Методы и объекты химического анализа, 2009, т. 4, № 1, С. 73–84.

О некоторых особенностях комплексообразования Al(III) с гумусовыми веществами

П. Н. Линник[1], В. А. Жежеря[1], Р. П. Линник[2]

[1]Институт гидробиологии НАН Украины, г. Киев,
пр. Героев Сталинграда, 12, 04210 Киев; e-mail: peter-linnik@ukr.net
[2]Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,
ул. Владимирская, 64, 01033 Киев; e-mail: linnik_ros@univ.kiev.ua

Поступила: 12 июня 2009 / Принята к опубликованию: 29 июня 2009

Обсуждены результаты изучения комплексообразования Al(III) с гумусовыми веществами (ГВ) из различных источников происхождения (гуминовые кислоты, фульвокислоты из бурого угля, гумусовые соединения, выделенные из воды верхнего участка Каневского водохранилища). С помощью методов гель-хроматографии, спектрофотометрии и флуоресцентного анализа показано, что ионы Al^{3+} активно связываются в комплексы с исследованными ГВ. Установлено образование двух типов комплексных соединений, отличающихся между собой устойчивостью: более слабые и достаточно прочные комплексы. Приведены данные о молекулярно-массовом распределении образующихся комплексных соединений алюминия. Показано, что ГВ природной воды связывают Al(III) преимущественно в комплексы с относительно невысокой молекулярной массой (≤ 2 кДа). В большинстве фракций комплексообразование Al(III) с ГВ сопровождается повышением интенсивности их флуоресценции. Однако в некоторых из фракций наблюдается гашение флуоресценции ГВ, причем это проявляется как в высокомолекулярной, так и низкомолекулярной областях.

Linnik P.N., Zhezherya V.A., Linnik R.P. About some features of Al (III) complexation with humic substances *– The results of the study of Al(III) complexation with humic substances (HS) of various sources of origin (humic acids, fulvic acids from brown coal, humic substances allocated from water of upper part of the Kanev reservoir) are discussed. It is shown by means of the methods of gel-chromatography, spectrophotometry and the fluorescent analysis that Al^{3+}-ions actively bind in complexes with HS studied. Formation of two types of the complex compounds differing by their stability (weaker and strong complexes) is established. Data about molecular-weight distribution of formed aluminum complex compounds are given. It is shown that HS of natural water binding Al(III) in complexes mainly with low molecular weight (≤ 2 kDa). The complexation of Al(III) with HS is accompanied by increase of intensity of their fluorescence in the majority of fractions. But in some of fractions the quenching of HS fluorescence is also observed, and it is shown in both high-molecular and low-molecular area.*

Ключевые слова: *алюминий, гумусовые вещества, гуминовые кислоты, фульвокислоты, комплексообразование, молекулярно-массовое распределение, флуоресценция*
Keywords: *aluminum, humic substances, humic acids, fulvic acids, complexation, molecular-weight distribution, fluorescence*

Алюминий как один из наиболее распространенных в окружающей среде элементов еще до недавнего времени считался инертным и не представляющим опасности для живых организмов. Однако вскоре, путем экспериментальных исследований, было установлено, что он проявляет токсичность для живых организмов, включая организм человека, и не является для них безопасным [1–7]. Токсичность этого металла, как и многих других, для гидробионтов определяется в значительной степени формами его нахождения в водной среде [8–14]. Наибольшая токсичность обусловлена наличием в воде так называемого неорганического мономерного алюминия, включающего, прежде всего, гидратированные ионы или аквакомплексы $[Al(H_2O)_6]^{3+}$, а также гидроксокомплексы состава $Al(OH)^{2+}$ и $Al(OH)_2^{+}$. Последние преобладают в интервале pH от 4,5 до 5,5 [15, 16]. При высоких концентрациях неорганического мономерного алюминия происходит деградация водных экосистем. Из полимерных соединений алюминия наиболее опасен гидроксокомплекс состава $Al_{13}O_4(OH)_{24}(H_2O)_{12}^{7+}$ [14]. Однако токсичность алюминия снижается в присутствии комплексообразующих веществ как неорганического, так и органического характера. Среди неорганических лигандов важное значение имеют фторид-, сульфат- и силикат-ионы [1, 17, 18]. Наиболее заметное снижение токсичности Al(III) происходит при его связывании в комплексы с

© П.Н. Линник, В.А. Жежеря, Р.П. Линник

природными органическими лигандами, в частности с гумусовыми веществами (ГВ) [1, 9, 19–21].

Проблема алюминия приобрела особую остроту в странах северного региона (страны Скандинавского полуострова, Канада и некоторые другие) в связи с воздействием "кислотных" дождей на поверхностные водоемы и водотоки. Низкие значения pH атмосферных осадков обусловливают "закисление" водоемов, вследствие чего концентрация алюминия в воде резко возрастает за счет его активного поступления из донных отложений [7, 22–24].

Известно также, что соли алюминия, в частности его сульфат $Al_2(SO_4)_3$, широко используются в качестве коагулянтов на станциях питьевой водоподготовки для удаления взвешенных веществ и органических соединений. В то же время после такой обработки воды в ней может повышаться концентрация неорганического мономерного алюминия [7, 25–27], а это недопустимо из-за его негативного влияния на здоровье человека. Упомянутая фракция алюминия является более биодоступной и более токсичной, чем взвешенные его алюмосиликаты или органические комплексы. Токсичность алюминия в организме человека проявляется, прежде всего, во влиянии на обмен веществ, в особенности минеральный, на функцию нервной системы, в способности действовать непосредственно на размножение и рост клеток [28]. Имеются данные о нейротоксическом действии алюминия [11, 28–31]. Поэтому содержание алюминия в питьевой воде лимитируется. Европейский Союз и Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) установили предельную концентрацию алюминия в питьевой воде на уровне 200 мкг/дм^3, а рекомендуемая концентрация составляет 50 мкг/дм^3 [31–33].

Концентрация алюминия в поверхностных водах различных регионов находится в довольно широком диапазоне величин [6, 34], что обусловлено воздействием целого ряда процессов, происходящих в водоемах и водотоках. Среди них важнейшее место занимают адсорбция на взвешенных частицах и донных отложениях, а также гидролиз и комплексообразование. Интенсивность адсорбции или комплексообразования зависит от содержания взвесей в воде и их минералогического и фракционного состава, а также от химического состава воды в целом и компонентного состава растворенных органических веществ (РОВ) в частности. Тем не менее, адсорбция приводит к снижению миграционной подвижности алюминия, а комплексообразование, особенно с РОВ, наоборот, способствует стабилизации этого металла в растворенном состоянии и повышению за счет этого его подвижности в водной среде. Имеются данные о значительной корреляции между содержанием растворенного алюминия и концентрацией органического углерода ($C_{орг}$) в воде водоемов [35]. Концентрация Al(III) в растворенном состоянии существенно возрастает в высокоцветных поверхностных водах, то есть при наличии в них повышенного содержания ГВ [6].

Таким образом, из приведенных выше сведений следует, что данных об общем содержании алюминия в поверхностных водах явно недостаточно для объективной оценки экологического состояния водоемов и понимания путей миграции этого важного элемента в водных экосистемах, включая его распределение между абиотическими компонентами последних. Данные о сосуществующих формах алюминия, как и многих других токсикантов, и их соотношении весьма полезны для оценки миграционной способности этого металла, а также понимания возможных путей трансформации одних его форм в другие в условиях воздействия многочисленных факторов водной среды. Изучение форм нахождения Al(III) в природных водах относится к актуальному направлению аналитической химии – вещественному анализу.

Исследованию состояния алюминия в поверхностных водоемах Украины не уделялось надлежащего внимания. В то же время, результаты ранее проведенных исследований показали [36], что в судьбе этого металла важную роль играет комплексообразование с природными органическими веществами, в частности с гумусовыми соединениями. Общеизвестно также, что ГВ представляют собой доминирующую фракцию РОВ в воде водохранилищ днепровского каскада и оказывают существенное влияние на поведение и миграцию многих металлов. Их комплексообразующие свойства в отношении многих металлов изучены в достаточной степени [37]. Однако детальное исследование взаимодействия Al(III) с ГВ, включая кинетику комплексообразования и молекулярно-массовое распределение образующихся комплексов, не проводилось.

