

**АДСОРБЦИЯ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ НА
ПОВЕРХНОСТИ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО
ДИОКСИДА ЦЕРИЯ**

Н.Н. Власова, Л.П. Головкова, Н.Г. Стукалина

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова 17, 03164 Киев, e-mail: natalie.vlasova@gmail.com*

Адсорбция фолиевой кислоты из водных растворов на поверхности нанокристаллического диоксида церия количественно оценена с точки зрения теории комплексообразования на поверхности раздела фаз. По данным потенциометрического титрования рассчитаны константы равновесия кислотно-основных реакций гидроксильных групп на поверхности диоксида церия. Исследование адсорбции фолиевой кислоты на поверхности диоксида церия из водных растворов в зависимости от рН позволило рассчитать константы комплексообразования образующихся поверхностных комплексов.

Введение

В настоящее время соединения церия широко используются в различных областях науки и техники в качестве функциональных материалов, катализаторов, компонентов керамики и стекол, кормовых добавок для животных в сельском хозяйстве и др. Лекарственные свойства соединений церия известны давно – первые публикации в этой области появились в начале XIX века. В большинстве случаев в качестве активного вещества использовали растворимые в воде соли церия (III), нерастворимые соединения применяли в виде коллоидных растворов [1]. В последние годы были обнаружены уникальные свойства нанокристаллического диоксида церия с размером частиц меньше 10 нм. Оказалось, что он обладает окислительно-восстановительными свойствами, благодаря которым может участвовать в качестве активного акцептора свободных радикалов в живом организме и инактивировании активных форм кислорода [2, 3]. Были разработаны специальные методы синтеза наночастиц диоксида церия (НДЦ) в виде золей, пригодных для использования в медико-биологических целях [4]. Для адресной доставки диоксида церия к поврежденным клеткам и органам требуется закрепить на поверхности наночастиц определенные биологически активные вещества [2]. Например, доставку НДЦ в зону его окислительно-восстановительного действия может обеспечить фолиевая кислота. Для анализа возможного действия таких систем необходимы знания о способе закрепления молекул на поверхности диоксида церия, которые могут быть получены при исследовании механизма адсорбции. При изучении взаимодействия молекул с золями нанокристаллического церия возникают определенные экспериментальные трудности. В то же время использование суспензий диоксида церия, содержащих частицы большего размера (>10 нм), снимает ряд проблем. Можно предположить, что характер и природа взаимодействия более крупных, но все еще наноразмерных частиц диоксида церия с органическими молекулами подобны взаимодействиям биомолекул с частицами меньшего размера, поскольку определяющими в данном случае являются такие свойства поверхности частиц как природа функциональных групп и заряд поверхности.

Целью настоящей работы было изучение адсорбционных взаимодействий фолиевой кислоты с поверхностью нанокристаллического диоксида церия.

Экспериментальная часть

В работе использовали нанокристаллический порошок диоксида церия (nanopowder, Aldrich) с удельной поверхностью 60 ± 5 м²/г (Nova 1200, Quantachrome). Исследования методом рентгенофазового анализа (дифрактометр ДРОН-3М) показали, что в соответствии с базой данных JCPDS Database (International Center for Diffraction Data, PA, 2001) диоксид церия имеет кубическую решетку (структурный тип флуорита, карточка 34-394). Размер кристаллитов, рассчитанный по уравнению Шеррера, составляет 31 нм. Эта величина согласуется с размером частиц, определенным производителем (<25 нм).

Фолиевая кислота («ч.д.а.», Fluka, Швейцария) была использована без дополнительной очистки. Для подведения pH растворов и суспензий до требуемых величин использовали стандарт-титры HCl и NaOH (Titrisol, Merck, Германия). Все растворы и суспензии были приготовлены на бидистиллированной воде.

Потенциометрическое титрование суспензий диоксида церия в водных суспензиях 0,01 и 0,1 моль/л NaCl было выполнено по описанной в [5] методике.

