

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия" Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Родионова Екатерина Юрьевна
**Коллоидные свойства водных дисперсий гемоглобина,
хлорофилла и билирубина**

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата химических наук
02.00.11 – коллоидная химия

Научный руководитель:
Доктор химических наук, доцент
Дмитриева И.Б.

Санкт-Петербург
2014

Содержание

Содержание.....	2
Введение	5
Актуальность исследований коллоидных свойств водных дисперсий гемоглобина, хлорофилла и билирубина	5
Апробация работы	8
Публикации.....	9
Благодарности.....	9
1 Структура и свойства тетрапирролов	10
1.1 Классификация тетрапирролов. Виды порфиринов, строение, свойства и различия.....	10
1.2 Природное распространение и применение порфиринов и линейных тетрапирролов.....	18
1.3 Гемоглобин.....	22
1.4 Хлорофилл	29
1.5 Билирубин.....	32
1.6 Коллоидные свойства гемоглобина, хлорофилла, билирубина и их аналогов	36
2 Объекты и методы исследования	47
2.1 Объекты исследования.....	47
2.1.1 Приготовление дисперсий гемоглобинов	48
2.1.2 Приготовление дисперсий билирубина.....	49
2.1.3 Приготовление дисперсий хлорофилла.....	49
2.2. Методы и методики исследования	50
2.2.1 Метод микроэлектрофореза	52
2.2.2 Изучение устойчивости фотометрическим методом.....	54
2.2.3 Методика непрерывного потенциометрического титрования	55
2.2.4 Определение количества основных и кислотных групп. Методика кондуктометрического титрования	57
2.2.5 Измерение вязкости водных дисперсий гемоглобина	58

2.3 Погрешности экспериментальных данных.....	59
3 Результаты и их обсуждение.....	61
3.1 Коллоидные свойства водных дисперсий гемоглобина	61
3.1.1 Кинетика установления адсорбционного равновесия	61
3.1.2 Зависимость электрокинетического потенциала лошадиного гемоглобина от рН и ионной силы раствора.....	63
3.1.3 Сравнение зависимостей электрокинетического потенциала от рН для различных видов гемоглобина.....	64
3.1.4 Электрокинетические свойства гемоглобина в водных растворах 1-, 2- и 3-зарядных ионов.....	65
3.1.5 Адсорбция протонов и гидроксид-ионов	72
3.1.6 Определение количества основных и кислотных функциональных групп гемоглобина.....	78
3.1.6.1 Определение количества основных и кислотных функциональных групп гемоглобина кондуктометрическим методом.....	78
3.1.6.2 Определение количества основных и кислотных функциональных групп гемоглобина по адсорбционным данным	81
3.1.6.3 Определение количества основных и кислотных функциональных групп гемоглобина из теоретических данных по аминокислотному составу гемоглобина	85
3.1.7 Расчет констант диссоциации кислотных и основных групп гемоглобина по адсорбционным данным.....	87
3.1.8 Устойчивость водных дисперсий гемоглобина.....	89
3.1.9 Вязкость разбавленных растворов гемоглобина	92
3.1.10 Влияние аминокислот на электрокинетический потенциал гемоглобина.....	93
3.2 Коллоидные свойства хлорофилла.....	96
3.2.1 Кинетика установления адсорбционного равновесия	96
3.2.2 Электрокинетические свойства хлорофилла в водных растворах 1-, 2- и 3-зарядных ионов.....	97

3.2.3 Влияние аминокислот на электрокинетические свойства хлорофилла	101
3.2.4 Адсорбция протонов и гидроксид-ионов	104
3.2.5 Определение порогов коагуляции	109
3.3 Коллоидные свойства билирубина	111
3.3.1 Кинетика установления адсорбционного равновесия	111
3.3.2 Электрокинетические свойства билирубина в водных растворах 1-, 2- и 3-зарядных ионов.....	112
3.3.3 Влияние аминокислот на электрокинетические свойства билирубина	114
3.3.4 Устойчивость водных дисперсий билирубина	117
3.3.5 Адсорбция протонов и гидроксид-ионов	120
3.4 Сравнение коллоидных свойств гемоглобина, билирубина и хлорофилла.....	126
3.4.1 Электрокинетические свойства порфиринов и линейных тетрапирролов в растворах электролитов	127
3.4.2 Адсорбция протонов и гидроксид-ионов на поверхности гемоглобина, хлорофилла и билирубина	130
3.4.3 Сопоставление $pH_{ТНЗ}$ и $pH_{ИЭТ}$ гемоглобина, хлорофилла и билирубина	131
3.4.4 Устойчивость водных дисперсий порфиринов и линейных тетрапирролов в растворах электролитов	132
3.4.5 Влияние аминокислот на электрокинетический потенциал водных дисперсий гемоглобина, хлорофилла и билирубина.....	134
Выводы.....	136
Список литературы	138
Список сокращений и условных обозначений.....	147
Приложение А " Коллоидные свойства водных дисперсий гемоглобина"	150
Приложение Б "Коллоидные свойства хлорофилла"	186
Приложение В "Коллоидные свойства билирубина"	207

Введение

Актуальность исследований коллоидных свойств в водных дисперсиях гемоглобина, хлорофилла и билирубина

Теоретические представления в коллоидной химии, как правило, разрабатывались для неживых дисперсных систем, примером чего является широко известная теория двойного электрического слоя Гуи, устанавливающая связь между зарядом, потенциалом и концентрацией электролита в растворе для границы ртуть – водные растворы электролитов. Специальных исследований, посвященных анализу возможностей использования классических законов коллоидной химии для описания свойств биологических дисперсных систем, практически нет. Характерная особенность природных биологических систем состоит в их исключительной лабильности, то есть способности к изменчивости при воздействии внешних факторов, и узкий интервал физико-химических условий, в котором эти системы функционируют. Вне этого интервала биологические объекты теряют свою активность, а нестабильность, вызванная агрегацией, приводит к разрушению биологических дисперсных систем. Основными параметрами, характеризующими стабильность дисперсных систем, являются электрокинетический потенциал и изоэлектрическая точка. Определение изоэлектрических точек различных белков, в частности, гемоглобина, позволит предсказать их устойчивость к агрегации, а, следовательно, и интервал биологической активности. Из-за сложности, многообразия и многофакторности таких систем сегодня еще не сложилось единой точки зрения на происходящие в них процессы адсорбции, агрегации, стабилизации, на их структурно-механические и реологические свойства. Отсутствуют единые теоретические представления, позволяющие надежно объяснять наблюдаемые явления и их прогнозировать.

Биологические дисперсные системы, примерами которых являются кровь, лимфа, кровеносные и лимфатические сосуды, в существенной мере определяют жизнеспособность живого организма, поэтому комплексное изучение их

коллоидно-химических свойств актуально и имеет весьма большое практическое значение. Гемоглобин и билирубин являются важнейшими компонентами биологических дисперсных систем животного происхождения, хлорофилл – растительного. Гемоглобин, билирубин и хлорофилл относятся к тетрапирролам и практически не изучены с позиции коллоидной химии. Изучение коллоидных свойств этих дисперсных систем и их поведения при изменении условий (состава дисперсионной среды, температуры, старении) способствует развитию коллоидной химии биологических дисперсных систем и решению целого ряда практических задач, в частности, разрушению тромбов и холестериновых бляшек, разработки условий, препятствующих образованию желчных камней (из билирубина), тромбов и холестериновых бляшек.

В соответствии с отмеченным выше, **цель диссертационной работы** состоит в установлении закономерностей изменений коллоидных свойств водных дисперсий гемоглобина, билирубина и хлорофилла в растворах неорганических электролитов и простейших аминокислот.

Для достижения поставленной цели определены следующие **задачи** работы:

- изучение электрокинетических свойств водных дисперсий гемоглобина, хлорофилла и билирубина в растворах одно-, двух- и трёхзарядных электролитов и простейших аминокислот;
- определение изоэлектрических точек гемоглобина, хлорофилла и билирубина в растворах HCl и KOH, и оценка влияния на них одно-, двух- и трёхзарядных электролитов и простейших аминокислот;
- изучение адсорбции ионов водорода и гидроксид-ионов на указанных сорбентах в растворах различных электролитов и простейших аминокислот;
- вычисление, на основе адсорбционных данных, количества функциональных групп гемоглобина, участвующих в обмене протонами и гидроксид-ионами, расчет средних констант диссоциации этих групп;
- изучение устойчивости водных дисперсий гемоглобина, хлорофилла и билирубина в зависимости от состава дисперсионной среды.

Научная новизна работы:

- впервые выполнено комплексное исследование адсорбции и электроповерхностных свойств биологических дисперсных систем – дисперсий гемоглобина, хлорофилла и билирубина в водных растворах неорганических электролитов и аминокислот;
- показано, что положение изоэлектрической точки для различных гемоглобинов определяется составом их белковой части;
- обнаружено, что в ряду хлорофилл→билирубин→гемоглобин изоэлектрические точки и точки нулевого заряда смещаются в щелочную область с увеличением вклада основных групп; выявлено, что основной причиной различия $pH_{ИЭТ}$ и $pH_{ТНЗ}$ этих веществ является специфический характер сорбции карбонат анионов.
- впервые на основе адсорбционных данных вычислено количество функциональных групп гемоглобина, участвующих в обмене протонами и гидроксид-ионами, рассчитаны средние константы диссоциации этих групп: для основных групп $pK_{a_1} = 6,1$ и кислотных - $pK_{a_2} = 9,4$;
- установлено, что для билирубина и гемоглобина при изменении pH и ионной силы растворов коагуляция происходит преимущественно по нейтрализационному механизму, а для хлорофилла коагуляция происходит по концентрационному механизму.

Практическая значимость исследования: знание коллоидно-химических закономерностей формирования и функционирования сложных биологически активных дисперсных систем позволит создать модель образования и роста тромбов и холестериновых бляшек в кровеносных сосудах, желчных камней, а также определить условия их устранения.

Полученные результаты могут быть использованы при подборе веществ, увеличивающих растворимость билирубина, и адсорбентов для выведения избытка билирубина из организма. В случае гемоглобина данные исследования полезны при определении подходящих адсорбентов для удаления свободного

гемоглобина, образующегося в результате разрушения эритроцитов при реинфузии, и в выборе консервантов для хранения крови.

Основные положения, выносимые на защиту:

- одно-, двух- и трехзарядные противоионы влияют на электрокинетический потенциал гемоглобина, билирубина и хлорофилла в соответствии с их зарядом, располагаясь в обычные лиотропные ряды для одно- и двухзарядных ионов;
- положение изоэлектрической точки для различных гемоглобинов определяется составом их белковой части;
- в ряду хлорофилл→билирубин→гемоглобин изоэлектрические точки и точки нулевого заряда смещаются в щелочную область с увеличением вклада основных групп;
- определено количество функциональных групп гемоглобина, участвующих в обмене протонами и гидроксид-ионами, рассчитаны средние константы диссоциации этих групп: для основных групп $pK_{a_1} = 6,1$ и кислотных - $pK_{a_2} = 9,4$;
- коагуляция водных дисперсий гемоглобина и билирубина происходит по нейтрализационному механизму, хлорофилла по концентрационному механизму.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на:

- Научно-практической конференции, посвященной 65-летию факультета промышленной технологии лекарств: сборник научных трудов (Санкт-Петербург, 2010)
- «Межвузовской научной конференции, посвященной 300-летию со дня рождения М.В. Ломоносова и 150-летию создания А.М. Бутлеровым теории химического строения органических соединений» (Санкт-Петербург, 29 ноября 2011).

- «Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 18-19 апреля 2012)
- Международном молодежном научном форуме «ЛОМОНОСОВ-2012» (Москва, 2012)
- 16ой международной Пушинской школе-конференции молодых ученых (Пушино, 2012)
- «Международном молодежном научном форуме «Ломоносов-2013» (Москва, 2012)
- 17ой международной Пушинской школе-конференции молодых ученых (Пушино, 2013)
- III Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2013)
- I Всероссийской научной конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации», (Санкт-Петербург, 2013)
- IV Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург, 2014)

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 18 печатных работ, из них 5 – в журналах, рекомендованных ВАК, 12 тезисов по материалам научно-практических конференций.

Благодарности

Автор выражает свою благодарность своему научному руководителю – д.х.н. Дмитриевой И.Б. за руководство и курирование работы на всех ее этапах, проверку и обсуждение результатов, а также всем сотрудникам кафедры физической и коллоидной химии (СПХФА) за поддержку.

1 Структура и свойства тетрапирролов

1.1 Классификация тетрапирролов. Виды порфиринов, структура, свойства и различия

Порфирины играют огромную роль в биохимических процессах в живых организмах и являются одними из важнейших биологически активных веществ. По химическому строению порфирины относятся к тетрапирролам, в которых четыре пиррольных кольца соединены метиновыми мостиками. Родственными соединениями порфиринов являются корриноиды (два пиррольных кольца соединены непосредственно друг с другом) и билины (имеют линейную структуру). Классификация тетрапирролов представлена на рис.1.1.



Рис.1.1 Классификация тетрапирролов.

Родоначальником всех порфиринов является простейший макроцикл — порфин (рис. 1.2 без радикалов), классическая структурная формула которого приводится на рис. 1.3. Макроцикл порфиринов имеет ароматическую природу и образован замыканием четырех (I, II, III и IV) пиррольных колец с помощью метиновых ($-CH=$) мостиков, которые по Фишеру [1] принято нумеровать греческими буквами (α , β , γ , δ). Положения 1—8 в формуле 1 называют β -

положениями пиррольных колец. Благоприятное перекрывание σ -электронов способствует сильному π -перекрыванию по всему контуру макроцикла, в результате чего образуется плоская молекула с ароматическими свойствами [2, стр.7]

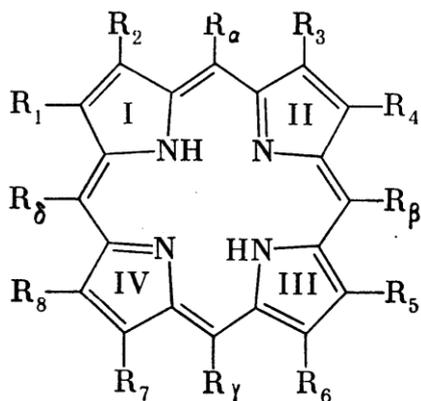


Рис. 1.2 Структура порфиринов.

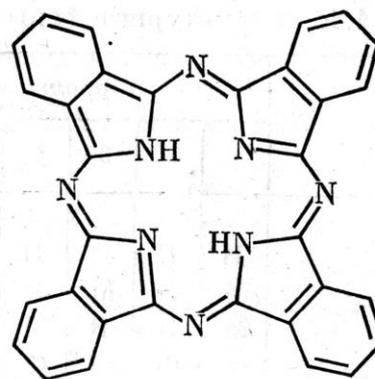


Рис. 1.3 Фталоцианин.

Порфирины отличаются друг от друга природой мостиковых групп, занимающих мезоположения в молекуле порфирина (СН, (Х)С, N), а также заместителями $R_1—R_8$ и $R_\alpha—R_\delta$ (рис.1.2) [1, стр. 6-7].

Алкильное замещение в NH-группах приводит к получению очень интересных N-алкилзамещенных порфирина. Замещение в NH-группе одного атома Н дает N-алкилпорфирины, двукратное замещение в обеих NH-группах приводит N- N'-диалкилпорфиринам. N-алкильное замещение коренным образом изменяет свойства порфиринов. Мостиковое СН-замещение гетероатомом (чаще всего атомом азота =N—) приводит к образованию многочисленной группы синтетических азапорфиринов и других соединений. Особую группу представляют тетрабензотетраазапорфинами или фталоцианинами (рис.1.3) [2, стр.8-9].

Интересную группу порфиринов составляют соединения, гидрированные по пиррольным двойным связям (3—4, 5—6 и 7—8). Гидрирование по одной двойной связи приводит к хлоринам. Гидрирование по двум двойным связям противоположных пиррольных ядер приводит к бактериохлорину, производные которого участвуют в фотосинтезе у бактерий. [2, стр. 10].

Также выделяют форбины – порфирины, соединенные с циклопентеноновым кольцом. При этерификации остатка пропионовой кислоты фитолом ($C_{20}H_{39}OH$) в феофорбиде *a* приводит к образованию хлорофилловой кислоты *a*, или феофитина *a*. Его координация с ионом Mg^{2+} дает хлорофилл *a* – один из важнейших природных комплексов [2, стр. 11]. Также наряду с многочисленными порфиринами, содержащими координационный центр N_4 и сопряженный 16 членный макроцикл, синтезированы многочисленные макроциклические соединения, родственные порфиринам.

Как уже говорилось ранее особенностью порфиринов является наличие макрокольца с сопряженной π -электронной системой, обладающего ароматическими свойствами. В зависимости от размера цикла ароматические системы могут иметь большой набор связывающих и разрыхляющих π -орбиталей. В связи с этим верхняя заполненная орбиталь π -симметрии может лежать очень высоко по сравнению с изолированной этиленовой π -орбиталью, а нижняя вакантная π -орбиталь, наоборот, будет иметь очень низкую энергию. Отсюда следует характерная особенность протяженных ароматических π -систем — способность одинаково легко отдавать и присоединять электрон – выступать в качестве полупроводников. Эта особенность π -орбиталей протяженных ароматических систем обуславливает расположение полос π - π^* -переходов в видимой области спектра. По этой причине все ароматические системы являются потенциальными носителями окраски — хромофорами [1, стр.30].

Для разрушения стабильной ароматической орбитали требуется достаточно большая энергия, которая включается в энергию активации реакции конверсии π -электрона в σ -электрон. В связи с этим ароматические молекулы не склонны к реакциям присоединения и слабо проявляют свою ненасыщенность, хотя и считаются ненасыщенными соединениями. Все они более склонны к реакциям замещения по C-H-связям [1, стр.29]. Порфирины не склонны к окислению и гидролитическому расщеплению макрокольца [1, стр.39].

Важным структурным элементом, определяющим способность порфиринов протонироваться по реакционному центру N_2N_4 , вступать в реакции N-

алкилирования с заменой связей NH на N-R (R-алкил), а также комплексообразования $H_2N_4 \rightarrow MN_4$, является размер центрального координационного пространства в плоскости молекулы [3, стр.41].

Наиболее энергетически выгодное состояние для порфиринов состояние, когда центральные NH-водороды расположены у противоположных атомов азота, однако NH-протоны не занимают строго фиксированного положения, а способны перемещаться по центру молекулы [4, стр.32]. Два внутрициклических NH-протона являются, так же как и катионы металлов в комплексах МП (металлопорфирины), мощными стабилизаторами ароматической электронной системы макроциклов порфиринов. По этой причине многие порфирины (протопорфирин и другие порфирины крови) в сильнощелочных средах разрушаются с обесцвечиванием растворов [3, стр.46].

Способность порфиринов координироваться с ионами металлов с образованием прочных внутрикомплексных солей связана с образованием четырех эквивалентных σ -связей $N \rightarrow M$ и заполнением вакантных s-, p_x -, p_y - и $(n-1)d_{x^2-y^2}$ или $nd_{x^2-y^2}$ - орбиталей катиона σ -электронами центральных атомов азота. Возникающие при этом σ -связи в случае металлов Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} столь прочны, что твердые комплексы практически не обменивают ионы металлов на протоны при концентрации 2—7 M H_2SO_4 [1, стр.95]. В зависимости от типа металла образуются либо лабильные, либо стабильные комплексы с металлами (лабильные - это комплексы металлов Li, Na, Ca, Be, Hg, Pb, диссоциируют под действием H_2O , и Mg^{2+} , Cd^{2+} - в разбавленных растворах кислот, а стабильные - это комплексы металлов Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Pd^{2+} , Ag^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{3+} , Zn^{2+}) [1, стр.147].

Особенностью металлопорфиринов является их нерастворимость в воде и растворимость в органических растворителях в тех случаях, если среди пиррольных заместителей отсутствуют мощные центры сольватации [1, стр.6]. Поэтому взаимодействие порфиринов с растворителем может происходить за счет сил Ван-дер-Ваальса, дисперсионных и π - π -взаимодействий или взаимодействий начальной стадии окисления-восстановления, т. е. за счет

образования комплексов с переносом заряда (КПЗ). В случае сильной структурированности растворителя за счет Н-связей, кроме дипольного, ион-дипольного или π - π -взаимодействия, большой вклад в энергетику растворения и сольватации вносит вклад по созданию полостей для π -системы макроцикла и протяженных функциональных групп (например, фитольный остаток в случае хлорофилла) [3, стр.165].

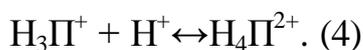
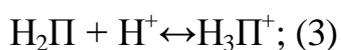
Металлопорфирины ряда металлов ($M = Mg, Zn, VO, Co, Ni, Fe, Mn$) относятся к группе координационно-ненасыщенных, поскольку ионы металлов используют только часть (естественно, большую) своего химического сродства в металлопорфиринах. Они могут расширять свою валентность с 4 (dsp^2, sp^2d) до 6 (d^2sp^3, sp^3d^2) и давать устойчивые экстракомплексы с ДМСО, ДМФА (диметилсульфоксидом, диметилформамидом), аминами, а в ряде случаев с H_2O (хлорофилл), O_2 (гем, Со-порфирин) состава $(L_3)_nMP$, где $n = 1$ или 2 , а L_3 — экстралиганд [3, стр.164]. Возможно, что экстраординация - присоединение пятого и шестого лиганда по оси z , перпендикулярной плоскости молекулы металлопорфирина, является самой главной их функцией, если речь идет о биологически активных металлопорфиринах, таких, как хлорофилл, гем и ферменты тетрапиррольного типа. Хлорофилл только в комплексе с белком, который является экстралигандом, может осуществлять фотосинтез. Гем в составе гемоглобина крови представляет собой комплекс, который в процессе насыщения крови кислородом вступает с последним и одновременно с остатком имидазола в экстраординацию.

Понятие ионизационных свойств молекул порфиринов охватывает образование ионных форм, то есть процессы, связанные с изменением заряда. Можно представить различные пути ионизации молекул порфиринов. Как соединения, содержащие две наиболее протонизированные связи $N-H$, они в сильно протоноакцепторных средах могут образовывать моноанион (HP^-) и дианион (P^{2-}) в равновесных процессах:



При этом возможна ионизация кислотных заместителей боковых цепей порфирина, содержащих карбоксильную, гидроксильную, сульфогруппу или другие группы, ионизация которых мало отличается от ионизации соответствующих функциональных производных органических соединений.

Для молекул порфиринов характерно присутствие от четырех до восьми гетероатомов, являющихся носителями π -электронов. Поэтому можно ожидать их протонирования на N-атомах с образованием катионных форм порфиринов - монокациона (H_3P^+), дикациона (H_4HP^{2+}) и катионов высшего порядка по реакциям



Ионизация по типу (1) — (4) действительно хорошо известна и может быть обобщена термином «анионно-катионная» ионизация [1, стр.43]. Также возможно получение ионных форм анион-радикальной или катион-радикальной ионизации (взаимодействие с донорами или акцепторами электронов). Дианион порфирина P^{2-} является сильнейшим основанием, не уступающим по силе карбоксильным анионам алкилнатрия и тому подобным соединениям. Даже в растворах предельно концентрированных щелочей реакции 1, 2 практически не идут (порядок констант ионизации около 10^{-30} и ниже) [1, стр.56]. В растворах ДМСО дианионы стабилизированы в виде солей щелочных металлов [2, стр. 59]. Протонирование порфиринов в центре молекулы облегчается за счет электростатического отталкивания атомов азота пиррольных колец, в результате чего пиррольные кольца попеременно наклоняются к плоскости четырех мезоатомов углерода вниз и вверх (I — вверх, II — вниз, III — вверх, IV — вниз) не менее чем на 33° [2, стр.21]. Протонирование с последующей ионизацией и образованием катионных форм, согласно уравнениям 3 и 4, происходит, как правило, при введении в раствор H_2P сильных минеральных или органических кислот $HClO_4$, H_2SO_4 , HCl , H_3PO_4 , CCl_3COOH , RSO_3H в органическом растворителе; этот процесс происходит значительно легче в растворах, содержащих воду, например, в 90%-ной и более разбавленной CH_3COOH или в

95%-ной HCOOH. В тех случаях, когда порфириновая молекула содержит карбоксильные группы, предполагается протонирование и солеобразование в смесях органических растворителей и уксусной кислоты. Глубина протекания реакции протонирования чрезвычайно сильно зависит от строения молекулы лиганда: протонирование порфиринов происходит относительно легко [1, стр.62]. Протонирование металлопорфиринов протекает при гораздо более жестких условиях с разрушением комплекса металла. Линейные тетрапирролы характеризуются большей основностью, чем аммиак и проявляют большее сродство к протону, чем аналогичные производные порфина [5, стр.193].

Спектры поглощения растворов порфиринов в видимой области при комнатной температуре состоят из четырех основных полос небольшой интенсивности ($\epsilon_{\max} \sim 10^3 - 10^4$ л/моль·см), которые традиционно нумеруют

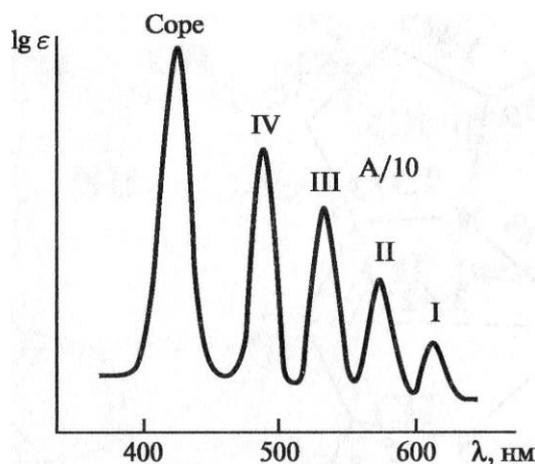


Рис 1.4 Электронный спектр поглощения порфирина этиотипа.

римскими цифрами, начиная с длинноволновой полосы (рис. 1.4) [1]. Часто наблюдаются и дополнительные полосы еще меньшей интенсивности [4, стр.8]. Максимумы поглощения порфиринов появляются в результате возбуждения электронов на двукратно-вырожденных (имеют почти одинаковую энергию) молекулярных орбиталей основного состояния, на орбитали возбужденного состояния (I и III). Вторую и четвертую полосы поглощения в ЭСП (электронный спектр поглощения) собственно порфиринов относят [17] к колебательным спутникам чисто электронных переходов в полосах I и III [3, стр.43]. Интенсивная полоса в ближайшем ультрафиолете (полоса Core) отвечает разрешенному чисто электронному переходу. Она имеется у всех тетрапиррольных и тетраизоиндольных ароматических макроциклов [2, стр.24].

Наличие делокализованной π -электронной системы макроцикла порфирина приводит к возникновению сильного кольцевого тока в молекулах, помещенных в мощное магнитное поле. Кольцевой ток вызывает анизотропное экранирование протонов, находящихся в поле его действия, и наряду с диамагнитной составляющей спаренных σ -электронов, а также с парамагнитным воздействием ненулевого спина на электронную плотность, окружающую протоны, приводит к наиболее сильному химическому сдвигу их сигналов в спектрах ПМР (протонного магнитного резонанса). Причем в диамагнитных молекулах порфиринов кольцевой ток является наиболее мощным фактором [2, стр.36]. Удельная электропроводность Н₂П и МП лежит обычно в пределах от 10^{-15} до 10^{-3} См/м [6].

Флуоресценция растворов является другим свойством, вызванным наличием сопряженных двойных связей; молекула порфирина может поглощать квант света и, таким образом, переносить электроны на более высокий энергетический уровень. При возвращении электронов на исходный уровень часть энергии излучается в виде фотонов, длина волны которых больше длины волны возбуждающего света. Высокая температурная устойчивость молекул порфирина также вытекает из их структурных особенностей.

Порфирины способны к реакциям электрофильного замещения в незамещенные положения в порфириновом кольце. Это реакции дейтерообмена, нитрования, галогенирования, ацилирования (алкилирования) по Фриделю-Крафтсу и формилирования по Вильсмейеру как в незамещенные пиррольные положения, так и по мезо-углеродным атомам [2, стр. 239 - 260].

Порфирины являются «амфотерными» редокс-реагентами и обладают способностью не только легко принимать, но и легко отдавать электроны. Поэтому способны к электроокислению и электровосстановлению. Общее число электронов, переносимых при электровосстановлении некоторых порфиринов приближается к пяти-шести. В случае металлопорфиринов восстановление может идти либо с образованием анион-радикалов, либо с изменением степени

окисления металла. Процессы окисления с участием одного и двух электронов приводят соответственно к катион-радикалу и дикатиону [4, стр.150].

1.2 Природное распространение и применение порфиринов и линейных тетрапирролов

Порфирины и металлопорфирины - соединения, обладающие рядом уникальных свойств. Именно эти свойства (макрокольцо с сопряженной π -электронной системой, способность металлопорфиринов к дополнительному комплексообразованию, к переносу электрона, хромофорная активность, и т.д.) обуславливают интерес и интенсивные исследования порфиринов и металлопорфиринов [7, 2, стр.175]. Исследования включают широкий круг вопросов: выяснение роли порфиринов, входящих в состав сложных белковых комплексов, раскрытие путей биосинтеза хлорофилла и гема, создание на основе порфиринов катализаторов химических и ферментативных процессов, использование порфиринов и металлопорфиринов в качестве лекарственных препаратов, полупроводников и т. д. [2, стр.175]

Порфирин-содержащие объекты широко распространены в живой и неживой природе. Так, гемоглобин и другие производные гема содержатся в большинстве живых организмов, а различные виды хлорофиллов участвуют в фотосинтезе растений. Порфирины обнаружены в нефти, угле [2,7,8,14,15], сланцах, в асфальтенах, в глубинных водах, в углистых хондритах (метеоритах), в образцах лунных почв [2, стр.175].

Хлорофилл - магниевый комплекс хлорофилл-лиганда (феофитина) с катионом магния. Хлорофиллы различаются между собой степенью гидрирования порфиринового цикла и набором заместителей при нем. Хлорофиллы широко распространены в природе, хотя их число не превышает десяти. Зеленые листья, семена многих растений, а также морские водоросли содержат хлорофиллы. Высшие растения и зеленые водоросли содержат хлорофилл *a* (рис. 1.5) и хлорофилл *b*, бурые и диатомовые водоросли - хлорофилл *a*, хлорофилл *c*₁ и

хлорофилл c_2 , красные водоросли - хлорофиллы a и c . В пурпурных фотосинтезирующих бактериях находятся близкие аналоги хлорофиллов - бактериохлорофиллы [2 стр.176]. Эти металлопорфирины осуществляют один из важнейших биологических процессов - процесс фотосинтеза. При этом растения используют продукты полного окисления органических веществ (углекислый газ и воду) и солнечную энергию для синтеза сложных органических веществ, необходимых для жизнедеятельности растений, в результате реализации пищевых цепочек. Комплексы Cu^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} и другие с хлорофилловой кислотой также могут в малых количествах образовываться в некоторых растениях и играть существенную роль в биопроцессах. Предполагается участие металлоаналогов хлорофилла с железом, медью в составе хлоропласта в качестве электронных ловушек [1, стр. 9].

Благодаря доступности хлорофиллы a и b могут использоваться для получения их металлоаналогов сравнительно простыми методами [2, стр.178]. Например, пищевая добавка E141 - медный комплекс хлорофилла [9]. В отличие от хлорофилла этот краситель изумрудно-зеленого цвета является термостойким, светоустойчивым и более устойчив в кислых растворах [10].

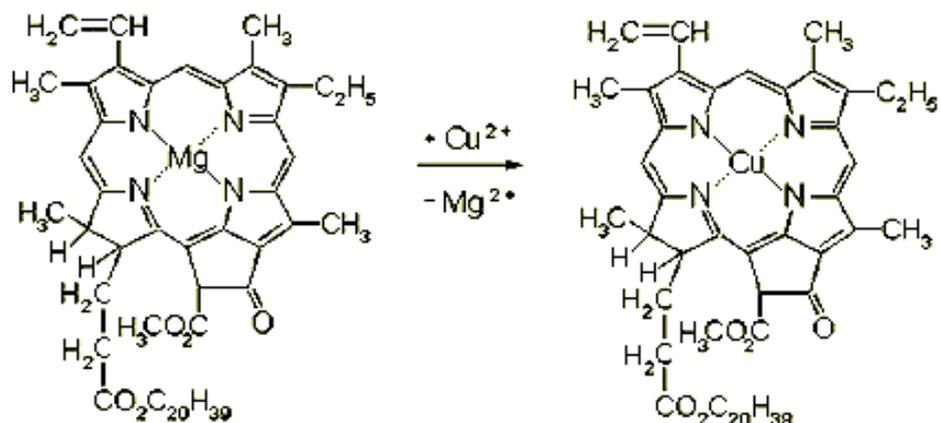


Рис. 1.5 Хлорофилл а и его медный комплекс.

Другими важнейшими металлопорфиринами являются протопорфирины $Fe(II)$ и $Fe(III)$. Гемоглобин, состоящий из белковой части и гема, отвечает за перенос кислорода и углекислого газа в организме, а миоглобин сохраняет запасы кислорода в мышцах. Таким образом, оба эти комплекса обеспечивают дыхание

живых существ. Дыхание является началом сложных окислительно-восстановительных реакций в клетках. В таких реакциях участвуют модифицированные молекулы протопорфирина Fe(III). Окисленная форма гема, содержащая Fe(III), называется гемином. Гемин - наиболее часто встречающееся производное порфирина, содержащееся в материалах животного происхождения. Многочисленные производные порфиринов могут быть получены при наличии в качестве исходных соединений гемина или протопорфирина [2, стр.198]. Эти молекулы являются биологическими катализаторами - ферментами и составляют многочисленную группу цитохромов. В отличие от гемоглобина цитохромы являются группой сходных соединений, их состав варьируется в незначительной степени от строения порфиринового цикла с Fe III и в большей степени - от полипептидного окружения (от их количества, строения и способа связывания с гемом - ковалентное или нековалентное). Цитохромы являются природными переносчиками электронов за счет обратимого изменения валентности железа и участвуют в окислительно-восстановительных превращениях [11, стр. 5-6]. Наиболее изученным представителем цитохромов можно считать цитохром *c* (рис. 1.6). В активном центре цитохрома гем связан с двумя аксиальными лигандами, а именно гистидином и метионином (рис. 1.8). Наличие тиоэфирного лиганда вносит существенные изменения в свойства комплекса, что, в свою очередь, проявляется в функциональных особенностях [2, стр.169]. Также помимо цитохромов и гемоглобина важные функции в организмах выполняют каталаза, пероксидаза. Каталаза предохраняет живую клетку от разрушительного действия перекиси водорода [1, стр. 10], а пероксидаза выполняет роль фермента в окислительно-восстановительных процессах.

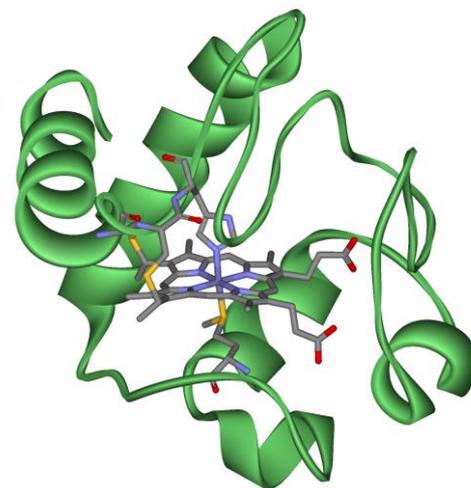


Рис. 1.6 Цитохром *c* биологическими

Структурные аналоги природных порфиринов являются удобными молекулярными моделями для изучения поведения хлорофилла в фотофизических и фотохимических процессах фотосинтеза.

Металлопорфирины широко исследуются и используются в качестве катализаторов электрохимических реакций окисления-восстановления. Например, катализ восстановления молекулярного кислорода в низкотемпературных топливных элементах или процесса производства водорода из воды термоэлектрохимическим сернокислотным способом [6]. Множество трудов посвящено порфириновому катализу окислительно-восстановительных реакций [6,14-16], реакций изомеризации и полимеризации [15-16], фотохимических и фотоэлектрохимических реакций [6,17,18].

Порфирины обладают фото- и полупроводниковыми свойствами (дырочная проводимость). Отсюда, например, идеи использования порфиринов для солнечных батарей [6,19-22]. Отщепляя или присоединяя один или несколько электронов порфирины и металлопорфирины образуют ион-радикальные формы, отличающиеся высокой стабильностью. При генерации этих форм на поверхности электрода, их цвет будет определяться приложенным потенциалом, что может быть использовано в электрохромных устройствах [4].

Металлопорфирины обладают ценными колористическими свойствами (например, для придания красной окраски колбасным изделиям можно использовать кобальтовый комплекс динатриевой соли гематопорфирина [4, 23], или, как уже упоминалось ранее, использовать медного комплекса хлорофилла для придания продуктам зеленого цвета).

В медицине порфирины используют как противоопухолевые, антибактериальные [24,25], противорадиационные средства, средства для лечения глазных заболеваний и антидепрессанты. Это такие препараты как алоферин, фогем, хлорофиллипт, катахром, фотофрин, и т.д. [4, стр. 262-285]

Линейные тетрапирролы

Желчные пигменты (такие как билирубин) и их аналоги служат как продуктами, так и субстратами метаболизма порфиринсодержащих молекул [5, стр. 7].

Важную роль выполняют линейные тетрапирролы и в растениях, где образуют комплексы с белками, называемые фитохромами. В составе фитохрома

тетрапиррол может находиться в двух взаимопревращающихся конформациях, переход между которыми инициируется светом и сопровождается изменением конформации связанного с тетрапирролом белка, что, в свою очередь, инициирует в растительных клетках ряд светозависимых процессов: синтез хлорофилла, образование и развитие листьев и т. д. (совокупность этих явлений называется фотоморфогенезом). У представителей низших форм жизни, не способных к фотосинтезу (некоторые бактерии, беспозвоночные), линейные тетрапирролы встречаются редко и обычно выполняют роль пигментов (голубые, красные и другие красители) [5, стр.77-78].

1.3 Гемоглобин

Гемоглобины - родственные гемопротеины, находящиеся в эритроцитах человека и позвоночных животных и отвечающие за перенос кислорода и углекислого газа в организме. Состоят из белковой части - глобина (в таблице 1.1 приведен примерный аминокислотный состав глобина) и комплекса протопорфирина с железом - гема (рис.1.7). Атом железа в геме помимо четырех связей с атомами азота может образовывать еще две координационные связи перпендикулярно плоскости макрокольца. За счет этой особенности атома железа в геме осуществляется, например, перенос кислорода гемоглобином [26 стр. 45-65].

Благодаря английскому биохимику М. Ф. Петруцу известна пространственная структура молекулы гемоглобина (с 1960 года) [26 стр. 45-65]. Молекула гемоглобина человека и млекопитающих содержит четыре субъединицы (протомера): две α (141 аминокислота) и две β (146 аминокислот), содержащие полипептидные цепочки двух сортов (рис.1.8). Эти четыре протомера, соединенные между собой гидрофобными, водородными и ионными связями [26 стр. 45-65], образуют практически правильную форму шара размером $5 \times 5,5 \times 6,4$ нм [27, стр.77]. Хотя аминокислотные последовательности этих цепочек различны, они имеют одинаковые пространственные структуры [28] и состоят из

8 спиралей, свёрнутых в плотную глобулярную структуру, содержащую внутреннее гидрофобное ядро и "карман" для связывания гема. Центр связывания гема с глобином образован преимущественно гидрофобными остатками глобина [26 стр. 45-65], и присоединение происходит за счет кислотно-основного взаимодействия атомов азота аминокислотных остатков белка и остатков пропионовой кислоты порфирина [26 стр.10].

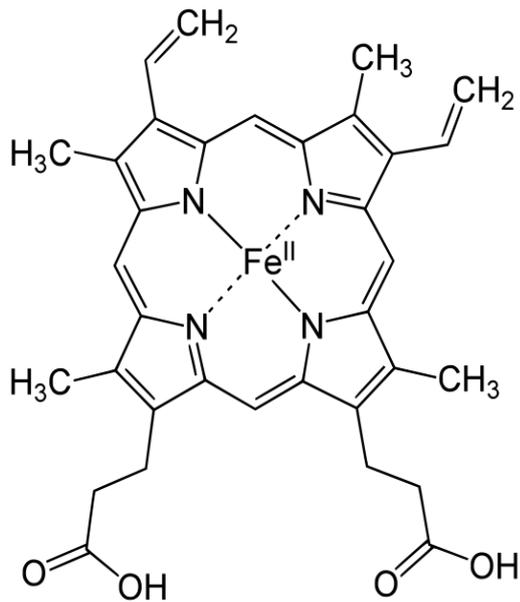


Рис. 1.7 Гем

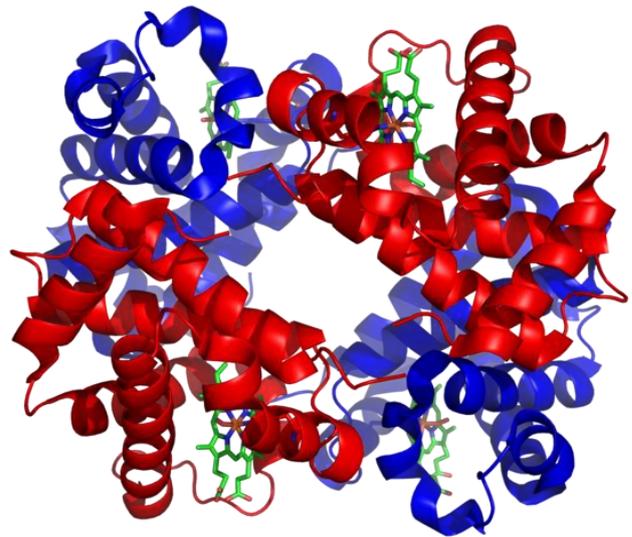


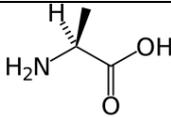
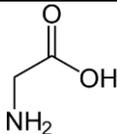
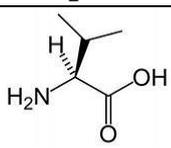
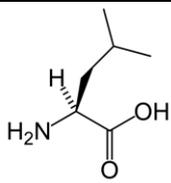
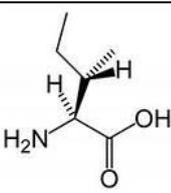
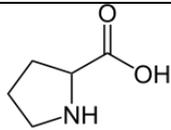
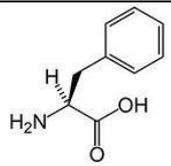
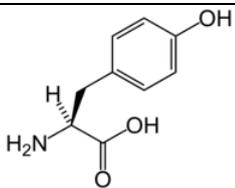
Рис. 1.8 Структура гемоглобина человека.

α и β субъединицы белка окрашены в красный и синий, группы железосодержащего гема - зеленый.

Гемоглобины различных живых организмов содержат одну и ту же простетическую группу, а состав белковой части будет различным (даже внутри видов возможны колебания аминокислотных последовательностей - см. человеческий гемоглобин). Эти различия, определяемые генетическими факторами, приводят к изменению максимумов поглощения света, растворимости, изоэлектрической точки, сродства к кислороду и устойчивости изолированных пигментов к кислотам, щелочам и нагреванию [30, 31].

Таблица 1.1

Аминокислотный состав гемоглобина [5].