В настоящем сообщении рассмотрены результаты экспериментальных исследований комплексообразования Al(III) с ГВ из различных источников происхождения.

Материал и методы исследования

Для изучения взаимодействия Al(III) с ГВ использовали гуминовые кислоты (ГК) Олайнского завода химреактивов (Латвия), фульвокислоты (ФК), выделенные из бурого угля "Леонардита" (Венгрия), а также фракцию ГВ, полученную из воды верхнего участка Каневского водохранилища путем их адсорбции

на колонке с анионообменным целлюлозным сорбентом – диэтиламиноэтилцеллюлозой (ДЭАЭ-целлюлозой). Параметры колонки: длина – 27,5 см, диаметр – 2,2 см, высота столбика сорбента – 4,3 см, свободный объем – 15,0 $см^3$.

Для изучения кинетики связывания алюминия с ГВ вначале ежедневно, а затем через определенные промежутки времени (обычно через 3–5 суток) определяли концентрацию Al(III) в растворе. По разности между внесенной концентрацией и найденной во время эксперимента находили количество алюминия, связанного в комплексы. Содержание Al(III) в экспериментальных системах определяли фотометрическим методом с использованием реагента хромазурола S, как описано в методике [38]. Анализ проводили до и после деструкции ГВ, которая достигалась путем фотохимического их окисления. Для этого аликвоты растворов, содержащие ГВ и алюминий, объемом 15–20 $см^3$ помещали в кварцевые стаканы, доводили pH до 1,0–1,5 концентрированной H_2SO_4 (х. ч.), добавляли по 2–3 капли 30%-ного раствора H_2O_2 и облучали ртутно-кварцевой лампой ДРТ-1000 в течение 2,0–2,5 ч. Для приготовления растворов реагентов использовали дважды перегнанную воду.

Влияние pH среды на комплексообразование Al(III) с ГВ исследовали в интервале значений от 4,0 до 8,0. Величину pH контролировали с помощью pH-метра pH 150МИ (Россия).

Для исследования молекулярно-массового распределения образующихся комплексных соединений алюминия применяли метод гель-хроматографии. Использовали стеклянную колонку, заполненную TSK-гелем HW-50F (Япония). Длина колонки – 80 см, диаметр – 2,8 см, высота столбика геля – 59,5 см, свободный объем колонки (V_0) – 145 $см^3$. Свободный объем колонки устанавливали с помощью высокомолекулярного вещества блюдекстрана (Dextranblau, Австрия) с молекулярной массой 2000 кДа*. Предварительно колонку калибровали с помощью растворов полиэтиленгликолей (ПЭГ) с известной молекулярной массой (1,0, 2,0, 15,0 и 20,0 кДа) и глюкозы (0,18 кДа). Концентрация ПЭГ в растворе составляла 2,0 $мг/см^3$, глюкозы – 0,5 $мг/см^3$. Выход веществ из колонки контролировали путем определения перманганатной окисляемости содержимого каждой из фракций. Собирали 18 фракций по 15 $см^3$ каждая с помощью коллектора DOMBIFRAC D-002 (Украина).

Содержание алюминия в полученных фракциях определяли после фотохимического окисления ГВ. Перед этим измеряли оптическую плотность растворов во фракциях на спектрофотометре СФ-46 при λ =254 нм. Кроме того, регистрировали спектры флуоресценции растворов каждой фракции с помощью спектрофлуориметра LS 55 (Perkin Elmer) с целью установления взаимодействия Al(III) с ГВ по изменению интенсивности флуоресценции в процессе комплексообразования.

Молекулярную массу комплексов алюминия оценивали по калибровочному графику, построенному в координатах lg M – R, где M – молекулярная масса веществ, использованных для калибровки колонки, R – коэффициент распределения ($R = (V_e - V_0)/(V_t - V_0)$), V_e – объем выхода из колонки ПЭГ определенной молекулярной массы и глюкозы, V_0 и V_t – соответственно свободный и общий объем колонки.

Результаты исследований и их обсуждение

В процессе фотометрического определения Al(III) с использованием хромазурола S возникают некоторые проблемы методического характера. Это связано с тем, что фотолиз растворов ГВ или образцов природной воды происходит в кислой среде, а методика предусматривает проведение анализа при pH около 6,0 [38]. Для установления требуемого значения pH рекомендовано применять раствор ацетата натрия, однако ничего не говорится о возможности использования для этих целей растворов щелочей. В последнее время продажный препарат ацетата натрия содержит примесь Al(III) в таком количестве, что проведение анализа становится затруднительным из-за высокого фонового значения. Поэтому требуется существенная доочистка препарата. Нами была предпринята попытка заменить раствор ацетата натрия раствором KOH (ос. ч.), но оказалась неудачной, так как результаты анализа на содержание Al(III) были существенно завышены (как правило, в несколько раз, особенно если раствор KOH длительное время подвергался доступу воздуха). Это с особой остротой проявилось при анализе проб природных поверхностных вод. Поэтому в дальнейшем, во избежание ошибок определения Al(III), раствор ацетата натрия готовили из растворов ледяной уксусной кислоты (CH_3COOH) и гидрокарбоната натрия ($NaHCO_3$) после их смешивания в требуемой пропорции.

Связывание алюминия в комплексы с ГВ, как показывают данные кинетических исследований, происходит, на первый взгляд, достаточно медленно (рис. 1). Это в какой-то степени согласуется с результатами ранее проведенных исследований по изучению комплексообразования ряда других металлов с РОВ поверхностных вод в целом (без их разделения на группы) и с препаратами ГВ в частности [37, 39].

* 1 кДа (1 килодальтон) = 1000 а. е. м.

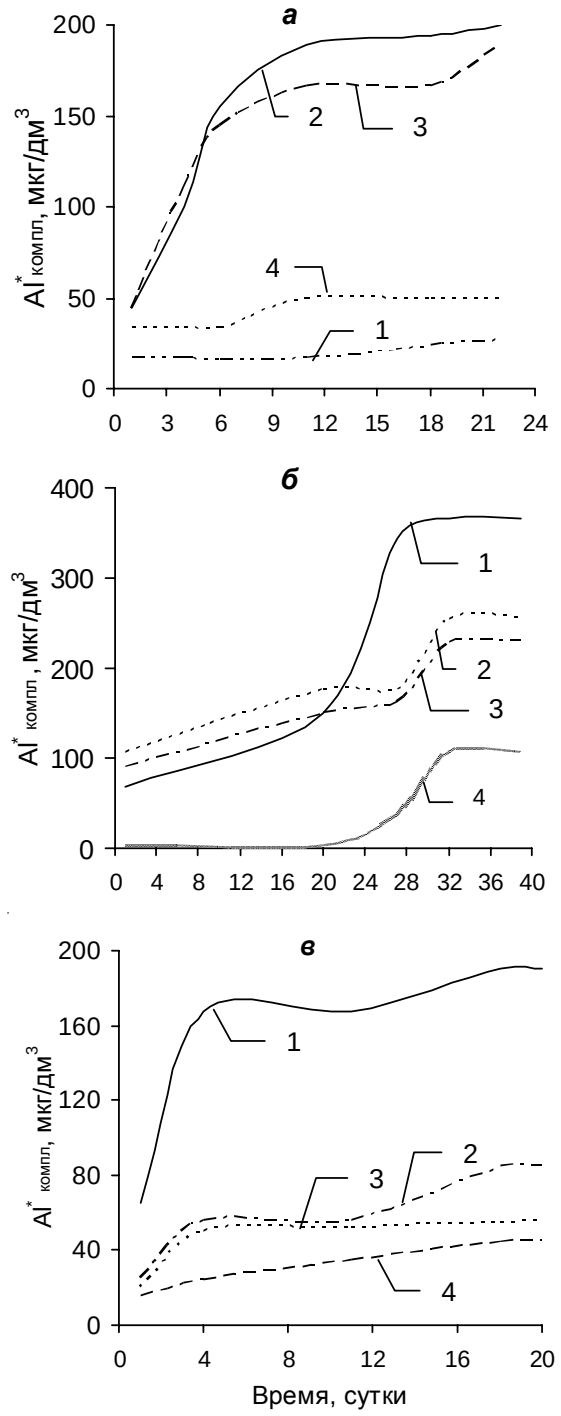

Рис. 1. Кинетика связывания алюминия в комплексы с ГК (а), ФК (б) и ГВ ДЭАЭ-фракции РОВ (в) при различных значениях pH. а: $C_{ГК}$ = 10,0 мг/дм^3, C_{Al} = 0,25 мг/дм^3, 1, 2, 3, 4 – pH соответственно 4,0, 6,0, 7,0 и 8,0; б: $C_{ФК}$ = 50,0 мг/дм^3, C_{Al} = 1,0 мг/дм^3, 1, 2, 3, 4 – pH соответственно 4,0, 6,0, 7,0 и 8,0; в: $C_{ГВ}$ = 75,0 мг/дм^3, C_{Al} = 1,5 мг/дм^3, 1, 2, 3, 4 – pH соответственно 5,0, 6,0, 7,0 и 8,0. $Al^*_{компл}$ – концентрация алюминия, прочно связанного в комплексы с ГВ (не определяемого фотометрически с хромазуролом S в отсутствие фотолиза ГВ).

