

ВЛИЯНИЕ СОЛЯНОЙ КИСЛОТЫ И ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА НА СТРОЕНИЕ ГИДРАТНОГО ПОКРОВА КРЕМНЕЗЕМА, АДСОРБЦИОННО МОДИФИЦИРОВАННОГО ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ

**В.В. Туров, В.М. Гунько, А.П. Угнивенко,
Т.В. Крупская, В.Н. Барвинченко, Е.М. Пахлов**

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйки Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова, 17, Киев, 03164, Украина, v_turov@ukr.net*

Методом низкотемпературной ^1H ЯМР и ИК-спектроскопии изучена гидратация композита нанокремнезема А-300 и гиалуроновой кислоты. Установлено, что при ко адсорбции на поверхности нанокомпозита водных растворов HCl и H_2O_2 происходит их частичное разделение на составляющие. В случае адсорбции раствора HCl в ^1H ЯМР спектрах наблюдаются четыре сигнала, которые могут быть отнесены к концентрированному раствору $\text{HCl-H}_2\text{O}$, раствору $\text{HCl-H}_2\text{O}$ средней концентрации и воде, которая практически не растворяет кислоту. При адсорбции на поверхности А-300 водного раствора пероксида водорода присутствует в виде нанокластеров H_2O_2 , медленно обменивающихся с водой, а также 2 – 3 типа кластеров $\text{H}_2\text{O-H}_2\text{O}_2$ с разной концентрацией пероксида водорода. При адсорбции пероксида водорода на поверхности уплотненного композита разделение сигнала сильноассоциированной воды на составляющие не наблюдается, что, вероятно, обусловлено изменением текстурных характеристик материала.

Введение

Гиалуроновая кислота (ГК) является полисахаридом животного происхождения [1, 2] и входит в состав многих биологических жидкостей (стекловидное тело, синовиальная жидкость, слизистые оболочки внутренних органов). В последние годы ее активно используют в целом ряде лекарственных и косметических средств, поскольку она легко замещается в организме естественными биополимерами и может активно связывать образующиеся в процессе метаболизма свободные радикалы [3, 4]. ГК способна связывать значительное количество воды [5], поэтому в комбинации с минеральными адсорбентами может составлять основу сорбционных гелей, которые перспективны для внешнего и внутреннего применения. Композитные системы, созданные на основе непористого нанокремнезема и ГК, могут оказаться эффективными сорбентами для удаления токсичных веществ разной природы из биологических жидкостей. В отличие от гелей композиты могут быть достаточно устойчивыми в водной среде и сохранять свой состав длительное время. При этом их адсорбционные характеристики во многом определяются строением гидратных структур, которые формируются на границах раздела твердых частиц с макромолекулярной фазой.

Исследования, выполненные методом низкотемпературной ^1H ЯМР спектроскопии [6], показали, что при контакте гидратированных частиц кремнезема или ГК со слабополярной органической дисперсионной средой на межфазной границе образуется система кластеров воды с разной степенью ассоциированности, между которыми обмен молекулами воды может осуществляться быстро или медленно в шкале времени ЯМР в зависимости от типа дисперсионной среды, концентрации воды и других компонент. Максимальная упорядоченность воды отвечает участию каждой молекулы в образовании четырех водородных связей, что, например, характерно для структуры

гексагонального льда. В этом случае химический сдвиг протонов воды $\delta_H = 7$ м.д. [7]. Если среднее число водородных связей на одну молекулу более двух, то такую воду можно считать сильноассоциированной (SAW, химический сдвиг $\delta_H > 3$ м.д.). Слабоассоциированная вода (WAW, химический сдвиг $\delta_H < 2$ м.д.) соответствует структурам воды, в которых среднее число водородных связей на молекулу, как протонодонора, меньше единицы. Кроме этого, в гетерогенных системах могут присутствовать молекулы воды, образующие одну водородную связь с электронодонорными центрами поверхности или веществ, растворенных в дисперсионной среде (ASW). Обычно химический сдвиг протонов воды в таких комплексах (усредненный по двум протонам молекулы воды) составляет 2 – 3 м.д.

Целью настоящей работы было изучение особенностей формирования гидратных структур на межфазной границе композитного материала, состоящего из нанокремнезема А-300 и ГК, в присутствии добавок соляной кислоты или пероксида водорода в органических дисперсионных средах различной полярности. Как HCl, так и H₂O₂ являются продуктами метаболизма, которые могут присутствовать в биологических средах и внутриклеточной жидкости.

Экспериментальная часть

В исследованиях использовали лиофилизированную гиалуроновую кислоту, содержащую 1,7 % масс. воды. Исследовали два типа композитов. Для создания первого навеску гиалуроновой кислоты и кремнезема 1:10 (А-300 с удельной поверхностью 280 м²/г и насыпной плотностью $C_d = 50$ мг/мл производства Калушского опытно-экспериментального завода Института химии поверхности им. А.А. Чуйко) помещали в агатовую ступку и тщательно растирали в присутствии 5 частей воды в течение 0,5 ч. При этом формировался композитный материал, насыпная плотность которого составляла 215 мг/мл, а содержание ГК в сухом композите составляло 6 % (SiO₂–ГК1). Для приготовления второго композита одну часть первого композита смачивали 8 частями дистиллированной воды, тщательно перемешивали образовавшийся гель, подвергали механическому уплотнению в шаровой мельнице, а затем высушивали. В результате получали композитный материал с насыпной плотностью 270 мг/мл (SiO₂–ГК2). Полученный композит сушили при 320 К в течение недели. При измерении спектров ЯМР в температурном интервале 200 – 290 К помещали 120 и 172 мг композитов в 5 мм измерительную ампулу ЯМР. Далее, к образцу добавляли некоторое количество дейтерированных органических растворителей. После интенсивного встряхивания образец герметизировали и уравнивали при комнатной температуре в течение 1 – 2 ч.

Спектры ЯМР получали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения (Varian 400 Mercury) с рабочей частотой 400 МГц. Использовали 90° зондирующий импульс, длительностью 3 мкс. Температура в датчике регулировалась термоприставкой Bruker VT-1000 с точностью ± 1 град. Интенсивности сигналов определяли путем измерения площади пиков с использованием процедуры разложения сигнала на его составляющие в предположении гауссовской формы сигнала и оптимизации его нулевой линии и фазы с точностью, которая для хорошо разрешенных сигналов была не ниже $\pm 5\%$, а для перекрывающихся сигналов – $\pm 10\%$. Для предотвращения переохлаждения воды в исследуемых объектах измерения концентрации незамерзающей воды проводили при нагревании образцов, предварительно охлажденных до температуры 200 К. Методики ЯМР-измерений и определения термодинамических характеристик и радиуса кластеров межфазной воды подробно описаны ранее [7 – 9].

Для определения геометрических размеров кластеров связанной воды использовали уравнение Гиббса – Томсона [10], связывающее радиус цилиндрической поры (R) со снижением температуры замерзания воды в ней:

$$\Delta T_m = T_m(R) - T_{m,\infty} = \frac{2\sigma_{sl}T_{m,\infty}}{\Delta H_f \rho R}, \quad (1)$$

где $T_m(R)$ – температура плавления льда, локализованного в порах радиуса R , $T_{m,\infty}$ – температура плавления объемного льда, ρ – плотность твердой фазы, σ_{sl} – энергия взаимодействия твердого тела (макромолекулы, лед) с жидкостью и ΔH_f – объемная энтальпия плавления. Это уравнение может быть использовано для вычисления распределения пор по размерам из температурной зависимости величины концентрации незамерзающей воды (C_{uw}), полученной на основе метода ^1H ЯМР спектроскопии с послойным вымораживанием воды, для суспензий твердых тел или гидратированных биологических объектов, когда применение других методов анализа структурных характеристик затруднительно [7 – 9]. Для практического использования уравнение (1) можно применять в виде $\Delta T_m = k/R$, в котором константа k для полимерных систем, содержащих воду, близка к 50 К·нм [10].

