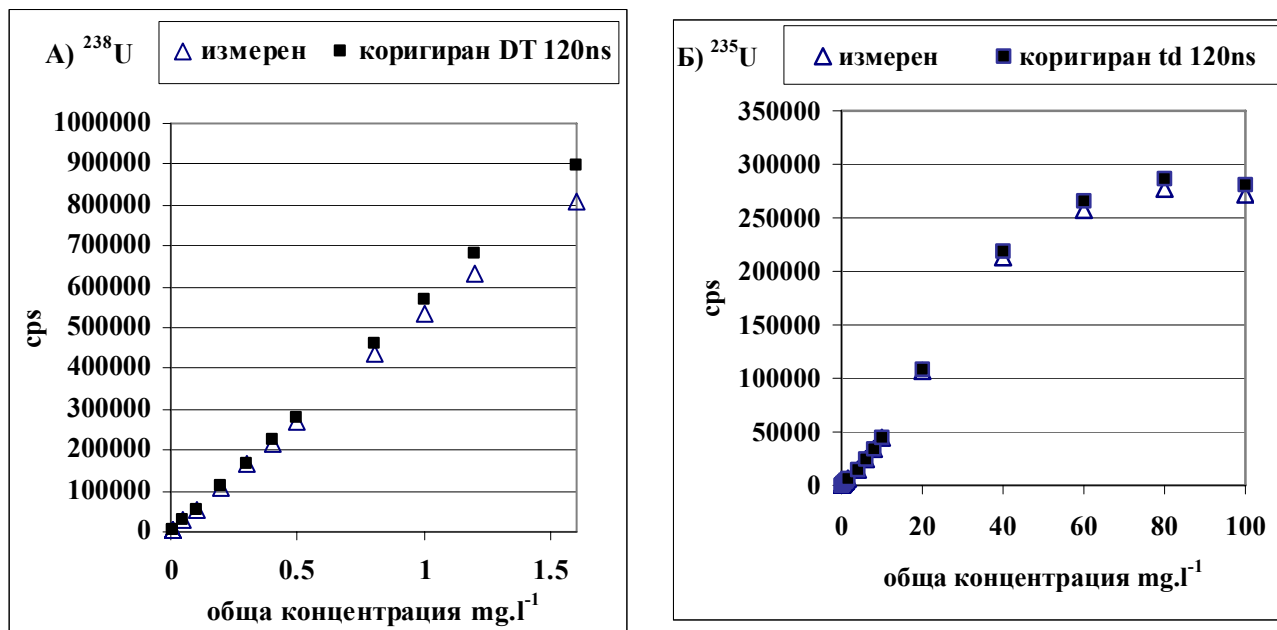
Коригираният сигнал, при зададено мъртво време на детектора $t_d(s)$ може да се изведе от уравн. 1 и 2, и има следния вид (уравн. 3):

$$S_{\text{corrected}} = \frac{S_{\text{measured}}}{1 - S_{\text{measured}} \cdot t_d(s)} \quad (3)$$

Определен бе концентрационният интервал, в който могат да се регистрират едновременно стабилни сигнали и за двата изотопа чрез измерване на серия от 21 стандартни р-ра в интервал 0.001-100 mg.l^{-1} обща концентрация на U. Сигналите са представени на фиг.1 – А) за ^{238}U и Б) за ^{235}U . И двете функции сигнал/концентрация проявяват тенденция към закривяване. При високо разпространения ^{238}U сигналът достига праговата стойност на детектора при концентрация 1.6 mg.l^{-1} , което определя и горната граница, при която ^{238}U може да бъде измерван в разтвора. Концентрационният интервал, в който се регистрират стабилни сигнали за ^{235}U е 0.005-40 mg.l^{-1} . Закривяването на зависимостта сигнал/концентрация е силно изразено.

Концентрационният интервал, подходящ за едновременно измерване на двата изотопа е 0.005-1.6 mg.l^{-1} обща концентрация на уран в разтвора.

Фигура 1. Зависимост на сигнала от общата концентрация на уран в пробния разтвор за изотопите ^{238}U (А) и ^{235}U (Б)



Влиянието на мъртвото време на детектора е илюстрирано (фиг. 1) чрез корекция на измерените сигнали (уравн. 3) при $t_d = 120$ ns. Това е максималната стойност на t_d за детектори на ELAN 5000 открита в литературата [9, 11].

За определяне на реалното t_d на ELAN 500 приложихме подход, подобен на описания от *Nelms и съавтори* в [11]. Подходът беше модифициран, поради невъзможността да осигурим сертифицирани сравнителни материали с нарастващи изотопни отношения на уран. За изчисляване на реалното t_d и корекционният фактор на мас-дискриминация измервахме сигналите на разтвори приготвени от кристална сол $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ с естествено разпределение на урановите изотопи, като следвахме следния протокол:

- 1) коригирани са сигналите, измерени в 12 разтвора (конц. интервал 0.005-1.6 mg.l⁻¹) при 12 зададени стойности за t_d в интервала 10-120 ns, по уравн. 3.
- 2) изчислени са изотопните отношения на коригираните сигнали.
- 3) за всяка зададена стойност на мъртвото време ($t_d = \text{const}$) е изчислено уравнение на линейна регресия на зависимостта изотопно отношение (IR) като функция от общата концентрация на уран в разтвора (mg.l⁻¹).
- 4) изчислено е уравнение на линейна регресия на зависимостта на мъртвото време от наклоните, получени в т.3.
- 5) определен е средноаритметичният отрез на всички линейни уравнения от т.3.
- 6) средноаритметичният отрез е нормиран към естественото изотопно отношение на $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$
- 7) изчислен е корекционният коефициент на мас-дискриминация

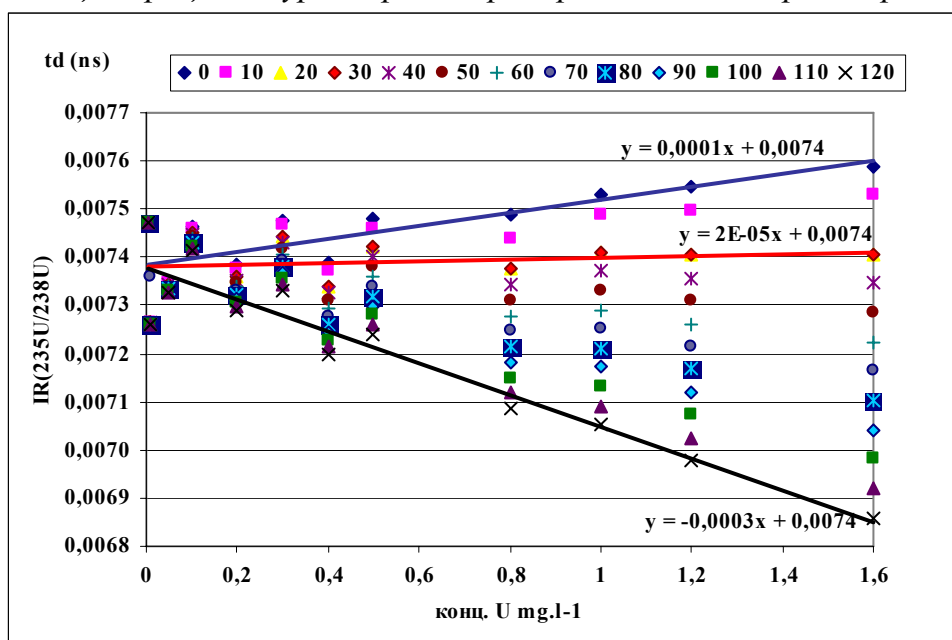
Данните за линейните зависимости на IR от общата концентрация на уран в разтвора (т.3), за всяка стойност на t_d , са представени на фиг.2 А и табл. 2.

От фиг. 2А се вижда, че при стойности на мъртвото време по-ниски от реалното, с повишаване общата концентрация на U отношението нараства,

защото високите сигнали за ^{238}U не са коригирани адекватно (изчислените стойности са по-ниски от реалните). Обратно, при по-високи стойности на мъртвото време корекцията прекомпенсира влиянието му и IR е занижено.

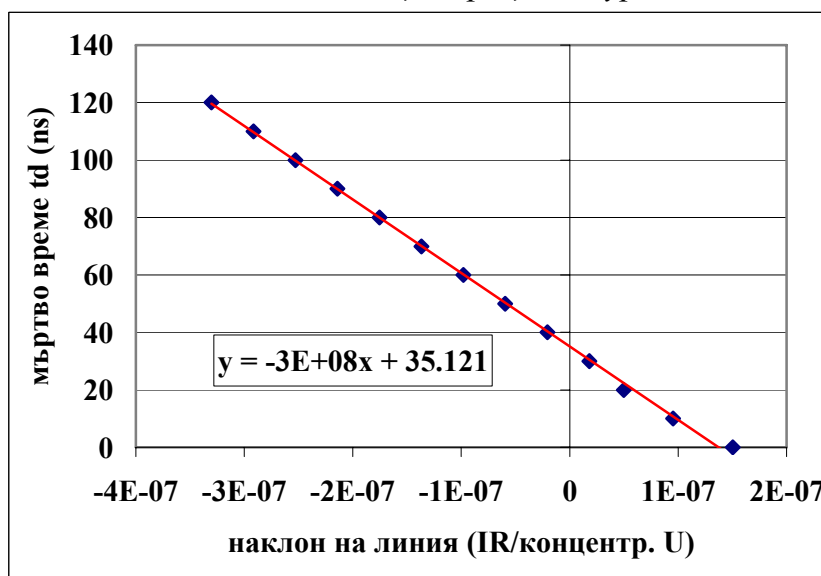
Следователно, с нарастване зададената стойност на t_d наклоните на регресионните линии намаляват, а при прекомпенсация имат отрицателни стойности. Ако мъртвото време е равно на реалното, то правата (IR/конц. U) трябва да е успоредна на абсцисата, т.е. IR ще остава постоянно при нарастване концентрацията на U в разтвора.

Фигура 2. Зависимост на изчислено изотопно отношение ($^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$) от общата концентрация на уран в разтвора, при зададено мъртво време



За да се определи реалната стойност на мъртвото време изчислихме линейната функция - мъртво време/наклон (фиг.3).

Фигура 3. Зависимост на мъртвото време от наклона на линиите изотопно отношение/концентрация на уран



Изчислените наклони добре корелират ($R^2=0.999$) с мъртвото време. Отрезът на функцията е оценка за реалното мъртво време на детектора ($t_d=35.12$ ns) при определяне на отношението $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ с ICP-MS ELAN 500.

Измерените сигнали бяха коригирани с установеното t_d и линейната зависимост на IR от концентрацията на уран е представена в табл. 2. Вижда се, че наклонът на функцията за $t_d=35.12$ ns е най-близък до нула.

Таблица 2. Уравнения на линейна регресия на зависимостта на изотопно отношение ($^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$) от обща концентрация на уран в разтвора за зададена стойност на мъртво време t_d (ns)

t_d (ns)	Наклон	отрез	t_d (ns)	наклон	отрез
0 (измер.)	1.5E-04	0.00737	70	-1E-04	0.00738
10	9.5E-05	0.00736	80	-2E-04	0.00736
20	5E-05	0.00739	90	-2E-04	0.00736
30	1.8E-05	0.00736	100	-3E-04	0.00736
40	-2E-05	0.00736	110	-3E-04	0.00736
50	-6E-05	0.00736	120	-3E-04	0.00736
60	-1E-04	0.00736	35.12 (изчисл.)	-2E-06	0.00736
Средноаритметичен отрез					0.00737
SD (отрез)					8.7E-06
RSD %					0.118

Както се вижда от фиг. 2 регресионните линии, показани за три стойности на мъртвото време (0, 30 и 120 ns), пресичат ординатата (IR) в една и съща точка. Отрезът на линейната зависимост на IR от концентрацията на уран в разтвора може да бъде тълкуван като оценка на мас-дискриминационния ефект, защото с намаляване на сигналите приносът на мъртвото време към системната грешка в IR клони към нула. От данните в табл. 2 е изчислен средноаритметичният отрез за 12 зададени стойности на t_d , който е $IR=0.00737$, с $RSD=0.118\%$. Средноаритметичната стойност на отреза е оценка за систематичното отклонение на IR, причинено от ефекта на мас-дискриминация при $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$. Отклонението на измереното IR, спрямо естественото отношение за $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ е 102.3% и позволява да се изчисли корекционният фактор за мас-дискриминационен ефект. Изчисленото от нас отклонение е близко до публикуваните данни (102-105%) за IR с ICP-MS ELAN 5000 [10].

Въз основа на получените резултати е определен корекционен фактор на мас-дискриминация 0.9776 и мъртво време на детектора 35.12 ns при ASDI-ICP-MS измерване на изотопното отношение $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$. Коригираните сигнали за 12 разтвора с концентрация на уран ($0.005\text{--}1.6\text{ mg.kg}^{-1}$) показват средна стойност на $^{235}\text{U}/^{238}\text{U} = 0.00722$ с $RSD = 0.52\%$. В този интервал се съдържа референтната стойност.

При установените режими на измерване и корекция бе извършен количествен изотопен анализ на уранова руда. Резултатите са сравнени с

данните, предоставени от лаборатории, участващи в кръгов анализ на сравнителния материал и са представени в табл. 3.

Таблица 3 . Резултати от анализ на сравнителен материал уранова руда, получени с ASDI-ICP-MS и данни от четири независими лаборатории

Лаборатория	метод	²³⁸ U				²³⁵ U				²³⁵ U/ ²³⁸ U	
		конц. mg.kg ⁻¹	SD	активн. Bq.kg ⁻¹	SD	конц. mg.kg ⁻¹	SD	активн. Bq.kg ⁻¹	SD	IR	SD
ПУ- Анал. химия	ASDI-ICP-MS	169	4.2	2092 *	52 *	1.23	0.07	103 *	5.6 *	0.00721	0.00006
ИЯИЯЕ – БАН – С-я	α-спектр.	168 *	-	2050	-	-	-	-	-	-	-
ЛРК – София.	γ-спектр.	175 *	10 *	2160	130	1.23 *	0.16 *	98	13	0.00703 **	-
НЦРБРЗ - София	γ-спектр.	219 *	16 *	2702	175	1.75 *	0.69 *	139	55	0.00798 **	-
ПУ – ЛАФ	γ-спектр.	172 *	-	2122	-	-	-	-	-	-	-

Забележка: * Стойностите за концентрация или активност на уран са изчислени съгласно уравн. 4. **IR са изчислени като отношение на определените концентрации на двата изотопа. SD е стандартна неопределеност. ИЯИЯЕ – Институт по ядрени изследвания и ядрена енергия, ЛРК - Лаборатория по радиологичен контрол, НЦРБРЗ-Национален център по радиобиология и радиологична защита, ЛАФ – Лаборатория по атомна физика.

За изчисляване на връзката между концентрацията на уран (mg.kg⁻¹) и активността (A_{sample}) на двата изотопа са използвани коефициентите им на специфична активност (Ac) съответно: за ²³⁸U Ac=12.34 Bq.mg⁻¹; и за ²³⁵U Ac=79.566 Bq.mg⁻¹ съгласно уравн. 4,

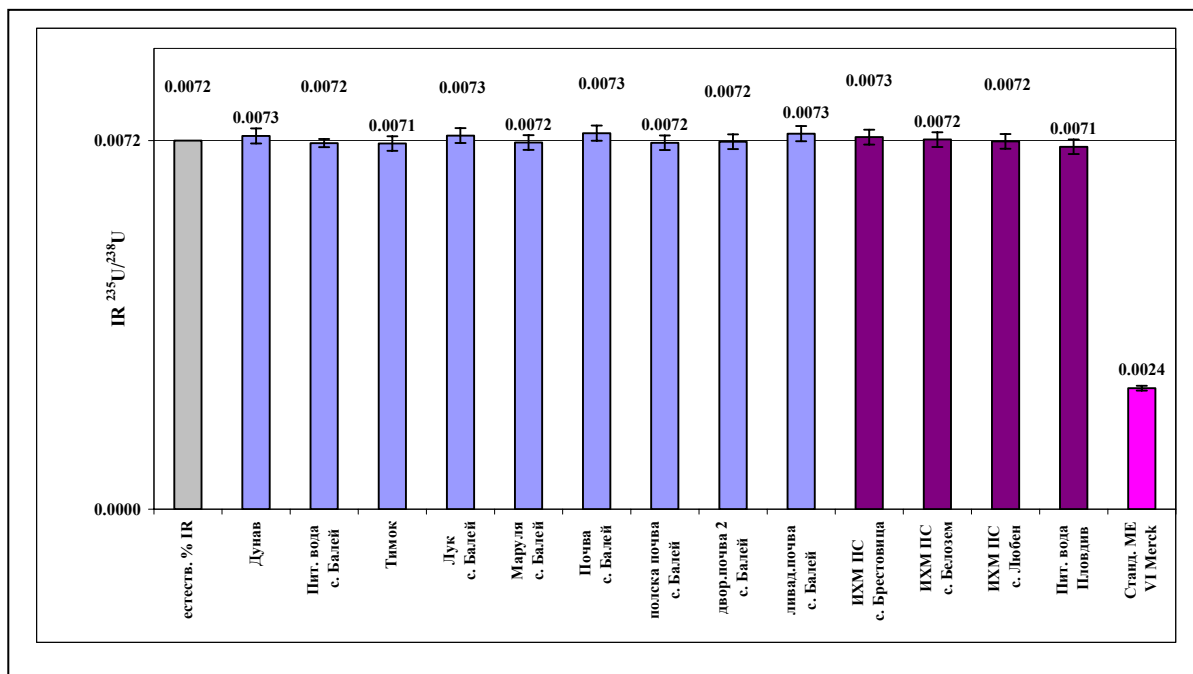
$$A_{\text{sample}}(\text{Bq.kg}^{-1}) = C(\text{mg.kg}^{-1}) \cdot Ac(\text{Bq.mg}^{-1}) \quad (4)$$

Резултатите от ASDI-ICP-MS метода за изотопен състав и изотопно отношение на ²³⁵U и ²³⁸U в сравнителния материал уранова руда са статистически неразличими от ИЯИЯЕ, ЛРК и ЛАФ-ПУ, което е обективно доказателство за точността на предложения метод. Постигнатата стандартна неопределеност с ASDI-ICP-MS е най-ниска, въпреки че той е единственият деструктивен метод. Определеното отношение на ²³⁵U/²³⁸U в рудата е неразлично от естественото.

Разработеният ASDI-ICP-MS метод за изотопен анализ на уран бе приложен за изследване риска от замърсяване с обеднен уран вследствие на конфликта в Косово през пролетта на 1999 г. Анализирани са серия от проби, взети на 29.05.1999 г. от района на с. Балей, разположено непосредствено до западната ни граница със Сърбия и водни проби от района на Пловдив, взети от контролни пунктове на Института по хидрология и метеорология-БАН. За да оценим евентуалното замърсяване на изследваните проби с обеднен уран определихме и изотопното отношение ²³⁵U/²³⁸U (фиг. 4.). Всички измерени с ASDI-ICP-MS изотопни отношения са статистически неразличими от

естественото разпространение в природата на урановите изотопи, следователно, в изследваните проби не се доказва замърсяване с обеднен уран.

Фигура 4. *Определено изотопно отношение на $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ в проби от районите на с. Балеи – Видинско и Пловдив през Май 1999 г.*



Единствено в многоелементния стандартен р-р на Merck е регистрирано нарушено изотопно отношение. То е близко до състава на използваните в Косово боеприпаси с обеднен уран с отношение $^{235}\text{U}/^{238}\text{U} \sim 0.00202 \pm 0.00001$ [5].

Средните стойности на измерените с ASDI-ICP-MS отношения $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ в 9 обекта от пограничния северозападен район и 4 обекта от Пловдив са съответно 0.00723 (с.Балеи) и 0.00719 (Пловдив). Стандартната неопределеност на отношенията за двата района е респективно 0.00009 и 0.00008.

Границата на откриване на ASDI-ICP-MS метода при установяване на замърсяване с обеднен уран, която съответства на 3 пъти стандартната неопределеност на измерването е: внесената порция обеднен уран да бъде най-малко 5% от общото съдържание на U в реалните проби.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработен е ASDI-ICP-MS метод за изотопен анализ на уран.

За определяне на изотопното отношение на $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ е предложен модифициран подход за изчисляване на реалното мъртво време на детектора и корекционен фактор за ефекта на мас-дискриминация.

Постигната е по-добра прецизност на ASDI-ICP-MS метода при определяне съдържанието на ^{235}U и ^{238}U в уранова руда от тази на неструктурни методи за анализ (α - и γ -спектроскопия).

С ASDI-ICP-MS метода статистически може да се докаже замърсяване с обеднен уран, ако то надвишава 5% от общата концентрация на уран в обекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. D. Weiss, E. A. Boyle, V. Chavagnac, M. Herwegh, J. F. Wu, *Spectrochim. Acta* 55B, 363 (2000).
2. C. M. Almeida, M. T. S. D. Vasconcelos, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 16, 607 (2001).
3. F. Bou-Rabee, *Appl. Radiat. Isot.* 46, 217 (1995).
4. S. F. Boulyga, C. Testa, D. Desideri, J.S. Becker, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 16, 1283 (2001).
5. S. F. Boulyga, J. S. Becker, A. F. Malenchenko, H. J. Dietze, *Mikrochim. Acta* 134, 215 (2000).
6. R. L. Ma, D. Bellis, C. W. Mcleod, *Analytical Chemistry* 72, 4878 (2000).
7. S. Richter, A. Alonso, R. Wellum, P. D. P. Taylor, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 14, 889 (1999).
8. A. Montaser, "Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry" Wiley-VCH, NewYork, 1998.
9. F. Vanhaecke, G. De Wannemacker, L. Moens, R. Dams, C. Latkoczy, T. Prohaska, G. Stingeder, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 13, 567 (1998).
10. A. S. Al-Ammar, R. M. Barnes, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 16, 327 (2001).
11. S. M. Nelms, C. R. Quetel, T. Prohaska, J. Vogl, P. D. P. Taylor, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 16, 333 (2001).
12. S. Uchida, R. Garcia-Tenorio, K. Tagami, M. Garcia-Leon, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 15, 889 (2000).
13. S. Hann, T. Prohaska, G. Kollensperger, C. Latkoczy, G. Stingeder, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 15, 721 (2000).
14. L. Halicz, I. Segal, I. Gavrieli, A. Lorber, Z. Karpas, *Analytica Chimica Acta* 422, 203 (2000).
15. J. B. Truscott, B. Lee, P. Jones, E. M. Evans, J. Turner, B. Fairnan, *J. Anal. Atom. Spectrom.* 14, 627 (1999).

СРАВНИТЕЛНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА МЕТОДИТЕ ЗА ПОДГОТОВКА НА ПОЧВЕНИ ПРОБИ ЗА ААС АНАЛИЗ НА Cd, Pb, Cr и Ni

П. Запрянова**, В. Ангелова*, Л. Доспатлиев*, К. Иванов*

****Аграрен университет – Пловдив***

*****ИТТИ – Пловдив***

ABSTRACT

There has been carried out a comparative study of the standard methods and analysis (AAS) of soil samples for the determination of Cd, Pb, Cr and Ni. A considerable difference in the degree of extraction of the studied elements has been found, depending on the method of sample preparation and on the soil composition.

Ключови думи: почви, пробоподготовка, ААС

ВЪВЕДЕНИЕ

Кадмият, оловото, никелът и хромът не принадлежат към групата елементи, които са безусловно необходими за растенията. Точното определяне и регулиране на съдържанието им в почвата и преминаването им в растенията обаче е важно не само от гледна точка на екологията. Известно е, че никелът участва в регулирането на окислителните процеси в растенията и недостигът му предизвиква хлороза, подобна на желязната. В същото време той е елемент, образуващ токсично карбонилно съединение, което се счита за потенциален канцероген [1]. Участието на хрома в метаболизма на растенията също е все още дискуссионен въпрос и публикациите в това направление са твърде разнопосочни [2].

Токсичното действие на оловото и кадмия върху жизнените процеси на почти всички растения е добре известно [3]. Значителната фитотоксичност на кадмия се дължи и на високия му трансферен коефициент, което означава относително слаба сорбция от почвените колоиди и лесната му акумулация в растенията [4].

Настоящата работа е част от едно системно изследване на методите за подготовка на почвени проби за анализ на най-важните тежки метали. Целта е да се оценят възможностите на най-разпространените стандартизирани методи

за пробоподготовка и се определят границите им на приложение при решаване на най-важните екологични и селскостопански проблеми.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

В изследването са използвани 3 сертифицирани почвени образци, отговарящи на два основни състава почви в България – Светла алувиално-делувиална ливадна почва ПС-1, COOMET № 0001- 1999 BG, СОД № 310а 98, Светла ливадно канелена почва ПС-2, COOMET № 0002- 1999 BG, СОД № 311а 98 и Светла алувиално-делувиална ливадна почва ПС-3, COOMET № 0003- 1999 BG, СОД № 312а 98.

При количественото определяне на елементите в разработените проби беше използван атомно-абсорбционен спектрометър “Spektra AA 200” на фирма “Varian”, Австралия.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Резултатите от определяне съдържанието на Cd, Pb, Cr и Ni в трите сертифицирани почвени образци са представени в таблици 1 – 4. За оценка на коректността им са използвани 4 общоприети критерии, както следва:

1. $D = X - X_{CRM}$, където X е измерената стойност, а X_{CRM} – сертифицираната стойност. При стойности на D в границите $\pm 2\sigma_{CRM}$, където σ_{CRM} е стандартното отклонение на сертифицираната стойност, резултатът се приема за добър, при $-3\sigma_{CRM} \leq D \leq 3\sigma_{CRM}$ – удовлетворителен, а извън границите $\pm 3\sigma_{CRM}$ резултатът е неудовлетворителен.
2. $D\% = D / X_{CRM} \cdot 100$ – процентна разлика. При стойности на $D\%$ в границите $\pm 200\sigma_{CRM} / X_{CRM}$ резултатът се приема за добър, при $-200\sigma_{CRM} / X_{CRM} < D < 300\sigma_{CRM} / X_{CRM}$ – удовлетворителен, а извън границите $\pm 300\sigma_{CRM} / X_{CRM}$ резултатът е неудовлетворителен.
3. $Z = X - X_{CRM} / \sigma_{CRM}$. При стойности на $Z \leq 2$ резултатът се приема за добър, при $2 \leq Z \leq 3$ – удовлетворителен, а при $Z > 3$ резултатът е неудовлетворителен.
4. R – показва степента на извличане на елемента в проценти от сертифицираната стойност. Когато измерената стойност X е в границите $X_{CRM} \pm U_{CRM}$ приемаме степен на извличане 100 %. Във всички останали случаи степента на извличане е равна на $X / X_{CRM} \cdot 100$.

При представяне на резултатите в таблиците с две звездички (**) са отбелязани добрите резултати, а с една звездичка (*) – удовлетворителните.

При подготовката на пробите за анализ бяха използвани 6 от най-често използваните методи за пробоподготовка: ISO 11466, включващо обработка на пробите с царска вода, ISO 11047, включващо навлажняване на пробата с H_2O и обработка със смес от HNO_3 и $HClO_4$, EPA 3051 и EPA 3052 – микровълнова подготовка на пробите с HNO_3 в първия случай и със смес от HNO_3 , HF , HCl и H_2O_2 във втория, БДС ISO 14869-1, включващо предварителна термична обработка преди разтварянето с HF , $HClO_4$ и HNO_3 и ISBN 01175 19081,

включващ два етапа – (i) обработка на пробата с царска вода и (ii) допълнителна обработка на неразтворената част от пробата с HF.

От представените в таблици 1 – 4 резултати се вижда, че степента на извличане зависи както от определяния елемент, така и от състава на използваната почва.

Таблица 1. Ефективност на методите на пробоподготовка при определяне съдържанието на Cd в почви.

Почва ***	Метод	X g/t	U _x g/t	σ _x g/t	X _{CRM} g/t	U _{CRM} g/t	σ _{CRM} g/t	D	D, %	Z	R
ПС-1	1	4.00	0.35	0.13	4.65	0.40	0.23	-0.65*	-13.98*	2.83*	86.1
	2	3.90	0.34	0.09	4.65	0.40	0.23	-0.75	-16.13	3.26	83.9
	3	3.80	0.33	0.01	4.65	0.40	0.23	-0.85	-18.28	3.69	81.7
	4	3.30	0.29	0.05	4.65	0.40	0.23	-1.35	-29.03	5.87	71.0
	5	4.43	0.42	0.15	4.65	0.40	0.23	-0.22**	-4.73**	0.96**	100
	6	4.55	0.34	0.11	4.65	0.40	0.23	-0.10**	-2.15**	0.43**	100
ПС-3	1	0.70	0.06	0.02	0.67	0.10	0.058	0.03**	4.47**	0.52**	100
	2	0.80	0.07	0.08	0.67	0.10	0.058	0.13*	19.40*	2.24*	100
	3	0.70	0.06	0.12	0.67	0.10	0.058	0.03**	4.47**	0.52**	100
	4	0.55	0.06	0.13	0.67	0.10	0.058	0.12*	17.9*	2.07*	82.1
	5	0.81	0.07	0.15	0.67	0.10	0.058	0.14*	20.90*	2.41*	100
	6	0.80	0.07	0.08	0.67	0.10	0.058	0.13*	19.40*	2.24*	100

* – удовлетворителен резултат, * * – добър резултат, *** - за ПС-2 липсва сертифицирана стойност за Cd

Степента на извличане на Cd варира от 71 до 100 %, а при Pb – от 52.7 до 100 %. Като доминиращ фактор и в двата случая се очертава почвеният състав. Докато при ПС – 3 извличането и по шестте метода е пълно или задоволително, то при ПС – 1 и ПС – 2 пълно извличане се наблюдава само при методите, включващи използването на HF. При определяне общото съдържание на Cd и Pb най-подходящ е методът БДС ISO 14869-1. Методът ISBN 01175 19081 също е достатъчно ефективен. Той обаче е по-сложен за изпълнение и включва два самостоятелни етапа в разработването на пробата, което е потенциален източник на грешки.

Таблица 2. Ефективност на методите на пробоподготовка при определяне съдържанието на Pb в почви.