Для изучения зависимости адсорбции фолиевой кислоты от pH были приготовлены серии суспензий с различными значениями pH на фоне 0,01 М NaCl, содержащие 1 г диоксида церия и 50 мкмоль фолиевой кислоты в 1 л суспензии. Выдерживали суспензии в течение 2 ч и после проверки значения pH отделяли твердую фазу центрифугированием (8000 об/мин, 20 мин). Концентрации кислоты определяли по интенсивности поглощения в УФ-области (спектрофотометр Specord M-40). Максимум полосы поглощения водного раствора фолиевой кислоты при pH 3,4 находится при 282 нм ($\epsilon = 25600$), при повышении pH до 8 интенсивность поглощения увеличивается ($\epsilon = 28400$), полоса сдвигается очень незначительно до 280 нм. Величины адсорбции рассчитывали по разности исходной и равновесной концентраций и выражали в мкмоль/г.

Результаты и их обсуждение

Появление заряда на поверхности оксидов в результате взаимодействия с протонами водного раствора приводит к образованию двойного электрического слоя между раствором электролита и поверхностью оксида, который влияет на реакции комплексообразования с неорганическими и органическими молекулами. Для описания связывания протонов активными группами поверхности оксидов успешно применяются модели комплексообразования на поверхности [6]. В любом случае исследованию адсорбционных взаимодействий химических соединений предшествует изучение кислотно-основных свойств поверхностных групп оксида.

По результатам потенциометрического титрования суспензий НДЦ были рассчитаны величины поверхностного заряда в зависимости от pH и ионной силы, представленные на рис.1. Из этих данных видно, что кривые пересекаются в точке нулевого заряда при pH = 6,3. Найденные в литературе значения точки нулевого заряда (ТНЗ) для диоксида церия изменяются в довольно широком интервале величин от 5,2 до 8,2. Такой большой интервал значений ТНЗ, вероятно, объясняется тем, что изученные образцы диоксида церия синтезировались различными методами и отличались размерами частиц [7].

Для количественной оценки протолитических свойств диоксида церия и адсорбционных равновесий с участием органических молекул была использована основная модель поверхностного комплексообразования Штерна, согласно которой поверхность раздела фаз состоит из двух плоскостей: в одной из них осуществляется адсорбция потенциал-определяющих ионов (плоскость или слой 0), во второй происходит адсорбция слабо связывающихся противоионов (внутренний слой Гельмгольца, ИНР, обозначаемый также как плоскость или слой 1).

Согласно положениям теории комплексообразования заряд поверхности оксида изменяется в результате взаимодействия функциональных групп с протонами водного раствора, что приводит к протонированию или диссоциации этих групп:

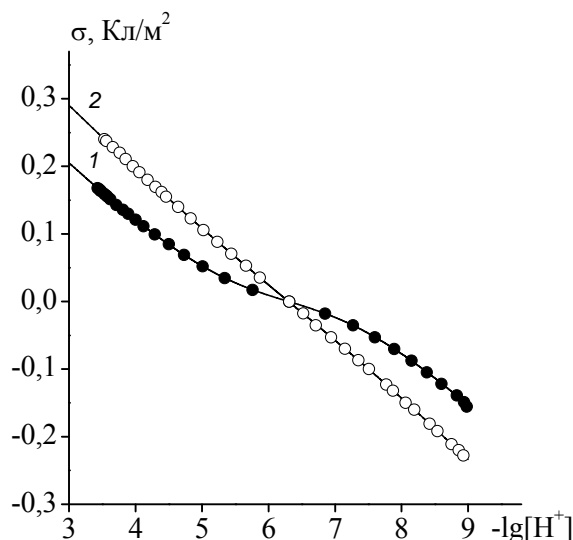
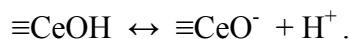
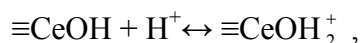


Рис.1 Экспериментальные (символы) и рассчитанные по основной модели Штерна (линии) величины поверхностного заряда диоксида церия в зависимости от рН и ионной силы: $C_{\text{CeO}_2} = 5$ г/л, $C_{\text{NaCl}} = 0,01$ (1) и $0,1$ М (2).

