

Закінчення табл.

Назва НД	Метод визначення та його принцип	Пробопідготовка; діапазон вимірюваних концентрацій	Примітки
ГОСТ 26185-84. п. 3.14. Водоросли морские и продукты их переработки	Візуально-фотометричний йод-крохмальний метод (якісне визначення). Для кількісного визначення рекомендується екстракційно-фотометричний метод. Фотометрують бензиновий чи хлороформний екстракт йоду	Суша лужна (K_2CO_3) мінералізація зразків з подальшим вилученням йодиду водою із сухого залишку. Розчин обробляють нітридом для виділення елементного йоду; $2I^- + 2NO_2^- + 4H^+ \rightarrow I_2 + 2NO + 2H_2O$; кількісне визначення – від 100 мг/кг	Неповне озолення проб пропонованою методикою пробопідготовки. Застосування вогнебезпечного токсичного органічного розчинника. Методика не оптимізована з точки зору оптимального співвідношення об'ємів водної та органічних фаз
НД, затверджені українським законодавством			
ТУ У 18.446-97. Сіль кухонна йодована	Титриметричний; титрування тіосульфатом елементного йоду; $I_2 + 2S_2O_4^{2-} \rightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$	Йодат, яким фортифіковано кухонну сіль, відновлюють у кислому середовищі надміром йодиду до елементного йоду; $IO_3^- + 5I^- + 6H^+ \rightarrow 3I_2 + 3H_2O$; від 8 мг/кг	Проблеми відбору середньої проби
ТУ У 23522451-004. Метод визначення йодид-іону у водорості спіруліні	Аналогічно ГОСТ 26185-84	Суша лужна (K_2CO_3) мінералізація зразків з подальшим вилученням йодиду водою із сухого залишку. Розчин обробляють нітридом для виділення елементного йоду; $2I^- + 2NO_2^- + 4H^+ \rightarrow I_2 + 2NO + 2H_2O$; кількісне визначення – від 100 мг/кг	Не наведено концентрації розчинів, що використовуються в аналізі
МВВ 081/12-0066-02. Методи измерения массовой концентрации иодидионов в иодированных продуктах (напитки безалкогольные, воды питьевые и минеральные, хлеб, соль)	Інвенсійно-вольтамперометричний метод, що ґрунтується на здатності йодид-іону накопичуватися на поверхні електрода при певному потенціалі з подальшим катодним відновленням	Напіє безалкогольні, води питні і мінеральні 0,005–1,3 мг/дм ³ ; хліб 0,2–2,3 мг/кг; сіль кухонна 1,0–60 мг/кг	Методика дозволяє визначати природний вміст йоду, проте методикою розроблено під конкретний прилад певної фірми, а отже вона є малодоступною
МВВ 081/12-0146-04. Методика виконання вимірювань вмісту загального йоду у водах, напоях та продуктах харчування кінетичним каталітичним методом	Фотометричний каталітичний; методика ґрунтується на каталітичному впливі йодиду на церій(IV)-арсенітну редокс-реакцію: $2Ce^{4+} + AsO_3^{3-} + H_2O \rightarrow 2Ce^{3+} + AsO_4^{3-} + 2H^+$	Два варіанти пробопідготовки: суха лужна (K_2CO_3) мінералізація зразків з подальшим вилученням йодиду водою та волога кислотна (HNO_3) мінералізація з мікрохвильовим прискоренням. Поєднання реакції Сендела-Кольтофа з кислотною мінералізацією проб здійснено завдяки введенню добавок сульфамінової кислоти; від 10 до 1000 мг/дм ³ включно	Методика дозволяє визначати природний вміст йоду, є доступною, проте передбачає використання токсичних сполук арсену(III)

1. Перес-Бенедито Д., Сильва М. Кинетические методы в аналитической химии. – М.: Мир, 1991. – 170 с. 2. Подрушняк А.Е., Макаруч Т.Л., Кравцова Ю.В. Актуальні проблеми фортифікації та контролю якості харчових продуктів, збагачених йодом // Науковий вісник НДІ ім. Медведя – 2002. – С. 91–44. 3. Трохименко О.М., Зайцев В.Н. Кинетическое определение иодида по реакции Кольтофа-Сендела с использованием дифениламин-сульфофосфорной кислоты для определения снижения концентрации $Ce(IV)$ // Журн. аналит. химии. – 2004. – Т.59, № 5. – С. 491–494. 4. Трохименко О., Зай-

цев В.Н. Наукометричні дослідження публікацій за останні три десятиріччя з методів визначення різних форм йоду в об'єктах // Методи і об'єкти хімічного аналізу – 2009. – Т.4, № 1. – С. 4–10. 5. Трохименко О.М., Зайцев В.М. Спосіб визначення йодид-іонів у воді Патент України № 49246А. Бюл. № 9 від 16.09.2002 р. 6. Edmonds J.S., Morita M. Technical reports // Pure Appl. Chem. – 1998. – Vol.70. – P. 1567-1584.

