



МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. М.В. Ломоносова

ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи
УДК 547.992.2

Жилин Денис Михайлович

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

02.00.03 – Органическая химия
11.00.11 – Охрана окружающей среды и рациональное
использование природных ресурсов

Научные руководители:
доктор химических наук, академик РАЕН
В.С. Петросян
кандидат химических наук
И.В. Перминова

Научный консультант:
кандидат химических наук
А.В. Гармаш

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва-1998

Содержание

СОКРАЩЕНИЯ И ОБОЗНАЧЕНИЯ	5
ВВЕДЕНИЕ.....	8
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ	11
1.2. ОСОБЕННОСТИ ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ Hg(II).....	18
1.2.1. <i>Общая характеристика химических свойств ртути(II)</i>	18
1.2.2. <i>Взаимодействие органических веществ с Hg(II)</i>	22
1.2.2.1. Реакции с образованием связи Hg-C	22
1.2.2.2. Реакции без образования связи Hg-C	24
1.3. РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ГФК ПО ОТНОШЕНИЮ К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ	29
1.3.1. <i>Основные типы взаимодействий между ГФК и тяжелыми металлами</i>	30
1.3.2. <i>Подходы к описанию констант устойчивости комплексов гумусовых кислот с тяжелыми металлами</i>	33
1.3.2.1. Определение молярной концентрации ГФК.....	34
1.3.2.2. Определение стехиометрии взаимодействия ГФК с металлами	37
1.3.2.3. Влияние кислотной диссоциации ГФК и ионной силы раствора на константу устойчивости комплексов металл-ГФК	41
1.3.2.4. Учет неравноценности металлсвязывающих центров в ГФК и неравномерности их распределения по силе связывания.....	43
1.3.3. <i>Химическая природа металлсвязывающих центров в ГФК и методы ее исследования</i>	48
1.4. РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ГФК ПО ОТНОШЕНИЮ К Hg(II)	50
1.4.1. <i>Комплексообразование ГФК с Hg(II)</i>	51
1.4.2. <i>Восстановление Hg(II) гумусовыми кислотами</i>	53
1.5. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ С Hg(II)	54
1.5.1. <i>Формы существования Hg(II) в природной среде</i>	54
1.5.2. <i>Биологическое действие различных форм Hg (II) на живые организмы</i>	55
1.5.2.1. Общие механизмы токсического действия Hg(II).....	55
1.5.2.2. Биологическое действие Hg(II) на различные виды водорослей.....	57
1.5.3. <i>Влияние гумусовых кислот на токсическое действие Hg(II) и других тяжелых металлов.....</i>	59
2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	61
2.1. ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТОВ ГФК	61
2.1.1. <i>Выделение препаратов и их физические свойства</i>	61
2.1.2. <i>Характеристика состава препаратов гумусовых кислот</i>	62
2.1.2.1. Элементный состав препаратов ГФК.....	62
2.1.2.2. Молярные массы препаратов ГФК.....	68
2.1.2.3. ИК-спектры препаратов ГФК	69
2.1.2.4. Определение кислотных групп в препаратах ГФК	70
2.1.2.5. Характеристика препаратов методом ¹³ C-ЯМР-спектроскопии	72

2.2. ИЗУЧЕНИЕ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ ГФК ПО ОТНОШЕНИЮ К Hg(II)	75
2.2.1. Понятие "ртутьсвязывающий центр" как основа для определения констант устойчивости гуматов ртути.	75
2.2.2. Определение количества РСЦ в ГФК.....	86
2.2.2.1. Условия и механизм образования нерастворимых гуматов ртути (II) с полностью заполненными РСЦ.....	86
2.2.2.2. Получение гуматов ртути(II) и определение содержания РСЦ в них	92
2.2.3. Оценка реакционной способности ГФК с использованием кажущихся констант устойчивости гуматов ртути	93
2.2.3.1. Определение констант устойчивости гуматов ртути ионообменным методом с использованием конкурентного комплексообразования	94
2.2.3.2. Определение констант устойчивости гуматов ртути адсорбционным методом с использованием конкурентного комплексообразования	96
2.3. ИЗУЧЕНИЕ ПРИРОДЫ РТУТЬСВЯЗЫВАЮЩИХ ЦЕНТРОВ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ МЕТОДАМИ ЭЛЕМЕНТНОГО АНАЛИЗА И СПЕКТРОСКОПИИ.....	106
2.3.1. Установление природы центров связывания, исходя из состава гуматов ртути	108
2.3.2. Спектроскопические исследования гуматов ртути и соединений Hg(II) с модельными кислотами.....	110
2.3.2.1. Исследование гуматов ртути методом ¹⁹⁹ Hg-ЯМР спектроскопии	110
2.3.2.2. Исследование гуматов ртути методом ИК-спектроскопии	112
2.3.2.3. Синтез и исследование соединений ртути(II) с модельными органическими кислотами.	113
2.4. УСТАНОВЛЕНИЕ ПРИРОДЫ РТУТЬСВЯЗЫВАЮЩИХ ЦЕНТРОВ НА ОСНОВАНИИ ДАННЫХ ПО КОНСТАНТАМ УСТОЙЧИВОСТИ ГУМАТОВ РТУТИ	116
2.4.1. Количественные соотношения между константами устойчивости комплексов Hg(II) и Cu(II) с органическими лигандами.....	116
2.4.2. Взаимосвязь между структурой ртутьсвязывающего фрагмента и константами устойчивости комплексов соответствующих лигандов с Hg(II)	119
2.4.3. Конфигурация РСЦ и ее связь с кажущейся константой устойчивости гуматов ртути.....	121
2.4.4. Установление природы ртутьсвязывающих центров на основании констант устойчивости гуматов ртути	124
2.5. УСТАНОВЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ СООТНОШЕНИЙ МЕЖДУ СТРУКТУРАМИ ГФК И ИХ РЕАКЦИОННОЙ СПОСОБНОСТЬЮ ПО ОТНОШЕНИЮ К Hg(II)	126

2.5.1. Установление количественной взаимосвязи между структурами низкомолекулярных лигандов и константами устойчивости их комплексов с металлами.	126
2.5.2. Установление количественной взаимосвязи между структурами ГФК и константами устойчивости гуматов Hg(II)	131
2.6. ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕТОКСИЦИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ ПО ОТНОШЕНИЮ К Hg (II).....	137
2.6.1. Определение диапазонов токсичности Hg(OH) ₂ и HgCl ₂	138
2.6.2. Изучение детоксицирующей способности ГФК по отношению к Hg(OH) ₂	144
2.6.3. Изучение детоксицирующей способности ГФК по отношению к HgCl ₂	146
3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	154
3.1. РЕАКТИВЫ И ОБОРУДОВАНИЕ.....	154
3.1.1. Реактивы.....	154
3.1.2. Оборудование.....	157
3.2. ТЕХНИКА ЭКСПЕРИМЕНТОВ	158
3.2.1. Выделение препаратов гумусовых кислот.	158
3.2.2. Анализ выделенных препаратов ГФК	163
3.2.2.1. Элементный анализ	163
3.2.2.2. Определение содержания кислотных групп в ГФК	164
3.2.2.3. ¹³ C-ЯМР спектроскопия ГФК.....	164
3.2.2.4. Определение молярной массы ГФК.....	165
3.2.3. Спектроскопическое исследование взаимодействия ртуть-ГФК	165
3.2.4. Определение Hg(II) в растворах, содержащих ГФК.....	165
3.2.5. Исследование образования нерастворимых гуматов ртути(II).....	170
3.2.6. Получение и характеристика нерастворимых гуматов ртути (II).....	171
3.2.7. Определение констант устойчивости гуматов ртути(II).....	172
3.2.7.1. Обоснование выбора буферного раствора	172
3.2.7.2. Ионообменный метод.....	172
3.2.7.3. Адсорбционный метод	173
3.2.8. Получение соединений Hg(II) с модельными органическими кислотами.....	174
3.2.9. Методики альгологического биотестирования.....	175
3.2.9.1. Культивирование водоросли	175
3.2.9.2. Измерение фотосинтетической активности водоросли	175
3.2.9.3. Приготовление тест-растворов, содержащих Hg(II)	176
3.2.9.4. Изучение распределения Hg(II) в тест-системе	178
ВЫВОДЫ	179
БЛАГОДАРНОСТИ.....	180
СПИСОК ЦИТИРУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	181
ПРИЛОЖЕНИЯ	191

Сокращения и обозначения

ААСХП - атомно-адсорбционная спектрометрия холодного пара

АЭС - атомно-эмиссионная спектрометрия

АЭС-ИСП - атомно-эмиссионная спектрометрия индуктивно-связанной плазмы

ГВ - гуминовые вещества

ГК - гуминовые кислоты

ГФК - гумусовые кислоты

ДК₀ - концентрация ГФК, ниже которой они не приводят к снижению токсичности HgCl₂ в концентрации 0.8 мкМ.

ДК₅₀ - концентрация ГФК, приводящая к 50%-ному снижению токсичности HgCl₂ в концентрации 0.8 мкМ.

МКС - максимальная комплексообразующая способность (С. **Ошибка!**
Закладка не определена.)

МСЦ - металлсвязывающий центр

МСЦⁱ - металлсвязывающий центр i-го типа

НМЛ - низкомолекулярный лиганд

ПДК - предельно допустимая концентрация

ПР - произведение растворимости

ПЭ - полиэтилен

РСГ - функциональная группа, координирующая ртуть

РСЦ - ртутьсвязывающий центр

РСЦⁱ - ртутьсвязывающий центр i-го типа

РСФ - ртутьсвязывающий фрагмент (С. 107)

ФК - фульвокислоты

ЭК₀ - концентрация, выше которой начинается угнетение фотосинтетической активности

ЭК₅₀ - концентарция, вызывающая 50%-ное подавление фотосинтетической активности

ЭК₅₀ - концентарция, вызывающая полное подавление фотосинтетической активности

b - параметр гиперболы (2.113)

$C(\dots)$ - аналитическая молярная концентрация

Chl - биомасса водорослей *Chlorella Pyrenoidosa*

$C_L(\dots)$ - общая молярная концентрация вещества в жидкой фазе

C_i^m - число комбинаций (2.11)

D - коэффициент детоксикации (2.111)

F_0 - постоянная флуоресценция

F_m - максимальная флуоресценция

F_v - переменная флуоресценция

h - индекс

i - индекс

I - ионная сила

j - индекс

j_{max} - возможное число комбинаций занятых и свободных центров в комплексе $Hg_i\Gamma\Phi K$

k - микроскопическая константа связывания $Hg(II)$ с $\Gamma\Phi K$ при условии идентичности всех РСЦ

k', k'' - константы связывания Hg^{2+} с отдельными РСФ в случае, если РСЦ состоит из двух РСФ.

$k_{i,j,h}$ - микроскопическая константа (микрoконстанта) связывания характеризующую образование j -й комбинации $Hg_i\Gamma\Phi K$ из h -й комбинации $Hg_{i-1}\Gamma\Phi K$ (2.12)

K - константа равновесия

K_a - константа кислотности (1.23)

$(K_a)_i$ - константа кислотности по i -й ступени

$K_{[A]}$ - условная константа равновесия, в которую включена $[A]$

$K(M)$ - константа связывания металла с МСЦ в модели непрерывного распределения МСЦ (1.29)

K_{dif} - дифференциальная константа связывания металла с МСЦ (1.30)

K_H - константа Генри

$K(L^1/L^2)$ - константа лигандного обмена

$K_i(ML_i)$ - ступенчатая константа устойчивости комплекса ML_i

$K_{iy}(ML_i)$ - условная ступенчатая константа устойчивости комплекса ML_i

$K(\text{МСЦ})$ - кажущаяся константа устойчивости гуматов металлов, выраженная через концентрацию МСЦ (1.14)

$K(\text{МСЦ}^i)$ - константа связывания ГФК с МСЦ i -го типа

$K(\text{РСЦ})$ - кажущаяся константа устойчивости гуматов ртути, выраженная через концентрацию РСЦ

$K(\text{РСЦ}^i)$ - константа связывания ГФК с РСЦ i -го типа

K_{Fr} - константа Фрейндлиха

K_{ow} - коэффициент распределения октанол-вода

K_{sorb} - константа сорбции

l_{ij} - комплекс Hg_i ГФК с определенной комбинацией свободных и занятых РСЦ

L - лиганд

m - индекс; число металлсвязывающих центров в молекуле ГФК

M - металл

M - молярная масса

M_w - средневзвешенная молярная масса

n - индекс

N - число измерений

P - доверительная вероятность

q_i - доля ионогенных групп i -го типа в общем количестве ионогенных групп

Q - сорбция

Q_{max} - максимальная сорбция

r - коэффициент корреляции Пирсона

R - тест-отклик (относительный выход переменной флуоресценции)

s - стандартное отклонение

T - относительная токсичность (2.109)

V - объем

$Y(I)$ - параметр уравнения Дэвиса (1.8)

Z_A - заряд частицы A

α - отношение общей концентрации металла к концентрации свободного иона
(1.32)

$\beta_i(\text{ML}_i)$ - общая константа устойчивости комплекса ML_i

$\beta_{m,n}(M_mL_n)$, - общая константа устойчивости комплекса M_mL_n (1.13)

$\beta_{yi}(ML_i)$, - условная общая константа устойчивости комплекса ML_i

δ_i - доля металлсвязывающего центра i -го типа в общем количестве МСЦ.

$\Delta_{\text{отн}}$ - относительная ошибка

ζ - поправка на хелатный эффект (2.91)

θ - степень заполнения металлсвязывающих центров

θ_i - степень заполнения металлсвязывающих центров i -го типа

λ - коэффициент распределения вещества между раствором и сорбентом

μ - средняя константа связывания металла с МСЦ в модели непрерывного распределения (1.29)

v - количество вещества

$v_{\text{сорб}}$ - количество вещества на сорбенте

\bar{v} - отношение концентрации связанного лиганда к свободному (1.28)

ρ - константа реакции в уравнении Гаммета (2.101)

σ - константа заместителя в уравнении Гаммета (2.101)

ν - молярное содержание компонента (моль/г)

φ - весовой коэффициент (2.104)

ω - мольная (атомная) доля

ϖ - массовая доля

Введение

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

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

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

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

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

1. Обзор литературы

1.1. Общая характеристика гумусовых кислот

Гумусовые кислоты (от латинского “гумус” – земля, почва) представляют собой наиболее реакционноспособную часть обширного класса природных соединений, объединяемых под названием гуминовые вещества (ГВ). Гуминовые вещества составляют от 60 до 80% органического вещества водных и почвенных сред [1-5]. Концентрация ГВ в пресных водоемах лежит в диапазоне 0.1-15 мг/л (в пересчете на углерод), в болотных водах - значительно больше [6].

Образование ГВ в природных средах происходит в результате химического и биологического разложения растительных и животных остатков [1, 2, 7]. В основе данного процесса лежит отбор устойчивых к биодegradации структур и соединение их в макромолекулы. В отличие от синтеза биополимеров, протекающего по заданному генетическому коду, процесс образования гуминовых веществ подчиняется статистическим принципам [8-10]. По этой причине ГВ представляют собой смесь макромолекул переменного состава и нерегулярного строения [11, 12].

Общепринятая классификация ГВ [10,11,13] основана на различии в их растворимости в кислотах и щелочах. Согласно этой классификации ГВ подразделяют на три основные составляющие: гумин – неизвлекаемый остаток, нерастворимый ни в щелочах, ни в кислотах; гуминовые кислоты (ГК) – фракция ГВ, растворимая в щелочах и нерастворимая в кислотах; фульвокислоты (ФК) – фракция ГВ, растворимая в щелочах и кислотах. Под термином "гумусовые кислоты" понимают сумму гуминовых и фульвокислот. В нашей работе для сокращенного обозначения гумусовых кислот была использована аббревиатура ГФК.

Относительно элементного состава ГФК известно, что макроэлементами, образующими молекулы ГФК, являются углерод, водород и кислород. Кроме того, ГФК содержат азот и серу. Авторы [14] провели статистический анализ литературных данных по содержанию указанных элементов в 400 препаратах ГФК. Его результаты приведены в Табл. 1.1.

Таблица 1.1

Элементный состав ГФК по данным для 400 препаратов [14]

	Элементный состав, % / стандартное отклонение					Атомные соотношения	
	C	H	N	S	O	O/C	H/C
ГК (по всем источникам происхождения)	55.1/ 5.0	5.0/ 1.1	3.5/ 1.5	1.8/ 1.6	35.6/ 5.8	0.5/ 0.13	1.1/ 0.25
ФК (по всем источникам происхождения)	46.2/ 5.4	4.9/ 1.0	2.5/ 1.6	1.2/ 1.2	45.6/ 5.5	0.76/ 0.16	1.28/ 0.31

Атомные соотношения Н/С и О/С позволяют оценить такие параметры структуры, как содержание ненасыщенных фрагментов и кислородсодержащих функциональных групп. Так, при соотношении $H/C < 1$ можно говорить о преобладании в структуре ГФК ароматических фрагментов. Если же это отношение > 1.4 , то структура ГФК носит преимущественно алифатический характер [7]. По этим критериям можно говорить, что ГК обогащены ароматическими фрагментами и обеднены функциональными группами по сравнению с ФК.

Что касается данных по N и S, то обращает на себя внимание относительно большие значения стандартного отклонения для них. По-видимому, это связано либо с большими ошибками в определении этих элементов, либо с тем, что содержание этих элементов в ГФК в значительной степени случайно.

Кроме вышеперечисленных элементов-органогенов, обязательной составной частью ГФК являются микроэлементы [2, 15] и вода [2]. Молекулярные массы ГФК по разным данным составляет от 700 до 200000 [7, 16], причем молекулярные массы ГК заметно больше, чем ФК.

Интенсивное исследование ГФК инструментальными методами органической химии (ИК-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия, масс-спектроскопия) позволило в последние годы существенно расширить информацию о фрагментном составе ГФК.

На основании данных о фрагментном составе, структуру ГФК можно представить в виде различного рода блок-схем [2]. Согласно наиболее общим представлениям, макромолекулы глумусовых кислот состоят из “каркасной” (негидролизуемой) и периферической (гидролизуемой) части [2, 3, 11, 12]. Каркасная часть представлена высокозамещенными ароматическими фрагментами,

соединенными алкильными, эфирными и др. мостиками. Преобладающими заместителями являются кислородсодержащие функциональные группы: карбоксильные, фенольные и спиртовые гидроксильные, карбонильные и метоксильные [2, 10, 17, 18]. Периферийная часть представлена углеводно-протеиновым комплексом, ковалентно связанным с каркасной частью. Так, по данным [19] до 30% от массы ГФК представляют собой углеводные фрагменты. Кроме того, в периферийную часть входят зольные компоненты - силикаты, алюмосиликаты, оксиды железа и т.п., связанные с органической матрицей кислородными мостиками [2, 20]. Вышеприведенное описание проиллюстрировано на Рис. 1.1.

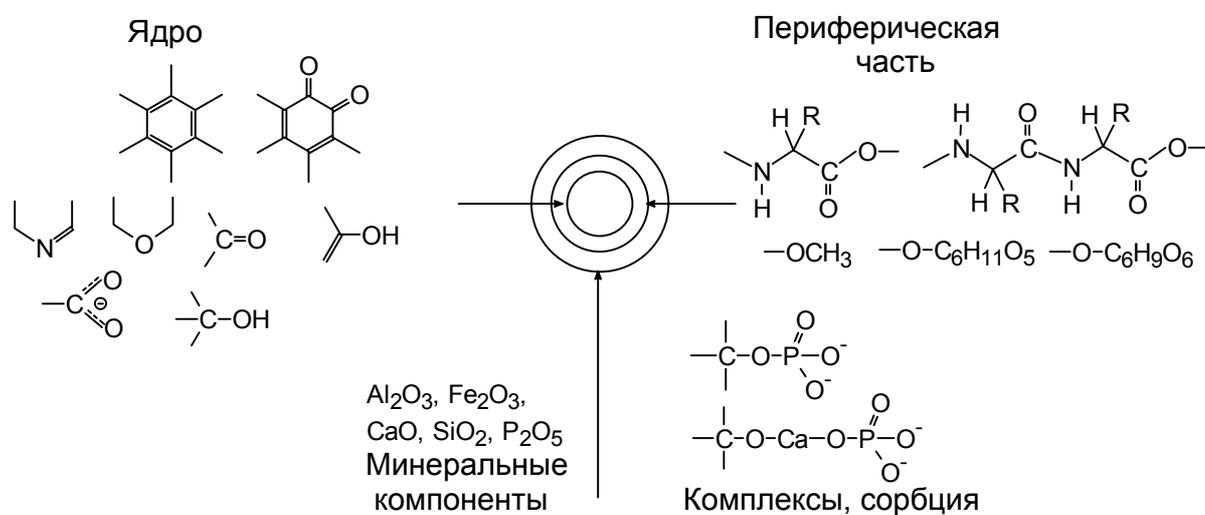


Рис. 1.1. Блок-схема гуминовой кислоты [21]

К сожалению, описание структуры ГФК с помощью блок-схем не дает представления о количественном соотношении структурных фрагментов, которое является важной характеристикой структуры ГФК. В настоящее время в гумусовых кислотах обнаружено более десяти различных типов кислород-, азот- и серусодержащих функциональных групп: карбоксильные, фенольные и спиртовые гидроксильные, карбонильные, хинонные, метоксильные, сложноэфирные, енольные, амино-, амидо- и имидогруппы, сульфо-, тиольные и дисульфидные группы [10].

Кислородсодержащие группы. Кислород входит как в состав каркасной, так и в состав периферийной части. В последнем случае он сконцентрирован преимущественно в углеводных фрагментах [19]. Обобщенные сведения о

распределении кислорода по различным функциональным группам в ГФК приведены в табл. 1.2.

Таблица 1.2

Распределение кислорода между функциональными группами в почвенных ГФК [2, 10, 18]

Общее содержание кислорода, %	COOH	ArOH	ROH	C=O	Учтенный кислород, %
	% кислорода				
Почвенные гуминовые кислоты					
37.2	24	33	10	8	75
36.8	26	25	15	7	74
35.4	18	38	13	4	73
Почвенные фульвокислоты					
47.3	58	19	12	6	95
44.8	65	12	13	9	99
47.7	61	9	16	4	90

Как видно из табл. 1.2, около 75% кислорода в молекулах ГК и около 95% – в ФК распределено между четырьмя типами функциональных групп: карбоксильными, фенольными и спиртовыми гидроксильными, и карбонильными, причем вклад этих групп в общее содержание кислорода различен для гуминовых и фульвокислот. Вышеперечисленные функциональные группы (в первую очередь карбоксильные и фенольные), определяют комплексообразующую способность ГФК по отношению к тяжелым металлам.

Азотсодержащие группы. Содержание азота в ГФК составляет 1-5% (Табл. 1.1). Часть (40-60% [7, 22]) азота входит в состав каркасной (негидролизующей) части. Остальной азот находится в составе периферической (гидролизующей) части.

По данным, опубликованном в обзоре [22], азот периферической части распределяется следующим образом: 20 - 45% входит в состав аминокислотных остатков, 2-8% - в состав аминсахаров, 8 - 15% присутствует в ГФК в виде солей аммония, до 20% - в виде неустановленных фрагментов. При этом азот каркасной части ГФК находится в составе следующих групп: - NH₂- группы, связанные с ароматическими кольцами; -NH- и =N- группы в открытых цепях; индольные, пиррольные и пиридиновые кольца; мостиковые NR-группы,

связывающие хинонные кольца; аминокислоты, связанные с ароматическими ядрами через атом N.

Из приведенных фрагментов алифатические амины, аминокислоты и гетероциклы способны образовывать комплексные соединения с тяжелыми металлами. Таким образом, указанные группы, наряду с кислородсодержащими, могут влиять на реакционную способность ГФК по отношению к тяжелым металлам, и, в частности, Hg(II).

Серусодержащие группы. В связи с высокой тиофильностью Hg(II), исследованию взаимодействий которой с ГФК посвящена настоящая работа, данные по формам существования серы в ГФК представляли собой особый интерес. Однако, в результате проведенного литературного поиска приходится констатировать, что этот вопрос практически не изучен. Согласно единственной найденной публикации, посвященной данной проблеме[23], распределение серы в торфяных ГФК может быть описано с помощью блок-схемы, приведенной на Рис. 1.2.

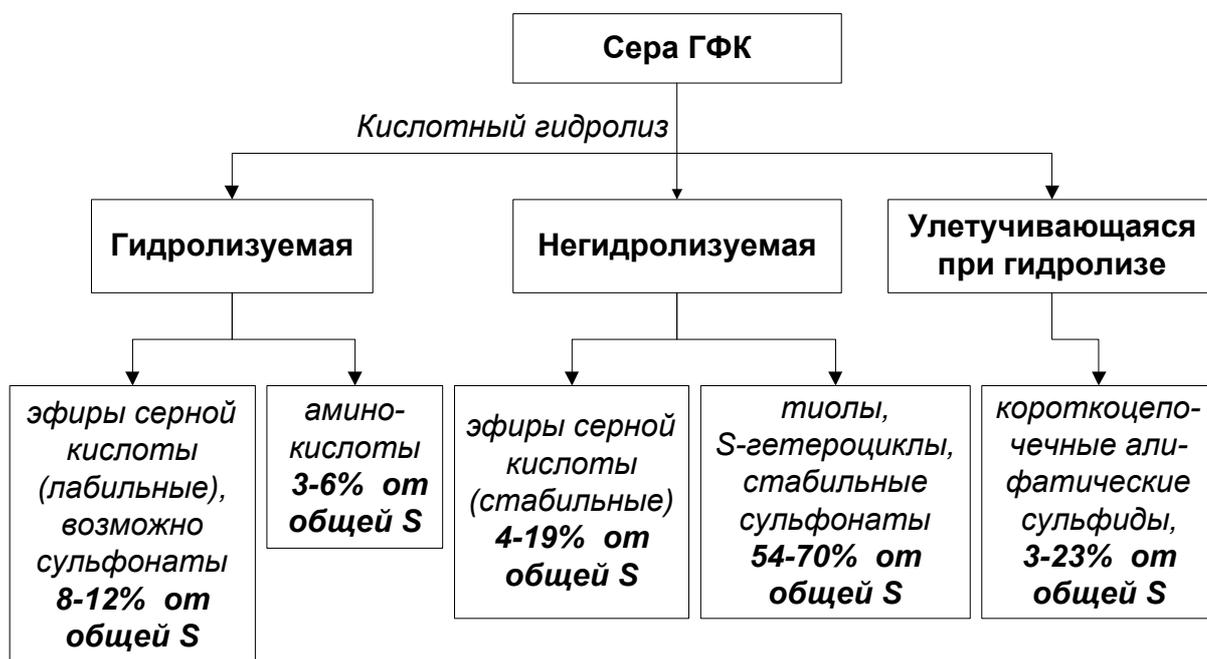


Рис. 1.2. Распределение серы в ГФК по данным [23].

К сожалению, авторы работы [23] не исследовали распределение серы между тиолами, S-гетероциклами и сульфонатами, а также не учитывали возможность наличия дисульфидов и негидролизуемых сульфидов. Между тем, эти группы заметно различаются по способности связывать Hg(II).

Описаны попытки напрямую определять серу, связанную с углеродом ГФК, восстановлением никелем Ренея [24]. Однако такой способ имел ряд существенных недостатков и от него отказались. Кроме того, в настоящее время для установления природы серы в ГФК начали использовать поглощение рентгеновских лучей на К-электронах, однако эти работы пока носят предварительный характер [25].

Таким образом, что имеющиеся литературные данные не позволяют ответить на вопрос о доле серосодержащих групп в ГФК, способных связывать Hg(II) наиболее сильно, - тиольных, сульфидных и сульфонатных.

Другие функциональные группы. Из неупомянутых выше функциональных групп следует отметить хинонные и семихинонные. Методом ЭПР показано, что ГФК содержание неспаренных электронов в ГФК составляет, по разным данным, $(0.1-40) \cdot 10^{16}$ спин/г [26]. Присутствие данных групп обуславливает возможность протекания реакций с участием ГФК по свободнорадикальному механизму, в частности, восстановления ионов металлов в присутствии ГФК и декарбоксилирование отдельных фрагментов ГФК.

Таким образом, ГФК характеризуется наличием разнообразных функциональных групп, многие из которых способны связывать тяжелые металлы в комплексы. Кроме того, многие функциональные группы ГФК, в первую очередь карбоксильные, являются ионогенными. В сочетании с полимерной природой ГФК последний факт приводит к тому, что ГФК, особенно в нейтральной и щелочной среде являются полиэлектролитом. Из этого следует ряд специфических особенностей ГФК, таких как зависимость эффективного радиуса молекул от pH и ионной силы раствора; зависимость протолитических и комплексообразующих свойств ГФК от степени ионизации ГФК; увеличение протон- и металлсвязывающих способностей ГФК по сравнению с соответствующими мономерами за счет энтропийных факторов [19].

Для более наглядной характеристики структуры ГФК часто прибегают к следующему приему: объединяя структурные фрагменты ГФК между собой умозрительно связывают их в среднюю молекулу - молекулу, свойства которой определяются соотношением структурных фрагментов [27]. Существует целый ряд структурных формул средних молекул ГФК [2], при построении которых

авторы прибегали к различным процедурам. Ниже (Рис. 1.3) приведена одна из них [14], которая, на наш взгляд, наиболее полно удовлетворяет современным представлениям о структуре ГФК.

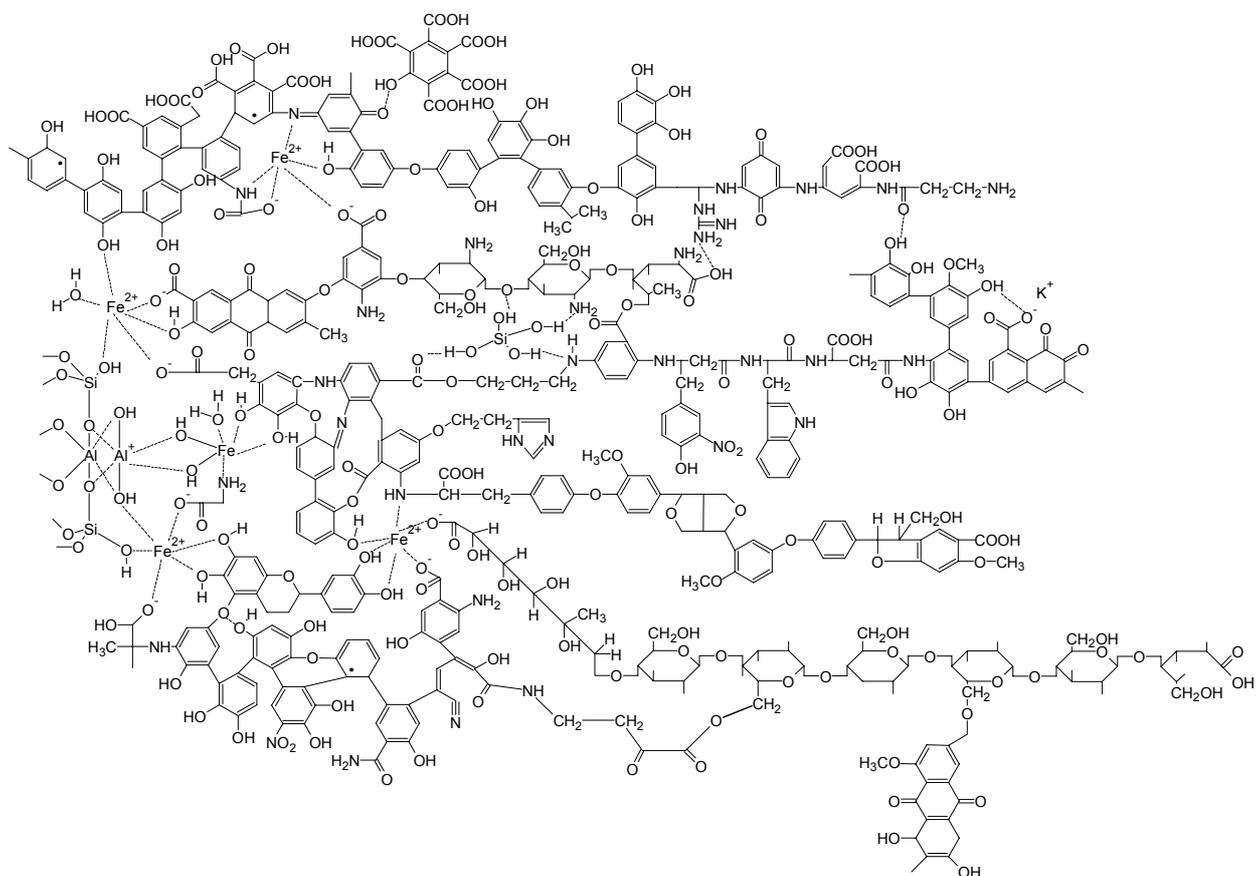


Рис. 1.3. Средняя структурная формула ГФК почвы [14].

Представление структуры ГФК средней молекулой является наиболее близким к классическому описанию органических веществ посредством структурных формул. Оно позволяет продемонстрировать основные химические свойства ГФК, такие как кислотность, хелатирующая способность, окислительно-восстановительные и π -акцепторные свойства, а также полиэлектролитную природу ГФК. Однако такое представление не лишено недостатков. Во-первых, оно сводит все многообразие молекулярных структур ГФК к единственной - средней. Во-вторых, корректность формулы во многом зависит от принципа объединения структурных фрагментов, которых придерживался ее автор.

* * *

Имеющиеся литературные данные по составу и строению ГФК показывают, что последние обладают рядом свойств, которые должны способствовать их связыванию с тяжелыми металлами, в частности, с Hg(II). Эти свойства перечислены ниже:

- ГФК содержат структурные фрагменты (карбоксилы, фенольные гидроксилы, различные серу- и азотсодержащие группы), которые способны связывать тяжелые металлы

- ГФК представляют собой полиэлектролит, что облегчает их связывание с тяжелыми металлами за счет энтропийных факторов

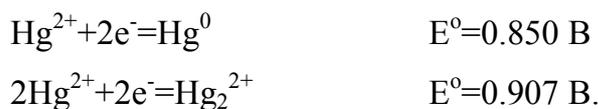
1.2. Особенности химических свойств Hg(II)

Как показано в предыдущем разделе, структура ГФК предопределяет ее комплексообразующие свойства по отношению к тяжелым металлам, в частности Hg(II). При этом для понимания закономерностей взаимодействия ГФК с Hg(II) весьма важной является специфика химических свойств Hg(II). Этой теме посвящен настоящий раздел.

1.2.1. Общая характеристика химических свойств ртути(II).

Ртуть - металл, обладающий особыми химическими свойствами.

В первую очередь следует отметить, что соединения Hg(II) легко восстанавливаются, причем восстановление может протекать как до элементарной ртути, так и до иона Hg_2^{2+} [28]:



Высокая окислительная способность Hg(II) позволяет ей окислять многие органические соединения. В частности, наблюдалось окисление гидрохинона и пирокатехина [29], причем Hg(II) восстанавливалась до элементарной. Однако окислительные свойства Hg(II) могут быть снижены, согласно принципу Ле-Шателье, при связывании ее в комплексные соединения.

Другим специфическим свойством Hg(II) является склонность к образованию ковалентных связей. Так, раствор HgCl_2 не проводит электрический ток, а сам HgCl_2 легко возгоняется [30] и имеет относительно

высокий коэффициент распределения октанол-вода ($K_{ow}=3.3$) [31], что говорит о ковалентном характере связей в нем. Особо следует отметить, что Hg(II) обладает уникально высокой тиофильностью. Так, HgS - соединение с наименьшим произведением растворимости из всех сульфидов состава 1:1 [28].

Ковалентный характер связей с участием Hg(II) приводит к исключительной прочности ее комплексных соединений с различными лигандами. Это продемонстрировано в Табл. 1.3, где приведены константы устойчивости по первой ступени комплексов Hg(II) в сравнении с таковыми для Cu(II), Zn(II) и Pb(II).

Таблица 1.3
Константы устойчивости комплексов Hg(II), Cu(II), Zn(II) и Pb(II) по первой ступени с различными лигандами [28].

Лиганд	lgK ₁			
	Hg ²⁺	Cu ²⁺	Zn ²⁺	Pb ²⁺
S ₂ O ₃ ^{2-*}	30	12.3	2.3	5.1
SCN ^{-*}	17.6	3.7	1.6	2.5
CN ⁻	17.0	н.д.	11.0	н.д.
Цитрат ³⁻	10.9	5.9	5.0	4.3
OH ⁻	10.6	6.0	6.0	7.5
NH ₃	8.8	4.0	2.2	н.д.
Cl ⁻	6.7	0.07	-0.2	1.6
Pу	5.1	2.5	1.4	н.д.

* - приведены значения lgβ₂ соответствующих комплексов.

“н.д.” - нет данных

Необходимо отметить, что Hg(II) образует очень прочные комплексы как с жесткими основаниями по классификации Пирсона - (OH⁻, NH₃), так и с промежуточными (Pу, Br⁻) и с мягкими (-SH, CN⁻, SCN⁻). Это говорит о том, что отнесение катиона Hg²⁺ к группе мягких [32] в значительной мере условно.

Как следствие исключительной устойчивости гидроксокомплексов, ион Hg²⁺ сильно подвержен гидролизу. На Рис. 1.4 показано распределение Hg(II) между гидроксокомплексами различного состава в зависимости от pH. Для сравнения дано такое же распределение для Cu(II) (Рис. 1.5).

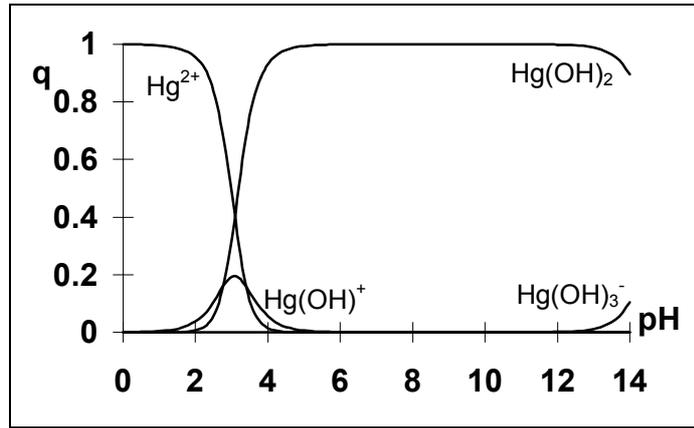


Рис. 1.4. Распределение Hg(II) между гидроксокомплексами различного состава в зависимости от pH (рассчитано на основании [28]).

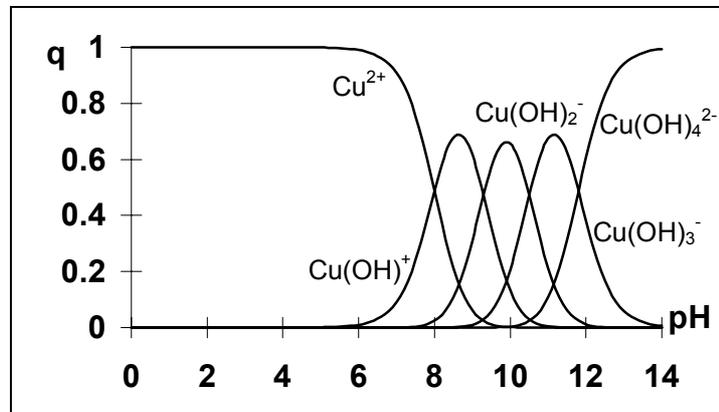
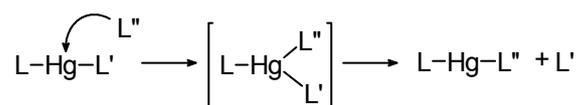


Рис. 1.5. Распределение Cu(II) между гидроксокомплексами различного состава в зависимости от pH (рассчитано на основании [28]).

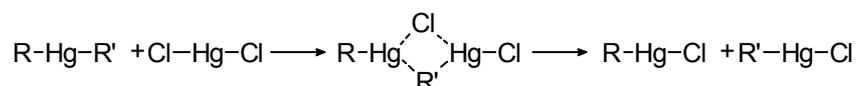
Как видно из Рис. 1.4 и Рис. 1.5, ион Hg^{2+} гидролизуеться в гораздо более кислой среде, чем ион Cu^{2+} . Следовательно, в нейтральных средах в растворах солей Hg(II) свободный ион Hg^{2+} практически отсутствует. Как следствие, при растворении ионных солей Hg(II) в воде они обычно превращаются в нерастворимые основные соли, имеющие желтую или оранжевую окраску [30].

Столь сильный гидролиз иона Hg^{2+} затрудняет определение констант устойчивости его комплексов в нейтральных средах. Кроме того, из-за сильного гидролиза невозможно приготовить растворы ионных солей Hg(II), имеющие нейтральную реакцию. Возможно, гидролизом обусловлена также способность Hg(II) сорбироваться на различных поверхностях, в частности, кварце [33] и полиэтилене [34].

Еще одной особенностью Hg(II) является характерная для нее линейная координация в соединениях. Соединения с координационным числом 4 существуют, но при этом они гораздо менее устойчивы. Вследствие этого механизм лигандного обмена в координационной сфере Hg(II) принципиально отличается от других металлов. Если в случае большинства металлов первой ступенью лигандного обмена является диссоциация комплекса (механизм отщепления-присоединения), то для Hg(II) - присоединение третьего лиганда [35]:

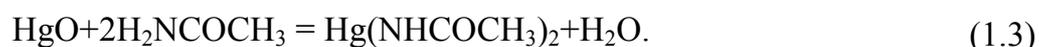


Это приводит к очень быстрому лигандному обмену. Так, скорость лигандного обмена глутатиона в координационной сфере метилртути оказывается в 10^8 раз больше, чем можно было бы ожидать, исходя из механизма отщепления-присоединения [36]. Сходный механизм обмена заместителей наблюдается для ртутьорганических соединений [29]:



Быстрый обмен лигандами в координационной сфере Hg(II) облегчает задачу исследования комплексообразования.

Поскольку Hg(II) склонна к образованию ковалентных соединений, ион Hg^{2+} легко обменивается на H^+ в аммиаке и аминах, причем реакция происходит в водном растворе [30]:



Связь Hg-N устойчива даже в воде, что отличает ртуть от других металлов. Аммиачные комплексы ртути можно получить только в избытке концентрированного раствора солей аммония [37], хотя для многих других металлов (в частности, меди) они получаются при простом смешении компонентов.

Кроме того, Hg(II) относительно легко образует ковалентную связь Hg-C, причем данная связь весьма прочна [29]. Такое свойство Hg(II) имеет далеко

идущие экологические последствия. Так, в окружающей среде неорганические соединения Hg(II) легко превращаются в метил- и диметилртуть, причем имеют место процессы как биологического, так и, возможно, абиотического метилирования неорганических соединений ртути. Кроме того, ртуть-органические соединения нередко образуются при непосредственном взаимодействии неорганических соединений Hg(II) с органическими веществами [29].

Способность Hg(II) взаимодействовать с органическими веществами вполне может повлиять на процессы ее взаимодействия с ГФК. В первую очередь возникает вопрос, могут ли ГФК в природной среде взаимодействовать с Hg(II) с образованием связи Hg-C. При этом необходимо учитывать, что в природных условиях и ГФК и Hg(II) находятся в очень разбавленном состоянии, и многие свойства, проявляющиеся в концентрированных растворах, могут не проявляться в разбавленных из-за кинетических факторов. Поэтому взаимодействие Hg(II) с органическими веществами заслуживает пристального внимания. Этому вопросу и посвящен следующий раздел.

1.2.2. Взаимодействие органических веществ с Hg(II)

1.2.2.1. Реакции с образованием связи Hg-C

Как указывалось выше (разд. 1.1), в структуру ГФК входят ароматические фрагменты, а также карбоксильные и спиртовые группы. Поэтому в первую очередь будут рассмотрены реакции ароматических соединений, кислот и спиртов с Hg(II).

Вышеуказанные соединения могут взаимодействовать с Hg(II) с образованием ртутьорганических соединений. При этом возможны следующие типы взаимодействий [29].

Меркурирование алифатических соединений [29]:



Во многих случаях эта реакция идет очень легко, причем часто она не заканчивается замещением на ртуть одного водородного атома, а может привести к полной замене водорода на Hg(II). Быстро и на холоду меркурируются соединения с подвижным протоном: малоновая кислота,

ацетоуксусный эфир и т.д. Для меркурирования большинства других субстратов, необходимо их нагревание с оксидом ртути в щелочной среде. При этом, как правило, образуются полимермеркурированные продукты.

Меркурирование ароматических соединений [29] (протекает по механизму электрофильного замещения):



С большинством субстратов эта реакция идет при нагревании в течение длительного времени. Однако ряд субстратов с электронодонорными заместителями (в частности, резорцин и флуороглюцин) легко меркурируются при комнатной температуре. Более того, наблюдалось медленное образование оксифенилдимеркурацетата при стоянии на холоду смеси концентрированных растворов фенола и ацетата ртути. Однако в работе [38], где исследовалось взаимодействие фенола с Hg(II) в разбавленных водных растворах, авторам удалось определить константу устойчивости фенолятных комплексов ртути (II). Это заставляет предположить, что меркурирование фенола в разбавленных растворах затруднено, хотя авторы [38] не исследовали структуру образующегося комплекса и даже не изучали условий установления равновесия между Hg(II) связанной и несвязанной с фенолом. Таким образом, прямых подтверждений отсутствия связи Hg-C в работе [38] нет.

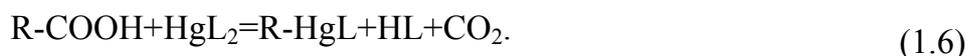
Введение в ароматическое ядро карбоксильных групп резко замедляет меркурирование. В частности для меркурирования салициловой кислоты требуется длительное нагревание на водяной бане.

Важным вопросом является обратимость процесса меркурирования. Если данный процесс обратим, для него можно определить константу равновесия, и тогда процессы с образованием связи Hg-C будут описываться точно так же, как и процессы комплексообразования. В этом случае отличить образование ртутьорганических соединений от комплексных соединений без структурных исследований невозможно.

В литературе имеется большое количество работ, посвященных реакциям демеркурирования органических соединений [39, 40, 41 и др.]. Как правило,

процессы демеркурирования протекают под действием минеральных кислот, что согласуется с принципом Ле-Шателье (см. (1.4) и (1.5)). К сожалению, все имеющиеся работы по реакциям демеркурирования касаются исследования кинетики и механизма этого процесса. Данных по константам его равновесия нам найти не удалось. Таким образом, из литературных данных нельзя сделать вывод о принципиальной возможности определения констант равновесия реакции меркурирования.

Меркуро-де-карбоксилирование алифатических или ароматических кислот [29]:



Реакция протекает как при взаимодействии органических кислот с солями Hg(II), так и при разложении ртутных солей органических кислот. Наиболее легко такая реакция идет с кислотами, которые сами по себе склонны к декарбоксилированию, в первую очередь, с α -кетокислотами. Однако даже для этих реагентов требуется нагревание либо УФ-облучение ртутных солей органических кислот. Реакция также может быть инициирована свободными радикалами. Исходя из того, что фрагменты, склонные к декарбоксилированию малоустойчивы в окружающей среде, а свободных радикалов в ГФК крайне мало, вероятность меркуро-де-карбоксилирования ГФК незначительна.

Таким образом, литературные данные показывают, что некоторые структурные фрагменты ГФК вполне могут подвергаться меркурированию. Однако, следует отметить, что все описанные реакции меркурирования протекают в концентрированных растворах. Работ, в которых изучалось бы меркурирование органических веществ в разбавленных растворах (что имеет место при взаимодействии Hg(II) и ГФК в окружающей среде) нам найти не удалось.

1.2.2.2. Реакции без образования связи Hg-C

Кроме образования ртутьорганических соединений, взаимодействие органических веществ (в первую очередь, кислот и фенолов) с Hg(II) может приводить к образованию солеобразных продуктов. Так, многократно описаны ацетат ртути [42] и другие соли и комплексы с алифатическими карбоновыми

кислотами [43], а также с щавелевой, винной [44] и бензойной [45] кислотой. Получен 2,4-дигидроксibenзоат ртути (II) [44] и различные антрахинондикарбоксилаты ртути (II) [46]. Кроме того, описано образование нерастворимых солей ртути при смешении различных кетокислот с $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ или $\text{Hg}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ [29]. Однако, как правило, эти соли использовали для дальнейших синтезов ртутьорганических соединений и детально не исследовали.

Работы, посвященные взаимодействию органических веществ с соединениями $\text{Hg}(\text{II})$ в водных растворах, как правило, ставят своей целью определению констант устойчивости соответствующих комплексных соединений. При этом возможность протекания процессов меркурирования не учитывается. В большинстве случаев для определения используются различные модификации потенциометрического метода [47], который не позволяет судить о структуре образующихся соединений. Так, данным методом определены константы устойчивости фенолятов ртути в разбавленных растворах [38] (350-800 мкМ $\text{Hg}(\text{II})$ и 300-500 мМ фенола), хотя в [29] есть указания, что феноляты ртути легко перегруппировываются в ртутьорганические соединения. В работе [48] были определены константы устойчивости комплексов $\text{Hg}(\text{II})$ с салициловой кислотой и ее производными в водно-спиртовых растворах. К сожалению, ни в одной работе не исследовали динамику изменения констант устойчивости во времени, что могло бы оценить возможность меркурирования ароматических ядер.

Из вышеизложенного следует, что органические соединения способны реагировать с $\text{Hg}(\text{II})$ как с образованием, так и без образования связи Hg-C . При этом предсказать направление реакции в растворах весьма сложно. В первую очередь это касается фенолов и полифенолов, для которых вероятность меркурирования довольно велика.

Меркурирование других фрагментов ГФК, в первую очередь кислотных, маловероятно, так как они более склонны к образованию комплексных соединений с $\text{Hg}(\text{II})$. Следовательно, можно предположить, что ГФК, будут образовывать с $\text{Hg}(\text{II})$ комплексные соединения.

Для выявления взаимосвязи между структурой органических соединений и константами устойчивости их комплексов с соединениями $\text{Hg}(\text{II})$, необходимо

иметь большой массив соответствующих данных. Для получения такой информации мы воспользовались компьютерной базой данных SCDB, составленной ИЮПАК [47]. Эта база данных содержит значения констант устойчивости комплексных соединений, определенные в оригинальных работах с указанием ссылки на работу и условий определения и в настоящее время является наиболее полным собранием данных по константам устойчивости.

Для сопоставления данных, относящихся к разным лигандам, значения констант устойчивости, полученные из базы данных, обрабатывали следующим образом.

1. Все константы приводили к нулевой ионной силе по уравнению Дэвиса [49]. Для константы равновесия реакции



уравнение Дэвиса имеет вид

$$\lg K = \lg K_I + 2 \cdot Z_A \cdot Z_B \cdot Y(I), \quad (1.8)$$

где

$$Y(I) = -0.5 \cdot \left(\frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} - 0.3 \cdot I \right), \quad (1.9)$$

Здесь I - ионная сила, K - константа устойчивости AB при $I=0$, K_I - константа устойчивости AB при данной ионной силе, Z_A - заряд иона, к которому присоединяется лиганд на i -й ступени комплексообразования, Z_B - заряд лиганда.

2. Полученные значения логарифмов констант устойчивости для одного и того же комплекса усредняли.

В дальнейшем символом K_i будем обозначать константу устойчивости комплекса по i -й ступени, а символом β_i - общую константу устойчивости комплекса ML_i .

Работа с SCDB выявила крайнюю недостаточность имеющихся данных по константам устойчивости комплексов органических соединений с $Hg(II)$. Так, количество органических O -доноров, для которых были обнаружены сведения по константам устойчивости составило всего 21 (Табл. 1.4).

Константы устойчивости комплексов Hg(II) с O-донорами.

Лиганд	lgK ₁	lgβ ₂	lgβ ₃	lgK ₂	lgK ₃
Формиат	4.0±1.8	5.6±1.0	5.8	1.6	0.2
Ацетат	4.6±0.9	8.1±1.0	7.8±2.1	3.5	-0.3
Триметилацетат	6.3				
Гидроксиацетат	2.5	6.0		3.5	
Метоксиацетат	3.0	5.9		2.9	
Пропанат	3.8	7.7		3.9	
3-метоксипропанат	3.7	7.4		3.7	
3-гидроксибутират	3.7	7.8		4.1	
4-гидроксибутират	3.8	7.4		3.6	
Оксалат	9.7±1.6				
Малонат монозамещенный		4.6			
Сукцинат		7.3			
L-тарtrat	7.8				
Ацетилацетон	13.3	21.3		8.0	
2,2'-оксидиацетат	6.3				
Цитрат трехзамещенный	13.4±2.4	24.4		11.0	
Цитрат двузамещенный	6.9				
Цитрат монозамещенный	4.5				
мезо-оксидисукцинат	16.0				
SS-оксидисукцинат	15.5				
Фенол	8.6	16.9		8.3	
Салицилат*	11.6	19.5		7.9	

* Данные приведены для 70%(об.) C₂H₅OH и I=0.05 [48].

Доверительные интервалы рассчитаны для усредненных констант (P=0.95). Отсутствие доверительного интервала означает, что в базе данных SCDB присутствует только одна работа по данному комплексу.

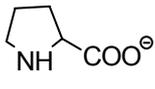
В первую очередь, обращает на себя внимание большой разброс значений констант, полученных разными авторами. Это говорит о том, что с достоверностью можно говорить только о порядках величин констант устойчивости комплексов Hg(II) с органическими лигандами. Второй факт, на который следует обратить внимание - практическое отсутствие различий между константами устойчивости комплексов Hg(II) с монодентатными лигандами по первой и второй ступени (K₁ и K₂), при том, что значение K₃ гораздо меньше. Это говорит о том, что для монодентатных лигандов стабильны комплексы состава ML₂, а образование комплексов с большим числом лигандов невыгодно. Для бидентатных лигандов K₁ и K₂ также различаются относительно слабо, то есть для бидентатных лигандов комплексы состава ML₂ также стабильны. Этот

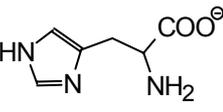
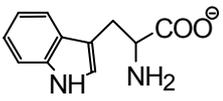
факт позволяет предположить, что либо бидентатные лиганды стабилизируют координационное число 4 у атома Hg(II), либо в соединениях с Hg(II) выступают как монодентатные. Последний вариант можно отвергнуть на основании того факта, что константы устойчивости комплексов с бидентатными лигандами (тарtratом, двузамещенным цитратом и т.д.) на несколько порядков выше, чем для аналогичных монодентатных лигандов (ацетата).

Данные по константам устойчивости комплексов Hg(II) с азотсодержащими лигандами (аминами и аминокислотами) приведены в Табл. 1.5 [28, 47, 50, 51].

Таблица 1.5

**Константы устойчивости комплексов Hg(II)
с N-донорами [28, 47, 50, 51]**

Лиганд	lgK ₁	lgβ ₂	lgβ ₃	lgβ ₄	lgK ₂	lgK ₃
NH ₃	8.8	17.5	18.5	19.3	8.7	1.0
H ₃ C-NH ₂	8.6	17.9	18.3		9.3	0.4
H ₉ C ₄ -NH ₂	8.7	18.1	19.0	20.0	9.4	0.9
Пиперидин	8.7	17.4			8.7	
C ₆ H ₅ NH ₂	4.6	9.2			4.6	
Pu	5.1	10	10.4		4.9	0.4
H ₂ N-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂	15.5	24.6			9.1	
H ₂ N-(CH ₂) ₂ -NH-(CH ₂) ₂ -NH ₂	21.8	28.8			7.0	
N((CH ₂) ₂ NH ₂) ₃	22.8					
H ₂ N-(CH ₂) ₂ -NH-(CH ₂) ₂ -NH-(CH ₂) ₂ -NH ₂	25.3					
ЭДТА ⁴⁻	21.8					
ЭДТА ³⁻	14.6					
H ₂ N-CH ₂ -COO ⁻ (Gly)	11.5±1.1	20.6±0.4			9.1	
H ₃ C-HN-CH ₂ -COO ⁻		18.7				
HO-CH ₂ -CH(NH ₂)-COO ⁻ (Ser)	12.1	20.3			8.2	
H ₂ N-(CO)-CH ₂ -CH(NH ₂)-COO ⁻ (Asn)	11.8	19.8			8.0	
H ₂ N-CH ₂ -COO-NH-CH ₂ -COO ⁻ (Gly-Gly)		13.0				
H ₃ C-CH(OH)-CH(NH ₂)-COO ⁻ (Tre)	12.1	19.9			8.8	
 (Pro)	12.6	21.4			8.8	
HOOC-CH ₂ -CH ₂ -CH(NH ₂)-COO ⁻ (Glu)	13.6	20.0			6.4	
H ₂ N-(CO)-CH ₂ -CH ₂ -CH(NH ₂)-COO ⁻ (Gln)	11.9	19.9			8.0	
(H ₃ C) ₂ CH-CH(NH ₂)-COO ⁻ (Val)	12.1	20.1			8.0	
H ₃ C-S-CH ₂ -CH ₂ -CH(NH ₂)-COO ⁻ (Met)	13.2	20.6			7.4	
п-HO-C ₆ H ₄ -CH ₂ -CH(NH ₂)-COO ⁻ (Tyr)		17.1				

Лиганд	$\lg K_1$	$\lg \beta_2$	$\lg \beta_3$	$\lg \beta_4$	$\lg K_2$	$\lg K_3$
 (Hys)		23.6±0.4				
$H_5C_2-CH(H_2N)-COO^-$		18.3				
$H_2N-C(NH)-NH-(CH_2)_3-CH(H_2N)-COO^-$ (Arg)	11.9	20.0			8.1	
 (Trp)	12.1	19.9			7.8	

Как и в случае кислородсодержащих лигандов, и моно-, и бидентатные лиганды образуют устойчивые комплексы состава HgL_2 . Следовательно, азотсодержащие бидентатные лиганды также стабилизируют координационное число 4 у $Hg(II)$.