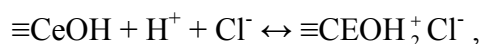
Эти протолитические равновесия характеризуются соответствующими константами

$$K_{s1}^{\text{int}} = \frac{[\text{CeOH}_2^+]}{[\text{CeOH}][\text{H}^+]} \exp(F\Psi_0 / RT) \quad \lg K_{s1}^{\text{int}} = 4,73 \pm 0,05,$$

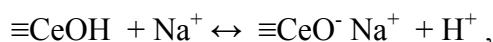
$$K_{s2}^{\text{int}} = \frac{[\text{CeO}^-][\text{H}^+]}{[\text{CeOH}]} \exp(-F\Psi_0 / RT) \quad \lg K_{s2}^{\text{int}} = -7,87 \pm 0,05,$$

где $[\text{CeOH}]$, $[\text{CeOH}_2^+]$ и $[\text{CeO}^-]$ – равновесные концентрации нейтральных, протонированных и диссоциированных гидроксильных групп поверхности (моль/л).

Ионы фонового электролита образуют с поверхностными гидроксильными группами комплексы [6, 8] по типу ионных пар или так называемых внешнесферных комплексов. Поэтому для описания протолитических свойств оксида, кроме реакций протонирования и диссоциации, необходимо учитывать реакции образования внешнесферных комплексов с ионами электролита:



$$K_{\text{Cl}^-}^{\text{int}} = \frac{[\text{CeOH}_2^+ \text{Cl}^-]}{[\text{CeOH}][\text{H}_s^+][\text{Cl}^-]} = \frac{[\text{CeOH}_2^+ \text{Cl}]}{[\text{CeOH}][\text{H}^+][\text{Cl}^-]} \exp\left(\frac{F(\Psi_0 - \Psi_1)}{RT}\right) \quad \lg K_{\text{Cl}^-}^{\text{int}} = 5,73 \pm 0,05,$$



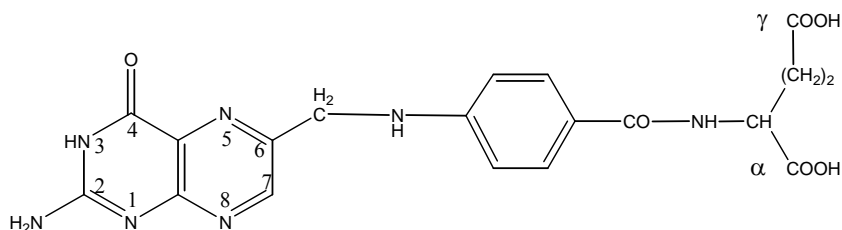
$$K_{\text{Na}^+}^{\text{int}} = \frac{[\text{CeO}^- \text{Na}^+][\text{H}_s^+]_s}{[\text{CeOH}][\text{Na}_s^+]} = \frac{[\text{CeO}^- \text{Na}^+][\text{H}^+]}{[\text{CeOH}][\text{Na}^+]} \exp\left(\frac{F(\Psi_1 - \Psi_0)}{RT}\right) \quad \lg K_{\text{Na}^+}^{\text{int}} = -6,87 \pm 0,05$$

С учетом всех реакций, протекающих на поверхности диоксида церия в присутствии водного раствора электролита, плотность поверхностного заряда может быть выражена уравнением

$$\sigma_0 = F / mS([CeOH_2^+] + [CeOH_2^+ Cl^-] - [CeO^-] - [CeO^- Na^+]).$$

Таким образом, сравнивая величины поверхностного заряда, рассчитанные по данным потенциометрического титрования, и величины, которые подбираются с использованием программы GRFIT [9], в результате последовательных приближений можно определить константы равновесия реакций протонирования-диссоциации и образования ионных пар. Численные значения этих констант равновесия приведены возле соответствующих уравнений.