Надійшла до редколегії 29.12.08

УДК 543.2, 542.61, 611.185.1

В. Старова, асп., О. Костюк, студ., С. Куліченко, канд. хім. наук

ІЗОЕЛЕКТРИЧНА ТОЧКА БІЛКІВ У РОЗЧИНАХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ЯК ФАКТОР УМОВ МІЦЕЛЯРНО-ЕКСТРАКЦІЙНОГО ВИЛУЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ СУБСТРАТІВ

Вивчено вплив білків на параметри фазаутворення у розчинах додецилсульфату натрію. Встановлено зміну температури фазаутворення та об'єму міцелярної фази при значеннях рН близьких до ізоелектричної точки білку. Знайдені ефективні значення ізоелектричної точки овальбуміну в присутності поверхнево-активних речовин різного типу. Показано зменшення значення ізоелектричної точки білку у присутності саліцилової кислоти при сталості параметрів фазаутворення. Запропоновано умови міцелярно-екстракційного вилучення білків з поверхонь різної природи.

The influence of the proteins on the phase formation parameters was studied. The changes of phase formation temperature and the volume of the surfactant-rich phase at pH values close to the isoelectric point of protein were established. The effective values of the isoelectric point in the presence of various surfactants were found. The decreases of isoelectric point values in the presence of salicylic acid at the constant phase formation parameters were shown. The suitable conditions for effective micellar extractions of the proteins from solid surfaces were proposed.

Вступ. При виділенні білків із природних об'єктів створення нових ефективних методів концентрування являється актуальним завданням [18, 23]. Міцелярна

екстракція фазами неіонних поверхнево-активних речовин (НПАР) при температурі помутніння виступає перспективним методом концентрування та розділення гід-

рофобних і гідрофільних білкових субстратів [11, 14]. Основними перевагами міцелярної екстракції є досягнення високих коефіцієнтів концентрування при використанні невеликих об'ємів проби, вибіркоче вилучення гідрофобних білків [14] та можливість сполучення з рядом фізико-хімічних методів визначення, у тому числі з високоефективною рідинною хроматографією [9, 10, 13, 16]. Проте недостатнє вилучення гідрофільних сполук та необхідність нагрівання системи обмежують застосування фаз неіонних ПАР для концентрування лабільних біологічних субстратів.

Застосування альтернативної низькотемпературної міцелярної екстракції фазами іонних ПАР (ІПАР) для концентрування білкових субстратів підвищує ефективність їх вилучення за рахунок сполучення електростатичних та гідрофобних взаємодій. Серед ІПАР найбільш перспективною для концентрування білків вбачається аніонна ПАР - додецилсульфат натрію (ДДСН), що характеризується оптимальними значеннями розчинності, критичної концентрації міцелоутворення (ККМ), температури Крафта та сольобілізаційної ємності утворених міцелярних фаз. Сполучення попереднього міцелярно-екстракційного концентрування біологічних субстратів фазами на основі ДДСН з методом їх електрофоретичного розділення сприяє більш надійному виявленню та визначенню індивідуальних білків у природних об'єктах [7, 20]. Фазоутворення у розчинах ІПАР відбувається при охолодженні міцелярних розчинів нижче за температуру Крафта [6]. Введення електролітів [19, 21], органічних розчинників [6] та різних гідротропів [12, 17] також сприяє утворенню іонно-активних фаз. Суттєве підвищення ступеню вилучення білків відбувається у присутності відповідних модифікуючих добавок. Так, міцелярні фази утворені з розчинів ДДСН при одночасній присутності гідротропу та електроліту здатні вилучати білкові субстрати практично повністю [4]. Ефективними модифікаторами багатьох систем на основі ПАР виступають хлорид натрію та саліцилова кислота [17, 21].

Ізоелектрична точка (рІ) – важливий параметр, що визначає умови та ефективність екстракційного концентрування білків [2, 3, 7]. Так, білкові субстрати найбільш повно вилучаються міцелярними фазами та органічними розчинниками при значеннях $pH \approx pI$ [4, 15]. За цих умов білок частково втрачає іонну атмосферу, його заряд близький до нуля, а білкові молекули здатні безперешкодно зближуватись до радіусу дії ван-дер-ваальсових сил, як наслідок, розмір білкових агрегатів збільшується і у водних розчинах формується осад [2, 3]. Значення рІ визначає також іонну форму білкового субстрату при певній кислотності середовища, що важливо при виборі умов розділення білків, зокрема електрофоретичними методами [7, 8, 20].

У літературі відзначається здатність електролітів і поверхнево-активних речовин впливати на стан кислотно-основних рівноваг органічних протолітів та рІ білкових субстанцій [5, 8, 22]. Тому, метою роботи було вивчити вплив поверхнево-активних речовин різної природи та модифікуючих добавок хлориду натрію та саліцилової кислоти на значення ізоелектричної точки білку. При цьому важливим було встановити специфіку фазового розшарування у розчинах ДДСН у присутності білкових субстратів при $pH \approx pI$.