Комплексообразование Al(III) с ГВ, как и многих других металлов, зависит в значительной степени от pH среды [8]. Так, при взаимодействии Al(III) с ГК при pH 4,0 комплексообразование практически не имеет места. Максимальная степень связывания достигается при pH 6,0. При дальнейшем увеличении pH комплексообразование снижается, а при pH 8,0 количество связанного в комплексы алюминия было примерно в 4 раза ниже, чем при pH 6,0 (см. рис. 1, а).

В присутствии ФК, выделенных из бурого угля, связывание Al(III) в комплексы в зависимости от pH среды имело несколько иной характер. Максимальное связывание наблюдалось при pH 4,0, а при pH 8,0 оно было примерно в 3,5 раза ниже (см. рис. 1, б). Хотя известно, что комплексообразующая способность ФК, выделенных из поверхностных вод, по отношению к ионам многих металлов повышается, как правило, с увеличением pH среды [38]. По всей видимости, существенное значение в данном случае имеет источник происхождения ФК, который определяет многие их свойства, в том числе и комплексообразующие.

В присутствии ГВ ДЭАЭ-фракции РОВ наибольшее связывание Al(III) в комплексы достигается при pH 5,0 (см. рис. 1, в). С увеличением значения pH количество связанного алюминия снижается в 2–4 раза. Несмотря на то, что концентрация ГВ в составе ДЭАЭ-фракции РОВ была выше, чем концентрация ГК или ФК в предыдущих экспериментах, количество связанного в комплексы алюминия было ниже (см. рис. 1). Это может быть обусловлено тем, что в указанной фракции РОВ находились и ГК, и ФК, обладающие различной комплексообразующей способностью. Неразделенные ГВ отражают некоторую суммарную комплексообразующую способность. Кроме того, не исключено, что часть их комплексообразующих (активных) центров уже могла быть занята ионами других металлов, например Fe(III). Вследствие этого комплексообразование Al(III) с ГВ хотя и происходило, но в меньшей мере.

Ниже приведены данные о молекулярно-массовом распределении самих ГВ (рис. 2). Среди ГК Олайнского завода химреактивов преобладают соединения с молекулярной массой 5–20 и > 20 кДа (почти 70%). В составе ФК из бурого угля доля соединений с аналогичной молекулярной массой также оказалась довольно высокой, составив около 60%. Однако среди ГВ ДЭАЭ-фракции РОВ доминировали соединения, молекулярная масса которых не превышала 2 кДа (более 60%). Связывающая способность различных по молекулярной массе фракций ГВ может существенно отличаться, о чем пойдет речь несколько ниже.

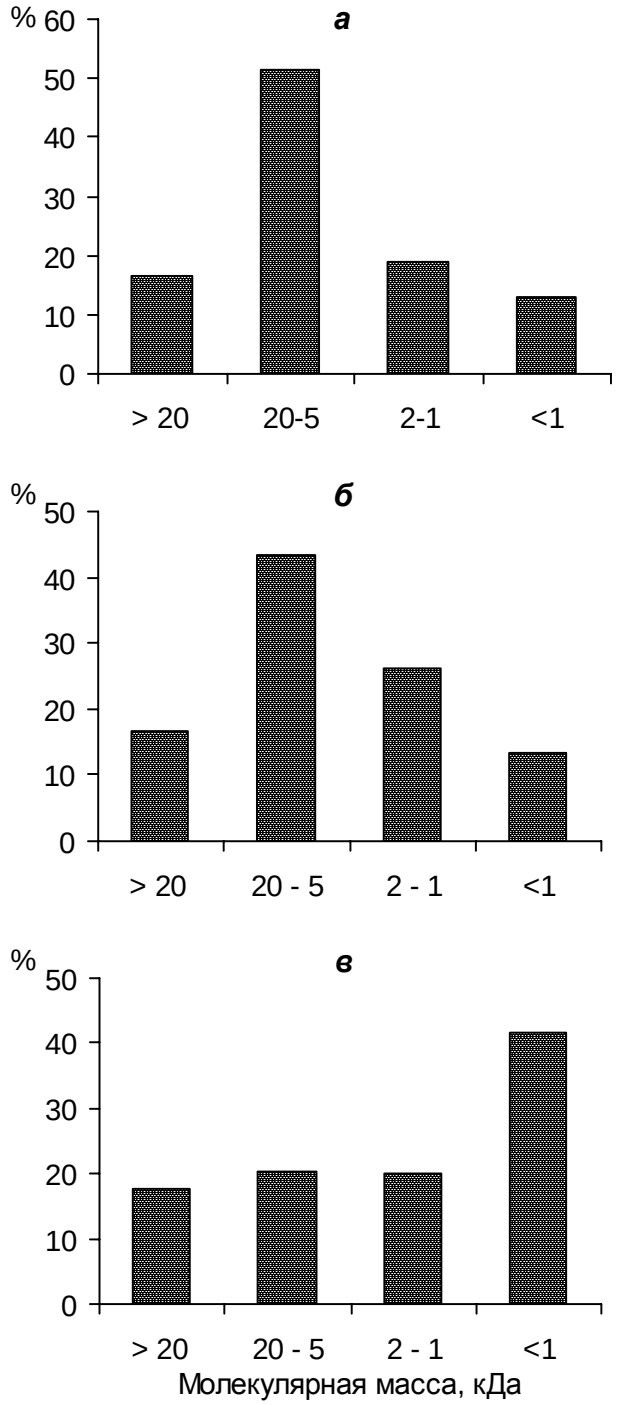

Рис. 2. Соотношение различных по молекулярной массе фракций в составе ГК (а), ФК (б) и ГВ ДЭАЭ-фракции РОВ (в).

Несколько неожиданным оказалось то, что комплексообразование Al(III) с ГВ из различных источников происходило намного активнее в слабокислой среде, тогда как предполагалось, что оно будет возрастать с увеличением pH среды. Это стало причиной проведения наших дальнейших исследований с привлечением метода гель-хроматографии для того, чтобы убедиться, какова же часть алюминия, внесенного в растворы ГВ, реально связывается в комплексы. Несомненно, в данном случае были важны результаты молекулярно-массового распределения образующихся комплексов алюминия (рис. 3). Оказалось, что Al(III) обнаруживался в составе как высокомолекулярных комплексов, так и тех, что имели относительно невысокую молекулярную массу. В этом можно убедиться на примере приведенных гельхроматограмм (см. рис. 3). Несвязанный в комплексы с ГВ Al(III) должен был элюироваться из колонки после 12 фракции (R = 0,71), на которую приходится пик выхода глюкозы. Причем его содержание должно было определяться и без УФ-облучения содержимого каждой из фракций, выходящих из колонки после 12 фракции. Однако даже в этих фракциях Al(III) обнаруживался лишь после фотолиза низкомолекулярных ГВ. Подавляющая часть Al(III) была обнаружена во фракциях, содержащих органические вещества как с высокой, так и с относительно невысокой молекулярной массой, что является прямым подтверждением того, что обнаруживаемый алюминий был связан в комплексы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют в пользу того, что практически весь вносимый в растворы ГВ Al(III) весьма активно связывается с ними в комплексы. Хотя результаты кинетических исследований, на первый взгляд, противоречат этому. Вероятней всего, большая часть из образующихся комплексов обладает слабой устойчивостью и в присутствии хромазурола S алюминий извлекается из их состава. По-видимому, эти комплексы можно отнести к числу лабильных, хотя такое деление является в значительной степени условным. Доля устойчивых или более прочных комплексов алюминия с ГВ, в которых Al(III) напрямую не определяется фотометрически, значительно ниже. Это не противоречит многочисленным данным о том, что в макромолекулах ГВ имеются слабо- и сильносвязывающие центры [40–43], причем последних гораздо меньше.

