

Морозова Л.П., Мізяківська Л.М.

**КЛАСТЕРНІ СТРУКТУРИ ВОДИ
НА МІЖФАЗНИХ ГРАНИЦЯХ
КРЕМНЕЗЕМУ ТА ДЕЯКИХ
ТКАНИН ОРГАНІЗМУ**

Монографія

Вінниця 2023

Морозова Л.П., Мізяківська Л.М.

**КЛАСТЕРНІ СТРУКТУРИ ВОДИ НА МІЖФАЗНИХ ГРАНИЦЯХ
КРЕМНЕЗЕМУ ТА ДЕЯКИХ ТКАНИН ОРГАНІЗМУ**

Монографія

Вінниця 2023

УДК 54-414:577.356

Кластерні структури води на міжфазних границях кремнезему та деяких тканин організму: Монографія / Л.П. Морозова, Л.М. Мізяківська.
Вінниця: РВВ ВНАУ, 2023. – 133 с.

Рецензенти:

Ранський А.П., доктор хім. наук, професор, завідувач кафедри хімії та хімічної технології Вінницького національного технічного університету

Сакалова Г.В., доктор тех. наук, професор, завідувач кафедри хімії та методики навчання хімії Вінницького державного педагогічного університету ім. М.М. Коцюбинського

Ющенко Т.І., доцент, к. хім. н., завідувач кафедри фармацевтичної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова

У монографії викладено теоретичний та експериментальний матеріал з використання високодисперсного кремнезему та участі його у травних процесах, а також кластеризованої води та шляхів її застосування.

Монографія буде корисною у роботі науковців, практиків, студентів та спеціалістів у сфері природничих наук, медицини, харчових технологій та сільського господарства.

Друкується за рішенням Вченої ради
Вінницького національного аграрного університету
(протокол №8 від 20 березня 2023 року)

ЗМІСТ

Вступ	5
РОЗДІЛ 1. РОЛЬ ВОДИ В ПРОЦЕСАХ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ	
1.1. Властивості та роль сильнозв'язаної води	8
1.2. Структуроутворення водних асоціатів	12
1.3. Низькотемпературна ¹ H ЯМР-спектроскопія як метод дослідження кластерного стану води	18
1.4. Вивчення стану води в клітинах мікроорганізмів	22
РОЗДІЛ 2. ВИВЧЕННЯ КОНТАКТНИХ ВЗАЄМОДІЙ ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ З КЛІТИНАМИ ЖИВИХ ОРГАНІЗМІВ	
2.1. Будова поверхні, гідратного покриву та активні центри високодисперсного кремнезему	26
2.2. Вплив високодисперсного кремнезему на клітинні об'єкти	28
2.3. Вивчення дії високодисперсного кремнезему на функціональний стан і транспорт речовин в кишечнику	29
РОЗДІЛ 3. ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВОДИ, АДСОРБОВАНОЇ НА НАНОКРЕМНЕЗЕМІ, В ПРИСУТНОСТІ МІНЕРАЛЬНИХ КИСЛОТ	31
3.1. Адсорбція води і концентрованої хлористоводневої кислоти на високодисперсному нанокремнеземі в середовищі слабополярних органічних розчинників	31
3.2. Адсорбція води і оксокислот фосфору на високодисперсному нанокремнеземі в середовищі слабополярних органічних розчинників	42
РОЗДІЛ 4. ВИВЧЕННЯ КОНТАКТНОЇ ВЗАЄМОДІЇ НАНОКРЕМНЕЗЕМУ З ТКАНИНАМИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ	
4.1. Вплив високодисперсного кремнезему на кишкову тканину в присутності хлористоводневої кислоти в органічному середовищі	61
4.2. Гідратні властивості тканини шлунку після контакту з Силіксом та вивчення стану води, адсорбованої тканиною підшлункової залози	79

РОЗДІЛ 5. ВИВЧЕННЯ СТАНУ МІЖФАЗНОЇ ВОДИ ТА ВПЛИВУ НА НЕЇ ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ В МІКРО-МЕЗОПОРИСТИХ СИСТЕМАХ	94
ВИСНОВКИ	117
Література	119

Вступ

Вода – важливий елемент життя. Вона відіграє найважливішу роль, оскільки бере участь у багатьох різних механізмах і процесах на Землі. Без води не можливе існування людей, тварин, рослин, навіть мікроскопічні бактерії не вижили б без цієї дивовижної рідини. Без води в природі не було б ніякої екосистеми (тварин, птахів, рослин). Сама по собі вода не має поживної цінності, але вона є неодмінною складовою частиною всього живого. У води немає кольору, смаку, запаху і вона має нульову калорійність. У воді вражаючим чином одночасно поєднується простота і складність. Молекула води має всього три атома: два атоми Гідрогену і один атом Оксигену.

Вода є найважливішою складовою частиною живих організмів. У рослинах вода відіграє сім найважливіших ролей. У їх число входить наступне: 1) вода становить 80-90% свіжої маси трав'янистих рослин і понад 59% свіжої маси деревних рослин; 2) вода – універсальний розчинник. У цій рідині розчиняється більше речовин, ніж у будь-якій іншій. Через це вода є середовищем, в якому біохімічні речовини розчиняються в клітині та відбуваються хімічні реакції. Клітинні мембрани та стінки проникні для води, тому вода може переміщатися з місця на місце в рослині. Вода утворює постійну рідину по всій рослині. Вона заповнює центральну частину вакуолі зрілих клітин та більшості міжклітинних. Міжклітинні простори листя є винятком, оскільки наповнюються газом через необхідність обміну вуглекислого газу з повітрям; 3) вода є реагентом у біохімічних реакціях клітини. Серед них найважливішим є фотосинтез. Вода вносить електрони, які в кінцевому рахунку використовуються для відновлення Карбону до вуглеводів і протонів водню, які відіграють певну роль у виробництві АТФ. Кисень, що виділяється в процесі фотосинтезу, походить з води. Вода також є реагентом при гідролізі запасів крохмалю. При гідролізі крохмалю елементи води вводяться одиницями глюкози полімеру крохмалю, перетворюючи його у цукор; 4) поглинені з ґрунту мінерали транспортуються через корінь вгору по стеблу і по всій рослині шляхом руху

води. Вуглеводи, що утворюються при фотосинтезі, також розподіляються по рослині водою; 5) у момент поділу вакуолі новоутворених клітин розсіяні і невеликі. Мінерали поглинаються і осідають у цих невеликих вакуолях. Це призводить до того, що вода дифундує у невеликі вакуолі, і вони збільшуються, створюючи тиск усередині клітини. Цей тиск розширює стінки молодих клітин. Це розширення – ріст клітин. Врешті-решт вакуолі зливаються в центральну вакуолю, і стінки стають настільки товстими, що втрачають пластичність. При дозріванні клітина більше не розширюється, але підтримує тиск води всередині клітини; 6) зрілі клітини зберігають форму силою води, що притискає внутрішню сторону клітинних стінок. Цей тиск утримує клітини тургінними, і якщо тиск втрачається (наприклад, від надмірного випаровування, загибелі або потрапляння в сольові розчини), вони можуть втратити жорсткість і стати млявими. Саме жорсткість клітин надає форму багатьом тканинам, таким як листя та однорічні рослини, які не мають деревних або інших зміцнюючих тканин; 7) для підвищення температури води потрібно більше калорій тепла, ніж у будь-якій іншій звичайній речовині. З цієї причини рослини, які в основному складаються з води, можуть поглинати значну кількість тепла (наприклад, від сонячного світла) і повільно набирати температуру. Завдяки воді рослина може бути відносно теплою впродовж коротких холодних періодів. Високий вміст води у рослинах дозволяє їм підтримувати більш постійну температуру, ніж повітря.

Важко переоцінити значення води для організму людини і тварин. Вода і людина нерозривно пов'язані один з одним. В живому організмі немає жодного процесу, пов'язаного з обміном речовин, який проходив би без участі води. Чим енергійніше ці процеси протікають, тим людина має більшу потребу у воді. В молодому організмі, що росте, вміст води більший, ніж у дорослої людини. Тіло дорослої людини складається з неї на 60 – 65%, у новонародженого кількість води досягає 75% ваги тіла. В органах і тканинах вміст води коливається у дуже широких межах: кістки містять 22% води, мозок 75%, в той час як кров складається з неї на 92%. Першочергова роль

води в житті всіх живих істот, і людини в тому числі, пов'язана з тим, що вона є універсальним розчинником величезної кількості хімічних речовин. Тобто фактично є тим середовищем, в якій і протікають всі процеси життєдіяльності. Певне і постійне утримання води – ось необхідна умова існування живого організму. При зміні кількості споживання води та її сольового складу порушуються процеси травлення і засвоєння їжі, кровотворення та ін. Без води неможлива регуляція теплообміну організму з навколишнім середовищем та підтримання температури тіла. При втраті 10 % води патологічні явища стають непоправними. На шкірі з'являються тріщини, западають очні яблука, погіршується зір, спостерігаються спазми в горлі, людина втрачає свідомість. Втрата 21% води призводить до смерті. Таким чином, втрата людським організмом води небезпечніше, ніж позбавлення його їжі: без їжі людина може прожити до 40 днів, а без води вмирає на 7 день. Кожна жива клітинка організму людини містить цілющий водний розчин різних живильних речовин. Вода бере активну участь в хімічних реакціях, що проходять в нашому тілі, доставляє поживні речовини в кожную клітину, виводить токсини, шлаки і надлишки солей, сприяє пониженню кров'яного тиску.

Потреба у воді залежить від характеру живлення, трудової діяльності, стану здоров'я, віку, клімату і інших чинників. Потреба у воді дорослої людини, що проживає в середній смузі, – 2,5–3 л на добу. Учені підраховали, що частину води (1,5 -2 л) ми споживаємо з їжею і напоями, близько 3% (0,3 л) води утворюється в результаті біохімічних процесів в самому організмі. Таким чином, потреба організму в питній воді складає приблизно 1,2 -1,5 л на добу. Потреба у воді збільшується в середньому: на 10% - при підвищенні температури тіла на кожний градус вище 37 °С, при фізичній роботі середньої тяжкості - до 4–5 л, при важкій роботі на свіжому повітрі - до 6 л, а при роботі в гарячих цехах може збільшуватися до 15 л.

Таким чином, вивчення властивостей води є актуальною проблемою сьогодення.

РОЗДІЛ 1

РОЛЬ ВОДИ В ПРОЦЕСАХ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ

1.1. Властивості та роль сильнозв'язаної води

Унікальна роль води в процесах життєдіяльності організму є безперечною. Відомо, що в будь-якій гетерогенній системі вода за властивостями поділяється на три категорії. До однієї з них відноситься так звана «вільна» вода, молекули якої самоасоційовані і не взаємодіють з поверхнями розділу фаз. Потрапляючи в область дії потенціального поля поверхні твердих частинок адсорбенту, клітинних мембран або молекул біополімерів, вода вступає з ними у міжмолекулярні взаємодії – реакції гідратації, внаслідок чого орієнтація і поляризація її молекул змінюються. Таким чином, збурююча дія поверхні на границі розділу фаз викликає зміну властивостей «зв'язаної» води у порівнянні із «вільною» [1].

За силою гідратаційних ефектів розрізняють сильно- і слабкозв'язану воду. Особливий інтерес становить сильнозв'язана вода, на властивості якої специфіка реакційних центрів поверхні впливає у найбільшій мірі. Така вода замерзає на 5-15° нижче 0°C, має підвищену діелектричну проникність, поляризуємість і протонну провідність, крім того, в ній краще розчиняються полярні молекули.

Вода є унікальною речовиною, в середовищі якої відбуваються всі елементарні акти життєдіяльності [2-5]. У водному клітинному середовищі протікають всі основні біохімічні реакції. Притаманні воді властивості розчинника означають, що вона слугує середовищем для транспорту різних речовин в крові, в лімфатичній та екскреторних системах, в травному тракті та у флоемі і ксилемі рослин. Частина води в організмі може міцно зв'язуватися з розчиненими в ній речовинами і з поверхнею біополімерних макромолекул за допомогою як водневих зв'язків, так і за рахунок сил іон-дипольної взаємодії. Це може призводити до помітної зміни конфігурації, ефективних розмірів і ваги тих чи інших часток, що беруть участь у реакції, і в деяких випадках до істотної модифікації їх властивостей [6].

Вода є відкритою, динамічною системою, що самоорганізується, у якій стаціонарна рівновага зміщується при будьякому зовнішньому впливі. В результаті цієї взаємодії виникає перехідний стан, який, внаслідок процесів самоорганізації, може привести воду або у вихідний, або в новий стаціонарний стан. Воно характеризується зміною різних характеристик, але, перш за все, структурно-інформаційних властивостей. Ця зміна відбувається в результаті взаємодії води з зовнішніми або внутрішніми впливами, що виявляється в переструктуруванні в ній водних кластерів, зміні міжмолекулярних взаємодій, а також спектральних та фізико-хімічних характеристик. Більшість взаємодій, однак, призводить не до повного переструктурування води, а лише до часткового за рахунок відмінності в тривалості життя водних кластерів, що забезпечує воді і системам на її основі як коротку, так і досить довготривалу пам'ять. Вода структурується, тобто набуває особливої регулярної структури при впливі багатьох факторів, наприклад, при заморожуванні-відтаванні води (вважається, що в такій воді зберігаються крижані кластери), впливі постійного магнітного або електромагнітного поля, при поляризації молекул води та ін. До числа факторів, що призводять до зміни структури і властивостей води, відносяться різні випромінювання і поля (електричні, магнітні, гравітаційні), механічні дії (перемішування різної інтенсивності, струшування, протягом в різних режимах і т.д.), а також їх всілякі поєднання. Така структурована вода стає активною і несе нові властивості. Ось, наприклад, структурування води магнітним (електричним) полем. Якщо до певного кубічного обсягу води прикласти постійне електромагнітне поле, то в цьому випадку всі молекули води, що представляють собою маленькі заряджені диполі вишикуються вздовж силових ліній електромагнітного поля, тобто уздовж осі X, а молекула води стає як би "затиснутою" між полюсами магніту, здійснюючи лише коливальні рухи щодо осі X. Намагнітити воду досить легко – достатньо пропустити її через постійне магнітне поле. Після впливу на воду магнітного (електромагнітного) поля вода стає більш структурованою, ніж вода звичайна. У ній збільшується швидкість хімічних реакцій і кристалізація

розчинених речовин, інтенсифікуються процеси адсорбції, поліпшується коагуляція домішок і випадання їх в осад.

Можливість формування молекулами води сітки водневих зв'язків обумовлює її аномальні властивості [7-10]. Вода характеризується великою теплотою випаровування (2494 Дж/г) і в зв'язку з цим - високою температурою кипіння (100 °С) [7]. В живих організмах випаровування грає важливу роль в потовиділенні у тварин і транспірації у рослин, охороняючи їх від перегріву [2-5]. Велика теплота плавлення зменшує ймовірність замерзання вмісту клітин і навколоклітинної рідини [11]. Велика питома теплоємність (4,184 Дж/г) пояснюється тим, що значна частина цієї енергії витрачається на розрив водневих зв'язків, що обмежують рухливість молекул води [8]. Вода служить для багатьох клітин і організмів середовищем існування, для якого характерна здатність підтримувати сталі умови. І саме ця властивість води забезпечує протікання біохімічних процесів в меншому інтервалі температурних змін, з постійною швидкістю [2-5]. Вода – одна з небагатьох речовин, які мають в рідкому стані більшу густину, ніж в твердому (максимальна при +4 °С), від +4 до 0 °С густина знижується, оскільки структура льоду більш рихла, ніж рідкої води [9]. Після проведення ряду експериментів було встановлено, що зв'язана вода при температурі, нижчій за 273 К, не переходить в кристалічну форму. Це виявилось енергетично не вигідним, оскільки потребує суттєвої перебудови структури адсорбційного шару [12]. Тим часом, охолодження до повного замерзання і навіть до абсолютного нуля не призводить до денатурації і не порушує конфігурацію біомолекул, і їх життєві функції після відтавання зберігаються. Це положення дуже важливо для консервування органів і тканин, призначених для пересадки, і знаходить застосування в кріомедицині.

З усіх рідин вода має найбільше значення поверхневого натягу ($7,6 \cdot 10^{-4}$ Н/м). Значна когезія, як результат дії сил притягання між молекулами води і поверхнею твердого тіла, грає важливу роль в живих клітинах, а також у рухові води по судинах ксилеми в рослинах. Біологічне значення води визначається і тим, що вона являє собою один з необхідних метаболітів,

зокрема, вода є джерелом водню в процесі фотосинтезу, а також бере участь в реакціях гідролізу [2-5].

Основні органолептичні та фізичні властивості води наведено на рис. 1.1.1.



Рис. 1.1.1. Фізичні властивості води [13]

Вода – чудовий розчинник для полярних речовин. До них відносяться іонні сполуки, які дисоціюють у водних розчинах (електроліти), а також деякі неіонні речовини, наприклад цукри і спирти, з полярними гідроксильними групами -ОН. Як відомо, в розчиненому стані реакційна здатність речовин зростає. Інтерес становить з'ясування індивідуальних характеристик ближньої гідратації різних іонів, а саме, ступеня зв'язування молекул води в гідратних оболонках, і спотворення в цих оболонках тетраедричної льодоподібної структури чистої води [13].

Неполярні речовини, наприклад, ліпіди не змішуються з водою, проте утворюють в ній міцелярну систему і тому можуть розділяти водні розчини на окремі компартменти, подібно тому, як їх розділяють клітинні мембрани. Гідрофобні частини молекул ліпідів відштовхуються водою і в її присутності притягуються одна до одної. Подібні гідрофобні взаємодії грають важливу роль у забезпеченні стабільності мембран, а також багатьох білкових молекул, нуклеїнових кислот та інших субклітинних структур [14-15].

Вивчення структурованої клатратної форми води має важливе значення для розуміння дії лікарських препаратів. Так, було пояснено явище

наркозу, яке полягає у порушенні передачі імпульсів в міжсинаптичних утвореннях мозку при попаданні в ці ділянки наркотичної речовини [16].

Все це свідчить про те, що вода, структурована в потенціальному полі поверхні, має підвищену біологічну активність. Контактні взаємодії наночастинок ВДК з клітинними мембранами здійснюються за допомогою міжчастинкового шару сильнозв'язаної води. Серед медичних адсорбентів і харчових добавок кремнію діоксид, який має підвищену гідрофільність, структурує адсорбовану воду і змінює її біоактивність у найбільшій мірі.

1.2. Структуроутворення водних асоціатів

Вода є динамічною, самоорганізованою відкритою системою, в якій зміщується стаціонарна рівновага при будь-якому зовнішньому впливові. Перехідний стан виникає в результаті цієї взаємодії, який внаслідок процесів самоорганізації може привести воду в новий стаціонарний або у вихідний стан. Він характеризується зміною різних характеристик, але, перш за все структурно-інформаційних властивостей. Ця зміна відбувається в результаті взаємодії води з зовнішніми або внутрішніми впливами, що виявляється в переструктуруванні в ній водних кластерів, зміні міжмолекулярних взаємодій, а також спектральних і фізико-хімічних характеристик. Велика кількість взаємодій все ж призведе не до повного, а лише до часткового переструктурування води за рахунок відмінностей водних кластерів в тривалості життя, що забезпечує воді і системам на її основі як коротку, так і довготривалу «генетичну» пам'ять. Молекули води здатні утворювати кластери, в їх структурі закодована інформація про її структурно-інформаційні властивості, тобто «пам'ять» води (рис. 1.2.1).

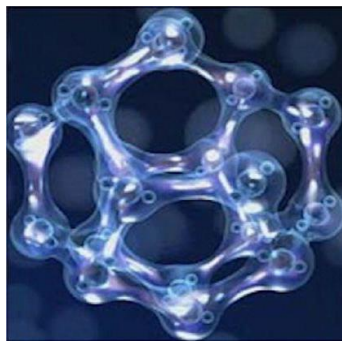


Рис. 1.2.1. Кластерна модель структурованої води [17]

Молекула води містить два атоми водню і дві неподілені електронні пари атома кисню, що дозволяє їй формувати чотири водневі зв'язки, утворюючи асоціати з чотирма сусідніми молекулами води. На цій підставі воду вважають сильноасоційованою рідиною, що відображається на високому значенні величини поверхневого натягу. Максимальна асоційованість води досягається в льоді і дорівнює чотирьом (рис. 1.2.2) [17].

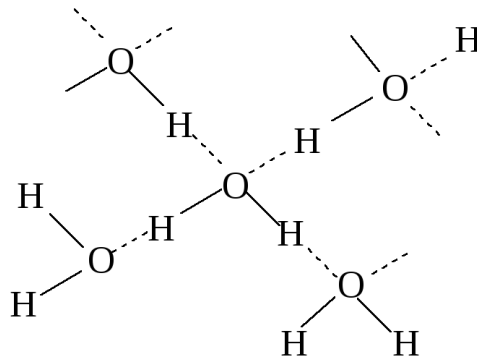


Рис. 1.2.2. Утворення водневих зв'язків між молекулами води [17]

Вода характеризується різноманіттям кристалічних фаз – поліморфних форм льоду. В структурі льоду основною структурною характеристикою є функція розподілу відстаней між атомами кисню, яка була вивчена із застосуванням рентгеноструктурного аналізу та методом дифракції нейтронів [18-19]. При цьому було встановлено, що відстань між найближчими молекулами води в рідкому стані складає 0,290 нм, в той час, як відстань між такими в льоді I - 0,276 нм. У зв'язку з цим Самойлов висловив припущення, що вода - це суміш льоду і пари, і ущільнення структури пов'язане з тим, що пар заповнює порожнини льоду. Гіпотеза Попла пояснювала цей експериментальний факт тим, що при плавленні лінійні водневі зв'язки льоду набувають характеру вигнутих в рідкій воді, про що свідчить руйнування частини водневих зв'язків і збільшення величини координаційного числа в порівнянні з льодом, де значення його складає в середньому 4,4. Дані ІЧ-спектроскопії льоду показують, що лід являє собою 3D атомні кристали, де всі внутрішньомолекулярні частоти температурозалежні і ширина ліній внутрішньомолекулярних коливань за порядком величини відповідає частотам міжмолекулярних коливань. Звичайний лід Ih - гексагональний лід, в який кристалізується вода при 0 °С, є одним з представників 16 його

алотропних модифікацій. Метастабільний кубічний лід Ic може бути отриманий при температурах 130-150 К і стійкий до 200 К, а при подальшому нагріванні переходить в лід Ih з виділенням тепла (Доуел і Рінферт). При дослідженні фазової діаграми води до значень тисків, нижчих за 3000 атм, Тамман і Готінген виявили дві фази льодів - лід II і лід III. Тригональний кристалічний лід II утворюється з льоду Ih при стисканні і температурах 190-210 К і має високовпорядковану структуру. Найменш щільноупакованим різновидом льоду в зоні високих тисків є тетрагональний кристалічний лід III, який виникає при охолодженні води до 250 К і тиску 300 МПа. Метастабільний тригональний лід IV можна отримати тільки за допомогою нуклеарної затравки. Досліджуючи фазову діаграму води за значень тисків, які не перевищують 18000 атм, Бріджмен відкрив лід V і лід VI, а пізніше - лід VII (тиск до 45000 атм). Найскладнішою структурою з усіх існуючих модифікацій має моноклінний кристалічний лід V, який утворюється при охолодженні води до 253 К і тиску 500 МПа. Тетрагональний кристалічний лід VI формується при охолодженні води до 270 К і тиску 1,1 ГПа. У кубічної модифікації льоду VII порушене розташування атомів водню і при цьому водневі зв'язки утворюють дві взаємопроникні ґратки. При охолодженні нижче 5 °С формується більш впорядкований лід VIII (Валлі), в якому атоми водню займають фіксовані положення. Крім кристалічних модифікацій льоду, відомі і три його аморфних форми, які не мають впорядкованої кристалічної структури: 1) аморфний лід низької щільності (LDA), 2) аморфний лід високої щільності (HDA) і аморфний лід дуже високої щільності (VHDA), існуючий при високому тиску (Дельсемме і Венгр). Блекман і Лісгартен показали, що перехід від аморфного льоду до льоду Ic здійснюється в інтервалі температур від -120 до -160°С (рис. 1.2.3).

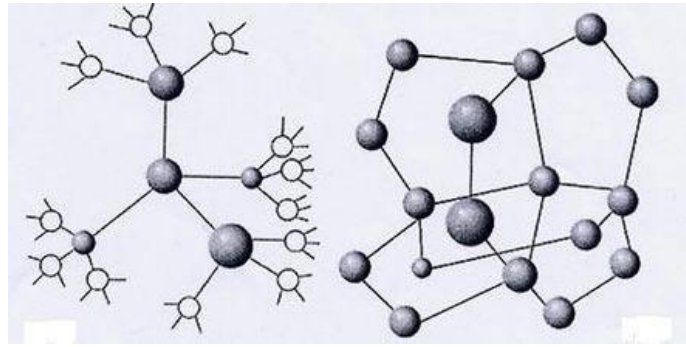


Рис. 1.2.3. Структура води і льоду [17]

Свого часу для з'ясування структури води було запропоновано безліч моделей її будови з метою встановлення ряду термодинамічних властивостей і багатьох інших фізичних величин. В багатьох роботах висвітлюються уявлення про воду як певну ієрархію об'ємних структур - асоціатів (клатратів), в основі яких лежить кристалоподібний «квант води», існуючий за рахунок водневих зв'язків. Цей водний асоціат, що складається з 57 її молекул, утворює тетраедричну структуру. Тетраедр, в свою чергу, складається з 4 додекаедрів, а 16 квантів таких утворюють структурний елемент з 912 молекул води (рис. 1.2.4) [6, 14, 15].

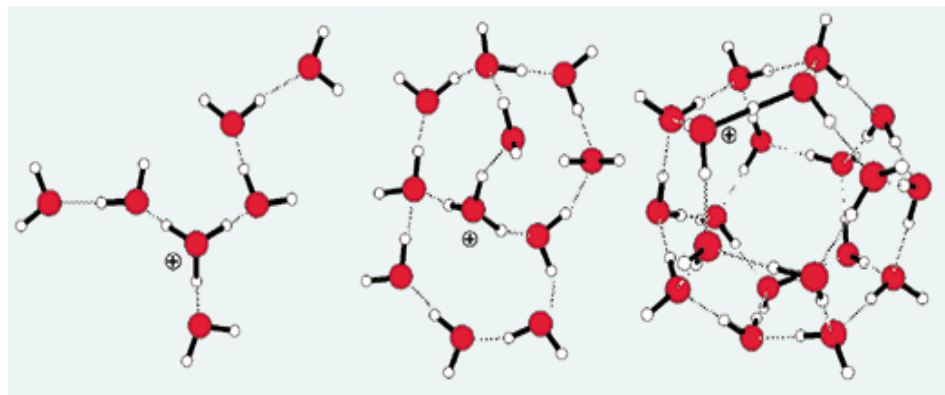


Рис. 1.2.4. Водні асоціати [14].

Основною метою всіх теорій кластерної будови води була необхідність вивчення кластерів як самостійних одиниць, які формують макроскопічну фазу рідкої води. Одна із них, теорія Бернала і Уоррена [18], пояснює аномалію густини води, згідно з якою вода є псевдокристалом. При цьому рідка вода поблизу 273 К – це суміш компонентів різної будови, які відповідають гексагональній структурі льоду, кристалічного кварцу і щільноупакованій структурі рідкої води. З підвищенням температури льодоподібні структури руйнуються і при 277 К густина води зменшується за

рахунок збільшення відстані між молекулами [17]. Інша теорія, запропонована Поплом, говорить про спотворення геометрії водневих зв'язків в рідкій воді в порівнянні з льодом, і під час плавлення льоду руйнується лише невелика частка водневих зв'язків. Цю точку зору підтверджує і відносно низька теплота плавлення (6,03 кДж/моль). Полінг показав, що структура води подібна до структури деяких клатратних сполук (сполук включення), наприклад, $\text{CH}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ і $\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Молекули води в таких комплексах утворюють рихлі структури, характерні для льоду. Молекули-домішки, CH_4 або Cl_2 , займають порожнини, утворені в льодоподібній структурі води, відповідно, у водній моделі ці молекули замінюються на молекули води. Вельми близька модель «мерехтливих кластерів» була запропонована Франком і Віном, пізніше модифікована Неметі і Шерага. Вважалося, що кластери постійно руйнуються і знову утворюються, причому середній час їх життя близько 10^{-10} с. Кожна молекула води може утворювати 4, 3, 2, 1 водневих зв'язків або ж зовсім їх не утворювати. В останньому випадку її стан збігається із станом молекули - домішки в клатратному комплексі. У теорії значущих структур рідини Ейрінга основним є положення співіснування в рідкій воді двох кристалоподібних структур: лід I та лід III, між якими існує динамічна рівновага. Молекули води в структурі льоду III утворюють водневі зв'язки, які, однак, стиснуті і вигнуті. Крім того, в рідкій воді є мономери води і рухливі порожнини [20]. Значне розповсюдження отримала модель співіснування кластерів води з високою та низькою густиною [21-22]. Згідно цієї моделі вода може бути описана в термінах моделі двох станів, що включає стан води з високою густиною (з частково зруйнованою системою водневих зв'язків, $\rho \geq 1$ г/см³ в нормальних умовах) та води малої густини (з нативною структурою водневих зв'язків та густиною $\rho < 1$ г/см³), які знаходяться в динамічній рівновазі. Ця рівновага може бути зміщена в той чи інший бік в залежності від зміни тиску, температури, швидкості нагрівання чи охолодження, а також присутності розчинених речовин чи поверхневих функціональних груп, які виявляють хаотропний (розвпорядковуючий) чи

космотропний (структурований) вплив. Багато аспектів таких явищ детально описані в роботах Чапліна [21] та Уїгінса [22]. Ікосаедрична кластерна модель щільної та ажурної води практично еквівалентна взаємоперетворенню двох станів води, які утворені структурами, що відповідають гексагональному льоду Ih та льоду II [21], або моделі взаємоперетворення двох станів води високої та низької густини [22]. Ікосаедричний нанодомен з 280 H₂O (120 молекул H₂O на поверхні) має розмір ~3 нм та вода низької густини відповідає структурі Ih, а спряжена будова відповідає воді високої густини [21] – льоду II [22]. Нанодомени можуть утворювати й великі структури, які зберігають впорядковану сітку водневих зв'язків (рис. 1.2.5) [21].

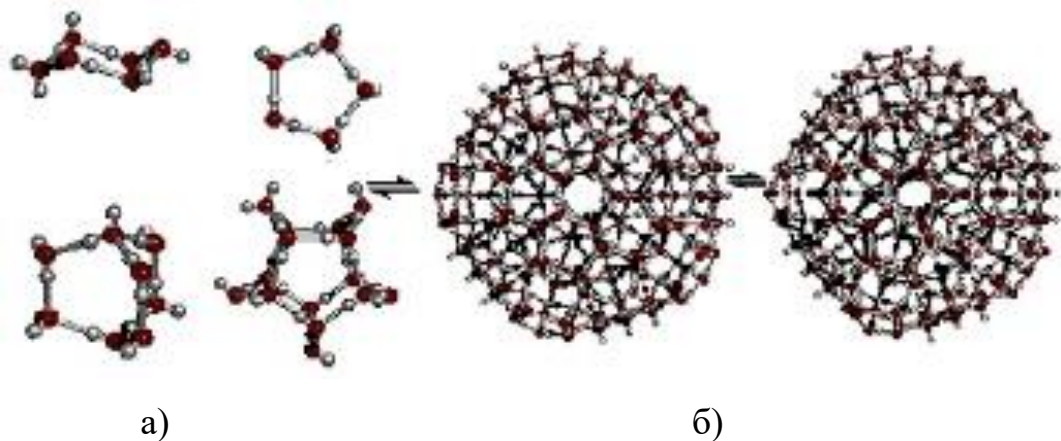


Рис. 1.2.5. Структура гексагонального льоду Ih (а) та ікосаедрична модель структури води (б) [21].

Згідно сучасних уявлень, енергетично найбільш вигідною є конфігурація кластера, що містить 20 молекул H₂O, який являє собою багатогранну трубу з 32 водневими зв'язками. У присутності молекул-домішок або іонів при високому тиску і температурі 0 °С оптимізуються кластери, які містять 21 молекулу H₂O [23-29]. Такі кластери утворюють правильний додекаедр з 12 пентагонами, у вузлах яких знаходяться молекули води, з'єднані водневими зв'язками з сусідніми молекулами. Після видалення молекул-домішок структура води повертається до форми 20. У системі, яка складається з великої кількості молекул води і прагне до мінімального значення вільної енергії, можливе утворення великих кластерів і агрегатів води, здатних

надалі перетворюватися у мікрокраплі або протяжні водні шари. Надзвичайно короткий час життя малих кластерів води (10^{-10} - 10^{-12} с) ускладнює дослідження їх структури. З цією метою застосовуються методи рентгенівської спектроскопії [30], ІЧ-спектроскопії в гідрофобному середовищі [31-36], спектроскопії комбінаційного розсіяння [37-39].

Отже, сукупність одержаних експериментальних даних дозволяє стверджувати, що вода має виражену кластерну структуру, яка виявляється на усіх рівнях: від деяких молекул до доменів порядку сотні нанометрів. Висока асоційованість води та здатність до кластероутворення відрізняє воду від більшості рідин і обумовлює її фізико-хімічні властивості [40].

На сьогоднішній день з'явилося багато розроблених технологій отримання структурованої води, серед них зворотній осмос, заморожування з наступним таненням, процес католіт («жива» вода) і електролітичний поділ води на аноліт («мертва» вода), намагнічування, після чого утворюється вода з новими властивостями, які з'являються не за рахунок хімічного впливу, а за рахунок змін хвильових характеристик і характеристик поля.

1.3. Низькотемпературна ^1H ЯМР-спектроскопія як метод дослідження кластерного стану води

Дослідження кластерного стану води, адсорбованої на поверхні високодисперсних твердих тіл та біополімерних молекул, вивчалися в роботах [40-42]. Основою методу є дослідження систем в умовах обмеженої гідратованості, що дозволяє уникнути необхідності одночасної реєстрації об'ємної та адсорбованої води.

Інформацію відносно будови кластерів води на поверхні оксидних адсорбентів можна отримати за температурними та концентраційними залежностями хімічного зсуву адсорбованої води. У воді кожна молекула може одночасно приймати участь в утворенні чотирьох водневих зв'язків за рахунок двох протонів (вода виступає як протонодонор) та двох неподілених електронних пар (вода виступає як електронодонор). Тоді хімічний зсув молекул води буде залежати від міцності водневих зв'язків та середнього

координаційного числа води в адсорбційному шарі. Можна вважати, що молекули води в рідкому середовищі, які не приймають участь в утворенні водневозв'язаних комплексів, мають хімічний зсув $\delta_0 = 1,7$ м.ч. Для льоду, коли всі молекули води утворюють чотири водневі зв'язки, хімічний зсув води становить $\delta_2 = 7$ м.ч., а хімічний зсув молекул води, зв'язаних з поверхневими гідроксильними групами кремнезему, становить близько 3 м.ч. Зменшення температури приводить до росту кількості водневих зв'язків в системі, внаслідок чого хімічний зсув води в адсорбційному шарі зростає. По усередненій величині хімічного зсуву води можна визначити середнє координаційне число молекул води. Однак при цьому слід урахувувати те, що збільшення хімічного зсуву в молекулі води при утворенні водневого зв'язку в якості протонодонора значно більше, ніж у випадку, коли вода виступає як електронодонор (протони залишаються не задіяними). Тому для тонких шарів адсорбованої води замість координаційного числа краще мати справу із середнім числом протонів у молекулі води, що задіяні в водневих зв'язках (m).

На основі експериментального значення хімічного зсуву адсорбованої води (δ_H) величина m може бути розрахована за формулою

$$m = (\delta_H - \delta_0)/(\delta_1), \quad (1)$$

де $\delta_1 = (\delta_2 - \delta_0)/2 = 2,8$ м.ч. Оскільки величина δ_1 близька до величини хімічного зсуву молекул води, адсорбованих на гідроксильних групах кремнезему, формула (1) може застосовуватись як для об'ємної води, так і для води, адсорбованої на поверхні оксидів.

Спектри ^1H ЯМР води, адсорбованої на поверхні оксидів, нанокремнезему А-300, титанокремнезему з вмістом TiO_2 33 та 7,7% (ТК₃₃ та ТК_{7.7}), алюмокремнезему з вмістом Al_2O_3 23%, одержані в роботі [41], наведено на рис. 1.3.1. Вимірювання проводились для порошків адсорбентів, що містили певну кількість адсорбованої води в середовищі інертного розчинника (дейтерохлороформу). Сам хлороформ може розчинити тільки

невелику кількість води, тому адсорбована вода залишається на поверхні оксидів і не переходить в рідку фазу хлороформу. Така процедура дає, по-перше, можливість точно виміряти величину хімічного зсуву гетерогенної системи, а, по-друге, в ряді випадків приводить до помітного звуження сигналу ЯМР, яке обумовлене уповільненням молекулярного обміну води, зв'язаної з різними адсорбційними центрами. Окрім сигналів адсорбованої води, в спектрах спостерігаються сигнали протонів хлороформу, тетраметилсилану (ТМС) та слабоасоційованої води, яка утворює концентрований розчин в хлороформі, стабілізований границею розділу фаз ($\delta = 1,7$ м.ч.).

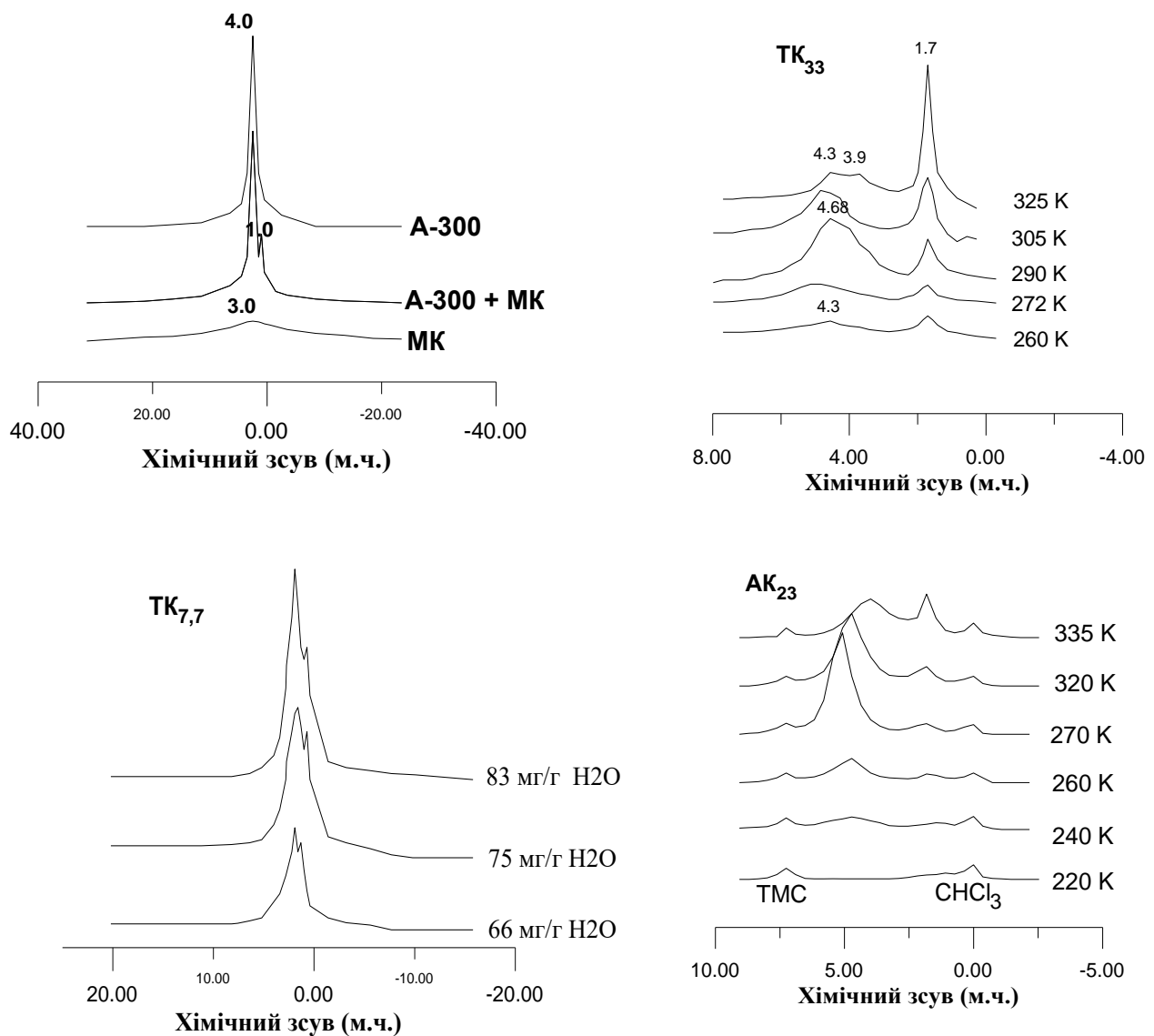


Рис. 1.3.1. Спектри ^1H ЯМР води, адсорбованої на поверхні деяких оксидів [41].

Для всіх досліджених адсорбентів з підвищенням температури хімічний зсув адсорбованої води зменшується у зв'язку зі зменшенням числа m . На деяких спектрах окрім основного сигналу води спостерігається менш інтенсивний сигнал з хімічним зсувом від 3 до 1 м.ч. Дослідження показують, що ці додаткові сигнали обумовлені водою, яка входить до складу кластерів, в яких середнє число водневих зв'язків значно менше, ніж у рідкій воді.

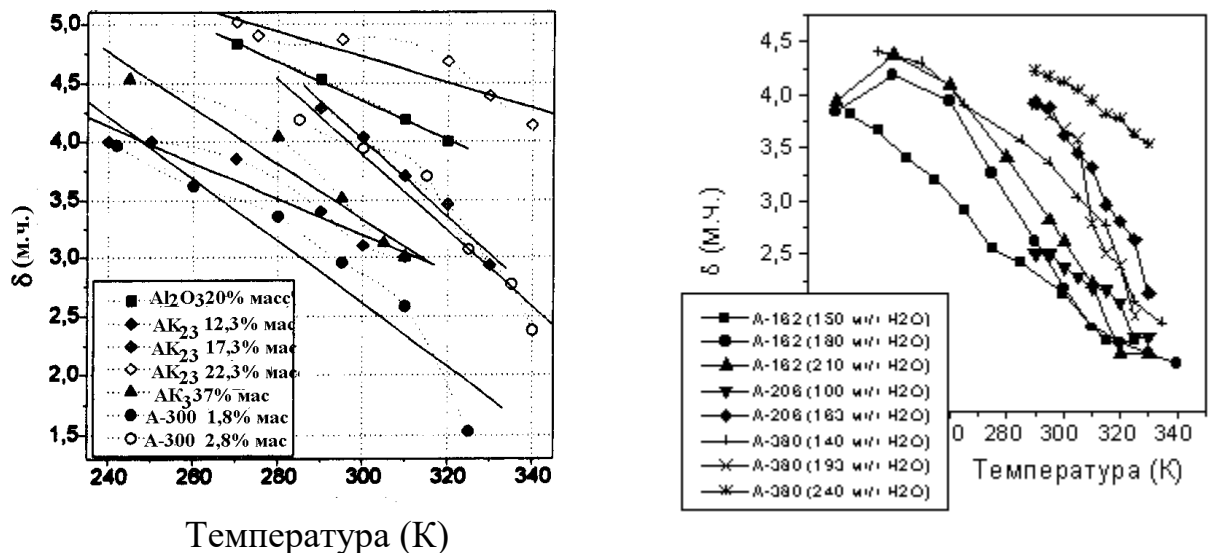


Рис. 1.3.2. Температурні залежності хімічного зсуву деяких оксидів при різних концентраціях адсорбованої води [41].

Для високодисперсного кремнезему мінімальні значення хімічного зсуву (до 1,6 м.ч.) в області підвищених температур спостерігаються для зразків кремнезему, в яких шляхом підбору умов синтезу зменшено кількість поверхневих гідроксильних груп (рис. 1.3.2). Для цих адсорбентів при відносно малій гідратованості поверхні та температурі, вищій за 320 К, на залежностях $\delta(T)$ спостерігається поличка, яка обумовлена відсутністю зміни ступені асоціації молекул води з подальшим зростанням температури. На основі граничної величини δ можна зробити висновок про те, що вода в таких умовах знаходиться у слабоасоційованому стані. Збільшення концентрації адсорбованої води та зниження температури приводить до утворення асоціатів води, в яких число $m > 1$. Відхилення від лінійного

характеру залежностей $\delta(T)$ в їх середній частині свідчить про підвищену імовірність утворення асоціатів різного складу в різних температурних інтервалах.

1.4. Вивчення стану води в клітинах мікроорганізмів

Роль води в процесі життєдіяльності мікроорганізмів загальновідома. Вода є невід'ємним компонентом клітин, що формує фізіологічно активні конформації. З'ясування механізмів функціонування біологічних мембран та безпосередня участь в ньому води дозволяє наблизитись до розуміння природи живої матерії [43-44].