Аминокислота	Число	Структурная формула аминокислоты	Число кислотных и основных групп в аминокислоте - n				
			COOH	NH ₂	NH	OH+SH	N пиридиновых
1	2	3	4	5	6	7	8
Аланин	54		1	1			
Глицин	48		1	1			
Валин	50		1	1			
Лейцин	75		1	1			
Изолейцин	0		1	1			
Пролин	22		1				1
Фенилаланин	30		1	1			
Тирозин	11		1	1		1	

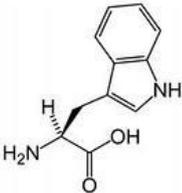
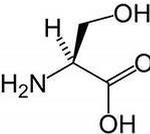
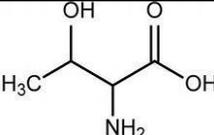
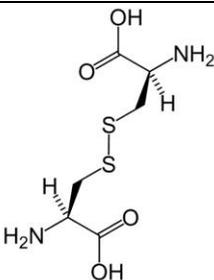
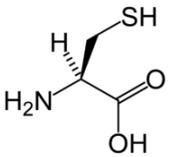
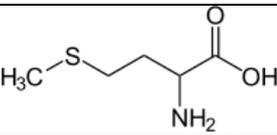
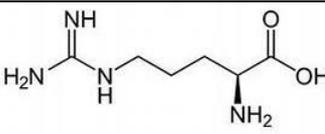
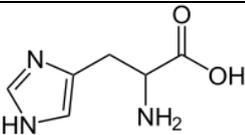
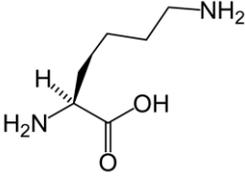
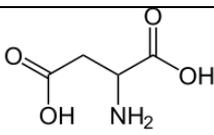
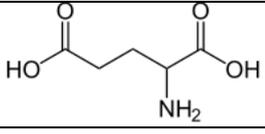
<i>Продолжение таблицы 1.1</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8
Триптофан	5		1	1			1
Серин	35		1	1			1
Треонин	24		1	1			1
Цистин 2	2,5		2	2			
Цистеин	3		1	1			1
Метионин	4,5		1	1			
Аргинин	14		1	3	1		
Гистидин	36		1	1			2
Лизин	38		1	2			
Аспарагиновая кислота	51		2	1			
Глутаминовая кислота	38		2	1			

Таблица 1.2

Аминокислотный состав гемоглобинов различных видов животных [29].

Гемоглобин	Содержание аминокислот в мольных процентах			
	Серин + треонин	Аланин + валин + изолейцин + лейцин	Фенилаланин + валин + изолейцин + лейцин	Аргинин + гистидин + лизин
Человеческий А	11,15	35,9	28,6	16,38
Человеческий А ₂	10,87	36,3	28,6	16,38
Человеческий S	11,15	36,2	28,9	16,38
Человеческий F	14,29	33,8	27,9	16,03
Человеческий H	8,22	34,9	30,1	15,75
Бычий	12,09	37	28,3	17,97
Лошадиный	10,54	35,7	29,9	16,33
Свиной	10,1	35,2	28,9	17,07
Мышиный	11,19	36,7	27,6	16,43

Различают следующие виды человеческого гемоглобина: 98% общего количества гемоглобинов составляет гемоглобин А, содержащий 2 полипептидных цепи α и 2 β , о котором уже упоминалось ранее, гемоглобин А₂ (2%) - 2 α и 2 δ -цепи, гемоглобин А_{1c} - гемоглобин А, модифицированный ковалентным присоединением к нему глюкозы (так называемый гликозилированный гемоглобин). Также различают эмбриональный и фетальный гемоглобин (синтезируются в плоде до его рождения) [26 стр. 45-65]. Помимо этих видов гемоглобина в организме могут присутствовать аномальные виды гемоглобина, которых известно более трехсот [27].

Помимо различных видов гемоглобина специальные названия получили соединения гемоглобина с различными веществами, свойства которых также отличаются:

- Оксигемоглобин или гемоглобин оксигенированный - обратимое соединение гемов гемоглобина и кислорода, которое обеспечивает перенос кислорода последнего кровью от легких к тканям.
- Карбоксигемоглобин - продукт необратимого присоединения СО.

- Метгемоглобин - окисленная форма гемоглобина, в которой железо находится в трехвалентном состоянии. В такой форме невозможно присоединение кислорода к железу гема. Одной из причин окисления железа является воздействие кислорода, поэтому при дыхании в эритроцитах непрерывно образуется метгемоглобин. В эритроцитах существует специальная ферментативная система для восстановления железа [28].

Исследования по созданию так называемых функционирующих гемосодержащих полимеров привели к получению полигемоглобина - гемоглобин сшитый в ультратонкие мембраны для формирования мембраны искусственных эритроцитов [32 с.17].

Помимо переноса кислорода и углекислого газа, гемоглобин обладает буферной емкостью, влияет на ионный состав крови и способен связывать некоторые токсичные вещества (например, CO) [33, 34]. В результате жизнедеятельности в организме может вырабатываться большое количество протонов или гидроксид-ионов. Например, в результате физических нагрузок в организм может поступить большое количество молочной кислоты. Если такое же количество молочной кислоты прибавить к объему дистиллированной воды, равному объему циркулирующей крови, то концентрация ионов H^+ возросла в ней в 40 000 раз. Реакция же крови при этих условиях практически не изменяется, что объясняется наличием буферных систем крови, около 75% которых обеспечивает гемоглобин [33 стр.234-235]. В буферных свойствах гемоглобина важную роль играет присоединение кислорода: оксигемоглобин проявляет более сильные кислотные свойства, а дезоксигемоглобин - основные [28].

Растворимость гемоглобина в воде зависит от состава раствора и концентрации самого гемоглобина (по некоторым данным в очень разбавленных растворах концентрацией несколько сотых ммоль/л молекулы гемоглобина могут даже "разваливаться" до димеров [35]). Поскольку в состав гемоглобина входит нерастворимый гем и целый ряд аминокислот, которые обладают и гидрофобными, и гидрофильными свойствами, а связи между полипептидными цепями являются преимущественно полярными (ионными и водородными), то

растворимость и конформация молекулы будет сильно зависеть от рН [26 стр. 45-65]. При обработке растворов гемоглобина разведенными минеральными кислотами и щелочами или нагревании оксигемоглобина выделяется окисленная форма гема - гематин (гем с трехвалентным железом).

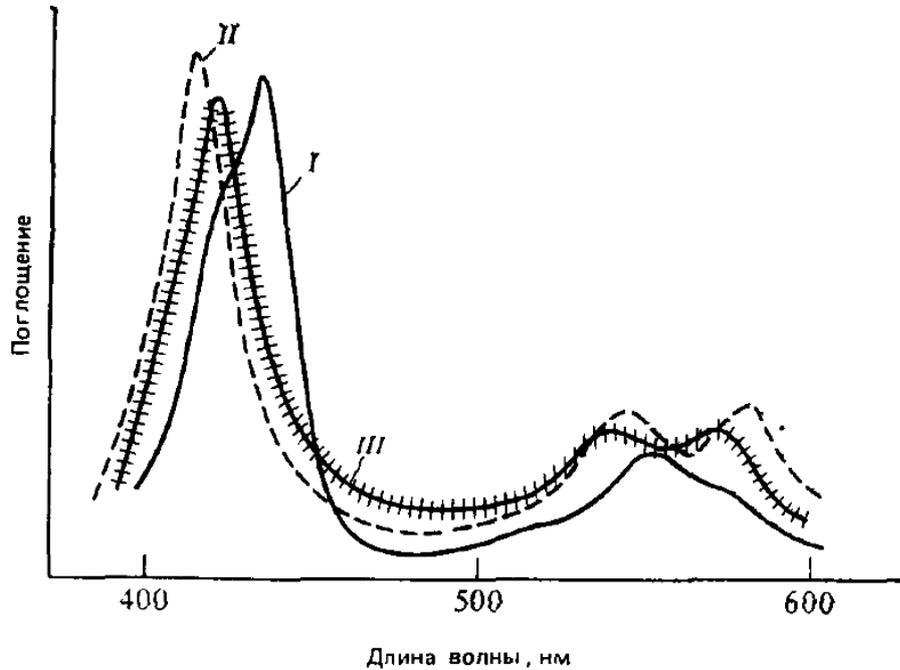


Рис. 1.9 Спектры поглощения света дезоксигемоглобином (I), оксигемоглобином (II) и карбоксигемоглобином (III) [31, стр.174]

Подобно другим порфиринам спектры поглощения гема и гемоглобина характеризуются интенсивными полосами Соре в районе 400 нм (рис. 1.9), а также другими интенсивными пиками поглощения между 500 и 600 нм. Максимумы поглощения дезоксигемоглобина - 425 и 650 нм, оксигемоглобина - 414, 543 и 578 нм [31, стр.174]. Для различных видов животных также возможны некоторые отличия в спектрах поглощения (рис. 1.10).

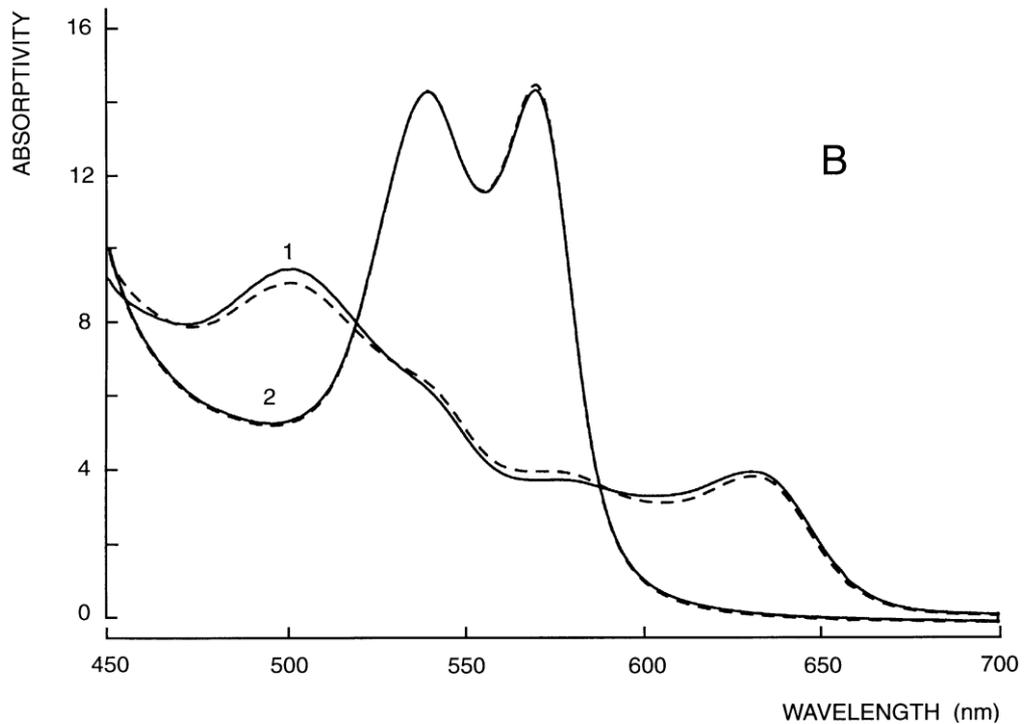


Рис. 1.10 Спектр поглощения бычьего(обозначен непрерывной линией) и человеческого (обозначен пунктиром) гемоглобина (1) и карбоксигемоглобина (2) [36].

1.4 Хлорофилл

Огромное количество современных исследований посвящено хлорофиллам и подобным соединениям. В составе белково-липидного комплекса хлорофилл осуществляет начальную стадию фотосинтеза в зеленых растениях и фотосинтезирующих бактериях - стадию запасания и передачи энергии кванта света, стадию фотопереноса электрона по сложной цепи фотосинтетического аппарата от восстановителей к окислителям [1 стр.8-9].

В настоящее время известно около десятка хлорофиллов, которые отличаются по химическому строению, окраске, распространению среди живых организмов. Строение заместителей порфиринового кольца может отличаться [34], но строение самого шестнадцатичленного порфиринового макроцикла $C_{12}N_4$ одинаково, например, хлорофиллы высших растений *a* и *b* отличаются только одним из заместителей; у хлорофилла *a* заместитель - метил и хлорофилла *b* -

формил (рис.1.11). Оба хлорофилла содержат фитольный остаток. Диаметр порфиринового ядра составляет 10 нм, а длина фитольного остатка — 2 нм. Порфириновое кольцо гидрофильно, а фитольный остаток гидрофобен [37].

Макрокольцо, имеющее ароматическую систему сопряжения, ответственно за окислительно-восстановительные и комплексообразующие свойства. Его 18-членная π -электронная система состоит из 9 связывающих ψ_{π} молекулярных орбиталей и 9 разрыхляющих ψ_{π}^* -орбиталей [3 стр.150]. Именно порфириновое кольцо, содержащее магний, обеспечивает окраску хлорофилла и поглощение им световой энергии в процессе фотосинтеза за счет наличия в молекуле хлорофилла сопряженных двойных связей с подвижными π -электронами и атомов азота с неподеленными электронами. Особую роль в структуре хлорофилла играет ион магния, координированный своими $3sp^3d^2$ -гибридными орбиталями с атомами азота главного реакционного центра MgN_4 хлорофилла [3 стр.154]. Радиус атома магния соответствует размерам координационной полости макроцикла лиганда хлорофилла (радиус - 0,24 нм, полость - 0,25 нм [37]) и это соединение достаточно стабильно даже в условиях присутствия ряда протондонорных соединений в клетках растений. Вместе с этим на Mg в хлорофилле остается достаточно высокий эффективный заряд (около +1) [3 стр.154].

Магний в составе хлорофилла координационно ненасыщен и охотно присоединяет еще два лиганда (так называемые экстралиганды) по оси z, перпендикулярной плоскости молекулы (вторичная координация). Этот механизм используется, например, при экстраординации молекулы H_2O , которая в комплексе с хлорофиллом играет ключевую роль в качестве источника электрона, участвующего во всех темновых стадиях фотосинтеза [3 стр.154]. Возможно, именно по этому механизму присоединяется молекула белка, слабо координирующаяся с магнием С—О- или NH-центрами карбамидной связи. Однако не исключено, что комплекс хлорофилла с белком образуется не за счет донорно-акцепторного взаимодействия центрального атома с белком, а за счет сил кислотно-основного взаимодействия и ван-дер-ваальсовых сил [1 стр.8-9].

Фитольный остаток препятствует растворению макроциклов во всех растворителях, полярных и неполярных, электронодонорных и акцепторных. Причина очевидна — необходима энергия на создание полостей в структуре растворителя (в среднем 10^{-15} кДж·моль⁻¹) [3, стр.156]. В воде хлорофилл нерастворим, может присоединять одну или две молекулы как экстралиганды, в смешанных растворителях, возможно даже образование хлорофилл-вода агрегатов [38]. Хорошо растворяется в органических растворителях (спиртах, эфирах, маслах). Одним из лучших растворителей порфиринов группы хлорофилла является протондонорный растворитель - хлороформ (образование водородных связей со сложноэфирными группами - COO(R)···HCCl₃) [3, стр.157].

Хлорофилл легко разлагается от действия света, кислот и щелочей. Обладает многочисленными функциональными группировками, способными в определенных условиях к изменению при действии различных химических реагентов. При установлении строения хлорофилла Фишер получил свыше 600 его структурных и металлоаналогов. Многие из структурных аналогов хлорофилла неустойчивы и не имеют существенного значения [2, стр.184].

В зависимости от структуры хлорофиллов они будут иметь различную молекулярную массу: у хлорофилла *a* она составляет 893.49 г/моль, *b* - 907.47 г/моль.

Спектры поглощения хлорофиллов будут отличаться в зависимости от заместителей макрокольца и будут иметь максимум поглощения в области полосы Core (около 400 нм), характерной для порфиринов, и максимумы в области красного света, что обуславливает их окраску (рис. 1.12).

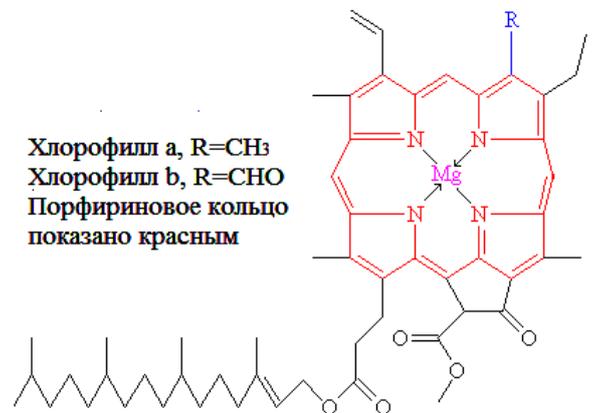


Рис. 1.11 Хлорофиллы *a* и *b*

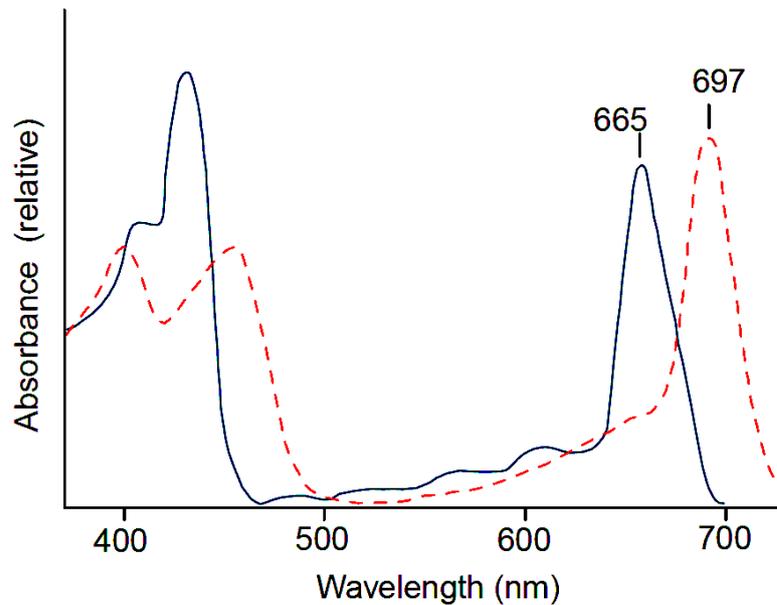


Рис.1.12 Спектры поглощения хлорофилла *a* (синяя непрерывная линия) и хлорофилла *d* (красный пунктир) [38].

1.5 Билирубин

Из линейных олигопирролов наибольшее значение у животных имеют тетрапиррольные желчные пигменты, которые являются основными компонентами желчи и обуславливают ее окраску. У млекопитающих они бывают двух видов: биливердины и билирубины, среди изомеров которых преобладают биливердин IX α и билирубин IX α .

Билирубин привлекал внимание врачей с глубокой древности из-за его отличительного цвета. Гиппократ считал его одним из четырех важных соков тела: крови, слизи, черной желчи и желтой желчи. Древняя индийская книга медицины Аюрведа, также включала его среди трех основных факторов - газов, желчь и слизь - правильный баланс, который считался критическим для здоровья. В течение последних двух столетий химия обмена веществ и утилизации билирубина были тщательно исследованы поколениями химиков, биологов и клинических исследователей [39, стр.1449].

Молекула билирубина состоит из четырех пиррольных колец, имеющих различные заместители и соединенных метиновыми мостиками (рис. 4.2). Одними

из заместителей двух центральных пиррольных колец являются остатки пропионовой кислоты. Исходя из одних литературных источников кажущиеся логарифмы констант диссоциации карбоксильных групп этих остатков лежат в диапазоне 6,2-6,6 [93], из других - примерные значения констант диссоциации карбоксильных групп билирубина - $pK_1=5,4$, $pK_2=6,0$ [40].

Билирубин образуется в результате распада гема. В организме человека обычно образуется 250-400 мг/сутки. Как правило, около 80% билирубина берет начало от гемоглобина стареющих эритроцитов, а оставшийся билирубин производится в организме из гемсодержащих ферментов, таких как цитохромы, каталаза, пероксидаза и триптофан пиролаза и миоглобина. Часть билирубина выводится из свободного гема [39, стр.1450], образуя биливердин (также высвобождается белок глобин и железо). Под действием ферментов биливердин (рис. 1.13), восстанавливается до билирубина (рис. 1.14). Билирубин нерастворим в воде и в комплексе с альбумином попадает в печень, где в процессе конъюгации переводится в водорастворимую форму путем реакции с глюкуроновой кислотой. Водорастворимые глюкурониды выводятся из организма. Если этот процесс нарушается, происходит увеличение концентрации билирубина в крови, кожные покровы тела окрашиваются в желтый цвет и развивается заболевание, именуемое желтухой. Чаще всего причинами возникновения желтухи является нарушение функций печени и потеря способности конъюгировать желчный пигмент [5, стр.77-78].

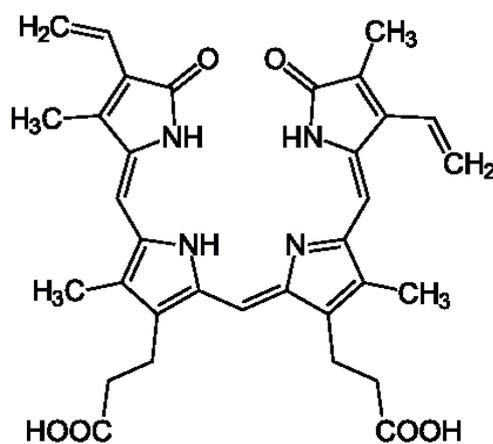


Рис. 1.13 Биливердин

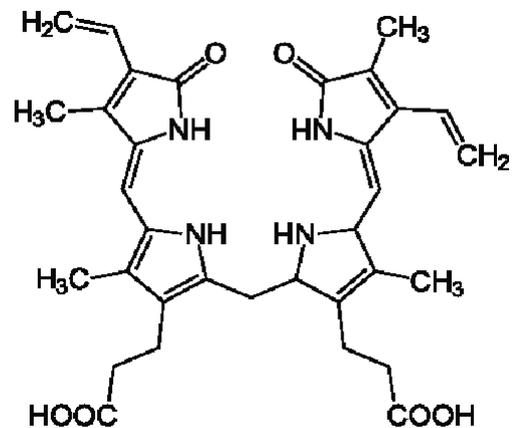


Рис. 1.14 Билирубин

Билирубин содержится в небольших количествах в плазме крови позвоночных животных и человека (концентрация у здорового человека составляет 3-10 мг/л). Избыток билирубина приводит к уменьшению активности митохондриальных ферментов, нарушению синтеза ДНК, блокировке процессов синтеза белка и процессов фосфорилирования [5, стр.94]. Билирубин не только продукт метаболизма и токсический агент, но и один из важнейших естественных антиоксидантов, ингибирующий развитие процессов окислительного стресса, поэтому нормальные физиологические концентрации данного пигмента считаются жизненно необходимым [5, стр.77-78].

Данные спектральных исследований позволило определить, что молекула билирубина в кристалле стабилизирована шестью внутримолекулярными водородными связями (рис.1.15) [5, стр.54]:

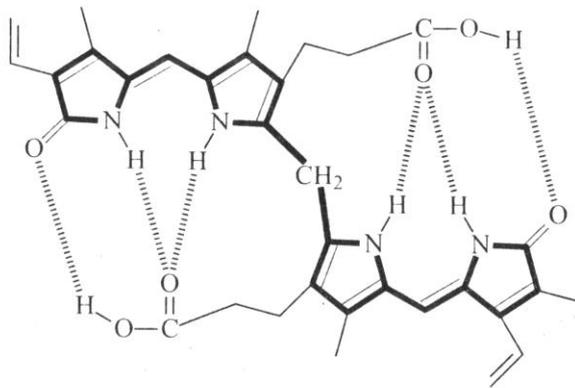


Рис. 1.15 Водородные связи в молекуле билирубина

Несмотря на то, что долгое время ученые пытались интерпретировать результаты рентгеноструктурного анализа в пользу циклической конформации, данные, полученные для мезобилирубина и других родственных структур, свидетельствуют о предпочтительной конформации "ridge tile" («складчатых плиток») рис. 1.16 [5, стр.54-55].

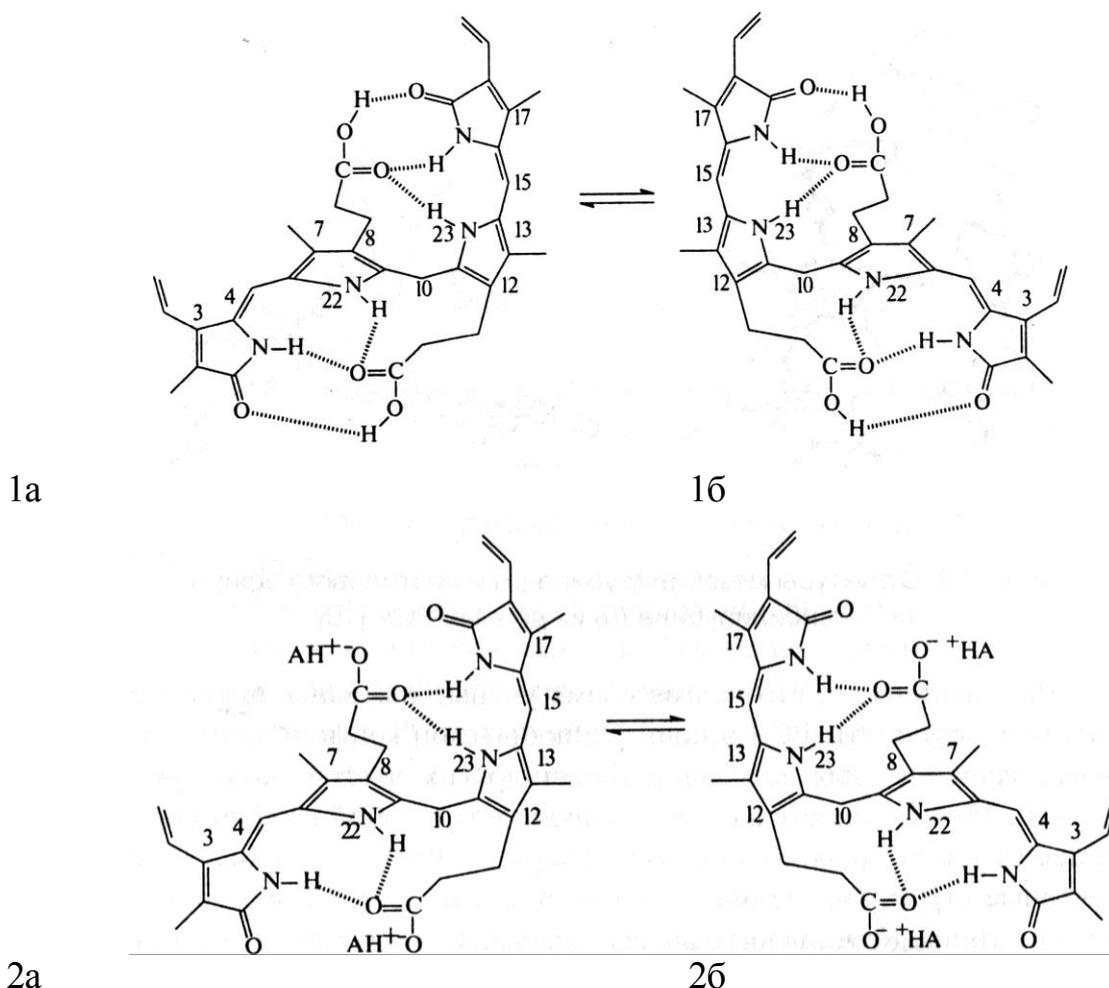


Рис. 1.16 "Ridge tile"-конформации молекулы (1) и дианиона (2) билирубина IXa. 1a и 2a — левовращающие (-), 1б и 2б — правовращающие (+) энантимеры; А — акцептор протона для растворов в хлороформе [5, стр.56].

В результате того, что донорные и акцепторные группы билирубина в конформации "ridge tile" задействованы на образование внутримолекулярных водородных связей, соединение имеет крайне низкую растворимость в воде. В щелочных водных растворах растворимость билирубина повышается за счет образования дианиона, что сопровождается разрывом двух из шести внутримолекулярных водородных связей и незначительным увеличением угла между плоскими дипиррольными фрагментами с сохранением общей конформации "ridge tile" (2a и 2б на рис. 3.1). Аналогичная ситуация наблюдается в растворах электронодонорных растворителей, где две внутримолекулярные водородные связи заменяются на водородные связи с гетероатомами растворителя. Данный процесс в зависимости от природы растворителя может сопровождаться частичной или полной диссоциацией карбоксильных групп

остатков пропионовой кислоты. При рН 5 билирубин в водных растворах существует преимущественно в молекулярной форме. При физиологическом значении рН 7,4 около 83 % билирубина существует в молекулярной форме, 16 % в виде моноаниона и лишь 1 % в виде дианиона. [3, стр.79]. Билирубин наименее растворим в неполярных растворителях (бензол, четыреххлористый углерод), что обуславливается большими размерами молекулы. В протонодонорных растворителях (хлороформ) билирубин растворяется с сохранением структуры «ridge tile»-конформации, а электронодонорных (ДМФА, ДМСО и C_5H_5N) сопровождается диссоциацией карбоксильных групп [5, стр.279-287].

Гидрофобность билирубина преодолевается связыванием с альбумином, с сахарами и глюкуроновой кислотой [5, стр.87-89]. Поэтому различают свободный и связанный билирубин.

Билирубин способен также образовывать комплексы с некоторыми двух- и трехзарядными металлами. Структура этих комплексов может быть порфириноподобной, могут образовываться биядерные комплексы. Структура таких комплексов будет зависеть от условий получения комплексов [5, стр.206-211].

Билирубин на свету нестабилен [40].

Спектр поглощения билирубина при нейтральных и щелочных рН в водных растворах имеет максимум при длине волны 440 нм [42], в хлороформе - 450 и в сыворотке крови - 460 [5, стр.156].

1.6 Коллоидные свойства гемоглобина, хлорофилла, билирубина и их аналогов

Основным центром исследований порфиринов, фталоцианинов, линейных олигопирролов в России является Ивановский государственный химико-технологический университет (ИГХТУ) и созданный на его основе в 1980 году в городе Иваново институт химии растворов им. Г.А. Крестова РАН (ИХР РАН). Ивановский государственный химико-технологический университет с июля 2008

выпускает журнал Макрогетероциклы, включенный в список ВАК и имеющий двухлетний импакт-фактор РИНЦ 2012 - 1,188*.

Одним из основателей направления изучения макроциклических соединений в ИХР РАН и ИГХТУ является Березин Борис Дмитриевич. В рамках научного направления, руководимого Б. Д. Березиным, возникли и в настоящее время успешно развиваются его учениками самостоятельные новые научные направления:

- термохимия порфиринов
- координационная химия комплексов порфиринов и фталоцианина с редкоземельными элементами
- новые синтетические методы в химии порфиринов
- теоретические исследования геометрической структуры и энергии молекулярных порфириновых систем методами молекулярной механики и квантовой химии
- разработка новых газофазных методов синтеза высокочистых металлопорфиринов
- электрохимия и спектроскопия электрохимия металлопорфиринов в растворах
- исследование природы макроциклического эффекта и др. [43].

Несмотря на интенсивность и популярность исследований химии порфиринов и линейных олигопирролов в России и за рубежом очень мало исследований, посвященных коллоидной химии этих веществ. Рассмотрим основные направления исследований в области коллоидной химии, встречающиеся в российской и зарубежной литературе.

Из-за плоской структуры макрокольца порфириновые молекулы имеют склонность к агрегации. Одним из способов уменьшить их агрегацию является присоединение объемных заместителей к макрокольцу [44]. В зарубежной литературе есть ряд работ, посвященных агрегации порфиринов [45-50], в России

* Материалы сайтов Ивановского государственного химико-технологического университета http://sci.isuct.ru/component/option,com_frontpage/Itemid,1/, журнала "макрогетероциклы" <http://macroheterocycles.isuct.ru/>, института химии растворов им. Г.А. Крестова РАН <http://www.isc-ras.ru/old-site/struc1-w.htm#2>, дата обращения 28.02.2014

же подобные исследования начали проводиться сравнительно недавно [51-55]. Существует два предельных типа агрегации порфиринов. Первый тип – это face-to-face ("лицом-к-лицу") агрегация, характеризующаяся гипохромным и гипсохромным сдвигом полос в электронных спектрах поглощения относительно полос мономерных форм и их значительным уширением [50, 56-58]. Ко второму типу относят face-to-edge ("лицом-к-краю") агрегацию, которая характеризуется батохромным сдвигом полос поглощения и острыми максимумами, но, главным образом, в отличие от face-to-face агрегатов, face-to-edge обладают сильной флуоресценцией [50,58]. Последние исследования подтверждают, что агрегация имеет место в неводных и в водных растворах. В литературе встречается упоминания о применении НП АВ (неионогенных поверхностно-активных веществ) для предотвращения агрегации порфиринов в растворах [51]. В работе [51] исследуется ассоциация безметалльного порфирина - тетраметилтрибензо-тетраазахлорина (H_2TBTC) в бинарных смесях полярных растворителей; рассматривается иммобилизация H_2TBTC в коллоидных растворах НП АВ. Для тетраазахлорина в ДМСО и бинарных смесях растворителей на его основе характерна face-to-face агрегация. При агрегации тетраазахлорина уменьшается макроциклический эффект, в связи с чем ослабевает экранирование координационного центра порфиринового кольца, что делает его доступным для сольватации электронодонорными (ДМСО, MeCN, ТГФ) или протонодонорными растворителями (C_2H_5OH , H_2O), причем протонодонорные растворители вступают во взаимодействие с третичными атомами азота $=N-$, а электронодонорные во взаимодействие с центральными иминоводородами $-NH$, при этом формируются комплексы с переносом протона (КПП), называемые Н-ассоциатами. Так, например увеличение содержания воды в смеси этанол-вода максимум главной составляющей Q-полосы ЭСП батохромно сдвигается с 743 нм на 753 нм, что хорошо объясняется теорией образования Н-ассоциата (рис.1.17). Для электронодонорных растворителей не наблюдается такого явного сдвига, хотя авторы предполагают некоторый сольватохромный эффект. При иммобилизации H_2TBTC в коллоидных растворах неионогенных ПАВ количество мономерной

формы зависит от гидрофильно-липофильных свойств ВМС и его структуры, причем, чем лучше НПВ адсорбируются на поверхности макроциклов тетраазахлорина и чем сильнее экранируют его от взаимодействия с водой, тем больше мономерной формы H_2TBTC присутствует в растворе. Было подобрано ПАВ, в котором H_2TBTC находится в мономерной форме (в растворе Cremophor EL) [51].

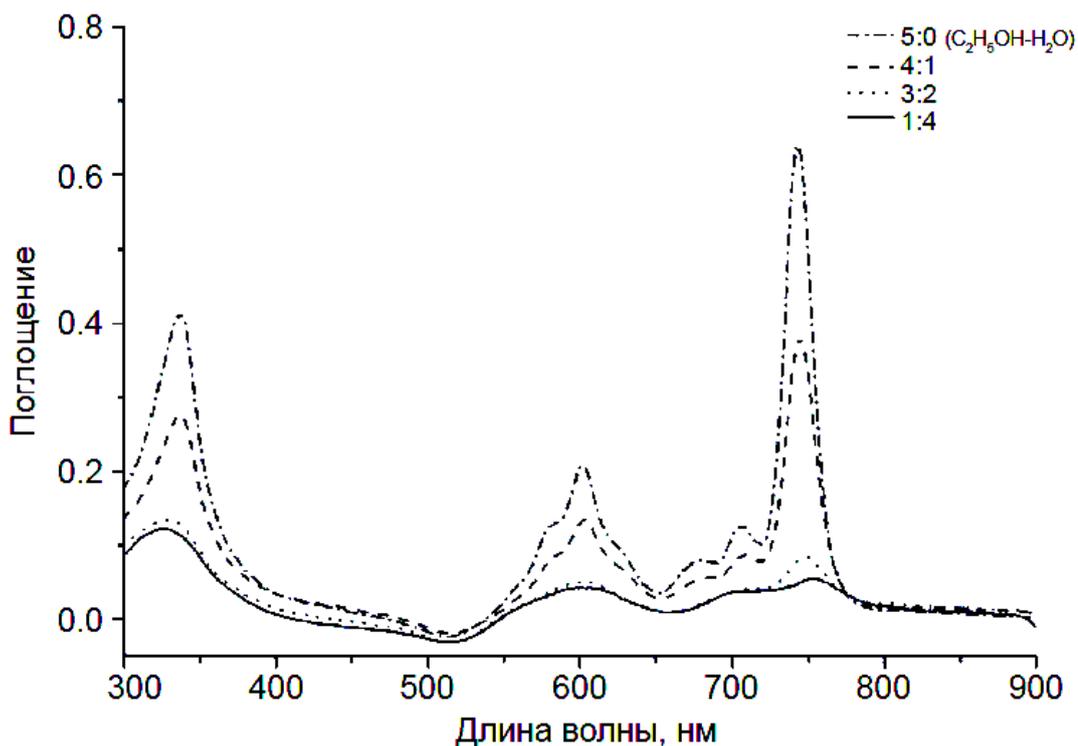


Рисунок 1.17 Электронный спектр поглощения H_2TBTC ($4,13 \cdot 10^{-5}$ М) в $C_2H_5OH-H_2O$ с различным соотношением компонентов бинарной смеси растворителей [51].

Один из хорошо изученных среди водорастворимых порфиринов - мезо-5,10,15,20-тетракис-(4-сульфонатофенил)порфирин (ТЭС). В работе [53] оценивается влияние рН и ПАВ анионного (додецилсульфат натрия), катионного (цетилтриметиламмонийбромид) типа и нейтрального (Тритон X-100, ТХ-100) на стабильность комплекса тетрасульфофенилпорфирина с металлом в кислой среде и образование агрегатов j-типа (рис. 1.18) и их структуру. При растворении металлопорфирина в сильнокислой среде происходит разрушение комплекса с металлом и протонизация атомов азота внутри макрокольца. Диаметр молекулы

тетрасульфопенилпорфирина 2 нм, в кислой среде ($\text{pH} < 2$) его комплекс с металлом протонируется с вытеснением металла и образует j-агрегаты 1-10 мкм (механизм образования агрегата представлен на рис. 1.18).

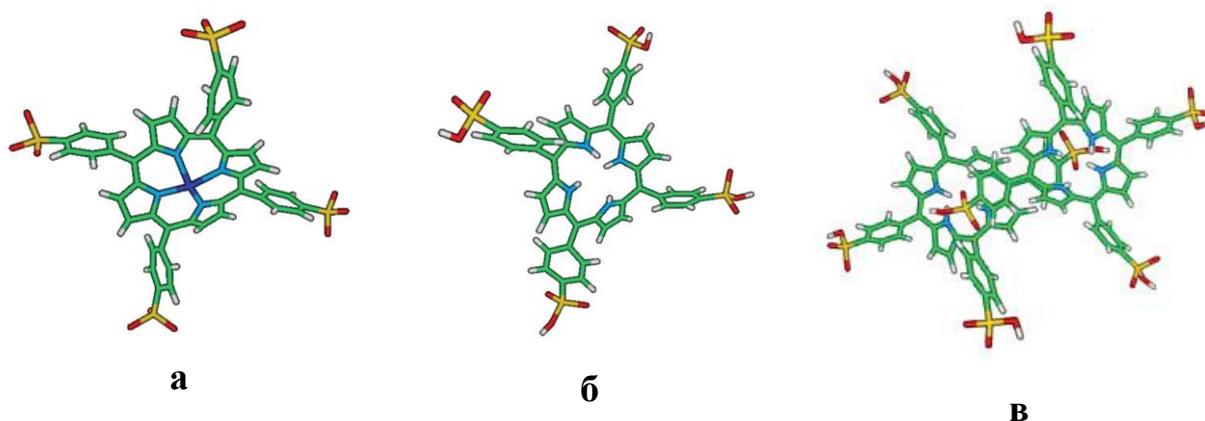


Рисунок 1.18 Виды тетрасульфопенилпорфирина на главных этапах J-образования агрегатов в кислой среде: а - мономерный металлопорфирин, б - протонированный цвиттер-ион, в - димер J-типа [53].

В щелочной же среде преобладают мономеры за счет электростатического отталкивания. Увеличение ионной силы раствора приводит к увеличению агрегации. Скорость и степень агрегации зависит от типа металла в комплексе с порфирином. Так, например, комплекс *тетрасульфопенилпорфирин* с кобальтом агрегируется мало, а с никелем сильно. Авторы связывают это явление с ионным радиусом металлов. Добавление катионных ПАВ препятствует агрегации порфирина в кислой среде, а анионных - не сказывается. Этот факт указывает на важность электростатической природы взаимодействий порфирина с мицеллярной поверхностью при первых этапах растворения [53]. В работе [52] также предполагается, что кроме гидрофобных взаимодействий с ПАВ в процессе растворения играют определенную роль донорно-акцепторные и электростатические силы. В зарубежной литературе попадаются отдельные работы по агрегации хлорофилла [54, 59] и гемоглобина [60-61]. В работе [51] показано, что при концентрациях более 10^{-4} моль/л хлорофилл *b* образует олигомерные формы и с уменьшением температуры, увеличивается агрегация. Агрегация хлорофилла сопровождается появлением максимумов флюоресценции при 725, 735 и 760 нм (для мономерных форм характерен максимум при 670 нм).

Во многих полярных растворителях хлорофилл находится в мономолекулярной форме, однако вода вызывает сильную агрегацию. На процесс агрегации влияет концентрация хлорофилла и природа растворителя. В работе [59] исследуется агрегация хлорофилла во времени в водно-ацетонитриловых растворах, содержащих от 0,1 до 30% ацетонитрила, а также влияние ионной силы раствора и концентрации хлорофилла ($5 \cdot 10^{-6}$, 10^{-5} моль/л) на процесс агрегации с помощью флуоресцентной, адсорбционной спектроскопии и циркуляционного дихроизма. При небольших концентрациях ацетонитрила уменьшается максимум спектра поглощения раствора хлорофилла с 671 и появляется максимум при 713 нм. Растворы, содержащие более 30% ацетонитрила характеризуются полосой поглощения 745 нм, что соответствует олигомерной форме хлорофилла. Увеличение ионной силы сказывается в той же последовательности: концентрация хлорида калия 1 моль/л - максимум при 713 нм, большая концентрация вызывает появление пика 745 нм, соответствующего олигомерной форме.

Из всех форм гемоглобина к сильной самопроизвольной агрегации склонен аномальный гемоглобин S, который образуется у больных с серповидно-клеточной анемией. Агрегация гемоглобина S возрастает с увеличением температуры в диапазоне от 15-37 °С и с увеличением ионной силы (концентрации фосфатного буфера) [61].

Оксигемоглобин стабилен до 52°С, при больших температурах подвергается денатурации и образует большие агрегаты вблизи изоэлектрической точки ($\text{pH}_{\text{ИЭТ}} \approx 5,5$). При нейтральных рН до критической температуры процесс денатурации обратим, выше - становится необратимым. По результатам динамического светового рассеяния во времени показывает, что минимальный размер агрегата соответствует природному гемоглобину. Время, за которое в растворе формируется агрегатов гемоглобина больше, чем его находится в молекулярной форме, около 9 часов (рис.4). Увеличение температуры способствует агрегации, а увеличение концентрации гемоглобина замедляет агрегацию. Авторы объясняют это явление соотношением процессов диссоциации

(с нашей точки зрения корректнее называть этот процесс дезагрегацией) и агрегации: с одной стороны, чем меньше концентрация, тем больший период времени необходим для образования первых агрегатов, а с другой - после образования агрегатов гемоглобин подвергается диссоциации, скорость которой возрастает с увеличением концентрации [60].

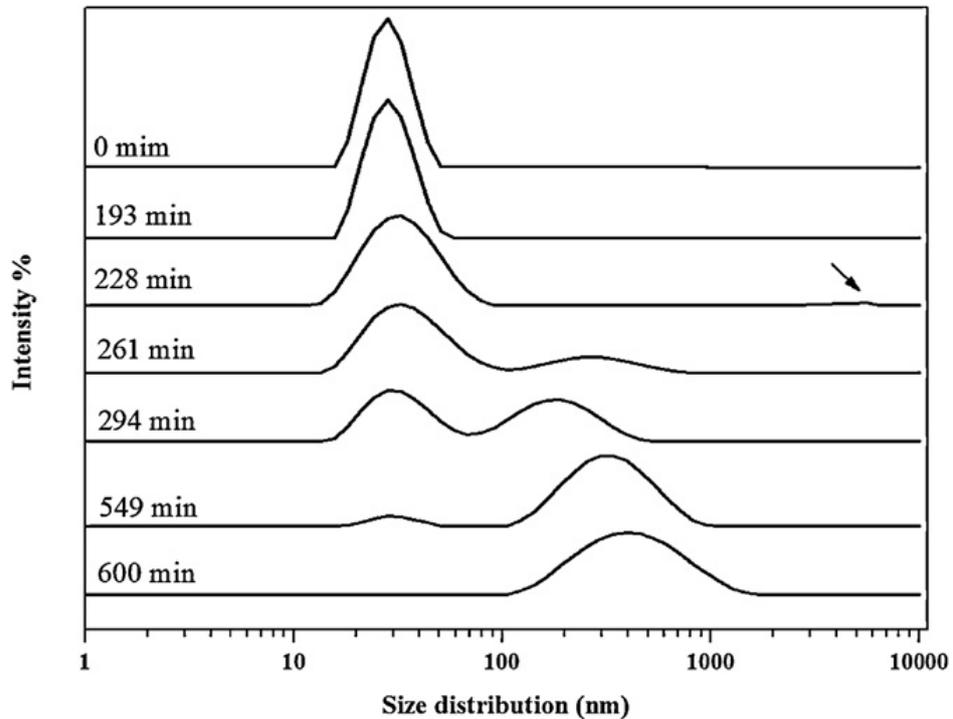


Рис. 1.19 Распределение частиц оксигемоглобина 1 мг/мл по размерам (Size distributions) в процентах (Intensity %) во времени (время указано в минутах - min) в фосфатном буфере 30 ммоль/л [60].

