

ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗУЮЩИХ СВОЙСТВ ГЛУТАТИОНА С ИОНАМИ РТУТИ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИМ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДАМИ

Дорожко Е.В., Короткова Е.И., Воронова О.А., Плотников Е.В.,
Вишенкова Д.А., Дерина К.В.

ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»,
Томск, e-mail: evd@tpu.ru

В работе исследованы комплексобразующие свойства глутатиона с ионами ртути Hg^{2+} и Hg_2^{2+} потенциометрическим и спектрофотометрическим методами. Глутатион выбран в качестве стандартного вещества из тиоловых соединений, способного образовывать устойчивые комплексы с ионами ртути Hg^{2+} и Hg_2^{2+} . Таким образом, на основании значений констант устойчивости комплексов ионов ртути (I) и (II) с глутатионом можно сделать вывод, что наиболее стабильным является комплекс ионов двухвалентной ртути состава $Hg[GS]_2$. Это позволяет предположить, что он формируется быстрее, чем комплекс $Hg_2[GS]_2$ в случае совместного присутствия ионов ртути (I) и (II) в системе, что согласуется с литературными данными. Методом потенциометрии определены составы комплексов ртуть – глутатион и их константы устойчивости. Выявлено, что комплекс состава $Hg[GS]_2$ (1:2) обладает большей устойчивостью, чем $Hg_2[GS]_2$ (1:1). Метод спектрофотометрии использован для сравнения полученных результатов по составу комплекса $Hg[GS]_2$ (1:2), которые согласуются с данными потенциометрического метода.

Ключевые слова: комплексные соединения, глутатион, ионы ртути, потенциометрия, спектрофотометрия

STUDY OF COMPLEXING PROPERTIES OF GLUTATHIONE AND MERCURY IONS BY POTENTIOMETRIC AND SPECTROPHOTOMETRIC METHOD

Dorozhko E.V., Korotkova E.I., Voronova O.A., Plotnikov E.V.,
Vishenkova D.A., Derina K.V.

National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, e-mail: evd@tpu.ru

The paper studies the complexing properties of glutathione with mercury ions Hg^{2+} and Hg_2^{2+} by potentiometric and spectrophotometric methods. Glutathione was chosen as a standard substance of thiol compounds capable of forming stable complexes with mercury ions Hg^{2+} and Hg_2^{2+} . Thus, based on the values of stability constants of complexes of mercury (I) and (II) with glutathione, we can conclude that the most stable complex is of mercuric ions $Hg[GS]_2$. This suggests that it is formed faster than complex $Hg_2[GS]_2$ in the case of co-presence of ions of mercury (I) and (II) system, which is consistent with literature data. Potentiometric method identified the complex mercury-glutathione and their stability constants. It was revealed that the complex composition of $Hg[GS]_2$ (1:2) is more resistant than $Hg_2[GS]_2$ (1:1). Spectrophotometry method was used to compare the results obtained on the composition of the complex $Hg[GS]_2$.

Keywords: complex compounds, glutathione, mercury ions, potentiometry, spectrophotometry

За последнее время проявляется повышенный интерес к изучению комплексобразования между ионами тяжелых металлов и биологически-активными лигандами тиоловых соединений [7, 10]. Токсичность ртути проявляется главным образом за счет взаимодействия с тиоловыми группами белковых молекул, образующих устойчивые комплексы, опасные для здоровья человека [11]. К тому же, высокое сродство SH-групп тиоловых соединений относительно катионов ртути Hg^{2+} и Hg_2^{2+} может использоваться в аналитических и диагностических целях [11]. Кроме того, исследования комплексобразования тиоловых соединений с ионами ртути представляют интерес в клинической биохимии, фармакологии, химии координационных соединений и в области защиты окружающей среды [5, 12].

В настоящее время известно немного научных работ по исследованию комплексобразования тиоловых соедине-

ний с ионами ртути разными методами [6, 9, 14]. В работах представлены данные по физико-химическим характеристикам комплексов тиоловых соединений с ртутью, не согласующиеся между собой. Вероятно, это связано с тем, что при исследовании комплексобразования используются разные реакционные среды, отличающиеся значением pH, концентрациями исходных веществ, ионной силой раствора и другими параметрами [13].

В работе для исследования комплексобразующих свойств тиоловых соединений был выбран глутатион как стандартное вещество. В работе проведено детальное исследование состава вероятных комплексов системы глутатион-ртуть, преобладающих в растворе, определены их константы устойчивости методом потенциометрии. В качестве метода сравнения для определения состава комплекса $Hg[GS]_2$ был выбран метод спектрофотометрии. Выбор

данных методов для исследования явления комплексообразования не случаен, т.к. из большинства методов потенциометрия и спектрофотометрия являются простыми в аппаратном применении и не требуют дорогостоящих реактивов.