Вода – основний компонент клітинної біомаси і складає 75–85 % загальної маси більшості біологічних об'єктів. Фізіологічна роль води для клітинної біомаси має дуже велике значення: вона є середовищем для розчинення більшості клітинних компонентів і здійснення реакцій проміжного обміну, вона забезпечує оптимальні умови для перенесення метаболітів [45-46]. Нормальний метаболізм, розвиток і розмноження клітин відбувається лише в водній фазі оточуючого середовища. Вода виконує свої фізіологічні функції лише в певній формі: коли вона знаходиться у рухливій, рідкій фазі. Тому біологічна активність її обмежена певними температурними межами, які лежать в області від -2 до близько 100 °C [46]. Частину води, яка міцно прилягає до полімерів й відрізняється по ряду фізичних констант від вільної, називають зв'язаною і її вміст в клітині може досягати 15–30 %. Дослідження стану води в мікроорганізмах методом ЯМР показали, що біохімічні реакції в клітинах припиняються при вологості нижче 10–15 %, коли вода перестає утворювати в клітинах безперервне середовище й локалізована в окремих субструктурах. В мікробній біомасі залишається лише одна фракція води (зв'язана вода), яка характеризується малою рухливістю молекул і, як припускають автори [43], стабілізуючою функцією структури біополімерів, проте майже всі види мікроорганізмів здатні переносити втрату вологи до 3–12 % кінцевої вологості, при цьому максимально зворотно заторможується метаболізм: відбувається перехід в

стан анабіозу. Застосування методу ЯМР для вивчення стану води в різноманітних об'єктах базується в першу чергу на зв'язку ширини резонансних ліній з рухливістю відповідальних за них молекул чи молекулярних груп. Лінія протонного резонансу від вільної води завдяки усередненому ефекту руху вужча, ніж від льоду або сильно зв'язаної води, а також від протонів, що входять до складу малорухливих біологічних макромолекул [47].

Різнманітні модифікації методів ЯМР спектроскопії широко використовують для вивчення клітинних біооб'єктів [47-57]. Однією з основних термодинамічних характеристик, що визначають взаємодію вода/клітина, є робота адгезії, що дорівнює зміні вільної енергії Гіббса, яка обумовлена наявністю границі розділу фаз. В клітинних суспензіях з невисокою в'язкістю величину роботи адгезії (енергію взаємодії поверхні клітин з водним середовищем) можна визначити шляхом вимірювання концентраційних залежностей коефіцієнта в'язкості чи теплоти змочування [58]. Останнім часом для вирішення даної задачі для водних суспензій високодисперсних адсорбентів, біополімерів та водорозчинних полімерів використовується метод виморожування рідкої фази [59-64]. При допомозі даного методу можна вимірювати не лише величину поверхневої енергії, а й характеристики шарів адсорбованої води.

У висушеному чи замороженому стані мікроорганізми надзвичайно стійкі проти впливу екстремальних фізичних і хімічних факторів, практично не старіють і їх біологічні властивості можуть бути збережені на протязі десятиріч. Щоб максимально призупинити процеси життєдіяльності, необхідно видалити із біомаси всю міжклітинну і вільну внутріклітинну воду, а також частину зв'язаної води. За даними японських вчених [47-49], які досліджували зміну таких фізичних властивостей клітинної біомаси, як рівновага парціального тиску водяної пари, діелектричні властивості, спектри ядерного парамагнітного резонансу, термічні коефіцієнти, вода при залишковій вологості вище 20 % утворює в клітинах ще безперервне

середовище, де змінюється лише швидкість ферментативних реакцій, а при вологості нижче 5 % вода строго локалізована в окремих структурних утвореннях (табл.1.4.1) [47].

Таблиця 1.4.1. Активність біохімічних реакцій в залежності від вмісту
вологи в клітинах

Вологість в клітинах, %	Стан води в клітинах	Активність біохімічних реакцій
20	Безперервне середовище	відбуваються
20-10	гелеутворення	обмежено
19-5	рухливо адсорбована	Повільно, з перервами, окремі реакції
5	строго локалізована	Призупинені або окремі реакції, дуже повільно

Істотно впливає на виживання клітин при зневодненні метод переведення клітин в стан анабіозу чи преданабіозу. На основі великого числа публікацій по консервації, можна зробити висновок, що заморожування забезпечує найоптимальніші умови виживання, але цей метод незручний. Сублімаційна сушка без захисних речовин діє згубно на біооб'єкти, та при наявності захисних середовищ цей метод може забезпечити високий ступінь виживання [65]. Середовища, які мають протекторні властивості, використовують для консервування лабільних організмів, зазвичай здійснюють захист мікроорганізмів при заморожуванні, сублімації та при подальшому зберіганні. Так, в ряді робіт [66-68] показано, що модифікування високодисперсного кремнезему різними вуглеводнями – моносахаридами, дисахаридами, трисахаридами та аміносахаридами призводить до зміни його властивостей. Було досліджено структуру адсорбційних комплексів та фізико-хімічні властивості системи адсорбент-біомолекула, синтезовані

зразки перевірялися на біологічну активність, в т.ч. в технологічному процесі кріоконсервування репродуктивних клітин сільськогосподарських тварин (биків, баранів) [66].

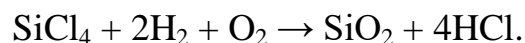
РОЗДІЛ 2.

ВИВЧЕННЯ КОНТАКТНИХ ВЗАЄМОДІЙ ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ З КЛІТИНАМИ ЖИВИХ ОРГАНІЗМІВ

2.1. Будова поверхні, гідратного покриву та активні центри високодисперсного кремнезему

Сучасні експериментальні методи дослідження спрямовані на вивчення взаємодії біологічно активних молекул з поверхнею твердих тіл, серед яких важлива роль відводиться різним модифікаціям кремнезему. Кремній – найпоширеніший елемент земної кори. Атомна частка кремнію в літосфері складає 20% [69], а основного елемента живої природи вуглецю всього 0,15%. В організмі постійно відбувається міграція сполук кремнію, що пов'язано в частю його в обміні речовин і накопиченні в багатьох тканинах. Кремній надходить в живі організми іззовні: з їжею і водою, а також з повітря разом з пилом і аерозольними частинками [70]. В останні десятиріччя на основі діоксиду кремнію створено ефективні адсорбенти для вилучення з організму токсичних речовин, що робить актуальними розгляд біологічних та медичних аспектів застосування діоксиду кремнію.

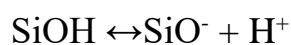
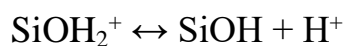
Отримання пірогенних кремнеземів являє собою багатостадійний екзотермічний процес високотемпературного (1000-1400 °С) гідролізу тетрахлориду кремнію в воднево-кисневому полум'ї пальника [71,72], який протікає за схемою:



Утворений у такий спосіб дисперсний нанорозмірний кремнезем являє собою пухкий, пилоподібний, надзвичайно легкий блакитнувато-білий порошок, який має досить складну структурну ієрархію: проточастинки (<1 нм), первинні частинки (5-100 нм), агрегати первинних частинок (<1 мкм, вторинні частинки), агломерати агрегатів (1-50 мкм, третинні частинки) і видимі частинки [73]. Ефект об'єднання в агрегати і агломерати тим сильніше виражений, чим менший середній розмір мають первинні частинки [74]. В наш час існують різні марки пірогенних кремнеземів високого ступеня

чистоти [75], які відрізняються за розмірами частинок, величиною питомої поверхні (50-400 м²/г) і властивостями поверхні в залежності від умов синтезу (концентрація реагентів, температура полум'я, час перебування в камері згоряння) [76,77]. До кремнієвих ентеросорбентів фармакопея висуває високі вимоги за показниками чистоти, оскільки їх приймають перорально у великих кількостях. Так, через наявність слідів HCl в якості побічного продукту синтезу, для колоїдного гідратованого кремнезему регламентують вміст хлоридів (не більше 0,1%) [ВР 2009], для медичних адсорбентів, що випускаються під товарними марками Полісорб, Силікс та ін. – не більше 0,025% [ФС 424-82/224- 889-00. Силікс]. Кількісне визначення кремнезему в субстанції полягає у визначенні маси залишку після розчинення препарату у плавииковій кислоті з подальшим випарюванням і спалюванням, де його вміст повинен становити не менше 99,0% [USP 30]. Крім того, розмір частинок і насипну густину можна віднести до характеристик тотожності препарату, що рекомендується виробникам сорбентів вказувати у відповідних розділах супровідної аналітичної нормативної документації [77].

Структура і властивості поверхні кремнезему викладені в багатьох роботах [78-82]. Рентгеноструктурний аналіз показав, що пірогенний кремнезем є аморфним, в його структурі відсутня кристалічна фаза і порушений дальній порядок. Тому для пояснення взаємодії біооб'єктів з дисперсним кремнеземом використовують кластерний підхід з урахуванням розмірів кластерів і рівня їх аморфізації [83]. Важливу роль для участі в адсорбційних і хемосорбційних процесах, а також встановлення природи активних центрів поверхні, виконують гідрофільні силанольні групи. Силанольні групи (концентрація їх на поверхні ~ 2-5 мкм/м²) виявляють звичайно слабкокислі властивості, зумовлені здатністю до іонізації у водному розчині:



Значний від'ємний заряд на атомі кисню забезпечує високі протонноакцепторні властивості цих груп, обумовлюючи протікання реакцій

їх нуклеофільного заміщення $S_Ni(Si)$. У той же час можливе протікання реакцій електрофільного заміщення H^+ , що пов'язано з помітною бренстедівською кислотністю поверхневих ОН-груп $S_{Ei}(Si)$. Силоксановий зв'язок $\equiv Si-O-Si \equiv$ в значній мірі гідрофобний через великі значення кутів $Si-O-Si > 140^\circ$, що свідчить про малу величину нормальної складової дипольного моменту зв'язків і низьку поляризованість. За координацією і ступенем участі в утворенні водневого зв'язку, розрізняють ізольовані гідрофільні силанольні (термінальні) $\equiv SiOH$, яким в ІЧ-спектрі відповідає смуга 3750 см^{-1} , сіландіольні (гемінальні) $=Si(OH)_2$, пов'язані з сусідніми (віцинальними) гідрофільними силанольними групами, які знаходяться на відстані $\sim 0,3\text{ нм}$ одна від одної зі смугою в області 3550 см^{-1} , і метастабільні сілантріольні групи $-Si(OH)_3$. Згідно даних імпульсної ЯМР-спектроскопії високої роздільної здатності в твердому тілі з використанням техніки крос-поляризації і обертання під магічним кутом на ядрах ^{29}Si і 1H , на поверхні аеросилу присутні в основному ізольовані силанольні групи та невелика кількість сіландіольних груп [84-86].

Наявність молекулярно адсорбованої води на поверхні кремнезему істотно впливає на фізико-хімічні властивості поверхні, такі як швидкість протікання реакцій з перенесенням протона, поверхневу протонну провідність, а також на характер взаємодії з адсорбованими біомолекулами або лікарськими речовинами [80, 86]. У свою чергу, наявність дисоціативної адсорбованої води на поверхні повністю гідроксильованого кремнезему призводить до утворення різних структур, таких, як наприклад, $\equiv Si(OH) \leftarrow OH^-$, $\equiv SiOH_2^+$. Існування такого виду води дозволяє пояснити наявність активних центрів з більшою кислотністю, ніж гідрофільні силанольні групи, а також явище набухання частинок. Ці ефекти пов'язують з наявністю донорно-акцепторних комплексів $\equiv Si(OH) \leftarrow OH_2$.

2.2. Вплив високодисперсного кремнезему на клітинні об'єкти

Клітинна мембрана виконує найважливіші функції життєзабезпечення окремої клітини і мікроорганізмів в цілому. Життєздатність клітини залежить

від величини негативного заряду її поверхні, який пов'язаний з кількістю адсорбованих молекул та іонів. В присутності наночастинок кремнезему відбувається взаємодія поверхні клітин та наночастинок. Оскільки адсорбція негативно заряджених частинок кремнезему на клітинній поверхні носить в основному електростатичний характер, вона здійснюється за допомогою позитивно заряджених четвертинних амонієвих груп, які містяться в мембрані, а також утворення водневих зв'язків між гідрофільними силанольними групами і вторинними амідними групами мембранних білків [87-89]. Ряд робіт висвітлюють результати впливу ВДК на властивості клітин організму [87, 90]. При вивченні адсорбційної взаємодії ВДК з еритроцитами встановлено мембранопшкоджуючу дію, яка безпосередньо залежить від розміру частинок кремнезему і їх концентрації у водній суспензії [91-93]. В роботі [94] було показано, що взаємодія ВДК з рецепторним апаратом лімфоцитів носить вибірковий характер (зменшує кількість Т-лімфоцитів і практично не впливає на розеткоутворення В-лімфоцитів). Стабілізуюча дія ВДК на мембранні структури репродуктивних клітин [87, 94] пояснюється привнесеним додатковим негативним зарядом частинок ВДК. В роботі [90] показано, що модифікування поверхні кремнезему гідрофільними і гідрофобними функціональними групами викликає загибель тучних клітин (клітин, що містять значну кількість жирних кислот) [94].

2.3. Вивчення дії високодисперсного кремнезему на функціональний стан і транспорт речовин в кишечнику

Експериментальні дані з вивчення тривалого впливу Силіксу на морфологію тонкого кишечника в терапевтичній (100 мг/кг) і близьких до лікувальної (330 мг/кг і 1000 мг/кг) дозах препарату, показали, що в дозі 100 мг/кг він не викликає морфометричних показників і практично не змінює рельєф слизової [83]. При збільшенні дози зазначалося потовщення м'язового шару, зменшення товщини слизової, збільшення числа бокалоподібних клітин, а також вкорочення ворсинок і зменшення відстані між ними.

Результати впливу Силіксу на кишкову моторику показали більш швидке просування вмісту кишечника, а гідрофільні властивості Силіксу свідчать про здатність утримувати воду, і цей факт підтверджується збільшенням вологої маси калу. Холестеринзнижувальна дія Силіксу найбільш помітна в дозі 1000 мг/кг, що супроводжувалося деяким підвищенням вмісту вільних жирних кислот у слизовій кишечника. Вплив Силіксу на спектр фосфоліпідів слизової кишечника показує, що великі дози цього препарату підвищують концентрацію лізофосфатидилхоліну, при цьому зменшувався зміст фосфатидилхоліну і фосфатидилетаноламіну. Під впливом Силіксу активізуються процеси перекисного окиснення ліпідів у слизовій кишечника. Силікс в дозі 1000 мг/кг підвищує концентрацію білків, тим самим змінюючи склад глікопротеїнів – поверхнево розташованих білків клітинної мембрани слизової тонкої кишки. У той же час відзначається зниження концентрації глікозаміногліканів, що складають основу глікокаліксу, цей процес супроводжується істотним падінням рівня глюкуронової кислоти і гексозамінів у слизовій тонкої кишки. Вплив високих доз Силіксу на активність ферментів слизового шару кишечника виражається в падінні активності 5-нуклеотидази і Na^+ , K^+ -АТФази, активізації катепсину Д і кислої фосфатази, значного зниження активності сахарази і лужної фосфатази, при цьому практично не впливає на активність Mg^{2+} -АТФази, гамма-глутамілтрансферази, НАДН-редуктази, НАДФ-редуктази, арілестерази, глутаматдегідрогенази і глутатіон-S-трансферази [94].

При вивченні дії Силіксу на транспортні процеси в кишечнику, представлені всмоктуванням і секрецією води та іонів в просвіт кишки, було встановлено, що Силікс стимулює транспорт глюкози та електролітів через стінки в різних відділах кишечника. Так, всмоктування глюкози в основному стимулюється у верхньому і нижньому відділах кишечника, хлоридів - у середньому і нижньому, кальцію - у верхньому і середньому, натрію і калію - тільки в нижніх відділах тонкої кишки [83].

РОЗДІЛ 3.

ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВОДИ, АДСОРБОВАНОЇ НА НАНОКРЕМНЕЗЕМІ, В ПРИСУТНОСТІ МІНЕРАЛЬНИХ КИСЛОТ

Для розуміння механізмів біологічної активності нанокремнезему [83] велике значення має вплив кластерного стану води на перебіг хімічних реакцій, а також розчиняючих властивостей кластеризованої води по відношенню до мінеральних кислот. В якості модельних реакцій у застосуванні до біологічних систем можуть бути використані процеси дисоціації і сольватації кислот. При дисоціації кислот утворюються гідратовані протони у вигляді кластерів $\text{H}_3\text{O}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ (катиони Ейгена і Цунделя) і кислотних залишків, причому обидва сильно впливають на структуру води [27] і [95]. Кластеризація води призводить до зменшення розчинності сполук у ній і сприяє сповільненню протікання таких хімічних реакцій, як електролітична дисоціація.

Ступінь дисоціації і відповідні зміни в структурі води залежно від концентрації кислоти в присутності наночастинок кремнезему можуть бути вивчені за допомогою ^1H ЯМР-спектроскопії шляхом порівняння зміни значень хімічних зсувів води і кислот. "Кислотні" атоми водню в багатьох кислотах характеризуються низькою електронною густиною, тому значення хімічного зсуву протонів становить в межах 9-13 м.ч., проте вони значно менші, ніж хімічний зсув протонів в сильних водневих зв'язках $\text{N}\cdots\text{H}-\text{O}$ ($\delta_{\text{H}} = 16-20$ м.ч.), [96] і [97]. Тоді за зміною величини хімічного зсуву можна оцінювати ступінь дисоційованості кислот та вплив на неї ефектів кластеризації.

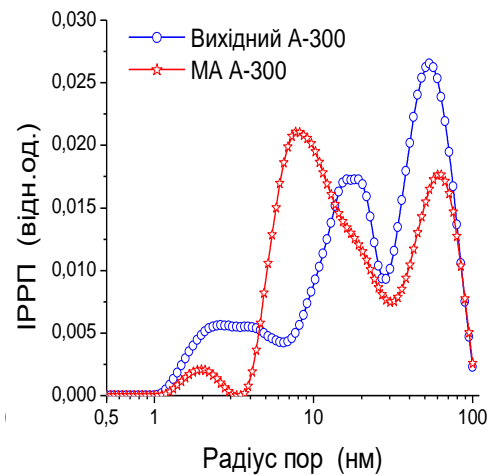
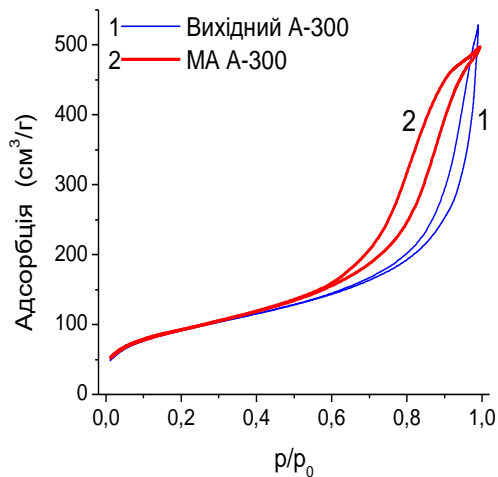
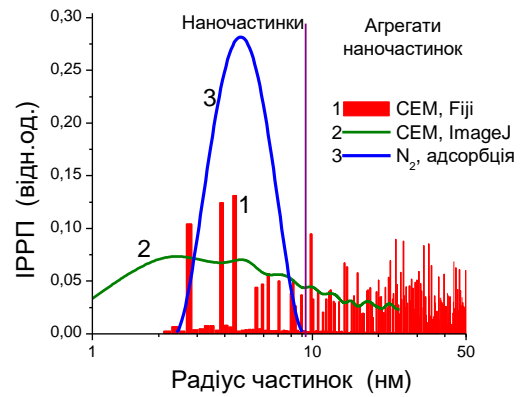
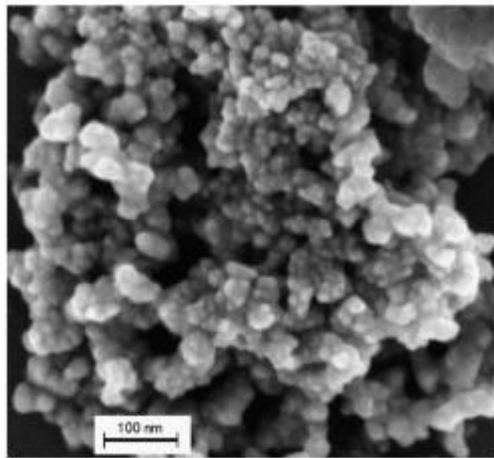
3.1. Адсорбція води і концентрованої хлористоводневої кислоти на високодисперсному нанокремнеземі в середовищі слабополярних органічних розчинників

Хлористоводнева кислота належить до сильних мінеральних кислот. Вона повністю дисоційована в розбавлених водних розчинах, в той час як у

концентрованих розчинах дисоціація її проходить з низьким виходом і не перевищує декількох відсотків [95].

Первинні непористі наночастинки А300 утворюють агрегати (рис. 3.1.1 *a*), відповідальні за текстурну пористість порошку [71, 81, 83, 98-101]. Ці наночастинки мають відносно вузький розподіл за розмірами (рис. 3.1.1, *б*, крива 3), розрахований за даними адсорбції азоту з використанням самоузгодженої процедури регуляризації [98] і [101]. Обробка СЕМ-зображення (рис. 3.1.1, *a*) за допомогою спеціального програмного забезпечення (ImageJ гранулометрії з плагіном [102] або Фіджі з локальним плагіном товщини [103]) дозволяє обчислити функції розподілу за розмірами первинних частинок та їх агрегатів (рис. 3.1.1, *б*). Текстура пористість відповідає за появу петлі гістерезису в ізотермах адсорбції-десорбції азоту (рис. 3.1.1, *в*), що є типовим для мезопористих матеріалів [104]. Розподіл пор за розмірами (рис. 3.1.1, *г*) показує, що МА А300, охарактеризований за спектральною густиною потужності (СПП), зміщується в бік вузьких розмірів пор у порівнянні з вихідним матеріалом через значне ущільнення агломератів і агрегатів наночастинок.

Вода, адсорбована на вихідному кремнеземі, характеризується двома ^1H ЯМР сигналами (рис. 3.1.2, *a*) при $\delta_{\text{H}} = 2,8-4,8$ (SAW) і 1,5 м.ч. (WAW). Наявність двох сигналів вказує на труднощі в процесах обміну між відповідними структурами води. Це може бути пояснено утворенням малих кластерів і нанодоменів води, зв'язаної у вузьких порах між сусідніми частинками (WAW) і більш широкими порами між кількома сусідніми частинками в агрегатах (рис. 3.1.1), відповідно. Такі ж значення δ_{H} спостерігалися для води, адсорбованої на пористих кремнеземах і спостерігаються на водневозв'язаних і незв'язаних протонах у молекулах води [105] і [106]. Проте, слід зазначити, що топологія пор в силікагелях або інших кремнеземах, таких як мезопористий кремнезем МСМ-41, і порожнин у порошку нанокремнезему сильно відрізняються. Відповідно, процес кластеризації води протікає набагато краще у випадку нанокремнезему (при низьких кількостях води), ніж силікагелю [41] і [107].



а)

б)

в)

г)

Рис. 3.1.1. СЕМ-зображення (JSM-6310, Japan Electron Optics Ltd) нанокремнезема-300 (а), функції розподілу за розмірами первинних частинок та їх агрегатів А300 (б), ізотерми адсорбції-десорбції азоту (в) (записані за допомогою Micromeritics ASAP 2405N аналізатора адсорбції) і розрахований розподіл пор за розмірами методом ДФТ з використанням моделі пор між сферичними наночастинками кремнезему для вихідного і МА-кремнезему (г).

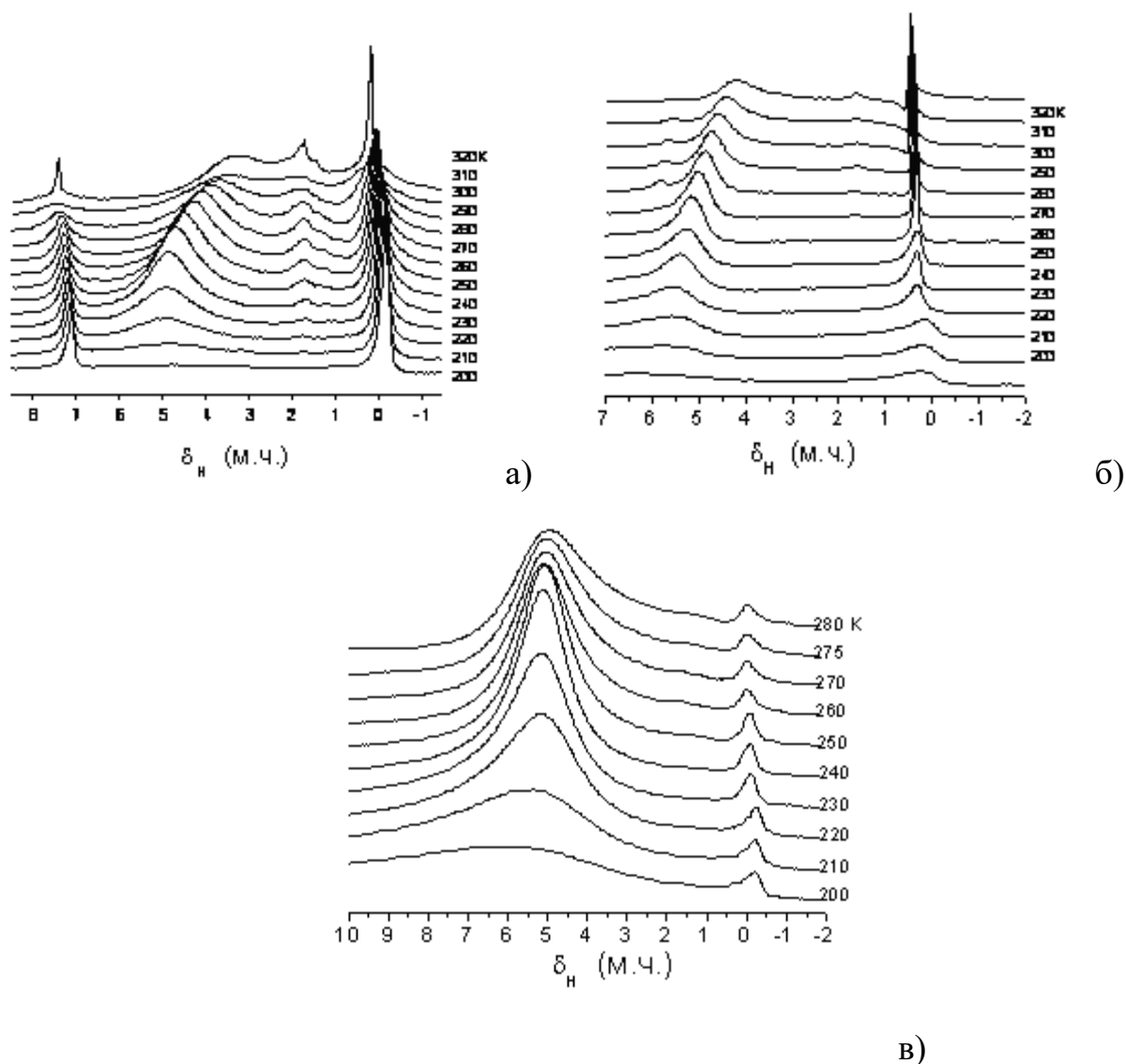


Рис. 3.1.2. ^1H ЯМР спектри, зняті при різних температурах води (5 мас.%), адсорбованої на А300 вихідному (а, б) і МА-кремнезему (в) в середовищі CDCl_3 (а) і CCl_4 (б, в).

Сигнали при $\delta_{\text{H}} = 0$ і 7,16 м.ч. пояснюються наявністю тетраметилсилану і CHCl_3 (домішка в CDCl_3), відповідно. Згідно класифікації ^1H ЯМР сигналу [41], [107], спостережувані сигнали води (рис. 3.1.2, а) можуть бути обумовлені сильно- (SAW) і слабоасоційованою (WAW) водою, відповідно. Сигнал SAW зміщується в сильне магнітне поле із зростанням температури, що може бути пояснено руйнуванням частини водневих зв'язків, розкладанням великих поліасоціатів незамерзаючої води і стабілізації малих структур незамерзаючої води у вузьких порах [41].

При $T < 250$ К інтенсивність сигналу SAW зменшується через замерзання цієї води при пониженні температури. Цей процес супроводжується

розширенням сигналу через знижену рухливість адсорбованої води при низьких температурах. Деяке розширення сигналу SAW при $T > 250$ К пов'язане з такими чинниками, як прискорення обмінних процесів між SAW та WAW і збільшенням неоднорідного уширення за рахунок появи пари пухирців пари розчинника в об'ємі дисперсійного середовища, яка утворюється з підвищенням температури. Останнє може призвести і до зниження інтенсивності сигналу SAW.

Інтенсивність сигналу WAW зменшується з пониженням температури, але дещо менше, ніж сигналу SAW (рис. 3.1.2, *a*). Два окремих сигнали різної інтенсивності спостерігаються для WAW через неоднорідність цієї води. При $T > 250$ К інтенсивність сигналу WAW збільшується за рахунок зменшення вмісту SAW. Два сигнали WAW (рис. 3.1.2, *a*) можуть бути віднесені до води, розчиненої в хлороформі (правий сигнал низької інтенсивності), і води, зв'язаної з наночастинками кремнезему (лівий сигнал більшої інтенсивності). Сигнали TMC і CHCl_3 (рис. 3.1.2, *a*) зростають з пониженням температури у зв'язку із ростом заселеності ядерних рівнів (закон Кюри) [108].

Заміна слабополярного середовища CDCl_3 на неполярне CCl_4 (рис. 3.1.2, *b*) призводить до значного зменшення інтенсивності сигналу WAW і певних змін в структурі SAW. Таким чином, зсув сигналу SAW в область сильних магнітних полів із збільшенням температури менш виражений, ніж у середовищі CDCl_3 . При $T < 240$ К ширина сигналу TMC збільшується (рис. 3.1.2, *b*) через замерзання CCl_4 . TMC замерзає при значно нижчій температурі, ніж CCl_4 . Тому рідкий TMC зосереджений у порах в замороженому CCl_4 , в яких температура замерзання обох компонентів зменшується через колігативні властивості суміші і зниження температури замерзання для рідин, розміщених у вузьких порах [27] і [101].

^1H ЯМР спектр сильно змінює форму у випадку МА-кремнезему (рис. 3.1.2, *в*). Щільна упаковка первинних частинок МА-кремнезему, порівняно з вихідним А-300, підсилює адсорбцію води і її зв'язування (температура замерзання води знижується). Таким чином, адсорбована вода в більш вузьких порах (рис. 3.1.1, *г*) сильніше зв'язується з поверхнею кремнезему.

Це пов'язано із збільшенням адсорбційного потенціалу в більш вузьких порах через ефекти другої стінки, яка спостерігається для будь-яких адсорбатів та багатьох адсорбентів [104, 109]. Інтенсивність ^1H ЯМР сигналу зв'язаної води збільшується по відношенню до сигналу ТМС. Значна частина CCl_4 при $T = 230 \text{ K}$ знаходиться у рідкому стані. Тому ширина сигналу ТМС не змінюється у всьому діапазоні температур (рис. 3.1.2, в), на відміну від вихідного кремнезему (рис. 3.1.2, б). Температура замерзання води, зв'язаної з поверхнею МА-кремнезему є нижчою, ніж для вихідного кремнезему. Це можна пояснити адсорбцією води у вузьких порах між наночастинками непористого МА-нанокремнезему.

ЯМР-кріопорометрія показує різницю в організації водних кластерів, адсорбованих на вихідному і МА А-300 (рис. 3.1.3) через різницю в структурі пор цих нанокремнеземів (рис. 3.1.1, з). Вміст 5% мас. H_2O занадто низький для утворення безперервного шару води на поверхні кремнезему і для заповнення всіх текстурних пор (рис. 3.1.1, з). Таким чином, вода є сильнозв'язаною (заморожування починається при $T < 250 \text{ K}$) і може покривати тільки частину поверхні кремнезему і заповнити тільки невелику частину пор, в основному вузьких мезопор і нанопор, формуючи кластери радіусом $R < 3 \text{ нм}$ (рис. 3.1.3, б).

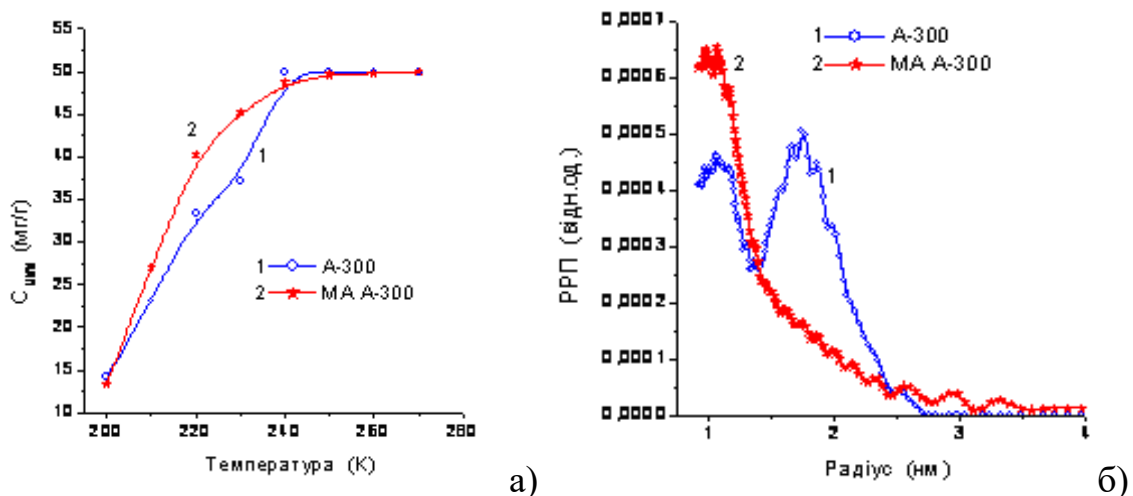


Рис. 3.1.3. Температурна залежність вмісту незамерзаючої води, C_{UW} (загальний вміст води 5 мас.%), адсорбованої на вихідному і МА А300 (а) і розподілу кластерів за розмірами (середовище CCl_4) (б).

Крім того, CCl_4 може зменшити площу контакту між поверхнею діоксиду кремнію і адсорбованою водою, яка утворює кластерний адсорбційний шар [41] (вода не змочує поверхню пор, а утворює на ній сферо подібні кластери). Площа поверхні контакту між цим шаром і гідрофобним середовищем CCl_4 має тенденцію бути мінімальним для зменшення загальної вільної енергії системи [41] і [107] (як між рідинами, які не змішуються між собою). Фактично, спорідненість поверхні кремнезему до органічних гідрофобних розчинників виявляється сумірною з її спорідненістю до води, що призводить до виштовхування частини адсорбованої води від поверхні.

На рис. 3.1.4 наведено результати вивчення впливу поверхні кремнезему на водний розчин хлористоводневої кислоти. Чиста рідка хлористоводнева кислота (36% мас.) має сигнал при $\delta_{\text{H}} = 8,8-9,4$ м.ч., який збільшується з пониженням температури (рис. 3.1.4, а) завдяки частковому замерзанню переважно води та збільшенню асоційованості водного розчину HCl . Проте, якщо розчин HCl контактує з поверхнею кремнезему, один сигнал розчину кислоти розпадається принаймні на два сигнали з різними значеннями хімічного зсуву – тим більшими, чим вища концентрація HCl у відповідальних за них поліасоціатах. Це перший випадок спостереження розділення поверхнею кремнезему розчину концентрованої хлористоводневої кислоти на систему кластерів з різною концентрацією HCl . Два основних сигнали на рис. 3.1.4, б відповідають гідратованим комплекси HCl (сигнал 1), в яких концентрація близька до концентрації рідкої соляної кислоти та SAW , що містить невелику кількість розчиненої HCl (сигнал 2). Вони відрізняються своєю залежністю від температури. Значення δ_{H} та інтенсивність сигналу 1 слабо залежать від температури, на відміну від сигналу 2, інтенсивність якого збільшується, а положення зміщується в сильне магнітне поле із збільшенням температури. Сигнал 2 перестає спостерігатися в спектрах при $T < 240$ К.

Крім основних сигналів в спектрах реєструються два сигнали слабо асоційованої води ($\delta_{\text{H}} = 1,5-2$ м.ч.) та хлороформу ($\delta_{\text{H}} = 7,26$ м.ч.). При цьому більш вузький сигнал ($\delta_{\text{H}} = 1,5$ м.ч.) може відноситись до води, розчиненої в рідкому хлороформі.

В середовищі CCl_4 (рис. 3.1.4, *в*) загальний характер спектрів залишається без зміни, проте різниця в хімічних зсувах між двома сигналами SAW дещо зменшується. Із збільшенням концентрації HCl різниця між сигналами 1 і 2 зменшується, а інтенсивність сигналу 1 зростає відносно сигналу 2. При $T < 240$ К спостерігається зниження інтенсивності сигналу 2 (рис. 3.1.4, *в*).

В експериментах використовувалась концентрована 36%-на хлористоводнева кислота. Така концентрація відповідає розчину HCl , в якому на одну молекулу кислоти припадає шість молекул води. Цей розчин замерзає при $T < 200$ К (рис. 3.1.4, *а*), причому замерзає як вода, так і кислота. Замерзання розчинів хлористоводневої кислоти можливе при більш високих температурах, якщо концентрація HCl значно знижена. Отже, результати, показані на рис. 3.1.4, *б-г*, можна інтерпретувати як формування двох типів структур HCl /вода з різними концентраціями HCl (C_{HCl} менша в структурах, які проявляються у вигляді сигналу 2 при більш низькому значенні δ_{H} і ці структури включають головним чином недисоційовані молекули HCl). Хімічний зсув сигналу 1 близький за величиною до хімічного зсуву рідкої HCl , тобто структури, які відповідають сигналу 1, мають властивості, аналогічні розчину хлористоводневої кислоти в об'ємі із значним внеском дисоційованих молекул HCl [111, 112].

У випадку системи вода/ HCl , адсорбованої на МА А-300, в ^1H ЯМР спектрах (рис. 3.1.4, *д*) спостерігаються значення хімічного зсуву, які не перевищують 6 м.ч. Це можна пояснити двома основними чинниками: зменшенням ступеня дисоціації HCl в порах (міжчастинкових зазорах), утворюваних в кремнеземі в результаті механохімічної активації та зменшенням кількості розчиненої кислоти в спостережуваних за допомогою ^1H ЯМР-спектроскопії кластерах водного розчину HCl (імовірно, що HCl не спостерігається в спектрах, завдяки утворенню на поверхні адсорбційних комплексів зі слабкою рухливістю протонів, суміжну з рухливістю протонів в фазі кремнезему).

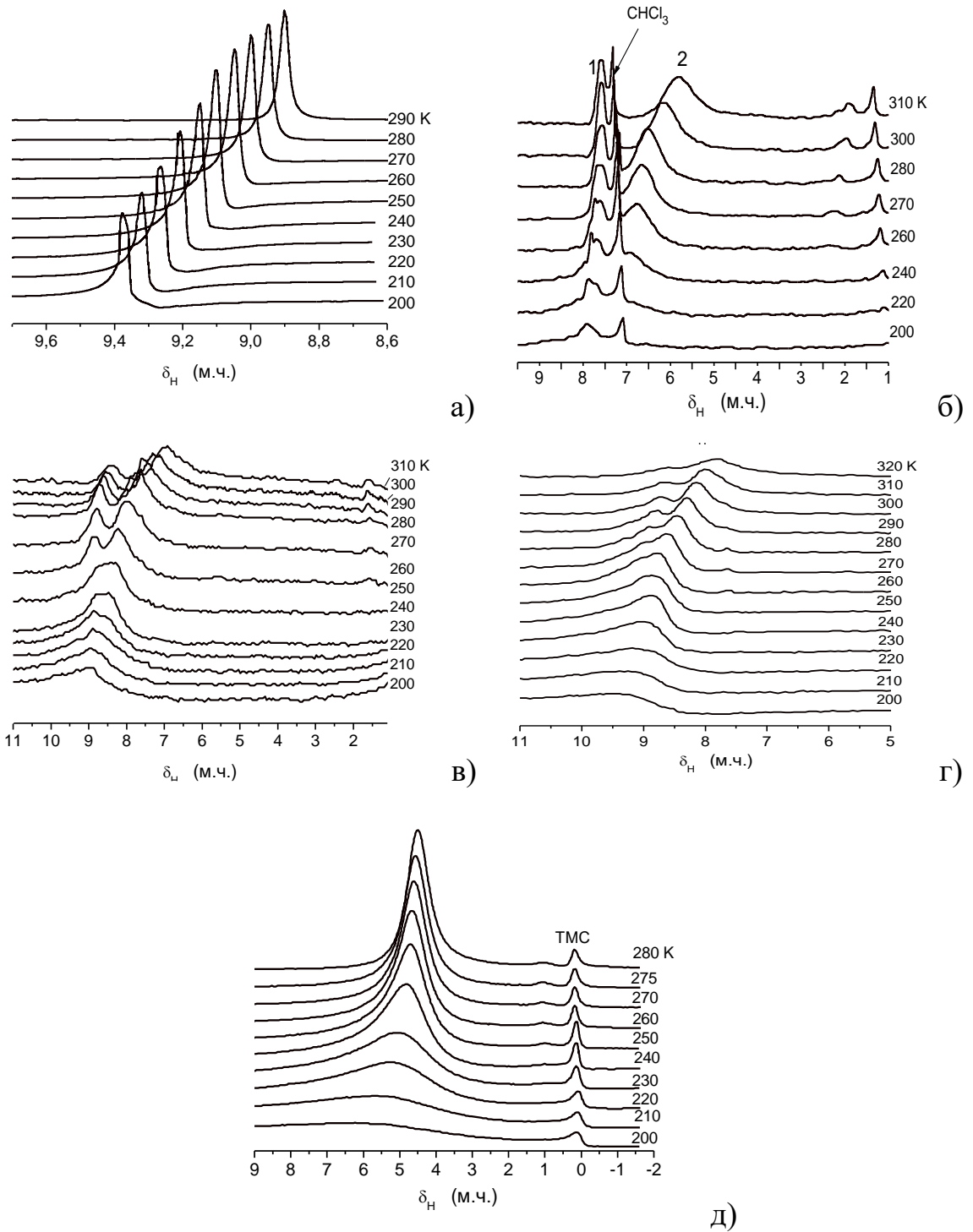


Рис. 3.1.4. ^1H ЯМР спектри 36%-вої хлористоводневої кислоти (а), сумішшю хлористоводневої кислоти з водою, адсорбованою на вихідному (б-г) і МА кремнеземі А300 (д) у різних середовищах: CDCl_3 (б) та CCl_4 (в-д); 38 мг/г H_2O і 44 мг/г HCl (б,в,г), 140 мг/г H_2O і 120 мг/г HCl (д).

Квантово-хімічні розрахунки ^1H ЯМР тензорів екранування (хімічних зсувів, рис. 3.1.5), перетворені в спектри (рис. 3.1.6), показують, що недисоційовані молекули HCl , розчинені у воді, мають $\delta_{\text{H}} < 6$ м.ч., що відповідає сигналу, який спостерігається на рис. 3.1.4, а. Безводний кластер з 16HCl , розрахований з урахуванням сольватаційних ефектів (GIAO/IEFPCM/B3LYP/6-31G(d,p)), характеризується вузькою функцією розподілу $F(\delta_{\text{H}})$ (рис. 3.1.6), оскільки всі молекули HCl залишаються недисоційованими. У разі дисоційованих молекул HCl в оточенні $16\text{H}_2\text{O}$, окрема іонна пара формується з H^+ , зв'язаного в H_5O_2^+ і Cl^- шляхом взаємодії з кількома молекулами H_2O (рис. 3.1.5). Він має набагато ширший ^1H ЯМР спектр, ніж у недисоційованих 16 молекул HCl і характеризується значеннями δ_{H} до 17 м.ч. Ці розрахунки показують, що хімічний зсув розчину HCl повинен залежати від кількості недисоційованої хлористоводневої кислоти. Для недисоційованої HCl слід очікувати значень хімічного зсуву, які не перевищують 6 м.ч. Саме такі значення спостерігаються в експериментах з розчином хлористоводневої кислоти, адсорбованим на поверхні МА кремнезему (рис. 3.1.4, д). Катіони Ейгена і Цунделя, розташовані на значній відстані від іонів Cl^- [95], забезпечують сигнали з більш високими значеннями δ_{H} (рис. 3.1.6).

Схематичний розподіл нанокрапель води (декілька відсотків), адсорбованої в текстурних порах нанокремнезему (рис. 3.1.3, б), які знаходяться в середовищі CCl_4 (або CDCl_3), показаний на рис. 3.1.7. Водні структури (з/без розчиненої HCl), як правило, мають мінімальну площу поверхні контакту з неполярним розчинником [41] і [107]. Значення δ_{H} перебувають у діапазоні 1-2 м.ч., що відповідає WAW або ізольованим молекулам води в органічних розчинниках [113]. Присутність HCl , розчиненої у воді, може слабо впливати на взаємодію води з гідрофобними розчинниками, оскільки границя між гідрофільними (HCl /вода) і гідрофобними структурами повинна бути мінімальною для зменшення вільної енергії системи.