К сожалению, выборка органических O-доноров, приведенная в Табл. 1.4 не является представительной. В ней практически отсутствуют данные для ароматических лигандов и многих алифатических полидентатных лигандов (в частности, малоната). Тем не менее, на основании имеющихся данных можно говорить, что многие лиганды, которые могут входить в структуру ГФК образуют с $Hg(II)$ прочные комплексные соединения.

1.3. Реакционная способность ГФК по отношению к тяжелым металлам

Как указывалось выше, ГФК содержит функциональные группы, способные образовывать довольно прочные связи с тяжелыми металлами, в частности с $Hg(II)$. Указанная способность ГФК связывать тяжелые металлы, снижая их токсичность, а также повсеместное распространение гумусовых кислот в биосфере обуславливает необходимость изучения взаимосвязи между структурой и реакционной способностью ГФК по отношению к тяжелым металлам, и, в частности, к $Hg(II)$ - одному из опаснейших экотоксикантов. Отсюда вытекает задача надежного определения реакционной способности ГФК.

1.3.1. Основные типы взаимодействий между ГФК и тяжелыми металлами

Как показывает анализ литературных данных, существует два основных подхода к исследованию взаимодействий металлов с ГФК. Один заключается в исследовании взаимодействия металлов с твердыми препаратами ГФК (обычно в данном случае в качестве ГФК используют ГК в силу их крайне медленной растворимости в воде или нативный торф [52]). Другой заключается в исследовании взаимодействия ГФК с металлами в растворах.

Взаимодействие металлов с твердыми препаратами ГФК обычно сводится к сорбции металлов на твердых препаратах. Процессы сорбции описываются либо изотермой Фрейндлиха [53]:

$$Q = K_{Fr} \cdot [M]^n, \quad (1.10)$$

либо изотермой Лэнгмюра [54]:

$$\frac{Q}{Q_{max}} = \frac{K_{sorb} [M]}{1 + K_{sorb} [M]}, \quad (1.11)$$

где Q - сорбция (количество или масса сорбированного металла на единицу массы ГФК), Q_{max} - максимальная сорбция, K_{Fr} - эмпирическая константа Фрейндлиха, n - эмпирический показатель степени, K_{sorb} - константа сорбции, $[M]$ - концентрация металла в равновесии с сорбентом.

С нашей точки зрения, более предпочтительно описание сорбции изотермой Лэнгмюра. Тому есть следующие причины. Во-первых, изотерма Лэнгмюра, в отличие от изотермы Фрейндлиха, позволяет определить величину максимальной сорбции. Во-вторых, K_{sorb} в изотерме Лэнгмюра имеет определенную размерность, в то время как размерность K_{Fr} будет различаться для разных препаратов ГФК и даже для разных экспериментов с одним и тем же препаратом из-за эмпирического подбора показателя степени у размерной величины в изотерме Фрейндлиха. Это делает значения K_{Fr} несопоставимыми для разных препаратов. И, наконец, последнее: изотерма Лэнгмюра следует из определенной модели сорбции и в рамках этой модели K_{sorb} имеет строгий термодинамический смысл, в то время, как K_{Fr} имеет сугубо описательный характер.

В ряде работ определяли максимальную сорбцию металлов ГФК в соответствии с изотермой Лэнгмюра. Так, по данным [54], при pH 3-5 и времени экспозиции 4 сут., максимальная сорбция металлов на ГК различного происхождения составляла 0.17-0.22 ммоль/г для Cu^{2+} ; 0.09-0.18 ммоль/г для Zn^{2+} ; 0.10-0.18 ммоль/г для Pb^{2+} . По другим данным [55], для почвенных ГК при pH 3 она составляла 0.23 ммоль/г для Cu^{2+} , 0.29 ммоль/г для Pb^{2+} и 0.26 ммоль/г для Hg^{2+} . Указанные значения говорят о хорошей способности твердых препаратов ГК сорбировать тяжелые металлы. Однако изучение сорбции металлов на твердых ГФК имеет ряд недостатков. Во-первых, подобные исследования можно проводить только в достаточно кислой среде, иначе ГФК начинают растворяться. Во-вторых, максимальная сорбция может сильно зависеть от степени измельчения ГФК и поэтому не являться характеристикой собственно ГФК. Поэтому чаще изучают взаимодействие металлов с ГФК в растворах.

При взаимодействии ГФК с солями металлов в растворах возможно два пути реакции: образование растворимых и нерастворимых гуматов [13], причем последнее протекает при больших соотношениях металл:ГФК [56-59]. Так, согласно работе [57], в которой изучалось образование нерастворимых гуматов железа (III) и меди (II), осадки начинали выпадать при добавлении 1 мг-экв Fe и 1.9 мг-экв Cu на 1 г ГК почв с одновременным понижением pH раствора. В [59] показано, что образование осадка наблюдается при соотношении металл:ГФК, составлявшем 12 ммоль/г для Ni^{2+} , 9 ммоль/г для Co^{2+} и 1.5 ммоль/г для Cu^{2+} . Образование нерастворимых гуматов металлов при различных pH подробно изучено в [58]. Показано, что гуматы начинают выпадать при pH меньших, чем pH выпадения соответствующих гидроксидов. В работе [56] взаимодействием ГК с солями металлов получены нерастворимые гуматы, содержавшие (в ммоль/г) 1.0-3.0 Co^{2+} , 1.5-2.8 Cu^{2+} , 1.2-3.6 Mn^{2+} , 0.7-3.5 Ni^{2+} и 0.8-2.0 Zn^{2+} . Сопоставление указанных данных с результатами экспериментов по адсорбции металлов на твердых ГФК показывают, что твердые ГФК сорбируют на порядок меньше металлов, чем может быть связано ГФК при выпадении гуматов и растворов. Однако литературных данных по количественному описанию

процессов образования нерастворимых гуматов из растворов ГФК и солей металлов найти не удалось.

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что нерастворимые гуматы образуются только при достаточно больших соотношениях (более 1 ммоль/г) металл:ГФК. При меньших соотношениях образуются растворимые комплексы. Поскольку для природных сред характерны малые соотношения металл:ГФК, образование комплексов - наиболее вероятный путь взаимодействия между металлами и ГФК в окружающей среде. Поэтому в качестве основной характеристики реакционной способности ГФК можно рассматривать константу устойчивости соответствующих комплексов. Однако задача определения константы устойчивости осложняется рядом особенностей ГФК, которые могут быть кратко сформулированы следующим образом.

Полиэлектролитная природа ГФК приводит к невозможности установления стехиометрии взаимодействия ГФК-металл, к зависимости константы устойчивости комплекса ГФК-металл от количества металла, связавшегося с ГФК, а также к тому, что процессы комплексообразования осложняются кислотной диссоциацией ГФК.

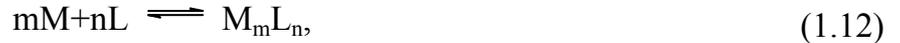
Полидисперсность ГФК приводит к невозможности корректного расчета молярной концентрации ГФК, которая необходима для вычисления термодинамической константы равновесия процессов с участием ГФК.

Химическая гетерогенность ГФК приводит к невозможности установления стехиометрии взаимодействия металл-ГФК, в связи с наличием в одной молекуле ГФК различающихся по силе центров связывания металла.

Вышеуказанные особенности делают практически невозможным прямое определение термодинамической константы комплексообразования ГФК с металлами и требуют разработки подходов, которые позволили бы получить константу, с одной стороны, имеющую термодинамический смысл, а с другой - позволяющую ее практическое использование для расчетов распределения металлов по формам существования в присутствии ГФК. Описанию используемых в литературе подходов к решению указанных проблем посвящен следующий раздел.

1.3.2. Подходы к описанию констант устойчивости комплексов гумусовых кислот с тяжелыми металлами

В общем случае реакция комплексообразования металла М с лигандом L описывается следующим уравнением (без учета зарядов):



где М - металл, L - лиганд, а m и n - стехиометрические коэффициенты. Термодинамическая константа этого равновесия при условии, что концентрации равны активностям, имеет вид:

$$\beta_{m,n} = \frac{[M_mL_n]}{[M]^m \cdot [L]^n}, \quad (1.13)$$

где в квадратных скобках приведены равновесные молярные концентрации соответствующих компонентов.

Для определения константы (1.13) необходимо определить m, n, [M], [L], [M_mL_n]. При этом определение n и m является принципиальным, поскольку от них зависит размерность константы устойчивости. Для простых лигандов m и n, как правило, легко определяется, поэтому для вычисления константы достаточно определить соответствующие равновесные молярные концентрации. Однако, если в качестве лиганда выступает ГФК (L=ГФК), то, как указывалось выше, ни стехиометрию взаимодействия, ни молярную концентрацию ГФК корректно определить невозможно. Следует отметить, что некорректно определенная стехиометрия взаимодействия может привести к тому, что полученные значения констант будут несопоставимы друг с другом и с константами, полученными другими авторами в силу их разных размерностей.

Кроме того, при сложной стехиометрии взаимодействия в растворе могут сосуществовать несколько различных комплексов, поэтому определение равновесных концентраций, необходимых для расчета константы (1.13) нередко представляет дополнительные трудности.

Таким образом, для определения констант устойчивости комплексов металлов с ГФК необходимо решить следующие задачи: определить концентрацию ГФК и определить стехиометрию взаимодействия ГФК с металлом. Также необходимо учесть влияние кислотной диссоциации ГФК на

константы устойчивости и учесть неравноценность металлсвязывающих центров ГФК. Подходы к решению указанных задач представлены ниже.

1.3.2.1. Определение молярной концентрации ГФК

В качестве концентрации ГФК используют:

- массовую концентрацию ГФК (г/л) [60, 61]
- молярную концентрацию ГФК, определенную исходя из ее средней молекулярной массы [62-65]
- молярную концентрацию тех функциональных групп в ГФК, которые, по мнению автора, ответственны за связывание металла [66, 67]
- молярную концентрацию металлсвязывающих центров (МСЦ) (она же эквивалентная концентрация ГФК) [5, 68-71]

Замена молярной концентрации ГФК массовой, хотя и позволяет рассчитывать влияние ГФК на распределение металла по формам, не имеет термодинамического смысла. Эту трудность обычно обходят, рассуждая о взаимодействии металлов с ГФК в терминах адсорбции [60, 61]. К сожалению, полученные таким образом константы несопоставимы с рассчитанными другими авторами в силу разных размерностей.

Расчет молярной концентрации ГФК с использованием ее молярной массы может привести к значительным ошибкам. Дело в том, что из-за нерегулярности строения ГФК можно говорить только о среднечисловой или средневесовой молекулярных массах. Определение и той, и другой неточно. Для одного и того же препарата молярные массы, определенные различными методами различаются в десятки раз [72]. Более того, даже если определить молярную массу точно, или, как это сделано в [62] разделить ГФК на фракции, близкие по молекулярным массам, это не облегчит определение константы, поскольку стехиометрия взаимодействия металл-ГФК в этом случае останется неопределенной (разд. 1.3.2.2).

Из этих соображений представляется более оправданным использование в указанных целях молярной концентрации функциональных групп ГФК, ответственных за связывание металла, или концентрацию металлсвязывающих

центров. Этот прием позволяет упростить стехиометрию взаимодействия металл-ГФК.

При использовании в качестве молярной концентрации ГФК молярной концентрации функциональных групп, ответственных за связывание металла, адекватность полученных значений констант реально протекающим процессам определяется правильностью выбора соответствующих функциональных групп. Поэтому правильность такого выбора необходимо проверять, как, например, это было сделано в работе [66]. Ее авторы предположили, что в качестве медьсвязывающих центров выступают салицилатные фрагменты, потенциометрически определили их концентрацию в растворах ГФК, и методом изомолярных серий подтвердили, что они образуют с медью комплекс состава 1:1. Однако при этом возможность дополнительного координирования иона Cu^{2+} другими лигандами не учитывалась. В других работах [67, 80] в качестве металлсвязывающих групп рассматривали все заряженные группы, однако правильность такого выбора не проверялась.

Поскольку правильность выбора тех ли или иных функциональных групп в качестве металлсвязывающих требует проверки, более разумным кажется использование непосредственно концентраций металлсвязывающих центров. Они используются довольно часто. При этом есть три принципиально разных способа их расчета. Первый заключается в определении максимальной комплексообразующей способности (МКС) растворов ГФК той или иной концентрации [73]. Для определения МКС тем или иным способом определяют концентрацию связанного металла при больших отношениях металл:ГФК. Второй способ заключается в моделировании зависимости концентраций тех или иных компонентов в системе металл-ГФК друг от друга и подборе таких значений констант и концентраций металлсвязывающих центров, чтобы модель наиболее близко описывала экспериментальную зависимость соответствующих концентраций. Третий способ был применен для установления эквивалентной концентрации ГФК при ее реакции с Fe(III) авторами [74]. Для этого было проведено титрование ГФК хлоридом железа (III) с турбидиметрической индикацией конечной точки. В работе [75] с целью определения концентрации МСЦ точно так же титровали раствор ГФК солью алюминия. Данный способ

нельзя признать удачным, так как флокуляция гуматов трехвалентных металлов может наступить гораздо раньше, чем будут заняты все центры связывания. Кроме того, ГФК могут содержать разное количество центров связывания для различных металлов.

Ниже приведены литературные данные по содержанию МСЦ в ГФК, определенных различными методами.

Таблица 1.6

Содержание МСЦ в различных препаратах ГФК

Тип ГФК	pH	Содержание МСЦ в ГФК, ммоль/г ГФК	Способ определения	Лит-ра
Cu^{2+}				
Фирмы "Aldrich"	?	2.5	МКС	[68]
Природные воды (6 образцов)	6-8	0.5-1.8 ммоль/г С	Моделирование	[76]
Почвенные ГФК	5	1.6	МКС (диализ)	[77]
Hg^{2+}				
Почвенные ГФК	4-6	2.6	Моделирование	[70]

Из Табл. 1.6 видно, что содержание медьсвязывающих центров в различных препаратах ГФК различается не более, чем в 4 раза, при том, что оно определялось принципиально разными методами, для разных препаратов и при разных pH. Следует заметить, что содержание медьсвязывающих центров в ГФК близко к максимальному содержанию меди в нерастворимых гуматах (1.5-2.8 ммоль/г [56]). Содержание ртутьсвязывающих центров лежит в том же диапазоне, что и медьсвязывающих центров.

Следует заметить, что в части работ проблема выражения концентрации ГФК не является предметом специального обсуждения. Между тем, константы, рассчитанные на основании концентраций ГФК, выраженных разными способами, часто бывают несопоставимы. Так, если константу, рассчитанную через массовую концентрацию ГФК (г/л) принять за 1, то для того же препарата ГФК константа, определенная через молярную массу будет в 10^3 - 10^6 раз больше, через молярную концентрацию карбоксильных групп - в 10^2 - 10^4 раз больше.

В связи с вышеизложенным нам представляется наиболее разумным в качестве молярной концентрации ГФК использовать концентрацию металлсвязывающих центров в растворе ГФК. С одной стороны, при этом

однозначно задается стехиометрия 1:1, с другой - достаточно адекватно выражается концентрация реальных лигандов.

1.3.2.2. Определение стехиометрии взаимодействия ГФК с металлами

Как уже указывалось в предыдущем разделе, достоинством использования эквивалентной концентрации ГФК является однозначность описания стехиометрии взаимодействия ГФК с металлами. Основная проблема при этом - корректное определение эквивалентной концентрации ГФК. В дальнейшем, во избежание терминологической путаницы, мы будем называть эквивалентную концентрацию ГФК молярной концентрацией металлсвязывающих центров и обозначать $[МСЦ]$ в отличие от $[ГФК]$ молярной концентрации ГФК, рассчитанной из ее молярной массы.

Если концентрация ГФК выражается как $[МСЦ]$, это означает, что задается априори стехиометрия 1:1. Как говорилось выше, $[МСЦ]$ определяют либо из величины максимальной комплексообразующей способности ГФК, либо в ходе приближения экспериментальной и модельной зависимости концентрации каких-либо двух компонентов системы ГФК-металл.

Чтобы пояснить последний способ, запишем выражение для константы устойчивости гумата металла, выраженного через $[МСЦ]$

$$K(МСЦ) = \frac{[M \cdot МСЦ]}{[M] \cdot [МСЦ]} \quad (1.14)$$

Для полного описания системы необходимо ввести уравнения материального баланса:

$$C(M) = [M] + [M \cdot МСЦ] \quad (1.15)$$

$$C(МСЦ) = [МСЦ] + [M \cdot МСЦ] \quad (1.16)$$

Система (1.14)-(1.16) содержит три уравнения. В случае, если аналитические концентрации $МСЦ$ и M известны, система содержит четыре неизвестных (три равновесные концентрации и константу). Поэтому чтобы рассчитать константы достаточно экспериментально определить одну из равновесных концентраций, сократив таким образом число неизвестных до трех и решив полученную систему. Однако, как указывалось выше, $C(МСЦ)$ часто бывает неизвестна. Тогда из системы (1.14)-(1.16) какую-либо из концентраций

аналитически выражают через другие концентрации и константу. После этого рассчитанную зависимость определяют экспериментально. Далее минимизируя отклонения экспериментальной и аналитической зависимости подбирают K и $C(\text{МСЦ})$. Используемые при этом зависимости и аналитические выражения для них приведены в Приложении А.

Для использования вышеописанного способа необходимо получить соответствующую зависимость для большого диапазона соотношений металл-лиганд. Это является недостатком данного способа, поскольку в этом случае, как правило, проявляется неравноценность металлсвязывающих центров в ГФК. Результатом являются отклонения экспериментальной зависимости от аналитической, которые трудно интерпретировать. В работе [78] по этому поводу говорится, что получаемые таким образом константы можно считать скорее описательными параметрами, чем реальными характеристиками центров связывания. Кроме того описанный способ нахождения $K(\text{МСЦ})$ и $C(\text{МСЦ})$ требует весьма точных методов определения соответствующих компонентов равновесных смесей.

При использовании в качестве концентрации ГФК ее молярную концентрацию ГФК, определенную из молярной массы, для установления стехиометрии взаимодействия можно применять метод изомолярных серий [79]. Метод заключается в приготовлении серии растворов, содержащих металл и ГФК в таких концентрациях, чтобы их сумма была постоянной. При этом следят за изменением значения какого-либо физико-химического параметра в серии. Точка перегиба зависимости параметра от молярного соотношения компонентов соответствует составу комплекса [51]. В качестве соответствующих физико-химических параметров описано использование оптической плотности растворов [63], электрохимического потенциала [66].

Метод изомолярных серий не лишен недостатков. Так, неточное определение молярной массы ГФК может привести к неверному определению стехиометрии взаимодействия. Метод также не позволяет отличать комплексы состава 1:1 от 2:2 и т.п. Кроме того, ГФК с большой молярной массой (что особенно важно для гуминовых кислот) будет присоединять несколько ионов металла и в этом случае определение будет неточным. Из-за химической

гетерогенности ГФК контролируемые физико-химические свойства могут различаться для разных фракций, что также способствует снижению правильности метода. Кроме того, метод изомолярных серий можно применять только в том случае, если металл и ГФК сосуществуют в растворе во всем диапазоне соотношений металл:ГФК. Между тем, как указывалось выше, ГФК способны образовывать с металлами нерастворимые осадки, что ограничивает применение метода изомолярных серий.

Во избежание указанных выше трудностей экспериментального определения стехиометрии взаимодействия ГФК с металлом, ее часто соответствующую стехиометрию постулируют. Как правило, считают, что ГФК образуют моноядерные комплексы, то есть принимают $m=1$. В литературе имеются противоречивые сведения относительно обоснованности такого подхода. С одной стороны, методами ультрафильтрации, показано, что металлы способствуют агрегированию фульвокислот с $M < 5000$ [80]. Этот факт свидетельствует либо в пользу существования моноядерных комплексов, либо в пользу образования агрегатов $M_m \text{ГФК}_n$. С другой стороны, сравнение содержания металлсвязывающих центров в ГФК (Табл. 1.6) с молярной массой ГФК (700-200000 г/моль [7, 16]) свидетельствует в пользу полиядерной модели. Возможно, образование моно- и полиядерных комплексов зависит от соотношения металл:ГФК и молярной массы ГФК.

Так, можно предположить, что для фульвокислот с малыми молярными массами при малых (меньше, чем 1 на молекулу) соотношениях металл:ГФК будут образовываться моноядерные комплексы, которые при увеличении соотношения будут превращаться в агрегаты $M_m \text{ГФК}_n$. С другой стороны, для ГК с большой молярной массой более вероятно образование полиядерных комплексов $M_m \text{ГФК}_n$. К сожалению, работ, посвященных описанию процессов образования агрегатов не весьма мало [81].

В случае постулирования образования моноядерного комплекса реакция комплексообразования описывается уравнением



а его константа - формулой

$$\beta_n = \frac{[M \cdot \Gamma\Phi K_n]}{[M] \cdot [\Gamma\Phi K]^n}. \quad (1.18)$$

Соответствующие данной системе уравнения материального баланса выглядят следующим образом:

$$C(M) = [M] + \sum_{i=1}^n [M \cdot \Gamma\Phi K_n], \quad (1.19)$$

$$C(\Gamma\Phi K) = [\Gamma\Phi K] + n \cdot \sum_{i=1}^n [M \cdot \Gamma\Phi K_n] \quad (1.20)$$

Система содержит 3 уравнения и 3+n неизвестных, а потому аналитически нерешаема. Для нахождения n и β_n обычно используют метод Шуберта [82, 83-84].

Для расчета констант в соответствии с этим методом находят тем или иным способом отношение $[M \cdot \Gamma\Phi K_n]/[M]$ и линеаризуют зависимость этого параметра от $[\Gamma\Phi K]$ следующим образом:

$$\lg \frac{[M \cdot \Gamma\Phi K_n]}{[M]} = \lg \beta_n + n \cdot \lg [\Gamma\Phi K]. \quad (1.21)$$

Строят зависимость $\lg([M \cdot \Gamma\Phi K_n]/[M])$ от $\lg[\Gamma\Phi K]$. Если образуется только один комплекс - это прямая, если образуются несколько - появляются точки перегиба. По тангенсу угла наклона каждого отрезка экспериментальной кривой определяют n и по пересечению продолжения отрезка с осью ординат - соответствующий $\lg \beta_n$.

Модель (1.21) обладает тем недостатком, что в соответствии с ней необходимо эмпирически определять n - показатель степени у размерной величины. Если для двух разных экспериментов найденное n различается (а оно не может не различаться из-за экспериментальных погрешностей), то сравнивать полученные константы нельзя, так как что у них оказываются разные размерности. Кроме того, чтобы найденные значения n и $\lg \beta_n$ были устойчивы, необходимо проводить исследования в широком диапазоне концентраций $\Gamma\Phi K$.

Из вышеизложенного следует, что удовлетворительные методы определения стехиометрии взаимодействия металл: $\Gamma\Phi K$ отсутствуют, поэтому кажется разумным рассматривать $\Gamma\Phi K$ как набор металлсвязывающих центров с априорной стехиометрией взаимодействия 1:1.

1.3.2.3. Влияние кислотной диссоциации ГФК и ионной силы раствора на константу устойчивости комплексов металл-ГФК

Существует немало данных, взаимодействие металл-ГФК осложняется кислотно-основными процессами. Так, имеются данные о снижении рН при смешении солей металлов с ГФК [57, 85]. Кроме того, есть данные, что увеличение рН способствует уменьшению доли свободного иона металла в системе, содержащей металл и ГФК. Так, согласно [68], повышение рН от 4 до 6 в растворе, содержащем 20 мг/л ГФК сопровождалось падением доли свободного иона Cu^{2+} от 100% до 0. По данным [80], такое же изменение рН приводит к падению концентрации свободного Cu^{2+} на 2 порядка. В обоих случаях это падение не может быть объяснено образованием гидроксокомплексов, так как они образуются только при $\text{pH} > 6$ (Рис. 1.4). Кроме того, показано увеличение содержания медьсвязывающих центров в ГФК с ростом рН [64] и увеличение констант устойчивости гуматов меди [64].

Кислотно-основные равновесия с участием ГФК выражаются уравнением:



где L - ГФК или МСЦ. Этот процесс описывается соответствующей константой кислотности:

$$K_a = \frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{L}]}{[\text{HL}]} \quad (1.23)$$

Его влияние начинает проявляться при рН, когда степень диссоциации HL становится значительно отличной от 1. В качестве условной границы можно принять значение $\text{pH} = \text{p}K_a + 1$. При этом значении рН степень диссоциации кислоты составляет 90% и уменьшается с уменьшением рН, что приводит к заметному уменьшению [L]. В этом случае нужно либо учитывать это уменьшение, либо рассчитывать условную константу комплексообразования для данного значения рН (далее - рН-условную константу). Она по определению представляет собой следующее:

$$\beta_{\text{ny}} = \frac{[\text{ML}]}{[\text{M}] \cdot C_f^n(\text{L})},$$

где $C_f(\text{L})$ - концентрация всех форм L, не связанных с металлом. Если L (1.24)

представляет собой h-основную кислоту, то pH-условная константа связана с реальной следующим выражением:

$$\beta_{ny} = \beta_n \cdot \left(1 + \sum_{i=1}^h \left([H^+]^{h-i+1} \cdot \prod_{j=i}^h (K_a)_j \right) \right)^{-n},$$

где $(K_a)_j$ - константа диссоциации кислоты по j-й ступени.

В некоторых работах [65] для пересчета pH-условной константы устойчивости фульвата меди в реальную использовали данные по константам диссоциации соответствующих фульвокислот, определенным потенциометрически. Однако определение констант диссоциации ГФК не всегда удается провести корректно [86], поэтому в большинстве работ ограничиваются определением pH-условной константы.

Зависимость констант комплексообразования ГФК с металлами от ионной силы раствора [87, 88] может быть обусловлена двумя эффектами. Во-первых, изменением коэффициентов активности электролитов в зависимости от ионной силы [49]. Во-вторых, изменением заряда полианиона ГФК в процессе комплексообразования.

Как правило, при определении констант устойчивости гуматов металлов специального внимания влиянию ионной силы не уделяют. Обычно ограничиваются определением условной константы при постоянной ионной силе или константы, экстраполированной на $I=0$. Последняя константа имеет гораздо больший термодинамический смысл [49], однако требует получения экспериментального материала при разных значениях ионной силы. Для учета полиэлектролитного эффекта предложен ряд моделей [19, 60, 89, 90], однако указанные модели весьма громоздки. Кроме того, они нередко рассматривают ГФК как отдельную фазу, что приводит к, а потому константы, получаемые в рамках соответствующей модели несопоставимы с константами гомофазного комплексообразования.

С другой стороны, если количество связанного металла составляет менее 5% от количества ионизированных групп, вклад полиэлектролитного эффекта незначителен [91]. В этом случае значения констант, полученные при

определенной ионной силе можно пересчитывать на $I=0$ по уравнению Дэвиса (разд. 1.2.2.2).

1.3.2.4. Учет неравноценности металлсвязывающих центров в ГФК и неравномерности их распределения по силе связывания

Для описания распределения металлсвязывающих центров по силе применяют ряд моделей, которые приведены ниже.

Одноцентровая модель (модель А). В простейшем случае предполагают, что все центры связывания в молекулах ГФК равноценны. Тогда для стехиометрии 1:1 константа устойчивости гумата металла находится по формуле

$$K = \frac{[ML]}{[M] \cdot [L]}, \quad (1.26)$$

где L - молекула ГФК или МСЦ. Для стехиометрии 1:n форма записи соответствующей константы несколько усложняется:

$$\beta_n = \frac{[ML_n]}{[M] \cdot [L]^n}. \quad (1.27)$$

Очевидно, что константы (1.26) и (1.27) являются некими средними величинами. При этом особого внимания заслуживает вопрос о процедуре усреднения, который рассмотрен на С. **Ошибка! Закладка не определена.** В дальнейшем мы будем называть подобные константы кажущимися.

Кажущаяся константа, определенная в соответствии с одноцентровой моделью, описывает связывание ГФК с металлом при фиксированных значениях рН, ионной силы и соотношения $C(L)/C(M)$ [92], то есть является условной. Расчеты на основании таких констант достаточно просты, однако их можно применять только для условий, близких к тем, в которых они были получены. Сравнивать константы для разных образцов также можно только в том случае, когда они получены в близких условиях. Кроме того, учитывая, что реально металлсвязывающие центры ГФК неравноценны, термодинамический смысл кажущейся константы неочевиден.

Двухцентровая модель (Модель Б). Модель допускает наличие в ГФК двух типов центров связывания с металлами [93]. Как правило, для расчета констант в соответствии с этой моделью используют концентрацию ГФК,

рассчитанную через молярную массу. Экспериментально находят тем или иным способом $[M]$ и отношение $[M \cdot \Gamma\text{ФК}]/[\Gamma\text{ФК}]$ и линеаризуют зависимость этого параметра от $[L]$ следующим образом (метод Скетчарда [94]):

$$\frac{\bar{v}}{[M]} = \beta_i (m_i - \bar{v}) \quad (1.28)$$

где $\bar{v} = \frac{[M \cdot \Gamma\text{ФК}]}{[\Gamma\text{ФК}]}$, m_i – среднее число центров i -го типа на моль $\Gamma\text{ФК}$, а β_i – константа устойчивости соответствующего комплекса. Определяя экспериментально \bar{v} , строят зависимость $\frac{\bar{v}}{[M]}$ от \bar{v} и графически определяют искомые величины [95] (Рис. 1.6).

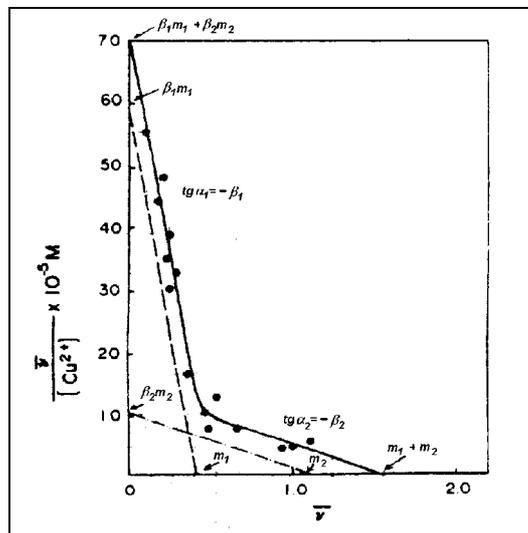


Рис. 1.6. График Скетчарда для связывания ионов металла двумя типами центров гумусовых кислот при наличии в ГФК двух типов МСЦ [95]. β_1 и m_1 относятся к “сильным” центрам, β_2 и m_2 – к “слабым”.

Расчеты по моделям такого типа достаточно хорошо согласуются с экспериментальными данными [96, 97] и часто используются.

Кроме метода Скетчарда в рамках двухцентровой модели применялся подход, связанный с минимизацией отклонения аналитической и экспериментальной зависимости $[M]$ от $C(M)$ [98]. При этом находили как $K(\text{МСЦ})$, так и содержание МСЦ обоих типов в речных ФК. Последнее колебалось в диапазоне 0.56-1.9 ммоль/г С для более слабого центра и 0.1-0.65 ммоль/г С для более сильного.

Многоцентровая модель (модель В). Допускает дискретное распределение МСЦ и описывает комплексообразование набором констант и долей групп, характеризующихся данной константой [78,99-101]. Из этих моделей представляет интерес модель фиксированных констант [78], на основании которой строится дискретное (в работе [78] - с шагом в 1 единицу $\lg K$) распределение лигандов по значениям $\lg K$ ($\lg K$ -спектр). В других случаях [99] моделируют ГФК смесью лигандов с определенными pK . Соответствующая теория разработана в [102]. В работе [99] показано, что кривые потенциометрического титрования ГФК металлами неплохо совпадают с рассчитанными кривыми титрования смеси лигандов.

Модель непрерывного распределения (Модель Г). Допускают непрерывное распределение МСЦ [67,70,93,99,103-108]. При этом функция распределения может как задаваться априорно, так и определяться.

В качестве априорно задаваемой чаще всего выступает функция Гаусса [68, 70, 107]. При гауссовом распределении МСЦ зависимость $[M \cdot \text{МСЦ}]$ (концентрация связанного металла) от $[M]$ (концентрация свободного иона металла) выражается следующим уравнением:

$$[M \cdot \text{МСЦ}] = \frac{C(\text{МСЦ})}{s \cdot \sqrt{2\pi}} \cdot \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{[M] \cdot K(M)}{1 + [M] \cdot K(M)} \cdot e^{-0.5 \left(\frac{\mu - \lg K(M)}{\sigma} \right)^2} d \lg K(M), \quad (1.29)$$

где $K(M)$ - константа связывания данного центра с металлом, $C(\text{МСЦ})$ - общая концентрация всех МСЦ, s - стандартное отклонение для значений $\lg K(M)$, $C(\text{МСЦ})$, μ - среднее значение $\lg K(M)$ (рассчитываются при минимизации отклонений экспериментальных зависимостей от уравнения (1.29).

К преимуществам Гауссовой модели распределения относится возможность определения общей молярной концентрации МСЦ. К недостаткам - априорное задание функции распределения, которая может не соответствовать реальной.

Принципиально иной подход заключается в экспериментальном определении функции распределения МСЦ по силе. С этой целью была предложена и термодинамически обоснована [109, 110] дифференциальная константа связывания, выражаемая как

$$K_{\text{dif}} = \frac{\sum_{i=1}^m K(\text{МСЦ}^i) \cdot \theta_i \cdot (1 - \theta_i) \cdot \delta_i}{\sum_{i=1}^m \theta_i \cdot (1 - \theta_i) \cdot \delta_i},$$

где $K(\text{МСЦ}^i)$ - константа связывания МСЦ i -го типа, θ_i - степень заполнения МСЦ i -го типа, δ_i - доля центров связывания i -го типа в общем числе центров связывания. Дифференциальную константу можно вычислить из экспериментальных данных по формуле, приведенной в [110]:

$$K_{\text{dif}} = -\frac{\alpha^2}{C(\text{M})} \cdot \frac{1 - \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha}\right) \cdot \left(\frac{d \ln C(\text{МСЦ})}{d \ln \alpha}\right)}{1 + (\alpha - 1) \cdot \left(\frac{d \ln(C(\text{M}) / C(\text{МСЦ}))}{d \ln \alpha}\right)}, \quad (1.31)$$

где

$$\alpha = C(\text{M}) / [\text{M}] \quad (1.32)$$

Для проведения расчетов по модели (1.31) необходимо предварительное определение $C(\text{МСЦ})$. Следует заметить, что определение K_{dif} (1.30) записано в соответствии с моделью дискретного распределения. Тем не менее, при расчете этой константы по уравнению (1.31) получается непрерывная зависимость K_{dif} от α . Более того, на основе экспериментальных данных авторы [67] построили непрерывную зависимость $\lg K_{\text{dif}}$ от $\lg(\alpha)$ и показали, что она линейно уменьшается. Это говорит о том, что граница между многоцентровой моделью и моделью непрерывного распределения весьма условна.

Модель непрерывного распределения МСЦ в терминах адсорбции металла на ГФК и, соответственно, получения изотерм в координатах $[\text{M} \cdot \text{МСЦ}] / C(\text{МСЦ}) = f([\text{M}])$ подробно разработана в [60].

Несмотря на ряд достоинств (в первую очередь, учет неравномерности распределения МСЦ по силе связывания), модель непрерывного распределения обладает рядом недостатков. Для ее использования требуется большой массив экспериментальных данных в широком диапазоне соотношений ГФК/металл. При этом точность измерений концентрации свободных ионов металла должна быть сопоставима с точностью измерения рН стеклянным электродом [68, 111]. К сожалению, лишь немногие методы удовлетворяют данным требованиям. Вдобавок, расчеты распределений металлов по формам на основании этих

моделей очень трудоемки. Поэтому иногда из полученного распределения вычисляют средневзвешенную константу (особенно это удобно делать, если распределение Гауссово), сводя таким образом модель Г к модели А [70].

Таким образом, получается дилемма: часть моделей распределения МСЦ по силе связывания требует получения большого объема экспериментального материала и громоздких расчетов, но при этом вполне адекватно характеризует металлсвязывающие центры; другая часть не требует большого объема экспериментальных данных и громоздких расчетов, но при этом неясно, насколько адекватно они характеризуют МСЦ. Последний вопрос обсуждается ниже.

Взаимосвязь многоцентровой и одноцентровой модели. Фактически, переход от многоцентровой модели к одноцентровой осуществляется через следующие уравнения связи:

$$[ML] = \sum_{i=1}^N [ML^i], \quad (1.33)$$

$$[L] = \sum_{i=1}^N [L^i], \quad (1.34)$$

где N - общее число типов центров связывания, L^i - молекула ГФК или МСЦ i -го типа. Большинство аналитических методов позволяют определить либо $[ML]$ либо $[L]$, но не позволяют определить $[ML^i]$ и $[L^i]$ (Приложение Б).

Следовательно, как было указано в [76], в рамках многоцентровой модели кажущаяся константа (1.26) выражается следующим образом:

$$K(ML) = \frac{\sum_{i=1}^N [ML^i]}{[M] \cdot \sum_{i=1}^N [L^i]}. \quad (1.35)$$

С другой стороны, средневзвешенная константа, по определению, выражается как

$$\bar{K} = \sum_{i=1}^N \delta_i \cdot K(МСЦ^i), \quad (1.36)$$

где $K(МСЦ^i)$ - константа устойчивости комплекса металла с центром связывания i -го типа, а δ_i - доля этого типа в общем числе центров связывания.

Проверим, совпадают ли кажущаяся константа (1.35) и средневзвешенная (1.36). Для этого в уравнении (1.36) выразим $K(i)$ и δ_i согласно их определению и вынесем $1/[M]$ из-под знака суммы. Тогда средневзвешенную константу можно записать более подробно:

$$\bar{K} = \frac{1}{[M]} \cdot \sum_{i=1}^N \frac{C(L^i)}{C(L)} \cdot \frac{[ML^i]}{[L^i]} \quad (1.37)$$

Выражение (1.37) можно свести к выражению (1.35) в одном и только одном случае: если для всех центров связывания $C(L^i)=[L^i]$, то есть если степень заполнения всех центров связывания, выражаемая как [67]

$$\theta_i = [ML^i]/C(L^i) \quad (1.38)$$

мала. Иначе кажущаяся константа, определяемая большинством методов (1.35) не совпадает со средневзвешенной.

Необходимо также заметить, что ни кажущаяся, ни средневзвешенная константы в общем случае не характеризуют энергетику связывания металла с МСЦ, поскольку из формулы

$$\Delta G = -RT \ln K \quad (1.39)$$

следует, что для получения усредненной энергии связывания необходимо усреднять логарифмы констант, а не сами константы.

Таким образом, рассматривая и сопоставляя вышеописанные модели можно сделать следующий вывод. Многоцентровая модель и модель непрерывного распределения позволяют рассчитывать константы устойчивости гуматов металлов, способные термодинамически характеризовать металлсвязывающие центры. Однако, расчеты по этим моделям требуют большого массива экспериментальных данных, полученных с большой точностью. Одноцентровая модель, наоборот, не требует большого массива экспериментальных данных, однако в общем случае для термодинамической характеристики металлсвязывающих центров она неприменима.

1.3.3. Химическая природа металлсвязывающих центров в ГФК и методы ее исследования

Химическая гетерогенность ГФК предполагает большое структурных фрагментов, ответственных за связывание металлов, которое обусловлено как

различием функциональных групп, участвующих в связывании металла, так и разнообразием их возможных сочетаний при образовании МСЦ. Универсального метода, который позволил бы оценить вклад всех возможных функциональных группировок ГФК в связывании металлов не существует. Методы и подходы, которые использовались для установления природы МСЦ, и результаты, полученные в рамках описываемых методов и подходов, приведены ниже.

ИК-спектроскопия. В ИК-спектрах гуматов металлов (Cd^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+}) наблюдаются полосы поглощения при 1400 и 1570-1610 cm^{-1} , характерные для симметричного и асимметричного колебания карбоксилат-иона. При этом полосы ок. 1700 cm^{-1} , характерной для свободной COOH -группы не наблюдали [19]. На основании этого был сделан вывод о том, что существенную роль в связывании металлов с ГФК играют карбоксильные группы.

ЭПР-спектроскопия. Данный метод применим только для исследования взаимодействия ГФК с ионами, имеющими неспаренные электроны, к которым предмет нашего рассмотрения (ион Hg^{2+}) не относится. Этим методом была показана роль салицилатных группировок в связывании Cu(II) [64].

γ, γ -корреляционная спектроскопия (TDPAC). Этот метод является достаточно новым. Он был применен [112] для исследования природы центров связывания Cd^{2+} и Hg^{2+} с ГФК. Исследование показало, что основную роль в связывании этих металлов играют амино- и тиольные группы.

Стехиометрия взаимодействия ГФК с металлами. Сопоставляя стехиометрию взаимодействия морских ГФК с металлами, определяемую полярографически, с их функциональным составом, авторы [113] пришли к выводу, что ГФК связывают металлы (Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+}) за счет взаимоудаленных карбоксильных, карбонильных и гидроксильных групп. При этом возможность связывания металлов карбонильными группами, на которую указано в данной работе, вызывает сомнение вследствие крайне малого сродства карбонильных групп к металлам.

В другой работе [66], основываясь на результатах потенциометрического определения содержания фрагментов салицилатного типа в ГФК с одной стороны, и стехиометрией взаимодействия медь:ГФК с другой стороны, авторы установили, что основную роль в связывании меди играют салицилатные

группировки. Это было подтверждено константами устойчивости гуматов (см. ниже). На схожем основании в работе [18] было указано на роль салицилатных и фталатных группировок в связывании Cu(II).

Константы устойчивости комплексов ГФК с металлами. Для установления химической природы МСЦ в ГФК обычно используют подход, представляющий ГФК как смесь лигандов с разными константами устойчивости соответствующих комплексов, что теоретически обосновано в [101]. Так, в работе [114] ГФК моделировали смесью лигандов, в которую входят цитраты, малонаты и аминокислоты. В [115] в состав модельной смеси входили лиганды, содержащие аминокислотные, салицилатные, дигидроксильные и кето-енольные фрагменты. Однако все способы установления природы МСЦ, основанные на моделировании ГФК смесью лигандов, не учитывают возможность координирования ГФК отдаленными структурными фрагментами. Наличие такого координирования не позволит напрямую соотносить константы устойчивости гуматов металлов с константами устойчивости их комплексов с модельными соединениями, поэтому к их результатам нужно подходить осторожно.

Таким образом, можно говорить, что результаты различных исследований согласованно указывают на роль карбоксилсодержащих фрагментов в связывании ГФК с металлами. Роль других функциональных групп не столь очевидна. По всей видимости, для установления природы центров связывания ГФК с металлами необходим комплексный подход, сочетающий различные методы.

1.4. Реакционная способность ГФК по отношению к Hg(II)

Как и для других металлов, при взаимодействии ГФК с Hg^{2+} наблюдали адсорбцию Hg^{2+} на твердых ГФК (0.23 ммоль/г, [55]), образование нерастворимых гуматов [58, 116] и комплексообразование. Кроме того, в связи с рядом особенностей Hg(II) по сравнению с другими тяжелыми металлами (Разд. 1.2) наряду с описанными процессами для нее возможно протекание таких специфических процессов, как восстановление и метилирование. При этом, как показывают многочисленные исследования, абиотическое метилирование Hg(II)

гумусовыми кислотами не играет принципиальной роли по сравнению с биотическим [117]. Поэтому ниже будут подробно рассмотрены только процессы комплексообразования и восстановления.

1.4.1. Комплексообразование ГФК с Hg(II)

Комплексообразование - основной путь взаимодействия ГФК с металлами (разд. 1.3). Этот процесс также описан для Hg(II) (Табл. 1.7).

Таблица. 1.7
Константам устойчивости гуматов ртути (литературные данные).

Тип ГФК и происхождение ГФК	pH	μ	Способ выражения [ГФК]	Метод	Модель распределения (разд. 1.3.2.4)	lgK	Лит-ра
ГК из морских отложений	5	?	ГФК твердые	Ионообменный	A (1:n)	5.2 (β_2)	[118]
Морские ГФК Речные ГФК Озерные ГФК Торфяные ГФК	8		моль/кг р-ра из $M_w = 4600 \div 32000$	Гель-фильтрации	A (1:1)	18.1 19.3-19.7 18.4-20.1 18.3	[62]
ГФК Москвы-реки	6.5	0.1	моль/л из $M_w(\text{ГФК})=4100$	Растворимости HgO	A (1:1)	11	[119]
Почвенные	4-6	0.1	ртутьсвязывающие центры, 2.6 ммоль/г С	Потенциометрический	Г (Гаусс)	4.7 (средн.)	[70]
ГФК фирмы "Aldrich"	7	?	ртутьсвязывающие центры, 1.9 ммоль/г ГФК	Сорбции на полиэтилене	A (1:1)	13.7-15.0	[34]*

* Константа устойчивости рассчитана нами по данным о влиянии ГФК адсорбцию Hg(II) на полиэтилене в дистиллированной воде, приведенным в [34]. Содержание ртутьсвязывающих центров в ГФК фирмы "Aldrich" было определено на основе наших экспериментов (разд.2.2). pH системы, содержащей ГФК и Hg(II) авторы не определяли, поэтому системе был приписан pH дистиллированной воды. Мы считали, что на полиэтилене сорбируется Hg(OH)₂ и рассчитывали $[HgPC]/[Hg(OH)_2]$, где РСЦ - ртутьсвязывающий центр (аналогично разд.2.2). На основании данных по pH и C(PC) рассчитывали константу устойчивости гумата ртути. Константа уменьшалась по мере увеличения соотношения ГФК:Hg(II), что могло быть обусловлено как неравноценностью центров связывания, так и закислением раствора за счет введения ГФК, сопровождающимся увеличением $[Hg^{2+}]/[Hg(OH)_2]$. Проведенные нами модельные расчеты показали, что за счет этого эффекта при снижении pH с 7 до 5.5, кажущаяся константа устойчивости гумата ртути должна была упасть на 3 порядка.

Как видно из таблицы, имеющиеся литературные данные различаются на 15 порядков. Этот факт требует подробного анализа всех работ с тем, оценить адекватность полученных констант процессам комплексообразования ГФК с Hg(II).

В первую очередь обращают на себя внимание низкие значения констант в работах [70 и 118]. Авторы работы [118] проводили эксперименты с твердыми препаратами ГФК, что заставляет сомневаться в адекватности полученных значений констант процессам, протекающим в растворах. Более того, авторы указывают, что к моменту измерения распределения ртути равновесие достигнуто не было. Следует также отметить, что использованные препараты ГФК имели “интенсивно-зеленый цвет”, что крайне нетипично для ГФК и указывает на загрязненность препарата.

В работе [70], также приводятся весьма низкие значения константы устойчивости. С нашей точки зрения, результаты данной работы противоречивы. Это связано с тем, что авторы определяли константы устойчивости гуматов ртути исходя из измерений концентрации свободного иона Hg^{2+} . Однако при условии $\lg K(\text{HgPCЦ})=4.7$, ГФК практически не будет влиять на $[\text{Hg}^{2+}]$. Чтобы это продемонстрировать, рассчитаем, насколько изменится $[\text{Hg}^{2+}]$ за счет ее связывания с ГФК в условиях этой работы.

Одну из серий экспериментов авторы [70] проводили при pH 6. Концентрация ГФК при этом составляла 28 мг С/л, что соответствует ~ 1 мкМ РСЦ. $\text{Hg}(\text{II})$ находилось в заведомом недостатке. Для расчета распределения $\text{Hg}(\text{II})$ по формам использовали формулу:

$$\frac{[\text{Hg}^{2+}]}{C(\text{Hg})} = \frac{1}{1 + \beta_2(\text{Hg}(\text{OH})_2) \cdot [\text{OH}^-]^2 + K(\text{HgPCЦ}) \cdot [\text{PCЦ}]}, \quad (1.40)$$

следующую из определений соответствующих констант. Значение $\lg \beta_2(\text{Hg}(\text{OH})_2)=21.83$ [28]. Тогда в отсутствие ГФК $[\text{Hg}^{2+}]/C(\text{Hg})=1.4791062 \cdot 10^{-6}$, а в присутствии - $1.4791061 \cdot 10^{-6}$. То есть введение ГФК вызывает изменение доли свободного иона Hg^{2+} на $10^{-5}\%$. Эта величина гораздо меньше ошибки потенциометрического метода, составляющего не менее 1% [120].

По всей видимости, указанное противоречие связано с использованием электрода на основе HgI_2 . HgI_2 довольно хорошо растворим (0.004 г/100г воды, что соответствует $9 \cdot 10^{-6}\text{M}$ [121]), что может вызвать различные артефакты.

На основании вышеизложенных соображений, значения $\lg \beta_2(\text{HgГФК})=5.2$ и $\lg K(\text{HgPCЦ})=4.6$ не следует рассматривать как адекватные оценки реакционной способности ГФК по отношению к $\text{Hg}(\text{II})$.

Анализ остальных работ не выявил факторов, которые могли бы существенно исказить значения констант устойчивости, приводимые авторами. Таким образом, можно говорить, что гуматы ртути - весьма устойчивые комплексы и значение их константы устойчивости не меньше, чем 10^{11} .

1.4.2. Восстановление Hg(II) гумусовыми кислотами

Вследствие большого окислительно-восстановительного потенциала пары $\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}^0$ ($E^0=0.850$ В) ртуть способна легко восстанавливаться даже в присутствии слабых восстановителей. Наличие в ГФК гидрохинонных групп, а также других фрагментов, несущих неспаренные электроны, позволяет предположить возможность восстановления Hg(II) до элементарной под действием ГФК. С другой стороны, связывание Hg(II) в комплексные соединения с ГФК должно понижать потенциал восстановления ртути, и, как следствие, препятствовать восстановлению. Поэтому зависимость скорости восстановления Hg(II) от концентрации ГФК может иметь весьма сложный вид. Кроме того, процесс абиотического восстановления Hg(II) конкурирует с биотическим, причем последний доминирует в почвах и донных отложениях [122]. Таким образом, возможность абиотического восстановления Hg(II) ГФК труднопредсказуема, и зависит от различных факторов (концентрация ГФК и других лигандов, содержание кислорода, наличие света).

Так, в работе [123] показано наличие абиотического восстановления Hg(II) ГФК до элементарной, которое, однако, протекает очень медленно (при $2 \cdot 10^{-6}$ М ртути (II) и 10 мг/л ГФК в течение 50 ч восстанавливается не более 25% введенной ртути), причем хлориды подавляют этот процесс.

В отличие от предыдущей работы данные [122, 124] указывают на очень быстрое восстановление Hg(II). Так, согласно [122], при $\text{pH} \leq 3$, $5 \cdot 10^{-6}$ М $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ и $5 \cdot 10^{-4}$ М ФК вся введенная ртуть практически полностью восстанавливается до элементарной в течение 15 секунд, причем после введения $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ выделение ртути начинается моментально. При $\text{pH} > 6$ за то же время восстанавливается 20% введенной ртути. В работе [124] получены схожие результаты для синтетических ГФК, однако здесь выделение ртути длилось в течение ~5 мин после введения

Hg(II) в раствор ГФК. Из данных работы неясно, происходит ли восстановление полностью.

Следует отметить, что данные о высокой скорости восстановления Hg(II) ГФК [122, 124] противоречат работе [34], авторы которой наблюдали практическое отсутствие потерь Hg(II) из раствора, содержащего 50 мг/л ГФК, в течение 15 дней. Более того, результаты [122, 124] противоречат результатам по комплексообразованию Hg(II) с ГФК, приведенным в предыдущем разделе. Во всех работах, посвященных комплексообразованию, указания на потери Hg(II) отсутствуют. Кроме того, представляется маловероятным, что окислительно-восстановительная реакция в очень разбавленных растворах с участием весьма слабого восстановителя способна полностью пройти менее, чем за 15 секунд.

Таким образом, несмотря на наличие данных о быстром восстановлении Hg(II) гумусовыми кислотами, наличие такого процесса представляется маловероятным.

* * *

Таким образом, литературные данные подтверждают наличие разных типов взаимодействия ГФК с Hg(II). Анализ имеющихся данных показывает, что основное направление взаимодействия ГФК с Hg(II) - комплексообразование. Из этого следует, что ГФК способны влиять на токсичность Hg(II).

1.5. Токсикологические аспекты взаимодействия гумусовых кислот с Hg(II)

1.5.1. *Формы существования Hg(II) в природной среде*

Свойства Hg(II), описанные в разд. 1.2.1 определяют ее сложное поведение в природной среде. Этому вопросу посвящено большое количество публикаций. Многочисленные литературные данные [125, 126, 127, 128, 129] по формам существования Hg(II) в водных экосистемах и равновесиям между ними обобщены на Рис. 1.7.

Из Рис. 1.7 видно, что формы существования Hg(II) в водной среде, в том числе неорганические, весьма разнообразны. Поэтому необходимо рассмотреть данные о токсичности ее различных форм.

1.5.2. Биологическое действие различных форм Hg(II) на живые организмы

1.5.2.1. Общие механизмы токсического действия Hg(II)

Токсическое действие соединений Hg(II) основано на их взаимодействии с функциональными группами ферментных и мембранных белков, прежде всего сульфогидрильными:



а также аминными и карбоксильными [130, 131, 132, 133]. Указанные взаимодействия изменяют конформацию белковых молекул, что приводит к нарушению их ферментной и транспортной активности. Высокое сродство Hg^{2+} к указанным функциональным группам способствует ее накоплению в живых организмах.

Известно, что соединения, способные связывать Hg(II) в прочные комплексы снижают ее токсичность. Так, введение аминокислот способствует снижению токсического действия Hg(II) на водоросли [134]. Следует отметить, что в качестве противоядий при отравлениях Hg^{2+} используют такие меркурофильные лиганды, как 2,3-димеркаптопропанол (БАЛ), 2,3-димеркаптосульфонат натрия (унитол) и т.п. [131]. Это говорит о том, что токсическое действие можно снизить, тем или иным способом сместив равновесие реакции (1.41) влево. При этом комплексные соединения Hg(II) различной прочности скорее всего, будут оказывать различное токсическое действие. Однако указанное положение необходимо проверить по литературным данным.