Материалы и методы исследования

Для определения состава комплекса $\text{Hg}(\text{GS})_2$ и его константы устойчивости ($\lg\beta_2$) в работе использовалась установка для измерения ЭДС системы, платиновый и хлорид-серебряные электроды, растворы солей $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ($1 \cdot 10^{-6}$ моль/л). Постоянство ионной силы поддерживалось раствором KNO_3 (1 моль/л). Использовался свежеприготовленный раствор GSH (5 моль/л), из которого методом последовательного разбавления готовили другие растворы GSH. Определение потенциала системы проводили в боратном буферном растворе (рН 9,18). Исследуемый раствор продували инертным газом азотом для удаления следов кислорода.

Спектрофотометрические исследования комплексообразования системы $\text{Hg}(\text{II})$ -GSH проводились на спектрофотометре СФ-46, с помощью кюветы с толщиной поглощающего слоя 1 см. Диапазон длины волн для поиска максимума спектра комплекса устанавливался в области 180–250 нм с погрешностью $\pm 0,1$ нм. В качестве раствора сравнения использовали бидистиллированную воду.

Методика потенциометрического титрования

В тщательно промытую ячейку вводили 25 мл боратного буферного раствора, 0,1 мл раствора KNO_3

(1 моль/л) и точно измеренные объемы по 0,1 мл раствора $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ ($3 \cdot 10^{-6}$ моль/л). При непрерывном пропускании через раствор азота замеряли через каждые 5 мин. ЭДС до установления постоянного значения. Из градуировочной бюретки последовательно вводили по 0,1 мл растворов GSH разных порядков. После введения новой порции раствора GSH и перемешивания с помощью инертного газа определяли значение ЭДС. Рассчитывали концентрацию GSH в ячейке после введения каждой порции.

Результаты исследования и их обсуждения

Исследование комплексообразования системы ртуть-глутатион методом потенциометрии

Из литературных данных известно, что потенциометрические методы широко используются для исследования комплексообразования [2–3].

Если ион ртути Hg^{2+} с частицами лиганда GS^- образуют последовательный ряд комплексов: $\text{Hg}^{2+}[\text{GS}^-]_i$ ($i = 0, 1, n$), то в условиях равновесия общая концентрация ионов металла-комплексообразователя будет связана с концентрациями ступенчатообразующихся отдельных комплексов $[\text{Hg}^{2+}\text{GS}^-]_i$, концентрацией не связанных в комплекс ионов металла $[\text{Hg}^{2+}]$ и лиганда $[\text{GS}^-]$ соотношениями:

$$C(\text{Hg}^{2+}) = \sum_{i=0}^n [\text{Hg}(\text{GS})_i] = [\text{Hg}^{2+}] \sum_{i=0}^n \beta_i [\text{GS}]_i, \quad (1)$$

где

$$\beta_i = \frac{[\text{Hg}(\text{GS})_i]}{[\text{Hg}^{2+}]}, \quad (2)$$

где β_i – общая концентрационная константа восстановления комплекса.

$$E = E^0 + \frac{RT}{2F} \ln C(\text{Hg}^{2+}) - \frac{RT}{2F} \ln \sum_{i=0}^n \beta_i [\text{GS}]_i. \quad (4)$$

Следует отметить, что значение формального электродного потенциала в данных формулах $E_{\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}^0}^0$ отличается от стандартного потенциала $E_{\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}^0}^0$ включением значений коэффициента активности и диффузионного потенциала. Использование индифферентного электролита позволяет практически элиминировать диффузионный потенциал.

Анализ экспериментальных зависимостей E от концентраций ионов Hg^{2+} и лиган-

да GS^- при различных их соотношениях на основе уравнения (4) позволяет определить параметры процесса комплексообразования – число лигандов (n) и константу устойчивости комплекса GSH-Hg(II) ($\lg\beta_2$).