Доминирование высокомолекулярных комплексов Al(III) (молекулярная масса 5–20 и >20 кДа) характерно, прежде всего, для ГК. В их составе обнаружено около 58% связанного алюминия (см. рис. 3). ГВ из ДЭАЭ-фракции РОВ связывали Al(III) преимущественно в комплексы с относительно невысокой молекулярной массой (≤ 2 кДа, ≈70%). Значительное содержание алюминия (около 60%) обнаружено также в составе фульватных комплексов с аналогичной молекулярной массой (ФК из бурого угля). Исходя из этих данных, становится проблематичным оце-

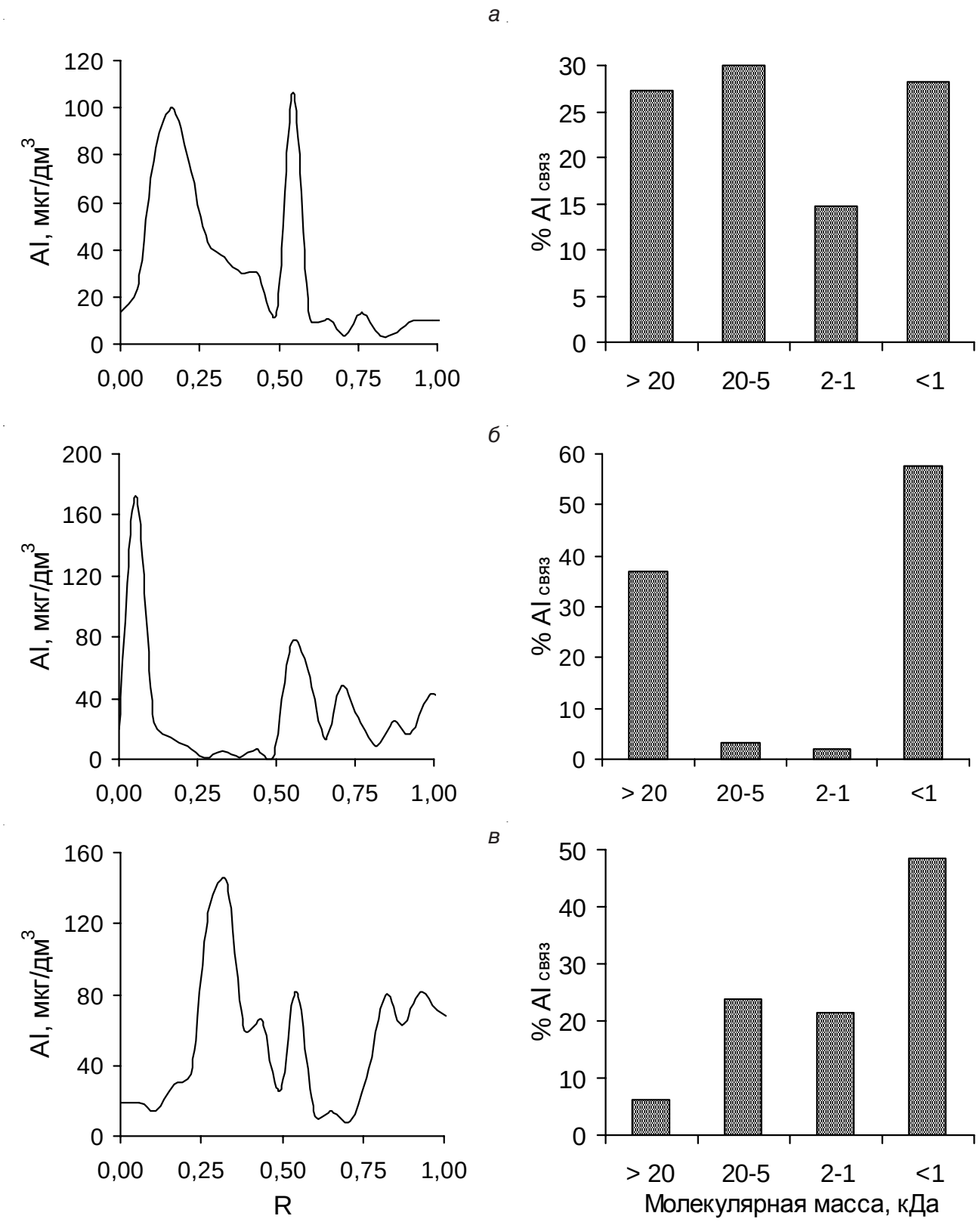

Рис. 3. Гель-хроматограммы распределения алюминия среди комплексных соединений с ГВ (а: ГК Олайнского завода химреактивов, б: ФК, "Леонардит", в: ГВ ДЭАЭ-фракции РОВ) и относительное содержание различных по молекулярной массе комплексов Al(III).

а: $C_{ГК}$ = 100,0 мг/дм^3, C_{Al} = 2,0 мг/дм^3, pH 6,0; б: $C_{ФК}$ = 50,0 мг/дм^3, C_{Al} = 1,5 мг/дм^3, pH 7,0; в: $C_{ГВ}$ = 75,0 мг/дм^3, C_{Al} = 1,5 мг/дм^3, pH 5,0.

нить роль различных по молекулярной массе фракций ГВ в связывании Al(III). По всей видимости, такое положение обусловлено различием в источниках их происхождения. До настоящего времени не существует единого мнения в том, какие фракции ГВ обладают большей, а какие меньшей комплексообразующей способностью. Ранее считалось, что высокомолекулярные фракции способны к комплексообразованию в меньшей степени [44, 45]. Однако, в ряде работ последних лет [46, 47] было показано, что высокомолекулярные фракции ГВ характеризуются большей связывающей способностью по отношению к ионам металлов, причем это характерно как для ГК, так и для ФК. Тем не менее, в воде днепровских водохранилищ так называемый "водный гумус" связывает ионы металлов главным образом за счет веществ с относительно невысокой молекулярной массой (≤ 2 кДа), что было установлено результатами наших многолетних исследований [37, 48]. Это наблюдается и в случае Al(III). Преобладание подобных комплексов металлов обусловлено доминированием в составе РОВ водохранилищ Днепра ФК, характеризующихся относительно невысокими значениями молекулярной массы [37, 48, 49].

После элюирования из колонки с гелем суммарное содержание алюминия (исходя из содержания в каждой из фракций) соответствовало его первоначальной концентрации, вводимой на колонку с аликвотой раствора ГВ. Следовательно, весь алюминий, вносимый в растворы ГВ, связывался в комплексы в самом начале эксперимента, однако этого не удалось установить путем фотометрического определения Al(III) в растворе в силу изложенных выше причин. В то же время, связывание Al(III) в прочные комплексы происходит достаточно медленно и в небольших количествах по сравнению с его исходной концентрацией в растворе ГВ.

Полученные данные дают основание полагать, что фотометрический метод определения Al(III) недостаточно пригоден для кинетических измерений, поскольку с его помощью не удается установить истинную концентрацию так называемого „свободного" или не связанного в комплексы с ГВ алюминия. Вероятней всего, с помощью хромазурола S определяется часть Al(III), слабо связанного ГВ. Причем эта часть намного больше по своему содержанию, чем количество прочно связанного алюминия, не определяемого фотометрически без полной деструкции ГВ. Учитывая изложенное, можно утверждать, что в процессе кинетических исследований удается обнаружить лишь достаточно устойчивые комплексы Al(III), в которых он связан настолько прочно, что не извлекается из их состава хромазуролом S.