В качестве дисперсионной среды использовали дейтерохлороформ, в который добавляли фиксированные количества дейтероацетонитрила или дейтеродиметилсульфоксида (ДМСО) для изменения полярных свойств среды. Дейтерированные органические растворители использовали для предотвращения появления в спектрах интенсивных сигналов протонов, относящихся к дисперсионной среде.

Адсорбцию ГК из водных растворов изучали в статических условиях путем смешивания с кремнеземом до установления равновесия (6 ч) при 298 К. Во всех экспериментах общий объем раствора составлял 20 мл, масса сорбента – 0,1 г. После адсорбции суспензию центрифугировали (8000 об/мин, 15 мин) и определяли равновесную концентрацию ГК в растворе при помощи карбазольного метода Дише [11, 12]. Метод Дише можно использовать для определения содержания гиалуроновой кислоты в водных растворах с концентрацией от 0,008 до 0,8 мг/мл [13]. Использовали карбазол производства „Sigma-Aldrich” (США).

Электронные спектры записывали на спектрофотометре Specord M-40 (Carl Zeiss, Jena). Величину адсорбции рассчитывали по формуле

$$A = (C_0 - C_{ГК})V/m,$$

где C_0 – начальная концентрация ГК, мг/мл; $C_{ГК}$ – равновесная концентрация ГК, мг/мл; V – объем раствора, мл; и m – масса сорбента, г.

ИК-спектры поглощения были получены на спектрометре «Specord M-80» (Carl Zeiss, Jena) (в диапазоне 4000 – 400 см^{-1}). Исследуемые наноконкомпозиты прессовали в пластинки размером 8×28 мм^2 и массой 20±0,5 мг в специальной пресс-форме с КВг (при соотношении 1:5).

Результаты и обсуждение

Поскольку при создании композитных материалов на основе высокодисперсного кремнезема и биополимеров путем импрегнации возможно образование как механической смеси компонентов (полимерная и минеральная составляющие не связаны молекулярными взаимодействиями), так и полимерного покрытия поверхности минеральных частиц, была изучена адсорбция ГК из водных растворов на поверхности нанокремнезема А-300. На рис. 1 приведен спектр поглощения водного раствора гиалуроновой кислоты ($C_{ГК} = 0,4$ мг/мл) после ее обработки карбазолом, для которого максимум поглощения находится при $\lambda = 525$ нм (рис. 1 а), и зависимость оптической плотности растворов от концентрации ГК (рис. 1 б).

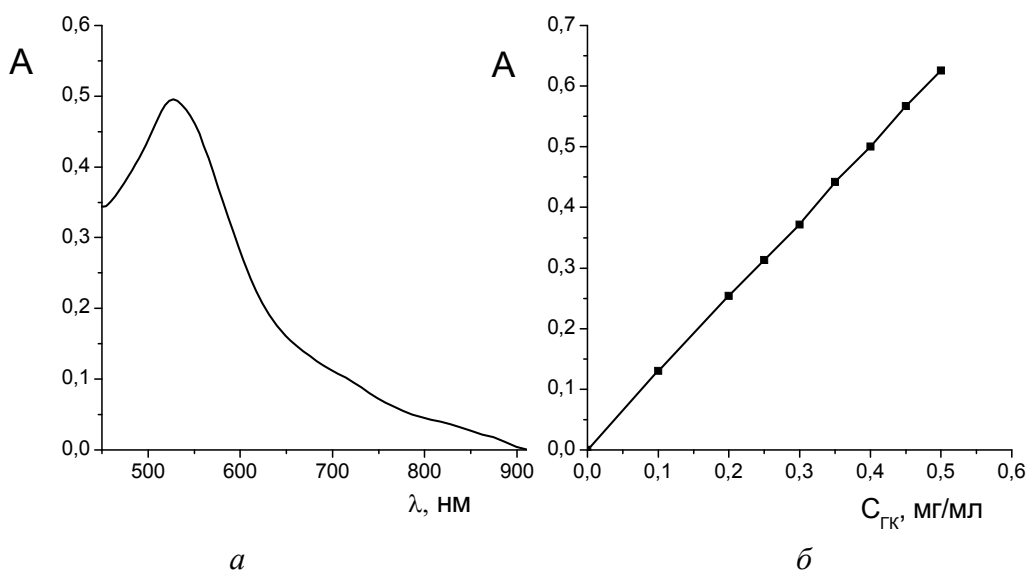


Рис.1. Спектр водного раствора ГК ($C_{ГК} = 0,4$ мг/мл) после обработки карбазолом (а) и зависимость оптической плотности (при 525 нм) раствора от концентрации ГК (б).

По изменению интенсивности поглощения при $\lambda = 525$ нм была рассчитана изотерма адсорбции ГК из водного раствора при рН 6,5 (рис. 2 а). Она относится к ленгмюровскому типу изотерм. Емкость моно слоя при комнатной температуре составляет 28 мг/г. Это значение является достаточно малым по сравнению с адсорбцией менее полярных полимеров. Например, для поливинилпирролидона, поливинилового спирта и полиэтиленгликоля емкость моно слоя почти на порядок больше (150 – 200 мг/г). На изотерме отсутствует резкий начальный подъем. Поэтому изменение свободной энергии при адсорбции ГК относительно невелико (рис. 2 б). Подобное поведение характерно для поликислот, поскольку его определяют два фактора: электростатическое отталкивание отрицательно заряженных кислотных остатков от отрицательно заряженной поверхности кремнезема (рН 6,5) и высокая энергия десольватации при адсорбции, которые отрицательно сказываются на величине адсорбции. Адсорбционные взаимодействия ОН групп поверхности и амидных групп ГК в некоторой степени компенсируют указанные эффекты, поэтому ее адсорбция на нанокремнеземе все же не нулевая.

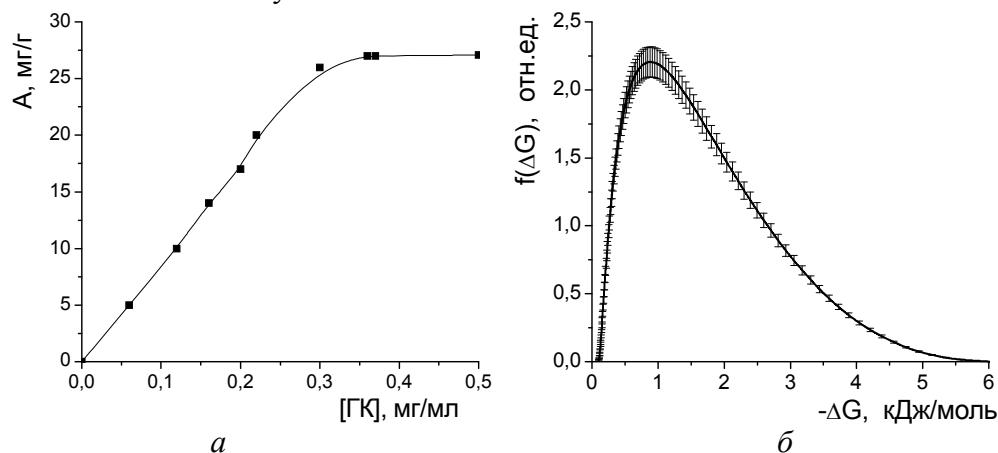


Рис. 2. Изотерма адсорбции гиалуроновой кислоты на кремнеземе А-300 (а) и соответствующее распределение свободной энергии адсорбции ГК, рассчитанное методом регуляризации по интегральному уравнению с ядром ленгмюровского типа.