Большая часть исследований агрегации хлорофилла, билирубина, гемоглобина и их аналогов основана на изменении оптических свойств дисперсий: флуоресцентная спектроскопия (для хлорофилла [59]), циркуляционный дихроизм, динамическое и статическое световое рассеяние, адсорбционная спектроскопия, дифференциальная интерференционно-контрастная микроскопия [55].

Китайскими учеными исследуется с помощью различных методов спектроскопии адсорбция веществ на гемоглобине [62-63] и взаимодействие гемоглобина с веществами, находящимися в коллоидном состоянии [57]. Ими было показано, что взаимодействия гемоглобина с азокрасителями (на примере красителей оранжевый 1 и оранжевый 2) сопровождается тушением

флуоресценции и возникает за счет образования водородных связей, гидрофобного и электростатического взаимодействия, ван-дер-ваальсовых сил. Кроме того, взаимодействие сопровождается небольшими конформационными изменениями в молекуле (частичная потеря вторичной винтовой структуры), что имеет токсикологическое значение [62]. Показано, что бензидин с бычьим гемоглобином образует комплекс [63], стабилизированный водородными связями. В работе [57] рассматривается образование комплекса гемоглобина с коллоидным Fe_3O_4 . Основную роль в стабилизации комплекса играют ван-дер-ваальсовы силы, водородные связи и электростатическое взаимодействие. Образование комплекса сопровождается изменениями в УФ-спектре (рис.1.20) и статическим тушением флуоресценции (из спектров флуоресценции рассчитаны константы связывания и термодинамические параметры связывания, по которым определялись виды взаимодействия гемоглобина и коллоидными частичками оксидов железа). Авторы считают, что при $pH=7,4$ бычий гемоглобин ($pH_{ИЭТ}=6,8$) и смесь оксидов железа ($pH_{ИЭТ}=6,5$), заряжены отрицательно, поэтому электростатическое взаимодействие будет незначительным [57].

Во многих областях применения порфиринов выгодно использовать порфирины, адсорбированные на твердой подложке, в том числе для ферментативного катализа [1], фотосенсибилизаторов и химических реакций [3, 11] молекулярной электроники, поэтому довольно много работ посвящено адсорбции порфиринов на различных поверхностях [64-67], образованию наночастиц [68-69], формированию и свойствам порфириновых пленок [70-73]. В работе [65] исследуется адсорбция одного из представителей порфиринов (*meso-tetra(4-N,N,N-trimethylanilinium)porphine*) в зависимости от pH на природном монтмориллоните (глине), содержащий натрий. В слегка кислой и нейтральной области порфирин на поверхности образует агрегаты. Показано, что на глине адсорбируется преимущественно протонированная форма порфирина (по сдвигу полос в спектрах поглощения). На приборе Zetasizer был исследован электрокинетический потенциал глины в буферных растворах с различным pH без порфирина и в присутствии порфирина. При pH 4,5 порфирин в больших

количества адсорбируется на поверхности и вызывает изменение заряда поверхности глины (таблица XI). Авторы предполагают, что такое изменение заряда может быть результатом переориентации протонированного порфирина, не лежащего плоскостью кольца на поверхности.

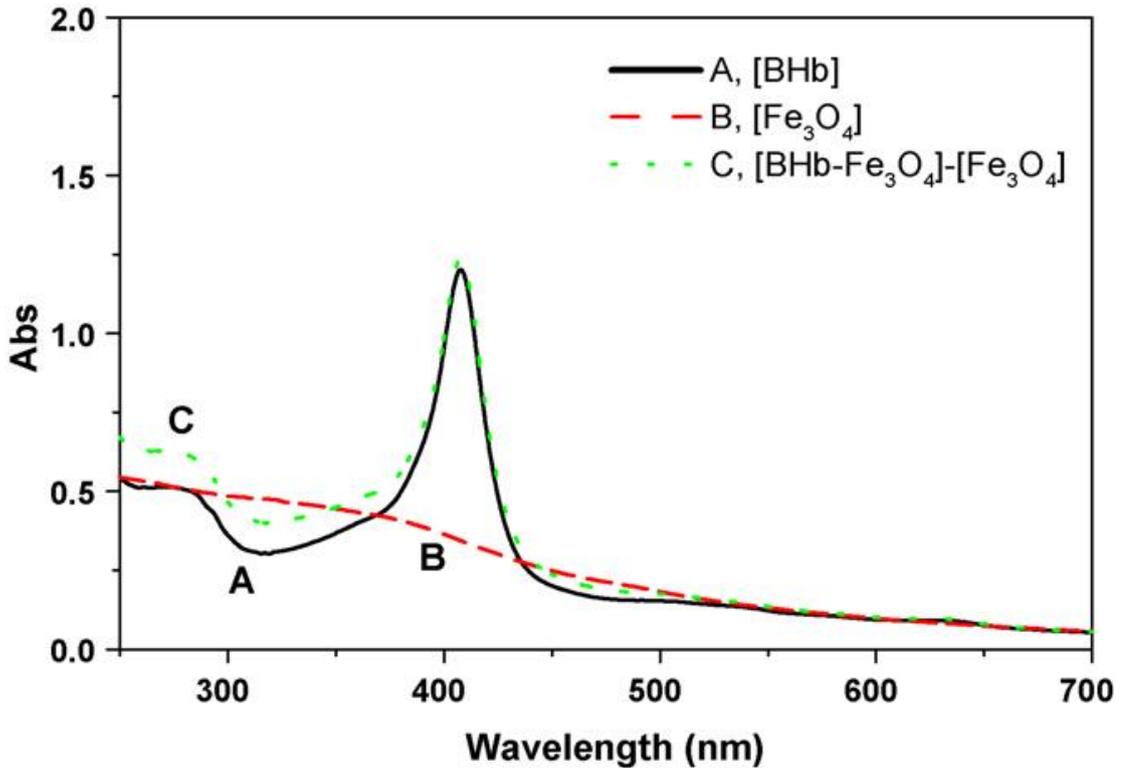


Рис. 1.20 УФ-спектр гемоглобина в присутствии коллоидного Fe₃O₄ (A), только гемоглобина (B) и разность между адсорбционными спектрами A и B. (Спектры сняты при pH 7.40 в трис-соляном буфере (0.05M трис, 0.1M NaCl), концентрация гемоглобина-3 ммоль/л, Fe₃O₄ -2.870·10⁻² ммоль/л).

Одним из наиболее масштабных направлений является исследование адсорбции билирубина различными адсорбентами (примеры - [74-75]). Интерес к этим исследованиям обусловлен тем, что высокие концентрации билирубина (гипербилирубинемия) приводят к повреждению тканей, влияют на нервную систему, негативно сказываются на иммунном ответе организма, поэтому его удалению из организма уделяется особое внимание. Для удаления билирубина можно использовать адсорбционные, электрохимические и фотохимические методы [5, стр. 98]. Адсорбционные методы используются для удаления билирубина как напрямую из плазмы крови (например, "hemoperfusion treatment"

в колонках с различными адсорбентами: активированным углем, агаром, синтетическими волокнами, альбумином, посаженным на макросетчатые смолы, полиакриламидом, полилизина на хитозановых сферах, стирен-дивинил-бензоловыми смолами, poly-EGDMA-HEMA микросферами и др. [76-78]), так и из водных растворов [74]. Показано, что для адсорбции билирубина лучше подходят полярные адсорбенты [79]. Поскольку в организме билирубин может находиться в свободном состоянии или быть связанным с альбумином, то во многих работах, посвященных адсорбции билирубина встречаются адсорбенты, модифицированные альбумином [77, 80] либо проводится сравнительное исследование адсорбции билирубина и альбумина [79]. В работе [75] при исследовании адсорбции на ацетат целлюлозной/полиэтилениминой мембране как доказательство возможности образования комплекса дезоксихолат натрия-альбумин-билирубин используют спектры поглощения света, кругового дихроизма и изменение электрокинетического потенциала.

Исследование адсорбции гемоглобина являются не столь значительными и в литературе по сравнению с адсорбцией билирубина встречаются гораздо реже. Гемоглобин является токсичным только в больших количествах в свободном состоянии (большая часть гемоглобина у человека находится в эритроцитах). Однако, например, при использовании реинфузии (переливание пациенту собственной крови) в результате разрушения эритроцитов образуется избыток свободного гемоглобина. Российские ученые предлагают для уменьшения его количества использовать сорбенты, созданные путем модификации полипирролом или ионами меди активированного угля [81-82].

Порфирины и их аналоги, благодаря важным биологическим функциям и обширной области применения, вызывают большой интерес. Гемоглобин и билирубин являются основными компонентами биологических дисперсных систем животного происхождения, хлорофилл – растительного, а коллоидные свойства их водных дисперсий в значительной мере определяют жизнеспособность живого организма. Анализ литературы показывает, что имеющиеся данные по коллоидной химии тетрапирролов весьма ограничены,

разрозненны и не позволяют достаточно надежно объяснять наблюдаемые явления. В связи с отмеченным, **цель диссертационной работы** состоит в установлении закономерностей коллоидных свойств водных дисперсий гемоглобина, билирубина и хлорофилла в растворах неорганических электролитов и простейших аминокислот.

2 Объекты и методы исследования

2.1 Объекты исследования

В настоящей работе в качестве объектов исследования использовались водные дисперсии природных биологически активных веществ - билирубина, гемоглобина, хлорофилла. Изучение коллоидных свойств водных дисперсий этих веществ проводилось в зависимости от состава дисперсионной среды (рН, присутствие различных ионов, аминокислот). Для приготовления дисперсионной среды использовались водные растворы различных электролитов и аминокислот, приготовленные на бидистиллированной воде. В качестве электролитов были выбраны те вещества, ионы которых в больших количествах содержатся в крови и других физиологических жидкостях (кроме цитрат-ионов¹): соляная кислота, хлорид калия, хлорид натрия, хлорид кальция, хлорид магния, карбонат калия, сульфаты железа II и III, фосфорная кислота, дигидроортофосфат калия, гидроортофосфат натрия, сульфат калия, цитрат натрия, лимонная кислота, гидроксид калия. В качестве аминокислот использовались глицин и аспарагиновая кислота компании Sigma-Aldrich (рис. 2.1, 2.2). Предложенные аминокислоты являются важнейшими органическими лигандами, так как атомы азота и кислорода в их молекулах обладают неподеленными электронными парами (представляют собой доноры электронов). Глицин и аспарагиновая кислота имеют одну аминогруппу и отличаются количеством карбоксильных групп. В растворах аминокислоты находятся в катионной, анионной и цвиттер-ионной форме. Все используемые для приготовления дисперсионной среды вещества имеют квалификацию ХЧ.

¹ Цитрат натрия 1-замещённый используют для консервирования крови, чтобы связать большую часть ионов кальция. Без ионов кальция кровь дольше хранится, не происходит коагуляции – слипания эритроцитов и других клеток крови.

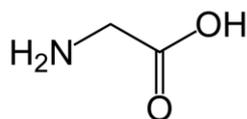


Рис. 2.1 Глицин

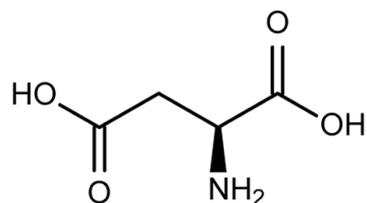


Рис. 2.2 Аспарагиновая кислота

2.1.1 Приготовление дисперсий гемоглобинов

В работе использовались три вида гемоглобина: бычий, лошадиный и гемоглобин человека.

Бычий гемоглобин (hemoglobin from bovine blood), выделенный и очищенный компанией Fluka Analytical, Швеция, предназначен для микробиологии, имеет молекулярную массу 64500 г/моль (размер молекулы - 6,4 нм). На воздухе быстро окисляется, поэтому производитель предупреждает о том, что при его приготовлении, особенно при нагреве, может оказаться преимущественно метгемоглобин (железо находится в трехвалентном состоянии). В связи с этим хранился в плотно упакованной таре в холодильнике. Состоит из смеси гемоглобинов HBA1(281221), HBV(280813), HBE2(513240), HBE4(513108), HBG(511735), alpha globin (512439).

Лошадиный гемоглобин (Hemoglobin, equine) произведен компанией Sigma-Aldrich Chemie GmbH - лиофилизированный красно-коричневый порошок (молекулярная масса 64500 г/моль), также хранится при низких температурах.

Человеческий гемоглобин (hemoglobin human) произведен компанией Sigma-Aldrich Chemie GmbH, темно-коричневый порошок с содержанием воды - 6% и железа - 0,31 % (молекулярная масса 64500 г/моль). Хранится при тех же условиях. Состоит из смеси гемоглобинов HBA1(3039), HBA2(3040), HBV(3043), HBD(3045), HBE1(3046), HBG1(3047), HBG2(3048), HBQ1(3049), HBZ(3050).

В работе для микроэлектрофореза и фотометрии использовалась 0,1% дисперсия гемоглобина, для потенциометрического титрования - 0,2%, приготовленная следующим образом: навеска гемоглобина растиралась в ступке в небольшом количестве исследуемого раствора до образования густой пасты, затем добавлялся весь объем раствора.

2.1.2 Приготовление дисперсий билирубина

Билирубин произведен ЗАО "Вектон". Имеет квалификацию Ч, содержит 0,5% сульфатов и не более 0,5% нерастворимых веществ. В работе использовалась для микроэлектрофореза и фотометрии 0,01% дисперсия билирубина, для потенциометрического титрования - 0,2%, приготовленная следующим образом: навеска билирубина растиралась в ступке в небольшом количестве исследуемого раствора до образования густой пасты, затем добавлялся весь объем раствора.

2.1.3 Приготовление дисперсий хлорофилла

В качестве источника хлорофилла для работы использовалась БАД "Хлорофиллипт" компании Arterium, содержащий смесь хлорофиллов а и b до 1 мг (из 10 мг экстракта хлорофиллипта) на 1 мл спиртового раствора.

Чистый хлорофилл выделялся многократной экстракцией хлорофиллипта в воде. При этом хлорофилл из водно-спиртовой смеси осаждался в центрифуге с частотой 3000 оборотов секунду в течение 10 минут. Степень очистки хлорофилла контролировали по изменению поверхностного натяжения водных дисперсий хлорофилла. Отмывку проводили до установления постоянного значения поверхностного натяжения. Измеряли поверхностное натяжение полученных растворов на тензиометре (результаты расчетов представлены в табл. 2.1).

Параллельно проводилось измерение электрокинетического потенциала хлорофилла в водных дисперсиях в зависимости от степени очистки (рис.2.3). Видно, что значения электрокинетического потенциала устанавливались уже на второй экстракции. В работе использовался хлорофилл после трехкратной очистки.

Таблица 2.1

Значения поверхностного натяжения для водных экстрактов хлорофилла

Вещество	Поверхностное натяжение, 10^{-3} Дж/м ²
Вода	72,7
Первая экстракция	43,8
Вторая экстракция	56,8
Третья экстракция	61,3
Четвертая экстракция	61,6

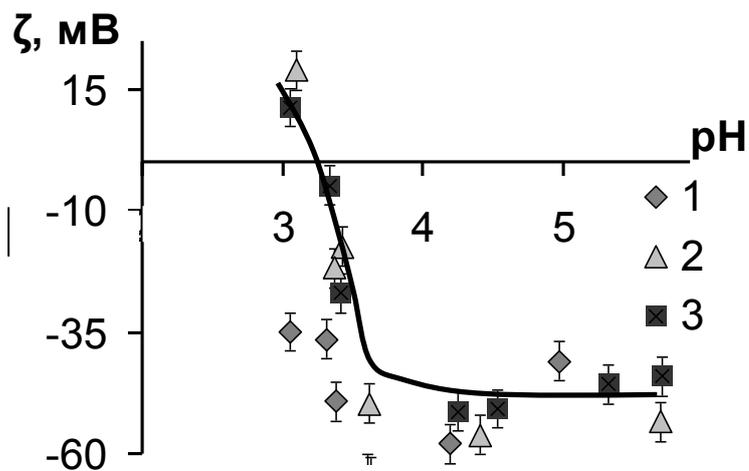


Рис. 2.3 Зависимость электрокинетического потенциала хлорофилла от pH в водных растворах хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л в зависимости от количества экстракций: 1 - однократная экстракция, 2 - двукратная, 3 - трехкратная.

Для микроэлектрофореза использовалась водная дисперсия хлорофилла 0,0024 %, а для потенциометрического титрования - 0,04 %.

2.2. Методы и методики исследования

Изучение устойчивости водных дисперсий билирубина и гемоглобина проводилось фотометрическим методом. Для исследования адсорбционных свойств хлорофилла, билирубина и гемоглобина в водных растворах использовался метод потенциометрического титрования. Электрокинетические свойства хлорофилла, билирубина и гемоглобина изучались методом

микроэлектрофореза. Реологические свойства водных дисперсий гемоглобина исследовались вискозиметрическим методом.

Исследование устойчивости, электрокинетических и адсорбционных свойств водных дисперсий хлорофилла, гемоглобина и билирубина проводилось в зависимости от природы и концентрации электролитов, аминокислот, pH и времени контакта фаз.

В процессе работы использовались следующие приборы:

- Фотоколориметры КФК-2, КФК-3
- pH-метр - pH 150-M, оснащенный электродом ЭСК 10601/7
- Кондуктометр Hanna HI 8733
- Термометр Conrad Electronic DT-300
- Установка для микроэлектрофореза
- Zetasizer Nano ZS компании Malvern Instruments
- Ультразвуковой генератор УЗГ 15-0.1/22
- Центрифуга РУ-180Л
- Магнитная мешалка Экрос
- Компрессор OXY BOOST 200 APR фирмы Aquael
- Источник постоянного поля – УИП-1 – Б5-50
- Микроамперметр М2020
- Микроскоп АУ-12 1,5^x с окулярами К15^x
- Секундомер Q&Q
- Манометр
- Вискозиметр ВПЖ-2 или ВПЖ-4

2.2.1 Метод микроэлектрофореза

Изучение электрокинетических свойств порфиринов проводилось методом микроэлектрофореза [83-86]. Схема установки для микроэлектрофореза приведена на рис. 2.4. Установка состоит из микроскопа, закрытой кварцевой ячейки, двух платиновых электродов для включения ячейки в сеть, блока питания (источника постоянного тока), микроамперметра для измерения силы тока с коммутирующим устройством, позволяющим менять направление тока, протекающего в ячейке. Так как частицы гемоглобина, хлорофилла и билирубина имеют довольно насыщенный цвет, отличный от светлого фона, конденсор темного поля не требовался.

Микроэлектрофоретическая ячейка состояла из плоскопараллельного кварцевого капилляра ("камеры", изготовленной из кюветы для фотометрии толщиной 1.00 ± 0.05 мм) и двух концевых частей из оргстекла с отверстиями для электродов. Площадь внутреннего поперечного сечения ячейки $S = h \cdot l = 1 \cdot 20 = 20$ мм² = $20 \cdot 10^{-6}$ м², где h - высота ячейки в мм, а l - ширина, мм. Для предотвращения попадания в ячейку продуктов электролиза перед электродами со стороны рабочего пространства ячейки устанавливалась целлофановая мембрана.

При действии электрического поля в любой дисперсной системе возможны два электрокинетических явления - электрофорез и электроосмос [87]. В микроэлектрофоретической ячейке возникает движение дисперсионной среды (водный раствор электролита или аминокислоты) относительно кварцевой стенки ячейки (электроосмос). Так как ячейка имеет небольшую толщину, поток дисперсионной среды, возникающий под действием электроосмоса, накладывается на микроэлектрофоретическое движение частиц дисперсной фазы (хлорофилла, билирубина или гемоглобина). Из уравнения Смолуховского, связывающего скорость электроосмоса с расстоянием от стенки ячейки можно определить расстояния от стенки ячейки, для которых электроосмотическая составляющая скорости движения частиц равна нулю.

Для плоскопараллельного капилляра электроосмотическая скорость равна нулю при $h=0.21h$ и $h=0.79h$, h – высота ячейки [83] (рис.2.2.). Расстояние,

пройденное частицей, определялось с помощью окулярной сетки с ценой деления $87 \cdot 10^{-6}$ м; время движения частиц регистрировалось секундомером.

Для каждой исследуемой дисперсии проводились измерения удельной электропроводности кондуктометром Hanna HI 8733, значения рН дисперсии на рН-метре рН 150-М, на установке для микроэлектрофореза фиксировался знак заряда частиц дисперсной фазы, сила тока и скорость движения частиц.

Средняя скорость движения частиц определялась в ходе трех параллельно проводимых экспериментов. При этом в каждом параллельном опыте проводились измерения скорости движения не менее 10 частиц при регулярном изменении направления приложенного электрического поля с помощью коммутирующего устройства.

Для расчета электрофоретической подвижности используется формула:

$$U = \frac{L}{t \cdot H} = \frac{\kappa \cdot S \cdot L}{I \cdot t} = K_U \cdot \frac{\kappa}{I \cdot t} \quad (2.1)$$

где U – электрофоретическая подвижность, м²/В·с

H - градиент потенциала, В/м ($H=I/(S \cdot \kappa)$)

κ – удельная электропроводность среды, Ом⁻¹ м⁻¹ – См/м

S – площадь поперечного сечения ячейки, м²

L – расстояние, пройденное частицей ($L = 87$ мкм (1 деление окулярной сетки) = $87 \cdot 10^{-6}$ м)

I – сила тока, А

t – время, за которое частица проходит контрольное расстояние, с.

K_U - постоянная, численно равная $K_U = S \cdot L = 20 \cdot 10^{-6} \text{ м}^2 \cdot 87 \cdot 10^{-6} \text{ м} = 1740 \cdot 10^{-12} \text{ м}^3 = 1,74 \cdot 10^{-9} \text{ м}^3$

Величина ζ -потенциала рассчитывалась по формуле Гельмгольца-Смолуховского без поправок, так как $\chi \cdot a \gg 1$, где a – радиус частицы ($\approx 0.5 - 1.0$ мкм), χ - толщина диффузного слоя:

$$\zeta = \eta U / \epsilon \epsilon_0 = K_\zeta \cdot (\kappa / I t) \quad (2.2)$$

где ϵ – относительная диэлектрическая проницаемость среды, для воды $\epsilon=81$;

η – динамическая вязкость дисперсионной среды, для воды при 20°C $\eta=1,01 \cdot 10^{-3}$ Па·с;

ϵ_0 – диэлектрическая проницаемость вакуума, $\epsilon_0=8,85 \cdot 10^{-12}$ Ф/м.

K_ζ - постоянная, $K_\zeta = \eta SL/\epsilon\epsilon_0 = 0,001 \cdot 1,74 \cdot 10^{-9} / 81 \cdot 8,85 \cdot 10^{-12} = 2,449 \cdot 10^{-3}$

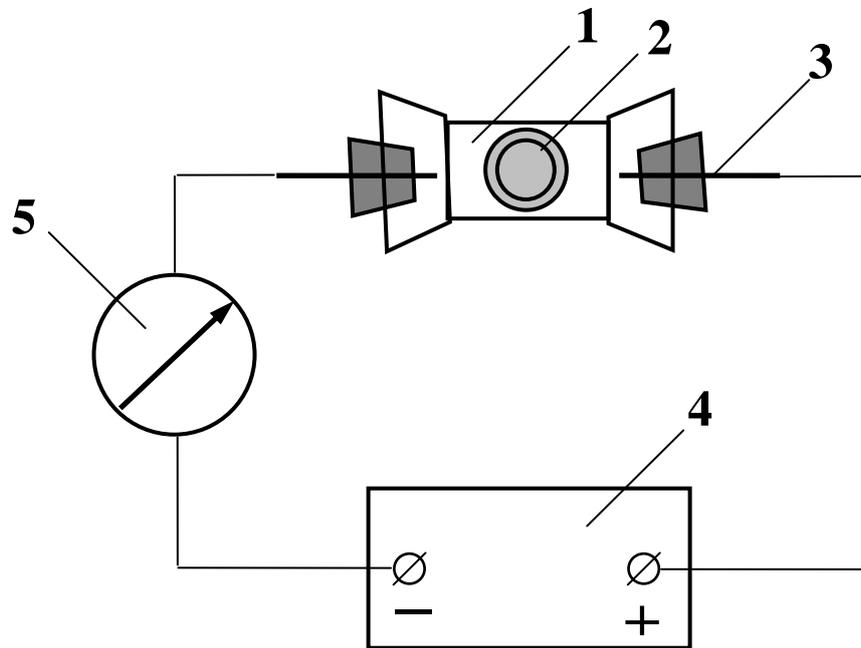


Рис. 2.4 Установка для микроэлектрофореза: 1 - ячейка, 2 - объектив микроскопа, 3 - электрод, 4 - источник постоянного поля, 5 - микроамперметр.

Изучение электрокинетических свойств водных дисперсий билирубина, хлорофилла и гемоглобина проводилось в зависимости от времени контакта фаз и состава водной фазы (концентрации электролитов, аминокислот, рН).

Приготовленные дисперсии (см. раздел 2.1) хранились в герметично закрытых колбах в защищенном от света месте, так как хлорофилл и билирубин нестабильны на свету [31,88-89].

2.2.2 Изучение устойчивости фотометрическим методом

Изучение устойчивости водных дисперсий билирубина, хлорофилла и гемоглобина проводилось по изменению оптической плотности во времени в зависимости от состава дисперсионной среды (рН).

Приготовленная дисперсия (см. пункт 2.1) выдерживалась в плотно закрытой колбе в течение суток в защищенном от света месте. Через сутки дисперсия обрабатывалась в течение 5 минут ультразвуковым диспергатором УЗГ 15-0.1/22. Далее измерялась оптическая плотность дисперсий в зависимости от времени коагуляции в кварцевых кюветах толщиной 1 см для билирубина и 0,5 см для гемоглобина при длине волны 315 нм. По данным, полученным для одной дисперсии, строилась зависимость оптической плотности от времени коагуляции и по данным для серии дисперсий - зависимость изменения оптической плотности за определенные промежутки времени (30 минут и 1 час) от рН.

2.2.3 Методика непрерывного потенциометрического титрования

Сорбция ионов H^+ и OH^- исследовалась методом непрерывного потенциометрического титрования. Титрование проводилось в атмосфере азота для исключения влияния CO_2 воздуха. Вначале титровался фоновый раствор электролита, а затем - водная дисперсия гемоглобина, хлорофилла или билирубина в растворе этого электролита.

20 мл исследуемой дисперсии через час после приготовления или фоновый раствор электролита помещались в ячейку для потенциометрического титрования (рис 2.5), выдерживались не менее 30 минут в атмосфере азота и затем титровались раствором КОН ($0,025 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$) или HCl ($0,01 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$). Титрант добавлялся порциями по 0,1 мл с интервалом в 30 секунд и регистрировались значения рН на рН-метре рН 150-М.

Точность измерения на рН-метре: $\pm 0,02$ ед. рН. рН-метр был настроен по серии буферных растворов: 1,65 (тетраоксалат калия), 3,56 (гидротартрат калия), 4,01 (гидрофталат калия), 6,86 (дигидрофосфат калия + моногидрофосфат натрия), 9,18 (тетраборат натрия). После настройки регулярно проверялся по буферным растворам (4,01). Для дозирования титранта использовалась микробюретка на 5 мл. Растворы КОН готовились на дистиллированной воде, предварительно освобожденной от CO_2 воздуха кипячением в течение 30 минут.

Для исследуемых веществ характерна одновременная сорбция H^+ и OH^- ионов. В кислой области при $pH < pH_{\text{тнз}}$ преобладает сорбция H^+ ионов, в щелочной при $pH > pH_{\text{тнз}}$ десорбция H^+ ионов (сорбция OH^- ионов), поэтому рассчитывался избыток сорбированных ионов $\frac{x}{m}(H^+ - OH^-)$, моль/г как функция pH по формуле:

$$\frac{x}{m}(H^+ - OH^-) = \frac{c(V_1 - V_0)}{m}, \quad (2.3)$$

где V_1 – объем КОН (НСl), пошедший на титрование раствора в присутствии сорбента, мл; V_0 – объем КОН (НСl), пошедший на титрование раствора без сорбента, мл; m – масса навески сорбента; c – концентрация щелочи или кислоты, моль/мл [90-92].

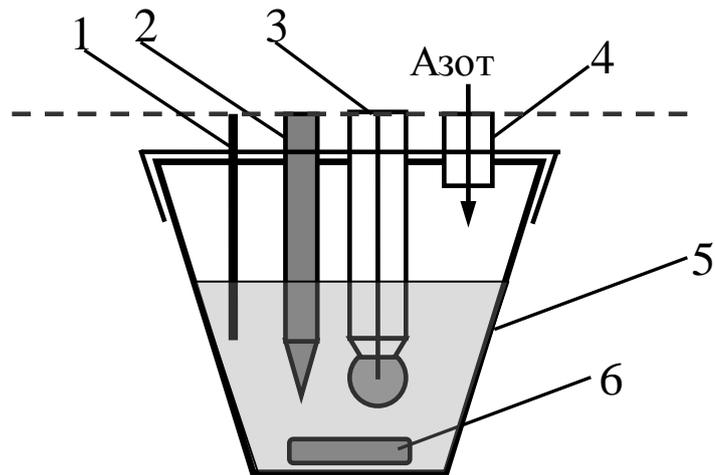


Рис.2.5 Ячейка для потенциометрического титрования: 1 - подвод титранта из бюретки для титрования; 2 - термодатчик рН-метра рН 150-М; 3 - комбинированный электрод ЭСК 10601/7 рН-метра рН 150-М; 4 - трубка для подвода газа; 5 - ячейка с раствором; 6 - стерженек магнитной мешалки.

2.2.4 Определение количества основных и кислотных групп. Методика кондуктометрического титрования

Кондуктометрические исследования выполнялись на кондуктометре Hanna HI 8733. 20 мл исследуемой дисперсии БАВ через час после приготовления помещались в ячейку для кондуктометрического титрования (рис. 2.6), выдерживались не менее 30 минут в атмосфере азота и затем титровались раствором КОН ($0,025 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$) или HCl ($0,01 \text{ моль} \cdot \text{л}^{-1}$). Титрант добавлялся порциями по 0,1 мл с интервалом в 30 секунд и регистрировались значения удельной электропроводности на кондуктометре. Точность измерения удельной электропроводности \pm составила $\pm 0,1\%$. По полученным данным строились зависимости удельной электропроводности от объема добавленного титранта. Исходя из точек перегиба полученных зависимостей, рассчитывалось количество кислотных групп (по результатам титрования щелочью) и основных (по результатам титрования кислотой).

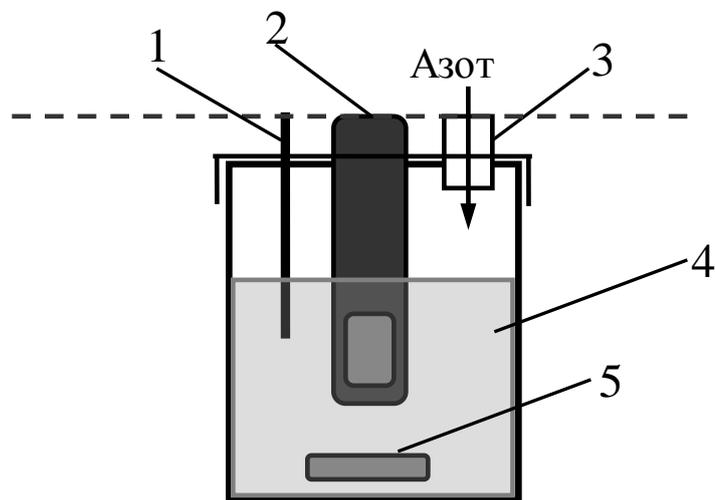


Рис.2.6 Ячейка для кондуктометрического титрования: 1 - подвод титранта из микробюретки для титрования; 2 - электрод кондуктометра; 3 - трубка для подвода газа; 4 - ячейка с раствором; 5 - стерженек магнитной мешалки.

2.2.5 Измерение вязкости водных дисперсий гемоглобина

Вязкость определялась на капиллярном вискозиметре Оствальда. Течение в капилляре вискозиметра происходит под действием суммы гидростатического и внешнего давления. Гидростатическое давление возникает за счет столбика жидкости в вискозиметре, а внешнее подается в систему нагнетателем и измеряется манометром в см водного столба.

Исследование влияния внешнего давления на течение жидкости осуществляют с помощью специальной установки, схема которой показана на рис. 2.7. В вискозиметр 10 наливается 10 мл дистиллированной воды или дисперсии гемоглобина. Измеряют время истечения воды/дисперсии гемоглобина через капилляр при пяти различных внешних давлениях (в пределах 10–90 см водного столба). Для этого закрывают кран 6 и создают нагнетателем 1 в буферном баллоне требуемое внешнее давление $P_{вн}$. Давление измеряют с помощью манометра 3 в миллиметрах водного столба. Открывают кран 6, передавая давление $P_{вн}$ из буферного баллона на жидкость в вискозиметре. Дождавшись момента прохождения жидкостью верхней риски, включают секундомер, который выключают при прохождении жидкостью нижней риски. Измерения проводят при пяти различных давлениях. После измерения времени истечения закрывают кран 6 и сбрасывают давление, открывая кран 7.

Общее давление в системе (разность давлений на концах капилляра)

$$P = P_{вн} + P_{г} \quad (2.4)$$

где $P_{г}$ - среднее гидростатическое давление, Па, а $P_{вн}$ - внешнее давление, приложенное к системе, Па.

Среднее гидростатическое в вискозиметре рассчитывают по формуле:

$$P_{г} = \rho g(a + b)/2 = (165 + 127,5) \cdot 9,81/2 = 1434,713 \text{ Па} \quad (2.6)$$

где $g = 9,81 \text{ м/с}^2$ – ускорение силы тяжести; $\rho = 1000 \text{ кг/м}^3$ – плотность жидкости $h = (a+b)/2$ - средняя высота столба жидкости в вискозиметре, м, а и b - расстояния от поверхности жидкости в вискозиметре до нижней и верхней риски.

Внешнее давление рассчитывается по формуле:

$$P_{\text{вн}} = \Delta P \cdot 10 = (P_{\text{н}} + P_{\text{в}}) \cdot 10 \quad (2.7)$$

где $\Delta P = P_{\text{н}} + P_{\text{в}}$ - разность уровней жидкости в манометре, дел., $P_{\text{н}}$, $P_{\text{в}}$ - нижнее и верхнее отклонение границы жидкости в манометре от нулевой метки, см вод. столба, 10 - коэффициент для пересчета см водяного столба в Па.

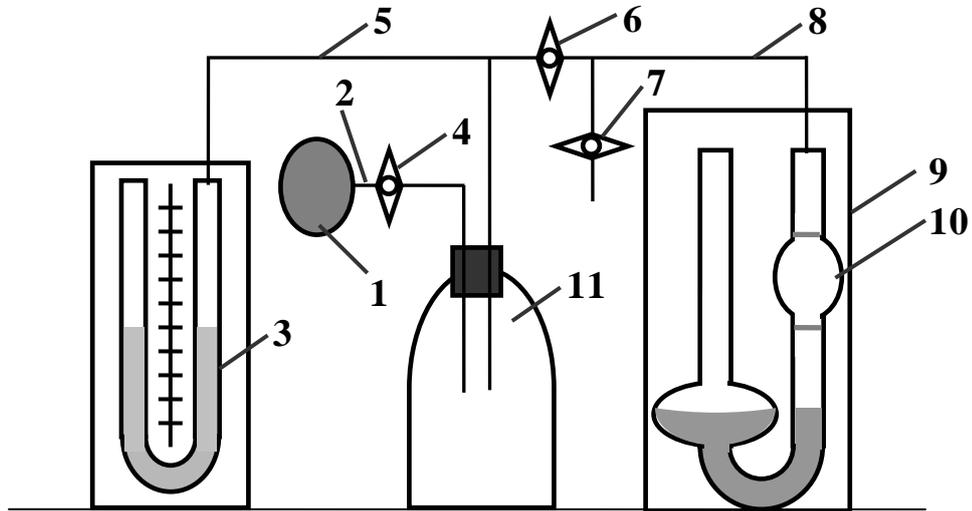


Рис. 2.7 Установка для исследования влияния внешнего давления на вязкость жидкости: 1 – нагнетатель; 2, 5, 8 – соединительные шланги; 3 – манометр; 4, 6, 7 – краны; 9 – термостат; 10 – вискозиметр; 11 – буферный баллон.

2.3 Погрешности экспериментальных данных

Погрешности методик рассчитывались по следующему алгоритму, используя статистические методы обработки наблюдений [93-94].

Находили среднее арифметическое результатов для серии из N наблюдений:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{n=1}^N X_n}{N} \quad (2.8)$$

(или среднее геометрическое $\bar{X} = \sqrt[N]{\prod_{n=1}^N X_n}$) (2.9)

Рассчитывали дисперсию для одного измерения:

$$S^2 = \frac{\sum_{n=1}^N (\bar{X} - X_n)}{N-1} \quad (2.10)$$

Или для трех параллельных измерений

$$S^2 = \frac{\sum_{j=1}^m \sum_{i=1}^n (\bar{X}_j - X_{ij})}{n-m} \quad (2.10.1)$$

где n - общее число проб, m - число параллельных измерений [94]

Находили среднеквадратичное отклонение S_n :

$$S_n = \sqrt{S^2} \quad (2.11)$$

Вычисляли погрешность измерений при доверительной вероятности $p = 0.95$:

$$\Delta = \gamma \cdot \frac{1}{\bar{X}} S_n \cdot 100\% \quad (2.12)$$

где γ – коэффициент Стьюдента, учитывающий ограниченность выборки.

Для расчета погрешности были сделаны 20 проб, для которых проводилось по 3 параллельных измерения: количество проб (N) равнялось 20, соответственно коэффициент Стьюдента $\gamma = 2,2622$. Для расчетов по формулам 2.18-2.21 использовались встроенные функции программы Excel.

Погрешность измерений ζ -потенциала методом микроэлектрофореза в диапазоне 10 – 50 мВ составила $\pm 10\%$, а в диапазоне 0 – 10 мВ – $\pm 30\%$.

Случайная погрешность адсорбции (Γ) составила 1%. Общая погрешность, с учетом погрешности методики, не превысила 5%.

Погрешность измерения рН составляла ± 0.02 единицы рН. Погрешность измерения рН изоэлектрической точки и точки нулевого заряда составила $\pm 0,1$ ед. рН (определялось среднее арифметическое отклонение $pH_{ИЭТ/ТНЗ}$ по результатам 3х опытов).

Погрешность фиксированных значений λ в спектрофотометрических исследованиях составила $\pm 0,1$ мкм.

3 Результаты и их обсуждение

3.1 Коллоидные свойства водных дисперсий гемоглобина

3.1.1 Кинетика установления адсорбционного равновесия

В связи с тем, что гемоглобин имеет сложную структуру, его взаимодействие с водным раствором и веществами, содержащимися в нем, носит непростой характер. При контакте гемоглобина с водным раствором происходит ряд взаимосвязанных процессов: частичная диссоциация его функциональных групп, адсорбция на поверхности гемоглобина веществ из раствора, набухание, перераспределение связей между полипептидными цепочками и изменение конформации молекулы. Время установления адсорбционного равновесия можно определять по времени, за которое устанавливаются постоянные значения параметров дисперсной фазы или дисперсионной среды. С целью определения времени адсорбционного равновесия проведены исследования зависимости электропроводности, рН, электрокинетического потенциала от времени контакта фаз. Примеры этих зависимостей для лошадиного и бычьего гемоглобина в представлены на рис. 3.1-3.5 и в таблицах Приложения А1, А2.

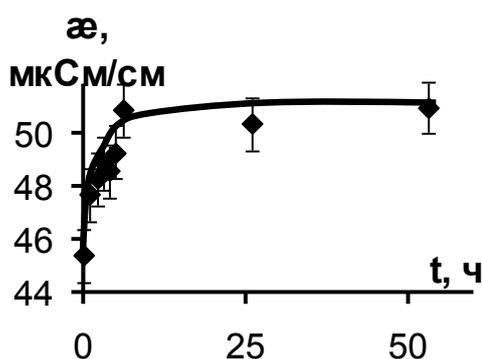


Рис. 3.1 Зависимость значений удельной электропроводности водных дисперсий бычьего гемоглобина от времени контакта фаз в дистиллированной воде.

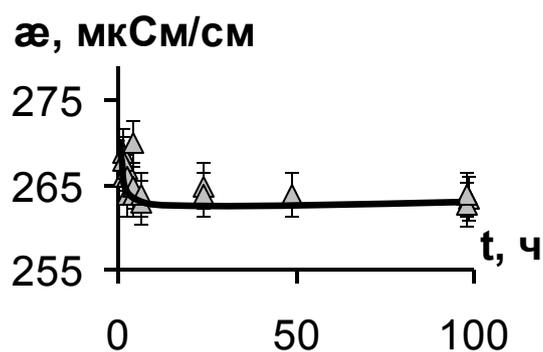


Рис. 3.2 Зависимость значений удельной электропроводности водных дисперсий лошадиного гемоглобина от времени контакта фаз в растворе $\text{HCl } 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

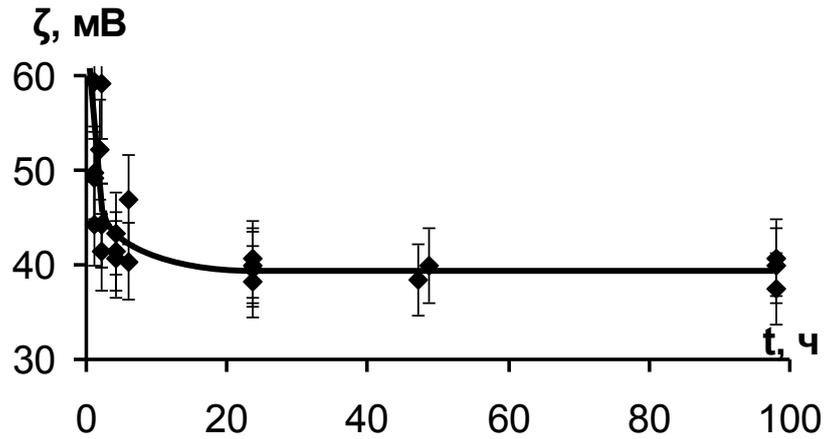


Рис. 3.3 Зависимость значений электрокинетического потенциала водных дисперсий лошадиного гемоглобина от времени контакта фаз в растворе $\text{HCl } 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

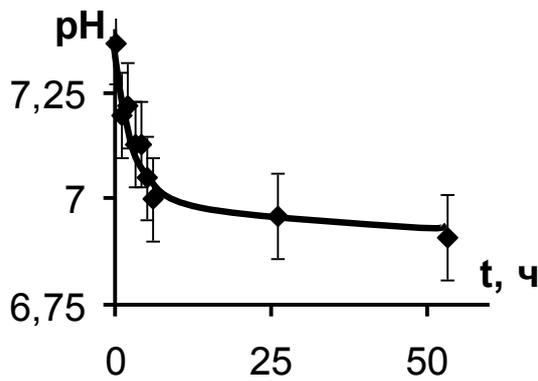


Рис. 3.4 Зависимость значений pH водных дисперсий лошадиного гемоглобина от времени контакта фаз в дистиллированной воде.

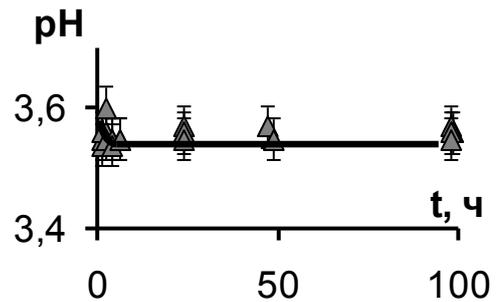


Рис. 3.5 Зависимость значений pH водных дисперсий лошадиного гемоглобина от времени контакта фаз в растворе $\text{HCl } 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Как видно из рис. 3.1 электропроводность дисперсии гемоглобина в воде увеличивается, что происходит вследствие частичной диссоциации функциональных групп гемоглобина. В кислой среде (pH около 3,5) преобладает адсорбция протонов на гемоглобине, что вызывает уменьшение электропроводности (рис. 3.2).