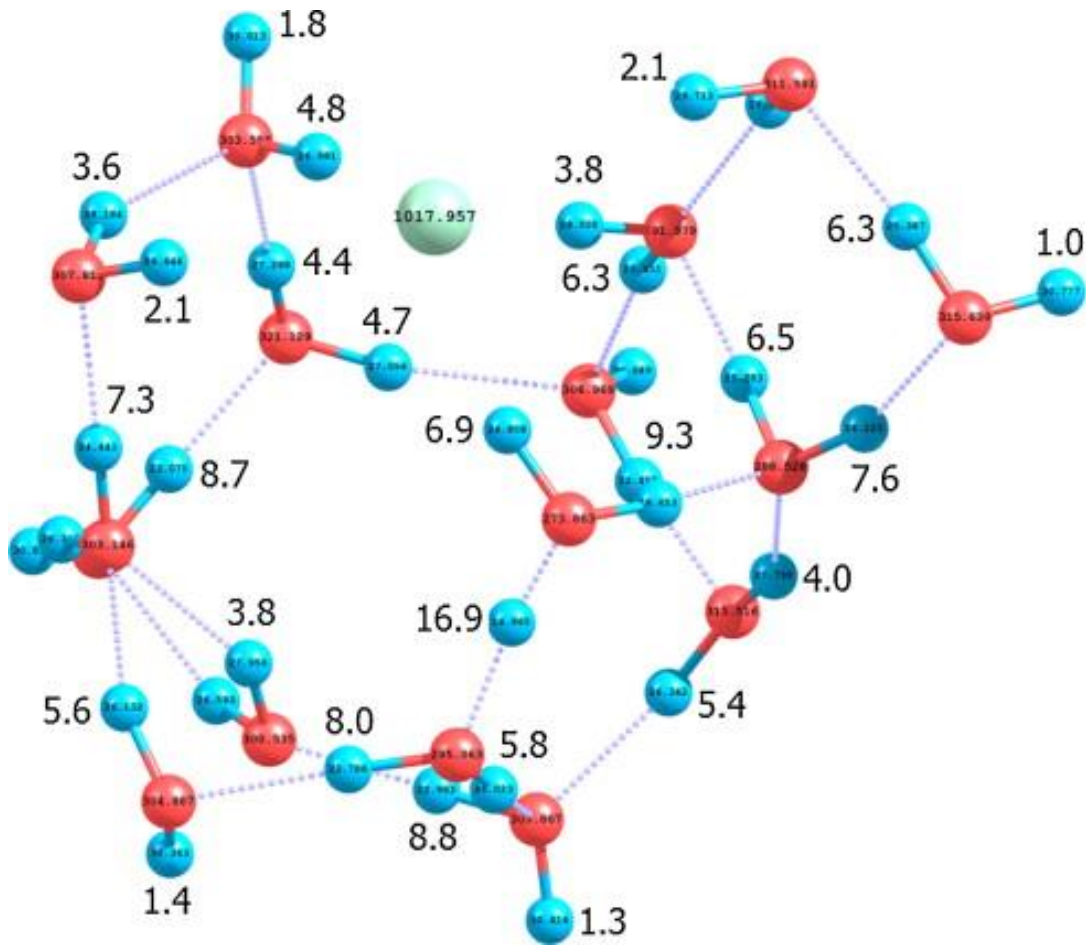


Рис. 3.1.5. Значення хімічного зсуву (δ_H) у кластері, що містить дисоційовану хлористоводневу кислоту і 16 молекул H_2O [112].

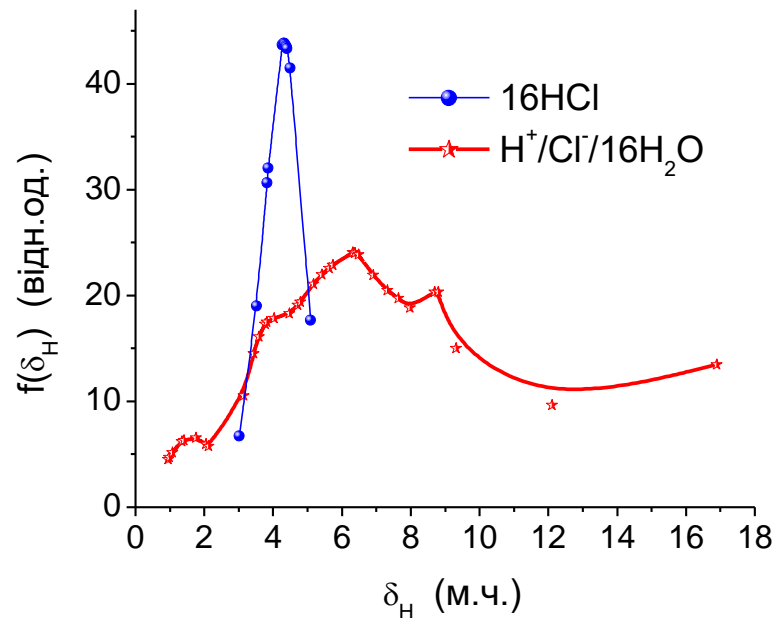


Рис. 3.1.6. Функція розподілу значень δ_H для кластерів з 16HCl і дисоційованих HCl при взаємодії із 16H₂O (геометрія була оптимізована з

використанням IEFPCM/B3LYP/6-31G (d,p) і ЯМР-спектри були розраховані з використанням GIAO з урахуванням ефектів сольватації).

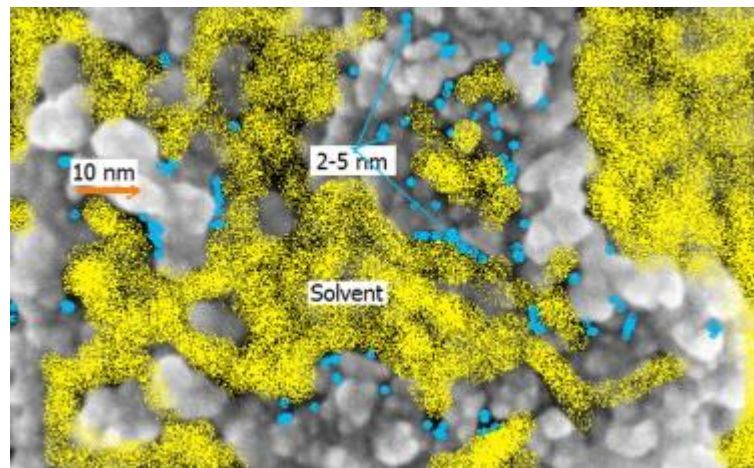


Рис. 3.1.7. Схема розподілу нанокрапель води (2-5 нм) в порожнинах між наночастинками кремнезему (~10 нм) при низькому вмісті (декілька відсотків) води, адсорбованої на нанокремнеземі в середовищі CCl_4 або CDCl_3 .

3.2. Адсорбція води і оксокислот фосфору на високодисперсному нанокремнеземі в середовищі слабополярних органічних розчинників

Фосфор - біологічно активний мінерал, який бере участь в більшості обмінних процесів в організмі, і є незамінним елементом процесу формування нервової тканини і кісток, є складовою частиною клітинних мембран та нуклеїнових кислот (ДНК і РНК). Фосфор бере участь у виробленні енергії організмом, функціонуванні м'язової тканини, регулювання кислотно-лужного гомеостазу, сигналізації клітин за допомогою реакцій фосфорилування, зберіганні генетичної інформації тощо.

Значна частина фосфору в організмі (до 80%) знаходиться в складі сполук з кальцієм і бере участь у формуванні кісток і зубів. Фосфор – головний структурний компонент кісткової тканини у вигляді фосфатної солі кальцію, яка називається гідроксиапатитом. Фосфоліпиди (наприклад, фосфатидилхолін) є основними структурними компонентами клітинних мембран. 10% знаходиться в м'язах, по 1% в нервовій тканині і крові. Решта фосфору розподілена по організму в якості енергетичного резерву. Все

виробництво та зберігання енергії залежить від фосфорильованих сполук, таких як аденозинтрифосфат (АТФ) та креатинфосфат.

Фосфор засвоюється у тонкому кишечнику із спожитою їжею, а виводиться з організму із сечею за участю нирок. Контролюється цей процес паратгормоном, кальцитоніном і вітаміном D.

Ряд ферментів, гормонів та клітинних сигнальних молекул залежать від фосфорилування для їх активації. Фосфор також допомагає підтримувати нормальний кислотно-лужний баланс, діючи як один з найважливіших буферів організму. Крім того, 2,3-дифосфогліцерат, що містить фосфор, зв'язується з гемоглобіном в еритроцитах і регулює доставку кисню до тканин організму.

Багато різних видів продуктів містять фосфор, переважно у вигляді фосфатів та фосфатних ефірів. Однак, наприклад, у насінні та в прісному хлібі фосфор знаходиться у формі фітинової кислоти, а, оскільки в кишечнику людини бракує ферменту фітази, значна кількість фосфору в цій формі недоступна для поглинання. Багато різних видів продуктів містять фосфор, включаючи молочні продукти, м'ясо та птицю, рибу, яйця, горіхи, бобові, овочі та зернові продукти. Так, молочні продукти містять близько 20% від загального обсягу споживання фосфору, а хлібобулочні вироби – до 10%, овочі та курка містять близько по 5% фосфору.

Швидкість поглинання фосфору, який міститься в їжі, становить 40% - 70%; фосфор з тваринних джерел має більш високу швидкість поглинання, ніж рослинних. Кальцій з харчових продуктів та харчових добавок може зв'язуватися з частиною фосфору в продуктах харчування та перешкоджати його засвоєнню. Фосфатні добавки (наприклад, ортофосфорна кислота, фосфат натрію та поліфосфат натрію) присутні у багатьох продуктах харчування, особливо у перероблених харчових продуктах. Ці добавки використовуються для таких цілей, як збереження вологи чи кольору та посилення та стабілізація заморожених продуктів. Продукти, що містять ці

добавки, мають в середньому на 67 мг більше фосфору на порцію, ніж аналогічні продукти, що не містять цієї добавки.

Ортофосфорна кислота зареєстрована як харчова добавка E338. Застосовується як регулятор кислотності у газованих напоях (наприклад, «Кока-кола» та «Пепсі»). Встановлено, що ця кислота призводить до вимивання кальцію із організму людини уже за годину після споживання цих продуктів.

Для вирішення питання про універсальність даних щодо кластеризації водних розчинів мінеральних кислот на поверхні нанокремнеземів нами було досліджено оксокислоти фосфору (РОА). Вони широко використовуються в якості реагентів в органічному синтезі та для антикорозійної обробки залізних матеріалів, або в якості компонентів полірувальних паст, буферних розчинів, допуючих агентів у виробництві напівпровідників та інших галузях техніки. Безводні форми оксокислот фосфору характеризуються високою протонною провідністю внаслідок формування сітки водневих зв'язків [111, 112]. У більшості випадків оксокислоти фосфору використовуються у вигляді водних розчинів, в яких молекули кислоти сильно гідратовані, але лише частково депротоновані. Оксокислоти фосфору добре розчинні у воді, але є відносно слабкими кислотами з низьким ступенем дисоціації груп РО-Н у водних розчинах [114]. Хімічний зсув протонного резонансу (δ_H) в 1H ЯМР спектрі оксокислот фосфору в концентрованих водних розчинах може досягати 10 м.ч. і більше [115]. Це свідчить про наявність гідратованих протонів, які виникають за рахунок дисоціації частини зв'язків РО-Н. Крім того, в спектрах може спостерігатись сигнал Р-Н, розщеплений на ядрах фосфору [113].

Стан води, зв'язаної оксокислотами фосфору і адсорбованої на нанокремнеземі, вивчали методом низькотемпературної ЯМР-спектроскопії. 1H ЯМР спектри 30%-го розчину фосфористої кислоти в D_2O (рис. 3.2.1, *a*) показують наявність сигналу протонів в РО-Н групах і H_2O або HDO , зумовлені Н-Д обмінними реакціями між РО-Н і D_2O при $\delta_H=6$ м.ч. (290 К), зі

зменшенням температури інтенсивність цього сигналу зменшується за рахунок переважного вимерзання води, а хімічний зсув зростає до 9,8 м.ч. при зниженні температури до 200 К, що обумовлено збільшенням відносного вмісту H_3O^+ і H_5O_2^+ у незамерзаючій воді [116,117]. Слід зазначити, що для концентрованого розчину HCl величина хімічного зсуву складає 9,0-9,4 м.ч. при 290-200 К [111, 118], оскільки ступінь дисоціації HCl значно вищий, ніж у оксокислот фосфору.

Дублет H_P більш низької інтенсивності ніж сигнал розчину вода-кислота має хімічні зсуви при $\delta_{\text{H}} = 7,8$ і $5,7$ м. ч. (рис. 3.2.1, *a*). Ці значення δ_{H} практично не залежать від температури, однак, інтенсивність сигналу різко зростає при $T \geq 260$ К, а ширина збільшується при $T < 260$ К. Це відбувається через заморожування частини POA . Після кип'ятіння зразка та його зберігання при 290 К протягом тижня, інтенсивність подвійних сигналів H_P зменшується, оскільки має місце досить повільна реакція протонного обміну $\text{H}_P\text{-D}_{\text{D}_2\text{O}}$. Повільна швидкість H-D реакції обміну підтверджується ^2D ЯМР-спектрами (рис. 3.2.1, *b*, *c*). Для свіжовиготовленого зразка спостерігається тільки один ^2D ЯМР сигнал (рис. 3.2.1, *b*), пов'язаний з D_2O і PO-D . Після кип'ятіння зразка протягом 10 хв, спостерігається слабкий сигнал P-D -груп (рис. 3.2.1, *c*). Відсутність розщеплення цього сигналу (як для P-H) пов'язана з набагато меншою величиною константи спіно-орбітальної взаємодії P-D в порівнянні з P-H [119].

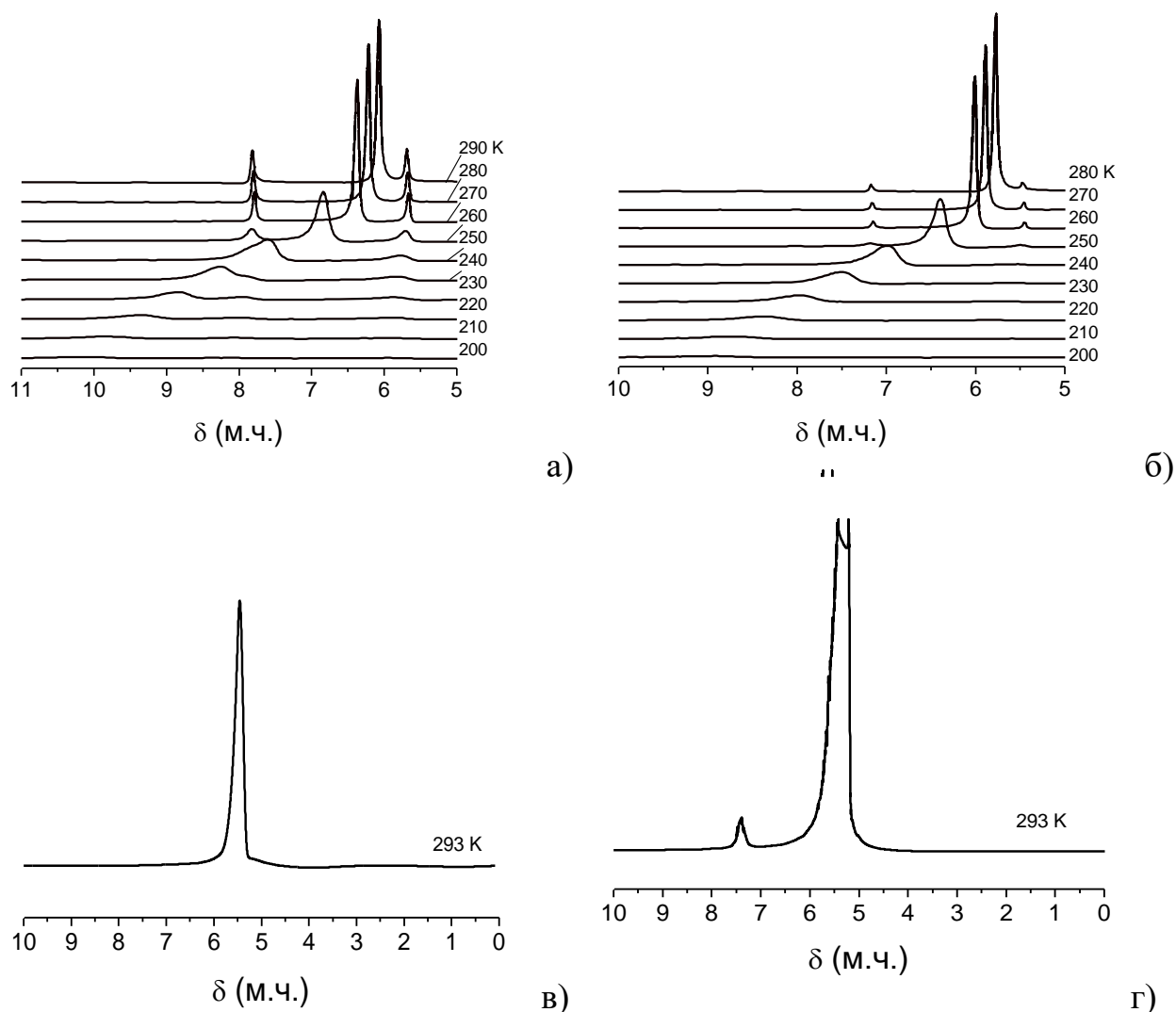


Рис. 3.2.1. ^1H (а і б) і ^2D (в і г) ЯМР спектри, записані при різних температурах, фосфористої кислоти (30%) у D_2O свіжих (а і в) і кип'ячених зразків (б, г), і зразку, який зберігався протягом 7 днів після кип'ятіння (б).

Збільшення ширини сигналу при $T \leq 250$ K (рис. 3.2.1, а, б) відбувається за рахунок часткового замерзання розчину. При цьому з пониженням температури спостерігається збільшення величини δ_{H} основного сигналу, що обумовлено збільшенням внеску гідратованих протонів [120-124] дисоційованих молекул концентрованої кислоти. Гідратовані протони у кластерах $\text{H}_3\text{O}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ (катіони Ейгена і Цунделя), а також кислотні залишки сильно впливають на структуру води [41,107,123]. ^1H ЯМР спектри рідкої фази в твердій фосфористій кислоті з низьким вмістом води (50 мг/г H_2O) в середовищі CCl_4 , включають три сигнали з хімічними зсувами при $\delta_{\text{H}} = 6$ м.ч. (сигнал 1), 5 м.ч. (слабкий сигнал у вигляді плеча сигналу 1), 3,5 м.ч. (сигнал

2) при 290 К (рис. 3.2.2, *a*). Форма сигналу 1 асиметрична. Його інтенсивність, а також значення δ_H зменшується з пониженням температури (рис. 3.2.2, *a*), (на відміну від поведінки сигналу в концентрованому розчині РОА, рис. 3.2.1, *a*). Значення δ_H двох інших сигналів слабше залежать від температури, ніж сигнал 1. Додавання води у кількості до 70 мг/г (рис. 3.2.2, *б*) призводить до збільшення інтенсивності і ширини сигналу. Однак температурна залежність спектрів аналогічна тій, що спостерігається при $C_{H_2O} = 50$ мг/г.

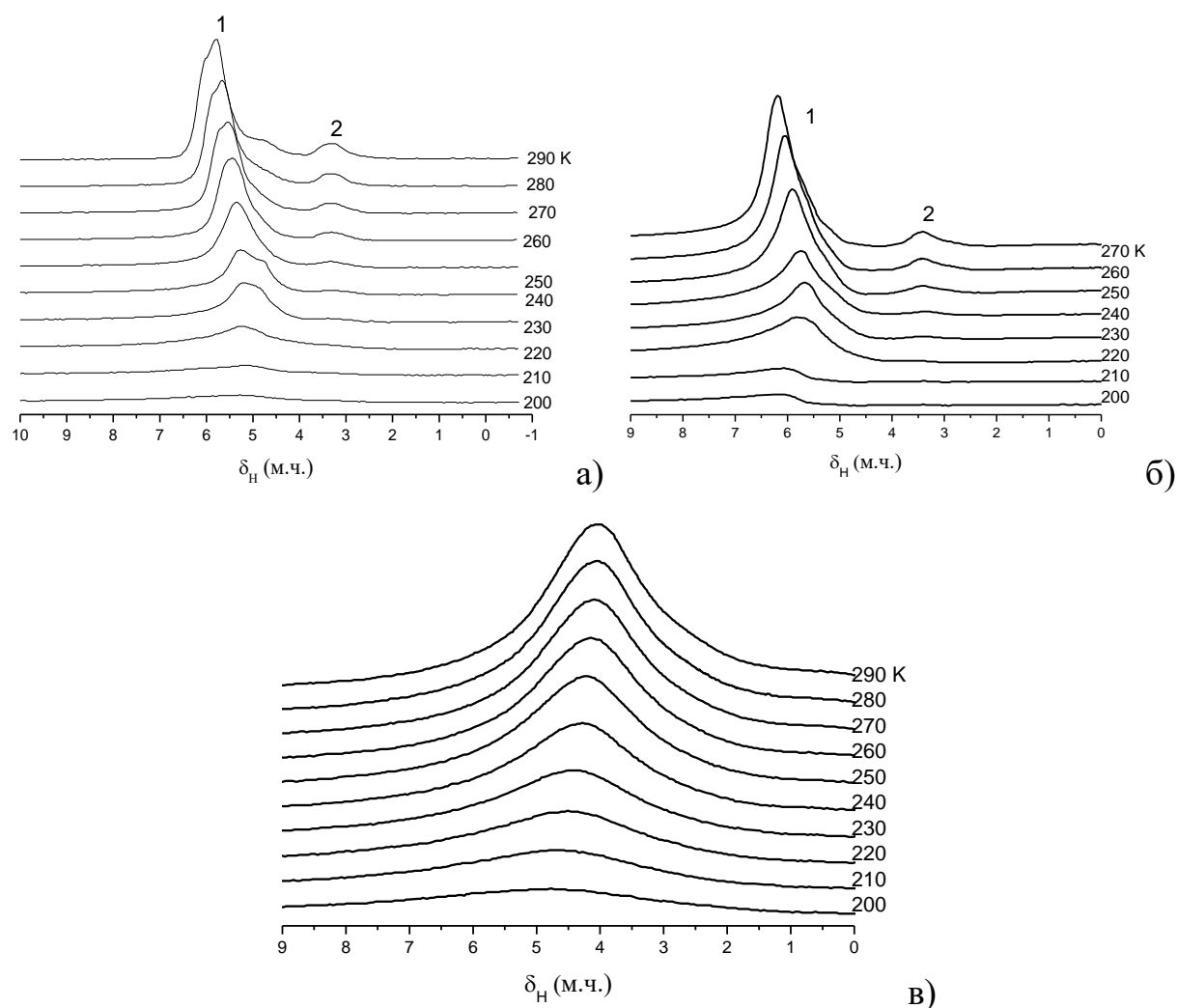


Рис. 3.2.2. ^1H ЯМР спектри, зняті при різних температурах слабогідратованої твердої фосфористої кислоти (*a* і *б*) і кислоти, адсорбованої на нанокремнеземі $A300/\text{H}_3\text{PO}_3 = 4/1$ (*в*) при $C_{\text{H}_2\text{O}} = 50$ (*a*), 70 (*б*) і 100 (*в*) мг/г у середовищі CCl_4 .

Зсув сигналу 1 в область слабких магнітних полів з підвищенням температури показує, що відносний внесок катіонів Ейгена і Цунделя

$\text{H}_3\text{O}^+(\text{H}_2\text{O})_n$ у воді з розчищеною кислотою може зростати при збільшенні температури (рис. 3.2.2, *а,б*), що пов'язане з підвищенням розчинності і депротонуванням H_3PO_3 . Однак вклад гідратованих протонів (дисоційована H_3PO_3) незначний при малому вмісті води (рис. 3.2.2, *а*). Таким чином, на відміну від концентрованого розчину фосфористої кислоти значення δ_{H} зменшується із зниженням температури (рис. 3.2.2), (рис. 3.2.1, *а*). Форма спектрів показує, що структури розчину вода/ H_3PO_3 складна і може містити систему кластерів, що в спектрах проявляються як близькорозташовані сигнали. Сигнал 2 при 3,5 м.ч. можна віднести до молекул води з одним водневим зв'язком в якості донору протонів і PO-H без водневих зв'язків (див. результати квантово-хімічних розрахунків) [107].

Висушені водні суспензії, що містили 16 мас.% нанокремнезему і 4 мас.% H_3PO_3 знаходились у вигляді порошку, до яких після висушування було додано 10 мас.% води, характеризуються ^1H ЯМР спектром з одним відносно широким сигналом при $\delta_{\text{H}} = 4,0-4,5$ м.ч. (рис. 3.2.2, *в*). Проте аналогічно гідратований нанокремнезем А300, модифікований фосфористою кислотою, отриманою гідролізом адсорбованого PCl_3 , характеризується значно більшими значеннями хімічного зсуву $\delta_{\text{H}} = 6,5-10,5$ м.ч. [121]. Тоді можна вважати, що під час висушування концентрованої суспензії нанокремнезему і H_3PO_3 , пересичення розчину призводить до утворення кристалітів кислот, а залишкова вода, зв'язана з нанокремнеземом, має низьку активність в якості розчинника. Зв'язана вода може розчинити невелику кількість H_3PO_3 ; тому значення δ_{H} слабо залежить від температури (рис. 3.2.2, *в*).

Вода, що не замерзає при $T < 273$ К завдяки адсорбційним взаємодіям з твердою H_3PO_3 або композитом А300/ H_3PO_3 (рис. 3.2.3, *а*), включає в себе як сильнозв'язану (SBW розмерзається при $T < 250$ К), так і слабозв'язану (WBW розмерзається при $T \geq 250$ К) воду [41,107]. Основна частина води, яка відповідальна за сигнал 1 ($C_{\text{uwl}}(T)$) (рис. 3.2.3, *а*), відноситься до SBW, а за сигнал 2 – WBW (рис. 4.2.3, *б*). Значення δ_{H} зразка кислоти з вмістом води 50 мг/г слабо залежить від температури (рис. 3.2.3, *в*). Невелике зростання

спостерігається лише при $T > 230$ К. Збільшення вмісту води до 70 мг/г призводить до немонотонного ходу кривої $\delta_H(T)$ з мінімумом при 240 К. Для висушеного порошка композиту A300/H₃PO₃ значення δ_H зменшується із зростанням температури (рис. 3.2.3, в). Такі результати обумовлені двома конкуруючими процесами – зменшенням асоційованості молекул води (викликає зменшення δ_H) і збільшенням концентрації розчиненої кислоти (δ_H збільшується) з підвищенням температури. Під час заморожування розчину, чистий лід і кристали кислоти (які не спостерігаються в ¹H ЯМР спектрах) формують окремі фази. Проте сигнал концентрованого розчину кислоти відсутній у слабогідратованих порошках композиту A300/H₃PO₃. Це відбувається через низьку активність води, зв'язаної з поверхнею кремнезему. Така вода практично не розчиняє кислоту, згідно з ІЧ-спектрами.

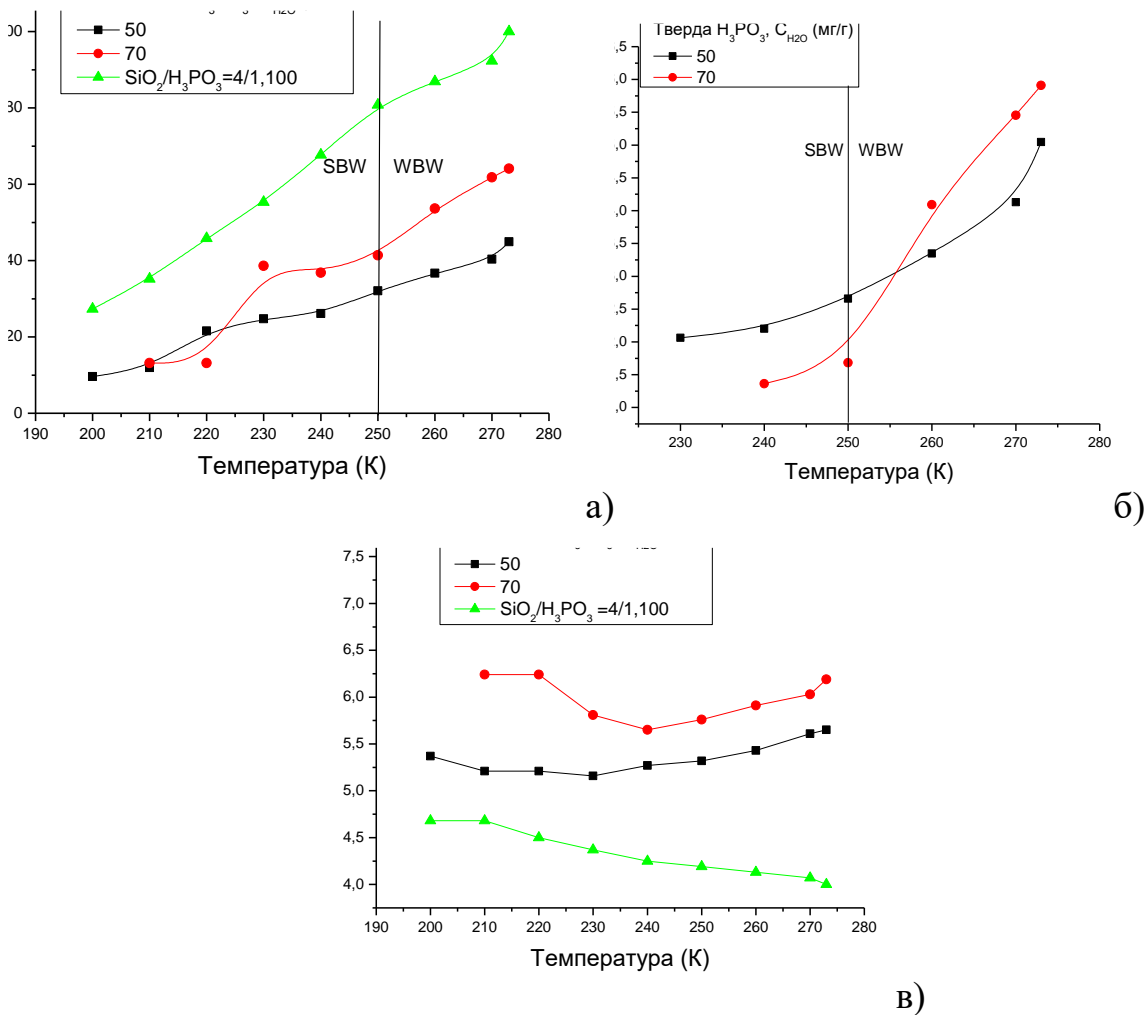


Рис. 3.2.3. Температурні залежності концентрації незамерзаючої води для сигналів 1(а) і 2(б), хімічного зсуву сигналу 1 для слабогідратованих твердих H₃PO₃ (в) (C_{H2O} = 50 або 70 мг/г) і A300/H₃PO₃ = 4/1 (C_{H2O} = 100 мг/г) у середовищі CCl₄.

На основі температурних залежностей концентрації незамерзаючої води для сигналів 1 і 2 (рис. 3.2.2) за зниженням температури замерзання у відповідності з рівнянням Кельвіна, можуть бути розраховані розміри нанокрапель різних типів води (рис. 3.2.4), а, відповідно, і площі їх поверхні. Дані розрахунків наведено в табл. 3.2.1. З неї випливає, що тверді оксокислоти фосфору мають відносно низьку площу поверхні при контакті з незамерзаючою водою за низьких значень C_{H_2O} (таблиця 3.2.1, S_{UW}) і при великому внеску нанокластерів води розміром $R < 1$ нм у значення S_{UW} (таблиця 1, S_{nano}).

Таблиця 3.2.1. Характеристики зв'язаної води в H_3PO_3 (H_3PO_4) та порошкоподібних системах А-300/ H_3PO_3 (H_3PO_4).

Зразок	C_{H_2O} (мг/г)	S_{UW} (м ² /г)	S_{nano} (м ² /г)	S_{dom} (м ² /г)	V_{nano} (см ³ /г)
H_3PO_3 (сигнал 1)	50	30	26	4	0,011
H_3PO_3 (сигнал 2)	50	0,4	0	0,4	0
H_3PO_3 (сигнал 1)	70	32	24	8	0,010
H_3PO_3 (сигнал 2)	70	0,6	0	0,6	0
H_3PO_3 / А-300	100	82	74	8	0,032
H_3PO_4 / ОХ-50	5	1	0	1	0
H_3PO_4 / ОХ-50	25	12	10	2	0,005
H_3PO_4 / ОХ-50	45	16	12	4	0,006
H_3PO_4 / ОХ-50 ²	4000	651	374	277	0,169

В цій таблиці C_{H_2O} – концентрація води; S_{UW} – концентрація незамерзаючої води; S_{nano} – площа поверхні кластерів води з радіусом до 10 нм; S_{dom} – площа поверхні доменів води з радіусом до 25 нм; V_{nano} – об'єм води, що входить до кластерів води.

Проте об'єм водних нанокластерів (таблиця 3.2.1, V_{nano}) є меншим, ніж об'єм доменів (V_{dom}) незамерзаючої води при $1 < R < 25$ нм. Додавання води у кількості до 70 мг/г збільшує основний внесок доменних структур (S_{dom} , V_{dom}). Сигнал 2 (рис. 3.2.2 і 3.2.3) відповідає воді, яка утворює доменні структури при $R > 1$ нм (рис. 3.2.4 ж). У випадку висушеного порошку

композиту А300/Н₃РО₃, $S_{UW} < S_{БЕТ, А-300}$, але $S_{nano, UW} > S_{nano, N2} = 22 \text{ м}^2/\text{г}$, оскільки Н₃РО₃ формує нанокристаліти меншого розміру, ніж наночастинки кремнезему (середній діаметр 9,2 нм) і незамерзаюча вода знаходиться у вузьких порах, які являють собою порожнини між наночастинками кремнезему і кристалітами кислоти. Вода, зв'язана з твердою Н₃РО₃ або у порошку нанокремнезем/РОА, є енергетично і структурно неоднорідною (рис. 3.2.4) через просторові обмеження і залежить від розподілу розмірів пустот між наночастинками і різницею в поверхневих ефектах на найближчих до поверхні водних шарах і локалізованих у наступних шарах [107,124]. При низькому вмісті адсорбованої води (50-100 мг/г), вона має тенденцію до утворення невеликих кластерів (рис. 3.2.4, *з*). Дані кластери характеризуються відносно великою зміною у значеннях вільної енергії Гіббса (рис. 3.2.4, *а-в*). Зв'язана вода характеризується розподілом кластерів за радіусом 0,6-10 нм (рис. 3.2.4, *з*). Вода, яка відповідає за сигнал 2, теж неоднорідна, але вона не утворює нанокластери з $R < 1$ нм (рис. 3.2.4, *з*). Її нанодомени з $R = 2-25$ нм слабо взаємодіють з твердими наночастинками кислоти (рис. 3.2.4, *д, е*), в порівнянні з водою, яка відповідає сигналу 1.

Для аналізу розподілу Н₃РО₄ по поверхні нанокремнезему А300 були зняті ІЧ-спектри при двох значеннях вмісту кислоти (рис. 3.2.5). Валентні коливання РО-Н при 3672 см⁻¹ спостерігаються для обох зразків. Тим не менш, при вмісті кислоти 28 мас.%, інтенсивність цієї смуги (а також валентних коливань SiO-Н при 3741 см⁻¹) зменшується, що можна пояснити формуванням кислотою кристалітів, які майже повністю вкривають поверхню нанокремнезему. Це проявляється низьким внеском від незв'язаних РОН-груп. (рис. 3.2.5, крива 2).

Температура плавлення безводної Н₃РО₄ становить 290 К; однак водний розчин кислоти може бути заморожений при значно нижчій температурі через колігативні властивості водних розчинів [27].

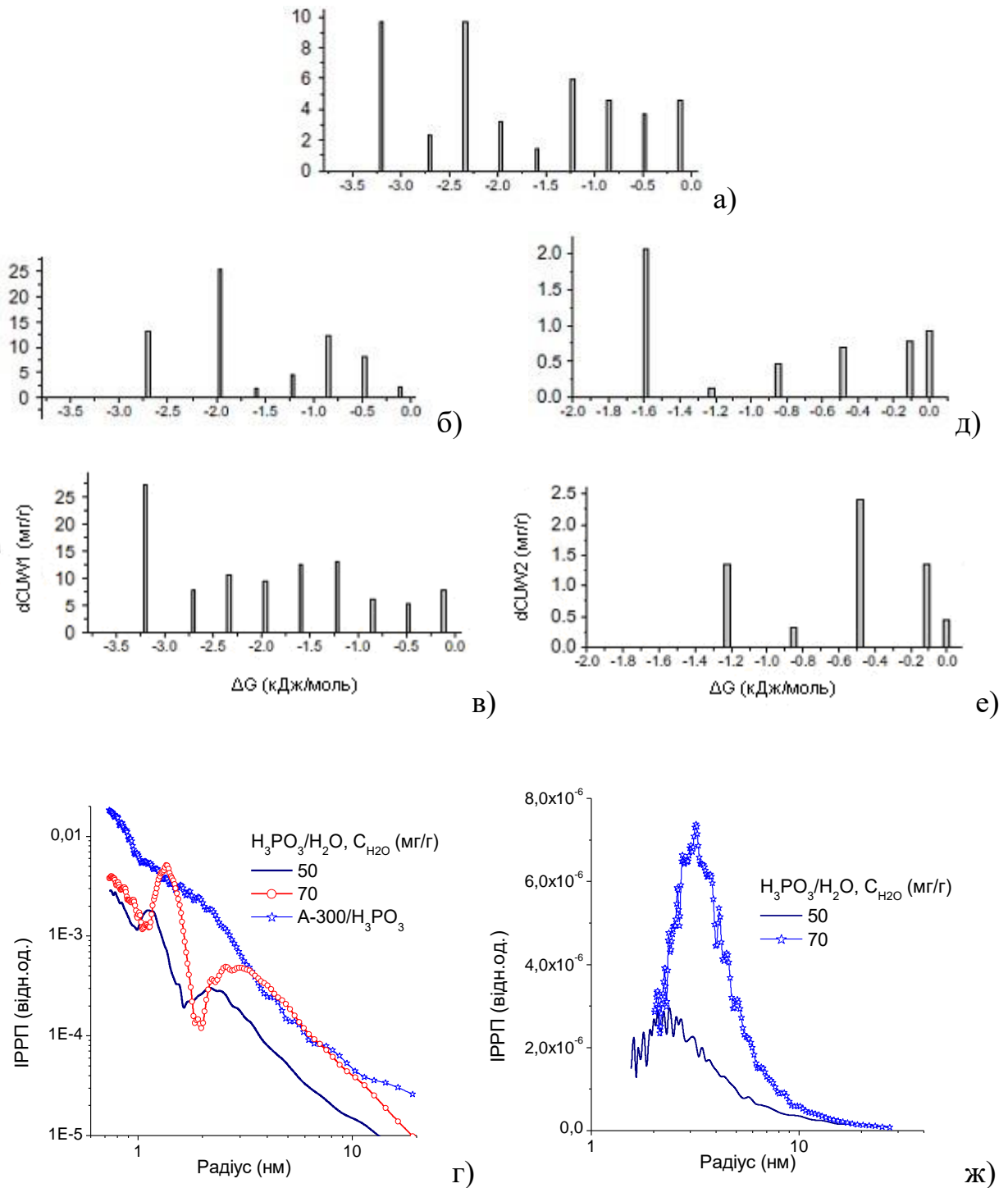


Рис. 3.2.4. Зміна вільної енергії Гіббса зв'язаної води в слабогідратованому твердому H_3PO_3 в середовищі CCl_4 при $C_{\text{H}_2\text{O}} = 50$ (а, д) або 70 (б, е) мг/г і А-300/ H_3PO_3 при $C_{\text{H}_2\text{O}} = 100$ мг/г (в), і розподіл водних кластерів за розмірами (РКР) (г і ж) для сигналів 1 (г) і 2 (ж).

Вихідний зразок ОХ-50/ H_3PO_4 [125] з концентрацією $C_{\text{H}_2\text{O}} = 5$ мг/г має тільки слабкий ^1H ЯМР сигнал при $\delta_{\text{H}} = 4$ м.ч. (рис. 3.2.6, а). Його інтенсивність зменшується із зниженням температури через замерзання води, яка слабозв'язана з поверхнею нанокремнезему і кислотними структурами.

Сигнал при 0 м.ч. обумовлює тетраметилсилан (0,2 мас.%), який використовується в якості стандарта.

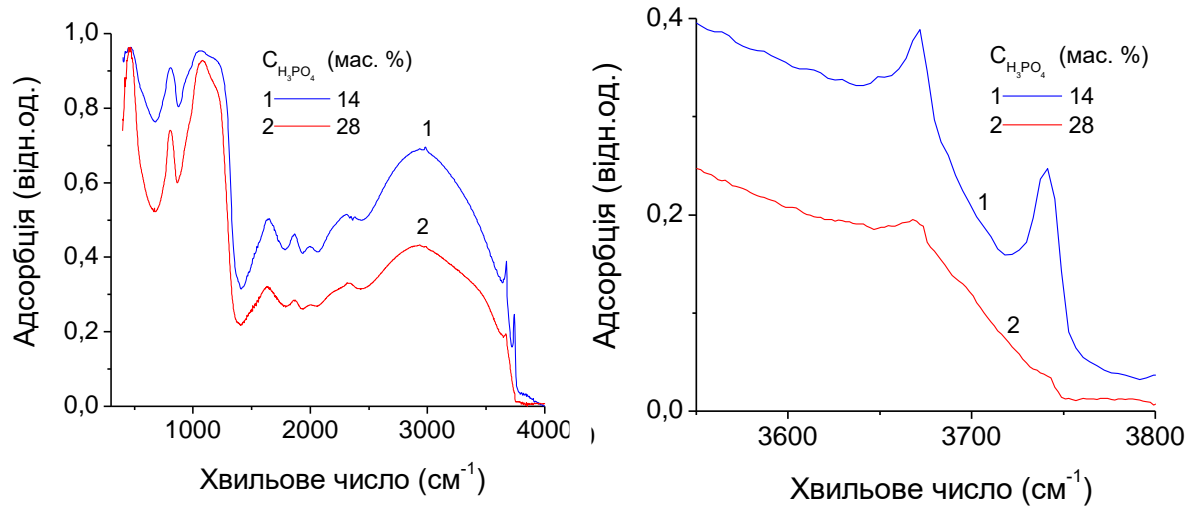


Рис. 3.2.5. ІЧ-спектр (дифузійний режим відображення) кремнезему А-300 з адсорбованою Н₃РО₄ при 14 мас.% (96°С) і 28 мас.% (115 °С) і низьких кількостях адсорбованої води.

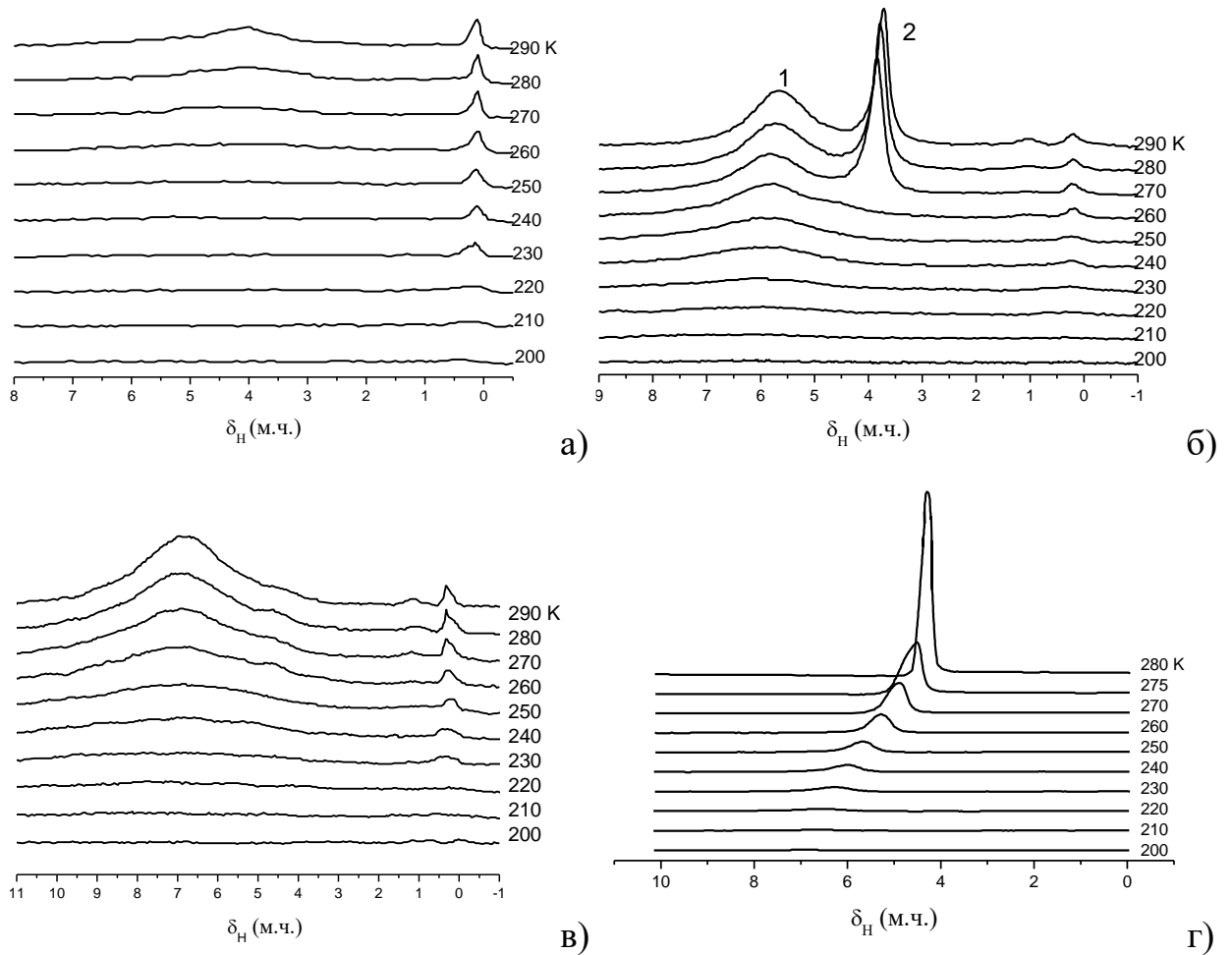


Рис. 3.2.6. ^1H ЯМР-спектри, записані при різних температурах у висушеному порошку ОХ-50/ H_3PO_4 при $C_{\text{H}_2\text{O}} = 5(a)$, $25(b)$ і $45(в)$ мг/г у середовищі CCl_4 та замороженій водній суспензії з ОХ-50 (16 мас.%) і H_3PO_4 (4 мас.%) (*г*).