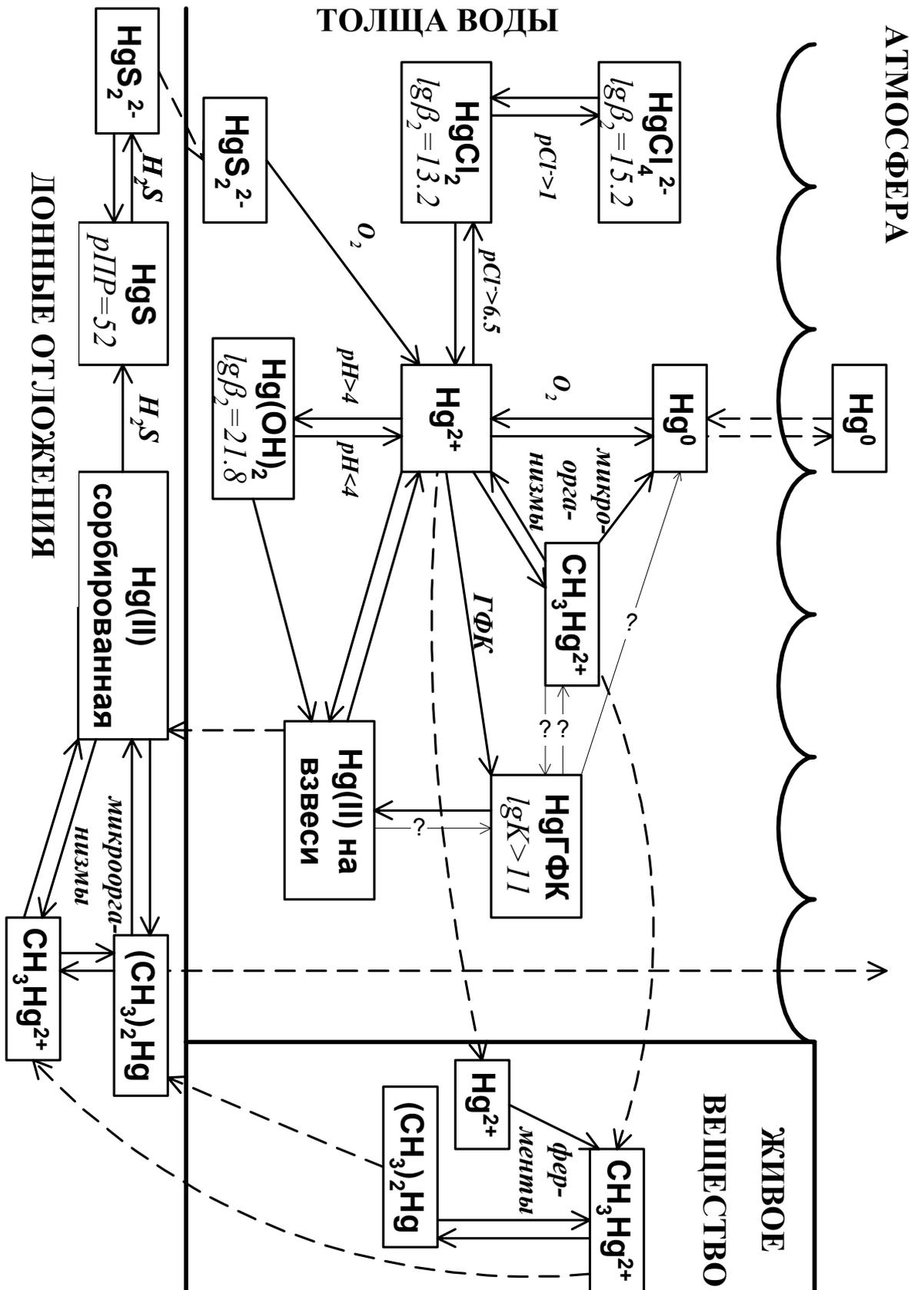


Рис. 1.7. Формы существования Hg(II) в водных экосистемах и равновесия между ними. Сплошные линии - переходы между формами, пунктирные - миграция между компонентами экосистемы.

1.5.2.2. Биологическое действие Hg(II) на различные виды водорослей

В качестве тест-объекта для сопоставления биологического действия различных форм Hg(II) были выбраны одноклеточные водоросли, что объясняется в первую очередь возможностью работы с представительными количествами этих организмов. Кроме того, связывание металлов с биомассой водоросли хорошо описывается в терминах сорбции [135, 136], что позволяет описывать все процессы, происходящие в тест-системе с участием микроводорослей с помощью теории химических равновесий.

Влияние формы существования неорганической Hg(II) в водной среде на ее токсичность по отношению к морским диатомовым водорослям изучено в [31]. С помощью биотестирования сред с различным рН и концентрацией Cl^- авторами показано, что токсичность и скорость накопления Hg(II) определялась равновесной концентрацией HgCl_2 , а не общей концентрацией Hg(II) или Hg^{2+} . Кроме того, этими же авторами установлено, что накопление Hg(II) рыбами из тест-сред с различными значениями рН и pCl^- коррелирует с коэффициентом распределения Hg(II) между октанолом и данной средой.

В Табл. 1.8 сопоставлены результаты других работ по токсическому действию неорганических форм Hg(II). В них, однако, определяли общую токсичность Hg(II) в среде для биотестирования, не обсуждая распределение Hg(II) по формам. Поэтому можно говорить только о вероятной форме нахождения Hg(II) в среде для биотестирования, основываясь на ее составе. Однако нередко состав среды для биотестирования не указывается [137]. Кроме того, сопоставление данных различных авторов затруднено, поскольку токсикологические эксперименты проводились в разных условиях и с различными тест-объектами. Между тем, отмечена большая разница в видовой чувствительности различных микроводорослей к Hg(II) [133].

Токсичность Hg (II) в разных средах по отношению к различным видам водорослей.

Объект	Тест-функция	Среда*	Вероятная форма Hg(II)	Экспозиция	Действ. конц-ция Hg(II), мкМ	Лит-ра
1	2	3	4	5	6	7
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	скорость выделения O ₂	Гаррисона	HgCl ₄ ²⁻	75 мин	20-80	[138]
7 культур морских водорослей	инт. фотосинтеза	Гольдберга; морская вода	HgCl ₄ ²⁻	1 сут.	0.005-0.5	[139]
<i>Ditylum Brightwellii</i>	рост клеток	Шребера	HgCl ₄ ²⁻	5 сут.	0.05 (ЕК ₅₀)	[140]
<i>Euglena</i> spp.	различные	?	Hg(OH) ₂	0-10 сут.	0.01	[141,142]
<i>Nitzschia acicularis</i>	?	?	Hg(OH) ₂	?	0.75 - 1	[143]
<i>Scenedesmus Quadricauda</i>	рост клеток	Кратца-Майерса		30 сут.	50-250	[137]
<i>Chlorella vulgaris</i>	рост клеток	Бристоля	Hg(OH) ₂	7 сут.	0.074 (ЕК ₅₀)	[134]
----//----	рост клеток	Бристоля	Hg(OH) ₂ или HgЭДТА	33 сут.	50 (ЕК ₅₀)	[144]
----//----	инт. фотосинтеза	Тамия	Hg(OH) ₂	4-6 ч	0.0025-0.075	[145]
----//----	----//----	----//----	Hg(OH) ₂	1-48 ч	36 - 110	[146]
----//----	рост клеток	Chu 10	Hg(OH) ₂	3 нед.	0.5 - 4	[147]

* данные по составу сред для биотестирования см. Приложение В.

Как видно из таблицы, результаты токсикологических экспериментов даже для одинаковых видов водорослей в сходных условиях различаются на порядки (ср. [134] и [144]; [145] и [146]). Различие в токсичности Hg(II) у авторов [134] и [144], возможно, обусловлено тем, что авторы [144], в отличие от [134] добавляли в тест-среду ЭДТА, которая связывает Hg(II) в прочные комплексы. В других случаях ничего о причинах расхождений результатов сказать нельзя. Тем не менее, из литературных данных очевидно, что распределению Hg(II) по формам при исследовании ее биологического действия нужно уделять первоочередное внимание.

1.5.3. Влияние гумусовых кислот на токсическое действие Hg(II) и других тяжелых металлов.

Тот факт, что ГФК способствуют снижению токсичности и накопления большинства тяжелых металлов, подтверждается многочисленными исследованиями [148, 149, 150, 151, 152]. Указанный эффект объясняется снижением равновесной концентрации свободных ионов металлов [152, 153].

К сожалению, прямых исследований влияния ГФК на токсическое действие Hg(II) почти нет. Однако существует ряд полевых исследований, посвященных влиянию цветности воды (обуславливаемую в первую очередь ГФК) на бионакопление ртути. Данные по этому вопросу весьма противоречивы. Так, авторы [154] утверждают, что существует прямая взаимосвязь между концентрацией ГФК в и содержанием Hg(II) в рыбах. Однако в указанной работе не учитывалось влияние рН, понижение которого сопровождается увеличением концентрации ГФК и также приводит к увеличению содержания ртути в рыбах [155, 156]. С другой стороны, авторы [157] выявили наличие весьма умеренных корреляций между содержанием Hg(II) в рыбах и цветностью только для глубоких (средняя глубина >5 м) озер. Для мелких озер взаимосвязь практически отсутствовала. Однако из данных указанных работ неясно, в какой мере содержание Hg(II) в рыбах коррелирует с ее концентрацией в воде, и не обусловлено ли влияние ГФК увеличением концентрации растворенных форм Hg(II). Таким образом, роль ГФК в процессах накопления Hg(II) в рыбах остается невыясненной.

Результаты лабораторных исследований, направленных на изучение влияния ГФК на токсичность и бионакопление Hg(II), говорят о снижении обоих эффектов. Так, ГФК снижали токсичность Hg(II) по отношению к *Daphnia magna* [158]. В экспериментах с рыбами было показано падение коэффициента биоаккумуляции ^{203}Hg в рыбах *Oryzias latipes* в 20 раз за счет введения 20 мг/л ГФК (0.5 мг/л Hg(II); 40 ч экспозиция) [159]. Сходные результаты получили авторы [160] для рыб *Salmo gairdneri*.

Таким образом, имеющиеся данные позволяют утверждать о наличии у ГФК детоксицирующих свойств по отношению к Hg(II), однако эти свойства

были проверены на весьма ограниченном круге биообъектов. Кроме того, в литературе отсутствует информация о подходах, которые позволили бы предсказывать детоксицирующее действие ГФК на основании их структурных параметров или количественных характеристик их реакционной способности.

Рассмотренный литературный материал позволяет сделать следующие выводы:

Различные способы описания реакционной способности ГФК по отношению к тяжелым металлам либо требуют большого массива экспериментальных данных, полученных с малыми погрешностями, либо не позволяют получить характеристики, имеющие явный термодинамический смысл.

Гумусовые кислоты способны образовывать как нерастворимые, так и растворимые соединения с Hg(II), причем в природных условиях образуются преимущественно последние. Указанные процессы осложняются гидролизом иона Hg^{2+} . Данные по константам устойчивости растворимых гуматов противоречивы, однако можно сделать вывод, что эти комплексы весьма прочны.

Количественная взаимосвязь между структурой ГФК и их реакционной способностью не описана, однако исходя из соответствующих закономерностей для низкомолекулярных органических лигандов можно сделать вывод, что величины констант устойчивости гуматов Hg(II) будут в первую очередь определяться природой группировок, непосредственно отвечающих за связывание Hg(II), а затем - влиянием химического окружения на электронную плотность на указанных группировках.

Данные о природе структурных фрагментов ГФК, непосредственно ответственных за связывание Hg(II) отрывочны.

ГФК могут снижать токсичность и бионакопление Hg(II) различными организмами, однако количественная взаимосвязь между реакционной способностью ГФК и указанными эффектами не описана. При исследовании этих эффектов особое внимание нужно уделять форме существования Hg(II).

2. Результаты и их обсуждение

2.1. Выделение и характеристика препаратов ГФК

Объектами настоящего исследования являются нефракционированные препараты гумусовых кислот различного происхождения. Выбор данных объектов был обусловлен тем фактом, что любое фракционирование веществ с непрерывным распределением свойств весьма условно. Характеризуя гумусовые кислоты в целом, а не фракции гуминовых или фульвокислот, можно судить о свойствах, присущих всему веществу, а не его отдельным компонентам. Данный подход облегчает перенесение закономерностей, полученных в лабораторных условиях, на уровень реальных систем. Для того, чтобы результаты настоящей работы можно было соотносить с результатами работ, в которых отдельно изучаются свойства гуминовых и фульвокислот, в список изучаемых объектов были внесены препараты гуминовых кислот (ГК) почв.

Нефракционированные препараты ГФК выделяли из основных типов природных источников этих веществ - торфа, донных отложений, почв и вод. Использовали также препараты ГК почв и угля.

2.1.1. Выделение препаратов и их физические свойства

Для проведения исследований по стандартным методикам были выделены в препаративных количествах и охарактеризованы 10 образцов ГФК и 2 образца растворенного органического вещества (РОВ) природных вод, которое на 80% состоит из ГФК [161]. Выборка образцов охватывала основные источники происхождения ГФК - торф, донные отложения, почвы и природные воды. Кроме того, для повышения представительности исследуемой выборки использовалось 13 образцов гумусовых кислот, предоставленных лабораторией ФОХ и факультетом почвоведения МГУ.

Твердые препараты гумусовых кислот представляли собой аморфные порошки от темно-желтого до коричневого цвета, причем более светлая окраска была характерна для образцов водного происхождения.

Исследование растворимости препаратов показало, что они практически нерастворимы в бензоле, хлороформе, хлористом метиле, пиридине, ТГФ, эфире, ограниченно растворимы в полярных апротонных растворителях (ДМСО и ДМФА) и дистиллированной воде, но обладают значительной растворимостью в растворах щелочей (до 20 г/л). Препараты не имели фиксированных точек плавления и разлагались при нагревании свыше 150⁰С.

2.1.2. Характеристика состава препаратов гумусовых кислот

2.1.2.1. Элементный состав препаратов ГФК

Для характеристики элементного состава препаратов ГФК необходимо было найти содержание С, Н, N, S и I. Содержание С, Н, N и S в препаратах определяли методами количественного полумикроанализа. Этими же методами определяли содержание золы. Первичные данные элементного анализа пересчитывали на органическое вещество (ОВ), то есть на беззольную часть препарата. Содержание кислорода рассчитывали по разности между общей массой ОВ в препарате и массой вышеперечисленных элементов. Результаты приведены в Табл. 2.1. При этом жирным курсивом отмечены препараты, выделенные в ходе настоящей работы.

Таблица 2.1

Элементный состав препаратов ГФК

Препарат	Элементный состав, %					Золь- ность, %	Н/С	О/С	С/Н
	С	Н	О	N	S				
ГФК торфа									
<i>MT4</i>	<i>49.2</i>	<i>5.1</i>	<i>42.4</i>	<i>1.4</i>	<i>1.9</i>	<i>0.0</i>	<i>1.24</i>	<i>0.65</i>	<i>41</i>
T4	49.1	5.2	42.1	2.4	1.1	1.5	1.26	0.64	24
T5	49.4	4.9	42.4	2.3	1.0	3.0	1.20	0.64	25
T6	50.2	4.8	42.0	1.1	2.0	3.3	1.14	0.63	51
T7	49.2	4.8	41.4	1.8	2.8	2.0	1.17	0.63	31
верх	50.1	4.8	41.6	2.1	1.4	1.4	1.14	0.62	27
низ	50.7	4.7	40.6	2.5	1.6	2.1	1.11	0.60	24
ГФК донных отложений									
<i>МИ2</i>	<i>48.6</i>	<i>4.9</i>	<i>41.1</i>	<i>2.1</i>	<i>3.4</i>	<i>6.0</i>	<i>1.20</i>	<i>0.63</i>	<i>27</i>
<i>МИ13</i>	<i>47.9</i>	<i>5.7</i>	<i>39.1</i>	<i>1.9</i>	<i>5.4</i>	<i>4.0</i>	<i>1.43</i>	<i>0.61</i>	<i>30</i>
<i>Лух</i>	<i>39.8</i>	<i>5.1</i>	<i>52.1</i>	<i>3.0</i>	—	<i>35.0</i>	<i>1.54</i>	<i>0.98</i>	<i>16</i>

Препарат	Элементный состав, %					Золь- ность, %	Н/С	О/С	С/Н
	С	Н	О	N	S				
ГФК поверхностных вод									
<i>МХ11</i>	<i>41.6</i>	<i>7.0</i>	<i>46.3</i>	<i>1.4</i>	<i>3.7</i>	<i>19.2</i>	<i>2.02</i>	<i>0.83</i>	<i>36</i>
<i>МХ7</i>	<i>38.1</i>	<i>5.4</i>	<i>54.0</i>	<i>н/о</i>	<i>2.5</i>	<i>48.0</i>	<i>1.70</i>	<i>1.06</i>	—
<i>МХ8</i>	<i>45.7</i>	<i>4.9</i>	<i>44.9</i>	<i>0.6</i>	<i>3.9</i>	<i>18.0</i>	<i>1.28</i>	<i>0.74</i>	<i>87.5</i>
<i>МХ14</i>	<i>33.5</i>	<i>5.0</i>	<i>61.6</i>	<i>н/о</i>	—	<i>57.6</i>	<i>1.77</i>	<i>1.38</i>	—
бв1	41.0	3.7	50.5	3.1	1.6	19.6	1.09	0.92	15
РОВ поверхностных вод									
<i>МН4</i>	<i>43.8</i>	<i>4.7</i>	<i>49.9</i>	<i>0.5</i>	<i>1.1</i>	<i>19.6</i>	<i>1.30</i>	<i>0.85</i>	<i>103</i>
<i>МН8</i>	<i>43.0</i>	<i>6.5</i>	<i>50.5</i>	<i>н/о</i>		<i>30.7</i>	<i>1.81</i>	<i>0.88</i>	—
ГФК почв									
<i>МП9</i>	<i>44.7</i>	<i>6.8</i>	<i>42.8</i>	<i>2.2</i>	<i>3.6</i>	<i>27.5</i>	<i>1.81</i>	<i>0.72</i>	<i>24</i>
<i>МП12</i>	<i>48.4</i>	<i>5.1</i>	<i>39.0</i>	<i>3.0</i>	<i>4.6</i>	<i>5.9</i>	<i>1.27</i>	<i>0.60</i>	<i>19</i>
ЧД	46.4	5.1	42.7	3.4	2.5	5.3	1.31	0.69	16
ГК почв									
ПДл(Н)	53.1	5.0	38.2	3.7	—	1.7	1.13	0.54	17
СЛл	42.1	4.6	47.1	4.1	2.1	6.8	1.32	0.84	12
ПДл	44.6	4.7	43.8	4.2	2.7	8.9	1.27	0.74	12
ГК угля									
Алд	59.2	5.2	34.7	0.9	—	27.0	1.06	0.44	0.01
АГК	57.3	4.8	36.0	0.6	1.3	14.6	1.01	0.47	0.01

В первую очередь обращает на себя внимание высокая зольность многих выделенных препаратов. Она создает некоторые трудности при определении их элементного состава. Так, определенное методами автоматического полумикроанализа содержание углерода в ОВ высокозольных препаратов значительно меньше, чем в ОВ низкозольных. При этом для всех препаратов, кроме коммерческих, между содержанием углерода и зольностью наблюдается хорошая обратная корреляция (Рис. 2.1). Это может быть обусловлено связыванием углерода со щелочноземельными металлами с образованием карбонатов, которые не разлагаются в условиях элементного анализа, либо неполным сгоранием углерода в условиях микроанализа.

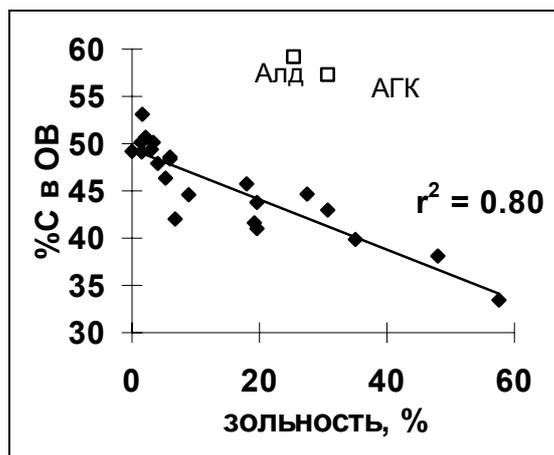


Рис. 2.1. Зависимость содержания углерода в ОВ ГФК от зольности препарата.

Как следствие, искажаются такие важные характеристики ГФК, как атомные соотношения Н/С и О/С, являющиеся брутто-показателями ненасыщенности и окисленности ГФК (Рис. 2.2, Рис. 2.3)

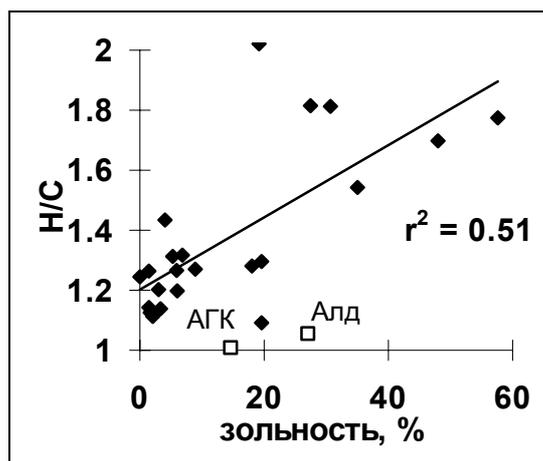


Рис. 2.2. Зависимость отношения Н/С от зольности препаратов ГФК

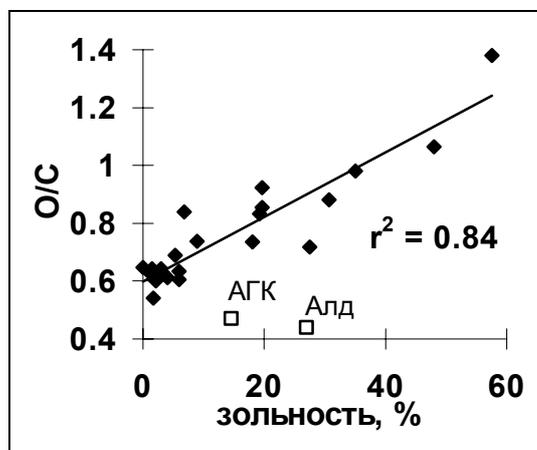


Рис. 2.3. Зависимость отношения О/С от зольности препаратов ГФК

Вышеизложенные результаты ставят проблему влияния зольных компонентов на данные элементного анализа ГФК. Первым шагом к ее решению должно было стать определение состава минеральной компоненты ГФК. При этом следовало учитывать, что высокая зольность могла быть обусловлена двумя причинами. Во-первых, некачественным обессоливанием (тогда зольность должна быть обусловлена в первую очередь натрием). Во-вторых, природными минеральными компонентами, неотделимыми от ГФК в ходе использованных нами процедур выделения.

Для определения состава минеральной компоненты растворы всех ГФК, кроме ПДл(Н), ПДл и СЛл, были проанализированы методами АЭС и АЭС-ИСП. Анализ трех указанных растворов не проводили, поскольку они были получены растворением твердых препаратов в щелочи и содержали поэтому заведомый избыток минеральных компонентов по сравнению с чистыми препаратами.

Из полученных данных (Приложение Г) и концентрации ГФК рассчитывали молярное содержание соответствующего элемента в ГФК. Далее, на основании химических свойств данного элемента делали предположение о форме, в которой он присутствует в золе и вычисляли ее молярное содержание. На основании полученных значений для каждого элемента рассчитывали массу зольной формы, приходящейся на единицу массы ГФК. Также рассчитывали суммарную массу золы по данным АЭС-ИСП и соотносили ее с результатами прямого определения зольности (Табл. 2.2).

Учитывая трудность разложения соответствующих карбонатов, считали, что все щелочные металлы, кальций и магний в условиях определения превращаются в карбонаты, а остальные элементы - в оксиды. Однако ситуация осложнялась наличием в золе кислотных оксидов (SiO_2 , TiO_2 , V_2O_5 , Al_2O_3), которые могут реагировать с карбонатами с выделением углекислого газа:



Поэтому содержание золы в ГФК из данных ИСП рассчитывали для двух крайних случаев: реакция кислотных оксидов с карбонатами отсутствует (ϖ_{\max}) и кислотные оксиды реагируют с карбонатами в соотношении 1:1 (ϖ_{\min}).

Таблица 2.2

Состав минеральных матриц в препаратах ГФК

Элемент	Содержание зольной формы минерального элемента в ГФК, мг/г												ω_{\min} , - ω_{\max} %	$\omega_{\text{эксп}}$, %
	Na	Cu	K	Ca	Mg	Al	Si	Fe	Zn	Mn	B	Ti		
Форма	Na ₂ CO ₃	CuO	K ₂ CO ₃	CaCO ₃	MgCO ₃	Al ₂ O ₃	SiO ₂	Fe ₂ O ₃	ZnO	MnO ₂	B ₂ O ₃	TiO ₂		
ГФК торфа														
MT4	4.5	0.03	1.5	0.4	0.1	1.1	5	1.3	0.0	0.13			1.1-1.4	0.0
T4	4.4	0.31	22	34	6.4	5.9	24	3.3	2.0	0.23	0.9		8.6-10.4	1.5
T5	10.3	0.10	5	32	6.9	2.9	22	2.6	0.6	0.35			6.7-8.3	3.0
T6	17.4	0.23	17	73	16.4	7.6	45	2.7	1.1	0.32	3.4		14.8-18.3	3.3
верх	2.9	0.10	5	32	2.8	2.2	18	0.8	0.4	0.26			5.2-6.5	1.4
низ	5.2	0.17	10	15	2.9	2.5	12	3.6	0.5	0.27			4.4-5.3	2.1
ГФК донных отложений														
МИ2	0.0	0.28	12	9	2.2	6.9	23	19.8	0.5	0.40			6.5-7.4	6.0
МИ13	2.7	0.33	17	24	4.0	3.2	26	2.4	0.9	0.51			6.2-8.0	4.0
Лух	0.6	0.82	57	65	12.7	12.4	151	90.3	3.8	2.77	11.8		35-41	35.0
ГФК поверхностных вод														
MX11	19.4	0.71	61	130	19.4	8.6	89	2.4	2.3	1.36			27-33	19.2
MX7	8.9	0.64	31	82	10.8	5.9	424	2.1	1.8	0.77	5.0		52-57	48.0
MX8	16.8	0.70	39	64	10.5	6.6	139	1.9	1.4	1.43	18.7		25-30	18.0
MX14	4.2	0.63	52	50	18.7	20.0	1141	15.1	1.3	1.30	15.6		127-132	57.6
бв1	4.7	0.55	31	111	7.4	4.9	412	1.0	2.0	0.81	3.8		51-58	19.6
РОВ поверхностных вод														
МН4	94.0	0.63	67	78	57.8	0.9	84	7.2	1.4	1.16			33-39	19.6
МН8	86.8	2.14	181	113	47.1	15.4	170	10.0	5.0	2.60			51-63	30.7
ГФК почв														
МП9	0.7	0.14	14	9	12.5	15.7	107	18.7	0.4	0.29	2.1	1.2	17.0-18.2	27.5
МП12	0.08	0.15	14	53	15.3	5.5	18	16.8	0.5	0.47		1.2	11.1-12.5	5.9
ЧД	2.5	0.10	8	24	2.2	1.9	18	0.6	0.3	0.19			4.0-5.7	5.3
ГК угля														
Алд	3.9	0.61	17	24	3.5	4.6	24	11.7	1.3	0.54	8.2		8.2-9.9	27.0
АГК	18.5	0.19	16	18	0.8	16.6	27	33.4	0.4	0.38		2.4	10.9-13.4	14.6

В первую очередь обращает на себя внимание, что для большинства препаратов, особенно низкозольных, даже минимальная зольность, рассчитанная из данных ИСП значительно превышает величину, определенную методами органического полумикроанализа. Экстремальная ситуация была зафиксирована для препарата MX14, зольность которого превышала 100%. Это говорит о том, что данные ИСП, особенно в случае малого содержания минеральных элементов, заметно искажаются, что обусловлено, по-видимому, влиянием органической матрицы. Однако они весьма полезны для анализа качественного состава зольных компонентов ГФК.

Как следует из Табл. 2.2, основными зольными компонентами являются K, Ca, Si, причем K и Ca преобладают в торфяных и почвенных ГФК, а Si - в

водных, а также в препарате Лух, выделенном из донных отложений с большим содержанием песка, и МП9, выделенном из глинистой почвы. Если в случае последних двух препаратов можно говорить, что кремний - примесь, не связанная с ГФК, а попавшая в них при щелочной экстракции почв и донных отложений, то в случае водных препаратов этого сказать нельзя. По всей видимости, кремнекислотные фрагменты прочно связаны с водными ГФК, что говорит о высоком сродстве ГФК к SiO_2 .

Для нативных водных препаратов ГФК характерно относительно высокое содержание Na. Для остальных препаратов содержание карбоната натрия в золе (в расчете на определенную зольность) составляет 0-10% в случае высокозольных препаратов и 20-53% в случае низкозольных торфяных препаратов. Это говорит о том, что обессоливание прошло качественно, а зольность препаратов преимущественно обусловлена элементами, прочно связанными с ГФК и не отделяющимися в ходе использованных нами процедур выделения.

Учитывая наличие в золе ГФК элементов, формирующих прочные карбонаты, содержание углерода в ГФК было исправлено с учетом того, что часть углерода переходит в карбонаты щелочных и щелочноземельных металлов. Как и в случае расчета зольности по данным ИСП, исправленное значение содержания углерода рассчитывали для двух крайних случаев: для случая, когда реакция кислотных оксидов с карбонатами отсутствует ($\omega_{\max}(\text{C})$) и для случая, когда имеющиеся кислотные оксиды реагируют с карбонатами в соотношении 1:1. При этом считали, что содержание остальных органогенных элементов в ГФК остается постоянным. Исправленный для случая отсутствия реакции между карбонатами и кислотными оксидами элементный состав ГФК приведен в Приложении Г.

Однако даже максимальные поправки для содержания углерода сохраняют зависимость между содержанием углерода в ГФК и их зольностью (Рис. 2.4).

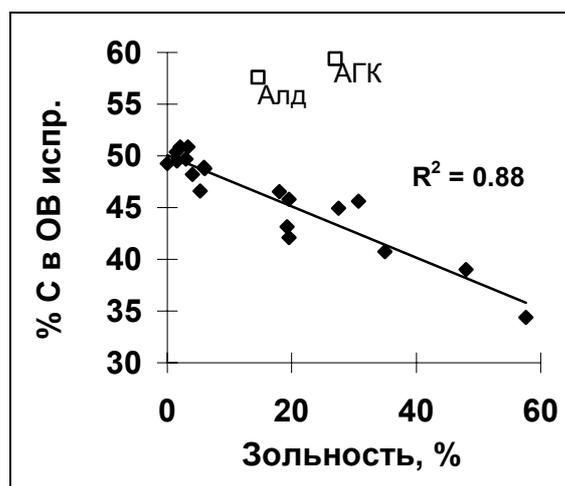


Рис. 2.4. Взаимосвязь между зо́льностью ГФК и содержанием углерода с учетом его возможного связывания в карбонаты.

Такая зависимость содержания углерода в ГФК от зо́льности препарата говорит о том, что зо́льные компоненты в условиях быстрого пиролитического вскрытия пробы, используемого в автоматических микроанализаторах.

Таким образом, для высокозо́льных (>10%) препаратов элементный состав нельзя считать надежной характеристикой ГФК. При этом в ряду высокозо́льных препаратов особняком стоят коммерческие АГК и Алд, для которых характерно высокое содержание углерода. В свою очередь, элементный состав низкозо́льных препаратов довольно близок и вполне согласуется с литературными данными (разд. 1.1). Тот факт, что отношение Н/С в них составляет 1.1-1.3 говорит о большом содержании в ГФК ненасыщенных структур, а отношение О/С=0.6-0.7 говорит о наличии большого количества килородсодержащих функциональных групп. Эти группы могут способствовать связыванию ГФК с тяжелыми металлами.

2.1.2.2. Молярные массы препаратов ГФК

Средние молярные массы выделенных гумусовых кислот определяли геле-хроматографически с калибровкой по полидекстранам. Результаты приведены в Табл. 2.3.

Таблица 2.3

Молярные массы выделенных препаратов ГФК (тыс. г/моль)

Торфяные ГФК		ГФК донных отложений		Водные ГФК		Почвенные ГФК		Коммерческие ГФК	
Препарат	М	Препарат	М	Препарат	М	Препарат	М	Препарат	М
T4	18.5	<i>МИ2</i>	<i>13.8</i>	<i>МН4</i>	<i>7.1</i>	ПДл(Н)	14.3	АГК	18.5
T5	18.5	<i>МИ13</i>	<i>13.0</i>	<i>МХ8</i>	<i>5.3</i>	СЛл	16.4		
T6	16.4			<i>МН8</i>	<i>5.8</i>	ПДл	12.2		
верх	17.2					ЧД	13.5		
низ	19.8								

Как видно из таблицы, препараты значительно различаются по молярной массе. Так, для торфяных препаратов она составляет 16-20 тыс. г/моль, для почвенных - 12-16 тыс. г/моль и для водных - 5-7 тыс. г/моль. Таким образом, молярные массы водных препаратов ГФК значительно меньше, чем остальных. По этой причине, комплексы металлов с водными ГФК могут быть в окружающей среде более подвижными, чем с остальными ГФК.

2.1.2.3. ИК-спектры препаратов ГФК

Выделенные препараты гумусовых кислот были охарактеризованы методом ИК-спектроскопии. Типичные спектры приведены на Рис. 2.5.

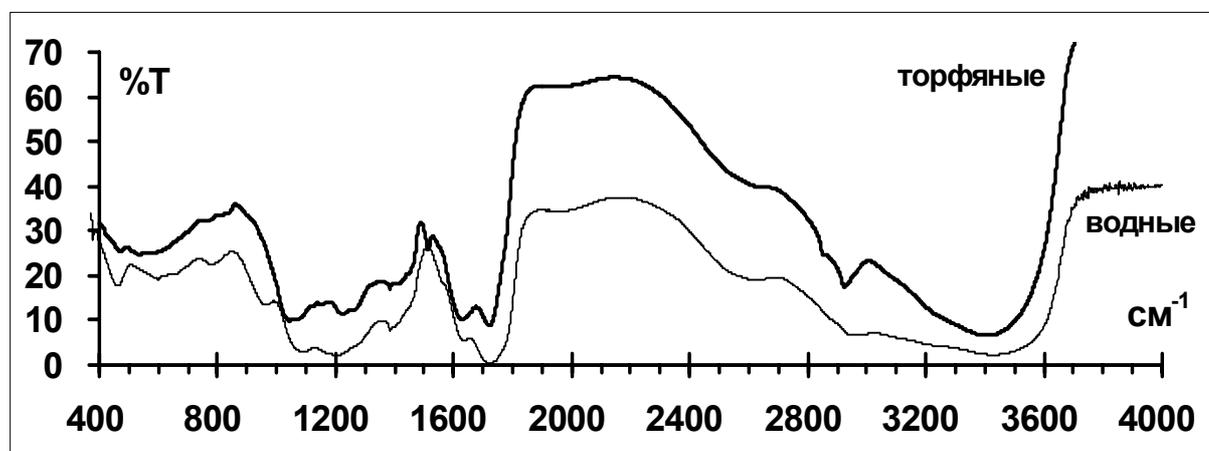


Рис. 2.5. Типичные ИК-спектры препаратов ГФК.

В спектрах наблюдались следующие полосы поглощения (в см^{-1}):

3690-3300 – валентные колебания несвязанных водородной связью фенольных и спиртовых ОН-групп;

3400-3000 – валентные колебания ОН-групп, связанных водородной связью;

2950-2850 – валентные колебания алифатических С-Н связей;

1750-1640 – колебания связи С=О в карбоксильных и карбонильных группах;

~1630 – колебания скелетных связей ароматических колец;

1460-1350 – деформационные колебания алифатических С-Н связей, колебания СОО⁻-групп;

~1200 – колебания С-О связей в карбоксильных и фенольных группах;

1200-1000 колебания С-О связей в спиртовых группах

860-730 – колебания ароматических С-Н связей.

Таким образом, элементный состав и ИК-спектры выделенных препаратов ГФК указывают, с одной стороны, на наличие ароматических фрагментов в структурах ГФК, а с другой стороны на - преобладание кислородсодержащих функциональных групп (в частности, карбоксильных). Поскольку карбоксильные и фенольные группы способны связывать тяжелые металлы в комплексные соединения, содержание указанных групп необходимо было определить количественно.

2.1.2.4. Определение кислотных групп в препаратах ГФК

Содержание кислотных групп в препаратах ГФК определяли методом рК-спектроскопии согласно работе [86]. С этой целью были получены кривые потенциометрического титрования, на основании которых рассчитывали рК-спектры ГФК. Для расчета рК-спектров использовали оригинальную компьютерную программу, которая позволяет рассчитывать как суммарную концентрацию ионогенных групп, так и доли ионогенных групп с константами кислотности K_i (q_i). Типичный рК-спектр приведен на Рис. 2.6.

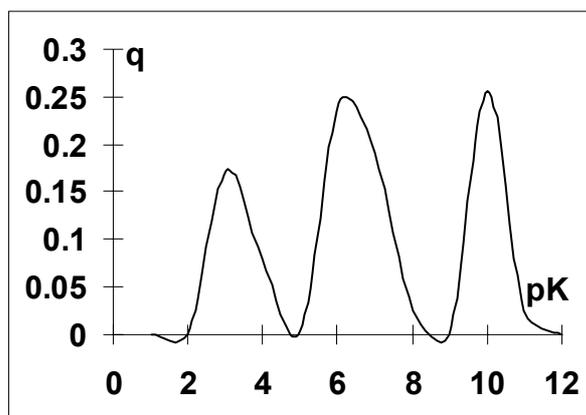


Рис. 2.6. рК-спектр препарата МИ13 (донные отложения).

В рК-спектрах всех препаратов ГФК наблюдался минимум при рК ~8. Как было установлено в работе [86], ионогенные группы с рК ≤ 8 соответствуют

карбоксильным группам, а $pK > 8$ - фенольным. Содержание соответствующих групп определяли из кривой титрования с использованием той же компьютерной программы. Оно приведено в Табл. 2.4.

Таблица 2.4
Содержание кислотных групп в препаратах ГФК

Препарат	Карбоксильные группы, ммоль/г ОВ	Фенольные группы, ммоль/г ОВ	Сумма кислотных групп, ммоль/г ОВ
ГФК торфа			
<i>MT4</i>	2.4	1.8	4.2
T4	2.7	4.0	6.7
T5	3.2	6.1	9.3
T6	3.2	4.0	7.2
верх	4.1	4.0	8.0
низ	4.1	5.5	9.6
ГФК донных отложений			
<i>МИ2</i>	3.1	1.9	5.0
<i>МИ13</i>	3.6	1.6	5.2
<i>Лух</i>	4.8	4.8	9.5
ГФК поверхностных вод			
<i>MX11</i>	2.4	2.0	4.3
<i>MX7</i>	3.5	13.1	16.5
<i>MX8</i>	8.7	4.6	13.3
<i>MX14</i>	7.3	43.1	50.4
бв1	8.3	7.1	15.4
РОВ поверхностных вод			
<i>МН4</i>	2.5	5.5	8.0
ГК почв			
ПДл(Н)	1.4	6.3	7.7
ГФК почв			
<i>МП9</i>	2.6	4.3	6.9
<i>МП12</i>	3.1	1.5	4.6
ЧД	4.1	5.4	9.5
ГК угля			
Алд	2.1	1.4	3.4
АГК	4.1	5.4	9.5

Обращает на себя внимание аномально высокое содержание кислотных групп с $pK > 8$ для препаратов MX7 и, особенно, MX14. Оба эти препарата являются наиболее высокозольными (48% и 58%, соответственно), причем зольность обусловлена преимущественно оксидом кремния. Это позволяет нам

предположить, что в состав указанных кислотных групп входят не только фенольные, но и кремнекислотные. Из этого следует, что для высокозольных препаратов влияние органической и неорганической матриц разделить трудно, поэтому в дальнейшем при расчете корреляций “структура-свойство” эти препараты из общей выборки исключали.

Для остальных препаратов явной взаимосвязи между содержанием кислотных групп и источником их происхождения не прослеживается.

2.1.2.5. Характеристика препаратов методом ^{13}C -ЯМР-спектроскопии

Для исследования распределения углерода между различными структурными фрагментами большинство выделенных препаратов ГФК было исследовано методом ^{13}C -ЯМР-спектроскопии. К сожалению, из-за недостаточных количеств веществ, провести исследование большинства водных препаратов не удалось. Типичный ^{13}C -ЯМР-спектр ГФК приведен на Рис. 2.7.

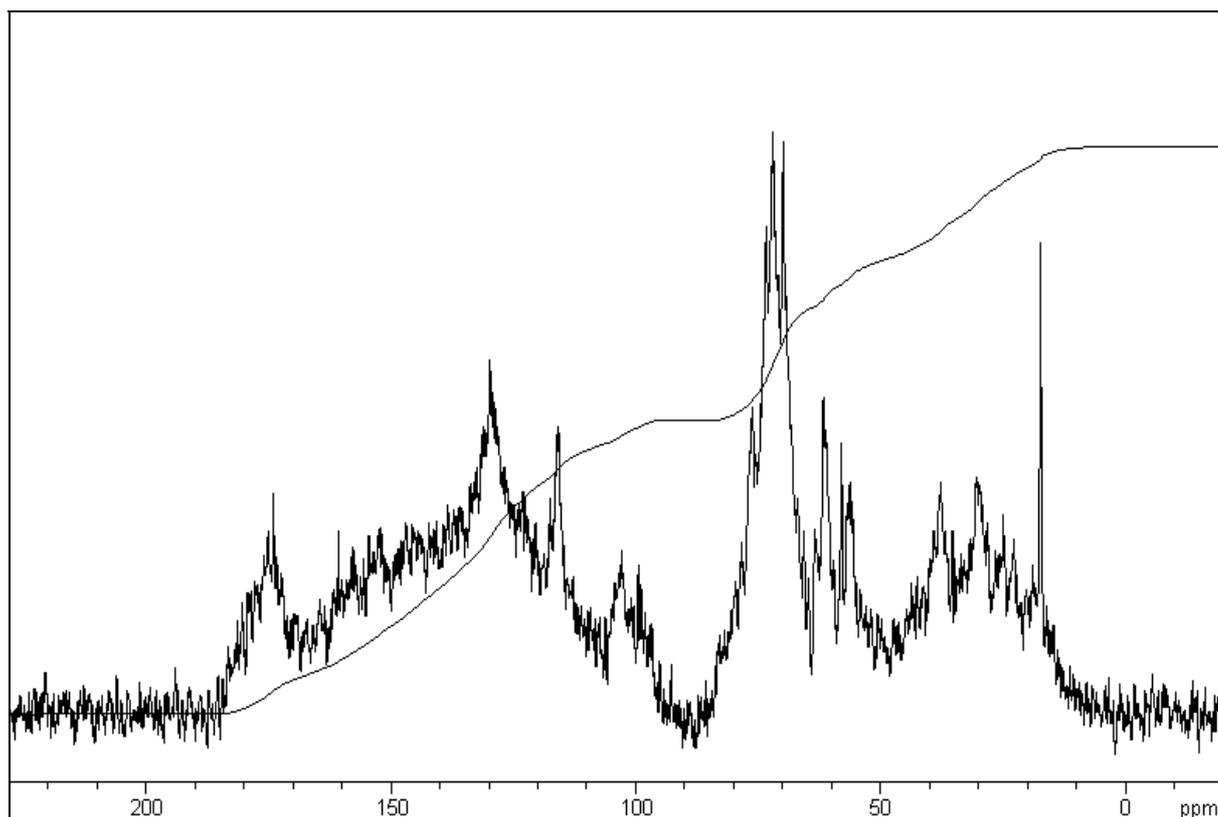


Рис. 2.7. Типичный ^{13}C -ЯМР спектр торфяных ГФК (Т4).

По данным ^{13}C -ЯМР-спектроскопии были выделены следующие основные типы углерода в зависимости от его химического окружения.

220-185 м.д. - карбонильный углерод ($\text{C}_{\text{C=O}}$)

185-165 м.д. - карбоксильный углерод (C_{COOH})

165-145 м.д. - ароматический углерод, связанный с кислородом (C_{ArO})

145-108 м.д. - незамещенный или C-замещенный ароматический углерод (C_{Ar})

108-90 м.д. - ацетальный углерод

90-61 м.д. - алифатический углерод, связанный с кислородом (C_{AlkO})

61-53 м.д. - углерод метоксильных групп (C_{OMe})

5 - 53 м.д. - углерод алкильных групп (C_{Alk}).

Полученные результаты по распределению углерода в структуре исследованных препаратов ГФК приведены в Табл. 2.5. При этом считали, что весь ацетальный углерод входит в состав карбогидратных фрагментов ($C_{\text{карбогидратный}}$), в которых на 1 ацетальный углерод приходится 5 C_{AlkO} .

Таблица 2.5

Распределение углерода в структурах ГФК

	$C_{C=O}$	C_{COOH}	C_{Ar-O}	C_{Ar}	$C_{\text{карбогидратный}}$	C_{AlkO}	C_{OMe}	C_{Alk}
ГФК торфа								
MT4	2	17	13	26	25	3	2	13
T4	1	16	12	31	18	3	3	16
T5	1	16	10	27	14	2	6	24
T6	2	15	14	36	14	2	2	15
верх	2	15	14	31	16	2	3	17
низ	3	15	13	32	12	3	5	17
ГФК донных отложений								
МИ2	3	15	13	31	11	2	4	21
ГФК поверхностных вод								
МН4	2	17	11	19	15	15	4	18
ГК почв								
ПДл(Н)	2	15	13	30	14	2	5	19
СЛл	1	20	13	35	10	2	4	15
ПДл	1	20	13	35	11	3	6	17
ГФК почв								
МП9	4	17	14	26	14	3	4	19
МП12	2	9	4	33	15	4	7	26
ЧД	1	18	13	32	15	3	4	14
ГК угля								
Алд	1	15	13	43	0	1	6	21
АГК	1	17	10	48	0	1	3	21

О зависимости распределения углерода по структурным фрагментам от источника происхождения ГФК можно сказать, что коммерческие препараты угля, в отличие от всех остальных, практически не содержат карбогидратов, зато

характеризуются повышенным содержанием ароматического углерода. Водный препарат, в отличие от остальных, содержит заметно повышенное количество алифатического углерода, связанного с кислородом, за счет пониженного содержания ароматического углерода. Торфяные препараты содержат меньше алифатического углерода, чем остальные. Других явных закономерностей не прослеживается.

* * *

Результаты исследования ГФК различными методами показывают наличие большого количества кислородсодержащих функциональных групп, что позволяет рассматривать ГФК как природные лиганды, способные вступать в реакцию комплексообразования с ионами металлов. Характеристике реакционной способности ГФК по отношению к Hg(II) посвящен следующий раздел.

2.2. Изучение реакционной способности ГФК по отношению к Hg(II)

Функциональный состав ГФК предопределяет их высокую комплексообразующую способность по отношению к Hg(II). Основным параметром, количественно характеризующим комплексообразующую способность ГФК - константа устойчивости их комплексов с Hg(II). Этот параметр может быть использован в следующих целях:

- для расчета распределения Hg(II) по формам существования в растворах в присутствии ГФК
- для установления природы ртутьсвязывающих центров в молекуле ГФК
- для установления количественных соотношений между структурой ГФК и ее реакционной способностью.

В связи с изложенным, определение констант устойчивости гуматов ртути было основным направлением исследований, посвященных характеристике реакционной способности ГФК по отношению к Hg(II).

2.2.1. Понятие “ртутьсвязывающий центр” как основа для определения констант устойчивости гуматов ртути.

Как указывалось в обзоре литературы (разд.1.3), полиэлектролитная природа и химическая гетерогенность ГФК делают невозможным корректное применение классических способов определения констант устойчивости их комплексов как с Hg(II), так и с другими металлами. Между тем, для установления количественных взаимосвязей между “структура - реакционная способность по отношению к Hg(II)” для ГФК, необходимо определить константы устойчивости гуматов ртути, так или иначе характеризующие термодинамику взаимодействия ГФК с Hg(II). Поэтому в первую очередь необходимо было разработать такой способ выражения константы устойчивости, который позволил бы применить его к столь сложным лигандам, как ГФК. При этом, полученные константы должны легко определяться, позволять рассчитывать распределение Hg(II) в присутствии

ГФК по формам существования и термодинамически характеризовать процесс взаимодействия отдельных ртутьсвязывающих центров ГФК с Hg(II).

В рамках стехиометрической модели уравнение реакции ГФК с Hg(II) имеет вид:



Эта реакция описывается следующей константой равновесия:

$$\beta_{n,m} = \frac{[\text{Hg}_m\text{ГФК}_n]}{[\text{Hg}^{2+}]^m \cdot [\text{ГФК}]^n}. \quad (2.4)$$

Если принять активности компонентов равными концентрациям, то данная константа позволяет термодинамически охарактеризовать процесс (2.3) в соответствии с формулой:

$$\Delta G(2.3) = -RT \ln \beta_{n,m}. \quad (2.5)$$

Однако, как указывалось в обзоре литературы, из-за химической гетерогенности и полидисперсности ГФК m и n будут различаться для разных молекулярных фракций ГФК. Это значит, что размерность константы, характеризующей реакцию, будет неопределенной, а константы устойчивости комплексов отдельных фракций ГФК с Hg(II) - несопоставимы между собой.

Из вышеприведенных рассуждений следует, что использование общей константы устойчивости гуматов Hg(II) (2.4) не позволяет корректно описать процесс взаимодействия ГФК с Hg(II) как совокупности взаимодействия всех молекулярных фракций ГФК с Hg(II). Для решения данной проблемы необходимо ввести некоторые упрощения.

Прежде всего, необходимо упростить стехиометрию взаимодействия. Это можно сделать, предположив, что одна молекула ГФК способна полностью насытить координационную сферу металла за счет взаимодействия нескольких фрагментов, то есть выступить как хелатный лиганд. Тогда можно считать, что один атом ртути связывается не более, чем с одной молекулой ГФК, что позволяет приравнять n к единице.

Введенное упрощение будет справедливо при соблюдении следующих условий. Во-первых, растворы ГФК должны быть разбавленными, иначе нельзя пренебрегать возможностью координации Hg(II) двумя молекулами ГФК. Во-вторых, соотношение Hg(II):ГФК должно быть достаточно малым. Причиной этому является возможность образования мостиковых структур, когда Hg(II) становится между разными фрагментами молекулы ГФК. При большом соотношении Hg(II):ГФК протекание данного процесса может привести к потере молекулой ГФК гибкости, необходимой для полного заполнения координационной сферы металла другим фрагментом той же молекулы ГФК.

Рассмотрение ГФК как макролиганда предполагает, что одна молекула ГФК имеет m ртутьсвязывающих центров (РСЦ), а следовательно, взаимодействие ГФК с Hg(II) можно описать следующей константой:

$$\beta_m = \frac{[Hg_m \partial \Phi K]}{[Hg^{2+}]^m \cdot [\partial \Phi K]} \quad (2.6)$$

Однако при этом стехиометрия взаимодействия ГФК:Hg(II) все равно остается неопределенной, а значит, размерность константы (2.6) для разных молекулярных фракций ГФК по-прежнему будет различной. Более того, даже при условии идентичности всех молекул ГФК, использование β_m как характеристики комплексообразующих свойств ГФК все равно было бы затруднено. Причиной этому является тот факт, что при малых отношениях металл:лиганд будут преобладать комплексы, ненасыщенные металлом, то есть комплексы состава $Hg_i \text{ГФК}$, где $i < m$. Их образование нужно описывать константами β_i , размерность которых зависит от i . Получается, что по мере увеличения количества Hg(II), связанной с ГФК размерность константы β_i , изменяется, что делает эти константы несопоставимыми для разных соотношений металл-лиганд.

Для решения проблем с размерностью в химии полимеров суммарную реакцию взаимодействия металла с полимером рассматривают как многоступенчатый процесс [162]. Применим данный подход для ГФК, то есть будем рассматривать процесс взаимодействия ГФК с металлом как ступенчатый:



Ступенчатые реакции описываются константами с одной и той же размерностью вне зависимости от значения i :

$$K_i(\text{Hg}_i\text{ГФК}) = \frac{[\text{Hg}_i\text{ГФК}]}{[\text{Hg}^{2+}] \cdot [\text{Hg}_{i-1}\text{ГФК}]}, \quad (2.8)$$

где $i=1\dots m$.

Полученная ступенчатая константа характеризует присоединение атома Hg(II) к молекуле ГФК. При этом все ступенчатые константы, по причине их одинаковой размерности, можно сопоставлять между собой. Однако при нахождении ступенчатых констант необходимо экспериментально определять величину i , что затруднено ввиду химической гетерогенности ГФК.

Для решения указанной сложности весь набор молекул ГФК можно рассматривать как смесь идентичных “средних” молекул (разд.1.1), что позволяет пренебречь гетерогенностью химических свойств молекул ГФК.

Однако даже при таком упрощении ступенчатая константа устойчивости гуматов ртути не может быть удобной для характеристики взаимодействия ГФК-ртуть, поскольку зависит от степени заполнения ртутьсвязывающих центров, определяемой как

$$\theta = i/m. \quad (2.9)$$

Причиной этому являются статистические факторы, рассмотренные ниже.

Покажем, что величина ступенчатой константы зависит от θ для самого простого случая - все РСЦ в ГФК равноценны. Для этого представим ГФК как макролиганд и рассмотрим статистический характер его заполнения.

Для каждого соединения $\text{Hg}_i\text{ГФК}$ существует различное число возможных комбинаций занятых и свободных центров связывания. Например, если в молекуле ГФК три РСЦ, то для комплексов состава HgГФК и $\text{Hg}_2\text{ГФК}$ таких комбинаций будет по три, а для свободной ГФК и $\text{Hg}_3\text{ГФК}$ - по одной (Рис. 2.8). Возможное число комбинаций (j_{\max}) занятых и свободных центров в комплексе $\text{Hg}_i\text{ГФК}$ можно рассчитать по формуле:

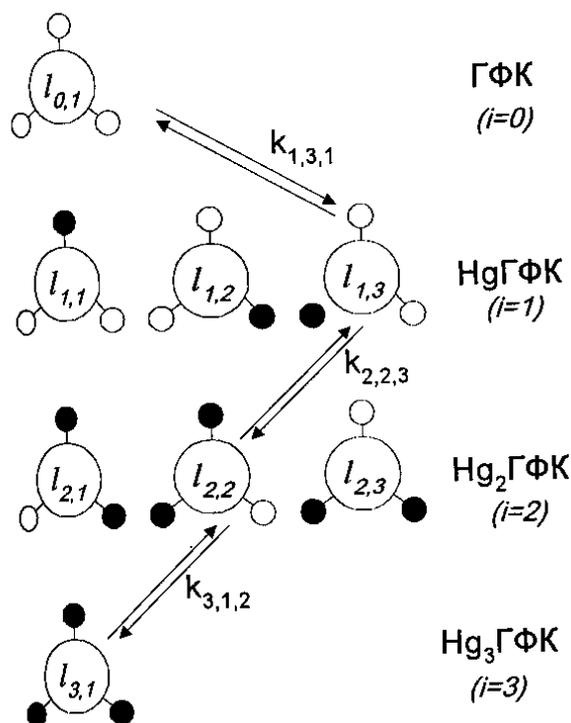


Рис. 2.8. Различные комбинации свободных и занятых ругьсвязывающих центров в гуматах и переходы между ними при условии, что всего ГФК содержит 3 таких центра.

Все центры связывания по условию однородны. С одной стороны, из этого следует, что концентрация всех возможных комбинаций $Hg_iГФК$ одинакова:

$$[l_{i,j}] = [l_i]. \quad (2.13)$$

С другой стороны, из этого следует равенство всех ступенчатых констант превращения $Hg_{i-1}ГФК$ в $Hg_iГФК$ для любых комбинаций последних:

$$k_{i,j,h} = k. \quad (2.14)$$

Из закона сохранения вещества и уравнения (2.13) следует, что

$$[Hg_iГФК] = j_{\max} [l_i] = C_i^m [l_i] \quad (2.15)$$

Подставляя (2.12) и (2.15) в (2.7) получаем:

$$K_i(Hg_i \partial ФК) = \frac{C_i^m}{C_{i-1}^m} \cdot k, \quad (2.16)$$

что с учетом (2.9) и (2.11) можно преобразовать в:

$$K_i(Hg_i \partial Фж) = k \cdot \left(\frac{1-\theta}{\theta} + \frac{1}{\theta \cdot m} \right). \quad (2.17)$$

$$j_{\max} = C_i^m, \quad (2.10)$$

где m - общее число РСЦ в молекуле, а

$$C_i^m = \frac{m!}{(m-i)! \cdot i!} \quad (2.11)$$

Чтобы рассчитать зависимость ступенчатой константы от степени заполнения, введем микроскопическую константу связывания $Hg(II)$ с ГФК (микроконстанту) $k_{i,j,h}$, характеризующую образование j -й комбинации $Hg_iГФК$ из h -й комбинации $Hg_{i-1}ГФК$ (Рис. 2.8):

$$k_{i,j,h} = \frac{[l_{i,j}]}{[Hg^{2+}] \cdot [l_{i-1,h}]}, \quad (2.12)$$

где $l_{i,j}$ - j -ая комбинация свободных и занятых центров в комплексе $Hg_iГФК$.

Вышеприведенное уравнение показывает, что даже при условии абсолютно равноценных центров связывания, ступенчатая константа устойчивости уменьшается по мере увеличения степени заполнения ртутьсвязывающих центров. Это положение проиллюстрировано на Рис. 2.9, где приведена зависимость $K_i(\text{Hg};\Gamma\text{ФК})/k$ от степени заполнения для $m=30$.