Реагенти та апаратура. У роботі використовували аніонну ПАР додецилсульфат натрію ("Merck"), неіонну ПАР Triton X-100 ("Merck") і катіонну ПАР етоній ("Фармак"). Вміст основної речовини в препаратах поверхнево-активних речовин становив $\geq 99\%$. Модифікатори хлорид натрію та саліцилова кислота були кваліфікації

"ч.д.а.". Робочі розчини ПАР та модифікаторів готували розчиненням відповідних точних наважок у дистильованій воді. Розчини овальбуміну ($M_r = 4,3 \cdot 10^4$ Да, $pI = 4,8$) готували розчиненням відповідних наважок у воді згідно з [7]. Розчини казеїну ($M_r = 7,5 \cdot 10^4$ Да, $pI = 4,7$) та бичачого сировоточного альбуміну – БСА ($M_r = 6,7 \cdot 10^4$ Да, $pI = 4,9$) готували розчиненням точних наважок у 0,05 моль/л розчині ДДСН. Кислотність розчинів встановлювали додаванням 0,1 моль/л розчинів HCl та NaOH (фіксанал) і контролювали за допомогою рН-метра "рН-340" зі скляним електродом ЭСЛ-43-07.

Методика експерименту. Для дослідження впливу ПАР та модифікуючих добавок на значення ізоелектричної точки в роботі використовували найбільш поширений білок овальбумін. Висока розчинність овальбуміну забезпечувала можливість створення оптимальних концентраційних умов для встановлення констант дисоціації аміно- та карбоксильних груп білку методом рН-метричного титрування.

Встановлення ізоелектричної точки овальбуміну. В стакан ємністю 50 мл відбирали з курячого яйця 20 мл білку ($m \approx 18$ г), додавали (за необхідності) певні кількості розчинів ПАР, хлориду натрію і саліцилової кислоти, доводили дистильованою водою до 40 мл і перемішували (магнітна мішалка). Утворений після розчинення овальбуміну осад глобулінів відфільтрували через марлевий шар. Відбирали 10 мл аліквоти та проводили рН-метричне титрування розчину овальбуміну. Для визначення кількості і константи дисоціації аміногруп білку титрування проводили 0,05 моль/л розчином HCl, а для визначення карбоксильних груп – 0,05 моль/л NaOH.

Значення pK_{NH_2} та pK_{COOH} розраховували на основі кривих рН-метричного титрування за допомогою програми Нурегуа [1]. При проведенні розрахунків застосовували модель, що враховувала одночасну присутність у молекулі білку аміно- та карбоксильних груп. На основі кривих титрування овальбуміну було встановлено кількість присутніх у системі NH_2 та $COOH$ груп, яку враховували для подальших розрахунків значення рІ у розчинах ПАР. Розрахунок значень рК функціональних груп білків у присутності саліцилової кислоти проводили в рамках моделі, яка враховувала вміст та протонодонорні властивості останньої. Розрахунок значень рІ проводили за формулою [2]: $pI = (pK_{NH_2} + pK_{COOH})/2$. Точність визначення ізоелектричної точки даним методом була оцінена зіставленням експериментальних та відомих з літератури значень рІ гліцину та овальбуміну і не перевищувала 0,03 для амінокислоти та 0,05 для білку.

Встановлення параметрів фазоутворення. Водні розчини ДДСН, які містили всі необхідні компоненти, поміщали у калібровані мірні циліндри об'ємом 10 мл, закріплювали у штативи та поміщали у водяну баню. Для отримання кристалічної фази у системах ДДСН, ДДСН-NaCl, ДДСН- H_2Sal розчини охолоджували до 3 °С. Формування компактної рідкої міцелярної фази у системі ДДСН- H_2Sal -NaCl відбувалось шляхом нагрівання розчинів вище температури фазоутворення (30 °С), їх гомогенізації, та наступного охолодження до 20 °С. Температуру розчинів контролювали за допомогою термометрів, занурених у циліндри та безпосередньо у водяну баню. Температуру фазоутворення фіксували при появі у розчинах характерної опалесценції. Утворена міцелярна фаза ДДСН збиралась на дні циліндру. Об'єму фази фіксували у рівноважних умовах досягнення сталості концентрацій компонентів у водній та міцелярній фазах.

Оцінка ефективності вилучення овальбуміну у фази ДДСН. Ефективність вилучення овальбуміну оціню-

вали спектрофотометричним методом за біуретовою реакцією [7]. Отриману після декантації водного розчину міцелярну фазу, яка містила овальбумін, перенесли у мірну колбу ємністю 25 мл, додавали 5 мл 10% розчину неіонної ПАР Triton X-100, встановлювали рН 7-8, потім додавали 5 мл біуретового реактиву та доводили дистильованою водою до позначки. Через 20 хв вимірювали оптичну густину отриманого розчину в кюветах з $l = 2$ см при $\lambda = 550$ нм; розчин порівняння – вода. Похибка оцінки ступеню вилучення білків в експерименті не перевищувала 1%.