Фолиевая кислота относится к группе водорастворимых витаминов В, обозначается как витамин В₉ или В_с. Она необходима для роста и развития кровеносной и иммунной систем, особенно важна ее роль в создании и поддержании в здоровом состоянии новых клеток. Процесс репликации ДНК требует участия фолиевой кислоты, нарушение этого процесса увеличивает опасность развития раковых опухолей. От нехватки фолиевой кислоты в первую очередь страдает костный мозг, в котором происходит активное деление клеток. Основная биохимическая функция фолиевой кислоты и её производных — перенос одноуглеродных групп, например метильных и формильных, от одних органических соединений к другим в процессе биосинтеза тимина, метионина, холина [10]. Молекула фолиевой кислоты состоит из трех «строительных» блоков: замещенного гетероциклического соединения птерина; *n*-аминобензойной кислоты и глутаминовой кислоты, поэтому ее еще называют — птероилглутаминовой кислотой:



Фолиевая кислота плохо растворима в воде, особенно в кислых растворах. Это затрудняет точное определение констант ее диссоциации. В литературе встречается несколько наборов констант диссоциации, которые отличаются не только величинами, но и отнесением этих значений к определенным группам молекулы фолиевой кислоты. Группами, подвергающимися диссоциации, несомненно, являются α - и γ -карбоксовые группы глутаминовой кислоты. Константы ионизации карбоксовых групп глутаминовой кислоты (pK) соответственно равны 2,30 и 4,28 [11]. В монографии [12] константы диссоциации, pK которых равны 4,65 и 6,75, отнесены к диссоциации карбоксовых групп глутаминового остатка фолиевой кислоты, хотя они несколько выше, чем для самой глутаминовой кислоты, значение $pK = 9,00$ — к диссоциации протона от группировки птеринового кольца N_3H-C_4O . Молекула фолиевой кислоты представляет собой трехосновную кислоту, от которой последовательно отщепляются 2 протона карбоксовых групп глутаминового заместителя, а затем протон группировки N_3H-C_4O . В водных растворах в зависимости от pH присутствуют различные формы фолиевой кислоты: нейтральные молекулы, одно-, двух- и трехзарядные анионы. На рис.2 представлена диаграмма распределения различно протонированных форм фолиевой кислоты.

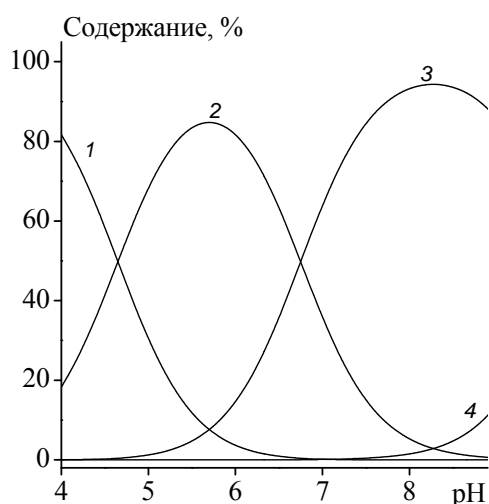


Рис. 2. Диаграмма распределения различных форм фолиевой кислоты: H_3L (1), H_2L^- (2), HL^{2-} (3) и L^{3-} (4).

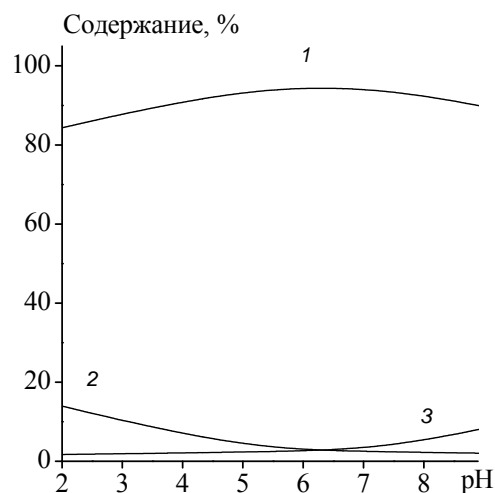
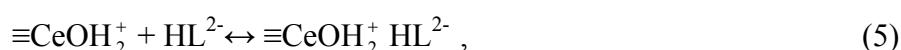
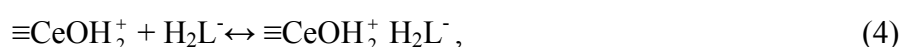
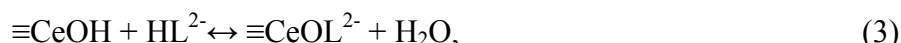
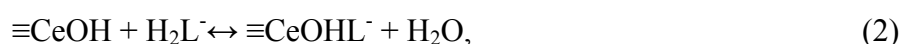
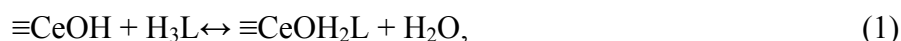


Рис. 3. Диаграмма распределения функциональных групп на поверхности диоксида церия: нейтральных $\equiv CeOH$ (1), протонированных $\equiv CeOH_2^+$ (2) и ионизированных $\equiv CeO^-$ (3).