При постоянстве $[\text{GS}^-]$, когда $C_{\text{GS}} \gg C_{\text{Hg}^{2+}}$ и $[\text{GS}^-] \approx C_{\text{GS}} \approx \text{const}$, должна наблюдаться линейная зависимость E от $\ln C_{\text{Hg}^{2+}}$ с коэффициентом наклона RT/zF . С другой стороны, при $C_{\text{GS}} \gg C_{\text{Hg}^{2+}}$, как правило, начиная с определенных, достаточно высоких C_{GS} , в растворе присутствует практически один комплекс $\text{Hg}^{2+}\text{GS}^-_n$. В этом случае

$$E = E^0 - \frac{RT}{2F} \ln \beta_n + \frac{RT}{2F} \ln C(\text{Hg}^{2+}) - \frac{nRT}{2F} \ln C(\text{GS}^-) \quad (5)$$

и при $C_{\text{Hg}^{2+}} = \text{const}$ должна иметь место линейная зависимость E от $\ln C_{\text{GS}^-}$, из коэффициента наклона которой можно определить n :

$$\text{tg}\alpha = -\frac{nRT}{zF}. \quad (6)$$

Значение $E_{\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}^0}$ определяют в системе, не содержащей комплексообразующих частиц, а только ионы ртути Hg^{2+} по уравнению:

$$E_{\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}^0}^0 = E_{\text{изм1}} - \frac{RT}{2F} \ln C(\text{Hg}^{2+}). \quad (7)$$

Экстраполируя прямую $E - \ln C_{\text{GS}^-}$ к значению $\ln C_{\text{GS}^-} = 0$, можно найти $E_{\text{изм2}}$ и согласно уравнению (8) определить $\ln \beta_n$:

$$E_{\text{изм2}} = E_{\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}^0}^0 - \frac{RT}{zF} \ln \beta_n. \quad (8)$$

Результаты потенциометрического титрования для участка прямолинейной зависимости потенциала системы от логарифма концентраций GSH представлены на рис. 1.

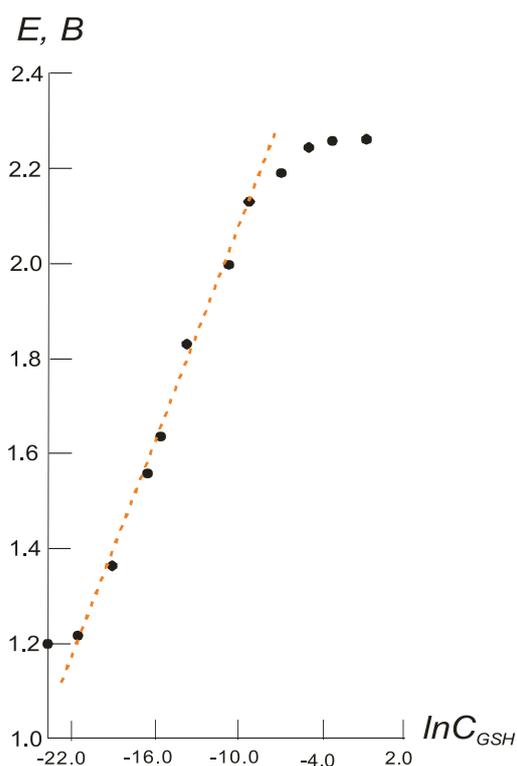


Рис. 1. Зависимость потенциала системы ртуть(II) – глутатион ($E, \text{ В}$) от $\ln C_{\text{GSH}}$. Концентрация ионов $\text{Hg}^{2+} 3 \cdot 10^{-6}$ моль/л

На основании экспериментальных данных угол наклона прямолинейной части составил: $\text{tg}\alpha = -0,073$. Подставляя данное значение в уравнение (6), было определено количество лигандов $n = 2,48 \approx 2$. Согласно рис. 1 величина потенциала системы не со-

державшей лиганды GS^- , а только ионы Hg^{2+} , составила $E_{\text{изм1}} = +1,20$ В. При подстановке данного значения в уравнение (7) было определено $E_{\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}^0}^0 = +1,607$ В. Экстраполи-

руя прямую $E - \ln C_{\text{GS}^-}$ к значению $\ln C_{\text{GS}^-} = 0$ и используя уравнение (8), была определена константа устойчивости комплекса $\text{Hg}[\text{GS}]_2$, $\ln \beta_2 = 88,39$ или $\log \beta_2 = 38,38$.

Анализ экспериментальных зависимостей E от концентраций ионов одновалентной ртути Hg_2^{2+} и лигандов GS^- при различных их соотношениях, используя аналогичный алгоритм исследования по формулам (1)–(8), позволил определить параметры процесса комплексообразования для комплекса одновалентной ртути $\text{Hg}_2[\text{GS}]_2$.

Была определена константа устойчивости комплекса $\text{Hg}_2[\text{GS}]_2$, $\ln \beta_2 = 36,03$ или $\log \beta_2 = 15,64$.