Анализ полученных зависимостей показывает, что адсорбционное равновесие в системе устанавливается менее, чем за 10 часов. Для удобства все дальнейшие измерения проводились при времени контакта фаз – 24 часа.

3.1.2 Зависимость электрокинетического потенциала лошадиного гемоглобина от pH и ионной силы раствора

Рассмотрим зависимость электрокинетического потенциала лошадиного гемоглобина от pH и ионной силы раствора (рис. 3.6, таблица Приложения А3). Нулевому значению электрокинетического потенциала соответствует $pH_{ИЭТ}$ (pH изоэлектрической точки). Как видно из рис. 3.6 значение pH изоэлектрической точки лошадиного гемоглобина составляет 6.3. При значениях pH, меньших 6.3, электрокинетический потенциал положителен вследствие адсорбции ионов водорода, а при больших значениях - отрицателен из-за адсорбции ионов

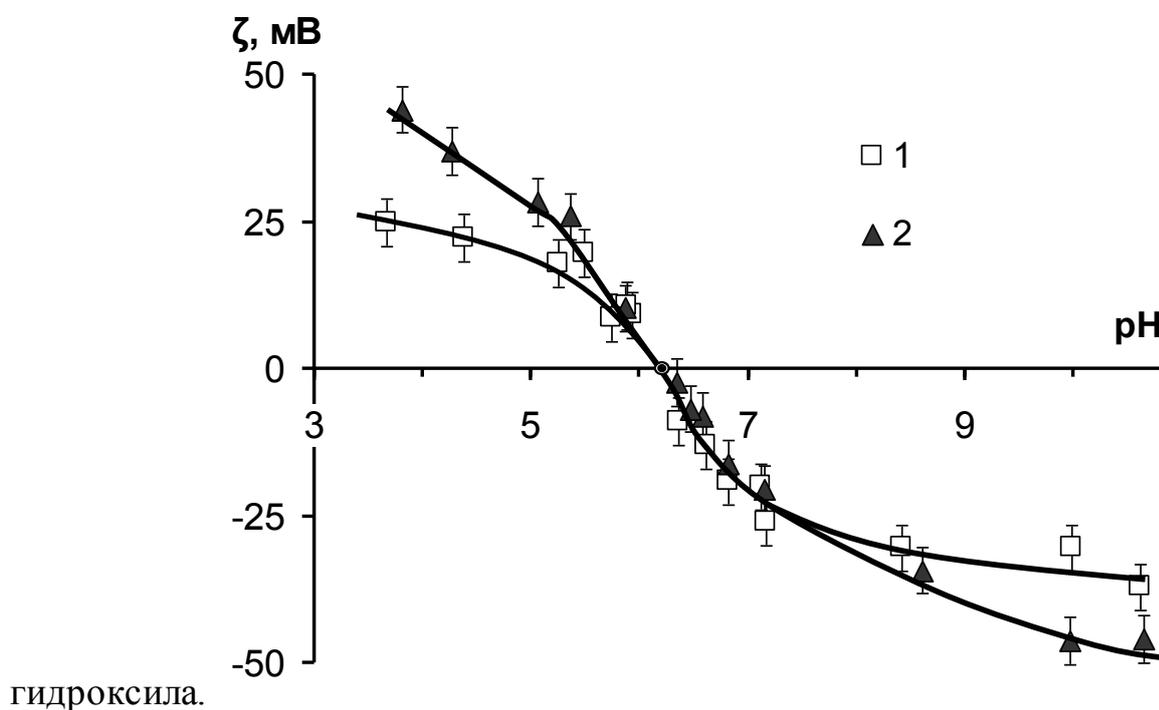


Рис.3.6 - Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий лошадиного гемоглобина от pH в растворах KCl:

1 – концентрация KCl $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л, 2 - $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Ионная сила раствора влияет на электрокинетический потенциал в соответствии с классической теорией ДЭС: увеличение ионной силы раствора (концентрации хлорида калия) вызывает сжатие диффузной части двойного электрического слоя, вследствие чего уменьшаются значения электрокинетического потенциала.

3.1.3 Сравнение зависимостей электрокинетического потенциала от рН для различных видов гемоглобина

Понятие гемоглобин применяется не для конкретного соединения, а для группы очень схожих по строению гемпротеинов. Как уже описывалось ранее, гемоглобины различаются аминокислотным составом белковой части молекулы, определяемым генетическими факторами (только у человека имеется несколько видов нормальных гемоглобинов). Последовательности аминокислот у различных видов животных неодинаковы, что отражается в растворимости, изоэлектрической точке, сродстве к кислороду и устойчивости изолированных пигментов к кислотам, щелочам и нагреванию [30-31], изменении максимумов поглощения света (изменение адсорбционных спектров бычьего гемоглобина по сравнению с человеческим гемоглобином представлено на рис. 1.10 (глава "1.3 Гемоглобин")).

Рассмотрим, какое влияние оказывает изменение структуры белковой части на электрокинетический потенциал гемоглобина (рис. 3.7). Сравним зависимости электрокинетического потенциала от рН для водных дисперсий лошадиного, бычьего и гемоглобина человека при одинаковом солевом фоне ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л КСl).

Характер зависимости ζ -потенциала от рН для всех видов гемоглобина одинаков. Различный состав белковой составляющей лошадиного и бычьего и гемоглобина человека отражается на значении их изоэлектрических точек. Если для лошадиного гемоглобина ее значение составляет 6,3, то для бычьего – 6,5,

человеческого - 6,8 (смещение изоэлектрической точки гемоглобина в щелочную область соответствуют увеличению количества аминогрупп в белке (или уменьшению карбоксильных)).

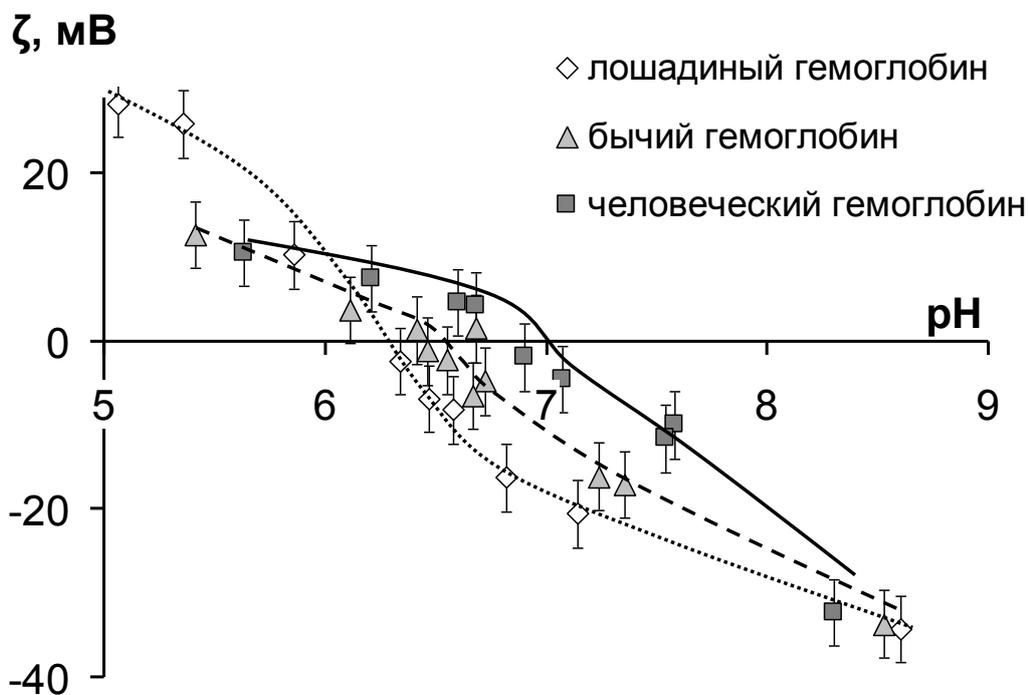


Рис. 3.7 - Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий лошадиного, человеческого и бычьего гемоглобина от pH в растворах $KCl\ 5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

3.1.4 Электрокинетические свойства гемоглобина в водных растворах 1-, 2- и 3-зарядных ионов

Рассмотрим влияние катионов и анионов, содержащихся в крови*, на электрокинетический потенциал бычьего гемоглобина (рис. 3.8 -3.13). На рис.3.8

* В качестве "трехзарядных анионов" взяты цитрат-ионы, так как цитрат натрия 1-замещённый используют для консервирования крови, чтобы связать большую часть ионов кальция. Без ионов кальция кровь дольше хранится, не происходит коагуляции - слипания эритроцитов и других клеток крови. Слабая трехосновная кислота в растворе подвергается электролитической диссоциации. Константы диссоциации лимонной кислоты в водных растворах довольно близки (при 25°C: $pK_1=3,128$, $pK_2=4,761$, $pK_3=5,396$ [95]) и содержание трехзарядных анионов и в рассматриваемом диапазоне pH ($pH=4,2-6,5$) довольно велико в отличие, например, от фосфорной кислоты ($pK_1=2,148$, $pK_2=7,198$, $pK_3=11,9$ [95]).

и рис. 3.9 (таблицы Приложения А А5, А7, А8) ярко выражено влияние природы противоионов на электрокинетический потенциал гемоглобина: на одном из рисунков приведена зависимость электрокинетического потенциала от рН водных дисперсий гемоглобина а для различных анионов и одного вида катионов (калия), а на другом - для различных катионов и одного вида анионов (хлора). Видно, что действие ионов сказывается в той области значений рН, в которой они будут являться противоионами для гемоглобина. Влияние катионов проявляется только в отрицательной области значений электрокинетического потенциала, где $pH > pH_{ИЭТ}$, и не сказывается области $pH < pH_{ИЭТ}$. Отрицательные значения электрокинетического потенциала гемоглобина уменьшаются по абсолютной величине в ряду $Na^+ \rightarrow K^+ \rightarrow Mg^{2+} \rightarrow Ca^{2+}$ в соответствии с их зарядом и положением в лиотропном ряду. В области $pH < pH_{ИЭТ}$ положительные значения электрокинетического потенциала уменьшаются с увеличением ионной силы раствора, которая будет больше для хлоридов двухзарядных катионов. Заряд анионов (рис.3.9) сказывается в области $pH < pH_{ИЭТ}$: в ряду хлорид-, сульфат-, цитрат-ионы с увеличением заряда иона значения электрокинетического потенциала уменьшаются, что соответствует классической теории ДЭС (рис. 3.9). В области $pH < 5$ происходит сближение значений электрокинетического потенциала для сульфат- и цитрат-ионов, что связано с уменьшением количества трехзарядных цитрат-ионов и увеличением количества двухзарядных гидроцитрат-ионов, а затем появления и однозарядных дигидроцитрат-ионов (таблица 3.1). Также рассматриваемые ионы сорбируются неспецифически, так как значения изоэлектрических точек гемоглобина, полученных в присутствии этих ионов в пределах погрешности совпадают с изоэлектрической точкой гемоглобина в растворах потенциалопределяющих ионов H^+ и OH^- .

Полученные зависимости электрокинетического потенциала от рН в присутствии ионов натрия, калия, магния и кальция подтверждаются видом зависимостей электрокинетического потенциала от концентрации индифферентных электролитов, содержащих эти ионы (рис. 3.10, таблица Приложения А4). На электрокинетический потенциал катионы влияют в

соответствии с их зарядом и положением в лиотропном ряду. Влияние их концентрации на электрокинетический потенциал соответствует также классической теории ДЭС: с увеличением концентрации отрицательные значения электрокинетического потенциала по абсолютной величине уменьшаются.

Таблица 3.1

Содержание 1, 2 и 3-зарядных форм цитрат-ионов в растворе в зависимости от рН

рН	рК	Кислота	Соль	Соотношение концентраций кислоты и соли c_K/c_C
3	3,128	$C_3H_5O(COOH)_3$	$C_3H_5O(COOH)_2(COO)^-$	1,34
3,5	4,761	$C_3H_5O(COOH)_2(COO)^-$	$C_3H_5O(COOH)(COO)_2^{2-}$	18,24
4	4,761	$C_3H_5O(COOH)_2(COO)^-$	$C_3H_5O(COOH)(COO)_2^{2-}$	5,77
4,5	4,761	$C_3H_5O(COOH)_2(COO)^-$	$C_3H_5O(COOH)(COO)_2^{2-}$	1,82
5	5,396	$C_3H_5O(COOH)(COO)_2^{2-}$	$C_3H_5O(COO)_3^{3-}$	2,49
5,5	5,396	$C_3H_5O(COOH)(COO)_2^{2-}$	$C_3H_5O(COO)_3^{3-}$	0,79
6	5,396	$C_3H_5O(COOH)(COO)_2^{2-}$	$C_3H_5O(COO)_3^{3-}$	0,25
6,5	5,396	$C_3H_5O(COOH)(COO)_2^{2-}$	$C_3H_5O(COO)_3^{3-}$	0,08
7	5,396	$C_3H_5O(COOH)(COO)_2^{2-}$	$C_3H_5O(COO)_3^{3-}$	0,02

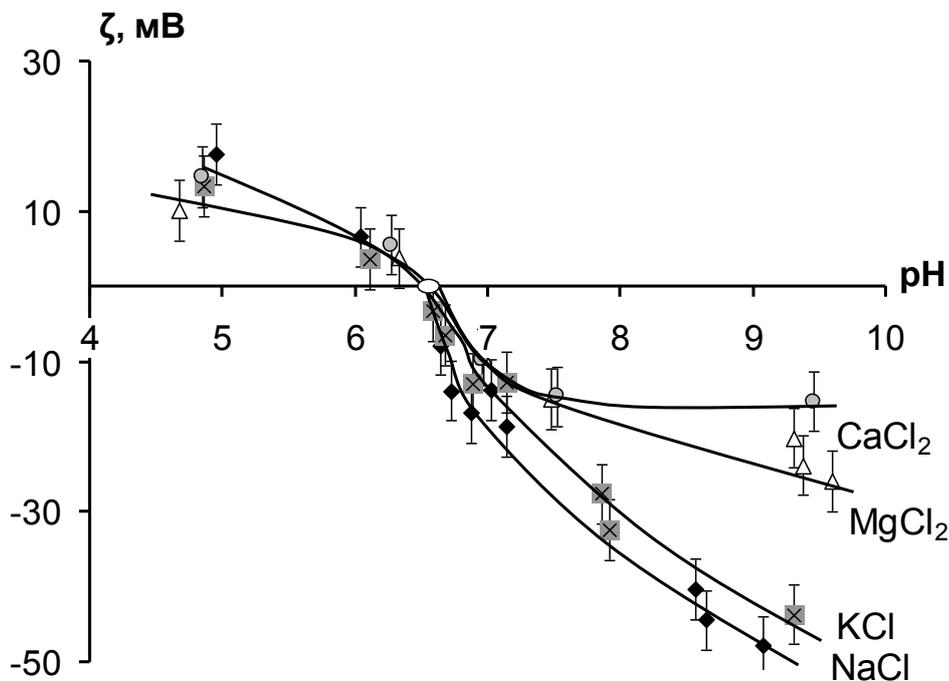


Рис. 3.8 Зависимость значений электрокинетического потенциала от рН водных дисперсий бычьего гемоглобина в присутствии хлоридов одно- и двухзарядных катионов металлов (концентрация солей $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

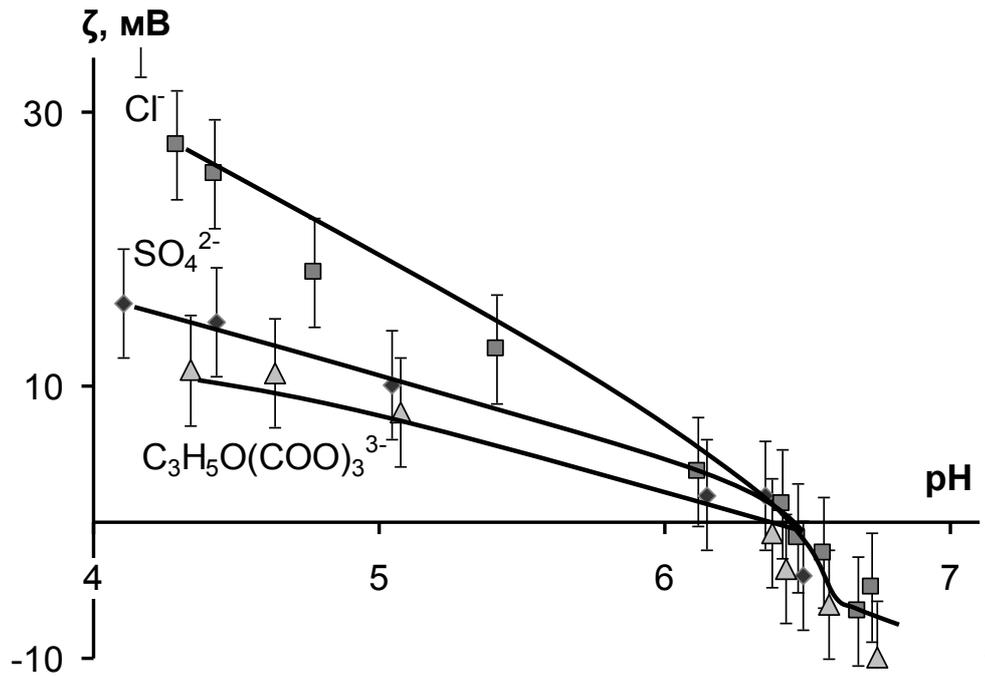


Рис. 3.9 Зависимость электрокинетического потенциала от рН для водных дисперсий бычьего гемоглобина в присутствии цитрата, сульфата и хлорида калия (концентрация солей $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

Рассмотрим также зависимости электрокинетического потенциала от концентрации катионов для сульфатов железа II и III (рис.3.11 и таблица Приложения А6). Как видно из рисунка, и те и другие ионы вызывают перезарядку поверхности в отличие от катионов кальция и магния. В данном случае это объясняется тем, что во-первых ионы железа сильно гидролизуются, гидролизованные ионы в растворе поляризуются и способны адсорбироваться в сверхэквивалентных количествах, кроме того железо, являясь переходным металлом способно образовывать комплексы как с ионами в растворе, так и на поверхности гемоглобина, вследствие ярко выраженных акцепторных свойств катионов железа. Увеличение концентрации сульфатов железа сказывается на значениях рН дисперсий гемоглобина (таблица 3.1), что также способствует процессу перезарядки поверхности.

Таблица 3.2

Зависимость электрокинетического потенциала от концентрации сульфата железа II, III и от pH.

Концентрация сульфата железа с, моль/л	Отрицательный логарифм концентрации сульфата железа $-\lg c$	Значение pH	Электрокинетический потенциал ζ , мВ
Сульфат железа II			
10^{-5}	5,00	6,66	-3,0
$5 \cdot 10^{-5}$	4,30	6,84	-4,9
10^{-4}	4,00	6,32	2,1
$5 \cdot 10^{-4}$	3,30	5,73	11,4
Сульфат железа III			
10^{-5}	5,00	6,75	-8,1
$5 \cdot 10^{-5}$	4,30	6,35	0,0
10^{-4}	4,00	5,58	7,7
$5 \cdot 10^{-4}$	3,30	3,73	23,2

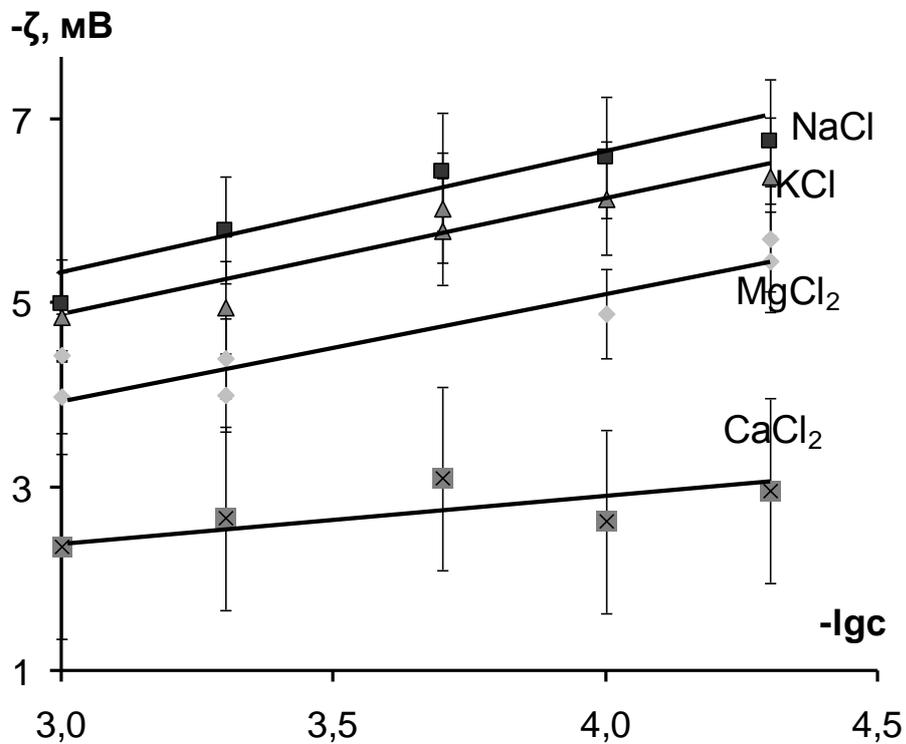


Рис. 3.10 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий бычьего гемоглобина от отрицательного логарифма концентрации хлоридов одно- и двухзарядных катионов металлов.

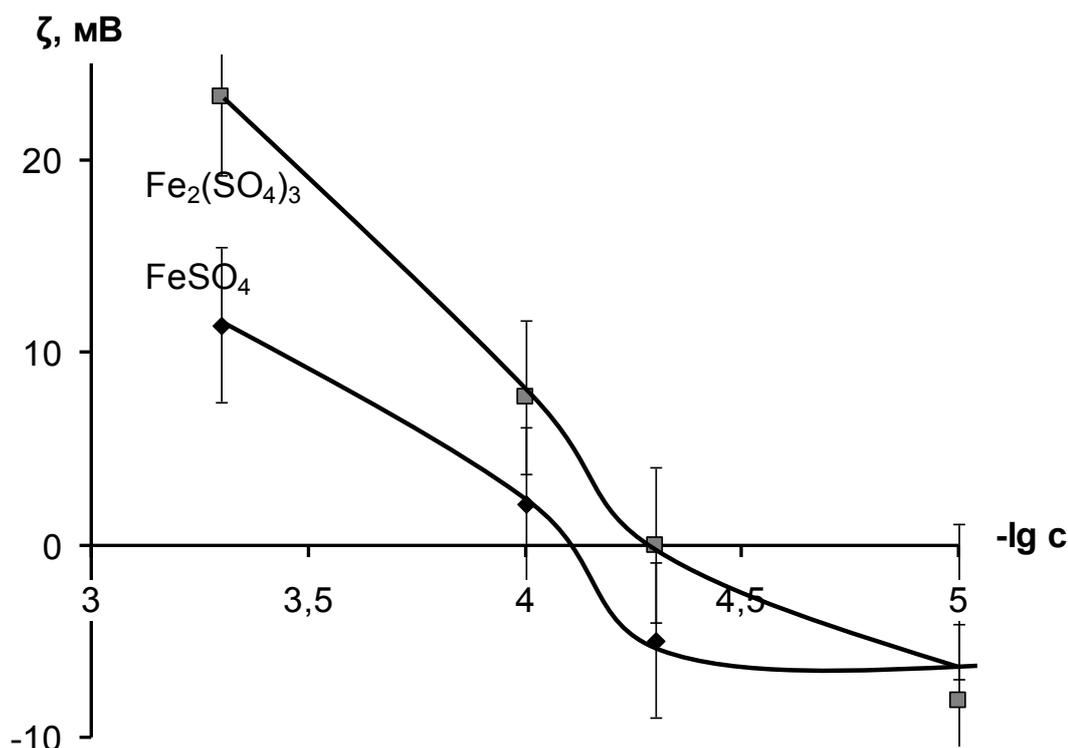


Рис. 3.11 Зависимость значений электрокинетического потенциала водных дисперсий бычьего гемоглобина от отрицательного логарифма концентрации катионов железа II и III.

В крови содержатся в больших количествах фосфат^{*}- ионы. Эти ионы наряду с гемоглобином обеспечивают буферную емкость крови. Рассмотрим зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий гемоглобина от pH в присутствии этих ионов от pH (рис.3.12 и таблица Приложения А7). Влияние "фосфат"-ионов на значение электрокинетического потенциала водных дисперсий бычьего гемоглобина будет таким же, как и для однозарядных хлорид-ионов. Это объясняется тем, что ортофосфорная кислота трехосновная и в кислой области анионы этой кислоты представлены гидрофосфат-ионами и дигидрофосфат-ионами, причем концентрация однозарядных ионов будет преобладать.

Как известно, гемоглобин переносит не только кислород от органов дыхания к тканям, но и углекислый газ от тканей к органам дыхания. В соответствии с полученными данными (рис.3.13 и таблица Приложения А 9) карбонат-ионы по сравнению с хлорид-ионами смещают изоэлектрическую точку

* Фосфатные ионы представлены в крови гидрофосфат-ионами и дигидрофосфат-ионами, при pH крови = 7,4 соотношение $[\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}]$ равняется 1:4.

гемоглобина в кислую область от значений $pH=6,5$ до $pH=6,3$. Это свидетельствует о том, что карбонат-анионы специфически сорбируются на гемоглобине.

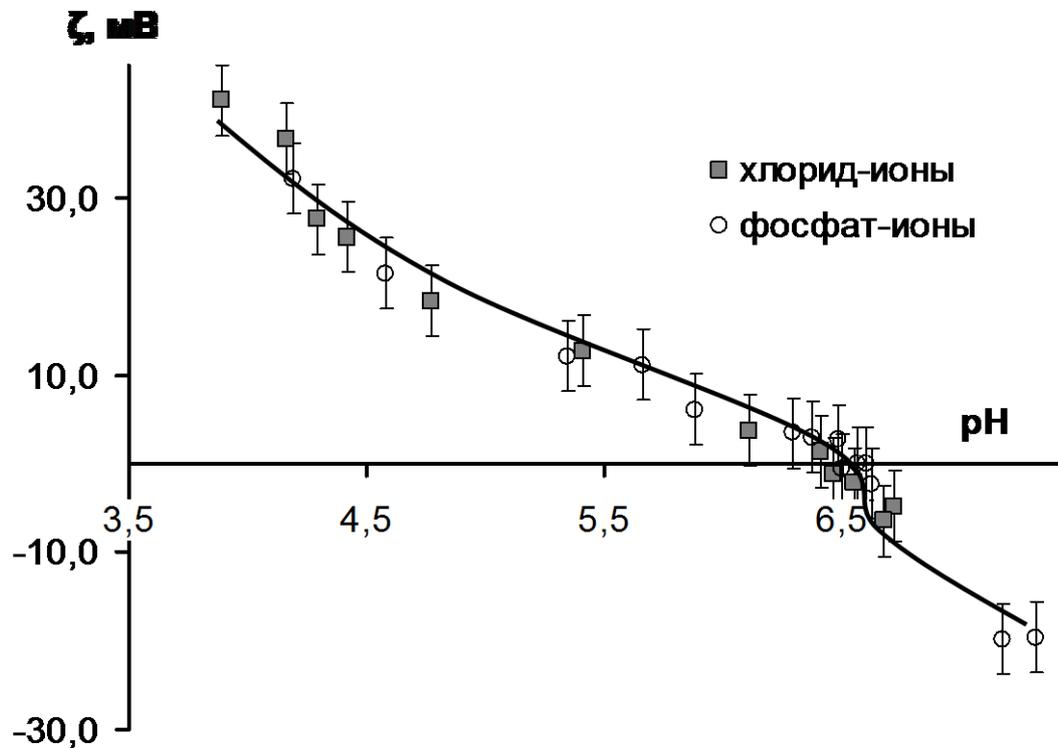


Рис. 3.12 Зависимость электрокинетического потенциала от pH для водных дисперсий бычьего гемоглобина в присутствии хлорида и фосфата калия (концентрация солей $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

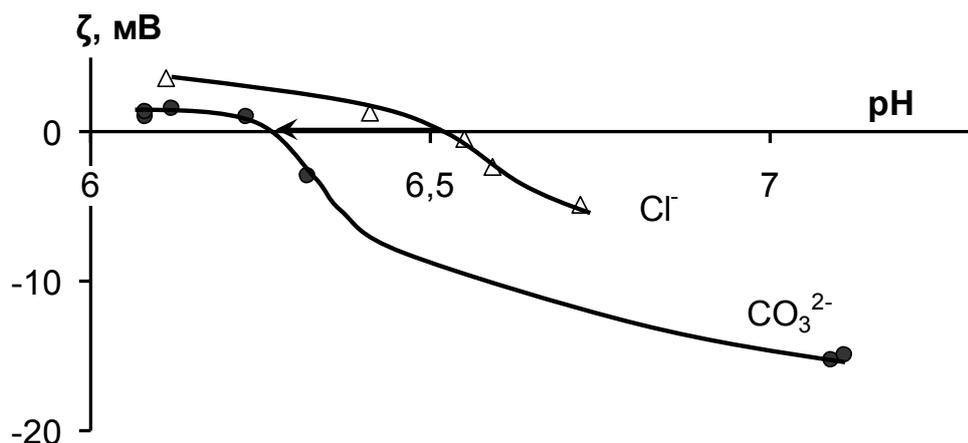
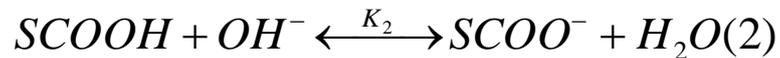
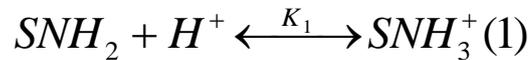


Рис. 3.13 Зависимость электрокинетического потенциала от pH для водных дисперсий бычьего гемоглобина в присутствии карбонат и хлорид-ионов (концентрация солей $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

3.1.5 Адсорбция протонов и гидроксид-ионов

Рассмотрим результаты потенциометрического титрования водных дисперсий бычьего гемоглобина в растворах KCl (рис. 3.14-3.17 и таблицы Приложения А9-А17). В качестве примера на рис. 1 приведены две кривых потенциометрического титрования: одна - кривая потенциометрического титрования дисперсии гемоглобина в растворе KCl 1,0 моль/л, вторая - титрования фонового раствора KCl 1,0 моль/л (рис. 3.14). На поверхности гемоглобина в водных растворах адсорбируются одновременно ионы H^+ и OH^- . В общем виде можно записать две поверхностные реакции:



где **S** – символ поверхности. Соответственно в зависимости от того, адсорбция каких ионов преобладает, поверхность приобретает либо положительный, либо отрицательный заряд [92,96-102]. Равенству количества адсорбированных протонов и гидроксид-ионов соответствует точка пересечения кривых - точка нулевого заряда ($pH_{\text{тнз}}$). В области $pH < pH_{\text{тнз}}$ кривая титрования с сорбентом идет выше, чем без сорбента (во всех случаях), вследствие сорбции H^+ - ионов на гемоглобине. Гемоглобин в этой области pH заряжен положительно. В области $pH > pH_{\text{тнз}}$ кривая с сорбентом идет ниже, чем без сорбента из-за сорбции OH^- - ионов, при этом поверхность заряжается отрицательно.

Из данных потенциометрического титрования рассчитывали количества сорбированных H^+ , OH^- -ионов как функции pH (глава "2.2.3. Методика непрерывного потенциометрического титрования"). По этим данным строили зависимости количества адсорбции протонов и гидроксид-ионов от pH , приведенные на рис.3.15-3.18.

Для сравнения зависимостей электрокинетического потенциала от pH и количества адсорбированных протонов и гидроксид-ионов от pH в качестве фонового электролита использовался хлорид калия, поэтому очень важно, чтобы катионы калия и анионы хлора сорбировались на гемоглобине неспецифически.

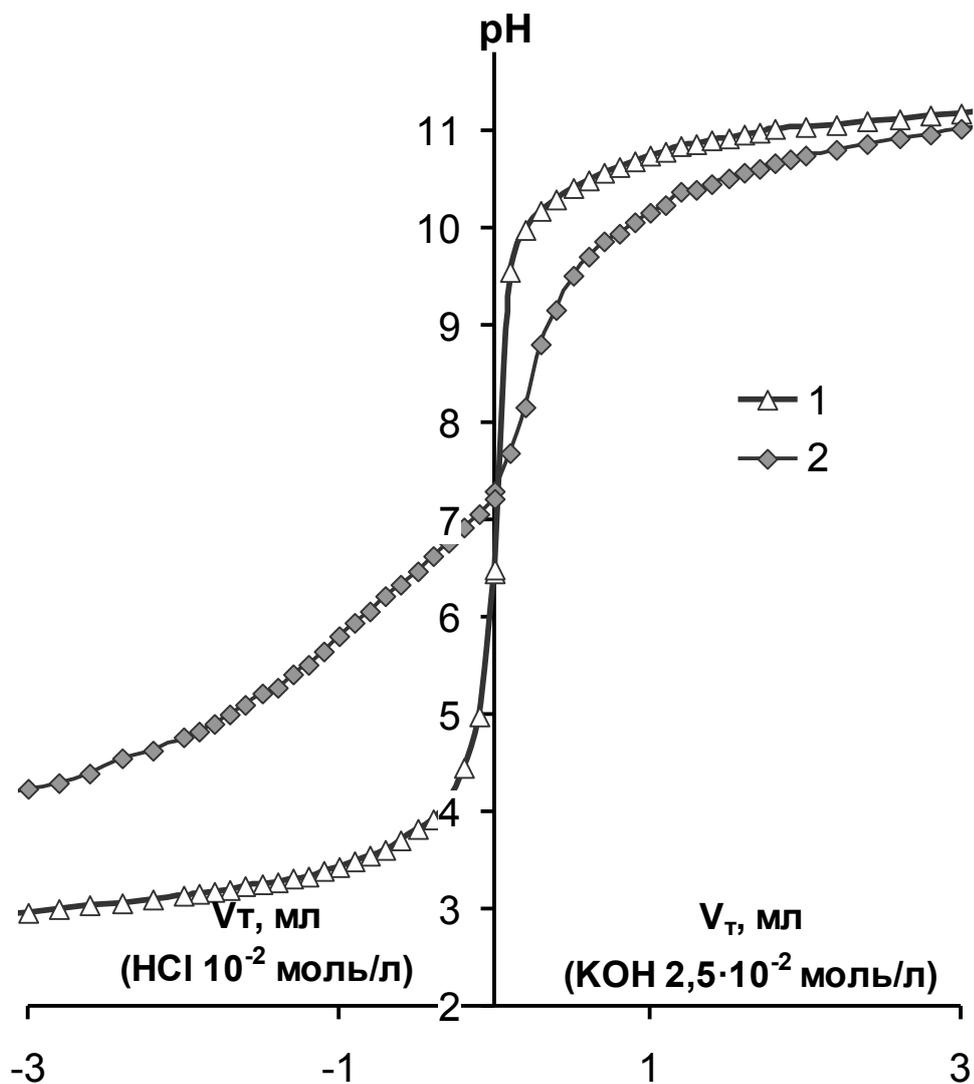


Рис. 3.14 Кривые потенциометрического титрования водных растворов хлорида калия 1,0 моль/л без гемоглобина (1) и с гемоглобином(2).

Рассмотрим зависимость адсорбции протонов и гидроксид-ионов от pH при различных концентрациях хлорида калия (рис. 3.15). Равенство адсорбции протонов и гидроксид-ионов соответствует $pH_{\text{тнз}}$, положительным значениям - преобладание сорбции протонов, отрицательным - гидроксид-ионов. Определенное $pH_{\text{тнз}}=7,4$ близко по значению к pH крови. При увеличении концентрации протонов в водных растворах увеличивается протонизация аминогрупп, и уменьшается диссоциация карбоксильных групп. К обратному эффекту приводит увеличение концентрации гидроксид-ионов. Из рис. 3.15 видно, что в растворах хлорида калия не наблюдается смещения $pH_{\text{тнз}}$, что свидетельствует об отсутствии специфической сорбции катионов калия и хлора на гемоглобине. При увеличении ионной силы раствора (концентрации хлорида

калия) происходит увеличение обмена катионов и анионов на H^+ , OH^- , что отражается на увеличении сорбции H^+ , OH^- . Таким образом, хлориды щелочных и щелочноземельных металлов не сорбируются на гемоглобине специфически и влияют на сорбцию протонов и гидроксид-ионов только через изменение ионной силы раствора.

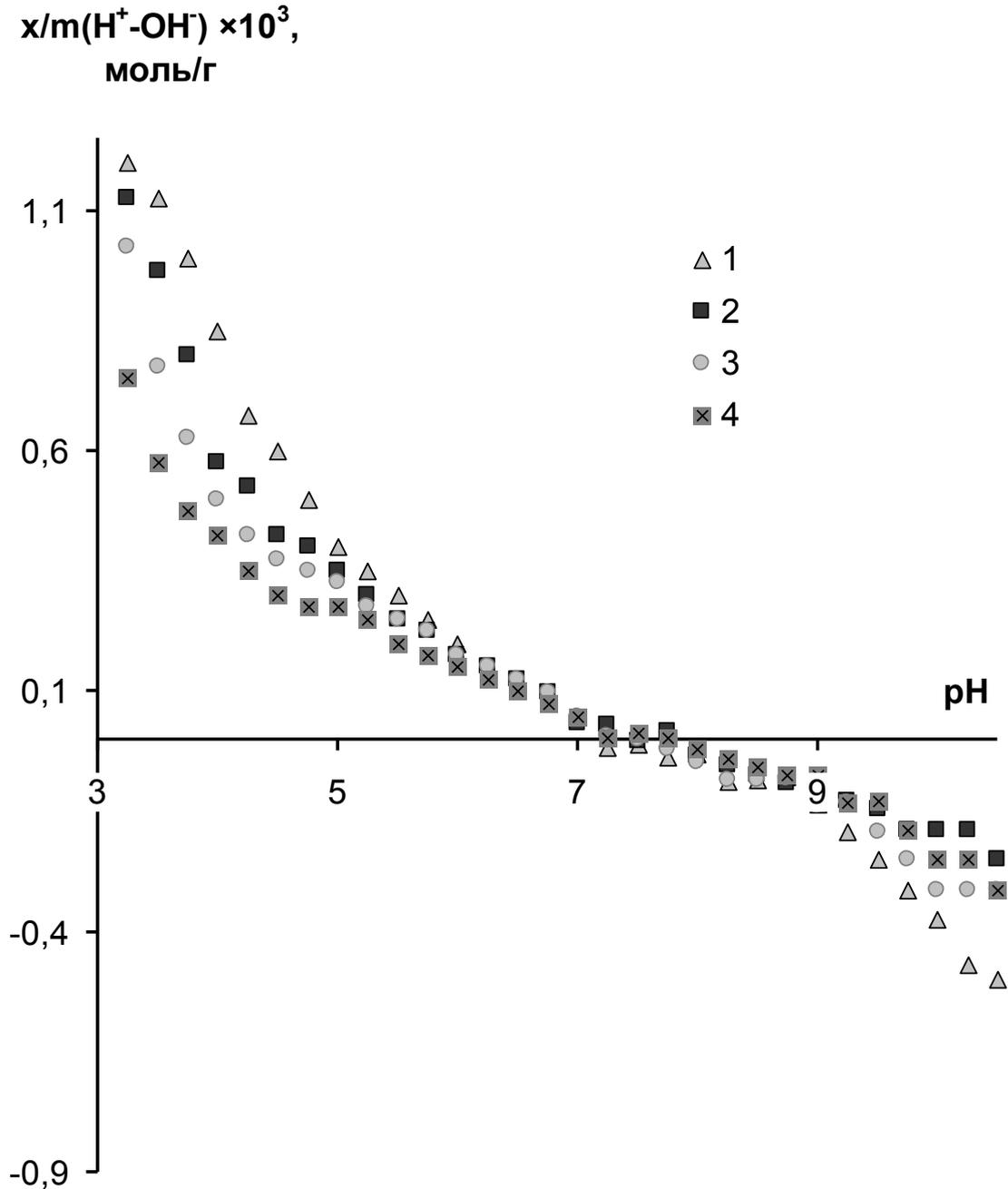


Рис.3.15 Зависимость адсорбции протонов и гидроксид-ионов от pH в водных растворах при различных концентрациях хлорида калия:
1 - 1,0 моль/л; 2 - 0,1 моль/л, 3 - $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л, 4 - $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Рассмотрим влияние одно- и двухзарядных катионов металлов на сорбцию протонов и гидроксид-ионов (рис.3.16). При концентрации солей калия, натрия, магния, кальция $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л не заметно сильных отличий в количестве адсорбированных протонов и гидроксид-ионов, также нет смещения точки нулевого заряда, что свидетельствует о схожем характере влияния этих катионов на адсорбцию.

Методом микроэлектрофореза ранее было показано, что присутствие карбонат-ионов смещает рН изоэлектрической точки в кислую область [103]. Рассмотрим адсорбцию протонов и гидроксид-ионов в зависимости от рН в присутствии хлорида и карбоната калия (рис. 3.17). Как видно из рис. 3.17 присутствие карбонат-ионов смещает точку нулевого заряда в щелочную область (чем больше концентрация карбонат-ионов, тем сильнее смещение), а также присутствие больших концентраций карбонат-ионов увеличивает адсорбцию протонов. Полученные данные подтверждают сделанное ранее заключение о специфической адсорбции карбонат-ионов.