Результати та обговорення. Температура фазоутворення ($T_{ф.у.}$) та об'єм утвореної фази ($V_{м.ф.}$) в індивідуальних розчинах ДДСН із збільшенням рН монотонно збільшуються (рис., криві 1, 2). Введення у систему білків спричиняє зміну параметрів фазоутворення. Отриманні для системи білок-ДДСН залежності $T_{ф.у.}$, $V_{м.ф.} = f(\text{pH})$ характеризуються наявністю максимуму при $\text{pH} \approx \text{pI}$ (рис., криві 3, 4). Температура фазоутворення в системі при $\text{pH} \approx \text{pI}$ близька до кімнатної і становить 18 °С

Вплив добавок білку на параметри фазоутворення у кислих розчинах при $\text{pH} < \text{pI}$ незначний, а при $\text{pH} > \text{pI}$ значення температури фазоутворення та об'єму фази у системі білок-ДДСН значно нижчі, ніж для індивідуальних розчинів ДДСН (рисунок).

Екстремуми на залежностях $T_{ф.у.}$, $V_{м.ф.} = f(\text{pH})$ зберігаються для білків різної природи. Однак із збільшенням гідрофобності білку вплив ізоелектричної точки на параметри фазоутворення стає менш вираженим. Так, у системі БСА-ДДСН при $\text{pH} \approx \text{pI} \approx 4$ кристалічний осад починає формуватись при 12 °С, а об'єм фази становить 1,2 мл. У присутності казеїну $T_{ф.у.} = 7$ °С, $V_{м.ф.} = 0,8$ мл, відповідно. В інтервалі існування заряджених форм казеїну і БСА температура фазоутворення досить низька (≤ 5 °С), а значення об'ємів фаз практично незмінні ($\approx 0,5$ мл). Збільшення концентрації ДДСН нівелює вплив білків на параметри фазоутворення. Так, при концентрації ДДСН 0,1 моль/л, залежності $T_{ф.у.}$, $V_{м.ф.} = f(\text{pH})$, отримані для індивідуальних розчинів ДДСН та для системи білок-ДДСН, мають аналогічний характер. Таким чином, зменшення температури фазоутворення та об'єму утвореної у розчинах ДДСН фази у присутності білків обумовлене формуванням у системі агрегатів білок-ДДСН, що призводить до зменшення значень ККМ і відповідно зниженню значень температури Крафта.

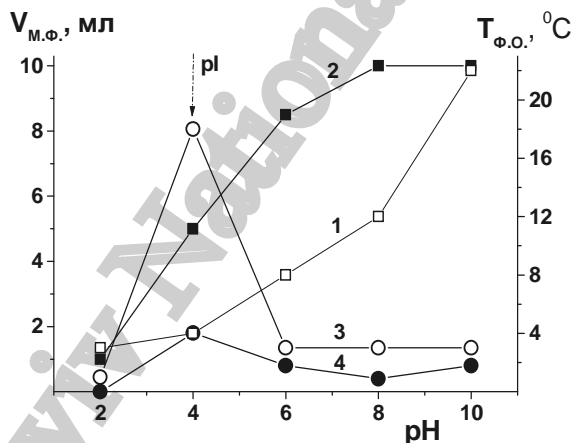


Рис. Залежність температури фазоутворення (1, 3) і об'єму (2, 4) утвореної фази ДДСН у відсутності (1, 2) та присутності (3, 4) овальбуміну від рН. $C_{\text{ДДСН}} = 0,05$ моль/л, $C_{\text{овальбумін}} = 0,2$ мг/мл, $V_0 = 10$ мл

Ступені вилучення білкових субстратів у міцелярній фазі, що формуються з індивідуальних розчинів ДДСН, незначні. Застосування модифікуючих добавок хлориду натрію і саліцилової кислоти забезпечує практично повне вилучення білків та сприяє досягненню високих значень коефіцієнту абсолютного концентрування [4]. При цьому значення коефіцієнта концентрування суттєво залежить від об'єму утворених міцелярних фаз. Встановлено, що у присутності білку параметри фазоутворення у двокомпонентній системі ДДСН-NaCl практично не змінюються. Так, при введенні у систему 1 мг/мл овальбуміну значення $T_{ф.у.}$ збільшується лише на 3 °С, а об'єму міцелярної фази – на 0,5 мл. При цьому фаза ДДСН-NaCl не щільна та має великий об'єм, що негативно позначається на коефіцієнті концентрування.