Нами исследована зависимость концентрации прочно связанного алюминия в составе его фульватных комплексов от общего содержания Al(III) в растворе ФК (рис. 4). Оказалось, что максимальное содержание указанной формы алюминия наблюдается при его концентрации, равной 2,0 мг/дм^3. Дальнейшее ее увеличение практически не оказывает влияния на содержание прочно связанного алюминия. Это говорит о том, что прочносвязывающие комплексообразующие центры ФК "исчерпали" себя. К тому же, за данными многочисленных исследований, таких центров в макромолекулах ГВ намного меньше тех, что связывают ионы металлов в менее прочные комплексы [40, 49]. Если принять во внимание, что Al^{3+} образует с хромазуролом S комплекс, значение $\lg K_{уст}$ которого равно 4,3 (при pH 4,0) [50], то, вероятней всего, можно утверждать, что лабильную фракцию алюминия представляют комплексы с ГВ, величина условной константы устойчивости которых < 10^4. Для поверхностных вод считается, что малоустойчивые комплексы металлов характеризуются величиной $\lg K^*$ в пределах от 0,5 до 7,5 (0,5 < $\lg K^*$ < 7,5,

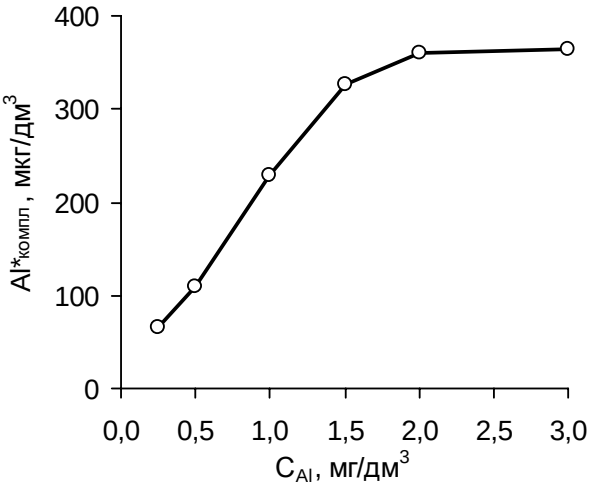

Рис. 4. Зависимость концентрации прочно связанного в комплексы алюминия ($Al^*_{компл}$) от общего его содержания в растворе ФК ($C_{ФК}$ = 50,0 мг/дм^3, pH 7,0).

где K^* – константа образования). Соответственно для прочных комплексов 7,0 < $\lg K^*$ < 10,2 [51].

Увеличение концентрации Al(III) в растворе ФК определенным образом сказывается на его распределении среди фракций ФК, имеющих различную молекулярную массу (рис. 5). Можно видеть заметное снижение относительного содержания Al(III) во фракции с наименьшей молекулярной массой (< 1 кДа) – с 60% при концентрации Al(III) 1,5 мг/дм^3 до 40% при его содержании в растворе ФК 3,0 мг/дм^3

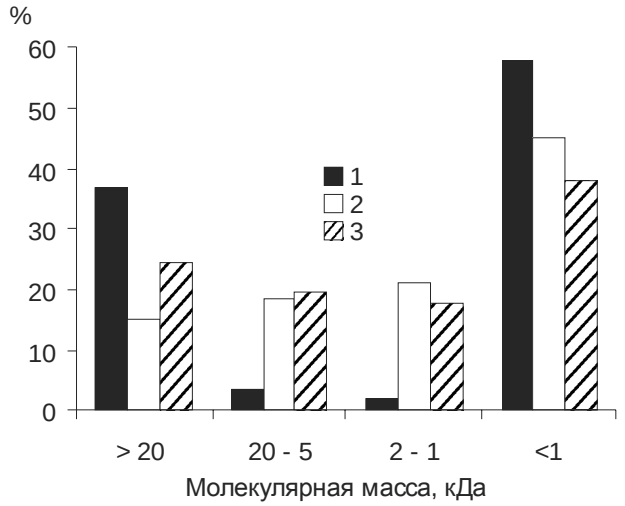

Рис. 5. Распределение алюминия среди комплексных соединений с фульвокислотами (бурый уголь "Леонардит") в зависимости от концентрации добавленного Al(III). $C_{ФК}$ = 50,0 мг/дм^3; C_{Al}, мг/дм^3: 1,5 (1), 2,0 (2) и 3,0 (3); pH 7,0.

(см. рис. 5). При этом возрастает доля Al(III) в составе комплексных соединений с молекулярной массой 1–2 и 5–20 кДа, т.е. при увеличении концентрации алюминия в растворе ФК в комплексообразование вовлекается большее число комплексообразующих центров, которые при меньших концентрациях Al(III), возможно, не были задействованы.

При анализе фракций, полученных после гель-хроматографического разделения ГВ и их комплексов с алюминием, на содержание Al(III) в каждой из них до и после облучения УФ-светом обнаружилось, что некоторая часть алюминия, находившегося в составе высокомолекулярных ГВ, определялась и в отсутствие фотолиза последних. В этом убеждают приведенные ниже гель-хроматограммы (рис. 6), характеризующие распределение Al(III) в различных по молекулярной массе фракциях ГВ. Можно видеть, что значительная часть слабо связанного алюминия находилась в составе высокомолекулярных комплексов с ГВ. В то же время, соединения с относительно меньшей молекулярной массой связывали Al(III) более прочно.

Результаты спектрофотометрического определения ФК во фракциях после их гель-хроматографического разделения показали, что взаимодействие Al(III) с этими органическими лигандами приводит к некоторым изменениям в их гель-хроматограммах (рис. 7). В отсутствие алюминия в растворе ФК максимальный их выход из колонки наблюдался в четвертой фракции (гель-хроматограмма 1; R=0,2). Однако в присутствии Al(III) появился дополнительный пик в первой фракции (R=0,05), высота которого менялась в зависимости от продолжительности взаимодействия Al(III) с ФК (см. рис. 7, гель-хроматограммы 2–4). Эти данные свидетельствуют о возможной ассоциации макромолекул ФК или их укрупнении, что может быть обусловлено за счет комплексообразования с Al(III).

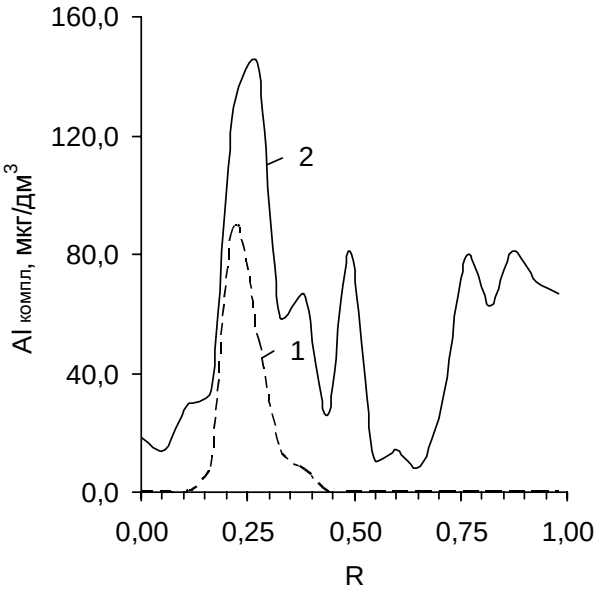

Рис. 6. Гель-хроматограммы распределения алюминия во фракциях комплексных соединений с ГВ ДЭАЭ-фракции РОВ до (1) и после (2) фотохимического окисления ГВ. $C_{ГВ}$ = 75,0 мг/дм^3, C_{Al} = 1,5 мг/дм^3, pH 5,0.