На рис. 3 приведены ИК-спектры поглощения гиалуроновой кислоты и нанокомпозитов SiO₂-ГК1(2). В композитах присутствуют все полосы, характерные для ГК [14]. Полосы свободных силанольных групп кремнезема (3750 см⁻¹) не наблюдаются вследствие взаимодействия SiOH как с водой, так и с ГК. При формировании композита значительная часть силанольных групп образует водородносвязанные комплексы с активными центрами гиалуроновой кислоты. В ИК-спектрах ГК активны валентные колебания C – Н групп (2928 см⁻¹). В спектрах полученных композитов присутствуют симметричные (2856 см⁻¹) и асимметричные (2928 см⁻¹) валентные колебания (ν_{C-H}) в СН₂-группах пиранозного кольца. В случае SiO₂-ГК1 они видны как слабоинтенсивный сигнал, расположенный на левом плече полосы поглощения гидроксильных групп связанной воды, кремнезема и ГК, участвующих в формировании водородных связей. В случае композита SiO₂-ГК2 полосы валентных колебаний C–Н групп (2856 и 2928 см⁻¹) значительно интенсивнее, что свидетельствует о более полном распределении кислоты по поверхности. Необходимо также отметить для SiO₂-ГК2 наличие полос деформационных колебаний, характерных для СН₃-групп (1384 см⁻¹) и СН₂-групп (1412 см⁻¹), которые менее интенсивны, чем в чистой гиалуроновой кислоте.

Пик поглощения в области между 1610 и 1690 см⁻¹, относящийся к валентным колебаниям связи C=O в амидной группе N-ацетилгалактозамина (1630 – 1670 см⁻¹, амид I). Поскольку этот пик попадает в область пика воды (максимум вблизи 1620 см⁻¹), то происходит их наложение, затрудняющие их разделение. В области 1554 см⁻¹ проявляются деформационные колебания типа амид II, являющиеся комбинацией валентных колебаний связи C–N и деформационных колебаний связи N–H. В целом наблюдаемая спектральная картина характерна для систем полимер/нанокремнезем с хорошо распределенным полимером в адсорбционном слое.

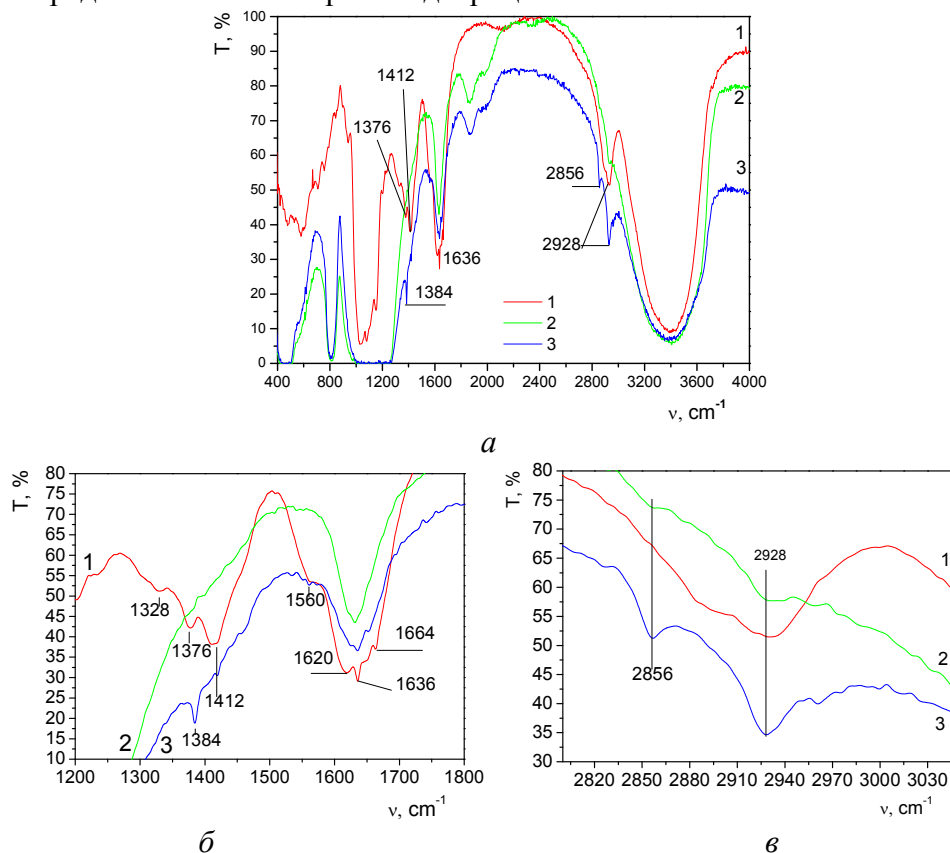


Рис. 3. ИК-спектры поглощения композита SiO₂-ГК и ГК: 1 – ГК; 2 – SiO₂-ГК1; 3 – SiO₂-ГК2: а – полные; б, в – в выбранных диапазонах.

На рис. 4 приведены снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР нанокompозита $\text{SiO}_2\text{-ГК1}$ (а) с добавкой соляной кислоты (б-г) в среде хлороформа (б) и смесях $\text{CHCl}_3\text{-CD}_3\text{CN}$ (в,г). Для исходного образца композита, содержащего 40 мг/г адсорбированной воды, в среде CDCl_3 (рис. 4 а) в спектрах, кроме сигналов тетраметилсилана (ТМС) и остаточных протонов непродейтерированной составляющей хлороформа, наблюдаются сигналы сильно- и слабоассоциированной воды с химическими сдвигами δ_{H} 3,5 – 4,5 и 1,3 м.д., соответственно. С понижением температуры химический сдвиг, интенсивность и ширина сигнала WAW изменяется слабо. Для сигнала SAW регистрируется уменьшение интенсивности сигнала с понижением температуры, вызванное частичным замерзанием связанной воды, которое наиболее заметно при $T < 230$ К. Одновременно фиксируется смещение сигнала в область больших значений химического сдвига, обусловленное ростом упорядоченности водных полиассоциатов.