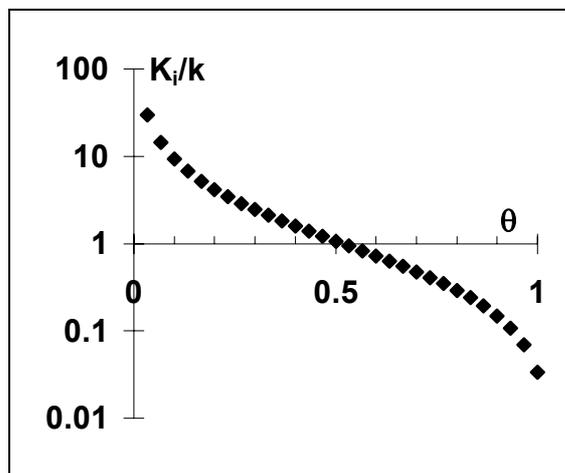


Рис. 2.9. Зависимость отношения ступенчатой константы устойчивости комплекса $\text{Hg};\Gamma\text{ФК}$ к микроконстанте (2.14) от степени заполнения ртутьсвязывающих центров при наличии в молекуле $\Gamma\text{ФК}$ 30 равноценных РСЦ.

Зависимость ступенчатой константы устойчивости от степени заполнения РСЦ приводит к тому, что ступенчатая константа не может служить характеристикой РСЦ и не является удобным инструментом для расчета распределения ртути между лигандами в присутствии $\Gamma\text{ФК}$. Хотя из величины ступенчатой константы при определенной степени заполнения можно определить микроконстанту соответствующего центра (рассчитав ее по уравнению (2.17)), для полидисперсных соединений такой расчет будет сильно затруднен.

Вышеприведенные рассуждения показывают, что рассмотрение $\Gamma\text{ФК}$ как макролигандов не позволяет найти такое выражение для констант их комплексообразования с $\text{Hg}(\text{II})$, чтобы оно способствовало решению задач, сформулированных в начале настоящего раздела.

Эта причина побудила нас применить другой подход к описанию взаимодействия $\Gamma\text{ФК}$ с $\text{Hg}(\text{II})$, а именно, рассматривать $\Gamma\text{ФК}$ как набор независимых РСЦ. В этом случае при расчете константы устойчивости гуматов

ртути молярную концентрацию ГФК можно заменить молярной концентрацией РСЦ. Для этого взаимодействие ГФК с Hg(II) можно записать уравнением:



где РСЦⁱ - i-й тип центров связывания. Типы центров связывания различаются по сродству к Hg²⁺. Процесс (2.18) описывается константой равновесия:

$$K(\text{РСЦ}^i) = \frac{[\text{Hg} \cdot \text{РСЦ}^i]}{[\text{Hg}^{2+}] \cdot [\text{РСЦ}^i]}. \quad (2.19)$$

К сожалению, установление концентрации каждого отдельного типа РСЦ на практике затруднено (разд.1.3.2.4). Гораздо проще определить общую концентрацию всех РСЦ. В этом случае константу (2.19) имеет смысл заменить следующей кажущейся константой:

$$K(\text{РСЦ}) = \frac{[\text{Hg} \cdot \text{РСЦ}]}{[\text{Hg}^{2+}] \cdot [\text{РСЦ}]}, \quad (2.20)$$

где [HgРСЦ] - концентрация Hg(II), связанной с ГФК, а [РСЦ] - суммарная концентрация РСЦ всех типов (разд. 1.3.2.4).

Достоинства подобного подхода подробно описаны в обзоре литературы. Однако, как было показано там же, обоснование использования кажущейся константы для термодинамической характеристики взаимодействия металл-ГФК отсутствует. Для решения данной задачи необходимо показать взаимосвязь между кажущейся константой, выраженной через РСЦ (2.20) и микроконстантой (2.12), характеризующей присоединение Hg(II) к каждому РСЦ.

Для определенности под РСЦ будем понимать комбинацию фрагментов молекулы ГФК, участвующих в связывании одного атома ртути. Он может включать в себя от одной до четырех функциональных групп. Тогда “среднюю” молекулу ГФК, имеющую *m* центров связывания со ступенчатыми константами $K_1 \dots K_m$, можно представить как набор *m* невзаимосвязанных РСЦ. При вышеприведенном определении РСЦ их количество в молекуле ГФК соответствует максимальному количеству Hg(II), которое может быть связано данной молекулой. Кроме того, число РСЦ можно также рассчитывать на массу

ГФК, тогда это будет максимальное количество ртути, которое может быть связано с данной массой ГФК.

Для установления взаимосвязи между кажущейся константой и микроконстантой рассмотрим два крайних варианта распределения РСЦ в ГФК по силе связывания.

1. Все РСЦ одинаковы (однородное распределение).
2. Существует несколько типов РСЦ разной силы. При этом они различаются настолько, что заполнение центров связывание i -го типа начинается не раньше, чем заполнятся все более сильные центры.

Вариант 1 (РСЦ в ГФК равноценны). В этом случае все $K(\text{РСЦ}^i)$ идентичны и равны $K(\text{РСЦ})$. Чтобы связать любую из этих констант с микроконстантой (2.12), необходимо выразить $[\text{Hg} \cdot \text{РСЦ}]$ и $[\text{РСЦ}]$ через концентрации ГФК и гуматов ртути:

$$[\text{Hg} \cdot \text{РСЦ} \dots] = \sum_{i=1}^m i \cdot [\text{Hg}_i \partial \Phi K] \quad (2.21)$$

$$[\text{РСЦ} \dots] = \sum_{i=1}^m (m - i + 1) \cdot [\text{Hg}_{i-1} \partial \Phi K] \quad (2.22)$$

Подставляя (2.21) и (2.22) в (2.20) получаем

$$K(\text{РСЦ} \dots) = \frac{1}{[\text{Hg}^{2+}]} \cdot \frac{\sum_{i=1}^m i \cdot [\text{Hg}_i \partial \Phi K]}{\sum_{i=1}^m (m - i + 1) \cdot [\text{Hg}_{i-1} \partial \Phi K]} \quad (2.23)$$

Выразим $[\text{Hg}_i \text{ГФК}]$ через микроконстанту (2.12). Для этого воспользуемся выражением для общей константы устойчивости гуматов ртути:

$$\beta_i = \frac{[\text{Hg}_i \partial \Phi K]}{[\text{Hg}^{2+}]^i \cdot [\partial \Phi K]}.$$

Данная константа является произведением ступенчатых констант от (2.24) K_1 до K_i . Исходя из этого факта, а также из уравнения (2.16), можно записать, что

$$\beta_i = C_i^m \cdot k^i \quad (2.25)$$

Из уравнений (2.24) и (2.25) следует, что

$$[\text{Hg}_i \text{ГФК}] = C_i^m \cdot k^i \cdot [\text{Hg}^{2+}]^i \cdot [\text{ГФК}]. \quad (2.26)$$

Подставляя (2.26) в (2.23) получаем

$$(2.27)$$

$$K(PC\dots) = \frac{1}{[Hg^{2+}]} \cdot \frac{\sum_{i=1}^m i \cdot C_i^m \cdot k^i \cdot [Hg^{2+}]^i \cdot [ддФж]}{\sum_{i=1}^m (m-i+1) \cdot C_{i-1}^m \cdot k^{i-1} \cdot [Hg^{2+}]^{i-1} \cdot [ддФж]}$$

Чтобы упростить уравнение (2.27) нужно сократить [ГФК] в числителе и знаменателе, вынести k и $[Hg^{2+}]$ из-под знака суммы в числителе и провести следующее преобразование:

$$(m-i+1)C_{i-1}^m = iC_i^m. \quad (2.28)$$

Тогда уравнение (2.27) приобретает очень простой вид:

$$K(PCЦ)=k. \quad (2.29)$$

Таким образом, при условии равноценности всех РСЦ кажущаяся константа устойчивости гумата ртути, рассчитанная на РСЦ, оказывается идентичной микроконстанте, характеризующей связывание конкретного центра с Hg(II). Более того, величина данной константы не зависит от молярной массы ГФК, а значит отпадает необходимость в определении “средней” молекулярной массы ГФК, о корректность которой указывалось в обзоре литературы (разд. 1.3.2.1).

Вариант 2 (РСЦ в ГФК неравноценны). В этом случае распределение Hg(II), связанной с ГФК определяется следующим процессом:



При этом микроконстанты (2.12) различаются для разных типов РСЦ. Поэтому в общем случае кажущаяся константа (2.19) не может быть выражена через микроконстанту (2.12). Тем не менее, существуют ситуации, когда эта процедура возможна.

Один из таких случаев - малая степень заполнения РСЦ, при которой лишь частично заполнены наиболее сильные центры связывания ($i=1$). Экспериментально этот случай проявляется в том, что кажущаяся константа в зависимости от степени заполнения ртутьсвязывающих центров практически не изменяется. Тогда взаимодействия в системе ГФК-Hg(II) сводятся к реакции



Данной реакции соответствует константа типа (2.19):

$$K(PC...^1) = \frac{[Hg \cdot PC...^1]}{[Hg^{2+}] \cdot [PC...^1]} \quad (2.32)$$

В соответствии с выкладками для варианта одинаковых РСЦ (см. выше),

$$K(PC...^1) = k_1, \quad (2.33)$$

то есть величина $K(PC...^1)$ является термодинамической характеристикой наиболее сильных центров связывания. К сожалению, на практике определение $[HgPC...^1]$ и $[PC...^1]$ затруднено, поэтому экспериментально доступной величиной может оказаться только кажущаяся константа (2.20). Свяжем ее с $K(PC...^1)$.

Из определения $K(PC...)$ (2.20), уравнения материального баланса и определения степени заполнения РСЦ (2.9) следует, что

$$K(PC...) = \frac{1}{[Hg^{2+}]} \cdot \frac{\theta}{1-\theta} \quad (2.34)$$

Аналогичное уравнение можно записать для $K(PC...^1)$. Выражая из обоих уравнений $[Hg^{2+}]$ и приравнявая их получаем:

$$\frac{K(PC...^1)}{K(PC...)} = \frac{\theta_1}{\theta} \cdot \frac{1-\theta}{1-\theta_1}, \quad (2.35)$$

где θ_1 - степень заполнения РСЦ¹.

Как правило, экспериментальное определение θ_1 затруднено. Однако из (2.35) следует, что при постоянной $K(PC...^1)$ в диапазоне $0 < \theta_1 < 0.9$ $K(PC...)$ уменьшается всего на порядок, после чего, при $\theta_1 > 0.9$ начинает резко падать. Это означает, что в случае, если при малых θ кажущаяся константа устойчивости гуматов ртути уменьшается меньше, чем на порядок, то

$$\theta_1 < 0.9. \quad (2.36)$$

С другой стороны, при малых ($\theta < 0.1$) степенях заполнения РСЦ

$$1-\theta \approx 1. \quad (2.37)$$

Кроме того, если заполняется только РСЦ¹, то θ_1 связана с θ соотношением

$$\theta_1 = \theta / \delta_1, \quad (2.38)$$

где δ_1 - доля РСЦ¹ в общем количестве РСЦ;

$$\delta_1 = C(PC...^1) / C(PC...), \quad (2.39)$$

В случае, если в данном диапазоне θ заполняется только РСЦ¹, можно

записать, что

$$\delta_1 > \theta, \quad (2.40)$$

Подставляя (2.36), (2.38) и (2.40) в (2.35) и учитывая (2.37), получаем

$$K(\text{РСЦ}^1) < (10/\theta) \cdot K(\text{РСЦ}). \quad (2.41)$$

При этом в качестве нижней границы значения $K(\text{РСЦ}^1)$ остается величина $K(\text{РСЦ})$.

Таким образом, кажущаяся константа (2.19) позволяет нам оценить границы значения константы связывания наиболее сильного РСЦ и тем самым охарактеризовать его. При этом необходимо соблюдение следующих условий.

1. $\theta < 0.1$

2. В исследуемом диапазоне степеней заполнения РСЦ кажущаяся константа (2.19) должна изменяться не более, чем на порядок.

Тогда границы для константы связывания самого сильного РСЦ определяются следующим неравенством:

$$K(\text{РСЦ}) < K(\text{РСЦ}^1) < (10/\theta) \cdot K(\text{РСЦ}) \quad (2.42)$$

Из вышеперечисленного следуют условия организации эксперимента по определению кажущихся констант. Во-первых, необходимо наблюдать за характером зависимости кажущейся константы от степени заполнения РСЦ. Во-вторых, чтобы исключить участие более слабых металл-связывающих центров, желательно использовать такой интервал θ , чтобы изменение кажущейся константы в этом интервале было как можно меньше. К сожалению, уменьшение интервала θ приводит, в соответствии с (2.42), к увеличению диапазона значений $K(\text{РСЦ}^1)$, что ухудшает качество характеристики связывания наиболее сильных центров с Hg(II) .

Следует заметить, что изложенные выше положения можно также распространить на другие металлы.

2.2.2. Определение количества РСЦ в ГФК

В связи с тем, что в выражение для кажущейся константы устойчивости гуматов ртути (2.18) входит концентрация РСЦ, первоочередной задачей являлось определение содержания РСЦ в ГФК.

Для решения поставленной задачи использовали способность ртути образовывать нерастворимые гуматы при высоких соотношениях $\text{Hg(II)}:\text{ГФК}$ [58]. Можно допустить, что в условиях большого избытка Hg(II) все РСЦ будут заняты ртутью. Тогда содержание ртути в полученных гуматах будет эквивалентно содержанию РСЦ в соответствующих ГФК. Предварительно необходимо установить условия образования гуматов с полностью заполненными РСЦ.

2.2.2.1. Условия и механизм образования нерастворимых гуматов ртути (II) с полностью заполненными РСЦ

Для изучения принципиальной возможности образования нерастворимых гуматов ртути был проведен следующий качественный эксперимент. К концентрированным (0.5 и 1.2 г/л соответственно) растворам ГФК Т4 и Т7 добавляли насыщенный раствор $\text{Hg(NO}_3)_2$ до полного выпадения окрашенного вещества в осадок. При этом наблюдалось понижение рН до 2.4-2.5.

В обоих случаях осадки имели темно-коричневый цвет и рыхлую структуру. Анализ осадков показал, что в них содержится 33 %(масс) Hg для Т4 и 27 %(масс) Hg для Т7. Это говорит о том, что осадки являлись гуматами ртути, а не гуминовыми кислотами, выпавшими при закислении среды за счет гидролиза Hg^{2+} .

Высокое содержание ртути в полученных гуматах позволило предположить, что в указанных условиях образуются гуматы, в которых все РСЦ заполнены. Чтобы подтвердить это предположение, было проведено количественное изучение образования нерастворимых гуматов ртути.

В ходе соответствующих экспериментов готовили растворы, содержащие различные концентрации Hg(II) и ГФК при рН 2 и изучали распределение Hg(II) и ГФК между раствором и образующимся осадком. Результаты приведены на Рис. 2.9 и Рис. 2.10 в виде зависимостей концентраций ГФК и Hg(II) в растворах от аналитической концентрации Hg(II) .

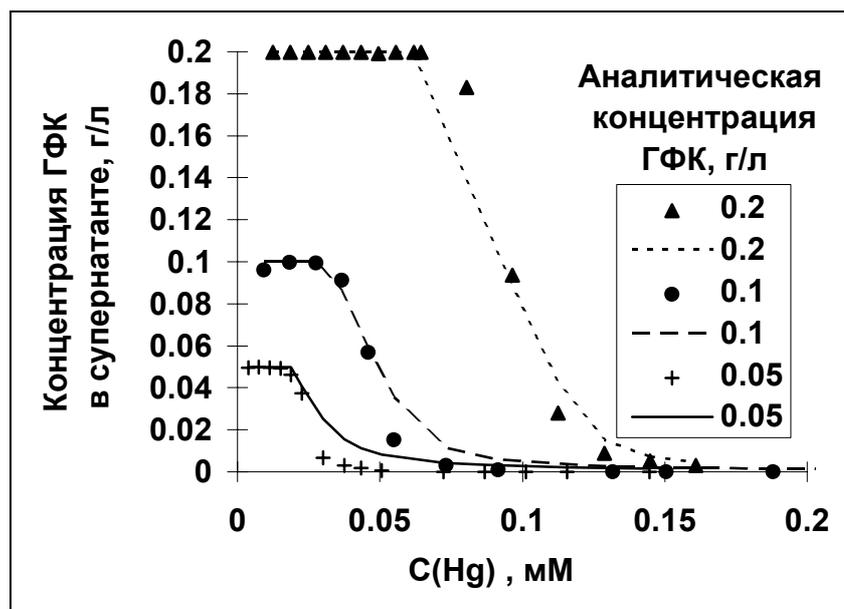


Рис. 2.10. Зависимость концентрации ГФК Т7 в супернатанте от аналитической концентрации Hg(II) при различных аналитических концентрациях ГФК. Точки - экспериментальные данные, линии - расчетные.

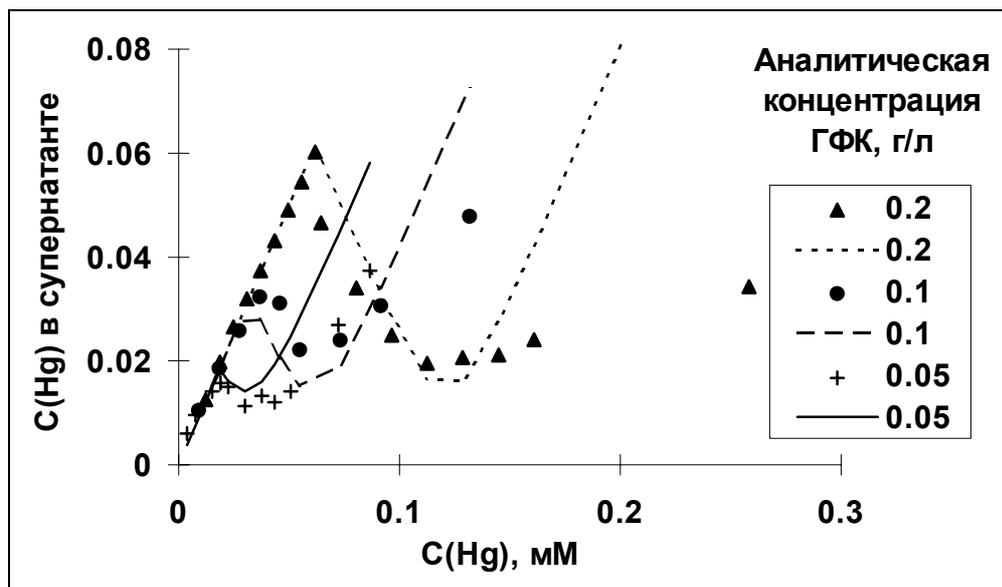


Рис. 2.11. Зависимость концентрации Hg(II) в супернатанте в присутствии ГФК Т7 от аналитической концентрации ртути(II). Точки - экспериментальные данные, линии - расчетные.

Как видно из рисунков, по мере увеличения аналитической концентрации Hg(II) процесс взаимодействия ртути с ГФК происходит через три стадии.

1. Отсутствие видимых взаимодействий (и ртуть и ГФК остаются в растворе).

2. Образование осадка, сопровождающееся как понижением концентрации ГФК, так и понижением концентрации ртути(II) в растворе.
3. Сорбция ртути(II) на осадке. При этом ГФК в растворе отсутствуют (раствор бесцветен), а концентрация ртути в растворе растет.

Следует отметить, что границы описанных стадий определяются величиной отношения ртуть:ГФК. Так, осадок начинает выпадать при соотношениях ртуть:ГФК 0.3-0.5 ммоль/г для Т4 и 0.3-0.6 ммоль/г для Т7, а полное выпадение осадка происходит при двукратном увеличении этого соотношения.

Для описания протекающих процессов была применена модель одноступенчатого образования нерастворимого гумата (модель I). В рамках этой модели взаимодействие ГФК с Hg(II) описывается реакцией:



количественной характеристикой которой является произведение растворимости:

$$\text{ПР} = [\text{Hg}^{2+}] \cdot [\text{ГФК}]. \quad (2.44)$$

Для проверки адекватности предложенной модели реальному ходу процесса необходимо было рассчитать зависимость концентрации ГФК и Hg(II) в супернатанте от аналитической концентрации Hg(II) и сопоставить их с экспериментальными данными. Для расчета соответствующих зависимостей в дополнение к уравнению (2.44) были использованы уравнения материального баланса:

$$C(\text{Hg}) = [\text{Hg}^{2+}] + v(\text{HgГФК})/V \quad (2.45)$$

$$C(\text{ГФК}) = [\text{ГФК}] + v(\text{HgГФК})/V, \quad (2.46)$$

где $v(\text{HgГФК})$ - количество гуматов ртути в осадке, V - объем раствора.

Решая систему (2.44)-(2.46) и учитывая, что при $C(\text{Hg}) \cdot C(\text{ГФК}) < \text{ПР}$ осадок не образуется, выражаем $[\text{Hg}^{2+}]$ (соответствующую концентрации Hg(II) в супернатанте):

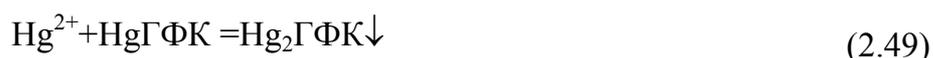
$$[\text{Hg}^{2+}] = \min \left(C(\text{Hg}); 0.5 \cdot \left(C(\text{ГФК}) - C(\text{Hg}) + \sqrt{(C(\text{ГФК}) - C(\text{Hg}))^2 + 4 \cdot \text{ПР}} \right) \right) \quad (2.47)$$

Зависимость $[\text{Hg}^{2+}]$ от $C(\text{Hg})$, согласно (2.47) является монотонно возрастающей, что противоречит экспериментальным данным (Рис. 2.11). Второе противоречие заключается в том, что в эксперименте начало выпадения осадка

зависит от *соотношения* ртуть:ГФК, в то время, как в соответствии с моделью (2.44)-(2.46) оно зависело бы от *произведения* концентраций.

Указанные противоречия говорят о том, что реальный процесс образования нерастворимых гуматов ртути не описывается простой моделью I. В связи с этим была разработана более сложная модель II.

Модель II базируется на следующем положении: по мере увеличения соотношения ртуть:ГФК, процесс взаимодействия между ними проходит в две стадии. На первой происходит образование растворимого гумата ртути. На второй к растворимому гумату присоединяется дополнительное количество Hg(II) с образованием нерастворимого гумата. В простейшем случае эти процессы описываются следующими уравнениями реакций (заряды у ГФК опущены):



Первое взаимодействие характеризуется константой K_1 :

$$K_1 = \frac{[\text{HgГФК}]}{[\text{Hg}^{2+}] \cdot [\text{ГФК}]} \quad (2.50)$$

Второе - произведением растворимости ПР_2 :

$$\text{ПР}_2 = [\text{Hg}^{2+}] \cdot [\text{HgГФК}]. \quad (2.51)$$

Для количественного описания модели II, в систему уравнений включали два уравнения материального баланса:

$$C(\text{Hg}) = [\text{Hg}^{2+}] + [\text{HgГФК}] + 2v(\text{Hg}_2\text{ГФК})/V \quad (2.52)$$

$$C(\text{ГФК}) = [\text{ГФК}] + v(\text{Hg}_2\text{ГФК})/V. \quad (2.53)$$

Кроме того, в систему уравнений, описывающих модель II, необходимо включить выражения для экспериментально определяемых величин:

$$C_L(\text{Hg}) = [\text{Hg}^{2+}] + [\text{HgГФК}] \quad (2.54)$$

$$C_L(\text{ГФК}) = [\text{ГФК}] + [\text{HgГФК}], \quad (2.55)$$

где $C_L(\text{ГФК})$ и $C_L(\text{Hg})$ - аналитические концентрации ГФК и Hg в жидкой фазе.

Для упрощения системы уравнений (2.50)-(2.55) константа (2.50) была принята большой. Это означает, что пока идет образование растворимого

комплекса, вся ртуть связана с ГФК и процесс (2.49) не протекает. Поэтому для первой стадии приведенная система (2.50)-(2.54) упрощается до двух уравнений:

$$\begin{aligned} C_L(\text{Hg}) &= C(\text{Hg}) \\ C_L(\text{ГФК}) &= C(\text{ГФК}) \end{aligned} \quad (2.57)$$

В момент начала выпадения осадка свободных ГФК нет - все ГФК присутствуют в виде HgГФК . Поэтому для второй стадии взаимодействие ГФК с Hg(II) система (2.50)-(2.55) упрощается. При этом уравнение (2.50) исключается, а уравнение (2.55) упрощается следующим образом:

$$C_L(\text{ГФК}) = [\text{HgГФК}]. \quad (2.58)$$

В результате из системы (2.50)-(2.55) исключили одно уравнение и одно неизвестное. Из полученной системы численно нашли PP_2 . При этом для расчета $C(\text{ГФК})$ использовали эквивалентную массу ГФК ($M_e(\text{ГФК})$), определяемую как молярную массу фрагмента, связывающего 1 атом ртути по уравнению (2.48). Значения ($M_e(\text{ГФК})$) вычисляли, исходя из соотношений Hg:ГФК , при котором начинал выпадать осадок из наиболее концентрированных растворов ГФК. Она составила 2700 г/моль для Т4 и 3300 г/моль для Т7.

Для численного нахождения PP_2 , систему $\{(2.50)-(2.54), (2.58)\}$ с учетом (2.56)-(2.57) для первой стадии решили относительно экспериментально определяемых величин:

Решение системы приведено ниже:

$$C_L(\partial\Phi K) = \min(0.5 \cdot ((2 \cdot C(\partial\Phi K) - C(\text{Hg}^{2+})) + \sqrt{C(\text{Hg}^{2+}) - 2 \cdot C(\partial\Phi K)})^2 + 4 \cdot nm_2; C(\partial\Phi K)) \quad (2.59)$$

$$C_L(\text{Hg}^{2+}) = \min((\text{PP}_2/C_L(\text{ГФК}) + C_L(\text{ГФК})); C(\text{Hg}^{2+})) \quad (2.60)$$

Путем минимизации отклонений экспериментальной и расчетной зависимости этих величин от $C(\text{Hg})$ подобрали значение PP_2 . Для Т4 $\lg(\text{PP}_2) = 9.75$, для Т7 - 10.25.

Расчитанные на основании полученных значений параметров зависимости концентраций ГФК и Hg^{2+} в супернатанте от аналитической концентрации Hg(II) показаны линиями на Рис. 2.10 и Рис. 2.11.

Как видно из рисунков, для первой и второй стадии рассчитанные значения хорошо совпадают с экспериментальными. Однако для третьей стадии наблюдается явное расхождение, по-видимому, связанное с сорбцией Hg(II) на нерастворимом гумате.

Для проверки данного предположения были построены изотермы сорбции Hg(II) на гумате в линеаризованных координатах Лэнгмюра:

$$\frac{C_L(Hg)}{Q} = \frac{1}{K_{sorb} \cdot Q_{max}} + \frac{1}{Q_{max}} \cdot C_L(Hg) \quad (2.61)$$

где Q - содержание ртути в гумате (моль/г), K_{sorb} - константа сорбции, Q_{max} - максимальная сорбция, соответствующая содержанию РСЦ.

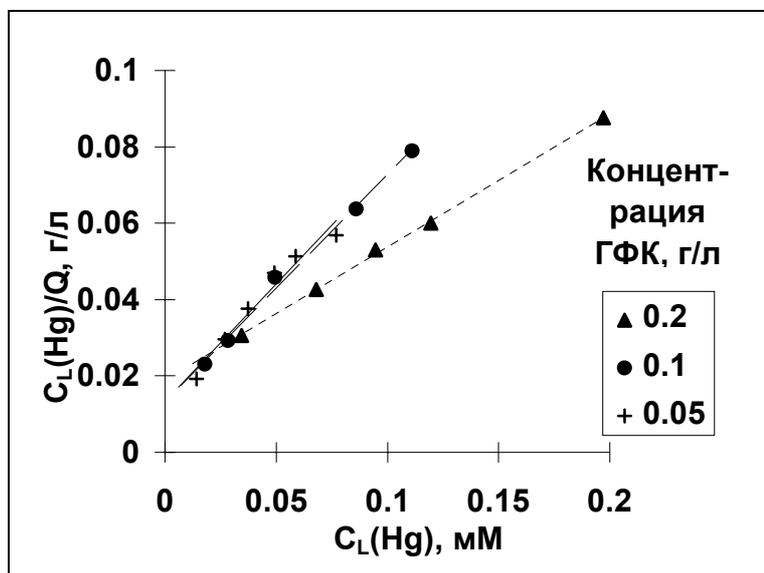


Рис. 2.12. Изотерма сорбции Hg(II) на гуматах ртути в линеаризованных координатах Лэнгмюра (для Т7).

Для обоих исследованных препаратов ГФК изотермы оказались линейны, хотя тангенс угла их наклона различался для разных аналитических концентраций ГФК. При этом непосредственной зависимости между тангенсом угла наклона и аналитической концентрацией ГФК обнаружено не было. Это позволило предположить, что указанные различия были обусловлены различными свойствами образующихся поверхностей гуматов ртути.

На основании полученных изотерм были рассчитаны параметры адсорбции Hg(II) на гумате ртути. Так, для Т4 $K_{sorb}=(3.6\pm 1.3)\cdot 10^4$ 1/М, $Q_{max}=2.1\pm 0.6$ ммоль/г

ГФК; для Т7 - $(3.1 \pm 2.0) \cdot 10^4$ и 1.4 ± 0.3 соответственно. Полученные значения Q_{\max} хорошо согласуются с содержанием ртути в гуматах Т4 и Т7 (2.2 и 1.8 ммоль/г соответственно), полученных в ходе предварительных экспериментов. Из этого следует, что использовавшиеся в предварительных экспериментах условия получения гуматов ртути (концентрация ГФК 0.5 г/л и более, соотношение Hg:ГФК не менее 0.01 моль/г) позволяют получать гуматы, в которых все РСЦ насыщены.

2.2.2.2. Получение гуматов ртути(II) и определение содержания РСЦ в них

В соответствии с изложенным в предыдущем разделе, гуматы ртути для определения содержания РСЦ получали, добавляя насыщенный раствор $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ к концентрированным растворам. При этом все окрашенное вещество выпадало в осадок, который представляет собой гумат ртути.

Полученные гуматы представляют собой темно-коричневые аморфные порошки, нерастворимые в воде, органических растворителях (бензоле, хлороформе, ТГФ, ацетоне, ДМФА, ацетонитриле), ограниченно растворимые в 0.1 М КСl и в 0.1М NaOH. Препараты не имеют температуры плавления и разлагаются при нагревании выше 200°C . Рентгено-фазовый анализ показал их рентгеноаморфность.

Для определения содержания РСЦ препараты анализировали на содержание ртути. Содержание ГФК в гуматах определяли из тех соображений, что все окрашенное вещество связывалось с Hg(II), поэтому можно было считать, что масса ГФК в гумате равна их массе в исходном растворе. На основании этого рассчитывали количество ртути, приходящееся на единицу массы ГФК. Это количество соответствует содержанию РСЦ в ГФК. Результаты (пересчитанные на беззольную часть препарата) представлены на Рис. 2.13.

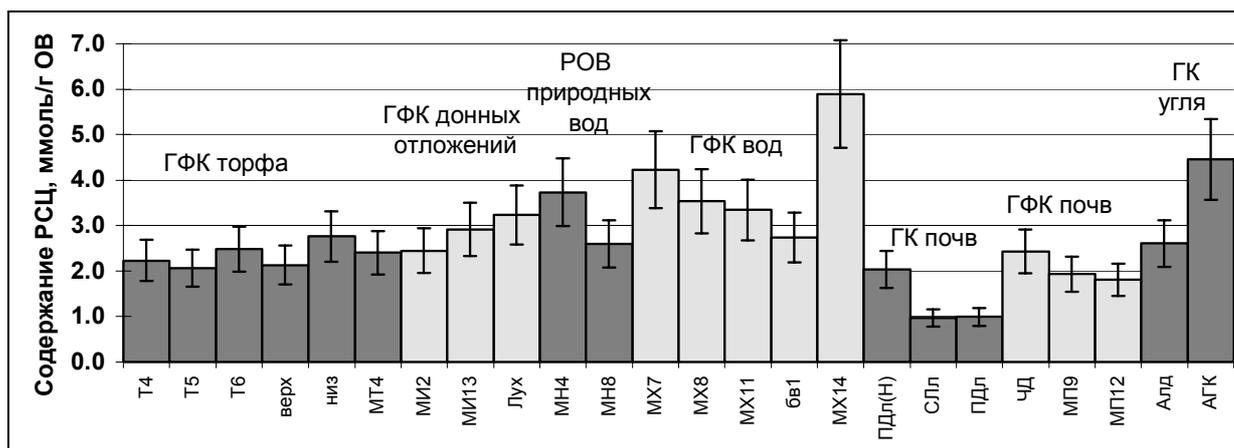


Рис. 2.13. Содержание РСЦ в ГФК различного происхождения.

Как видно из Рис. 2.13, большинство препаратов ГФК характеризовалось близким содержанием РСЦ. Исключение составляли два препарата ГК почв и один - ГФК вод. Расчет количества РСЦ, приходящихся на одну “среднюю” молекулу ГФК показывает значение от 10 до 70, что подтверждает макролигандную природу ГФК.

2.2.3. Оценка реакционной способности ГФК с использованием кажущихся констант устойчивости гуматов ртути

Согласно выкладкам, приведенным в разд. 2.2.1, оптимальной характеристикой реакционной способности ГФК по отношению к Hg(II) является кажущаяся константа взаимодействия ГФК с РСЦ (2.20) при малых степенях заполнения последних. Данная константа позволяет охарактеризовать наиболее сильные РСЦ, которые определяют реакционную способность ГФК в природных средах. Кроме того, определение указанной константы не требует большого массива экспериментальных данных. В силу указанных обстоятельств, именно ее мы и будем подразумевать под термином “константа устойчивости гуматов ртути”.

На следующем этапе работы были определены константы устойчивости 24 гуматов ртути. При этом концентрация ГФК везде выражалась через молярную концентрацию РСЦ. Чтобы приблизить условия определения констант к природным, его проводили при pH 7 в разбавленном гидрокарбонатном буфере. Методы и результаты определения констант описаны ниже.

2.2.3.1. Определение констант устойчивости гуматов ртути ионообменным методом с использованием конкурентного комплексообразования

Для определения константы устойчивости гуматов ртути был выбран ионообменный метод, который широко применяется в этих целях [5]. Метод основан на том, что ГФК, связывая ионы металла в комплекс, препятствуют его связыванию с катионитом. При этом, в случае, если емкость катионита значительно превышает количество металла, поглощение металла катионитом линейно зависит от концентрации свободной формы металла, то есть сорбция металла описывается изотермой Генри:

$$v_{\text{sorb}}(\text{Hg}) = K_{\text{H}} \cdot [\text{Hg}^{2+}], \quad (2.62)$$

где $v_{\text{sorb}}(\text{Hg})$ - количество сорбированной Hg(II), K_{H} - константа Генри.

При pH 7 практически весь Hg^{2+} гидролизован. Чтобы воспрепятствовать гидролизу, в растворы, содержащие ГФК и Hg(II) при pH 7 вводили хлорид калия в концентрации 0.01M. Как показывает расчет, при этих условиях в отсутствие ГФК практически вся Hg(II) присутствует в растворе в виде HgCl_2 . Тогда в отсутствие ГФК изотерма сорбции Hg(II) на катионите будет выглядеть следующим образом:

$$v_{\text{sorb}}(\text{Hg}) = \lambda_0 \cdot [\text{Hg}(\text{II})], \quad (2.63)$$

где λ_0 - коэффициент распределения Hg(II) в отсутствие ГФК, а $[\text{Hg}(\text{II})]$ - суммарная концентрация всех растворенных форм Hg(II), которая определяется экспериментально. При этом λ_0 можно связать с константой Генри исходя из определения константы устойчивости HgCl_2 и учитывая, что хлорид-ионы находятся в большом избытке по сравнению с Hg(II):

$$\lambda_0 = \frac{K_{\text{H}}}{\beta_2(\text{HgCl}_2) \cdot C^2(\text{Cl}^-)}. \quad (2.64)$$

При введении в систему, содержащую Hg(II) и Cl⁻ гумусовых кислот, протекает реакция конкурентного комплексообразования:



Тогда коэффициент распределения Hg(II) между раствором и катионитом выражается через константу Генри следующим образом:

$$\lambda = \frac{K_H}{\beta_2(\text{HgCl}_2) \cdot C^2(\text{Cl}^-) + K(\text{PC}\dots) \cdot C(\text{PC}\dots)} \quad (2.66)$$

Из уравнений (2.65) и (2.66) следует, что:

$$\frac{\lambda_0}{\lambda} - 1 = \frac{K(\text{PC}\dots) \cdot C(\text{PC}\dots)}{\beta_2(\text{HgCl}_2) \cdot C^2(\text{Cl}^-)}. \quad (2.67)$$

Из уравнения (2.67) следует, что при постоянной концентрации Cl^- по мере увеличения концентрации РСЦ величина $(\lambda_0/\lambda - 1)$ линейно растет, причем из тангенса угла наклона соответствующей зависимости можно вычислить $K(\text{PC}\dots)$. Это означает, что для определения $K(\text{PC}\dots)$ необходимо построить зависимость $(\lambda_0/\lambda - 1)$ от $C(\text{PC}\dots)$.

Первым этапом получения указанной зависимости было нахождение λ_0 . Для этого было изучено распределение $\text{Hg}(\text{II})$ между катионитом и раствором. Полученные результаты приведены на Рис. 2.14.

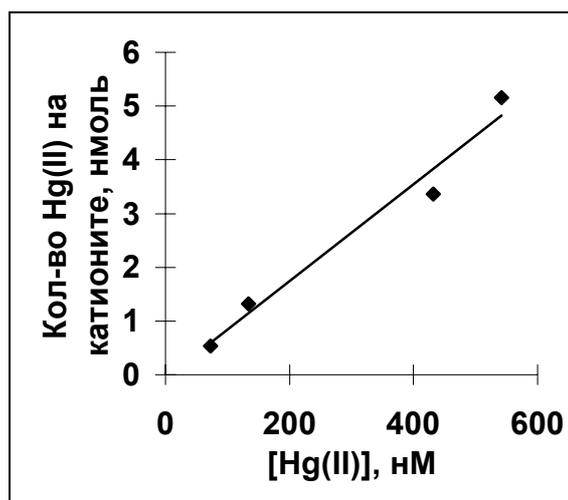


Рис. 2.14. Распределение $\text{Hg}(\text{II})$ между катионитом КУ-23 и раствором, содержащим 0.01M Cl^- при pH 7.

Обработка полученной зависимости позволила определить, что в указанных условиях значение λ_0 , определяемое как тангенс угла наклона изотермы адсорбции, приведенной на Рис. 2.14 составляет 0.0090.

Для изучения влияния ГФК на коэффициент распределения $\text{Hg}(\text{II})$ между катионитом и раствором в систему вводили различные концентрации ГФК и определяли $\text{Hg}(\text{II})$ в растворе. В экспериментах использовали препараты ГФК Т4, МН4 и МТ4. Полученные результаты ГФК для МТ4 представляли в виде зави-

симости ($\lambda_0/\lambda-1$) от концентрации ГФК в логарифмических координатах, причем концентрацию ГФК выражали как молярную концентрацию РСЦ (Рис. 2.15).

Как видно из Рис. 2.15, введение ГФК МТ4 приводило к *увеличению* связывания Hg(II) с катионитом. Аналогичная тенденция наблюдалась для двух других препаратов.

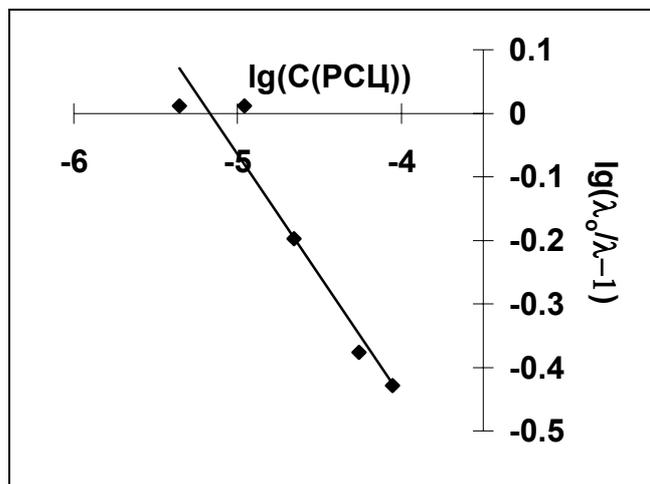


Рис. 2.15. Зависимость поглощения Hg(II) катионитом КУ-23 от концентрации ГФК МТ4.

Обнаруженный факт, что ГФК способствует связыванию Hg(II) с катионитом говорит о том, что помимо сорбции ионов Hg^{2+} на катионите, имеет место сорбция на нем гуматов ртути. Это делает ионообменный метод неприменимым для определения констант устойчивости гуматов ртути.

2.2.3.2. Определение констант устойчивости гуматов ртути адсорбционным методом с использованием конкурентного комплексообразования

Неприменимость ионообменного метода для определения констант устойчивости гуматов ртути побудила нас к модификации этого метода. А именно, возникла идея заменить катионит на какой-либо другой сорбент, способный сорбировать Hg(II) из раствора. При этом искомый сорбент должен был удовлетворять следующим условиям. Во-первых, обладать сорбционной способностью по отношению к Hg(II) в нейтральных растворах. Во-вторых, обеспечивать линейность изотермы сорбции Hg(II) при концентрации 250 нМ и выше. Во-третьих, он не должен сорбировать гуматы. Кроме того, в условиях

эксперимента сорбент должен понижать концентрацию Hg(II) в 2-4 раза: при более сильной сорбции возникнут большие погрешности при определении λ_0 , а при более слабой - при определении $(\lambda_0/\lambda-1)$.

В качестве возможных сорбентов были выбраны полиэтилен [34], кварц [33] и стекло. Для оценки их сорбционной способности по отношению к Hg(II) была изучена адсорбция Hg(II) на стенках сосудов из соответствующего материала в присутствии 0.0025M гидрокарбонатного буфера (pH 7). Эксперименты проводились в бесхлоридной среде, так как хлориды препятствовали сорбции. Для оценки доли адсорбированной Hg(II) строили зависимость концентрации Hg(II) в равновесии с сорбентом от исходной концентрации Hg(II) (Рис. 2.16).

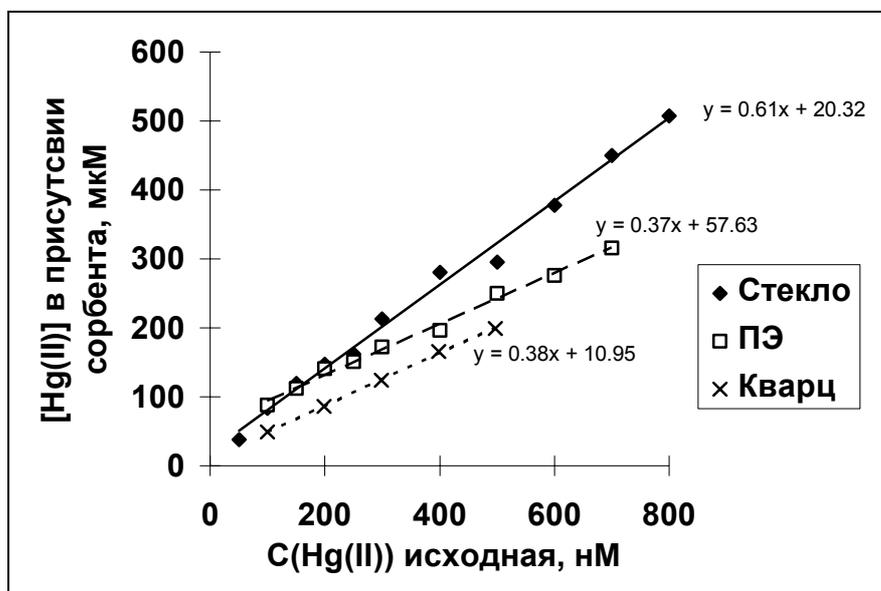


Рис. 2.16. Зависимость концентрации Hg(II) в равновесии с различными сорбентами от исходной концентрации Hg(II) (pH7, 0.0025M гидрокарбонатный буфер).

Из рисунков видно, что все три сорбента обеспечивают линейность изотерм адсорбции в требуемом диапазоне концентраций. При этом стекло обладает минимальной сорбционной способностью, а кварц - максимальной.

В связи с этим для определения констант устойчивости гуматов ртути было изучено распределение Hg(II) между раствором и кварцем в присутствии 20 и 80 мг/л ГФК МТ4. Изотермы адсорбции представлены в виде зависимости

количества сорбированной Hg(II) от ее концентрации в уравновешенном с сорбентом растворе (Рис. 2.17). Тангенс угла наклона изотерм соответствует коэффициентам распределения (λ), используемым для нахождения константы устойчивости гуматов ртути.

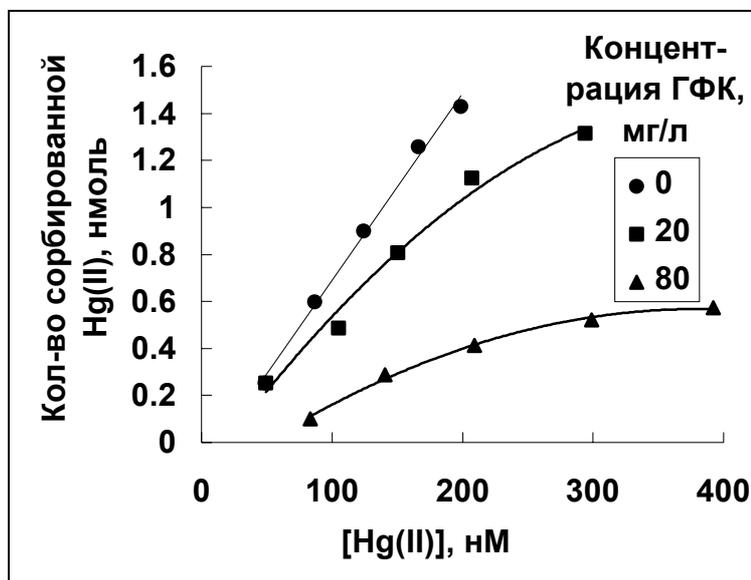


Рис. 2.17. Изотермы адсорбции Hg(II) на кварце в присутствии различных концентраций ГФК МТ4 (рН 7, 0.0025 М гидрокарбонатный буфер).

Как видно из рисунка, по мере увеличения концентрации ГФК наблюдалось отклонение изотерм адсорбции от линейности, что сопровождается уменьшением сорбции. Это явление можно объяснить тем, что ГФК, имея довольно высокое сродство к SiO_2 (разд. 2.1.2.1) занимает адсорбционные центры на кварце и тем самым препятствует сорбции Hg(II) .

Ввиду наблюдаемой нелинейности изотерм адсорбции Hg(II) на кварце в присутствии ГФК, использование кварца для определения констант устойчивости гуматов ртути оказывается невозможным.

В связи с этим аналогичные эксперименты были проведены с полиэтиленовыми поверхностями. Изотермы адсорбции Hg(II) на полиэтилене при различных концентрациях ГФК приведены на Рис. 2.18.

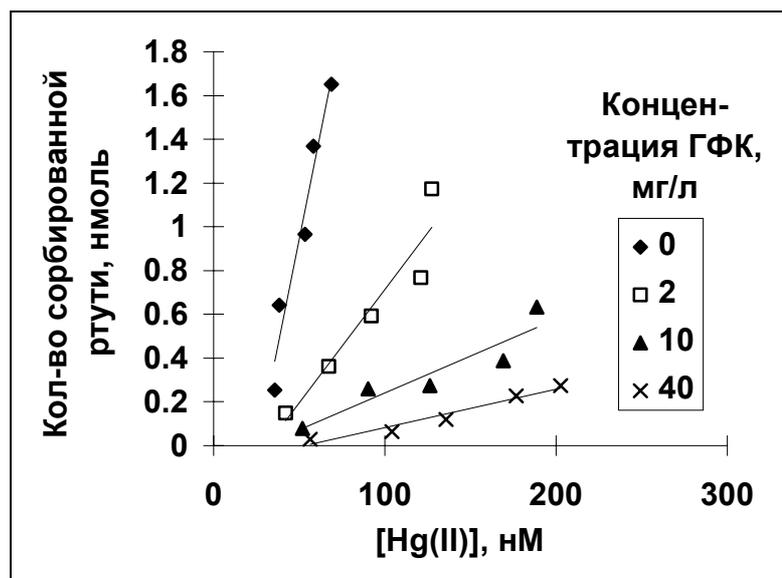


Рис. 2.18. Типичные изотермы адсорбции Hg(II) на полиэтилене при различных концентрациях ГФК (рН 7, 0.0025 М гидрокарбонатный буфер).

Из рисунка видно, что ГФК снижают адсорбцию Hg(II) на полиэтилене, причем во всем исследованном диапазоне концентраций ГФК изотермы остаются линейными. Кроме того, при повышении концентрации ГФК до 200 мг/л, Hg(II) на полиэтилене практически не адсорбируется, что говорит об отсутствии адсорбции гуматов ртути на полиэтилене. На основании данного факта дальнейшие эксперименты по определению констант устойчивости гуматов ртути проводили с использованием полиэтилена в качестве адсорбента.

Как и ранее, константы устойчивости рассчитывали в соответствии с подходом, рассматривающим ГФК как набор РСЦ (разд. 2.2.1). Принимая во внимание, что определение констант устойчивости гуматов ртути (II) осложнялось гидролизом иона Hg^{2+} и, возможно, комплексообразованием ртути(II) с компонентами буферной среды, вводили следующие допущения.

1. На полиэтилене сорбируется соединение HgA, представляющее собой либо гидроксид, либо гидрокарбонатный комплекс Hg(II). Химическая природа данного соединения не имеет значения для расчета констант (см. ниже).
2. Концентрация свободного А постоянна.
3. В растворах, содержащих ГФК, протекает реакция конкурентного комплексообразования:



причем преобладающими формами Hg(II) в таких растворах являются HgA и Hg·PCЦ.

Аналогично (2.62)-(2.64) можно показать, что в силу последнего допущения, а также того факта, что коэффициент распределения Hg(II) между раствором и сорбентом прямо пропорционален концентрации сорбируемого соединения HgA, из изотерм адсорбции (Рис. 2.18) можно определить следующее соотношение:

$$\frac{[\text{Hg} \cdot \text{PC} \dots]}{[\text{HgA}]} = \left(\frac{\lambda_0}{\lambda} - 1 \right), \quad (2.69)$$

где λ_0 - коэффициент распределения Hg(II) в отсутствие ГФК, λ - то же в присутствии ГФК.

Для расчета K(PCЦ) на основании (2.69) запишем выражение для константы лигандного обмена (2.68):

$$K(\text{PC} \dots / \text{A}) = \frac{[\text{Hg} \cdot \text{PC} \dots] \cdot [\text{A}]}{[\text{HgA}] \cdot [\text{PC} \dots]}. \quad (2.70)$$

При условии постоянства [A], ее можно включить в константу. В этом случае равновесие (2.68) будет описываться следующей условной константой конкурентного комплексообразования:

$$K_{[\text{A}]}(\text{PC} \dots / \text{A}) = \frac{[\text{Hg} \cdot \text{PC} \dots]}{[\text{HgA}] \cdot [\text{PC} \dots]}. \quad (2.71)$$

Поскольку во всех экспериментах использовался большой избыток PCЦ (как минимум, 10:1), то можно записать, что

$$[\text{PCЦ}] = C(\text{PCЦ}) \quad (2.72)$$

Подставляя (2.72) и (2.71) в (2.69) и преобразуя полученное уравнение, получаем

$$K_{[\text{A}]}(\text{PC} \dots / \text{A}) = \frac{1}{C(\text{PC} \dots)} \cdot \left(\frac{\lambda_0}{\lambda} - 1 \right). \quad (2.73)$$

Выразим K(PCЦ) из $K_{[\text{A}]}(\text{PCЦ}/\text{A})$. Для этого домножим числитель и знаменатель в правой части уравнения (2.71) на $[\text{Hg}^{2+}]$, перенесем K(PCЦ) влево, а $K_{[\text{A}]}(\text{PCЦ}/\text{A})$ - вправо:

$$K(PC\dots) = \frac{[HgA]}{[Hg^{2+}]} \cdot K_{[A]}(PC\dots/A) \quad (2.74)$$

Дробь в правой части этого уравнения представляет собой не что иное, как константу равновесия реакции:



при условии, что [A] включена в константу:

$$K_{[A]}(HgA) = \frac{[HgA]}{[Hg^{2+}]} \quad (2.76)$$

Следовательно, для расчета $K(PCЦ)$ необходимо было определить $K_{[A]}(HgA)$. Ее находили аналогичным способом, используя в качестве конкурентного комплексообразователя бромид, константы устойчивости комплексов $Hg(II)$ с которым известны.

Изотермы адсорбции $Hg(II)$ на полиэтилене в присутствии различных концентраций KBr представлены на Рис. 2.19.

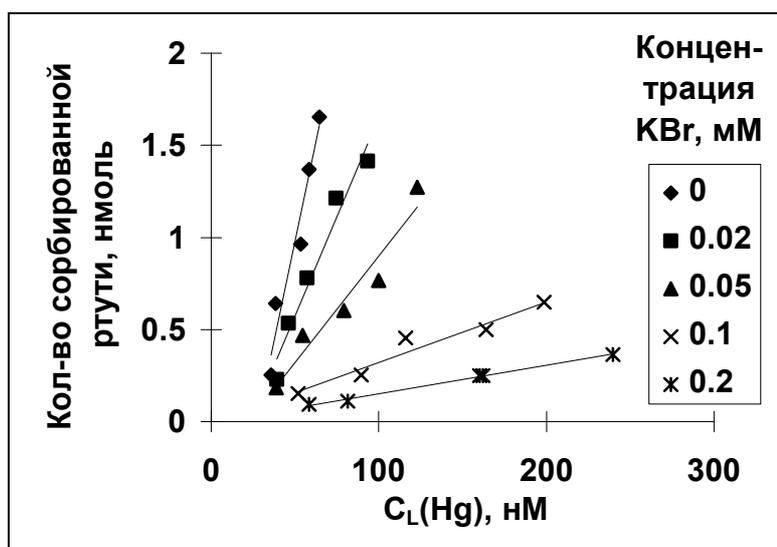


Рис. 2.19. Изотермы адсорбции ртути(II) на полиэтилене в присутствии различных концентраций KBr (рН 7, 0.0025 М гидрокарбонатный буфер).

Аналогично предыдущим выкладкам, из полученных изотерм определяли условную (при постоянной [A]) константу равновесия реакции



выражаемую формулой:

$$K_{[A]}(Br / A) = \frac{[HgBr_2]}{[HgA] \cdot [Br^-]^2}. \quad (2.78)$$

где λ_0 - коэффициент распределения Hg(II) в отсутствие, а λ - в присутствии бромида.

Зная константу устойчивости HgBr₂ можно вычислить K_[A](HgA):

$$K_{[A]}(HgA) = \beta_2(HgBr_2) / K_{[A]}(Br/A). \quad (2.79)$$

Подставляя (2.79) в (2.74) и учитывая (2.73), получаем выражение, которое позволит нам вычислить K(РСЦ) из изотерм адсорбции Hg(II) в присутствии ГФК:

$$K(PC...) = \frac{\beta_2(HgBr_2)}{K_{[A]}(Br / A)} \cdot \frac{1}{\lambda_0} \cdot \left(\frac{\lambda_0}{\lambda} - 1 \right), \quad (2.80)$$

где λ_0 - коэффициент распределения Hg(II) в отсутствие ГФК, а λ - то же в присутствии ГФК.

Для нахождения K_[A](Br/A) из изотерм адсорбции Hg(II) в присутствии бромидов (Рис. 2.19) использовали уравнение:

$$K_{[A]}(Br / A) = \frac{1}{\lambda_0} \cdot \left(\frac{\lambda_0}{\lambda} - 1 \right), \quad (2.81)$$

где λ_0 - коэффициент распределения ртути в отсутствие бромидов, а λ - в их присутствии.

Величина K_[A](Br/A) была вычислена для каждой изотермы. Логарифмы полученных констант усредняли. Рассчитанное таким образом значение K_[A](Br/A) составило $(4.1 \pm 1) \cdot 10^8$. Следует заметить, что рассчитанная на основании этого значения по уравнению (2.79) условная константа устойчивости HgA составляет $4.9 \cdot 10^8$, что соответствует условным (рН 7) константам устойчивости Hg(OH)₂, рассчитанным из литературных данных [47] (от $6.7 \cdot 10^7$ до $6.2 \cdot 10^9$). Это позволяет нам утверждать, что HgA является гидроксидом ртути(II).

Далее на основании изотерм, полученных при трех различных концентрациях ГФК находили K(РСЦ) по уравнению (2.80). Полученные константы логарифмировали и усредняли. Особо следует отметить, что закономерного изменения K(РСЦ) при увеличении концентрации ГФК не наблюдали. Из этого можно сделать вывод, что константа устойчивости гуматов

ртути в диапазоне степеней заполнения от 0 до 0.05 постоянна с точностью до погрешностей эксперимента.