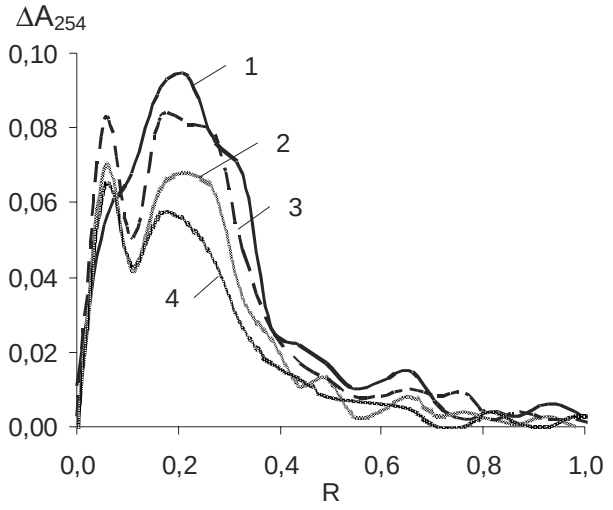

Рис. 7. Гель-хроматограммы растворов ФК по данным спектрофотометрического определения: 1 – в отсутствие Al(III), 2–4 – после взаимодействия с Al(III) через 4, 18 и 27 суток. $C_{ФК}$ = 400,0 мг/дм^3, C_{Al} = 4,0 мг/дм^3, pH 7,0.

Главный недостаток фотометрического метода определения, существенно ограничивающий его применение в исследовании сосуществующих форм металлов в природных водах, обусловлен влиянием

фотометрического реагента на сохранение равновесия между отдельными формами металлов. Флуоресцентный метод анализа лишен указанного недостатка, характеризуется быстротой его проведения, не требует реагентов и предварительной подготовки проб, но в то же время обладает достаточно высокой чувствительностью и избирательностью [52]. Широкое применение при изучении комплексообразования ионов металлов с РОВ поверхностных вод, в частности с ГВ, нашел метод гашения флуоресценции (флуоресцентного титрования) [53–55]. Было показано, что связывание парамагнитных ионов металлов (Cu^{2+}, Fe^{3+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+}, Pd^{2+}, UO_2^{2+} и др.) в комплексы с ГВ приводит к снижению интенсивности их флуоресценции. Влияние диамагнитных ионов металлов, в частности Al^{3+}, Mg^{2+}, Ca^{2+} и Cd^{2+}, на флуоресценцию ГВ имеет более сложный характер. Оказалось, что ионы этих металлов могут снижать, усиливать интенсивность флуоресценции ГВ или же производить на нее минимальный эффект [56, 57].

Учитывая изложенное выше, флуоресцентный метод использовали как инструмент для подтверждения наличия комплексообразования ГВ с алюминием. Исследования были проведены на примере ФК из бурого угля и ГК Олайнского завода химреактивов. Для этого готовили модельные растворы с определенным значением pH, содержащие ГВ и алюминий, а также контрольный раствор с такими же pH и концентрациями лиганда, но не содержащий металл. Используя метод гель-хроматографии в каждом случае получали набор фракций, которые затем анализировали люминесцентным методом. Сравнивая полученные для каждой фракции спектры люминесценции в отсутствие и в присутствии алюминия делали вывод о наличии комплексообразования. Результаты исследований показали, что в большей части полученных фракций интенсивность флуоресценции ГВ повышалась (рис. 8), что свидетельствует о связывании Al(III) в комплексы. Причем в случае ФК это повышение оказалось более выраженным, чем в случае ГК (см. рис. 8, соответственно *а, б* и *в*), где оно оказалось мало заметным. Эти результаты в определенной степени согласуются с вышеприведенными литературными данными. Для некоторых фракций наблюдалось уменьшение интенсивности флуоресценции ГВ. Имеются данные, что в присутствии ионов Al^{3+} возможно как усиление интенсивности флуоресценции ГВ, так и ее гашение. Так, в работах [56, 58] отмечено усиление интенсивность флуоресценции ФК при значениях pH 4,0 и 5,0, и снижение таковой при pH 7,5. Различие в характере воздействия Al(III) на интенсивность флуоресценции ГВ связано, по всей видимости, с различием в моле-

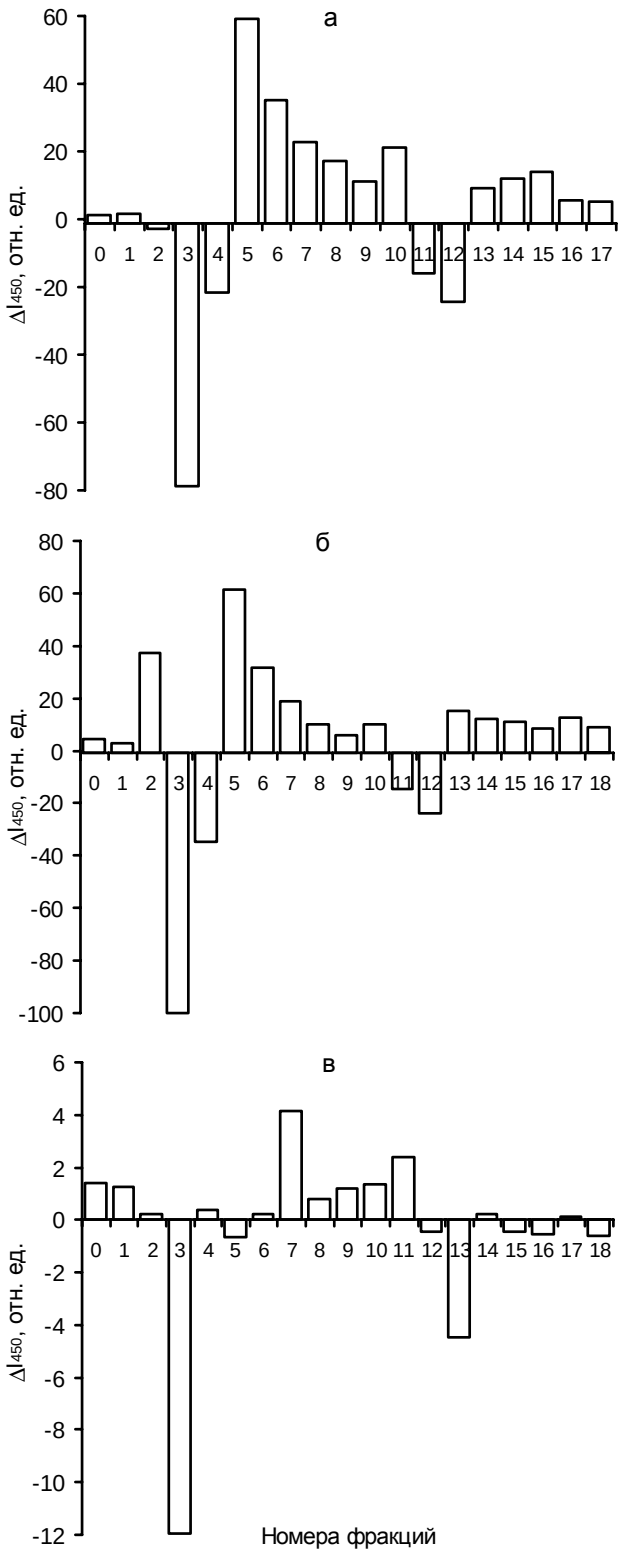

Рис. 8. Изменение интенсивности флуоресценции ФК (а, б) и ГК (в) вследствие комплексообразования с Al(III) во фракциях после их гель-хроматографического разделения: $C_{ФК}$ = 50,0 мг/дм^3, C_{Al} = 1,5 мг/дм^3, pH 7,0, а, б – соответственно через 4 и 18 суток взаимодействия; $C_{ГК}$ = 100,0 мг/дм^3, C_{Al} = 2,0 мг/дм^3, pH 6,0.

кулярной массе их фракций. Снижение интенсивности флуоресценции ГВ происходит в весьма ограниченном числе фракций, находящихся как в высокомолекулярной, так и в низкомолекулярной областях. Несмотря на это, данные флуоресцентного анализа также свидетельствуют в пользу того, что Al(III) активно связывается в комплексы с ГВ.

Заключение

Таким образом, результаты исследования комплексообразования Al(III) с гумусовыми веществами позволили установить, что связывание этого металла происходит наиболее активно в слабокислой среде (при pH 4,0–6,0). С помощью метода гель-хроматографии установлено образование двух типов комплексных соединений, отличающихся между собой прочностью связывания Al(III): малоустойчивых или лабильных, из которых Al(III) извлекается хромазуролом S, и более устойчивых, в составе которых алюминий определяется фотометрически лишь после фотохимического окисления гумусовых веществ и разрушения образующихся комплексов. Образование различных по прочности комплексных соединений Al(III) с гумусовыми веществами обусловлено химическими свойствами этих природных органических лигандов. В их составе имеются два типа комплексообразующих (активных) центров: слабо- и прочносвязывающие.