В разі висушених порошоків ОХ-50/ H_3PO_4 при $C_{\text{H}_2\text{O}} = 45$ мг/г значення всіх структурних характеристик кластеризованої води значно нижче, ніж в системі А-300/ H_3PO_4 з $C_{\text{H}_2\text{O}} = 50$ мг/г (таблиця 3.2.1), оскільки ОХ-50 має значення $S_{\text{БЕТ}}$ у шість разів менше, ніж у А300. Однак різниця в значеннях S_{UW} менша, ніж значення $S_{\text{БЕТ}}$, що пов'язано із вкладом нанокристалітів H_3PO_4 . (табл. 3.2.1).

Для збільшення кількості води її додавали до суспензії в CCl_4 , перемішували, струшували протягом 10 хв і врівноважували 2 год при 293 К. Ця процедура дозволяла воді переходити крізь гідрофобний розчинник на поверхню частинок кремнезему з іммобілізованою на них кислотою. Спектр ОХ-50/ H_3PO_4 з концентрацією $C_{\text{H}_2\text{O}} = 25$ мг/г при 290 К (рис. 3.2.6, б) включає два сигнали SAW при 5,5 і 3,7 м.ч. і сигнал WAW при 0,8 м.ч. Сигнал SAW при 3,7 м.ч. зникає при 260 К. Таким чином, ця вода може бути віднесена до слабозв'язаної води з радіусом доменів більше, ніж 10 нм. Додавання води ($C_{\text{H}_2\text{O}} = 45$ мг/г) призводить до зникнення в спектрах сигналу 2 (рис. 3.2.6, в). У випадку повністю розмороженої концентрованої водної суспензії ОХ-50 (16 мас.%) і H_3PO_4 (4 мас.%) (рис. 3.2.6, г), величина хімічного зсуву зростає з 4,5 м.ч. при 280 К до 6,5 м.ч. при 210 К, в той час, коли лише невелика частина адсорбованої води розморожена (рис. 3.2.7, б). Основна кількість води замерзає при $T \leq 240$ К. Концентрування H_3PO_4 в залишковій рідкій воді, кількість якої зменшується з пониженням температури, призводить до збільшення значення δ_{H} .

У разі низького вмісту води (5 і 25 мг/г) вона знаходиться в сильнозв'язаному стані при $T < 260$ К (рис. 3.2.7, а). Невелика кількість WW спостерігається при $C_{\text{H}_2\text{O}} = 45$ мг/г. При $C_{\text{H}_2\text{O}} = 25$ або 45 мг/г (на відміну від концентрації 5 мг/г) значення δ_{H} збільшується з пониженням температури, (рис. 3.2.7, б). В останньому випадку вода майже не розчиняє H_3PO_4 . Розчинність H_3PO_4 зростає із збільшенням $C_{\text{H}_2\text{O}}$, про що свідчить зростання

значення δ_H . Концентрування H_3PO_4 відбувається із зниженням температури через часткове замерзання зв'язаної води.

У водній суспензії ОХ-50/ H_3PO_4 (рис. 3.2.8, *a*), кількість зв'язаної води більше, ніж 3 г/г твердої речовини, у тому числі 1 г/г SBW. Значення хімічного зсуву (обумовлене водою і групами PO-H) лінійно збільшується до 6,7 м.ч. зі зниженням температури до 200 К (рис. 3.2.8, *b*), оскільки збільшується концентрування гідратованих протонів за рахунок розчинення H_3PO_4 .

Теоретичні розрахунки 1H ЯМР спектрів фосфористої і фосфорної кислот у різних станах (безводні, гідратовані і депротоновані) в середовищі CCl_4 дають відносно широкий розподіл (рис. 3.2.9), оскільки в загальний спектр свій внесок дають протони, які не беруть участі в утворенні водневих зв'язків (тобто WAW при $\delta_H = 1-2$ м.ч.), групи OH, що утворюють водневі зв'язки різної сили, для яких типовими є хімічні зсуви при $\delta_H = 4-6$ м.ч., а також дуже міцні H-зв'язки або зв'язки з перенесеним протоном H^+ при $\delta_H = 8-17$ м.ч.

Енергія утворення димерів кислот є високою (рис. 3.2.10). Однак ці димери можуть бути зруйновані в результаті взаємодії з водою і депротонуванням кислотних груп POH (вставки у рис. 3.2.9). Функції розподілу $f(\delta_H)$ (рис. 3.2.9), включаючи всі значення δ_H , спостерігаються в експериментальних спектрах (рис. 3.2.1 і 3.2.2) і підтверджують інтерпретацію ефектів, викликаних катіонами H_3O^+ і $H_5O_2^+$ (формуються за рахунок депротонування груп POH), внески атомів H, утворюючих H_2O і POA, що беруть участь в утворенні як сильних, так і слабких водневих зв'язків. Атоми водню без водневих зв'язків мають хімічний зсув 0,5-2 м.ч. (невеликий пік або плече, рис. 3.2.9). Атоми водню в слабких водневих зв'язках мають хімічний зсув 2-3 м.ч. Більш міцні водневі зв'язки, але без переносу H^+ , характеризуються значеннями хімічного зсуву 4-6 м.ч. Кислотні OH групи дають більші значення δ_H (6 -17 м.ч.), особливо для структур з перенесенням протонів або протонів в димерах кислоти (рис. 3.2.10).

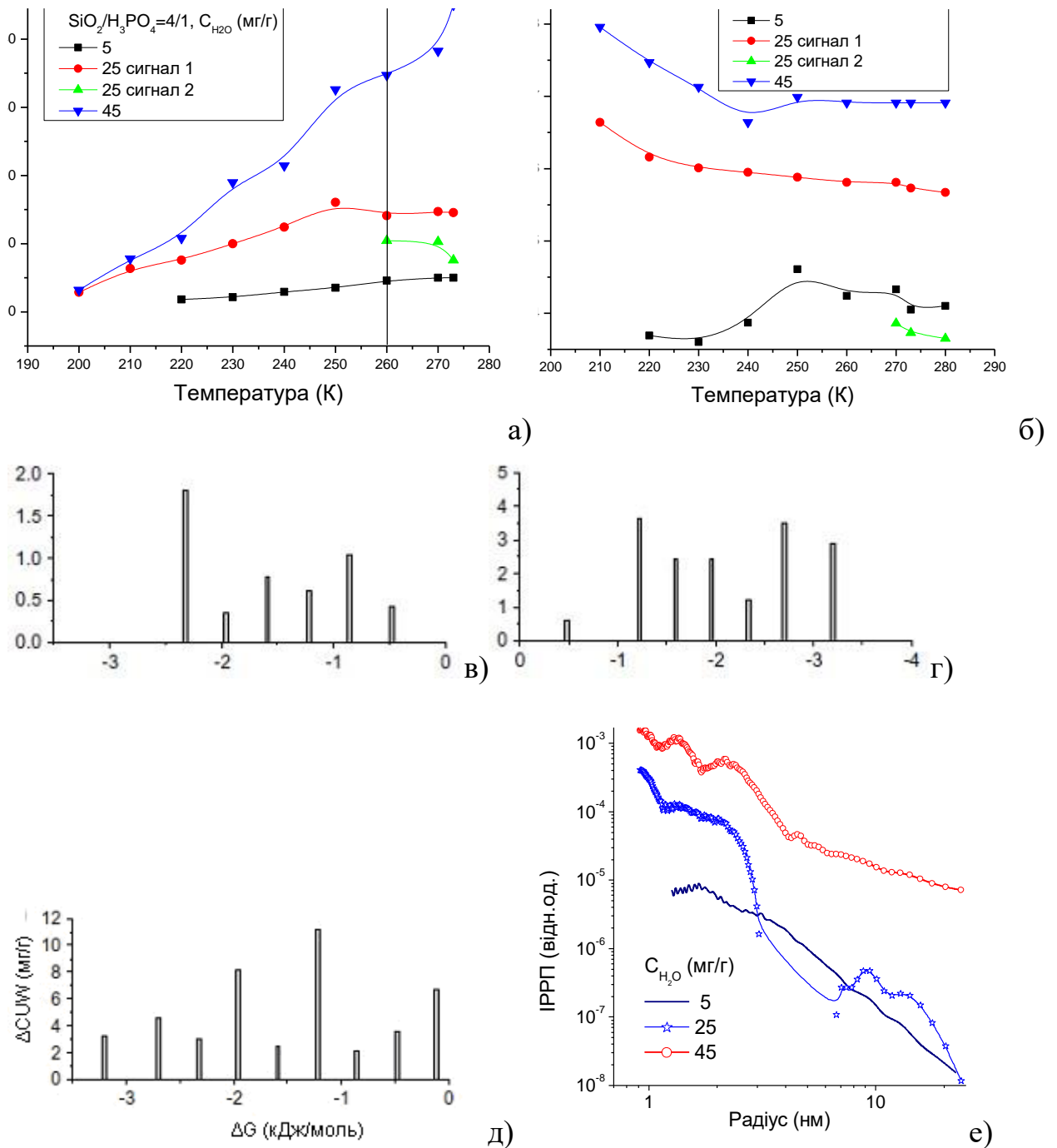


Рис. 3.2.7. Температурні залежності концентрації незамерзаючої води (а) і δ_H (б), співвідношення між змінами вільної енергії Гіббса та кількості незамерзаючої води (в-д) і розподіл за розмірами кластерів незамерзаючої води (е) для ОХ-50/Н₃РО₄ при C_{Н₂О} = 5(в), 25 (г) і 45 (д) мг/г.

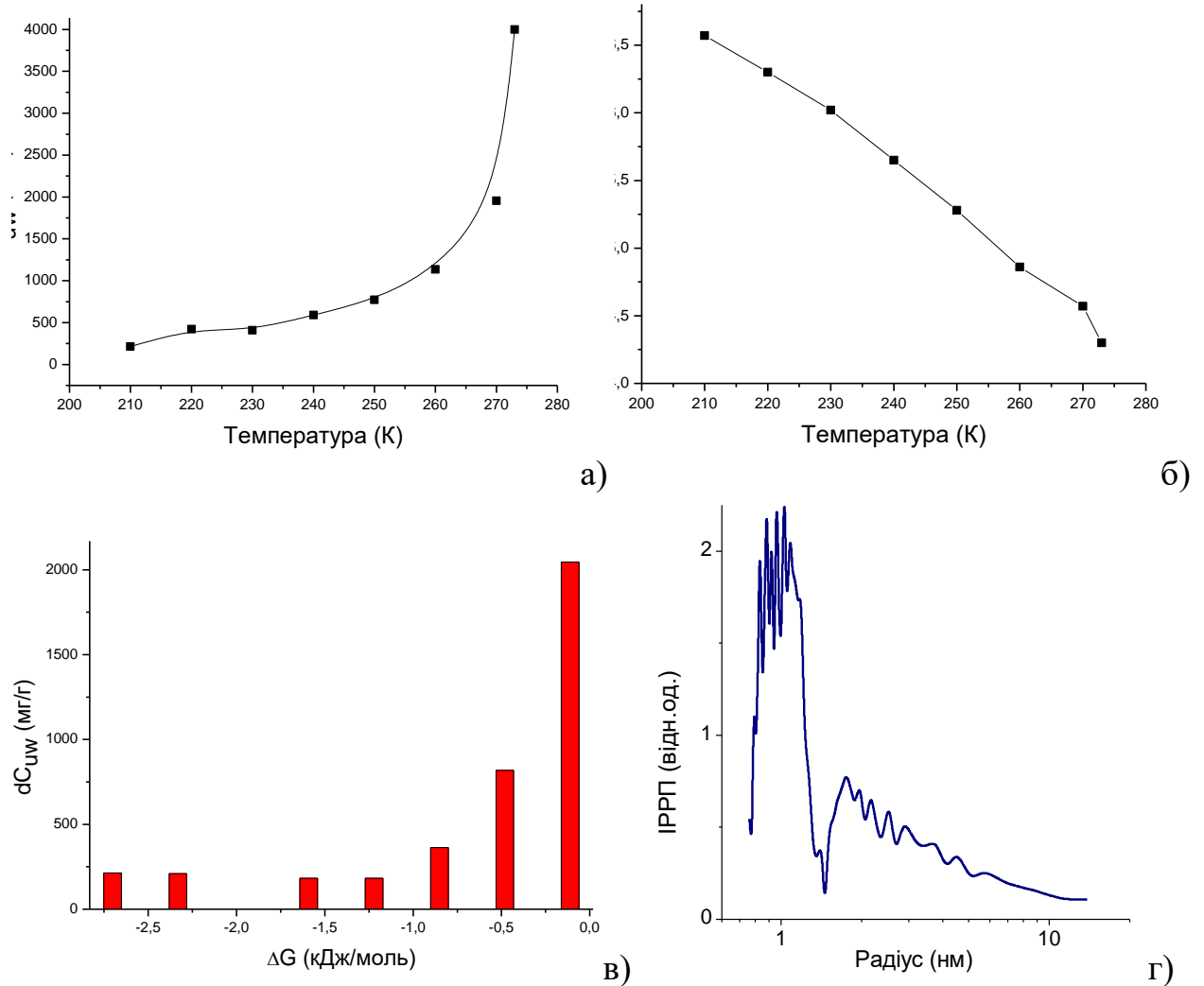
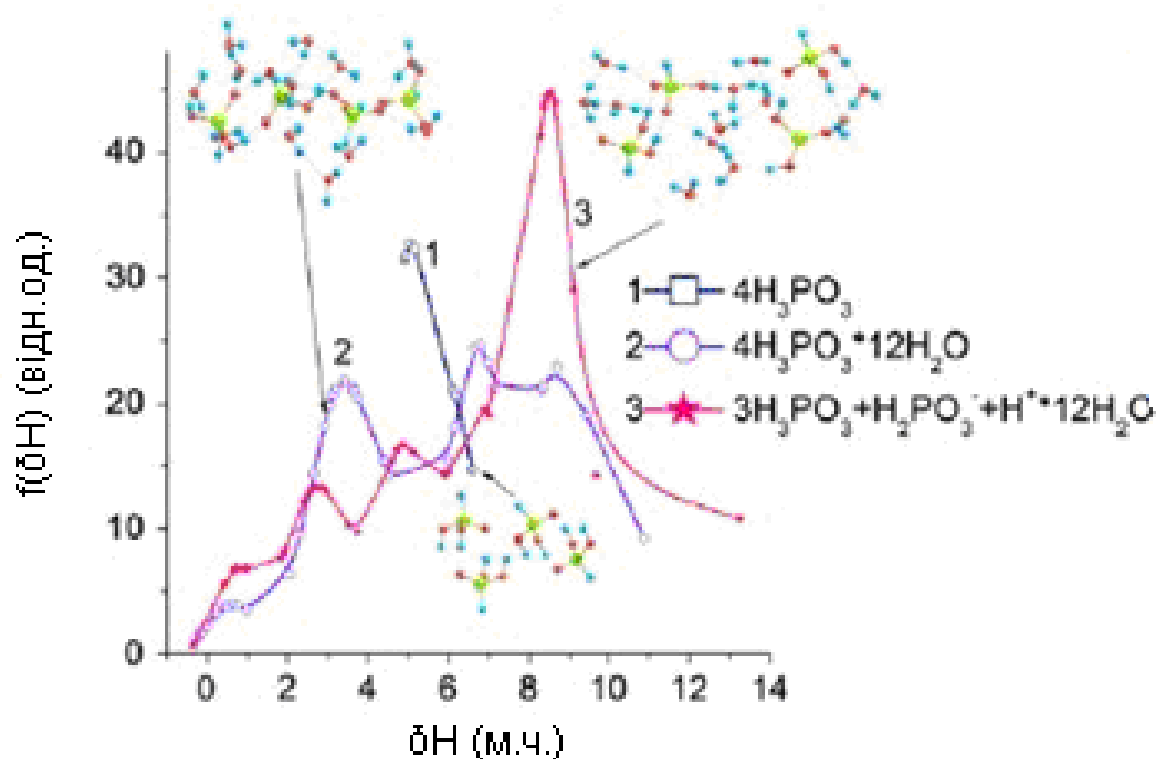
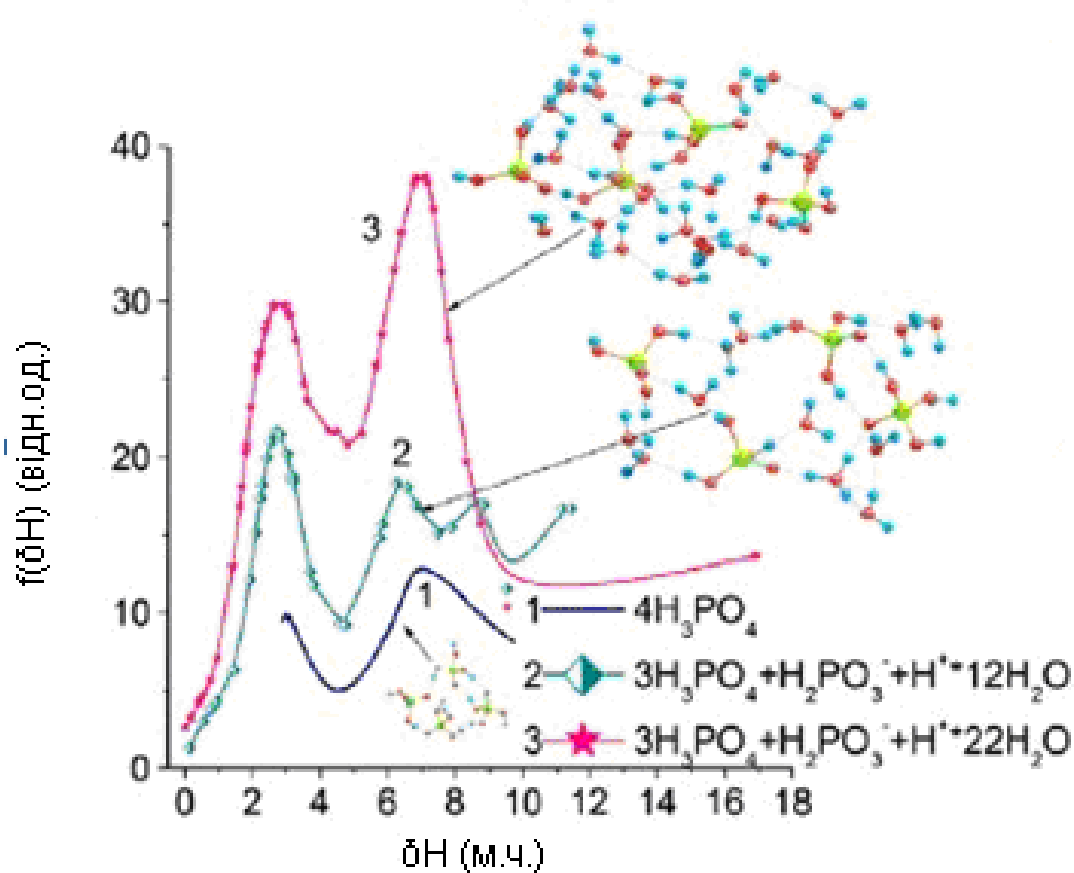


Рис. 3.2.8. Температурні залежності концентрації незамерзаючої води в концентрованій суспензії ОХ-50 (16 мас.%) і H_3PO_4 (4 мас.%) (а); хімічним зсувом δ_H (б), зв'язок між зміною вільної енергії Гіббса і зміною значень C_{UW} (в), і розподілом за розмірами кластерів незамерзаючої води (г).

Сила водневих зв'язків, яка впливає на значення хімічного зсуву, залежить від відстані між протоном і електродонорним атомом $r_{H\cdots O}$, кутом $\angle O-H\cdots O$ і навколишнім оточенням зв'язку. Збільшення $r_{H\cdots O}$ і зменшення $\angle O-H\cdots O$ в результаті призводить до зниження величини хімічного зсуву.



a)



б)

Рис. 3.2.9. Функції розподілу хімічного зсуву фосфористої (а) і фосфорної (б) кислот у молекулярній та депротонованій формах і гідратованих в середовищі CCl_4 (GIAO/IEFPCM/B3LYP/6-31G (d, p)).

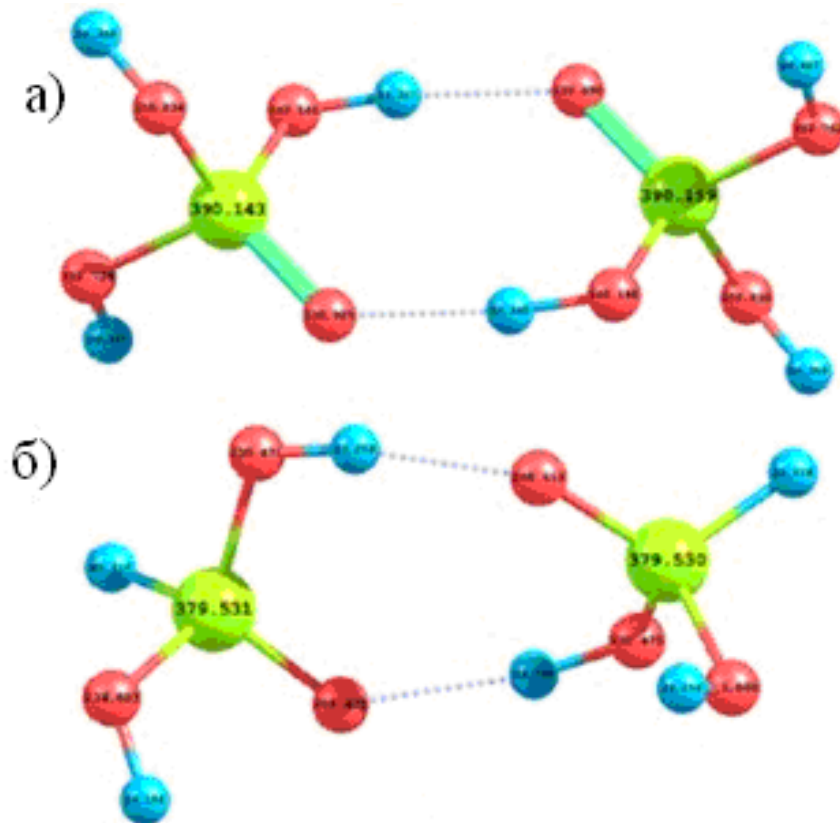


Рис. 3.2.10. Димери фосфорної і фосфористої кислот при змінах повної енергії $\delta E_t = -114,1$ і $-107,5$ кДж/моль, відповідно, і $\delta n \approx 8,5$ м.ч.

Таким чином, різниця в текстурних характеристиках зразків початкового і МА-кремнезему впливає на їх взаємодію з водою. Адсорбція однорідної суміші НСl/вода на вихідному та МА-нанокремнеземі А300 призводить до зменшення розчинення хлористоводневої кислоти у воді (за умов низького вмісту води у системі), особливо у випадку МА-кремнезему з більш вузькими порами між непористими наночастинками. Цей ефект проявляється у змінах спектрів ^1H ЯМР розчину хлористоводневої кислоти, який характеризується значеннями хімічних зсувів, характерних для дисоційованих та недисоційованих молекул НСl.

Результати дослідження показали, що існує значна різниця в розчинності РОА в об'ємній та зв'язаній воді через зниження активності міжфазної води. Низькотемпературне ^1H ЯМР-спектроскопічне дослідження води, зв'язаної фосфорною та фосфористою кислотами (тверді кислоти) або адсорбованих на нанокремнеземі ОХ-50 і А300, свідчить, що концентровані розчини або слабогідратовані тверді РОА та висушені порошки нанокремнезем/РОА у середовищі CCl_4 характеризуються різними

температурними залежностями значень δ_H . Це пов'язано з частковою дисоціацією зв'язків РО-Н і температурною залежністю відносних кількостей відповідних катіонів (гідратованих протонів) і незамерзаючої води. Значення δ_H (а, відповідно, і розчинність кислот) сильно залежать від загального вмісту води, характеристик кремнезему і температури. На границях гідратованих твердих РОА або порошків нанокремнезем/РОА присутні малі кластери води (<1 нм) і нанодомени (1-20 нм).

РОЗДІЛ 4.

ВИВЧЕННЯ КОНТАКТНОЇ ВЗАЄМОДІЇ НАНОКРЕМНЕЗЕМУ З ТКАНИНАМИ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ

4.1. Вплив високодисперсного кремнезему на кишкову тканину в присутності хлористоводневої кислоти в органічному середовищі

Тривалі медико-біологічні дослідження показали відсутність у ВДК помітної токсичності і негативного впливу на тканини організму лабораторних тварин, у тому числі і на кишечник, після їх систематичного контакту з аморфним кремнеземом [83]. В наш час ряд кремнеземів (Силікс, Біле вугілля, Полісорб) широко використовуються в медичній практиці. Тим не менш, механізм їхньої біологічної активності повністю не з'ясований. При парентеральному використанні частинки ВДК досить довгий час контактують зі слизовими оболонками шлунку та кишечника. Наявність складок та ворсинок забезпечує високу питому поверхню, необхідну для всмоктування поживних речовин. Тому при контакті тканин кишечника з нанодисперсними частинками кремнезему вони, перш за все, контактують з ворсинками та складчастими структурами і саме при цьому можуть здійснювати стимулюючий вплив на всмоктування лікарських речовин. Якщо при контакті кремнезему з тканинами кишечника відбувається зміна структури міжфазної води, це може позначитись на її структурі та термодинамічних характеристиках.

Метою даного розділу було вивчення зміни гідратних властивостей ліофілізованої тканини тонкої кишки щурів після тривалого контакту з ВДК в залежності від використовуваних органічних розчинників та в присутності хлористоводневої кислоти.

Візуалізація тканини кишечника здійснювалась методом скануючої електронної мікроскопії, при цьому були зроблені мікрофотографії зразків ліофілізованої тканини тонкої кишки вихідної (Init.) та після контакту з Силіксом (AfSiO_2).

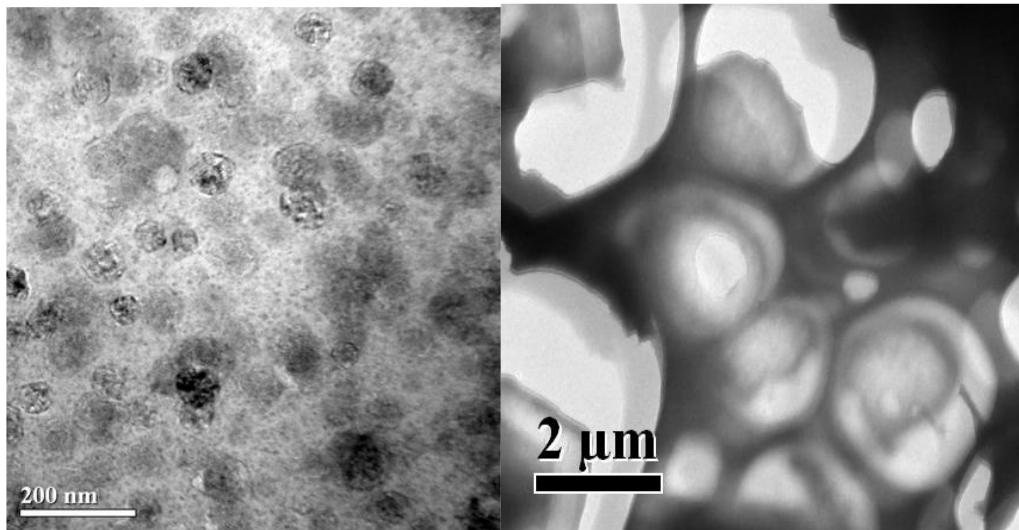


Рис. 4.1.1. Мікрофотографії ліофілізованої тканини тонкої кишки тварин контрольної групи (а) та тканини після контакту із силіксом (б)

Можна констатувати, що подрібнення ліофілізованої тканини призводить до зникнення особливостей її морфологічної будови. На зображенні, одержаному при максимальному збільшенні, для зразка Init. спостерігаються частинки неправильної форми, що можуть належати подрібненим частинам слизової оболонки, наприклад ворсинкам кишечника. При меншому збільшенні (зразок Af_{SiO_2}) частинки тканини мають майже сферичну форму з діаметром 0,5–1 мкм.

Оскільки навіть після ліофілізації в біологічних тканинах залишається певна кількість води, для її визначення був використаний метод термогравіметрії (рис. 4.1.2, а). На термогравіметричній кривій препарату кишкової тканини інтактної тварини (зразок Init.) фіксуються три основні ділянки швидкої втрати маси, розділені областями більш плавної зміни залежності $m(T)$. Перша з них розташована в області $50 < T < 170$ °С, відноситься до видалення фізично адсорбованої води. Відповідно до даних рис. 4.1.2, а її кількість складає близько 10 %. Ділянка в області $280 < T < 400$ °С може бути віднесена на рахунок термічного руйнування біополімерів та їх осмолення, а остання ділянка ($400 < T < 670$ °С) – карбонізації продуктів термолізу та їх окиснення киснем повітря до вуглекислого газу.

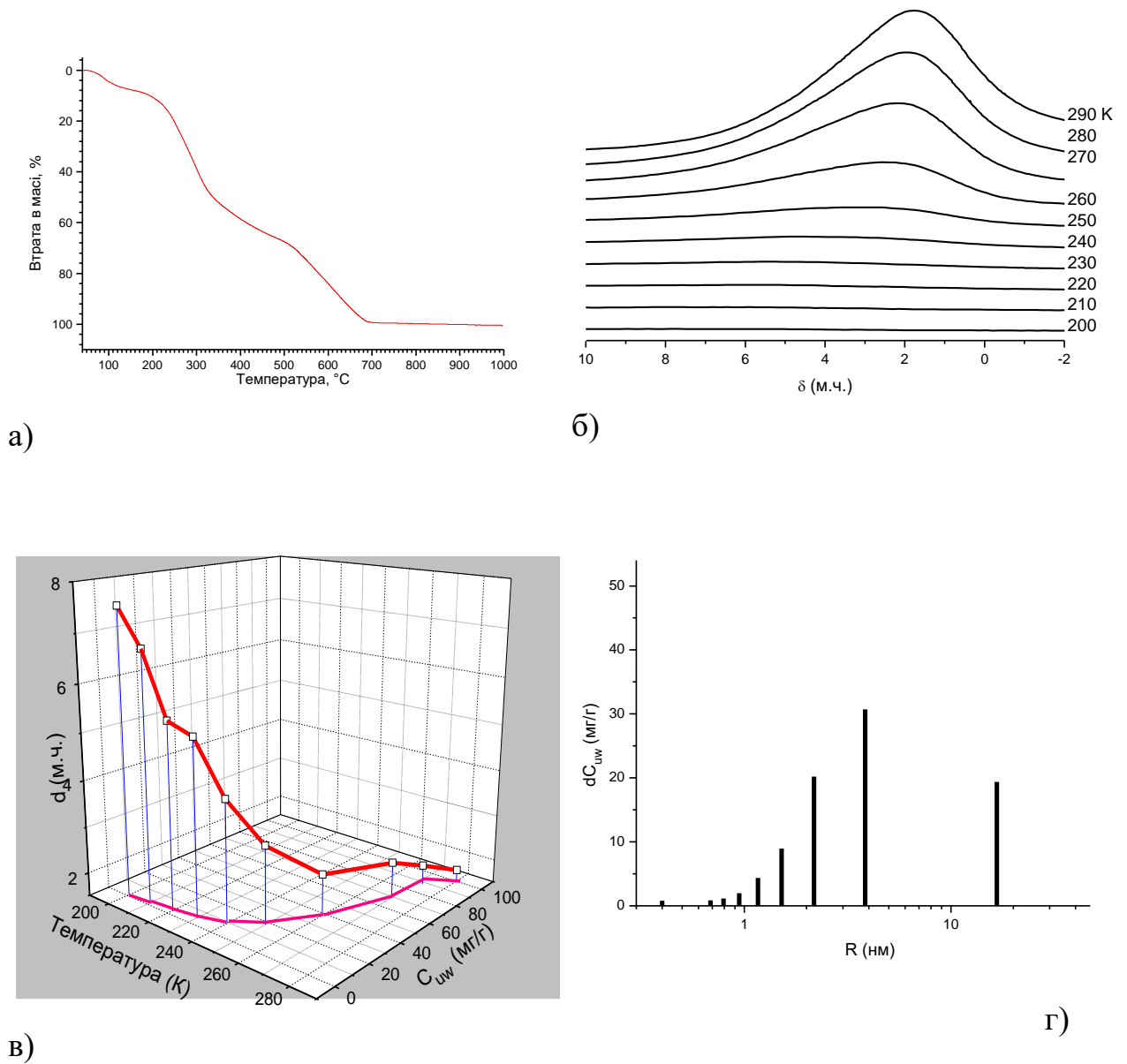


Рис. 4.1.2. Крива втрати маси (а); зняті при різній температурі спектри ^1H ЯМР зв'язаної води (б); залежності хімічного зсуву та концентрації незамерзаючої води від температури (в) і розподіл зв'язаної води за радіусами кластерів (г) для зразка Init. в повітряному середовищі.

На рис. 4.1.2, б показаний ^1H ЯМР спектр контрольного зразка Init. на повітрі. Спектр являє собою сильно розширений сигнал неправильної гауссівської форми, інтенсивність якого зменшується з пониженням температури у відповідності з частковим замерзанням зв'язаної води, а його хімічний зсув зміщується в область слабких магнітних полів (більших величин хімічного зсуву). Відповідні залежності $C_{uw}(T)$ і $\delta_{\text{H}}(T)$ наведено на

рис. 4.1.2, в. При $T = 280$ К величина δ_H не перевищує 2 м.ч., отже, відповідно до [40, 41], вона може кваліфікуватися як слабоасоційована (WAW). Як було показано в [41], якщо температура замерзання води перевищує 250 К, така вода є слабозв'язаною. Тоді до слабозв'язаної відноситься велика частина води, що знаходиться у внутрішніх порожнинах кишкової тканини зразка Init., що контактує з повітряним середовищем (рис. 4.1.2, б).

Після замерзання WAW, частина води, що залишилася в адсорбованому стані, має хімічний зсув, який відповідає сильноасоційованій воді (SAW). Його максимальна величина досягає 7,5 м.ч. (рис. 4.1.2, в). Отже, структура сітки водневих зв'язків у такій воді наближається до структури гексагонального льоду [120].

Відповідно до рівняння Гіббса-Томсона, за депресією температури замерзання був розрахований розподіл за радіусами кластерів зв'язаної води, яка заповнює внутрішній простір між структурними елементами біополімерних або клітинних структур (рис. 4.1.2, з). Максимум розподілу відповідає кластерам води з радіусом $R \approx 4$ нм, хоча значна частина води (слабозв'язаної) входить до складу кластерів більшого розміру, аж до $R \approx 50$ нм.

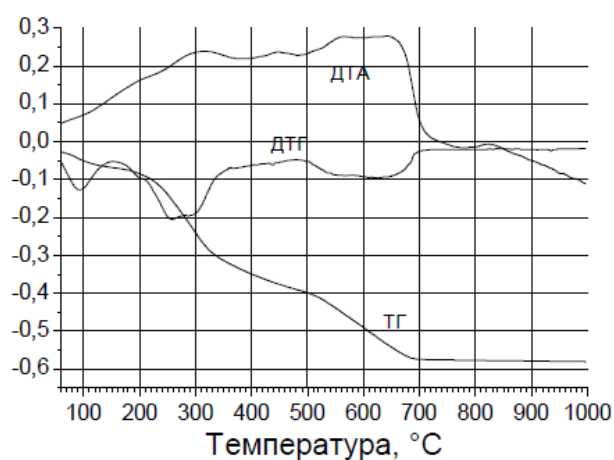


Рис. 4.1.3. Криві зменшення маси з температурою (ТГ), швидкості зміни маси з температурою (ДТГ) та диференційного термічного аналізу (ДТА) для наважки контрольного зразка тканини тонкого кишечника.

В процесі нагрівання зразка його маса зменшується від 50 мг до 0, тобто в результаті термолізу в ньому не залишається вимірюваної кількості мінеральних компонентів (рис. 4.1.3). На кривій температурної залежності зміни маси (ТГ-крива) спостерігається кілька ділянок відносно швидкої зміни маси, що розділені ділянками її повільного зменшення. На диференціальній кривій (ДТГ-крива) їм відповідають піки, мінімальні значення яких знаходяться в точках перегину ділянок швидкої зміни маси. Це свідчить про наявність принаймні трьох стадій термолізу. Можна вважати, що кожній стадії відповідає ділянка температур в межах певного піка на кривій ДТА. Перша ділянка втрати маси ($T < 160\text{ }^{\circ}\text{C}$) може бути віднесена до присутньої в зразку залишкової води, кількість якої не перевищує 100 мг/г. Друга ділянка зменшення маси ($180 < T < 400\text{ }^{\circ}\text{C}$) відповідає розкладу та осмоленню біополімерів, з яких складається кишкова тканина. Останній, широкий пік на кривій ДТГ, що закінчується при $700\text{ }^{\circ}\text{C}$, відповідає перетворенню частково окиснених карбоніатів у вуглекислий газ та монооксид вуглецю. Крива ДТА показує, що всі процеси, які мають місце при термолізі кишкової тканини, мають екзотермічний характер (піки ДТА спрямовані догори).

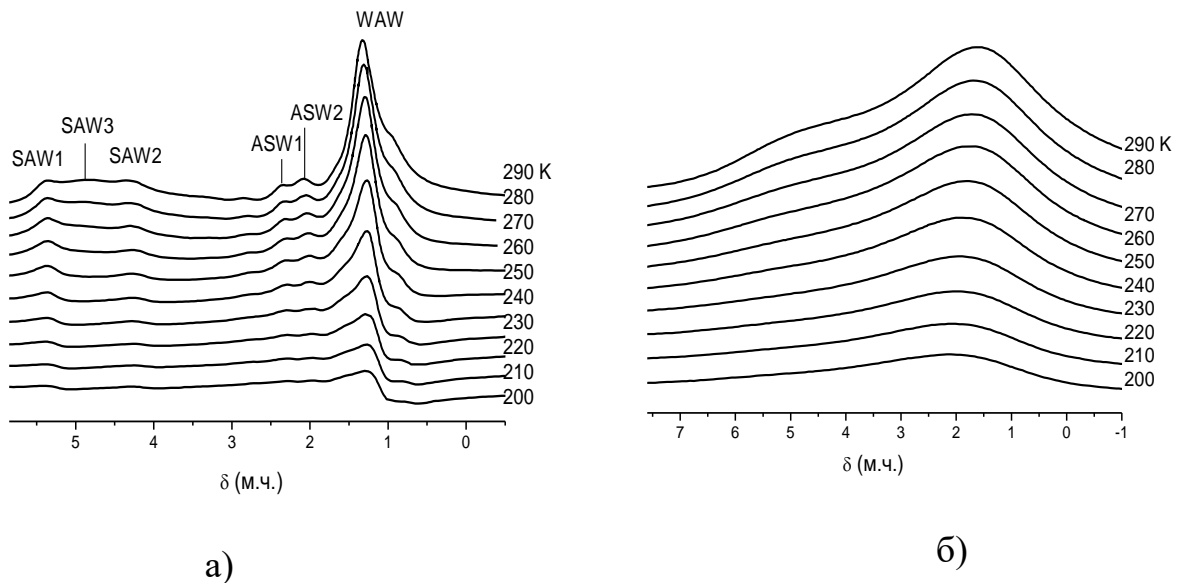


Рис. 4.1.4. Ліофілізована тканина кишечника вихідного зразка (Init.) (а) і після контакту із суспензією SiO_2 (б) ($C_{\text{H}_2\text{O}} = 160$ мг/г) у хлороформному середовищі.

Для зразка Init. заміна повітряного середовища на слабополярний органічний розчинник - дейтерохлороформ призводить до істотної зміни вигляду спектрів ^1H ЯМР зв'язаної води (рис. 4.1.4, а). У спектрах стають помітні три сигнали сильноасоційованої води (SAW1-3), сигнал слабоасоційованої води і два сигнали (ASW1 і ASW2), які можуть бути віднесені не тільки до кластерів води (в яких кожна молекула бере участь в утворенні приблизно одного водневого зв'язку), але також і до окремих молекул води, адсорбованих на електронодонорних центрах, що входять до складу структурних елементів кишкової тканини.

Зі зниженням температури відбувається зменшення інтенсивності всіх сигналів зв'язаної води, причому максимальна зміна інтенсивності фіксується для сигналів WAW і SAW3. Під впливом середовища CDCl_3 температура замерзання WAW знижується, тобто частина міжфазної води стає сильнозв'язаною. Така трансформація свідчить про можливість участі слабополярного органічного середовища у формуванні структури кластерів води. Суттєве зменшення ширини сигналів міжфазної води в середовищі хлороформу може бути обумовлено двома основними факторами - зменшенням неоднорідного уширення, викликаного великою різницею в величинах магнітної сприйнятливості повітря і твердого зразка та уповільненням під впливом рідкого середовища молекулярного обміну між кластерами води, локалізованими в різних компартментах (порожнинах) всередині біоматеріалу. Для зразка тканини кишечника, що контактував з кремнеземом (зразок AfSiO_2 рис. 4.1.4, б), в спектрах ^1H ЯМР спостерігаються тільки два сигнали - WAW і SAW3. Їх ширина значно більше, ніж для зразка Init.

Сукупність змін в спектрах ^1H ЯМР води, які спостерігаються у досліді, пов'язаної з тканинами кишки після їх ліофілізації може бути пояснена на основі наступної схеми:

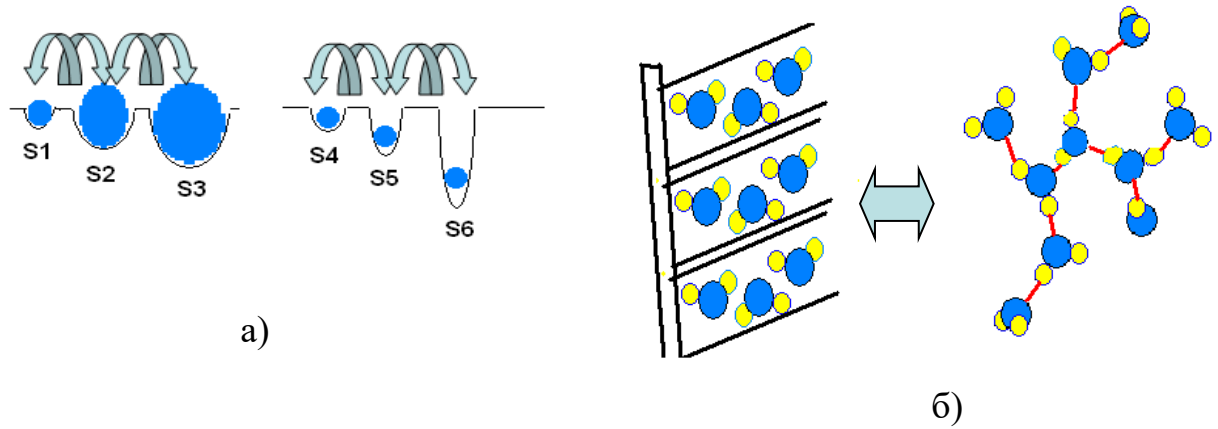


Рис. 4.1.5. Формування кластерів сильно- (а) і слабоасоційованої (б) води в ліофілізованій тканині кишечника.

Біоматеріал містить внутрішні порожнини різного розміру і форми, що позначені на рис. 4.1.5, а S1-6, розмір яких може досягати десятків нм. Гідрофільно-ліпофільні властивості стінок пор в різних компартментах можуть різнитися, але на поверхні є значне число центрів, з якими молекули води можуть утворювати водневозв'язані комплекси, що є передумовою для формування в порах різного розміру кластерів сильноасоційованої води. Якщо води достатньо, то вона може заповнювати більшу частину об'єму пор, тоді розподіл за розмірами кластерів води відображає розподіл за розмірами внутрішніх порожнин. Завдяки динамічній рівновазі адсорбованої води і насиченої пари між компартментами S1-6 відбувається швидкий молекулярний обмін, що зумовлює наявність у повітряному середовищі тільки одного сигналу адсорбованої води, хімічний зсув якого визначається усередненим значенням хімічного зсуву всіх типів адсорбованої води. При заміні повітря середовищем слабополярного органічного розчинника (хлороформу) можливість молекулярного обміну через газове середовище усувається, і в спектрах можуть бути зареєстровані окремі сигнали, які відносяться до різних типів компартментів (пор).

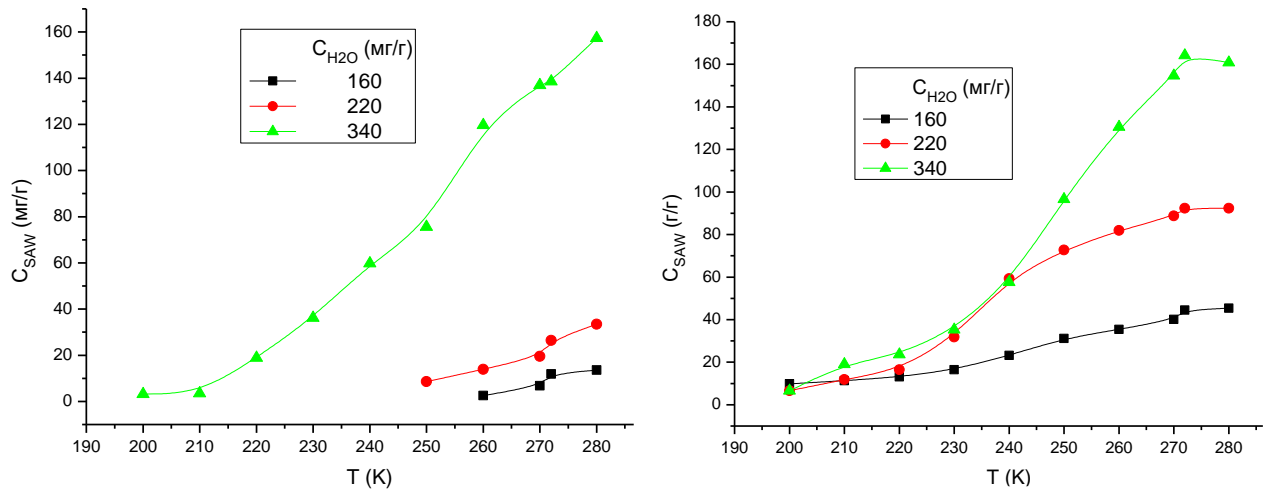
Оскільки поверхня внутрішніх порожнин (пор) утворена структурними елементами клітин, вони містять нерівності, розмір яких вимірюється десятими частками нм (рис. 4.1.5, б). Якщо поверхня гідрофобна, а внутрішній простір обмежений, то адсорбовані в таких порожнинах

молекули води можуть взаємодіяти зі стінками лише за дисперсійним механізмом, не утворюючи водневозв'язаних комплексів, як з поверхнею, так і з іншими молекулами води (цьому перешкоджають просторові обмеження). Така вода в спектрах реєструється як слабоасоційована. Враховуючи співвідношення інтенсивностей сигналів WAW і SAW на рис. 4.1.4, можна зробити висновок, що для вибраних зразків адсорбована вода є переважно слабоасоційованою.