Одночасна присутність у системі електроліту і саліцилової кислоти сприяє формуванню компактною високов'язкої рідини ($T_{ф.у.} \approx 30$ °С). Однак, при введенні білку в трьохкомпонентну систему ДДСН-NaCl-H₂Sal температура фазоутворення підвищується на 6 °С, а об'єм міцелярної фази збільшується на 1 мл. Така зміна параметрів фазоутворення на ефективності вилучення білків модифікованими фазами ДДСН не позначається. Разом з цим, незначне збільшення $T_{ф.у.}$ у системі денатурації білкових субстратів не викликає. Проблема зменшення коефіцієнту концентрування внаслідок збільшення об'єму міцелярної фази вирішується підбором оптимальних концентраційних умов у системі при використанні більших об'ємів проби, або введенням додаткових модифікуючих добавок. Примітно, що у трьохкомпонентній системі ДДСН-NaCl-H₂Sal на залежностях $T_{ф.у.}$, $V_{м.ф.} = f(\text{pH})$ прояв специфічного впливу білку на параметри фазоутворення в області pI практично відсутній.

Відомо, що присутні у розчинах білків електроліти та поверхнево-активні речовини різного типу здатні впливати на стан кислотно-основних рівноваг. У цьому зв'язку пошук оптимальних умов міцелярно-екстракційного вилучення білків пов'язаний із попередньою оцінкою ефективних значень pI . Тому у роботі досліджено вплив етонію, Triton X-100, ДДСН, хлориду натрію та саліцилової кислоти на ефективні значення pK овальбуміну. Встановлено, що при введенні у водний розчин овальбуміну добавок ДДСН та Triton X-100 значення констант дисоціації аміногруп білку збільшуються, а у присутності саліцилової кислоти та етонію, навпаки, – зменшуються. Хлорид натрію на протонакцепторні властивості аміногруп білку практично не впливає. При цьому ефективні значення pK_{NH_2} у системах ДДСН-H₂Sal та ДДСН-H₂Sal-NaCl нижчі, ніж у водному розчині овальбуміну (таблиця).

Значення констант дисоціації карбоксильних груп білку у присутності ПАР та модифікуючих добавок також змінюється. Так, зростання значень pK_{COOH} відбувається при додаванні аніонної та неіонної ПАР а також електроліту. З іншого боку саліцилова кислота здатна збільшувати протондонорні властивості карбоксильних груп білку. Значне зменшення ефективних значень pK_{COOH} у системі білок-катионна ПАР можна пояснити проявом електростатичних взаємодій між негативним зарядженими дисоційованими за карбоксильними групами частинками білку та катіонами етонію з одночасною солубілізацією білку міцелярними агрегатами КПАР (таблиця).

Розраховане на основі кривих рН-метричного титрування водних розчинів значення ізоелектричної точки овальбуміну добре корелює із зазначеними у [7] даними ($\text{pI} = 4,6$). Аналізом отриманих у роботі даних встановлено, що додавання електроліту призводить до логічного невеликого зменшення pI білку, що можна пояснити змі-

ною іонної сили середовища. У розчинах ДДСН і Triton X-100 значення pI збільшується, а у мицелярному розчині катіонної ПАР етонію – значно зменшується. Додавання саліцилової кислоти до водного розчину білку сприяє зменшенню значення pI овальбуміну. При цьому, введення саліцилової кислоти у мицелярні розчини нівелює вплив ДДСН і сприяє зменшенню pI . Тому в трьохкомпонентній системі ДДСН- H_2Sal - $NaCl$ значення $pI \approx 4$, що співпадає із значенням pH , при якому досягаються максимальні ступені вилучення білкових субстратів.

Таблиця

Значення pK_{NH_2} , pK_{COOH} та pI овальбуміну у різних системах

Система	pK_{NH_2}	pK_{COOH}	pI_{ef}
Водний розчин	6,27	3,46	4,86
ДДСН	6,52	4,52	5,52
Triton X-100	6,63	3,86	5,24
Етоній	6,09	1,73	3,91
$NaCl$	6,24	3,71	4,97
H_2Sal	5,11	2,90	4,00
ДДСН- H_2Sal	5,74	3,70	4,72
ДДСН- H_2Sal - $NaCl$	5,08	3,42	4,25

$C_{ДДСН} = 0,1$ моль/л, $C_{Triton X-100} = 0,05$ моль/л, $C_{етоній} = 0,25$ моль/л, $C_{H_2Sal} = 0,04$ моль/л, $C_{NaCl} = 6\%$, $C_{білку} = 450$ мг/мл

При проведенні криміналістичних та біохімічних досліджень для встановлення наявності, походження, складу та властивостей біологічних субстратів першочерговою задачею являється виділення білків у гомогенному, бажано, нативному стані з твердих носіїв та складних матриць [2, 3, 24]. Тому в роботі проведено оптимізацію концентраційних умов та кислотності для ефективного мицелярно-екстракційного вилучення овальбуміну та розроблено методику виділення овальбуміну модифікованими фазами ДДСН з твердих поверхонь різного типу.