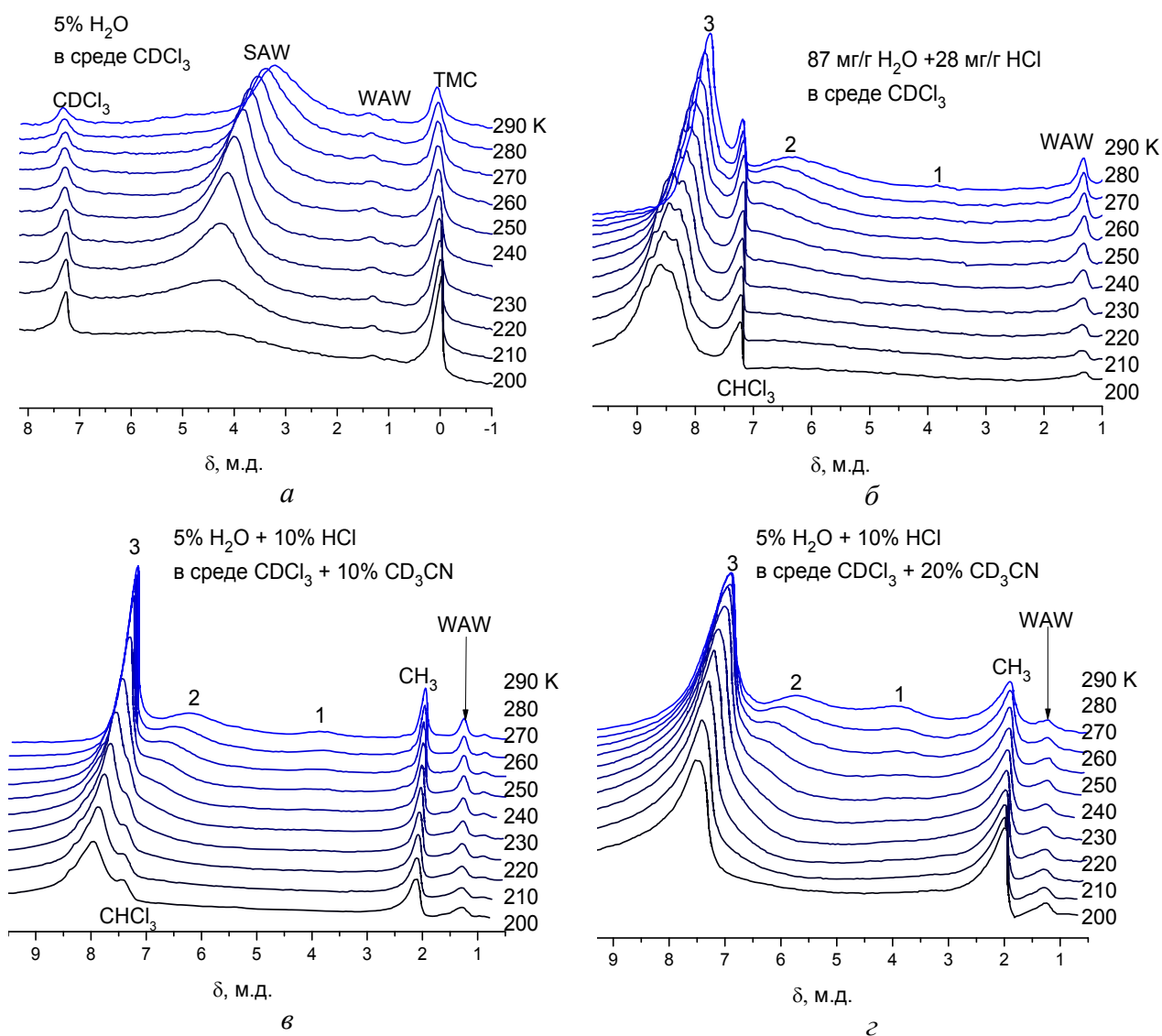


Рис. 4. Снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР нанокompозита $\text{SiO}_2\text{-ГК1}$ (а) с добавкой соляной кислоты (б – г) в среде хлороформа (б) и смесях $\text{CHCl}_3\text{-CD}_3\text{CN}$ (в, г).

Соляная кислота использована в виде 36 % – ного раствора, в котором на каждую молекулу HCl приходится около 4 молекул воды. Добавление к нанокompозиту соляной кислоты сопровождается соответствующим ростом концентрации связанной воды (рис. 4 б – з). В присутствии соляной кислоты вид спектров существенно изменяется. Вместо одного сигнала SAW наблюдаются три сигнала (сигналы 1 – 3, рис. 4 б – з), различающиеся величиной химического сдвига. Как было показано в [15], вследствие быстрого протонного обмена $\text{HCl} \leftrightarrow \text{H}_2\text{O}$ жидкая соляная кислота содержит в спектрах ^1H ЯМР только один сигнал, химический сдвиг которого увеличивается от 8,9 до 9,4 м.д. с понижением температуры от 290 до 200 К. Тогда данные рис. 4 б – з могут свидетельствовать о существовании в поверхностном слое нанокompозита SiO_2 –ГК1 кластеров воды, обладающих разной способностью к растворению HCl. Химический сдвиг протонов в кластерах адсорбированной воды, ответственных за сигнал 1, практически совпадает со значением химического сдвига SAW на рис. 4 а. Следовательно, этот тип кластеров связанной воды практически не растворяет HCl и не участвует в образовании с ее молекулами водородносвязанных комплексов, в которых могут осуществляться реакции быстрого протонного обмена.

Химический сдвиг сигнала 2 при 290 К составляет δ_{H} 6,3 м.д. С понижением температуры его интенсивность быстро уменьшается, а химический сдвиг растет. Вероятно, этот тип воды относительно хорошо растворяет HCl, а при понижении температуры вклад этих структур уменьшается за счет трансформации в кластеры с сигналом 3, спектральные характеристики которых близки к характеристикам жидкого раствора HCl (происходит криоконцентрирование раствора). С понижением температуры наблюдается расщепление сигнала 3, которое может быть связано с пространственной неоднородностью образца или кластеров раствора HCl.

Повышение полярности дисперсионной среды за счет добавления к хлороформу ацетонитрила (рис. 4 в, з) приводит к некоторой стабилизации кластеров, ответственных за сигнал 1, и дестабилизации кластеров, ответственных за сигнал 2, что проявляется в изменениях их интенсивностей. Химический сдвиг сигнала 3 с ростом концентрации CD_3CN уменьшается.

В отличие от соляной кислоты, пероксид водорода при низких температурах наблюдается в спектрах ^1H ЯМР в виде двух сигналов, отвечающих H_2O_2 и H_2O , с химическими сдвигами δ_{H} 11 – 12 и 5 – 6 м.д., соответственно [16]. Это объясняется наличием в жидком пероксиде водорода воды (SAW), молекулы которой взаимодействуют с H_2O_2 , образуя водородносвязанные ассоциаты преимущественно на внешней границе кластеров и доменов SAW [16]. Малая скорость протонного обмена $\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ (поскольку линии относительно узкие и разделенные) свидетельствует об относительно небольшом числе таких ассоциатов.

В случае адсорбции водного раствора H_2O_2 на поверхности нанокompозита SiO_2 –ГК1 в спектрах фиксируются два сигнала SAW (сигналы 1 и 2 на рис. 5 а) и сигнал H_2O_2 с химическим сдвигом δ_{H} 11 м.д., ширина которого увеличивается с ростом температуры, что связано с ускорением протонного обмена $\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$. При этом увеличивается также и ширина сигналов 1 и 2. Сигнал WAW наблюдается в спектрах в виде слабоинтенсивного сигнала с химическим сдвигом $\delta_{\text{H}} = 1,3$ м.д.

При добавлении в дисперсионную среду ацетонитрила (рис. 5 б) наблюдается перераспределение интенсивностей сигналов 1 и 2 (сигнал 1 растет). Сигнал H_2O_2 разделяется на два сигнала с химическими сдвигами δ_{H} 11 и 9 м.д. С ростом концентрации CD_3CN ($C_{\text{CD}_3\text{CN}}$) до 16 % интенсивности этих сигналов становятся близкими (рис. 5 в), а при $C_{\text{CD}_3\text{CN}} = 32$ % наблюдается только сигнал H_2O_2 при δ_{H} 9 м.д. Кроме того, с ростом концентрации CD_3CN в спектрах появляется сигнал 3 с химическим сдвигом δ_{H} 2,8 м.д., который при $C_{\text{CD}_3\text{CN}} = 32$ % становится доминирующим.