Відповідно до даних рис. 4.1.4 більша частина WAW здатна замерзати із пониженням температури. Це можливо тільки шляхом попереднього утворення впорядкованої структури, подібної до структури гексагонального льоду. Ймовірно, його формування відбувається в нанорозмірних порах, розташованих безпосередньо біля поверхні, адсорбуючої воду за гідрофобним механізмом (рис. 4.1.5, б), причому вигравш енергії в результаті формування впорядкованої сітки водневих зв'язків кластера льоду компенсує енергію переміщення молекул води з субнанометрових порожнин, локалізованих на гідрофобних ділянках поверхні біоматеріалу.

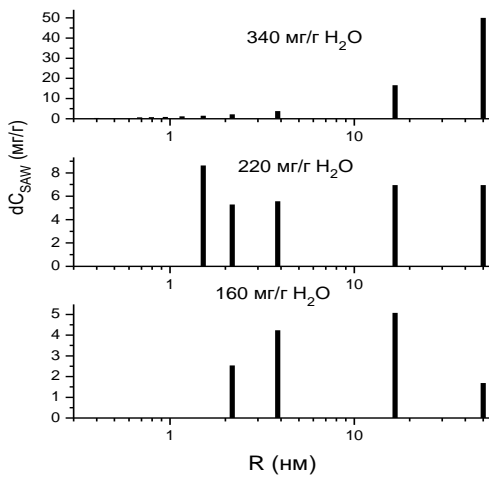
На рис. 4.1.4 наведені результати порівняльних досліджень гідратних властивостей зразків ліофілізованих тканин кишки Init. і Af_{SiO_2} . Вимірювалися температурні залежності концентрації сильнозв'язаної води (рис. 4.1.6, а,б) і розраховані на їх основі розподіли за радіусами кластерів SAW (рис. 4.1.6, в,г). Аналогічні розрахунки для WAW не проводилися, оскільки, як зазначалося вище, замерзання слабоасоційованої води може відбуватися із зміною місця її локалізації і вони не відображають дійсної будови внутрішніх порожнин, адсорбуючих WAW.

Відмінності в характері залежностей $C_{SAW}(T)$ (рис. 4.1.6, а,б) виявилися суттєвими. Так, якщо для зразка Init. при $C_{H_2O} = 160$ і 220 мг/г сильноасоційована вода (SAW3) фіксується тільки при $T \geq 250$ К, то для зразка Af_{SiO_2} - у всьому доступному для вимірювання діапазоні температур. Ці відмінності обумовлені формуванням у тканинах різних систем кластерів сильноасоційованої води.

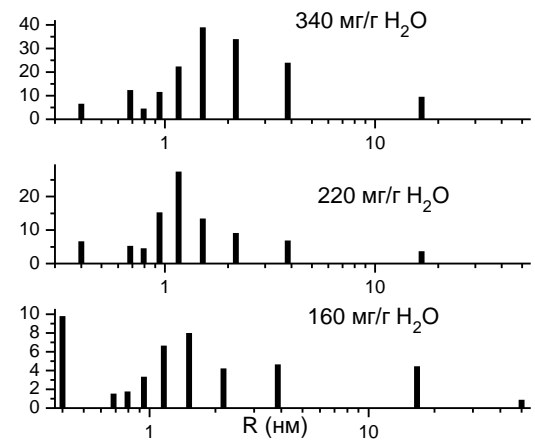


а)

б)



в)



г)

Рис. 4.1.6. Сильнозв'язана вода SAW3: зміни концентрації у різному температурному діапазоні (а,б) і розподіли за радіусами кластерів (в,г) для зразка ліофілізованої тканини кишечника Init. (а,в) та тканини, що контактувала з суспензією SiO₂ (б,г).

При $C_{H_2O} = 160$ мг/г у зразку Init. (рис. 4.1.6, в) спостерігаються кластери SAW з радіусами 11-50 нм. У зразку AfSiO₂ (рис. 4.1.6, г) максимум розподілу $dC_{SAW}(R)$ зміщується в бік зменшення значень R, причому значна частина кластерів має радіус $R < 0,5$ нм. Ця тенденція зберігається і при збільшенні вмісту води у зразку. При $C_{H_2O} = 340$ мг/г у контрольному зразку переважна частина води входила до складу кластерів з $R = 50$ нм, тоді як у зразку AfSiO₂ середній розмір кластерів SAW становить 1-3 нм [126].

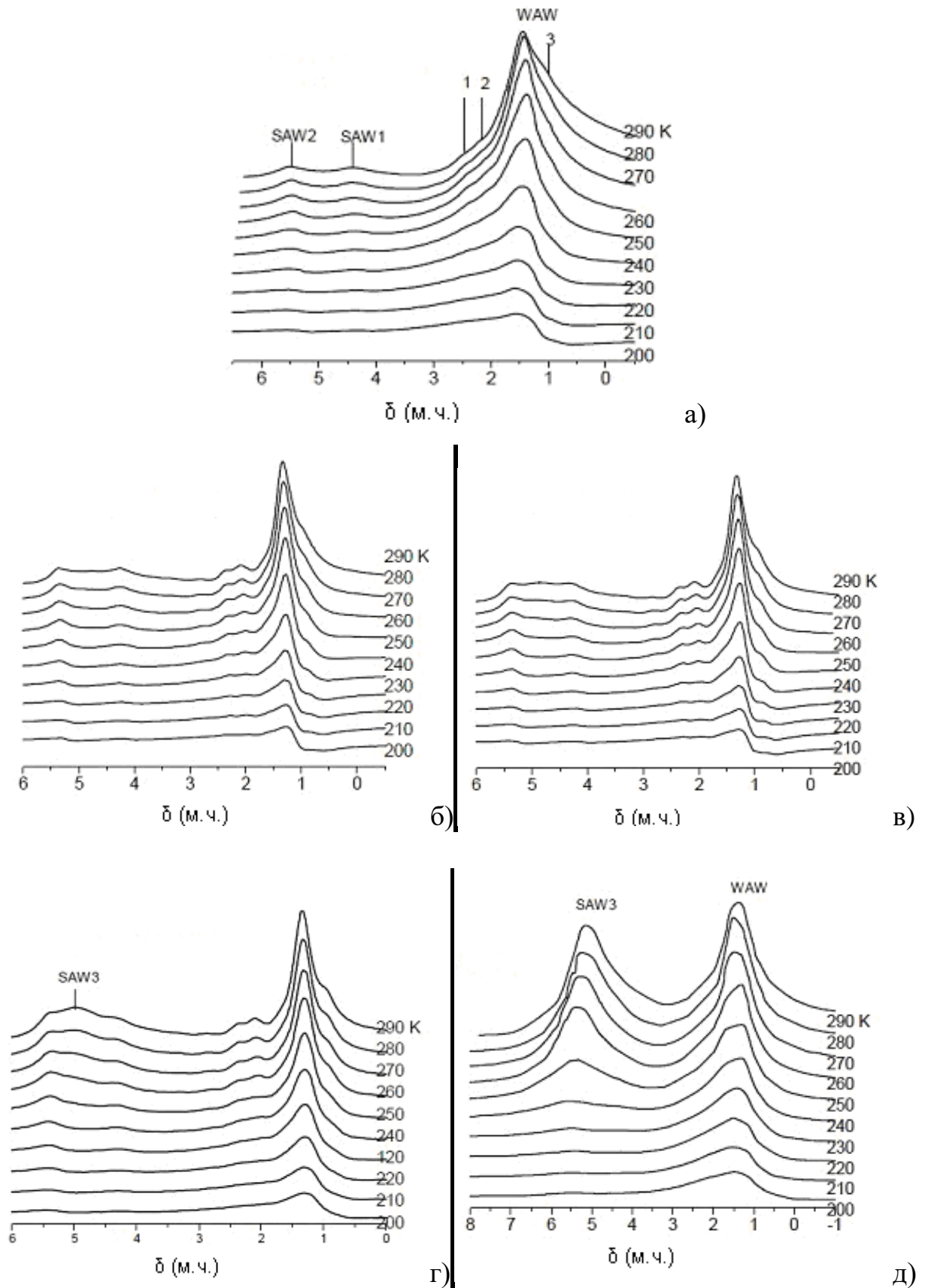


Рис. 4.1.7. Одержані при різних температурах спектри ^1H ЯМР зразка Init ліофілізованої кишкової тканини в повітряному середовищі: *a* – *д* – в середовищі CDCl_3 , при $C_{\text{H}_2\text{O}} = 100, 130, 160, 220, 340$ мг/г відповідно.

В середовищі дейтерованого хлороформу (рис. 4.1.7, б) розділення сигналів в спектрах істотно підвищується. Це може бути пов'язано зі зменшенням неоднорідності зразка та сповільненням молекулярного обміну між водою, що входить до складу різних адсорбційних комплексів.

При $T = 280 \text{ K}$ величина δ_{H} не перевищує 2 м.ч., отже, відповідно до [40, 41, 107], вона може кваліфікуватися як слабоасоційована (WAW). Якщо температура замерзання води перевищує 255 K, така вода є слабозв'язаною. Тобто до слабозв'язаної належить більша частина води, що знаходиться у внутрішніх нанопорожнинах кишкової тканини зразка Init., що контактує з повітряним середовищем ([41], рис. 4.1.2, а).

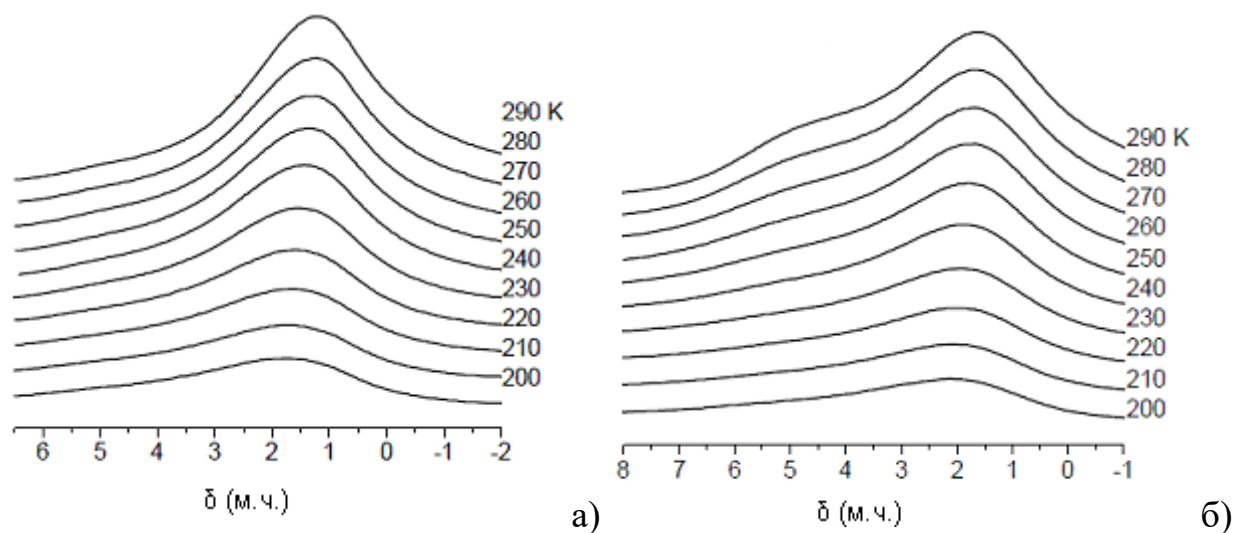
В спектрах можуть бути ідентифіковані кілька сигналів: два сигнали сильноасоційованої води (SAW1 і SAW2) з хімічними зсувами 5,5 та 4,4 м.ч. відповідно та кілька сигналів в області $\delta_{\text{H}} = 1\text{--}2,5$ м.ч. Найбільш інтенсивний з цих сигналів має хімічний зсув, що відповідає слабоасоційованій воді [40, 41, 107]. Крім того, в спектрах спостерігаються сигнали 1, 2 та 3 з хімічними зсувами $\delta_{\text{H}} = 2,4, 1,9$ та $0,9$ м.ч. відповідно. Інтенсивність сигналів сильно- та слабоасоційованої води істотно зменшується зі зниженням температури, в той час як для сигналів 1–3 переважно спостерігається збільшення їх ширини при незначній зміні інтенсивності.

При збільшенні кількості води в зразку Init. (рис. 4.1.7, в–е), крім сигналів SAW1(2), з'являється сигнал SAW3 ($\delta_{\text{H}} = 4,8$ м.ч.), інтенсивність якого зростає зі збільшенням гідратованості зразка і стає порівняною з інтенсивністю сигналу WAW при $C_{\text{H}_2\text{O}} = 340$ мг/г (рис. 4.1.7, е). Оскільки при цьому загальна кількість адсорбованої води збільшується майже в 3,5 раза, слід вважати, що приблизно третина всієї доданої до зразка води стає слабоасоційованою, а решта – сильноасоційованою.

Віднесення сигналів 1–3 на рис. 4.1.7 не може бути здійснено однозначно. Так, за величиною хімічного зсуву сигнали 1 та 2 можуть бути віднесені до кластерів води, в яких кожна молекула бере участь в утворенні приблизно одного водневого зв'язку, або до окремих молекул води, адсорбованих на електронодонорних центрах, які входять до складу структурних елементів

кишкової тканини. Крім того, саме такі хімічні зсуви слід очікувати для протонів в тригліцеридах фосфорної кислоти, що входять до клітинного матеріалу як складова клітинних мембран [127]. При цьому основний сигнал груп CH_2 в фосфоліпідах співпадає з сигналом слабоасоційованої води ($\delta_{\text{H}} = 1,2\text{--}1,4$ м.ч.). Проте, інтенсивності сигналів аліфатичних протонів в молекулах фосфоліпідів повинні однаково залежати від температури, оскільки при утворенні їхніх молекулярних кристалів (що характеризуються значно меншим часом поперечної релаксації) тверда фаза перестає реєструватись в спектрах ЯМР. Отже, основну частину сигналу з хімічним зсувом $\delta_{\text{H}} = 1,4$ м.ч. (рис. 4.1.7), інтенсивність якого зі зниженням температури змінюється значно сильніше, ніж сигналів 1–3, слід відносити саме до слабоасоційованих форм води.

Зі зниженням температури відбувається зменшення інтенсивності всіх сигналів зв'язаної води, причому максимальна зміна інтенсивності фіксується для сигналів WAW і SAW3. Під впливом середовища CDCl_3 температура замерзання WAW знижується, тобто частина міжфазної води стає сильнозв'язаною. Така трансформація свідчить про можливість участі слабополярного органічного середовища у формуванні структури кластерів води.



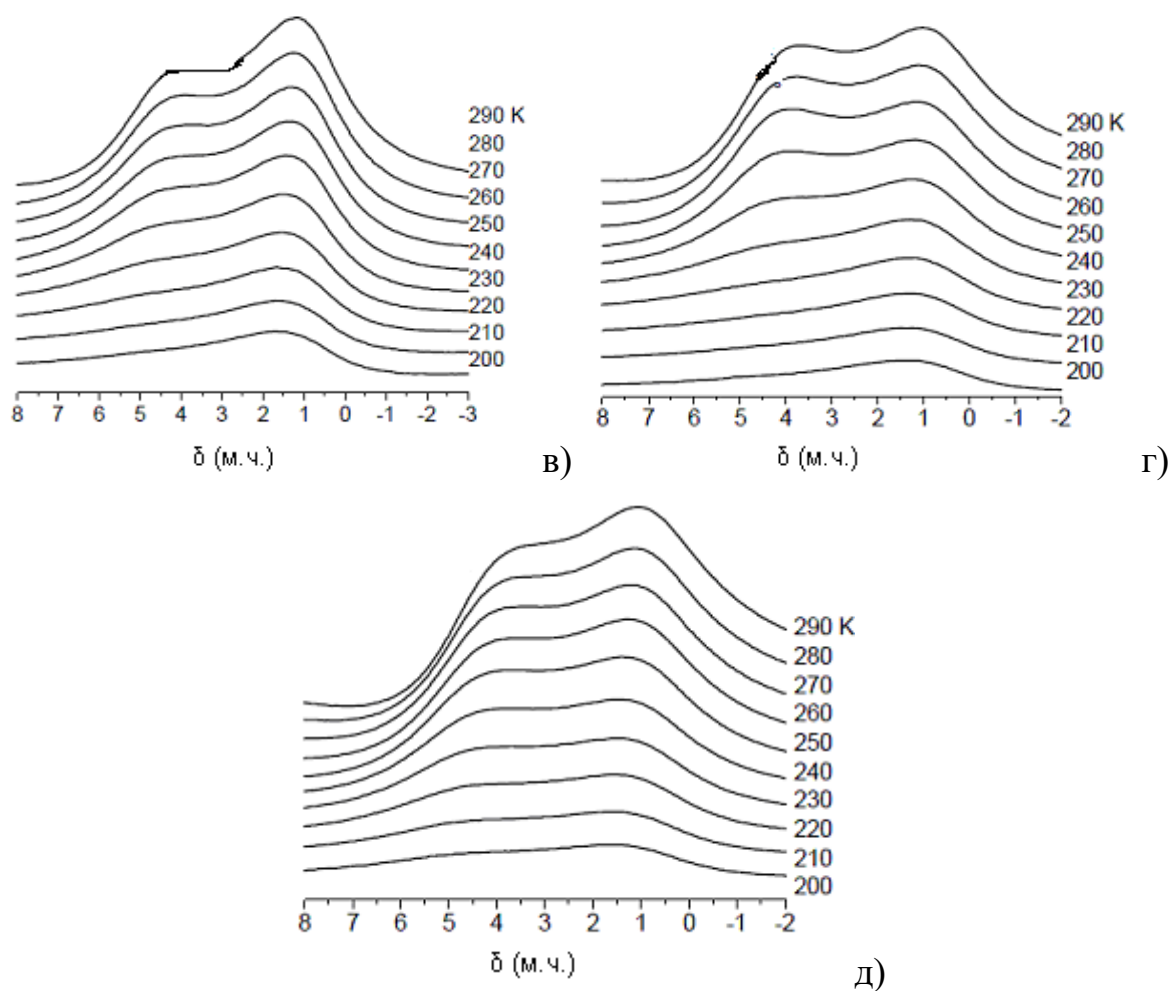


Рис. 4.1.8. Зразок ліофілізованої кишкової тканини Af_{SiO_2} в середовищі $CDCl_3$ (а–г) при $C_{H_2O} = 100, 160, 220, 340$ мг/г відповідно, та в середовищі $CDCl_3$ –ДМСО 7/1 (д) при $C_{H_2O} = 340$ мг/г.

Для зразка тканини кишечника, що контактував з кремнеземом (зразок Af_{SiO_2} , рис. 4.1.8) в спектрах 1H ЯМР спостерігаються лише два сигнали – WAW і SAW3. Їх ширина значно більше, ніж для зразка Init. У міру збільшення концентрації зростає питомий внесок від сигналу SAW3. При $C_{H_2O} = 340$ мг/г інтенсивності обох сигналів стають близькими. Проте, додавання до 7 частин хлороформу 1 частини ДМСО стабілізує слабоасоційовані форми міжфазної води (рис. 4.1.8, д).

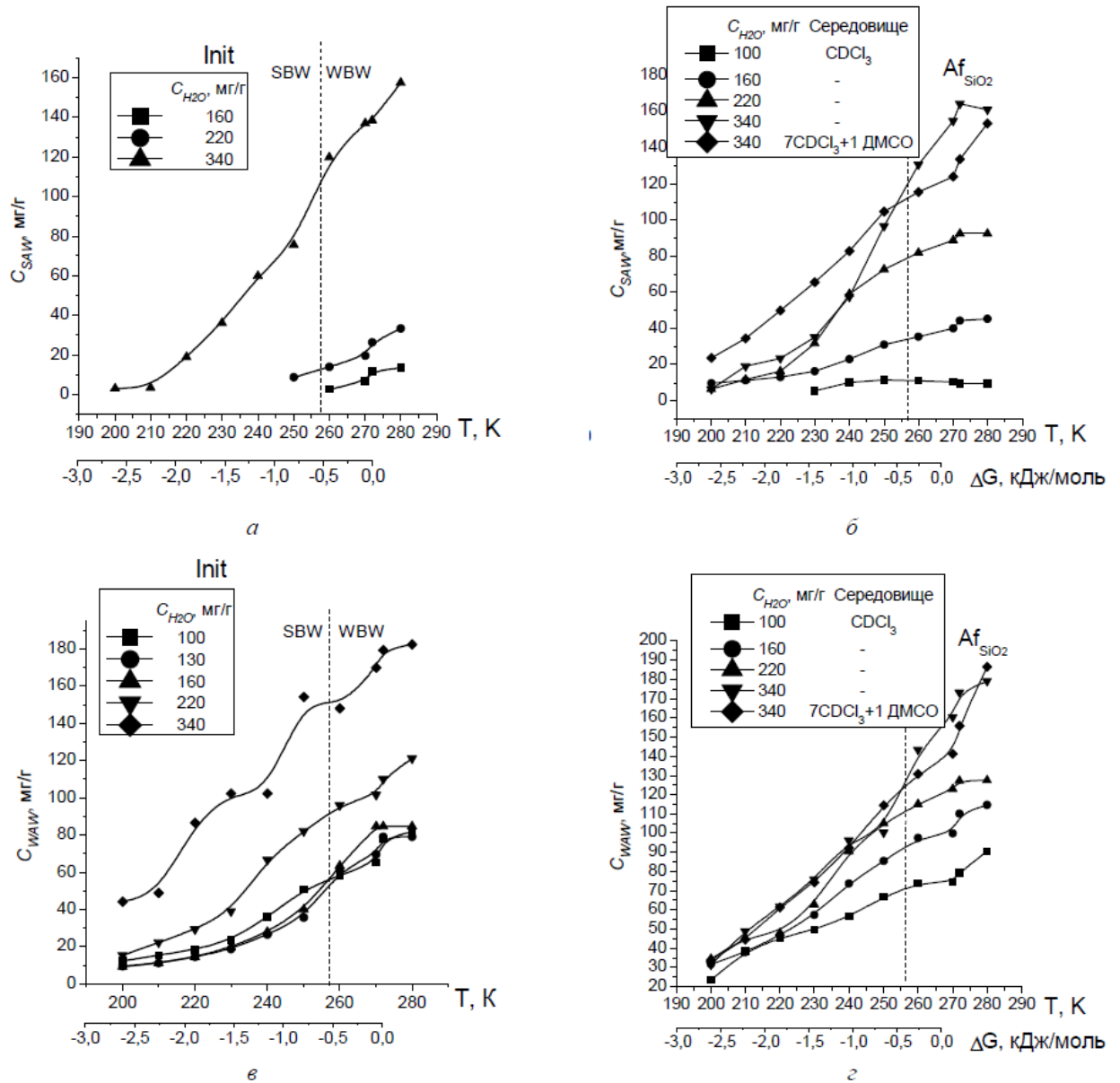


Рис. 4.1.9. Вміст сильно- (а, б) і слабоасоційованої (в, г) води в контрольній тканині кишечника (а, в) та після контакту з кремнеземом (б, г) у вказаному інтервалі температур.

На рис. 4.1.9 для зразка Init. для сильноасоційованої води наведено залежності, розраховані для SAW3, а для слабоасоційованої – для сигналу з хімічним зсувом $\delta_H = 1,4$ м.ч. У випадку зразка Af_{SiO_2} вважали, що сигнали, що спостерігаються в спектрах, належать лише до адсорбованої води: сильноасоційованої – сигнал в слабких магнітних полях ($\delta_H = 4-5$ м.ч.) і слабоасоційованої – в сильних полях ($\delta_H = 1-2$ м.ч.). Крім шкали температур, наведено також шкалу зміни вільної енергії Гіббса.

На основі даних рис. 4.1.9 та у відповідності з критеріями, наведеними в [40, 41], можна зробити висновок, що, незважаючи на слабку гідратованість кишкової тканини, певна частина адсорбованої води може вважатись слабозв'язаною. На рис. 4.1.9 ділянки залежностей $C_{uw}(T)$, що відповідають слабо- та сильнозв'язаній воді, показано вертикальними пунктирними лініями. Як видно з рис. 4.1.9, зразок кишкової тканини Af_{SiO_2} при рівній кількості адсорбованої води містить менше WBW, ніж зразок Init.

Розподіл водних структур представлений на рис. 4.1.10. В повітряному середовищі сигнал адсорбованої на зразку Init. води (переважно слабоасоційованої) має один максимум, розташований при $R = 5$ нм (рис. 4.1.10, а). Слабоасоційована вода в контрольному та основному зразках (рис. 4.1.10, б, в) представлена трьома групами кластерів, розміри яких складають $R < 0,5$, $0,6 < R < 6$ та $R > 10$ нм. Найбільшими з них є кластери води, що належать до слабозв'язаної води, яка замерзає при температурі $T > 257$ К (рис. 4.1.8). В середовищі $CDCl_3$ загальний об'єм води, що входить до складу таких кластерів, немонотонним чином змінюється із зростанням вмісту води в зразках Init. та Af_{SiO_2} . Для обох зразків мінімальна кількість WBW спостерігається при середніх величинах гідратованості – 160 мг/г для зразка Init. та 220 мг/г для зразка Af_{SiO_2} . Форма кривої розподілу пор за радіусами для основної групи нанорозмірних кластерів WAW істотно змінюється із зростанням гідратованості.

Лівий пік на кривій розподілу належить до дуже малих кластерів або окремих молекул води, що взаємодіють з фрагментами тканини кишечника.

Перехід їх в тверду фазу (замерзання) ускладнений необхідністю дифузії до місць локалізації найближчих до них кристалітів льоду. У відповідності з рис. 6.2.4 частину інтенсивності сигналу, ідентифікованого як сигнал WAW, можуть складати сигнали аліфатичних груп тригліцеридів фосфорної кислоти, що складають основу клітинних мембран. Саме вони в середовищі хлороформу не замерзають при найбільш низьких температурах.

Розподіли за розмірами кластерів сильноасоційованої води для зразків Init. та Af_{SiO_2} істотно різняться (рис. 4.1.10, ε , δ). Так, для зразка Init. при $C_{H_2O} = 160$ мг/г максимум розподілу спостерігається при $R = 10$ нм. Із зростанням C_{H_2O} до 220 мг/г, крива розподілу розширюється і з'являється значна кількість кластерів SAW з $R = 1.5$ нм. При подальшому збільшенні кількості адсорбованої води, різко зростає кількість кластерів води з $R = 50$ нм. У зразку Af_{SiO_2} спостерігається тримодальна крива розподілу, аналогічна кривій розподілу WAW. Як і у випадку WAW, не спостерігається певної закономірності у перерозподілі води за різними групами кластерів. Найбільш вузький розподіл має місце для вихідного зразка з гідратованістю $C_{H_2O} = 100$ мг/г. При збільшенні C_{H_2O} , в тканині з'являються як менші, так і більші за розмірами кластери SAW. Додавання ДМСО до дисперсійного середовища призводить до зростання кількості найменших за розмірами кластерів адсорбованої води.

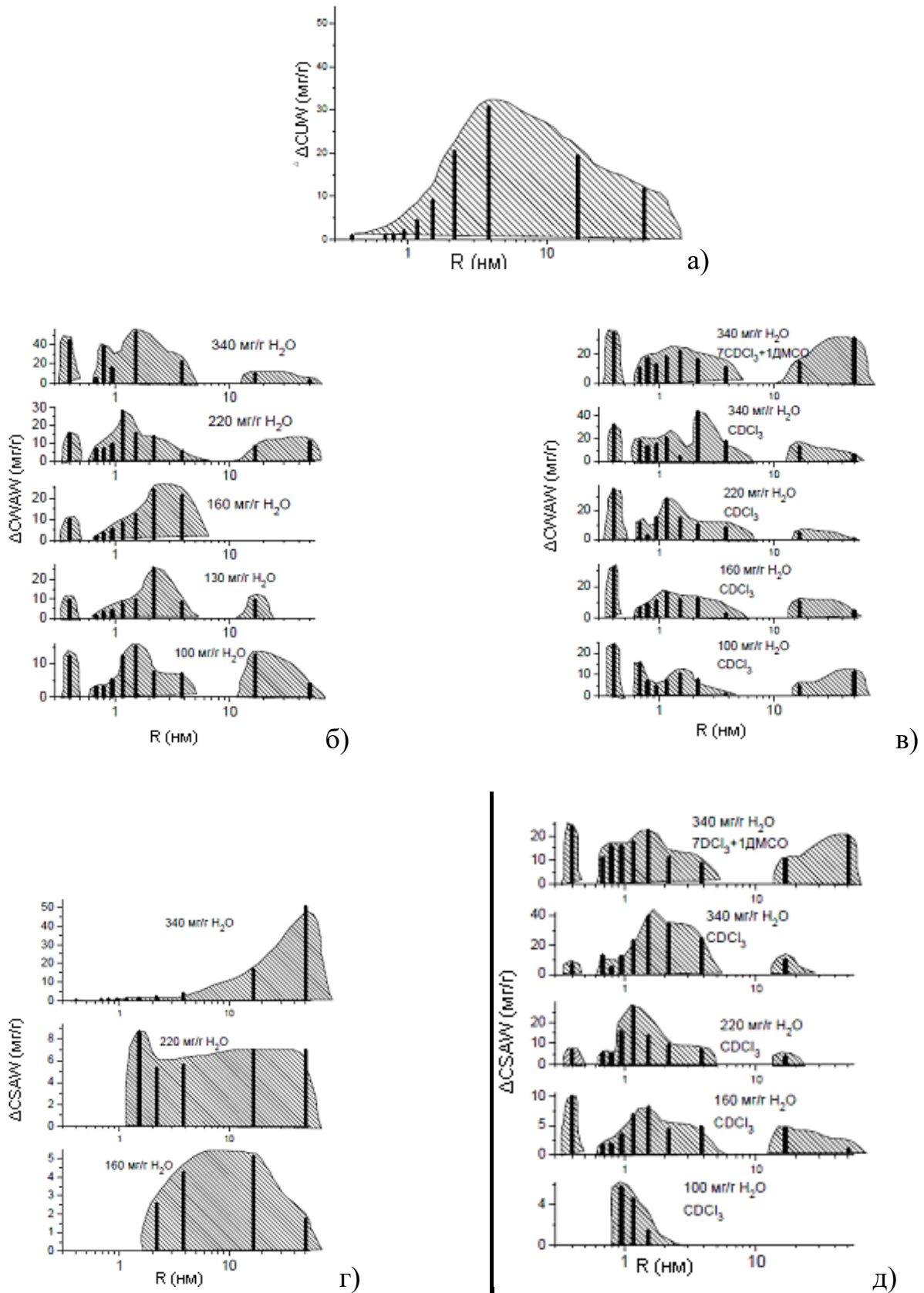


Рис. 4.1.10. Розподіли за розмірами кластерів води контрольного зразка (а, б, г) та зразка після контакту з SiO₂ (в, д) для кластерів WAW (б, в) і SAW (г, д) на повітрі (а) та в середовищі CDCl₃ (б–д).

На рис. 4.1.11 наведено одержані при різній температурі спектри ^1H ЯМР зразка Af_{SiO_2} , що, окрім води, містив хлористоводневу кислоту. Оскільки використовувався розчин HCl у воді, який містив 36% HCl , до зразка одночасно додавалось 30 мг/г (рис. 4.1.11, а) або 100 мг/г (рис. 4.1.11, б) H_2O .

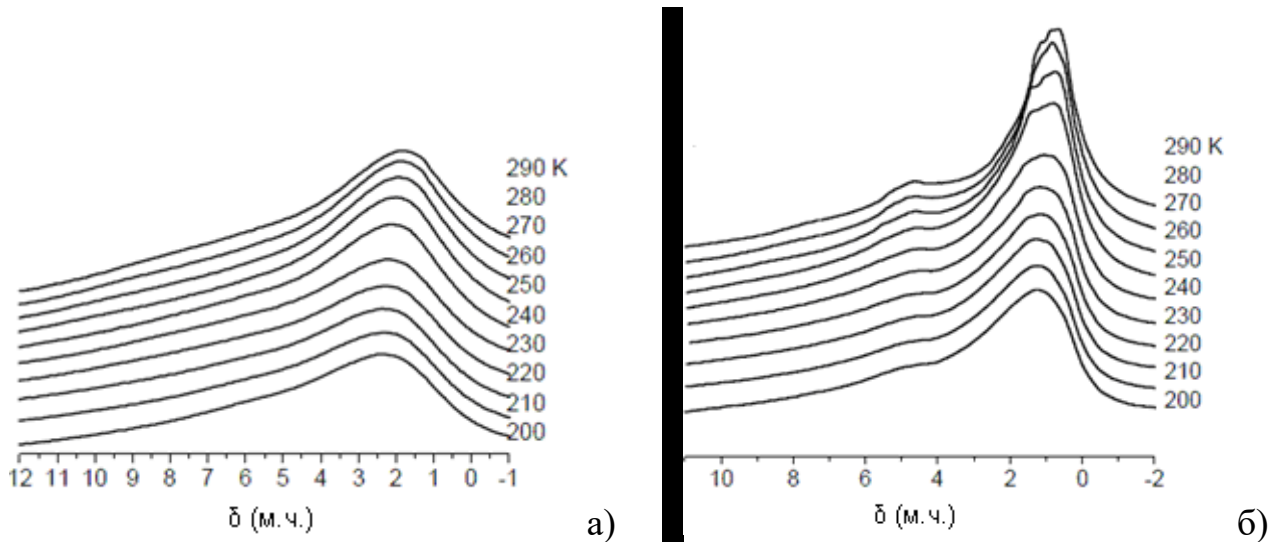


Рис. 4.1.11. ^1H ЯМР спектри зразка Af_{SiO_2} в присутності хлористоводневої кислоти: а – 5 мас. %; б – 15 мас. %.

Хлористоводнева кислота в її концентрованих водних розчинах, в залежності від температури, має хімічний зсув $\delta_{\text{H}} = 8,5\text{--}9,5$ м.ч. [129]. Значна величина хімічного зсуву визначається істотним зменшенням електронної густини на протоні в молекулі HCl , обумовленим великою електронегативністю атома хлору та частковою дисоціацією кислоти в її водних розчинах. Проте, як було показано в роботі [111] на прикладі вивчення хімічних зсувів хлористоводневої кислоти, адсорбованої на нанокремнеземі, розчинність HCl у кластеризованій воді значно зменшується порівняно з розчинами.

В спектрах на рис. 4.1.11 спостерігається 2–3 широкі сигнали, що перекриваються, з хімічними зсувами $\delta_{\text{H}} = 1,5, 4,5$ та $7,5$ м.ч. При цьому перші два сигнали можуть бути віднесені до слабо- та сильноасоційованої води, хімічний зсув якої практично співпадає з хімічним зсувом води в зразках, які не містили HCl (рис. 4.1.8). Лише останній слабоінтенсивний сигнал відповідає сигналу водного розчину хлористоводневої кислоти [128, 129].

4.2. Гідратні властивості тканини шлунку після контакту з Силіксом та вивчення стану води, адсорбованої тканиною підшлункової залози

Вживання суспензії Силіксу не впливає на морфологічну структуру внутрішніх органів. Цей факт підтверджувався тим, що частинки Силіксу не накопичуються в крові, печінці, нирках, легенях, м'язовій тканині тощо [83].

У колоїдній формі ВДК застосовується в медицині як ентеросорбент. Крім того, через високий рівень безпеки в багатьох країнах Європи та Азії ентеросорбенти на основі діоксиду кремнію представлені у формі дієтичних (харчових) добавок і можуть бути реалізовані поза аптеками. Сорбційна поверхня ентеросорбентів на основі коллоїдного діоксиду кремнію знаходиться в інтервалі 300-400 м² на 1 г основної речовини.

При попаданні у воду ВДК приєднує до себе гідроксильні групи та формує складну просторову структуру, її особливістю є те, що сорбція молекул токсинів, надлишкових продуктів обміну речовин, антигенів, мікроорганізмів відбувається на поверхні частинок, у місцях зв'язку діоксиду кремнію з гідроксильними групами. У водній суспензії таких часток багато та їх сумарна сорбційна площа досить велика. Сорбція йде на поверхні, тому він може фіксувати і виводити речовини з будь-якою, у тому числі з дуже великою молекулярною масою (наприклад, алергени, мікроорганізми), тому препарат можна застосовувати і для лікування алергії.

У просвіті шлунково-кишкового тракту препарат пов'язує та виводить з організму ендогенні та екзогенні токсичні речовини різної природи, включаючи патогенні бактерії та бактеріальні токсини, антигени, алергени, лікарські препарати та отрути, солі важких металів, радіонукліди, а також деякі продукти обміну речовин, в тому числі надлишок білірубину, сечовини, холестерину та ліпідних комплексів, продукти розпаду алкоголю та метаболіти, відповідальні за розвиток ендогенного токсикозу. Переважне виведення токсинів із збереженням нормальних компонентів флори та корисних речовин пов'язане з надлишком їх патогенних структур у кишечнику та поганою фіксацією їх до слизової оболонки. Нормальна ж мікрофлора досить щільно фіксована між

ворсинками кишечника і тому активно не виводиться. Пристінне травлення не порушується, тому що суспензія препарату вільно виводиться з організму і ніде не затримується, у тому числі і між ворсинками, не пошкоджуючи слизову оболонку травного тракту. Після прийому діоксид кремнію не розщеплюється і не всмоктується, він повністю виводиться з організму природним шляхом у незмінному вигляді.

Метою дослідження даного розділу було виявлення зміни гідратних властивостей ліофілізованої тканини шлунку щурів в результаті дії фармпрепарату Силіксу, а також травного ферменту панкреатину.

Процеси гідролітичного розщеплення компонентів їжі проходять в складній суміші біополімерних і низькомолекулярних органічних речовин, в яких приймає участь і хлористоводнева кислота. У роботі проводилось вивчення процесу гідратації панкреатину та впливу на зв'язану з ним воду. Дане дослідження дозволить пояснити процеси молекулярних взаємодій за участю травних ферментів і компонентів їжі, присутніх у шлунково - кишковому тракті. Такий підхід може моделювати взаємодію активних центрів молекул ферментів з різними ділянками молекулярних комплексів компонентів їжі різної хімічної природи, в результаті чого в зазорі між ними для міжфазної води створюються різні типи локального органічного оточення.

Середовище хлороформу сприяє кластероутворенню. В середовищі CDCl_3 (рис. 4.2.1 *а,б*) у спектрах ^1H ЯМР можна розрізнити декілька сигналів. Зокрема, сигнал сильноасоційованої води (SAW) з хімічним зсувом $\delta_{\text{H}} = 4$ м.ч. та кілька сигналів, що перекриваються в області $\delta_{\text{H}} = 0-3$ м.ч. Найбільш інтенсивний сигнал при $\delta_{\text{H}} = 1,5$ м.ч. може бути віднесений як до сигналу слабоасоційованої води, так і до ліпідів, що входять до складу клітинних мембран або жиру. Для зразка тканини, що контактувала з Силіксом, сигнали дещо ширші, а сигнал SAW має більшу інтенсивність.

З метою розділення сигналів води та ліпідних структур було здійснено реєстрацію ^1H ЯМР спектрів тканини шлунку в змішаних розчинниках, що містили трифтороцтову кислоту і ацетонітрил (рис. 4.2.1 *в,г*). Передбачалось,

що завдяки обміну з активними протонами кислоти, що мають хімічний зсув близько 11 м.ч., сигнали, принаймні сильноасоційованої води, будуть зміщені у слабкі магнітні поля (більші величини хімічного зсуву). При цьому використовувалась дейтерована трифтороцтова кислота для збереження загальної інтенсивності сигналів протонів розчину кислота-вода.

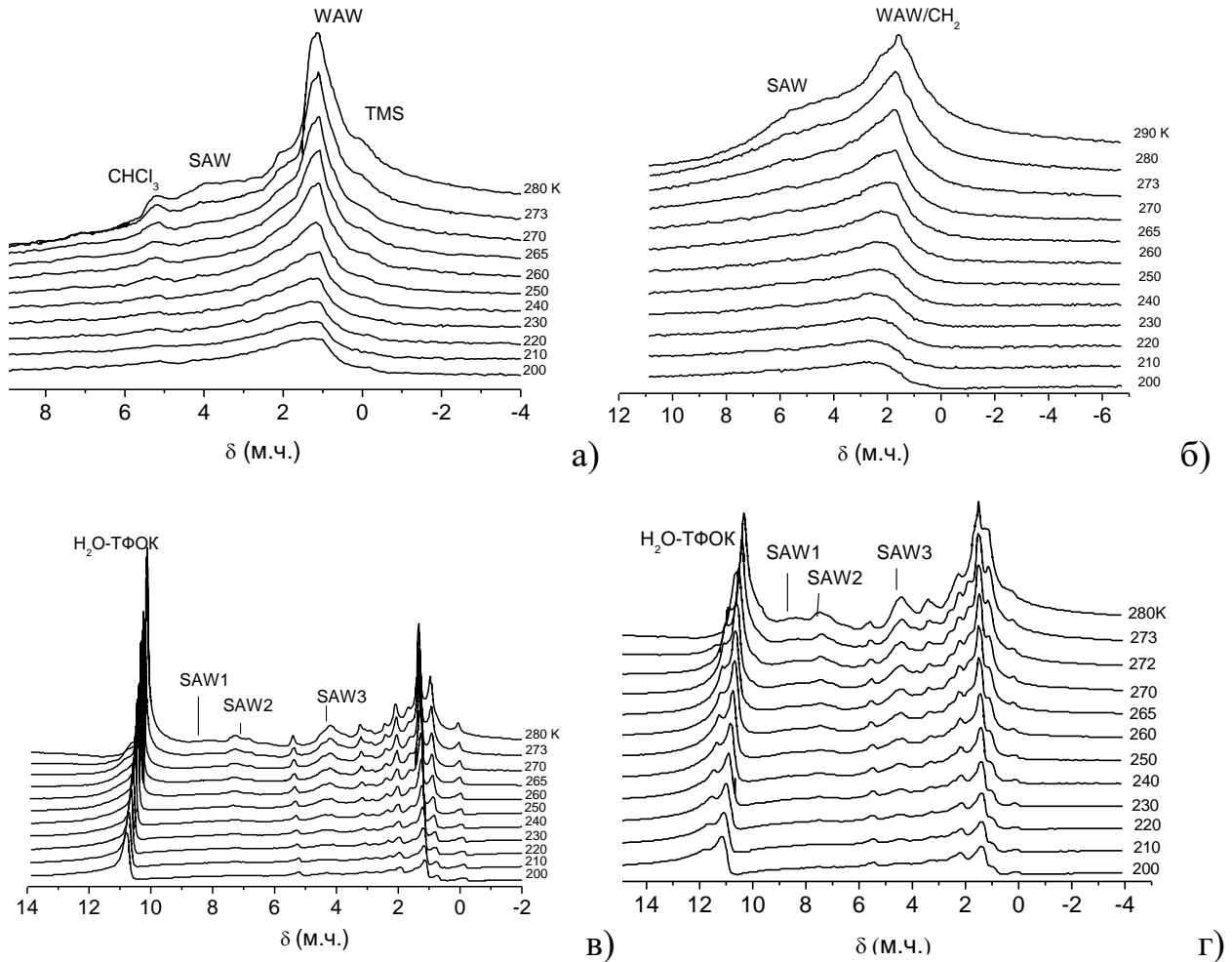


Рис. 4.2.1. Зняті при різній температурі спектри ^1H ЯМР води для зразка ліофілізованої тканини шлунку в середовищі хлороформу (а), суміші органічних розчинників (б) та після контакту із суспензією SiO_2 (б,г).

Розрішення сигналів в спектрах значно збільшується і в них спостерігається кілька сигналів аліфатичних груп, характерних для сигналів фосфоліпідів. Крім того, злитий пік сигналу кислота-вода стає домінуючим і зміщується в слабкі магнітні поля, що свідчить про видалення з тканин значної кількості як слабо-, так і сильноасоційованої води. Проте, в спектрах залишаються кілька сигналів, що можуть бути віднесені до певних типів кластерних структур води, що не розчиняє або обмежено розчиняє як ТФОК,

так і ацетонітрил. Співвідношення інтенсивностей сигналів різних форм SAW змінюється для вихідної тканини, та тканини, яка контактувала з Силіксом [129].

Таким чином, залишкова вода в тканинах шлунку може знаходитись як в сильно- так і слабоасоційованому стані. Контактвання з Силіксом дещо зменшує вклад від слабозв'язаної води. Вода в тканинах має кластерну будову, причому присутні принаймні три типи кластерів сильноасоційованої води, що не розчиняють (або обмежено розчиняють) ТФОК. Внесок таких кластерів більший для тканини, яка контактувала з Силіксом.

Методом імерсійної мікроскопії були одержані зображення частинок тканини підшлункової залози, представлені у вигляді мікрофотографій (рис. 4.2.2, *а,б*). У водному середовищі частинки тканини, які мають розмір 1-5 мкм, погано розчиняються, і зберігають свій зовнішній вигляд принаймні протягом декількох годин.