Встановлено, що максимальне вилучення білку досягається при його вилученні розчином ДДСН при pH 6 і проведенні фазового розшарування при pH 4. Ці значення pH добре корелюють із наведеними у таблиці ефективними значеннями ізоелектричної точки овальбуміну в індивідуальному розчині ДДСН та у трьохкомпонентній системі ДДСН- H_2Sal - $NaCl$, відповідно.

Методика. Виділення білку з твердої поверхні проводили тканиною, змоченою у 0,05 моль/л розчині ДДСН з pH 6. Потім тканину поміщали у стакан ємністю 50 мл, що містив 50 мл 0,05 моль/л розчину ДДСН, та відмивали протягом 20 хв (магнітна мішалка). Після вилучення тканини до розчину овальбуміну додавали 0,138 г саліцилової кислоти, встановлювали pH 4 та додавали 3 г хлориду натрію. Суміш нагрівали до температури $>T_{фy}$ (30 °C), перемішували та охолоджували до кімнатної температури. Утворена після охолодження розчину мицелярна фаза ДДСН збиралась на дні стакану ($V_{mf} \approx 1$ мл). Після повного розшарування та відокремлення водної фази декантацією проводили спектрофотометричне визначення білку в концентраті за біуретовою реакцією. Отримані результати показали високу ефективність виділення білкових субстанцій з твердої поверхні ($R \geq 96\%$) та достатню правильність розробленої методики ($Sr \leq 0,05$, $n = 4$, $P = 0,95$). Слід відзначити, що використання суміші ДДСН-саліцилова кислота на етапі змивання білку з поверхні є недоцільним, оскільки може призводити до передчасної денатурації.

У роботі також досліджено вплив природи носія та типу тканини на ефективність вилучення овальбуміну фазами ДДСН. Встановлено, що найбільш ефективно білки вилучаються зі скляної поверхні, гірше з дерев'яної, а змивання з металічної поверхні проводити практично неможливо внаслідок здатності саліцилової кислоти до комплексоутворення з іонами металів. Останній факт заважає проведенню повного фазового розшарування розчину ДДСН та коректному визначенню вмісту білку у концентраті з біуретовим реактивом. Використання марлевої тканини забезпечує практично повне вилучення білку з поверхні ($R > 99\%$). У меншій мірі для таких цілей підходить х/б тканина ($R \approx 96\%$). Використання паперової салфетки є небажаним: розчин змиву стає каламутним; вплив такого фону усувається важко і, як наслідок, отримані результати є дещо завищеними.

Висновки. У роботі показано диференційовану зміну значень ізоелектричної точки овальбуміну в залежності від типу ПАР та природи модифікуючої добавки. Встановлено, що неіонні та аніонні ПАР здатні збільшувати значення ізоелектричної точки білку, а катіонні ПАР – навпаки зменшувати. Модифікуючі добавки саліцилової кислоти значення ізоелектричної точки білку зменшують. Добавки останньої нівелюють вплив аніонної ПАР, і значення ізоелектричної точки в системах ДДСН- H_2Sal та ДДСН- H_2Sal - $NaCl$ наближуються до значень pI , характерних для індивідуальних водних розчинів овальбуміну.

Встановлено здатність білків впливати на параметри фазоутворення у розчинах ДДСН. Показано, що в індивідуальних розчинах ДДСН у присутності овальбуміну збільшення об'єму утворюваної мицелярної фази і температури фазоутворення відбувається при значеннях pH близьких до ізоелектричної точки білку. Однак, у трьохкомпонентній системі ДДСН- $NaCl$ - H_2Sal прояв специфічного впливу білку на параметри фазоутворення в області pI відсутній.

Показано практично повне вилучення овальбуміну фазами на основі ДДСН при $pH \approx pI$. Тому, значення ізоелектричної точки білків у присутності ПАР та різних модифікуючих добавок безпосередньо визначають умови проведення мицелярно-екстракційного концентрування біологічних субстратів. На основі отриманих у роботі даних розроблено умови вилучення овальбуміну в мицелярні фази ДДСН. Запропоновані умови випробувані при вилученні білків з твердих поверхонь різного типу.