К достоинствам вышеописанного метода можно отнести возможность определения констант устойчивости гуматов Hg(II) с учетом гидролиза ионов Hg^{2+} . К недостаткам - довольно высокую чувствительность определяемых величин к экспериментальным погрешностям, неизбежным в опытах с адсорбцией из очень разбавленных растворов (особенно неустойчива к экспериментальным погрешностям величина λ_0). Кроме того, этот метод не позволяет учесть протонирования ртутьсвязывающих центров ГФК и их неравноценность. Таким образом, найденная константа применима при соблюдении следующих условий: $pH \approx 7$, $I \approx 0.0025M$, малых отношениях ртуть:ГФК (до 100 мкМ Hg(II) на 1 г ГФК). Состав многих природных вод отвечает данным условиям, поэтому полученные значения констант можно использовать для расчета распределения Hg(II) по формам в природных водах.

Определенные вышеописанным методом константы устойчивости гуматов ртути приведены на Рис. 2.20.

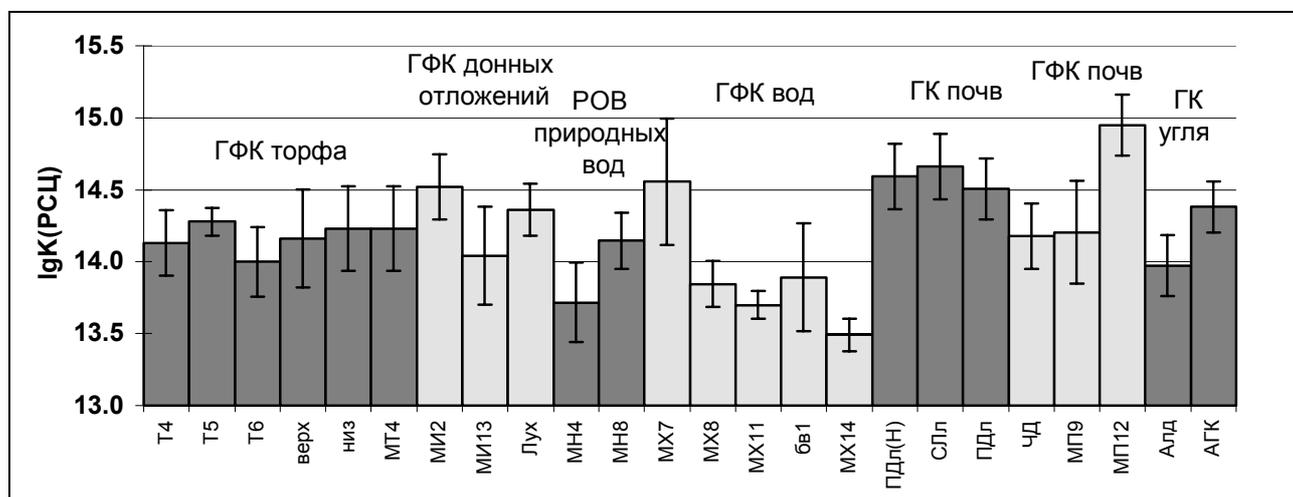


Рис. 2.20. Устойчивость различных гуматов ртути.

Как и в случае содержания РСЦ, по величине $lgK(РСЦ)$ большинство групп препаратов близки друг к другу. Заметно отличаются некоторые ГК и ГФК почв, а также ГФК вод. Наблюдаемые различия, по-видимому, определяются особенностями РСЦ в ГФК различного происхождения. Более подробно сопоставление констант

устойчивости гуматов ртути со структурными параметрами соответствующих ГФК будет проведено в разд. 2.4.

Полученные значения констант были соотнесены с литературными данными (Табл.1.7). Для того, чтобы значения констант были сопоставимы, все литературные данные были пересчитаны на концентрацию РСЦ. Для констант, выраженных через молярную концентрацию ГФК, пересчет проводили по формуле:

$$\lg K(\text{РСЦ}) = \lg K(\text{ГФК}) - (\lg M(\text{ГФК}) + \lg \nu(\text{РСЦ})), \quad (2.82)$$

где $K(\text{ГФК})$ - константа, выраженная через молярную концентрацию ГФК, $M(\text{ГФК})$ - молярная масса ГФК, использованных в указанной работе, $\nu(\text{РСЦ})$ - содержание РСЦ в ГФК, моль/г. Поскольку значение последнего параметра авторами цитируемых работ не определялось, использовались средние значения для соответствующих типов ГФК, найденные в настоящей работе. Пересчитанные значения констант приведены в Табл.2.6. При этом из рассмотрения были исключены данные работы [70] и [118] по причинам, описанным в обзоре литературы (разд. 1.4).

Таблица 2.6

Литературные данные по константам устойчивости гуматов ртути в пересчете на РСЦ.

Тип и происхождение ГФК	pH	μ	lgK(ГФК)	M(ГФК), г/моль	ω(РСЦ), моль/г	lgK(РСЦ)	Лит-ра
Морские	8	?	18.1	4600-32000	0.0037*	16.0-16.9	[62]
Речные			19.3-19.7		0.0037*	17.1-18.5	
Озерные			18.4-20.1		0.0037*	16.3-18.9	
Торфяные ФК			18.3		0.0023**	16.2-17.1	
ФК Москвы-реки	6.5	0.1	11	4100	0.0037*	10.2***	[119]
ГФК "Aldrich"	7	?	—	—	—	13.7-15.0	[по данным 34]

* - для водных ГФК в расчете на беззольный препарат

** - для торфяных ГФК

*** - дополнительно пересчитано на $I=0$ по уравнению Дэвиса (разд. 1.2.2.2)

Как видно из данных, обобщенных в Табл. 2.6, результаты настоящей работы лучше всего совпадают с результатами, рассчитанными из данных [34]. Так, для препарата ГФК фирмы "Aldrich", по нашим данным, $\lg K(\text{РСЦ}) = 14.0 \pm 0.2$ ($P=0.95$), а из данных [34] - 13.7-15.0 в зависимости от соотношения $\text{Hg(II)}:\text{ГФК}$.

Нужно заметить, что константы устойчивости гуматов ртути рассчитаны из данных работы [34] по адсорбции Hg(II) на полиэтилене в присутствии ГФК, что совпадает с методом, примененным в настоящей работе.

Значения констант, определенные в [62] оказались на 2-4 порядка выше, чем определенные в настоящей работе, а определенные в [119] - на 3 порядка ниже. В последнем случае расхождение может быть обусловлено тем, что в работе [62] препараты ГФК выделяли с использованием активированного угля, что могло принципиально сказаться на составе выделяемых ГФК. Что касается работы [119], то причины расхождения ее данных с данными настоящей работы можно объяснить использованием принципиально иного метода и более высоким рН, при котором работали авторы [119].

* * *

Таким образом, показано, что ГФК способны связывать Hg(II) в прочные комплексы. Необходимо заметить, что условия определения констант устойчивости гуматов ртути и отсутствие зависимости их от степени заполнения РСЦ обеспечивают возможность использования полученных констант для характеристики связывания Hg(II) с наиболее сильными РСЦ в ГФК. Однако, остаются неясными два взаимосвязанных вопроса: о химической природе ртутьсвязывающих центров и о влиянии структуры ГФК на константы устойчивости гуматов ртути. Этим вопросам посвящены следующие разделы.

2.3. Изучение природы ртутьсвязывающих центров гумусовых кислот методами элементного анализа и спектроскопии

В предыдущих разделах ртутьсвязывающие центры (РСЦ) рассматривались как комбинация фрагментов молекулы ГФК, участвующих в связывании одного атома ртути. Однако для выявления взаимосвязи “структура-свойство” для ГФК необходимо установить химическую природу указанных фрагментов, которая в дальнейшем и будет подразумеваться под термином “химическая природа РСЦ”. В дальнейшем под ртутьсвязывающим фрагментом (РСФ) понимали координирующую ртуть функциональную группу (РСГ) и связанный с ней атом углерода. В случае, если соответствующие функциональные группы находятся у соседних атомов углерода, их рассматривали как один РСФ. При этом на основании анализа данных по константам устойчивости комплексов Hg(II) с различными органическим лигандами (разд. 1.2.2.2) был сделан вывод, что ртуть может координироваться не более, чем четырьмя функциональными группами, то есть в РСЦ может входить не более четырех РСГ.

Как уже указывалось в разд. 2.1, ГФК содержат несколько процентов серы и азота, а также большое количество карбоксильных и фенольных групп. При этом известно (разд. 1.2), что по своим химическим свойствам Hg(II) обладает высоким сродством как к карбоксильным и фенольным группам, так и к азот- и серосодержащим фрагментам. Вышеперечисленные факторы позволяют предположить следующие возможные РСГ и РСФ.

Кислородсодержащие группы. Кислород, наряду с углеродом и водородом, является макроэлементом, образующим молекулы ГФК. Он входит в состав карбоксильных и фенольных групп (разд. 1.1). Образованные данными группами фталатные и салицилатные фрагменты рассматриваются как основные центры связывания для многих типов тяжелых металлов (разд. 1.3.3). Учитывая обогащенность молекул ГФК кислородсодержащими функциональными группами, а также высокое сродство Hg(II) к связыванию с ними (разд. 1.2.2.2), именно их можно рассматривать как наиболее вероятные центры связывания Hg(II) в ГФК.

Серусодержащие группы. ГФК, по разным данным, содержат 0.1-3% серы [14]. Формы нахождения серы в ГФК к настоящему времени практически не изучены (разд. 1.1). В качестве потенциально возможных центров связывания ртути можно рассматривать тиольные, дисульфидные, сульфоксидные, сульфоновые и сульфокислотные группы. Нужно учитывать при этом, что тиольные и, отчасти, дисульфидные группы легко подвергаются окислению, поэтому их присутствие в исследованных препаратах ГФК маловероятно.

Азотсодержащие группы. Азот представляет собой облигатный элемент ГФК, содержание которого составляет 1-5% [14]. Значительная часть (до трети [22]) азота находится в ГФК в виде олигопептидов, способных образовывать прочные комплексы с Hg(II). Часть азота находится в виде ароматических аминов, также образующих прочные комплексы с Hg(II). Поэтому азотсодержащие фрагменты могут играть значительную роль в связывании Hg(II) с ГФК.

Ароматические кольца. Как указывалось в разд. 1.1., каркасная часть молекулы ГФК образована ароматическими структурами. Согласно [29], они могут меркурироваться соединениями Hg(II). Как показано в обзоре литературы (разд. 1.2.2.1), для большей части субстратов меркурирование требует жестких условий, хотя некоторые соединения (в частности, производные резорцина и флуороглуцина) меркурируются достаточно легко. В случае ГФК протекание меркурирования может осложняться двумя факторами: разбавленностью растворов ГФК и связыванием Hg(II) в устойчивые комплексные соединения кислород-, азот- и серусодержащими группами. Поэтому меркурирование ароматических ядер ГФК представляется маловероятным, хотя полностью исключить возможность протекания этого процесса нельзя.

Кроме того, что все вышеуказанные группы могут формировать РСФ самостоятельно, они также могут объединяться в хелатирующие фрагменты. Учитывая обилие функциональных групп в макромолекулах ГФК (так, по данным ^{13}C ЯМР-спектроскопии, до 30% всего углерода соответствует углероду карбоксильных, эфирных, метоксильных и фенольных групп), вероятность участия двух соседних функциональных групп в координировании Hg(II)

достаточно велика. Следовательно, в качестве РСФ могут выступать фталатные, салицилатные, олигопептидные и другие хелатные фрагменты.

Химическая гетерогенность и нерегулярное строение ГФК затрудняют изучение природы РСФ. Поэтому для их характеристики будет использовано несколько подходов, предусматривающих исследование элементного состава гуматов ртути; с использованием спектроскопическое исследование природы связей Hg-ГФК; сравнительный анализ с использованием констант устойчивости гуматов.

2.3.1. Установление природы центров связывания, исходя из состава гуматов ртути

Оценка роли различных групп в связывании Hg(II) ГФК на основании элементного состава гуматов ртути осуществлялась, исходя из следующих критериев.

1. Количество функциональных групп, ответственных за связывание Hg(II), должно коррелировать с содержанием ртути в гуматах.
2. Содержание Hg(II) в гуматах, что равноценно содержанию РСЦ, не должно превышать содержания функциональных групп, ответственных за связывание ртути.

При этом принимался во внимание тот факт, что вышеописанные критерии базируются на составе гуматов, в которых заполнены все РСЦ, а значит, позволяют судить о природе тех центров связывания, которые присутствуют в ГФК в наибольших количествах. Вполне возможно, что для малых степеней заполнения основными РСЦ будут иные функциональные группы, которые будут более сильными, но при этом их относительное количество будет невелико.

Оценка вклада всех функциональных групп в РСЦ ГФК, выполненная по вышеперечисленным критериям, приведена ниже.

Серусодержащие группы. Сопоставление данных по содержанию серы и РСЦ в ГФК показало отсутствие взаимосвязи между ними. Кроме того, содержание серы во всех образцах было меньше содержания РСЦ (10-95%(моль)

от содержания РСЦ). Следовательно серусодержащие группы не играют существенной роли в связывании Hg(II).

Азотсодержащие группы. Количество азота в большинстве препаратов меньше количества РСЦ (от 10% до 100%). Однако для четырех препаратов (ГК почв ДПл, ДПл(Н) и СЛЛ; ГФК почв МП9) эта величина находилась в пределах 110-300%. Неожиданными оказались результаты корреляционного анализа: между содержанием азота и РСЦ наблюдается *обратная* корреляция (Рис. 2.21). Следует заметить, что тангенс угла наклона этой зависимости близок к -1.

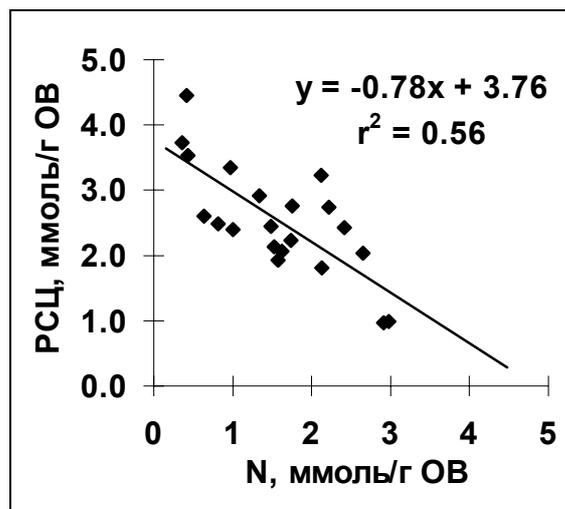


Рис. 2.21. Корреляционная зависимость между содержанием азота и РСЦ в ГФК.

Таким образом, по обоим критериям азотсодержащие группы не могут рассматриваться как отвечающие за связывание основной массы Hg(II). Что касается обратной корреляции между содержанием РСЦ и азота в ГФК, то на сегодняшний день мы не можем предложить убедительной интерпретации этого явления.

Кислородсодержащие группы. Прямая взаимосвязь между содержанием кислорода и РСЦ в ГФК отсутствует. Однако практически для всех препаратов общее содержание кислородсодержащих групп больше, чем содержание РСЦ. Корреляционный анализ блоков данных по содержанию ртути в гуматах, и функциональному составу ГФК показал наличие значимой взаимосвязи между общим содержанием кислотных групп ГФК (Рис. 2.22) и содержанием РСЦ, при этом корреляция с содержанием карбоксильных групп отсутствует.

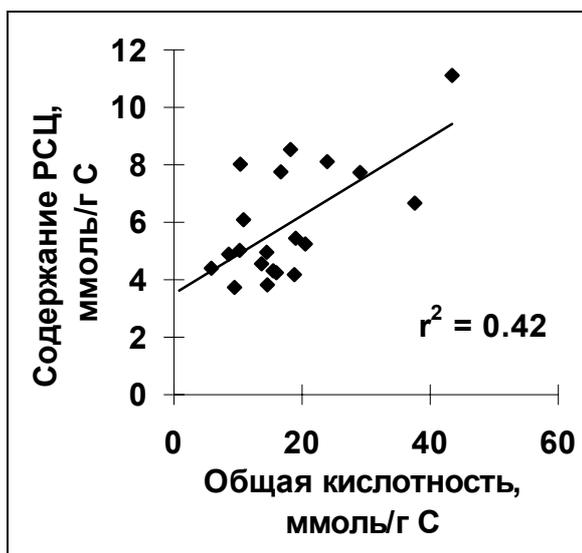


Рис. 2.22. Корреляционная зависимость между содержанием РСЦ в ГФК и общим содержанием кислотных групп.

Принимая во внимание, что большинство кислотных групп в ГФК представлено карбоксильными и фенольными группами, полученная корреляция подтверждает предположение о том, что указанные группы играют существенную роль в связывании ГФК с Hg(II).

Приведенные выше данные показывают, что сравнительного анализа элементного состава гуматов ртути с элементным и функциональным составом ГФК явно недостаточно для того, чтобы делать однозначные выводы о природе РСЦ. Поэтому было осуществлено прямое спектроскопическое исследование гуматов ртути.

2.3.2. Спектроскопические исследования гуматов ртути и соединений Hg(II) с модельными кислотами.

2.3.2.1. Исследование гуматов ртути методом ^{199}Hg -ЯМР спектроскопии

Для исследования ближайшего химического окружения Hg(II) в гуматах был использован метод ^{199}Hg -ЯМР спектроскопии [163].

К сожалению, указанный метод не является идеальным для исследования взаимодействия ГФК с Hg(II) в силу низкой чувствительности, высокой анизотропии химического сдвига ядер ^{199}Hg и его высокой чувствительности к химическому окружению ртути. В случае гуматов ртути эти факторы должны были привести к большому уширению сигналов и, следовательно, к уменьшению

отношения сигнал:шум. Поэтому для записи спектров необходимо было получить как можно более концентрированный раствор гуматов ртути. Задача осложнялась, с одной стороны, относительно малой растворимостью ГФК, а с другой - возможностью образования нерастворимых гуматов ртути. Чтобы избежать последнего процесса, соотношение ртуть:ГФК поддерживали не выше 0.5 ммоль/л (разд 2.2.2.1).

Для получения концентрированных растворов комплексов ртути с торфяными ГФК использовали два способа:

- прибавление концентрированного раствора $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ к концентрированным растворам ГФК (рН 3)
- упаривание разбавленных растворов гуматов ртути.

К сожалению, все попытки получить раствор ГФК с концентрацией выше 5 г/л не удалось, ибо при превышении этой концентрации ГФК начинали выпадать в осадок. Таким образом, добавлением концентрированного раствора $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ к раствору ГФК удалось получить раствор, содержащий всего 2.7 мМ ртути в присутствии 5 г/л ГФК МТ4. Был записан спектр этого раствора, однако после 140000 сканов сигналов в спектре обнаружено не было.

Для получения более концентрированных растворов гуматов ртути была осуществлена замена ГФК соответствующими гуматами натрия (рН7), поскольку их растворимость заметно превышает растворимость ГФК. Однако при добавлении $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ к раствору натриевой соли ГФК МТ4 в концентрации 5 г/л (по С) наблюдалось образование осадка. Тогда был получен раствор, содержащий 2 г/л (по С) натриевой соли МТ4 и 10 мМ Hg (II) и была предпринята попытка его упарить. При упаривании этого раствора более, чем в 2.5 раза также наблюдалось образование осадка. Спектр раствора, упаренного в 2.5 раза был записан, однако после 140000 сканов сигналов в нем обнаружено не было.

Таким образом, нам не удалось получить раствор, в котором ГФК сосуществовали бы с Hg(II) в концентрациях, достаточных для получения ^{199}Hg -ЯМР-спектров, поэтому от использования метода ^{199}Hg -ЯМР-спектроскопии пришлось отказаться.

2.3.2.2. Исследование гуматов ртути методом ИК-спектроскопии

Для выяснения природы ртутьсвязывающих центров в ГФК были записаны ИК-спектры четырех препаратов гуматов ртути (Т4, Т7, МТ4, МН4). Полученные спектры были сопоставлены со спектрами соответствующих ГФК. На основании наблюдаемых различий делались выводы о том, какие функциональные группы ГФК участвуют в связывании с Hg(II).

Типичные ИК-спектры ГФК и соответствующего гумата ртути приведены на Рис. 2.23 и Рис. 2.24.

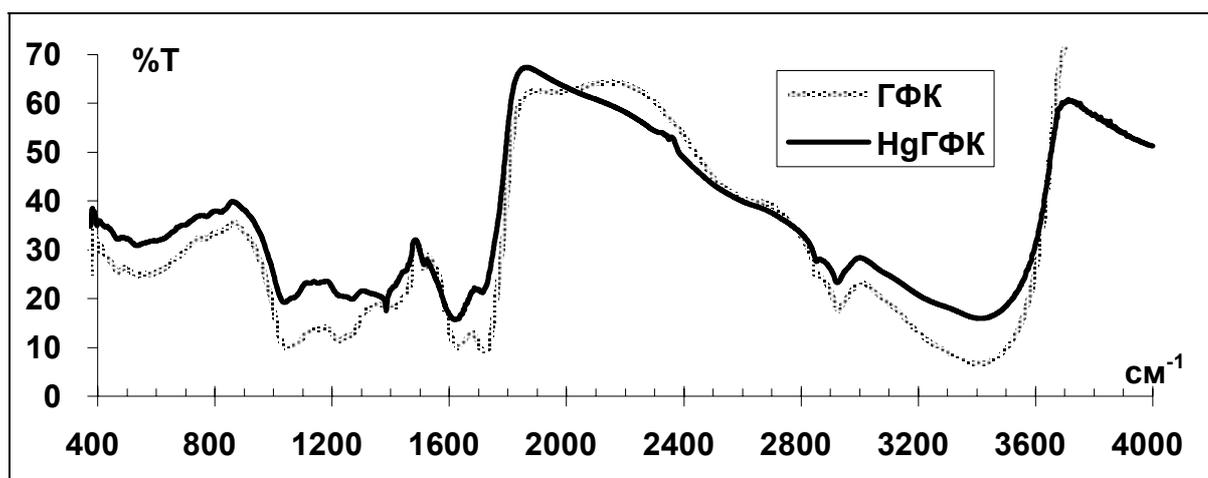


Рис. 2.23. ИК-спектры препарата Т4 и его комплекса с Hg(II) (KCl в таблетке)

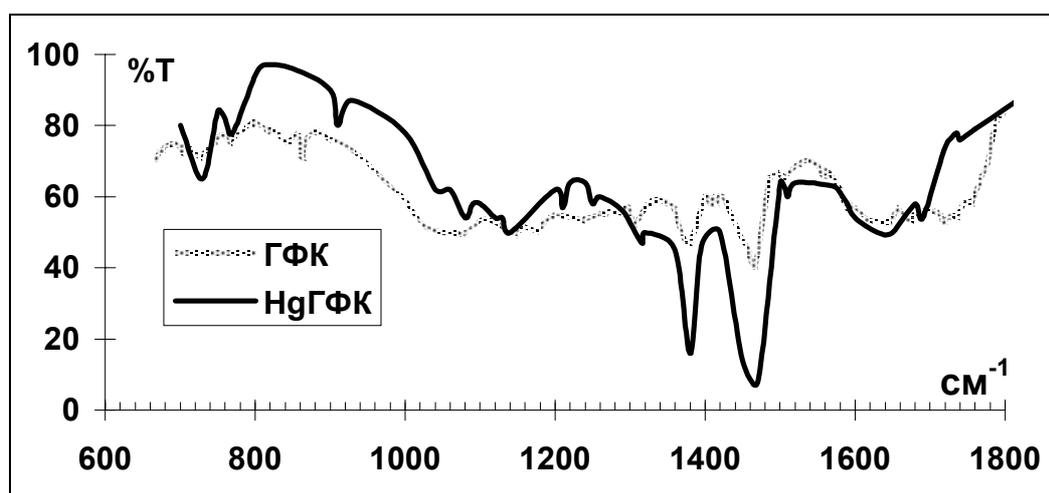


Рис. 2.24. ИК-спектры препарата Т4 и его комплекса с Hg(II).

В первую очередь обращает на себя внимание отсутствие различий между спектрами ГФК и гумата ртути при $400-600\text{ см}^{-1}$ - в области валентных колебаний связи Hg-C [164]. Это позволяет предположить, что связь Hg-C в гуматах

практически отсутствует. С другой стороны, в этом же диапазоне поглощают алкильные, бензольные и кислотные фрагменты [165], поэтому колебания связи Hg-C могут быть ими замаскированы.

Основное различие между спектрами ГФК и гумата ртути лежит в области 1700-1750 см^{-1} . На обоих рисунках видно, что в спектре гумата данная полоса поглощения, соответствующая валентному колебанию карбоксильной C=O связи, значительно уменьшается по сравнению с полосой 1600-1650 см^{-1} , соответствующей колебаниям карбонильной и амидной C=O связи, асимметрическим колебаниям карбоксилат-иона, а также скелетным колебанием ароматических колец. Это заставляет предположить, что указанный эффект обусловлен участием карбоксильных групп в связывании Hg(II).

Для подтверждения данного предположения необходимо было сопоставить различия, наблюдаемые между ИК-спектрами гуматов ртути и соответствующих ГФК, с различиями в спектрах соединений Hg(II) с карбоновыми кислотами и исходными кислотами. С этой целью были получены соединения ртути с модельными низкомолекулярными карбоновыми кислотами и проведено их ИК-спектроскопическое исследование.

2.3.2.3. Синтез и исследование соединений ртути(II) с модельными органическими кислотами.

В качестве модельных кислот были выбраны янтарная, адипиновая, фталевая и 2,4-дигидроксибензойная. Выбор был обусловлен тем, что бидентатные фрагменты, присутствующие в данных кислотах могут выступать в качестве РСФ в ГФК. Их ртутные соли получали, добавляя $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ к растворам натриевых солей соответствующих кислот. При этом выпадали белые осадки.

Определение температуры плавления показало, что полученные осадки обугливаются не плавясь при $t > 150^\circ\text{C}$. Рентгенофазовый анализ показал их рентгеноаморфность.

В осадках было определено содержание ртути (Табл. 2.7). На основании полученных данных рассчитано молярное соотношение металл:лиганд. Во всех случаях оно оказалось значительно меньше, чем ожидаемое из зарядов соответствующих ионов (1:1) (Табл. 2.7).

Содержание ртути в солях модельных кислот

Кислота	Содержание Hg, % масс	Молярное соотношение Hg:лиганд	
		теоретическое	найденное
Адипиновая	44	1:1	0.59:1
2,4-дигидроксibenзойная	43	1:1 или 1:2	0.58:1
Фталевая	35	1:1	0.46:1
Янтарная	49	1:1	0.56:1

ИК-спектры модельных кислот и их ртутных соединений приведены на Рис. 2.26.

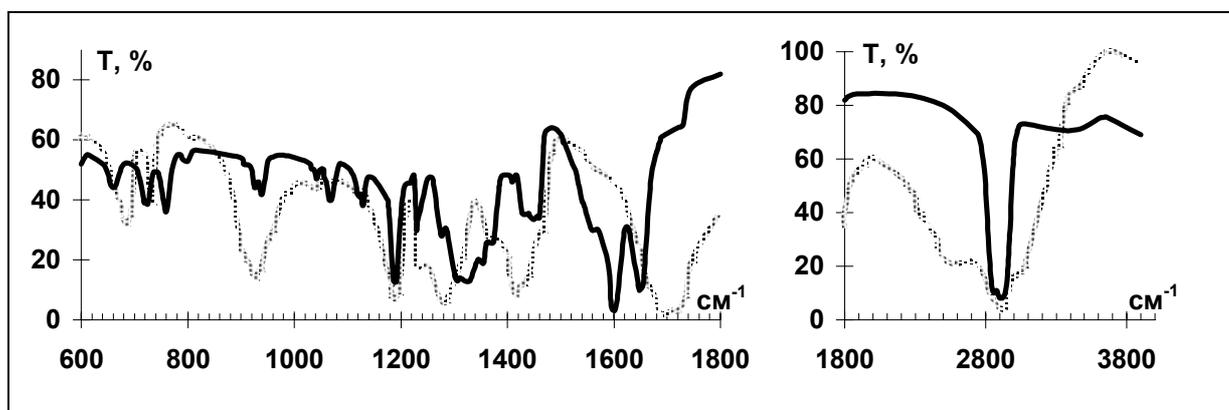


Рис. 2.25. ИК-спектры адипиновой кислоты (серая линия) и ее соли с Hg(II) (черная линия).

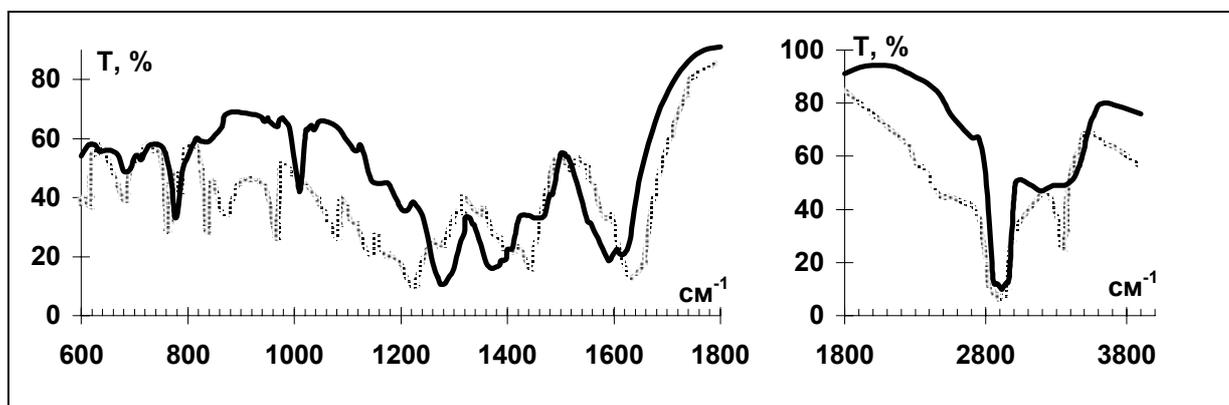


Рис. 2.26. ИК-спектры 2,4-дигидроксibenзойной кислоты (серая линия) и ее соли с Hg(II) (черная линия).

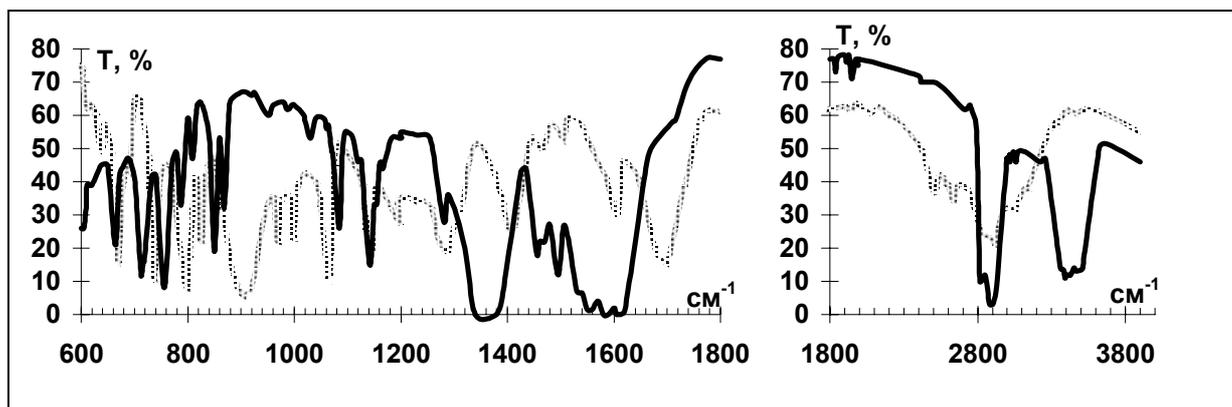


Рис. 2.27. ИК-спектры фталевой кислоты (серая линия) и ее соли с Hg(II) (черная линия).

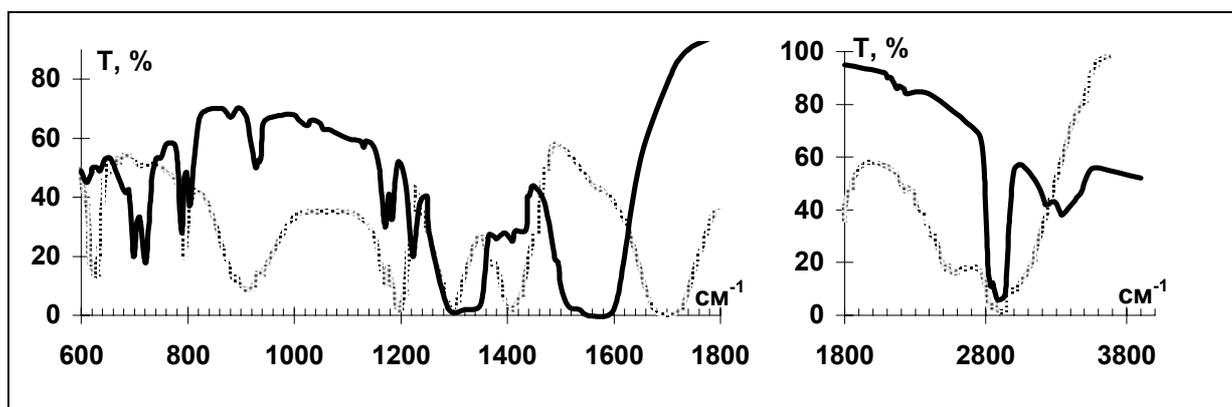


Рис. 2.28. ИК-спектры янтарной кислоты (серая линия) и ее соли с Hg(II) (черная линия).

Полученные ИК-спектры показывают, что для всех исследованных кислот наблюдается существенное изменение полос, соответствующих поглощению карбоксильных групп. Так, во всех спектрах ртутных соединений полоса поглощения C=O карбоксильной группы $\sim 1700 \text{ см}^{-1}$ смещается до 1600 см^{-1} и далее. Такие же результаты получены в литературе для ИК-спектров ацетатов ртути [166]. Этот факт полностью соответствует характеру изменений ИК-спектров гуматов ртути по сравнению с ГФК, поэтому можно говорить, что различия в спектрах гуматов и ГФК обусловлены связыванием Hg(II) с карбоксильными группами ГФК.

К сожалению, проведенное ИК-спектроскопическое исследование гуматов ртути не позволяет установить тип COOH-групп (алифатические, ароматические) участвующих в связывании Hg(II). Нельзя также сказать, какие еще группы участвуют в связывании Hg(II). Кроме того, невозможно сделать вывод о

конфигурации РСФ - состоят ли они из единичных функциональных групп или являются полидентатными.

Из-за химической гетерогенности ГФК ответа на данный вопрос с помощью спектроскопических данных получить невозможно. Для этих целей нами был использован косвенный подход, а именно привлечение данных по константам устойчивости гуматов ртути для установления природы РСЦ. Описанию данного подхода посвящен следующий раздел.

2.4. Установление природы ртутьсвязывающих центров на основании данных по константам устойчивости гуматов ртути

Чтобы оценить роль различных фрагментов ГФК в связывании Hg(II), основываясь на значениях констант устойчивости ее гуматов, необходимо привлечь данные по реакционной способности низкомолекулярных органических лигандов (НМЛ) - возможных аналогов РСФ в ГФК - по отношению к Hg(II).

К сожалению, таких данных, особенно для O-доноров в литературе недостаточно. Поэтому первоочередной задачей было рассчитать константы устойчивости комплексов Hg(II) с различными органическими лигандами. С этой целью были привлечены данные по константам устойчивости комплексов органических лигандов с одним из наиболее изученных тяжелых металлов - медью.

2.4.1. Количественные соотношения между константами устойчивости комплексов Hg(II) и Cu(II) с органическими лигандами

Метод расчета неизвестных констант устойчивости комплексов одних металлов, исходя из известных констант для других металлов, основанный на принципе линейности соотношений свободных энергий был разработан в работе [49]. Метод заключается в поисках линейной корреляции между константами устойчивости комплексов различных металлов с одними и теми же лигандами при одинаковой ионной силе. Автор [Кумок] осуществил этот расчет для s^2p^6 - и f -катионов. Для комплексов Hg(II) данный метод был применен в работе [167], где показано наличие корреляции констант устойчивости комплексов Hg(II) и Zn(II)

по первой ступени с семью O-донорами (хлорацетат, формиат, гидротартрат, ацетат, оксалат, тартрат, тиронат). Найдено, что:

$$\lg K_1(\text{Hg}) = 1.54 \cdot \lg K_1(\text{Zn}) + 3.7, \quad (2.83)$$

где $K_1(\text{Hg})$ - константа устойчивости по первой ступени комплекса $\text{Hg}(\text{II})$ с данным лигандом, $K_1(\text{Zn})$ - то же для $\text{Zn}(\text{II})$.

Для констант устойчивости комплексов $\text{Hg}(\text{II})$ с аминами в литературе была найдена следующая корреляционная зависимость [168]:

$$\lg K_1(\text{HgL}) = 1.08 \cdot \text{p}K_a(\text{HL}) - 0.53, \quad (2.84)$$

где $\text{p}K_a(\text{HL})$ - отрицательный логарифм константы диссоциации кислоты, сопряженной амину.

К сожалению, использованные в процитированных работах выборки O- и N-доноров явно неrepresentative, поэтому нами были проведены поиски аналогичных закономерностей для более широкого круга лигандов. При этом заведомо исключали из рассмотрения галогенпроизводные O-доноров, так как подобных фрагментов в структуре ГФК не обнаружено.

В качестве металла сравнения была выбрана $\text{Cu}(\text{II})$ в силу ее хорошей изученности. Константы устойчивости комплексов меди взяты из базы данных [47], приведены к нулевой ионной силе и усреднены в соответствии с процедурой, описанной в разд. 1.2.2.2 для $\text{Hg}(\text{II})$.

Рассчитанные корреляции между константами устойчивости комплексов O-доноров с $\text{Hg}(\text{II})$ и $\text{Cu}(\text{II})$ приведены на Рис. 2.29. В качестве O-доноров рассматривали лиганды, приведенные в Табл. 1.4. и гидроксид-ион. При этом из итоговой выборки были исключены 3-метоксипропанат и фенол (поскольку соответствующие данные для меди отсутствуют), а также триметилацетат и гидроксиацетат. Исключение первого было обусловлено неправдоподобно высокой константой устойчивости его комплекса с $\text{Hg}(\text{II})$ (на два порядка больше, чем для ацетата), исключение второго - чрезмерно большой разницей между K_1 и β_2 , при которой K_1 определить реально невозможно из-за того, что соответствующая форма в равновесных смесях практически отсутствует [49]. Построение аналогичной зависимости для констант устойчивости комплексов $\text{Hg}(\text{II})$ по второй ступени не представлялось возможным в связи с недостаточностью данных.

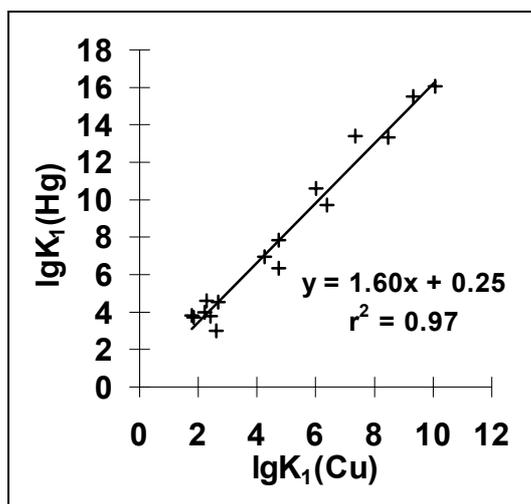


Рис. 2.29. Корреляционная зависимость констант устойчивости по первой ступени комплексов Hg(II) и Cu(II) с O-донорами.

Для дополнительной проверки правильности метода корреляционных соотношений для расчета констант устойчивости комплексов Hg(II) на основании данных по соответствующим константам для Cu(II), была построена аналогичная корреляционная диаграмма для N-доноров. Для этого использовали лиганды, приведенные в Табл. 1.5. Из исходного блока данных были исключены 1-аминобутан, пиперидин и анилин, поскольку соответствующие данные для комплексов меди отсутствуют. Была получена корреляционная зависимость, одновременно описывающая взаимосвязь как K_1 (лиганды любой дентатности) так и β_2 (бидентатные лиганды) (Рис. 2.30).

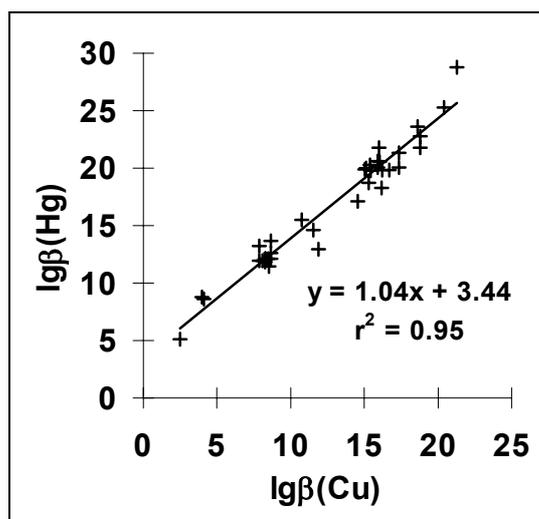


Рис. 2.30. Корреляционная зависимость констант устойчивости комплексов Hg(II) и Cu(II) с N-донорами.

Как видно из Рис. 2.29 и Рис. 2.30, константы устойчивости комплексов Hg(II) и Cu(II) с O- и N-донорами хорошо коррелируют между собой, хотя корреляционные уравнения различаются. Это говорит о том, что соответствующие константы устойчивости комплексов Hg(II) можно рассчитывать исходя из констант для Cu(II) по уравнениям:

$$\lg K_1(\text{Hg}) = 1.6 \cdot \lg K_1(\text{Cu}) + 0.3 \quad (2.85)$$

для O-доноров и

$$\lg \beta(\text{Hg}) = 1.04 \cdot \lg \beta(\text{Cu}) + 3.4 \quad (2.86)$$

для N-доноров.

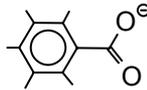
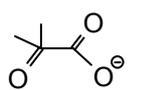
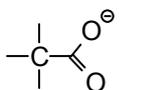
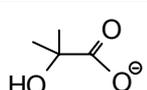
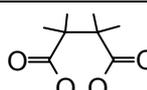
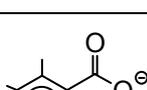
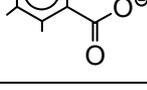
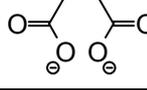
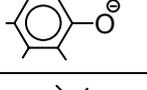
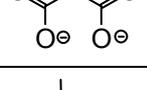
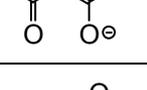
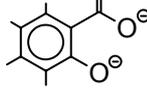
Кроме того, наличие приведенной выше корреляционной зависимости говорит о том, что зависимости констант устойчивости комплексов от структуры лиганда будут одинаковыми как для Cu(II), так и для Hg(II). На этом основании появляется возможность экстраполяции соответствующих закономерностей для комплексных соединений Cu(II) на Hg(II).

2.4.2. Взаимосвязь между структурой ртутьсвязывающего фрагмента и константами устойчивости комплексов соответствующих лигандов с Hg(II)

Для установления взаимосвязи между структурой РСФ и константами устойчивости комплексов соответствующих лигандов с Hg(II), были проанализированы данные по константам устойчивости комплексов Hg(II) со 109 органическими O-донорами. Большинство значений констант было рассчитано из литературных данных по константам устойчивости соответствующих комплексов Cu(II) [47] по уравнению (2.85). Список лигандов и соответствующие константы приведены в Приложении Е.

Все O-доноры были разбиты на 12 типов по конфигурации ртутьсвязывающего фрагмента (Табл. 2.8). В той же таблице для каждого типа приведены модельные лиганды (наиболее простые лиганды, имеющие данную конфигурацию РСФ) и диапазон констант устойчивости комплексов Hg(II) с лигандами этого типа вместе с константой устойчивости комплекса Hg(II) с модельными лигандами.

**Основные типы конфигурации металл-связывающих О-
донорных фрагментов и их свойства**

Название типа (количество изученных лигандов)	Характеристика	Структура	Модельный лиганд (L ₀)	Диапазон lgK ₁ / lgK ₁ для L ₀
1	2	3	4	5
Бензоатный (5)	Ароматический карбоксилат (1)		Бензоат	3.0-4.6/ 3.7
Глиоксалатный (2)	Карбоксилат с кето-группой в α-положении (2)		2-кетоацетат	4.5/ 4.5
Ацетатный (26)	Алифатический карбоксилат (1)		Ацетат*	1.7-4.8/ 4.6
Гликолятный (6)	Карбоксилат с ОН-группой в α-положении (2)		2-гидрокси-ацетат	4.3 -6.2/ 5.1
Сукцинатный (14)	2 карбоксилата у соседних атомов С (2)		Сукцинат	5.9-8.8/ 6.2
Фталатный (6)	2 карбоксилата у соседних атомов С ароматического ядра (2)		Фталат	5.4-7.4/ 6.4
Малеинатный (2)	2 карбоксилата у соседних атомов С, связанных двойной связью (2)		Малеинат	7.1-8.5/ 7.1
Фенольный (2)	Ароматический гидроксилат (1)		Фенолят*	8.6-10.3/ 8.6
Малонатный (17)	2 карбоксилата у одного атома С (2)		Малонат	8.0-10.2/ 9.6
β-дикетонный (2)	2 карбонила с промежуточным атомом С, содержащим как минимум 1 Н (2)		Ацетил-ацетон*	13.3-14.9/ 13.3
Салицилатный (5)	гидроксилат и карбоксилат у соседних атомов ароматического ядра (2)		Салицилат	18.7-20.6/ 18.7
Пирокатехиновый (7)	2 гидроксилата у соседних атомов С ароматического ядра (1)		Пирокатехинат	22.4-23.5/ 22.9

*Значения констант устойчивости комплексов Hg(II) с указанными лигандами непосредственно взяты из литературных данных [47].

Как видно из таблицы, для каждого типа диапазон значений констант составляет не более трех порядков. Отклонение от константы устойчивости комплекса с модельными лигандами при этом как правило не превышает полтора порядка. С одной стороны, это позволяет нам, зная конфигурацию РСФ, предсказывать порядок константы устойчивости комплекса металла с лигандом, а с другой - решать обратную задачу, то есть по значению константы устойчивости выбирать наиболее вероятную конфигурацию металл-связывающего центра. Так, 2,3-дигидроксibenзойная кислота на основании константы устойчивости ее комплекса с Hg(II) ($\lg K_1=22.8$) может быть отнесена к пирокатехиновому, а не салицилатному типу. Этот подход и будет использован в случае ГФК, молекулы которых содержат РСФ различной конфигурации.

2.4.3. Конфигурация РСЦ и ее связь с кажущейся константой устойчивости гуматов ртути

Перед тем, как использовать константы устойчивости гуматов ртути для характеристики природы РСФ в ГФК, необходимо было решить вопрос о взаимосвязи $K(\text{РСЦ})$ с константами устойчивости комплексов Hg(II) с НМЛ, моделирующими РСФ в ГФК.

Задача осложняется тем, что РСЦ может состоять как из одного РСФ, так и из нескольких. При этом, основываясь на константах устойчивости комплексов Hg(II) с различными органическими лигандами по первой, второй и третьей ступеням (Табл. 1.4, 1.5) можно сделать вывод, что таких фрагментов не может быть больше двух.

В разд. 2.2.1 было подробно обсуждено, в какой мере кажущаяся константа устойчивости гумата ртути характеризует связывание Hg(II) с самыми сильными РСЦ в ГФК. Было показано, что если при малых степенях заполнения ($\theta < 0.1$), кажущаяся константа меняется менее, чем на порядок, то диапазон значений константы связывания самого сильного РСЦ с Hg(II) ограничивается следующим интервалом:

$$K(\text{РСЦ}) < K(\text{РСЦ}^1) < (10/\theta)K(\text{РСЦ}), \quad (2.87)$$

где $K(\text{РСЦ})$ - кажущаяся константа устойчивости гуматов ртути, $K(\text{РСЦ}^1)$ -

константа связывания самого сильного ртутьсвязывающего центра ГФК, θ - степень заполнения по всем РСЦ.

В наших экспериментах по определению констант устойчивости гуматов ртути оба условия соблюдались, причем максимальное значение степени заполнения РСЦ составляло 0.05. Подставляя это значение в (2.87), получаем

$$K(\text{РСЦ}) < K(\text{РСЦ}^1) < 200 \cdot K(\text{РСЦ}), \quad (2.88)$$

или

$$\lg K(\text{РСЦ}) < \lg K(\text{РСЦ}^1) < \lg K(\text{РСЦ}) + 2.3. \quad (2.89)$$

В случае, если РСЦ¹ состоит из одного РСФ,

$$K(\text{РСЦ}^1) = K(\text{РСФ}^1), \quad (2.90)$$

где РСФ¹ - наиболее сильный РСФ. Тогда (с учетом того, что диапазон значений $\lg K(\text{РСЦ})$ составляет 13.5-14.9) значение $\lg K(\text{РСФ}^1)$ лежит в диапазоне 13.5-17.2.

Для РСЦ¹, в состав которого входят два удаленных РСФ молекулы ГФК, образующих хелатный цикл, справедливо следующее выражение:

$$\lg K(\text{РСЦ}^1) = \lg k' + \lg k'' + \zeta, \quad (2.91)$$

где k' и k'' - константы связывания Hg(II) с РСФ' и РСФ'', ζ - поправка на хелатный эффект, причем для определенности было принято, что

$$k' \geq k'' \quad (2.92)$$

Поправка на хелатирование зависит от природы металла и лиганда, поэтому получить ее точное значение априори при неизвестной конфигурации РСЦ невозможно. Однако порядок ее величины можно оценить из литературных данных, применяя уравнение (2.91) к НМЛ, содержащим два РСФ. Тогда:

$$\zeta = \lg K - (\lg k' + \lg k''), \quad (2.93)$$

где K - константа устойчивости комплекса Hg(II) с НМЛ, содержащим два РСФ, а k' и k'' - константы устойчивости комплексов Hg(II) с НМЛ, содержащими соответствующие РСФ в отдельности.

Результаты оценки поправки на хелатирование для различных полиидентатных мягкохелатирующих лигандов приведены в Табл. 2.9.

Таблица 2.9

**Оценка поправки на хелатирование для комплексов Hg(II) с НМЛ,
содержащими два РСФ (рассчитано по литературным данным)**

L	lgk	РСФ'	РСФ''	lgk'	lgk''	ζ
2,2'-оксидацетат	7.8	Ацетат	Ацетат	4.6	4.6	-1.4
1,2-фенилендиоксидацетат	6.9	Ацетат	Ацетат	4.6	4.6	-2.3
1,5-пентандиат	5.4	Ацетат	Ацетат	4.6	4.6	-3.8
Адипинат	5.4	Ацетат	Ацетат	4.6	4.6	-3.8
1,7-гептандиат	5.3	Ацетат	Ацетат	4.6	4.6	-3.9
2-(карбоксиэтокси)бензоат	6.5	Ацетат	Бензоат ⁻	4.6	3.7*	-1.8
2-карбоксиэтилпентан-1,5-диат	6.1	Пентан-1,5диат	Ацетат	5.4*	4.6	-3.9
2-гидрокси-3-карбокси-пентан-1,5-диат	10.5	2-гидрокси-сукцинат	Ацетат	7.6*	4.6	-1.7
Анион 1,2,3-пропантри-карбоновой к-ты	8.2	Сукцинат	Ацетат	6.2*	4.6	-2.6

* - значения, рассчитанные из констант устойчивости соответствующих комплексов меди (разд 2.4.1)

Как показывает таблица, для большинства О-донорных НМЛ, состоящих из двух РСФ, lgζ лежит в пределах от -1.4 до -3.9.

На основании вышеприведенных рассуждений, в частности, уравнений (2.91) и Табл. 2.9. мы можем использовать константы устойчивости гуматов ртути, определенные в разд. 3.2, для характеристики химической природы РСЦ в предположении, что РСЦ состоит из двух РСФ. Тогда нижний предел константы связывания более сильной РСГ может быть оценен из (2.91) как

$$\lg k' > (\lg(\text{РСЦ}^1) - \zeta)/2, \quad (2.94)$$

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

Верхний предел lgk' при этом будет определяться максимальным значением lgK(РСЦ¹) ибо иначе хелатирование становится энергетически невыгодным. Принимая на основании данных Табл. 2.9 максимальное значение ζ=-1.4, получаем

$$(\lg K(\text{РСЦ}^1) + 1.4)/2 < \lg k' < \lg K(\text{РСЦ}^1). \quad (2.95)$$

Из уравнения (2.91) и неравенства (2.92) можно найти диапазон значений для k'':

$$(2.96)$$

$$\lg K(\text{PCЦ}^1) - (\lg k' + 1.4) < \lg k'' < \lg k'$$

Из уравнений (2.89), (2.95), (2.96) следует, что в случае, если РСЦ состоит из двух РСФ, значения $\lg k'$ лежат в диапазоне от 7.5 до 17.3, а $\lg k''$ - меньше 7.5.

2.4.4. Установление природы ртутьсвязывающих центров на основании констант устойчивости гуматов ртути

Как следует из предыдущего раздела, для характеристики природы РСЦ Hg(II) на основании констант устойчивости гуматов ртути принципиальным оказывается вопрос о том, сколько (один или два) РСФ участвуют в координации Hg(II). Для ответа на этот вопрос необходимо рассмотреть оба варианта и оценить их соответствие эксперименту.

Для этого сопоставим значения $K(\text{PCФ}^1)$ и k' , оцененные в предыдущем разделе, с константами устойчивости комплексов Hg(II) с НМЛ, моделирующими различные вероятные РСФ в ГФК (Табл. 2.10).

При сопоставлении констант устойчивости гуматов ртути и комплексов Hg(II) с модельными НМЛ необходимо учитывать тот факт, что константа устойчивости гуматов ртути является условной при pH 7. Следовательно, ее нужно сравнивать также с условными (при pH 7) константами устойчивости комплексов Hg(II) с НМЛ. Они могут отличаться от реальных констант в случае, если лиганд является слабой кислотой, степень диссоциации которой в условиях определения констант устойчивости гуматов ртути (pH 7) невелика. Тогда комплексообразование с Hg(II) сопровождается депротонированием:



При условии постоянства pH распределение Hg(II) между различными формами определяется условной константой:

$$K_y = \frac{[\text{HgL}]}{[\text{Hg}^{2+}] \cdot C(\text{L})}. \quad (2.98)$$

Условную константу (2.98) можно рассчитать из справочных данных по следующим формулам:

$$K_y(\text{HgL}) = \frac{K(\text{HgL})}{1 + K_a \cdot [\text{H}^+]} \quad (2.99)$$

если $h=1$ и

$$K_y(\text{HgL}) = \frac{K(\text{HgL})}{1 + (K_a)_2 \cdot [\text{H}^+] + (K_a)_1 \cdot (K_a)_2 \cdot [\text{H}^+]^2} \quad (2.100)$$

при $h=2$. Здесь где $K(\text{HgL})$ - константа устойчивости комплекса HgL , $(K_a)_1$ и $(K_a)_2$ - константа диссоциации кислоты по соответствующей ступени.

Истинные и условные константы устойчивости комплексов Hg(II) с модельными НМЛ приведены в Табл. 2.10.

Таблица 2.10

Константы устойчивости комплексов ртути с модельными лигандами

Тип РСФ	Модельный лиганд	$\lg K_1$	$\lg K_{1y}(\text{pH } 7)$
Бензоатный	Бензоат	3.6	3.6
Ацетатный	Ацетат	4.6	4.6
Ароматические амины	Анилин	4.6	4.6
Гликолятный	Гидроксиацетат	5.1	5.1
Фенольный	Фенолят	8.6	5.8
Фталатный	Фталат	6.3	6.3
Алифатические амины	Аммиак	8.8	6.6
Салицилатный	Салицилат	18.2	11.8
Пирокатехиновый	Пирокатехинат	22.7	14.7

Сравнение констант, приведенных в Табл. 2.10 с $K(\text{РСФ}^1)$ и k' показывает, что самостоятельно в качестве РСФ может выступать только фрагмент пирокатехинового типа. В случае, если РСЦ состоит из двух РСФ, одним из них обязательно должен быть фрагмент салицилатного типа, поскольку для остальных $\lg K_{1y} < 7.5$. При этом в качестве второго РСФ может выступать фрагмент любого типа с $\lg K_{1y} < 7.5$.

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

Как показано в разд. 2.2, основным параметром, характеризующим реакционную способность ГФК по отношению к Hg(II) является константа устойчивости гуматов ртути. Следовательно, для установления взаимосвязи между структурой и реакционной способностью ГФК по отношению к Hg(II) необходимо было установить количественные соотношения между структурными параметрами ГФК и константами устойчивости соответствующих гуматов ртути. Для достижения указанной цели был использован подход Гаммета [32], представляющий собой частный случай использования принципа линейности свободных энергий. В соответствии с этим подходом, влияние вариаций структуры родственных соединений на константы равновесия реакций с их участием описывается уравнением Гаммета

$$\lg K - \lg K_0 = \sigma \cdot \rho, \quad (2.101)$$

где K_0 - константа равновесия такой же реакции с участием эталонного соединения E, K - константа равновесия такой же реакции с участием соединения E с заместителем R, σ - константа, характеризующий заместитель R в эталонном соединении, ρ - константа реакции, характеризующий ее чувствительность к введению заместителей.