Почва	Ме- тод	X g/t	U _x g/t	σ _x g/t	X _{CRM} g/t	U _{CRM} g/t	σ _{CRM} g/t	D	D, %	Z	R
ПС-1	1	111.00	10.47	0.99	120.48	5.20	3.55	-9.48*	-7.87*	2.67*	92.1
	2	107.00	10.06	1.07	120.48	5.20	3.55	-13.48	-11.19	3.80	88.8
	3	99.00	9.31	2.08	120.48	5.20	3.55	-21.48	-17.83	6.05	82.2
	4	102.00	9.59	3.37	120.48	5.20	3.55	-18.48	-15.34	5.21	84.7
	5	120.00	11.28	3.22	120.48	5.20	3.55	-0.48**	-0.40**	0.14**	100
	6	118.50	8.79	2.51	120.48	5.20	3.55	1.98**	1.64**	0.56**	100
ПС-2	1	37.00	3.48	0.56	51.21	5.09	1.34	-14.21	-27.75	10.60	72.3
	2	37.00	3.48	0.81	51.21	5.09	1.34	-14.21	-27.75	10.60	72.3
	3	35.00	3.29	0.74	51.21	5.09	1.34	-16.21	-31.65	12.10	68.3
	4	27.00	2.54	1.97	51.21	5.09	1.34	-24.21	-47.28	18.07	52.7
	5	54.30	5.20	3.27	51.21	5.09	1.34	3.09*	6.03*	2.31*	100
	6	53.17	3.12	1.25	51.21	5.09	1.34	1.96**	3.82**	1.46**	100
ПС-3	1	77.00	7.24	1.39	87.50	11.68	6.74	-10.50**	-12.00**	1.56**	100
	2	78.00	7.33	2.57	87.50	11.68	6.74	-9.50**	-10.86**	1.41**	100
	3	76.00	7.14	1.75	87.50	11.68	6.74	-11.50**	-13.14**	1.71**	100
	4	68.00	6.39	0.82	87.50	11.68	6.74	-19.50*	22.29*	2.89*	77.7
	5	94.00	8.84	3.56	87.50	11.68	6.74	6.50**	7.43**	0.96**	100
	6	88.0	6.66	4.22	87.50	11.68	6.74	0.5**	0.57**	0.07**	100

* – удовлетворителен резултат, ** – добър резултат

Степента на извличане на хрома варира от 58.7 до 100 %. В този случай доминиращ фактор е методът на пробоподготовка, като пълното извличане на елемента изисква използването на HF или микровълнова система. Последният метод е препоръчителен поради бързината и по-лесното техническо изпълнение.

Никелът е чувствителен към метода на пробоподготовка, като резултатите и за трите почви са близки. Неговото съдържание варира от 60.9 до 100 %. В този случай недостатъчно ефективно е самостоятелното използване на HNO₃, докато всички киселинни смеси водят до пълното му извличане и при трите почвени образци.

Таблица 3. Ефективност на методите на пробоподготовка при определяне съдържанието на Сг в почви.

Почва	Метод	X g/t	U _x g/t	σ _x g/t	X _{CRM} g/t	U _{CRM} g/t	σ _{CRM} g/t	D	D, %	Z	R
ПС-1	1	83.00	7.80	3.87	103.71	9.40	2.90	-20.7	-19.96	7.13	80.0
	2	75.70	7.12	5.90	103.71	9.40	2.90	-28.0	-27.00	9.66	73.00
	3	63.20	5.94	2.95	103.71	9.40	2.90	-40.5	-39.05	13.97	60.9
	4	96.20	9.04	1.80	103.71	9.40	2.90	-7.51*	-7.24*	2.59*	100
	5	105.20	9.89	2.50	103.71	9.40	2.90	1.49**	1.44**	0.51**	100
	6	101.50	8.04	3.53	103.71	9.40	2.90	2.21**	2.12**	0.76**	100
ПС-2	1	51.70	4.86	0.99	65.06	9.21	1.43	-13.4	-20.60	9.37	79.5
	2	43.50	4.09	1.12	65.06	9.21	1.43	-21.6	-33.20	15.10	66.9
	3	38.20	3.59	2.92	65.06	9.21	1.43	-26.9	-41.35	18.81	58.7
	4	65.00	6.11	3.58	65.06	9.21	1.43	-0.06**	-0.09**	0.04**	100
	5	68.60	6.45	2.54	65.06	9.21	1.43	3.54*	5.44*	2.48*	100
	6	67.08	6.30	3.58	65.06	9.21	1.43	2.02**	3.10**	1.41**	100
ПС-3	1	69.90	6.57	3.66	88.15	7.00	4.04	-18.3	-20.76	4.52	79.3
	2	66.10	6.21	4.48	88.15	7.00	4.04	-22.1	-25.07	5.46	75.0
	3	62.40	5.87	2.98	88.15	7.00	4.04	-25.8	-29.27	6.37	70.8
	4	85.70	8.06	0.26	88.15	7.00	4.04	-2.45**	-2.78**	0.61**	100
	5	93.62	8.80	3.10	88.15	7.00	4.04	5.47**	6.21**	1.35**	100
	6	83.43	7.84	4.23	88.15	7.00	4.04	-4.72**	-5.35**	1.17**	100

* – удовлетворителен резултат, ** – добър резултат

Таблица 4. Ефективност на методите на пробоподготовка при определяне съдържанието на Ni в почви.

Почва	Метод	X g/t	U _x g/t	σ _x g/t	X _{CRM} g/t	U _{CRM} g/t	σ _{CRM} g/t	D	D, %	Z	R
ПС-1	1	62.50	5.88	1.10	63.55	5.76	1.50	-1.05**	-1.65**	0.70**	100
	2	66.20	6.22	4.56	63.55	5.76	1.50	2.65**	4.17**	1.77**	100
	3	52.70	4.95	0.74	63.55	5.76	1.50	-10.85	-17.07	7.20	82.9
	4	64.50	6.06	1.73	63.55	5.76	1.50	0.95**	1.49**	0.63**	100
	5	65.40	6.14	0.98	63.55	5.76	1.50	1.85**	2.91**	1.23**	100
	6	65.2	5.43	1.23	63.55	5.76	1.50	1.65**	2.60**	1.10**	100
ПС-2	1	31.80	2.99	0.75	37.68	5.29	0.85	-5.88	-15.61	6.92	84.4
	2	34.10	3.21	1.92	37.68	5.29	0.85	-3.58	-9.50	4.21	100
	3	26.20	2.46	0.33	37.68	5.29	0.85	-11.48	-30.47	13.51	69.5
	4	39.10	3.68	0.05	37.68	5.29	0.85	1.42**	4.56**	1.67**	100
	5	38.60	3.63	1.15	37.68	5.29	0.85	0.92**	2.44**	1.08**	100
	6	38.53	3.62	1.56	37.68	5.29	0.85	0.85**	2.26**	1.00**	100
ПС-3	1	47.70	4.48	0.45	51.75	4.23	2.44	-4.05**	-7.83**	1.66**	100
	2	53.30	5.01	0.22	51.75	4.23	2.44	1.55**	2.99**	0.64**	100
	3	44.40	4.17	0.10	51.75	4.23	2.44	-7.35	-14.20	3.01	85.8
	4	48.90	4.60	0.75	51.75	4.23	2.44	-2.85**	-5.50**	1.17**	100
	5	55.60	5.17	1.32	51.75	4.23	2.44	3.85**	7.44**	1.58**	100
	6	49.67	4.62	2.19	51.75	4.23	2.44	-2.08**	-4.02**	0.85**	100

* – удовлетворителен резултат, ** – добър резултат

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнени са 6 от най-широко използваните методи за подготовка на почвени проби за анализ на кадмий, олово, хром и никел. Установено е, че:

1. Степента на извличане на изследваните елементи е различна и зависи както от метода на пробоподготовка, така и от почвения състав. При определяне съдържанието на олово и кадмий доминиращ фактор е почвеният състав, докато при определянето на никела и хрома определящ е начина на пробоподготовка.

2. Най-подходящ метод за пробоподготовка при едновременното определяне на кадмий, олово, хром и никел е БДС ISO 14869-1 поради сравнително лесното изпълнение и високата ефективност.

3. Оценката на границите на приложимост на методите за пробоподготовка в зависимост от целите на изследването изисква фракциониране на почвата и определяне разпределението на елементите в различните ѝ фракции. Това ще

позволи изборът на най-подходящия за конкретната цел метод, свързан с най-малко загуби на време и средства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gold, K.W., Naugle, D.F., Berry, M.A. 1990. Indoor concentrations of environmental carcinogens. U.S. Environmental Protection Agency, RTI Report 4479/07-F, issued April, 1990.
2. Kabata Pendias, A., Pendias, H. 1992. Trace elements in soils and plants. Second Edition, CRC Press, Inc.
3. Adriano, D.C. 2001. Trace Elements in the Terrestrial Environment. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
4. Alloy, B. J., Ayres, D. C. 1994. Chemical Principles of Environmental Pollution, 1st edition, 140-174.

НАНЕСЕНИ ВЪРХУ γ - Al_2O_3 МЕД-ХРОМНИ КАТАЛИЗАТОРИ ЗА ОКИСЛЕНИЕ НА СО И ОРГАНИЧНИ СЪЕДИНЕНИЯ

Красимир Иванов и Димитър Димитров
Катедра „Обща химия“, Аграрен университет – Пловдив

ABSTRACT

The possibilities for using of supported on Al_2O_3 oxide catalysts from the system $\text{CuO} - \text{Cr}_2\text{O}_3$ for deep oxidation of carbon oxide and organic compounds are investigated. It was found that the highest activity possess the mixed $\text{CuO} - \text{Cr}_2\text{O}_3$ catalysts with CuO content from 80 to 90 wt. %.

Ключови думи: СО, органични съединения, окисление, $\text{CuO-Cr}_2\text{O}_3$ катализатори

ВЪВЕДЕНИЕ

Научната и патентната литература предлагат голям брой решения за каталитичното изгаряне на СО. Най-широко приложение са намерили оксидните катализатори на основата на CuO , често модифицирани с оксиди на други метали като Cr , Mn , Mo и други [1].

Каталитичното окисление на метанола върху оксидни катализатори е съпроводено с протичането на странични процеси, водещи до образуването на СО и диметилов етер (ДМЕ) [2]. Високата им концентрация в отпадните газове изисква допълнителен реактор за пълното им окисление [3]. Обикновено тези реактори са адиабатични и окислението се извършва върху оксидни катализатори, най-често нанесени на различни носители. Повишените изисквания към газовите емисии през последните години налагат търсенето на нови, по-ефективни решения, осигуряващи концентрация на СО, метанол и диметилов етер под ПДК.

Основната цел на изследването е да се оценят възможностите за използване на нанесени на Al_2O_3 катализатори от системата $\text{CuO} - \text{Cr}_2\text{O}_3$ за пълно окисление на СО и органични съединения, съдържащи се в отпадните газове при селективното окисление на метанол върху желязо-молибденови катализатори.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

За решаването на проблема бяха използвани два типа апаратури (i) поточна апаратура с изотермичен реактор, позволяваща прецизен контрол на процеса на окисление на метанол и образуването на странични продукти и (ii) поточна апаратура с адиабатичен реактор за допълнително пълно окисление на страничните продукти след адсорбцията на получения формалдехид. В първия реактор беше използван промишлен желязо-молибденов катализатор, произведен в НЕОХИМ АД [4], а във втория – нанесени чрез пропиване върху търговски γ - Al_2O_3 F-2000 катализатори от системата CuO – Cr_2O_3 .

Основните параметри на процеса в първия и втория реактор са представени в табл. 1.

Таблица 1. Основни параметри на процеса.

Параметър	Първи реактор	Втори реактор
Газова смес:		
• Метанол	7,0 %	0.12 – 0,13 %
• Кислород	10,5 - 11,0 %	7,0 – 7,3 %
• Въглероден окис	0,0	0,9 – 1,0 %
• ДМЕ	0,0	0,3 %
• Вода	0,0	3,0 – 3,2 %
• Азот и други	до 100%	до 100%
Катализатор:		
• Количество	10 cm^3	7,0 cm^3
• Обемна скорост	15000 h^{-1}	5000 h^{-1}
• Контактно време	0,24 s	0,72 s
Температура:		
• Вход	320 - 330° C	190 - 320° C
• Изход	320 - 330° C	225 - 400° C

Съставът на излизащите от първата и втората апаратура газове се определяше газхроматографски с използването на пламъчно-йонизационен детектор и катарометър.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

В табл. 2 и 3, и на фиг. 1 и 2 са представени резултатите от изследване температурната зависимост на степента на окисление на CO , ДМЕ и метанол върху нанесени на носител CuO и Cr_2O_3 . Както се вижда от представените резултати и двата катализатора са достатъчно активни по отношение пълното окисление на метанола. По отношение окислението на другите компоненти обаче разликата е съществена. Докато CuO показва сравнително добра активност при окислението на метанола и незадоволителна при окислението на ДМЕ, то при Cr_2O_3 се наблюдава обратната тенденция, като при температура 320°С окислението на ДМЕ е практически пълно. Получените резултати дават основание да се очаква, че комбинирането на активните компоненти на двата катализатора - CuO и Cr_2O_3 , може да доведе до получаването на катализатор с

висока активност при пълното окисление на всички отпадни продукти при окислението на метанола върху оксидни катализатори. За целта бяха синтезирани нанесени на $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ катализатори от системата $\text{CuO} - \text{Cr}_2\text{O}_3$ в целия концентрационен интервал.

Таблица 2. Температурна зависимост на окислението на CO , ДМЕ и CH_3OH върху нанесен на алуминиев оксид CuO .

Температура, °C		Степен на превръщане на, %		
Вход	Изход	CO	ДМЕ	MeOH
190	232	32,4	13,4	75,0
200	240	43,2	12,0	83,3
220	272	55,4	12,9	91,7
240	304	71,6	21,7	100,0
260	326	78,4	34,1	100,0
280	352	82,4	40,0	100,0
300	378	85,1	53,1	100,0
320	398	87,8	60,3	100,0

Фигура 1. Температурна зависимост на окислението на CO , ДМЕ и CH_3OH върху нанесен на алуминиев оксид CuO .

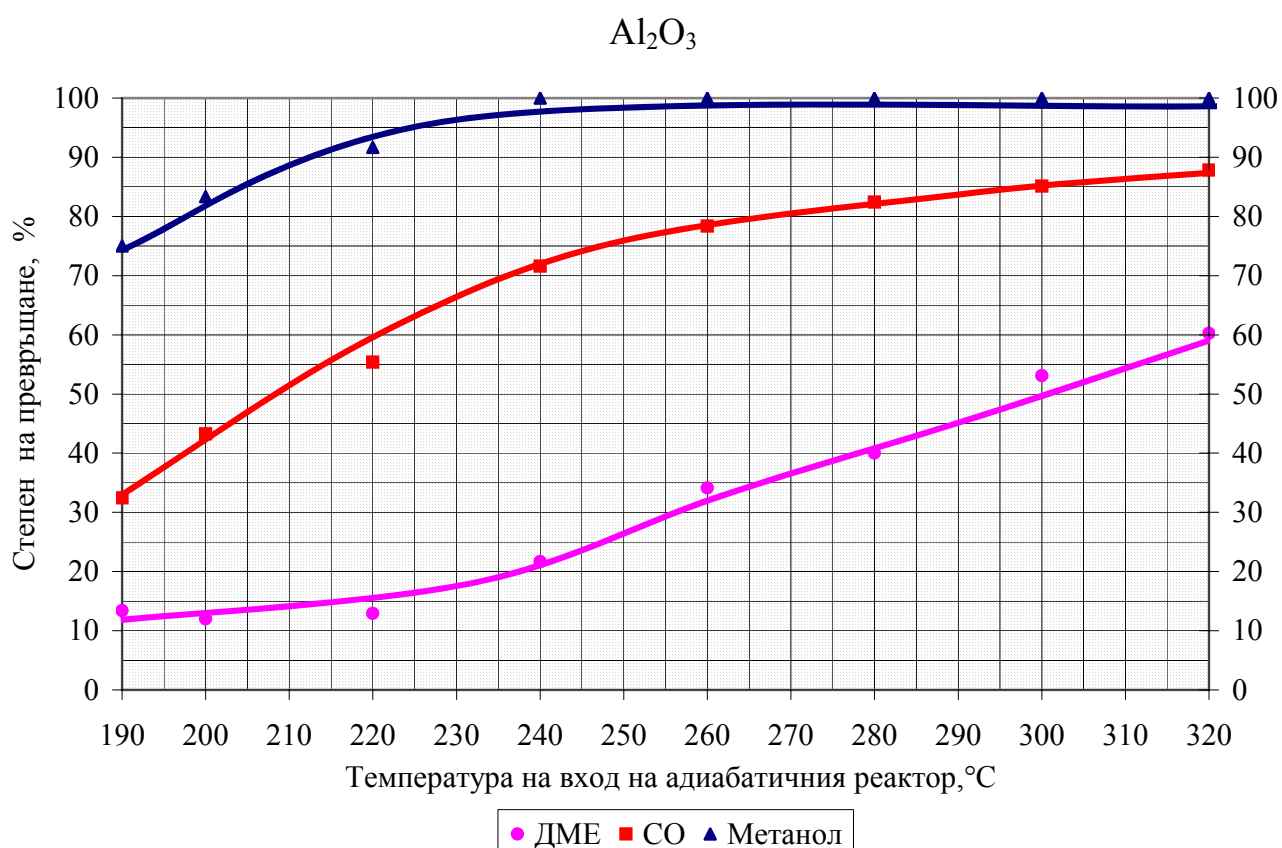
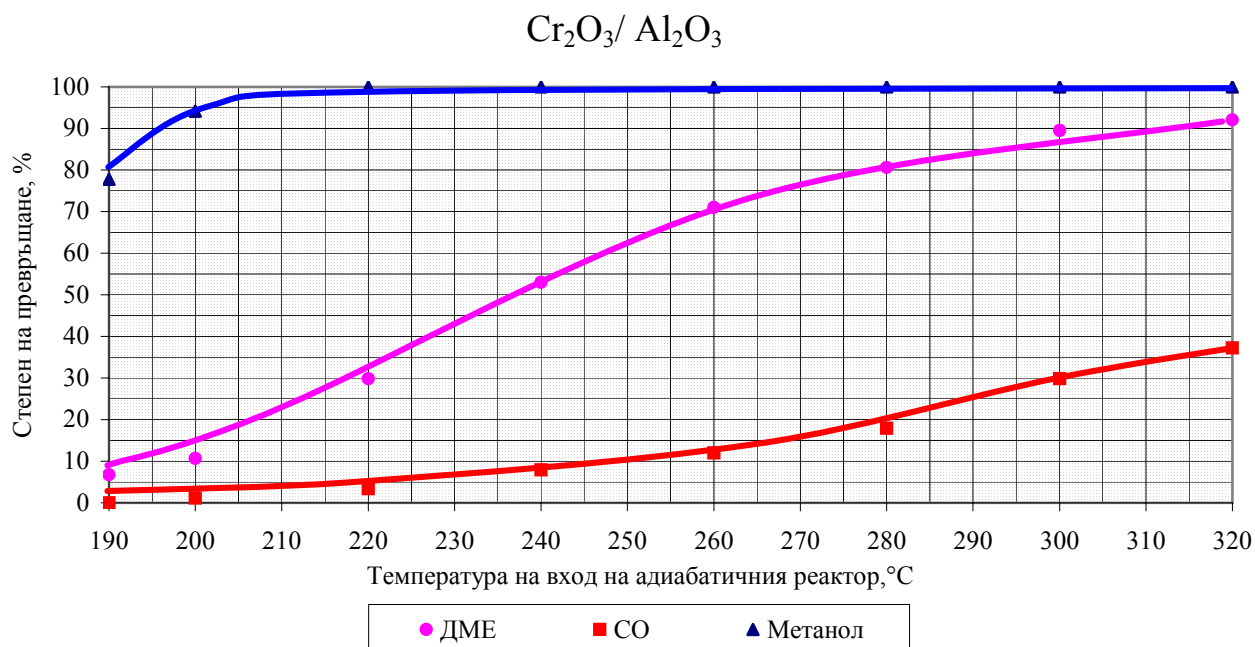


Таблица 3. Температурна зависимост на окислението на СО, ДМЕ и CH_3OH върху нанесен на алуминиев оксид Cr_2O_3 .

Температура, °C		Степен на превръщане на, %		
Вход	Изход	СО	ДМЕ	MeOH
190	228	0,0	22,0	100,0
200	240	2,0	30,1	100,0
220	266	5,4	46,8	100,0
240	288	7,9	58,9	100,0
260	315	14,9	74,5	100,0
280	342	20,2	84,8	100,0
300	366	29,9	93,3	100,0
320	388	34,9	99,8	100,0

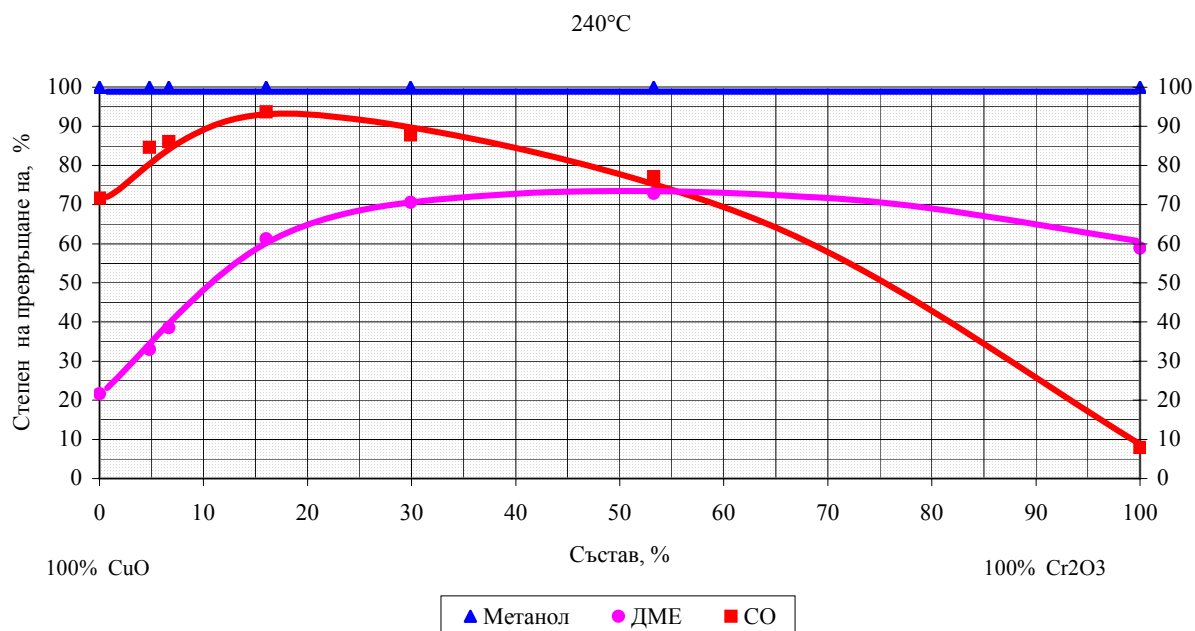
Фигура 2: Температурна зависимост на окислението на СО, ДМЕ и CH_3OH върху нанесен на алуминиев оксид Cr_2O_3 .



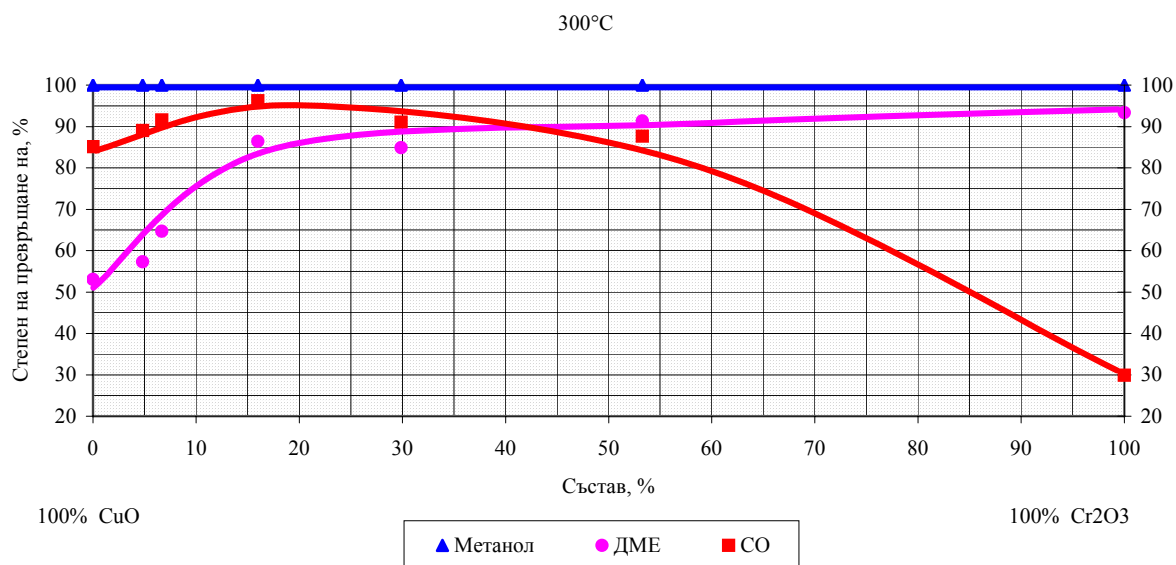
На фиг. 3 и 4 е представена зависимост на степента на окисление на СО, ДМЕ и CH_3OH от състава на активния компонент при 240°C и 300°C. И при двете температури окислението на метанола е 100 %, докато окислението на СО и ДМЕ варира в широки граници в зависимост от състава на катализатора. Потвърждава се предположението, че смесените катализатори имат по-добри каталитични свойства от CuO и Cr_2O_3 , като най-подходящи са образците със съдържание на CuO от 80 до 90 %. Вероятна причина за това е образуването на CuCr_2O_4 . За да изясним този въпрос направихме рентгенофазов анализ на част от образците (фиг. 5). За съжаление не можахме да получим необходимата информация, тъй като всички образци, с изключение на чистия CuO , се оказаха рентгеноаморфни. Въпреки това обаче ние вярваме, че нарастването на активността на смесените катализатори е свързано именно с формирането на нова аморфна фаза - CuCr_2O_4 . Основание за това ни дават и резултатите от

задълбоченото изследване на Chin-Cheng Chien и съавтори върху ефекта на термичната обработка върху състава и свойствата на нанесени върху $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ мед-хромни катализатори [5].

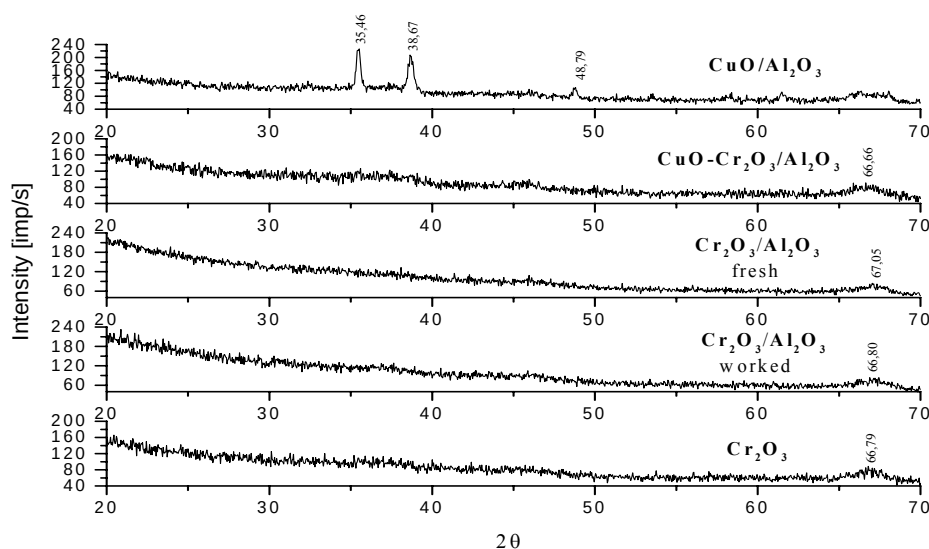
Фигура 3. Зависимост на степента на окисление на CO , ДМЕ и CH_3OH от състава на активния компонент при 240°C .



Фигура 4. Зависимост на степента на окисление на CO , ДМЕ и CH_3OH от състава на активния компонент при 300°C .



Фигура 5. Рентгенограма на нанесени върху $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ CuO , Cr_2O_3 и смесени $\text{CuO} - \text{Cr}_2\text{O}_3$ катализатори



ИЗВОДИ

Изследвана е каталитичната активност на нанесени върху алуминиев оксид катализатори от системата $\text{CuO} - \text{Cr}_2\text{O}_3$ по отношение пълното окисление на страничните продукти, получени при селективното окисление на метанол върху желязо-молибденови катализатори. Установено е, че:

1. Нанесеният върху алуминиев оксид Cr_2O_3 има висока активност по отношение окислението на метанола и ДМЕ, но ниска активност по отношение окислението на СО и не е подходящ катализатор за пълното окисление на страничните продукти, получени при селективното окисление на метанола.
2. Нанесеният върху алуминиев оксид CuO има висока активност по отношение пълното окисление на метанола и СО, но недостатъчно висока активност при окислението на ДМЕ.
3. Най-висока активност по отношение и на трите изследвани процеса притежават смесените $\text{CuO} - \text{Cr}_2\text{O}_3$ катализатори със съдържание на CuO от 80 до 90 %. Най-вероятната причина за това е взаимодействието между оксидите на медта и хрома при термичната обработка на катализаторите.

ЛИТЕРАТУРА

1. D. R. Mechandjiev, P. G. Dimitrova, I. A. Tzolovski, A. B. Raevski, 2003, WO Patent 03061821.
2. J. M. Tatibouët, 1997, Appl. Cat. A: General, 148, p. 213.
3. M. C. Alvarez-Galvan, B. Pawelec, V. A. de la Pena O'Shea, J. L. G. Fierro and P. L. Arias, 2004, Applied Catalysis B: Environmental, 51, p.83–91.
4. К. Иванов, 1993, Патент на Република България No 60779 В₁.
5. Chin-Cheng Chien, Wen-Po Chuang, Ta-Jen Huang, 1995, Applied catalysis A: General, 131, p. 73-87.

GLYCEROLYSIS OF OLEIC ACID BY *CANDIDA RUGOSA* LIPASE IN ORGANIC SOLVENTS

Yesim Yesiloglu¹, Ismail Kilic²

¹ *Department of Chemistry, Trakya University, 22030 Edirne-TURKEY*

² *Education Faculty, Trakya University, 22030 Edirne-TURKEY*

ABSTRACT

Glycerolysis or selective hydrolysis of fats and oils, esterification of fatty acids or esters with glycerol, and reactions employing protected glycerols are presented. Monoglycerides (MG) and diglycerides (DG) are the most widely used emulsifiers in food and pharmaceutical industries. In the enzymatic synthesis of glycerides from glycerol and oleic acid in organic solvent was studied, and the optimal conditions for glyceride synthesis by *Candida rugosa* lipase were established. The water content, glycerol content, and temperature were determined as 5%, 2 g, and 30°C, respectively. Isooctane and hexane were particularly useful organic solvents in glyceride synthesis.

Keywords: Candida rugosa lipase, glycerolysis, organic solvent.

INTRODUCTION

Monoglycerides (MG) and diglycerides (DG) are the most widely used emulsifiers in food and pharmaceutical industries [1-4]. Current processes for MG and DG production consist on the inter-esterification of triglycerides (TG) with glycerol (glycerolysis) in the presence of nonselective inorganic catalysts at high temperatures (200-250°C) [5].

The replacement of inorganic catalysts by lipases (E.C. 3.1.1.3), in the synthesis of partial glycerides, avoids side product formation and is less polluting and energy consuming because of the mild conditions used. For the bioconversion of various lipophilic or water-insoluble compounds, it is essential to introduce organic solvents into reaction systems to improve the solubility of these reactants. Furthermore, use of organic solvents is beneficial for construction of homogeneous reaction systems and to facilitate continuous reactor processes. The use of lipolytic enzymes to catalyze the esterification reaction has been investigated by many workers [6,7].