Данные кинетических исследований показали, что образование устойчивых комплексных соединений алюминия происходит достаточно медленно (в течение многих суток), тогда как практически полное связывание вносимого в растворы гумусовых веществ Al(III) идет намного быстрее. Результатами гель-хроматографических исследований установлено, что уже через сутки после добавления Al(III) в растворы ГВ он обнаруживался в составе комплексов, имеющих различную молекулярную массу. Это является весомым аргументом в пользу того, что в самом начале связывание Al(III) в комплексы происходит за счет преимущественного участия в этом процессе слабосвязывающих центров, которых намного больше в макромолекулах гумусовых веществ, чем прочносвязывающих.

Фотометрический метод определения Al(III) с помощью хромазурола S малопригоден для изучения кинетики комплексообразования алюминия с гумусовыми веществами, поскольку не позволяет определять реальную концентрацию так называемого “свободного” Al(III). Большая часть связанного в комплексы алюминия извлекается из них хромазуролом S. Данные гель-хроматографических исследований показали, что значительная часть извлекаемого алюминия находилась в составе высокомолекулярных комплексов.

Наличие в составе гумусовых веществ соединений с широким диапазоном молекулярной массы предопределяет образование комплексов алюминия как высокомолекулярных, так и с относительно невысокой молекулярной массой. В то же время, с гумусовыми веществами природной воды Al(III) образует преимущественно комплексы, молекулярная масса которых ≤ 2 кДа. Последнее согласуется с результатами наших многолетних исследований по изучению сосуществующих форм ряда других металлов в водохранилищах Днепра. Этими исследованиями было установлено преобладание комплексных соединений металлов с аналогичной молекулярной массой. Основную роль в комплексообразовании играют фульвокислоты как доминирующая составная растворенных органических веществ днепровских водохранилищ.

Наконец, важным этапом в изучении комплексообразования Al(III) с гумусовыми веществами явились результаты флуоресцентных исследований. Именно они позволяют установить, как меняется интенсивность флуоресценции гумусовых веществ в процессе комплексообразования. Оказалось, что вследствие связывания Al(III) интенсивность флуоресценции гумусовых веществ в большей части фракций, отличающихся между собой молекулярной массой, усиливалась, что, в общем, согласуется с литературными данными. Однако в небольшом количестве фракций интенсивность флуоресценции гумусовых веществ снижалась. Такие изменения интенсивности флуоресценции гумусовых веществ в присутствии Al(III) возможны, но в случае изменения значения pH, при котором происходит комплексообразование. В нашем случае исследовались изменения флуоресценции гумусовых веществ, имеющих различную молекулярную массу. Оказалось, что гашение флуоресценции гумусовых веществ имеет место как в высокомолекулярной, так и в низкомолекулярной областях. В целом же, результаты флуоресцентных исследований показали, что Al(III) активно связывается в комплексы с гумусовыми веществами, обусловливая преимущественно усиление интенсивности их флуоресценции.

Литература

1. *Driscoll C.T.* Aluminum in acidic surface waters: chemistry, transport, and effects // Environ. Health Perspectives. – 1985. – 63. – P. 93–104.
2. *Driscoll C.T., Schecher W.D.* Aluminum in the environment // Metal ions in biological systems (H. Sigel, A. Sigel, Eds.). Vol. 24:

Aluminum and its role in biology. – New York: Marcel Dekker, 1988. – P. 59–122.
3. *Exley C., Wicks A.J., Hubert R.B., Birchall J.D.* Polynuclear aluminum and acute toxicity in the fish // J. Theor. Biol. – 1994. – 167. – P. 415–416.
4. *Kloppel H., Fliedner A., Kordel W.* Behaviour and ecotoxicology of aluminium in soil and water – rewiev of the scientific literature // Chemosphere. – 1997. – 35. – P. 353–363.
5. *Nayak P.* Aluminum: Impact and disease // Environ. Res. Section. – 2002. – 89. – P. 101–115.
6. *Линник П.Н.* Алюминий в природных водах: содержание, формы миграции, токсичность // Гидробиол. журн. – 2007. – 43, № 2. – С. 80–102.
7. *Narayanaswamy S.M.Ng·R.* Fluorescence sensor using a molecularly imprinted polymer as a recognition receptor for detection of aluminium ions in aqueous media // Anal. Bioanal. Chem. – 2006. – 386. – P. 1235–1244.
8. *Lewis T.E., Dobb D.E., Henschaw J.M., Simon S.J.* Apparent monomeric aluminium concentrations in the presence of humic and fulvic acid and other ligands: An intermethod comparison study // Int. J. Environ. Anal. Chem. – 1988. – 34. – P. 69–87.
9. *Clarke N., Danielsson L.-G., Sparén A.* Studies of aluminium complexation to humic and fulvic acids using a method for the determination of quickly reacting aluminium // Water, Air and Soil Pollution. – 1995. – 84. – P. 103–116.
10. *Berthon G.* Aluminium speciation in relation to aluminium bioavailability, metabolism and toxicity // Coord. Chem. Rev. – 2002. – 228. – P. 319–341.
11. *Corain B., Bombi G.G., Tapparo A., Perazzolo M., Zattaet P.* Aluminium toxicity and metal speciation: established data and open questions // Coord. Chem. Rev. – 1996. – 149. – P. 11–22.
12. *Exley C., Pinnegar J.K., Taylor H.* Hydroxyaluminosilicates and acute aluminium toxicity in fish // J. Theor. Biol. – 1997. – 189. – P. 133–139.
13. *Poléo A.B.S.* Aluminium polymerization: a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish // Aquat. Toxicol. – 1995. – 31. – P. 347–356.
14. *Wickstrøm T., Clarke N., Derome K., Derome J., Røgeberg E.* Comparison study of five analytical methods for the fractionation and subsequent determination of aluminium in natural water samples // J. Environ. Monit. – 2000. – 2. – P. 171–181.
15. *Baes C.F., Jr., Mesmer R.E.* The Hydrolysis of Cations. – New York: Wiley-Interscience, 1976. – 489 p.
16. *Назаренко В.А., Антонович В.П., Невская Е.М.* Гидролиз ионов металлов в разбавленных растворах. – М.: Атомиздат, 1972. – 192 с.
17. *Bi S.P., Yang X.D., Zhang F.P. et al.* Analytical methodologies for aluminium speciation in environmental and biological samples – a review // Fresenius J. Anal. Chem. – 2001. – 370. – P. 984–996.
18. *Dixon E., Gardner M.* Reactive aluminium in UK surface waters // Chem. Spec. Bioavail. – 1998. – 10, № 1. – P. 11–17.
19. *Courtijn E., Vandecasteele C., Dams R.* Speciation of aluminium in surface water // Sci. Total Environ. – 1990. – 90. – P. 191–202.
20. *Gjessing E.T., Riise G., Petersen R.C., Andruchow E.* Bioavailability of aluminium in the presence of humic substances at low and moderate pH // Sci. Total Environ. – 1989. – 81–82. – P. 683–690.
21. *Tipping E., Woof C., Backes C.A., Ohnstad M.* Aluminium speciation in acidic natural waters: testing of a model for Al-humic complexation // Water Res. – 1988. – 22, № 3. – P. 321–326.
22. *Заиков Г.Е., Маслов С.А., Рубайло В.Л.* Кислотные дожди и окружающая среда. – М.: Химия, 1991. – 144 с.
23. *Моисеенко Т.И., Кудрявцева Л.П., Гашкина Н.А.* Рассеянные элементы в поверхностных водах суши: Технофильность, биоаккумуляция и экотоксикология. – М.: Наука, 2006. – 261 с.
24. *Rosseland B.O., Staurnes M.* Physiological mechanisms for toxic effects and resistance to acidic water: An ecophysiological and ecotoxicological approach // Acidification of freshwater ecosystem: Implications for the future / Ed. By C.E.W. Steinberg and R.F. Wright. – N.Y.: Wiley, 1994. – P. 227–246.
25. *Miller R.G., Kopfler F.C., Kelty K.C. et al.* The occurrence of aluminium in drinking water // J. Amer. Water Works Assoc. – 1984. – 76. – P. 84–91.
26. *Schintu M., Meloni P., Contu A.* Aluminum fractions in drinking water from reservoirs // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2000. – 46. – P. 29–33.
27. *Walton J.* Absorption of aluminium and its effects on brain cells // Aluminium: report of an International meeting, 20–21 April 1995, Brisbane (P. Imray, M.R. Moore, P.W. Callan, W. Lock, Eds.). Series: National Environmental Health Forum Monographs. Metal series № 1. – 1998. – P. 22–34.
28. *Вредные* химические вещества. Неорганические соединения элементов I–IV групп: Справ. изд. / А.Л. Бандман, Г.А. Гудзовский, Л.С. Дубейковская и др.; под ред. В.А. Филова и др. – Л.: Химия, 1988. – 512 с.
29. *Becking G.C.* Human health concerns related to aluminium exposure: an overview // Aluminium: report of an International meeting, 20–21 April 1995, Brisbane (P. Imray, M.R. Moore, P.W. Callan, W. Lock, Eds.). Series: National Environmental Health Forum Monographs. Metal series № 1. – 1998. – P. 11–18.
30. *Simonsen L., Johnsen H., Lund S.P. et al.* Methodological approach to the evaluation of neurotoxicity data and the classification of neurotoxic chemicals // Scand. J. Work Environ. Health. – 1994. – 20. – P. 1–12.
31. *Wade A., Cooper B.* The regulatory status of alumunium in drinking water // Aluminium: report of an International meeting, 20–21 April 1995, Brisbane (P. Imray, M.R. Moore, P.W. Callan, W. Lock, Eds.). Series: National Environmental Health Forum Monographs. Metal series № 1. – 1998. – P. 39–46.
32. *Aluminium* in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality // Guidelines for Drinking-water Quality, 2nd ed. Addentum to Vol. 2. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva. – 1998. – 14 p.
33. *Walton J.* Absorption of aluminium and its effects on brain cells // Aluminium: report of an International meeting, 20–21 April 1995, Brisbane (P. Imray, M.R. Moore, P.W. Callan, W. Lock, Eds.). Series: National Environmental Health Forum Monographs. Metal series № 1. – 1998. – P. 22–34.
34. *Никаноров А.М., Жулидов А.В.* Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах. – Л.: Гидрометеоиздат, 1991. – 312 с.
35. *De Haan H., de Boer T., Voerman J.* Size distribution of dissolved (< 200 nm) organic carbon and aluminium in alkaline and humic lakes // Hydrobiol. Bull. – 1991. – 24(2). – P. 145–151.
36. *Линник П.Н., Ермолаева Т.А.* Растворенные формы алюминия в воде Киевского водохранилища // Гидробиол. журн.– 1998. – 34, № 4. – С. 80–88.
37. *Linnik P.N., Vasilchuk T.A.* Role of humic substances in the complexation and detoxification of heavy metals: case study of the Dnieper reservoirs // Use of humic substances to remediate polluted environments: from theory to practice (I.V. Perminova, K. Hatfield, N. Hertkorn, Eds.). – NATO Science Series. IV: Earth and Environmental Series. – Printed in the Netherlands: Springer. – 2005. – 52. – P. 135–154.
38. *Савранский Л.И., Наджафова О.Ю.* Спектрофотометрическое исследование комплексообразования Cu, Fe и Al с