Константа σ , как правило, характеризует электронные эффекты заместителей. В случае, если заместителей несколько, их действие аддитивно [169].

2.5.1. Установление количественной взаимосвязи между структурами низкомолекулярных лигандов и константами устойчивости их комплексов с металлами.

Как было показано в разд. 2.4, для лигандов с одним и тем же типом РСФ константа устойчивости их комплексов с Hg(II) различается не более, чем на два порядка. По всей видимости, в пределах одного типа различия в значениях констант обусловлено ближайшим химическим окружением РСЦ, для описания которого обычно и применяется подход Гаммета. Поскольку ранее этот подход

для описания констант устойчивости комплексов металлов с органическими лигандами практически не использовался, необходимо было проверить его применимость для этих целей. Проверку осуществляли на комплексах меди с различными органическими лигандами.

В первую очередь, подход Гаммета был применен к лигандам ацетатного типа. В данном случае в качестве эталонного лиганда выступал ацетат-ион:



В качестве заместителей выступали различные группы, не обладающие сами по себе способностью координировать ион Cu^{2+} .

Учитывая, что резонансные эффекты заместителей для лигандов ацетатного типа не проявляются, в качестве σ использовали значение σ_I , характеризующие индуктивный эффект заместителей [32]. В случае, если лиганд представлял собой ацетат, имеющий несколько заместителей у второго атома, общее значение σ_I получали, складывая σ_I для всех заместителей. Использованные значения σ_I для различных заместителей приведены в Приложении Ж.

Для нахождения константы реакции (2.102) на основании литературных данных по величинам констант устойчивости комплексов Cu(II) с лигандами ацетатного типа была построена зависимость $\lg K_1(\text{LCu}^+) - \lg K_1(\text{CH}_3\text{COOCu}^+)$ от σ_I (Рис. 2.31).

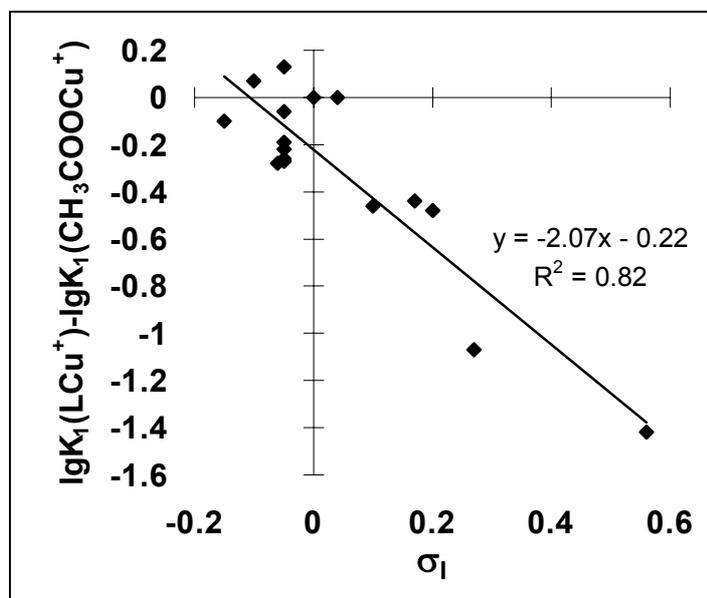


Рис. 2.31. Влияние индуктивного эффекта заместителей на константы устойчивости комплексов Cu(II) с лигандами ацетатного типа.

Как видно из Рис. 2.31, разность констант, определяемая вариациями в химическом окружении лигандов, довольно хорошо коррелирует с величиной σ_1 . Указанной корреляционной зависимостью не описываются следующие лиганды: 3-гидроксипропанат, метоксиацетат, этоксиацетат и изопропоксиацетат. Для 3-гидроксипропаната это явление можно отнести за счет неточного определения константы, поскольку его гомолог - 3-гидроксибутанат - хорошо описывается полученной зависимостью. Что касается перечисленных алкоксиацетатов, то, вероятно, их нельзя в полной мере относить к лигандам ацетатного типа, так как алкоксильный кислород может дополнительно координировать металл. Это подтверждается тем, что константы устойчивости соответствующих комплексов меди несколько выше, чем для остальных лигандов ацетатного типа.

Таким образом показано, что увеличение электроноакцепторных свойств заместителей у медь-связывающего центра ацетатного типа приводит к уменьшению констант устойчивости ацетатов. При этом значение константы реакции в уравнении Гаммета (ρ) составляет -2.1.

К сожалению, к реакциям комплексообразования комплексов Cu(II) с алифатическими лигандами других типов уравнение Гаммета применить не удалось, так как все имеющиеся в литературе данные относятся к заместителям с близкими значениями σ_1 .

Поскольку, как показано в разд. 2.4, ГФК состоят преимущественно из ароматических фрагментов, проверка применимости подхода Гаммета для описания их комплексообразования с металлами представляла особый интерес. Нам удалось рассчитать параметр реакции комплексообразования для Cu(II) с лигандами бензоатного и пирокатехинового типа. В случае лигандов бензоатного типа в качестве константы σ использовали значения $\sigma_{пара}$ для заместителей в *орто*- и *пара*-положениях к карбоксильной группе и $\sigma_{мета}$ для заместителей в *мета*-положении. Использованные значения σ приведены в приложении 3, результаты - на Рис. 2.32.

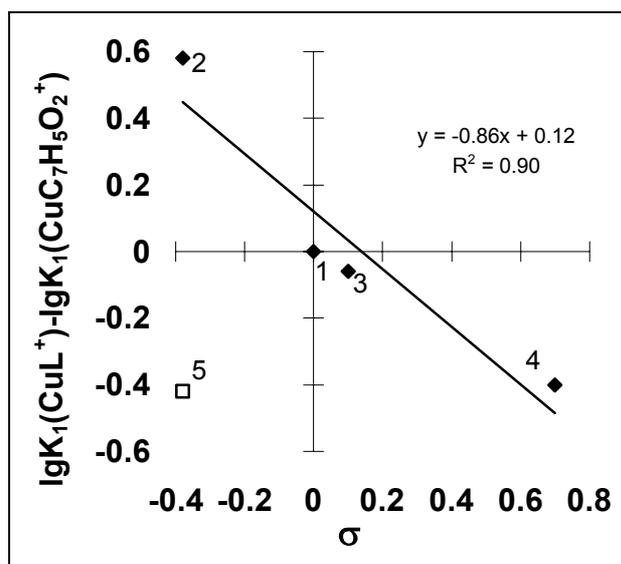


Рис. 2.32. Влияние электронных эффектов заместителей на константы устойчивости комплексов Cu(II) с лигандами бензоатного типа. 1- бензоат, 2 - салицилат монозамещенный, 3 - 3-метоксибензоат, 4 - ацетилсалицилат, 5- 4-гидроксибензоат монозамещенный.

В случае лигандов пирокатехинового типа, а также других лигандов, которые содержат две соседние металлсвязывающие группы, говорить об *орто*-, *мета*- или *пара*-положениях заместителей к металлсвязывающему фрагменту нельзя. Перебор различных значений σ для заместителей показал, что вне зависимости от положения заместителя по отношению к металлсвязывающему фрагменту, их влияние на константу устойчивости лучше всего описывается параметром $\sigma_{\text{пара}}$ [32]. Полученная зависимость $\lg K_1(\text{CuC}_6\text{H}_4\text{O}_2) - \lg K_1(\text{CuL})$ от $\sigma_{\text{пара}}$ приведена на Рис. 2.33, а использованные значения $\sigma_{\text{пара}}$ - в Приложении 3.

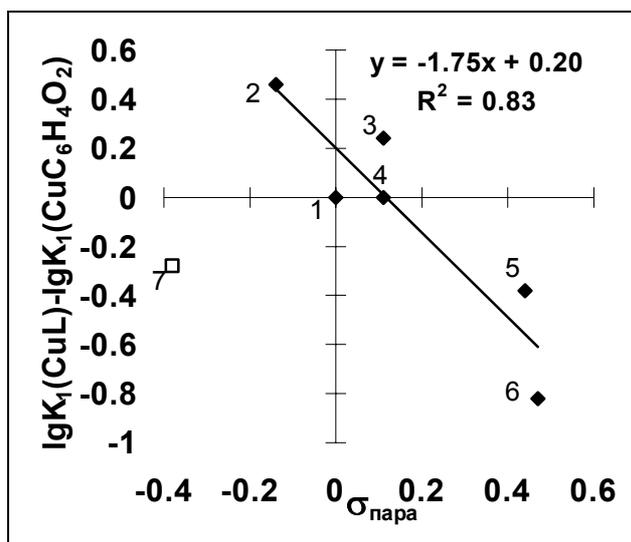


Рис. 2.33. Влияние электронных эффектов заместителей на константы устойчивости комплексов Cu(II) с лигандами пирокатехинового типа. 1 - пирокатехин, 2 - 3,4-дигидроксифенилацетат, 3 - 3,4-дигидроксибензоат, 4 - 2,3-дигидроксибензоат, 5 - этиловый эфир 3,4-дигидроксибензойной кислоты, 6 - 3,4-дигидроксибензальдегид, 7 - пирогаллол.

На основании Рис. 2.32 и Рис. 2.33 можно сделать вывод, что, как и в случае лигандов ацетатного типа, увеличение электроноакцепторных свойств заместителей у ароматического МСЦ приводит к снижению констант устойчивости комплекса с соответствующим лигандом ($\rho = -0.86$ для бензоатного типа и -1.8 для пирокатехинового). Для Hg(II) сходный результат был получен авторами [48], определявшими константы устойчивости комплексов Hg(II) с различными замещенными салициловыми кислотами в водно-спиртовой среде.

Обращает на себя внимание, что экспериментально определенные константы устойчивости комплексов меди с монозамещенным 4-гидроксибензоатом и пирогаллолом значительно ниже расчетных и указанными зависимостями не описываются. По-видимому, это можно отнести к неоднозначности влияния гидроксигруппы на константы устойчивости комплексов Cu(II) с ароматическими лигандами. В качестве иллюстрации в Табл. 2.11 приведены константы устойчивости Cu(II) с некоторыми ароматическими гидроксисоединениями в сравнении с соответствующими модельными лигандами.

Таблица 2.11

**Влияние введения ОН-группы в ароматическое ядро
лигандов на константы устойчивости их комплексов с Cu(II)**

Лиганд	Модельный лиганд	lgK-lgK ₀ эксп.
Пирогаллол	Пирокатехин	-0.28
4-гидроксибензоат монозамещенный	Бензоат	-0.42
2,4-дигидроксибензоат	Салицилат	1.1
2,5-дигидроксибензоат	Салицилат	0.9
2,6-дигидроксибензоат	Салицилат	0.2

Как видно из Табл. 2.11, наблюдается как отрицательное, так и положительное влияние ОН-группы на константы устойчивости комплексов Cu(II) с ароматическими кислотами, причем видимой взаимосвязи с положением указанной группы не наблюдается.

Тем не менее, в целом можно считать, что константы устойчивости комплексов Cu(II), а следовательно (разд. 2.4.1) и Hg(II), с органическими О-донорами прямо взаимосвязаны с электронной плотностью на металл-связывающем центре, которую можно количественно описать с использованием констант Гаммета. Далее указанный подход будет применен для описания зависимости констант устойчивости гуматов ртути от структуры ГФК.

**2.5.2. Установление количественной взаимосвязи между
структурами ГФК и константами устойчивости гуматов Hg(II)**

Запишем уравнение Гаммета для реакции комплексообразования ГФК с Hg(II) в следующем виде:

$$\lg K(\text{РСЦ}) = \lg K_0 + \rho \cdot \sigma, \quad (2.103)$$

где K₀ - некая эталонная константа, ρ - константа реакции комплексообразования, σ - константа заместителя, характеризующая вариации химического окружения РСЦ.

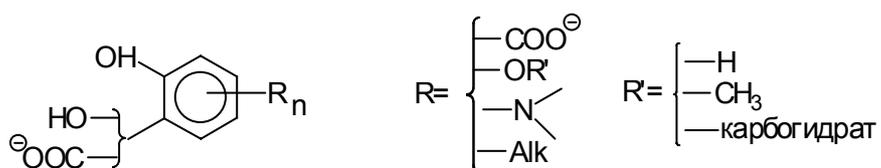
Согласно уравнению (2.103), константа устойчивости гуматов ртути должна линейно зависеть от константы σ, причем по тангенсу угла наклона этой зависимости определяется ρ, а по отрезку, отсекаемому ей на оси ординат - lgK₀.

Для установления искомых количественных зависимостей прежде всего необходимо было вычислить константы σ для различных препаратов ГФК на основании их структурных характеристик. Данная задача серьезно осложняется

полифункциональностью и химической гетерогенностью ГФК, требующими введения существенных упрощений при рассмотрении структуры РСЦ и заместителей в нем. В результате, устанавливаемые взаимосвязи могут иметь характер весьма грубого приближения.

Для вычисления константы σ , характеризующей влияние химического окружения ртутьсвязывающих группировок на константы устойчивости гуматов ртути, использовали следующие соображения.

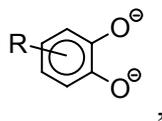
Влияние заместителей у РСЦ на константу устойчивости гуматов ртути сводится к влиянию заместителей у РСФ на их силу связывания с Hg(II). Как следует из разд. 2.4, наиболее вероятными фрагментами, ответственными за связывание Hg(II) с ГФК, являются фрагменты пирокатехинового и салицилатного типа. Поэтому структуру РСФ можно грубо представить как замещенный пирокатехин или салицилат. При этом природу и количество заместителей можно определить из данных ^{13}C -ЯМР-спектроскопии и элементного анализа. Так, согласно данным ^{13}C -ЯМР-спектроскопии, ГФК содержат углерод в следующих функциональных группах: C=O, COOH, C_{Ar}-OH, Ar, карбогидраты, OCH₃, C_{Alk}-OH, Alk. Кроме того, по данным элементного анализа в состав ГФК входят также азотсодержащие группы. Поэтому в самом приближенном виде РСФ можно схематично представить следующим образом:



Для количественной характеристики влияния химического окружения РСФ на его связывание с Hg(II) было принято допущение, что влияние заместителей пропорционально их количеству. При этом количество углеродсодержащих групп определялось из данных ^{13}C -ЯМР, а азотсодержащих - из элементного анализа.

Следующей проблемой был выбор значения σ для указанных заместителей. Задача осложнялась тем, что константы σ для одного и того же заместителя могут различаться для разных положений. Более того, поскольку салицилатная группировка содержит две функциональные группы в бензольном

кольце, нельзя сказать, находится ли заместитель в *орто*-, *мета*- или *пара*-положениях к РСФ. Поэтому априори выбрать константы σ нельзя. Однако, как показано в предыдущем разделе для комплексов пирокатехинового типа,



влияние заместителя на константу устойчивости комплексов соответствующих лигандов с Cu(II), а, следовательно, и Hg(II) (разд. 2.4.1) определялось табличной константой $\sigma_{\text{пара}}$ вне зависимости от положения заместителя. Исключение составляли OH-группы, влияние которых не подчинялось установленным закономерностям.

В свете вышеизложенного, в качестве константы σ , характеризующей влияние заместителей у РСФ в ГФК имеет смысл использовать табличные значения $\sigma_{\text{пара}}$. При этом в первом приближении влияние групп -OR не учитывали по причине его неоднозначности. Для остальных групп были приняты следующие значения $\sigma_{\text{пара}}$ [32]: для карбоксилатов $\sigma_{\text{пара}}(\text{COO}^-)=0.11$, для алкильных групп $\sigma_{\text{пара}}(\text{Alk})=-0.11$ (как для -CH₃), для азотсодержащих групп $\sigma_{\text{пара}}(\text{N})=-0.57$ (как для -NH₂).

Предположение о том, что влияние групп пропорционально их количеству, позволило нам записать выражение для средней константы σ , характеризующей среднее влияние всех заместителей (без учета -OR) у РСФ в ГФК:

$$\sigma = \varphi(\text{COO}^-) \cdot \sigma_{\text{пара}}(\text{COO}^-) + \varphi(\text{Alk}) \cdot \sigma_{\text{пара}}(\text{Alk}) + \varphi(\text{N}) \cdot \sigma_{\text{пара}}(\text{N}), \quad (2.104)$$

где φ - соответствующий весовой коэффициент.

Весовые коэффициенты определялись как количество данных групп, приходящееся на общее количество углерода. Для углеродсодержащих групп весовой коэффициент определялся из ¹³C-ЯМР-спектров, для азотсодержащих - из элементного анализа. Таким образом, учитывая численные значения $\sigma_{\text{пара}}$ соответствующих групп, среднюю константу σ для всех заместителей у РСФ в ГФК можно рассчитать из экспериментальных данных по уравнению:

$$\sigma = 0.11 \cdot \omega(\text{COO}^-) - 0.11 \cdot \omega(\text{Alk}) - 0.57 \cdot (\text{N/C}), \quad (2.105)$$

где ω - доля углерода в соответствующей группе по данным ¹³C-ЯМР-спектроскопии, (N/C) - атомное соотношение азот:углерод.

На Рис. 2.35 приведена зависимость логарифмов констант устойчивости гуматов ртути от средней константы σ , вычисленной в соответствии с (2.105). Расчет проведен по данным для 15 препаратов, которые были охарактеризованы методом ^{13}C -ЯМР (Табл. 2.6). Препарат МН4 был исключен из исходного блока данных, поскольку представляет собой не ГФК, а совокупность растворенных органических веществ природных вод.

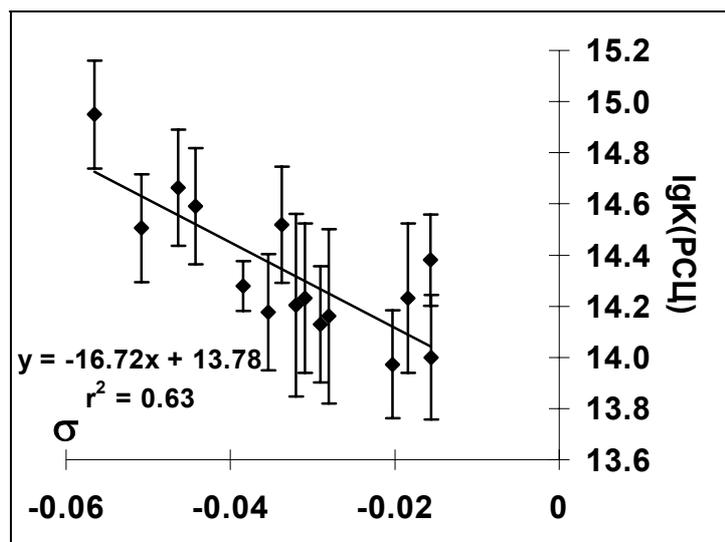


Рис. 2.34. Зависимость констант устойчивости гуматов ртути от средней константы σ , вычисленной по уравнению (2.105).

Как видно из рисунка, между средней константой σ и константами устойчивости гуматов ртути наблюдается довольно тесная взаимосвязь. Для улучшения полученной корреляционной зависимости необходимо учесть влияние заместителей -OR. Тогда в выражение (2.105) вводится дополнительный член, и оно приобретает следующий вид:

$$\sigma = 0.11 \cdot \omega(\text{COO}^-) - 0.11 \cdot \omega(\text{Alk}) - 0.57 \cdot (\text{N/C}) + \omega(\text{ArO}) \cdot \sigma(\text{OR}), \quad (2.106)$$

В качестве $\sigma(\text{OR})$ подставляли величины $\sigma_{\text{пара}}(\text{OH}) = -0.38$ и $\sigma_{\text{мета}}(\text{OH}) = 0.13$. При использовании значения $\sigma_{\text{пара}}(\text{OH})$ корреляция между средними константами σ (2.106) и константами устойчивости гуматов ртути отсутствовала ($r^2 = 0.11$). Что касается значения $\sigma_{\text{мета}}(\text{OH})$, то его использование приводило к заметному улучшению корреляции между σ и константами устойчивости (Рис. 2.35).

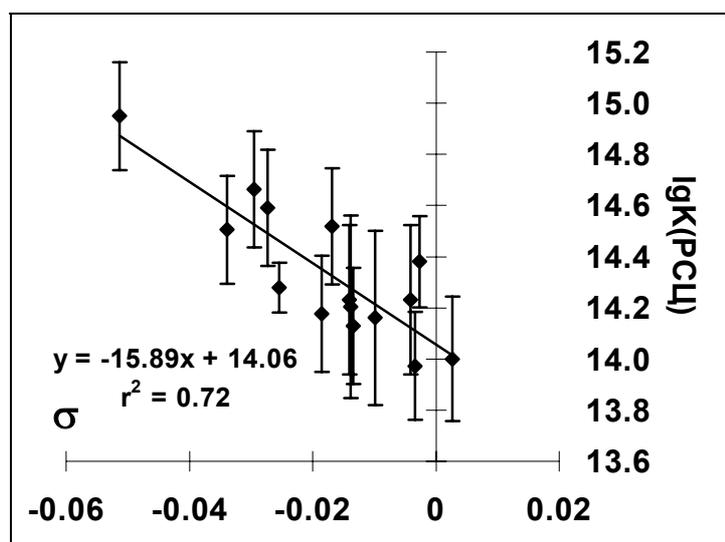


Рис. 2.35. Зависимость констант устойчивости гуматов ртути от средней константы σ (2.106) при использовании $\sigma_{\text{мета}}(\text{ОН})$ для описания влияния заместителей -OR.

Установленное влияние заместителей OR в ГФК вполне соотносится с влиянием третьей OH-группы пирогаллола на константу устойчивости его комплекса с медью, которое также хорошо описывается константой $\sigma_{\text{мета}}(\text{ОН})$ (Рис. 2.36).

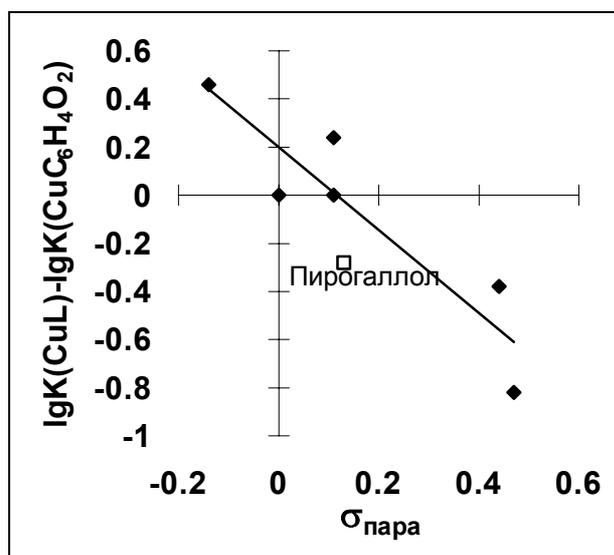


Рис. 2.36. Влияние электронных эффектов заместителей на константу устойчивости комплексов Cu(II) с лигандами пирокатехинового типа (Рис. 2.33), при условии, что электронные эффекты третьей OH-группы в пирогаллоле описываются константой $\sigma_{\text{мета}}(\text{ОН})$ (литературные данные).

Полученная на Рис. 2.35 зависимость констант устойчивости гуматов ртути от средней константы σ позволяет записать уравнение Гаммета (2.101) следующим образом:

$$\lg K(\text{РСЦ}) = 14.1 - 15.9 \cdot \sigma. \quad (2.107)$$

Таким образом, использование подхода Гаммета позволяет установить взаимосвязь между структурами ГФК и константами устойчивости их комплексов с Hg(II). Объединяя (2.106) и (2.107) и подставляя $\sigma(\text{OR}) = 0.13$ можно вывести уравнение, позволяющее предсказывать значение констант устойчивости гуматов ртути на основании данных по элементному и фрагментному составу ГФК:

$$\lg K(\text{РСЦ}) = 14.1 - 1.8 \cdot \omega(\text{COO}^-) - 2.1 \cdot \omega(\text{ArO}) + 1.8 \cdot \omega(\text{Alk}) + 9.1 \cdot (\text{N/C}). \quad (2.108)$$

Полученное в уравнении (2.107) значение $\rho = -15.9$ не может быть сопоставлено с константами реакции комплексообразования Hg(II) с НМЛ, поскольку в случае НМЛ все весовые коэффициенты при расчете σ (2.104) представляют собой целые числа, а случае ГФК они значительно меньше 1. Чтобы из уравнения (2.107) получить значение константы реакции, которое можно было бы сопоставить с константами реакции для комплексообразования Hg(II) с НМЛ, величину -15.9 нормировали на число атомов углерода в РСФ салицилатного типа, то есть на 7. Полученное значение $\rho = -2.3$ хорошо согласуется с $\rho = -2.8$ для реакции комплексообразования Hg(II) с лигандами пирокатехинового типа, которое было рассчитано из $\rho = -1.8$ для комплексообразования Cu(II) с теми же лигандами и уравнения (2.85).

Вышеописанный подход, по-видимому, можно распространить и на комплексообразование ГФК с другими металлами. Кроме того, полученное уравнение (2.108) показывает, какие фрагменты способствуют связыванию Hg(II) с ГФК. Это открывает возможность направленной модификации препаратов ГФК для повышения их комплексообразующей способности по отношению к Hg(II).

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

Как показали проведенные исследования, ГФК образует с Hg(II) прочные комплексные соединения. Следовательно, присутствие ГФК в природных средах может приводить к уменьшению концентрации свободного Hg^{2+} и его комплексов с неорганическими лигандами. Принимая во внимание, что биологическая активность токсиканта, как правило, определяется концентрацией его свободной формы, можно ожидать, что ГФК будут оказывать детоксицирующее действие на ртутьсодержащие среды. В этом случае уровень токсичности сред, загрязненных соединениями Hg(II) будет определяться содержанием ГФК и их реакционной способностью по отношению к Hg(II). Следовательно, для прогноза развития токсикологической ситуации большое значение будут иметь количественные параметры детоксицирующего действия ГФК по отношению к соединениям Hg(II), оценке которых посвящен настоящий раздел.

В природных водах Hg(II) находится в основном в виде $\text{Hg}(\text{OH})_2$ и HgCl_2 . При этом соотношение $\text{Hg}(\text{OH})_2:\text{HgCl}_2$ зависит от pH и концентрации хлорид-ионов (Рис. 2.37).

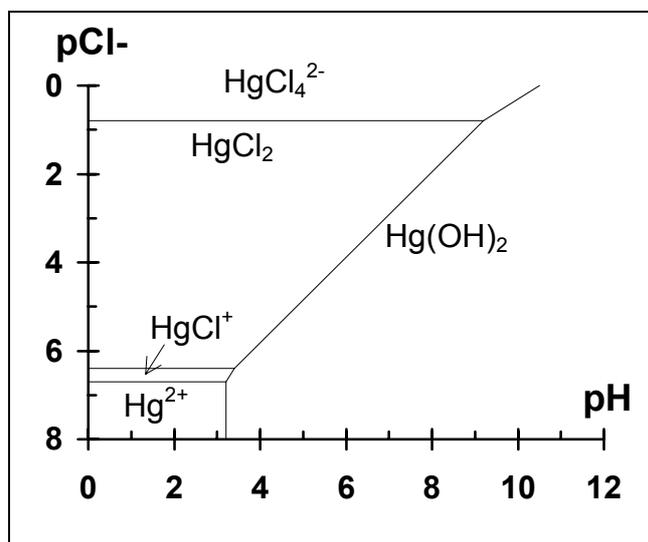


Рис. 2.37. Формы существования Hg(II) в зависимости от pH и концентрации хлорид-ионов.

$\text{Hg}(\text{OH})_2$ и HgCl_2 могут оказывать различное токсическое действие. Кроме того, детоксицирующее действие ГФК по отношению к ним тоже может

различаться. Поэтому необходимо было исследовать влияние ГФК на токсичность обоих соединений. На первом этапе работы было необходимо установить диапазоны их токсичности.

2.6.1. Определение диапазонов токсичности $\text{Hg}(\text{OH})_2$ и HgCl_2

Для исследования детоксицирующего действия ГФК по отношению к $\text{Hg}(\text{II})$ применялся метод альгологического биотестирования. Тест-объектом служила зеленая микроводоросль *Chlorella pyrenoidosa*, выбор которой был обусловлен отработанностью соответствующей методики биотестирования [145]. В качестве тест-функции использовали относительный выход переменной флуоресценции $R = F_v / F_m$, характеризующий долю поглощенной световой энергии, направляемую на фотосинтез.

Тест-среды для изучения токсичности HgCl_2 и $\text{Hg}(\text{OH})_2$ готовили на основе среды Тамия (5 мМ KNO_3 и 1 мМ MgSO_4), варьируя pH и содержание KCl . Соотношение HgCl_2 : $\text{Hg}(\text{OH})_2$ в растворе в зависимости от pH рассчитывали на основании литературных данных по соответствующим константам устойчивости [28] (Рис. 2.38).

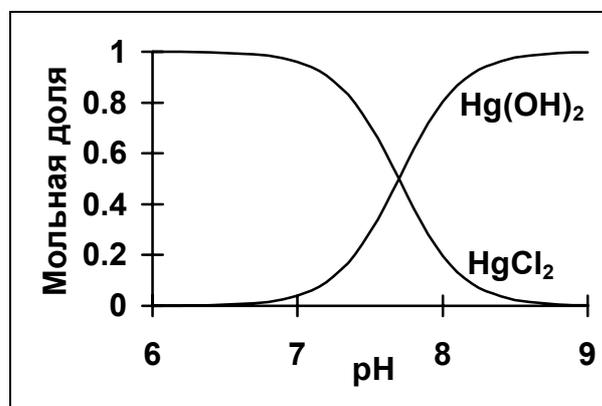


Рис. 2.38. Зависимость содержания $\text{Hg}(\text{OH})_2$ и HgCl_2 в растворе от pH в присутствии 0.01М KCl . Рассчитано на основании констант устойчивости $\text{Hg}(\text{OH})_2$ и HgCl_2 [28].

Как видно из Рис. 2.37, при $\text{pH} > 4$ в отсутствие хлорид-ионов доминирующей формой существования $\text{Hg}(\text{II})$ в растворе является $\text{Hg}(\text{OH})_2$. Поэтому токсичность $\text{Hg}(\text{OH})_2$ изучали в среде Тамия без хлорид-ионов с pH 7.2. С другой стороны, как видно из Рис. 2.38, для изучения токсичности HgCl_2 при концентрации хлорид-ионов 0.01М pH тест-раствора должен быть не больше 7.

К сожалению, поддерживать постоянное значение рН на протяжении всех четырех часов токсикологического эксперимента не удавалось. Это обусловлено тем, что водоросли в процессе жизнедеятельности изменяют рН среды обитания. Поэтому если для доведения рН до 7.2 использовали NaOH, то в ходе токсикологического эксперимента рН снижался до 6 и иногда ниже. Попытки увеличить буферную емкость среды для биотестирования путем добавления NaHCO_3 привели к тому, что рН в ходе токсикологического эксперимента поднимался до 8. Поскольку при данных рН HgCl_2 переходит в $\text{Hg}(\text{OH})_2$, от такого способа поддержания рН отказались. Поэтому по окончании каждого эксперимента рН тест-раствора измеряли и учитывали полученное значение при расчетах распределения ртути по формам существования.

В связи с изложенным, токсичность $\text{Hg}(\text{II})$ испытывали в трех средах – бесхлоридной (среда-1), хлоридной, рН которой к концу эксперимента поднимался до 8 (среда-2) и хлоридной рН которой к концу эксперимента падал до 6 (среда-3). Состав сред охарактеризован в Табл. 2.11. Соотношение $\text{HgCl}_2:\text{Hg}(\text{OH})_2$ рассчитывали на основании констант устойчивости соответствующих комплексов [28]. Расчет доли свободного иона Hg^{2+} в тест-растворах (Табл. 2.11) показал, что оно составляет не более 10^{-8} от общей $\text{Hg}(\text{II})$, поэтому эта форма $\text{Hg}(\text{II})$, скорее всего, не будет влиять на регистрируемую токсичность.

Таблица 2.11
Среды для тестирования токсичности $\text{Hg}(\text{OH})_2$ и HgCl_2 .

№	$\text{HgCl}_2:\text{Hg}(\text{OH})_2$ в конце тестирования	Концентрация KCl	рН в начале/ конце тестирования	$[\text{Hg}^{2+}]/C(\text{Hg}^{2+})$ расч.
1	0	0	7.3 / 6.9-7.5	$4 \cdot 10^{-9}$
2	0.3	0.01M	7.0 / 7.5-8.0	$5 \cdot 10^{-10}$
3	>10	0.01M	6.4 / 5.9-6.8	$5 \cdot 10^{-10}$

Результаты альгологического биотестирования сред с различным соотношением $\text{HgCl}_2:\text{Hg}(\text{OH})_2$ приведены на Рис. 2.39.

Для оценки справедливости первого предположения на основании констант устойчивости соответствующих соединений [Лурье] рассчитали долю Hg^{2+} от общей концентрации Hg(II) в растворе. В среде с $\text{HgCl}_2:\text{Hg(OH)}_2=0$ она оказалась наибольшей, в среде с $\text{HgCl}_2:\text{Hg(OH)}_2>10$ - наименьшей (Табл. 2.11). При этом соотношение токсичностей обеих сред оказалось обратным. Из этого следует, что концентрация Hg^{2+} не может определять разницу в токсичности Hg(OH)_2 и HgCl_2 .

Что касается предположений 2 и 3, то для их проверки было изучено распределение ртути между биомассой водоросли, средой для биотестирования и стенками культиватора. Для этого во всех трех указанных компонентах тест-системы определяли содержание Hg(II) по окончании токсикологического эксперимента. Полученные данные по распределению ртути в тест-системах приведены на Рис. 2.40, Рис. 2.41.

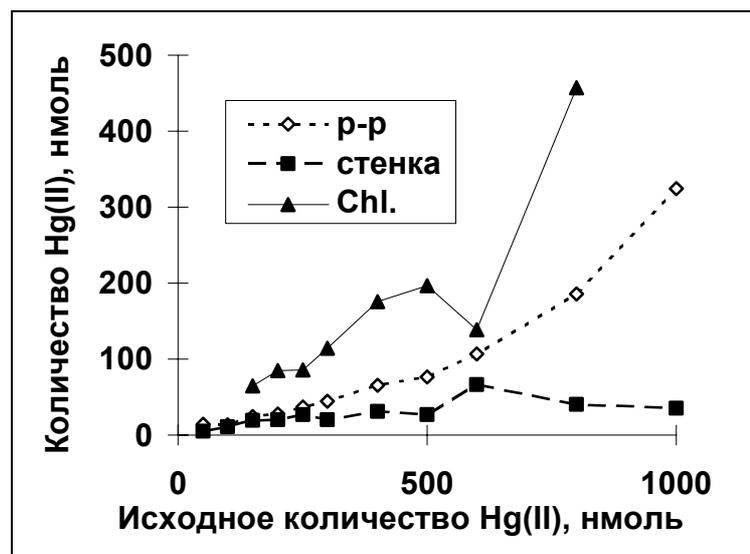


Рис. 2.40 Распределение ртути между компонентами тест-системы в среде, содержащей всю Hg(II) в виде Hg(OH)_2

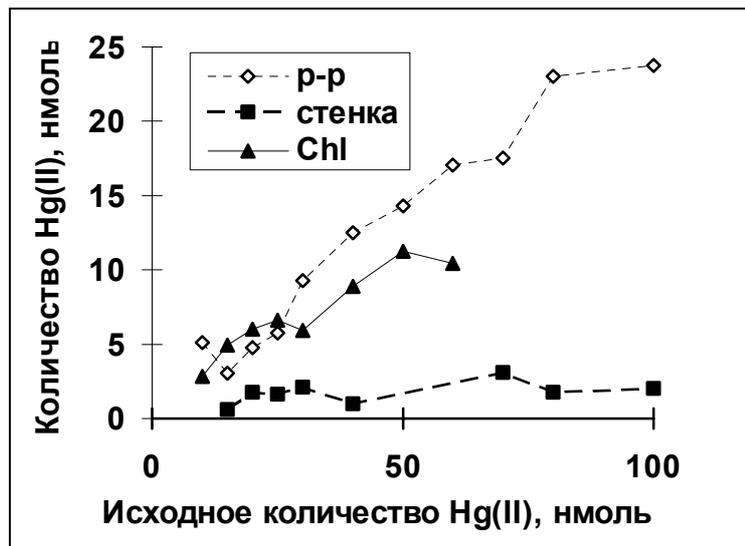


Рис. 2.41. Распределение ртути между компонентами тест-системы в среде, содержащей всю Hg(II) в виде HgCl₂.

В первую очередь, из Рис. 2.40 и Рис. 2.41 видно, что в обеих тест-средах на стенках сорбируется не более 10% от введенной Hg(II), поэтому различие в токсичности Hg(OH)₂ и HgCl₂ не может быть обусловлено их различной сорбцией на стенках культиватора.

Кроме того, из рисунков видно, что накопление Hg(II) в биомассе водоросли существенно зависит от наличия или отсутствия хлорид-ионов в среде. Так, в отсутствие хлоридов две трети всей обнаруженной ртути находилось в биомассе хлореллы, в то время как в присутствии хлоридов эта величина составляла менее половины. Следует заметить, что для HgCl₂ при ЭК₀ (0.3 мкМ) хлорелла накапливала 0.1% ртути от сухой массы. В то же время для Hg(OH)₂, при ЭК₀ (3 мкМ) водоросль накапливает 2% ртути от сухой массы. Это говорит о том, что различие в токсическом действии HgCl₂ и Hg(OH)₂ обусловлено различным уровнем токсичности этих соединений для исследуемого тест-объекта.

При сопоставлении количества введенной и найденной Hg(II), было обнаружено, что как в среде с Hg(OH)₂, так и в среде с HgCl₂ имеют место потери ртути в ходе токсикологического эксперимента. В первом случае потери составляют 35±10%, во втором - 40±10%, то есть недоопределенное количество Hg(II) в обеих средах совпадает с точностью до ошибки эксперимента. Специальных исследований о причинах этих потерь не проводили, однако

можно предполагать, что в условиях эксперимента часть Hg(II) восстанавливается водорослью до элементарной и выдувается при барботировании воздуха через тест-систему.

Таким образом показано, что токсичность HgCl₂ для водоросли *Chlorella pyrenoidosa* на порядок выше, чем Hg(OH)₂. Этот факт важен для предсказания токсичности Hg(II) в водных средах, поскольку показывает, что токсичность одних и тех же концентраций Hg(II) может различаться в зависимости от состава природных вод.

Для изучения влияния ГФК на токсичность HgCl₂, необходимо было выразить зависимость токсического эффекта HgCl₂ от ее концентрации в виде аналитической функции. Задача осложнялась тем, что чувствительность водоросли к присутствию токсиканта варьировала во времени, а следовательно несколько изменялся и диапазон токсичности. Для того, чтобы это изменение не влияло на искомую аналитическую функцию при определении диапазона токсичности, абсолютная токсичность была заменена относительной. С этой целью измеренный токсический эффект нормировали таким образом, чтобы при определенной концентрации токсиканта (в дальнейшем будем называть ее рабочей) значение относительной токсичности составляло 1, а в отсутствие токсиканта - 0. Для этого относительную токсичность выражали следующим образом:

$$T = \frac{R_0 - R_t}{R_0 - R_b}, \quad (2.109)$$

где R_t - тест-отклик в присутствии токсиканта, R_b - тест-отклик в присутствии рабочей концентрации токсиканта, R₀ - тест-отклик в контроле.

Для HgCl₂ в качестве рабочей была выбрана концентрация 0.8 мкМ (ЭК₁₀₀). Полученная зависимость T от концентрации HgCl₂ показана на Рис. 2.42. На указанном рисунке объединены данные двух экспериментов, проведенных в разные дни.

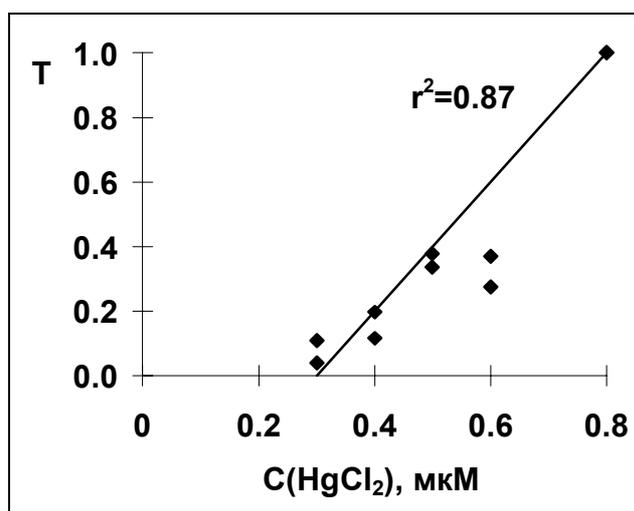


Рис. 2.42. Зависимость относительной токсичности HgCl_2 от концентрации.

Для аппроксимации полученной зависимости были рассмотрены следующие аналитические функции: линейная, квадратичная, степенная и экспоненциальная. Все эти функции позволяли аппроксимировать полученную зависимость с хорошими коэффициентами корреляции ($0.87 < r^2 < 0.94$). Однако наиболее удобной для работы из всех этих функций является линейная, поэтому она была выбрана в качестве аппроксимирующей. Кроме того, при построении аппроксимирующей функции для всего диапазона концентраций HgCl_2 от 0 до рабочей необходимо учитывать, что концентрации токсиканта ниже некоей пороговой не проявляют токсического действия, т.е. $T=0$. В результате аппроксимирующая функция для описания токсического действия HgCl_2 в диапазоне концентраций от 0 до 0.8 мкМ имеет следующий вид:

$$T = \max(0 ; 2 \cdot C(\text{HgCl}_2) - 0.6) \quad (2.110)$$

2.6.2. Изучение детоксицирующей способности ГФК по отношению к $\text{Hg}(\text{OH})_2$

При изучении влияния ГФК на токсичность $\text{Hg}(\text{II})$ надо было убедиться, что сами ГФК не влияют на состояние водорослей. Для этого были проведены предварительные эксперименты с 12-ю препаратами ГФК. Они показали, что ни один из исследованных препаратов ГФК в концентрациях 10-40 мг/л не оказывал заметного влияния на фотосинтетическую активность водоросли. Поэтому в дальнейшем собственное влияние ГФК на водоросль не учитывали.

Изучение влияния ГФК на токсичность $\text{Hg}(\text{OH})_2$ проводили с использованием препарата МТ4. Для исследования была выбрана концентрация $\text{Hg}(\text{OH})_2$ 16 мкМ (ЭК_{50}). Использовать более высокие концентрации было нецелесообразным, так как 16 мкМ превышает ПДК $\text{Hg}(\text{II})$ в несколько тысяч раз [170], то есть наличие столь высоких концентраций $\text{Hg}(\text{II})$ в природных водах маловероятно.

Зависимость фотосинтетической активности водоросли в присутствии 16 мкМ $\text{Hg}(\text{OH})_2$ от концентрации ГФК, введенных в тест-систему, представлено на (Рис. 2.43). Из рисунка видно, что малые (до 5 мг/л) концентрации ГФК незначительно увеличивают токсичность, а более высокие - приводят к полной детоксикации $\text{Hg}(\text{OH})_2$. При этом эффект увеличения токсичности лежит на грани экспериментальных погрешностей ($\pm 5\%$, разд. 3.2.9.2). Чтобы проверить возможность интоксикации $\text{Hg}(\text{OH})_2$ малыми концентрациями ГФК, было изучено их влияние на токсичность $\text{Hg}(\text{OH})_2$ в концентрации 4 мкМ (ЭК_{20}), при которой интоксикация должна была бы проявиться наиболее отчетливо. Однако проведенные эксперименты показали, что при этой концентрации наблюдался исключительно детоксицирующий эффект ГФК. Таким образом можно считать, что ГФК оказывают детоксицирующее действие на $\text{Hg}(\text{OH})_2$, что, по-видимому, связано с образованием малотоксичных гуматов ртути.

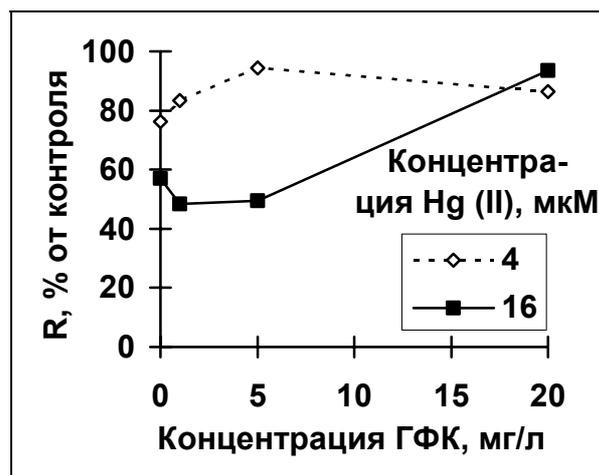


Рис. 2.43. Зависимость токсического действия $\text{Hg}(\text{OH})_2$ от концентрации МТ4 в растворе.

2.6.3. Изучение детоксицирующей способности ГФК по отношению к $HgCl_2$

Эксперименты по изучению детоксицирующей способности ГФК по отношению к $HgCl_2$ проводили в среде, содержащей 0.01 М КСl. Для постановки экспериментов использовали концентрацию $HgCl_2$ 0.8 мкМ, что соответствует $ЭК_{100}$ (Рис. 2.39). Диапазон концентраций ГФК составлял 5-25 мг/л, что характерно для поверхностных вод [6].

В ходе экспериментов измеряли интенсивность фотосинтеза водоросли в условиях постоянной (0.8 мкМ) концентрации $HgCl_2$ и различных концентраций ГФК. Чтобы количественно охарактеризовать детоксицирующее действие, использовали коэффициент детоксикации:

$$D = 1 - \frac{R_0 - R_{d+t}}{R_0 - R_t}, \quad (2.111)$$

где R_0 - тест-отклик в контроле, R_t - тест-отклик в присутствии токсиканта ($HgCl_2$) в концентрации 0.8 мкМ, R_{d+t} - тест-отклик в присутствии токсиканта в концентрации 0.8 мкМ и детоксиканта (ГФК).

В некоторых случаях, в первую очередь для сравнения токсичности $HgCl_2$ в присутствии и в отсутствие ГФК вместо коэффициента детоксикации использовали относительную токсичность, введенную в разд.2.6.1, которая связана с D следующим выражением:

$$T = 1 - D. \quad (2.112)$$

Как показали проведенные эксперименты, большинство препаратов ГФК обладало детоксицирующим действием по отношению к $HgCl_2$. Зависимость детоксицирующего действия от концентрации ГФК приведена на Рис. 2.44.

Для сопоставления детоксицирующей способности различных препаратов ГФК определяли концентрацию, приводящую к 50%-му снижению токсичности $HgCl_2$ ($ДК_{50}$). Для этой цели экспериментальную зависимость аппроксимировали аналитической функцией и определяли $ДК_{50}$ интерполяцией указанной функции.

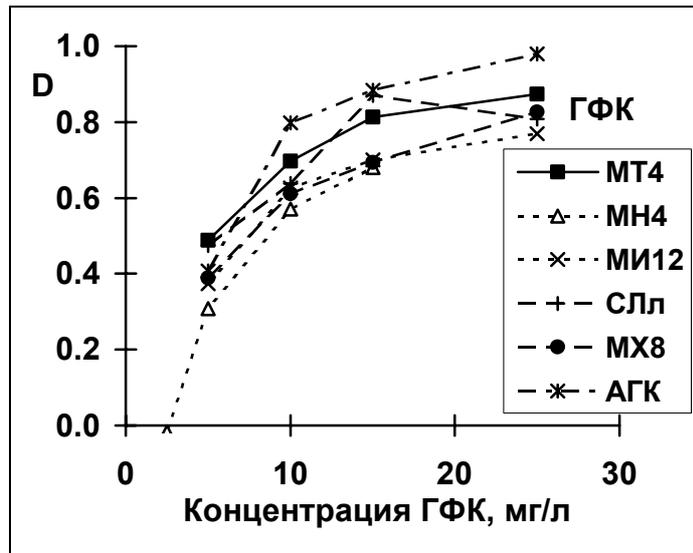


Рис. 2.44. Детоксикация HgCl_2 в концентрации 0.8 мкМ различными препаратами ГФК.

Для токсикологических данных наилучшей аппроксимацией зависимости D от $C(\text{ГФК})$ достигали с использованием гиперболической функции:

$$D = \frac{-b}{C(\text{ГФК})} + D_{\max}, \quad (2.113)$$

где b - параметр гиперболы, а D_{\max} - максимальный коэффициент детоксикации. Чтобы найти эти параметры, зависимость D от $C(\text{ГФК})$ строили в линеаризованных координатах:

$$D \cdot C(\text{ГФК}) = C(\text{ГФК}) \cdot D_{\max} - b, \quad (2.114)$$

Зависимость D от концентрации ГФК в указанных линеаризованных координатах приведена для нескольких препаратов на Рис. 2.45. Для большинства зависимостей коэффициент корреляции (r) превышает 0.98. Исключение составляли препараты Т4 (0.89), Т5(0.85), верх (0.97), низ (0.95), Лух (0.84), МП9 (0.88).

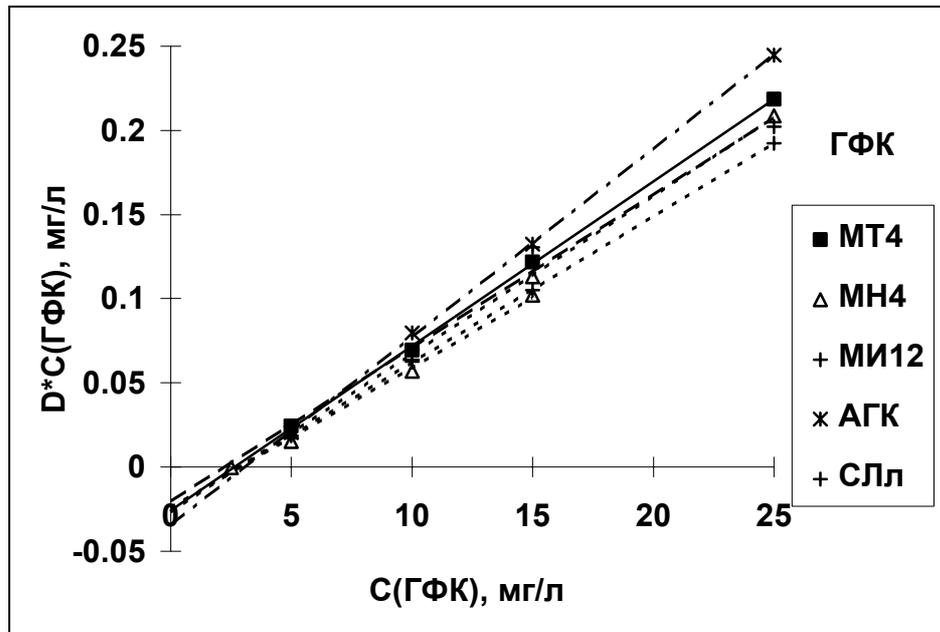


Рис. 2.45. Зависимость коэффициента детоксикации от концентрации ГФК в линеаризованных координатах.

На основании полученных параметров (Приложение И) были рассчитаны значения $ДК_{50}$, которые приведены на Рис. 2.46.

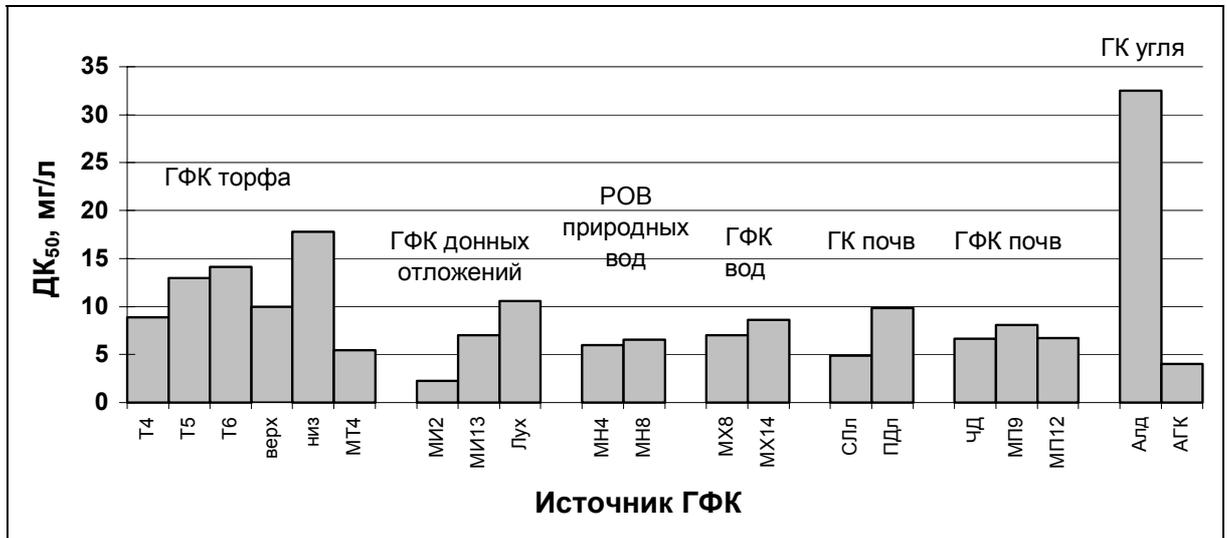


Рис. 2.46. Концентрация препаратов ГФК различного происхождения вызывающая 50%-ное снижение токсичности 0.8 мкМ HgCl_2 наполовину.

Как видно из рисунка, детоксицирующая способность большинства препаратов близка. Исключения составляют торфяные препараты, обладающие относительно низкой детоксицирующей способностью. Близость $ДК_{50}$ для большинства препаратов (5-10 мг/л) позволяет грубо оценивать их

детоксицирующее действие в отсутствие каких-либо характеристик указанных препаратов.

Следует заметить, что функция, аппроксимирующая влияние ГФК на токсичность HgCl_2 (2.114) позволяет определить пороговую концентрацию, ниже которой ГФК не оказывают детоксицирующего действия на HgCl_2 . Эта концентрация в дальнейшем будет обозначаться как ДК_0 . Ее можно найти из Рис. 2.45 как точку пересечения графика с осью абсцисс. Для большинства препаратов значения ДК_0 лежат в диапазоне 1-5 мг/л. Чтобы убедиться в том, что ГФК в концентрациях ниже ДК_0 действительно не оказывают детоксицирующего действия на HgCl_2 в концентрации 0.8 мкМ, был поставлен эксперимент с препаратом МН4 ($\text{ДК}_0=2.7$ мг/л), в котором концентрация препарата составляла 2.5 мг/л. Такая концентрация действительно не оказывала детоксицирующего действия (см. Рис. 2.44).

Для прогноза установленного детоксицирующего действия ГФК, весьма важным является выяснение его механизма. На основании установленного выше (разд. 2.6.1) факта, что носителем токсичности является HgCl_2 , была выдвинута гипотеза, что основным механизмом детоксицирующего действия ГФК по отношению к HgCl_2 является переход Hg(II) из токсичных хлоридов в нетоксичные гуматы. Для подтверждения этой гипотезы необходимо было показать, что снижение токсичности HgCl_2 в присутствии ГФК соответствует снижению равновесной концентрации HgCl_2 в результате протекания реакции



Для этой цели, исходя из распределения Hg(II) между HgCl_2 и гуматами и диапазона токсичности HgCl_2 , необходимо было рассчитать ДК_{50} для различных препаратов ГФК и сравнить их с экспериментальными данными. Из уравнения (2.110) и (2.112) следует, что $D=0.5$ соответствует $[\text{HgCl}_2]=0.55\text{мкМ}$. На основании констант устойчивости гуматов ртути, полученных в Разд.2.2, рассчитаем концентрацию ГФК, необходимую для того, чтобы создать такую равновесную концентрацию HgCl_2 в растворе при его общей концентрации 0.8 мкМ.