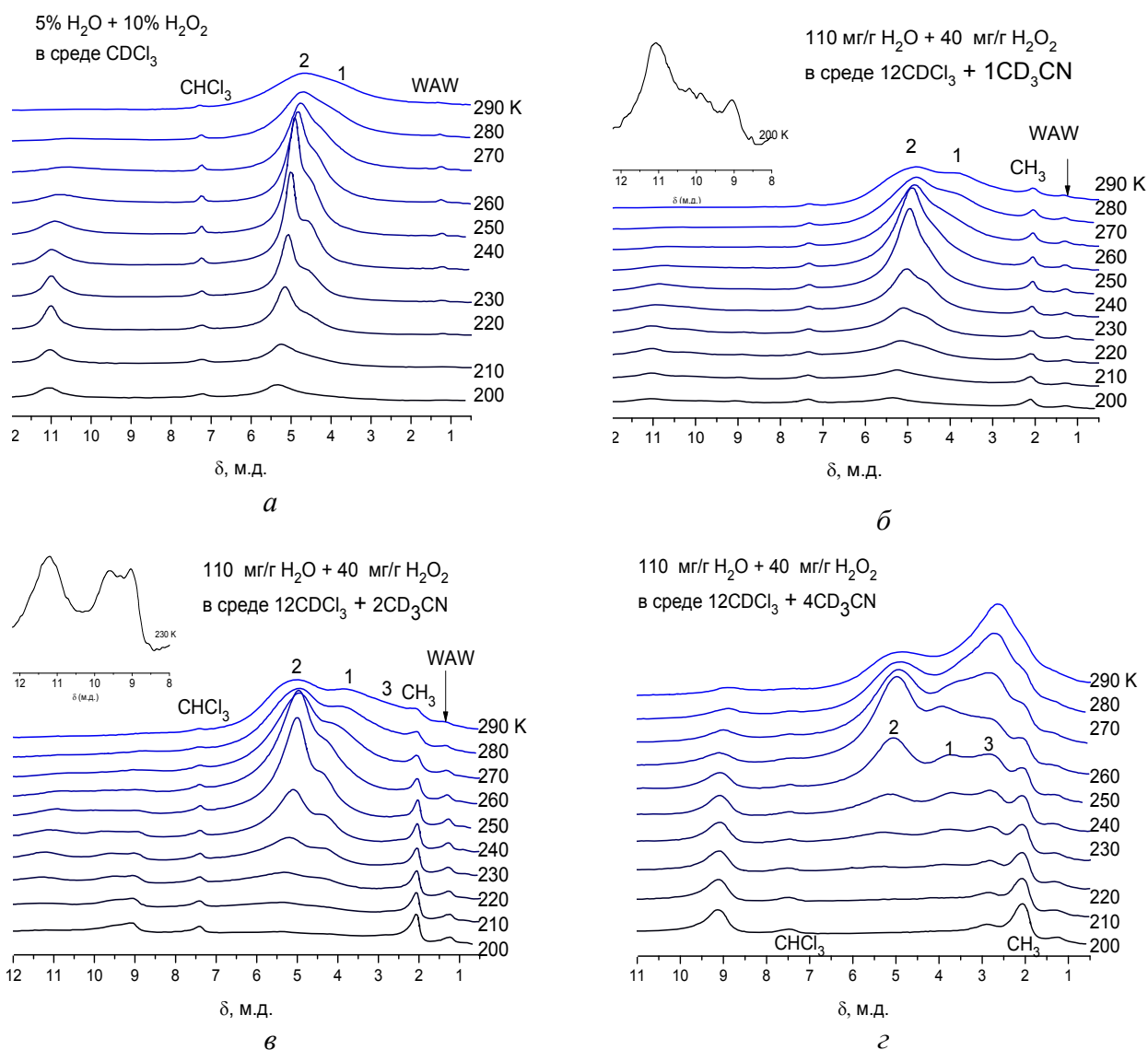


Рис. 5. Снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР водного раствора пероксида водорода, адсорбированного нанокomпозитом $\text{SiO}_2\text{-ГК1}$, в среде CDCl_3 (а) и влияние на них добавок ацетонитрила (б – г).

Химический сдвиг сигнала 3 близок по величине к химическому сдвигу воды, входящей в состав водородно-связанных комплексов $\text{HO-H}\cdots\text{N}\equiv\text{CCD}_3$. Поскольку ацетонитрил неограниченно растворим в хлороформе, можно было бы предположить, что сигнал 3 относится к дисперсионной среде, растворяющей комплексы ацетонитрила с водой. Однако, как следует из данных рис. 4 в случае адсорбции на поверхности композита $\text{SiO}_2\text{-ГК1}$ соляной кислоты при близких концентрациях связанной воды и CD_3CN такой эффект не наблюдается. Тогда данные рис. 5 в – г можно объяснить стабилизацией ацетонитрилом поверхностных комплексов, в которые входят ассоциаты $\text{HO-H}\cdots\text{N}\equiv\text{CCD}_3$, хлороформ, а, возможно, и слабоассоциированные формы воды. Основной рост интенсивности сигнала 3 (рис. 5 г) происходит в температурном диапазоне $240 < T \leq 290$ К при соответствующем уменьшении интенсивности сигналов 1 и 2.

На рис. 6 представлены результаты исследования влияния соотношения концентраций адсорбатов (H_2O и H_2O_2) и присутствия ацетонитрила в дисперсионной среде на параметры гидратных структур, образующихся на поверхности уплотненного нанокomпозита $\text{SiO}_2\text{-ГК2}$. Для образца, содержащего 35 м/г H_2O и 40 мг/г H_2O_2 (рис. 6

a), в спектрах отдельно регистрируются сигналы H_2O_2 , SAW и WAW. В отличие от композита $\text{SiO}_2\text{-ГК1}$ (рис. 5) сигнал SAW не разделяется на составляющие. Его химический сдвиг сложным образом меняется с изменением температуры. Минимальное значение δ_{H} наблюдается при 250 К. Поскольку сигнал H_2O_2 наблюдается в спектрах при $T < 260$ К, можно предположить, что рост химического сдвига при большей температуре обусловлен переходом протонного обмена $\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$ из области медленного (в шкале времени ЯМР) в область быстрого обмена, когда фиксируется один усредненный сигнал воды и пероксида водорода. С увеличением концентрации воды в образце (рис. 6 *б*) рост химического сдвига сигнала SAW с повышением температуры становится менее заметным вследствие большей доли протонов воды в усредненном сигнале.