Таким образом, на основании значений констант устойчивости комплексов ионов ртути (I) и (II) с глутатионом можно сделать вывод, что наиболее стабильным является комплекс ионов двухвалентной ртути состава $\text{Hg}[\text{GS}]_2$. Это позволяет предположить, что он формируется быстрее, чем комплекс $\text{Hg}_2[\text{GS}]_2$ в случае совместного присутствия ионов ртути (I) и (II) в системе, что согласуется с литературными данными [11].

Исследование комплексообразования системы ртуть–глутатион методом спектрофотометрии

Метод спектрофотометрии был выбран для сравнения полученных результатов по составу комплекса $\text{Hg}[\text{GS}]_2$ с методом потенциометрии.

Максимум спектров поглощения $\text{Hg}(\text{II})$ ($C_{\text{Hg}(\text{NO}_3)_2} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) и GSH ($C_{\text{GSH}} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) соответствуют значениям $\lambda_{\text{Hg}(\text{II})} = 200$ нм и $\lambda_{\text{GSH}} = 195$ нм (рис. 2). При совместном присутствии $\text{Hg}(\text{II})$ и GSH появляется новый спектр поглощения при 220 нм, соответствующий спектру поглощения комплексного соединения системы $\text{Hg}(\text{II}) - \text{GSH}$. В дальнейшем оптическую плотность измеряли при $\lambda = 220$ нм.

По кривой насыщения (рис. 3) методом молярных соотношений [15] найдены оптимальные молярные соотношения компонентов комплексного соединения $\text{Hg}(\text{II}) - \text{GSH}$ при $\lambda = 220$ нм, которые равны 1:2.

Таким образом, в данных условиях эксперимента был обнаружен спектр поглощения комплексного соединения $\text{Hg}[\text{GS}]_2$ при $\lambda = 220$ нм. Количество лигандов GS^- , входящих в состав комплекса, равно 2, что подтверждает полученные данные по составу комплекса $\text{Hg}[\text{GS}]_2$ методом потенциометрии.

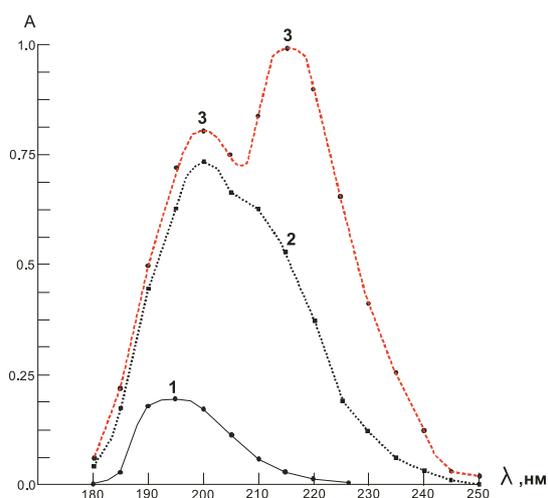


Рис. 2. Спектры поглощения систем ртуть – глутатион в водных средах:
 1 – GSH ($C_{GSH} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л);
 2 – $Hg(NO_3)_2$ ($C_{Hg(NO_3)_2} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л);
 3 – комплекса $Hg(II)$ -GSH ($C_{GSH} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л и $C_{Hg(NO_3)_2} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ моль/л)

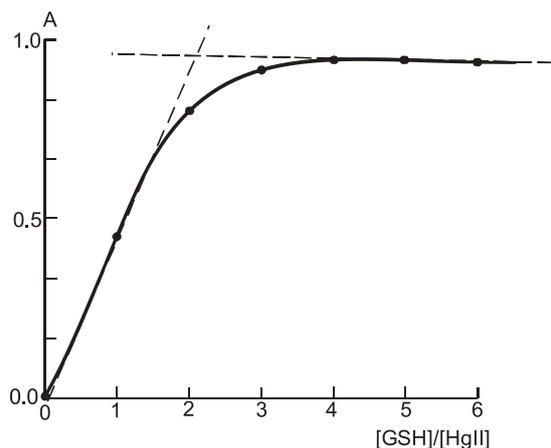


Рис. 3. Зависимость оптической плотности раствора A от мольного соотношения $[GSH]/[HgII]$

В результате исследований методом потенциометрии определены составы комплексов $Hg_2[GS]_2$ и $Hg[GS]_2$. Количество лигандов в обоих случаях равно 2. Методом потенциометрии определены константы устойчивости комплексов: $\log \beta_2 = 38,38$ для комплекса $Hg[GS]_2$, и $\log \beta_2 = 15,64$ для комплекса $Hg_2[GS]_2$. Выявлено, что комплекс состава $Hg[GS]_2$ (1:2) обладает большей устойчивостью, чем комплекс состава $Hg_2(GS)_2$ (1:1). Методом спектрофотометрии получены результаты по составу комплекса $Hg[GS]_2$ (1:2), которые согласуются с данными потенциометрического метода.