Для выбора возможных реакций комплексообразования на поверхности оксида необходимо учесть состояние функциональных групп. На рис.3 представлена диаграмма распределения поверхностных групп диоксида церия, которые в зависимости от pH протонируются или ионизируются, при этом большая часть этих групп все-таки остаются нейтральными. Хотя доля заряженных групп на поверхности диоксида церия невелика, их концентрации достаточно высоки: так, концентрация групп $\equiv CeOH_2^+$ составляет 210 мкмоль/г при pH 2, концентрация групп $\equiv CeO^-$ равна 125 мкмоль/г при pH 9.

Анализ данных по адсорбции карбоновых и аминокислот на поверхности оксидов [13–17] позволяет предположить, что основными реакциями комплексообразования могут быть взаимодействия между нейтральными группами $\equiv CeOH$ и карбоксильными группами фолиевой кислоты с образованием ковалентной связи $Ce - O - C$. Возможны электростатические взаимодействия между положительно заряженными группами $\equiv CeOH_2^+$ и анионными формами фолиевой кислоты. Кроме того, при адсорбции органических кислот дополнительно образуются многочисленные водородные связи [16]. Сопоставление диаграмм распределения форм фолиевой кислоты в растворе и функциональных групп на поверхности диоксида церия позволяет предположить протекание следующих реакций комплексообразования:



Две первые реакции предполагают взаимодействие двух или одной протонированных карбоксильных групп глутаминового остатка с нейтральными группами $\equiv\text{CeOH}$ с образованием ковалентных связей. Реакция (3) предполагает взаимодействие между нейтральными группами поверхности и двухзарядным анионом, в котором диссоциированы обе карбоксильные группы. Реакции (4) – (6) соответствуют взаимодействиям между протонированными поверхностными группами и анионами фолиевой кислоты. Следует отметить, что трехзарядный анион образуется в растворе при $\text{pH} > 9$, т.е. в условиях, когда на поверхности практически не остается $\equiv\text{CeOH}_2^+$ групп. Реакции комплексообразования с участием ионизированных групп поверхности кажутся маловероятными вследствие того, что их область существования по шкале pH совпадает с областью присутствия в растворе анионных форм фолиевой кислоты: одноименно заряженные частицы испытывают взаимное отталкивание. Экспериментальные данные по адсорбции фолиевой кислоты (рис.4) были использованы для подбора констант устойчивости поверхностных комплексов с помощью программы GRFIT. Рассчитать адсорбционные кривые в предположении образования двух каких-либо комплексов не удалось.

Наилучшее соответствие между экспериментальными данными и рассчитанными адсорбционными кривыми было получено в предположении образования одного комплекса, в котором двухзарядный анион фолиевой кислоты взаимодействует с нейтральными или протонированными гидроксильными группами диоксида церия (кривые (3) и (4) на рис. 4). Образование таких же комплексов с однозарядным анионом кислоты в меньшей степени соответствует экспериментальным данным (кривые (1) и (2)).