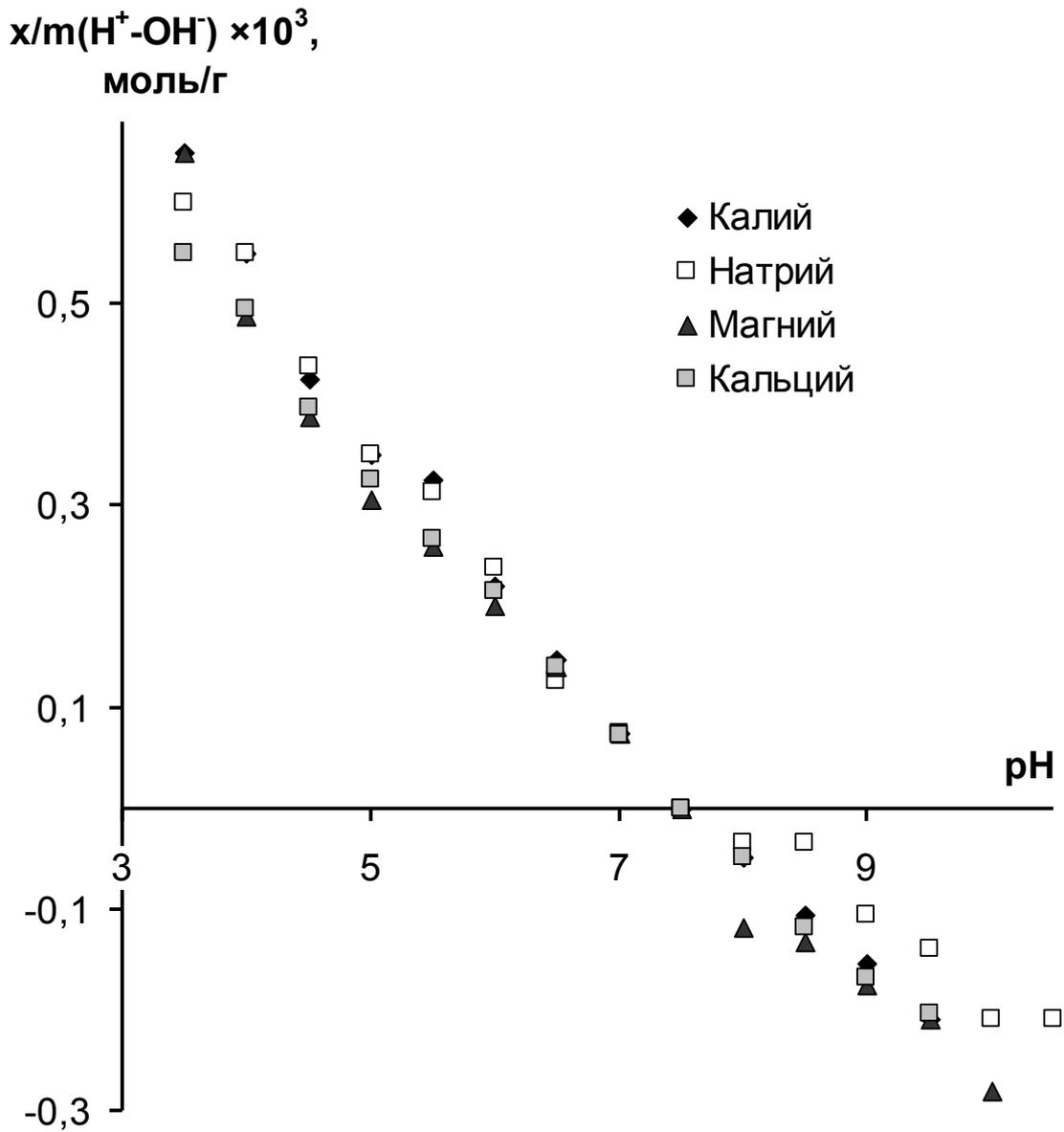


Рис. 3.16 Зависимость адсорбции протонов и гидроксид-ионов от рН в водных растворах хлоридов калия, натрия, магния и кальция (концентрация солей $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

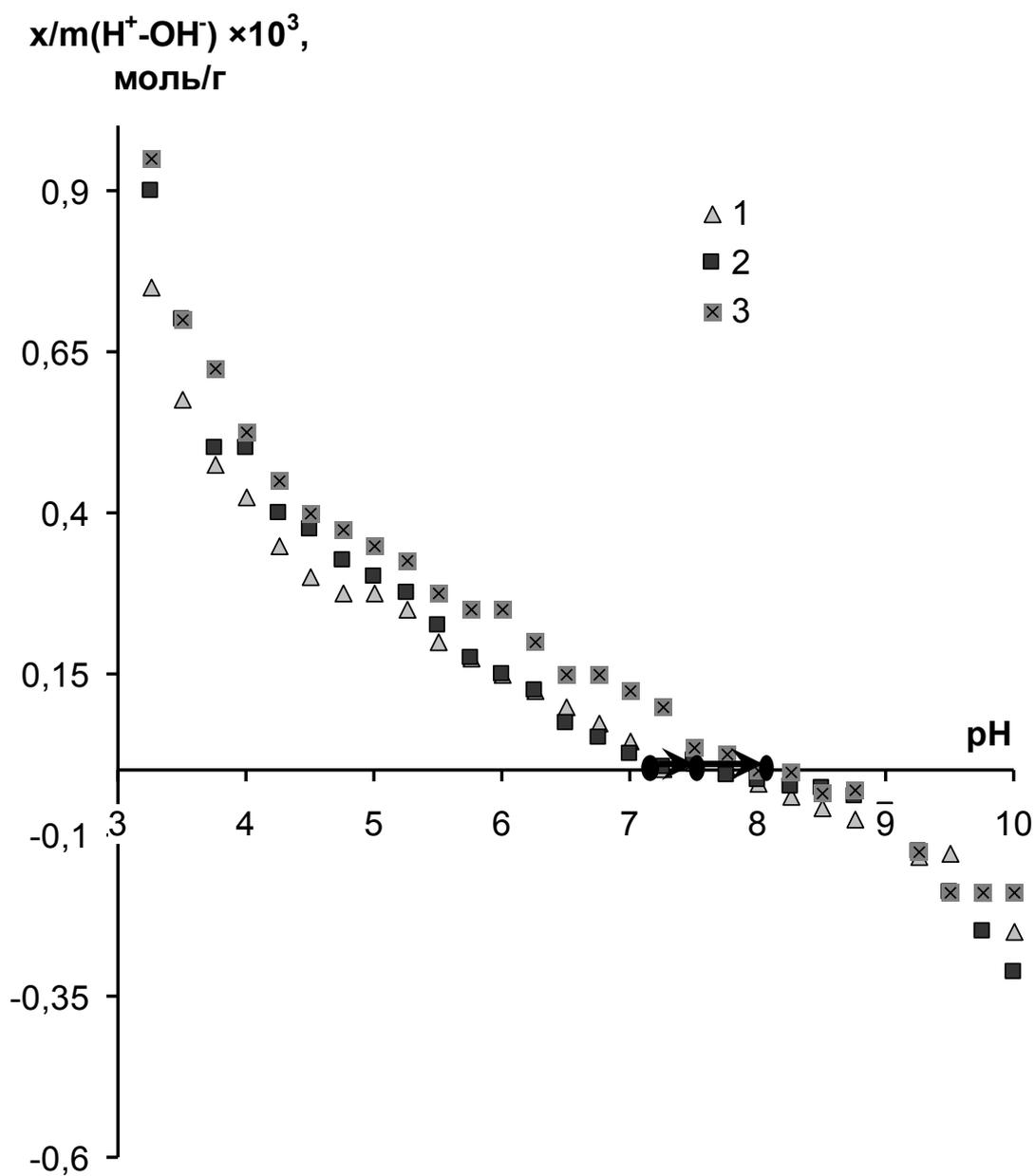


Рис.3.17 Зависимость адсорбции протонов и гидроксид-ионов от рН в водных растворах при различных концентрациях:
1- $KCl \ 5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, 2- $K_2CO_3 \ 5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, 3 - $K_2CO_3 \ 1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

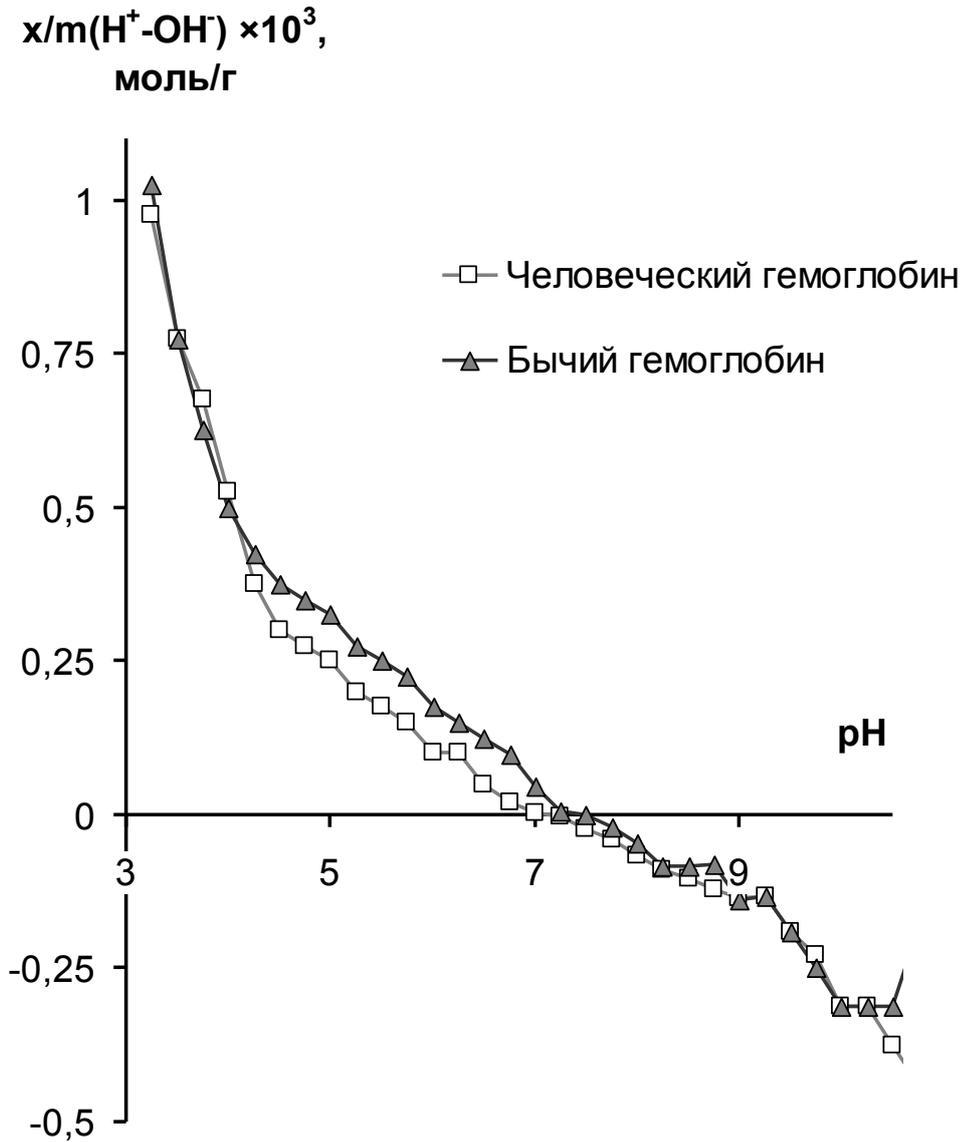


Рис.3.18 Зависимость адсорбции протонов и гидроксид-ионов от рН в водных дисперсиях бычьего и лошадиного гемоглобина при концентрациях КСl $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

3.1.6 Определение количества основных и кислотных функциональных групп гемоглобина

3.1.6.1 Определение количества основных и кислотных функциональных групп гемоглобина кондуктометрическим методом

Количество кислотных и основных функциональных групп гемоглобина определялось путем кондуктометрического титрования. По точкам перегиба на

кондуктограммах (рис. 3.19, 3.20, таблица Приложения А18) находился эквивалентный объем добавленного титранта и рассчитывалось количество моль основных и кислотных групп, приходящихся на 1 г гемоглобина по формуле:

$$x = \frac{V_T \cdot c_T}{m} \quad (3.1)$$

где c_T - концентрация титранта (кислоты или щелочи), моль/л; V_T - объем титранта, л; m - масса навески гемоглобина, г.

Пример результатов кондуктометрического титрования основных групп гемоглобина соляной кислотой различных концентраций представлен на рис. 3.19 и 3.20. По кондуктограммам определялись эквивалентные объемы титранта и рассчитывалось количество основных и кислотных групп.

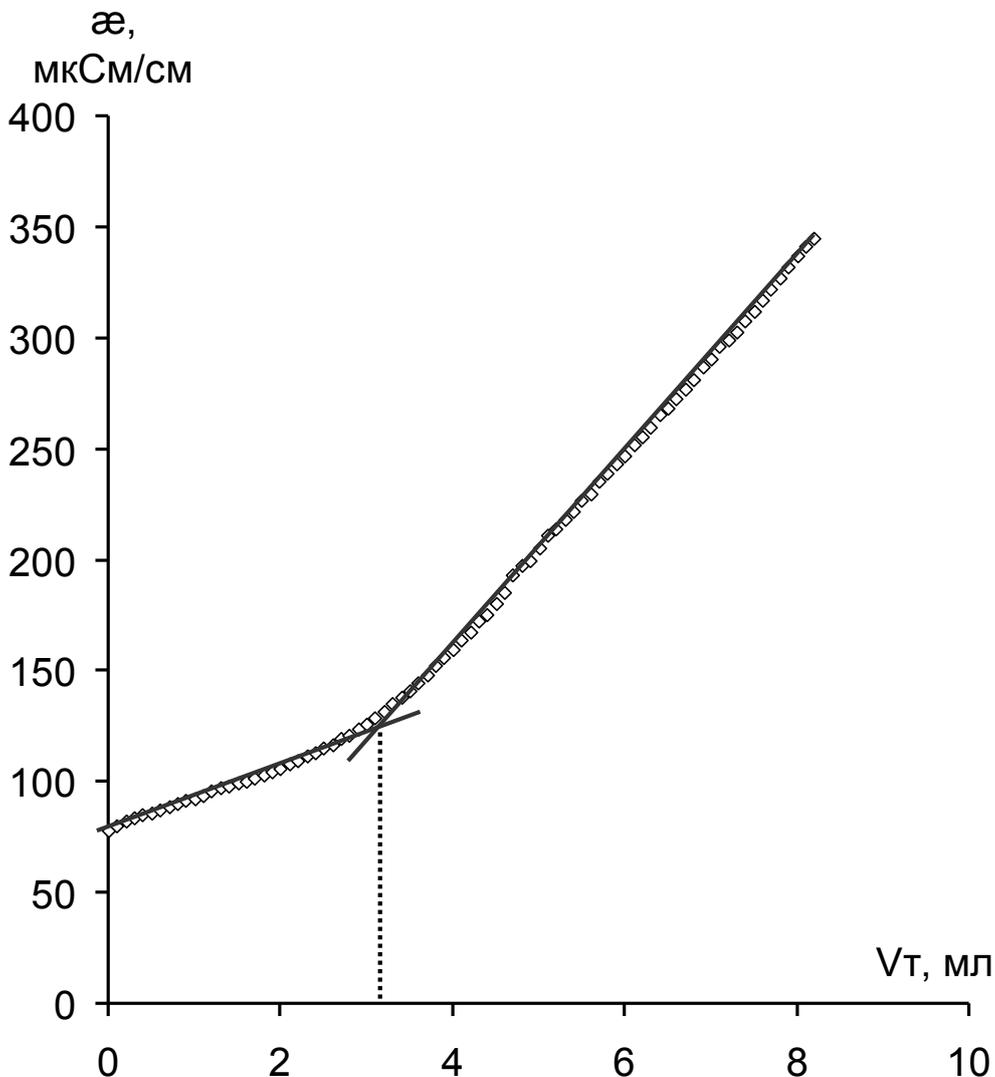


Рис. 3.19 Результаты кондуктометрического титрования водной дисперсии бычьего гемоглобина (0,1 г/50 мл) хлороводной кислотой ($c_T=1 \cdot 10^{-2}$ моль/л).

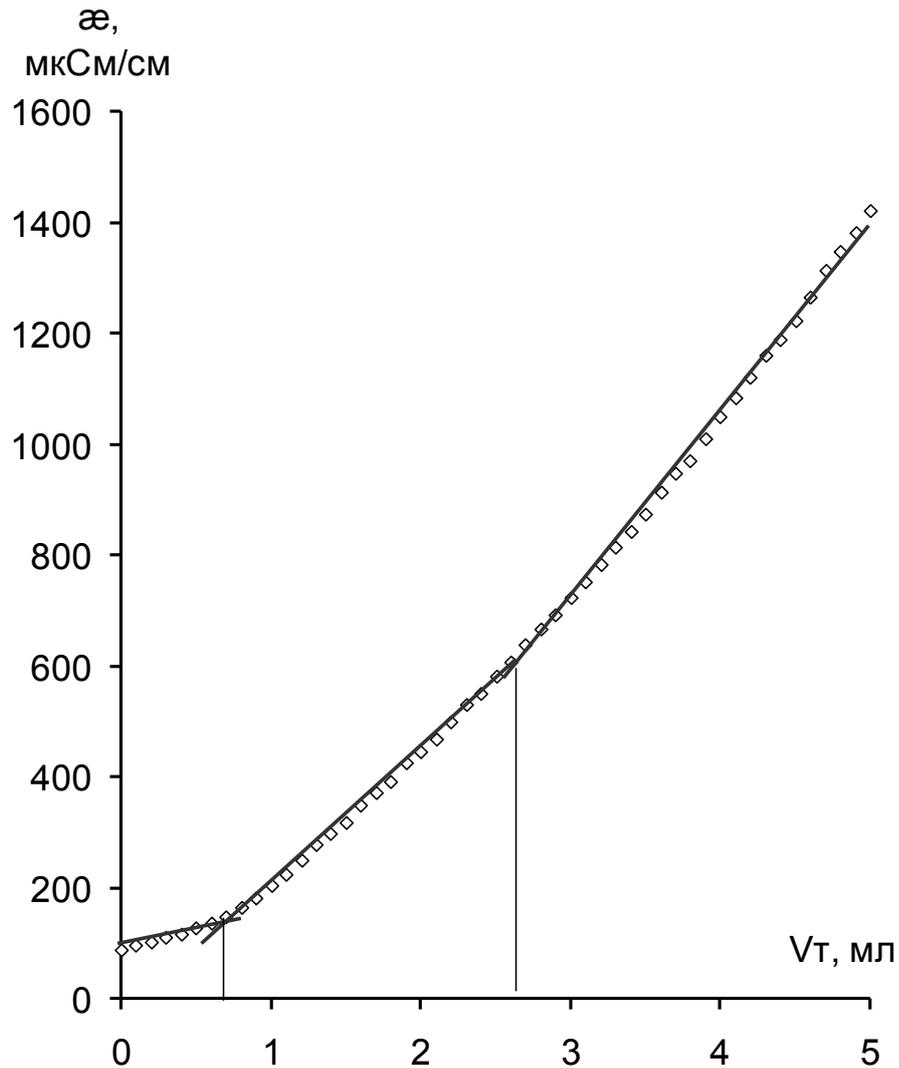


Рис. 3.20 Результаты кондуктометрического титрования водной дисперсии бычьего гемоглобина (0,1 г/50 мл) хлороводной кислотой ($c_T=5 \cdot 10^{-2}$ моль/л).

На кондуктограмме (рис. 3.20) две точки перегиба, следовательно, этим двум точкам отвечает два типа основных групп, количество которых:

$X(\text{bas})_1=0,01 \cdot 2,85 \cdot 10^{-3} / 0,1=2,85 \cdot 10^{-4}$ моль/г, где $X(\text{bas})_1=2,85 \cdot 10^{-4}$ моль/г - количество основных групп первого типа, определенное по первой точке эквивалентности (рис.3.19)

$X(\text{bas})_\infty=0,05 \cdot 2,7 \cdot 10^{-3} / 0,1=1,35 \cdot 10^{-3}$ моль/г где $X(\text{bas})_2=1,35 \cdot 10^{-3}$ моль/г - суммарное количество основных групп первого и второго типа, определенное по второй точке эквивалентности (рис.3.20).

Аналогично количество кислотных групп:

$$X(\text{ac})_1=0,0238 \cdot 1,2 \cdot 10^{-3} / 0,1=2,86 \cdot 10^{-4} \text{ моль/г}$$

$$X(\text{ac})_{\infty} = 0,037 \cdot 3,4 \cdot 10^{-3} / 0,1 = 1,25 \cdot 10^{-3} \text{ моль/г}$$

Таким образом, в гемоглобине содержится два типа кислотных и основных групп.

3.1.6.2 Определение количества основных и кислотных функциональных групп гемоглобина по адсорбционным данным

Следует отметить, что рассчитывались не абсолютные количества адсорбированных протонов или гидроксид-ионов, а избыток адсорбции протонов по сравнению с адсорбцией гидроксид-ионов или наоборот. Для расчета количества основных и кислотных групп гемоглобина должно выполняться условие:

$$\Gamma = \left| \frac{x}{m} (H^+ - OH^-) \right|, \quad (3.2)$$

где Γ - величина удельной адсорбции протонов на основных группах гемоглобина (или гидроксид-ионов на кислотных группах), моль/г; $\frac{x}{m} (H^+ - OH^-)$, - избыток сорбированных ионов, моль/г. Для основных групп это условие выполняется в точках, где адсорбция протонов во много раз превышает адсорбцию гидроксид-ионов, поэтому адсорбцией гидроксид-ионов можно пренебречь (рис. 3.21 область I). Для кислотных групп условие выполняется в точках, где адсорбция гидроксид-ионов во много раз превышает адсорбцию протонов, поэтому адсорбцией протонов можно пренебречь (рис. 3.21 область III). Также для расчетов используются адсорбционные данные, полученные при титровании водных дисперсий гемоглобина в 1М растворе хлорида калия, так как при большой ионной силе будет больше и адсорбция H^+ и OH^- .

На каждом адсорбционном центре может адсорбироваться только один ион, тогда процесс адсорбции можно описать уравнением Ленгмюра:

$$\Gamma = \Gamma_{\infty} \frac{K_n \cdot c}{1 + K_n \cdot c}, \quad (3.3)$$

где c - концентрация ионов (H^+ или OH^-), K_n , моль $^{-1}$ - константа адсорбционного равновесия, моль/л; Γ_∞ - максимальное значение удельной адсорбции, соответствующее количеству функциональных групп, доступных для адсорбции, моль/г.

Для экспериментального определения констант уравнение переписывают в виде $\frac{1}{\Gamma} = \frac{1}{\Gamma_\infty} + \frac{1}{K_n \Gamma_\infty} \cdot \frac{1}{c}$ (3.4), которое в координатах $1/\Gamma$ от $1/c$ представляет собой уравнение прямой линии. Тангенс угла наклона прямой равен $\frac{1}{K_n \Gamma_\infty}$, а отрезок, отсекаемый на оси ординат, равен $\frac{1}{\Gamma_\infty}$.

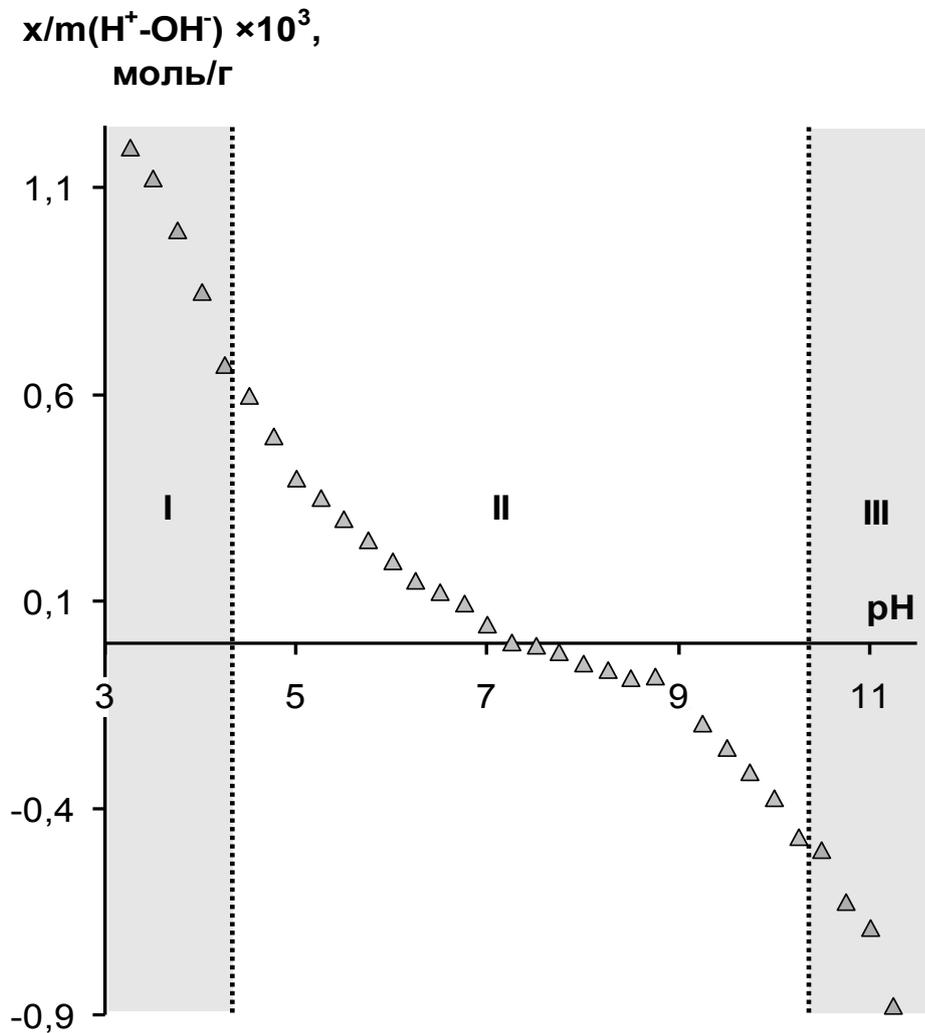


Рис.3.21 Зависимость адсорбции протонов и гидроксид-ионов на бычьем гемоглобине от pH в водных растворах при различных концентрациях хлорида калия 1 моль/л (серым выделены области pH использованные для расчета предельной адсорбции).

Пересчитаем рН на концентрацию протонов и гидроксид-ионов ($C(H^+) = 0,1^{pH}$ и $C(OH^-) = 0,1^{(14-pH)}$), рассчитаем $1/\Gamma$ от $1/c$ и построим зависимость $1/\Gamma = f(1/c)$ (рис. 3.22, 3.23). Для основных групп $\frac{1}{\Gamma_\infty} = 750 \text{ моль}^{-1} \cdot \Gamma$, для кислотных - $850 \text{ моль}^{-1} \cdot \Gamma$, то есть $\Gamma_\infty = 1,33 \cdot 10^{-3} \text{ моль/г}$ для основных групп и $1,18 \cdot 10^{-3} \text{ моль/г}$ для кислотных, что в пределах погрешности совпадает со значениями $X(bas)_2$ и $X(ac)_2$, полученных из результатов кондуктометрического титрования (таблица 3.5).

Таблица 3.3

Расчетные данные для определения предельной адсорбции на основных функциональных группах гемоглобина.

рН	$\Gamma(H^+)$, моль/г	$C(H^+)$, моль/л	$1/c \times 10^{-3}$ моль ⁻¹ ·л	$1/\Gamma \times 10^{-3}$ моль ⁻¹ ·г
3,25	1,20	$5,62 \cdot 10^{-4}$	1,78	0,83
3,5	1,13	$3,16 \cdot 10^{-4}$	3,16	0,89
3,75	1,00	$1,78 \cdot 10^{-4}$	5,62	1,00
4	0,85	$1 \cdot 10^{-4}$	10,00	1,18
4,25	0,68	$5,62 \cdot 10^{-5}$	17,78	1,48

Таблица 3.4

Расчетные данные для определения предельной адсорбции на кислотных функциональных группах гемоглобина.

рН	$\Gamma(OH^-)$, моль/г	$C(OH^-)$, моль/л	$1/c \times 10^{-3}$ моль ⁻¹ ·л	$1/\Gamma \times 10^{-3}$ моль ⁻¹ ·г
10,5	0,50	$03,16 \cdot 10^{-4}$	3,06	2,01
10,75	0,63	$5,62 \cdot 10^{-4}$	1,78	1,60
11	0,69	$1 \cdot 10^{-3}$	1,19	1,43
11,25	0,88	$1,78 \cdot 10^{-3}$	0,56	1,14

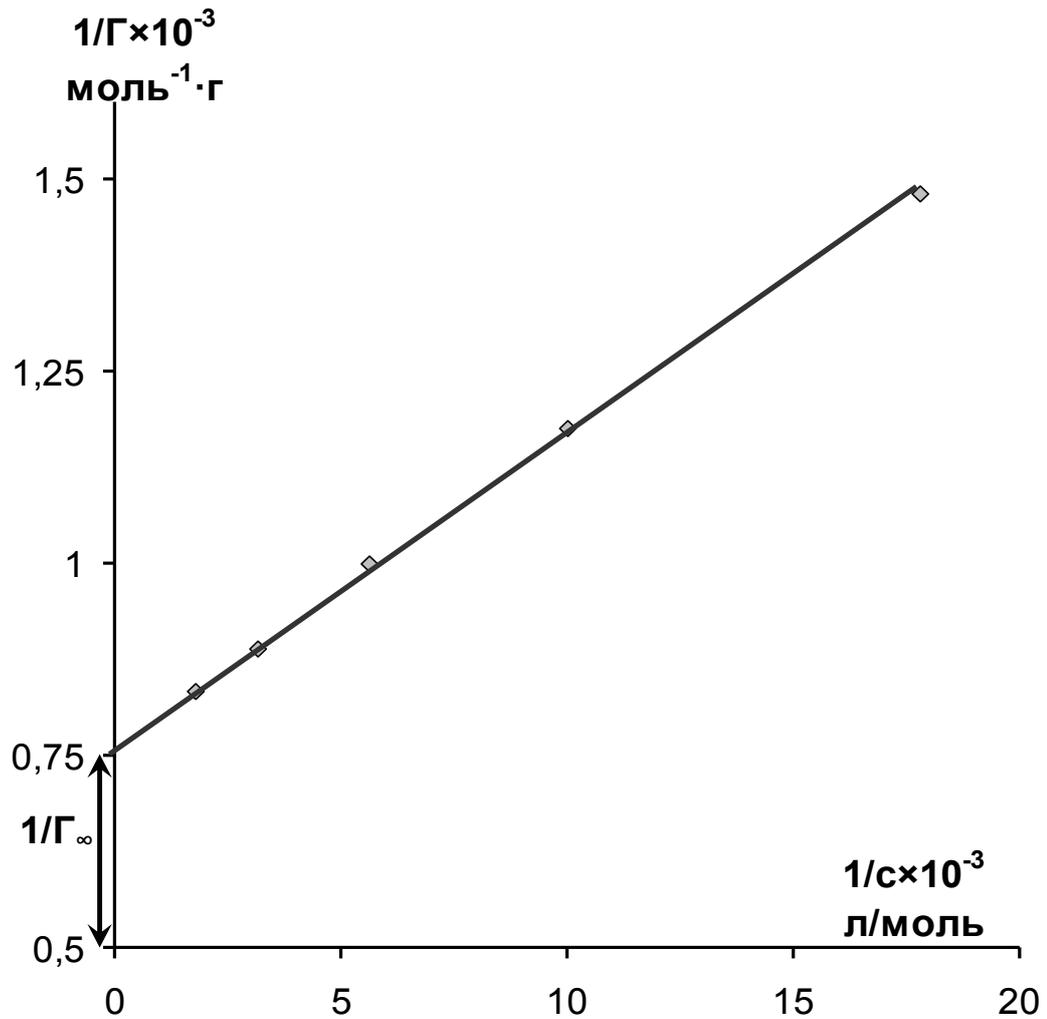


Рис. 3.22 Определение предельной адсорбции протонов на основных группах гемоглобина для дисперсий бычьего гемоглобина в растворе хлорида калия 1,0 моль/л.

Таблица 3.5

Значения предельной адсорбции протонов и гидроксид-ионов на бычьем гемоглобине, полученные из адсорбционных данных и по результатам кондуктометрического титрования:

Метод расчета	Кислотные группы	Основные группы
Из адсорбционных данных	$1,18 \cdot 10^{-3}$ моль/г	$1,33 \cdot 10^{-3}$ моль/г
По результатам кондуктометрического титрования	$1,25 \cdot 10^{-3}$ моль/г	$1,35 \cdot 10^{-3}$ моль/г

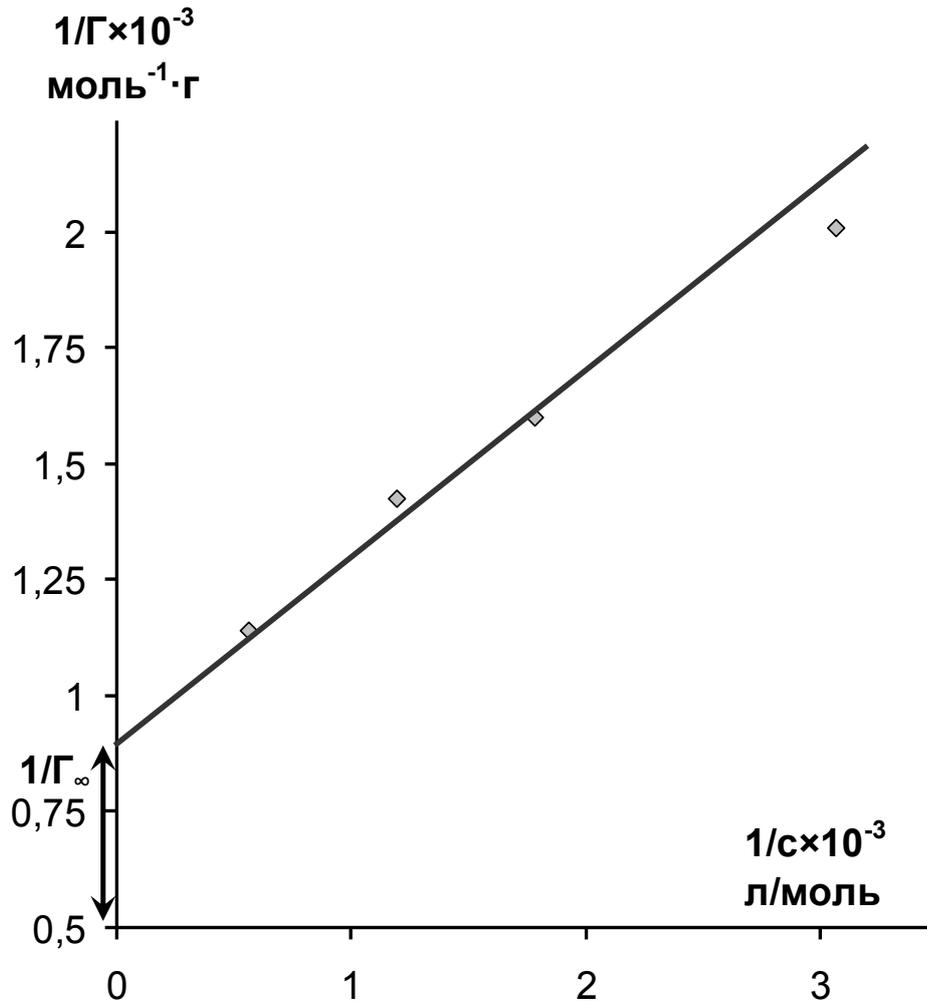


Рис. 3.23 Определение предельной адсорбции гидроксид-ионов на кислотных группах гемоглобина для дисперсий бычьего гемоглобина в растворе хлорида калия 1,0 моль/л.

3.1.6.3 Определение количества основных и кислотных функциональных групп гемоглобина из теоретических данных по аминокислотному составу гемоглобина

Рассчитаем примерное количество содержащихся в гемоглобине кислотных и основных групп из справочных данных (глава "1.3 Гемоглобин" табл. 1.1). Количество функциональных групп аминокислоты одного вида, приходящихся на 1 молекулу гемоглобина определялось как произведение количества функциональных групп в аминокислоте на число молекул аминокислоты,

содержащихся в одной молекуле гемоглобина (таблица 3.6). Полученные значения суммировались и делились на молярную массу гемоглобина (65000 моль/г) – таблица 3.7. Рассчитанное количество, например, аминогрупп, обладающих основными свойствами, гораздо больше, чем рассчитанное по результатам кондуктометрического титрования. Эта разница объясняется тем, что большая часть основных и кислотных групп гемоглобина связана между собой пептидными связями. Доля свободных групп, участвующих в обмене H^+ и OH^- гораздо меньше, чем доля связанных.

Таблица 3.6

Рассчитанные количества функциональных групп приходящихся на 1 молекулу гемоглобина.

Аминокислота	Число аминокислот	Количество функциональных групп аминокислоты, приходящихся на 1 молекулу гемоглобина.					
		COOH	NH ₂	NH	OH	N пирид.	SH
Аланин	54	54	54	0	0	0	0
Глицин	48	48	48	0	0	0	0
Валин	50	50	50	0	0	0	0
Лейцин	75	75	75	0	0	0	0
Изолейцин	0	0	0	0	0	0	0
Пролин	22	22	0	0	0	22	0
Фенилаланин	30	30	30	0	0	0	0
Тирозин	11	11	11	0	11	0	0
Триптофан	5	5	5	0	0	5	0
Серин	35	35	35	0	35	0	0
Треонин	24	24	24	0	24	0	0
Цистин 2	2,5	5	5	0	0	0	0
Цистеин	3	3	3	0	0	0	3
Метионин	4,5	4,5	4,5	0	0	0	0
Аргинин	14	14	42	14	0	0	0
Гистидин	36	36	36	0	0	72	0
Лизин	38	38	76	0	0	0	0
Аспарагиновая кислота	51	102	51	0	0	0	0
Глутаминовая кислота	38	76	38	0	0	0	0
Сумма	541	632,5	587,5	14	70	99	3

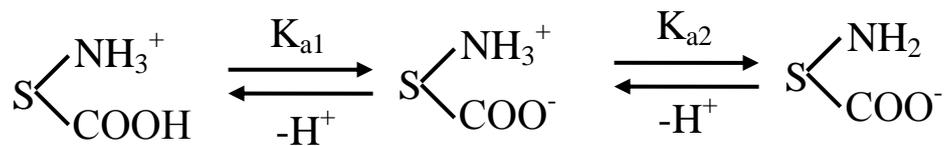
Таблица 3.7

Рассчитанные количества функциональных групп приходящихся на 1 г гемоглобина.

Группа	COOH	NH ₂	NH	OH	N пир.	SH
Число групп в гемоглобине	632,5	587,5	14	70	99	3
Количество групп на единицу массы гемоглобина, моль/г	$9,73 \cdot 10^{-3}$	$9,04 \cdot 10^{-3}$	$2,15 \cdot 10^{-4}$	$1,08 \cdot 10^{-3}$	$1,52 \cdot 10^{-3}$	$4,62 \cdot 10^{-5}$

3.1.7 Расчет констант диссоциации кислотных и основных групп гемоглобина по адсорбционным данным

Из определенных методом потенциометрического титрования величин адсорбции $\frac{x}{m}(H^+ - OH^-)$ в водных дисперсиях бычьего гемоглобина и определенной методом кондуктометрического титрования предельной адсорбции $\frac{x}{m}(H^+ - OH^-)_\infty$ для каждого значения рН и концентрации фонового электролита рассчитывалась степень диссоциации (результаты расчетов - в таблице Приложения А19 и А20):



где S - символ поверхности

$$\alpha_+ = \frac{\frac{x}{m}(H^+ - OH^-)}{X(\text{bas})_\infty} \quad \text{- для основных групп} \quad (3.5)$$

$$\alpha_- = \frac{\frac{x}{m}(H^+ - OH^-)}{X(\text{ac})_\infty} \quad \text{- для кислотных групп} \quad (3.6)$$

Далее для каждой точки вычисляли константы диссоциации функциональных групп гемоглобина по уравнениям:

- для основных групп концентрационные константы диссоциации

$$pK_{a1} = pH + \lg \frac{\alpha_+}{1 - \alpha_+} = pQ_1 \quad (3.7)$$

- для кислотных групп

$$pK_{a2} = pH - \lg \frac{\alpha_-}{1 - \alpha_-} = pQ_2 \quad (3.8)$$

Строили зависимости pQ_1 , pQ_2 от $\alpha + c^{1/2}$, где c - концентрация хлорида калия. Методом двойной экстраполяции определяли pK_{a1} , pK_{a2} : для каждой полученной зависимости (для каждой концентрации хлорида калия) проводили экстраполяцию на $\alpha=0$; через полученные точки проводили прямую до пересечения с осью ординат (экстраполяция к нулевой концентрации соли $c \rightarrow 0$) [104-106]. Полученные значения - $pK_{a1} = 6,1$, $pK_{a2} = 9,4$.

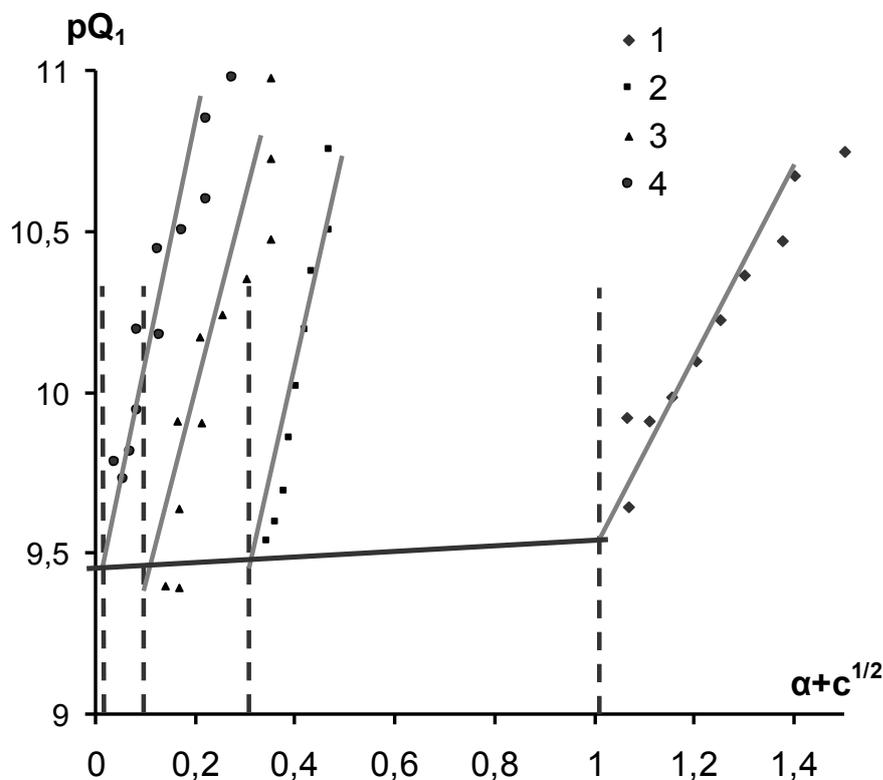


Рис. 3.24 Определение константы диссоциации кислотных групп бычьего гемоглобина в растворах хлорида калия методом двойной экстраполяции: 1 - 1,0 моль/л; 2 - 0,1 моль/л, 3 - $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л, 4 - $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

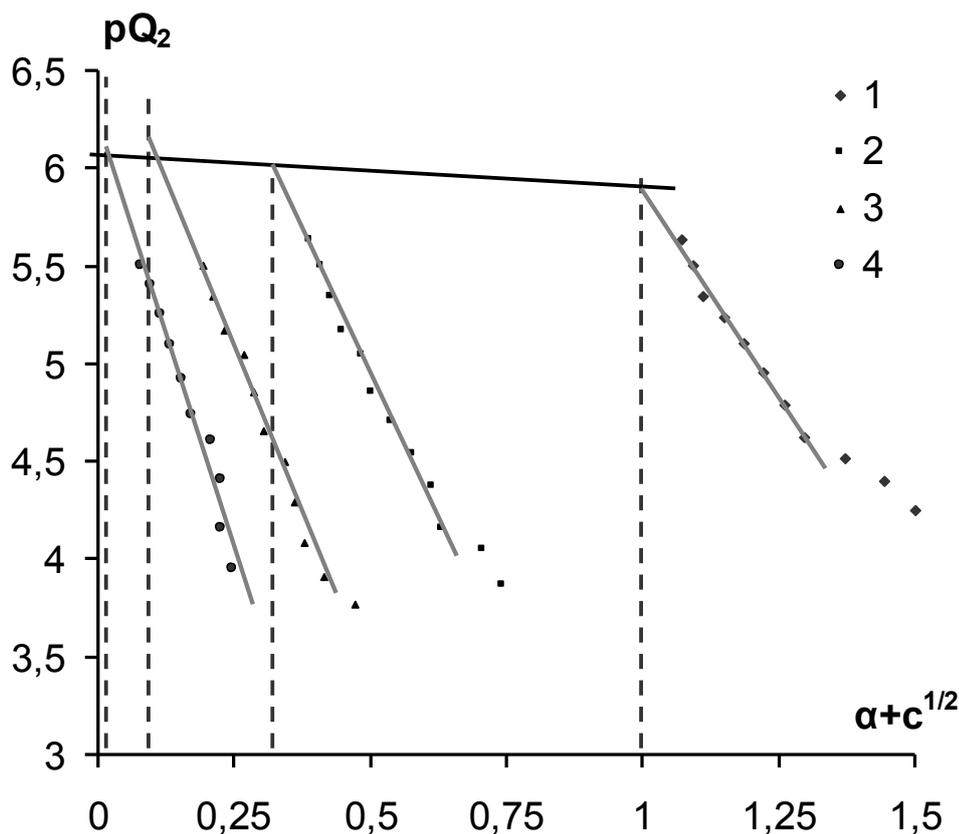


Рис. 3.25 Определение константы диссоциации основных групп бычьего гемоглобина в растворах хлорида калия методом двойной экстраполяции: 1 - 1,0 моль/л; 2 - 0,1 моль/л, 3 - $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л, 4 - $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

3.1.8 Устойчивость водных дисперсий гемоглобина

Важнейшей характеристикой является устойчивость водных дисперсий гемоглобина. Исследование агрегации гемоглобина в зависимости от состава раствора и времени контакта фаз позволяет определить области значений pH, при которых нарушаются свойства гемоглобина, такие как, структура гемоглобина за счет изменения конформации его белковой части, агрегация частиц гемоглобина, что влияет на вязкость дисперсий и способность гемоглобина переносить кислород. Процесс коагуляции изучался по изменению оптической плотности (ΔD) в зависимости от состава водной фазы и времени коагуляции (Таблицы Приложения A21-A24). На рис. 3.26, 3.27 приведены зависимости изменения оптической плотности от pH водной фазы при различных концентрациях KCl для

дисперсий лошадиного гемоглобина при времени коагуляции 30 и 60 минут. Максимум на кривых зависимостей изменения оптической плотности водных дисперсий гемоглобина от рН соответствует значению изоэлектрической точки. Значение изоэлектрической точки лошадиного гемоглобина, определенного фотометрическим методом, совпадает с результатами электрокинетических измерений, что наглядно видно на рис. 3.28.