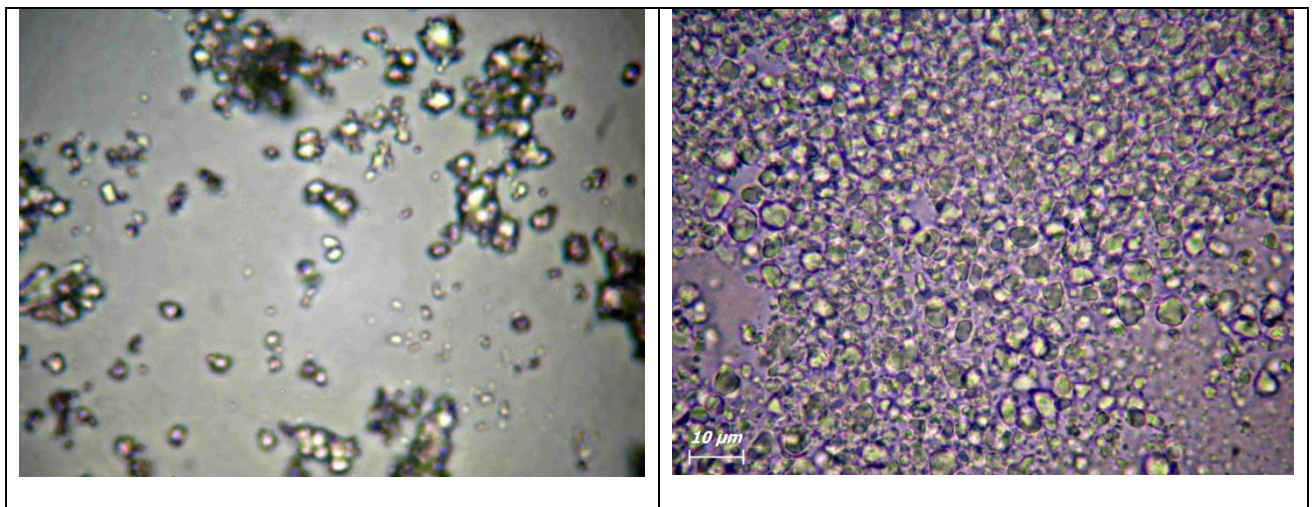


Рис. 4.2.2. Мікрофотографії порошку ліофілізованої тканини підшлункової залози (*а*) і його водної суспензії (*б*), зняті при збільшенні $\times 1000$ з використанням імерсії.

Для визначення залежності зміни маси зразку від температури в часі був проведений термогравіметричний аналіз. Термограми, отримані в процесі нагрівання тканини підшлункової залози, наведені на рис. 4.2.3. На кривій втрати маси спостерігається кілька перегибів, які характеризуються піками на кривій ДТГ. Перший пік розташований при температурі поблизу 390 К. Він

може бути віднесений до випаровування з поверхні фізично зв'язаної води. Загальна кількість десорбованої води відповідає 50 мг/м. Другий пік на кривій ДТГ може відповідати десорбції низькомолекулярних речовин (цетиловий спирт) та полімерів, таких як поліетиленгліколь і полідиметилсилоксан. При більш високих температурах відбувається термодеструкція біополімерів з утворенням вуглецю (який може перетворюватися на окис і двоокис вуглецю), а також мінерального залишку. Зольність продуктів термолізу панкреатину виявилася досить високою і становила близько 40 % від маси навжки вихідного зразку. Крива ДТА має опуклий вигляд, характерний для ендотермічних процесів випаровування низькомолекулярних і термодеструкції високомолекулярних біополімерних речовин.

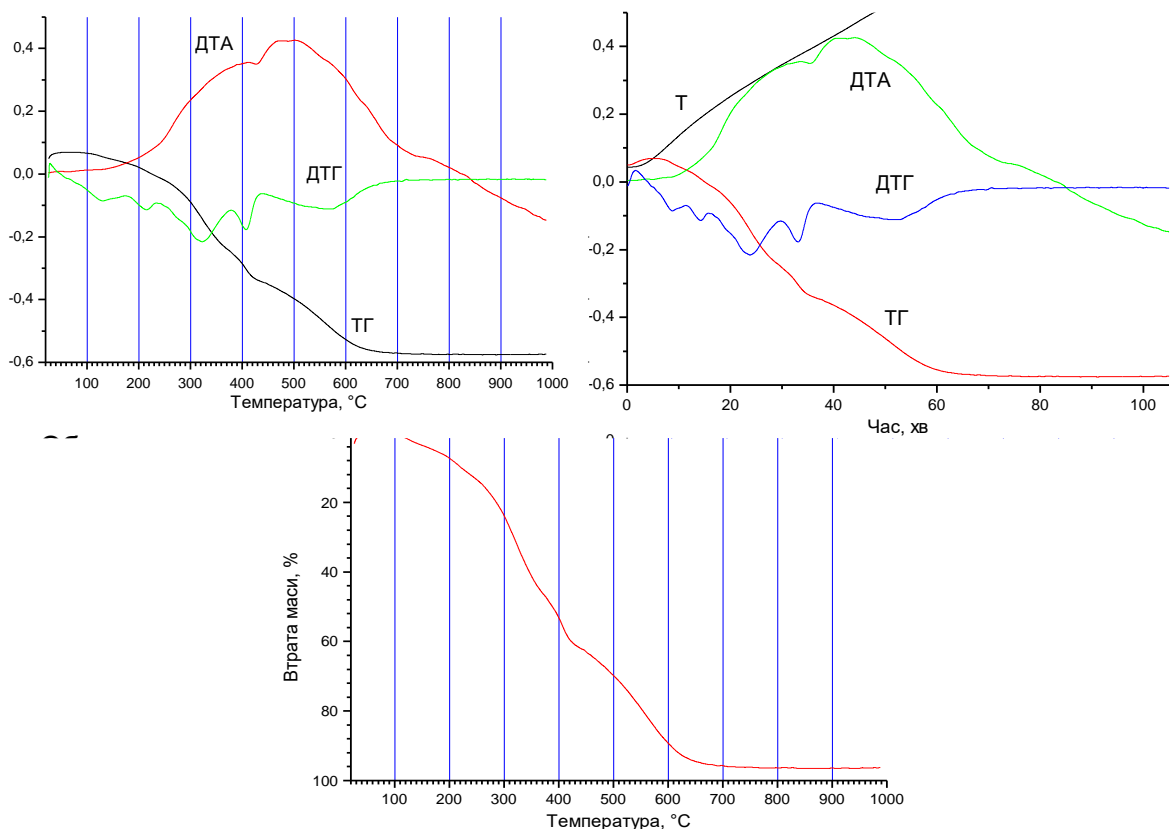


Рис. 4.2.3. Термограми деструкції ліофілізованої тканини підшлункової залози у повітряному середовищі.

Методом ^1H ЯМР-спектроскопії отримані при різній температурі спектри тканини, що містить 50 мг/г адсорбованої води, зняті в різних середовищах. На повітрі в спектрах реєструються два широкі сигнали (рис. 4.2.4), слабоінтенсивний - сигнал 1 з хімічними зсувами $\delta_{\text{H}} = 0-1$ м.ч. та інтенсивний

(сигнал 2) з хімічними зсувами $\delta_H = 4-6$ м.ч. Згідно складу мікрогранул за сигнал в сильних магнітних полях (сигнал 1) можуть бути відповідальні метильні групи полідиметилсилоксану і метиленові групи диметоксину.

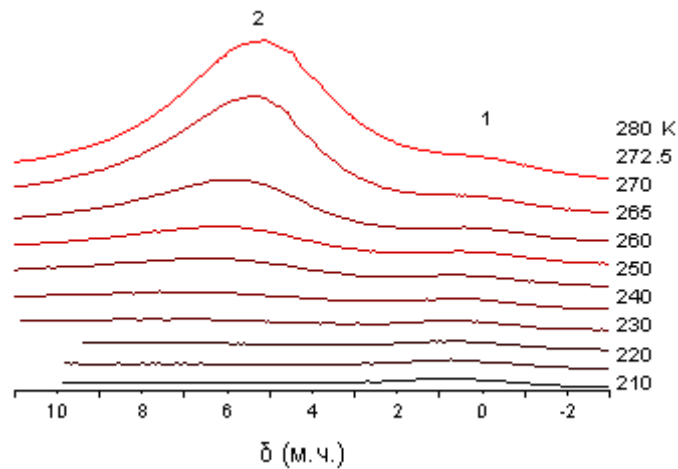


Рис. 4.2.4. Зняті при різній температурі спектри ^1H ЯМР ліофілізованої тканини підшлункової залози, що містить 50 мг/г адсорбованої води на повітрі.

У середовищі дейтерохлороформу (рис. 4.2.5) ширина сигналів зменшується, що дає можливість реєструвати чотири сигнали (сигнали 1-4), з яких перші два відповідають сигналам метильних ($\delta_H = 0$ м.ч.) і метиленових груп ($\delta_H = 1$ м.ч.) органічних добавок (сигнал 2 може також містити внесок від слабоасоційованої води) і два сигнали сильноасоційованої води (сигнали 3,4, $\delta_H = 3,8$ та 5 м.ч., відповідно) з різним ступенем асоційованості (різне значення параметра n , більше для сигналу 4).

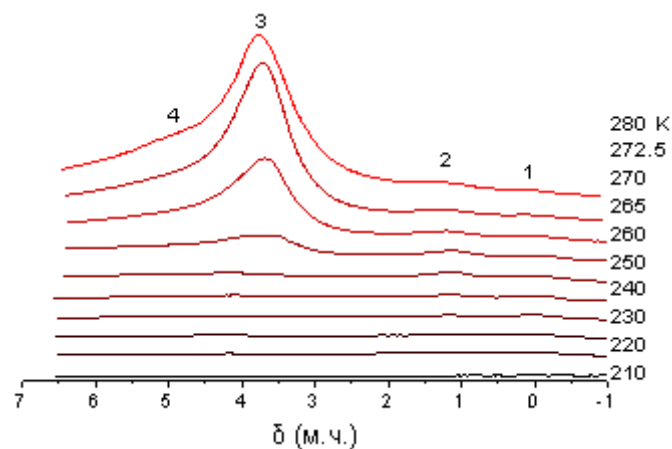


Рис. 4.2.5. Спектри ^1H ЯМР ліофілізованої тканини підшлункової залози, що містить 50 мг/г адсорбованої води в середовищі хлороформу.

У суміші 7:1 дейтерохлороформу з дейтероацетонітрилом в спектрах з'являється сигнал метильних груп CD_3CN ($\delta_{\text{H}} = 2.2$ м.ч., рис. 4.2.6, а). Сигнал 4 зникає, а замість нього з'являється сигнал 5 з хімічним зсувом $\delta_{\text{H}} = 8$ м.ч. При додаванні до хлороформу 100 мг/г хлористоводневої кислоти (по відношенню до маси тканини підшлункової залози) у спектрах фіксуються всі п'ять сигналів (рис. 4.2.6, б), причому інтенсивність сигналу 5 ($\delta_{\text{H}} = 8$ м.ч.) дещо вища, ніж у середовищі $7\text{CDCl}_3 + 1 \text{CD}_3\text{CN}$. Оскільки концентрація хлористоводневої кислоти вдвічі перевищує концентрацію води в тканині (рис. 4.2.2), а її хімічний зсув відповідає 8-10 м.ч. [128], при швидкому молекулярному обміні води, що входить до складу різних гідратних структур, можна було б очікувати істотного зміщення у присутності HCl сигналів води в область слабких магнітних полів (високих значень хімічного зсуву). Проте, цього не відбувається. З усіх присутніх в спектрі сигналів тільки хімічний зсув сигналу 5 відповідає хімічному зсуву гідратованих молекул HCl . Ймовірно, розчинення хлористоводневої кислоти в гідратній воді не відбувається, а значна частина кислоти, взаємодіючи з основними центрами панкреатину, формує солеподібні аддукти, які не виявляються в спектрах, враховуючи малі часи поперечної релаксації в твердих тілах.

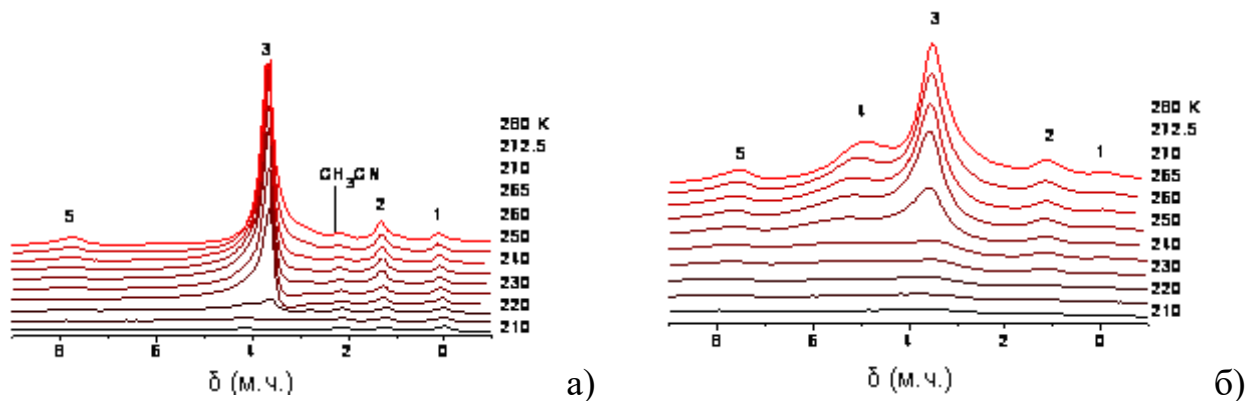


Рис. 4.2.6. Зняті при різній температурі спектри ^1H ЯМР ліофілізованої тканини підшлункової залози, що містить 50 мг/г адсорбованої води, в суміші $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ (а) і у хлороформному середовищі з добавкою 10% (мас.) HCl (б).

У змішаних середовищах ($7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ і $7\text{CDCl}_3 + 1 \text{DMSO}$, рис. 4.2.7, а,б) вигляд спектрів залишається близьким до отриманого в середовищі хлороформу (рис. 4.2.6, б). Відмінності спостерігаються лише в області низьких

температур і при високій чутливості спектрометра (спектри, розташовані в правій частині). Як видно з цього малюнка, при низьких температурах сильноасоційована вода може спостерігатися у вигляді одного - трьох сигналів з різними значеннями хімічного зсуву, інтенсивності яких по-різному змінюються з температурою.

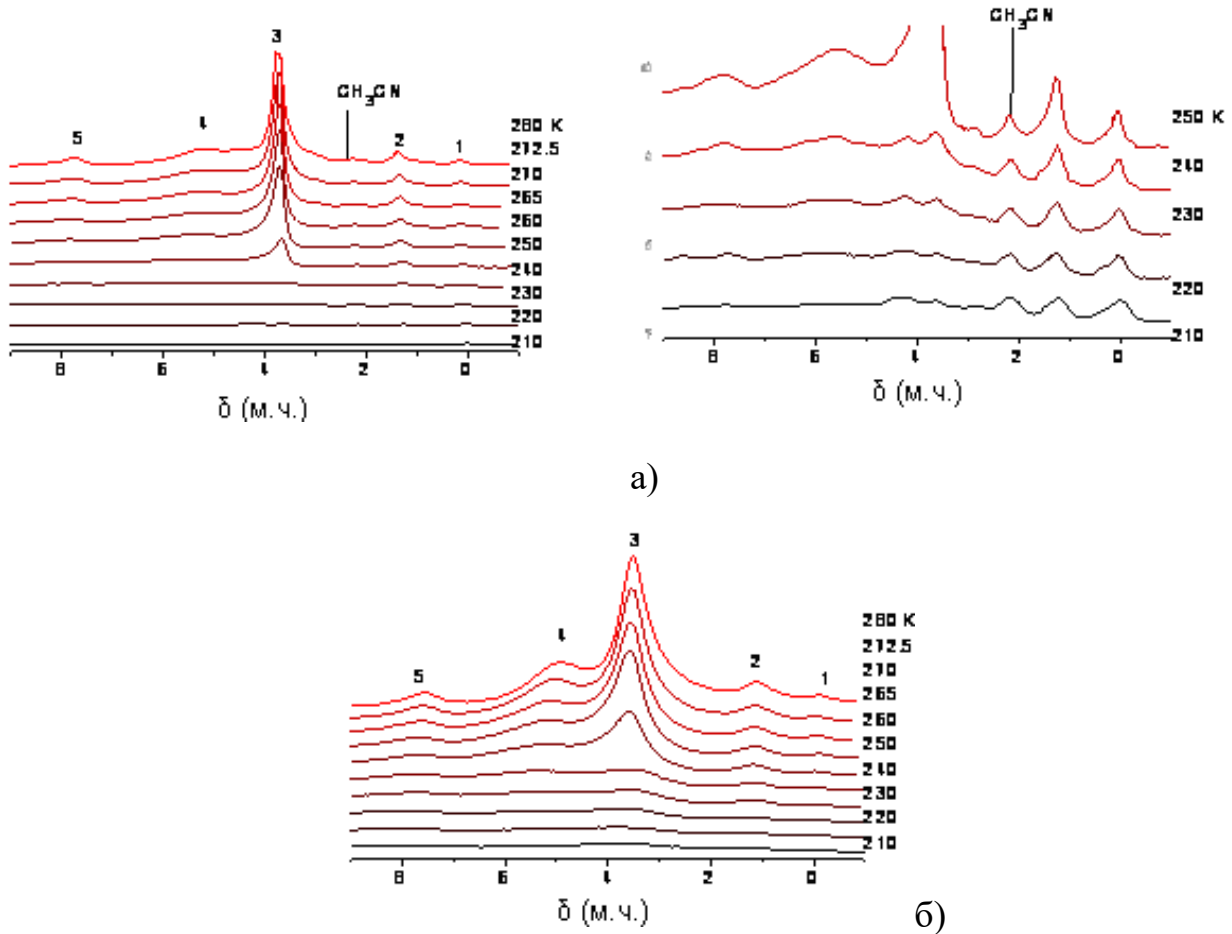
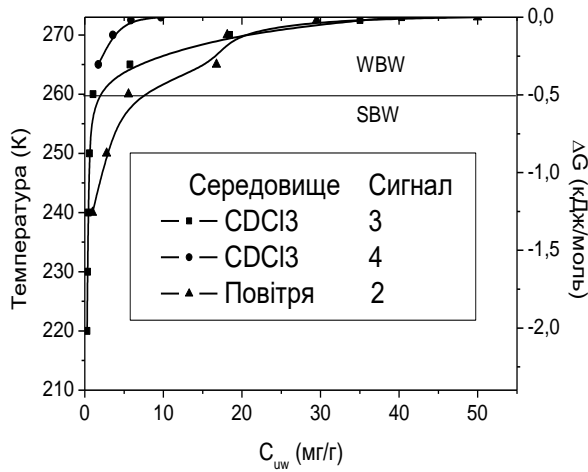
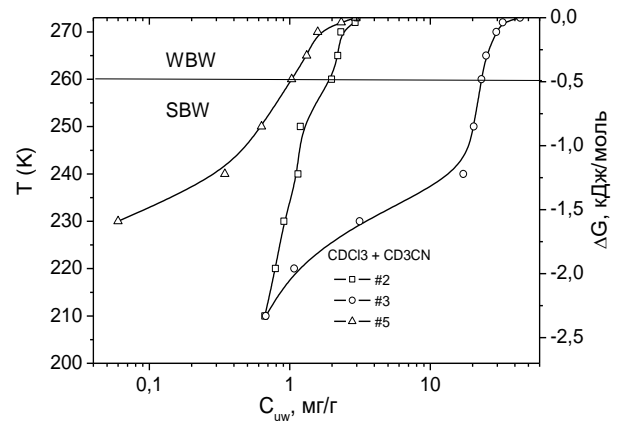


Рис. 4.2.7. Зняті при різній температурі спектри ^1H ЯМР ліофілізованої тканини підшлункової залози ($C_{\text{H}_2\text{O}} = 50$ мг/г) в присутності HCl (10% мас.) в органічних сумішах складу: $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ (а) і $7\text{CDCl}_3 + 1$ ДМСО (б).

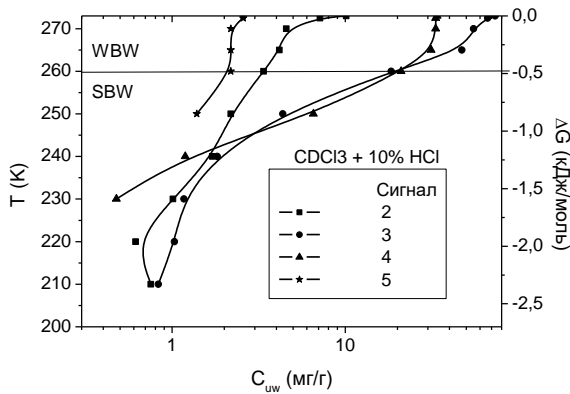
Залежності концентрації незамерзаючої води від температури і зміни вільної енергії Гіббса, розраховані в координатах $C_{\text{uw}}(T, \Delta G)$, наведено на рис. 4.2.8, а-д. Так, на рис. 4.2.8, а наведена залежність для зміни з температурою концентрації сильноасоційованої води на повітрі ($\delta_{\text{H}} = 5$ м.ч.). Частина води, яка замерзає при $T < 260$ К, є сильнов'язаною.



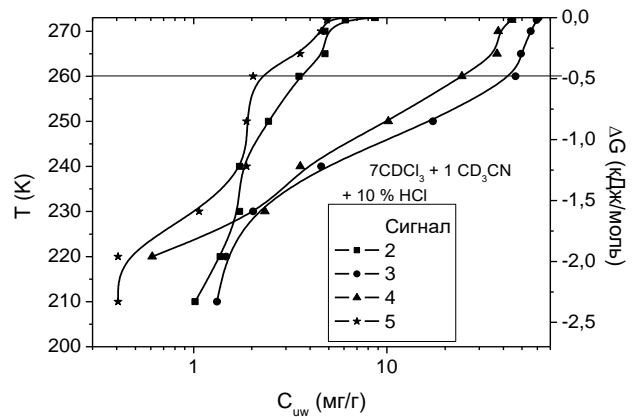
a)



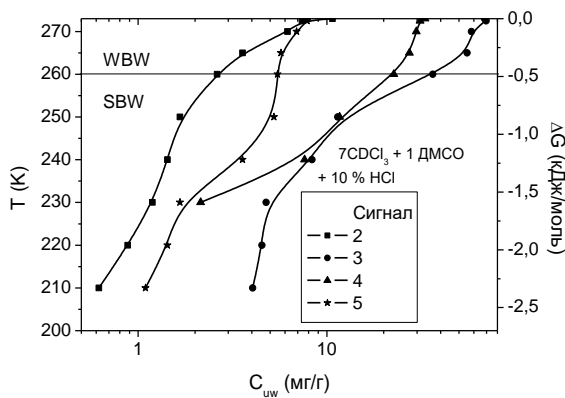
б)



в)



г)



д)

Рис. 4.2.8. Залежності концентрації незамерзаючої води від температури для ліофілізованої тканини підшлункової залози в повітряному і органічному середовищах: на повітрі і в середовищі CDCl_3 (а); суміші $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ (б); з добавкою 100 мг/г 36%-ої HCl : у середовищі CDCl_3 (в); в сумішах $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ (г) і $7\text{CDCl}_3 + 1\text{DMSO}$ (д).

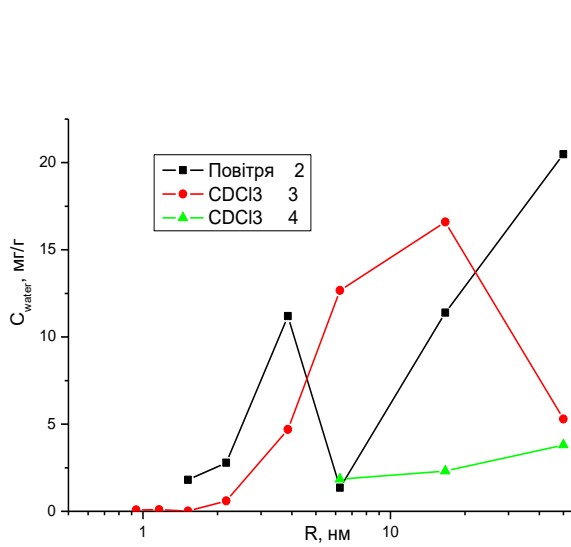
У змішаному органічному середовищі $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ (рис. 4.2.6, б і 4.2.8, в) кількість сильнозв'язаної води (SAW, сигнал 3) стає ще більшим, досягаючи 40% від загальної кількості зв'язаної води. Окрім неї в спектрах присутні сигнали 2 і 5. Інтенсивність сигналу 5 ($\delta_{\text{H}} = 7,5$ м.ч.) з температурою змінюється значно більше, що дозволяє ідентифікувати цей сигнал як одну з форм води. За величиною хімічного зсуву можна припустити, що вода, відповідальна за цей сигнал, входить до складу міцних водневозв'язаних комплексів або кластерів, які містять молекули кислоти.

При додаванні хлористоводневої кислоти до зразка тканини підшлункової залози в середовищі CDCl_3 (рис. 4.2.6, б і рис. 4.2.8, в) концентрація сильнозв'язаної води (за яку відповідальні сигнали 3,4) істотно зростає і стає близькою до концентрації SBW у зразку, який містить суміш $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ (рис. 4.2.8, б). Сигнал 5 (з хімічним зсувом $\delta_{\text{H}} \approx 8$ м.ч.) може бути пов'язаний з молекулами HCl , сольватованих водою. Для зразків тканини підшлункової залози в змішаних органічних середовищах на основі дейтерохлороформу і ацетонітрилу (ДМСО), що містять добавку 10% мас. (по відношенню до маси панкреатину) соляної кислоти (рис. 4.2.5, а,б і рис. 4.2.8, г,д), у спектрах фіксуються ті ж сигнали, що й на рис. 4.2.4, б. Однак кількість води, відповідальна за сигнал 5, стає істотно більшою. Для зразка в суміші 7/1 $\text{CDCl}_3/\text{ДМСО}$ вона досягає 8 мг/м. Залежно від середовища дещо змінюється також і співвідношення концентрацій води, яка відповідає за сигнали 3 і 4.

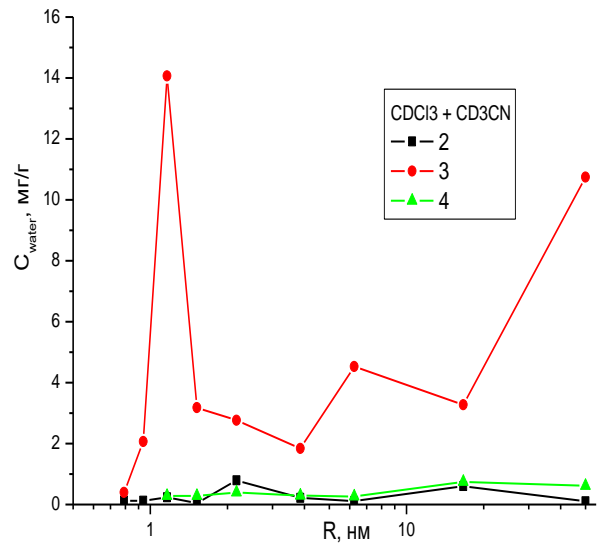
Оскільки депресія температури замерзання визначається розмірами кластерів адсорбованої води [42, 60], найбільш вірогідною причиною зміни ходу залежностей $C_{\text{uw}}(T)$ слугує зміна зі складом середовища розмірів кластерів адсорбованої панкреатином води. Відповідні розподіли кластерів за розмірами (РКР) наведені на рис. 4.2.8.

У початковому зразку, який містить 50 мг/г залишкової води, вона представлена розподілом кластерів по радіусах з максимумами при $R = 1,5$ і 50 нм (рис. 4.2.9, а). Середовище дейтерохлороформу стабілізує кластери, радіус яких становить $R = 10\text{-}20$ нм (сигнал 3, рис. 4.2.4, а), а також кластери з

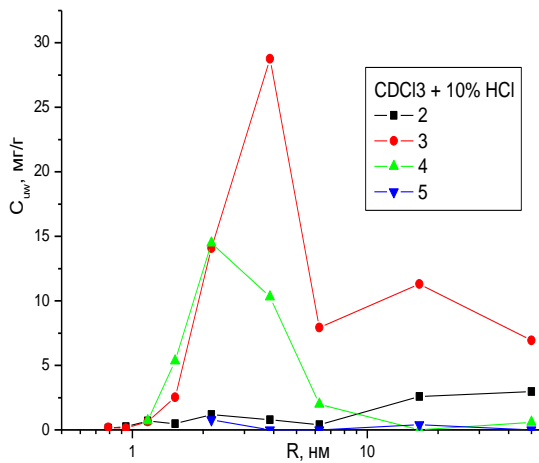
радіусами $R = 6-50$ нм (сигнал 4). У змішаному розчиннику $7\text{CDCl}_3 + 1\text{CD}_3\text{CN}$ основний сигнал (сигнал 3, рис. 4.2.4) обумовлений кластерами з $R = 1, 6$ і 50 нм (рис. 4.2.8, б). При цьому для сигналів 2 і 4 максимуми розподілів відповідають $R = 2$ і 20 нм. У середовищі CDCl_3 з додаванням HCl , основна частина води (сигнали 3,4, рис. 4.2.5, б) представлена кластерами з $R = 2-3$ нм (рис. 4.2.9, в). Для сигналу 3 спостерігаються максимуми РКР при $R = 20$ нм, а для сигналу 5 (рис. 4.2.5, б) при $R \approx 2$ і 20 нм.



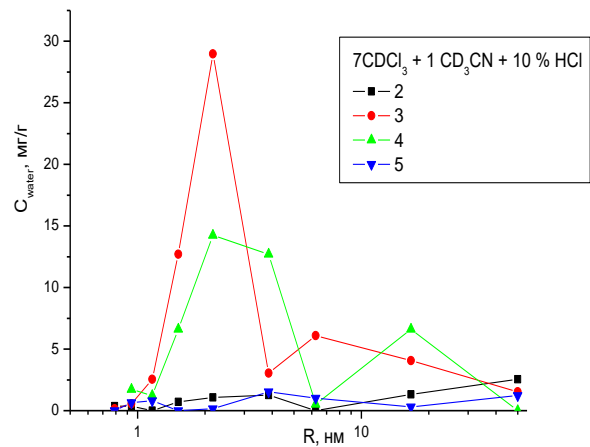
а)



б)



в)



г)

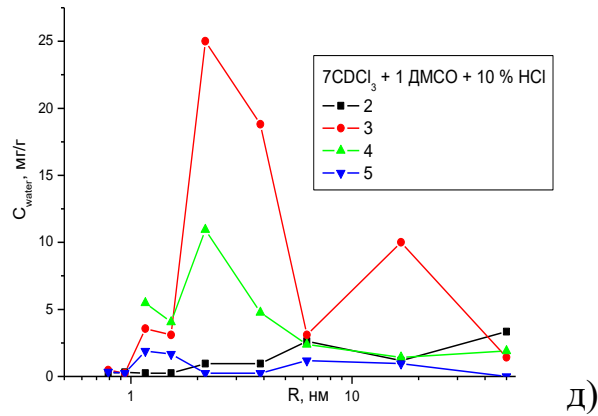


Рис. 4.2.9. Розподіл за радіусами кластерів води, адсорбованої на поверхні твердих частинок тканини підшлункової залози на повітрі і в середовищі CDCl_3 (а), суміші CDCl_3 і CD_3CN (б) і з добавками хлористоводневої кислоти: $\text{CDCl}_3 + 10\% \text{HCl}$ (в), $7\text{CDCl}_3 + 1 \text{CD}_3\text{CN} + 10\% \text{HCl}$ (г), $7\text{CDCl}_3 + 1 \text{ДМСО} + 10\% \text{HCl}$ (д).

Додавання до суміші $7\text{CDCl}_3 + 1 \text{CD}_3\text{CN}$ хлористоводневої кислоти для сигналу 3 збільшує внесок від кластерів з $R \approx 20$ нм і зменшує від кластерів більшого розміру. Одночасно зростає внесок від кластерів з $R \approx 2$ і 20 нм, представлених у спектрах сигналом 4 (рис. 4.2.6, а). У змішаному середовищі $7\text{CDCl}_3 + 1 \text{ДМСО}$ з добавкою HCl основний сигнал води (сигнал 3, рис. 4.2.6, б) представлений кластерами з $R \approx 2-3$ і 20 нм (рис. 4.3.9, д), а сигнал 4 - кластерами з $R \approx 2$ нм.

Термодинамічні характеристики шарів зв'язаної води і значення міжфазної енергії наведені в табл. 4.1. Розрахунки виконувалися для кожного сигналу води, який реєструється в спектрах у припущенні, що загальна концентрація води була постійною і рівною 50 мг/г у зразках, які не містять HCl і 120 мг/г у присутності хлористоводневої кислоти.

Таблиця 4.2. Термодинамічні параметри шарів води, адсорбованої тканиною підшлункової залози в різних середовищах

Середовище	Хім. зсув м.ч. (№ сигналу)	ΔG^s , кДж/моль	C_{uw}^s , мг/г	C_{uw}^w , мг/г	γ^s , Дж/г
повітря	7 (№ 2)	-2,2	6,5	43,5	-0,6
CDCl ₃	4 (№ 3)	-2,3	1,5	46,2	-0,5
	5 (№ 4)	-	-	12,0	-0,4
7 CDCl ₃ + 1 CD ₃ CN	1,2 (№ 2)	-4,2	1,9	1,1	-0,1
	4,2 (№ 3)	-2,8	22,9	20,1	-1,7
	7,3 (№ 5)	-2,1	1,0	1,9	-0,1
	Всього				-1,9
CDCl ₃ + 10% HCl	1 (№ 2)	-2,9	3,3	1,6	-0,2
	3,5 (№ 3)	-3,4	38,4	46,8	-2,2
	5 (№ 4)	-1,8	20,2	13,7	-1,1
	7,3 (№ 5)	-2,1	0,8	3,2	-0,08
	Всього				-2,5
7CDCl ₃ + 1 CD ₃ CN + 10 % HCl	1,2 (№ 2)	-3,3	5,5	2,3	-0,3
	4 (№ 3)	-3,2	68,7	24,7	-3,4
	5,8 (№ 4)	-3,0	5,3	5,9	-0,4
	7,3 (№ 5)	-2,3	2,3	6,6	-0,2
	Всього				-4,2
7 CDCl ₃ + 1 DMSO + 10% HCl	1 (№ 2)	-3,2	3,4	1,3	-0,2
	3,5 (№ 3)	-2,9	34,8	47,6	-2,2
	5 (№ 4)	-6,4	25,9	11,2	-1,5
	7,3 (№ 5)	-3,4	5,5	2,4	-0,3
	Всього				-3,9

Оскільки сигнал 1 на рис. 4.2.4 може відноситися не тільки до води (WAW), але і до протонів метильних і метиленових груп добавок, присутніх у панкреатині, розрахунки проводилися у припущенні, що воді відповідає тільки сигнал 2. На цьому ж рисунку наведені залежності $C_{uw}(T, \Delta G)$ для сигналів 3 і 4 SAW в середовищі $CDCl_3$. Сигнал 4 обумовлений тільки слабозв'язаною водою, в той час як близько 5% води, що відповідає за сигнал 3, є сильнозв'язаною. У повітряному середовищі частка сильнозв'язаної води збільшується до 15%. Інтенсивність сигналу 2 ($\delta_H = 1,2$ м.ч.) з температурою змінюється слабо. Ймовірно, більша частина інтенсивності цього сигналу обумовлена метиленовими групами ПЕГ.

При заміні повітряного середовища на середовище рідкого $CDCl_3$, взаємодія частинок панкреатину з водним середовищем дещо зростає за рахунок зростання вкладу від слабозв'язаної води. Додавання до середовища полярного CD_3CN призводить до значного зменшення концентрації слабозв'язаної води і зростанню кількості незамерзаючої води, зумовленого сигналом 3, а також водою, відповідальною за сигнал 2, яка не замерзає у всьому діапазоні температур. Для сигналу 2, величина $\Delta G_s = 4,2$ кДж/моль, що обумовлено формуванням розчинів, з яких вимерзання води може відбуватися тільки при дуже низьких температурах. У присутності соляної кислоти значна частина незамерзаючої води обумовлена кластерами води, які частково розчиняють HCl або утворюють з нею розчини (сигнали 4,5). Значний внесок від слабозв'язаної води з'являється тільки в присутності ДМСО. Ймовірно, в цьому випадку в складній багатокомпонентній системі, що складається з частинок тканини підшлункової залози та адсорбованих на його поверхні молекул води, HCl і органічних речовин частина води формує об'ємні кластери, які погано розчиняють сторонні речовини. Ці кластери можуть замерзати при відносно високих температурах [130].

Отже, під впливом високодисперсного кремнезему середній розмір кластерів води в регідратованій після ліофілізації тканини кишки лабораторних тварин істотно зменшився. Оскільки отримані розподіли $dC_{SAW}(R)$

відображають реальні розподіли внутрішніх порожнин (пор), які містяться у біоматеріалі, можна зробити висновок, що тканина кишки після впливу суспензії кремнезему стала більш однорідною. З іншого боку, в ній зменшилася кількість слабоасоційованої води, зв'язаної за механізмом гідрофобної гідратації. Це свідчить про зменшення доступних для адсорбованих молекул води гідрофобних порожнин субнанометрового розміру. Тож поверхня зразка тканини кишки Af_{SiO_2} стає більш гідрофільною і у вузьких нанопорах формується більша кількість кластерів сильноасоційованої води.

У субклітинному матеріалі кишкової тканини кластери міжфазної води існують майже в незмінному вигляді, при цьому простежується низька розчинність хлористоводневої кислоти у ній. Мала інтенсивність сигналу водного розчину HCl може бути обумовлена формуванням солеподібних сполук в біополімерних молекулах.

Вода, адсорбована частинками тканини підшлункової залози, може перебувати у вигляді системи кластерів, що розрізняються за ступенем асоційованості і міцністю зв'язування води. Слабополярне середовище хлороформу стабілізує адсорбовану воду у вигляді кластерів з хімічними зсувами $\delta_H = 3,5$ і $4,5$ м.ч., середній радіус яких становить 15 і 6 нм, відповідно. У присутності HCl з'являються кластери розчину H_2O-HCl ($\delta_H = 8$ м.ч.), з яких вода вимерзає при відносно високій температурі у вигляді кристалів з середнім радіусом 2 і 20 нм. У сумішах органічних розчинників $CDCl_3-CD_3CN$ і $CDCl_3-DMCO$ присутність полярних речовин слабо впливає на хімічний зсув основного сигналу адсорбованої води, що свідчить про погану розчинність цих речовин у кластерах (доменах) сильноасоційованої води. На кривих розподілу за радіусами кластерів адсорбованої води, розрахованим на основі рівняння Гіббса-Томсона, присутні 2-3 максимуми, розташовані в області 2-3, 10-20 нм, що відносяться до сильнозв'язаної води і 50-100 нм - до слабозв'язаної води.

РОЗДІЛ 5.

ВИВЧЕННЯ СТАНУ МІЖФАЗНОЇ ВОДИ ТА ВПЛИВУ НА НЕЇ ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ В МІКРО-МЕЗОПОРИСТИХ СИСТЕМАХ

При дослідженні частково дегідратованих клітинних матеріалів структура внутрішньоклітинних порожнин, заповнених водою, як і природа поверхні стінок, що їх утворюють, зазвичай невідомі. У певному наближенні можна вважати, що стінки порожнин утворені біополімерними молекулами, а з внутрішньоклітинною водою межують певним чином впорядковані гідрофобні і гідрофільні ділянки. Розмір порожнин може коливатись від частин нанометру до десятків нанометрів. Тобто основна частина води міститься в мікро- та мезопорожнинах. Однак біологічні об'єкти являють собою «м'які» матеріали – в них розподіл за розмірами внутрішніх порожнин залежить від гідратованості. Тому для розуміння процесів, що відбуваються в клітинах при потраплянні туди органічних речовин, мають бути досліджені модельні об'єкти, якими можуть виступати «тверді» мезо- мікропористі полімери з частково гідрофільними стінками пор.

Поведінка індивідуальних органічних речовин чи їх сумішей з водою в нанопорах гідрофільних, гідрофобних, мозаїчних чи змішаних адсорбентів може значно відрізнятись від їх поведінки в об'ємі, оскільки відбувається обмеження простору та значний вплив на адсорбовану фазу неоднорідності поверхні, що призводить до істотного порушення будови водневозв'язаних поліасоціатів, які складають основу більшості водних систем, та змін в молекулярній рухливості на границі розділу фаз [27, 123, 131,132]. Крім того, в полі поверхневих сил процеси гідратації органічних молекул можуть здійснюватись зовсім не так, як на відстані від стінок. В ряді випадків це призводить до явища структурної та енергетичної диференціації водно-органічних систем в нанопросторі, що обмежено слабогідрофільними стінками [132]. Це явище базується на формуванні в порах адсорбентів самоорганізованих структур (кластерів, нанодоменів), що складаються з молекул води і органічних речовин, в яких з поверхнею межує переважно

гідрофобний компонент, а вода витісняється в середню частину пор чи на зовнішню поверхню адсорбенту. Самоорганізація відбувається таким чином, щоб забезпечувалась мінімальна величина вільної енергії на границі розділу фаз рідина/рідина та рідина/тверде тіло [132]. Цей ефект залежить від структурних особливостей адсорбентів, хімічної будови стінок пор, кількості адсорбованих речовин, та зовнішніх впливів (наприклад електростатичні чи електромагнітні впливи, заморожування, нагрівання, обробка ультразвуком та ін.) [27, 123, 131,132].

Вплив структурних особливостей полімерних адсорбентів, таких як полістиролдивінілбензол (PSDVB), поліетилдивінілбензол дивінілбензол (PEVBDVB) чи функціоналізовані PSDVB на поведінку однієї лише зв'язаної води чи її суміші з органічними розчинниками представляє значний інтерес як з теоретичної, так і з практичної точки зору, оскільки функціоналізовані PSDVB адсорбенти (наприклад, LiChrolut, Merck) використовуються як найбільш ефективні екстрагенти [133-136]. Вони є дуже ефективним інструментом для вилучення ароматичних речовин і багатьох інших вуглеводневих складових із водних середовищ [134]. Тому поведінка міжфазної води та її сумішей з полярними і слабополярними органічними розчинниками на поверхні полімерних адсорбентів важлива також для глибокого розуміння особливостей екстрактивної дії таких матеріалів [133-142]. Комерційний адсорбент LiChrolut (Merck) в формі нерегулярних частинок (0,04-0,14 мм) використовувався як загальновизнаний адсорбент, що застосовується в хроматографічних та інших екстрактивних процесах. Попередньо було показано, що заморожування адсорбованої води чи ацетону (адсорбент було суспендовано в воді чи ацетоні 24 години та заморожувався в рідкому азоті при 77.4 К на 2 години, потім нагрівали до кімнатної температури перед повторними адсорбційними вимірюваннями азоту) має незначний вплив на структурні особливості адсорбенту. Необхідно відмітити, що згідно інформації, поданої фірмою Merck, та в деяких публікаціях [133], адсорбент LiChrolut являє собою полі(етилвінілбензол дівінілбензол); проте згідно інших публікацій [140, 141] –

це є PSDVB полімер, але немає даних стосовно кількості кисневмісних функціональних груп і їх походження в адсорбенті [253-263]. Згідно літератури [133-143], особливістю адсорбенту стиролдивінілбензолу є дуже велика питома поверхня, яка становить 1200-1300 м²/г і об'єм пор, що досягає 0,75-0,8 см³/г. Структурні характеристики матеріалу, одержані на основі адсорбційних вимірювань і розрахунків пористої структури, описаних далі, дають наступні значення середніх величин мезо- та мікропор (табл. 6.1): структурні особливості адсорбенту СДБ (модель циліндричних пор)

Таблиця 6.1

Структурна характеристика полімеру стиролдивінілбензолу

$S_{\text{ВЕТ}}$	S_{mic}	S_{mes}	S_{mac}	V_p	V_{mic}	V_{mes}	V_{mac}
(м ² /г)	(м ² /г)	(м ² /г)	(м ² /г)	(см ³ /г)	(см ³ /г)	(см ³ /г)	(см ³ /г)
1512	1024	488	0,1	0,827	0,393	0,426	0,008

Серед органічних розчинників використовували диметилсульфоксид (ДМСО та ДМСО-d₆), хлороформ (CHCl₃ і CCl₃) та метан (CH₄), перший з яких є добре розчинним в воді, другий – таким, що слабо змішується з водою (хлороформ), а третій – може формувати гідрати при високому тиску (метан). Застосування дейтерованої форми розчинників допомагає уникати вкладу в загальну інтенсивність сигналу ¹H ЯМР міжфазної води при $T < 273$ К, сигналу від протонів органічних речовин. Для вивчення взаємного впливу води і органічної компоненти, органічні речовини адсорбувались після передадсорбції певної кількості води (зазвичай меншої ніж об'єм пор).

З усіх існуючих PSDVB та інших полімерних адсорбентів, комерційний адсорбент стиролдивінілбензол було вибрано цілеспрямовано, завдяки його структурним характеристикам (табл. 6.1), які, з нашої точки зору, були максимально наближені до тих, що можна очікувати в частково дегідратованих клітинних матеріалах, стійкій структурі пор, адсорбційній стабільності в

широкому діапазоні рН і високій ефективності як твердофазного екстрактивного агенту [133-143]. Текстура та структурна стабільність адсорбенту LiChrolut була важливою, оскільки цей матеріал з адсорбованою водою та водно-органічними сумішами в дослідях по вимірюванню струму ТСД та ^1H ЯМР спектроскопії заморожувався при низьких температурах.