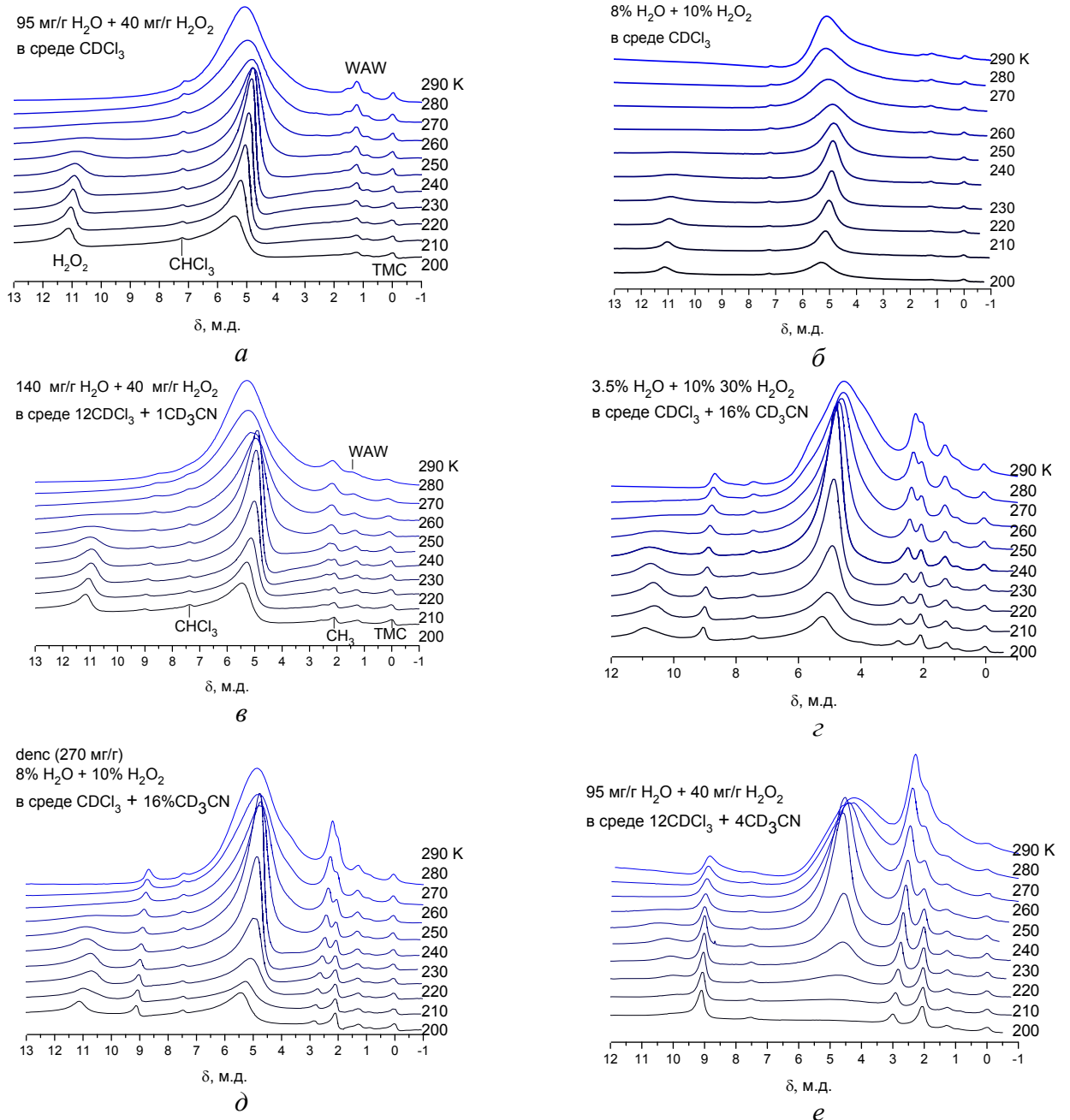


Рис. 6. Снятые при разной температуре ^1H ЯМР спектры воды и пероксида водорода, адсорбированных на поверхности нанокompозита $\text{SiO}_2\text{-ГК2}$ в среде CDCl_3 (*a*) и смесях $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{CN}$ (*б* – *е*) при разном соотношении концентраций H_2O и H_2O_2 .

При введении в дисперсионную среду ацетонитрила (рис. 6 *в – е*) в спектрах появляется сигнал воды с химическим сдвигом δ_H 2,8 – 3 м.д., отнесенный нами к комплексам $\text{HO}-\text{H}\cdots\text{N}\equiv\text{CCD}_3$. Однако при близком составе дисперсионной среды и соотношении концентраций адсорбатов этот сигнал остается значительно менее интенсивным, чем для композита SiO_2 -ГК1. Следовательно, трансформация межфазной воды в систему кластеров, по-разному растворяющих пероксида водорода, зависит от структурных характеристик внутренних пустот в композите, доступных для адсорбции H_2O , H_2O_2 и компонент дисперсионной среды. Присутствие ацетонитрила в дисперсионной среде замедляет реакцию протонного обмена $\text{H}_2\text{O}\leftrightarrow\text{H}_2\text{O}_2$ и он становится медленным в шкале времени ЯМР во всем диапазоне изменения температуры.

С ростом концентрации CD_3CN в спектрах ^1H ЯМР возрастает интенсивность сигнала H_2O_2 при δ_H 9 м.д. Его ширина слабо зависит от температуры. Уменьшение химического сдвига H_2O_2 в присутствии ацетонитрила характеризует изменение строения адсорбционных комплексов (кластеров) пероксида водорода на поверхности нанокompозита SiO_2 -ГК1(2). Вероятно, в среде CDCl_3 молекулы H_2O_2 преимущественно образуют димеры (или более сложные ассоциаты), в которых химический сдвиг протонов равен δ_H 11 м.д. и определяется параметрами водородной связи $\text{H}-\text{O}-\text{O}-\text{H}\cdots\text{O}(\text{OH}_2)$. При наличии в дисперсионной среде достаточного количества ацетонитрила, молекулы которого характеризуются меньшей электронодонорной способностью, чем H_2O_2 , происходит формирование также и менее прочных водородносвязанных комплексов $\text{H}-\text{O}-\text{O}-\text{H}\cdots\text{N}\equiv\text{CCH}_3$ (δ_H 9 м.д.), число которых возрастает с ростом концентрации ацетонитрила.

Для подтверждения отнесения сигналов H_2O_2 на рис. 7 приведены снятые при разной температуре спектры ^1H ЯМР адсорбированного на поверхности нанокompозита SiO_2 -ГК2 водного раствора пероксида водорода при замене ацетонитрила более сильным электронодонором – диметилсульфоксидом (ДМСО).

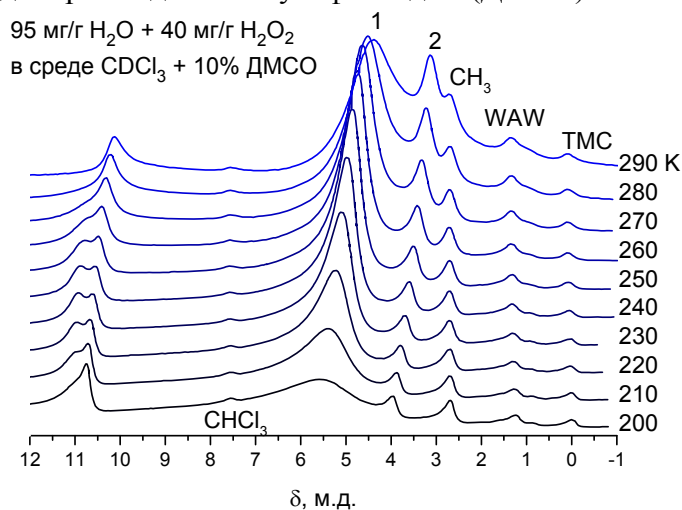


Рис. 7. Снятые при разной температуре ^1H ЯМР спектры водного раствора пероксида водорода, адсорбированного на поверхности нанокompозита SiO_2 -ГК2 в смеси CDCl_3 -ДМСО.

В спектрах наблюдаются три сигнала воды, из которых сигнал 1 с химическим сдвигом δ_H 4,8 – 5,8 м.д. может быть отнесен к сильноассоциированной воде, сигнал 2 – к воде, адсорбированной композитом в виде водородносвязанных комплексов $\text{HO}-\text{H}\cdots\text{O}=\text{S}(\text{CH}_3)_2$, и сигнал слабоассоциированной воды (WAW). Химический сдвиг сигнала 2 (δ_H 3,5 – 4 м.д.) несколько больше, чем для аналогичного сигнала в среде CDCl_3 - CD_3CN , что обусловлено большей электронодонорной способностью молекул

ДМСО. По этой же причине сигнал H_2O_2 , обусловленный водородносвязанными комплексами $H-O-O-H \cdots O=S(CH_3)$, также имеет большую величину химического сдвига, чем в комплексах $H-O-O-H \cdots N \equiv CCH_3$ (ср. рис. 6 и 7).

В соответствии с формулой (1) на основании зависимостей концентрации незамерзшей связанной воды от температуры могут быть рассчитаны радиусы кластеров воды, адсорбированной на поверхности нанокompозитов SiO_2 -ГК1(2). Однако в случае использования в качестве адсорбатов водных растворов HCl или H_2O_2 использование уравнения Гиббса – Томсона осложняется возможностью понижения температуры замерзания связанной воды не только за счет эффектов ограниченного пространства, но и растворения в ней соляной кислоты и пероксида водорода и коллигативных свойств этих растворов. Кроме того, появление в спектрах нескольких сигналов воды и перераспределение их интенсивностей при изменении температуры в процессе проведения экспериментов также ограничивает возможность корректного расчета. Поэтому провести оценочные расчеты распределения по радиусам кластеров адсорбированной воды можно лишь для нескольких из изученных систем и в ограниченном интервале температур.