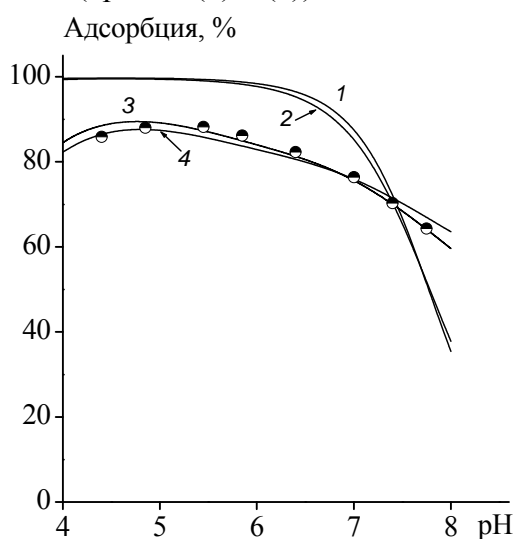


Рис. 4. Кривые адсорбции фолиевой кислоты на поверхности диоксида церия в зависимости от pH . Символы – экспериментальные значения адсорбции, линии – адсорбционные кривые, рассчитанные в предположении образования поверхностных комплексов: $\equiv\text{CeOH}_2^+ \text{H}_2\text{L}^-$ (1), $\equiv\text{CeOHL}^-$ (2), $\equiv\text{CeOH}_2^+ \text{HL}^{2-}$ (3) и $\equiv\text{CeOL}^{2-}$ (4).

Хотя двухзарядный анион фолиевой кислоты образуется при $\text{pH} > 6$, можно предположить, что на поверхности диоксида церия перенос протона от однозарядного аниона к группе $\equiv\text{CeOH}$ происходит при более низких значениях pH , при этом образуется комплекс $\equiv\text{CeOH}_2^+ \text{HL}^{2-}$. Константы устойчивости образующихся комплексов, рассчитанные с учетом констант диссоциации фолиевой кислоты и протонирования функциональных групп, приведены в таблице 1.

Из приведенных данных следует, что комплексы, образованные за счет электростатических взаимодействий, прочнее, чем комплексы с ковалентной связью. Вероятно, этот факт объясняется различными возможностями образования дополнительных водородных связей между анионами фолиевой кислоты и поверхностью оксида.

Таблица 1. Константы устойчивости комплексов фолиевой кислоты на поверхности диоксида церия

Реакция образования комплекса	Константа устойчивости (lgK±0,05)
$\equiv\text{CeOH} + \text{H}_2\text{L}^- \leftrightarrow \equiv\text{CeOHL}^- + \text{H}_2\text{O}$	5,10
$\equiv\text{CeOH} + \text{HL}^{2-} \leftrightarrow \equiv\text{CeOL}^{2-} + \text{H}_2\text{O}$	6,29
$\equiv\text{CeOH}_2^+ + \text{H}_2\text{L}^- \leftrightarrow \equiv\text{CeOH}_2^+ \text{H}_2\text{L}^-$	6,59
$\equiv\text{CeOH}_2^+ + \text{HL}^{2-} \leftrightarrow \equiv\text{CeOH}_2^+ \text{HL}^{2-}$	7,35

Для установления механизма адсорбции фолиевой кислоты на поверхности диоксида церия требуются дополнительные исследования: методом ИК-спектроскопии можно было бы выяснить, какие группировки молекулы адсорбата участвуют в непосредственном связывании с гидроксильными группами поверхности. Сравнительное исследование адсорбции глутаминовой и фолиевой кислоты также может обеспечить информацию о способе координации сорбирующихся молекул.

Выводы

Показано, что фолиевая кислота сорбируется на поверхности диоксида церия с образованием разнообразных по строению комплексов. Если при комплексообразовании связывание анионов фолиевой кислоты происходит по карбоксильным группам глутаминового заместителя, то активная группировка птеринового кольца, которая принимает участие в биохимических реакциях, остается «свободной» и доступной для взаимодействия с фолат-рецепторами.