Опишем поведение Hg(II) в системе, содержащей ГФК и СГ системой уравнений. Первое уравнение - константа равновесия реакции (2.115):

$$K(\text{Cl}/\text{PCl}) = \frac{[\text{HgPCl}]\cdot[\text{Cl}^-]^2}{[\text{HgCl}_2]\cdot[\text{PCl}]} \quad (2.116)$$

При этом константу $K(\text{Cl}/\text{PCl})$ можно выразить через известные константы устойчивости хлоридов и гуматов ртути:

$$K(\text{Cl}/\text{PCl}) = K(\text{HgPCl})/\beta_2(\text{HgCl}_2). \quad (2.117)$$

С другой стороны, согласно материальному балансу

$$C(\text{Hg}) = [\text{HgCl}_2] + [\text{HgPCl}]. \quad (2.118)$$

Кроме того, поскольку как хлориды, так и РСЦ находятся в большом избытке по сравнению со ртутью(II), можно считать

$$C(\text{Cl}^-) = [\text{Cl}^-], \quad (2.119)$$

$$C(\text{PCl}) = [\text{PCl}]. \quad (2.120)$$

Решая систему (2.117) - (2.120), получаем

$$C(\text{PCl}) = \frac{C^2(\text{Cl}^-)}{K(\text{HgPCl})/\beta_2(\text{HgCl}_2)} \cdot \frac{C(\text{Hg}) - [\text{HgCl}_2]}{[\text{HgCl}_2]}, \quad (2.121)$$

Из полученного уравнения были рассчитаны $C(\text{PCl})$ для $C(\text{HgCl}_2) = 0.8$ мкМ и $[\text{HgCl}_2] = 0.55$ мкМ. При этом $K(\text{PCl})$ была пересчитана на ионную силу среды для биотестирования ($I = 0.019$) по уравнению Дэвиса (Разд.1.2.2.2.).

На основании вычисленных по уравнению (2.121) концентраций РСЦ находили концентрацию ГФК по данным Рис.2.13. Полученные данные (рассчитанные ДК_{50} в сравнении с экспериментальными) приведены на Рис. 2.47.

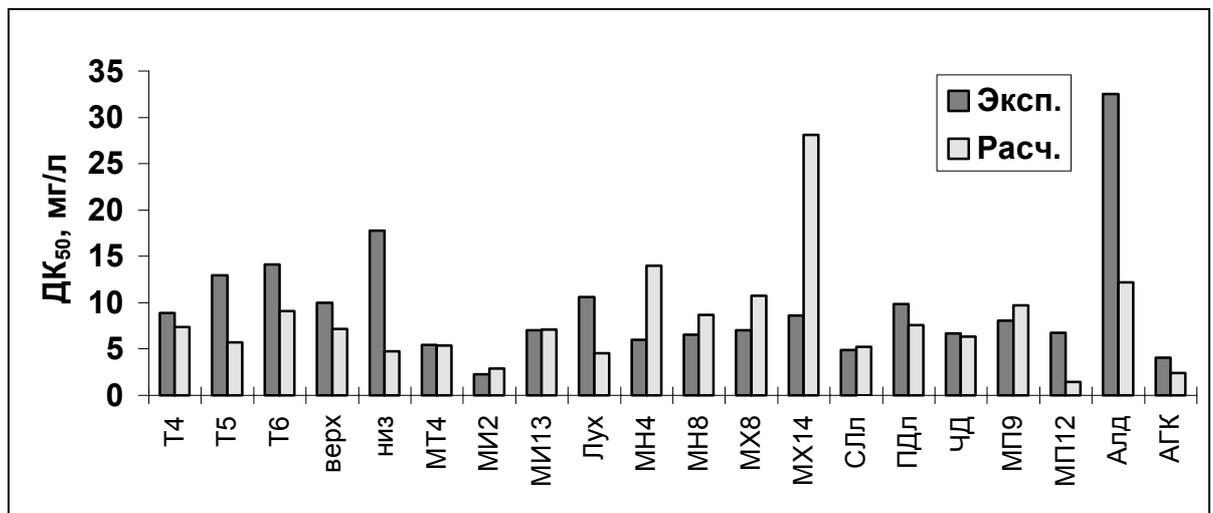


Рис. 2.47. Экспериментальные значения ДК_{50} в сравнении с рассчитанными по уравнению (2.121).

Из рисунка видно, что для большинства препаратов (13 из 20) рассчитанные и экспериментальные значения расходятся не более, чем в два раза. Более, чем двукратное расхождение наблюдается для препаратов Т5, низ, Лух, МП12, Алд, для которых экспериментальные значения превышают рассчитанные, и МН4, МХ14, для которых наблюдается обратная картина. Общих факторов, которые могли бы обуславливать указанные отклонения, обнаружено не было.

Для получения дополнительной информации о механизме детоксицирующего действия ГФК, было изучено их влияние на накопление Hg(II) в биомассе водорослей в присутствии хлоридов. При этом ожидалось, что накопление Hg(II) в биомассе водорослей будет, как и в случае токсического эффекта, определяться равновесной концентрацией HgCl₂.

Для этой цели изучали влияние ГФК на распределение Hg(II) в системе хлоридсодержащий раствор - биомасса водорослей - стенки культиватора.

В результате проведенных экспериментов было установлено, что на стенках культиватора сорбируется не более 5% от введенной ртути, поэтому ее сорбцию на стенках не учитывали. При сопоставлении количества обнаруженной и введенной Hg(II) было найдено, что, как и в случае экспериментов без ГФК около трети Hg(II) в ходе токсикологического эксперимента теряется.

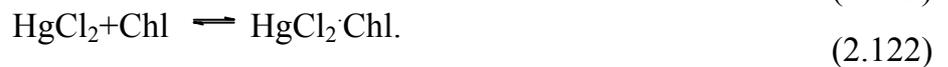
При измерении содержания Hg(II) в тест-растворе и биомассе водоросли по окончании токсикологического эксперимента было обнаружено, что во всех случаях (даже для препаратов, оказывающих интоксицирующее действие) увеличение концентрации ГФК приводило к уменьшению содержания ртути в биомассе хлореллы и, соответственно, к его увеличению в растворе.

Для количественной оценки процессов, происходящих в рассматриваемой системе, была принята модель, основанная на следующих положениях:

- Hg(II) в тест-системе распределяется между тремя компонентами: биомассой водорослей, ГФК и хлорид-ионами, причем из констант устойчивости хлоридов ртути следует, что в тест-системе присутствует только HgCl₂.
- Hg(II) взаимодействует с хлоридами и ГФК по механизму комплексообразования, а с биомассой хлореллы - по механизму сорбции.

- HgCl_2 сорбируется на биомассе хлореллы, а гуматы ртути - нет.
- К концу токсикологического эксперимента между всеми тремя формами ртути (хлоридной, гуматной и сорбированной на биомассе хлореллы) наступает равновесие.
- Hg(II) , теряющаяся в ходе токсикологического эксперимента не влияет ни на какие процессы в системе.

Предложенная выше модель описывается следующей системой химических реакций:



Если принять, что в условиях эксперимента количество ртути, сорбированной на биомассе хлореллы составляет лишь малую долю от возможного, процесс (2.122) должен описываться линейной изотермой сорбции ртути биомассой хлореллы:

$$v_{\text{Chl}}(\text{Hg}) = K_{\text{sorb}}(\text{Chl}) [\text{HgCl}_2], \quad (2.123)$$

где $v_{\text{Chl}}(\text{Hg})$ - количество Hg(II) в биомассе хлореллы, а $K_{\text{sorb}}(\text{Chl})$ - эффективная константа сорбции HgCl_2 на биомассе.

В случае справедливости данной модели ожидалось, что подставляя в уравнение (2.123) равновесные концентрации HgCl_2 , рассчитанные в присутствии различных концентраций ГФК, и используя в качестве $v_{\text{Chl}}(\text{Hg})$ экспериментально определенные величины, можно будет получить график зависимости, эквивалентный изотерме сорбции HgCl_2 на хлорелле в отсутствие ГФК.

$[\text{HgCl}_2]$ рассчитывали исходя из константы равновесия реакции (2.115). Учитывая, что концентрация хлорид-ионов и РСЦ много больше аналитической концентрации ртути, получили следующее выражение:

$$[\text{HgCl}_2] = C_L(\text{Hg}) \cdot \frac{\beta_2(\text{HgCl}_2) \cdot C^2(\text{Cl}^-)}{1 + \beta_2(\text{HgCl}_2) \cdot C^2(\text{Cl}^-) + K(\text{PCl}) \cdot C(\text{PCl})}, \quad (2.124)$$

где $C_L(\text{Hg})$ - аналитическая концентрация ртути в растворе по окончании токсикологического эксперимента.

Зависимость экспериментальных величин $C_{\text{Chl}}(\text{Hg})$ от $[\text{HgCl}_2]$, рассчитанной по уравнению (2.124) для всех препаратов ГФК приведена на Рис.

2.48. На этом же рисунке приведена изотерма сорбции Hg(II) хлореллой в отсутствие ГФК.

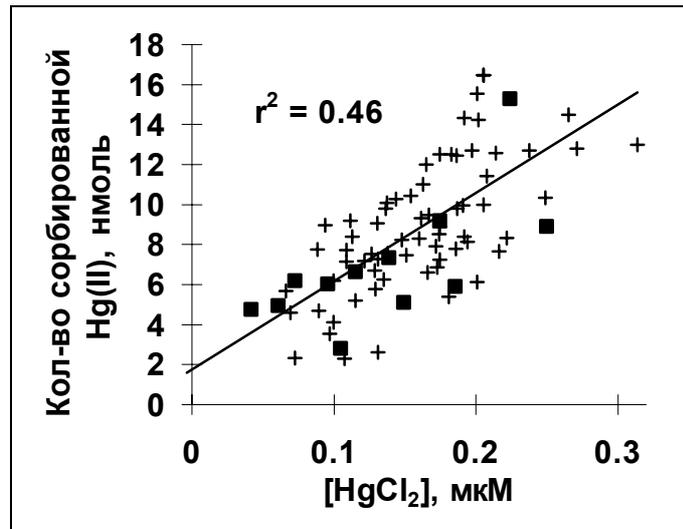


Рис. 2.48. Сорбция HgCl₂ биомассой водорослей в присутствии и отсутствие ГФК (+ - рассчитанные, ■ - экспериментальные величины).

Как видно из Рис. 2.48, обе изотермы практически совпадают. Следовательно, предложенная модель, в рамках которой гуматы ртути рассматриваются как несорбируемые или ненакапливаемые биомассой хлореллы соединения, оказалась адекватной экспериментальным результатам.

Таким образом, гипотеза о том, что механизм детоксицирующего действия ГФК обусловлен связыванием Hg(II) в нетоксичные гуматы, в целом подтвердилась. При этом данные токсикологических экспериментов указали на правильность значений констант устойчивости гуматов ртути, найденных адсорбционным методом с использованием конкурентного комплексообразования. Это открывает возможность оценки детоксицирующего действия ГФК на основании данных по их реакционной способности. Можно ожидать, что подобный подход будет справедлив и для других тяжелых металлов.

3. Экспериментальная часть

3.1. Реактивы и оборудование

3.1.1. Реактивы.

Выделение гумусовых кислот. Для выделения водных препаратов ГФК использовали HCl квалификации ч.д.а. и смолу “Амберлит XAD-2”. Смолу предварительно кондиционировали. Для этого ее кипятили в аппарате Сокслета последовательно с метанолом ацетоном, гексаном, затем - снова ацетоном и метанолом. Между выделением различных препаратов смолу регенерировали этанолом. Все растворители имели квалификацию ч.д.а. и использовались без дополнительной очистки.

Для экстракции битумоидов из торфов, почв и донных отложений использовали бензольно-этанольную смесь 1:1.

Для экстракции ГФК из торфа, почв и донных отложений, а также элюирования ГФК со смолы XAD-2 использовали раствор 0.1 М NaOH, приготовленный растворением навески твердой щелочи квалификации ч.д.а. в дистиллированной воде.

Для обессоливания ГФК использовали катионит КУ-23 (содержание ионогенных групп - 5 ммоль/г сухого препарата).

Определение молярной массы ГФК. Для определения молярной массы ГФК использовали гель TOYOPEARL-50HW(S) (Япония). Для элюирования ГФК использовали 0.028 М фосфатный буфер (pH 6.8). В качестве калибровочных веществ использовали полидекстраны (молекулярная масса 830, 4400, 9900, 21400, 43500, 200000 г/моль).

Определение содержания кислотных групп в ГФК. Для определения содержания кислотных групп в ГФК использовали свежеприготовленный 0.1 М раствор NaOH на бескарбонатной воде. Точную концентрацию полученного раствора определяли потенциометрическим титрованием 0.1 М HCl, приготовленной из фиксанала.

Бескарбонатную воду готовили кипячением дистиллированной воды в течение 1 часа. После кипячения воду помещали в сосуд, снабженный хлор-кальциевой трубкой с аскаритом, во избежание контакта с атмосферным CO_2 .

Определение Hg(II). Для определения Hg(II) в растворах в качестве восстановителя использовали 0.3% раствор NaBH_4 (фирма “Merck”, квалификация “pure”) в 0.1 М NaOH. Для приготовления указанного восстановительного раствора навеску твердого NaOH квалификации ч.д.а. растворяли в дистиллированной воде, после чего добавляли навеску NaBH_4 . Раствор готовили не более, чем за сутки до употребления. Для создания кислой среды непосредственно при восстановлении Hg(II) использовали 5 М раствор HCl (ч.д.а.).

Калибровочные растворы Hg(II) готовили разбавлением в 3% HNO_3 соответствующих аликвотных частей стандартных растворов $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ГСО 3497-86 (приготовлен в СКБ ФХИ им. А.В. Богатского, г. Одесса). Концентрация калибровочных растворов Hg(II) составляла 10, 20, 30, 40, 50 мкг/л.

Синтез гуматов ртути и определение их констант устойчивости. Для синтеза гуматов ртути и определения их констант устойчивости использовали следующие соединения Hg(II) и их растворы:

- HgO квалификации осч.
- $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ квалификации ч.д.а.
- 0.27 М раствор $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, полученный растворением 5.88 г HgO в 5 мл HNO_3 конц. с последующим доведением объема раствора до 100 мл
- 0.01 М раствор $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, полученный растворением 0.54 г HgO в 0.7 мл 50%-ной HNO_3 с последующим доведением объема до 250 мл.
- HgCl_2 квалификации ч.д.а.

При исследовании условий получения гуматов, насыщенных Hg(II) использовали 0.27 М раствор $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ и HNO_3 квалификации х.ч.

Для получения нерастворимых гуматов ртути использовали насыщенный раствор $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$.

Гидрокарбонатно-углекислотный буферный раствор готовили следующим образом: в 100 мл воды растворяли 105 мг NaHCO_3 и добавляли 2 мл HNO_3 0.2 М.

Для определения констант устойчивости гуматов ртути ионообменным методом использовали катионит КУ-23 в Na-форме. Для перевода катионита в Na-форму его обрабатывали 1М NaCl до тех пор, пока указанный раствор не оставался при контакте с катионитом нейтральным в течение часа. Катионит, переведенный в Na-форму, промывали дистиллированной водой. Кроме того, при определении констант устойчивости гуматов ртути ионообменным методом использовали 1 М раствор NaCl, приготовленный растворением навески 5.8 г. NaCl ч.д.а. в воде с последующим доведением объема раствора до 100 мл.

При определении констант устойчивости гуматов ртути адсорбционным методом использовали 0.1 М раствор KBr, приготовленный растворением 1.19 г KBr х.ч. в воде с последующим доведением объема раствора до 100 мл.

Получение соединений Hg(II) с модельными органическими кислотами.

- Модельные кислоты: янтарная кислота (ч.), адипиновая кислота (ч.), фталевая кислота (ч.) и 2,4-дигидроксibenзойная кислота (ч.).
- Другие реактивы: 0.27 М раствор Hg(NO₃)₂ (см. выше), NaOH (ч.д.а.), этанол.

Разложение гуматов ртути и соединений модельных кислот с Hg(II).

Для разложения использовали K₂S₂O₈ (ч.д.а.) и конц. HNO₃ (х.ч.).

Токсикологические эксперименты. Для приготовления среды для биотестирования использовали KNO₃ (х.ч.), MgSO₄·7H₂O (ч.д.а.) и KCl (х.ч.). Для измерения максимальной флуоресценции использовали 10⁻⁵М раствор диурона (N,N-диметил-N'-(3,4-дихлорфенил)мочевины). Культивирование водоросли проводили в среде Тамия, состав которой приведен в Табл. 3.1.

Таблица 3.1

Состав 100% среды Тамия для разращивания водорослей

Компонент	Содержание, г/л	Компонент	Содержание, г/л
KNO ₃	5	H ₃ BO ₃	2.76·10 ⁻³
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.5	MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.81·10 ⁻³
KH ₂ PO ₄	1.25	ZnSO ₄ ·4H ₂ O	2.24·10 ⁻³
ЭДТА	0.037	MoO ₃	1.75·10 ⁻⁶
FeSO ₄ ·7H ₂ O	3·10 ⁻³	NH ₄ VO ₃	2.3·10 ⁻⁶
рН среды довели до 6.6 - 6.8 0.1М КОН			

Для изучения токсичности Hg(II) использовали 0.01 М раствор Hg(NO₃)₂, полученный растворением 0.54 г HgO в 0.7 мл HNO₃ 50% с последующим доведением объема до 250 мл. Рабочие растворы готовили разбавлением указанного в требуемое число раз.

3.1.2. Оборудование

C,H,N-анализ был выполнен в лаборатории микроанализа на элементном анализаторе модели-1106 фирмы Carlo Erba Strumentazione (Италия).

Для определения молярной массы ГФК использовали колонку внутренним диаметром 20 мм и высотой 25 см. Детектирование органического углерода в элюате проводили на проточном DOC-детекторе “Graentzel”, Германия.

Определение натрия методом ЭАС проводили на спектрометре AAS1N (ГДР) с использованием воздушно-метанового пламени.

Определение содержания минеральных элементов в растворах ГФК методом АЭС-ИСП проводили на приборе “ICAP-61” фирмы “TermoJarell Ash” (США).

Потенциометрические измерения проводили на рН-метре рН-121 с аналого-цифровым преобразователем В7-16А. Использовали стеклянный электрод ЭСЛ-63-07 и хлорсеребряный электрод сравнения.

¹³C-ЯМР и ¹⁹⁹Hg-ЯМР спектры растворов ГФК регистрировали на приборе VXR-400 фирмы “Varian”. Использовали ЯМР-ампулы диаметром 10 мм.

Для получения ИК спектров препаратов ГФК, гуматов ртути и модельных соединений использовали следующие приборы:

- UR-20 (ГДР) (кюветы KBr, вазелиновое масло)
- ИКС-22 (СССР) (кюветы NaCl, вазелиновое масло)
- ИК-Фурье спектрометр Perkin Elmer (в таблетках KBr)

Для определения Hg(II) методом ААСХП использовали прибор SpectrAA-30 с приставкой VGA-76 фирмы “Varian”. Для измерения поглощения паров ртути использовали кварцевую кювету с длиной оптического пути 15.5 см.

Для разложения различных твердых органических соединений использовали аналитический автоклав из титановых сплавов с тефлоновым

патроном (ТУ 48-0572-31-259-92), произведенным НПФ "АНКОН-АТ" Государственного НИПИ редкометаллической промышленности.

Для измерения оптической плотности использовали прибор DMS-100 фирмы "Varian" и кварцевые кюветы с длиной оптического пути 10 мм.

Для разрачивания культуры водорослей использовали стеклянные культиваторы с внутренним термостатированием емкостью 200 мл. При проведении альгологического тестирования использовали стеклянные культиваторы (пробирки объемом 70 мл с расширением в верхней части) и аквариум для внешнего термостатирования. Флуоресценцию водорослей измеряли при помощи однолучевого флуориметра, изготовленного на кафедре Биофизики Биологического факультета МГУ.

3.2. Техника экспериментов

3.2.1. Выделение препаратов гумусовых кислот.

В ходе работы было выделено 12 препаратов ГФК различного происхождения: 1 из торфа, 2 из почв, 3 из донных отложений и 6 из природных вод. Кроме того, 13 препаратов было предоставлено лабораторией ФОХ Химического факультета МГУ и кафедрой Общего земледелия факультета Почвоведения МГУ. Также использовали два коммерческих препарата угольных ГФК ("Алд" - фирмы "Aldrich" и "АГК" - МП "Спецбиохимтехнология").

Общая схема выделения препаратов ГФК приведена на Рис. 3.1.

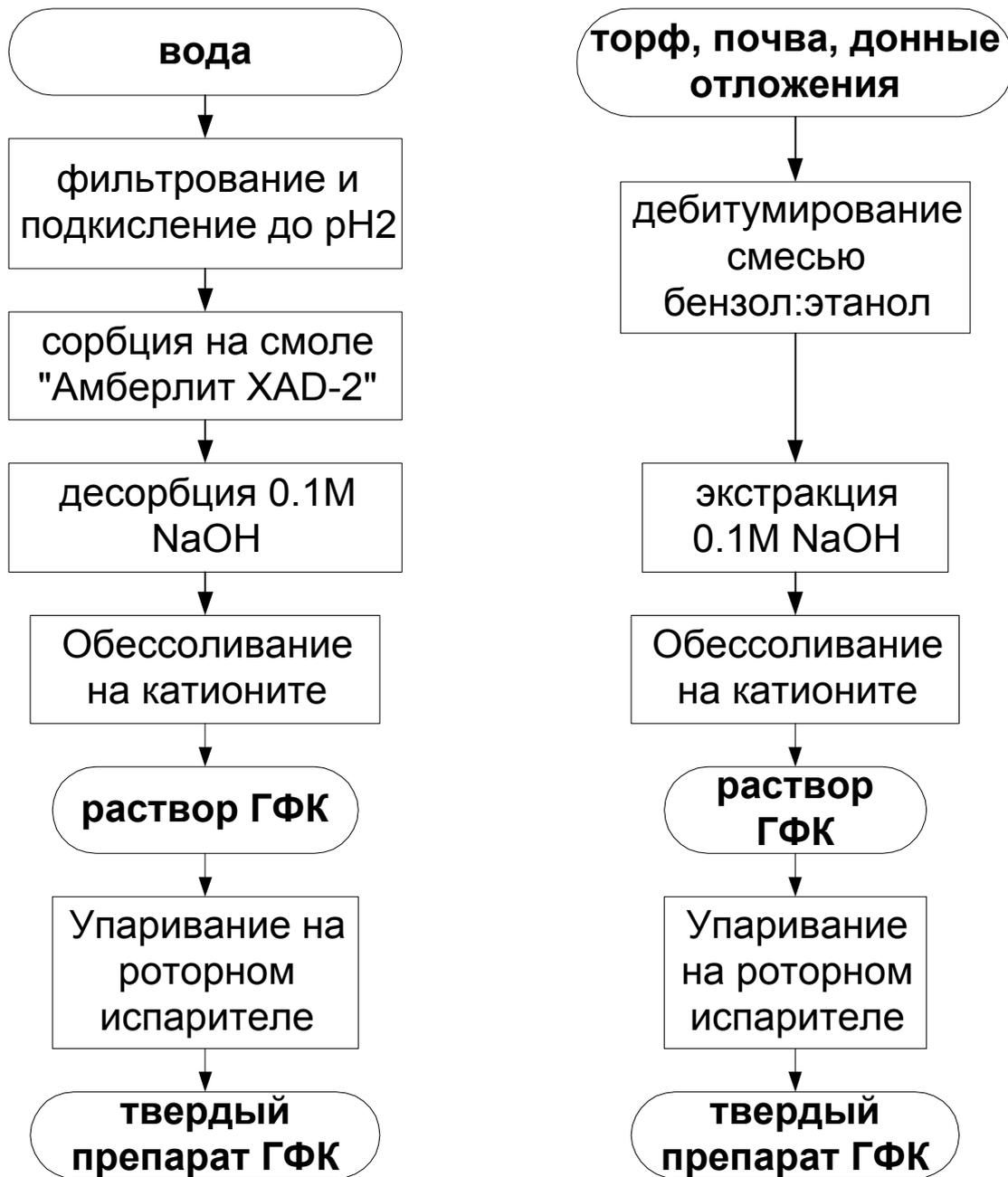


Рис. 3.1. Схема выделения препаратов гумусовых кислот.

Препараты торфяных ГФК были выделены щелочной экстракцией из верхового торфа согласно [23]. С целью сохранения водорастворимой фракции ГФК была опущена начальная стадия обработки торфа горячей водой. Согласно выбранной методике измельченный торф несколько раз обрабатывали смесью бензол-этанол (1:1) – соотношение торф/экстрагент – 1:3. Обработку проводили до тех пор, пока экстрагируемый раствор не становился почти бесцветным. После экстракции торф высушивали при температуре 40-60°C в течение ~8 часов

до исчезновения запаха бензола. Затем торф заливали раствором 0.1 М NaOH в соотношении 1:3 и оставляли на ночь. Щелочной раствор сливали и отфильтровывали, экстракцию повторяли несколько раз до тех пор пока экстракт не становился слабо окрашенным. Порции щелочного экстракта объединяли и обессоливали пропусканием через катионит КУ-23 в Н-форме (рН полученных таким образом растворов составлял 2.95-3.4). Для большинства исследований использовали полученные водные концентраты ГФК, которые хранили в защищенном от света месте при температуре 10-18°C.

Образцы ГФК из донных отложений различных водоемов и почв (Табл. 3.2) выделяли так же, как из торфа.

Препараты водных ГФК выделяли сорбцией на смоле “Amberlite XAD-2” по методике [171] из природных вод, источники которых приведены в Табл 3.2. Кроме того, в качестве препаратов растворенного органического вещества природных вод использовалась нативная природная вода (препараты МН4 и МН8).

Природную воду фильтровали через сложенную в несколько слоев стеклоткань (предварительно тщательно промытую метанолом) и подкисляли до рН 2 конц. HCl. После чего пропускали через колонку, заполненную смолой XAD-2 (длиной 40 см, внутренним диаметром 20 мм), до насыщенно-желтого окрашивания смолы (речные и эстуарные воды – 150-200 л, болотные – 20 л). Затем колонку промывали дистиллированной водой до отрицательной реакции на Cl⁻-ион по 0.1 М AgNO₃. ГФК десорбировали с колонки 0.1 М NaOH до обесцвечивания элюата. Щелочной концентрат обессоливали аналогично торфяным образцам и определяли концентрацию ГФК в нем.

Характеристика источников происхождения препаратов ГФК, выделенных в настоящей работе приведены в Табл 3.2, а предоставленных лабораторией ФОХ и Факультетом почвоведения - в Табл 3.3.

**Характеристики источников, использованных для выделения
ГФК**

Шифр препарата	Характеристика	Конц- ция, г/л
ГФК торфа		
МТ4	Верховой сфагновый торф (о. Мудьюг, Белое море).	4.0
ГФК донных отложений		
МИ2	Донные отложения озера на переходном болоте, о. Мудьюг.	1.2
МИ13	Донные отложения эстуария Северной Двины (преимущественно перегнивающие водоросли)	1.0
Лух	Донные отложения реки Лух, Владимирская обл. (перегнивающее органическое вещество, перемешанное с песком)	0.32
ГФК почв		
МП9	Глеево-подзолистая луговая почва, о. Мудьюг.	2.0
МП12	Торфяная почва, о. Мудьюг.	2.6
РОВ природных вод		
МН4	Верховое сфагновое болото, о. Мудьюг	0.3
МН8	Низинное тростниковое болото, о. Мудьюг	0.14
ГФК природных вод		
МХ7	Соленые тростниковые марши Белого Моря, о. Мудьюг	0.9
МХ8	Оно же	0.43
МХ11	Эстуарий р. Северной Двины	0.34
МХ14	р. Северная Двина 60 км выше Архангельска	0.35

Таблица 3.3

**Происхождение препаратов, предоставленных лабораторией
ФОХ и факультетом почвоведения.**

Шифр препарата	Источник	Концентрация, г/л
ГК почв		
ПДл(Н)	Подзолистая почва, лес, Новгородская обл.	
ПДл	Дерново-подзолистая почва, лес, Московская обл.	
СЛл	Серая лесная почва, лес, Тульская обл.	
ГФК почв		
ЧД	Чернозем, Ставропольский край.	3.2
ГФК торфа		
Т4	Верховой сфагновый торф, Тверская обл.	2.1
Т5	Верховой торф, месторождение "Васильевский мох", Тверская обл.	0.5
Т6	Верховой пушицевый торф, Тверская обл.	0.7
Т7	Верховой торф, фрезерный, Тверская обл.	1.2
низ	Низинный сосновый торф, Тверская обл.	1.3
верх	Верховой сосново-пушицевый торф, Тверская обл.	2.2
ГФК природных вод		
бв1	Болото, Шатурский район Московской области	0.66

Большая часть препаратов была предоставлена в виде концентрированных водных растворов. Препараты ПДл, СЛл и ПДл(Н) были предоставлены в твердом виде. Для получения их раствора с известной концентрацией навеску препарата ГФК (40 мг) растворяли в 1 мл 0.1 М щелочи, разбавляли до 50 мл дистиллированной водой, доводили рН до 7 азотной кислотой и доводили объем раствора до 100 мл.

Кроме того, использовали два коммерческих препарата ГФК угля - гуминовый препарат АГК (активированная гуминовая кислота) производства МП

“Спецбиохимтехнология” (шифр “АГК”) и препарат “Humic Acid” фирмы “Aldrich” (шифр “Алд”). Препараты ГФК угля перед употреблением обессоливанием на катионите. Концентрацию ГФК в полученных растворах определяли гравиметрически.

Для исследований, проводимых в водной среде, все образцы ГФК использовали в виде полученных после обессоливания растворов. Для контроля качества обессоливания в растворах проводили определение натрия.

Содержание ГФК в растворах определяли гравиметрически, упаривая точную аликвоту на ротормном испарителе (50-60°C), и сушили ее над P₂O₅ до постоянного веса (около 7 суток). Полученные таким образом твердые препараты использовали для элементного анализа и ИК-спектроскопических исследований.

3.2.2. Анализ выделенных препаратов ГФК

3.2.2.1. Элементный анализ

Элементный анализ выделенных препаратов ГФК проводили в лаборатории микроанализа кафедры органической химии. С,Н,N-анализ выполняли на элементном анализаторе.

Серу определяли гравиметрически путем сжигания пробы с нитратом бария.

Анализ на зольность выполняли ручным сожжением в кварцевых трубках в атмосфере кислорода при температуре 750°C в течение 40 мин.

Полученные данные по содержанию С, Н, N, S пересчитывали на беззольное органическое вещество ГФК. Содержание кислорода вычисляли по разности.

Натрий в растворах ГФК определяли методом атомно-эмиссионной спектрометрии (АЭС). Для этого готовили серию из четырех растворов, содержащих 5 мл раствора ГФК и 0, 0.1, 0.2 и 0.3 мМ Na. Эмиссию каждого раствора в воздушно-метановом пламени измеряли при длине волны 589.2 нм и рассчитывали концентрацию натрия методом добавок.

3.2.2.2. Определение содержания кислотных групп в ГФК

Содержание кислотных групп в ГФК определяли методом рК-спектроскопии [86]. Для этого проводили прямое потенциометрическое титрование растворов препаратов ГФК с концентрацией 0.8-2 г/л. Использование данных концентраций обеспечивало хорошую воспроизводимость кривых титрования и рассчитанных по ним рК-спектров. В тех случаях, когда в имевшихся растворах ГФК концентрация была меньше (0.3-0.8 г/л), их титровали без предварительного концентрирования.

Для получения рК-спектров использовали оригинальную компьютерную программу (Гармаш А.В., Кудрявцев А.В.), которая позволяет рассчитывать как суммарную концентрацию ионогенных групп, так и доли ионогенных групп (q_i) с константами K_i [86]. Расчет основан на использовании линейного МНК с ограничениями на неотрицательность решения. В качестве исходных данных использовали значения объема титранта и соответствующие значения рН во всех точках кривой титрования, а также начальный объем титруемого раствора V_0 и концентрацию титранта C_T . Набор значений рК от 1 до 12 с шагом 1 был задан априори. Алгоритм расчета основан на численном решении относительно q_i следующего уравнения:

$$\frac{[H^+] - [OH^-]}{c_0 \cdot V_0} \cdot (V_0 + V_T) + \frac{c_T \cdot V_T}{c_0 \cdot V_0} = \sum_{i=1}^N q_i \cdot \frac{K_i}{K_i + [H^+]} \quad (3.1)$$

Согласно [86], содержание карбоксильных и фенольных групп из рК-спектра определяли, суммируя доли групп с $pK \leq 8$ и $pK > 8$, соответственно.

3.2.2.3. ^{13}C -ЯМР спектроскопия ГФК.

Образцы для регистрации спектров ЯМР ^{13}C готовили растворением навески 100 мг твердого препарата ГФК в 3.5 мл 0.1М NaOH D₂O. Раствор ГФК помещали в 10-мм ЯМР-ампулу. Условия регистрации спектров: рабочая частота 100 МГц, ширина развертки спектра около 26000 Гц, время регистрации сигнала спада свободной индукции (ССИ) 0.6 с, интервал между импульсами (T_d) 4 с, ширина импульса 45°, длительность накопления спектра 8 - 12 часов. В качестве внутреннего стандарта использовали DSS (натриевую соль 3-триметилсилил-1-пропансульфо кислоты). Фурье-преобразование выполнялось с предварительным

экспоненциальным взвешиванием сигнала ССИ с константой времени, эквивалентной уширению линий 20 Гц.

3.2.2.4. Определение молярной массы ГФК

Молекулярные массы ГФК определяли с помощью гель-хроматографии. Пробу ГФК растворяли и элюировали фосфатным буфером. Концентрация ГФК во всех пробах не превышала 5 мг/л. Объем пробы - 2 мл, скорость элюирования - 1 мл/мин. Детектирование проводили по содержанию растворенного органического углерода в элюате. Определение молярных масс проводили по калибровочному графику.

3.2.3. Спектроскопическое исследование взаимодействия ртути-ГФК

¹⁹⁹Hg-ЯМР спектроскопия. Образцы растворов, содержащих совместно ГФК и Hg(II), для регистрации спектров ЯМР ¹⁹⁹Hg готовили следующими способами.

1. Раствор ГФК МТ4 (4 мг/л) упаривали на роторном испарителе на 20%. К 10 мл полученного раствора добавляли 0.1 мл 0.27 М раствора Hg(NO₃)₂, pH которого был предварительно доведен до двух 0.1 М NaOH.

2. Раствор ГФК МТ4 (4 мг/л) доводили до pH 7 0.1 М NaOH. К 20 мл этого раствора добавляли 0.74 мл 0.27 М Hg(NO₃)₂, pH которого был предварительно доведен до 2 0.1 М NaOH. Изменение pH раствора ГФК при добавлении Hg(NO₃)₂ контролировали. Как только он снижался до 6, его вновь доводили до 7 0.1 М NaOH. Полученный раствор упарили в 2.5 раза на роторном испарителе и поместили в 10 мм ЯМР-ампулу.

¹⁹⁹Hg-ЯМР-спектры полученных растворов, содержащих ГФК и Hg(II) записывали при рабочей частоте 71.5 МГц при ширине развертки спектра 4000 Гц в течение 12 часов, время задержки - 0.3 с. В качестве внешнего стандарта использовали 1М р-р HgCl₂ в ДМСО.

3.2.4. Определение Hg(II) в растворах, содержащих ГФК

Определение Hg(II) в присутствии ГФК представляло собой отдельную проблему, решение которой описано в данном разделе.

Наиболее распространенным методом определения низких концентраций Hg(II) является атомно-абсорбционная спектрометрия холодного пара (ААСХП). Соединения Hg(II) восстанавливают до элементарной ртути, концентрацию паров которой определяют по поглощению УФ-света с длиной волны 253.7 нм. Никакие другие летучие формы ртути, кроме элементарной, не поглощают в этой области [172, 173]. В качестве восстановителей обычно используют SnCl₂, реже - NaBH₄ и другие (Табл. 3.4). Однако вышеуказанные реагенты далеко не всегда восстанавливают все формы Hg(II), находящиеся в растворе. Нередко ртутьорганические соединения или прочные комплексы не поддаются восстановлению (Табл. 3.4).

Таблица 3.4

Реагенты для восстановления Hg(II) при определении методом ААСХП

Реагент	Среда	Восстанавливаемые соединения Hg(II)	Лит.
SnCl ₂	1M H ₂ SO ₄	неорганические	[174]
SnCl ₂ + Cu ²⁺	1M NaOH	неорганические и органические	[175]
10% SnCl ₂	8% NaOH	неорганические	[176]
SnCl ₂ + CdCl ₂ 5:1	8% NaOH	неорганические и органические	[176]
N ₂ H ₄	?	неорганические	[177]
NaBH ₄	(pH 10)	неорганические	[178]
NaBH ₄	1 M HCl	?	[179]

Поскольку ГФК способны образовывать с Hg(II) прочные комплексы (разд. 1.4), особое внимание необходимо уделить выбору условий, обеспечивающих полноту определения Hg(II) в присутствии ГФК.

К сожалению, литературных данных, посвященных определению Hg(II) в присутствии ГФК, немного. Так, в работе [119] для Hg(II) в присутствии ГФК восстанавливали в следующих условиях: на 10 мл пробы, содержащей 6-15 об.%

HCl вводили 2.5 мл 10% раствора NaBH_4 , причем наблюдалось полное восстановление Hg(II) . В работе [62] Hg(II) предварительно экстрагировали дитизоном, что сильно повышает трудоемкость метода. Авторы [180] изучали влияние ГФК на определение ртути методом ААСХП при ее восстановлении SnCl_2 . Было установлено, что при pH 3 и исходной концентрации Hg(II) 5 мкг/л ГФК в концентрациях 0.1-10 мг/л почти не влияют на результаты определения при времени хранения пробы до 4 сут. Однако при pH 8 и концентрациях ГФК 10 мг/л уже в течение 4 часов после смешения компонентов обнаруживали только половину от введенной Hg(II) . Для увеличения полноты обнаружения Hg(II) авторы предложили методику пробоподготовки, заключающуюся в предварительном окислении ГФК бромид-броматной смесью. Предложенная методика требует нагревания реакционной смеси с обратным холодильником в течение 5-6 часов. В другой работе [181] предлагается проводить окисление в течение суток без нагревания. И та, и другая методика требуют больших затрат времени и поэтому не могут быть использованы для анализа больших серий образцов.

В свете вышеизложенного для определения Hg(II) в присутствии ГФК в качестве восстановителя был выбран NaBH_4 . Использование этого восстановителя позволяет проводить дальнейшее определение Hg(II) согласно методическим рекомендациям фирмы "Varian" [179].

Определение Hg(II) в растворах по стандартной методике фирмы "Varian" заключается в следующем. Пробу, 0.3% раствор NaBH_4 и 5 М раствор HCl прокачивают через смеситель, после чего пары ртути из реакционной смеси выдувают аргоном и определяют поглощение при 253.7 нм. Скорость прокачивания растворов через смеситель составляет: для пробы - 6 мл/мин, для реагентов - 2 мл/мин.

В связи с необходимостью определения Hg(II) как в присутствии ГФК, так и в среде для биотестирования, нами были проведены соответствующие эксперименты по методу введено-найдено. Помимо указанных, в состав исследованных матриц были включены растворы, содержащие ЭДТА, Br^- , I^- и меркаптоэтанол, обладающие высоким сродством к Hg(II) . Состав

исследованных матриц, данные по формам существования Hg(II) в них, рассчитанные из констант устойчивости соответствующих соединений Hg(II) и результаты определения Hg(II) по методу “введено-найдено” приведены в Табл. 3.5.

Таблица 3.5

Влияние различных матриц на определение Hg(II) методом ААСХП

Состав матрицы	$\frac{[Hg^{2+}]^*}{C(Hg)}$	Введено Hg(II), мкг/л	Найдено Hg(II), мкг/л (P=0.95, N=3)	$\Delta_{отн}, \%$
ГФК Т4, 40 мг/л, рН 2, выдержка 4 часа	?	10.0	10.3±0.4	+3
		20.0	20.3±0.7	+1.5
		30.0	30.8±0.3	+2.6
		40.0	38.8±0.5	-3
		50.0	49.2±0.6	-1.6
ГФК Т4, 40 мг/л, рН 7, выдержка 4 часа	$5 \cdot 10^{-11}^{**}$	10.0	9.2±0.4	-8
		20.0	13.4±0.8	-33
		30.0	22.5±0.6	-25
		40.0	25.4±0.2	-37
		50.0	32.8±0.3	-34
0.5 М KNO ₃ + 0.1 М MgSO ₄ , рН 7 (среда для биотестирования)	$1.5 \cdot 10^{-8}$	10.0	9.7±0.6	-3
		20.0	20.2±0.5	-1
		30.0	28.9±0.4	-3.7
		40.0	40.3±0.3	+1
		50.0	50.0±0.5	0
0.05 М ЭДТА	$5 \cdot 10^{-14}$	10.0	11.0±0.6	+10
		20.0	20.8±0.5	+4
		30.0	28.5±0.8	-5
		40.0	39.3±0.5	-1.8
		50.0	51.0±0.7	+2
0.05 М KBr	$7.3 \cdot 10^{-17}$	10.0	10.8±0.4	+8
		20.0	19.7±0.3	-1.5
		30.0	30.1±0.4	+0.3
		40.0	39.1±0.3	-2
		50.0	49.7±0.4	-0.5
0.05 М KI	$2.1 \cdot 10^{-25}$	10.0	9.1±0.4	-9
		20.0	18.9±0.5	-5
		30.0	27.7±0.4	-9
		40.0	36.6±0.3	-9
		50.0	46.0±0.6	-8
		10.0	5.7±1.2	-43
		20.0	6.8±1.5	-66

5% меркаптоэтанол	?	30.0	7.3±2.9	-76
		40.0	7.5±2.0	-81
		50.0	17.9±1.0	-64

* Рассчитывалось на основании констант устойчивости, приведенных в [28].

** Рассчитывалось на основании констант устойчивости гуматов ртути, определенных в разд. 3.2 настоящей работы.

Из таблицы видно, что при pH 7 присутствие ГФК снижает найденную концентрацию ртути примерно на треть, хотя при pH 2 такого снижения не происходит. Наряду с ГФК, занижение определяемой концентрации Hg(II) вызывает присутствие таких сильных лигандов, как иодиды и меркаптоэтанол. Остальные изученные матрицы не влияли на определение Hg(II) по используемой методике. Особого внимания заслуживает тот факт, что присутствие бромидов и ЭДТА не вызывало занижения результатов определения Hg(II), хотя в условиях эксперимента они обладают гораздо большей комплексообразующей способностью, чем ГФК. По-видимому, недоопределение Hg(II) в присутствии ГФК связано с коагуляцией гуматов в сильной кислоте, в которой проводится восстановление, а не с прочностью гуматов.

Проведенные эксперименты показали, что для получения правильных результатов определения Hg(II) в присутствии ГФК по стандартной методике фирмы “Varian” необходима предварительная пробоподготовка. Для этой цели было предложено персульфатное окисление ГФК.

Для проведения *персульфатного окисления ГФК* 10 мл раствора, содержащего до 100 мг/л ГФК, нагревали в течение двух минут в высокой (для предотвращения испарения) пробирке на кипящей водяной бане. После этого добавляли 100 мг $K_2S_2O_8$ и продолжали нагревание в течение трех минут. Через 3 минуты пробирку извлекали из бани и добавляли 2 капли HNO_3 конц. (для ускорения разложения остатков персульфата). Когда раствор остывал до комнатной температуры, в нем определяли содержание Hg(II) по описанной выше методике.

Результаты испытания разработанной методики определения Hg(II) в присутствии ГФК приведены в Табл. 3.6.

**Проверка правильности определения Hg(II) в присутствии
ГФК методом “введено-найдено”**

Введено Hg(II), мкг/л	Найдено Hg(II), мкг/л (P=0.95, N=3)	$\Delta_{\text{отн}}$, %
10.0	10.1±0.3	+1.3
20.0	20.1±1.0	+0.5
30.0	29.2±0.7	-2.4
40.0	39.3±0.8	-1.6
50.0	50.2±0.7	+0.3

Как видно из таблицы, относительные ошибки определения Hg(II) разработанным методом составляют не более 3%. Следовательно, описанную выше методику пробоподготовки можно использовать для определения Hg(II) в присутствии ГФК.

3.2.5. Исследование образования нерастворимых гуматов ртути(II)

Исследование образования нерастворимых гуматов ртути(II) включало в себя два типа экспериментов: тест-эксперименты по изучению принципиальной возможности образования нерастворимых гуматов ртути; точные эксперименты по количественной характеристике различных стадий образования нерастворимых гуматов ртути.

Тест-эксперименты по получению нерастворимых гуматов. Для тест-экспериментов были использованы концентрированные растворы Т4 и Т7 (0.5 и 1.2 г/л, соответственно; рН 3). К 20 мл каждого раствора добавляли по каплям насыщенный раствор $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (рН 1.5) до тех пор, пока не начиналось визуально наблюдаемое образование осадка. Через 24 часа осадки центрифугировали, несколько раз промывали дистиллированной водой с последующим центрифугированием и сушили над P_2O_5 . Для определения Hg(II) в полученных препаратах их навески (10-20 мг) разлагали в автоклаве смесью персульфата калия (0.3 г) и HNO_3 конц. (1 мл) при 200°C в течение трех часов. Объем полученного раствора доводили до 100 мл, разбавляли в 100 раз 3% HNO_3 и в итоговом растворе определяли Hg(II) методом ААСХП.

Эксперименты по количественной характеристике процессов образования нерастворимых гуматов ртути. Для проведения соответствующих экспериментов готовили 5 серий растворов, содержащих ГФК и Hg(II) при рН 2. Каждая серия состояла из 11-14 растворов. Концентрация ГФК в каждой серии была фиксирована (0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 г/л). Соотношение Hg:ГФК во всех сериях варьировали в диапазоне 0.1-3 ммоль/г. Рабочие растворы готовили разбавлением 0.27 М Hg(NO₃)₂ и концентрированных растворов ГФК Т4 и Т7 0.01 М азотной кислотой. Требуемые объемы рабочих растворов переносили в мерную колбу на 10 мл и разбавляли до метки 0.01 М HNO₃. Через 1 час содержимое мерных колб центрифугировали при 7000 об/мин. В супернатанте определяли содержание Hg(II) методом ААСХП (разд. 3.2.4) и оптическую плотность. По оптической плотности исследуемого раствора определяли концентрацию ГФК с использованием соответствующего калибровочного графика.

3.2.6. Получение и характеристика нерастворимых гуматов ртути (II)

Нерастворимые гуматы ртути для определения содержания РСЦ в ГФК различного происхождения получали взаимодействием растворов ГФК с нитратом ртути (II). Для этого несколько капель насыщенного раствора Hg(NO₃)₂ медленно прибавляли к концентрированному (как правило, 0.5 г/л) раствору ГФК, пока все окрашенное вещество не выпадало в осадок. На 25 мл раствора ГФК требовалось около 0.5 мл раствора Hg(NO₃)₂. Через сутки осадки центрифугировали в течение 5 мин при 7000 об/мин, промывали 2 раза 5% HNO₃ и 2 раза дистиллированной водой и сушили под вакуумом над CaCl₂, а затем над P₂O₅ не менее недели.

Для определения содержания ртути в гумате навеску гумата (ок. 10 мг) разлагали в автоклаве смесью персульфата калия (0.3 г) и HNO₃ конц (1 мл) при 200°C в течение трех часов. Растворы, получившиеся после разложения гумата разбавляли так, чтобы итоговая концентрация Hg(II) не превышала 50 мкг/л, и анализировали на содержание ртути методом ААСХП (см. разд. 3.2.4).

Для оценки ошибки метода определения содержания РСЦ в гуматах, препараты гуматов Т5, Т6, низ, МИ13, МП2, МП9, ЧД, АГК были получены дважды. Для каждого препарата рассчитывали содержание РСЦ в гуматах и соответствующее стандартное отклонение. Последний относили к среднему содержанию РСЦ в том же препарате. Полученную величину относительного стандартного отклонения усредняли. Оно составило 10%. На соответствующих графиках в качестве погрешностей приведена удвоенная величина среднего относительного стандартного отклонения.

3.2.7. Определение констант устойчивости гуматов ртути(II)

3.2.7.1. Обоснование выбора буферного раствора

При определении констант устойчивости гуматов ртути отдельную проблему представляло собой поддержание нейтрального рН растворов, характерного для природных водных сред. В этих целях нельзя использовать большинство стандартных буферных растворов (например, гидродигидрофосфатный буфер), поскольку их компоненты образуют с Hg(II) прочные соединения [47]. Поэтому в качестве буферной среды был выбран углекислотно-гидрокарбонатный буфер, так как именно углекислотно-гидрокарбонатная буферная система определяет рН большинства природных вод, следовательно использование такой буферной среды создает условия, приближенные к природным. Однако данный буферный раствор обладает большим недостатком: из-за выделения CO_2 он способен поддерживать рН, только будучи сильно разбавленным.

Указанный буферный раствор, создавали введением 0.0025М NaHCO_3 и 0.0004 М HNO_3 . Полученный буфер добавляли к исследуемым растворам из расчета 2 мл буфера на 10 мл итогового раствора. Как показали эксперименты, за 4 часа рН исследуемых растворов поднимался не более, чем на 0.3 (с 6.9 до 7.2).

3.2.7.2. Ионообменный метод

Константы устойчивости гуматов ртути ионообменным методом определяли для трех препаратов - Т4, МН4, МТ4.

При определении констант устойчивости гуматов ртути ионообменным методом все растворы содержали 0.01М KCl. Последний вводили для перевода всей Hg(II), не связанной с ГФК, в форму HgCl₂.

Для определения коэффициента распределения Hg(II) между катионитом и раствором в отсутствие ГФК в мерных колбах на 25 мл готовили растворы Hg(NO₃)₂ с концентрацией 100, 200, 600 и 800 нМ. Растворы помещали в стеклянные пузырьки (в ходе предварительных экспериментов было установлено, что в присутствии KCl Hg(II) практически не сорбируется на стекле), к ним добавляли по 200 мг катионита в Na-форме и перемешивали в течение часа. По окончании перемешивания в растворе над катионитом определяли концентрацию Hg(II) и на основании полученных данных рассчитывали коэффициент распределения.

Для определения коэффициента распределения Hg(II) в присутствии ГФК для каждого препарата готовили серию растворов, содержащих 800 нМ Hg(NO₃)₂ и ГФК в концентрациях 2, 5, 10, 15, 25, 40 мг/л. Как и в предыдущем случае, к растворам добавляли 200 мг катионита, перемешивали в течение 1 часа и определяли концентрацию Hg(II) над катионитом.

3.2.7.3. Адсорбционный метод

Для определения констант устойчивости комплексов ртути(II) с ГФК получали изотермы сорбции ртути(II) на полиэтилене в присутствии и в отсутствие ГФК. Концентрации ГФК составляли 2, 10 и 40 мг/л, концентрации Hg(II) - 50, 100, 150, 200 и 250 нМ. Для получения изотерм адсорбции в полиэтиленовые сцинтилляционные пузырьки объемом 20 мл помещали Hg(NO₃)₂ определенной концентрации, раствор ГФК (рН предварительно доводили до 7) и 2 мл 0.0025М углекислотно-гидрокарбонатного буфера. Объем раствора доводили до 10 мл. Пузырьки закрывали и перемешивали содержимое в течение четырех часов. По истечении указанного времени концентрацию ртути в растворе определяли в соответствии с методикой, описанной в разд. 3.2.4.

Количество Hg(II), адсорбировавшейся на стенках, определяли, смывая ее соляной кислотой. Для этого пузырьки заливали 10 мл 0.5 М HCl и перемешивали 3 часа, после чего определяли ртуть в смыве. На основании

полученных данных рассчитывали количество адсорбированной ртути. Полнота обнаружения ртути по результатам двух определений - в растворе и в смыве со стенок - всегда колебалась около 100%. Это говорит как о полном обнаружении ртути в растворе, содержащем ГФК, так и о полной десорбции Hg(II) с полиэтилена под действием 0.5 М HCl. На основании данных по распределению Hg(II) между раствором и стенками сосуда строили изотермы адсорбции.

3.2.8. Получение соединений Hg(II) с модельными органическими кислотами.

Приготовление натриевых солей модельных кислот. Для приготовления натриевых солей модельных кислот к 2 М спиртовому раствору NaOH добавляли спиртовой раствор соответствующей кислоты. Соотношения реагентов (Табл. 3.7) подбирали таким образом, чтобы NaOH находился в небольшом избытке. Выпавший осадок фильтровали, промывали спиртом, затем эфиром и сушили сначала на водоструйном насосе, а затем - над P₂O₅. Выход составлял 90-96% от теоретического (по кислоте).

Таблица 3.7

**Соотношения реагентов для получения натриевых солей
модельных кислот**

Кислота	Масса кислоты, г	Объем спирта для растворения кислоты, мл	Объем 2 М спиртового NaOH, мл
Адипиновая	3.6	40	27
2,4-дигидроксибензойная	3.8	50	14
Фталевая	4.1	50	27
Янтарная	3.0	50	28

Приготовление ртутных солей модельных кислот. Для приготовления ртутных солей модельных кислот к 0.27 М водному раствору Hg(NO₃)₂ (рН которого предварительно доводили до 1.5 раствором NaOH) добавляли водные растворы натриевых солей соответствующих кислот. Соотношения реагентов приведены в Табл. 3.8.

Соотношения реагентов для получения ртутных солей модельных кислот

Кислота	Масса Na соли, г	Объем воды для растворения соли, мл	Объем 0.27 М Hg(NO ₃) ₂ , мл
Адипиновая	2.9	40	20
2,4-дигидроксibenзойная	2.7	40	20
Фталевая	3.2	40	20
Янтарная	2.5	40	20

Выпавшие осадки отфильтровывали, промывали спиртом, затем - эфиром, сушили на водоструйном насосе, затем - над P₂O₅.

3.2.9. Методики альгологического биотестирования

3.2.9.1. Культивирование водоросли

Для проведения альгологического биотестирования использовали культуру зеленой водоросли *Chlorella Pyrenoidosa*.

Культивирование интенсивной культуры хлореллы (термофильный штамм) осуществляли на 20%-ной среде Тамия (Табл. 3.1) в термостатируемых культиваторах емкостью 200 мл, при температуре 35°C, с продувкой увлажненным воздухом, при освещенности 800 лк (люминесцентные лампы типа ЛДЦ-40). Перед тестированием водоросли разращивали в течение двух суток. К концу разращивания плотность клеток составляла около 20 млн. кл./мл.

Интенсивную культуру хлореллы после двухсуточного выращивания освобождали от культуральной среды и концентрировали центрифугированием в течение 3-х минут при 5000 об/мин. Сконцентрированную суспензию водорослей пересеивали в среду для биотестирования.

3.2.9.2. Измерение фотосинтетической активности водоросли

Для оценки состояния водорослей использовали параметры быстрой флуоресценции. В качестве тест-функции использовали относительный выход переменной флуоресценции $R = F_v / F_m$, характеризующий квантовую эффективность первичной фотосинтетической реакции. Величина F_v (переменная флуоресценция) определяется как разность $F_v = F_m - F_0$. При этом величина F_m (максималь-

ная флуоресценция) отражает полное количество поглощенной световой энергии, а величина F_0 (постоянная флуоресценция) - излучательные потери поглощенной световой энергии возбуждения при миграции ее к открытым реакционным центрам и обычно пропорциональна концентрации хлорофилла.

У лабораторной культуры хлореллы в оптимальных условиях F_v/F_m составляла 0.5 - 0.55. При нарушениях этот параметр уменьшается. У мертвых клеток $F_v/F_m=0$.

Для проведения токсикологических экспериментов с Hg(II) в культиваторы помещали 50 мл тест-среды (см. ниже), добавляли водоросль (в таком количестве, чтобы начальная плотность культуры составляла 2 млн. кл./мл. (0.3 мг/л хлорофилла А) и включали продувку увлажненным воздухом. Остальные условия альгологического тестирования (освещенность, температура) были теми же, что и при выращивании культуры. Через 4 часа после добавления водоросли в тест-раствор измеряли выход переменной флуоресценции. Измерение проводили следующим образом. При освещении адаптированных к темноте клеток водорослей синим светом измеряли интенсивность постоянной флуоресценции (F_0). Интенсивность максимальной флуоресценции (F_m) при восстановленном первичном хинонном акцепторе измеряли аналогичным образом в присутствии 10^{-5} М диурона. Относительный выход переменной флуоресценции рассчитывали по формуле

$$R=(F_m-F_0)/F_m \quad (3.2)$$

Как показали измерения R для одной и той же культуры хлореллы, относительная ошибка метода составляет 5%. Если измерения проводить для различных культур, эта величина увеличивается до 10%.

3.2.9.3. Приготовление тест-растворов, содержащих Hg(II)

Установление диапазона токсичности Hg(OH)₂. Готовили бесхлоридную среду для биотестирования - раствор, содержащий 5 мМ KNO₃ и 1 мМ MgSO₄. Его pH довели до 7.2 гидроксидом натрия. После этого в серию из 11 мерных колб на 50 мл помещали 10^{-4} М раствор Hg(NO₃)₂, приготовленный разбавлением 10^{-2} М раствора в среде для биотестирования с последующим доведением pH до 5 гидроксидом натрия. Объемы 10^{-4} М растворов Hg(NO₃)₂

подбирали таким образом, чтобы итоговая концентрация Hg(II) в разных тест-растворах составляла от 1 до 20 мкМ. После добавления Hg(NO₃)₂ в мерные колбы наливали до метки среду для биотестирования и полученные растворы использовали в качестве тест-растворов.