Таким образом, процесс коагуляции будет идти наиболее интенсивно в областях рН близких к изоэлектрической точке (для исследуемого гемоглобина при рН~6,3). При значениях рН равных рН крови (7,3-7,5) гемоглобин и водная фаза образуют устойчивую дисперсную систему из-за того, что частицы гемоглобина приобретают достаточно высокий одноименный заряд, препятствующий коагуляции.

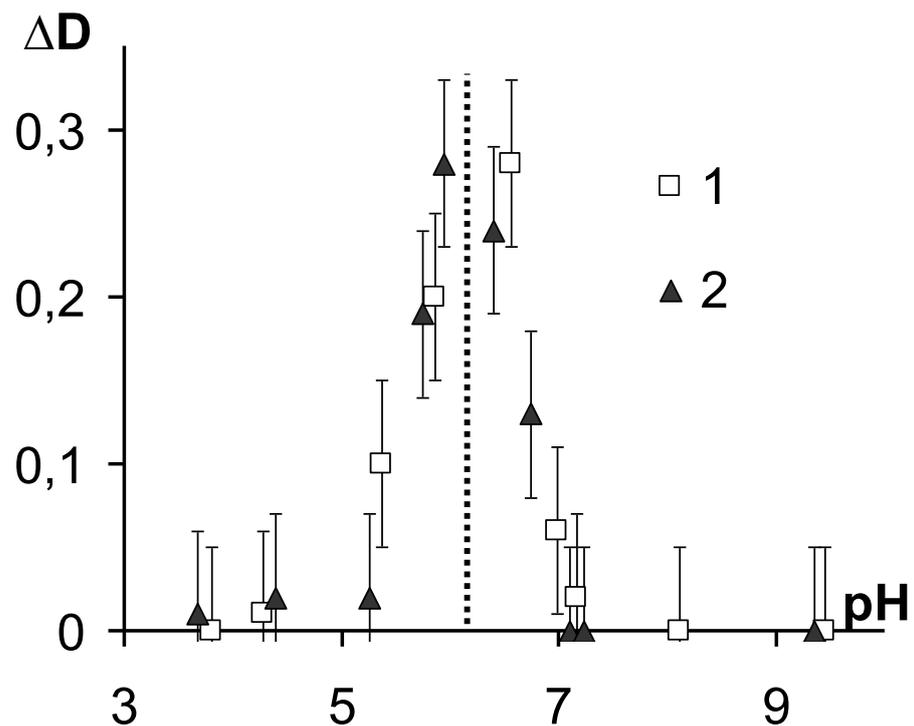


Рис. 3.26 - Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий лошадиного гемоглобина от рН в растворах KCl (1 – концентрация $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, 2 - $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) для времени коагуляции 30 минут.

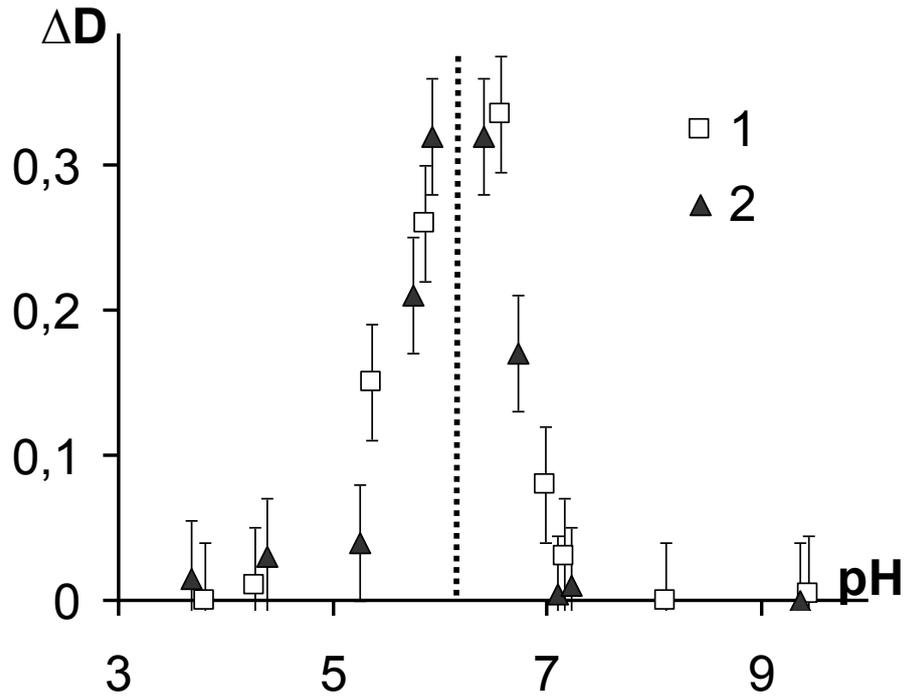


Рис. 3.27 - Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий лошадиного гемоглобина от pH в растворах KCl (1 – концентрация $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, 2 - $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) для времени коагуляции 60 минут.

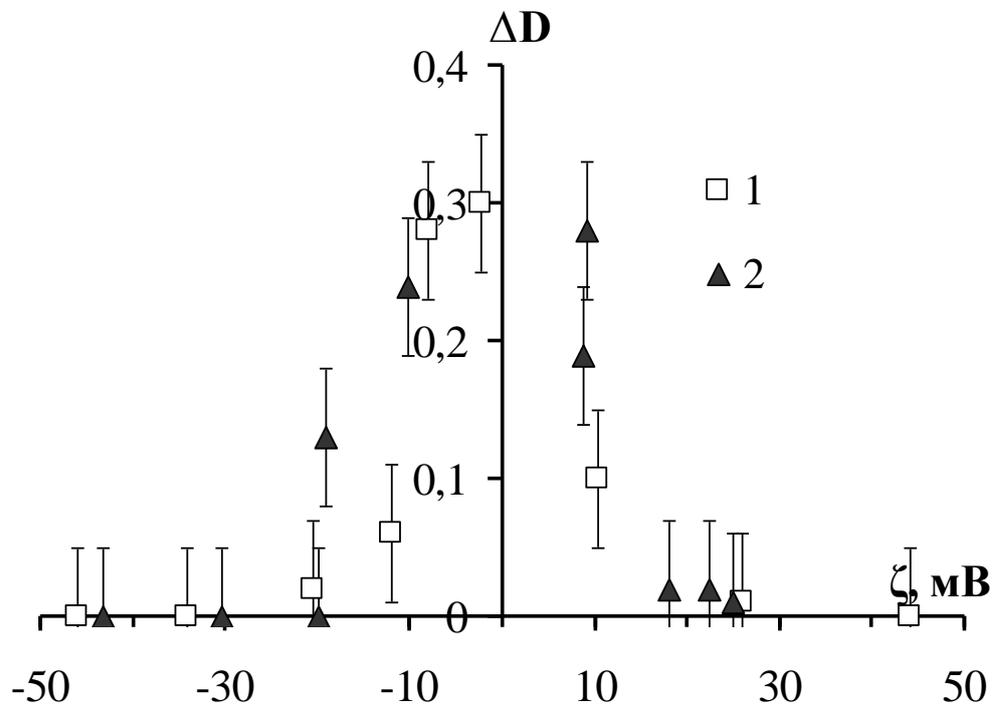


Рис. 3.28 Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий гемоглобина от значений электрокинетического потенциала в растворах KCl (1 - $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л, 2 - $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л) для времени коагуляции 30 минут.

3.1.9 Вязкость разбавленных растворов гемоглобина

Одними из важнейших форменных элементов крови являются эритроциты, содержащие гемоглобин. В отличие от гемоглобина, эритроциты набухают, эластичны и способны к обратимой деформации, что облегчает их движение по узким капиллярам. Важную роль в способности к обратимой деформации эритроцитов играют липиды и белки плазматической мембраны, а также состав внутренней жидкости, содержащей гемоглобин. Согласно литературным данным гемоглобин практически не набухает и даже его концентрированные растворы имеют небольшую вязкость [107, 108]. Рассмотрим зависимость обратного времени течения от приложенного давления системы, содержащей воду или водные дисперсии гемоглобина различной концентрации (рис. 3.29 и таблица Приложения А25). Как видно из рис. 3.29 и для воды, и для дисперсий гемоглобина эта зависимость является линейной и проходит через начало координат, что говорит о том, что водные дисперсии гемоглобина небольших концентраций являются ньютоновскими жидкостями.

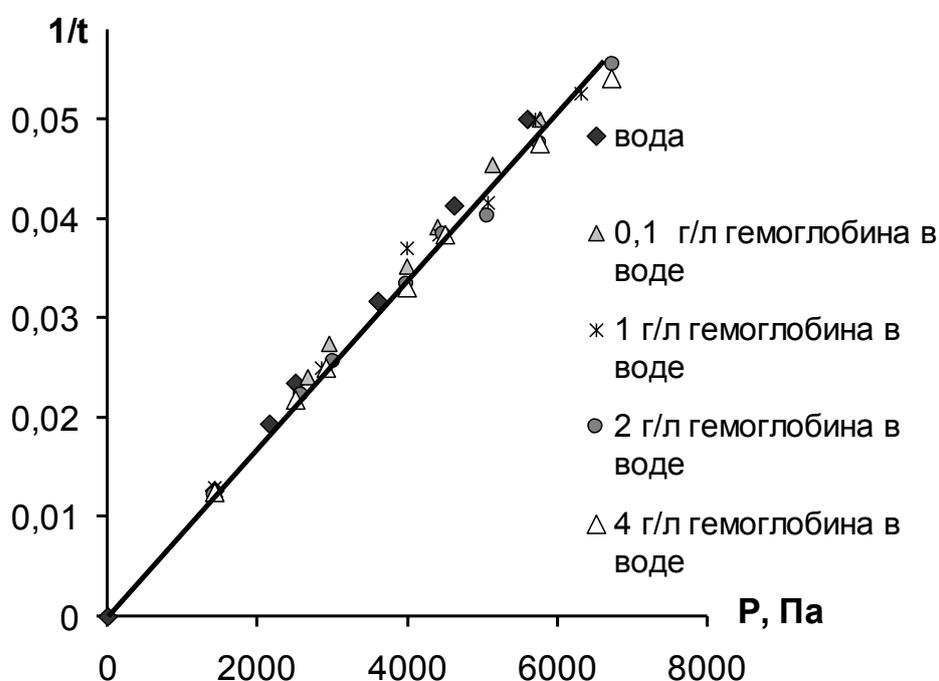


Рис. 3.29 Зависимость обратного времени течения воды и водных дисперсий гемоглобина различной концентрации от разности давлений на концах капилляра (общего давления в системе).

3.1.10 Влияние аминокислот на электрокинетический потенциал гемоглобина

В крови помимо ионов неорганических веществ содержится множество других веществ, оказывающих влияние на электрокинетический потенциал гемоглобина. Исследуем воздействие составляющих белков - простейших аминокислот на примере глицина и аспарагиновой кислоты (рис. 3.30, 3.31) на электрокинетический потенциал бычьего гемоглобина (рис. 3.32-3.34, таблицы Приложения А А26 и А27). Эти аминокислоты входят в состав самого гемоглобина и в водных растворах присутствуют три ионных формы аминокислот - анионная, катионная и цвиттер-ионная форма (изоэлектрическая точка глицина - 6,2, а аспарагиновой кислоты - 2,98)[109]. Вблизи изоэлектрической точки бычьего гемоглобина ($\text{pH} \approx 6,5$) эти аминокислоты будут находиться преимущественно в анионной и цвиттер-ионной форме².

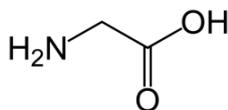


Рис. 3.30 Глицин

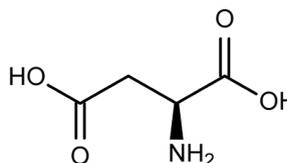


Рис. 3.31 Аспарагиновая кислота

Рассмотрим влияние глицина и аспарагиновой кислоты на электрокинетический потенциал водных дисперсий гемоглобина в зависимости от концентрации глицина и аспарагиновой кислоты (рис. 3.32). Значения pH водных дисперсий гемоглобина в присутствии глицина близки к $\text{pH}_{\text{ИЭТ}}$. Увеличение концентрации глицина приводит к увеличению pH и их смещению в область значений, больших $\text{pH}_{\text{ИЭТ}}$, где электрокинетический потенциал отрицателен (табл. 3.8). Так как глицин является слабым электролитом, то дальнейшее увеличение его концентрации ($>5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) не сказывается на значениях электрокинетического потенциала. Влияние концентрации аспарагиновой кислоты на pH и значения электрокинетического потенциал отражено в табл. 3.8:

² Значения pK глицина - 2,34 и 9,6, аспарагиновой кислоты - 2,09, 3,86 и 9,82.

чем больше концентрация кислоты, тем меньше рН, следовательно, больше электрокинетический потенциал. Действие аспарагиновой кислоты схоже с действием соляной кислоты на электрокинетический потенциал водной дисперсии гемоглобина с учетом степени диссоциации аспарагиновой кислоты.

Чтобы ответить на вопрос о том, сорбируются ли простейшие аминокислоты на гемоглобине специфически сравним влияние этих аминокислот и хлорида калия на электрокинетический потенциал в зависимости от рН (рис.3.33). Присутствие глицина и аспарагиновой кислоты не смещает значение изоэлектрической точки, так как они входят в состав гемоглобина и их функциональные группы (-NH₂ и -COOH) являются потенциалобразующими.

Таблица 3.8

Влияние концентрации глицина и аспарагиновой кислоты на значения электрокинетического потенциала и рН водных дисперсий бычьего гемоглобина.

Концентрация аминокислоты с, моль/л	-lgc	рН	ζ, мВ в растворах аминокислот	ζ, мВ в хлориде калия 5·10 ⁻⁴ в при тех же значениях рН*
Глицин				
5·10 ⁻⁵	4,3	6,68	8,3	-5
10 ⁻⁴	4,0	6,81	-7,1	-9
5·10 ⁻⁴	3,3	6,85	-8,8	-10
10 ⁻³	3,0	6,88	-10,1	-12
10 ⁻²	2,0	6,9	-11,0	-12
Аспарагиновая кислота				
5·10 ⁻⁵	4,3	6,59	0,0	-1
10 ⁻⁴	4,0	5,6	20,3	12
5·10 ⁻⁴	3,3	5,33	23,1	15
10 ⁻³	3,0	4,23	26,9	27
10 ⁻²	2,0	3,31	39,2	40
5·10 ⁻⁵	4,3	6,9	-1,8	-12
10 ⁻⁴	4,0	6,71	-0,9	-6
5·10 ⁻⁴	3,3	4,73	22,5	23
10 ⁻³	3,0	4,13	27,7	29
10 ⁻²	2,0	3,29	42,9	42

* Значения рН задаются концентрацией соляной кислоты или гидроксида калия.

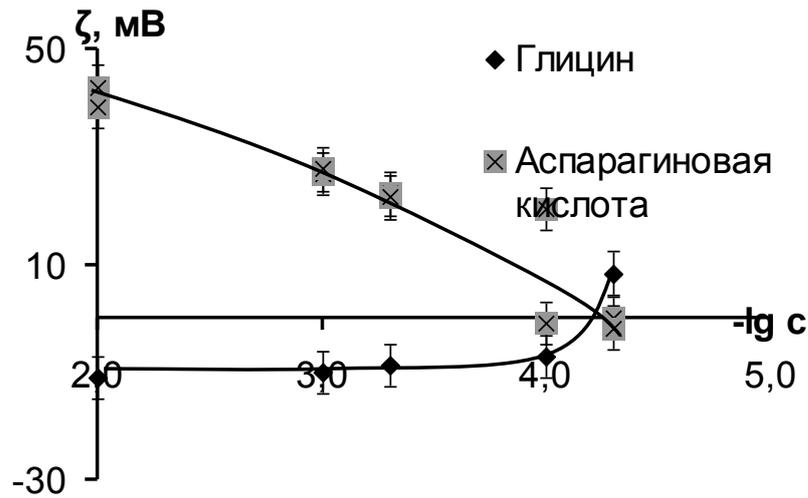


Рис. 3.32 Зависимость значений электрокинетического потенциала водных дисперсий бычьего гемоглобина от отрицательного логарифма концентрации глицина и аспарагиновой кислоты.

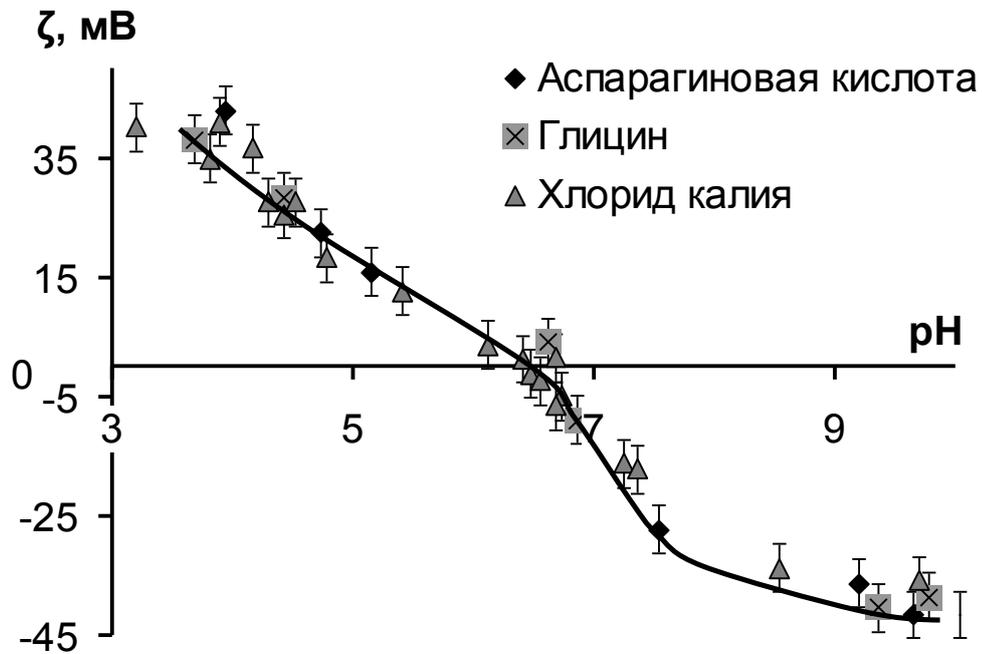


Рис. 3.33 Зависимость значений электрокинетического потенциала водных дисперсий бычьего гемоглобина от pH в присутствии глицина, аспарагиновой кислоты и хлорида калия.

3.2 Коллоидные свойства хлорофилла

3.2.1 Кинетика установления адсорбционного равновесия

Хлорофилл нерастворим в воде и склонен к агрегации из-за плоской структуры макрокольца и наличия гидрофобного фитольного остатка. При контакте хлорофилла с водным раствором происходит ряд взаимосвязанных процессов: частичная диссоциация его функциональных групп, адсорбция на поверхности хлорофилла веществ из раствора и агрегация молекул. Как и для гемоглобина, время установления адсорбционного равновесия можно определить по зависимости электропроводности, рН, электрокинетического потенциала от времени контакта фаз. Примеры этих зависимостей для хлорофилла в водных растворах представлены на рис. 3.34-3.36 и в таблице Приложения Б1.

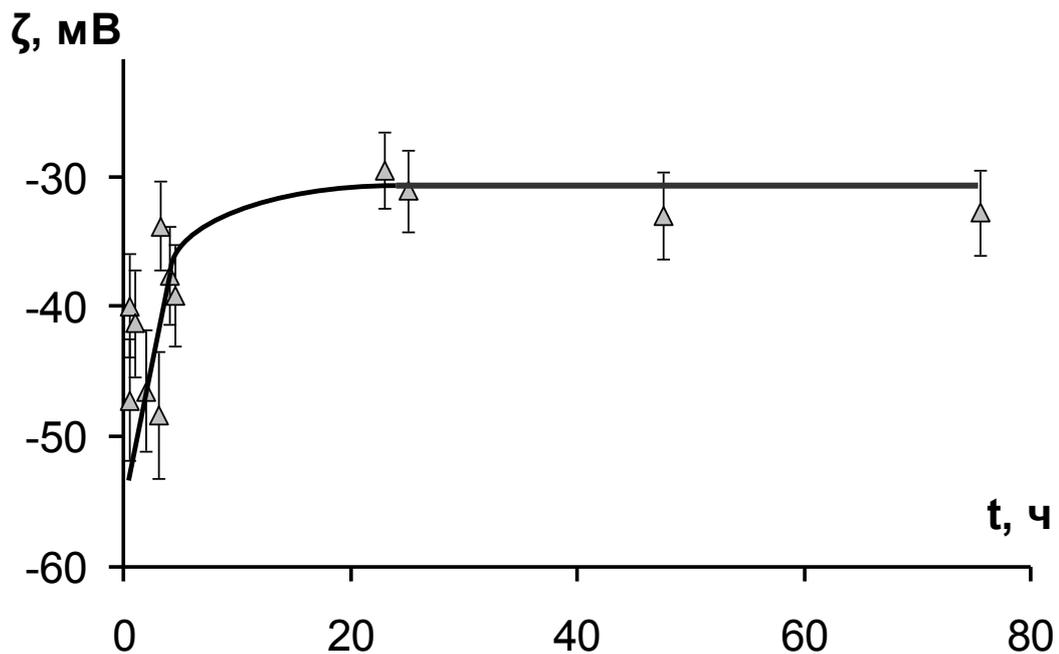


Рис. 3.34 Зависимость значений электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от времени контакта фаз (в растворе хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

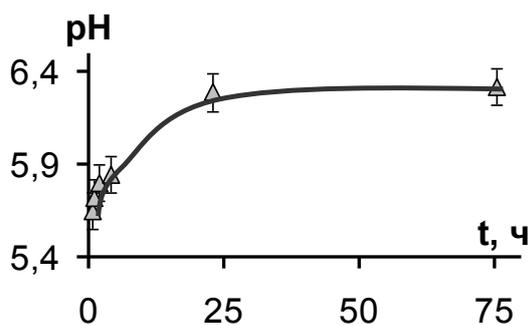


Рис. 3.35 Зависимость значений рН дисперсий хлорофилла от времени контакта фаз (в растворе хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

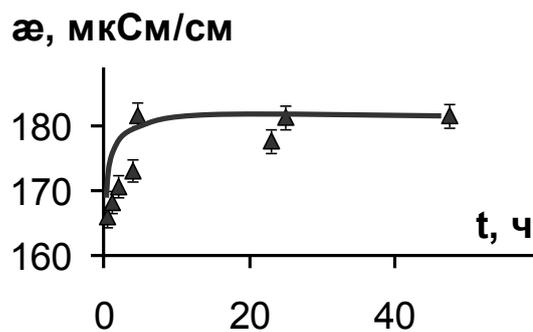


Рис. 3.36 Зависимость значений удельной электропроводности дисперсий хлорофилла от времени контакта фаз (в растворе хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

Анализ полученных зависимостей показывает, что адсорбционное равновесие в системе устанавливается менее чем за 15 часов. Для удобства все дальнейшие измерения проводились при времени контакта фаз – 24 часа.

3.2.2 Электрокинетические свойства хлорофилла в водных растворах 1-, 2- и 3-зарядных ионов

Рассмотрим зависимости электрокинетического потенциала от рН в присутствии одно- и двухзарядных катионов на примере катионов калия, магния и железа II (рис. 3.37, таблицы Приложения Б2, Б3, Б5) [99]. Значение изоэлектрической точки составило $pH_{ИЭТ} = 3,3$. Катионы являются противоионами для частиц хлорофилла в области рН, где электрокинетический потенциал принимает отрицательные значения - справа от изоэлектрической точки. Соответственно влияние катионов сказывается в области $pH > 3,3$. Из рис. 3.37 видно, что влияние катионов одно- и двухзарядных металлов на электрокинетический потенциал хлорофилла соответствует их заряду и положению в лиотропном ряду: в ряду $Na^+ \rightarrow K^+ \rightarrow Mg^{2+} \rightarrow Fe^{2+}$ значения электрокинетического потенциала по абсолютной величине уменьшаются.

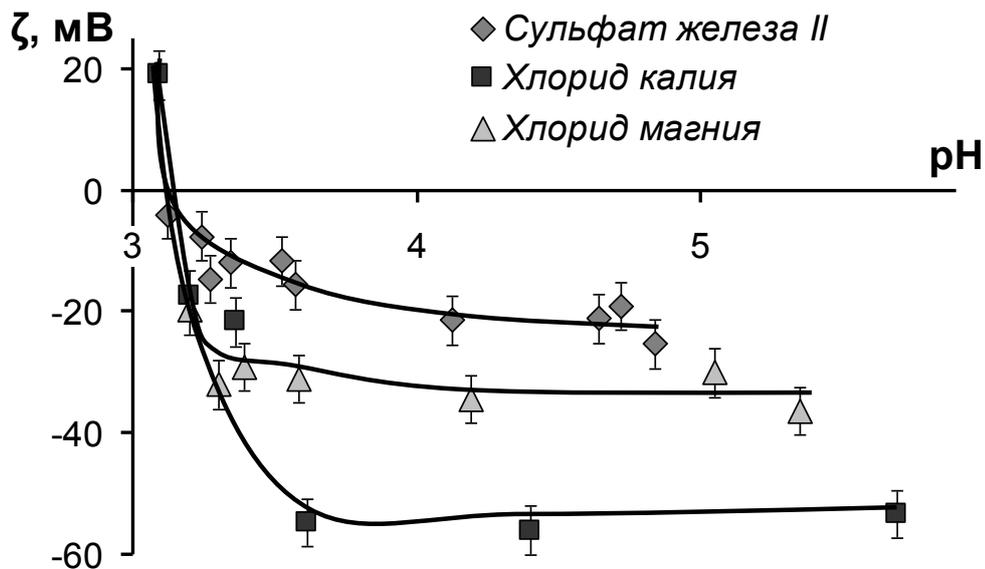


Рис. 3.37 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от pH в присутствии хлоридов калия, магния, сульфата железа II (концентрация солей $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

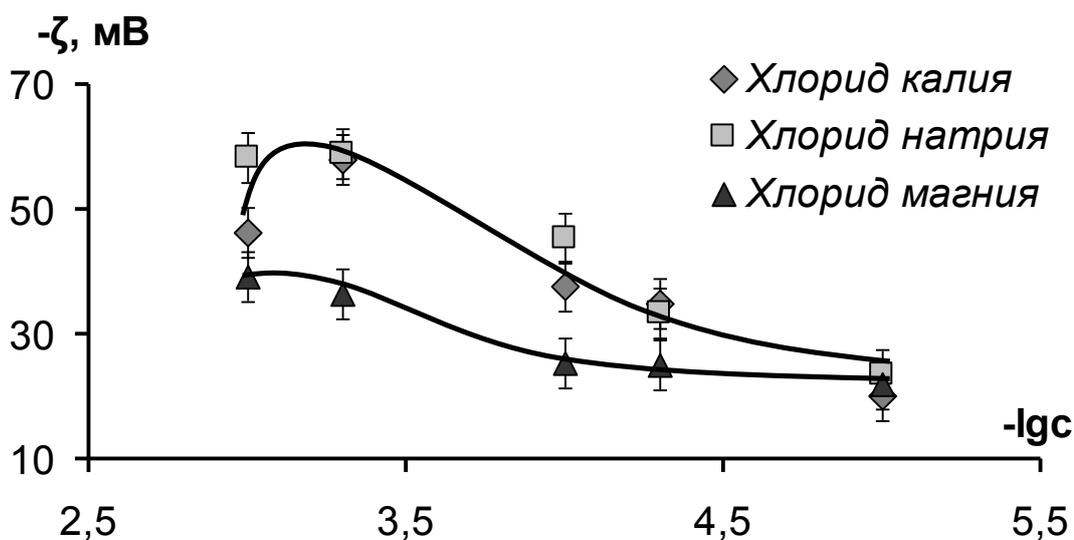


Рис. 3.38 Зависимость значений электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от отрицательного логарифма концентрации хлоридов калия, натрия и магния.

Если рассмотреть зависимость электрокинетического потенциала от концентрации электролита (рис. 3.38), то можно увидеть, что кривая для хлорида магния идет значительно ниже, чем для хлорида натрия и калия. Полученные кривые располагаются в соответствии с влиянием заряда и ионного радиуса

катиона на электрокинетический потенциал, как и на зависимости электрокинетического потенциала от рН (рис. 3.37).

Как следует из рис. 3.38, значения электрокинетического потенциала хлорофилла по абсолютной величине увеличиваются с ростом концентрации до достижения концентрации $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, а затем уменьшаются. В соответствие с классической теорией двойного электрического слоя (ДЭС) с увеличением концентрации электролита, происходит сжатие ДЭС и значения электрокинетического потенциала по абсолютной величине уменьшаются. В целом ряде работ обнаружено нарушение закономерностей классической теории ДЭС для систем, содержащих растворы ВМВ [96,110], что связывают с перестройкой структуры двойного электрического слоя вследствие изменения конформации молекул ВМВ. Учитывая, что молекулы хлорофилла не содержат белковой составляющей в отличие, например, от гемоглобина [103,111], объяснить наблюдаемый эффект аналогичным образом нельзя. На величину электрокинетического потенциала хлорофилла действуют два противоположных фактора. С одной стороны, с ростом концентрации катионов калия, натрия усиливается диссоциация кислотных групп [112], что приводит к возрастанию отрицательного заряда хлорофилла, с другой стороны происходит сжатие диффузной части двойного электрического слоя и вследствие этого уменьшение электрокинетического потенциала. Преобладание то или иного фактора определяют характер зависимости $\zeta - (-\lg c)$.

На примере ионов железа III рассмотрим влияние трехзарядных катионов на электрокинетический потенциал хлорофилла (рис. 3.39, таблица Приложения Б4). В растворах, содержащих сульфат железа III, происходит перезарядка поверхности. Катионы железа III способны к сверхэквивалентной сорбции вследствие большого заряда ионов. Кроме того, катионы железа в растворе сильно гидролизуются, гидролизованные ионы поляризуются и их способность к сверхэквивалентной адсорбции увеличивается. Это приводит к тому, что добавление не очень больших количеств катионов железа вызывает сначала

резкое уменьшение электрокинетического потенциала по абсолютной величине, а затем и перезарядку поверхности.

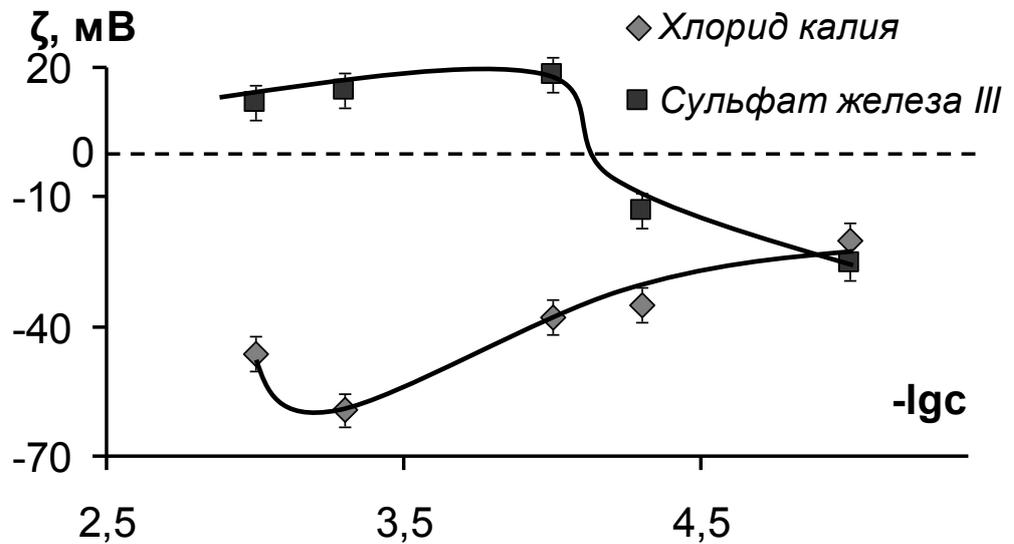


Рис. 3.39 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от отрицательного логарифма концентрации хлоридов калия и сульфата железа III.

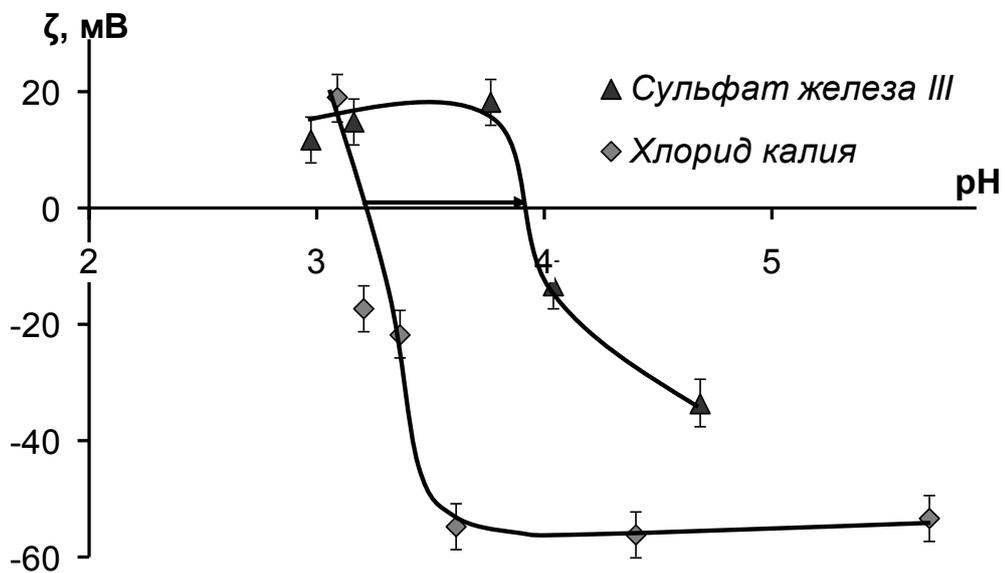


Рис. 3.40 Зависимость значений электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от pH в присутствии хлорида калия ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) и сульфата железа III.

Помимо перезарядки поверхности о специфической адсорбции катионов железа III свидетельствует смещение изоэлектрической точки хлорофилла в

щелочную область от $pH_{ИЭТ} = 3,3$ до $pH_{ИЭТ} = 3,9$ (рис. 3.40) по сравнению с растворами хлорида калия.

Проведенные исследования показали, что хлорофилл в нейтральной и слабокислой средах заряжен отрицательно, а при $pH < pH_{ИЭТ}$ положительно. Молекула хлорофилла содержит две свободные ("с" хлорофилл) или этерифицированные ("а", "b", "d" и "f" хлорофиллы) карбоксильные группы [1,3,37,113,114], вследствие диссоциации которых хлорофилл заряжается отрицательно. В макроцикле хлорофилла у двух атомов азота связи насыщены, а двух есть неподеленные электронные пары, эти атомы могут протонироваться с образованием положительного заряда поверхности. Однако протонирование осложнено из-за размеров атома магния, занимающего практически всю координационную полость порфиринового кольца, кроме того положительный заряд на нем также препятствует протонизации азота, что оправдывает низкое значение $pH_{ИЭТ}$. В сильнокислых средах возможно замещение атомов магния в макроцикле на протоны, что в конечном итоге приводит к разрушению макроцикла хлорофилла.

3.2.3 Влияние аминокислот на электрокинетические свойства хлорофилла

В растениях хлорофилл находится не в чистом виде, а связан с белком (см. Раздел 1, Глава "Хлорофилл") [113 стр.154]. Чтобы разобраться каким образом хлорофилл взаимодействует с белком, рассмотрим влияние аминокислот на электрокинетический потенциал водных дисперсий хлорофилла на примере глицина и аспарагиновой кислоты (рис. 3.41-3.42, таблицы Приложения Б6, Б7). В исследуемой области pH (2,8-5) в водных растворах аминокислот преобладают катионная и цвиттер-ионная формы, содержание анионных форм мало.

На рис. 3.41 изображена зависимость электрокинетического потенциала хлорофилла от концентрации глицина и аспарагиновой кислоты. Для глицина значения электрокинетического потенциала незначительно увеличиваются по абсолютной величине, что обусловлено небольшим смещением pH в щелочную

область от ИЭТ (таблица 3.9). Аспарагиновая кислота из-за наличия двух карбоксильных групп имеет более ярко выраженные кислотные свойства, поэтому увеличение ее концентрации смещает рН в более кислую область - ближе к ИЭТ (таблица 3.9), что соответственно уменьшает значения электрокинетического потенциала по абсолютной величине.

Исследуем зависимость электрокинетического потенциала от рН водных дисперсий хлорофилла (рис. 3.42). Сравнивая зависимости изменения электрокинетического потенциала от рН для хлорида калия, глицина и аспарагиновой кислоты, можно увидеть, что присутствие аминокислот смещает изоэлектрическую точку хлорофилла в кислую область. Смещение изоэлектрической точки в кислую область свидетельствует о специфической адсорбции их анионных форм на хлорофилле. Вероятнее всего рассматриваемые анионные формы аминокислот адсорбируются на атоме магния, имеющем достаточно высокий эффективный заряд (около +1). Смещение изоэлектрической точки в кислую область также является одним из факторов, который обуславливает большую устойчивость связанного хлорофилла к воздействию протонодонорных соединений, содержащихся в клетках растений.

Таблица 3.9

Влияние концентрации глицина и аспарагиновой кислоты на рН и электрокинетический потенциал водных дисперсий хлорофилла

Концентрация (с, моль/л)	- lg c	рН	ζ, мВ
Глицин			
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	5,68	-10,8
10^{-4}	4,0	5,72	-16,2
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,74	-11,1
10^{-3}	3,0	5,79	-13,8
10^{-2}	2,0	5,82	-21,9
Аспарагиновая кислота			
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	4,62	-30,1
10^{-4}	4,0	4,32	-37,6
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	3,82	-35,6
10^{-3}	3,0	3,65	-19,4
10^{-2}	2,0	3,24	-21,3

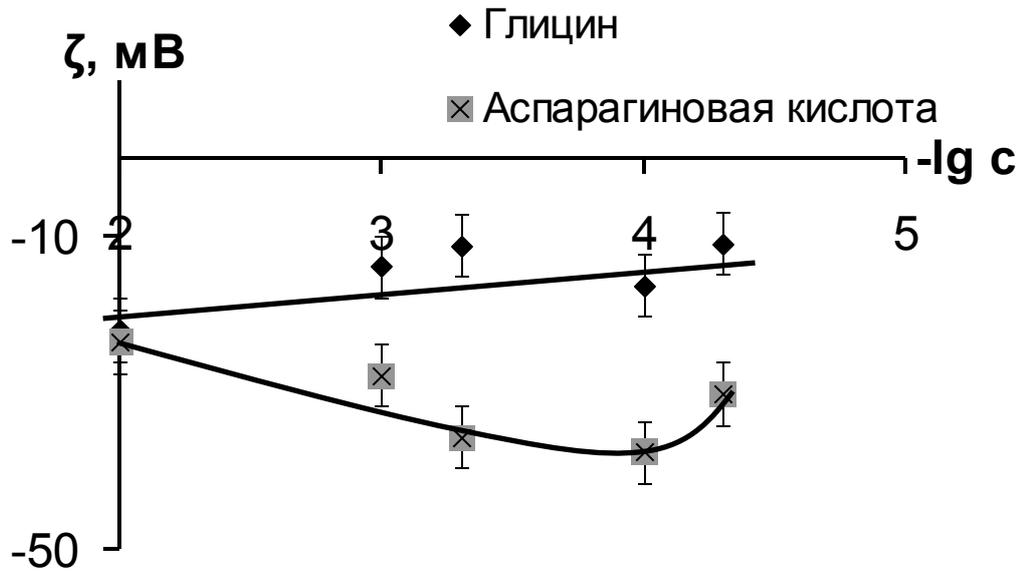


Рис. 3.41 Зависимость значений электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от концентрации глицина и аспарагиновой кислоты.

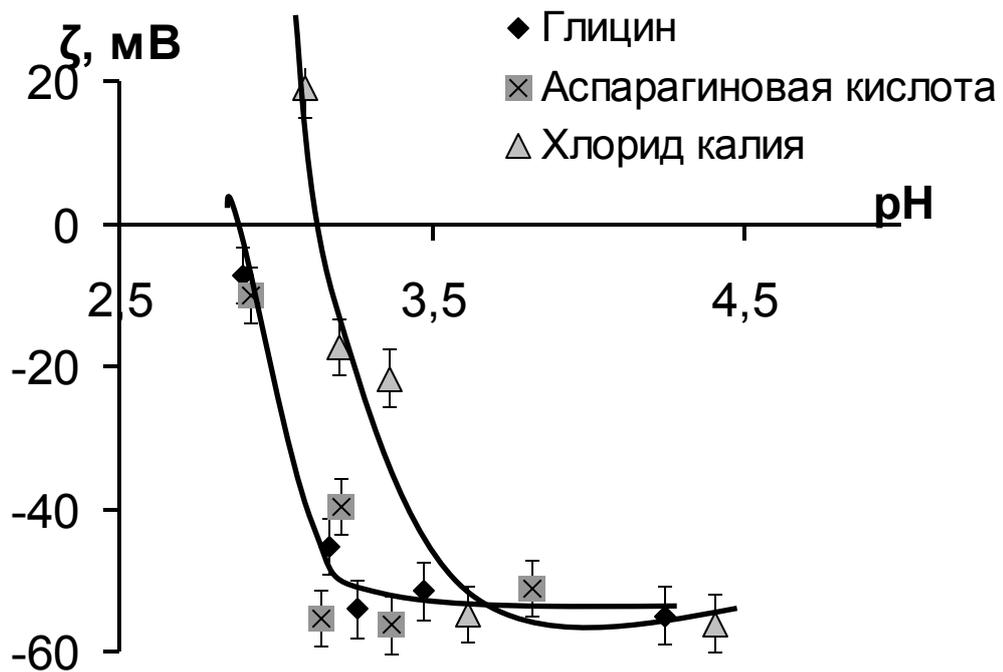
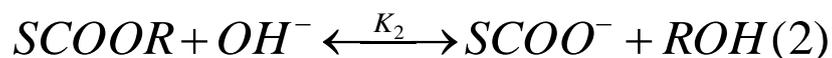
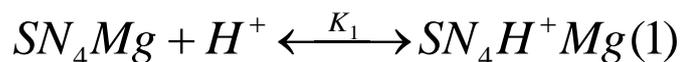


Рис. 3.42 Зависимость значений электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от pH в присутствии хлорида калия, глицина и аспарагиновой кислоты (концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

3.2.4 Адсорбция протонов и гидроксид-ионов

Рассмотрим результаты потенциометрического титрования водных дисперсий хлорофилла в растворах KCl (рис. 3.43-3.44, таблицы 3.10-3.11, таблицы Приложения Б8-Б15). В качестве примера на рис. 3.43 приведены две кривых потенциометрического титрования: одна - кривая потенциометрического титрования дисперсии хлорофилла в растворе KCl $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, вторая - титрования фонового раствора KCl $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л (рис. 3.43). Значение $pH_{\text{ТНЗ}}$ хлорофилла в хлориде калия = 4,2 (таблица 3.10). В области $pH > pH_{\text{ТНЗ}}$ кривая с сорбентом идет ниже, чем без сорбента из-за сорбции OH^- - ионов, при этом поверхность заряжается отрицательно. В области $pH < pH_{\text{ТНЗ}}$ кривая титрования с сорбентом (хлорофиллом) практически совпадает с фоновой кривой. В отличие от гемоглобина хлорофиллы а и b не обладают амино- и карбоксильными группами в чистом виде. Два атома азота пиррольных колец имеют неподеленные электронные пары и способны присоединять протоны. Также возможно гидрирование двойных связей в молекуле. Присоединение протонов осложнено присутствием в центре макрокольца атома магния, обладающего положительным зарядом, поэтому в сильнокислой среде протонизация будет сопровождаться вытеснением атома магния и разрывом макрокольца, что объясняет небольшие значения адсорбции протонов на хлорофилле по сравнению с адсорбцией гидроксид-ионов и положение точки нулевого заряда в кислой области.

Молекулы хлорофилла а и b содержит две этерифицированные карбоксильные группы, вследствие диссоциации которых хлорофилл заряжается отрицательно. В общем виде образование положительного и отрицательного заряда можно описать двумя поверхностными реакциями:



где S – символ поверхности.