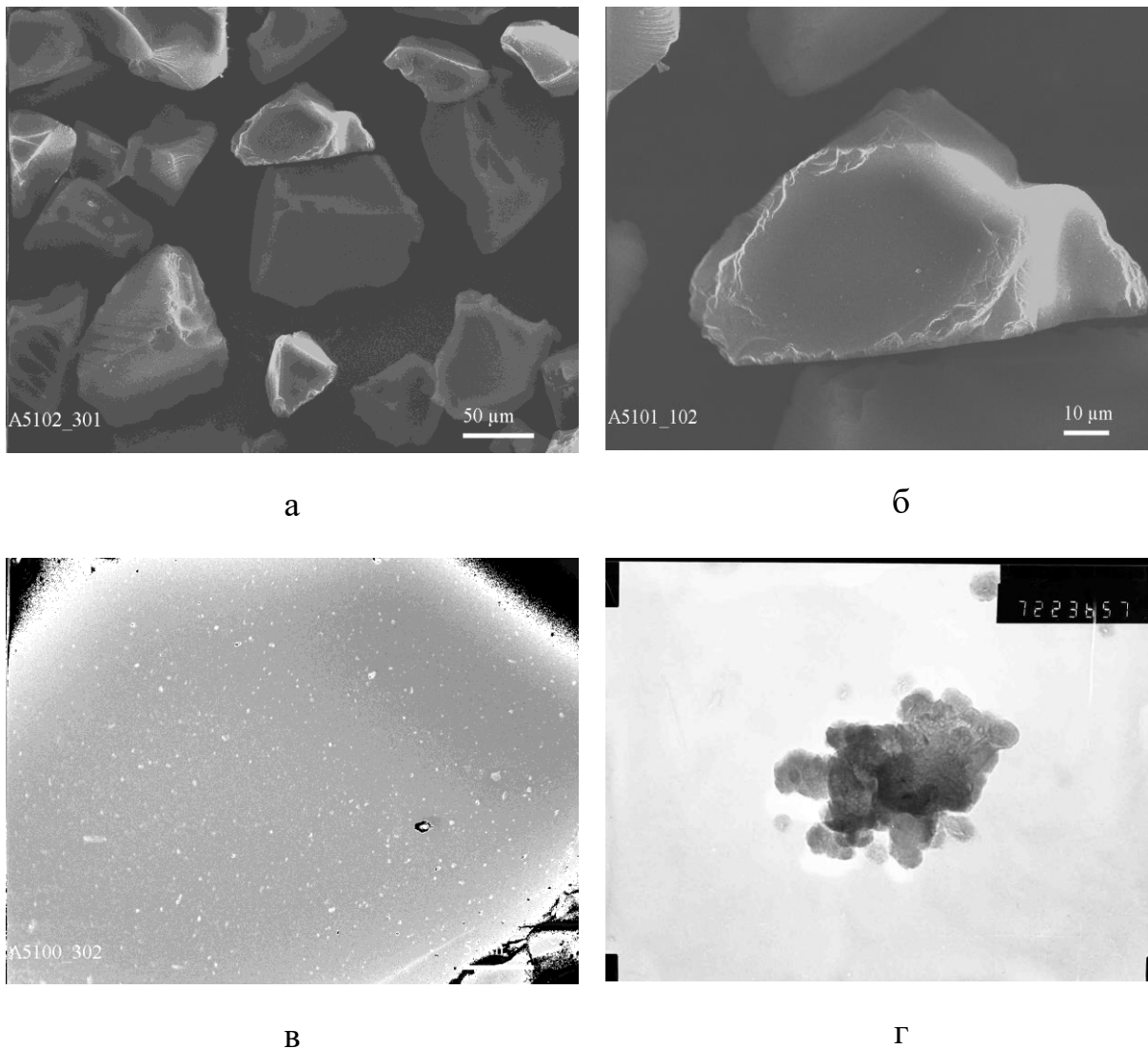


Рис. 5.1. SEM (а-в) і TEM (г) фоторграфії гранул пористого полімеру стиролдивінілбензолу

На рис. 5.1 представлено SEM і TEM фотографії гранул адсорбенту, отримані за допомогою електронної мікроскопії. Гранули адсорбенту СДБ являють собою маленькі частинки (0,04-0,15 мм), що мають неправильну форму. Спостерігаються утворення сфероподібних первинних частинок полімеру з розміром близько 30 – 40 нм. Мікропори і вузькі мезопори із

середнім радіусом 1 нм перебувають всередині первинних частинок, а більш широкі пори, внесок яких в пористість незначний, являють собою порожнини між первинними частинками (тобто текстурна пористість матеріалу практично відсутня, що узгоджується з TEM і SEM мікрофотографіями). Ці наночастинки полімеру щільно упаковані в мікрочастинки, оскільки текстурна пористість (макропористість) слабо сприяє зміні об'єму пор адсорбенту: її збільшення при адсорбції азоту при $p/p_0 > 0,95$ є незначним (рис. 5.2-а), незначним є також вклад макропор з $R > 80$ нм (рис. 5.3).

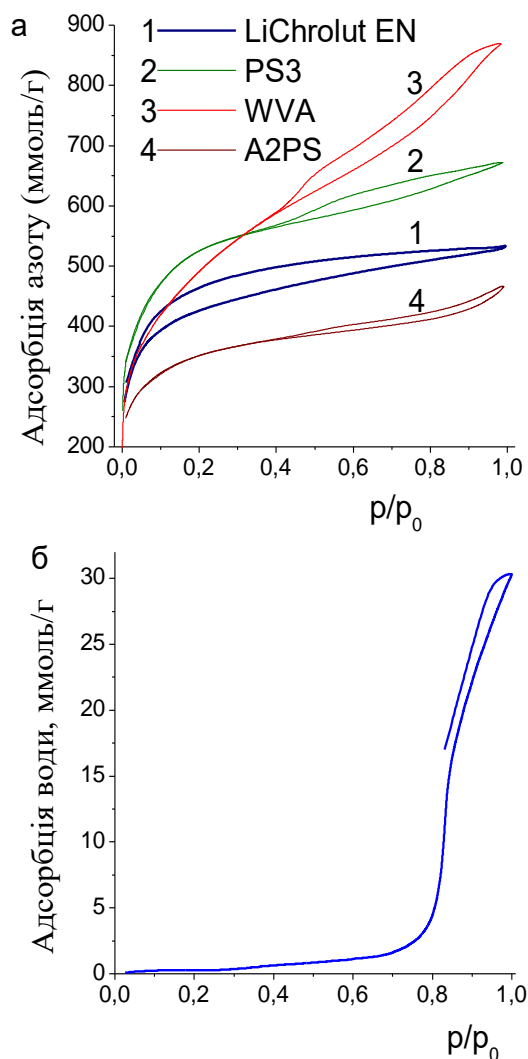


Рис. 5.2. (а) Ізотерми адсорбції/десорбції азоту для стиролдивінілбензолу (1) у порівнянні з вуглецевими адсорбентами: PS3 (2), WVA (3) і A2PS (4); та (б) ізотерма адсорбції/десорбції води на LiChrolut

LiChrolut характеризується більш широким розподілом за типами і розмірами пор ніж вуглецеві адсорбенти або адсорбенти типу силікагелів, оскільки ізотерма адсорбції/десорбції азоту для даного адсорбенту (рис. 5.2-а), має більшу і практично відкриту петлю гістерезису. Ця петля гістерезису значно відрізняється від такої для вуглецевих адсорбентів, таких як мікропористе, мікро/макропористе чи мікро/мезо/макропористе (рис. 5.2-а) активоване вугілля. Така відмінність існує завдяки випадковій орієнтації кілець бензолу та аліфатичних ланцюгів в поперечнозв'язаному со-полімері (результатом чого є складна форма пор) на відміну від впорядкованої структури базальних графітних площин в порах вуглецевих адсорбентів. Можна припустити, що деякі локально впорядковані структури можуть розташовуватись всередині дуже вузьких мікропор (0,3-0,5 нм) адсорбенту LiChrolut, утворених завдяки π - π електронним взаємодіям суміжних кілець бензолу (проте, згідно досліджень ЯМР, які обговорюються нижче, даний впорядковувачий ефект не спостерігається). Частинки адсорбенту LiChrolut мають мікропори $R < 1$ нм та вузькі мезопори $1 < R < 10$ нм (рис. 6.3). Широкі мезопори $10 < R < 25$ нм і макропори $R > 80$ нм дають маленький вклад в пористість (рис. 5.3, табл. 5.1)

Складність структури пор та хімічна структура стінок, призводять до незвичайної форми адсорбційної функції розподілу енергії, яка значно відрізняється від такої для вуглецевих адсорбентів (рис. 5.4). Для синтезу PSDVB чи PEVBDVB зазвичай використовують пероксиди, тому в полімері можуть бути присутні кисневмісні групи. Внаслідок цього подібні полімери можуть адсорбувати воду чи інші полярні речовини не лише за рахунок дисперсійних взаємодій, а також за рахунок водневих зв'язків, які молекули адсорбатів утворюють з протоактивними центрами поверхні. Зокрема, ТПД-МС термограми показують присутність кисневмісних груп в адсорбенті LiChrolut (рис. 5.5-а).

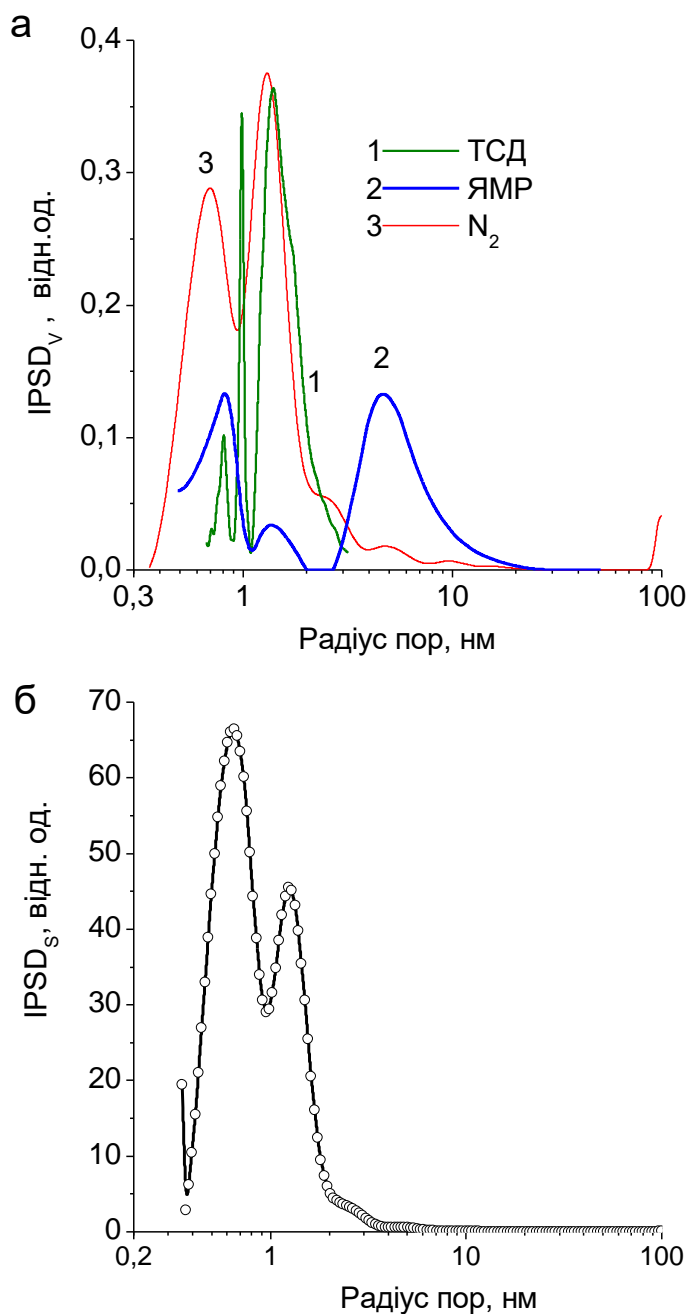


Рис. 5.3. Розподіл пор за розміром для адсорбенту стиролдивінілбензолу, розрахований на основі ізотерми десорбції азоту (а, крива 3 та б), ЯМР (2) і ТСД (3); дані відносно (а) – об'єму пор та (б) – питомої поверхні.

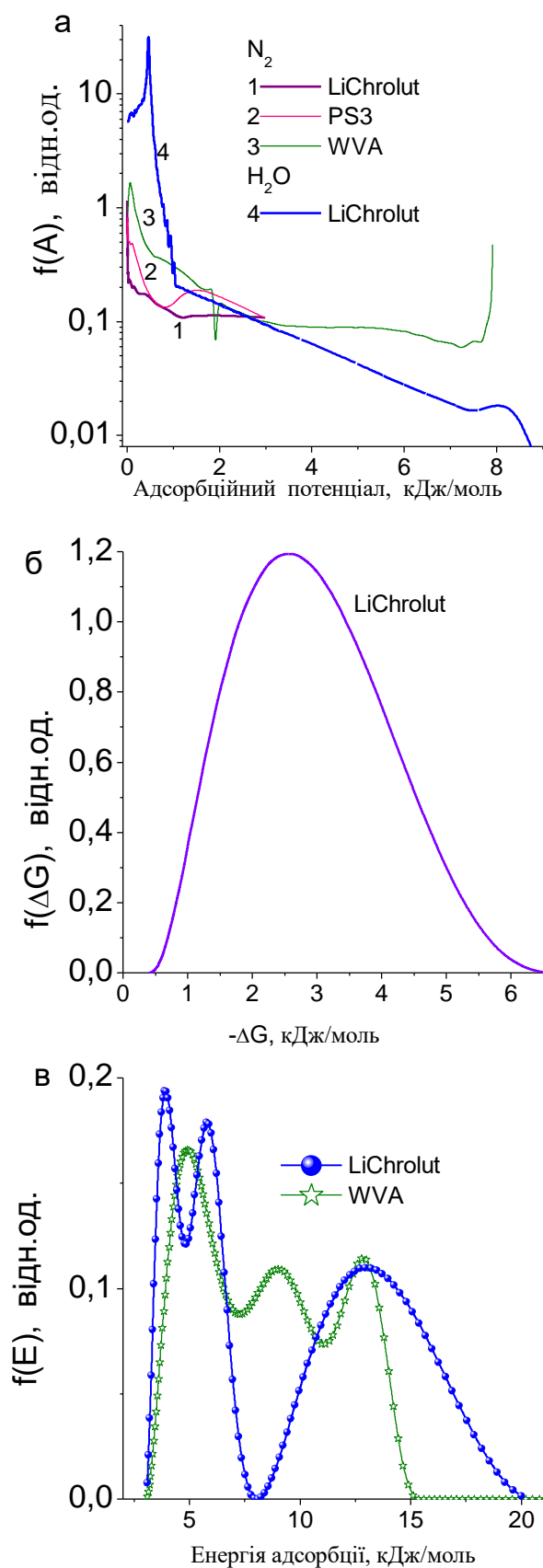


Рис. 5.4. (а) Адсорбційні потенціали, щодо азоту і води; (б) вільна енергія Гіббса адсорбції води та (в) енергія адсорбції азоту для LiChrolut та вуглецевих адсорбентів (PS3, WVA)

З даних ТПД-МС випливає, що молекулярно адсорбована вода може бути видалена при відносно низьких температурах (рис. 5.5-а крива 2, починається при 105 °С і закінчується при 150°С). При цьому десорбція води при відносно високих температурах може відбуватися через такі хімічні реакції на поверхні як асоціативна десорбція води (десорбція від $-\text{COOH}$, $\equiv\text{COH}$, $> \text{C}=\text{O}$ та інших груп) та окиснення груп $\text{C}-\text{H}$ молекулярним киснем, до $>\text{C}=\text{O}$ груп. Перший пік руйнування адсорбенту відбувається при $T < 300$ °С (рис. 5.5-б), а другий – відповідає видаленню води, CO та CO_2 (рис. 5.5-а). ОРТПД-МС термограми (рис. 5.5-в) реєстрували при більшій швидкості нагрівання (β), ніж в методі ТПД-МС (рис. 5.5-а). Проте із зміною швидкості нагрівання пікові температури зміщуються слабо. Можна також констатувати, що при термолізі полімеру внески фрагментів DVB менші ніж фрагментів EVB (рис. 5.5-б)

Згідно даних ІЧ-спектроскопії (рис. 5.6), адсорбент LiChrolut має смуги коливань $\text{C}-\text{H}$ -груп при 3047, 3020 cm^{-1} (ароматичних), насичених 2964 cm^{-1} (асиметричні CH_3), 2929 cm^{-1} (асиметричні CH_2), 2910 cm^{-1} (симетричні CH_3), 2864 cm^{-1} (симетричні CH_2); деформаційних коливань при 814, 760 та 702 cm^{-1} (коливання замісників в бензольних ядрах); та деформаційних коливань в аліфатичних ланцюгах при 1367 та 1306 cm^{-1} (CH_2). Коливання $\text{C}=\text{C}$ -зв'язків спостерігаються при 1606, 1576, 1510, 1448 і 1421 cm^{-1} (ароматичні). На рис. 5.6 для порівняння наведено також ІЧ спектри близького за будовою полімеру Amberlite XAD-4.

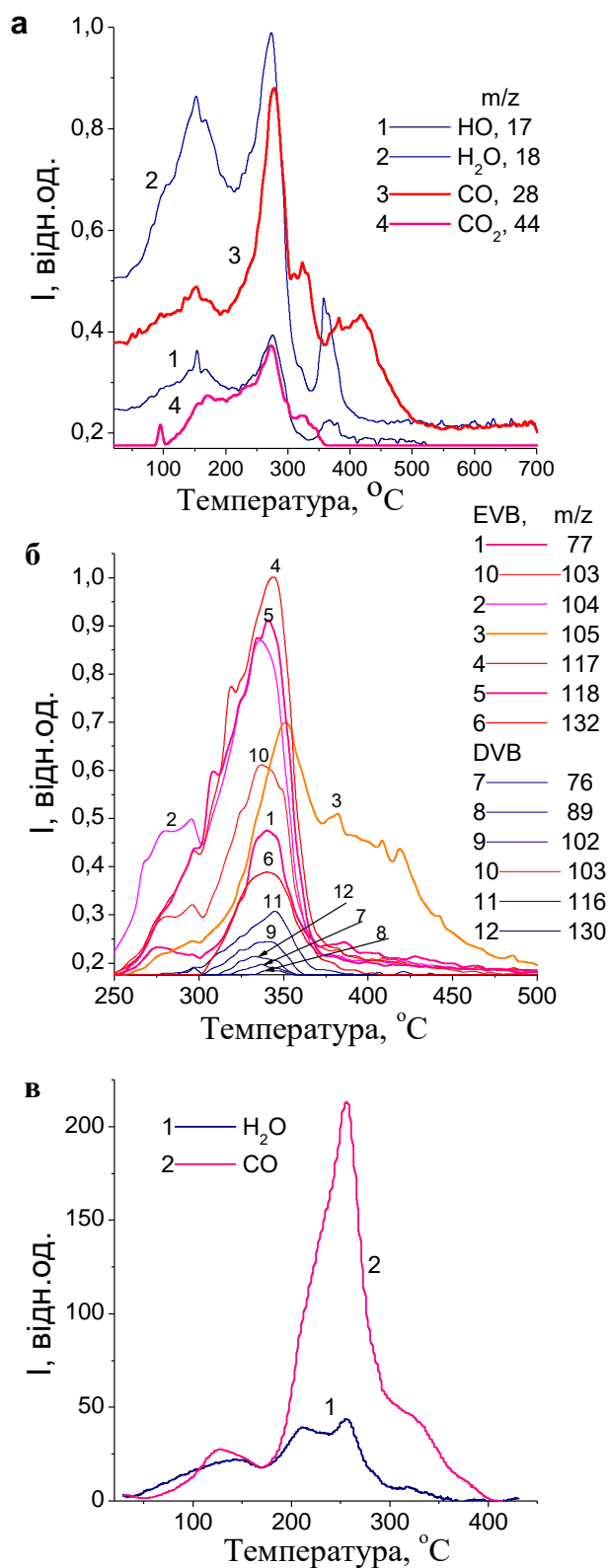


Рис. 5.5. (а, б) ТПД-МС та (в) ОРТПД-МС термограми для води (m/z 17 і 18), CO (28), CO₂ (44), фрагменти полімеру, зв'язаного з EVB (C₆H₅ (m/z 77), C₆H₄CHCH₂ (103), C₆H₄CH₂CH₃ (105), C₆H₄ (CHCH₂) (CH₂) (117), C₆H₄ (CH) (CH₂CH₃) (118), C₆H₄ (CHCH₂) (CH₂CH₃) (132)) і DVB (C₆H₄ (m/z 76), C₆H₄CH (89), C₆H₄ (CH) (CH) (102), C₆H₄CHCH₂ (103), C₆H₄ (CHCH₂) (CH) (116), C₆H₄ (CHCH₂) (CHCH₂) (130)) при розкладі адсорбенту стиролдивінілбензолу

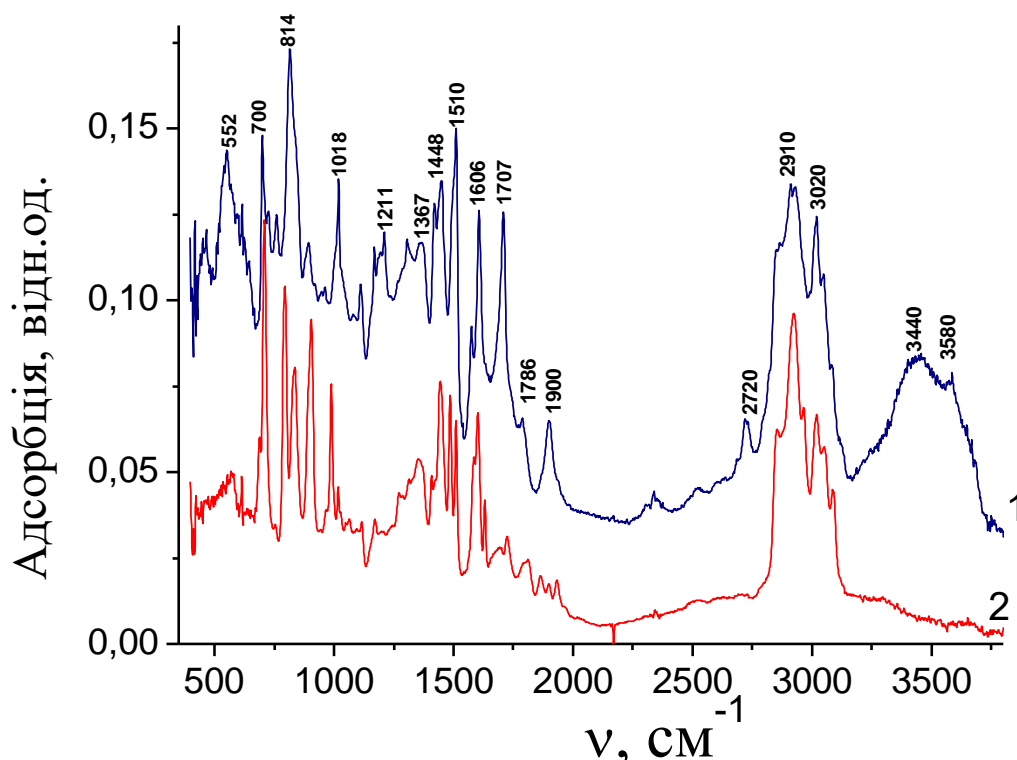


Рис. 5.6. ІЧ-спектри 1 – стиролдивінілбензолу LiChrolut та 2 – Amberlite XAD-4 адсорбентів (з KBr 1: 100)

В Amberlite XAD-4 CO-коливання реєструються при 1790 і 1707 cm^{-1} (карбонільні групи). Широка смуга при $\nu_{\text{O}} = 3160 - 3740 \text{ cm}^{-1}$ може бути віднесена до адсорбованої води та OH-груп, утворених при синтезі PSDVB-подібних полімерів, обумовлених використанням пероксидного методу. У випадку комерційного PSDVB Amberlite XAD-4, ІЧ-спектр відрізняється від спектра адсорбенту LiChrolut. Amberlite XAD-4 є більш гідрофобним, оскільки для нього кількість адсорбованої води значно менша ніж води, адсорбованої на LiChrolut (ця вода проявляється в діапазоні 3160 – 3740 cm^{-1}). Крім того, в ІЧ-спектрі Amberlite XAD-4 відсутня смуга 2720 cm^{-1} . Замість інтенсивної смуги при 1900 cm^{-1} адсорбент LiChrolut має кілька смуг (1931, 1899, 1865 та 1811 cm^{-1}) більш низької інтенсивності ніж для Amberlite XAD-4. Такий самий ефект спостерігається для смуги 1707 cm^{-1} .

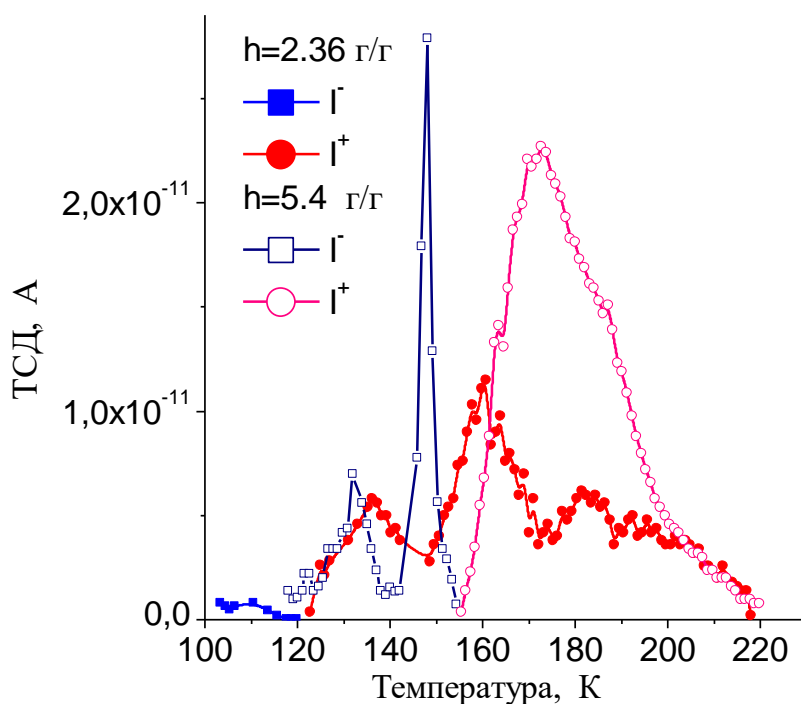


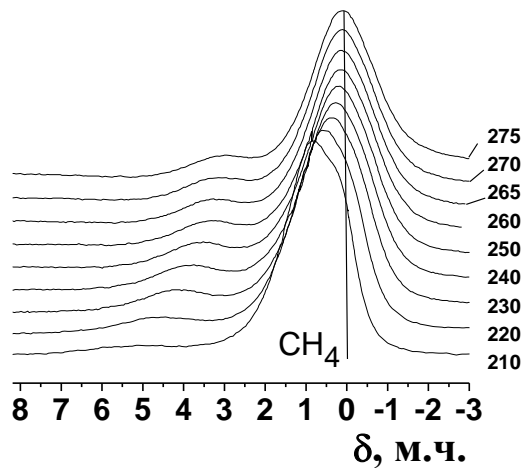
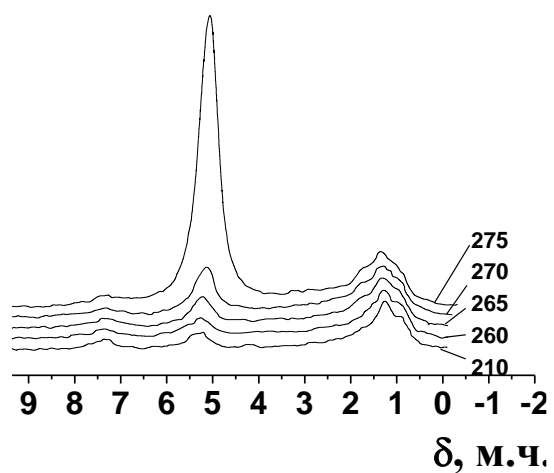
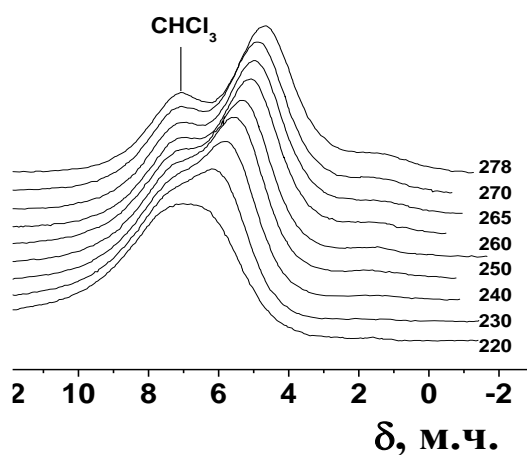
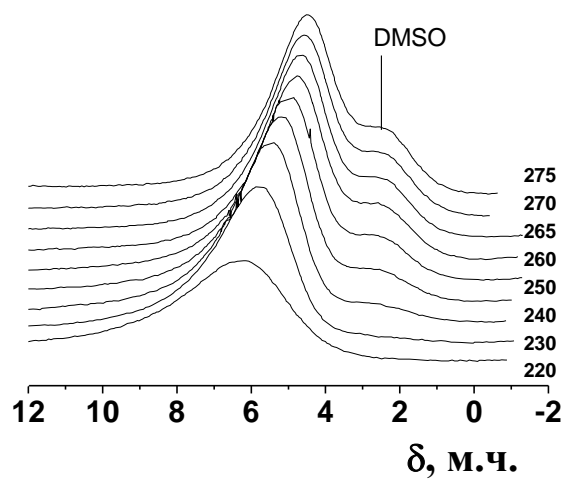
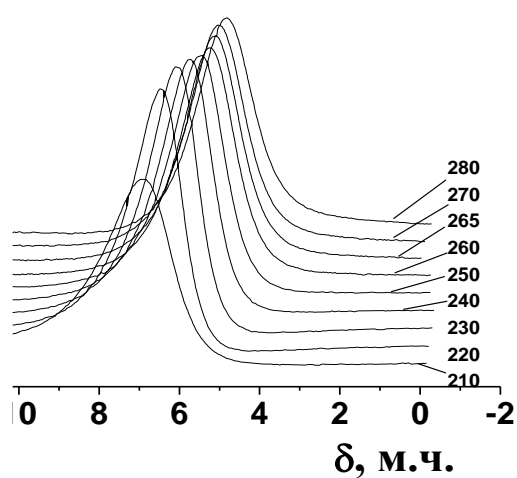
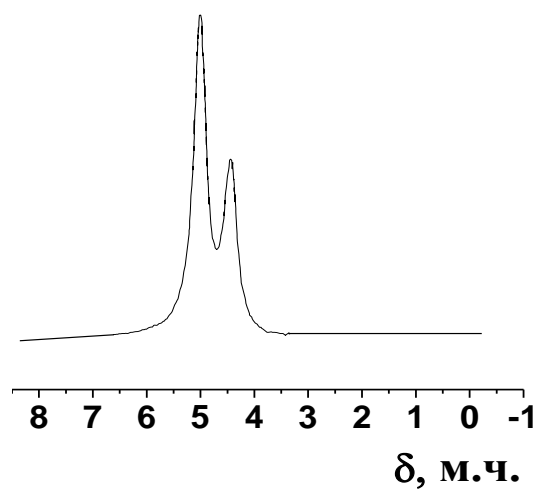
Рис. 5.7. ТСД термограми по-різному гідратованого полімеру стиролдивінілбензолу (деполяризація (Γ) та розряд (Γ^+))

Іншими словами, число кисневмісних груп в адсорбенті LiChrolut набагато більше ніж в Amberlite XAD-4; однак це число є відносно малим навіть в LiChrolut, оскільки ізотерма адсорбції води (рис. 5.2-б) та адсорбційний потенціал води (рис. 5.4) відображають невисоку здатність адсорбенту LiChrolut до адсорбції водяної пари. Крім того, можна заключити, що вода не покриває повністю всю поверхню адсорбенту, оскільки визначена за ізотермою адсорбції води площа питомої поверхні при $0,05 < p/p_0 < 0,25$ складає лише $25 \text{ м}^2/\text{г}$. При $p/p_0 \approx 1$, вода заповнює близько 66 % об'єму пор, визначеного за адсорбцією азоту. Адсорбція води різко збільшується лише при $p/p_0 > 0,8$ завдяки капілярній конденсації та утворенню в порах нанодоменів сильноасоційованої води. Отже, на основі адсорбційних вимірювань можна стверджувати, що адсорбуюча поверхня LiChrolut є більш гідрофобною ніж гідрофільною, а також структурно, хімічно та енергетично неоднорідною, оскільки призводить до складної температурної залежності релаксації води, що спостерігається в ТСД термограмах (рис. 5.7) та ^1H ЯМР спектрах (рис. 5.8-а).

ТСД термограми гідратованого адсорбенту LiChrolut (рис. 5.7) є незвичайними [137], оскільки деполяризація чи струм розряду спостерігається при низьких температурах $T < 220$ К, а релаксація при постійному струмі (dc) не виникає при відносно високій гідратованості – $h = 2,36$ і $5,4$ грам води на грам сухого адсорбенту. Крім того, струм деполяризації, який перетворюється в струм розряду, викликає при низьких температурах накопичення зарядів при локальному розморожуванні (чи заморожуванні) міжфазної води з підвищенням температури. Такі властивості термограм ТСД можуть бути викликані мозаїчним гідрофобним/гідрофільним характером поверхні з превалюванням гідрофобної її складової (рис. 6.2 та рис. 6.6), значної питомої поверхні та пористості (табл. 6.1), представленій головним чином складними мікропорами та вузькими мезопорами (рис. 6.3), які при ТСД вимірюваннях могли бути не заповнені водою (рис. 6.3-а, крива 1).

При дослідженнях адсорбційного шару адсорбенту LiChrolut методом низькотемпературної ЯМР спектроскопії, переважно гідрофобний характер адсорбенту спричиняє також недостатньо повне заповнення пор водою, навіть при гідратації $h = 2$ г/г. В цьому випадку кількість зв'язаної води відповідала $V_w = 0,73$ см³/г, що менше ніж об'єм пор ($V_p = 0,83$ см³/г), але більше ніж у випадку адсорбції водяної пари (0,55 см³/г) при $p/p_0 \approx 1$. Молекулярна структура адсорбенту складається з двох головних складових – поперечно зв'язаного [-CH-CH₂-PH-CH-CH₂-]_n (DVB), та лінійного [Ph (CH₂CH₃)-CH-CH₂-] (EVB) ланцюгів (інтенсивність піків ТПД, пов'язаних з фрагментами EVB, вища ніж із фрагментами DVB (рис. 5.5)), та кисневмісних групи, розташованих на кінці цих ланцюгів (рис. 5.6). Тобто число полярних, активних по відношенню до адсорбції води, ділянок полімерних молекул є відносно низьким. Внаслідок цього, подібно до вуглецевих адсорбентів, дисперсійні взаємодії води з полімерною поверхнею пори є переважаючими, не дивлячись на те, що вуглецеві адсорбенти характеризуються більшою впорядкованістю конденсованих ароматичних систем, що утворюють базальні площини вуглецевої решітки. Результати дослідження методом ¹H ЯМР спектроскопії

ізобарної адсорбції води та ряду органічних речовин в порах стиролдивінілбензолу наведено на рис. 5.8.



д

е

Рис. 5.8. Вода в порах со-полімеру стиролдивінілбензолу та вплив на неї органічних розчинників: а – в зразку, який змочено водою; б – в порошку, який містив 20 % мас води; в – 20 % мас води та 20 % мас ДМСО- D_6 , з яких половина D_6 , а інша половина H_6 ; г – 20 % мас води та 30 % мас $CHCl_3$; д – в рідкому $CDCl_3$; е – 15 % мас води та 10 % мас CH_4

Спектри 1H ЯМР води при $T > 273$ К ($h = 2$ г/г) характеризуються двома сигналами ($\delta_H = 5$ та $4,5$ м.ч.), одним – при $T < 273$ К, який зі зниженням температури дещо зміщується в бік слабких магнітних полів (рис. 5.8-а). Тобто, для протонів молекул речовин, адсорбованих в порах адсорбенту LiChrolut, не спостерігається екрануючого ефекту, викликаного локальною магнітною анізотропією системи конденсованих ароматичних кілець, що зазвичай має місце, наприклад, в мікропорах вуглецевих адсорбентів, і проявляється у вигляді істотного (до 10 і більше м.ч.) зсуву сигналу 1H ЯМР в бік сильних магнітних полів. Виявилось, що у випадку адсорбенту LiChrolut такий вплив на воду, адсорбовану у вузьких порах, є дуже слабким через розупорядкованість орієнтацій сусідніх ароматичних кілець в стінках пор адсорбенту.

Сигнал при $\delta_H = 5$ м.ч. може бути віднесений до води, яка знаходиться за межами пор (кількість води більша ніж сумарний об'єм пор), оскільки вона замерзає при 273 К. Другий сигнал ($\delta_H = 4,5$ м.ч.) може бути віднесений до сильноасоційованої води, яка включає сильно та слабозв'язані фракції. Сильнозв'язана вода характеризується значним зменшенням вільної енергії Гіббса, що відбувається під впливом поверхневих сил стінок пор ($\Delta G < -1$ кДж/моль). Для слабозв'язаної води $\Delta G > -1$ кДж/моль (рис. 5.9-г). Міжфазна енергія $\gamma_s = 89,4$ Дж/г (59 мДж/м 2) розрахована за даними 1H ЯМР, у відповідності з методом, описаним в розділі 3, набагато більша ніж теплота змочування водою адсорбенту LiChrolut $\Delta H_{im} = 34,7$ Дж/г (23 мДж/м 2),

розрахована за даними мікрокалориметрії. Така значна різниця між γ_s та ΔH_{im} може існувати через різне і недостатньо повне заповнення пор водою при вимірюванні методом 1H ЯМР. У випадку сильно гідрофільних адсорбентів, таких як кремнеземи, γ_s і ΔH_{im} близькі за величиною [132, 144, 145]. Проте, такі полімерні адсорбенти, як Amberlite XAD-2 ($S_{БЕТ} = 35 \text{ м}^2/\text{г}$ та $V_p = 0,73 \text{ см}^3/\text{г}$) і Amberlite XAD-4 ($S_{БЕТ} = 949 \text{ м}^2/\text{г}$ та $V_p = 1,33 \text{ см}^3/\text{г}$), характеризуються ще більш низькими гідрофільними характеристиками ніж LiChrolut. Цей результат узгоджується з отриманими ІЧ-спектрами адсорбентів LiChrolut та Amberlite XAD-4 (рис. 5.6), які показують, що на Amberlite XAD-4 адсорбується набагато менша кількість води, ніж на LiChrolut.

Зміна будови адсорбційних комплексів, структури кластерів води та типу шарів зв'язаної води (перехід від слабозв'язаної до сильнозв'язаної води) проявляється в першу чергу на залежностях dC_{uw}/dT , що можуть бути побудовані на основі температурних залежностей інтенсивності сигналів протонів незамерзаючої води. При цьому максимуми на цих залежностях характеризують температуру переходу одних гідратних структур в інші, які відрізняються по температурі фазового переходу вода-лід.

На рис. 5.9 наведено графіки залежностей зміни міжфазної енергії Гіббса (ΔG) від концентрації сильноасоційованої води (SAW) для гідратованого адсорбенту LiChrolut, вихідного та в присутності органічних речовин (хлороформу, метану та ДМСО) (рис. 5.9-а,б) та побудовані на їх основі залежності dC_{uw}/dT (рис. 5.9-в) та співвідношення між залежностями dC_{uw}/dT та ΔG (рис. 5.9-г). З цього співвідношення випливає існування трьох видів зв'язаної води: двох типів сильнозв'язаної води (які характеризуються змінами вільної енергії Гіббса $\Delta G < -1$ кДж/моль), що локалізована в мікропорах ($\Delta G < -2$ кДж/моль) і вузьких мезопорах ($-2 < \Delta G < -1$ кДж/моль) (рис. 5.3-а, крива 2) та слабозв'язаної води (пік на рис. 5.9-г, розташований при $-1 < \Delta G < 0$ кДж/моль). З даних рис. 5.9-г також випливає, що слабоасоційована вода є більш однорідною за величиною вільної енергії, ніж сильнозв'язана. Вона може

локалізуватись в широких порах, привносячи незначний вклад в пористість і питому поверхню вузьких пор, яка є в контакті з водою (рис. 5.3, табл. 5.1).

Слід відмітити, що неасоційована чи слабоасоційована вода спостерігається в газоподібній фазі або в розчинах в неполярних (слабо полярних) органічних розчинах (CCl_4 , C_6H_6 , CHCl_3 і ін.) [22, 252]. Хімічний зсув δ_{H} такої води зазвичай знаходиться в діапазоні 1 – 2 м.ч. [144, 145]. Згідно класифікації, наведеної в [132], вода, в якій кожна молекула приймає участь в формуванні більш ніж двох водневих зв'язків, є сильноасоційованою. Її хімічний зсув складає $\delta_{\text{H}} = 3 - 7$ м.ч. Отже в порах СДБ вода знаходиться в сильноасоційованому стані, аналогічному рідкій воді. Реєстрація одночасно двох сигналів сильноасоційованої води при $T > 273$ К (рис. 5.8-а) та поява трьох піків на графіку залежності dC_{uw}/dT від $\Delta(G)$ (рис. 5.9-г) відбувається завдяки широкому розподілу пор за розмірами (рис. 5.3). Необхідно відзначити, що положення піків на залежностях dC_{uw}/dT або $\Delta(G)$ обмежене водою, для якої $\Delta G \approx -2,5$ кДж/моль (рис. 5.9-г). Воно узгоджується з положенням піка $f \Delta(G)$ на рис. 5.4-б, розрахованим за даними ізотерми адсорбції води (рис. 5.2-б).

У випадку часткового заповнення (близько 30 % V_p) пор водою, стан води значно відрізняється (рис. 5.8-б) в порівнянні з майже повністю заповненими (~90 %) порами (рис. 5.8-а). При цьому з ростом температури для адсорбованої води спостерігається сильне збільшення хімічного зсуву δ_{H} . Крім того, при 210 К величина δ_{H} досягає свого граничного значення 7 м.ч., що є характерним для льодоподібних структур. Це свідчить про можливість існування високої впорядкованості води в порах з гідрофобними стінками полімеру. Необхідно відмітити, що вода в порах СДБ є сильнозв'язаною, оскільки не замерзає у всьому температурному інтервалі, аж до 210 К.

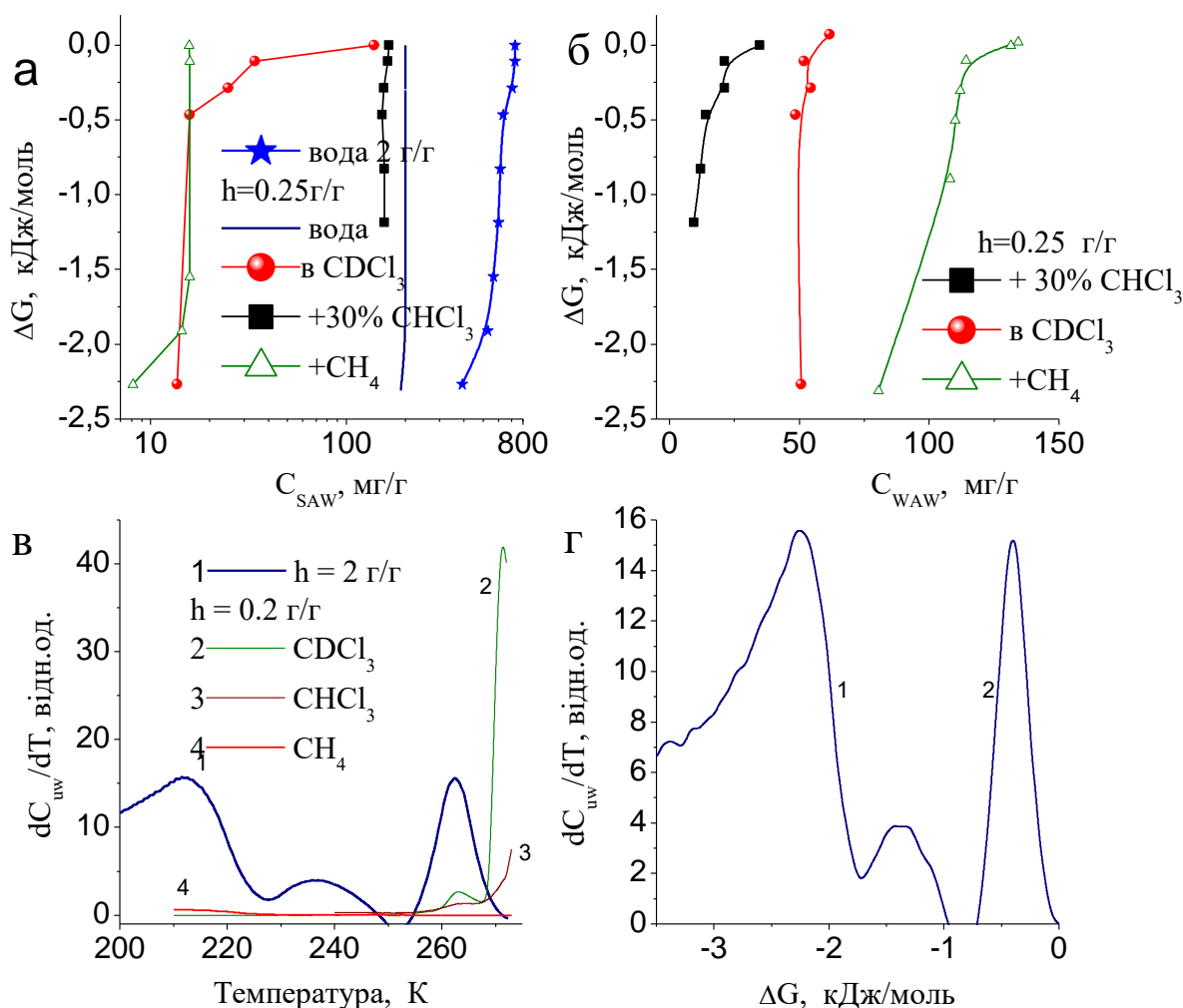


Рис. 5.9. Співвідношення між змінами вільної енергії Гіббса ΔG та кількістю (а) сильно (C_{SAW}) і (б) слабо (C_{WAW}) зв'язаної води; похідні сумарних величин вмісту незамерзлої води (dC_{uw}/dT), як функції (в) температури адсорбції лише води та ко-адсорбції з органічними розчинами; і (г) зміна вільної енергії Гіббса для води, адсорбованої на СДБ при $h = 2$ г/г.