Установление диапазона токсичности HgCl₂. Готовили хлоридную среду для биотестирования - раствор, содержащий 10 мМ KCl, 5 мМ KNO₃ и 1 мМ MgSO₄. Его pH доводили до 7.0 или 6.4 гидрокарбонатом натрия. После этого в серию из 12 мерных колб на 50 мл помещали 10⁻⁴М раствор Hg(NO₃)₂, приготовленный разбавлением 10⁻² М раствора в хлоридной среде для биотестирования с последующим доведением pH до 5 гидроксидом натрия. Объемы 10⁻⁴ М растворов Hg(NO₃)₂ подбирали таким образом, чтобы итоговая концентрация Hg(II) составляла 0.1-6 мкМ. Для приготовления наиболее разбавленных растворов использовали 10⁻⁵М Hg(NO₃)₂. После добавления Hg(NO₃)₂ в мерные колбы растворы доводили до метки хлоридной средой для биотестирования и использовали их в качестве тест-растворов.

Исследование влияния ГФК на фотосинтетическую активность водорослей. В серию мерных колб на 50 мл помещали растворы ГФК с таким расчетом, чтобы концентрации ГФК в тест-растворах составляли 10 и 40 мг/л. Растворы ГФК доводили до 50 мл хлоридной средой для биотестирования и использовали их в качестве тест-растворов. Были исследованы следующие препараты ГФК: Т4, Т6, МТ4, МИ13, МН4, МХ7, МХ11, МХ14, бв1, ДПл(Н), МИ12, АГК.

Исследование влияния ГФК на токсичность Hg(OH)₂. Готовили две серии растворов с различной концентрацией Hg(II) (4 и 16 мМ). Концентрация ГФК в обеих сериях составляла 0, 1, 5 и 20 мг/л. Для приготовления первой серии в четыре мерные колбы на 50 мл помещали по 2 мл раствора Hg(NO₃)₂ 10⁻⁴ М, pH которого доводили до 7.2 гидроксидом натрия, добавляли требуемое количество раствора ГФК 100 мг/л, приготовленного разведением концентрированного раствора ГФК бесхлоридной средой для биотестирования. После этого в каждую мерную колбу наливали бесхлоридную среду для биотестирования, доводя объем раствора до 50 мл и использовали для биотестирования. Вторую серию (16 мМ Hg(II)) готовили аналогично, только вместо 2 мл 2 мл раствора Hg(NO₃)₂ 10⁻⁴ М брали 8 мл.

Исследование влияния ГФК на токсичность HgCl₂. Готовили серию растворов, содержащих 0.8 мМ Hg(II) в хлоридной среде для биотестирования. Концентрации ГФК в серии составляли 5, 10, 15, 25 мг/л. Для приготовления указанной серии в мерные колбы на 50 мл помещали 0.4 или 2 мл раствора Hg(NO₃)₂ 10⁻⁴ М с рН 7.2 и добавляли соответствующий объем раствора ГФК 100 мг/л, приготовленный разведением концентрированного раствора ГФК хлоридной средой для биотестирования. После этого в каждую мерную колбу наливали хлоридную среду для биотестирования, доводя объем раствора до 50 мл. Полученные растворы использовали в качестве тест-растворов.

3.2.9.4. Изучение распределения Hg(II) в тест-системе

Изучение распределения Hg(II) между биомассой водоросли, тест-раствором и стенками культиватора проводили по окончании токсикологического эксперимента.

На первом этапе биомассу водоросли отделяли от тест-раствора. Для этого 20 мл тест-раствора с суспендированной биомассой водорослей центрифугировали в течение 10 мин при 2000 об/мин.

Для определения Hg(II) в супернатанте его предварительно обрабатывали персульфатом по методике, изложенной в разд. 3.2.4. Целью такой обработки было разложить продукты жизнедеятельности водоросли, которые могли бы влиять на определение Hg(II). После обработки персульфатом супернатант разбавляли в 2 раза и определяли в нем концентрацию ртути методом ААСХП (разд. 3.2.4)

Для определения содержания ртути в биомассе водоросли, ее выделяли из 20 мл тест-раствора центрифугированием, после чего 2 раза промывали дистиллированной водой. Биомассу разлагали в автоклаве смесью 2 мл HNO₃ конц. и 0.3 г K₂S₂O₈. в течение трех часов при 200°C смесью 2 мл HNO₃ конц. и 0.3 г K₂S₂O₈. Для определения содержания Hg(II) в расчете на сухую биомассу, водоросли перед разложением сушили в эксикаторе над CaCl₂ в течение 5 дней и взвешивали.

Для определения количества Hg(II), сорбировавшейся на стенках культиваторов, их заливали 100 мл 0.5 М раствора HCl и выдерживали не менее 12 часов. Затем определяли содержание Hg(II) в полученном смыве.

ВЫВОДЫ

1. Изучена реакционная способность ГФК различного происхождения по отношению к Hg(II):

- Предложен подход к оценке реакционной способности ГФК по отношению к Hg(II) путем определения кажущихся констант устойчивости гуматов ртути, выраженных через концентрации ртутьсвязывающих центров в растворах ГФК. Значения lgK для исследованных препаратов лежат в диапазоне 13.5-14.9.
- Разработан метод определения содержания ртутьсвязывающих центров в ГФК путем получения и анализа гуматов Hg(II). Оно составило 0.9-5.9 ммоль/г ГФК.
- Выявлены пути установления химической природы ртутьсвязывающих центров ГФК на основании кажущихся констант устойчивости гуматов ртути. Показано, что связывание Hg(II) осуществляется пирокатехиновыми или салицилатными фрагментами. Обнаружено, что по характеристикам реакционной способности по отношению к Hg(II) ГФК различного происхождения близки между собой.

2. Установлены количественные соотношения между строением и реакционной способностью ГФК по отношению к Hg(II):

- Впервые применен подход Гаммета для расчета средней константы σ , характеризующей эффекты заместителей у ртутьсвязывающего фрагмента ГФК, на основании данных по элементному и фрагментному составу ГФК.
- Установлено, что кажущиеся константы устойчивости гуматов ртути можно рассчитать по уравнению Гаммета с использованием средней константы σ .

3. Изучена детоксицирующая способность ГФК по отношению к Hg(II):

- Количественно оценена детоксицирующая способность ГФК по отношению к HgCl₂. Экспериментально установлено, что по детоксицирующим свойствам ГФК различного происхождения близки между собой.
- Установлено, что в основе механизма детоксицирующего действия ГФК лежит образование нетоксичных гуматов ртути.
- Показана возможность оценки детоксицирующего действия ГФК по отношению к HgCl₂ на основании данных по кажущимся константам устойчивости гуматов ртути и содержанию ртутьсвязывающих центров в ГФК.

Благодарности

Автор выражает благодарность:

- Сотрудникам кафедры биофизики Биологического факультета МГУ д.х.н. Маторину Д.Н., к.х.н. Вавилину Д.В. и д.х.н. Венедиктову П.С., оказавшим помощь в организации токсикологических экспериментов.
- Сотруднику кафедры органической химии Химического факультета МГУ, к.х.н. Борзову М.В, оказавшему помощь в организации ИК-спектроскопических исследований.
- Директору музея-памятника жертвам интервенции (о. Мудьюг) Семьину А.А., любезно предоставившему базу для выделения препаратов ГФК.

А также организациям, оказавшим финансовую поддержку при выполнении данного исследования:

- Международному научному фонду (фонд Сороса) (гранты № NBN000 и NBN300)
- Фонду Роберта Хавеманна
- Российскому фонду фундаментальных исследований (грант № 96-04-43838)

Список цитируемой литературы

1. Кононова М. М. Органическое вещество почвы. М: Изд-во МГУ, 1963.
2. Орлов Д. С. Химия почв. М., Изд-во МГУ, 1992.
3. Орлов Д. С. Свойства и функции гуминовых веществ. В сб.: Гуминовые вещества в биосфере. М.: Наука, 1993, с.16-27.
4. Rashid M.A. Geochemistry of marine humic compounds. Springer-Verlag, Oxford, 1985, 243 p.
5. Линник П. Н., Набиванец Б. И. Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. Л.: Гидрометеоздат, 1986, 268 с.
6. Лапин И.А., Красюков В.Н. // Водн. рес., 1991, №3, с. 195-199.
7. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. М.: МГУ, 1992.
8. Humic substances and their role in the environment. John Wiley & Sons 1988. p. 133-148.
9. Bollag J.-M., Mayers K.//Sci. Total Environ., 1992, v. 117/118, p. 357-366.
10. Schnitzer M., Khan S.U. Humic substances in the environment. N.Y., Marcel Decker, 1972, p. 12-17.
11. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв. М.: Изд-во МГУ, 1974.
12. Ziechmann W.//Huminstoffen. Problemen, Methoden, Ergebnisst. Weinheim: Verlag Chemie, 1980, 480 p.
13. Stevenson F.J.//Geochemistry of Soil Humic Substances. In: Humic substances in soil, sediment and water. Aiken G.R., McKnight D.M., Wershaw R.L., MacCarthy P. (Eds.), N.Y., John Wiley & Sons, 1985, p.13-52.
14. Rice J.A., MacCarthy P. // Org. geochem., 1991, v. 17, No5, p. 635-648.
15. Huraide M. // Anal. Sci., 1992, v.8, p.453-459.
16. Clapp C.E., Emerson W.W., Olness A.E. // Humic substances II. In search of structure. Ed. by Hayes M.H.B., McCartney P., Malcolm R.L., Swift R.S. J. Wiley & sons, 1986
17. Liao W., Christman R., Johnson J.D., Millington D.S.//Environ. Sci. Technol., 1982, v. 16, No.7, p. 403-410.

18. Stevenson F.J. Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. N.Y., Wiley Interscience, 1982, p. 221-237.
19. Жоробекова Ш.Ж. Макролигандные свойства гуминовых кислот. Фрунзе: "Илим", 1987.
20. Kleinhempel D. // Albrecht-Thaer-Archiv. 1970. Bd. 14. H. 1. S. 3-14.
21. Мистерски В., Логинов В. // Почвоведение, 1959, №2, С. 39-51.
22. Stevenson F.J., Xin-Tao Xe. // Humic Substances: Soil and Crop Sciences: Selected readings. ASA&SSCA, Madison, 1990. p. 91-109.
23. Lowe L.E. // Sci. Total. Environ, 1992, v. 113, p.133-145.
24. Freney J.R., Melville J.E. // Soil. Sci., 1970, v. 109, p.310.
25. Bloom P.R., Bleam W.F. // Humic substances in transport processes. Workshop, symposium and posters. SSSA, IHSS, ASA, Anaheim, 1997, p. 8.
26. Senesi N. // Anal. Chim. Acta, 1990, v. 232, p. 51-75.
27. Химия нефти. Руководство к лабораторным занятиям. М.: "Химия", 1979.
28. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. М.: "Химия", 1989.
29. Макарова А.Г., Несмеянов А.Н. Методы элементоорганической химии. Ртуть. М.: Наука, 1960.
30. Реми Г. Курс неорганической химии. Т.2. М.: Мир, 1966.
31. Mason R.P., Reinfelder J.R., Morel F.M.M. // Environ. Sci. Technol., 1996, v.30, p. 1835-1845.
32. Марч, Дж. Органическая химия. т.1. М.: "Мир", 1987.
33. Цуканова В.М., Тихомолова К.П. // Колл. Ж., 1996, том 58, №5, с. 705-712.
34. Heiden R.W., Aikens D.A. // Anal. Chem., 1983, v.55, p.2327-2332.
35. Мартин Р. Бионеорганическая химия токсичных ионов металлов.// В: Некоторые вопросы токсичности ионов металлов. Зигель А., Зигель Х. (ред.). М.: Мир, 1993, С. 149-174.
36. Rabanstein D.L., Isab A.A., Reid R.S.// Biochim. Biophys. Acta, 1982, v. 721, p.374-378.
37. Некрасов Б.В. Курс общей химии. М.-Л.: ГХИ, 1952.
38. Bedia E. F. // Polyhedron, 1990, v.9, No13, p. 1537-1539.
39. Corwin A.H., Naylor M.A. // J. Amer. Chem. Soc., 1947, v. 69, p. 1004-1009.
40. Winstein S., Traylor T.G.// J. Amer. Chem. Soc., 1955, v. 77, p. 3747-3752.

41. Dessy R.E., Reynolds G.F., Kim J-Y. // J. Amer. Chem. Soc., 1959, v. 81, p. 2683-2688.
42. Брауэр Г. Руководство по неорганическому синтезу, т. 4. М.: Мир, 1985.
43. Лисовая Л.И., Утеренко А.Н. // Ж. Неорг. Химии, 1973, т. 18, № 4, С. 961-964.
44. Gmelin Handbuch der anorganischen Chemie. Quecksilber. Teil B. Lieferung 3. Weinheim: Verlag Chemie, 1969.
45. Gmelin Handbuch der anorganischen Chemie. Quecksilber. Teil B. Lieferung 4. Weinheim: Verlag Chemie, 1969.
46. Whitmore F.C., Carnahan F.L. // J. Amer. Chem. Soc., 1929, v. 51, No. 3, p. 856-862.
47. Stability constant data base, IUPAC, 1996.
48. Prabhankara R.R., Swamy R.Y. Ind. J. Chem., 1985, Sec. A, v.24, No7, p. 622-623.
49. Кумок В.Н. Закономерности в устойчивости координационных соединений в растворах. Томск: Изд. Томского Ун-та, 1977.
50. Яцимирский К.Б., Крисс Е.Е., Гвяздовская В.Л. Константы устойчивости комплексов металлов с биолигандами. Киев: "Наукова Думка", 1979.
51. Яцимирский К.Б., Васильев В.П. Константы нестойкости комплексных соединений. М.: Изд. АН СССР, 1959.
52. Marinsky J.A., Wolf A., Bunzl K. // Talanta, 1980, v. 27, p. 461-468.
53. Ashley J.T.F. // Chemosphere, 1996, v. 33, No. 11, p. 2175-2187.
54. Орлов Д.С., Садовникова Л.К., Саврова А.Л. // Докл. РАН, сер. "Геохимия", 1995, т. 345, No.4, С. 1-3.
55. Savant A., Pandey G.S. // J. Inst. Chemists (India), 1995, v. 67, No.1, p. 16-17.
56. Rashid M.A. // Chemical Geology, 1974, v. 13, p. 115-123.
57. Schmitt P., Kettrup A., Freitag D., Garrison A.W. // Fresenius J. Anal. Chem., 1996, v. 354, p. 915-920.
58. Онуфриенок И.П., Солодовникова Р.С. // Труды Томск. Ун-та, 1961, Т. 170, С. 163-169.
59. Гончарова Т.О., Кужекова Н.И., Титькова Е.Н., Капоин В.Т. // Гидрохимические Материалы, Т. 48, С. 103-111.

60. Wit J.C.M.. Proton and metal ion binding to humic substances. // Doctoral thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands.
61. Benedetti M.F., Riemsdijk W.H., Koopal Luuk K., Kinniburgh D.G., Gooddy D.C., Milne C.J. // *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1996, v. 60, No. 14, p. 2503-2513.
62. Mantoura R.F.S., Dickson A., Riley J.P. // *Est. Coast. Mar. Sci.*, 1978, v. 6, p. 387-408.
63. Schnitzer M., Hansen E.H. // *Soil Sci.*, 1970, v. 109, No.6, p. 333-340.
64. Bresnahan W.T., Grant C.L., Weber J.H. // *Anal. Chem.*, 1978, v. 50, No12, p. 1675-1679.
65. Махарадзе Г.А., Варшал Г.М., Супаташвили Г.Д. // *Сообщ. АН Груз. ССР*, 1982, Т.106, №3, с. 517-520.
66. Gamble D.S., Schnitzer M., Hoffman I. // *Can. J. Chem.*, 1970, v.48, p.3197-3204.
67. Pinheiro J.P., Mota A.M., Simoes Goncalves M.L. // *Anal. Chim. Acta*, 1994, v. 284, p. 525-537.
68. Guy R.D., Chackrabarti C.L. // *Can. J. Chem.*, 1976, v. 54, p. 2600-2611.
69. Ricart M., Villaescusa I., Torre F. // *React. Funct. Polym.*, 1996, v. 28, p. 159-165.
70. Yin Yu., Allen H.A., Huang C.P., Sanders P.F. // *Anal. Chim. Acta*, 1997, v. 341, p. 73-82.
71. Berg C.M.G., Kramer J.R. // *Anal. Chim. Acta*, 1979, v. 106, p. 113-120.
72. Perminova I.V., Frimmel F.H., Kovalevskii D.V., Abbt-Braun G., Kudryavtsev A.V., Hesse S. // *Wat.Res.*, 1998, v. 32, No. 3, p.872-881.
73. Едигарова И.А., Красюков В.Н., Лапин И.А., Никаноров А.М. // *Водн. Рес.*, 1989, №4, С. 122-129.
74. Pandeya S.B. // *Geoderma*, 1993, v. 58, p.219-231.
75. Tan K.H., Leonard R.A., Bertrand A.R., Wilkinson S.R. // *Soil. Sci. Amer. Proc.*, 1971, v. 35, p. 265-269.
76. Ryan D.K., Weber J.H. // *Environ. Sci. Tech.*, 1982, v. 16, p. 866-872.
77. Truitt R.E., Weber J.H. // *Anal.Chem.*, 1981, v. 53, p. 337-342.
78. Tao Sh. // *Sci. Total Environ.*, 1992, p. 139-144.
79. MacCartney P., Mark H.B. // *Soil Soc. Am. J.*, 1976, v. 40, p. 275.

80. Ephraim J.H., Marinsky J.A. // *Anal. Chim. Acta*, 1990, v. 232, p.171-180.
81. MacCarthy P., Mark Jr., H. B. In: *The biological implication of metals in the environment. Proc. 15th Annual Life Sciences Symp.*, Hanford, Washington, Sept. Oct. 1975, (publ. 1976), p. 197-212.
82. Schubert J., Richter J. W. // *J. Amer. Chem. Soc.*, 1948, v. 70, p. 4259-4268.
83. Schubert J., Russel E. R., Myers L. S. // *J. Biol. Chem.*, 1950, v. 185, p. 387-398.
84. Schubert J. // *J. Phys. Chem.*, 1952, v. 56, p. 113-118.
85. Bachwith R. S. // *Nature*, 1959, v. 184, p. 745
86. Данченко Н.Н. Функциональный состав гумусовых кислот: определение и взаимосвязь с реакционной способностью. // *Дисс... канд. хим. наук.*, Москва, 1997.
87. Saar R. A., Weber J. H. // *Can. J. Chem.*, 1979, v. 57, No. 11, p1263-1268.
88. Gamble D. S., Schnitzer M. // *Trace metals and metal organic interaction in natural waters. Ch. 9.* 1973, p. 265-302.
89. Marinsky J.A., Ephraim J. // *Environ. Sci. Technol.*, 1986, v. 20, p. 349-354.
90. Masini J.C. // *Anal. Chim. Acta*, 1993, v. 283, p. 803-810.
91. Takamutsu T., Yoshida T. // *Soil Sci.*, 1978, v. 125, No. 6, p. 377-386
92. Schnitzer M., Skinner S. I. M. // *Soil Sci.*, 1966, v. 102, No. 6, p. 361-365.
93. Dzombak D. A., Fish W., Morrel F. M. M. // *Environ. Sci. Technol.*, 1986, v. 20, No. 7, p. 676-683.
94. Scatchard G., Coleman J. S., Shen A. L. // *J. Amer. Chem. Soc.*, 1957, v. 79, p. 12-23.
95. Hirata Sh. // *Talanta*, 1981, v. 28, p. 809-815.
96. Giesy J. P., Alberts J. J., Ewans D. W. // *Environ. Toxicol. Chem.*, 1986, v. 5, p. 139-154.
97. Weber J. Binding and transport of metals by humic materials. In: *Humic substances and their role in the environment.* Frimmel F. H., Christman R. F. (Eds.) John Wiley & Sons. N. Y., 1988, p. 165-178.
98. McKnight D., Feder G.L., Thurman E.M., Wershaw R.L. Westall J.C. // *Sci. Total Environ*, 1983, v. 28, p. 65-76.
99. Dzombak D. A., Fish W., Morrel F. M. M. // *Environ. Sci. Technol.*, 1986, v. 20, No. 7, p. 669-685.

100. Fitch A., Stevenson F. J. // *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 1984, v. 48, p. 1044-1050.
101. Klotz I. M. // *Science*, 1982, v. 217, p. 1247-1249.
102. Gamble D.S., Langford C.H. // *Environ. Sci. Technol.*, 1988, v. 22, p. 1325-1336.
103. Lamy I., Cromer M., Scharff J. P. // *Anal. Chim. Acta*, 1988, v. 212, p. 105-122.
104. Gamble D. S., Langford C. H. // *Environ. Sci. Technol.*, 1988, v. 22, No. 11, p. 1325-1336.
105. Filella M., Buffle J., Van Leeuwen H. P. // *Anal. Chim. Acta*, 1990, v. 232, p. 209-223.
106. Buffle J., Altmann R. S., Filella M. // *Anal. Chim. Acta*, 1990, v. 232, p. 225-237.
107. Susetyo W., Carreira L. A., Azarraga L. V., Grimm D. M. // *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1991, v. 339, No. 9, p. 624-635.
108. Manunza B., Deiana S., Maddau V., Gessa C., Seeber R. // *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 1995, v. 59, No. 6, p. 1570-1574.
109. Buffle J., Altmann R. S., Filella M. // *Anal. Chim. Acta*, 1990, v.232, p. 225-237.
110. Filella M., Buffle J., Van Leeuwen H.P. // *Anal. Chim. Acta*, 1990, v.232, p. 209-223.
111. Van Den Berg C. M. G., Nimmo M., Daly P., Turner D. R. // *Anal. Chim. Acta*, 1990, v. 232, p. 149-159.
112. Kupsch, H., Franke K., Degering D., Troger W., Butz T. // *Radiochim. Anal. Acta*. 1996, v. 73, p. 145-147.
113. Piotrowicz S.R., Harvey J.R., Boran D.A., Weisel C.P., Springer-Young M. // *Mar. Chem.*, 1984, v. 14, p. 333-346.
114. Gregor J.E., Powell H.K.J., Town R.M. // *Sci. Total. Environ.*, 1981, v. 81/82, p. 597-606.
115. Marinsky .A., Reddy M.M., Ephraim J.H., Mathuthu A.S. // *Anal. Chim. Acta*, 1995, v. 302, p. 309-322.
116. Pang S., Zhao K. // *Huanjing Huaxue*, 1983, v.2, No.1, p. 49; цит. по Ch. Ab. 99:58482u.
117. Зырин Н.Г., Обуховская Т.Д. // *Агрохимия*, 1980, No.7, p. 126-138.
118. Strohal P., Huljev D. // *Nuclear Technics in Environmental Pollution. Proc. Symp.*, Salzburg, Oct. 26-30, 1970; Vienna, IAEA, 1970, p. 439-446.

119. Варшал Г.М., Буачидзе Н.С. // Ж. Аналит. Химии, 1983, т. 38, №12, С. 2155-2167.
120. Камман А. Работа с ион-селективными электродами. М.: Мир, 1980.
121. Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник. Л.: "Химия", 1977.
122. Skogerboe R.K., Wilson S.A. // Anal. Chem., 1981, v. 53, p. 228-232.
123. Allard B., Arsenie I. // Water, Air and Soil Pollut., 1991 v. 56, p. 457-464.
124. Matthiessen A. // Fresenius J. Anal. Chem., 1996, v. 354, p.747-749.
125. Критерии санитарно-гигиенического состояния окружающей среды. Вып. 1. Ртуть. Женева, ВОЗ, 1979.
126. Прокофьев А.К. // Успехи химии, 1981, т. 50, No 1 , С. 54-77.
127. Прокофьев А.К. // Успехи химии, 1983, т. 52, No 3, С 483-511.
128. Ртуть в реках и водоемах. Всес. симпозиум, 9-11 окт. 1990, г.Новосибирск. Сб. тез. Новосибирск, 1990.
129. Mercury pollution. Integration and synthesys. Ed. by Watras J.C., Huckabee J.W. Lewis Publishers, 1994.
130. Левина Э.Н. Общая токсикология металлов. Л.:Химия, 1972.
131. Вредные химические вещества. Неорганические соединения элементов I-IV групп. Справочник. Л.: "Химия", 1988.
132. Ершов Ю.А., Плетенева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. М.: Медицина, 1989.
133. Физиология растительных организмов и роль металлов. М.:МГУ, 1989.
134. Kosakowska A., Falkowsky L., Lewandowska J. // Bull. environ. contamin. toxicol., 1988, v. 40, p. 532-538.
135. Xue H.-B., Stumm W., Sigg L. // Wat. Res., 1988, v. 22, No. 7, p. 917-926.
136. Khummongkol D., Canterford G.S., Fryer C. // Biotech. Bioeng., 1982, v. 24, p. 2643-2660.
137. Осокина О.Б. Гапочка Л.Д., Дрожжина Т.С. // Вестн. МГУ, сер. 16, 1986, №4, С. 52-57.
138. Samson G., Popovic R. // J. Photochem. Photobiol., B: Biol., 1990, v. 5, p. 303.
139. Патин С. А. Влияние загрязнений на биологические ресурсы и продуктивность мирового океана. М.: "Пищевая промышленность", 1979.

140. Canterford G.S., Canterford D.R. // *J. Mar. Biol. Ass. U. K.*, 1980, v. 60, p. 227-242.
141. De Filippis L.F., Hampp R., Ziegler H. // *Z. pflanzenphysiol.*, 1981, vol. 103, No 1, p. 1.
142. De Filippis L.F., Hampp R., Ziegler H. // *Acta Microbiol.*, 1981, vol. 128, p. 407.
143. Mora B., Fabergas J. // *Can. J. Microbiol.* 1980, vol.23, p.930.
144. Rosko J.J., Rachlin J.W. // *Bull. Torr. Bot. Club*, 1977, v. 104, No. 3, p. 226-233.
145. Полынов В.А. Разработка и применение флуоресцентных методов биотестирования токсичности природных и сточных вод. // Дисс... канд. биол. наук, М.:1992.
146. Саакян Д.Л. Изучение структуры и динамики популяции водоросли *Chlorella vulgaris* по состоянию фотосинтетического аппарата одиночных клеток.// Дисс ... канд.биол.наук, М., 1987.
147. Rai L.C., Gaur J.P., Kumar H.D. // *Environ. Res.*, 1981, v. 25, p. 250-259.
148. Winner R.W. // *Aquat. Toxicol.*, 1984, v. 5, p. 267-274.
149. Vymazal J. // *Hydrobiol.*, 1984, v. 119, p. 171-179.
150. Gjessing E.T. // *Arch. Hydrobiol.*, 1981, v. 91, No. 2, p. 144-149.
151. Winner R.W. // *Water Res.*, 1985, v. 19, No. 4, p. 449-455.
152. Buchwalter D.B., Linder G., Curtis L.R. // *Environ. Toxicol. Chem.*, 1996, v. 15, No. 4, p. 568-573.
153. Pommery J., Imbenotte M., Erb F. // *Environ. Pollut. (Ser. B)*, 1985, v. 9, p. 127-136.
154. Mannio J., Verta, M., Kortelainen P., Rekolainen S. // *Publ. Wat. Res. Inst. Nat. Board Waters, Finland.* 1986, v. 65, p. 32-43.
155. Степанова И.К., Комов В.Т. // *Экология*, 1996, №3, С. 198-202.
156. Simonin S.A., Gloss S.P., Driscoll C.T., Shofield C.L., Kretser W.A., Karcher R.W., Symila J. // *Mercury pollution. Integration and synthesys.* Ed. by Watras J.C., Huckabee J.W. Lewis Publishers, 1994, p. 457-472.
157. Nilsson A., Hakanson L. // *Hydrobiol.*, 1992, v. 235/236, p. 675-683.
158. Oikari A., Kukkonen J., Virtonen V. // *Sci. Total Environ*, 1992, No. 117-118, p.367-377.

159. Oh Y. K et al. // *Nippon suiscinukkaishi*, 1986, vol 52, No9, p.1653; цит. по *Ch.Ab.*, 105:220407.
160. Ramamoorthy S., Blumhagen K. // *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1984, v. 41, p. 750-756.
161. Варшал Г.М., Велюханова Т.К., Сироткина И.С., Ярцева Р.Д. // *Гидрохимические материалы*, 1973, т. 59, С. 143.
162. Полинский А.С., Пшежецкий В.С., Кабанов В.А. // *Докл. АН СССР, сер. физ. химия*, 1981, Т. 256, С. 139-131.
163. Гришин Ю.К. Ядерный магнитный резонанс ртути-199. Природа магнитных параметров и применения в исследовании структуры и динамики ртутьорганических соединений. Дисс. докт. хим. наук. М., 1992.
164. *Methoden der organischen Chemie. Bd. 13/2b.* Stuttgart: Georgthieme, 1974.
165. Гордон А., Форд Р. *Спутник химика.* М.:Мир, 1976.
166. Vratny F., Hill M. N. J., Rao C.N.R. // *Anal. Chem.*, 1961, v. 33, No 10, p. 1455.
167. Лисовая Л.Н., Ушеренко Л.Н., Скорик Н.А., Кумок В.Н. // *Журн. неорг. химии*, 1973, т. 18, №4, С. 961-964.
168. Балятинская Л.Н. // *Успехи химии*, 1979, Т. 48, №4, С.772-791.
169. Гаммет Л. *Основы физической органической химии.* М.:Мир, 1972.
170. *Справочник помощника санитарного врача и помощника эпидемиолога.* М.: Медицина, 1990.
171. Buffle J., Altmann R.S. // *Geochem. Cosmochim. Acta*, 1988, v. 52, p. 1505-1508.
172. Гладышев В.П., Левицкая С.М., Филиппова Л.М. *Аналитическая химия ртути.* М.: "Наука", 1974.
173. *Критерии санитарно-гигиенического состояния окружающей среды. Вып. 1. Ртуть.* ВОЗ, Женева, 1979.
174. Kunert A., Kowarek S., Sommer A. // *Anal. Chim. Acta*, 1979, vol.106, No2, p.285.
175. Imedzaki I., Ivamoto K. // *Bunseki Kagaku*, 1971, vol.20, No 2, p.173; *РЖХим*, 1971, реф. № 21Г191.
176. Colom-Altes M.A., Obiols J., Peiro L. // 1985, No.5, p. 449-453.
177. Westoo C. // *Acta Chim. Scand.*, 1968, vol.22, p.2277.

178. Oda C.E., Jngle J.D. // *Anal. Chem.*, 1981, vol.53, p.2305
179. Evans S.J., Jonson M.S., Leah R.T. // *Varian instruments at work*, 1986, No. 60.
180. Безлуцкая И.В., Красюков В.Н., Новоселова М.М., Шилова Л.П. // *Химия и технология воды*, 1991, т. 13, No.9, С. 843-847.
181. Мотузова Г.В., Гаврилова Е.Г. // *Физические и химические методы анализа почв* (ред. А.Д. Воронин и Д.С. Орлов). М.: МГУ, 1994, С. 142-151.

Приложения

Приложение А.

Способы нахождения $C(\text{МСЦ})$ и $K(\text{МСЦ})$ путем минимизации отклонений экспериментальной и аналитической зависимости между компонентами системы (1.14)-(1.16)

Зависимость	Аналитическое выражение (решение системы (1.14)-(1.16))	Лит- ра
[M]/[M·МСЦ]* от [M] при $C(\text{МСЦ})=\text{const}^{**}$	$\frac{[M]}{[M \cdot \text{МСЦ}]} = \frac{1}{K(\text{МСЦ}) \cdot C(\text{МСЦ})} + \frac{[M]}{C(\text{МСЦ})}$	[71]
[M] от C(M) при $C(\text{МСЦ})=\text{const}$	$[M] = \left(\frac{1}{2} \cdot C(M) - C(\text{МСЦ}) + \sqrt{\left(C(\text{МСЦ}) - C(M) + \frac{1}{K(\text{МСЦ})} \right)^2 + \frac{4C(M)}{K(\text{МСЦ})}} \right)$	[97]
[M·МСЦ] от C(M) при $C(\text{МСЦ})=\text{const}$	$[M \cdot \text{МСЦ}] = \frac{1}{2} \cdot \left((C(M) + C(\text{МСЦ}) + \frac{1}{K(\text{МСЦ})}) + \sqrt{\left(C(\text{МСЦ}) + C(M) + \frac{1}{K(\text{МСЦ})} \right)^2 - 4 \cdot C(M) \cdot C(\text{МСЦ})} \right)$	[76]

* [M·МСЦ] обычно определяют как концентрацию металла, связанного с ГФК

** подразумевается постоянная концентрация ГФК

Приложение Б

Методы определения констант устойчивости комплексов гумусовых кислот с металлами

В системе металл-ГФК современные аналитические методы позволяют напрямую определять либо концентрацию свободного иона [M], либо концентрацию связанного металла [ML], либо их отношение. Напрямую определять равновесные концентрации ГФК или МСЦ затруднено по причинам, изложенным в разд. 1.3.2. Нередко ее задают постоянной, проводя эксперименты в большом избытке ГФК.

Методы, которые наиболее часто использовались для определения констант устойчивости комплексов гумусовых кислот с металлами, описаны ниже.

Методы, позволяющие найти [M]

Потенциометрия [64, 68, 70] Этот метод позволяет найти равновесную концентрацию свободного иона металла. В силу высокой точности [120] он используется достаточно часто. Полученные данные обрабатывают по Гауссу [70], Скетчарду [64, 68] либо иным другим образом. Обработка результатов, полученных потенциометрическим методом, позволяют рассчитывать распределение центров связывания по силе. Кроме того, потенциометрия позволяет устанавливать роль тех или иных функциональных групп ГФК в связывании металла при помощи метода изомолярных серий [66]. К недостаткам метода можно отнести сорбцию ГФК на электроде [97].

Диализ (ультрафильтрация) [80, 97]. Метод основан на разделении свободной и связанной формы металла на мембранном фильтре. Если с одной стороны мембранного фильтра поместить раствор, содержащий металл и лиганд, а с другой - только ион металла, то между двумя растворами установится равновесие, причем концентрации свободного иона металла по обе стороны фильтра будут равны. Определяя общую концентрацию металла в растворе без лиганда находят [M]. К недостаткам этого метода можно отнести медленное установление равновесия между растворами по разные стороны от фильтра и возможную сорбцию ГФК на фильтре [97].

Поляррографический [97]. Метод, как и потенциометрический, позволяет определять свободную концентрацию $[M]$. Однако по сравнению с потенциометрическим он обладает рядом недостатков. Они обусловлены, во-первых сорбцией ГФК на ртутном катоде и во-вторых, кинетическими токами. Оба этих фактора способствуют искажению результатов. Так, по данным работы [74], определяемое этим методом содержание металл-связывающих центров в ГФК уменьшается в два раза при увеличении концентрации ГФК с 10 до 40 мг/л, что не имеет никакого разумного объяснения.

Методы, позволяющие найти $[ML_n]/[M]$.

Ионный обмен [71, 182, 183, 184]. Основан на том, что ГФК, связывая ионы металла в комплекс препятствуют их сорбции на катионите. Чтобы исключить изменение pH катионит обычно используют в Na-форме. Вместо ионообменных смол можно использовать другие вещества, обладающие ионообменными свойствами.

На основании данных по отношению коэффициентов распределения в присутствие и отсутствие ГФК находят $[ML_n]/[M]$ и обрабатывают полученные данные в соответствие с одноцентровой моделью в предположении о стехиометрии 1:1 [71] или 1:n [182, 183, 184]:

$$\frac{[ML_n]}{[M]} = \left(\frac{\lambda_0}{\lambda} - 1 \right),$$

где λ_0 - коэффициент распределения в отсутствие лиганда, λ - то же в присутствии лиганда.

Будучи простым в исполнении, этот метод используется, пожалуй, наиболее часто [5]. К сожалению, метод имеет ряд недостатков. Так, было замечено, что ГФК и ее комплексы с металлами способны сами сорбироваться на ионообменных смолах [185]. Кроме того, при исследовании взаимодействия ртути с полистиролсульфоновыми ионообменными смолами было обнаружено необратимое связывание ртути с ними, которое авторы отнесли за счет меркурирования ароматических колец ионообменной смолы [186]. Авторы этой работы установили, что для изучения равновесий с участием ионообменной

смолы, эксперименты нужно проводить при температурах не выше 25°C в течение не более, 6 часов.

Гель-фильтрация. Метод основан на разной скорости прохождения свободного иона металла и его комплекса с ГФК через гкль-фильтрационную колонку. Для ГФК он был разработан [187] и в настоящее время применяется довольно широко [5]. Для определения константы устойчивости этим методом в колонку с гелем промывают раствором иона металла в определенной концентрации до тех пор, пока концентрация металла на выходе не станет равна таковой на входе. После этого в колонку вводят раствор ГФК и элюируют раствором металла в той же концентрации, что была до введения ГФК. Концентрацию металла на выходе контролируют. Типичная зависимость концентрации металла от времени выхода приведена на Рис. I.

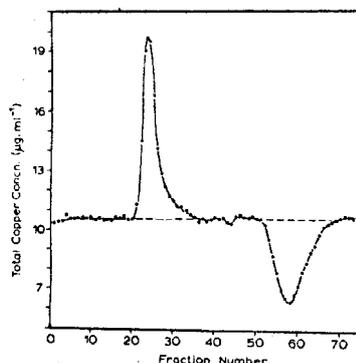
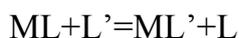


Рис. I. Типичная гель-хроматограмма системы медь-ГФК [187].

На гель-хроматограмме можно наблюдать пик концентрации металла, соответствующий количеству металла, связавшегося с ГФК и провал, соответствующий количеству металла, извлеченного ГФК из элюента. В идеале их площади должны быть равны. Отношение концентрации металла в пике к фоновой концентрации и есть $[ML]/[M]$.

Часто измерения проводят в различных буферных средах (в частности, трис-этаноламине [62]), компоненты которых способны сами образовывать комплексы с металлами. Иногда, особенно в случае легко гидролизующихся катионов металлов в систему целенаправленно вводят низкомолекулярный лиганд, который образует с металлом более прочные комплексы, чем гидроксид-ионы. Так, в [74] этот подход для определения констант устойчивости

комплексов ГФК с Fe^{3+} , в систему вводили ЭДТА. В этом случае в растворе устанавливается равновесие



и методом гель-фильтрации определяется отношение $[\text{ML}'] / [\text{ML}]$.

Метод растворимости [65]. Основан на том, что ГФК повышает концентрацию металла в растворе над малорастворимым соединением за счет связывания металла в комплекс. Концентрация металла над малорастворимым соединением без ГФК соответствует $[\text{M}]$, в присутствии ГФК - $[\text{ML}] + [\text{M}]$.

Приложение В.

Имеющиеся данные по составу различных сред для биотестирования

Среда Гольдберга: среда, имитирующая морскую воду.

Среда Гаррисона: среда, имитирующая морскую воду.

Среда Зарукка: среда, имитирующая морскую воду.

Среда Кратца — Майерса: имитирует пресную воду, pH 7.8.

Среда Тамия: 5 мкМ KNO_3 , 1 мкМ MgSO_4 , pH 6.8

Среда Шребера: Морская вода, содержащая $9.8 \cdot 10^{-3} \text{M Ca}^{2+}$, $5.4 \cdot 10^{-2} \text{Mg}^{2+}$, $1.1 \cdot 10^{-6} \text{Fe}^{2+}$, $1.3 \cdot 10^{-7} \text{Mn}^{2+}$, 0.53M Cl^- , $3.2 \cdot 10^{-5} \text{M PO}_4^{3-}$.

Приложение Г.

Содержание неорганических элементов в растворах препаратов ГФК

	Cu	K	Ca	Mg	Al	Si	Fe	Zn	Mn	B	Ti	Sr	V											
T4	0.52	0.02	25.9	1.8	28.8	0.6	3.9	0.1	6.6	0.3	23.9	0.5	4.8	0.1	3.4	0.5	0.3	0.01	0.61	0.03				
T5	0.04	5E-04	1.5	0.1	6.4	0.01	1	0.01	0.78	0.02	5.1	0.02	0.9	0.02	0.24	0.02	0.11	0.01						
T6	0.13	0.01	6.8	0.3	20.3	0.07	3.3	0.01	2.8	0.01	14.6	0.04	1.3	0.01	0.6	0.02	0.14	0.01	0.73	0.06				
верх	0.18	0.01	6.5	0.02	28.4	0.08	1.8	0.1	2.51	0.03	18.4	0.4	1.17	0.07	0.71	0.02	0.36	0.02						
низ	0.18	0.01	7.6	0.6	8.04	0.07	1.09	0.01	1.7	0.2	7.3	0.3	3.3	0.1	0.56	0.02	0.22	0.02						
MT4	0.09	0.006	3.3	0.04	0.56	0.05	0.07	0.01	2.3	0.2	9.39	0.02	3.6	0.01	0.06	0.01	0.34	0.02						
MI2	0.27	0.01	8.4	0.2	4.4	0.2	0.75	0.03	4.4	0.04	12.6	0.3	16.6	0.3	0.53	0.04	0.3	0.02						
MI13	0.26	0.01	9.6	0.04	9.6	0.02	1.14	0.01	1.68	0.03	11.9	0.02	1.7	0.01	0.74	0	0.32	0.02						
Лух	0.21	0.01	10.3	0.38	8.3	0.1	1.17	0.02	2.1	0.1	22.6	0.1	20.2	0.4	0.97	0.02	0.56	0.02	1.17	0.07				
MX11	0.2	0.01	12	0.6	18.2	0.4	1.96	0.03	1.6	0.1	14.6	0.3	0.58	0.02	0.64	0.03	0.3	0.02						
MH4	0.15	0.01	11.4	0.2	9.4	0.4	5	0.2	0.15	0.05	11.8	0.1	1.52	0.07	0.33	0.02	0.22	0.01						
MX7	0.46	0.03	16	1.2	29.4	0.3	2.8	0.1	2.8	0.1	178	2	1.3	0.1	1.33	0.07	0.44	0.02	1.41	0.08				
MX8	0.24	0.01	9.6	0.08	11	0.3	1.3	0.1	1.51	0.03	27.8	0.2	0.58	0.02	0.49	0.08	0.39	0.02	2.49	0.02				
MH8	0.24	0.01	14.3	0.1	6.3	0.5	1.9	0.1	1.14	0.02	11.1	0.2	0.98	0.02	0.56	0.06	0.23	0.02						
БВ1	0.29	0.01	11.6	0.4	29.4	0.2	1.4	0.01	1.7	0.09	127	3	0.47	0.07	1.07	0.05	0.34	0.02	0.78	0.03				
MX14	0.17	0.01	10	0.6	6.8	0.2	1.83	0.05	3.6	0.1	181	5	3.6	0.2	0.35	0.04	0.28	0.02	1.65	0.05				
ЧД	0.25	0.01	14.1	0.7	30.1	0.2	2.03	0.03	3.3	0.2	26.9	0.05	1.3	0.1	0.85	0.03	0.38	0.02						
МП9	0.22	0.01	16	0.4	6.8	0.1	7.2	0.2	16.6	0.1	100	1	26.2	0.4	0.67	0.4	0.37	0.04	1.32	0.02	1.47	0.02		
МП12	0.31	0.01	20.1	1.7	54.5	1.2	11.4	0.3	7.6	0.2	21.4	0.3	30.4	0.2	1.04	0.09	0.77	0.04			1.91	0.07	1	0.03
Алд	0.59	0.01	11.2	0.6	11.4	0.3	1.21	0.04	2.9	0.1	13.7	0.02	9.8	0.1	1.26	0.08	0.41	0.04	3.07	0.02				
АГК	0.19	0.01	11.6	0.5	9.3	0.1	0.29	0.01	11.1	0.2	15.7	0.02	29.4	0.08	0.4	0.03	0.3	0.02			1.79	0.7		

Приложение Д.

Исправление элементного состава ГФК на карбонаты,
присутствующие в золе

Препарат	CO ₃ ²⁻ (max)	Кислотные оксиды	Избыток кислотных оксидов,	Элементный состав исправленный на мак- симальное содержание карбонатов, %					ω _{max} (C): :ω _{исх} (C)	ω _{min} (C)	ω _{min} (C): :ω _{исх} (C)
				С	Н	N	S	О			
	ммоль/г ГФК	ммоль/г ГФК	ммоль/г ГФК								
Торфяные ГФК											
MT4	0.07	0.11	0.04	49.2	5.1	1.4	1.9	42.4	1.00	49.2	1.00
T4	0.63	0.55	-0.08	49.5	5.1	2.4	1.1	41.8	1.01	49.2	1.00
T5	0.56	0.42	-0.14	49.7	4.9	2.3	1.0	42.1	1.01	49.5	1.00
T6	1.25	0.99	-0.26	50.9	4.7	1.1	1.9	41.4	1.02	50.3	1.00
верх	0.43	0.34	-0.09	50.4	4.7	2.1	1.4	41.4	1.01	50.2	1.00
низ	0.33	0.25	-0.08	50.9	4.7	2.4	1.6	40.4	1.00	50.7	1.00
ГФК донных отложений											
МИ2	0.21	0.51	0.30	48.7	4.8	2.1	3.4	41.0	1.00	48.6	1.00
МИ13	0.44	0.49	0.05	48.2	5.7	1.9	5.4	38.9	1.01	47.9	1.00
Лух	1.22	3.10	1.88	40.7	5.0	2.9	0.0	51.3	1.02	39.8	1.00
Водные ГФК											
MX11	2.20	1.66	-0.54	43.1	6.8	1.3	3.6	45.1	1.05	42.0	1.01
MH4	3.08	1.42	-1.65	45.8	4.6	0.5	1.1	48.1	1.08	44.9	1.02
MX7	1.28	7.32	6.04	39.0	5.3	0.0	2.5	53.2	1.03	38.1	1.00
MX8	1.25	2.98	1.73	46.5	4.8	0.6	3.8	44.2	1.02	45.7	1.00
MH8	4.03	3.13	-0.89	45.6	6.2	0.0	0.0	48.2	1.10	43.6	1.01
MX14	1.15	19.85	18.71	34.4	4.9	0.0	0.0	60.7	1.03	33.5	1.00
БВ1	1.48	7.08	5.60	42.1	3.7	3.1	1.6	49.6	1.02	41.0	1.00
Почвенные ГФК											
МП9	0.34	2.17	1.83	44.9	6.7	2.2	3.6	42.6	1.01	44.7	1.00
МП12	0.81	0.42	-0.39	48.9	5.1	2.9	4.5	38.6	1.02	48.6	1.01
ЧД	0.35	0.34	-0.01	46.6	5.0	3.4	2.5	42.5	1.00	46.4	1.00
Коммерческие ГК											
Алд	0.45	0.73	0.29	59.4	5.2	0.9	0.0	34.5	1.01	59.2	1.00
АГК	0.53	0.80	0.27	57.6	4.8	0.6	1.3	35.8	1.01	57.3	1.00

Приложение E

Константы устойчивости комплексов меди с различными
O-донорами

№	Лиганд	$\lg K_1$	$\lg \beta_2$	$\lg \beta_3$	$\lg \beta_4$
1	Формиат	2.21±0.25			
<i>Ацетатный тип</i>					
2	Ацетат	2.29±0.14	3.26	3.89	3.94
3	Пропанат	2.42±0.23	3.76		
4	Метилпропанат	2.36±0.26	3.22		
5	3-метилбутанат	2.01±0.11	3.6	5.21	
6	Триметилацетат	2.19±0.31	3.7		
7	4-метилпентанат	2.1			
8	Фенилацетат	1.83±0.32	2.4		
9	3-фенилпропанат	2.29			
10	Ацетоксиацетатат	1.22			
11	Цианоацетатат	0.87	1		
12	3-кетобутанат	1.81	2.89		
13	бутанат	2.23±0.26	3.2	2.26	2.9
14	3-гидроксипропанат	1.85±0.1	2.91	3.08	3.1
15	Пентанат	2.02±0.2			
16	2-метилбутанат	2.07	3.76	5.22	
17	3-метилбутанат	2.03±0.08	3.6	5.21	
18	3-гидроксипропанат	2.81±0.34	2.96	2.7	
19	Метоксиацетатат	2.6±0.01	3.7	3.6	4.5
20	Этоксиацетатат	2.19	3.38	3.71	3.14
21	Изопропоксиацетатат	2.18	3.4		
22	5-гексенат	1.87			
23	5-гептенат	1.89			
24	5-метилгексенат	2.21			
25	4-гидроксипропанат	1.78±0.14	2.51	2.68	2.69
26	Фуран-2-карбоксилат	1.97±0.86			
27	4-пентенат	1.84			
<i>Глиоксалатный тип</i>					
28	2-кетоацетат	2.57			
29	2-кетобутанат	2.57	4.6		
<i>Гликолятный тип</i>					
30	2-гидроксиацетатат	3.0±0.13	4.85	4.89	4.24
31	L-лактат	2.79±0.17	3.94	4.84	4.08
32	2-гидроксипропанат	2.65±0.01	4.54	4.53	4.84
33	1,3,4,5-тетрагидроксициклогексан-1-карбоксилат	2.76±0.2			
34	2-фенил-2-гидроксиацетатат	3.22±0.08	6.11		
35	Глицерат	3.71±0.19	3.47	4.76	5.91
36	Оксалат	5.48±0.31	9.28		

№	Лиганд	$\lg K_1$	$\lg \beta_2$	$\lg \beta_3$	$\lg \beta_4$
<i>Малонатный тип</i>					
37	Малонат	5.79±0.14	8.53	8.46	
38	Метилмалонат	5.52	8.17		
39	2-гидроксиметилмалонат	5.26			
40	Диметилмалонат	5.31±0.35	6.66	7.16	
41	Этилмалонат	5.53±0.51	8.31		
42	Изопропилмалонат	5.6			
43	н-пропилмалонат	5.52±0.48	8.49		
44	Циклопентан-1,1-дикарбоксилат	5.73	8.53		
45	2-бутилмалонат	5.68	8.76		
46	Диэтилмалонат	5.51±0.58	8.56		
47	Циклогексан-1,1-дикарбоксилат	5.46	8.08		
48	Фенилмалонат	4.94	6.34	6.76	
49	Гидроксималонат	6.18			
50	Бензилмалонат	4.77	7.41		
51	Аллилмалонат	5.5			
52	Гекс-1-ендикарбоксилат	5.67			
53	2,2-дибутилмалонат	5.94	8.99		
<i>Сукцинатный тип</i>					
54	Сукцинат	3.69±0.29	4.87		
55	Итаконат	3.83±0.19	4.69		
56	Метилсукцинат	3.57			
57	2,2-диметилянтарная	4.14			
58	Гидроксисукцинат	4.6±0.28	6.79		
59	2-гидрокси-2-метилянтарная	4.84			
60	2-оксосукцинат	5.3±1.21			
61	Диметиллоксосукцинат	3.7			
62	D-тартрат	3.49±0.12	5.19		
63	L-тартрат	4.74±0.46	6.92		
64	DL-тартрат	3.45	5.17		
65	тартрат рац.	3.8	5.91	6.3	7.04
66	Мезо-тартрат	3.95	6.11		
67	1,2,3-пропантрикарбоксилат	4.96			
<i>Малеинатный тип</i>					
68	Малеинат	4.35	6.44	6.55	
69	Цитаконат	5.05±1.19			
<i>γ-дионы</i>					
70	Ацетилацетон	8.47±0.22	15.6		
71	Гептан-3,5-дион	9.05			
<i>Фенольный тип</i>					
72	Фенол*	5.3			
73	Метилсалицилат	6.3			

№	Лиганд	$\lg K_1$	$\lg \beta_2$	$\lg \beta_3$	$\lg \beta_4$
<i>Пирокатехиновый тип</i>					
74	Пирокатехин	14.1±0.39	24.8		
75	2,3-дигидроксибензоат	14.1			
76	3,4-дигидроксибензоат	14.3±0.56	25		
77	3,4-дигидроксибензальдегид	13.3			
78	Этиловый эфир 3,4-дигидроксибензойной к-ты	13.7			
79	Пирогаллол	13.8			
80	3,4-дигидроксифенилацетат	14.5±0.89	20.5		
81	2,3-дигидроксинафталин	12.8	21.9		
<i>Бензоатный тип</i>					
82	Бензоат	2.08±0.1			
83	4-гидроксибензоат	1.66			
84	3-метоксибензоат	2.02			
85	Ацетилсалицилат	1.68	3.63		
86	Салицилат монозамещенный	2.66±0.35	2.67		
<i>Фталатный тип</i>					
87	Фталат	3.8±0.3	5.4		
88	1,2,3-бензолтрикарбоксилат	5.7			
89	1,2,4-бензолтрикарбоксилат	4.4			
90	4-метилфталат	4.4	6.31		
91	4-этоксифталат	4.09			
92	4-метоксифталат	4.16			
<i>Салицилатный тип</i>					
93	Салицилат бизамещенный	11.5±0.23	19.5		
94	2,4-дигидроксибенензоат	12.7	21.9		
95	2,5-дигидроксибенензоат	12.4±0.19	22.4		
96	2,6-дигидроксибенензоат	11.7	16.9		
97	2-гидроксинафтоат	10.3	19.8		
<i>Полифункциональные лиганды</i>					
98	Пентанат	3.20±0.03			
99	Адипинат	3.2±0.3			
100	2,2'-оксидацетат	4.74±0.13	6.72		
101	1,2-фенилендиоксидацетат	4.14			
102	SS-оксидисукцинат	9.33			
103	мезо-оксидисукцинат	10.1			
104	Цитрат трехзамещенный	7.35±0.37			
105	2-карбоксиэтилглутарат	3.65			
106	2,3,4-тригидроксипентандиат	8.74			
107	Цис-1,2,3,4-циклопентантетракарбоксилат	8.42	11.5		
108	2-гидрокси-3-карбоксипентандиат	6.46			
109	2-(карбоксиэтокси)бензоат	3.94			

* рассчитано из константы устойчивости фенолята ртути по уравнению (2.85).

Приложение Ж.

Значения σ_1 , использовавшиеся для характеристики влияния заместителей на константы устойчивости комплексов Cu(II) с лигандами ацетатного типа [32]

Заместитель	σ_1	Примечание
-H	0	
-CH ₃	-0.05	
первичный алкил	-0.05	как для -CH ₃
третичный алкил	-0.07	как для -C(CH ₃) ₃
вторичный алкил	-0.06	среднее между первичным и третичным
-Ph	0.10	
-CH ₂ -Ph	0.04	
-OCH ₃	0.27	
H ₃ C-COO-	0.27	как для -OCH ₃
H ₃ C-CO-	0.20	
H ₃ C-CO-CH ₂ -	0.1	
-CH ₂ -OH	0.17	Как σ_1 (-OCH ₃)-0.1 по аналогии с разницей между σ_1 (H ₃ C-CO-) и σ_1 (H ₃ C-CO-CH ₂ -)
-OAlk	0.27	как для -OCH ₃
-CN	0.56	

Приложение З.

Значения σ , использовавшиеся для характеристики влияния заместителей на константы устойчивости комплексов Cu(II) с лигандами бензоатного и пирокатехинового типа [32]

Заместитель	$\sigma_{\text{пара}}$	$\sigma_{\text{мета}}$	Примечание
-H	0		
-COO ⁻	0.11		
-CHO	0.47		как для -COMe
-O-C(O)-CH ₃	0.7		вычислено как разность между рК бензойной и ацетилсалициловой кислот
-COOR	0.44		
-OH	-0.38		
-OMe		0.10	
-O-CH ₂ -COO ⁻	-0.28		

Приложение И**Параметры аппроксимирующей функции для описания
детоксицирующего действия ГФК по отношению к HgCl₂.**

Препарат	D _{max}	b	Минимальная детоксицирующая концентрация, мг/л	Коэффициент корреляции аппроксимирующей функции с экспериментальными данными
Т4	1.26	12	10.2	0.89
Т5	1.18	3.2	10.3	0.85
Т6	0.79	4.1	5.65	0.98
верх	0.78	2.8	4.14	0.97
низ	0.81	5.9	7.9	0.95
МТ4	0.98	2.6	2.62	1.00
МИ2	1.04	1.3	1.36	0.99
МИ13	1.14	4.5	4.34	0.98
Лух	0.88	8.1	10.6	0.84
МН4	0.9	2.4	1.96	0.99
МХ8	0.94	3.1	3.37	1.00
МН8	1.05	3.6	3.44	1.00
МХ14	0.86	4.5	3.8	0.99
ПДл	0.91	2	2.37	0.99
СЛл	1.06	5.5	5.19	1.00
Чд	0.81	2	2.53	1.00
МП9	0.95	7.5	9.23	0.88
МП12	0.87	2.5	2.84	1.00
АНА	0.58	2.6	4.5	1.00
АГК	1.02	2.1	2.05	1.00