In this study, the synthesis of glycerides from glycerol and oleic acid in organic solvent by *Candida rugosa* lipase (CRL) was studied, and the effects of process parameters, such as organic solvents, water content, glycerol content, and temperature were investigated.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Esterification reaction

Reaction mixtures for glyceride synthesis from glycerol and oleic acid consisted of: glycerol, 2 g (about 20 mM); oleic acid, 0.5 g (about 2 mM); water 150 μ L; and *n*-hexane, 3 mL. Reaction mixtures were placed in 50 mL. The reaction was started by the addition of 0.1 g lipase in the form of dry powder. The suspension that resulted was agitated on an orbital shaker at 200 rpm at 30°C. At various times during incubation 0.2 mL of the reaction mixture was withdrawn and analyzed by TLC and GC.

Estimation of the degree of synthesis

The reaction was stopped by addition of 20 mL of an acetone/ethanol mixture (1:1, vol/vol), and FFA was titrated with 0.1 N NaOH. The degree of synthesis (%) represents the percentage of initial FA consumed in the reaction mixture.

Identification of reaction products

Reaction products were extracted from each reaction mixture with diethyl ether and identified by TLC. A silica gel plate was prepared and developed in chloroform/acetone/methanol (95:4.5:0.5, by vol). Spots of each lipid were visualized by spraying the plate with a 12.5% (wt/vol) ethanol solution of phosphomolybdic acid (Sigma Chemical Co.) and heating it. Fractions corresponding to each lipid type were scraped from the plates and derivatized for GC analysis.

GC analysis

Each lipid class separated by TLC was methylated. The methyl esters of FA were dissolved in hexane for analysis. Analysis was performed in a gas chromatography (Shimadzu model 14A:Shimadzu, Tokyo, Japan).

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of solvent type

The glycerolysis of oleic acid by CRL was carried out in acetone, chloroform, benzene, decane, isooctane, heptane and hexane. The results are shown in Table 1. It was found that isooctane gave higher yield than benzene and chloroform. The use of organic solvents can improve the poor solubility in water of substrates or other reaction components of a hydrophobic nature. Organic solvents produce various physicochemical effects on enzyme molecules, and the effects differ depending on the kinds of organic solvents and enzymes used. With CRL, high activities (75.3-85.7 % synthesis) were observed in heptane, hexane, and isooctane. More polar solvents, such as benzene, chloroform, and acetone, were found to be unsuitable for the synthetic reaction.

Effect of water content

In the esterification reaction, the content of water in the reaction mixture affects the reaction because water is one of the reaction products. A small amount of water is needed to maintain enzyme activity. Initial water content in the range 0-20% (w/w) of glycerol was investigated for glycerides production. The highest yield of glyceride (81%) was obtained when the water in glycerol was 5%. The conversion reached 92% by the addition of 1.0 g of molecular sieve. However, at higher than 10% water in glycerol, the yield of glyceride dropped gradually. Such drop might be due to hydrolysis occur at high water content. The time courses of the glyceride synthesis by CRL in hexane containing different initial moisture contents are illustrated in Figure 1. As expected, the percentage of conversion decreased as the initial water content increased.

Effect of glycerol content

In order to select an efficient glycerol concentration for glycerolysis, the effect of glycerol concentration in organic solvents on glyceride production was investigated. The results are shown in Table 2. The glyceride yield increased with increasing glycerol content. For *Candida rugosa* lipase, glycerol content of 2 g was optimal and the reaction resulted in a glyceride synthesis of 85.5%.

Effect of temperature

The effect of temperature on glyceride production was studied. The temperature was controlled at 0-40°C for glyceride production. When the temperature was controlled in the range 0-40°C the glyceride production increased with increasing temperature. This result is a consequence of the increase in the reaction rate as the temperature increases. In contrast, when increasing the temperature from 40 to 50°C the yield of glyceride was decreased (Table 3). The optimal temperature of enzyme was 40°C (Table 3).

Production of glycerides under reaction conditions

Changes in the composition of lipid in the *n*-hexane mixture during the course of the esterification reaction by lipase are detailed in Figure 2. Initially, almost equimolar MG and DG were produced as FA decreased. The formation of TG was much lower than that of MG and DG. At 24 h, the concentration of MG, DG, and TG reached 22.3, 39.6 and 17.1%, respectively, for *C. rugosa* lipase.

From the above results, it can be concluded that glycerides from glycerol and oleic acid may be synthesized easily. No lipase is available with as broad a range of specificity as attributed to *C. rugosa* lipase.

Table 1. *Effect of organic solvents on glyceride production by C. rugosa lipase.*

Organic Solvent	Degree of Synthesis (%)
	<i>Candida rugosa</i> lipase
Hexane	82.5
Heptane	75.3
Isooctane	85.7
Decane	60.4
Benzene	20.1
Chloroform	22.8
Acetone	31.9

Table 2. *Effects of Glycerol Content on glyceride production by C. rugosa lipase.*

Glycerol (g)	Degree of Synthesis (%)
	<i>Candida rugosa</i> lipase
0.25	13.5
0.50	56.2
1.0	80.3
2.0	85.5
5.0	85.0

Table 3. *Effects of temperature on glyceride production by C. rugosa lipase.*

Temperature(°C)	Degree of Synthesis (%)
	<i>Candida rugosa</i> lipase
0	9.3
10	18.1
20	59.7
30	85.8
40	88.2
50	41

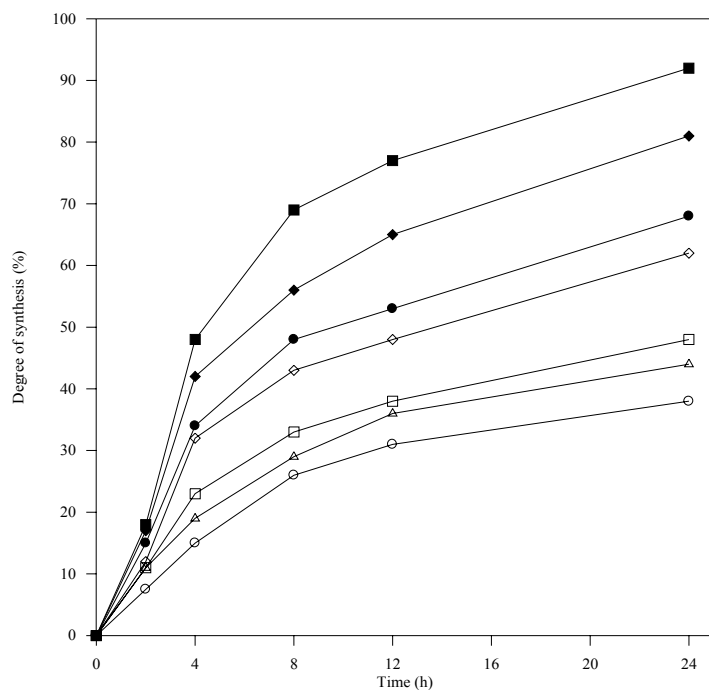


Figure 1. Effects of water content on glyceride synthesis by *C. rugosa* lipase. The amount of enzyme used was 0.1 g. The reaction was carried out at 30°C. (◇) 0% H₂O; (○): 1% H₂O; (●): 2.5% H₂O; (◆): 5% H₂O; (■): 5% H₂O + molecular sieve; (□): 10% H₂O; (Δ): 20% H₂O.

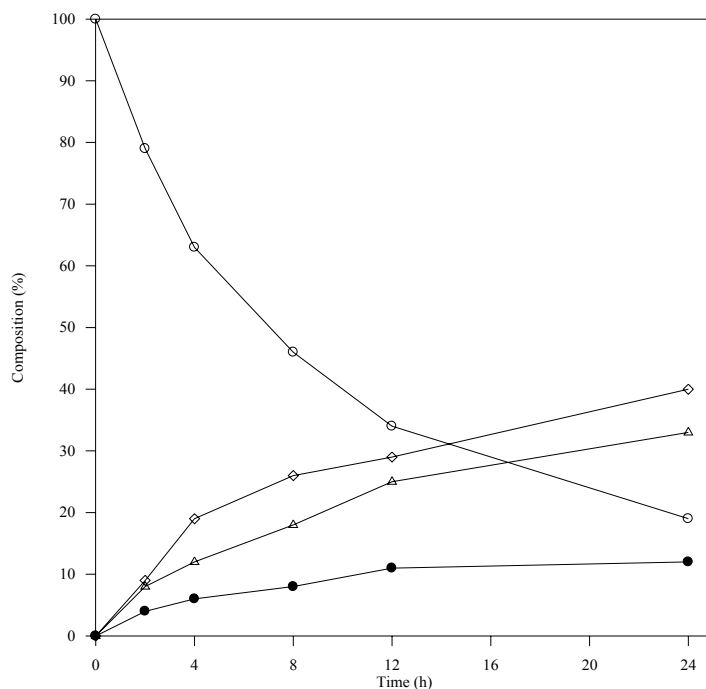


Figure 2. Composition of glycerides synthesized by *C. rugosa* lipase. The reaction mixture contained 2.0 g glycerol, 0.5 g of oleic acid, 3.0 mL *n*-hexane and various amounts of water. The amount of enzyme used was 0.1 g. The reaction was carried out at 30°C. (Δ): MG; (◇): DG; (●): TG; (○): oleic acid.

REFERENCES

1. Tan, T., Yin, C., Biochemical Engineering Journal, 25, 39-45 (2005).
2. Fukui, T., Kawamoto, T., Sonomoto, K., Tanaka, A., Appl. Microbiol. Biotechnol., 34, 330-334 (1990).
3. Ayorinde, F.O., C. P. Nwaonicha, V.N. Parchment, K.A. Bryant, M. Hassan, and M.T. Clayton, J. Am. Oil Chem. Soc. 70, 129-132 (1993).
4. Kaewthong, W., Kittikun, A.H., Enzym. Microbiol. Technol., 35, 218-222 (2004).
5. Ferreira-Dias, S., Correia, A.C., Fonseca, M.M.R., J. Mol. Catal. B:Enzymatic, 21, 71-80 (2003).
6. Li, Z.Y., Ward, O.P., J. Am. Oil Chem. Soc., 70, 745-753 (1993).
7. Kaewthong, W., Sirisansaneeyakul, S., Prasertsan, P., Kittikun, A.H., Process Biochemistry, 40, 1525-1530 (2005).

THE SYNTHESIS OF METAL COMPLEXES OF SOME DIOSPHENOLS THIO CARBAMATES AND EXAMINATION OF ITS PROPERTIES

Özlen Altun, Mesut Boz

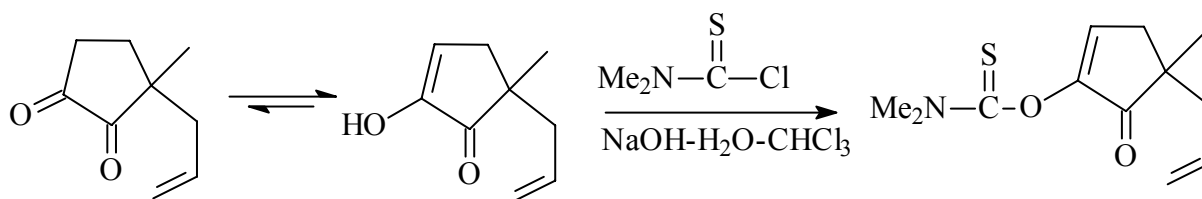
Trakya University, Department of Chemistry, Edirne, TURKEY

e-mail: ozlenaltun@yahoo.com

ABSTRACT

Diosphenols (α -hydroxyl- α , β -unsaturated ketones) are major materials as both intermediate and natural compounds in natural product chemical. Diosphenols functional groups take place in the constitution of numerous complex compounds. In this study, diosphenolsthiocarbamates and metal complexes of diosphenolsthiocarbamates have been investigated by using five different diosphenols.

In the first part of the study, synthesis of five different diosphenolsthiocarbamates have been realized by using methods of Ponaras and Zaim. In this method, enolic hydroxyl dimethylthiocarbamates of diosphenols have been synthesized by using dimethylthiocarbonyl chloride as an activating group:



In the second part of the study, metal complexes of obtained diosphenolsthiocarbamates have been investigated by using acetate, sulfate, nitrate, perchlorate and chloride salts of four different metals:



L: Diosphenolsthiocarbamates, Me: Zn, Cu, Co, Ni acetate, sulfate, nitrate, perchlorate and chloride salts.

Finally, the structural characteristics of the products obtained by these methods have been analyzed with IR and NMR spectrums.

INTRODUCTION

The diosphenol (enolized α -diketone) array is found in diverse natural products [1-5] and has synthetic utility for Claisen rearrangements [6], aldol and Michael additions [7], Wittig reactions [8], ring-cleavage reactions [9], ring-contraction reactions [10] and photochemical reactions [11]. α,β -Epoxyketones have been used as precursors of diosphenols via isomerization with strong acid in a hydroxylic solvent [12]. This procedure, however, gives variable results [13] and is incompatible with many functional groups. Treatment of α,β -epoxyketones with methoxide often gives acceptable yields of diosphenol methyl ethers [14], but hydrolysis to the parent diosphenols requires harsh conditions [15]. The apparently simpler route, namely treatment of an α,β -epoxyketone with hydroxide ion is unsatisfactory since any diosphenol produced undergoes benzilic acid rearrangement [16].

Diosphenolthiocarbamates have been realized by using methods of Ponaras and Zaim. In this method, enolic hydroxyl dimethyl thio carbamates of diosphenols have been synthesized by using dimethyl thio carbonyl chloride as an activating group.

EXPERIMENTAL

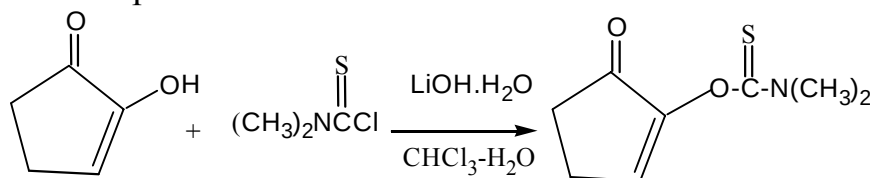
Materials and Aparatus

All of the analytical reagents grade were provided from Merck and Aldrich and in the experimentals were used electro-mag sterilizer (300 °C), Chittern scientific magnetic stirrer heater, electrothermal heater, Buchi labarotecnic AG, R-114A29 B-480 evaporator, Nüve EV 018 vacuum sterilizer, Brook Crompton vachum pump, Desaga Sarstedt-Gruppe Min UVIS 254/366 nm UV lamp, Shimadzu IR 470 IR spectrophotometer, Varian 300 MHz NMR spectrophotometer and Gec Avery balance.

METHODS

The synthesis of 2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one

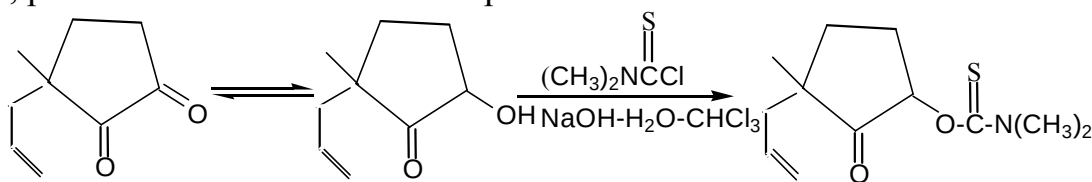
A solution of 2.94 g (20 mmol) cyclopentanediene in 20 mL chloroform was placed in a magnetically stirred 250 mL round bottom flask and the solutions 1.26 g (30 mmol) LiOH.H₂O in 30 mL water and 3.72 g (30 mmol) dimethylcarbamoylchloride in 20 mL chloroform were added. System was stirred two hours, aqueous phase was removed and washed with ether, evaporated slowly, product was dried at room temperature. Yield: 85 %.



The synthesis of 5-allyl-5-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one

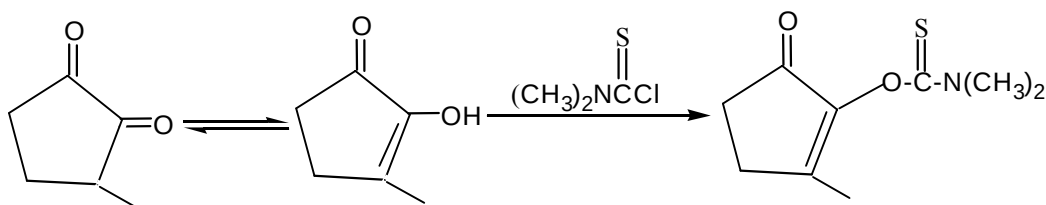
A solution of 0.8 g (20 mmol) NaOH in 20 mL water was placed in a magnetically stirred 250 mL round bottom flask and the solutions 3.04 g (20 mmol) 5-allyl-5-methyl-2-hydroxy-2-cyclopentene-1-one in 15 mL chloroform and 2.84 g (20 mmol) dimethylcarbamoylchloride in 10 mL chloroform were added. System was

stirred two hours, aqueous phase was removed and washed with ether, evaporated slowly, product was dried at room temperature. Yield: 97 %.



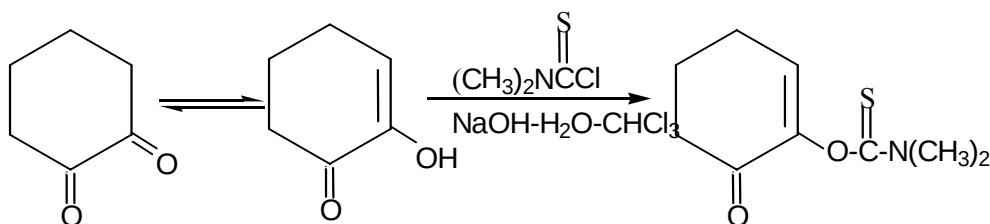
The synthesis of 3-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopenten-1-one

A solution of 0.8 g (20 mmol) cyclopentanedione in 20 mL water was placed in a magnetically stirred 250 mL round bottom flask and the solutions 2.8 g (25 mmol) cycloten in 15 mL chloroform and 3.08 g (25 mmol) dimethylcarbamoylchloride in 20 mL chloroform were added. System was stirred two hours, aqueous phase was removed and washed with ether, evaporated slowly, product was dried at room temperature. Yield: 85 %.



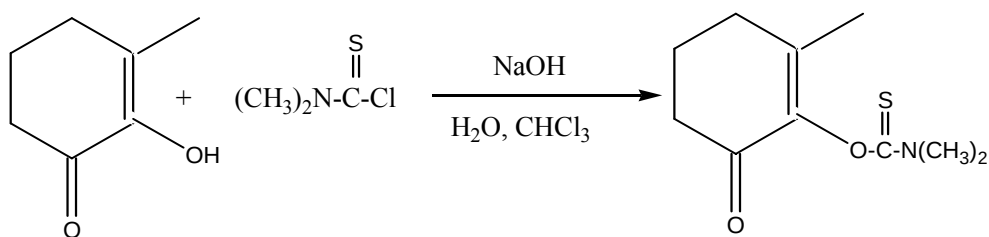
The synthesis of 2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclohexene-1-one

A solution of 1.12 g (10 mmol) 1,2-cyclohexanedione in 10 mL chloroform was placed in a magnetically stirred 250 mL round bottom flask and the solutions 0.4 g (10 mmol) NaOH in 10 mL water and 1.488 g (12 mmol) dimethylcarbamoylchloride in 20 mL chloroform were added. System was stirred two hours, aqueous phase was removed and washed with ether, evaporated slowly, product was dried at room temperature. Yield: 84 %.



The synthesis of 3-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclohexene-1-one

A solution of 2.52 g (10 mmol) diophenol in 10 mL chloroform was placed in a magnetically stirred 250 mL round bottom flask and the solutions 0.8 g NaOH in 20 mL water and 2.48 g dimethylcarbamoylchloride in 15 mL chloroform were added. System was stirred two hours, aqueous phase was removed and washed with ether, evaporated slowly, product was dried at room temperature. Yield: 85 %.



The synthesis of metal complexes of diosphenolthiocarbamates in the presence Co (II), Cu(II), Ni(II), Zn(II) acetate, sulfate, nitrate, perchlorate and/or chloride salts.

A solution of calculated amount diosphenolthiocarbamates in proper solvent was placed in a magnetically stirred 50 mL round bottom flask. An addition funnel filled with a solution of calculated amount salt of metal in proper solvent was connected with one of the necks. System was heated to reflux while solution metal salt was added dropwise within 20-24 minute. After the addition the mixture was stirred for two days under reflux. The heating was stopped and the reaction mixture was poured in a extraction funnel. Finally, black, oily precipitates achieved, desired complexes weren't obtained.



Me: Salts of Co (II), Cu (II), Ni (II), Zn (II) acetate, sulfate, nitrate, perchlorate, chloride

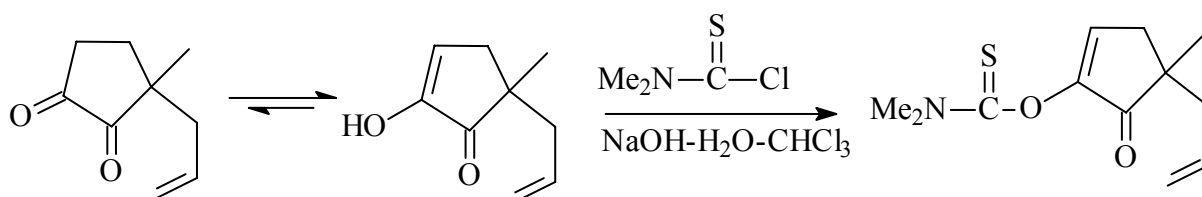
L: 2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one, 5-Allyl-5-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one, 3-Methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one, 2-(dimethylcarbamoyloxy)-2-cyclohexene -1-one, 3-Methyl-2-(dimethylcarbamoyloxy)-2-cyclohexene -1-one.

Solvents: Methyl alcohol (Merck), Ethyl alcohol (Merck), Chloroform (Merck), Acetone (Merck), Acetonitrile (Merck), Benzene (Merck), Petroleum ether (Merck), Diethyl ether (Merck), Dichloro methane (Merck), Carbon tetrachloride (Merck), Tetrahydrofuran (Merck), n-hexane (Merck), Ethyl acetate (Merck).

RESULTS AND DISCUSSION

In this study, diosphenolthiocarbamates and metal complexes of diosphenolthiocarbamates have been investigated by using five different diosphenols.

In the first part of the study, synthesis of five different diosphenolthiocarbamates have been realized by using methods of Ponaras and Zaim. In this method, enolic hydroxyl dimethylthiocarbamates of diosphenols have been synthesized by using dimethylthiocarbonyl chloride as an activating group:



IR and NMR spectrums of obtained diosphenolthiocarbamates:

IR bands (cm^{-1}) of 2-(dimethylcarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one: 3072, 2944, 1721, 1635, 1545, 1449, 1395, 1280, 1251, 1174, 1129, 780.

^1H NMR data (ppm) of 2-(dimethylcarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one: 1.52 (s, 3H), 2.52 (m, 2H), 2.68 (m, 2H), 3.27 (s, 3H), 3.40 (s, 3H).

^{13}C NMR data of 2-(dimethylcarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one: 23, 33, 39, 44, 148, 153, 201.

IR bands (cm^{-1}) of 5-allyl-5-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one: 2960, 1715, 1638, 1542, 1392, 1315, 1264, 1225, 1177, 1123, 1017, 992, 835.

^1H NMR data (ppm) of 5-allyl-5-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one: 1.2 (s, 3H), 2.30-2.70 (dd, $J=2.929$ Hz, $J=18.745$ Hz, 2H), 2.17-2.31 (m, 2H), 3.2 (s, 2H), 3.4 (s, 2H), 5.1 (m, 2H), 5.7-5.8 (m, 1H), 7.1 (t, $J=3.1$ Hz, 1H).

^{13}C NMR data of 5-allyl-5-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one: 24, 37, 39, 42, 44, 46, 119, 134, 145, 151, 205.

IR bands (cm^{-1}) of 3-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one: 2944, 1721, 1664, 1542, 1395, 1382, 1331, 1273, 1203, 1132.

^1H NMR data of 3-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one: 1.5 (s), 2.1 (s), 2.4-2.6 (dd), 3.25 (s), 3.4 (s), 7.2 (t).

IR bands (cm^{-1}) of 2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclohexene-1-one: 2944, 1686, 1638, 1539, 1398, 1350, 1280, 1241, 1180, 1145.

^1H NMR data (ppm) 2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclohexene-1-one: 2.1 (q, 2H), 2.57 (m, 4H), 3.26 (s, 3H), 3.4 (s, 3H), 6.5 (t).

^{13}C data NMR 2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclohexene-1-one: 22.8, 25.2, 38.6, 39, 43.4, 135.9, 192.6.

IR bands (cm^{-1}) of 3-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclohexene-1-one: 2944, 1721, 1664, 1542, 1395, 1382, 1331, 1273, 1203, 1132.

^1H NMR data (ppm) of 3-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclohexene-1-one: 1.5 (s), 2.1 (s), 2.4-2.6 (dd), 3.25 (s), 3.4 (s), 7.2 (t).

These values have been proved the rightness of obtained diosphenolthiocarbamates. Figure 1, Figure 2, Figure 3, Figure 4 and Figure 5 have been demonstrated spatial configurations of diosphenolthiocarbamates.

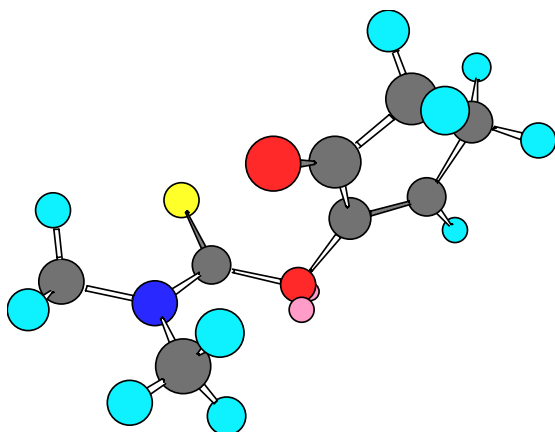


Figure 1. Spatial configuration of 2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one

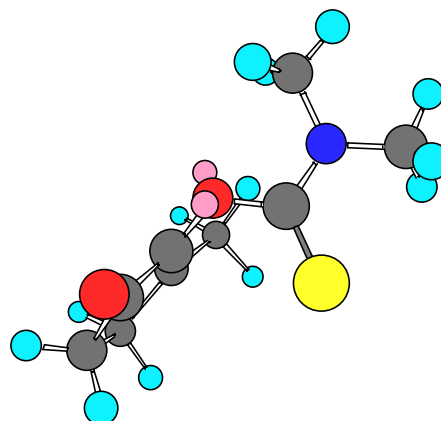


Figure 2. Spatial configuration of 5-allyl-5-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one

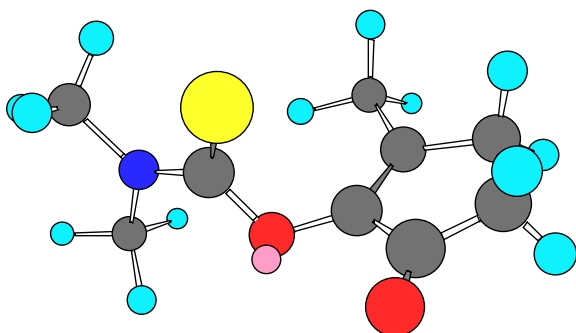


Figure 3. Spatial configuration of 3-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclopentene-1-one

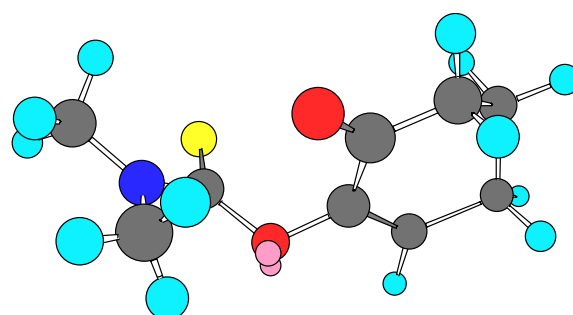


Figure 4. Spatial configuration of 2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclohexene-1-one

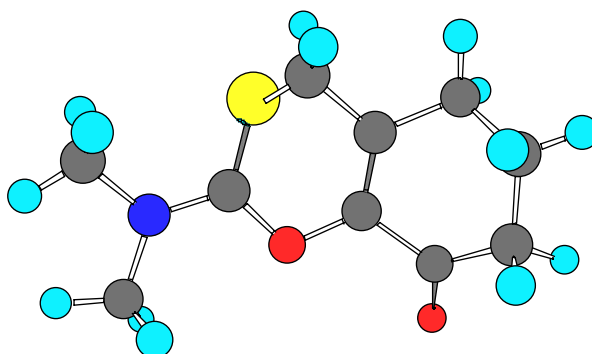


Figure 5. Spatial configuration of 3-methyl-2-(dimethylthiocarbamoyloxy)-2-cyclohexene-1-one

In the second part of the study, metal complexes of obtained diosphenolthiocarbamates have been investigated by using acetate and chlorate salts of four different metals:



L: Diosphenols thio carbamates, Me: Zn, Cu, Co, Ni acetates and chlorates

Finally, desired complexes weren't obtained. We observed that didn't reaction of diosphenolthiocarbamates from TLC and spatial configurations of diosphenolthiocarbamates demonstrated that weren't proper position. That's why those diosphenolthiocarbamates can not bandage metals.

REFERENCES

1. J. Arnarp, B. M. Dahlin, C. R. Enzell, T. Pettersson, G. Weidemann, *Acta Chem. Scand.*, 45, 105, 1991.
2. Z. N. De Hernandez, L. R. Hernandez, C. A. N. Catalan, T. E. Gedris, W. Herz, *Phytochemistry*, 46, 721, 1997.
3. A. Ulubelen, G. Topcu, H. Chai, J. M. Pezzoto, *Pharm. Biol. (Lisse, Neth.)* 37, 148, 1999.
4. A. Galindo, N. Villegas, H. Mansilla, *Nat. Prod. Lett.*, 13, 285, 1999.
5. M. B. Martin, A. F. Mateos, R. R. Gonzalez, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 569, 1995.
6. B. M. Trost, G. M. Schroeder, *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 3785, 2000.
7. M. Utaka, H. Kuriki, T. Sakai, A. Takeda, *J. Org. Chem.*, 51, 935, 1986.
8. R. W. Saalfrank, P. Schierling and P. Schatzlein. *Chem. Ber.* 116, 1463, 1983.
9. S. Takano, S. Hatakeyama, K. Ogasawara, *J. Am. Chem. Soc.*, 101, 6414, 1979.
10. N. K. Dunlap, R. S. Gross, D. S. Watt, *Synth. Commun.*, 18, 13, 1988.
11. A. Feigenbaum, Y. Fort, J. Pete, D. Scholler, *J. Org. Chem.*, 51, 4424, 1986.
12. H. O. House, R. L. Wasson, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 1488, 1959.
13. R. L. Burnett, D. N. Kirk, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, 1830, 1973.
14. M. A. Tobias, J. G. Strong, R. P. Napier, *J. Org. Chem.*, 35, 1709, 1970.
15. K. Kawada, M. Kim, D. S. Watt, *Tetrahedron Lett.*, 30, 5985, 1989.
16. T. M. Dawson, P. S. Littlewood, T. Medcalfe, M. W. Moon, P. M. Tompkins, *J. Chem. Soc. C*, 1292, 1971.
17. A. A. Ponaras, Ö. Zaim, *J. Org. Chem.*, 51, 24, 4741-4743, 1986.
18. A. A. Ponaras, Ö. Zaim, *J. Org. Chem.*, 52, 25, 5630-5633, 1987.
19. A. A. Ponaras, Ö. Zaim, *J. Org. Chem.*, 53, 5, 1110-1112, 1988.
20. A. A. Ponaras, Ö. Zaim, *Tetrahedron Letters*, 34, 18, 2879-2882, 1993.
21. A. A. Ponaras, M. Y. Meah, *Tetrahedron Letters*, 41, 9031-9035, 2000.
22. R. Kumar, D. G. Tuck, *Inorg. Chim. Acta*, 157, 51, 1989.
23. Kawaguchi S., Variety of Coordination Modes of Ligands in Metal Complexes, *Inorg Chem.*, 11, 1988.