хромазуролом S в присутствии смеси катионного и неионогенного ПАВ // Журн. аналит. химии. – 1992. – 47, № 9.– С. 1613–1617.
39. *Линник П.Н., Набиванец Ю.Б., Искра И.В., Чубарь Н.И.* Комплексообразующая способность растворенных органических веществ природных вод как составная часть "буферной емкости" водных экосистем // Гидробиол. журн. – 1994. – 30, № 5. – С. 87–99.
40. *Линник П.Н., Набиванец Б.И.* Формы миграции металлов в пресных поверхностных водах. – Л.: Гидрометеоиздат, 1986. – 270 с.
41. *Нифантьева Т.И., Федорова О.В., Шкинев В.М., Спиваков Б.Я.* Определение констант устойчивости комплексов цинка с гуминовыми веществами природных вод методом ультрафильтрации // Журн. аналит. химии. – 1998. – 53, № 7. – С. 734–737.
42. *Town R.M., Filella M*. Dispelling the myths – is the existence of L_1 and L_2 ligands necessary to explain metal-ion speciation on natural waters // Limnol. Oceanogr. – 2000. – 45, № 6. – P. 1341–1357.
43. *Filella M*., *Town R.M.* Heterogeneity and lability of Pb(II) complexation by humic substances: practical interpretation tools // Fresenius' J. Anal. Chem. – 2001. – 370. – P. 413–418.
44. *Frimmel F.H., Immerz A., Niedermann H.* Heavy metal interaction with aquatic humus // Intern. J. Environ. Anal. Chem. – 1983. – 14, № 2. – P. 105–115.
45. *Rashid M.A.* Role of humic acids of marine origin and their different molecular weight fractions in complexing di- and trivalent metals // Soil Sci. – 1971. – 111, № 5. – P. 298–306.
46. *Evans R.D., Villeneuve J.Y.* A method for characterization of humic and fulvic acids by gel electrophoresis laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry // J. Anal. At. Spectrom. – 2000. – 15. – P. 157–161.
47. *Wu F.C., Evans R.D., Dillon P.J.* Fractionation and characterization of fulvic acid by immobilized metal ion affinity chromatography // Anal. Chim. Acta. – 2002. – 452, № 1. – P. 85–93.
48. *Линник П.Н.* Тяжелые металлы в поверхностных водах Украины: содержание и формы миграции // Гидробиол. журн. – 1999. – 35, № 1. – С. 22–42.
49. *Линник П.Н., Васильчук Т.А., Линник Р.П.* Гумусовые вещества природных вод и их значение для водных экосистем (обзор) // Гидробиол. журн. – 2004. – 40, № 1. – С. 81–107.
50. *Тихонов В.Н.* Аналитическая химия алюминия. – М.: Наука, 1971. – 266 с.
51. *Лапин И.А.* Комплексообразующая способность природных вод в системе определения буферной емкости водных экосистем к тяжелым металлам // Экологическое нормирование и моделирование антропогенного воздействия на водные экосистемы. – Л.: Гидрометеоиздат, 1988. – Выпуск 1. – С. 83–95.
52. *Henderson R.K., Baker A., Murphy K.R., Hambly A., Stuetz R.M., Khan S.J.* Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: A review // Water Res. – 2009. – 43. – P. 863–881.
53. *Ryan D.K., Weber J.H.* Fluorescence quenching titration for determination of complexing capacities and stability constants of fulvic acid // Anal. Chem. – 1982. – 54, № 6. – P. 986–990.
54. *Ryan D.K., Thompson C.P., Weber J.H.* Comparison of Mn^{2+}, Co^{2+} and Cu^{2+} binding to fulvic acid as measured by fluorescence quenching // Can. J. Chem. – 61, № 7. – P. 1505–1509.
55. *Esteves da Silva J.C.G., Machado A.A.S.C., Oliveira C.J.S., Pinto M.S.S.D.S.* Fluorescence quenching of anthropogenic fulvic acids by Cu(II), Fe(III) and UO_2^{2+} // Talanta. – 1998. – 45. – P. 1155–1165.
56. *Elkins K.M., Nelson D.J.* Spectroscopic approaches to the study of the interaction of aluminium with humic substances // Coord. Chem. Rev. – 2002. – 228, № 2. – P. 205–225.
57. *Larrivee E.M., Elkins K.M., Andrews S.E., Nelson D.J.* Fluorescence characterization of the interaction of Al^{3+} and Pd^{2+} with Suwannee River fulvic acid in the absence and presence of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid // J. Inorg. Biochem. – 2003. – 97. – P. 32–45.
58. *Cabaniss S.E.* Synchronous fluorescence spectra of metal-fulvic acid complexes // Environ. Sci. Technol. – 1992. – 26, № 6. – P. 1133–1139.