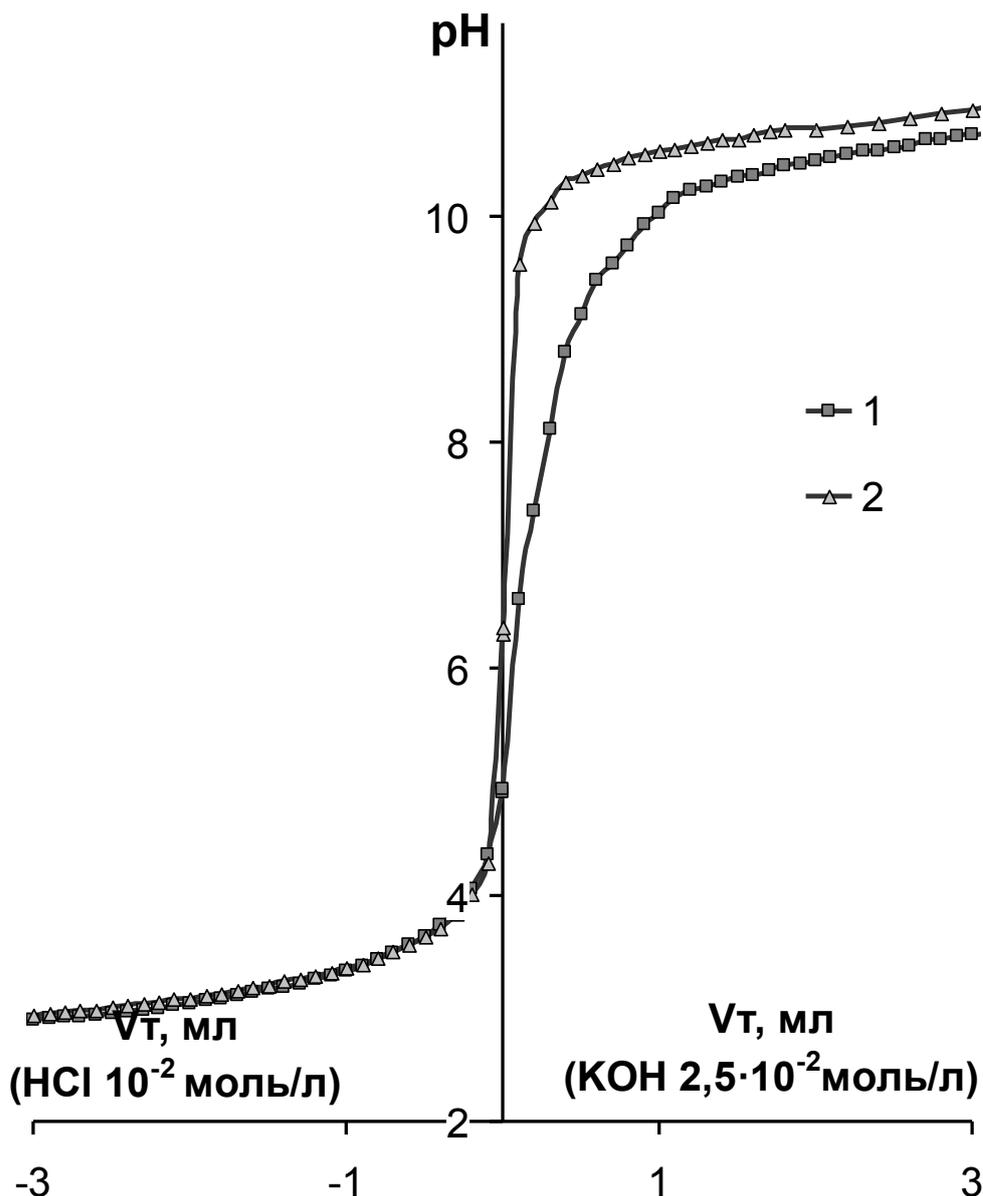


Рис. 3.43 Кривые потенциометрического титрования водных растворов хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л с хлорофиллом (1) и без (2).

Сравним кривые потенциометрического титрования хлорофилла при различных концентрациях хлорида калия (рис. 3.44, табл. 3.11). Определенное ранее $pH_{\text{тнз}}=4,2$, соответствующее равенству адсорбции протонов и гидроксид-ионов при концентрации хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, будет таким же и при других концентрациях хлорида калия, что свидетельствует об отсутствии специфической сорбции хлорида калия. Следует отметить, что в противоположность гемоглобину, у хлорофилла происходит уменьшение адсорбции гидроксид-ионов при увеличении ионной силы раствора, что мы

связываем с усилением агрегации хлорофилла при увеличении концентрации хлорида калия и соответственным уменьшения числа активных адсорбционных центров. Так для одномолярного раствора хлорида калия фоновая кривая и кривая с адсорбентом будут сливаться, поэтому не представляется возможным определить значение точки нулевого заряда в сильно концентрированных растворах и оценить количество адсорбированных гидроксид-ионов. Результаты вычислений представлены в табл. 3.11.

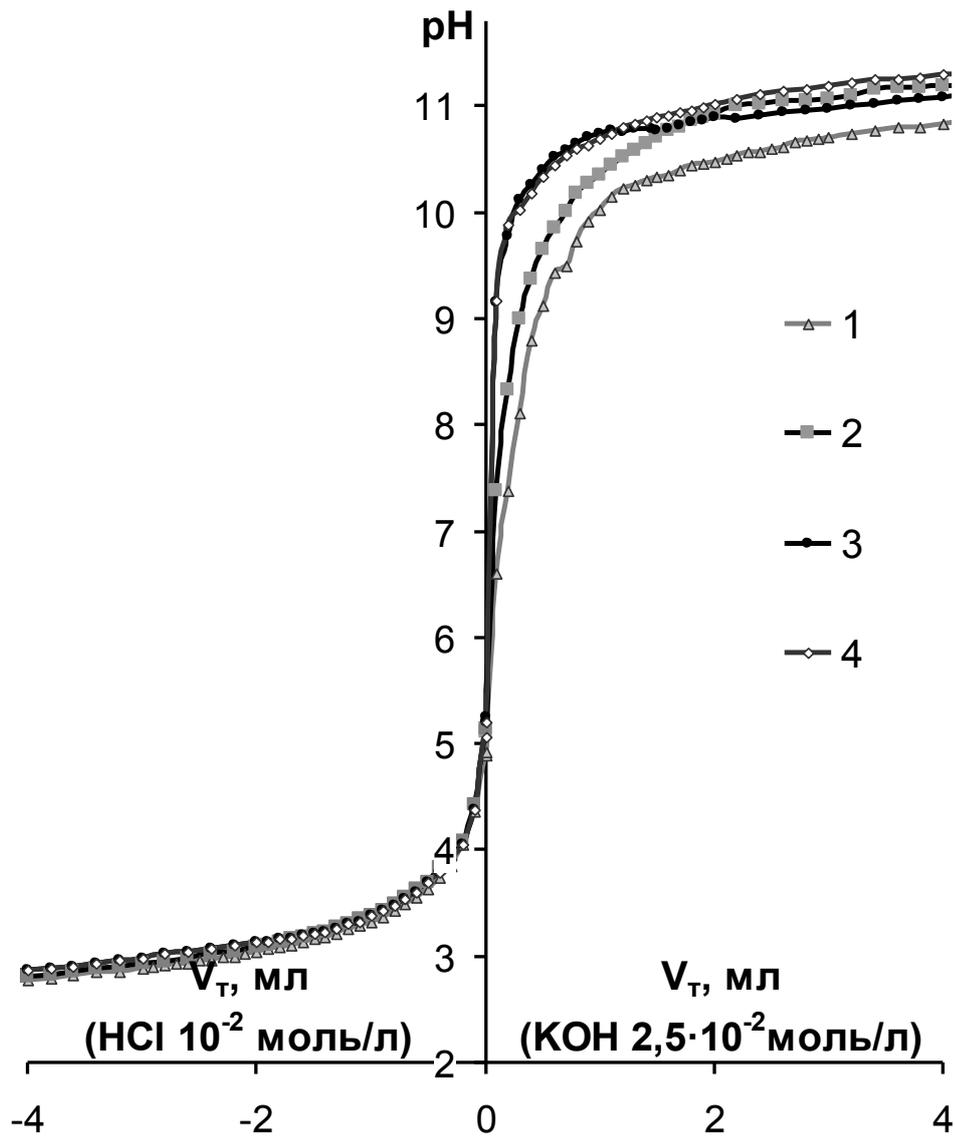


Рис. 3.44 Кривые потенциметрического титрования водных растворов хлорида калия с хлорофиллом, где концентрация хлорида калия: 1 - $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л; 2 - $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л, 3 - 0,1 моль/л, 4 - 1 моль/л.

В гемоглобине CO_2 может связываться с железом гема. Возможно ли присоединение молекул CO_2 к атому магния в хлорофилле? Рассмотрим

результаты потенциометрического титрования в присутствии карбоната калия (рис. 3.45). Видно, что кривые потенциометрического титрования в кислой области сливаются. Ступенчатый вид кривых обусловлен двухосновностью угольной кислоты. Как видно из табл. 4.2 присутствие карбонат-ионов смещает точку нулевого заряда в щелочную область, причем, чем больше концентрация карбонат-ионов, тем сильнее смещение, что свидетельствует об их специфической сорбции. Предположительно CO_2 в виде гидрокарбонат-иона присоединяется в качестве дополнительного лиганда к атому магния.

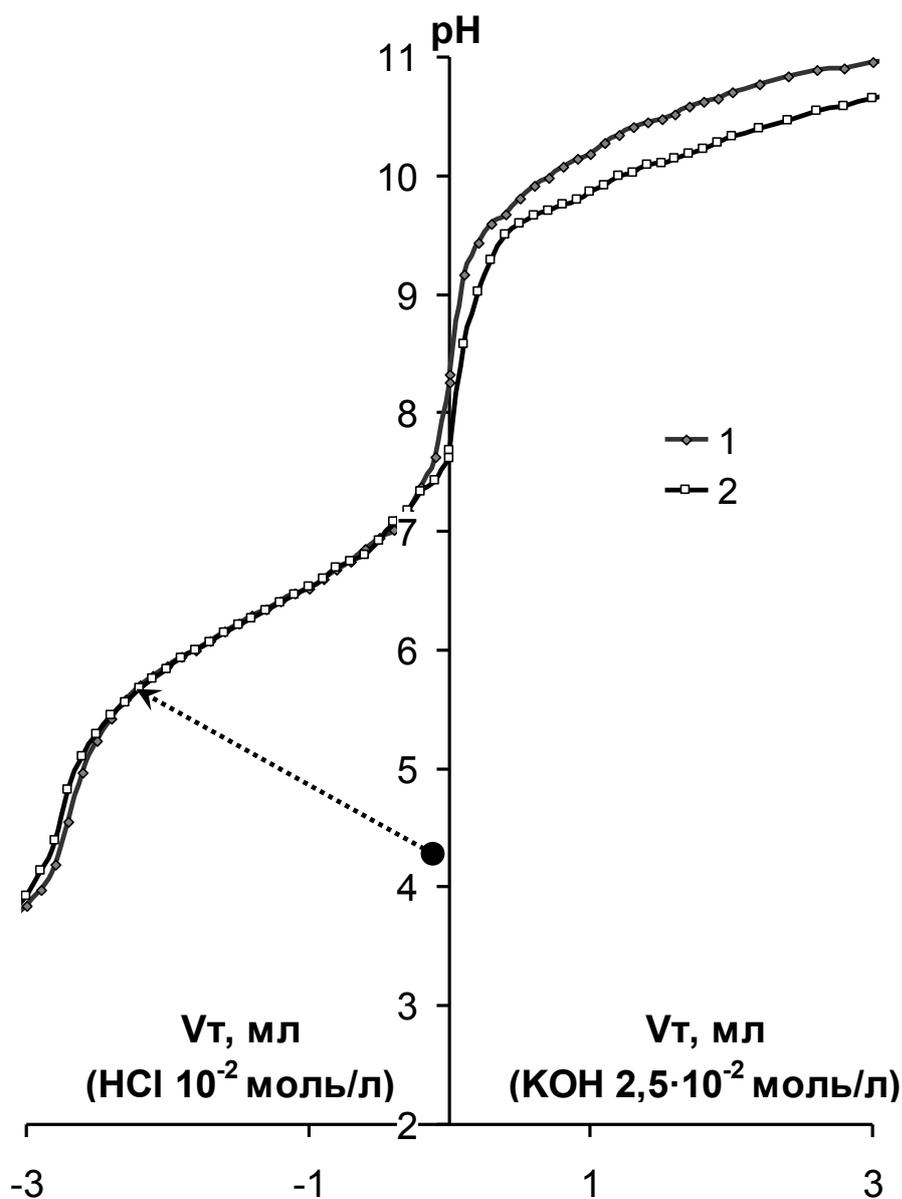


Рис. 3.45 Кривые потенциометрического титрования водных растворов карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л: 1 - без хлорофилла (фон), 2 - с хлорофиллом. Пунктирной стрелкой показано смещение точки нулевого заряда.

Таблица 3.10

Значения рН точек нулевого заряда хлорофилла в присутствии хлорида и карбоната калия различных концентраций.

Концентрация соли моль/л	Хлорид калия				Карбонат калия	
	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-2}$	0,1	1	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$
$pH_{ТНЗ} \pm 0,1$	4,2	4,2	4,3	4,2	5,1	5,5

Таблица 3.11

Адсорбция H^+ и OH^- на хлорофилле в присутствии хлорида и карбоната калия различных концентраций (жирным шрифтом выделены величины избыточной сорбции протонов и гидроксид-ионов вблизи $pH_{ТНЗ}$).

рН	$\frac{x}{m}(H^+ - OH^-) \times 10^3$, моль/г					
	Хлорид калия				Карбонат калия	
	$5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$1 \cdot 10^{-2}$ моль/л	0,1 моль/л	1 моль/л	$5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$1 \cdot 10^{-3}$ моль/л
1	2	3	4	5	6	7
3,25	0,38	0,13	0,12	-0,13	-0,25	0,00
3,5	0,25	0,13	0,12	-0,12	0,00	-0,13
3,75	0,13	0,13	0,12	-0,12	-0,13	0,13
4	0,00	0,00	0,00	-0,12	-0,12	0,13
4,25	-0,02	0,00	0,12	-0,12	-0,12	0,13
4,5	0,06	-0,01	-0,02	-0,12	-0,12	0,00
4,75	0,01	0,05	-0,06	-0,12	-0,12	0,13
5	0,10	-0,07	-0,09	0,00	-0,12	0,13
5,25	0,07	0,07	-0,13	-0,08	-0,25	0,13
5,5	0,03	0,03	0,12	-0,05	-0,25	0,00
5,75	-0,01	0,00	0,11	-0,03	-0,25	0,00
6	-0,04	-0,03	0,10	-0,03	-0,25	0,00
6,25	-0,08	0,06	0,09	-0,07	-0,12	0,00
6,5	0,02	0,07	-0,04	-0,14	-0,31	0,00
6,75	-0,29	-0,08	-0,09	-0,14	-0,62	0,00
7	-0,26	-0,08	-0,08	-0,13	-0,62	0,00
7,25	-0,24	-0,08	-0,08	-0,12	-0,62	0,00
7,5	-0,53	-0,21	-0,07	-0,12	-0,10	-0,13
7,75	-0,50	-0,18	-0,07	-0,11	-0,20	-0,13

<i>Продолжение таблицы 3.11</i>						
1	2	3	4	5	6	7
8	-0,48	-0,16	-0,06	-0,10	-0,29	-0,13
8,25	-0,76	-0,14	-0,06	-0,10	-0,19	0,00
8,5	-0,74	-0,42	-0,06	-0,09	-0,13	0,07
8,75	-0,71	-0,40	-0,05	-0,09	-0,38	-0,15
9	-1,00	-0,69	-0,05	-0,08	-0,32	-0,06
9,25	-1,29	-0,67	-0,04	-0,03	-0,94	-0,31
9,5	-1,89	-0,95	-0,01	-0,01	-0,63	-0,63
9,75	-2,19	-1,25	0,00	0,00	-0,94	-1,25
10	-2,50	-1,25	0,00	0,00	-0,94	-1,25
10,25	-2,81	-1,25	0,31	-0,16	-0,94	-2,50
10,5	-4,38	-0,94	0,31	0,00	-1,25	-2,81
10,75	-6,56	0,00	0,00	-0,31	-2,19	-4,38
11	-10,00	1,25	-1,88	-0,63	-6,25	-5,00
11,25	-10,63	0,00	-5,63	-0,62	-9,38	-6,25

3.2.5 Определение порогов коагуляции

Поскольку для водных дисперсий хлорофилла увеличение концентрации хлорида калия при потенциометрическом титровании вызывало уменьшение адсорбции гидроксид-ионов, что связывается с коагуляцией хлорофилла, исследуем процесс коагуляции в водных дисперсиях хлорофилла. Для исследований были выбраны водные дисперсии хлорофилла без добавления электролитов. В области рН водных дисперсий хлорофилла его электрокинетический потенциал отрицателен и противоионами будут катионы металлов, поэтому использовались хлориды одно-, двух- и трехзарядных катионов металлов. Значения порогов коагуляции представлены в таблице 3.12. Результаты расчетов показывают, что в водных дисперсиях хлорофилла коагуляция происходит по концентрационному механизму - согласно ДЛФО:

$$c_k = K \cdot z^{-6} \tag{3.9}$$

тогда $\lg c_k = \lg K - 6 \cdot \lg z$

где K – коэффициент, характеризующий дисперсную фазу, среду и структуру двойного электролитического слоя, c_k - порог коагуляции, моль/л, z - заряд иона-коагулятора.

т.о. $-\lg K = 0,433$, $K = 0,368$ (рис. 3.46)

Таблица 3.12

Определение порогов коагуляции при добавлении к хлорофиллу электролитов, содержащих одно-, двух- и трехзарядные катионы.

Электролит	Объем электролита $V_{э}$, мл	Концентрация электролита, моль/л	Порог коагуляции c_k , моль/л	Порог коагуляции, моль/г	$\lg z$	$-\lg c_k$	Соотношение $c_{ш}:c_{г}:c_{г}$
KCl	1,2	2	0,48	120	0	0,32	347,8
BaCl ₂	2	0,01	0,004	1,00	0,3	3	2,90
AlCl ₃	6,9	0,001	0,00138	0,345	0,48	2,86	1

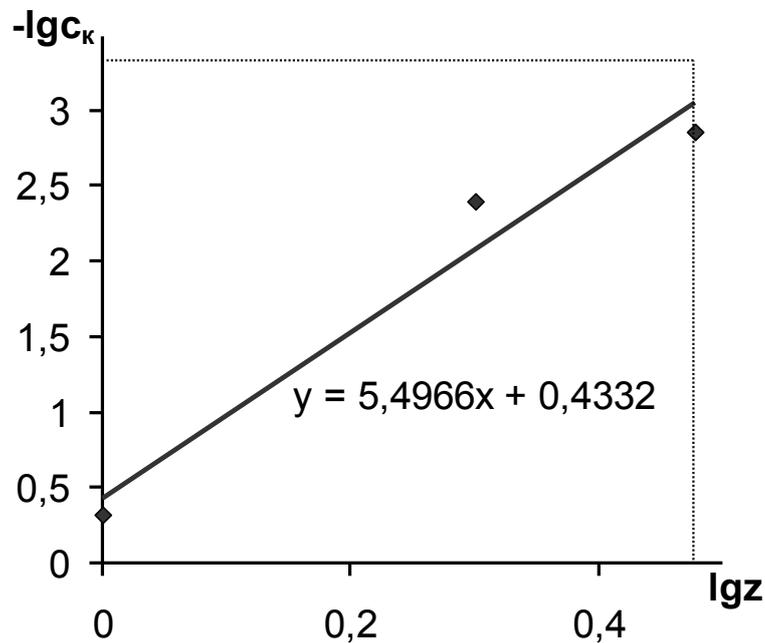


Рис. 3.46 Зависимость отрицательного логарифма порога коагуляции от логарифма заряда иона коагулятора.

3.3 Коллоидные свойства билирубина

3.3.1 Кинетика установления адсорбционного равновесия

Для билирубина установление равновесия в водном растворе, также как для хлорофилла и гемоглобина, является процессом, происходящем во времени. Время установления адсорбционного равновесия определялось по зависимости электропроводности и pH от времени контакта фаз. Примеры этих зависимостей для билирубина в воде без добавления электролитов представлены на рис. 3.47-3.48 и в таблице Приложения В1.

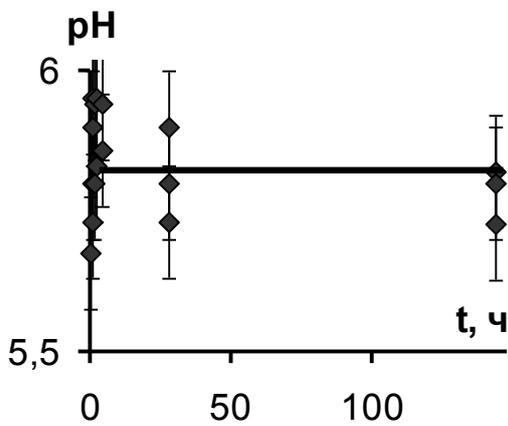


Рис. 3.47 Зависимость значений pH водных дисперсий билирубина от времени контакта фаз.

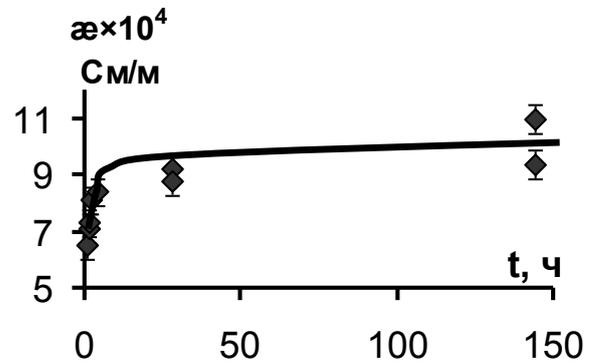


Рис. 3.48 Зависимость значений удельной электропроводности водных дисперсий билирубина от времени контакта фаз.

Анализ полученных зависимостей показывает, что адсорбционное равновесие в водной дисперсии билирубина устанавливается примерно за пять часов - быстрее, чем для гемоглобина и хлорофилла. Также как для гемоглобина и хлорофилла все дальнейшие измерения проводились при времени контакта фаз – 24 часа.

3.3.2 Электрокинетические свойства билирубина в водных растворах

1-, 2- и 3-зарядных ионов

Рассмотрим влияние рН на электрокинетический потенциал билирубина, в растворе хлорида калия (принимается, что хлорид-ионы и ионы калия являются индифферентными для билирубина) (рис. 3.49, таблица Приложения В2). рН изоэлектрической точки билирубина в растворе хлорида калия - 3.9. При значениях рН, меньших 3,9, электрокинетический потенциал частиц билирубина положителен вследствие адсорбции ионов водорода, а при больших значениях – отрицателен из-за адсорбции ионов гидроксила.

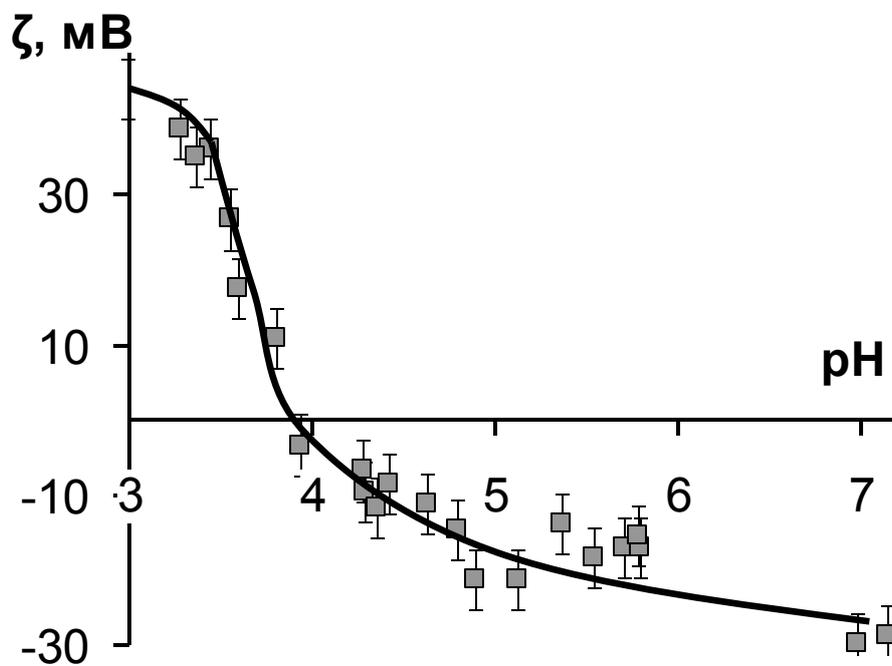


Рис. 3.49 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий билирубина от рН в растворе хлорида калия с концентрацией $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

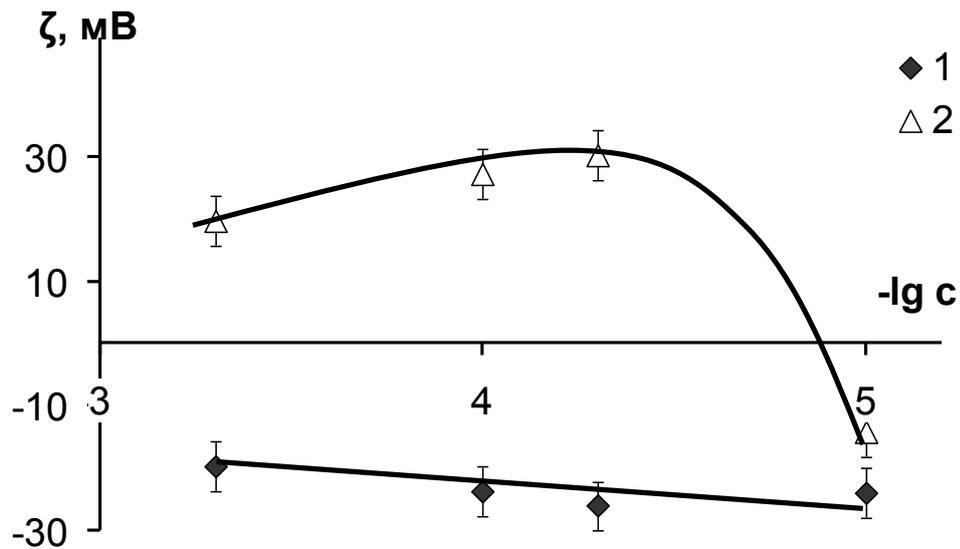


Рис. 3.50 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий билирубина от отрицательного логарифма концентрации катионов железа II (1) и катионов железа III (2).

В отличие от хлорофилла и гемоглобина билирубин не содержит атома металла и способен образовывать комплексы с большинством двух- и трехзарядных элементов: Cu, Ni, Co, Fe, Mn, Zn, Al, Tl [5]. Ранее показано для водных дисперсий гемоглобина и хлорофилла, что катионы железа адсорбируются на них специфически (т.е. не простое кулоновское взаимодействие), поэтому рассмотрим влияние катионов d-металла - железа на электрокинетический потенциал билирубина (рис. 3.50, 3.51, таблицы Приложения В3, В4). Из рис. 3.50 следует, что влияние концентрации двух- и трехзарядного железа на электрокинетический потенциал водных дисперсий билирубина соответствует классической теории ДЭС: увеличение концентрации двухзарядных противоионов вызывает уменьшение абсолютных значений электрокинетического потенциала, а трехзарядных - уменьшение и перезарядку поверхности.

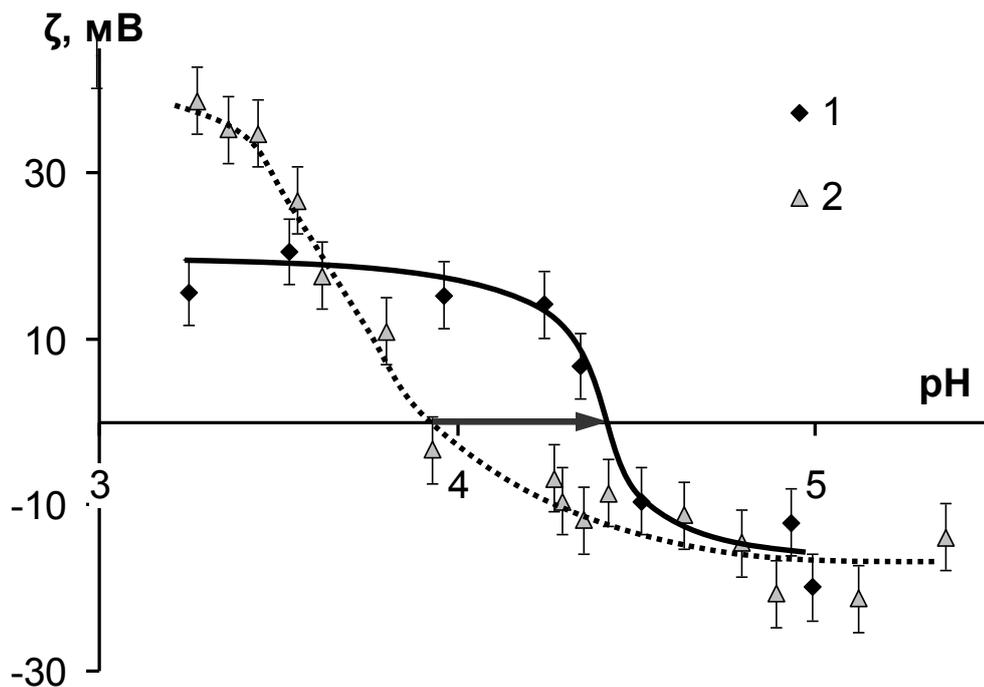


Рис. 3.51 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий билирубина от pH в растворах сульфата железа II (1) и хлорида калия (2) с концентрацией $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Чтобы ответить на вопрос о возможности специфической адсорбции катионов железа на билирубине исследуем зависимость электрокинетического потенциала от pH (рис. 3.51 для железа II, таблица Приложения В3 для железа II, III). Присутствие катионов железа II смещает изоэлектрическую точку в щелочную область. Аналогичные результаты получены для железа III (таблица Приложения В3). Смещение изоэлектрической точки свидетельствует о специфической адсорбции катионов железа. Т.о. также как для гемоглобина и хлорофилла катионы железа II, III будут сорбироваться специфически.

3.3.3 Влияние аминокислот на электрокинетические свойства билирубина

Поскольку из крови и тканей билирубин выводится в комплексе с альбумином, а также может взаимодействовать с другими белками, причем это взаимодействие может быть специфическим, как, например, для азотсодержащих гетероциклических соединений [118], исследуем воздействие составляющих

белков - простейших аминокислот на примере глицина и аспарагиновой кислоты на водные дисперсии билирубина.

Рассмотрим влияние глицина и аспарагиновой кислоты на электрокинетический потенциал водных дисперсий билирубина в зависимости от рН (рис. 3.52, таблица Приложения В6). В водной среде глицин и аспарагиновая кислота существуют в виде катионной, анионной или цвиттер-ионной формы. На билирубине могут сорбироваться одновременно различные ионные формы как за счет простого, электростатического взаимодействия, так и за счет специфического взаимодействия. Сравнение изоэлектрических точек билирубина в растворах глицина, аспарагиновой кислоты и хлорида калия говорит о преобладании специфической сорбции анионных форм аминокислот, так как изоэлектрическая точка смещается в кислую область (рис. 3.52).

На рис. 3.53 (таблица Приложения В7) изображена зависимость электрокинетического потенциала билирубина от концентрации глицина и аспарагиновой кислоты. Как отмечено ранее, потенциал-образующими ионами являются протоны и гидроксид-ионы, однако в присутствии глицина и аспарагиновой кислоты добавляется сорбция анионных форм аминокислот, что сказывается на значениях электрокинетического потенциала - уменьшаются положительные значения электрокинетического потенциала и по абсолютной величине увеличиваются отрицательные значения. Аспарагиновая кислота из-за наличия двух карбоксильных групп имеет более ярко выраженные кислотные свойства, поэтому увеличение ее концентрации сказывается на рН раствора. А поскольку протоны специфически сорбируются, то увеличение концентрации аспарагиновой кислоты будет действовать на электрокинетический потенциал билирубина также, как и увеличение концентрации соляной кислоты (рис. 3.54). Изменение рН раствора и специфическая сорбция анионной формы вызывают перезарядку поверхности. Анализ полученных зависимостей показывает, что на электрокинетический потенциал водных дисперсий билирубина в растворах аминокислот влияет и их специфическая адсорбция на поверхности билирубина, и изменение концентрации протонов.

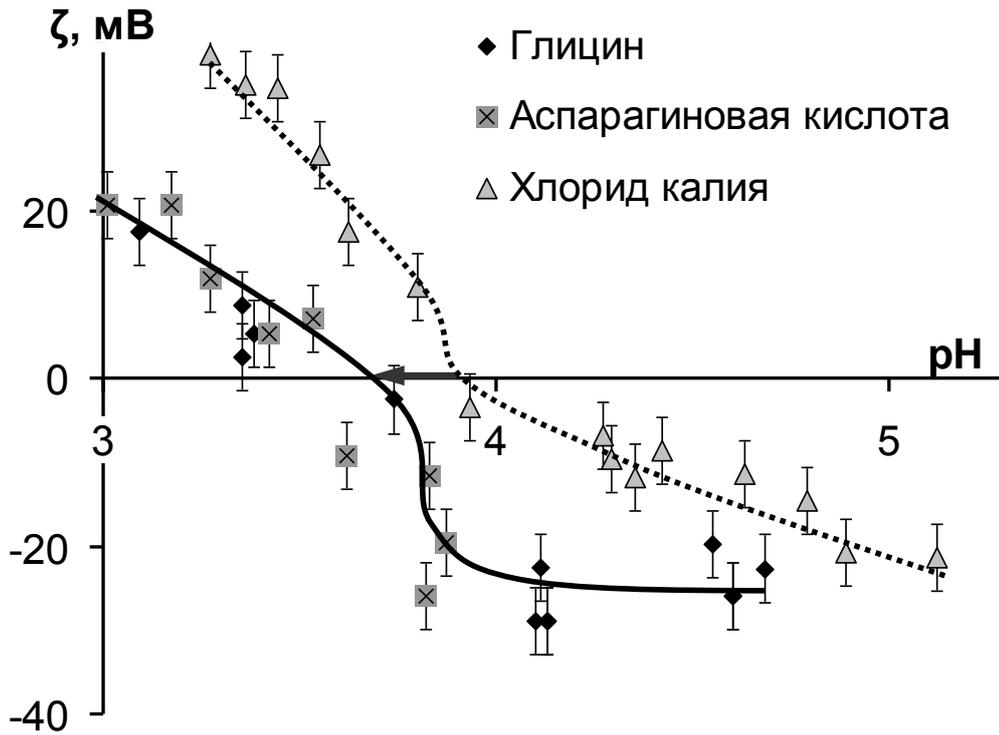


Рис.3.52 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий билирубина от pH в растворах глицина, аспарагиновой кислоты и хлорида калия с концентрацией $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

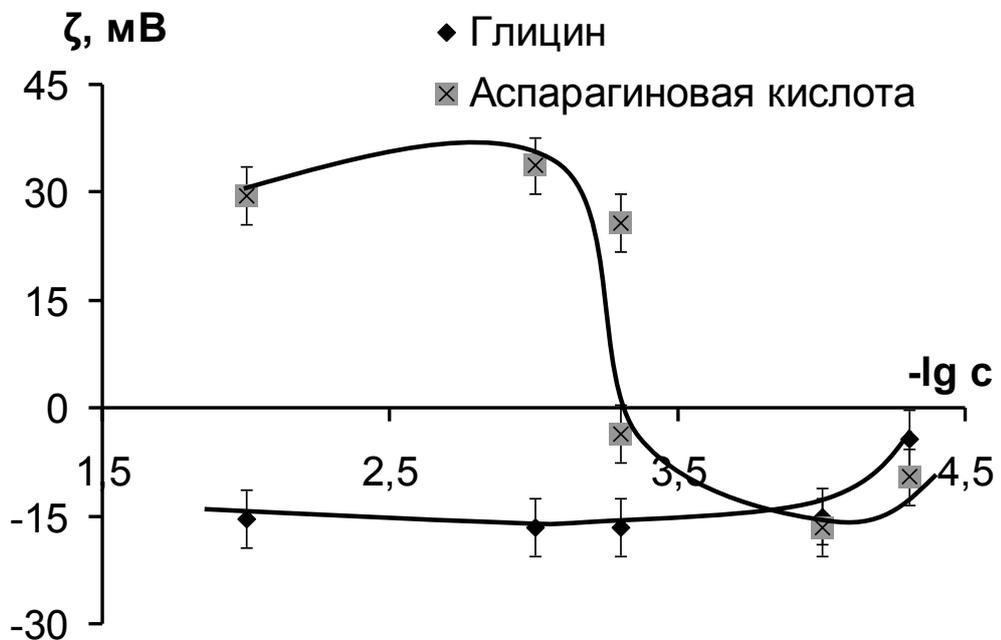


Рис.3.53 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий билирубина от отрицательного логарифма концентрации глицина и аспарагиновой кислоты.

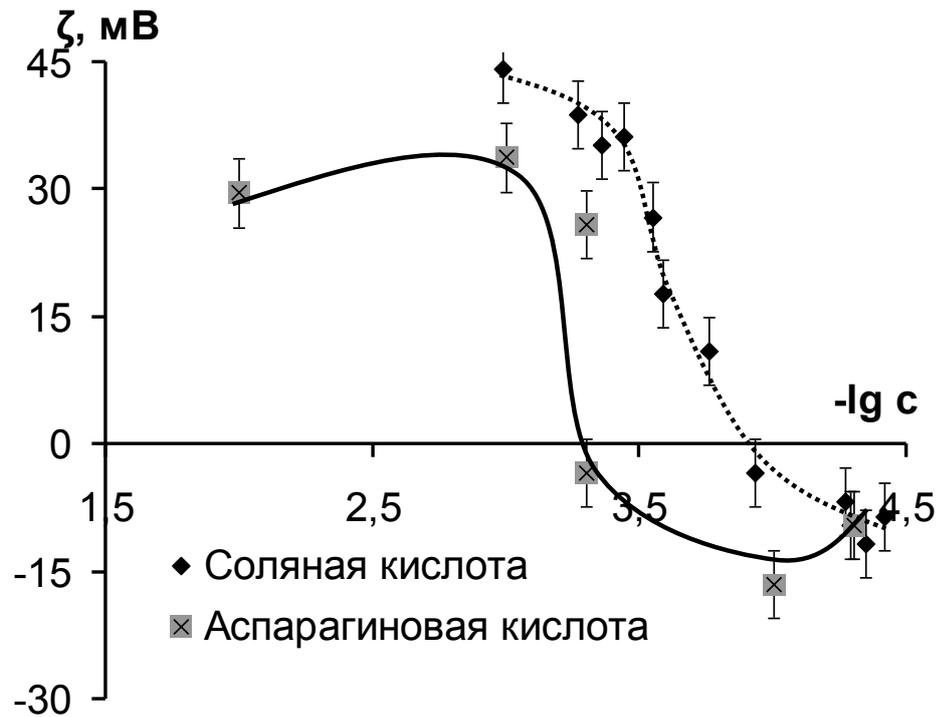


Рис.3.54 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий билирубина от отрицательного логарифма концентрации соляной и аспарагиновой кислоты.

3.3.4 Устойчивость водных дисперсий билирубина

Для любой дисперсной системы одной из главных характеристик является ее устойчивость, то есть способность "противостоять" агрегации и седиментации. Следствие процессов агрегации и седиментации билирубина - образование желчных камней. Исследование агрегации билирубина в зависимости от состава раствора и времени контакта фаз позволяет определить условия наибольшей устойчивости водных дисперсий билирубина [102].

Процесс коагуляции изучался по изменению оптической плотности (ΔD - разность между исходным значением оптической плотности и значением оптической плотности в рассматриваемый момент времени) в зависимости от состава водной фазы и времени коагуляции. На рис. 3.55, 3.56 (таблицы Приложения В8, В9) приведены зависимости изменения оптической плотности от

pH и электрокинетического потенциала водных дисперсий в присутствии хлорида калия ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) при времени коагуляции 60 минут.

Изменение оптической плотности дисперсий связано с нарушением устойчивости дисперсных систем. Нарушение устойчивости обусловлено двумя процессами - агрегацией частиц (увеличение рассеяния света), и седиментацией (под действием силы тяжести в зависимости от плотности частиц дисперсной фазы по сравнению с плотностью дисперсионной среды они могут либо всплывать, либо оседать, вследствие чего оптическая плотность будет уменьшаться). Изменение концентрации потенциал-образующих ионов сказывается на процессе агрегации, при приближении к изоэлектрической точке уменьшается заряд частиц и увеличивается их агрегация. Максимум на кривых зависимостей изменения оптической плотности от pH (рис. 3.55) соответствует значению изоэлектрической точки билирубина, которая совпадает со значением изоэлектрической точки, определенной методом микроэлектрофореза (рис. 3.49).

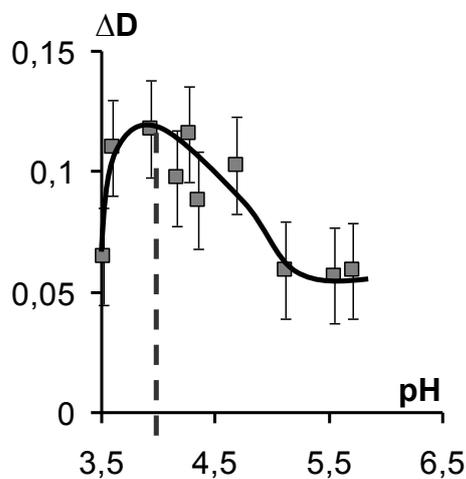


Рис. 3.55 Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий билирубина от pH в растворах KCl ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) для времени коагуляции 1 час.

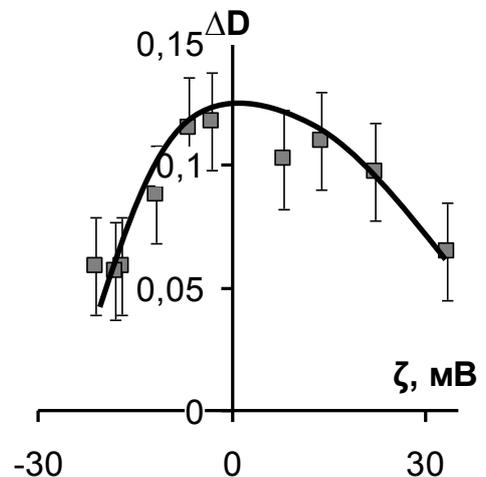


Рис. 3.56 Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий билирубина от значений электрокинетического потенциала в растворах KCl ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) для времени коагуляции 1 час.

Рассмотрим зависимость изменения оптической плотности от электрокинетического потенциала (рис. 3.56): минимальные значения электрокинетического потенциала соответствуют максимальному изменению оптической плотности, то есть наименьшей устойчивости дисперсной системы. Такая зависимость коагуляции частиц от концентрации адсорбирующихся на них ионов наглядно демонстрирует закономерности классической теории ДЛФО: если частицы имеют высокий электрический потенциал и достаточной толщины диффузный слой (большие значения электрокинетического потенциала), то при перекрывании двух частиц энергия электростатического отталкивания преобладает над энергией межмолекулярного притяжения. Отметим, что на агрегацию билирубина влияет не только рН, но и различные вещества, находящиеся в физиологических жидкостях, например, аминокислоты.

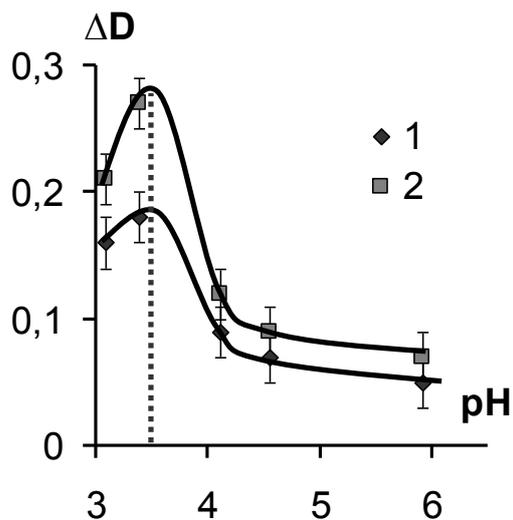


Рис. 3.57 Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий билирубина от рН в растворах глицина ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) для времени коагуляции 30 минут (1) и для времени коагуляции 1 час (2).