СИНТЕЗ И АНТИБАКТЕРИАЛНА АКТИВНОСТ НА НОВИ 1-ЗАМЕСТЕНИ ТЕТРАХИДРОИЗОХИНОЛИНОВИ ПРОИЗВОДНИ

*Стела Статкова-Абегхе¹, Данаил Георгиев², Илиян Иванов¹ и
Стоянка Николова¹*

¹ *Катедра Органична химия, ПУ „П. Хилендарски“, ул. „Цар Асен“24,
Пловдив 4000, България*

² *Катедра Биохимия и микробиология, ПУ „П. Хилендарски“,
ул. „Цар Асен“24, Пловдив 4000, България*

ABSTRACT

A series of new 1-substituted tetrahydroisoquinoline derivatives were obtained by amidoalkylation of 1-indanone and 1,3-cyclohexanedione with N-acyliminium reagents formed from 3,4-dihydroisoquinoline and acyl chlorides. The antimicrobial activities of all of the compounds were investigated using Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*) and Gram-negative (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) bacteria.

Keywords: α -Amidoalkylation, Synthesis, Tetrahydroisoquinoline, Antimicrobial activity

Реакцията на α -амидоалкилиране, водеща до формирането на С-С връзка при взаимодействието на въглеродни нуклеофили и N-ацилиминиеви йони, намира широко синтетично приложение [1-3]. Тя дава възможност за получаване на различни природни и синтетични амидни производни, в това число и на разнообразни изохинолинови съединения. Нарастващият интерес към търсене на методи за синтез на тези хетероциклични съединения се дължи преди всичко на разнообразната биологична активност на различните групи изохинолинови съединения и приложението на редица от тях в медицинската практика [4-9]. В предишни наши публикации бяха представени възможностите за използване на електрофилни реагенти, получени от циклични имини и ацилхлориди за амидоалкилиране на хетероциклични ароматни съединения [10-11].

Интерес представлява възможността за амидоалкилиране на някои циклични моно- и дикарбонилни съединения с изследваните от нас ацилиминиеви реагенти. В тази връзка насочихме вниманието си към производни на 1-инданона и 1,3-циклохександиона, чиито производни са с известна фармакологична активност [12-17].

Изследвани са възможностите за приложение на реакцията на междумолекулно α -амидоалкилиране на различно заместени в ароматното ядро инданони **4** с ацилиминиеви реагенти **3**, получени от 3,4-дихидроизохинолин **1** и ацилхлориди **2**, получаването на съединения съдържащи едновременно инданов и изохинолинов пръстен. В резултат е установено, че реакцията на амидоалкилиране на инданони протича успешно при стайна температура с получаването на един продукт, а именно 2-(тетрахидроизохинолин-1-ил)-индан-1-он **5**. Добивите се повишават съществено с провеждане на реакцията при 80°C. Продукти **5a-d** са получени с добиви 48-65%. Установено е, че добивите на продуктите зависят от вида на използвания при адуктообразуването ацилхлорид. Резултатите от тези изследвания са представени на **Схема 1**.

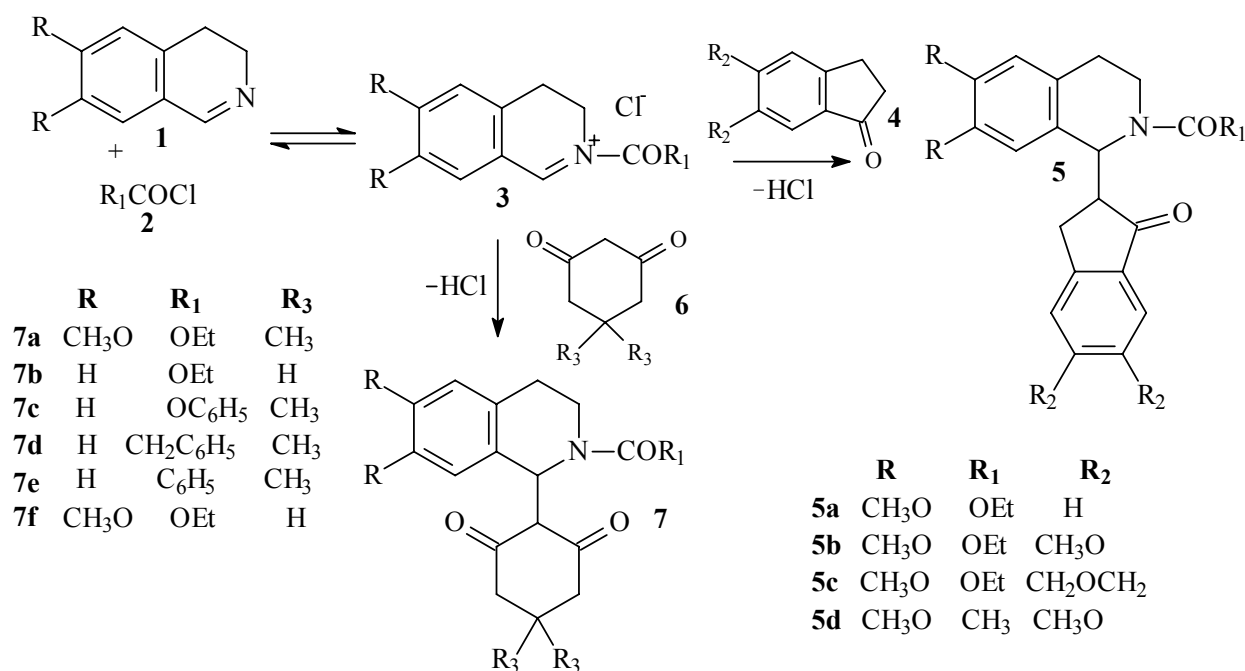


Схема 1.

Изследванията на реакцията на α -амидоалкилиране с N-ацил-изохинолиниевии реагенти **3** бяха продължени с използването на различно заместени циклохекса-1,3-диони **6** в качеството на метилен-активни съединения.

В резултат са синтезирани шест нови изохинолинови производни, **7a-f**, представляващи интерес с оглед изследване структурата и биологичната им активност.

Предприети са първоначални изследвания за установяване на потенциална антибактериална активност. Изследването е проведено по дифузионния метод

на Мюлер-Хинтън агар, като веществата са разтворени в DMSO и всеки диск съдържа по 50µg от съответното вещество. Използвани са 24 часови бульонни култури от изследваните щамове (с концентрация 10^5 клетки на милилитър), за Gram (-) бактерии – *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli*, а от Gram (+) бактерии - *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus saprophyticus*.

Резултатите са отчетени след инкубиране при 37 °C за 24h, чрез измерване на диаметрите на стерилните зони в милиметри. Резултатите от тестовете са представени в Таблица 1.

Таблица 1. Антибактериална активност на изохинолиновите производни

бактерии	диаметър на стерилната зона [mm]									
	5a	5b	5c	5d	7a	7b	7c	7d	7e	7f
<i>Escherichia coli</i>	R	R	R	R	11	R	R	R	R	10
<i>Proteus mirabilis</i>	R	R	<10	R	R	<10	10	<10	10	<10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	13	R	R	10	10	10	10	10	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	R	R	R	R	12	12	11	11	10	12
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	15	R	R	R	R	R	R	R	R	R

*R- резистентен

Резултатите от тестовете показват, че две от изследваните инданови производни проявяват избирателна антибактериална активност: **5a** спрямо *Staphylococcus saprophyticus*, а **5b** спрямо *Ps. aeruginosa*. За разлика от тях, всички новосинтезирани 1-(циклохекса-1,3-дион-2-ил)-2-ацил-тетрахидро-изохинолини **7a-f** са активни спрямо *Ps. aeruginosa* и *St. aureus*, докато *Staphylococcus saprophyticus* е резистентен.

Получените в резултат на реакцията на междумолекулно α-амидоалкилиране нови съединения **5a-d** и **7a-f** са характеризирани спектрално (ИЧ, ЯМР). Данните са на разположение в катедрата по Органична химия на ПУ “П. Хилендарски”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Speckamp, W. N.; Moolenaar, M. J. *Tetrahedron* 2000, 56, 3817-3856
2. Hiemstra, H.; Speckamp, W. N. *InComprehensive Organic Synthesis*, Pergamon: Oxford, 1991, Vol.2, pp 1047-1082
3. Maryanoff, B. E.; Zhang, H.-C.; Cohen, J. H.; Turchi, I. J.; Maryanoff, C. A. *Chem. Rev.* 2004, (104), 1431
4. Iwasa, K., Moriyasu, M., Tachibana, Y., Kim, H.-S., Wataya, Y., Wiegerebe, W., Bastow, K. F., Cosentino, L. M., Kozuka, M., Lee, K.-H., *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2001, 9, 2871-2884.
5. Bermejo, A., Andreu, I., Suvire, F., Leonce, S., Caignard, D. H., Renard, P., Pierre, A., Enriz, R. D., Cortes, D., Cabedo, N., *J. Med. Chem.* 2002, 45, 5058-5068.
6. Itoh, T., Nagata, K., Yokoya, M., Miyazaki, M., Kameoka, K., Nakamura, S., Ohsawa, A., *Chem. Pharm. Bull.* 2003, 51(8), 951-955.
7. Kakefuda, A., Watanabe, T., Taguchi, Y., Masuda, N., Tanaka, A., Yanagisawa, I., *Chem. Pharm. Bull.* 2003, 51 (4), 390-398.
8. Kaur, J., Ghosh, N. N., Talwar, A., Candra, R., *Chem. Pharm. Bull.* 2002, 50(9), 1223-1228.
9. Bentley, K. W. *The Isoquinoline Alkaloids*, Overseas Publishers Association, Amster., 1998.
10. Venkov, A. P., Statkova-Abeghe, S. M., Donova, A. K., *Cent. Eur. J. Chem.*, 2004, 2 (1), 234.
11. Donova, A. K., Statkova-Abeghe, S. M., Venkov, A. P., Ivanov, I., *Synth. Commun.*, 34 (15), 2813, 2004.
12. Haadsma-Svensson, S. R., Cleek, K. A., Dinh, D. M., Duncan, J. N., Haber, C. L., Huff, J. *Med. Chem.*, 2001, 44(26), 4716.
13. Sigimoto, H., Yamanishi, Y., Ogura, H., Iimura, Y., Yamatsu, K., *Yakugaku Zasshi.*, 1999, 119(2), 101.
14. Li, C. S., Black, W. C. et al., *J. Med. Chem.*, 1995, 38(25), 4897.
15. Leoni, M., Hamel, E., Genini, D., Shih, H., Carrera, C., Cottam, H., Carson, D., *JNCI*, 2000, 92, 217.
16. Tetsuro, Ito et al., *J. Nat. Prod.*, 2004, 67, 932.
17. Nagle, D. G., Zhou, Y. D., Park, V. J., Rajbhandari, I., Duncan, C. J., Pasco, D.S., *J. Nat. Prod.*, 2000, 63 (10), 1431.
18. D.F Sahm, J.A. Washington in *Am. Soc. Microbiol.*, (Eds. A. Balowes. W. J. Hausler, K. L. Hermann and H. D. Shadomy Washington 5th Ed. 1105-1116 (1991).

ВЕТХ – ОПРЕДЕЛЯНЕ НА β -КАРОТЕН ОТ БИОМАСА НА ЩАМ *Sporobolomyces salmonicolor* AL₁

С. Димитрова¹, Л. Луканов¹, К. Павлова²

¹ *Медицински университет-Пловдив, катедра „Химия и биохимия“*

² *Институт по Микробиология – БАН,
секция „Микробен биосинтез и биотехнологии“*

ABSTRACT

The psichrofile strain *Sporobolomyces salmonicolor* AL₁ (from a soil sample of Antarctica) was grown with and without light. Third experiment was provided with addition of β -carotene preliminary fermentation in dark. A HPLC method for the quantification of β -carotene produced by strain was developed.

Keywords: Sporobolomyces salmonicolor AL₁, β -каротен, HPLC

УВОД

Каротеноидите се съдържат в много растителни и животински източници. Те притежават висока биологична активност, поради което са обект на задълбочени изследвания. Посредством антиоксидантните си свойства те предотвратяват атеросклероза, катаракта, множествена склероза – заболявания, предизвикани от действието на свободни радикали [1]. Съединенията още са туморно инхибиращи агенти [2], а също предпазват кожата от преждевременно стареене под влияние на ултравиолетовите лъчи [3].

Каротеноидите не се синтезират в организма, поради което е необходимо да се набавят чрез храната. През последните години се повиши интересът към възможностите за получаване на подходящи оцветители на база каротеноиди с биологическа стойност, които могат да се използват като хранителни и фуражни добавки. Те се продуцират от пигментообразуващи микроорганизми и за получаването им се прилагат биотехнологични решения. В литературата има съобщения за биосинтез на каротеноиди от дрожди, принадлежащи към различни родове щамове *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporobolomyces*, *Sporidiobolus* [4, 5, 6].

Известно е, че метаболитния потенциал на дрождите е свързан с получаване на ензими, витамини, полизахариди, липиди, органични киселини и

каротеноиди [7]. Продуцирането на последните позволява дрождевите биомаси да се използват като каротеноидно-протеинов комплекс към фуражи и екстрахиране на каротеноиди за хранителни добавки.

В състава на биомасата от пигментообразуващи дрожди се съдържат каротеноидите – β -каротен, торулен, торулародин и тяхното количество варира в широки граници в зависимост от щам-продуцента и условията на култивиране [8, 4, 5].

Основен метод за анализ на каротеноиди, съдържащи се в растителни, животински и микробиални обекти е BETX. Agun и James [9] описват метод за едновременно анализиране на ретиноиди, каротеноиди и токофероли извлечени от серум и тъкани на човек и плъх, а също и от домати, спанак, папая и манго. Те използват Microsorb-MV колона и C_{18} предколона, PDA детектор. Елуирането е градиентно с подвижна фаза съдържаща (А) метанол : вода : амониев ацетат и (В) метанол : дихлорметан. Осем каротеноида, сред които β -каротен са идентифицирани от Lee и колектив [10] в портокалов сок. Те използват колона C_{30} , PDA детектор и градиентно елуиране с подвижна фаза (А) ацетонитрил-метанол, (В) метилтретбутилетер и (С) вода. BETX анализ на каротеноиди от биомаси на пет вида *Rhodotorula* предлагат Squina и колектив [11]. Davoli и колектив [8] изследват количествата продуцирани β -каротен, торулен и торулародин от червени дрожди *Rhodotorula* и *Sporobolomyces* с колона LiChrospher 100 RP-18 и подвижна фаза вода-ацетон.

Целта на настоящото изследване е количествено определяне на β -каротен от дрождеви биомаси на пигментообразуващия щам *Sporobolomyces salmonicolor* AL₁, култивирани при различни условия.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

1. Микроорганизъм

Щам *Sp. salmonicolor* AL₁ е изолиран от почвена проба от остров Ливингстон – Антарктида и е селектиран като продуцент на полизахарида глюкоманан [12]. Идентифициран е съгласно критериите в определителя на Kurtzman & Fell [13] и е регистриран в Национална Банка за Промислени Микроорганизми и Клетъчни Култури.

2. Условия на култивиране и получаване на биомаси

Хранителната среда за синтез на полимера и натрупване на биомаса от щам-продуцента съдържа в (%): захароза – 4.0, $(NH_4)_2SO_4$ – 0.25, KH_2PO_4 – 0.1, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0.05, NaCl – 0.01, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ – 0.01 и дрождев екстракт – 0.1. Началното рН на средата е 5,3. Ферментацията се провежда в Ерленмайерови колби от 50 ml при 22°C в продължение на 96 часа на ротационна клатачка при 220 rpm. Получени са три биомаси: биомаса 1 е синтезирана в присъствие на светлина, биомаса 2 – в отсъствие, биомаса 3 е синтезирана на тъмно с предварително прибавяне на 2 μ g/ml β -каротен в хранителната среда. Следва центрофугиране при 6000xg в продължение на 30 min. Културалната течност се

утаява за получаване на глюкоманан, а получената биомаса се пречиства и изсушава по стандартна процедура.

3. Определяне на β -каротена

Екстракцията на β -каротена се провежда със смес от хексан и ацетон в съотношение 1:1. За целта се претеглят по 0,010g съответно от биомаси 1, 2 и 3, добавят се 2 ml екстракционна смес, прехвърлят се в центрофужна епруветка. Разбъркват се 2 min на Vortex, след което се центрофугират 10 min при 3000 rpm. Супернатантът се отлива в дестилационна колба, а твърдият остатък се обработва повторно по същия начин. Двата екстракта се обединяват и разтворителите се изпаряват при 50°C под вакуум. Полученият остатък се разтваря в 1ml от подвижна фаза А, филтрува се през микрофилтър (0,20 μ m) и се инжектира в хроматографа.

Анализирана е културалната течност на биомаса 3, към която предварително беше прибавен β -каротен. Същата се екстрахира с 10ml хексан преди и след ферментация.

Определянето се извърши с BETX – система (Varian Pro Star) с UV детектор. Използвана е колона Omni Spher5 C₁₈ (250x4,6 mm x 1,4), подвижна фаза – (А) метанол : n-хексан : изопропанол (70:25:5) и (В) ацетонитрил в градиентен режим от 30А:70В до 90А:10В и скорост на потока 1,1 ml/min. Детекцията се извърши при 450 nm. Количественото определяне става по метода на стандартната права построена по 7 разтвора с концентрации 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 1,5; 2 μ g/ml чист β -каротен. Като елуенти са използвани метанол, n-хексан, изопропанол, ацетонитрил суперградиент (Labskan Ltd), а β -каротен е доставен от Sigma.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

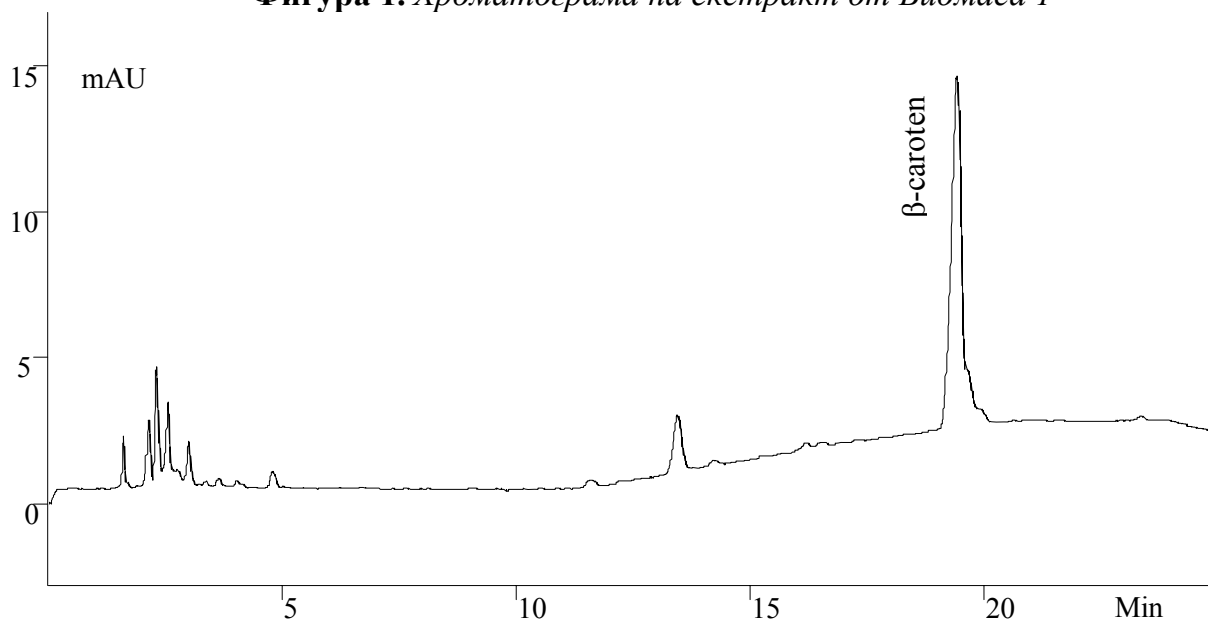
До настоящия момент биомасата, която се натрупва от щам *Sp. salmonicolor*AL₁ при синтеза на полизахарида глюкоманан не е изследвана за наличие на каротеноиди. Първите наши изследвания показаха, че при подходяща хранителна среда и различни условия на култивиране щамът натрупва каротеноидна биомаса, съдържаща различни количества β -каротен. Установено е, че в културалната течност след ферментацията не се съдържа β -каротен. Резултатите от проведените изследвания са отразени в табл. 1 и 2, а данните за хроматографския анализ са показани на фиг. 1 и 2.

Таблица 1. Съдържание на β -каротен в биомаса, синтезирана от щам *Sp. salmonicolor*AL₁ при различни условия

Биомаси	β -каротен, μ g/g с.в.
Биомаса 1	146
Биомаса 2	371
Биомаса 3	1067

Резултатите от табл. 1 показват, че определеното количество β -каротен в биомаса 1 е 2,5 пъти по-малко отколкото в биомаса 2, която е синтезирана на тъмно. Чувствителната разлика в количеството на каротена в двете биомаси, култивирани при различни условия, се дължи на действието на светлината, която подтиска синтеза му. Най-високо количество β -каротен е синтезирано в биомаса 3, което е 3 пъти повече отколкото в биомаса 2. Прибавянето на незначително количество β -каротен към хранителната среда преди ферментацията и протичането ѝ на тъмно са причина за стимулиране на неговия синтез.

Фигура 1. Хроматограма на екстракт от Биомаса 1

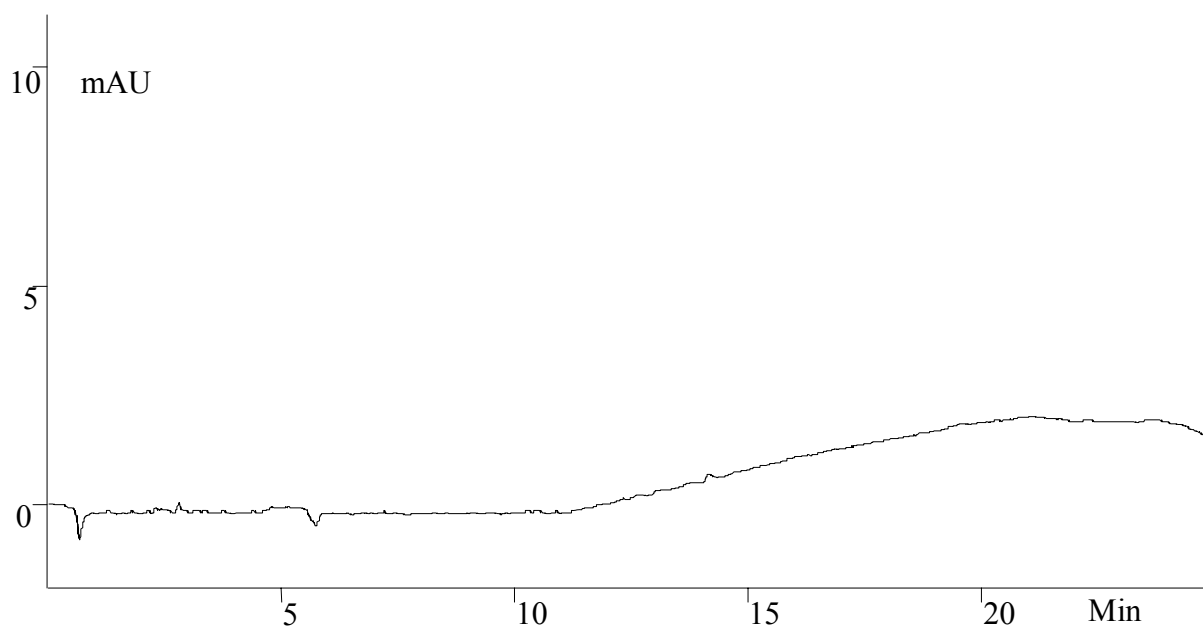


В табл. 2 е посочено количеството β -каротен, екстрахиран от хранителната среда преди ферментация и културалната течност след ферментация. Измереното количество β -каротен преди протичане на ферментационния процес съвпада с предварително вложеното, докато след ферментация наличие на β -каротен не се наблюдава. Полученият резултат съвпада с направения извод, че прибавянето на β -каротен в хранителната среда стимулира неговия синтез и се явява индуктор при метаболизма на клетката.

Таблица 2. Количество β -каротен, μg в 1 ml културална течност

	β -каротен, $\mu\text{g/ml}$
Хранителна среда+щам+ β -каротен – преди ферментация	2
Културална течност – след ферментация	0

Фигура 2. Хроматограма на екстракт от културална течност на Биомаса 3



От фиг. 1 се вижда присъствието на β -каротен (детектиран при 450 nm) в екстракта от биомаса 1, а фиг. 2 показва, че същият отсъства в екстракта от културалната течност след ферментация. Данните говорят, че каротеноиди (по-специално β -каротен), продуцирани от *Sporobolomyces salmonicolor*AL₁ се натрупват единствено в неговата биомаса като и прибавеният β -каротен е усвоен от клетката. Културалната течност се използва за получаване на биополимера глюкоманан.

ЛИТЕРАТУРА

1. R. Edge, D.J. McGarvey, T.G. Truscott, The carotenoids as anti-oxidants – a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 41, 1997, 189-200
2. Onogi N, Okuno M, Matsushima-Nishiwaki R, Fukutomi Y, Moriwaki H, Muto Y, Kojima S. Antiproliferative effect of carotenoids on human colon cancer cells without conversion to retinoic acid. *Nutr Cancer*. 1998;32(1):20-4.
3. E. A. Offord, J. Gautier, O. Avanti, C. Scaletta, F. Runge, K. Krämer, and L. A. Applegate, Photoprotective potential of lycopene, β -carotene, vitamin E, vitamin C and carnosic acid in UVA-irradiated human skin fibroblasts, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 32, No. 12, pp. 1293–1303, 2002.
4. Bizzini P. and A. Martini. 1999. Production of carotenoids by strains *Rhodotorula glutinis* cultured in raw materials of agro-industrial origin. *Bioresource Technology* 71, 41-44.
5. Bizzini P., L. Rubinstein, A. Martini. 2001. Production of yeast carotenoids by using agro-industrial by-products. *Agro-Food-Industry Hi-Tech* November /December, 7-10.

6. Tinoi T.N., R.L. Kakariyathann, R.L. Deming. 2005. Simplex optimization of carotenoid production by *Rhodotorula glutinis* using hydrolyzed mungbean waste flours as substrate. *Process Biochemistry*, 40, 7 2552-2557.
7. Demain A.L., H. Phaff, C. Kurtzman; *The Yeasts, a Taxonomic Study*, C.P. Kurtzman, J.W. Fell; Academic Press, London, 1998, 13-19.
8. П. Даволи, В. А. Мирау, Р. В. С. Вебер, Каротиноиды и жирные кислоты в красных дрожжах *Sporobolomyces roseus* и *Rhodotorula glutinis*, *Прикладная биохимия и микробиология*, 2004, т.40, 4, 460-465.
9. Arun B. Barua, James A. Olson, Reversed-phase gradient high-performance liquid chromatographic procedure for simultaneous analysis of very polar to nonpolar retinoids, carotenoids and tocopherols in animal and plant samples, *Journal of Chromatography B*, 707 (1998) 69–79.
10. H.S. Lee, W.S. Castle, G.A. Coates, High-performance liquid chromatography for the characterization of carotenoids in the new sweet orange (Earlygold) grown in Florida, USA, *Journal of Chromatography A*, 913 (2001) 371–377.
11. Squina F., A. Mercadante. 2003. HPLS analysis of carotenoids from five *Rhodotorula* strains. *Journal of pharmaceutical sciences*. 39,3, 309–318.
12. Pavlova, K., L. Koleva, M. Kratchanova, I. Panchev. Production and characterization of an exopolysaccharide by yeast. *World J. Microbiol. & Biotechnol.* 20, 435-439, 2004.
13. Kurtzman C.P., J.W. Fell. 1998. *The Yeasts: A Taxonomic Study*, 4th ed. Elsevier Scientific Publisher, Amsterdam (Netherlands).

ТЕОРЕТИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ИЗОМЕРНИТЕ ПРЕВРЪЩАНИЯ НА УРАЦИЛ В ГАЗОВА ФАЗА

Иван Г. Щерев¹ и Васил Б. Делчев^{2}*

¹Кат. Физикохимия и неорганична химия, УХТ, Пловдив

²Кат. Физикохимия, ПУ „Паисий Хилендарски“

ABSTRACT

Nine isomers (tautomers and conformers) of uracil were studied at the B3LYP and MP2 theoretical levels, using the basis set 6-311++G(d,p). The transition states of the isomerizations were found, each as a first order saddle point on the reaction energy hypersurface. The crystal structure of uracil was investigated experimentally (X-ray powder analysis) and theoretically using a molecular mechanics force field. A cluster of four uracil molecules, resembling a part from its crystal lattice, was minimized by means of the PCMODEL program. The experimental and theoretical spacing between the crystal lattice planes are correspondingly $d=3.135$ Å and $d=3.180$ Å.

Keywords: density functional theory, X-ray powder analysis, uracil.

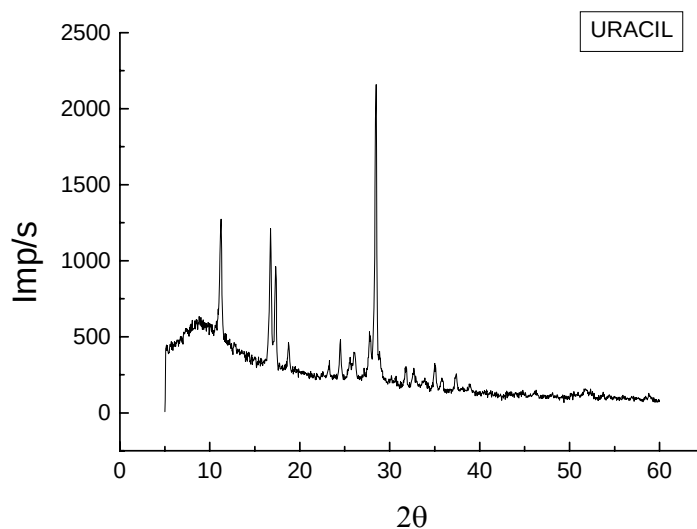
ВЪВЕДЕНИЕ

Урацилът е една от най-важните пиримидинови бази, която влиза в състава на нуклеиновите киселини [1]. Тавтомерните му форми са изучени теоретично на различни нива на теорията [2-6]. Установено е, че кетоформата е най-стабилна [1]. Именно тя участва в състава на нуклеиновите киселини. Получаването на друг тавтомер би довело до мутации [7,8]. Ето защо изучаването на стабилността на различните тавтомерни форми е от съществено значение. Съществуват два принципно различни метода за протонен пренос в азотните бази: *междумолекулен протонен трансфер* [9-11] и *вътрешномолекулен протонен трансфер* [11,12]. За съжаление последният не е изучен за урацила, за това ние си поставихме за цел да изчислим преходните състояния на тавтомерните превръщания и техните енергетични бариери.