На рис. 8 приведены зависимости изменения с температурой концентрации (интенсивности сигнала) незамерзающей воды для композита SiO_2 -ГК1 в среде $CDCl_3$, содержащем 40 и 110 мг/г адсорбированной воды, и композита SiO_2 -ГК2, содержащего 95 мг/г H_2O и 40 мг/г H_2O_2 , в среде $CDCl_3$ и $CDCl_3$ с добавками ацетонитрила.

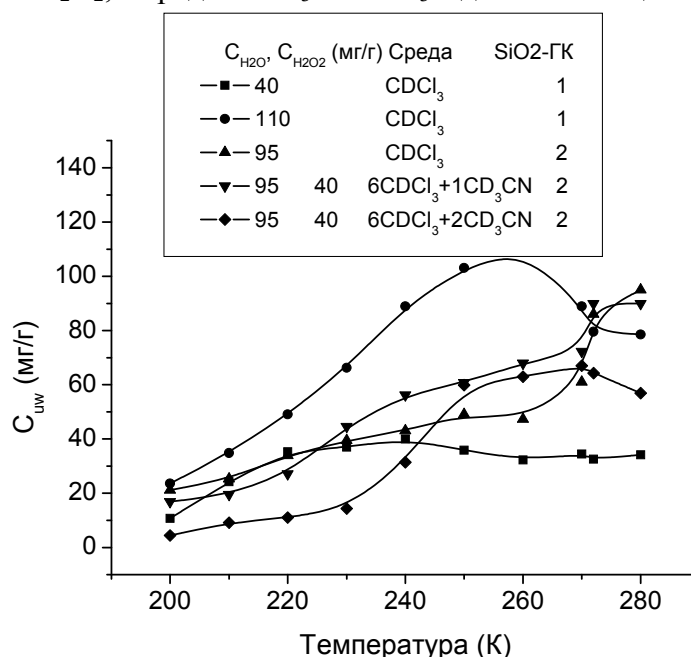


Рис. 8. Температурные зависимости концентрации незамерзающей воды в нанокompозитах SiO_2 -ГК1(2), содержащих в качестве адсорбатов H_2O и H_2O_2 , в органических средах на основе $CDCl_3$.

Как видно из рис. 8, область температур, в которой наблюдается рост концентрации незамерзающей воды с повышением температуры для нанокompозита SiO_2 -ГК1, содержащем 40 мг/г адсорбированной воды, ограничена температурой $T = 235$ К, а для образца с $C(H_2O) = 110$ мг/г – температурой $T = 255$ К. Соответственно, распределения $C_{uw}(R)$ (рис. 9) для этих образцов неполные. Радиус кластеров воды, адсорбированной на SiO_2 -ГК1, не превышает 2 нм. Как и следовало ожидать, с ростом $C(H_2O)$ наблюдается увеличение среднего размера кластеров адсорбированной воды.

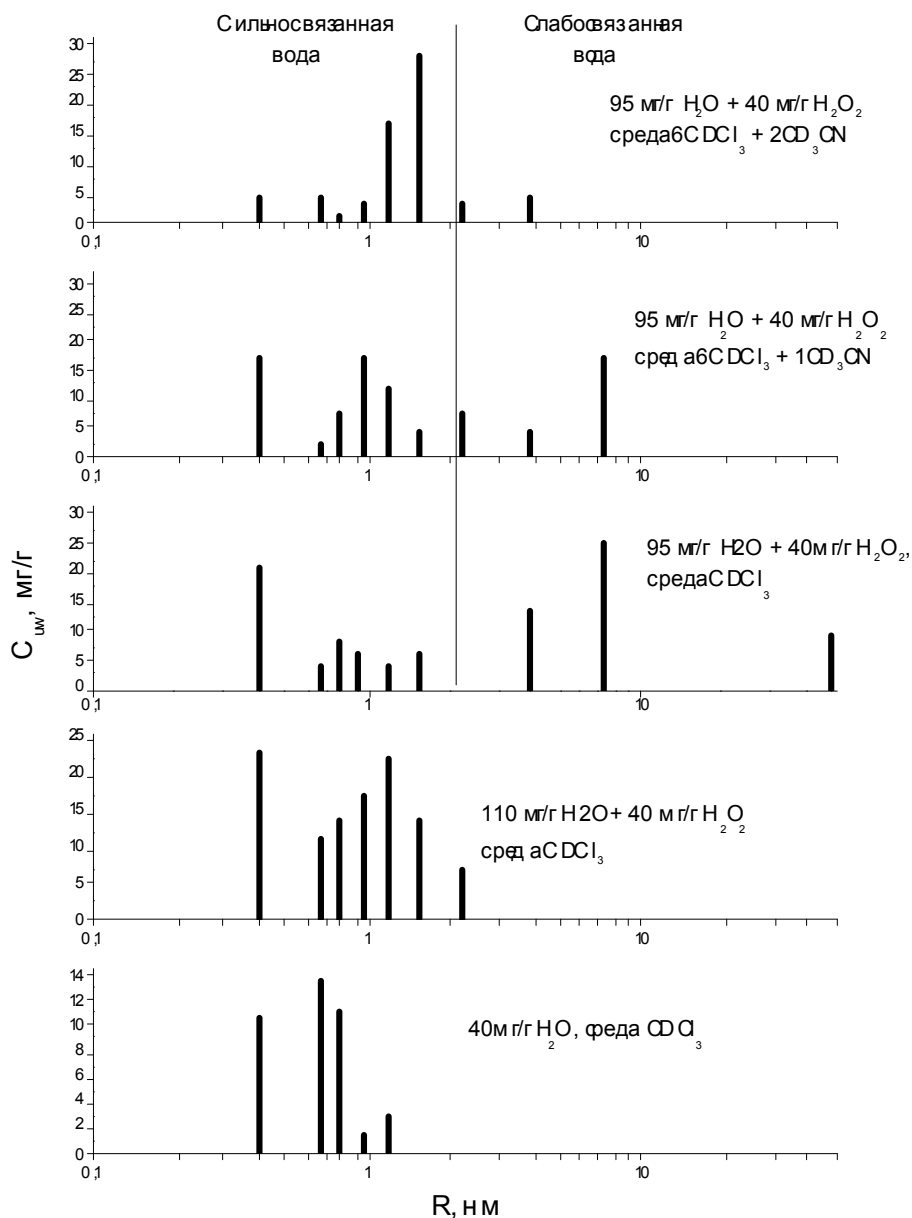


Рис. 9. Распределения по радиусам кластеров адсорбированной воды для нанокompозитов $\text{SiO}_2\text{-ГК1(2)}$, содержащих в качестве адсорбатов воду или воду и пероксид водорода, в органических средах на основе дейтерохлороформа.

Для нанокompозита $\text{SiO}_2\text{-ГК2}$ с помощью ЯМР-крипорометрии можно проследить за изменением в размерах кластеров воды, адсорбированной совместно с пероксидом водорода, при увеличении полярности дисперсионной среды, осуществляемом путем добавления к хлороформу ацетонитрила. Первоначально (без добавления CD_3CN) наблюдается широкое распределение по радиусам кластеров адсорбированной воды в области $0,4 < R < 50$ нм. При добавлении первой порции CD_3CN исчезают домены при $R = 50$ нм и уменьшается общий объем кластеров воды, обусловленных слабосвязанной водой (замерзающей при $T > 250$ К [7]). При дальнейшем росте концентрации CD_3CN эта тенденция сохраняется, но одновременно уменьшается и объем кластеров, размер которых составляет десятые доли нанометра, т.е. распределение $C_{wv}(R)$ становится более узким.