1. Бек М., Надьпал И. Исследование комплексообразования новейшими методами. М.: Мир, 1989. – 413 с. 2. Березов Т.Т., Коровиков Б.Ф. Биологическая химия. М.: Медицина, 1990. – 528 с. 3. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. М.: Высш. шк., 2000. – 479 с. 4. Куличенко С.А., Дорошук В.А., Старова В.С. Мицеллярные фазы на основе додецилсульфата натрия для целей концентрирования // Журн. приклад. хим. – 2008. – Т. 81, № 8. – С. 1263. 5. Куличенко С.А., Фесенко С.А. Кислотно-основные свойства сульфоталениновых индикаторов в водно-мицеллярных растворах додецилсульфата натрия // Укр. хим. журн. – 2002. – Т. 68, №10. – С. 100–104. 6. Саввин С.Б., Чернова Р.К., Штыков С.Н. Поверхностно-активные вещества. М.: Наука, 1991. – 250 с. 7. Практикум по биохимии: учебное пособие / Под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой. М.: Из-во МГУ, 1989. – 509 с. 8. Brewer G.J., Singh M. Kinetics and characterization of the proteins synthesized during infection by bacteriophage PM2 // J. gen. Virol. – 1982. – Vol. 60, №1. – P. 135–146. 9. Carabias-Martínez R., Rodríguez-González E., Moreno-Cordero B., et al. Surfactant cloud point extraction and preconcentration of organic compounds prior to chromatography and capillary electrophoresis // J. Chromatography A. – 2000. – Vol. 902, №1. – P. 251–265. 10. Garrido M., Di Nesio M.S., Lista A.G., et al. Cloud-point extraction/preconcentration on-line flow injection method for mercury determination // Anal.Chim.Acta. – 2004. – Vol. 502, №2. – P. 173–177. 11. González de la Vara L.E., Alfaro B.L. Separation of membrane proteins according to their hydrophobicity by serial phase partitioning with Triton X-114 // Analytical Biochemistry. – 2009. – Vol. 387, №2. – P. 280–286. 12. Goryacheva I.Y., Shtykov S.N., Loginov A.S., et al. Preconcentration and fluorimetric determination of polycyclic aromatic

hydrocarbons based on the acid-induced cloud-point extraction with sodium dodecylsulfate // *Anal. Bioanal. Chem.* – 2005. – Vol. 382. – P. 1413–1418. 13. *Kulichenko S.A., Doroschuk V.O., Lelyushok S.O.* The cloud point extraction of copper(II) with monocarboxylic acids into non-ionic surfactant phase // *Talanta.* – 2003. – Vol. 59, №4. – P. 767–773. 14. *Liu S., Tobias R, McClure S., et al.* Removal of Endotoxin from Recombinant Protein Preparations // *Clin. Biochem.* – 1997. Vol. 30, №6. – P. 455–463. 15. *Lopes A.S., Garcia J.S., Catharino R.R., Santos L.S., Eberlin M.N., Arruda M.A.Z.* Cloud point extraction applied to casein proteins of cow milk and their identification by mass spectrometry // *Analytica Chimica Acta.* – 2007. Vol. 590. – P. 166–172. 16. *Pinto C.G., Pavon J.L.P., Cordero B.M.* Cloud point preconcentration and high-performance liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons with fluorescence detection // *Anal. Chem.* – 1994. – Vol. 66, №6. – P. 874–881. 17. *Raghavan S.R., Edlund H., Kaler E.W.* Cloud-point phenomena in wormlike micellar systems containing cationic surfactant ant salt // *Langmuir.* – 2002. – Vol. 18, №4. – P. 1056–1064. 18. *Saitoh T., Tani H., Kamidate T., Watanabe H.* Phase separation in aqueous micellar solutions of nonionic surfactants for protein separation

// *Trends in Analytical Chemistry.* – 1995. – Vol. 14, №5. – P. 213–217. 19. *Sicilia D., Rubio S., Perez-Bendito D., Maniasso N., Zagatto E.A.G.* Anionic surfactants in acid media: a new cloud point extraction approach for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples // *Analytica Chimica Acta.* – 1999. – Vol. 392, №1. – P. 29–38. 20. *Silva O.M.A., Arruda M.A.Z.* An aqueous two-phase system as a strategy for serum albumin depletion // *Talanta.* – 2009. – Vol. 77, №3. – P. 985–990. 21. *Tagashira S., Murakami Y., Otake S., et al.* Stripping of cadmium (II) xanthato complex from the anionic surfactant phase of sodium dodecylsulfate gel to the aqueous phase // *Analytical sciences.* – 1998. – Vol. 13. – P. 857–858. 22. *Werner G.J.* A simple method for the approximate estimation of the isoelectric point of soluble proteins // *Journal of biological chemistry.* – 1943. – Vol. 148. – P. 185–186. 23. *Yang T.H., Yet M.G.* Separation of γ -globulins from porcine plasma by reversed micellar extraction // *Journal of Bioscience and Bioengineering.* – 2001. – Vol. 92, №3. – P. 214–220. 24. Коршунов В.М. Следы на месте происшествия. Обнаружение, фиксация, изъятие. – М.: Экзамен, 2001. – 288 с.

Надійшла до редколегії 12.09.08

УДК 546.65*56+538.245

С. Неділько, д-р хім. наук, Ю. Шафорост, асп., О. Зенькович, канд. хім. наук

ТЕРМОГРАВИМЕТРИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СИНТЕЗУ ВТНП СПОЛУК СКЛАДУ LN123

Проведено термогравіметричне дослідження шихти, що відповідає складу сполук $\text{LnBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$ ($\text{Ln} = \text{Y, La, Sm, Gd}$). Показано, що нагріванні шихти для всіх досліджуваних складів спостерігається дві втрати маси: перша при температурі до 390°C – втрата конституційної води, друга в інтервалі $510\text{--}650^\circ\text{C}$ – відповідає за виділення вуглекислого газу внаслідок взаємодії карбонату барія з оксидами рідкісноземельних металів та міді. Ендоефекти, що спостерігаються на кривих ДТА, пов'язані з частковим плавленням проміжних продуктів (825°C) і перитетичним плавленням синтезованої фази $\text{LnBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7\pm\delta}$ ($965\text{--}970^\circ\text{C}$). Зміна маси практично закінчується при $930\text{--}940^\circ\text{C}$.