*vdelchev@pu.acad.bg.

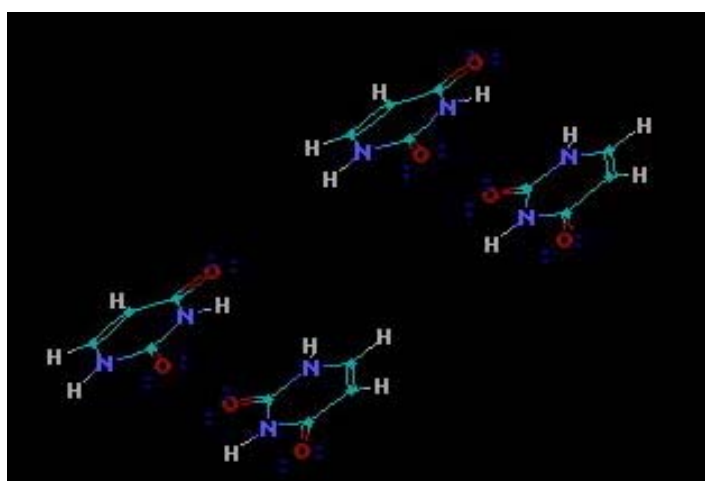
РЕЗУЛТАТИ

Кристалната структура на урацила беше доказана с помощта на рентгенофазов анализ (рентгенов апарат TÜR-MA-62, Германия, работно напрежение 32 kV, Cu-тръба, $\lambda_{\alpha 1} = 1.5405 \text{ \AA}$, $\lambda_{\alpha 2} = 1.5443 \text{ \AA}$, $\lambda_{\text{cp}} = 1.5424 \text{ \AA}$). Рентгенограмата е представена на фиг. 1.



Фигура 1. Рентгенограма на урацила

Основният максимум е при $2\theta = 28.48^\circ$ ($\theta = 14.24^\circ$), от където по закона на Вулф и Брег [13], $n\lambda = 2d \cdot \sin \theta$, междуплоскостното разстояние d , при $n=1$, е $3.135 \text{ \AA}$. От рентгенограмата става ясно, че в кристалната решетка на урацила има дефекти, което се вижда от множеството, слабо интензивни максимуми.



Фигура 2. Минимизирана структура на тетрамер на урацила

С цел да обясним кристалната структура на урацила проведохме предварителни изчисления, с методите на молекулната механика, на четири молекули от съединението (тетрамер). Оказа се, че най-изгоден тетрамер се образува, когато по двойки молекулите на урацила лежат в две копланарни равнини – фиг. 2. В значителна степен тетрамерът от фиг. 2 наподобява част от кристалната решетка на съединението. Това се доказва от изчислените разстояния между азотните атоми от двете равнини, които са 3.220 Å, 3.180 Å, 4.110 Å и 4.070 Å. Както се вижда тези стойности са доста близки до намереното междуплоскостно разстояние от рентгенофазовия анализ ($d=3.135$ Å). Изчисленият диполен момент на тетрамера е $\mu=3.90$ D, а топлината на образуване е $\Delta H_f=-404.39$ kcal.mol⁻¹, $E=-36.52$ kcal.mol⁻¹, $E_s=-10.12$ kcal.mol⁻¹.

Оптимизирани бяха (GAUSSIAN 03 [14]) девет изомера (конформерни и тавтомерни форми) на урацила с методите MP2 [15-17] и B3LYP [18] и базисни функции 6-31++G(d,p) и 6-31+G(d) в комбинация с трипараметричния функционал на Беке. Те са представени на схема 1.

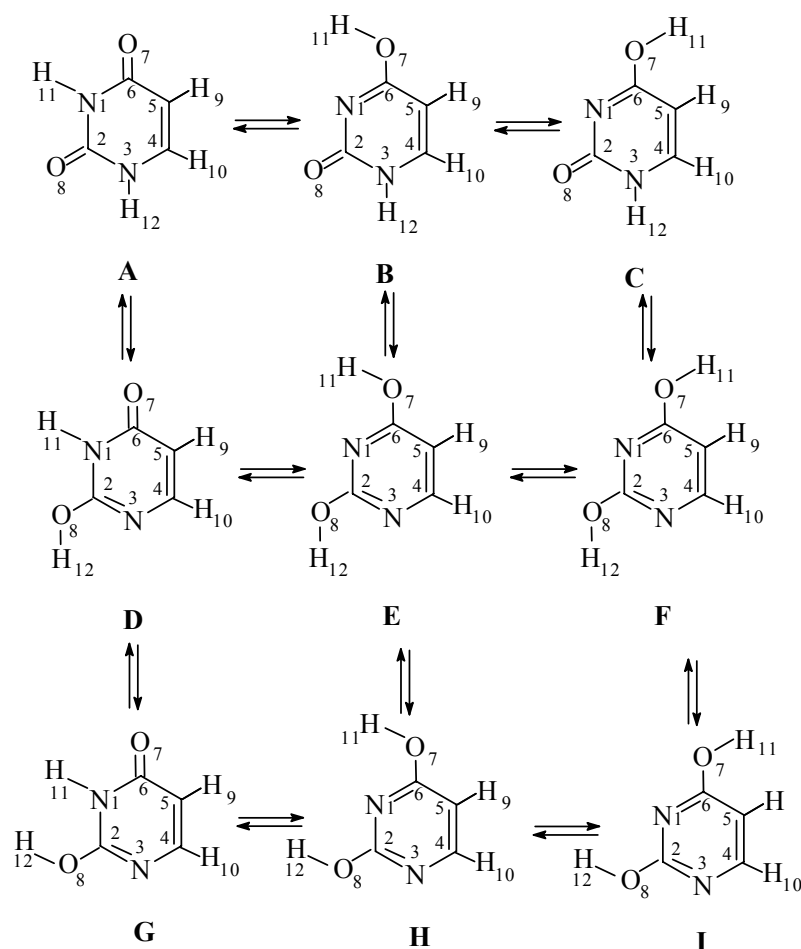


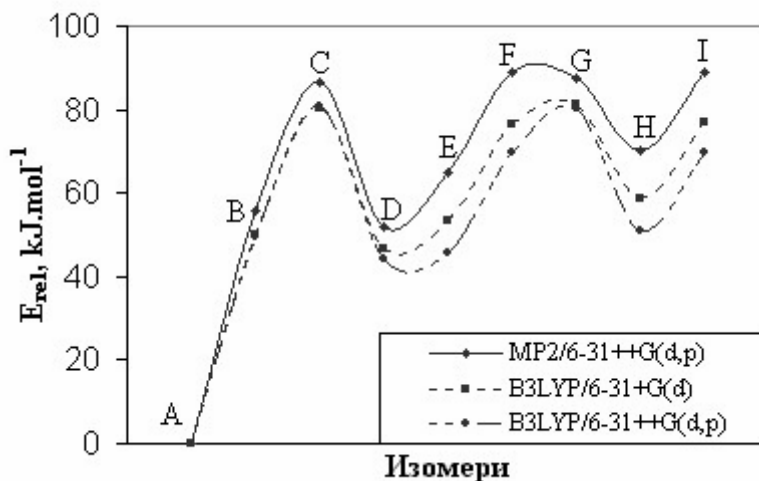
Схема 1

Изчислените енергии на изомерите на урацила са дадени в таблица 1.

Таблица 1. Енергии на изомерите на урацила

Изомер	B3LYP/6-31+G(d)	B3LYP/6-31++G(d,p)	MP2/6-31++G(d,p)
A	-414.837659	-414.847487	-413.694927
B	-414.816343	-414.828472	-413.676031
C	-414.804647	-414.816994	-413.664156
D	-414.817858	-414.829806	-413.678150
E	-414.812864	-414.827114	-413.677497
F	-414.803857	-414.818295	-413.668349
G	-414.804344	-414.816520	-413.664273
H	-414.810937	-414.825210	-413.675547
I	-414.803804	-414.818227	-413.668327

Данните от таблицата показват, че най-стабилен е изомерът А, който съдържа две карбонилни групи в структурата си. Изчисленията с базисния набор 6-31++G(d,p) показаха, че най-нестабилна е изомерът G. Той е с 81 kJ.mol^{-1} по-богат на енергия от изомер А. Изключването на дифузните функции за водородните атоми и р-поляризационните функции от базисния набор променя реда на стабилност на разглежданите изомери. В този случай с най-висока енергия е изомер I (89 kJ.mol^{-1} по-висока енергия от изомер А). Относителните енергии (E_{rel}) на останалите изомери са представени на фиг. 2.

Фигура 2. Относителни енергии (E_{rel}) на изомерите на урацила

Както се вижда изомери В, D, Е и Н са относително стабилни, с приблизително еднакви енергии. Най-нестабилни са изомерите С, F, G и I ($E_{\text{rel}} > 70 \text{ kJ.mol}^{-1}$). За отбелязване е, че MP2 методът дава по-високи енергии на изомерите, отколкото функционалът B3LYP.

Преходните състояния на изомерните превръщания бяха намерени като седлови точки от първи род (с една отрицателна вибрационна собствена стойност). Имагинерната честота е определена като *паралелно трептене* по

реакционната крива [19]. Изчислените енергетични бариери и термодинамични параметри на изомерните превръщания са дадени в таблица 2.

Таблица 2. Енергетични бариери и термодинамични параметри на изомерните превръщания, kJ.mol^{-1}

Изомерно превръщане	B3LYP/6-31++G(d,p)					MP2/6-31++G(d,p)				
	E_n	E_o	ΔH	ΔG	$T\Delta S$	E_n	E_o	ΔH	ΔG	$T\Delta S$
$A \rightleftharpoons B$	184	134	48.9	49.4	0.5	187	137	-3.6	-7.5	3.9
$A \rightleftharpoons D$	189	142	45.4	46.2	-0.8	192	148.0	-3.5	-4.0	0.5
$B \rightleftharpoons C$	53	23	29.2	28.3	0.9	52	21	-4.1	3.2	7.3
$B \rightleftharpoons E$	163	159	3.6	4.6	-1.0	159	162	0.8	6.9	-6.1
$C \rightleftharpoons F$	153	156	3.0	1.6	1.4	154	165	3.9	1.6	2.3
$D \rightleftharpoons E$	161	154	7.1	7.8	-0.7	163	161	0.6	3.3	-2.7
$D \rightleftharpoons G$	43	8	32.5	31.9	1.6	42	5	-1.9	-5.6	3.7
$E \rightleftharpoons F$	36	13	22.5	22.0	0.5	43	19	-1.0	-2.0	1.0
$E \rightleftharpoons H$	41	36	4.7	4.6	0.1	38	33	-0.2	0.4	0.3
$F \rightleftharpoons I$	40	40	0.1	0.1	0.0	14	14	0.2	0.2	0.0
$G \rightleftharpoons H$	142	165	-21.6	-19.5	-2.1	143	173	2.4	8.5	-6.1
$H \rightleftharpoons I$	41	23	17.9	17.6	0.3	38	20	-0.6	-1.4	0.8

Както се вижда от таблица 2 всички конформационни превръщания преминават през ниски енергетични бариери: $53 - 8 \text{ kJ.mol}^{-1}$ за B3LYP изчисленията и $52 - 5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ за MP2 изчисленията. Поради голямата нестабилност на изомер G енергетичната бариера на превръщането $G \rightarrow D$ е доста ниска.

Високи енергетични бариери са изчислени за тавтомерните превръщания, които се извършват чрез вътрешномолекулен протонен пренос по механизма “през пространството”. Най-неизгодно е превръщането на тавтомер A в тавтомери B и D. Това се обяснява с голямата стабилност на изомер A. Съгласно B3LYP изчисленията изомерните превръщания са еднотермични, с изключение на превръщането $G \rightarrow H$. Съгласно принципът на Лефлер-Хамонд [20,21], при изомерните превръщания се реализира “късно” преходно състояние. Само при превръщането $G \rightarrow H$ преходното състояние съгласно този принцип се определя като “ранно”. Според MP2 изчисленията голяма част от изомерните превръщания са екзотермични.

Данните от таблица 2 показват, че B3LYP методът дава по-ниски енергетични бариери за правата и обратната реакция при тавтомерните превръщания, в сравнение с MP2 метода. Обаче за конформационните превръщания, по-ниски енергетични бариери са изчислени с MP2 метода.

Причината е, че при конформационните превръщания ефектите на електронна корелация са по-ясно изразени, докато при тавтомерните превръщания разкъсването на една и образуването на друга валентна връзка води до промяна на електронната плътност на цялата молекула, което може да бъде отчетено както с B3LYP, така и с MP2 метода.

Както се вижда всички изомерни превръщания протичат със незначителни стерични изменения, което е характерно за реакциите на вътрешномолекулен протонен пренос [22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведените експериментални (рентгенова дифракция) и теоретични изследвания (молекулна механика) на кластер от четири молекули урацил се съгласуват добре, по отношение на междуплоскостното разстояние и взаимната ориентация на молекулите в кластера една спрямо друга.

Изчислените енергии на деветте изомера на урацила (B3LYP и MP2) показаха, че изомерът с две карбонилни групи е най-стабилен. Изчислените преходни състояния и енергетични бариери на взаимните превръщания на изомерите показват, че конформационните превръщания се извършват през ниски енергетични бариери (до 53 kJ.mol⁻¹), което е обичайно при конформационни превръщания, в които един от ротиращите фрагменти е водороден атом. От тавтомеризациите най-неизгодно е превръщането на тавтомер А в тавтомери В и D, което се обяснява с голямата стабилност на изомер А.

Всички преходни състояния (с изключение на превръщането G→H) бяха отнесени като “късни”, съгласно принципът на Лефлер-Хамонд [20,21]. Това следва от факта, че правите реакции на изомерните превръщания са ендотермични процеси.

Благодарности. Изказваме благодарност на ФНИ към МОН за финансовата подкрепа (МУХ – 1504 / 2005).

ЛИТЕРАТУРА

1. A. Lehninger (2004) *Principles of Biochemistry*, 4 ed., Freeman, pp 608.
2. P. Ü. Civeci, *J. Mol. Str. (THEOCHEM)* (2000) 532, 157.
3. A. K. Chandra, T. Uchimaru, Th. Zeegers-Huyskens, *J. Mol. Str. (2002)* 605, 213.
4. B. Blicharska, T. Kupka, *J. Mol. Str. (2002)* 613, 153.
5. S. X. Tian, C. F. Zhang, Z. J. Zhang, X. J. Chen, K. Z. Xu, *Chem. Phys.* (1999) 242, 217.
6. I. R. Gould, N. A. Burton, R. J. Hall, I. H. Hiller, *J. Mol. Str. (THEOCHEM)* (1995) 331, 147.
7. R. Knippers, *Molekulare Genetik* (1997) Thieme, Stuttgart.
8. E. S. Kryachko, *Int. J. Quantum Chem.* (2002) 90, 910.
9. N. Markova, V. Enchev, I. Timtchev, *J. Phys. Chem. A* (2005) 109, 1981.

10. O. V. Shishkin, O. S. Sukhanov, L. Gorb, J. Leszczynski, *Phys. Chem. Chem. Phys.* (2002) 4, 5359.
11. L. Gorb, J. Leszczynski, *J. Am. Chem. Soc.* (1998) 120, 5024.
12. M. Mons, I. Dimicoli, F. Piuze, B. Tardivel, M. Elhanine, *J. Phys. Chem. A* (2002) 106, 5088.
13. Т. Трофимова, Курс по физика, Университетско издателство “Св. Климент Охридски”, София, 1994.
14. Gaussian 03, Revision D.01, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, et al. Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2004.
15. M. Head-Gordon, J. A. Pople, M. J. Frisch, *Chem. Phys. Lett.* (1988) 153, 503.
16. M. Head-Gordon, J. A. Pople, M. J. Frisch, *Chem. Phys. Lett.* (1990) 166, 275.
17. M. Head-Gordon, J. A. Pople, M. J. Frisch, *Chem. Phys. Lett.* (1990) 166, 281.
18. A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* (1993) 98, 5648.
19. S. S. Shaik, H. B. Schlegel, S. Wolfe, Theoretical aspects of physical organic chemistry, JOHN WILEY & SONS, Inc.
20. G. S. Hammond, *J. Am. Chem. Soc.* (1955) 77, 334.
21. J. E. Leffler, *Science* (1953) 117, 340.
22. В. Б. Делчев, Х. Микош, *Съюз на учените в България – Пловдив, серия Б. Естествени и хуманитарни науки* (2005) V, 7.

МОДИФИЦИРАНИ ГРАФИТОВИ ЕЛЕКТРОДИ – БАЗА ЗА РАЗРАБОТВАНЕ НА СЕЛЕКТИВНИ ГЛЮКОЗНИ БИОСЕНЗОРИ

Т. Додевска^{1}, Е. Хорозова², Н. Димчева²*

¹Кат. Неорганична химия и физикохимия, УХТ, Пловдив

²Кат. Физикохимия, ПУ „Паисий Хилендарски“

ABSTRACT

Electrocatalytic reduction of H_2O_2 on graphite electrodes modified with microdepositions of Pt and Pd (composed of two different mixture ratios of Pt to Pd: 10% : 90% and 30% : 70%) was characterized. Applicability of the two modified graphite materials as basic transducers for the development of glucose biosensors was demonstrated. The comparison of the operational parameters of both types of glucose biosensors suggests improved sensitivity and superior selectivity of the biosensor based on graphite modified with 30% Pt : 70% Pd.

Ключови думи: модифицирани графити, електроредукция, биосензор, глюкоза, глутатион, пикочна киселина, аскорбинова киселина.

ВЪВЕДЕНИЕ

Основен проблем при разработването на електрохимичните биосензори е реализирането на работна система, при която се свежда до минимум или се елиминира електрохимичното превръщане на органичните съединения, съпътстващи определяемия субстрат във физиологичните течности. При количественото определяне на глюкоза към пречещите агенти се отнасят аскорбинова, пикочна киселина, глутатион и др. Пътищата за повишаване селективността на аналитичното определяне чрез ензимни електроди принципно се свеждат до: съимобилизация с пероксидаза [1-5], използване на медиатори за оптимизиране на електронния обмен [6-8] или имобилизиране на ензими в полимерни филми на полиелектролити [9], което обаче значително усложнява електрохимичната система. Модифицирането на електродната повърхност с хексацианоферати [10-12] е нов подход за реализиране на електроредукция на H_2O_2 , но приложим само в работна среда с $\text{pH} < 7$.

Целта на настоящата работа е да бъде изследвана каталитичната активност на графитови електроди, модифицирани с микроотложения от Pd + Pt в съотношения съответно Pd+Pt 90:10% и Pd+Pt 70:30% в процеса на електроредукция на водороден пероксид. На базата на получените индикаторни пероксидни електроди да бъдат създадени селективни глюкозооксидазни ензимни електроди и да бъдат охарактеризирани по отношение на основните работни параметри при количествено определяне на глюкоза.

МАТЕРИАЛИ И АПАРАТУРА

Glucose oxidase (GOD) (E.C. 1.1.3.4.) – от *Aspergillus niger* (Fluka Biochemica) с активност 50 U.mg^{-1} , върху Pd:Pt (70:30)/СГМЗ беше имобилизирана GOD 198 U.mg^{-1} ; β -D- glucose (Valerus, Bulgaria); H_2O_2 , пикочна киселина, L-аскорбинова киселина, лимонена киселина, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ от Fluka; желатин (Chimtek-Благоевград). Всички водни и буферни разтвори бяха приготвени с бидестилирана вода. Като базови електроди бяха използвани графити от типа “ГМЗ” (структурни характеристики: $S=0.8 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$; $\rho=1.56 \div 1.7 \text{ g.cm}^{-3}$; порьозитет 20-25%), модифицирани с микроколичества Pd и Pt. Отлагането на каталитичноактивните компоненти (Pd+Pt) върху въглеродния материал беше извършено електрохимично в потенциостатичен режим ($E_{\text{отлож}}=0.05 \text{ V}$ (спрямо обратим водороден електрод)) чрез кратковременна ($10''$) електролиза от следния електролит: 2% $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в 3N H_2SO_4 + 2% PdCl_2 в 0.1N HCl в съотношение Pd:Pt 90:10% и Pd:Pt 70:30%. Получените модифицирани електроди Pd:Pt (90:10)/СГМЗ $10''$ и Pd:Pt (70:30)/СГМЗ $10''$ непосредствено преди ензимната имобилизация се подлагат на катодно-анодно циклиране в потенциалната област от -0.6 V до 0.2 V (Ag/AgCl) 30 min с последващо поляризиране при 1.5 V (Ag/AgCl) за 2 min (ФЦБ, pH=7). Електрохимично активираните базови електроди се поставят в разтвор на GOD (50 mg/ml във ФЦБ с pH=7) за 1 час. След приключване на адсорбцията, ензимните електроди се оставят на въздуха в продължение на 30 min и върху работната повърхност се нанася защитно покритие от 5% разтвор на желатин във ФЦБ, pH=7, съдържащ GOD (25 mg/ml). Изсушаването на защитния слой става в ток от Ag.

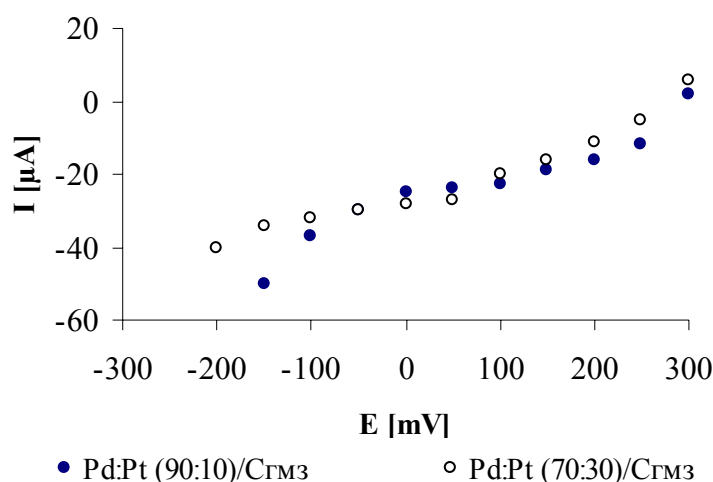
При електрохимичните изследвания беше използвана триелектродна клетка с разделени електродни пространства, сравнителен електрод – Ag/AgCl, противоелектрод-Pt-проводник. Електрохимичната система включва следните апаратни модули: бипотенциостат BiPAD (Tacussel, Villeurbanue, France); генератор EG-20 (Elpon, Lubawa, Poland); термостат UH (VEB MLW Prufgerate Werk, Medingen, Frietal, Germany).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Модифицирани графитови електроди като катализатори за електроредукция на водороден пероксид

Модифицираните с микроколичества от Pd+Pt в съотношения 90%:10% и 70%:30% графитови електроди бяха изследвани по метода на поляризационните

криви в интервал от -200 до 300 mV (Ag/AgCl) (фиг.1). В изследваната област от потенциали и за двата електрода се наблюдават катодни токове на електроредукция на H_2O_2 . На двете поляризационни криви се очертават потенциални области с почти пределни стойности на тока, които са в зависимост от природата на каталитично-активния компонент върху графитовата матрица. За електрода Pd:Pt (90:10)/Сгмз областта с гранични стойности на катодния ток е от 0 до 100 mV, докато за Pd:Pt (70:30)/Сгмз се наблюдава уширение и изместване на този диапазон в катодна страна – от -150 до 50 mV.



Фигура 1. Поляризационни криви на модифицирани графитови електроди в присъствие на 10^{-4} M H_2O_2 ; ФЦБ, pH=7; 20°C ; сравнителен електрод Ag/AgCl

Амперометричният сигнал на модифицираните графитови електроди като функция от концентрацията на H_2O_2 беше изследван в потенциалните области както следва: от 0 до 100 mV за Pd:Pt (90:10)/Сгмз и от -50 до 50 mV за Pd:Pt (70:30)/Сгмз. Чувствителността (dI/dC) и областта на линейна концентрационна зависимост на сигнала на модифицираните електроди, определени за съответните потенциали на поляризация, са представени в табл.1. И при двата електрода чувствителността нараства с изместване на приложения потенциал в катодна страна. При Pd:Pt (90:10)/Сгмз границата на линейност на сигнала не зависи от приложения потенциал, докато при Pd:Pt (70:30)/Сгмз областта на линейност на електродния сигнал е двукратно по-голяма и нараства с изместване на потенциала на поляризация в анодна страна. От представените данни е видно, че най-висока чувствителност $dI/dC = 0.816 \pm 0.02 \mu\text{A} \cdot \mu\text{M}^{-1}$ при електроредукция на H_2O_2 проявява Pd:Pt (70:30)/Сгмз при $E = -50$ mV.

Таблица 1. Операционни характеристики на модифицирани графитови електроди при електрохимична редукция на H_2O_2 ; ФЦБ, pH=7; 20°C; сравнителен електрод Ag/AgCl

потенциал [mV]	чувствителност dI/dC [$\mu A \cdot \mu M^{-1}$]		линейна област [μM]	
	Pd:Pt (90:10)/C _{гмз}	Pd:Pt (70:30)/C _{гмз}	Pd:Pt (90:10)/C _{гмз}	Pd:Pt (70:30)/C _{гмз}
-50	---	0.816	---	600
0	0.616	0.582	300	650
50	0.599	0.535	300	700
100	0.593	---	300	---

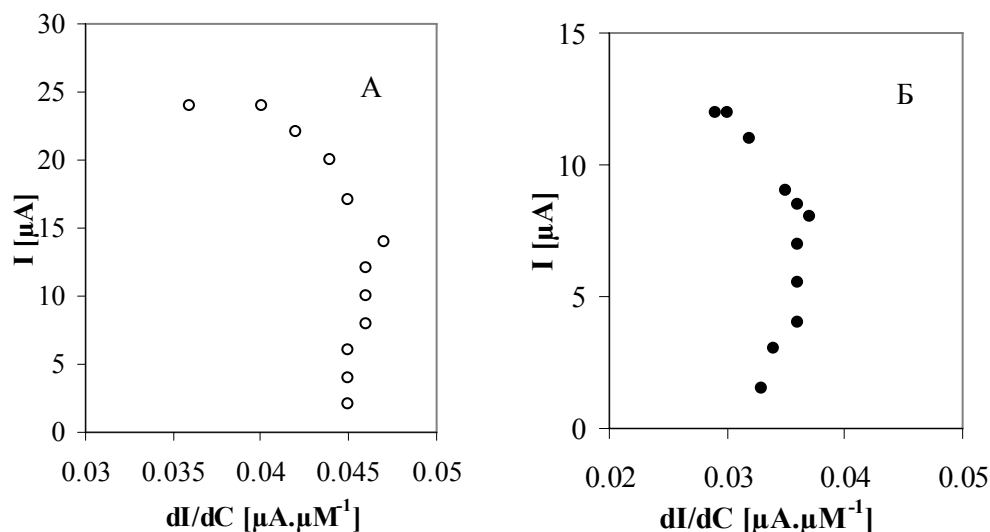
Като оптимален работен потенциал за Pd:Pt (90:10)/C_{гмз} беше определен $E=0$ mV, при който електродната чувствителност е $dI/dC = 0.616 \pm 0.02 \mu A \cdot \mu M^{-1}$. При сравнение на функционалните характеристики на двата индикаторни електрода се констатира 1.3 пъти по-висока чувствителност и двойно по-дълга област на линейност на сигнала при Pd:Pt (70:30)/C_{гмз}.

Операционни характеристики на ензимни глюкозооксидазни електроди

По описаната процедура за имобилизация на GOD на базата на изследваните пероксидни модифицирани графитови електроди бяха получени глюкозооксидазни ензимни електроди. На същите беше изследвана температурната зависимост на основните им функционални характеристики в интервала от 15 до 30°C при избраните работни потенциали (табл. 2). На фиг. 2 са представени експерименталните данни за двата ензимни електрода в координати на Eadie-Hofstee (стационарният ток като функция от електродната чувствителност) за 20°C. Показано е наличието на три ясно обособени участъка. При ниски субстратни концентрации чувствителността на електродите остава практически постоянна. Този вертикален участък вероятно се дължи на дифузионни ограничения върху процесите в електрохимичната система. В диапазона от концентрации на глюкоза от 380 до 600 μM за Pd:Pt (70:30)/C_{гмз} и съответно от 220 до 300 μM за Pd:Pt (90:10)/C_{гмз} се установява наклонен участък, указващ ензимно-кинетичен контрол. От експерименталните данни за този концентрационен интервал чрез регресионен анализ беше изчислена привидната Михаелисова константа K_m^{app} . За високи субстратни концентрации $C_{ггл.} > 600 \mu M$ за Pd:Pt (70:30)/C_{гмз} и $C_{ггл.} > 300 \mu M$ за Pd:Pt (90:10)/C_{гмз} в Eadie-Hofstee координати се обособява хоризонтална област, която се обяснява с ефекта на субстратно блокиране на имобилизирания ензим (ток на насищане). Откриваемият минимум на анализа и за двата електрода е 10 μM .

При изследване поведението на ензимните електроди при 15°C беше установено, че липсват обособени дифузионно- и кинетично лимитирани области. Отчитайки факта, че при тези работни условия концентрацията на O_2 (втори субстрат при ензимно-катализирания процес) е висока и по всяка вероятност защитната желатинова мембрана е най-слабо еластична, предполагаме че процесът е силно комплициран, поради което не може ясно да

се диференцират етапите му. Това е причината да не може да се дефинира стойността на K_m^{app} за тази температура.



Фигура 2. Зависимост на сигнала на ензимните електроди в Eadie - Hofstee координати; ФЦБ, $pH=7$; $20^{\circ}C$; сравнителен електрод $Ag/AgCl$
 А – $Pd:Pt (70:30)/C_2мз$ $E = -50 mV$ Б – $Pd:Pt (90:10)/C_2мз$ $E = 0 mV$

При температура на работната среда $25^{\circ}C$ беше констатирано рязко повишаване на електродната чувствителност и при двата ензимни електрода. Наблюдават се отново три етапа в работния режим - дифузионен, ензимно-кинетичен и субстратно блокиране. Нарастването на чувствителността обаче е за сметка на скъсяване на областта на стриктна линейна зависимост на сигнала от концентрацията на глюкоза (до $260 \mu M$) при $Pd:Pt (70:30)/C_2мз$.

Най-висока електродна чувствителност при аналогичен режим на работа на електродите беше регистрирана при температура $30^{\circ}C$. Спазена е закономерността както при 20 и $25^{\circ}C$ линейната област да бъде $\frac{1}{2}$ от стойността на привидната Михаелисова константа.