Работа выполнена в рамках государственного задания «Наука» по теме 3.2702.2011.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента Российской Федерации 14.124.13.7366-МК.

Список литературы

1. Булатов М.И., Калинин М.П. Практическое руководство по фотокolorиметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. – М.: Химия, 1986. – С. 432.
2. Кравцов В.И. Равновесие и кинетика электродных реакций комплексов металлов. – Ленинград: «Химия», 1985. – С. 207.
3. Практикум по электрохимии под ред. Б.Б. Дамаскина. – М.: Высшая школа, 1991. – С. 287.
4. Alan P. Arnold and Alan I., *Canty Can. J. Chem.*, 1983, no 61, p. 1428.
5. Ballatori N. and Clarkson T. W., *Science*, 1982, no 63, p. 216.
6. Bramanti E., D'Ulivo A., Lampugnani L., Raspia G. and Zambonia R., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, no 14, pp. 179–185.
7. Emteborg H., Hadgu N. and Baxter D. C., *Anal. At. Spectrom.*, 1994, Vol. 32, no. 9, pp. 106–112.
8. Mazen Y. Hamed, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 1988, pp. 67–72.
9. Paul D. Oram, Xiaojun Fang, and Quintus Fernando, *Chem. Res. Toxicol.*, 1996, Vol. 9, no 4, pp. 709–712.
10. Puk R. and Weber J. H., *Appl. Organomet. Chem.*, 1994, Vol. 8, no. 5, pp. 293–301.
11. Ramaswamy S.G. and Jakoby W.B. *Methods Enzymol.*, 1987, Vol. 143, pp. 201–211.
12. Robert J. M. and Rabenstein D. L., *Anal. Chem.*, 1991, no. 63, p. 2674.
13. Semih Cakir, Ender Bicer, Osman Cakir, 2000, *Electrochemistry Communications* 2, pp. 124–129.
14. Starý J. and Kratzer K., *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 1988, Vol. 126, no 1, pp. 69–75.
15. Stricks W. and Kolthoff I. M., *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, no 75, p. 5673.

References

1. Bulatov M.I., Kalinkin M.P. *Prakticheskoe rukovodstvo po fotokolorimetriceskim i spektrofotometriceskim metodam analiza*. M.: Ximiya, 1986. pp. 432.
2. Kravcov V.I. *Ravnovesie i kinetika e'lektroodnykh reakcij kompleksov metallov*. Leningrad: «Ximiya», 1985. pp. 207.
3. *Praktikum po e'lektroximii* pod red. B.B. Damaskina. m.: Vysshayashkola, 1991. pp. 287.
4. Alan P. Arnold and Alan I., *Canty Can. J. Chem.*, 1983, no. 61, p. 1428.
5. Ballatori N. and Clarkson T. W., *Science*, 1982, no 63, p. 216.
6. Bramanti E., D'Ulivo A., Lampugnani L., Raspia G. and Zambonia R., *J. Anal. At. Spectrom.*, 1999, no 14, pp. 179–185.
7. Emteborg H., Hadgu N. and Baxter D. C., *Anal. At. Spectrom.*, 1994, Vol. 32, no. 9, pp. 106–112.
8. Mazen Y. Hamed, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 1988, p. 67–72.
9. Paul D. Oram, Xiaojun Fang, and Quintus Fernando, *Chem. Res. Toxicol.*, 1996, Vol. 9, no 4, pp. 709–712.
10. Puk R. and Weber J. H., *Appl. Organomet. Chem.*, 1994, Vol. 8, no. 5, pp. 293–301.
11. Ramaswamy S.G. and Jakoby W.B. *Methods Enzymol.*, 1987, Vol. 143, pp. 201–211.
12. Robert J. M. and Rabenstein D. L., *Anal. Chem.*, 1991, no 63, p. 2674.
13. Semih Cakir, Ender Bicer, Osman Cakir, 2000, *Electrochemistry Communications* 2, pp. 124–129.
14. Starý J. and Kratzer K., *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 1988, Vol. 126, no 1, pp. 69–75.
15. Stricks W. and Kolthoff I. M., *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, no 75, p. 5673.

Рецензенты:

Слепченко Г.Б., д.х.н., профессор кафедры физической и аналитической химии, ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск;

Колпакова Н.А., д.х.н., профессор кафедры физической и аналитической химии, ФГБОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск.

Работа поступила в редакцию 01.07.2013.