Литература

1. Jakupcek M.A., Unfried P., Keppler B.K. Pharmacological properties of cerium compounds // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* – 2005 – V. 153. – P. 101 – 111.
2. Иванов В.К., Щербаков А.Б., Усатенко А.В. Структурно-чувствительные свойства и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия // *Успехи химии.* – 2009. – Т. 78, № 9. – С. 924 – 941.
3. Иванов В.К., Щербаков А.Б., Жолобак Н.М., Иванова О.С. Необычные свойства диоксида церия // *Природа.* – 2011. – №.3. –С. 47 – 57.
4. Иванов В.К., Полежаева О.С., Шапорев А.С. Синтез и исследование термической устойчивости зольей нанокристаллического диоксида церия, стабилизированных лимонной и полиакриловой кислотами // *Журн. неорган. химии.* – 2010. – Т. 55, № 3. – С. 368 – 373.
5. Власова Н.Н. Сравнение моделей комплексообразования на поверхности для количественного описания кислотных свойств высокодисперсного кремнезема // *Химия, физика и технология поверхности.* – 2008. – Вып. 14. – С. 6 – 15.
6. Westall J.C., Hohl H., A comparison of electrostatic models for the oxide/ solution interface // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 1980. – V. 12. – P. 265–294.
7. Kosmulski M. Chemical properties of material surfaces. – New-York – Basel: Marcel Dekker, 2001. – 780 p.
8. Davis J.A., Kent D.B. Surface complexation modeling in aqueous geochemistry // *Rev. Mineralog.* – 1990. – V. 23. – P.177–260.
9. Ludwig Chr. GRFIT, a Program for Solving Speciation Problems, Evaluation of Equilibrium Constants, Concentrations, and Other Physical Parameters. Internal Report of University of Bern, 1992.
10. Ленинджер А. Биохимия. – Москва: Мир, 1976. – 957 С.

11. Яцимирский К.Б., Крисс Е.Е., Гвяздовская В.Л. Константы устойчивости комплексов биометаллов с лигандами. Справочник. – Киев: Наук. думка, 1979. – 228 с.
12. Blakley R.L. The biochemistry of folic acid and related pteridines. – Amsterdam: North-Holland Co, 1969. – 570 P.
13. Biber M., Stumm W. An in-situ ATR-FTIR study: the surface coordination of salicylic acid on aluminum and iron (III) oxides // Environ. Sci. Technol. – 1994. – V.28, № 5. – P. 763–768.
14. Giancomelli C.E., Avena M.J., De Pauli C.P. Aspartic acid adsorption onto TiO₂ particle surface, experimental data and model calculations // Langmuir. – 1995. – V. 11, №9. – P. 3483 – 3490.
15. Kallay N., Preocanin T., Markovic J., Kovacevic D. Adsorption of organic acids on metal oxides // Colloids Surfaces A: Physicochemical Eng. Aspects. – 2007. – V. 306, №1-3. – P. 40– 48.
16. Parikh S.J., Kubicki J.D., Jonnson C.M., Jonnson C.L., Hazen R.M., Sverjensky D.A., Sparks D.L. Evaluation glutamate and aspartate binding mechanisms to rutile via ATR-FTIR spectroscopy and quantum chemical calculations // Langmuir. – 2011. – V. 27, №5. – P. 1778 – 1787.
17. Greiner E., Kumar K., Sumit M., Guiffre A., Zhao W., Pedersen J., Sahai N. Adsorption of L-glutamic and L-aspartic acid to γ -Al₂O₃ // Geochim. Cosmochim. Acta. – 2014. – V. 133. – P. 142 – 155.

АДСОРБЦІЯ ФОЛІЄВОЇ КИСЛОТИ НА ПОВЕРХНІ НАНОКРИСТАЛІЧНОГО ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ

Н.М. Власова, Л.П. Головкова, Н.Г. Стукаліна

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України,
вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна, natalie.vlasova@gmail.com*

Адсорбцію фолієвої кислоти з водних розчинів на поверхні нанокристалічного діоксиду церію кількісно оцінено з точки зору теорії комплексоутворення на поверхні. За даними потенціометричного титрування визначено константи рівноваги протолітичних реакцій гідроксильних груп на поверхні діоксиду церію. Дослідження адсорбції фолієвої кислоти з водних розчинів в залежності від рН дозволило розрахувати константи стійкості відповідних поверхневих комплексів.

ADSORPTION OF FOLIC ACID ON THE NANOCRYSTALLINE CERIA SURFACE

N.N. Vlasova, L.P. Golovkova, N.G. Stukalina

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine,
17 General Naumov Str. Kyiv, 03164, Ukraine, natalie.vlasova@gmail.com*

The adsorption of folic acid at the ceria/aqueous solution interface is considered in terms of surface complex formation theory. The equilibrium constants of acid-base reactions of hydroxyl groups of ceria and surface complex formation constants of folic acid are calculated.