Таблица 2. Операционни параметри на глюкозооксидазни ензимни електроди; ФЦБ, $pH=7$

температура [$^{\circ}C$]	чувствителност dI/dC [$\mu A \cdot \mu M^{-1}$] електрод		r^2 електрод		линейна област [μM] електрод		K_m^{app} [μM] електрод	
	А	Б	А	Б	А	Б	А	Б
15	0.034	0.029	0.982	0.97	360	300	---	---
20	0.045	0.033	0.989	0.989	550	300	1270	580
25	0.109	0.044	0.974	0.988	260	300	450	550
30	0.123	0.049	0.981	0.993	260	300	500	550

Ензимен електрод А – базиран на $Pd:Pt (70:30)/C_2мз$; $E=-50 mV$

Ензимен електрод Б – базиран на $Pd:Pt (90:10)/C_2мз$; $E=0 mV$

Електроден отговор в присъствие на съпътстващи субстрати

Върху сигнала на ензимните електроди беше изследвано влиянието на съпътстващи субстрати като пикочна, аскорбинова киселина и глутатион, които нормално присъстват в биологичните проби. За ензимния електрод, базиран на Pd:Pt (70:30)/Сгмз, при установените работни условия $E = -50 \text{ mV}$ и $\text{pH} = 7.0$, беше констатирано, че тези субстрати не търпят електрохимично превръщане – в присъствието им в концентрации до $200 \text{ }\mu\text{M}$ не беше регистриран електроден отговор. Ензимният електрод създаден на базата на Pd:Pt (90:10)/Сгмз при оптимален работен потенциал 0 mV показва завишаване на амперометричния сигнал в присъствие на пикочна и аскорбинова киселина в концентрации над $40 \text{ }\mu\text{M}$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Използването на индикаторен пероксиден модифициран графитов електрод Pd:Pt (70:30)/Сгмз като базов за създаването на ензимен глюкозооксидазен електрод предоставя възможност за работа при потенциал напълно елиминиращ пречещото влияние на съпътстващите субстрати. Реализираната 2.5 пъти по-висока електродна чувствителност при него в сравнение с този, базиран на Pd:Pt (90:10)/Сгмз (данни за 30°C), е резултат от синергичния ефект на два фактора – от една страна по-високата активност на базисния електрод (1.3 пъти повишаване на електродната чувствителност спрямо H_2O_2) и от друга - по-високата активност на използваната GOD. Този ензимен електрод показва и двукратно по-бърз отклик – времето за отговор не надвишаваше 1 min .

ЛИТЕРАТУРА

1. Liu J, Wang J (2001) Food technol biotechnol 39 : 55
2. Lindgren A, Ruzgas T, Gorton L (2001) Curr Top Anal Chem 2: 71
3. Nissum M, Schodt C, Welinder K (2001) Biochim Biophys Acta 1545: 339
4. Cosnier S, Lambert F, Stoycheva M (2000) Electroanalysis 12: 356
5. Gamburgzev S, Atanasov P, Ghingilis A, Wilkins E, Kaisheva A, Iliev I (1997) Sensors and Actuators B-Chemical 43: 70
6. Centonze D, Losito I, Malitesta C (1997) Electroanal Chem 435: 103
7. Богдановская В, Ефремов Б, Кузнецова Л (1997) Электрохимия 33: 459
8. Kulys J, Palaima A, Urbelis G (1998) Anal. Lett. 31: 569
9. Chaniotakis N.A. (2004) Anal Bioanal Chem 378: 89
10. Karyakin A, Karyakina E, Gorton L (2000) Anal Chem 72: 1720
11. De Luca S, Florescu M, Ghica ME, Lupu A, Palleschi G, Brett CMA, Compagnone D (2005) Talanta 68: 171
12. Pughanova EA, Karyakin AA (2005) Sens Actuat B 109: 167

АДСОРБЦИЯ НА ПЕРОКСИДАЗА ВЪРХУ АКТИВЕН ВЪГЛЕН

Нина Димчева^{1}, Костадинка Тодорова², Елена Хорозова¹*

¹ кат. Физикохимия, ПУ „Паисий Хилендарски“ – Пловдив;

E-mail: ninadd@argon.acad.bg

² филиал “Любен Каравелов” – Кърджали

ABSTRACT

Peroxidase enzyme adsorption on activated carbon NORIT was studied. It was found that over the concentration range $10^{-5} - 10^{-4}$ M the process obeys Langmuir adsorption isotherm, while at micromolar concentrations the Tyomkin isotherm is more relevant under the same conditions. Saturation of the adsorbent with biopolymer's molecules was reached at enzyme concentrations exceeding 0.1 mM. Quantitative parameters such as equilibrium constant K and the maximum adsorbed enzyme $A_{\max}$ were determined from the linearized Langmuir isotherm.

Ключови думи: адсорбция, ензими, пероксидаза.

ВЪВЕДЕНИЕ

Пероксидазата е биокатализаторът, вероятно с най-широките спектри от практически приложения: от ELSA – тестовете, използвани в имуноанализа до разработването на биореактори и биосензорни системи за екологичен и клиничен мониторинг. Изследването на електрокаталитичната ѝ активност е от особено значение за развитието на биоелектрониката и сензорните технологии, тъй като ензимът притежава способността да комуникира с електродната повърхност директно [1, 2] или посредством нискомолекулни преносители на електрони (т. нар. медиатори) [3-5]. В този контекст, методите за закрепването му към електродната повърхност (т. нар. имобилизация) са ключов фактор, определящ до голяма степен както чисто каталитичната, така и електрохимичната активност на пероксидазата.

Поради изключителната си простота на изпълнение, адсорбционната имобилизация е най-често използвана. Допълнителното ѝ предимство пред други методи се състои в това, че като правило ензимите се закрепват в конформация, близка до нативната (в разтвор) и следователно проявяват висока каталитична активност дори в имобилизирано състояние.

В достъпната литература, имобилизирането на пероксидазата чрез адсорбция обикновено се представя като рецептура в експерименталната секция, без при това да бъде дискутирано намирането на условията, при които се извършва тя - рН, концентрация на изходния ензимен разтвор, температура и др. Настоящото изследване е продължение на усилията на работната ни група да установи особеностите при адсорбцията на ензимите върху дисперсни неорганични носители [6, 7]. В тази връзка, целта на настоящата работа е да бъде изследвана адсорбцията на пероксидаза върху носител активен въглен и бъдат установени основните закономерности на процеса при избраните експериментални условия (стайна температура и физиологично рН на средата).

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ЧАСТ

Реагенти

При настоящите изследвания беше използвана пероксидаза от хрян (HRP) (ЕС 1.11.1.7.; $M_r \sim 44\ 000$; с активност $300-350\ U \cdot mg^{-1}$; “Reanal” - Унгария). За приготвяне на ензимни разтвори беше използван 0,1 М фосфатен буфер с рН 7,0. За имобилизация на ензима беше използван носител активен въглен NORIT. Носителят е със специфична повърхност $\approx 1000\ m^2 \cdot g^{-1}$ и е фино дисперсен.

Всички реактиви, използвани за приготвяне на буферните разтвори бяха със спецификация “спектрално чисти” и не бяха подлагани на допълнителна обработка преди употреба. Бидестилирана вода беше използвана във всички случаи при получаването на буферни разтвори.

Материали и методи

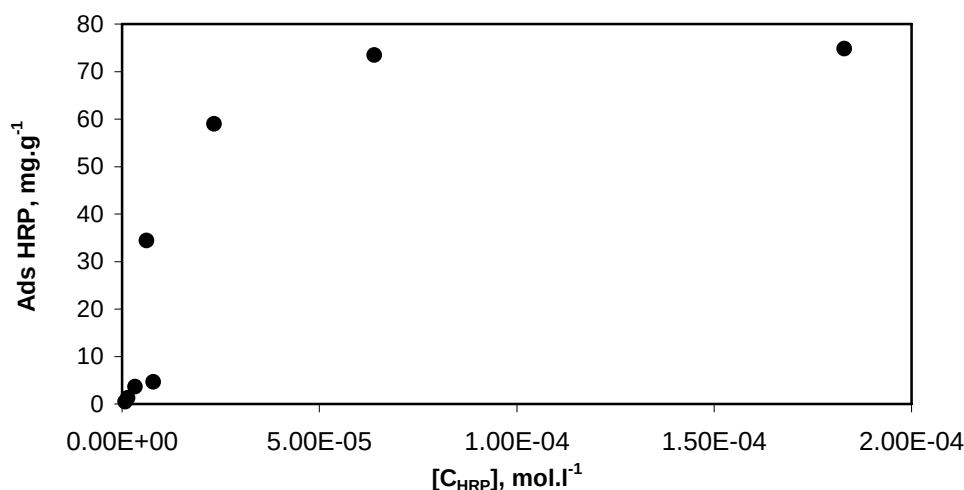
За изследване адсорбцията на ензима върху NORIT, имобилизирането му провеждахме в статични условия в серии от по 2 ml разтвор на HRP във фосфатен буфер (рН=7,00) с концентрации съответно: 0,2 mM; 0,15 mM; 0,1 mM; 0,05 mM; 0,02 mM; 0,01 mM; 0,005 mM; 0,002 mM и 0,001 mM, към които бяха добавяни по 20 mg носител. Адсорбцията се извършваше 24 часа. Количеството на адсорбирания ензим определяхме спектрофотометрично по намаляване концентрацията на HRP в разтвора след адсорбцията. Спектрофотометричните изследвания извършихме на спектрофотометър Specord UV VIS. Количеството HRP в разтвора определяхме на базата на калибровъчна графика за максимумите при дължини на вълната $\lambda_{max}=205\ nm$ и $\lambda_{max}=278\ nm$. Линеината зависимост на светлинната абсорбция при дължина на вълната $\lambda_{max} = 205\ nm$ от концентрацията на HRP се спазва в интервал от $0,5 \cdot 10^{-6}\ M$ до $2,6 \cdot 10^{-6}\ M$, а при $\lambda_{max}=278\ nm$ – в интервала $2,6 \cdot 10^{-6}\ M$ до $3,6 \cdot 10^{-5}\ M$ и повече.

Спектрални определения в ултравиолетовата област се извършваха със спектрофотометър Specord UV VIS (Carl Zeiss, Jena) и кварцови кювети, $l=1\ cm$.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

На Фиг. 1 е представена зависимостта на адсорбираното количество пероксидаза от концентрацията на ензима в буферния разтвор. Тази зависимост следва линеен ход при ниски ензимни концентрации – до около $3,5 \cdot 10^{-5}\ M$, като

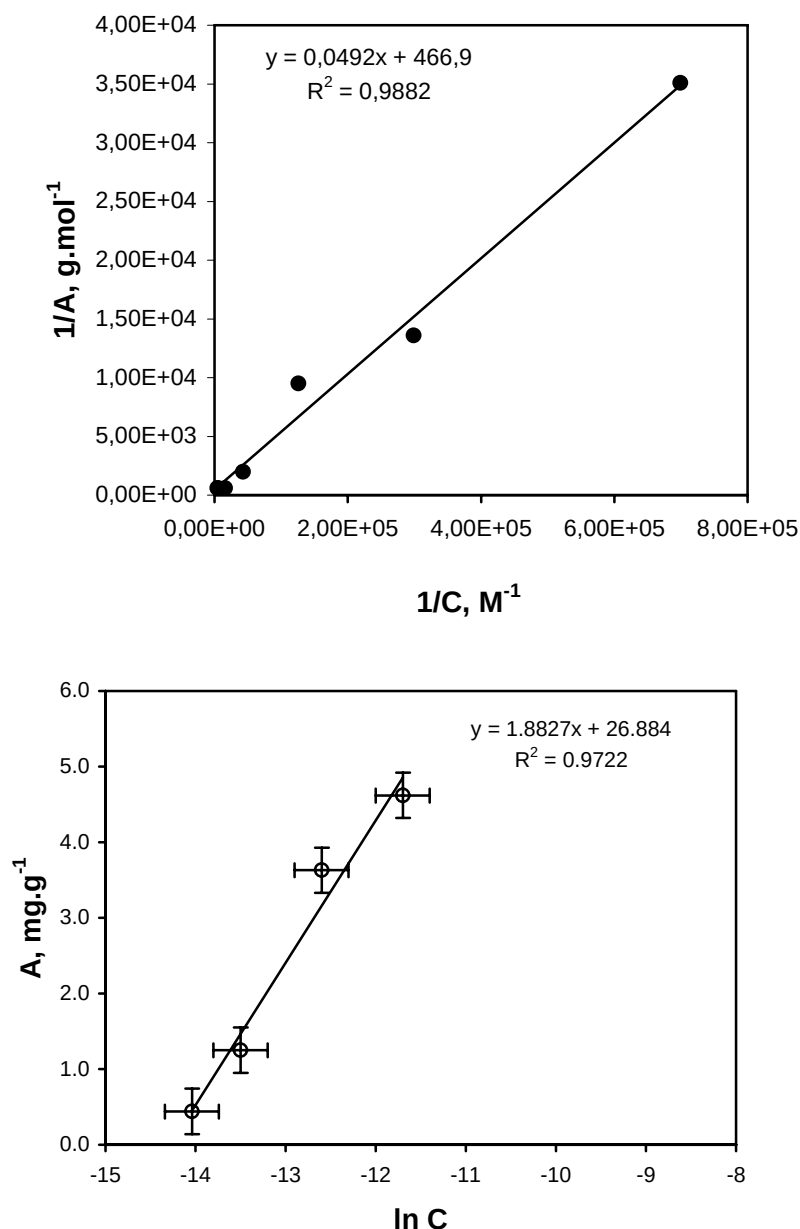
с повишаване ензимното съдържание в изходния разтвор преминава в крива и достига насищане при концентрации на пероксидазата около $1 \cdot 10^{-4}$ М. Аналогични закономерности бяха наблюдавани и при адсорбция на ензима каталаза върху същия дисперсен носител [6].



Фигура 1. Зависимост на адсорбираното количество пероксидаза от изходната концентрация на ензима в буферния разтвор при стайна температура.

Анализът на данните, представени на Фиг. 1 показва, че адсорбцията на пероксидазата върху избраният въглероден носител се описва от адсорбционната изотерма на Лангмюир в концентрационния диапазон от 10^{-5} до 10^{-4} М (Фиг. 2-а). За много ниски степени на запълване на повърхността с ензим адсорбцията може да бъде описана и от логаритмичната изотерма на Тьомкин (Фиг. 2-б).

Регресионният анализ на линеаризираната изотерма на Лангмюир позволи определянето на важни характеристики на адсорбционния процес като равновесната константа K и максималното количество адсорбиран ензим $A_{\max}$. За избраните експериментални условия тези два параметъра имат стойности, съответно: $K = 9,5 \cdot 10^3$; и $A_{\max} = 2,1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.g}^{-1}$. Последната стойност свидетелства за изключително висок адсорбционен капацитет на носителя - активен въглен, по отношение на пероксидазата. Това може да се дължи както на относително ниската молекулна маса на биополимера, така и на факта, че при работното рН молекулата като цяло е електронеутрална и следователно е заела типичната за белтъците глобуларна конформация.



Фигура 2. Зависимост на адсорбираното количество пероксидаза от равновесната концентрация на ензима в разтвора: а) в линеаризирани координати на Лангмюир – горе; б) в координати на Тьомкин – долу. Температура 20 °C.

Спазването на адсорбционната изотерма на Тьомкин само за най-ниските степени на запълване показва, че адсорбцията на ензима върху дисперсията носител не е еднократен акт, а вероятно се състои от няколко етапа – заемане на енергетично най-изгодните адсорбционни центрове в началото на процеса, последвано от пренареждане и изменение на конформацията на биополимера с нарастване на степента на запълване. Намерената стойност за фактора на нееднородност (факторът на нееднородност $f = 0,53$) показва, че адсорбцията протича върху енергетично нееднородна повърхност.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изследване адсорбцията на ензима пероксидаза от водни буферни разтвори с рН=7,00 (при което молекулата на биополимера е електронеутрална) върху фино-дисперсен активен въглен бяха установени следните общи закономерности:

- Адсорбцията при стайна температура се описва от изотермата на Лангмюир за интервала от концентрации на изходния ензимен разтвор $10^{-5} - 10^{-4}$ М;
- Насищане на адсорбента с ензим се наблюдава при концентрации $\geq 0,1$ mM, при които е определен адсорбционния капацитет на носителя: $92,4 \text{ mg.g}^{-1}$. Изказано е предположението, че тази висока стойност се дължи на глобуларната конформация на ензима при избраните експериментални условия;
- Установено е, че само за микромолярния диапазон от концентрации адсорбцията се подчинява на изотермата на Тьомкин, което свидетелства за адсорбция върху енергетично нееднородна повърхност. Изказана е хипотезата, че промяната на изотермата, описваща адсорбцията в зависимост от концентрацията на ензимния разтвор вероятно се дължи на реорганизиране на ензимните молекули в хода на процеса.

Във всички случаи обаче, фактът, че експерименталните резултати се описват от изотермите на Лангмюир и на Тьомкин сочи, че при адсорбцията на ензима пероксидаза върху активен въглен се образува монослойно покритие на повърхността.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gorton L, Lindgren A, Larsson T, Munteanu FD, Ruzgas T, Gazarian I (1999) Anal Chim Acta 400:91–108
2. Christenson A, Dimcheva N, Ferapontova E, Gorton L, Ruzgas T, Stoica L, Shleev S, Yarpolov A, Haltrich D, Thorneley R, Aust S (2004) Electroanalysis 16:1074–1092
3. Ferapontova E, Gorton L (2001) Electrochem Commun 3:767–774
4. Ferapontova E, Pughanova E (2002) J Electroanal Chem 518:20–26
5. Ferapontova E, Gorton L (2002) Bioelectrochemistry 55:83–87
6. Horozova E, Dimcheva N (2004) CESJ- Chemistry 2: 627-637
7. E. Horozova, N. Dimcheva (2005) CESJ- Chemistry 3: 279-287.

КОРОЗИОННА УСТОЙЧИВОСТ И ЗАЩИТНИ СВОЙСТВА НА АМОРФНИ НИКЕЛ-ФОСФОРНИ ПОКРИТИЯ

Илия Гаджов¹, Росица Манчева², Костадин Кънчев²

¹ ХТМУ – София, кат. Електрохимия

² ПУ „Паисий Хилендарски“, кат. Физикохимия

ABSTRACT

The effect of deposition mode, current density, support, time and temperature of thermal treatment is studied on corrosion resistance of amorphous Ni-P coatings deposited in acid electrolyte containing combined additive.

It is established that the porosity of the coating is reduced and its corrosion resistance increased when the coating thickness and the time of thermal treatment at 400°C are increased. The decrease in porosity is associated with a partial liquation of phosphorus on the coating surface and formation of a new phase Ni₃P.

It is proved that coatings of a layered structure are produced when deposition is carried out with constant current and current density of 2 A/dm². Such coatings have higher stability than those obtained with impulse current.

Cathode and anode polarization curves are recorded on galvanized copper and steel supports thermally treated at varying temperatures and time.

Keywords: amorphous Ni-P coatings, Corrosion resistance, porosity, cathode and anode polarization curves.

ВЪВЕДЕНИЕ

Сплавта Ni-P е една от аморфните никелови сплави намерили приложение при замяната на хромовите покрития и то предимно в случаи, които изискват работа при високи температури. Тези сплавни покрития могат да се нанасят и като самостоятелни, защитно-декоративни покрития или като бариерен слой преди позлатяване на медни подложки. Заради тяхната химическа устойчивост в основи и органични киселини, този вид никелови покрития се използват все повече в различни стратегически области на машиностроенето и приборостроенето. Може да се предположи, че приложението им в бъдеще ще се разширява, като се има в предвид факта, че 6-10% са загубите на брутосоциалния продукт на различните държави в резултат на корозията [1].

Целта на настоящето изследване е да се изучи влиянието на режима на отлагане, катодната плътност, природата на подложката, времетраенето и температурата на термообработка върху корозионната устойчивост и защитните свойства на аморфни Ni-P покрития, електролизно отложени от оригинален, кисел електролит.

УСЛОВИЯ НА ЕКСПЕРИМЕНТА

Киселите електролити за електрохимично отлагане на Ni-P покрития са предпочитани пред алкалните, поради тяхната висока скорост на отлагане, несложен състав, по-ниска концентрация на комплексообразувателя и стабилност при работа и престой. Самите покрития са ситнокристални, с намалена пористост, повишена корозионна устойчивост, а съдържанието на фосфор в тях може да достигне до 15%.

В настоящето изследване е използван електролит, съдържащ в гр/л никелов сулфат /280 – 300/, натриев хлорид /15 – 20/, борна киселина /20 – 30/ натриев хипофосфит /20 – 30/. Работното рН се движи в граници 2÷2,2.

Освен това в състава му е включена оригинална, комбинирана добавка от органична киселина и хлорамин Т в съотношение 1:1.

Отлагането се извършва в два режима - постояннотоков и импулсен.

За поддържане на постоянна концентрация на Ni^{2+} бяха използвани депасивирани никелови аноди, които се разтварят активно даже при високи плътности на тока достигащи до 80A/m².

При работа с разтворими никелови аноди и съотношение на анодната и катодна повърхност 2:1, е необходимо периодично прибавяне на редуктор /натриев хипофосфит/, като се отчита опитно установеният факт, че на всеки Ah/l протекло количество електричество, неговата концентрация намалява с 1g/l.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

В литературата съществуват сведения за използването на Ni-P покрития, освен като функционални и като защитно-декоративни покрития. Разграничаването на тези две важни техни приложения се налага от обстоятелството, че спрямо стоманена основа те се явяват като ден тип покритие и решаващо значение за неговите защитни свойства има пористостта им. Ако подложката е медна, тогава Ni-P покрития спрямо нея са аноден тип и в този случай защитните им свойства имат електрохимичен механизъм и се свързват с тяхната корозионна устойчивост.

В настоящето изследване за оценка на пористостта бе приложен бърз електрохимичен метод, при който галванизиращият стоманен образец се подлага за кратко време на външна анодна поляризация при постоянен аноден потенциал E_a , по-положителен от корозионния E_c на галванизиращия образец и по-отрицателен от този на Ni-P покритие, който е измерен предварително. Автоматично регистрираният ток е мярка за интегралната пористост F , която количествено се изчислява от зависимостта:

$$F = \frac{I_1}{I_2} 100, \%$$

където:

I_1 – токът регистриран при анодна поляризация на галванизиран образец с определена геометрична повърхност;

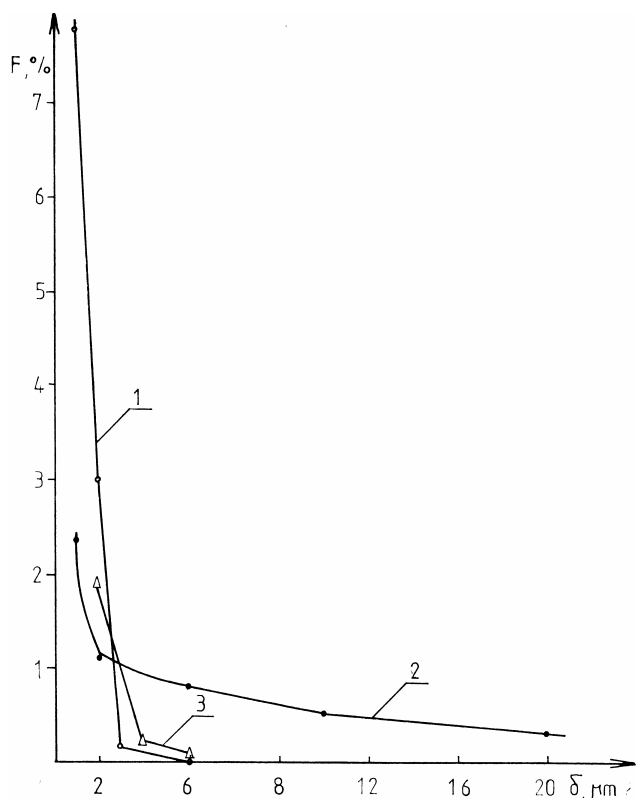
I_2 – токът регистриран при анодна поляризация на подложка със същата геометрична повърхност;

За да се изследва влиянието на режима на електролиза и плътността на тока върху корозионната устойчивост, бяха отложени Ni-P покрития с дебелина 20μ при различни катодни плътности на постоянен и импулсен ток. Характерно за покритията е различното съдържание на фосфор включено в тях. Предварителни изследвания [2] показват, че при импулсното галванизиране, ако плътността на катодния ток се увеличи от 2 A/dm² на 6 A/dm², съдържанието на фосфор в покритията намалява от 9,5% на 6%. Известно е, че при аморфните покрития количеството на фосфора трябва да е над 7-8%. Изследваният електролит дава възможност за получаване на такива покрития, дори при ниски плътности на тока – до 2 A/dm².

Увеличаването на дебелината на покритията и подлагането им на термообработка за време 1 час при 400°C намалява пористостта и увеличава

корозионната устойчивост на аморфните Ni-P слоеве – фиг.1. Предполага се, че намаляването на пористостта след термообработката се дължи на локална ликвация на фосфора по повърхността. Малко вероятно е положителният ефект в следствие на термообработката да е резултат от образуване на NiO, който механично да затвори порите, защото е известно, че никелът забележимо се окислява над посочената температура.

От фиг.1 следва, че за отлагане на тънки, безпорести покрития е подходяща катодна плътност от 2 A/dm². При нея могат да се формират аморфни слоеве, които самостоятелно да изпълняват защитно-декоративни функции върху подложки от стомана.



Фигура 1. Зависимост на интегралната пористост от дебелината при постоянно токово отлагане: 1-2A/dm²; 2- 6A/dm²; 3- с термообработка при 400°C.

Чрез използване на традиционните електрохимични методики са снети поляризационни зависимости и при двата режима на отлагане. След обработка на кривите съответните данни са представени в табл.1 и табл.2:

Таблица 1. Стойности на корозионния потенциал E_c и корозионния ток i_c за различни катодни плътности при постоянно-токово отлагане.

i_k	i_c	$-E_c$
$A.dm^{-2}$	$A.dm^{-2}$	mV
1	$5,13.10^{-4}$	0
2	$1,32.10^{-3}$	75
4	$8,91.10^{-3}$	100
6	$5,13.10^{-2}$	290

Таблица 2. Стойности на корозионния потенциал E_c и корозионния ток i_c за различни катодни плътности при импулсен режим на отлагане.

i_k	i_c	$-E_c$
$A.dm^{-2}$	$A.dm^{-2}$	mV
1	$1,23.10^{-3}$	20
2	$7,80.10^{-3}$	90
3	$3,40.10^{-2}$	300
4	$3,47.10^{-2}$	310

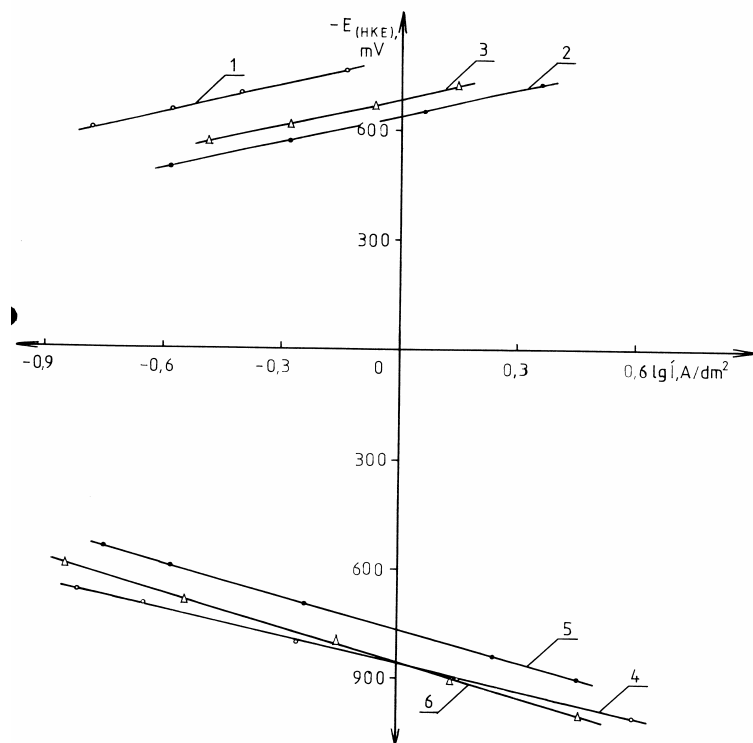
Илюстрираните данни показват, че с нарастване на катодната плътност на тока, т.е. с намаляване на процентното съдържание на фосфора, се увеличава скоростта на корозия и при двата режима на отлагане. Покритието получено чрез електролиза с постоянен ток показва по-добра корозионна устойчивост и това вероятно се дължи на слоестата структура, която се изразява в редуващи се напречни светли и тъмни ивици, които отговарят съответно на област с постоянен и с променлив състав на фосфора. Това явление не се наблюдава при използване на импулсна техника [3, 4].

За да се проследи влиянието на термообработката върху корозионната устойчивост на аморфни Ni-P покрития, върху медни подложки при плътност $2 A/dm^2$ са отлагани покрития, които след това са подлагани на термообработка с различна продължителност при $400^\circ C$. Снетата поляризационна зависимост е показана на фиг.2, а обработените данни от нея са илюстрирани в табл.3:

Таблица 3. Стойности на корозионната плътност на тока i_c и на корозионния потенциал E_c за термообработени и нетермообработени покрития.

Вид на покритието	Време на термообработка	i_c	$-E_c$
		$A.dm^{-2}$	mV
Без термообработка	-	$1,32.10^{-3}$	75
С термообработка	0,5 h	$5,25.10^{-4}$	120
С термообработка	1 h	$2,75.10^{-3}$	120
С термообработка	2 h	$1,86.10^{-3}$	130

Резултатите показват, че дори и непродължителната термообработка – 0,5 часа, подобрява корозионната устойчивост, като намалява пористостта на покритията около 2,5 пъти. Същевременно се регистрира изменение на корозионният потенциал в отрицателна посока с около 50 mV т.е. от -75 mV до -130 mV.



Фигура 2. Катодни /1,2,3/ и анодни /4,5,6/ поляризационни зависимости снети върху галванизирани медни образци. Плътност на тока $i_c = 2 \text{ A/dm}^2$, време на термообработка при 400°C съответно: 1, 4-0,5 час; 2,5-1 час; 3,6-2 часа

При съпоставяне на катодните и анодните поляризационни зависимости снети от термо и нетермообработени покрития може да се види, че след термообработка при еднакви работни потенциали E_r анодни и катодни (± 650 mV), анодната плътност на разтваряне намалява около 8 пъти, а катодната около 10 пъти, от което следва че регистрираното намаляване на корозионната плътност на тока i_c се дължи на нарастване на анодните и катодни поляризации, като по-чувствително се затруднява катодния процес свързан с отделяне на водород. При интерпретиране на тези факти трябва да се отчитат различни процеси, които са налице след термообработка, а именно:

1. Промяна на структурата и фазовият състав. Възникване на нова фаза Ni_3P интерметално съединение. Предполага се, че върху него свръхнапрежението на отделяне на H_2 е по-високо в сравнение с това върху изходния твърд разтвор на Ni и P, който има преимуществена аморфна структура.
2. Изменението на корозионният потенциал E_c в отрицателна посока най-вероятно се дължи на две обстоятелства – частично сублимиране на фосфора от покритието и дифузията му към подложката.