Введення в пори крім води полярної органічної речовини – диметилсульфоксиду (20 % мас) чи слабо полярної – $CHCl_3$ (30 % мас) (рис. 5.8-г) в кількості, яка не перевищує об'єму пор, слабо впливає на величину хімічного зсуву δ_H адсорбованої води. Це дає підстави вважати, що водна та органічна фази в порах існують роздільно. Для хлороформу, який погано розчинний у воді, даний ефект є повністю природним, проте для диметилсульфоксиду, який необмежено розчинний у воді, можна було б очікувати формування в порах СДБ гомогенного розчину з водою (оскільки

зразок після додавання диметилсульфоксиду струшували та врівноважували перед вимірюванням протягом досить тривалого часу), в якому хімічний зсув води повинен мати проміжне значення між хімічним зсувом води, розчиненої в ДМСО ($\approx 3,3$ м.ч.), та рідкої води (5 м.ч.). Проте в даній суміші спостерігається лише сильнозв'язана вода (рис. 5.8-в). Раніше подібні ефекти спостерігали для водно-органічних сумішей, адсорбованих на активованому вугіллі та оксидних адсорбентах [132].

В присутності CHCl_3 (рис. 5.8-в), частина води перетворюється з сильноасоційованої води (рис. 5.9-а) в слабоасоційовану (рис. 5.9-б). В тому випадку, коли хлороформ взято в кількості, що істотно перевищує об'єм пор адсорбента, вода (залишаючись сильноасоційованою) переходить із сильнозв'язаного (рис. 5.9) в слабозв'язаний стан (рис. 5.9-д) та замерзає близько 273 К. Це свідчить про те, що слабополярні молекули хлороформу легко витісняють воду з пор СДБ, заповнюючи весь об'єм пор. При цьому в спектрах ^1H ЯМР крім сигналу сильноасоційованої води ($\delta_{\text{H}} \approx 5$ м.ч.), інтенсивність якого швидко зменшується із зниженням температури, спостерігається сигнал слабоасоційованої води ($\delta_{\text{H}} \approx 1,3$ м.ч.). Інтенсивність останнього слабо залежить від температури. Складний вигляд ^1H ЯМР спектра слабоасоційованої води пов'язаний з різною величиною магнітної сприйнятливості середовища в порах різного діаметру та ефекту впорядкованої орієнтації бензольних кілець в цих порах.

При спільній адсорбції води і метану ^1H ЯМР спектри корінним чином змінюються (рис. 5.8-б, е) оскільки з'являється внесок в сигнал від протонів CH_3 груп метану та виникає можливість молекулярного обміну води, що знаходиться в різних адсорбційних станах. Інтенсивність сигналу сильноасоційованої води зменшується в кілька разів, при відповідному збільшенні інтенсивності сигналу слабоасоційованої води (рис. 5.9). Остаточна кількість сильноасоційованої води складає не більше 25 % від початкової. Адсорбція метану виявилась відносно високою (до 10 % мас) завдяки істотному

внеску мікропор (неповністю заповнених водою) і їх складній формі в адсорбенті LiChrolut. Розрахунки, виконані на основі вимірювань інтенсивності сигналів води і метану з використанням процедури розкладу спектра на складові показують, що при 293 К LiChrolut може сорбувати до 10 % мас метану. В більшій частині доступного для вимірювань діапазоні температур сигнал слабоасоційованої води співпадає з сигналом метану і лише при $T < 220$ К його хімічний зсув зміщується в слабкі магнітні поля, достатньо для роздільної реєстрації обох сигналів.

При спільній адсорбції води і метану, переміщення води від сильноасоційованого стану в слабоасоційований є термодинамічно вигідним, оскільки вода і метан можуть формувати стабільну гідратну систему в вузьких порах адсорбенту. Ймовірно, головними причинами, які відповідають за формування таких структур, є топологічні особливості полімерних пор та хімічна структура їх стінок, з низьким вмістом полярних ділянок.

Асоційованість молекул води залежить від присутності іншого адсорбату [132]. Коли кількість адсорбованої води відповідає близько 30 % об'єму пор, со-адсорбція води і слабополярного хлороформу спричиняє появу слабоасоційованої води (рис. 5.9-б). Чим більша кількість хлороформу, тим більший внесок слабоасоційованої води (рис. 5.9-б) і менша кількість сильноасоційованої води (рис. 5.9-а). Таким чином, присутність в порах слабополярної органічної речовини призводить до структурного перегрупування адсорбованої води, що викликає зміни і в температурній залежності кривих dC_{uw}/dT (рис. 5.9-в), які характеризують зміну кількості розмороженої води з підвищенням температури.

Явища релаксації диполів молекул води (ТСД) та висока молекулярна рухливість (ЯМР) адсорбованої води, що спостерігаються для адсорбенту LiChrolut в широкому діапазоні температур, характеризуються зовсім іншими енергіями активації, ніж для об'ємної води. Енергії активації молекулярної рухливості складають 10 кДж/моль для обертальної рухливості гідроксилів в

слабоасоційованих молекулах води, 20 – 40 кДж/моль для обертальної рухливості молекул в сильноасоційованій воді, 40 – 80 кДж/моль для обертальної і поступальної рухливості молекул води в порах різних розмірів та 60 – 200 кДж/моль для молекулярної і асоціативної десорбція води (рис. 5.10). В цілому всі функції розподілу енергії активації $f(E)$ отримані при використанні різних методів, добре узгоджуються між собою, оскільки всі ці процеси викликані молекулярною рухливістю води, яка залежить від топологічних і хімічних особливостей обмеженого простору мікро і мезопор в полімері.

Текстурні і структурні особливості мікро/мезопор СДБ свідчать про його переважно гідрофобний характер, але присутність на його поверхні кисневмісних функціональних груп викликає незвичайну поведінку адсорбованої води чи її сумішей з органічними речовинами. Виявлені особливості поведінки граничної води спільно зі структурними особливостями самого адсорбенту LiChrolut можуть бути відповідальними за його високу ефективність в процесах вилучення з водних розчинів слабополярних органічних речовин, зокрема ароматичних сполук [146].

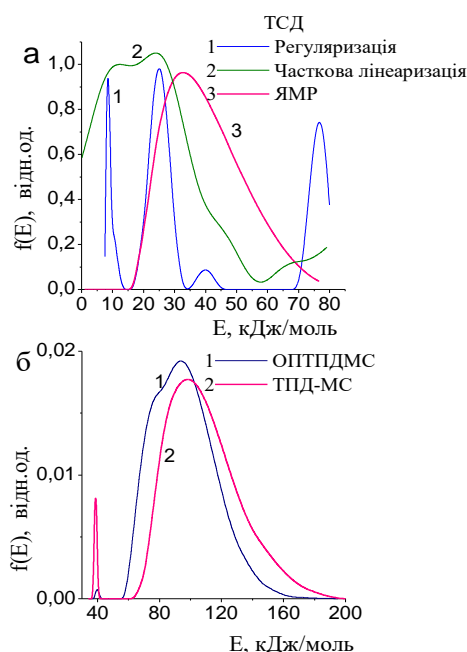


Рис. 5.10. Функції розподілу енергії активації $f(E)$, пов'язаної з рухливістю та десорбцією молекул води на поверхні адсорбенту стиролдивінілбензолу, обчислені на основі (а) ТСД і ЯМР та (б) ТПД-МС даних (m/z 18)

Для полімеру СДБ характерна наявність мікропор та макропор, які мають переважно гідрофобний характер, але завдяки високому адсорбційному потенціалу поверхні пор вода може заповнити до 70 – 90 % (в залежності від умов заповнення) повного об'єму пор. Адсорбована вода характеризується високою асоціативністю, вона не прив'язана до всієї площі поверхні стінок адсорбенту та виявляє слабку зміну своєї структури в присутності полярного диметилсульфоксиду при їх спільній адсорбції. Слабополярний хлороформ може переміщати частину адсорбованої води з вузьких пор до пор більшого розміру, чи на зовнішню поверхню частинок полімеру. Метан може формувати з водою гідратні комплекси переважно у вузьких порах при низьких тисках, що суттєво відрізняє їх від клатратних сполук метану.

Вважаючи, що система пор пористого полімерного адсорбенту типу СДБ може слугувати досить адекватною моделлю внутрішньоклітинного простору для частково дегідратованого клітинного матеріалу, можна сподіватись, що в клітинах при їх контакті з водно-органічними сумішами будуть здійснюватись аналогічні перетворення, що відбуваються в кластерах зв'язаної води. Зокрема це підтверджується даними досліджень, виконаних в останні роки, присвячених впливу деяких типів органічних речовин на воду, що знаходиться всередині кісткової тканини. Виявилось, що як і в випадку полімерного адсорбенту стиролдивінілбензолу, слабополярні органічні речовини – хлороформ, CCl_4 , бензол, при певних рівнях гідратованості тканин спричиняють трансформацію значної частини сильноасоційованої води в слабоасоційовану. Крім того, в присутності таких розчинників спостерігається суттєве зменшення енергії взаємодії води з внутрішньоклітинними границями. Можна сподіватись, що відмічені нами закономірності мають загальний характер і при забезпеченні відповідної морфології системи та гідрофобно-гідрофільних властивостей стінок пор мають місце як в матеріалах мінерального, полімерного так і біологічного походження.

Трансформація будови внутрішньоклітинної води під впливом зовнішніх чинників, зокрема деяких типів органічних речовин, може бути відповідальною

за синергетичні ефекти, що мають місце при застосуванні в якості фармпрепаратів нанокремнеземів з адсорбційно закріпленими на них слабозчинними в воді органічними речовинами, які відносяться до традиційних лікарських засобів. Механізм взаємного підсилення активності обох субстанцій може полягати в наступному: 1) – зміні будови міжфазного шару зв'язаної води під впливом поверхні нанокремнезему, в результаті чого в зазорі клітина-нанооксид формується шар слабоасоційованої води з підвищеною проникністю для слабополярних речовин, зазвичай слабо розчинних в воді; 2) – швидкій десорбції лікарського препарату з поверхні та проникненню його всередину клітин; 3) – впливу органічної речовини на внутрішньоклітинний простір таким чином, що в ньому змінюється співвідношення різних форм внутрішньоклітинної води; 4) – як результат підвищенню біологічної активності препарату та збільшенню його концентрації в біологічних рідинах, тобто зростанню його біодоступності.

ВИСНОВКИ

1. Моделюючи процеси, які відбуваються в шлунку за участю хлористоводневої кислоти, вперше було встановлено, що на поверхні кремнезему в неполярному (тетрахлорвуглець) або слабополярному (дейтерохлороформ) середовищі відбувається розділення розчину концентрованої хлористоводневої кислоти на кластери, які містять різну кількість розчиненої кислоти. При цьому спостерігається максимально повне розділення на зразку механоущільненого нанокремнезему з насипною густиною 393 мг/мл, в якому кислота переходить в малорухливий стан і взагалі не спостерігається в спектрах ЯМР високої роздільної здатності.

2. Виявлено, що при взаємодії невеликої кількості води з поверхнею твердих фосфористої та ортофосфорної кислот, розподілених на поверхні нанокремнезему, вода перебуває в стані нанорозмірних кластерів, які погано розчиняють кислоту. При цьому в спектрах ^1H ЯМР можуть спостерігатися кілька типів кластерів води, що містять різну кількість кислоти.

3. У шлунковій тканині та тканинах кишечника було виявлено значну кількість слабоасоційованої води. Зроблено припущення, що її наявність може бути однією з причин впливу нанокремнеземів на процеси всмоктування біологічно активних речовин в зоні контакту клітин шлунково-кишкового тракту з частинками нанокремнезему, оскільки така вода володіє підвищеною розчиняючою здатністю по відношенню до слабополярних речовин, до яких відноситься значна кількість лікарських речовин.

4. Вода, адсорбована частинками панкреатину, представлена у вигляді кластерів, які відрізняються за ступенем асоційованості та міцністю зв'язування води. Середовище хлороформу стабілізує кластери адсорбованої води при значеннях хімічного зсуву 3,5 і 4,5 м.ч. з середнім радіусом 15 і 6 нм. У присутності HCl з'являються кластери розчину $\text{HCl-H}_2\text{O}$ ($\delta_{\text{H}} = 8$ м.ч.), з середнім радіусом 2 і 20 нм. В органічних сумішах $\text{CDCl}_3\text{-CD}_3\text{CN}$ та $\text{CDCl}_3\text{-(CD}_3)_2\text{SO}$ полярні речовини погано розчиняються в кластерах сильноасоційованої води (SAW).

5. Показано, що для мезо-мікропористого полімеру, який є моделлю дегідратованих клітинних об'єктів, процес самоорганізації водної та органічної фаз в порах та можливе масоперенесення між порами та зовнішнім рідким середовищем. Виявлено, що слабополярні органічні речовини – хлороформ, тетрахлорвуглець, бензен, при певних рівнях гідратованості тканин спричиняють трансформацію значної частини сильноасоційованої води в слабоасоційовану. Крім того, в присутності таких розчинників спостерігається суттєве зменшення енергії взаємодії води з внутрішньоклітинними границями.

Література

1. Кулик М.Ф., Засуха Т.В., Величко І.М. Традиційні та нетрадиційні мінерали у тваринництві. К.: Сільгоспосвіта. 1995. 248 с.
2. Барціховський В.В., Шерстюк П.Я. Медична біологія: підручник (ВНЗ I-III р.а.) 4-е видання, випр. Всеукраїнське спеціалізоване видавництво “Медицина”. 2017. 312 с.
3. Volodymyr V. Turov, Tetyana V. Krupska, Nataliia V. Guzenko, Mykola V. Borysenko, Yury M. Nychiporuk, Volodymyr M. Gun'ko. Controlled confined space effects on clustered water bound to hydrophobic nanosilica with nonpolar and polar co-adsorbates. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2022. N. 644. 128919. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128919>
4. Hiro-o Hamaguchi. Ordered structures in liquid water: Is cold water a genuine liquid?. *Journal of Raman Spectroscopy*. 2022. N.91. <https://doi.org/10.1002/jrs.6358>
5. Stefan Kubik. When Molecules Meet in Water-Recent Contributions of Supramolecular Chemistry to the Understanding of Molecular Recognition Processes in Water. *Chemistry Open*. 2022. N.11(4). <https://doi.org/10.1002/open.202200028>
6. Carmelo Corsaro, Enza Fazio. From Critical Point to Critical Point: The Two-States Model Describes Liquid Water Self-Diffusion from 623 to 126 K. *Molecules*. 2021. N.26 (19). 5899. <https://doi.org/10.3390/molecules26195899>
7. Shanmeiyu Zhang, Yanyan Zhang, Chongchong Wu, Hui Yang, Qiqi Zhang, Fuyi Wang, Jingyi Wang, Ian Gates, Jinben Wang. A Facile Strategy to Prepare Small Water Clusters via Interacting with Functional Molecules. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. N.22 (15). 8250. <https://doi.org/10.3390/ijms22158250>
8. Nuno da Silva, Luisa A. Ferreira, Alexander I. Belgovskiy, Pedro P. Madeira, José A. Teixeira, Elizabeth K. Mann, J. Adin Mann, William V. Meyer, Anthony E. Smart, Vladimir Y. Chernyak, Vladimir N. Uversky, Boris Y. Zaslavsky. Effects of different solutes on the physical chemical properties of aqueous solutions via rearrangement of hydrogen bonds in water. *Journal of Molecular Liquids*. 2021. N.335. 116288. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116288>

9. Grazia Gonella, Ellen H. G. Backus, Yuki Nagata, Douwe J. Bonthuis, Philip Loche, Alexander Schlaich, Roland R. Netz, Angelika Kühnle, Ian T. McCrum, Marc T. M. Koper, Martin Wolf, Bernd Winter, Gerard Meijer, R. Kramer Campen, Mischa Bonn. Water at charged interfaces. *Nature Reviews Chemistry*. 2021. N.5 (7). P. 466-485. <https://doi.org/10.1038/s41570-021-00293-2>
10. Садовнича Л. П. Биофизическая химия. К.: Вища школа. 1986. 271 с.
11. Balázs Zoltán Zsidó, Csaba Hetényi. The role of water in ligand binding. *Current Opinion in Structural Biology*. 2021. N.67. P.1-8. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.08.002>
12. Nina Saraei, Alexander J. Gupta, Oleksandr Hietsoi, Brian C. Frye, Dillon T. Hofsommer, Gamini Sumanasekera, Gautam Gupta, Mark S. Mashuta, Robert M. Buchanan, Craig A. Grapperhaus. Small molecule crystals with 1D water wires modulate electronic properties of surface water networks. *Applied Materials Today*. 2021. N.22. 100895. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2020.100895>
13. T. Urbic. Pressure dependence of solvation of non-polar solute in simple model of water. *Condensed Matter Physics*. 2021. N.24 (3), 33604. <https://doi.org/10.5488/CMP.24.33604>
14. V. Ravnik, B. Hribar-Lee, O. Pizio, M. Lukšič. Tetrahedrality, hydrogen bonding and the density anomaly of the central force water model. A Monte Carlo study. *Condensed Matter Physics*. 2021. N.24 (3), 33503. <https://doi.org/10.5488/CMP.24.33503>
15. Ling, G. What Determines the Normal Water Content of a Living Cell? *Physiol. Chem. Phys. Med. NMR*. 2004. N.36. P.1– 19.
16. Червяк П.І. Медична енциклопедія. К.: Просвіта. 2012. 1503 с.
17. Bernal J.D., Fowler R.H. Theory of Water and Ionic Solutions With Particular Reference to Hydrogen and Hydroxyl Ions. *J. Chem. Phys.* 1933. V. 1. N 8. P. 515-517.
18. Wiggins P.M., MacClement B.A.E. Two States of Water Found in Hydrophobic Clefts: Their Possible Contribution to Mechanisms of Cation Pumps and Other Enzymes. *Internat. Rev. Cytol.* 1987. V. 108. P. 249-303.

19. Lee H.M., Suh S.B., Kim K.S. Structure, Energies, and Vibrational Spectra of Water Undecamer and Dodecamer: An Ab Initio Study. *J. Chem. Phys.* 2001. V. 114, N. 24. P. 10749-10756.
20. Greenlee, L. F.; Lawler, D. F.; Freeman, B. D.; Marrot, B.; Moulin, P. Reverse Osmosis Desalination. *Water Sources, Technology, and Today's Challenges Water Res.* 2009. N.43, P. 2317– 2348. DOI: 10.1016/j.watres.2009.03.010
21. Chaplin M. Water Structure and Behavior. <http://www.lsbu.ac.uk/water/> (31.08.2021).
22. Wiggins P. Life Depends Upon Two Kinds of Water. <http://www.lsbu.ac.uk/water/contr2.html> (31.08.2021).
23. Subramanian S., Sloan Jr. E.D. Molecular measurements of methane hydrate formation. *Fluid Phase Equilibria.* 1999. V. 158-160. P. 813-820.
24. Subramanian S., Kini R.A., Dec S.F., Sloan Jr. E.D. Evidence of Structure II Hydrate Formation from Methane + Ethane Mixture. *Chem. Engeniring Sci.* 2000. V. 55. P. 257-270.
25. Ballard L., Sloan Jr. E.D. The Next Generation of Hydrate Prediction IV A Comprasion of Available Hydrate Prediction Programs. *Fluid Phase Equilibria.* 2004. V. 216. P. 257-270.
26. Link D.D., Ladner E.P., Elsen H.P., Taylor C.E. Formation and Dissociation Studies for Optimazing the Uptake of Methane by Methane Hydrates. *Fluid Phase Equilibria.* 2003. V. 211. P. 1-10.
27. Chaplin M.F. A Proposal for Structuring of Water. *Biophys. Chem.* 1999. V. 83. P. 211-221.
28. Susilo R., Ripmeester J.A., Englezos P. Characterization of Gas Hydrates with PXRD, DSC, NMR and Raman Spectroscopy. *Chem. Engeniring Sci.* 2007. V. 62. P. 3930-3939.
29. Celzard A., Mareche J.F. Optimal Wetting of Carbons for Methan Hydrate Formation. *Fuel.* 2006. V. 85. P. 957-966.
30. Zubavicus Y., Grunze M. New Insights into the Structure of Water with Ultrafast Probes. *Science.* 2004. V. 304. P. 974-976.

31. Gopalakrishnan S., Liu D., Allen H.C. Vibrational Spectroscopic Studies of Aqueous Interfaces: Salts, Acids, Bases and Nanodrops. *Chem. Rev.* 2006. V. 106. P. 1155-1175.
32. Douberly G.E., Ricks A.M., Duncan M.A. Infrared Spectroscopy of Perdeuterated Protonated Water Clusters in the Vicinity of the Clathrate Cage. *J. Phys. Chem. C.* 2009. V. 113. P. 8449-8453.
33. Wang L., Zhao J., Fang H. Water Clusters Confined in Nonpolar Cavities by Ab Initio Calculations. *J. Phys. Chem. C.* 2008. V. 112, N. 31. P. 11779-11785.
34. Skvortsov D., Lee S.J., Choi M.Y. Hydrated HCl Clusters, HCl (H₂O)_{1,3}, in Helium Nanodroplets: Studies of Free OH Vibrational Stretching Modes. *J. Phys. Chem. A.* 2009. V. 113. P. 7360-7365.
35. Mitra R.K., Verma P.K., Pal S.K. Exploration of the Dynamical Evolution and the Associated Energetics of Water Nanoclusters Formed in a Hydrophobic Solvent. *J. Phys. Chem. B.* 2009. V. 113. P. 4744-4750.
36. Jieli M., Aida M. Classification of OH Bonds and Infrared Spectra of the Topology-Distinct Protonated Water Clusters H₃O⁺(H₂O)_{n-1} (n=7). *J. Phys. Chem. A.* 2009. V. 113. P. 1586-1594.
37. D'Arrigo G., Maisano G., Mallamace F. Raman Scattering and Structure of Normal and Supercooled Water. *J. Chem. Phys. A.* 1981. V. 75. N.9. P. 4264-4270.
38. Ratcliffe C.I., Irish D.E. Vibrational Spectral Studies of Solutions at Elevated Temperatures and Pressures.5. Raman Studies of Liquid Water up to 300°C. *J. Phys. Chem. A.* 1982. V. 86. N. 25. P. 1586-1594.
39. Hare D.E., Sorensen C.M. Raman spectroscopic study of bulk water supercooled to -33°C. *J. Chem. Phys.* 1990. V. 93. N. 1. P. 25-33.
40. Туров В.В., Гунько В.М. Кластеризована вода та шляхи її використання. К.: Наукова думка. 2011. 313 с.: 188 іл.
41. Гунько В.М., Туров В.В., Горбик П.П. Вода на міжфазній межі. К.: Видавництво «Наукова думка» НАН України. 2009. 693 с.
42. Gun'ko V.M., Turov V.V. Nuclear Magnetic Resonance Studies of Interfacial Phenomena. New York: Taylor & Francis. 2013. 1070 p.

43. Bartha F., Kapuy O., Kozmutza C & Van Alsenoy C. Analysis of weakly bound structures: hydrogen bond and the electron density in a water dimer. *J. Mol. Struct. (Theochem)*. 2003. N. 666. P. 117–122.
44. Choi T.N. & Jordan K.D. Application of the SCC-DFTB Method to H^+ (H_2O)₆, H^+ (H_2O)₂₁, and H^+ (H_2O)₂₂. *J. Phys. Chem. B*. 2010. N.114. P. 6932–6936.
45. Preston G.M., Carrol T.P., Guggono W.B., Agre P. Appearance of water. *Science*. Vol. 256. 1992. P. 385 – 387.
46. Law R.J., Sansom M.S.P. Water transports: How So Fast Yet So Selective. *Current Biology*. 2002. Vol. 12. P. 250 – 252.
47. Koga Sh., Echigo A., Oki T. Nuclear magnetic resonance spectra of water in partially dried yeast cells. *Appl. Microbiol.* 1966. Vol. 14. N 3. P. 466 – 467. .
48. Koga Sh., Echigo A., Nunomura K. Physical Properties of Cell Water in Partially Dried *Saccharomyces cerevisiae*. *Biophys. J.* 1966. Vol. 6. N 5. P. 665 – 674.
49. Tsuji S., Masumizu T., Yoshinaria Y. Magnetic resonance imaging of isolated single liposome by magnetic resonance force microscopy. *Journal of Magnetic Resonance*. 2004. Vol. 167. P. 211 – 220.
50. Antochshuk V., Kim M.-J., Khitrin A.K. High-resolution NMR imaging of objects with dipolar-broadened spectra. *Journal of Magnetic Resonance*. 2004. Vol. 167. P. 133 – 137.
51. Trubitsin B.V., Tikhonov A.N. Determination of a transmembrane pH difference in chloroplasts with a spin label tempamine. *Journal of Magnetic Resonance*. 2003. V. 163. P. 257 – 269.
52. Henkelman R.M., Stanisz G.J., Kim J.K., Bronskill M.J. Anisotropy of NMR properties of tissues. *Magn. Reson. Med.* 1994. Vol. 32. P. 592 – 601.
53. Lambelet P. Comparison of NMR and DSC methods for determining solid content of fats. Application to cocoa butter and its admixtures with milk fat, *Lebensm. Wiss. Technol.* 1983. Vol. 16. P. 200 – 202.
54. Gribnau M.C.M. Determination of solid/liquid ratios of fats and oils by low-resolution pulsed NMR. *Trends Food Sci. Technol.* 1992. Vol. 3. P. 186 – 190.

55. Shukla V.K.S. Solid fat content: pulsed NMR versus dilatometry. *Lipid Technol.* 1995. Vol. 7. P. 135 – 137.
56. Berridge N.J., Crean E., Mansfield P.B. Low resolution nuclear magnetic resonance in the determination of moisture in cheese curd. *J. Dairy Res.* 1970. Vol. 37. P. 407 – 416.
57. Brosio E., Conti F., Lintas C., Sykora S. Moisture determination in starch-rich food products by pulsed magnetic resonance. *J. Food Technol.* 1978. Vol. 13. P. 107 – 116.
58. Cui J., Liu H. & Jordan K.D. Theoretical Characterization of the $(\text{H}_2\text{O})_{21}$ Cluster: Application of an nbody Decomposition Procedure. *J. Phys. Chem.* 2006. N.110. P. 18872–18878.
59. Mironyuk I.F., Gun'ko V.M., Turov V.V. Characterization of Fumed Silica and their Interaction with Water and Dissolved protein. *Colloid and Surf.* 2001. Vol. 180. P. 87 – 101.
60. Gun'ko V.M., Zarko V.I., Turov V.V. Characterization of Fumed Alumina/Silica/Titania in the Gas Phase and in Aqueous Suspension. *J. Colloid and Interface Sci.* 1999. Vol. 220. P. 302 – 323.
61. Gun'ko V.M., Zarko V.I., Turov V.V. Distribution effect of the second phase in disperse silica/X oxides ($\text{X} = \text{Al}_2\text{O}_3, \text{TiO}_2, \text{GeO}_2$) on their surface properties. *Langmuir.* 1999. Vol. 15. N 18. P. 5694 – 5702.
62. Turov V.V., Leboda R. ^1H NMR Spectroscopy of Adsorbed Molecules and Free Surface Energy of Carbon Adsorbents. *Physical and Chemistry of Carbon.* 2001. Vol. 27. P. 67 – 124.
63. Turov V.V., Leboda R. Application of H-1 NMR spectroscopy method for determination of characteristics of thin layers of water adsorbed on the surface of dispersed and porous adsorbents. *Adv. Colloid Interface.* 1999. Vol. 79, N (2-3). P. 173 – 211.
64. Turov V.V., Barvinchenko V.N. Structurally Ordered Surface Layers of Water at the SiO_2/Ice Interface and Influence of Adsorbed Molecules of Protein Hydrolysate on them. *Colloid Surface B.* 1997. Vol. 8. N 3. P. 125 – 132.

65. Крупська Т.В., Барвінченко В.М., Григор'єва М.А., Тодосійчук Т.С., Туров В.В. Дослідження процесів життєдіяльності та росту біомаси одноклітинних мікроорганізмів за наявності високодисперсного кремнезему і модифікованих кремнеземів. *Фармацевтичний журнал*. 2008. № 1. С. 59 – 64.
66. Gerashchenko B.I., Gerashchenko I.I., Bogomaz V.I., Pantazis C.G. Adsorption of aerosil on erythrocyte surface by flow cytometry measurements. *Cytometry*. 1994. Vol. 15. P. 80 – 83.
67. Diociaiuti M., Bordi F., Gataleta L. Morphological and functional alterations of human erythrocytes induced by SiO₂ particles: an electron microscopy and dielectric study. *Environ. Res. Section*. 1999. Vol. 80. P. 197 – 207.
68. Gerashchenko B.I., Gerashchenko I.I., Pantazis C.G. Possible selective elimination of red blood cells under the influence of colloidal silica. *Med. Hypotheses*. 1996. Vol. 47. P. 69 – 70.
69. Hrubesh L.W. Aerogels: the world's lightest solids. *Chemistry and Industry*. 1990. N.24, P. 824–827.
70. J. Fricke and A. Emmerling. Aerogels, preparation, properties, applications in Structure and Bonding 77. *Chemistry, Spectroscopy and Applications of Sol-Gel Glasses*, Springer, Berlin, Germany. 1992. P. 37–87.
71. White L.J., Duffy G.J. Vapor-phase production of colloidal silica. *Ind. Eng. Chem*. 1959. V. 51. N. 3. P. 232-238.
72. Wagner E., Brunner H. Aerosil. Herstellung, Eigenschaften und Verhalten in organischen. *Angew. Chem*. 1960. B. 72. N. 19/20. S. 744-750.
73. Barthel H., Rosch L., Weis J. Fumed silica – production, properties and application. *Organosilicon Chemistry From Molecules to Materials*. Eds N. Auner, J. Weis. Weinheim: VCH, 1995. P. 761-778.
74. Basic Characteristics and Applications of Aerosil. Technical Bulletin Pigments N. 11. Frankfurt: Comp. publ. Degussa AG. 4th ed. 1993. 80 p.
75. Torikai D., Suzuki C. K., Shimizu H. et al. Comparison of high-purity H₂/O₂ and LPG/O₂ flame-fused silica glasses from sol-gel silica powder. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 1994. V. 179. P. 328–334.

76. Миронюк І.Ф., Воронін Є.П., Пахлов Є.М., Чуйко О.О. Вплив умов одержання на гідрофільність високодисперсного пірогенного кремнезему. *Укр. хім. журн.* 2000. Т. 66, № 10. С. 81-83.
77. Геращенко І.І., Луценко В.А. Особливості контролю якості медичних сорбентів. *Фарм. журнал.* 2010. № 5. С. 37-42.
78. Хімія поверхні кремнезему: [в 2 т.]. [ред. Чуйко О.О.]. Київ: УкрІНТІ. 2001. 2 т.
79. Тертих В.А., Белякова Л.А. Хімічні реакції за участі поверхні кремнезему. Київ: Наук. думка. 1991. 264 с.
80. Brinker C.J. Hydrolysis and condensation of silicates: effects on structure. *Journal of Non-Crystalline Solids.* 1988. V. 100. N.1-3. P. 31-50.
81. Vansant E.F., Van Der Voort P., Vrancken K.C. Characterisation and chemical modification of the silica surface. Amsterdam: Elsevier. 1995. 560 p.
82. Legrand A.P. The surface properties of silicas. New York: Wiley. 1998. 386 p.
83. Медична хімія та клінічне застосування діоксиду кремнію. [ред. Чуйко О.О.]. К.: Наук. думка. 2003. 416 с.
84. Naray-Szabo G., Surjan P.R. Computational methods for biological systems. *Theoretical chemistry of biological systems.* Amsterdam. 1986. P. 1-100.
85. Slam K., Klimkowski V.J., Ewbank J.D. Ab initio studies of structural features not easily amenable to experiment. Conformational analysis of glycine and alanine. *J. Mol. Struct. Theochem.* 1984. V. 110, N. 1/2. P. 171-182.
86. Brown G.E., Jr., Henrich V.E., Casey W.H. Metal Oxide Surfaces and Their Interactions with Aqueous Solutions and Microbial Organisms. *Chem. Rev.* 1999. N. 99. P. 77-174.
87. Depasse J., Warlus J. Relation between the toxicity of silica and its affinity for tetraalkylammonium groups. *J. Colloid and Interface Sci.* 1976. V. 56, N. 3. P. 618-621.
88. Nash T., Allison A.C., Harington J.S. Physico-chemical properties of silica in relation to its toxicity. *Nature.* 1966. N. 210. P. 259-261.

89. Harley J.D., Margolis J. Hemolytic activity of colloidal silica. *Nature*. 1961. N. 189. P. 1010-1011.
90. Gerashchenko B.I., Gerashchenko I.I., Bogomaz V.I., Pantazis C.G. Adsorption of aerosil on erythrocyte surface by flow cytometry measurements. *Cytometry*. 1994. N. 15. P. 80-83.
91. Gerashchenko B.I., Gerashchenko I.I., Pantazis C.G. Possible selective elimination of red blood cells under the influence of colloidal silica. *Med. Hypotheses*. 1996. N. 47. P. 69-70.
92. Diociaiuti M., Bordy F., Gataleta L. Morphological and functional alterations of human erythrocytes induced by SiO₂ particles: an electron microscopy and dielectric study. *Environ. Res. Section*. 1999. A. 80. P. 197-207.
93. Сандер С.В. Аплікаційне застосування полісорбу в комплексному лікуванні гнійних ран: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Київ. 1993. 24 с.
94. Pierre A.C. and Pajonk G. M. Chemistry of aerogels and their applications. *Chemical Reviews*. 2002. V. 102, N. 11. P. 4243–4266.
95. Blitz J.P., Gun'ko V.M. (Eds.), Surface Chemistry in Biomedical and Environmental Science. *NATO Science Series II: Mathematics, Physics and Chemistry*. 2006. V. 228. Springer, Dordrecht.
96. Turov V.V., V.M. Gun'ko, V.I. Zarko. Weakly and strongly associated nonfreezable water bound in bones. *Colloids and Surfaces*. 2006. Vol. 48, N. 2. P. 167 – 175.
97. Drago R.S. Physical Methods in Chemistry. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1977.
98. Gun'ko V.M., Voronin E.F. Structural, textural and adsorption characteristics of nanosilica mechanochemically activated in different media. *J. Colloid Interface Sci*. 2011. N. 355. P. 300–311.
99. Iler R.K. The Chemistry of Silica. Wiley. Chichester, 1979.
100. Basic Characteristics of Aerosil, Technical Bulletin Pigments, N. 11, Degussa AG, Hanau, 1997.

101. Gun'ko V.M., Leboda R., Skubiszewska-Zięba J. Heating effects on morphological and textural characteristics of individual and composite nanooxides. *Adsorption*. 2009. N. 15. P. 89–98.
102. Sinitsin V.V., Ponyatovsky E.G., Kolesnikov A.I., Dahlborg U., Calvo-Dahlborg M. Thermodynamic Properties and Structural Features of Water at Normal and High Pressures. *Solid States Ionics*. 2001. V.145. P. 415-420.
103. Xantheas S.S., Burnham C.J., Harrison R.J. Development of transferable interaction models for water. Accurate energetics of the first few water clusters from first principles. *Journal Chemical Physics*. 2002. V. 116. N.4. P. 1493-1499.
104. Gregg S.J., Sing K.S.W. Adsorption, Surface Area and Porosity. (2nd ed.). Academic Press. London, 1982.
105. Grünberg B., Emmeler Th., Gedat E. Hydrogen bonding of water confined in mesoporous silica MCM-41 and SBA-15 studied by ^1H solid-state NMR. *Chem. Eur. J.* 2004. N. 10. P. 5689–5696.
106. Vyalikh A., Emmeler Th., Grünberg B. Hydrogen bonding of water confined in controlled-pore glass 10–75 studied by ^1H -solid state NMR. *Z. Phys. Chem.* 2007. N. 221. P. 155–168.
107. Petrov O.V., Furo I. NMR cryoporometry: Principles, application and potential. *Progr. In NMR*. 2009. V.54. P. 97-122.
108. Abragam A. The Principles of Nuclear Magnetism. Oxford University Press. Oxford, UK. 1961.
109. Brennan J.K., Badosz T.J., Thomson K.T. Water in porous carbons. *Colloids Surf., A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2001. N. 187–188. P. 539–568.
110. Морозова Л.П., Штатько О.І., Луцюк М.Б., Таран І.В., Туров В.В. Вивчення гідратаційних властивостей ліофілізованої тканини шлунку після контакту з Силіксом в присутності органічних розчинників. Міжнародна наукова конференція "Наука і розвиток" м. Харків 20 травня 2014р.
111. Morozova L.P., Turov V.V., Gun'ko V.M., Turova A.A. Interfacial behavior of concentrated HCl solution and water clustered at a surface of nanosilica in weakly

polar solvents media. *Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2011. N. 390. P. 48 – 55.

112. Morozova L.P., Turova A.A., Gunko V.M., Turov V.V. The influence of mineral acids on water clustering in surface layer. XIII Ukrainian – Polish Symposium “Theoretical and Experimental Studies of Interfacial Phenomena and their Technological Applications”. September 11 – 14, Kyiv – Ukraine, 2012.

113. Nakahara M., Wakai C. Monomeric and cluster states of water molecules in organic solvent. *Chem. Lett.* 1992. N.21. P. 809–812.

114. Turov V.V., Leboda R. Application of ^1H NMR spectroscopy method for determination of characteristics of thin layers of water adsorbed on the surface of dispersed and porous adsorbents. *Adv. Colloid Interface*. 1999. Vol. 79, N. (2-3). P. 173 – 211.

115. Григор'єва В.В., Самійленко В.М., Сич А.М., Голуб О.А. Загальна хімія. К.: Вища школа. 2009. 471с.

116. Schmidt H. Chemistry of material preparation by sol-gel process. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 1988. V.100. P. 51–64.

117. Derjaguin B.V., Churaev N.V., Muller V.M. Surface Forces. Consultants Bureau. New York. 1987.

118. Aswin V. Muthachikavil, Baoliang Peng, Georgios M. Kontogeorgis, Xiaodong Liang. Distinguishing Weak and Strong Hydrogen Bonds in Liquid Water—A Potential of Mean Force-Based Approach. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2021. N. 125 (26). P. 7187-7198. <https://doi.org/10.1021/acs.jpccb.1c02816>

119. Emsley J.W., Feenej J., Sutcliffe L.H. High Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. Oxford: Pergamon Press. 1965. P. 60-111.

120. Kinney D.R., Chaung I-S., Maciel G.E. Water and the Silica Surface As Studied by Variable Temperature High Resolution ^1H NMR. *J. Am. Chem. Soc.* 1993. Vol. 115. P. 6786-6794.

121. Turov V.V., V.M. Gun'ko, V.I. Zarko. Water Adsorption at Pyrogenic Silica Surfaces Modified by Phosphorus Compounds. *Langmuir*. 1996. N. 12. P. 3503-3510.

122. Hindman J.S. Proton Resonance Shift of Water in the Gas and Liquid States. *J. Chem. Phys.* 1966. V. 44. N. 12. P. 4582-4592.
123. Gun'ko V.M., Turov V.V. Structure of Hydrogen Bonds and ^1H NMR Spectra of Water at the Interface of Oxides. *Langmuir*. 1999. N. 15. P. 6405-6415.
124. Hubbard A.T. (Ed.). Encyclopedia of Surface and Colloid Science. Marcel Dekker, New York. 2002.
125. Turov V.V., Gun'ko V.M., Gaishun V.E. Application of NMR spectroscopy to determine the thermodynamic characteristics of water bound to OX-50 nanosilica. *J. Appl. Spectr.* 2010. V. 77. P. 588-594.
126. Морозова Л.П., Туров В.В., Штат'ко О.І., Луцюк М.Б. Вплив контакту з нанокремнеземом А-300 на гідратацію субклітинного матеріалу тонкої кишки щура. *Хімія, фізика і технологія поверхні*. 2013. Т. 4. № 1. С. 67-77.
127. Turov V.V., Kerus S.V., Gun'ko V.M. Behaviour of water bound in bone marrow cells affected by organic solvents of different polarity. *Cryobiology*. 2009. V. 59. P. 102–112.
128. Морозова Л.П., Штат'ко О.І., Луцюк М.Б., Туров В.В. Вплив високодисперсного кремнезему на гідратацію ліофілізованої тканини тонкої кишки. *Медична хімія*. 2012. Т. 14. № 1(50). С. 10-17.
129. Морозова Л.П., Штат'ко О.І., Луцюк М.Б., Таран І.В., Туров В.В. Вивчення гідратаційних властивостей ліофілізованої тканини шлунку після контакту з Силіксом в присутності органічних розчинників. Міжнародна наукова конференція "Наука і розвиток" м. Харків 20 травня 2014р.
130. Морозова Л.П., Угнівенко А.П., Крупська Т.В., Туров В.В. Вплив органічних речовин і соляної кислоти на будову гідратного покриву панкреатину. *Поверхня*. 2013. Вип. 5(20). С. 279-290.
131. Brown G.E., Henrich V.E., Casey W.H. [et al]. Metal oxide surfaces and their interactions with aqueous solutions and microbial organisms. *Chem. Rev.* 1999. Vol. 99. P. 77 – 174.

132. Gun'ko V.M., Turov V.V., Turov A.V. [et al]. Behaviour of pure water and mixture with benzene or chloroform adsorbed onto ordered mesoporous silicas. *Central Europ. J. Chem.* 2007. Vol. 5. № 2. P. 420 – 454.
133. López P., Batlle R., Nerín C. [et al]. Use of the new generation of poly(styrene-divinylbenzene)resins for gas trapping-thermal desorption. Application to the retention of eight volatile organic compounds. *J. Chromatography A.* 2007. Vol. 1139. P. 36 – 44.
134. Fiehn O., Jekel M. Comparison of sorbents using semipolar to highly hydrophilic compounds for a sequential solid-phase extraction procedure of industrial wastewaters. *Anal. Chem.* 1996. Vol. 68. P. 3083 – 3089.
135. Kinnberg K. Evaluation of in vitro assays for determination of estrogenic activity in the environment; Working Report. 2003. № 43. Danish Environmental Protection Agency P.
136. Tomaszewski W., Gun'ko V.M., Leboda R., Skubiszewska-Zięba J., Tomaszewski W. Interaction of amphetamines with micro- and mesoporous adsorbents in polar liquids. *J. Colloid Interface Sci.* 2005. Vol. 282. № 2. P. 261 – 270.
137. Gun'ko V.M., Zarko V.I., Goncharuk E.V. [et al]. TSDC spectroscopy of relaxation and interfacial phenomena. *Adv. Colloid Interface Sci.* 2007. Vol. 131. P. 1 – 89.
138. Reemtsma Th., Fiehn O., Jekel Fresenius M. A modified method for the wastewater as directed by their toxicity to vibrio fischeri. *J. Anal. Chem.* 1999. Vol. 363. P. 771 – 776.
139. Culleré L., Cacho J., Ferreira V. Validation of an analytical method for the solid phase extraction, in cartridge derivation and subsequent gas chromatographic-ion trap tandem mass spectrometric determination of 1-octen-3-one in wines at ng L⁻¹ level. *Analyt. Chim. Acta.* 2006. Vol. 563. P. 51 – 57.
140. Hennion M.-C. Solid phase extraction: method development, sorbents and coupling with liquid chromatography. *J. Chromatography A.* 1999. Vol. 856, № 1. P. 3 – 54.

141. Ferreira V., Ortín N., Cacho J.F. Optimization of a procedure for the selective isolation of some powerful aroma thiols. Development and validation of a quantitative method for their determination in wine. *J. Chromatography A*. 2007. Vol. 1143. P. 190 – 198.
142. Campo E., Cacho J., Ferreira V. Solid phase extraction, multidimensional gas chromatography mass spectrometry determination of four novel aroma powerful ethyl esters. Assessment of their occurrence and importance in wine and other alcoholic beverages. *J. Chromatography A*. 2007. Vol. 1140. P. 180 – 188.
143. Schmarr H.-G., Ganss S., Sanq W., Potouridis Th. Analysis of 2-aminoacetophenone in wine using a stable isotope dilution assay and multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatography A*. 2007. Vol. 1150. P. 78 – 84.
144. Loos R., Alonso M.C., Barcelo D. Solid-phase extraction of polar hydrophilic aromatic sulfonates followed by capillary zone electrophoresis-UV absorbance detection and ion-pair liquid chromatography-diode array UV detection and electrospray mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*. 2000. Vol. 890. P. 225 – 237.
145. Lopez de Alda M.J., Barcelo D. Use of solid-phase extraction in various of its modalities for sample preparation in the determination of estrogens and progestogens in sediment and water. *J. Chromatogr. A*. 2001. Vol. 938. P. 145 – 153.
146. Nguyen C., Do D.D. Simple optimization Approach for the Characterization of Pore Size Distribution. *Langmuir*. 2000. Vol. 16. P. 1319 – 1322.

НАУКОВЕ ВИДАННЯ

МОРОЗОВА ЛЮБОВ ПЕТРІВНА

МІЗЯКІВСЬКА ЛЕСЯ МИКОЛАЇВНА

**КЛАСТЕРНІ СТРУКТУРИ ВОДИ НА МІЖФАЗНИХ ГРАНИЦЯХ
КРЕМНЕЗЕМУ ТА ДЕЯКИХ ТКАНИН ОРГАНІЗМУ**

Монографія