Выводы

При адсорбции на поверхности нанокompозита, полученного путем механохимической иммобилизации на увлажненную поверхность нанокремнезема А-300 гиалуроновой кислоты, водных растворов HCl и H₂O₂ происходит их частичное разделение на составляющие, причем в спектрах ¹H ЯМР раздельно наблюдаются четыре сигнала, которые могут быть отнесены к концентрированному раствору HCl и воде (сильно- и слабоассоциированной), плохо растворяющей или не растворяющей кислоту. В случае адсорбции водного раствора H₂O₂ при низких температурах раздельно наблюдаются сигналы пероксида водорода, два сигнала сильноассоциированной воды и сигнал слабоассоциированной воды. С ростом температуры обмен протонами между H₂O₂ и H₂O сильноассоциированной воды ускоряется, что проявляется в росте ширины сигналов. В присутствии добавок ацетонитрила в спектрах появляется сигнал адсорбированных на поверхности водородносвязанных комплексов CD₃C≡N...H-OH, концентрация которых сильно повышается с ростом температуры.

При адсорбции пероксида водорода на поверхности уплотненного композита разделение сигнала сильноассоциированной воды на составляющие не наблюдается, что, вероятно, обусловлено изменением текстурных характеристик материала.

Для уплотненного композита распределение по радиусам кластеров связанной воды существенно зависит от состава дисперсионной среды и с ростом концентрации полярной компоненты среды оно становится более узким.

Литература

1. Toole B.P. Hyaluronan in morphogenesis // *J. Intern Med.* – 1997 – V. 242, N 1 – P. 35–40.
2. Hardingham T.E., Fosang A.J. Proteoglycans: many forms and functions // *FASEB J.* – 1992. – V. 6, N 3. – P. 861–870.
3. Goa K.L., Benfield P. Hyaluronic Acid: a review of its pharmacology and use a surgical Aid in ophtalmology, and its therapeutic potential in joint disease and wound healing // *Drugs.* – 1994. – V. 47, N 3. – P. 536-566.
4. Foschi D., Castoldi L., Radaelli E. et al. Hyaluronic acid prevents oxygen free-radical damage to granulation tissue: a study in rats // *Int. J. Hiss. Reac.* – 1990. – V. 12, N 6. – P. 333–339.
5. Туров В.В., Угнивенко А.П., Головань А.П. и др. Гидратные свойства гиалуроновой кислоты по данным ¹H ЯМР спектроскопии // *Химия, физика и технология поверхности.* – 2012. – Т.3, № 2. – С. 155–165.
6. Угнивенко А.П., Гунько В.М., Крупская Т.В. и др. Гидратные свойства композитного материала, созданного на основе нанодисперсного кремнезема и гиалуроновой кислоты // *Химия, физика и технология поверхности.* – 2012. – Т.3, № 3. – С.253–264.
7. Гунько В.М., Туров В.В., Горбик П.П. Вода на межфазной границе. // Киев: Наукова думка, 2009. – 694 с
8. Gun'ko V.M., Turov V.V., Bogatyrev et al. Unusual properties of water at hydrophilic/hydrophobic Interfaces // *Adv. Colloid Interface Sci.* – 2005 – V. 118, N 1-3. – P. 125–172.
9. Туров В.В., Гунько В.М. Кластеризованная вода и пути ее использования. – Киев: Наукова думка, 2011. – 313 с.
10. Petrov O.V., Furo I. NMR cryoporometry: Principles, application and potential // *Progr. In NMR.* – 2009. – V.54, N 2. – P. 97–122.
11. Dische, Z. A specific color reaction for glucuronic acid // *J. Biol. Chem.* – 1947. – V. 167, N 2. – P. 189–198.
12. Haug A., Larsen B. Quantative determination of the uronic acid composition of alginates // *Acta Chem. Scand.* – 1962. – V. 16, N. 8. – P. 1908–1918.

13. Taylor K.A., Buchanan-Smith J.G. A colorimetric method for the quantitation of uronic acids and a specific assay for galacturonic acid // *Anal. Biochem.* – 1992. – V. 201, N 1. – P. 190–196.
14. Баграташвили Н. В., Игнатъева Н. Ю., Лунин В. В. И др. Исследование системы хондроитин сульфат–вода методом ИК-Фурье-спектроскопии // *Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия.* – 2001. – Т. 42, № 6. – С. 373–375.
15. Turov V.V., Gun'ko V.M., Turova A.A. et al. Interfacial behavior of concentrated HCl solution and water clustered at a surface of nanosilica in weakly polar solvent media // *Colloids and Surface A:* – 2011. – V. 390. – P. 48–55.
16. Gun'ko V.M., Turov V.V., Turov A.V. Hydrogen peroxide–water mixture bound to nanostructured silica // *Chemical Physics Letters.* – 2012. – V. 531. – P. 132–137.

**ВПЛИВ СОЛЯНОЇ КИСЛОТИ І ПЕРОКСИДУ ВОДНЮ НА БУДОВУ
ГІДРАТНОГО ПОКРИВУ КРЕМНЕЗЕМУ, АДСОРБЦІЙНО
МОДИФІКОВАНОГО ГІАЛУРОНОВОЮ КИСЛОТОЮ**

**В.В. Туров, В.М. Гунько, А.П. Угнівенко, Т.В. Крупська,
В.М. Барвінченко, Є.М. Пахлов**

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

Методом низькотемпературної ^1H ЯМР та ІК-спектроскопії вивчено гідратацію композиту нанокремнезему А-300 та гіалуронової кислоти. Встановлено, що при коадсорбції на поверхні нанокompозита водних розчинів HCl і H_2O_2 відбувається їх часткове розділення на складові. У випадку адсорбції розчину HCl в ^1H ЯМР спектрах спостерігаються чотири сигнали, які можуть бути віднесені до концентрованого розчину $\text{HCl-H}_2\text{O}$ середньої концентрації та води, яка практично не розчиняє кислоту. При адсорбції на поверхні А-300 водного розчину, пероксид водню присутній у вигляді нанокластерів H_2O_2 , які повільно обмінюються з водою, а також 2–3 типи кластерів $\text{H}_2\text{O-H}_2\text{O}_2$ з різною концентрацією пероксиду водню. При адсорбції пероксиду водню на поверхні ущільненого композиту розділення сигналу сильноасоційованої води на складові не спостерігається, що, ймовірно, обумовлено зміною текстурних характеристик матеріалу.

**INFLUENCE OF HYDROCHLORIC ACID AND HYDROGEN PEROXIDE ON
STRUCTURE OF HYDRATION LAYER OF SILICA
ADSORPTIONALLY MODIFIED BY HYALURONIC ACID**

**V.V. Turov, V.M. Gun'ko, A.P. Ugnivenko, T.V. Krupskaya,
V.N. Barvinchenko, E.M. Pakhlov**

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Str., Kyiv, 03164, Ukraine*

Hydration of composites with nanosilica A-300 and hyaluronic acid has been studied using low-temperature ^1H NMR and FTIR spectroscopies. It has been established that co-adsorption of aqueous solutions of HCl and H_2O_2 onto a nanocomposite surface leads to their partial separation into components. In the case of the adsorption of the HCl solution, four signals are observed in the ^1H NMR spectra which can be attributed to the highly and smaller concentrated $\text{HCl-H}_2\text{O}$ solutions and water which does not practically dissolve HCl . In the case of the adsorption of $\text{H}_2\text{O}_2\text{-H}_2\text{O}$ onto nanosilica or A-300/HA, the hydrogen peroxide forms clusters which slowly exchange with water, and also 2–3 types of $\text{H}_2\text{O}_2\text{-H}_2\text{O}$ clusters with different concentrations of the hydrogen peroxide. The adsorption of $\text{H}_2\text{O}_2\text{-H}_2\text{O}$ onto the surface of the compacted composite is not accompanied by splitting of signals of strongly associated water. This can be caused by changes in the textural characteristics of the composite in comparison with non-compacted one.