Регистрираната по-висока анодна поляризация се дължи на различните електрохимични отнасяния на новопоявилото се съединение. Те са свързани с промяна на първоначалната структура и на съдържанието на фосфор.

Ако температурата на термообработка се повиши на 800°C , тогава в хода на поляризационната крива настъпват скокообразни изменения и е невъзможно конкретно определяне на корозионната плътност на тока, чрез екстраполация на

тафеловите участъци от кривите. Измерените корозионни потенциали са положителни с около 200 mV в сравнение с тези при 400°C и се менят от -200 mV до +50 mV. Това дава основание да се предполага, че при такъв режим на термообработка се формира окисен филм със значителна дебелина, върху който свръхнапрежението на отделяне на водород нараства още повече.

Експерименталните резултати за влиянието на температурата при едно и също време на термообработка и еднакво изходно съдържание на фосфор в покритията показват, че нискотемпературната термообработка при 200°C не променя корозионната устойчивост. При този температурен режим не настъпват промени в структурата и фазовия състав, не се променя изходната микротвърдост, не е възможно образуването на окисен филм върху повърхността, сублимиране на фосфора или взаимна дифузия. С повишаване на температурата от 200°C на 400°C се увеличава корозионната плътност на тока и корозионният потенциал се измества в отрицателна посока. Това се дължи на новата Ni_3P и намаляване на количеството на фосфора в следствие на сублимация и дифузия в подложката [5]. Наред с това при висока температура 600°C, допълнително се наслагват два паралелни процеса – образуване на окисен филм върху повърхността и засилена дифузия между подложката и покритието. Когато дифундиралият фосфор достигне до медната подложка допълнително се образува още една нова фаза от меден фосфид. Всички тези процеси затрудняват интерпретирането на хода на анодните поляризационни зависимости и прави невъзможно еднозначното определяне на корозионната плътност на тока. Категорично може да се направи извода, че с увеличаване на температурата на термообработка чувствително нараства свръхнапрежението на отделящият се водород.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

От изследвания оригинален, кисел електролит могат да се отлагат аморфни Ni-P покрития. След термообработка те повишават корозионната си устойчивост, тъй като тяхната пористост намалява, заради частична ликвация на фосфора и образуването на нова фаза Ni_3P при 400°C.

Установено е, че при катодни плътности над 2 A/dm² съдържанието на фосфор в покритията намалява, което увеличава скоростта на корозионното им разтваряне. При тази плътност и с постоянен ток се отлагат покрития със слоеста структура, които се характеризират с по-добра корозионна устойчивост в сравнение с тези отложени с импулсен ток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jelinek T.W., Galvanotechnik, № 1, 42-47, 2005.
2. Gadjov I., R. Mantcheva, K. Kanchev, Univ., Plovdiv, SCIENTIFIC PAPERS, Vol. 33, Book 5, 2005 – CHEMISTRY, p.75-80.
3. Hasegawa Kazuhiro, Takada Hideo, J.Surface Finish Soc. Jap., 1989.
4. Nee C.C., R. Weil, Surface Technology, Vol.25, Issue 1, May 1985, Pages 7-15.
5. Marshall G.W., D. B. Lewis, B.E.Dodds, Surface and Coating Technology, Vol. 53, Issue 3, 10 November 1992, Pages 223-230.

ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR OF LEAD-TITANIUM COMPOSITE ANODES DURING ZINC ELECTROWINNING

Y. Stefanov¹, I. Valchanova², S. Magaeva², T. Dobrev¹

¹ Rostislav Kaischew Institute of Physical Chemistry, Bulgarian Academy of Sciences, Acad. G. Bonchev Str., bl. 11, 1113 Sofia, Bulgaria

² University of Plovdiv „Paisii Hilendarski“, str. „Tsar Assen“ 24, Plovdiv, Bulgaria

ABSTRACT

A new anodic material for zinc electrowinning from sulphate electrolytes has been developed. This is a lead-titanium alloy coated lead composite electrode containing titanium nanoparticles. The behaviour of the lead-titanium anodes during the zinc electrowinning has been studied by means of galvanostatic polarisation investigations and cyclic voltammetry. The surface morphology of the composite lead-titanium electrodes was investigated by scanning electron microscopy.

Keywords: composite electrodes, zinc electrowinning, titanium, anodic polarization

INTRODUCTION

One of the most essential problems of the electrowinning of zinc from sulphate electrolytes is that of the insoluble anodes. The demands and requirements for purity and quality of the anode product are closely related to the creation of new anodic materials, possessing increased resistance in combination with other technological and electrochemical properties. This problem is being approached by trying to improve the electrocatalytic properties, attain a high corrosion resistance and improve the physicochemical properties of the anodes. Research efforts have been directed towards substitution of the classical lead-silver anodes with other, less expensive anodic materials with improved parameters.

The literature describes numerous double, triple and even quadruple lead-based alloys as insoluble anodes but unfortunately very few of them have proved to be useful for any industrial application. These are first and foremost the alloys of lead with Sb, Ca, Ag, As, Cu, Te and Co[1]. With the exception of Ag and Co, which show certain electrocatalytic effects with respect to the reaction of oxygen evolution,

the rest of the listed alloy elements affect primarily the structure of Pb. Such an element is Ti. Regrettably the literature contains little data concerning its effect on anode behaviour.

Concerning the Pb-Ti alloys, the presence of the phase Ti_4Pb has been found [2] and it has been presumed that the formation of Ti_2Pb is possible. Obtaining such alloys is associated with certain difficulties and it has therefore become necessary to use some special methods of making alloys: fusing like arc welding through ultrasound and by means of scorching of composites. Including 1% Ti into Pb increases its anode resistance by 25-30%. At the same time the metallic-ceramic composition of the powders of Pb and Ti particles provide faster metal recovery than uncoated Pb. Addition of titanium salts to the solution does not affect the resistance of the Pb anode. It can therefore be assumed that Ti and its compounds do not take part in the process of oxygen evolution. That is why the increase of the resistance of the Pb-Ti anode as a function of structural factors must be considered.

It has been found [3] that lead-silver anodes, alloyed with other metals (such as Ti), besides other qualities, exhibit high corrosion resistance. On their industrial application, the warranty of the insoluble anodes increases and the consumption of silver decreases by 50%. These properties are determined by the concentration of the alloyed additives, which makes it possible to correct the technological characteristics of the anodic alloys during the electrolytic treatment of the zinc containing effluent.

The performance of titanium anodes coated with oxides of Ir-Co or Ir-Ti has been compared using long term polarization techniques under simulated electro-winning conditions [4]. Possible reasons for anode failure were explained using SEM and XRD data. Potentiodynamic studies in 2M H_2SO_4 indicated that a reduction of approximately 450 mV in the anodic potential can be achieved with Ti/(Ir-Co), compared to lead. This anode is also suitable in chloride contaminated sulphate electrolytes. The anodic potential measurements in different electrowinning electrolytes indicate that a potential saving up to 370–420 mV can be achieved. It is interesting to note that a mixed electrolyte, containing sulphate and chloride, behaves similarly to a pure chloride electrolyte with respect to the anodic potential.

This paper describes a new lead-titanium alloy coated lead-calcium composite anode for zinc electrowinning from sulphate electrolytes. Titanium is under the form of TiO_2 . The behaviour of these lead-titanium alloy composite anodes has been studied by galvanostatic polarization investigations.

EXPERIMENTAL DETAILS

Conditions for the preparation of the composite coatings

The new anodic materials are lead-titanium composite coatings, which are electrodeposited onto lead-calcium (Pb-0.08Ca) 20x20 mm plates. Their pre-processing included ultrasound degreasing in technical grade ethanol and electrochemical degreasing in a $\text{NaOH} + \text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ solution, followed by chemical etching in HBF_4 . The composite coatings were electrodeposited in a lead

ammonium sulphamate electrolyte (LASE) that contained: 150 g dm⁻³ Pb(SO₃NH₂)₂, 100 g dm⁻³ NH₄SO₃NH₂, and 50 g dm⁻³ free HSO₃NH₂. The LASE contained also 0.2 g dm⁻³ glue, as well as TiO₂ nanoparticles at a concentration of 5 g dm⁻³. The electrodeposition was carried out at a constant temperature $T=25\pm1^{\circ}\text{C}$, pH value of the electrolyte 1.3, volume 200 ml, cathodic current density $i_c=1\text{ A dm}^{-2}$, magnetic stirring ($w=600\text{ min}^{-1}$). The average thickness of the Pb-TiO₂ (lead-titanium) composite coatings was 60 μm. The counter electrodes were lead plates (99.97%) with a thickness of 5 mm.

Experimental methods

Full experimental details are supplied elsewhere [5-9]. Microprobe X-ray analysis was carried out using a JEOL 733 microscope. Galvanostatic polarization studies and cyclic voltammetry investigations were carried out using a galvanostat of type HTP30; 5 (Bulgaria) and a potentiostat of type ELPAN (Poland).

RESULTS AND DISCUSSION

Galvanostatic polarization investigations

Galvanostatic polarization investigations were employed to determine the anodic potential as a function of the time during the electrowinning of zinc from sulphate electrolytes. The anodes were Pb-Ti alloy coated lead-calcium with an effective area of 2 cm². The cathodes were two aluminium plates with total working area equal to that of the anode. The reference electrode was mercurous sulphate (SSE) with a potential $E_{\text{SSE}}=+0.610\text{ V (NHE)}$. A model electrolyte was used, containing 55 g dm⁻³ Zn²⁺ (as ZnSO₄·7H₂O), 180 g dm⁻³ H₂SO₄ and 5 g dm⁻³ Mn²⁺ (as MnSO₄·H₂O). During the electrowinning of zinc the temperature was kept constant at $37\pm1^{\circ}\text{C}$. The alteration of the anodic potential as a function of deposition time of the Pb-Ti composite coatings is presented in Fig. 1. The anodes Pb-Ti-1.13% (curve 2) and Pb-Ti-0.46% (curve 3) show similar values of potential. The electrode containing a lower level of Ti again shows a more negative potential. As observed previously, the composite coatings exhibit a more positive potential than Pb-Ag-1%. After continuous polarization in the galvanostatic regime, the anodic films change; they become dark in colour, exhibit volume changes, become loose and easily crumble at the surface of the anode. Initially the electrolyte has a pink coloration but later becomes muddy brown due to the MnO₂ slime that is deposited on the walls and bottom of the cell. It is supposed that the depolarising effect on continued polarization is due to the larger active anodic area.

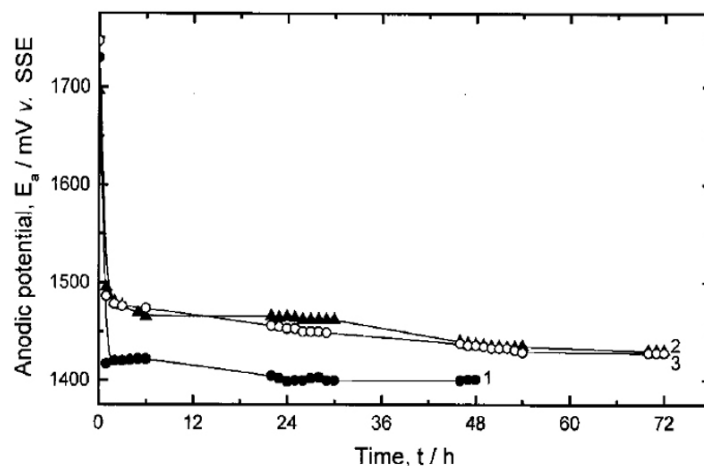


Figure 1. Dependence of the anodic potential on the time.
1–Pb-Ag-1%; 2–Pb-Ti-1.13; 3–Pb-Ti-0.46%.

Cyclic voltammetry (CVA) investigations

The anodes used in the cyclic voltammetry investigations were those with a lower anodic potential. The electrode area was 1 cm^2 and the cathode, an aluminium plate of the same area. The reference electrode and the electrolyte were as described above. The experiments were carried out at room temperature. The potential was first scanned from -1.4 to 1.9 V at a sweep rate of 10 mV s^{-1} . The electrode was then polarized over 24 h at a current density of 5 A dm^{-2} . After the polarization, the cyclic voltammogram (CVA) was obtained. This was repeated once more. The CVAs of the Pb-Ti-0.46% electrode are shown in Fig. 2.

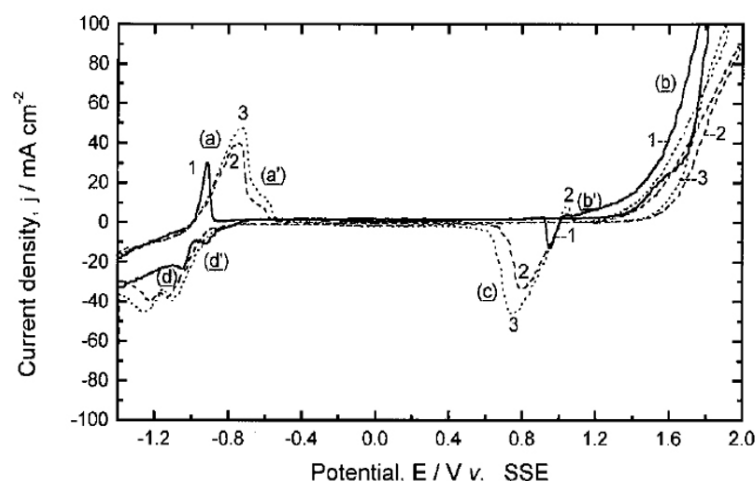


Figure 2. Cyclic voltammetry for a composite electrode Pb-Ti - 0.46%; Sweep rate= 10 mV s^{-1} . 1–0h anodic polarization; 2 – 24h anodic polarization; 3 – 48h anodic polarization.

All curves (curve 1 – 0 h polarization, curve 2 – 24 h polarization and curve 3 – 48 h polarization) exhibit four base peaks and one additional peak [10-12] determined by the following processes:

peak (**a**): $\text{Pb} \rightarrow \text{PbSO}_4$

peak (**b**): $\text{PbSO}_4 \rightarrow \text{PbO}_2$ and evolution of O_2

peak (**c**): $\text{PbO}_2 \rightarrow \text{PbSO}_4$

peak (**d**): $\text{PbSO}_4 \rightarrow \text{Pb}$

peak (**d'**): $\text{PbO} \rightarrow \text{Pb}$

Shifting of the lead sulphate peak **a** after polarization of the electrode (curves 2 and 3) in the direction of the passive zone is much more evident. A new anodic peak **a'** appears in curves 2 and 3 as a result of lead oxysulphate ($\text{PbO} \cdot \text{PbSO}_4$) formation [13]. Within the region of the second anodic peak, **b**, the curves are abruptly shifted in the positive direction after polarization of the electrode. In this case, the roughness of the surface as a result of the formation of loose PbO_2 layers is smaller. After 48 h polarization (curve 3), an opposite hysteresis of the CV is observed. The peak **b'**, caused by the oxidation of Pb to PbSO_4 through the PbO_2 pores appears only after 24 h polarization (curve 2). The reduction peaks **c** show a characteristic shifting in negative direction, corresponding to the shift of the anodic peak **b**. As expected, during polarization, the area of the reduction peaks **d** and **d'** increases and these peaks are shifted in the negative direction.

Electron microscopy investigations

Scanning electron micrographs (SEMs) of the lead-titanium composite coatings in Figs. 3 and 4 reflect the surface morphology of the coatings prior to the electrochemical investigations. The SEMs show that the crystal grains change from the pyramidal type to a more rounded and disordered structure. As mentioned in the galvanostatic polarization investigations, the electrodes with a Ti content of about 0.5 wt% were characterized with the lowest anodic potential of all the lead-titanium alloy coatings investigated. The surface morphology of the electrode Pb-Ti-0.46% after 72 h is shown in Fig. 4. Crystals of PbO_2 and prismatic crystals of PbSO_4 , as well as presence of Mn (the darks zone of the micrograph) under the form of the MnO_2 or Mn_3O_4 are observed.



Figure 3. Microstructure of composite electrode Pb-Ti-0.55%. Magnification x2000.

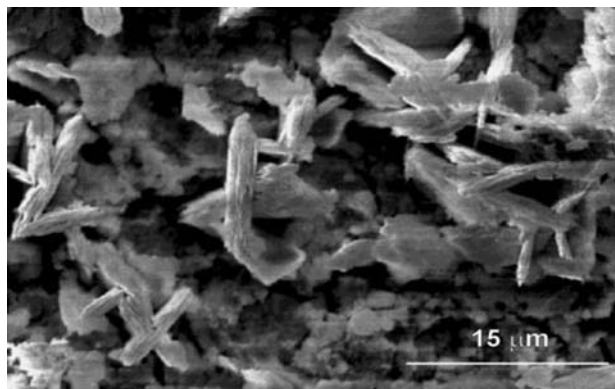


Figure 4. Microstructure of composite electrode Pb-Ti-0.46% after 72h electrowinning. Magnification x2000.

CONCLUSIONS

Composite Pb-Ti electrodes using TiO_2 nanoparticles have been obtained. It has been established that the optimal content of Ti in the composite coatings is about 0.5 wt%. It has been established that the anodic potentials of the investigated lead-titanium composite electrodes are similar but about 15mV higher than those of the classic lead-silver alloy Pb-Ag-1.0%. It has been shown by potentiodynamic cyclic voltammetry that the curves of the lead-titanium composite electrodes possessed the same characteristic anodic and cathodic peaks as those for a pure lead electrode. By electron microscopy investigations of the lead-titanium composite electrodes, orderly well formed pyramidal type crystal grains were shown. After the electrowinning process, the surface morphology of the lead-titanium composite electrodes displayed needle-type crystals of PbO_2 and prismatic crystals of PbSO_4 , as well as the presence of Mn as MnO_2 or Mn_3O_4 .

REFERENCES

1. O. Forsen, J. Kukkonen, J. Aromaa and S. Ylasaary: European Seminar: Improved Technologies for the Rational Use of Energy in the Non-Ferrous Industry in Europe. Milan, Italy, Pros., 125, 1992.
2. D. Yu. Dunaev: Insoluble anodes of lead base alloys, 71; 1978, Alma Ata, 'Nauka' (in Russian).
3. V. F. Kozin, I. A. Sheka and N. A. Pilipchuk: J. Appl. Electrochem., 1977, 9, (50), 2016 (in Russian).
4. S. Kulandaisamy, J. Prabhakar, S. C. Chockalingam, S. Visvanathan, K.V.Venkateswaran, P. Ramachanandran and V. Nandakumar: J. Appl. Electrochem., 1997, 27, 579.
5. Y. Stefanov, I. Ivanov and St. Raschkov: Hydrometallurgy, 1997, 44, 71.
6. Y. Stefanov, I. Ivanov and St. Raschkov: Comm. of the Dep. of Chem. (Bulg), 1996, 29 (2), 302.

7. St. Rashkov, Y. Stefanov, Z. Noncheva, M. Petrova, Ts. Dobrev, N. Kounchev, D. Petrov, St. Vlaev, V. Michnev, S. Zarev, L. Georgieva and D. Buttinelli: Hydrometallurgy, 1996, 40, 314.
8. C. Caset, R. Wiart, I. Ivanov, Y. Stefanov and St. Rashkov: J. Appl. Electrochem., 1994, 24, 713.
9. I. Ivanov, Y. Stefanov and St. Raschkov: Comm. of the Dep. of Chem. (Bulg), 1995, 28, (3/4), 600.
10. Y. Yamamoto, K. Fumino, T. Ueda and M. Nambu: Electrochim. Acta, 1992, 37, (2), 199.
11. Ts. Mutaftchiev: Prilozna electrochimia, 1964, Sofia, Technica (in Bulgarian).
12. D. Pavlov: Dr.Sci.Thesis. Mechanism of the Processes during the Oxidation of the Lead Electrode in Sulphuric Acid, Sofia, 1984 (in Bulgarian).
13. T. F.Sharpe: J. Electrochem. Soc., 1975, 122, 845.

ИЗСЛЕДВАНЕ ПРИГОДНОСТТА ЗА СУШЕНЕ НА СОРТОВЕ КАРТОФИ

Т. Петрова¹, Н. Пенев²

*¹ Регионален център за научно-приложно обслужване,
4003 Пловдив, бул. „Васил Априлов“ №154*

*² Университет по хранителни технологии,
4002 Пловдив, бул. „Марица“ №26*

ABSTRACT

In the present research work it has been studied the technological suitability of different potato cultivars for drying.

The content of moisture in studied potato cultivars Sante, Nadezhda, Condor, Navan and Rouzhen is 76.43; 73.90; 73.88; 74.84 and 75.87%, respectively.

It has been investigated the drying kinetics. It has been drawn the diagrams of drying process $U = f(\tau)$ and the diagrams of drying velocity $dU/d\tau = f(U)$.

The results from the sensory evaluation indicate that the dried potatoes produced from the Condor cultivar are the best accepted by the consumers.

Keywords: potatoes, cultivars, drying.

ВЪВЕДЕНИЕ

Картофите са една от най-широко разпространените и използвани зеленчукови култури в света. Те имат редица ценни качества и разнообразна употреба.

В последните години в България са провеждани проучвания върху някои химико-технологични, органолептични, морфологични и стопански качества на селекционни линии и сортове картофи за индустриална преработка (Начева и Певичарова, 2003а, 2003b; Pevicharova and Nacheva, 2004).

Сушените картофи са един от основните асортименти сушени продукти. Произвеждат се сушени картофи на кръгчета, на ивици и на кубчета.

Целта на настоящата работа е да се изследва пригодността на различни сортове картофи за сушене.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Материали. Използвани са картофи сортове Санте, Надежда, Кондор, Наван и Рожен със сухо вещество съответно 23,57; 26,10; 26,12; 25,16 и 24,13% (определено тегловно по БДС 17257-91). В табл. 1 е представена морфологична и стопанска характеристика на изследваните сортове картофи.

Картофите се почистват от кожицата, измиват се и се нарязват на кубчета с размери 10x10x10 mm и потапят в 1 %^{-ов} разтвор на натриев метаби сулфит за 10 min, след което се бланшират при температура 95 °C за 3 min. Бланшираните кубчета след измиване в студена вода и отцеждане се поставят на леса и се сушат в лабораторна камерна сушилна до равновесна влажност.

Дегустационната оценка е направена по ранговия метод от пет членна дегустационна комисия [1].

Таблица 1. Морфологична и стопанска характеристика на сортове картофи

Сорт	Среден брой клубени в 1 гнездо	Тегло на 1 стандартен клубен	Средно тегло на клубените от едно гнездо (kg)	Форма на клубените (индекс)	Дълбочина на очите (бал)	Добив (kg/dka)
Санте	9.3 c	71.8 b	0.627 b	122.6 b	8.3 a	3344 b
Надежда	10.9 b	82.0 a	0.812 a	148.3 a	8.2 a	4330 a
Рожен	12.4 a	84.3 a	0.896 a	152.3 a	7.6 ab	4778 a
Кондор	10.1 bc	64.8 b	0.463 c	159.4 a	6.9 b	2469 c
Наван	9.8 bc	68.5 b	0.548 bc	118.5 b	8.5 a	2922 bc

a, b, c, Duncan Multiple Range Test

Изследване кинетиката на процеса сушене. На база на експериментални данни са построени кривите на процеса сушене

$$U = f(\tau), \quad (1)$$

след което от тях чрез графично диференциране се извеждат кривите на скоростта на сушене

$$dU / d\tau = f(U), \quad (2)$$

където: U е влагосъдържанието, kg H₂O/kg сухо вещество; τ – време на сушене, min.

Скоростта на сушене в първия период се описва с уравнението:

$$-\frac{dU}{d\tau} = N = const., \quad (3)$$

от което след интегрирането му се определя продължителността на сушене в първия период:

$$\tau_1 = \frac{U_H - U_{KP}}{N}, \quad (4)$$

където: N – скорост на сушене през първия период, min^{-1} ; U_H , U_{KP} – съответно начално и критично влагосъдържание на продукта.

При апроксимация на кривата на сушене през втория период с права скоростта на сушене се описва с уравнението:

$$-\frac{dU}{d\tau} = K_c(U - U_p), \quad (5)$$

от което след интегрирането му се определя продължителността на сушене за втория период :

$$\tau_2 = \frac{1}{K_c} \ln \left(\frac{U_{kp} - U_p}{U_k - U_p} \right), \quad (6)$$

където: K_c – коефициент на сушене, min^{-1} ; U_p , U_k , U_{kp} – са съответно равновесно, крайно и приведено критично (пресечна точка на апроксимираната крива на сушене с линията на постоянна скорост) влагосъдържание на продукта.

Статистическата обработка е извършена по стандартни процедури [1].

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Най-голяма загуба на сухи вещества при бланширане е отчетена при сорт Санте (5,33%), следван от сортовете Рожен (5%), Наван (4,94%), Надежда (4,52%) и Кондор (3,88%).

В табл. 2 са показани скоростите на сушене (N , min^{-1}) през първи период и коефициентите на сушене (K , min^{-1}) през втори период за отделните сортове картофи.

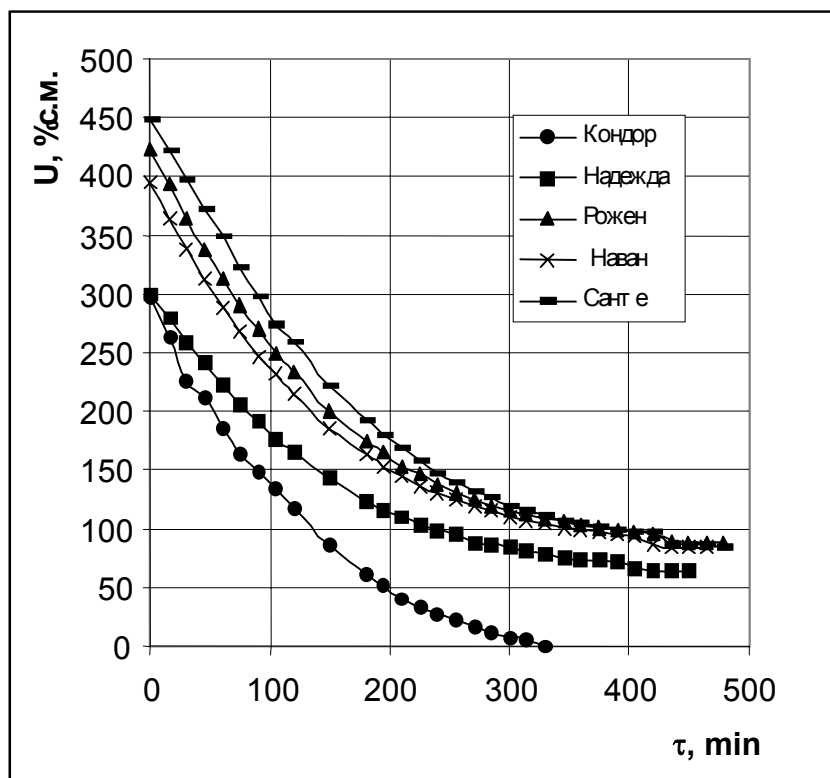
Данните показват, че получените стойности на кинетичните константи корелират много добре с опитните данни. Коефициентите на определение r^2 за изследваните регресии са много високи – над 0,98. Същото се отнася и при дисперсионния анализ за коефициента на Фишер F , който е със стойности от 311 до 65091. Те са далече от критичните им значения при съответните им степени на свобода при ниво на значимост $\alpha=0,05$. Стойностите на SEC са сравнително ниски, което говори за незначителни отклонения на опитните данни от описващия ги модел, т.е. за минимални стойности на дисперсията.

Таблица 2. Скорости (N , min^{-1}) и коефициенти (K , min^{-1}) на сушене на сортове картофи

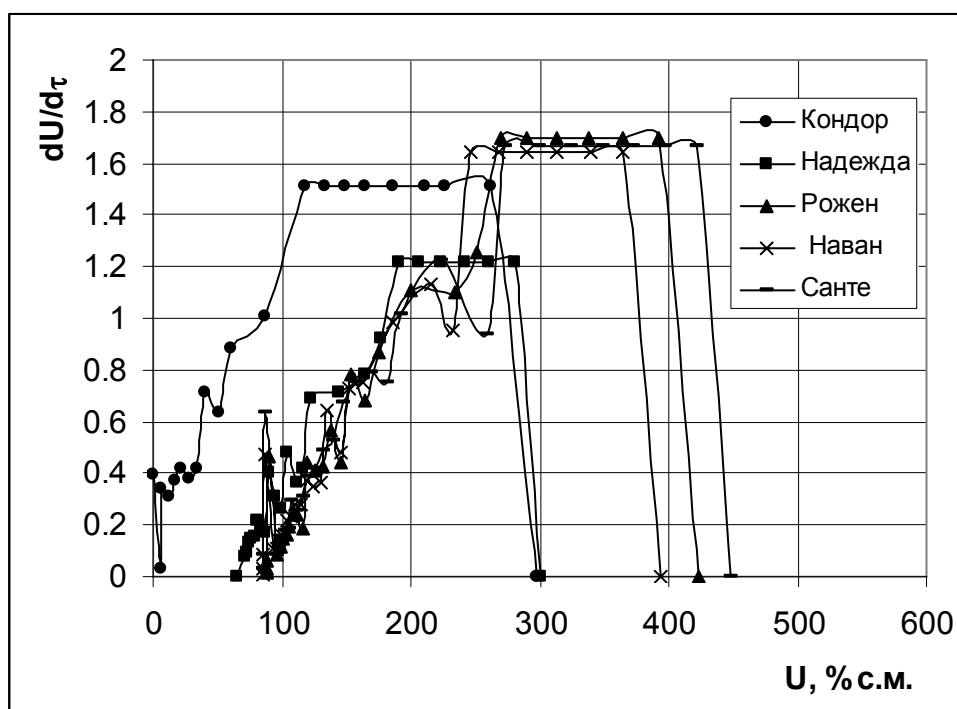
коефициенти	Сортове картофи				
	Кондор	Надежда	Рожен	Наван	Санте
N, min^{-1}	1.34	1.101	1.65	1.57	1.65
r^2	0.984	0.994	0.997	0.998	0.999
Error (SEC)	6.80	3.48	2.98	2.13	0.512
F_{stat}	368.87	946.74	1201.65	2135.25	65091.37
K, min^{-1}	0.00725	0.00363	0.0041	0.0041	0.0041
r^2	0.981	0.999	0.999	0.999	0.999
Error (SEC)	0.0435	0.00856	0.013	0.014	0.0127
F_{stat}	311.00	14387.42	17048.15	12496.72	14421.1

Най-голяма е скоростта на сушене през първи период при сортовете Санте и Рожен ($1,65 \text{ min}^{-1}$), следвани от сорт Наван ($1,57 \text{ min}^{-1}$), а най-ниска е при сорт Надежда ($1,101 \text{ min}^{-1}$). Коефициентът на сушене през втория период е най-висок при сорт Кондор ($0,00725 \text{ min}^{-1}$). При сортовете Рожен, Наван и Санте е един и същ ($0,0041 \text{ min}^{-1}$), а най-нисък е при сорт Надежда ($0,003636 \text{ min}^{-1}$).

На фиг. 1 са представени кривите на сушене $\tau = f(U)$ на сортове картофи, заснети по време на експеримента, а на фиг. 2 кривите на скоростта на сушене $U = f(dU/d\tau)$ на същите сортове.