Thermogravimetric investigations of mixture of $\text{LnBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$ ($\text{Ln} = \text{Y, La, Sm, Gd}$) were conducted. It was shown that there are two weight losses for all samples: first at 390°C – loss of constitutional water, second at interval $510\text{--}650^\circ\text{C}$ – corresponds to carbon dioxide releasing as a result of barium carbonate reaction with lanthanide and copper oxides. Endoeffects seen on DTA curves are connected with partial melting of intermediates (825°C) and with peritectic melting of synthesized phase $\text{LnBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_7$ ($965\text{--}970^\circ\text{C}$). Weight changing almost stops at $930\text{--}940^\circ\text{C}$.

Вступ. Синтез високотемпературних надпровідних оксидних матеріалів традиційно проводять методами, які ґрунтуються на керамічній технології, що являє собою спікання оксидів металів і їх солей, так і на застоуванні "мокрих" хімічних процесів, в яких в якості вихідних матеріалів використовують розчини солей металів, наприклад нітрати. Серед цих процесів криохімічна і плазмохімічна технології, а також різноманітні методи співосадження є достатньо продуктивними і забезпечують високу однорідність продуктів синтезу [1].

Початкова багатоконпонентність надпровідних оксидних ВТНП систем, що складаються із чотирьох і більше складових, тому числі кисню, затрудняє досягнення стехіометричного складу і достатньої гомогенності вихідного продукту.

Вельми складною є і шарувата первокситноподібна структура $\text{Ln}123$ фаз. Так сполука $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_x$ при кімнатній температурі являє собою орторомбічну фазу, яка при нагріванні, починаючи з $350\text{--}400^\circ\text{C}$, втрачає кисень і переходить в тетрагональну фазу, що не володіє надпровідними властивостями. Ці властивості можуть бути відновлені повільним охолодженням кераміки від температури $900\text{--}930^\circ\text{C}$ до кімнатної температури в кисневому середовищі з ізотермічною витримкою при $350\text{--}400^\circ\text{C}$ на протязі декількох годин.

Ще однією несприятливою властивістю сполуки $\text{YBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_x$ є його підвищена хімічна активність по відношенню до тих сполук, що містяться в атмосфері – карбон (IV) оксид і пари вологи, що також призводить до деградації надпровідних властивостей через фазовий розклад [3].

Визначенню термодинамічних властивостей багатоконпонентної системи зазвичай передують синтез основних фаз, їх ідентифікація по кристалохімічним параметрам загартованих зразків, термографічні, термогравімет-

ричні і інші динамічні дослідження, які дають можливість одержати загальні уявлення о розташуванні фазових полів на діаграмі стану і дозволяють вибрати необхідні умови для подальшого вивчення рівноважних властивостей системи. В системі $\text{Y} - \text{Ba} - \text{Cu} - \text{O}$ такі попередні відомості в теперішній час одержані [2], хоча і опубліковано багато багатьох робіт, що не витримали повної перевірки. Основною причиною невдач є сильний вплив на склад і властивості кераміки навколишнього газового середовища, взаємодія її с парами води, вуглекислим газом, з матеріалом тиглів, підкладок. Часто невідтвореність результатів є наслідком неповноти перетворення початкових речовин при синтезі або неоднорідності зразків через неправильний режим відпалу [5].

Об'єкти та методи дослідження. Одержання однофазного купрату складу $\text{LnBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7\pm\delta}$ ($\text{Ln} = \text{Y, La, Sm, Ho}$) з високими і відтворюваними надпровідними властивостями потребує достатньо складних умов синтезу. Для того, щоб синтезувати ВТНП сполуки із даною структурою і властивостями необхідно встановити фактори, що визначають реакційну здатність твердого тіла. Для дослідження кінетики утворення фаз складу $\text{LnBa}_2\text{Cu}_3\text{O}_{7\pm\delta}$ ($\text{Ln} = \text{Y, La, Sm, Gd}$) використовували як термогравіметричний. Цей метод аналізу, тобто метод термічного аналізу, засновано на реєстрації зміни маси зразка в залежності від температури. Експериментально одержувана крива залежності зміни маси від температури (так звана термогравіметрична крива або термограма) дозволяє судити про термостабільність і склад зразка на початковому стані, про термостабільність і склад речовин, що утворюються на проміжних стадіях процесу і про склад залишку, якщо такий є. Цей метод є ефективним в тому випадку, коли зразок виділяє летючі речовини в результаті різних хімічних і фізичних процесів.