Фигура 1. Криви на сушене на сортове картофи



Фигура 2. Криви на скоростта на сушене на сортове картофи

Периодът на постоянна скорост на сушене е от 90 (сортове Надежда и Наван) до 120 min (сорт Кондор), при което се отделят около 40% от общата влага за всички сортове картофи, с изключение на сорт Кондор, при който отделената влага е 60%.

Вторият период на сушене (период на намаляваща скорост на сушене) при повечето сортове картофи обхваща около 80% от общото време на сушене. Изключение прави също сорт Кондор, при който този период е около 65% от общата продължителност на процеса сушене.

При направената дегустационна оценка се установи, че най-добре се възприема сорт Кондор, следван от сортовете Наван, Рожен, Санте и Надежда.

ИЗВОДИ

Първи период на сушене е от 90 (сортове Надежда и Наван) до 120 min (сорт Кондор), при което се отделят около 40% от общата влага за всички сортове картофи, с изключение на сорт Кондор, при който отделената влага е 60%.

Вторият период на сушене при повечето сортове картофи обхваща около 80% от общото време на сушене. Изключение прави също сорт Кондор, при който този период е около 65% от общата продължителност на процеса сушене.

При направената дегустационна оценка се установи, че най-добре се възприема сорт Кондор, следван от сортовете Наван, Рожен, Санте и Надежда.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Дончев Д., М. Дилчева, В. Кинова – Практическо ръководство по статистика, Автоспектър, Пловдив, 2002, 144
2. Начева, Е., Г. Певичарова (2003 а): Оценка на качеството на селекционни линии картофи за индустриална преработка. Юбилейна научна конференция с международно участие “Хранителна наука, техника и технологии –2003” 50 години Университет по хранителни технологии. Научни трудове т.І, свитък 2, 306-311
3. Начева, Е., Г.Певичарова (2003 b): Влияние на условията на средата върху проявата на някои химико-технологични признаци в селекционен материал от картофи. Национална конференция “Селекция и семепроизводство на земеделските култури”. 18 юни 2003 г, София., 63-67
4. Pevicharova, G. and E. Nacheva (2004): Sansory analysis of early Bulgarian potato lines for processing. . Lucrari stiintifice. Anale. Institutul de Cercetare – Dezvoltare Pentru Cartof si Sfecla de Zahar Vol. XXXI. Proceedings of EAPR Agronomy Section Meeting. Mamaia, Romania, June 23 – 27th 2004 Brasov 2004, 66-74

ЛИПИДЕН СЪСТАВ НА СЕМЕНА ОТ БЪЛГАРСКИ СОРТОВЕ ТЮТЮНИ

М. Златанов, М. Ангелова, Е. Иванова
ПУ „П. Хилендарски“, 4000 Пловдив
кат. Химична технология, e-mail: magzlat@pu.acad.bg

ABSTRACT

The content and composition of lipids isolated from seeds of 14 Bulgarian tobacco species were investigated. 30.1 – 49.2% glyceride oil in the seed was founded to be. The content of biological active substances was studied – phospholipids (0.2 – 1.7%), sterols (0.3 – 0.8%) and tocopherols (2 – 195 mg/kg).

Keywords: tobacco seed oil, phospholipids, sterols, tocopherols

ВЪВЕДЕНИЕ

Тютюнът е една от основните технически селскостопански култури, които се отглеждат в България и служи като суровина за цигарената индустрия. Като страничен продукт при отглеждането и производството на тютюн отпадат семената, които съдържат значителни количества глицеридно масло, протеини, лигнин, въглехидрати и неорганични материали. Глицеридното масло от тютюна може да намери разнообразно приложение като суровина за получаване на хидрогенирани мазнини, за производство на биодизел, за получаване на мастила за принтери, като компонент за смазочни смеси с различен вискозитет, за получаване на багрила, сапуни и др. [5,6].

В България са създадени редица сортове тютюн с разнообразни ботанически и технологически характеристики – едролистен, тип “Вирджиния”, среднолистен, тип “Джебел” и дребнолистен, тип “Басма”.

Създадените сортове тютюн досега не са били изследвани по отношение съдържанието глицеридно масло в семената и техния състав. Глицеридното масло от различните сортове също не е било изследвано по отношение състава на биологичноактивните компоненти.

Цел на настоящата работа е да се изследва липидния състав на 14 сорта тютюн като се определи съдържанието на фосфолипидната, стероловата и токофероловата фракция, които представляват основните биологичноактивни

вещества на липидите и са критерий за тяхната хранителна стойност, с оглед търсене на приложение в различни отрасли на икономиката.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Семената на изследваните сортове тютюн са осигурени от Института по тютюна и тютюневите изделия, гр. Пловдив.

Глицеридното масло е извлечено от предварително изсушените и смлени тютюневи семена чрез екстракция с петролев етер в апарат на Соксле. След отстраняване на разтворителя на ротационен вакуум изпарител, съдържанието на масло в семената е определено тегловно [1]. Съдържанието на стероли е определено спектрофотометрично, след осапунване на маслото и следващо изолиране на стеролите от останалите неосапуняеми вещества чрез тънкослойна хроматография [7]. Фосфолипидите са определени също спектрофотометрично, след минерализация на маслото [2]. Токоферолите са изследвани с помощта на високоефективна течно-течна хроматография с флуоресцентна детекция [4].

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Данните от изследване съдържанието на масло в тютюневите семена са представени в Таблица 1.

Таблица 1. Съдържание на масло в тютюневите семена

Сорт	Масло в семената, %
Дребнолистни	
1. Еленски 817	38.6
2. Неврокоп 1146	38.2
3. Неврокоп 261	30.1
4. Крумовград 988	37.8
5. Пловдив 7	38.4
6. Джебел 81	41.3
7. Джебел 576	37.9
Едролистни	
8. Барлей 21	40.9
9. Барлей 1000	38.2
10. Барлей 1317	38.3
11. Вирджиния 330	40.9
12. Вирджиния 454	38.2
13. Вирджиния 514	38.2
14. Кокер 254	49.2

Получените данни показват, че изследваните семена са сравнително богати на глицеридно масло, като съдържанието им е от един порядък (30.1 – 49.2 %). По съдържание на масло тютюневите масла са близки до слънчогледовите и памучни семена, в които количеството на глицеридно масло е от порядъка на 42.0 – 45.0 % [3].

Съдържанието на фосфолипиди, стероли и токофероли в маслата е представено в Таблица 2.

Таблица 2. Съдържание на биологичноактивни вещества в маслото

Сорт	Фосфолипиди, %	Стероли, %	Токофероли, mg/kg
Дребнолистни			
1. Еленски 817	1.4	0.4	72
2. Неврокоп 1146	1.7	0.4	44
3. Неврокоп 261	1.0	0.3	52
4. Крумовград 988	1.2	0.4	63
5. Пловдив 7	1.1	0.4	52
6. Джебел 81	1.5	0.6	5
7. Джебел 576	1.4	0.8	37
Едролистни			
8. Барлей 21	1.0	0.8	2
9. Барлей 1000	1.4	0.6	2
10. Барлей 1317	1.5	0.6	10
11. Вирджиния 330	0.2	0.3	48
12. Вирджиния 454	0.4	0.5	195
13. Вирджиния 514	0.4	0.3	115
14. Кокер 254	0.3	0.3	43

Данните от изследванията показват съдържание на фосфолипиди в рамките на 0.2 – 1.7 %. Дребнолистните сортове се характеризират с по-високо съдържание на фосфолипиди, а от едролистните с по-високо съдържание са сортовете “Барлей”, където количеството им варира в рамките на 1.0 – 1.5 %. Тези количества са сходни с данните за други видове растителни масла – соево, слънчогледово, където то е в рамките на 0.8 – 2.0 % [3].

Количеството на стеролите във всички изследвани масла е от един порядък 0.3 – 0.8 % и е близко до стойностите на останалите растителни масла. При слънчогледовото масло е в границите 0.2 – 0.6 [3].

Съдържанието на токофероли е сравнително ниско – 2 – 195 mg/kg, в сравнение с другите растителни масла. Например при слънчогледовото масло е около 600 – 1000 mg/kg, а в соевото – до 1680 mg/kg [3].

Изследванията са проведени с финансовата поддръжка на Дирекция НПД при Пловдивски университет “П. Хилендарски”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабачев Н.И., Неделчева Л.Б., Методи за анализ в масло-сапунената промишленост, изд. "Техника", София, 1974.
2. Бешков М., Иванова Л., Определяне на фосфолипиди в липидни смеси, Научни трудове на ВИХВП, Пловдив, 20 (3), 231-234, 1972.
3. Попов А., Илинов П., Химия на липидите, Изд. Наука и изкуство, София, 1986.
4. Animal and vegetable fat and oils. Determination of tocopherols and tocotrienols contents – Method using HPLC, ISO 9936, 1997.
5. Eshetu B., *Nicotiana tabacum* L. seed oil, <http://ipp.boku.ac.at/pz/oilseeds/eshetu.html>
6. Frega N., Bocci F., Conte L.S., Testa F., Chemical composition of tobacco seeds (*Nicotiana tabacum* L.), JAOCS, 68 (1), 29-33, 1991.
7. Ivanov S., Bitcheva P., Konova B., Des phytosterols dans les huiles vegetales et les concentres steroliques, Rev. Fr. Corps Gras, 19 (3), 177-180, 1972.

ЗАДАЧИ ЗА УСТАНОВЯВАНЕ НА НАУЧНАТА ГРАМОТНОСТ НА УЧЕНИЦИТЕ ПО ХИМИЯ

М. Миневска, Й. Стефанова, П. Петрова
Пловдивски университет „Паисий Хилендарски“, ул. „Цар Асен”
24, Пловдив, България

ABSTRACT

This article presents examples of the appropriate items for an assessment of the scientific literacy in its accordance with OECD/PISA definition. This items require to use chemistry knowledge and the processes by which this knowledge is developed, to draw evidence – based conclusions in order to understand and to make decision about natural world.

The chemistry teachers can use this examples to make their choice and to construct like items.

Ключови думи: научна грамотност, научно-познавателни процеси, установяване на научна грамотност.

Глобализацията и модернизацията на съвременните общества създават нарастващо разнообразен и взаимосвързан свят. За да живеят и работят успешно в този свят, хората трябва да могат да преодоляват промените, породени от технологиите, да възприемат и разбират голям обем информация. В тази връзка, способностите, от които се нуждаят хората, за да постигнат своите цели, стават все по-комплексни. Потребността хората да мислят и да действат обмислено е централна за системата от способности. Основните компетентности и изисквания на съвременния живот относно необходимите личностни качества и познавателни умения на хората не могат да бъдат определяни чрез произволни решения, а чрез внимателно обсъждане на психосоциалните предпоставки както за успешното реализиране на отделния човек в живота, така и за доброто функциониране на обществото.

Към важните умения за живота на младите хора се отнасят извеждане на заключения на база на определени данни; критично отношение към доказателствени твърдения, направени от други; различаване на мнение от доказателствено формулирано твърдение и др.

При изграждане на тези умения и подобни на тях, науката играе особена роля, тъй като те се отличават с рационалност при проверка на идеи и теории, на доказателства за заобикалящия ни свят. Разбира се не се изключва творчеството и въображението, които имат водеща роля при задълбочаване и развитие на човешкото знание за света. С това се свързва съвременното разбиране за очакваните резултати от обучението по природните науки, в т.ч. по химия, като се акцентира върху значението на концепциите и обяснителните структури и методи на науката.

Оценяването на резултатите от обучението на учениците неизбежно се свързва със способността да прилагат знанията си за разбиране на реални ситуации, за разрешаване на проблеми, възникнали в техния живот. Това е в пряка връзка със съществуващото в литературата разбиране за същността на понятието **научна грамотност** (Scientific Literacy) [5], [6]. Тя се интерпретира като използване от учениците на изучени от тях природо-научни знания за разпознаване на онези реални проблеми, които могат да бъдат решени от тях, за извеждане на доказателствени заключения, за вземане на решения и изказване на мнения по въпроси, касаещи природата и промените ѝ в резултат на човешката дейност.

Това има непосредствено отношение към характера на учебното съдържание, към неговата насоченост, породена от възможностите за прилагането му за разрешаване на реални житейски проблеми.

Поради това въпросът за изискванията по отношение въпросите и задачите, чрез които се оценяват резултатите от обучението по природните науки, включително и по химия, е поставен основателно в концептуалната рамка на PISA [5].

В съответствие с изискванията към научната грамотност на учениците, разисквана в предишна наша работа [4], **ние насочваме вниманието си към подбора и съставянето на въпроси и задачи, подходящи за установяване на научната грамотност на учениците на база знанията им по химия.**

При подбора и съставянето на задачите за оценяване на научната грамотност на учениците се опираме на критериите на PISA, представени на схема 1.

Особеното при тази система от критерии е единството на знанията, познавателните процеси и реалните житейски ситуации.

В съответствие с целта на настоящата работа подложихме за анализ задачите, включени в учебници и учебно – помощна литература по химия за 9 клас [2, 3]. Анализът им извършихме по следните показатели:

- връзка на задачите с конкретни житейски ситуации;
- проява на критично отношение към изказани твърдения и становища;
- вземане на решения по актуални житейски проблеми.

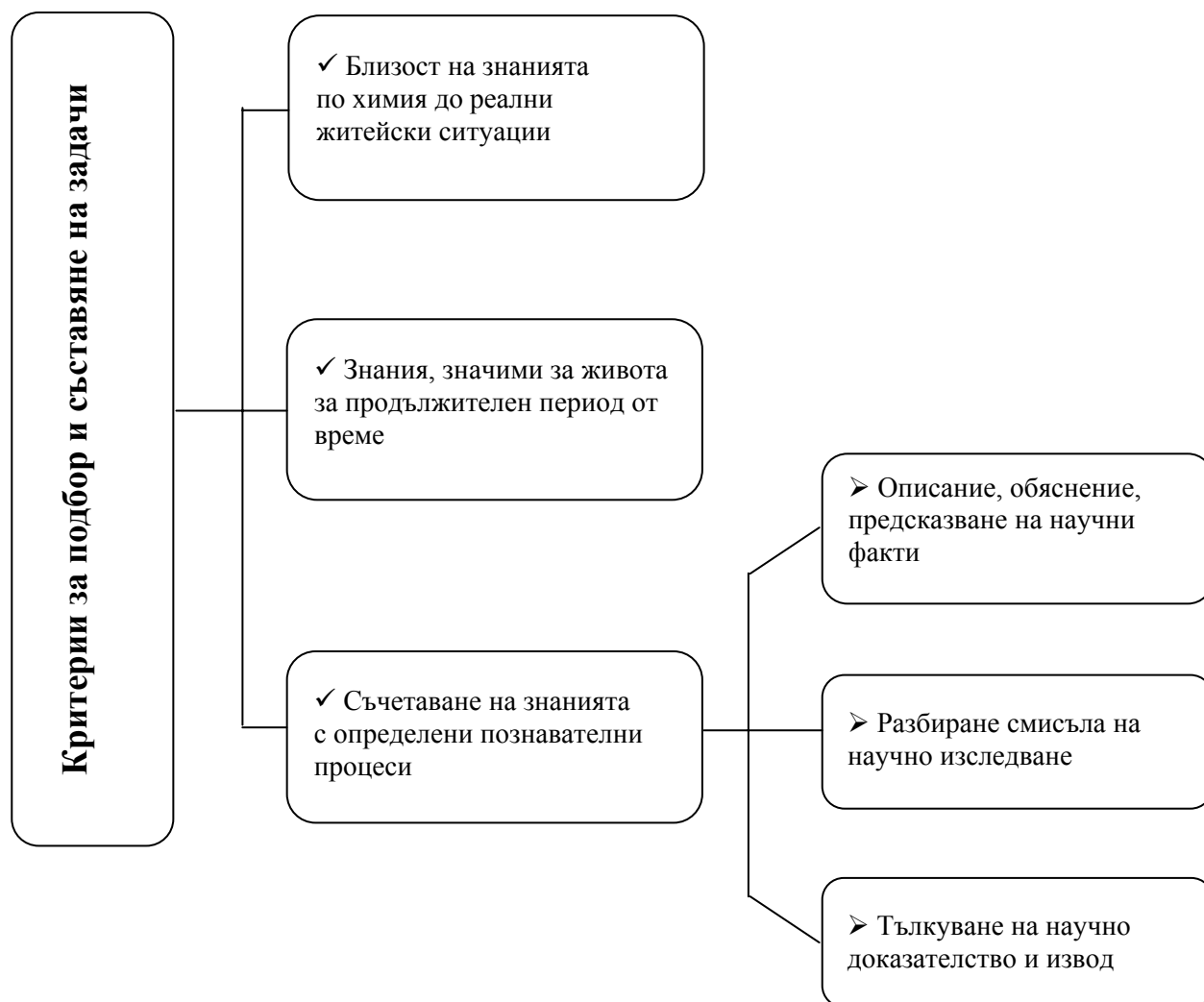


Схема 1.

От направения анализ достигаем до следното:

- По-голяма част от задачите, предложени в учебниците и учебно – помощната литература, изискват прилагане на конкретни фактологични и теоретични знания.
- Малка част от задачите насочват към търсене на обяснение на актуални житейски ситуации.
- Задачите, свързани с формулиране на въпроси, предполагат търсене на отговора в предложен текст, те не насочват към проява на критично отношение към изказаните в текста твърдения, към различаване на мнение от доказателствено формулирано твърдение.

Като имаме предвид направените констатации, а също така и съществената роля на изучаваните научни знания за разрешаване на житейски проблеми, считаме за необходимо да предложим варианти на задачи, подходящи за установяване на научната грамотност у учениците.

За обучението по химия от позициите на посочените критерии могат да се очертаят теми, съдържанието на които позволява да се направи преценка относно научната грамотност на учениците.

Подходящи за установяване на научната грамотност на учениците, според нас, са знанията за:

- Състав, строеж, свойства на веществата - неорганични и органични;
- Химични реакции - енергетични промени;
- Скорост на химичните реакции;
- Катализа и каталитични процеси;
- Химично равновесие;
- Сорбция;
- Дисперсни системи;

Важен елемент при установяване на научната грамотност на учениците, наред с посочените знания, е използването на умствени и практически действия, чрез които се придобива, интерпретира и прилага научно доказателство или факт. Като широко научни умствени и практически действия се определят тези за събиране и интерпретиране на доказателства от заобикалящия ни свят, за извеждане на научни заключения и др.

В съответствие с дефиницията за научна грамотност всяка задача изисква прилагането на действията, посочени в схема 1 и на определени природо-научни знания. Установяването на научната грамотност по определена тема се формира от няколко въпроса, свързани с първоначален текст, отразяващ в някаква степен комплексността на ситуации, близки до реалния живот.

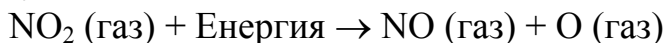
Следващите три задачи са свързани с текстове, описващи реални ситуации.

Задача 1.

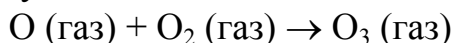
Смог

През 1953 г. Ери Дж. Хааген Смит публикува своята революционна статия “Химия и физика на смога в Лос Анджелис”, в която описва ролята на слънчевата светлина за образуването на смога и предлага термина “*фотохимичен смог*”.

Фотохимичният смог се образува в резултат на непълното изгаряне на бензина в двигателите на автомобилите, при което се отделят оксиди на азота, въглероден оксид, въглероден диоксид и въглеводороди. Цикълът на фотохимичния смог започва с разцепването на NO_2 /азотен диоксид/ до образуването на NO /азотен оксид/ и атомен кислород.



Отделеният атомен кислород реагира с молекула кислород от въздуха и образува озон.



Образуваният се озон е силен окислител. Концентрацията на озона дори и $0,1 \text{ mg/m}^3$ час представлява опасност за тъканите на растенията и животните, разрушава металите и каучука, встъпва във взаимодействие с въглеводородите. Продуктите от това взаимодействие са органични вещества, които предизвикват изгаряния на очите, поразяват животните и растенията, разрушават материали като хартия и каучук [5].

В общ вид реакциите, протичащи при образуването на фотохимичен смог, могат да се представят по следния начин:



Напишете в каретата веществата, с които фотохимичният смог, замърсява атмосферата.

Бележки и коментар:

Тип на задачата: Комплексен многоброен избор

Познавателни процеси: Описание, обяснение и предсказване на научно явление

Тема: Състав, строеж, свойства на неорганични и органични вещества

Област: Науката в живота и здравето

Способности: 1. Активно ползване на текст, символи
2. Активно ползване на природо-научни знания и научна информация

Отговорът може да включва следните газообразни вещества: азотни оксиди, озон, въглероден диоксид, органични вещества, водни пари.

Задача 2.

В схема за кръговрата на въглерода е посочено, че основните източници за отделяне на въглероден диоксид CO₂ в атмосферата са: горивата, жизнената дейност на животните, разлагането на животни и растения и някои геологични процеси. Поглъщането на атмосферния въглероден диоксид CO₂ се осъществява от растенията и при разтвярането му в морета и дъждове [1].

Предложете две възможности за контролиране отделянето на въглероден диоксид CO₂ в атмосферата.

Бележки и коментар:

Тип на задачата: Задача със свободно конструиран отговор

Познавателен процес: Тълкуване на научно доказателство и извод

Тема: Строеж и свойства на веществата

Област: Науката за Земята и околната среда

Способности: Активно използване на природо-научни знания и научна информация

Отговорите могат да бъдат подобни на следните:

1. Залесяване на пустеещи земи;
2. Прекратяване безплановото изсичане на горите;
3. Разработване и внедряване на възобновими източници на енергия;

4. Увеличаване на коефициента на полезно действие на машините, използващи горива.

Задача 3.

Хипотезата за изменение на климата поради увеличаване съдържанието на въглероден диоксид CO_2 в атмосферата има опоненти. Възможно е влиянието на въглероден диоксид CO_2 да не е значително, поради което той да не е основната причина за парниковия ефект.

Резултатите от изследване на четирите най-важни газа, причиняващи парниковия ефект, са следните:

Таблица 1. Относителен парников ефект за молекула газ

Въглероден диоксид	Метан	Азотен оксид	Хлоро-, флуоро-въглеводороди
1	30	160	17 000

От данните в таблицата може да се заключи, че въглеродният диоксид не е основната причина за парниковия ефект. Такова заключение е прибързано. Данните в таблицата трябва да се комбинират с други данни, за да се направи заключение дали въглеродният диоксид CO_2 е основната причина за парниковия ефект или не.

Какви други данни са необходими?

- а) данни за произхода на тези газове;
- б) данни за поглъщането на четирите газа от растенията;
- в) данни за големината на четирите вида молекули;
- г) данни за количеството на всеки от газовете в атмосферата.

Бележки и коментар:

Тип на задачата: Задача с многоброен избор на отговор

Познавателен процес: Разбиране смисъла на научно изследване

Тема: Строеж и свойства на веществата

Област: Наука за Земята и околната среда

Способности: Активно използване на природо-научни знания и научна информация

Решаването на тази задача предполага установяване на взаимовръзка между научните знания за това как концентрацията на едно вещество влияе върху силата на неговото въздействие и изискването добре обоснованото заключение да се извежда при използване на допълнителна информация.

ЗАКЛЮЧЕНИЯ И ПРЕПОРЪКИ:

- Предложените примери на задачи:
 - ✓ са близки до реални ситуации;
 - ✓ знанията, които се използват при тяхното решаване са важни за учениците за по-дълъг период от време;
 - ✓ предполагат използването на определени познавателни действия.

- Считаме, че при тези задачи и подобни на тях, се постига комплексност при прилагане на знанията, познавателните действия, научните области и близост на описаните ситуации до живота.
- Необходимо е в учебниците и учебно-помощната литература по-широко да бъдат застъпени задачи, подобни на предложените.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боянова, Л., Р. Манева и Е. Цифудин. /2003/. Химия 8. клас. Просвета, С., с. 113
2. Кирилов, М. И др. /2000/. Химия и опазване на околната среда 9. клас. Булвест, С.
3. Павлова, М. И др. /2002/. Химия и опазване на околната среда 9. клас. Педагог, С.
4. Миневска, М. Й. Стефанова, П. Петрова. /2005/. Научната грамотност – обект на Програмата за международно оценяване на учениците (PISA). Сб. НТ на Съюза на учените – Пловдив (под печат)
5. Химия и общество. /1995/. Пер. с английския език. Мир, М.
6. OECD /2003/. The PISA 2003 Assessment Framework – Mathematics, Reading, Science and Problem Solving Knowledge and Skills. PP 132-152
7. OECD /2004/. Learning for Tomorrow's World – First Results from PISA 2003. PP 286-303

СЪДЪРЖАНИЕ

<i>Проф. Никола Михайлов Моллов на 80 години.....</i>	3
ХИМИЯ НА ПРИРОДНИ И СИНТЕТИЧНИ ИЗОХИНОЛИНОВИ СЪЕДИНЕНИЯ ОБЗОР.....	7
<i>проф. д.х.н. Никола Моллов</i>	
СЪЩЕСТВУВА ЛИ ЛИНЕЙНА ЗАВИСИМОСТ МЕЖДУ МОЛЕКУЛНАТА МАСА НА ТЕТРАЗОЛОВИТЕ КАТИОНИ И СТАБИЛНОСТТА НА ЙОННО-АСОЦИИРАНИТЕ ИМ КОМПЛЕКСИ?.....	19
<i>К. Гавазов, А. Димитров, В. Лекова, Е. Караасенова</i>	
MODELING OF BOILING POINTS OF HYDROCARBON COMPOUNDS.....	29
<i>Nikolay T. Kochev, Ognyan Pukalov, George N. Andreev</i>	
ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕН МЕТОД ЗА ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ФЛУОРИДНИ ЙОНИ В ОТПАДЪЧНИ И ПИТЕЙНИ ВОДИ.....	33
<i>Н. К. Николов, Ж. И. Денчев</i>	
НОВИ N-СЪДЪРЖАЩИ СЪЕДИНЕНИЯ КАТО ИНДИКАТОРИ	37
<i>Христина Малакова и Диана Добрева</i>	
STUDY OF THE CLOUD POINT OF NONIONIC SURFACTANT AND NONIONIC-CATIONIC SURFACTANT MIXTURE: EFFECT OF ELECTROLYTES.....	41
<i>Çiğdem KARTAL, Halide AKBAŞ</i>	
ТЕСТВАНЕ НА МЕТАЛНИ ПРИБОРИ ЗА ХРАНЕНЕ ОТНОСНО МИГРАЦИЯТА НА Al, Cr, Fe, Ni, Cu, Zn, Pb И Cd В МОДЕЛНИ РАЗТВОРИ.....	45
<i>Какалова М., Г. Бекяров</i>	
SPOVEN – ОТВОРЕНА СИСТЕМА ЗА ПРОБОПОДГОТОВКА В ICP И AAS.....	51
<i>Бекяров Г., М. Какалова, К. Данчев</i>	

ИЗЧИСЛИТЕЛЕН МОДЕЛ ЗА КОРЕКЦИЯ НА МЪРТВО ВРЕМЕ И ЕФЕКТ НА МАС-ДИСКРИМИНАЦИЯ ПРИ ICP-MS ИЗОТОПЕН АНАЛИЗ НА УРАН	57
<i>В. Стефанова, В. Кметов, А. Каналс</i>	
СРАВНИТЕЛНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА МЕТОДИТЕ ЗА ПОДГОТОВКА НА ПОЧВЕНИ ПРОБИ ЗА AAS АНАЛИЗ НА Cd, Pb, Cr и Ni.....	67
<i>П. Запрянова, В. Ангелова, Л. Доспатлиев, К. Иванов</i>	
НАНЕСЕНИ ВЪРХУ γ-Al₂O₃ МЕД-ХРОМНИ КАТАЛИЗАТОРИ ЗА ОКИСЛЕНИЕ НА СО И ОРГАНИЧНИ СЪЕДИНЕНИЯ	75
<i>Красимир Иванов и Димитър Димитров</i>	
GLYCEROLYSIS OF OLEIC ACID BY <i>CANDIDA RUGOSA</i> LIPASE IN ORGANIC SOLVENTS	81
<i>Yesim Yesiloglu, Ismail Kilic</i>	
THE SYNTHESIS OF METAL COMPLEXES OF SOME DIOSPHENOLS THIO CARBAMATES AND EXAMINATION OF ITS PROPERTIES	87
<i>Özlen Altun, Mesut Boz</i>	
СИНТЕЗ И АНТИБАКТЕРИАЛНА АКТИВНОСТ НА НОВИ 1-ЗАМЕСТЕНИ ТЕТРАХИДРОИЗОХИНОЛИНОВИ ПРОИЗВОДНИ	95
<i>Стела Статкова-Абегхе, Данаил Георгиев, Илиян Иванов и Стоянка Николова</i>	
ВЕТХ - ОПРЕДЕЛЯНЕ НА β-КАРОТЕН ОТ БИОМАСА НА ЩАМ <i>Sporobolomyces salmonicolor</i> AL₁	99
<i>С. Димитрова, Л. Луканов, К. Павлова</i>	
ТЕОРЕТИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ НА ИЗОМЕРНИТЕ ПРЕВРЪЩАНИЯ НА УРАЦИЛ В ГАЗОВА ФАЗА	105
<i>Иван Г. Щерев и Васил Б. Делчев</i>	
МОДИФИЦИРАНИ ГРАФИТОВИ ЕЛЕКТРОДИ – БАЗА ЗА РАЗРАБОТВАНЕ НА СЕЛЕКТИВНИ ГЛЮКОЗНИ БИОСЕНЗОРИ.....	113
<i>Т. Додевска, Е. Хорозова, Н. Димчева</i>	
АДСОРБЦИЯ НА ПЕРОКСИДАЗА ВЪРХУ АКТИВЕН ВЪГЛЕН.....	119
<i>Нина Димчева, Костадинка Тодорова, Елена Хорозова</i>	

КОРОЗИОННА УСТОЙЧИВОСТ И ЗАЩИТНИ СВОЙСТВА НА АМОРФНИ НИКЕЛ-ФОСФОРНИ ПОКРИТИЯ.....	125
<i>Илия Гаджов, Росица Манчева, Костадин Кънчев</i>	
ELECTROCHEMICAL BEHAVIOUR OF LEAD-TITANIUM COMPOSITE ANODES DURING ZINC ELECTROWINNING.....	131
<i>Y. Stefanov, I. Valchanova, S. Magaeva, T. Dobrev</i>	
ИЗСЛЕДВАНЕ ПРИГОДНОСТТА ЗА СУШЕНЕ НА СОРТОВЕ КАРТОФИ.....	139
<i>Т. Петрова, Н. Пенев</i>	
ЛИПИДЕН СЪСТАВ НА СЕМЕНА ОТ БЪЛГАРСКИ СОРТОВЕ ТЮТЮНИ.....	145
<i>М. Златанов, М. Ангелова, Е. Иванова</i>	
ЗАДАЧИ ЗА УСТАНОВЯВАНЕ НА НАУЧНАТА ГРАМОТНОСТ НА УЧЕНИЦИТЕ ПО ХИМИЯ	149
<i>М. Миневска, Й. Стефанова, П. Петрова</i>	

НАУЧНИ ТРУДОВЕ
том 34, кн. 5, 2006
Химия

Университетско издателство „Паисий Хилендарски” – ЕООД
4000, Пловдив, ул. „Цар Асен” №24, тел.:032/261 285