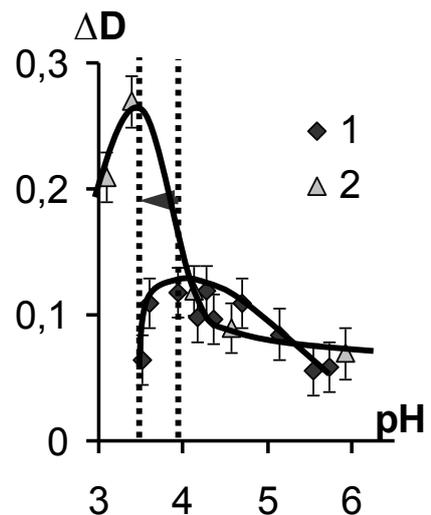


Рис. 3.58 Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий билирубина от рН в растворах хлорида калия(1), глицина(2) ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) для времени коагуляции 1 час.

Данные, полученные методом микроэлектрофореза для глицина и аспарагиновой кислоты, подтверждаются изменением оптической плотности во

времени при различных значениях рН (рис. 3.57 на примере глицина, таблицы Приложения В10, В11). Максимум на кривых соответствует наименьшей устойчивости дисперсной системы, и находится при рН изоэлектрической точки билирубина в растворах глицина. Как видно из рис. 3.58 максимумы на кривой зависимости изменения оптической плотности от рН для глицина по сравнению с хлоридом калия смещаются в кислую область, это смещение соответствует смещению изоэлектрической точки на зависимости электрокинетического потенциала от рН (рис. 3.52). Аналогичные результаты получены для аспарагиновой кислоты.

Процесс коагуляции идет во времени и характеризуется уменьшением оптической плотности. Из рисунка 3.58 видно, что наибольшей коагулирующей способностью обладает глицин.

3.3.5 Адсорбция протонов и гидроксид-ионов

Рассмотрим результаты потенциометрического титрования водных дисперсий билирубина в растворах КСl (рис. 3.59-3.61, таблицы 3.13-3.14, таблицы Приложения В12-В19). В качестве примера на рис. 3.59 приведены две кривых потенциометрического титрования: одна - кривая потенциометрического титрования дисперсии билирубина в растворе КСl 0,1 моль/л, вторая - титрования фонового раствора КСl 0,1 моль/л (рис. 3.59). Значение $pH_{\text{тнз}}$ билирубина в хлориде калия =4,7. В области $pH > pH_{\text{тнз}}$ кривая с сорбентом идет ниже, чем без сорбента из-за сорбции OH^- - ионов, при этом поверхность заряжается отрицательно. В области $pH < pH_{\text{тнз}}$ кривая титрования с сорбентом (билирубином) практически совпадает с фоновой кривой, что объясняется более низкой сорбцией протонов на билирубине, чем на гемоглобине вследствие отсутствия белковой составляющей.

Функциональными группами билирубина будут карбоксильные группы и атомы азота пиррольных колец. При присоединении протонов и гидроксид-ионов

разрушаются внутримолекулярные водородные связи. Известны примерные значения констант диссоциации карбоксильных групп билирубина - $pK_1=5,4$, $pK_2=6,0$ [39]. Атомы азота пиррольных колец имеют неподеленные электронные пары и обладают более сильными основными свойствами, чем те же атомы для макроколец[5].

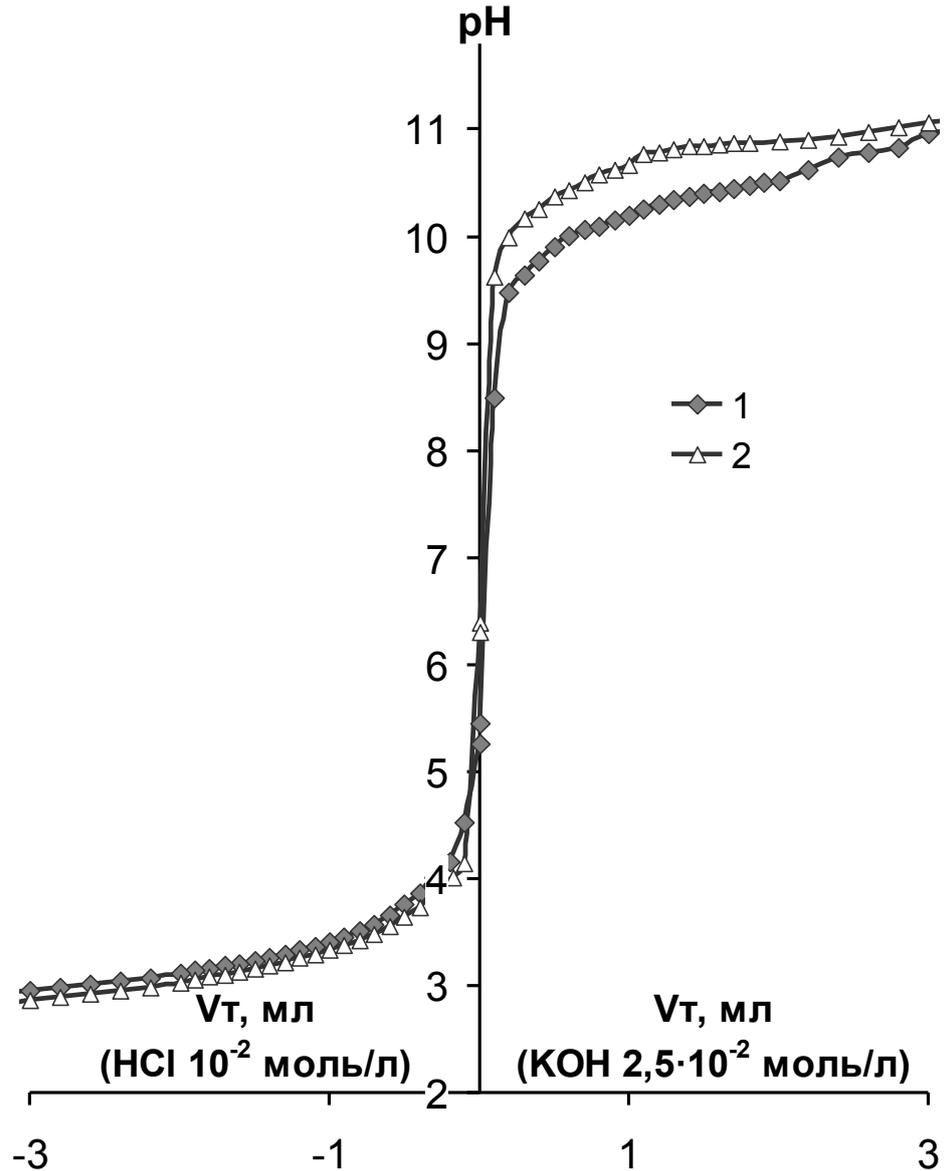
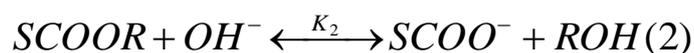
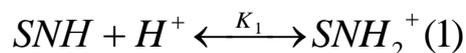


Рис. 3.59 Кривые потенциметрического титрования водных растворов хлорида калия 0,1 моль/л с билирубином (1) и без (2).

В общем виде можно записать две поверхностные реакции:



где S –символ поверхности.

По результатам потенциометрического титрования для билирубина рассчитаны количества сорбированных H^+ , OH^- -ионов как функции рН. Результаты вычислений представлены в таблице 3.13.

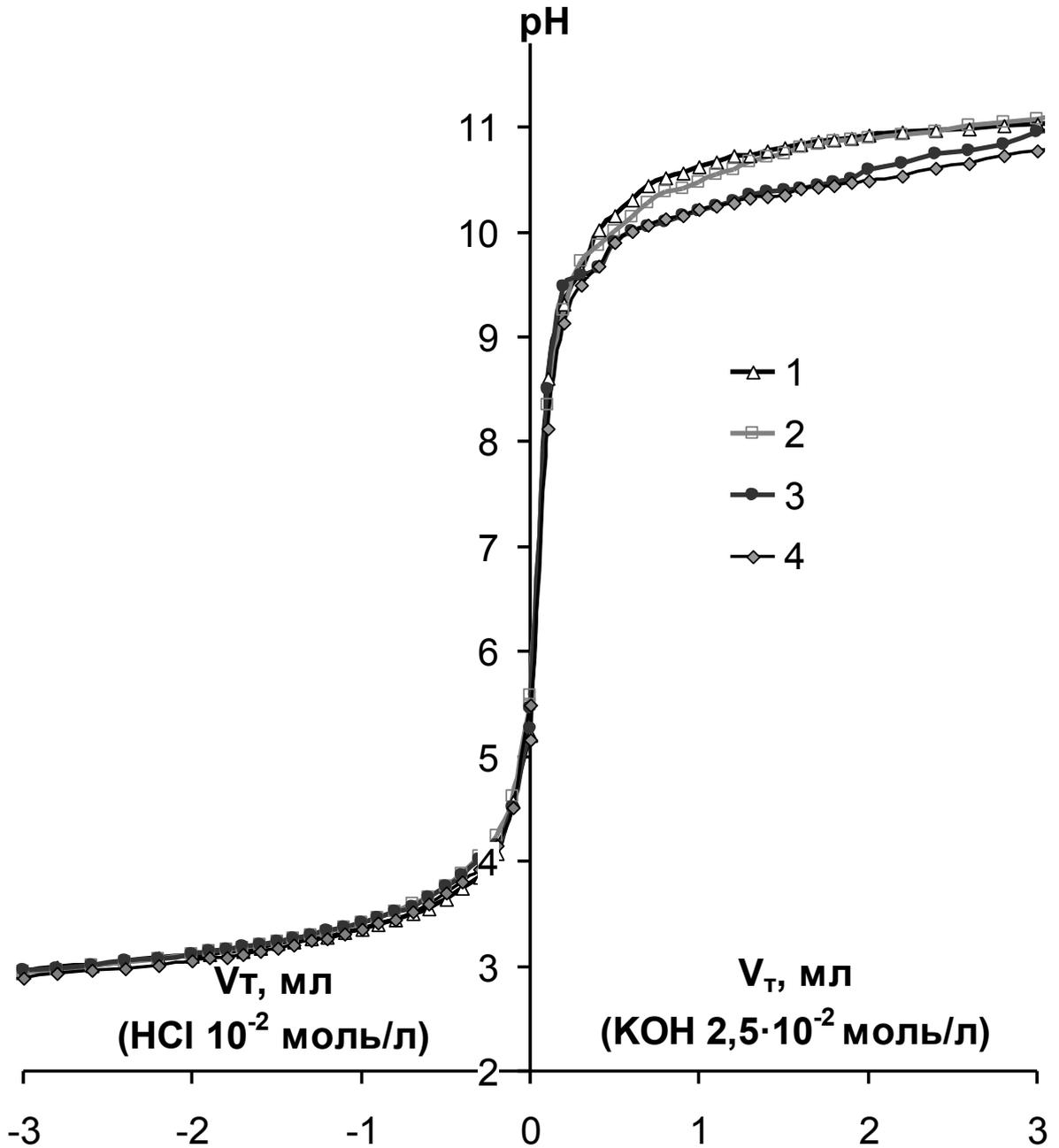


Рис. 3.60 Кривые потенциометрического титрования водных растворов хлорида калия с билирубином, где концентрация хлорида калия: 1 - $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л; 2 - $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л , 3 - 0,1 моль/л, 4 - 1,0 моль/л.

Сравним кривые потенциометрического титрования билирубина при различных концентрациях хлорида калия (рис. 3.60, таблица 3.14, таблицы Приложения В13-В17). Определенное ранее $pH_{\text{ТНЗ}}=4,7$, соответствующее равенству адсорбции протонов и гидроксид-ионов при концентрации хлорида калия 0,1 моль/л, будет таким же и при других концентрациях хлорида калия. Также как и для гемоглобина у билирубина происходит увеличение адсорбции гидроксид-ионов при увеличении ионной силы раствора. Так для раствора хлорида калия с концентрацией 0,1 моль/л фоновая кривая и кривая с адсорбентом будут сближаются, поэтому затруднительно точно определить значение точки нулевого заряда в разбавленных растворах.

В гемоглобине и возможно в хлорофилле CO_2 может связываться с металлом порфиринового кольца. Возможно ли присоединение молекул CO_2 к билирубину, имеющему по существу линейную молекулу. Рассмотрим результаты потенциометрического титрования в присутствии хлорида и карбоната калия (рис. 3.61). Как видно из рис. 3.61 и табл. 3.14 присутствие карбонат-ионов смещает точку нулевого заряда в щелочную область, причем, чем больше концентрация карбонат-ионов, тем сильнее смещение, а также присутствие больших концентраций карбонат-ионов уменьшает адсорбцию гидроксид-ионов. Полученные данные говорят о специфической адсорбции карбонат-ионов.

Таблица 3.13

Значения pH точек нулевого заряда билирубина в присутствии хлорида и карбоната калия различных концентраций.

Концентрация соли моль/л	Хлорид калия				Карбонат калия	
	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-2}$	0,1	1	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$
$pH_{\text{ТНЗ}} \pm 0,1$	4,7	4,7	4,75	4,7	6-7,5	7,7

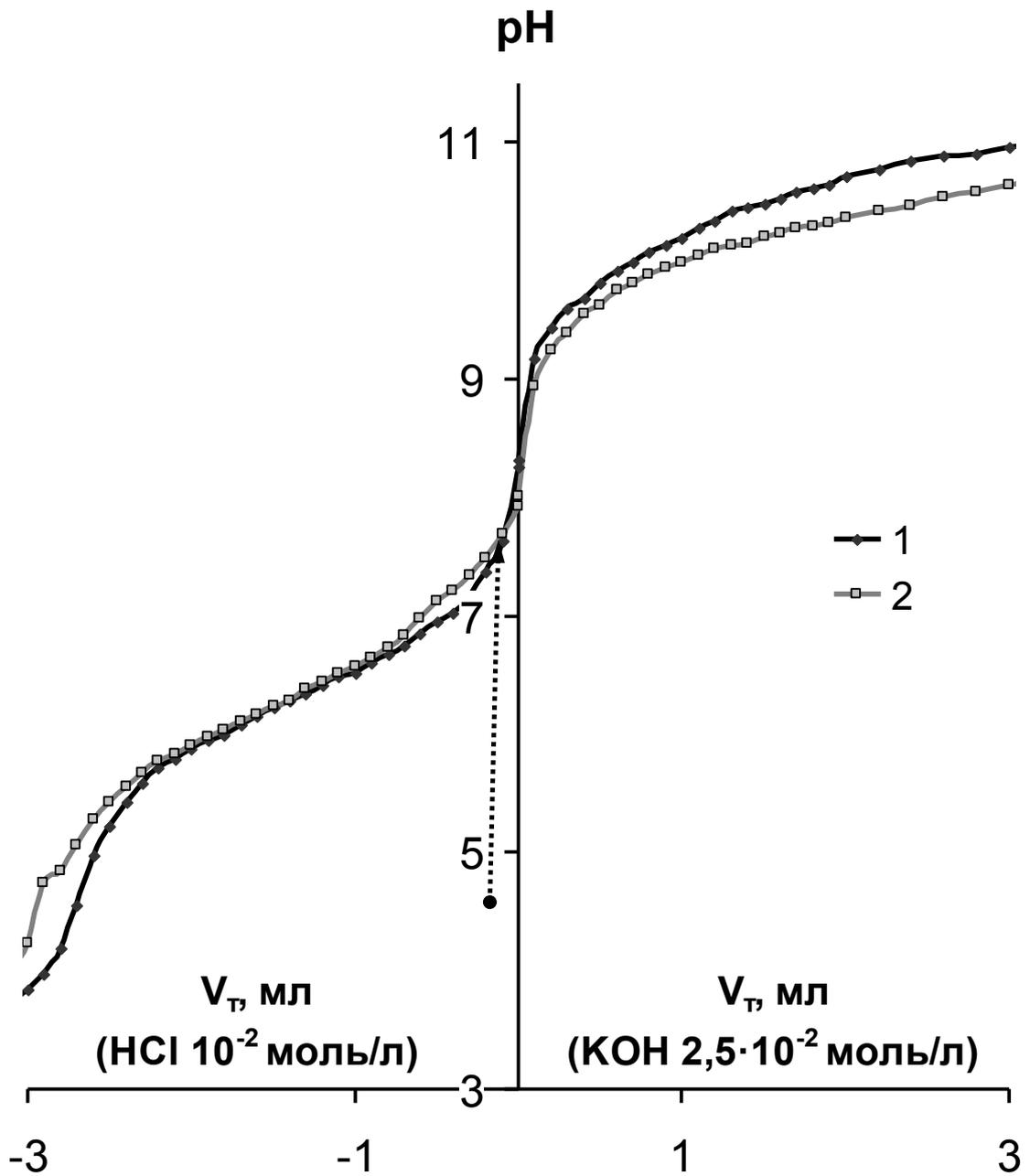


Рис.3.61 Кривые потенциметрического титрования водных растворов: 1- карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л (фоновый раствор), 2 - карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л с билирубином.

Таблица 3.14

Адсорбция H^+ и OH^- на билирубине в присутствии хлорида и карбоната калия различных концентраций (жирным шрифтом выделены величины избыточной сорбции протонов и гидроксид-ионов вблизи $pH_{ТНЗ}$).

pH	$\frac{x}{m}(H^+ - OH^-) \times 10^3$, моль/г					
	Хлорид калия				Карбонат калия	
	$5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$1 \cdot 10^{-2}$ моль/л	0,1 моль/л	1 моль/л	$5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	$1 \cdot 10^{-3}$ моль/л
1	2	3	4	5	6	7
3,25	-0,05	0,05	0,05	-0,07	-0,05	0,10
3,5	-0,02	0,05	0,05	-0,02	0,00	0,05
3,75	-0,02	0,05	0,05	-0,02	0,00	0,08
4	0,00	0,03	0,02	-0,02	0,00	0,08
4,25	0,00	0,00	0,03	-0,02	0,00	0,05
4,5	0,00	0,00	0,03	0,00	0,00	0,05
4,75	-0,02	0,00	0,01	-0,02	-0,03	0,05
5	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,05
5,25	-0,02	0,01	-0,01	0,00	-0,03	0,05
5,5	0,01	0,01	0,01	-0,03	-0,03	0,03
5,75	0,01	0,01	0,00	0,02	-0,03	0,02
6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03
6,25	0,00	-0,01	-0,01	-0,01	0,00	0,00
6,5	-0,01	-0,01	-0,01	-0,03	0,00	0,03
6,75	-0,01	-0,01	-0,01	-0,03	0,00	0,03
7	-0,01	-0,01	-0,01	-0,03	0,00	0,03
7,25	-0,01	-0,01	-0,02	-0,03	0,00	0,03
7,5	-0,01	-0,02	-0,02	-0,03	-0,01	0,00
7,75	-0,02	-0,02	-0,02	-0,03	-0,05	-0,03
8	-0,02	-0,02	-0,02	-0,03	-0,06	-0,02
8,25	-0,02	-0,02	-0,02	-0,03	-0,06	-0,01
8,5	-0,02	-0,03	-0,02	-0,02	-0,06	-0,02
8,75	-0,02	-0,03	-0,02	-0,02	-0,05	-0,02
9	-0,01	-0,03	-0,01	-0,01	-0,05	-0,01
9,25	-0,01	-0,03	-0,04	-0,07	-0,06	-0,06
9,5	-0,06	-0,07	-0,06	-0,13	-0,03	-0,06
9,75	-0,13	-0,13	-0,19	-0,19	-0,06	-0,13

<i>Продолжение таблицы 3.14</i>						
1	2	3	4	5	6	7
10	-0,13	-0,13	-0,19	-0,19	-0,06	-0,19
10,25	-0,13	-0,13	-0,44	-0,41	-0,06	-0,38
10,5	-0,06	-0,13	-0,81	-0,88	-0,13	-0,56
10,75	-0,13	0,00	-0,88	-1,13	-0,31	-0,88
11	-0,13	0,13	-0,38	-1,44	-0,50	-1,00
11,25	-1,38	0,38	-0,50	-1,88	-1,50	-1,13

3.4 Сравнение коллоидных свойств гемоглобина, билирубина и хлорофилла

Хлорофилл, участвующий в фотосинтезе, и гемоглобин, отвечающий за перенос кислорода и углекислого газа, являются природными порфиринами, а билирубин (линейный тетрапиррол) - продуктом распада гемоглобина. Все три вещества содержат по четыре пиррольных кольца, соединенных метиленовыми мостиками, которые у хлорофилла и гемоглобина замкнуты в макрокольцо и образуют комплекс с металлом, а у билирубина - линейную молекулу. Помимо пиррольных колец молекулы рассматриваемых веществ включают различные заместители, присоединенные к пиррольным кольцам или метиленовым мостикам, например, билирубин содержит два остатка пропионовой кислоты. В состав молекулы гемоглобина входит четыре макрокольца с заместителями и четыре белковых цепочки, в сумме содержащих 574 аминокислоты. В воде все три соединения практически не набухают и образуют дисперсии. Гемоглобин, хлорофилл и билирубин обладают различными функциональными группами: у гемоглобина это в основном amino- и карбоксильные группы белковой части, у билирубина - карбоксильные группы и атомы азота пиррольных колец, у хлорофилла - две этерифицированные карбоксильные группы и два атома азота пиррольного кольца (другие два способны присоединять протоны только при

разрушении макрокольца). В водной среде основные функциональные группы будут присоединять протоны, а кислотные - гидроксид-ионы. В зависимости от того, адсорбция каких ионов преобладает поверхность частиц дисперсной фазы (хлорофилла, гемоглобина или билирубина) будет приобретать соответствующий заряд.

3.4.1 Электрокинетические свойства порфиринов и линейных тетрапирролов в растворах электролитов

Сравнивая зависимости электрокинетического потенциала от рН для бычьего гемоглобина, хлорофилла и билирубина (рис. 3.62), можно увидеть, что для хлорофилла и билирубина изоэлектрические точки лежат в кислой области, а для гемоглобина - ближе к нейтральной. Такая разница в изоэлектрических точках обусловлена наличием в гемоглобине белковой части. Изоэлектрическая точка хлорофилла имеет более кислые значения, чем у билирубина, что объясняется большей основностью атомов азота пиррольных колец в линейной молекуле билирубина по сравнению с макрокольцом хлорофилла [5], а также тем, что в молекуле хлорофилла из четырех атомов азота только два имеют неподеленные электронные пары, а два связаны с катионом магния, наличие которого в центре макрокольца также препятствует протонизации. Если рассматривать наклон кривых на рис. 3.62, то можно заметить, что для гемоглобина угол наклона кривой к оси абсцисс будет меньше, чем для хлорофилла и билирубина. Это также можно объяснить наличием белковой части. Вполне вероятно, что такой наклон кривой зависимости электрокинетического потенциала от рН будет характерным для всех белков, однако это требует дополнительных исследований.

Для исследуемых веществ влияние одно- и двухзарядных катионов соответствует классической теорией ДЭС: они вызывают уменьшение электрокинетического потенциала в соответствии с их зарядом и положением в лиотропном ряду, например, электрокинетический потенциал уменьшается в ряду

Na<K<Mg<Ca. Катионы щелочных и щелочноземельных металлов не влияют на положение изоэлектрической точки изученных порфиринов.

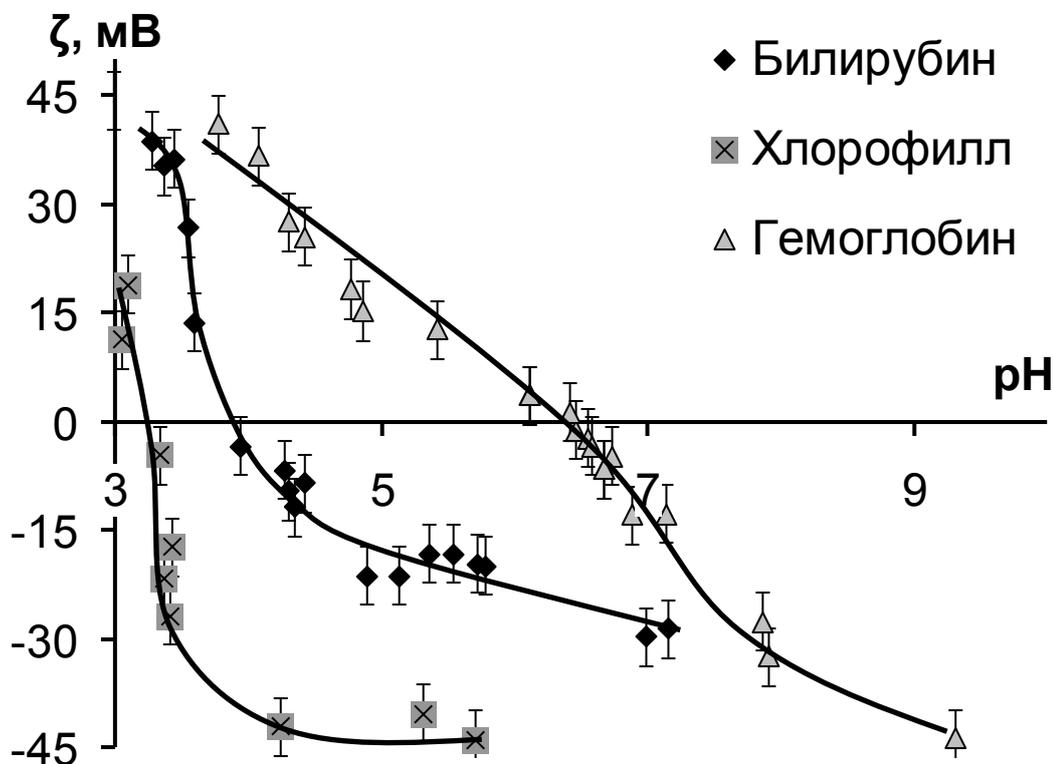


Рис. 3.62 Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла, билирубина, бычьего гемоглобина от pH в растворе хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Особенное влияние на электрокинетические свойства хлорофилла, билирубина и гемоглобина оказывают катионы d-металлов, для которых характерно наличие свободных атомных орбиталей и, следовательно, сильная способность к комплексообразованию. Влияние этих катионов исследовано на примере катионов железа II и III. Билирубин по сравнению с гемоглобином и хлорофиллом, уже имеющими хелатный комплекс, обладает способностью образовывать комплексы с некоторыми двух- и трехзарядными катионами, поэтому и значение его изоэлектрической точки смещается в щелочную область в растворах двухзарядного и трехзарядного железа (таблица 3.15). На положение изоэлектрической точки хлорофилла влияет только трехвалентное железо. У

гемоглобина в присутствии сульфатов железа не происходит смещение $pH_{ИЭТ}$ из-за того, что в его составе уже имеется железо.

Для всех трех веществ увеличение концентрации трехзарядных катионов вызывает перезарядку поверхности, что обусловлено их специфической сорбцией.

Сопоставление электрокинетических свойств показывает схожее влияние ионной силы раствора на электрокинетический потенциал. В ряду хлорофилл, билирубин гемоглобин $pH_{ИЭТ}$ смещается в щелочную область с увеличением вклада основных групп, катионы трехзарядного металла вызывают перезарядку поверхности.

Таблица 3.15

Значения $pH_{ИЭТ}$ водных дисперсий гемоглобина, хлорофилла и билирубина в присутствии различных электролитов.

Электролит и его концентрация	$pH_{ИЭТ}$		
	Бычий гемоглобин	Билирубин	Хлорофилл
Хлорид калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	6,5	3,9	3,3
Сульфат железа II $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	6,5*	4,4	3,3
Сульфат железа III $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	6,4*	4,8	3,9*

Таблица 3.16

Перезарядка поверхности при изменении концентрации хлорида калия, сульфатов железа II, III ("+"-есть, "-" - нет).

Электролит	Бычий гемоглобин	Билирубин	Хлорофилл
Хлорид калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	-	-	-
Сульфат железа II $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	+	-	-
Сульфат железа III $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	+	+	+

3.4.2 Адсорбция протонов и гидроксид-ионов на поверхности гемоглобина, хлорофилла и билирубина

Для хлорофилла и билирубина, в отличие от гемоглобина, преобладает адсорбция гидроксид-ионов, что соответствующим образом сказывается на значениях $pH_{ТНЗ}$. Для гемоглобина и билирубина наблюдается увеличение адсорбции с ростом ионной силы раствора, а для хлорофилла - обратная зависимость (рис. 4.13), что объясняется усилением агрегации хлорофилла при увеличении концентрации хлорида калия и соответственным уменьшения числа активных адсорбционных центров.

Для хлорофилла и билирубина также как и для гемоглобина были рассчитаны значения предельной адсорбции гидроксид-ионов (Раздел 2, глава 3.5.2 "Определение количества основных и кислотных функциональных групп гемоглобина по адсорбционным данным")

- на хлорофилле - $\Gamma_{\infty} = 14,3 \cdot 10^{-3}$ моль⁻¹·Г
- на билирубине - $\Gamma_{\infty} = 1,9 \cdot 10^{-3}$ моль⁻¹·Г
- на гемоглобине - $\Gamma_{\infty} = 1,18 \cdot 10^{-3}$ моль⁻¹·Г

Исходя из полученных значений предельной адсорбции гидроксид-ионов были рассчитаны примерные значения удельной поверхности билирубина, гемоглобина и хлорофилла по формуле:

$$S_{уд} = S_0 \cdot \Gamma_{\infty} \cdot N_a \quad (3.10)$$

где Γ_{∞} - предельная адсорбция гидроксид-ионов, моль⁻¹·Г, $N_a = 6,02 \cdot 10^{23}$ моль⁻¹ - число Авогадро и $S_0 = 20 \cdot 10^{20}$ м² - площадь, занимаемая одним гидроксид-ионом на поверхности.

- хлорофилла - $S_{уд} = 1720$ м²/Г
- билирубина - $S_{уд} = 227$ м²/Г
- гемоглобина - $S_{уд} = 150,5$ м²/Г

3.4.3 Сопоставление $pH_{ТНЗ}$ и $pH_{ИЭТ}$ гемоглобина, хлорофилла и билирубина

Установлено, что для гемоглобина, билирубина и хлорофилла значения pH изоэлектрической точки и точки нулевого заряда в растворах индифферентных электролитов не совпадают (таблица 3.17). Более кислые значения изоэлектрических точек можно объяснить специфической адсорбцией углекислого газа, который растворен в воде: потенциметрическое титрование проводилось без доступа углекислого газа в очищенных дисперсиях, тогда как при микроэлектрофорезе и фотометрии использовались дисперсии, содержащие растворенный углекислый газ. Исходя из результатов потенциметрического титрования карбонат-ионы (или гидрокарбонат-ионы) будут сорбироваться специфически на всех трех веществах, так как смещают их $pH_{ТНЗ}$ в щелочную область (таблица 3.18). Из всех трех соединений гемоглобин наиболее устойчив к действию углекислого газа, так как его точка нулевого заряда смещается гораздо меньше, что объясняется наличием белковой части. Хлорофилл, билирубин и гемоглобин в естественных условиях всегда контактируют с углекислым газом или карбонат-ионами, поэтому в реальных системах их устойчивость к агрегации определяются положением $pH_{ИЭТ}$.

Таблица 3.17

Значения $pH_{ТНЗ}$ и $pH_{ИЭТ}$ гемоглобина, хлорофилла и билирубина в растворах индифферентных электролитов.

Вещество	Бычий гемоглобин	Билирубин	Хлорофилл
$pH_{ТНЗ}$	7,4	4,7	4,2
$pH_{ИЭТ}$	6,5	3,9	3,3
ΔpH	0,9	0,8	0,9

Таблица 3.18

Значения $pH_{ТНЗ}$ гемоглобина, хлорофилла и билирубина в растворе хлорида и карбоната калия.

Вещество	$pH_{ТНЗ}$		
	Бычий гемоглобин	Билирубин	Хлорофилл
Хлорид калия 0, 1 моль/л	7,4	4,6	4,2
Карбонат калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л	8,2	7,7	5,5
$\Delta pH_{ТНЗ}$	0,8	3,1	1,3

3.4.4 Устойчивость водных дисперсий порфиринов и линейных тетрапирролов в растворах электролитов

Важнейшей характеристикой водных дисперсий является их устойчивость. Нарушение устойчивости обусловлено двумя факторами - агрегацией частиц и седиментацией. Агрегация и седиментация сопровождаются изменением оптической плотности (мутности) дисперсий. Скорость этих процессов будет определяться природой дисперсной фазы и дисперсионной среды, а также составом дисперсионной среды (в водной среде - pH и присутствие электролитов). Исследование влияния состава дисперсионной среды на устойчивость позволяет определить параметры среды, при которых сохраняются свойства дисперсной системы. Процессы коагуляции (и седиментации) для гемоглобина и билирубина изучались по изменению оптической плотности (ΔD) в зависимости от pH и времени коагуляции (рис. 3.63). Для билирубина и гемоглобина максимум на кривой зависимости ΔD от pH приходится на значение изоэлектрической точки и соответствует наибольшей агрегации. Если построить зависимость изменения оптической плотности водной дисперсии от значений электрокинетического потенциала, то максимум изменения оптической плотности будет приходиться на значения электрокинетического потенциала близкие к 0 (рис. 3.64), где между частицами дисперсной фазы будет минимальный потенциальный барьер сил отталкивания согласно теории ДЛФО.

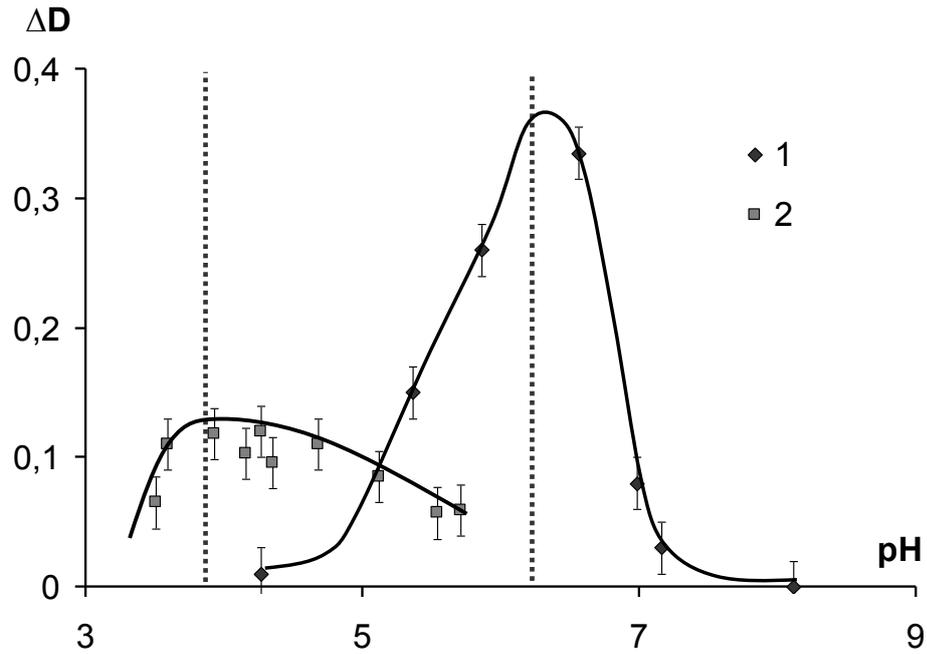


Рис. 3.63 Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий лошадиного гемоглобина 0,1% (1) и билирубина 0,01% (2) за один час от рН в растворах хлорида калия.

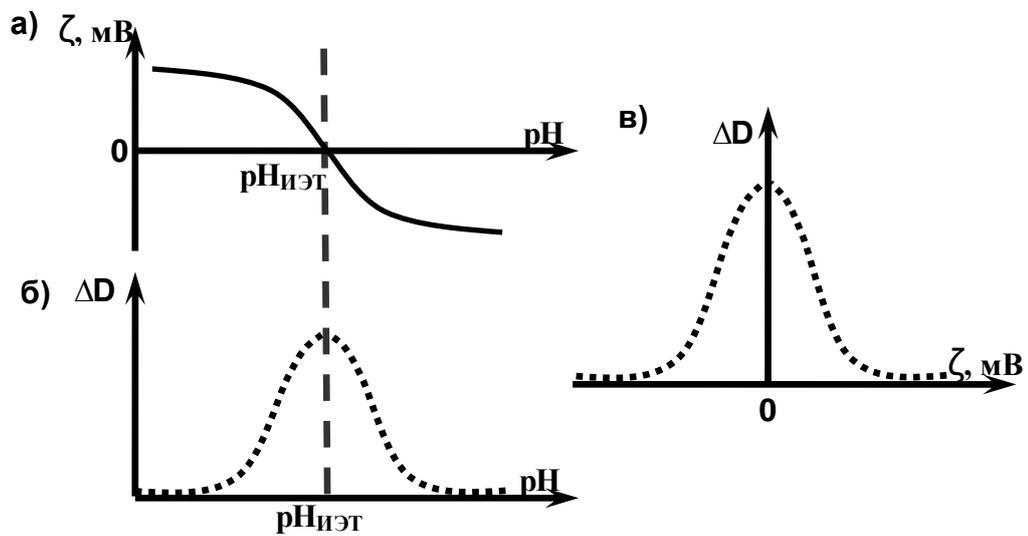


Рис. 3.64 Зависимость а - электрокинетического потенциала дисперсной фазы от рН, б - изменения оптической плотности водной дисперсии от рН, в - изменения оптической плотности водной дисперсии от значений электрокинетического потенциала.

Ранее при сравнении влияния на адсорбцию протонов и гидроксид-ионов было выявлено, что для хлорофилла в отличие от гемоглобина и билирубина

наблюдается уменьшение адсорбции с ростом ионной силы раствора из-за усиления его агрегации. В связи с этим для хлорофилла было проведено исследование влияния индифферентных электролитов на устойчивость и было показано, что коагуляция идет по концентрационному механизму.

Подводя итоги проведенных исследований устойчивости, можно сказать, что для билирубина и гемоглобина коагуляция происходит преимущественно по нейтрализационному механизму (изменение потенциала поверхности в зависимости от pH), а для хлорофилла - по концентрационному механизму - при постоянном потенциале поверхности и уменьшении электрокинетического потенциала с ростом ионной силы раствора.

3.4.5 Влияние аминокислот на электрокинетический потенциал водных дисперсий гемоглобина, хлорофилла и билирубина

Одними из важнейших веществ, содержащихся в любом из живых организмов являются белки, которые находятся как в свободном состоянии в физиологических жидкостях, так и входят в состав различных мембран. Гемоглобин включает в свой состав белковую часть - глобин, билирубин выводится из крови и тканей в комплексе с альбумином, а хлорофилл в растениях находится в комплексе с белком. Таким образом, все три исследуемых вещества взаимодействуют с белковыми соединениями. Рассмотрим влияние структурных мономеров белков - аминокислот на электрокинетические свойства гемоглобина, билирубина и хлорофилла на примере глицина и аспарагиновой кислоты. Эти аминокислоты входят в состав гемоглобина и в водных растворах находятся в анионной, катионной или цвиттер-ионной форме (изоэлектрическая точка глицина - 6,2, а аспарагиновой кислоты - 2,98). На поверхности дисперсной фазы сорбируются одновременно различные ионные формы. Сорбция может происходить как за счет электростатического взаимодействия, так и специфического взаимодействия. Вблизи изоэлектрической точки бычьего гемоглобина (pH≈6,5) эти аминокислоты будут находиться преимущественно в

анионной и цвиттер-ионной форме. Как видно из таблицы 3.19, присутствие этих аминокислот в водных дисперсиях не сказывается (глава 3.1.9 "Влияние аминокислот на электрокинетический потенциал гемоглобина") на положении изоэлектрической точки гемоглобина.

Вблизи $pH_{ИЭТ}$ хлорофилла и билирубина преобладают цвиттер-ионные и катионные формы аминокислот, а содержание анионных форм незначительно, но не смотря на это, сравнение изоэлектрических точек хлорофилла и билирубина в растворах глицина, аспарагиновой кислоты и хлорида калия говорит о преобладании специфической сорбции анионных форм аминокислот, так как изоэлектрическая точка смещается в кислую область по сравнению с хлоридом калия (таблица 3.19).

Таким образом, на хлорофилле и билирубине преобладает специфическая сорбция анионных форм аминокислот.

Таблица 3.19

Значения $pH_{ИЭТ}$ водных дисперсий гемоглобина, хлорофилла и билирубина в растворах хлорида калия и аминокислот.

Электролит и его концентрация	$pH_{ИЭТ}$		
	Бычий гемоглобин	Билирубин	Хлорофилл
Хлорид калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	6,5	3,9	3,3
Глицин $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	6,5	3,7	2,8
Аспарагиновая кислота $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л	6,5	3,6	2,8

Таблица 3.20

Перезарядка поверхности при изменении концентрации аминокислот ("+" - есть, "-" - нет).

Аминокислота	Бычий гемоглобин	Билирубин	Хлорофилл
Глицин	-	-	-
Аспарагиновая кислота	+	+	-

Выводы

В диссертации впервые проведено комплексное исследование коллоидных свойств водных дисперсий гемоглобина, билирубина и хлорофилла, включая исследование электрокинетического потенциала, адсорбции протонов и гидроксид-ионов, устойчивости в растворах HCl, KOH, KCl, NaCl, CaCl₂, MgCl₂, H₃PO₄, K₂HPO₄, KH₂PO₄, H₂SO₄, C₃H₅O(COOH)₃, C₃H₅O(COOK)₃, FeSO₄, Fe₂(SO₄)₃, K₂CO₃ глицина и аспарагиновой кислоты при вариации их концентрации и pH дисперсий. При этом получены следующие новые научные результаты.

- Впервые установлено, что одно-, двух- и трехзарядные противоионы влияют на электрокинетический потенциал гемоглобина, билирубина и хлорофилла в соответствии с их зарядом, располагаясь в обычные лиотропные ряды для одно- и двухзарядных ионов. Катионы железа II и III на билирубине сорбируются специфически. Катионы железа III также смещают изоэлектрическую точку хлорофилла.

- Установлено, что изоэлектрические точки лошадиного гемоглобина равна 6,3, бычьего - 6,5 и человеческого - 6,8. Показано, что положение изоэлектрической точки для различных гемоглобинов определяется составом их белковой части.

- В ряду хлорофилл→билирубин→гемоглобин изоэлектрические точки и точки нулевого заряда смещаются в щелочную область с увеличением вклада основных групп. Выявлено, что основной причиной различия pH_{ИЭТ} и pH_{ТНЗ} этих веществ является специфический характер сорбции карбонат анионов.

- Исследование адсорбционных свойств гемоглобина и билирубина показало, что количества адсорбированных ионов H⁺ и OH⁻ зависит от pH и ионной силы растворов. По своему влиянию на величину адсорбции H⁺ и OH⁻ ионов электролиты располагаются аналогично их влиянию на электрокинетические свойства гемоглобина. Для хлорофилла наблюдается

уменьшение адсорбции H^+ и OH^- ионов с увеличением ионной силы растворов, что объясняется резким усилением агрегации хлорофилла при увеличении концентрации электролита и соответственным уменьшением числа доступных адсорбционных центров.

- Впервые на основе адсорбционных данных вычислено количество функциональных групп гемоглобина, участвующих в обмене протонами и гидроксид-ионами, рассчитаны средние константы диссоциации этих групп: для основных групп $pK_1=6,1$ и кислотных - $pK_2=9,4$.

- Впервые обнаружено, что для билирубина и гемоглобина коагуляция происходит преимущественно по нейтрализационному механизму (изменение потенциала поверхности, а, следовательно, и электрокинетического потенциала в зависимости от рН) и идет наиболее интенсивно вблизи изоэлектрической точки. Для хлорофилла коагуляция происходит по концентрационному механизму - при постоянном потенциале поверхности и уменьшении электрокинетического потенциала с ростом ионной силы раствора согласно теории устойчивости ДЛФО.

- Адсорбция аминокислот, входящих в состав гемоглобина, не влияет на его изоэлектрическую точку, в отличие от их адсорбции на хлорофилле и билирубине. В присутствии аминокислот их изоэлектрические точки смещаются в сторону уменьшения рН, что свидетельствует о специфической адсорбции анионных форм аминокислот. Для дисперсий билирубина присутствие аминокислот усиливает коагуляцию: коагулирующая способность возрастает в ряду хлорид калия – аспарагиновая кислота – глицин.

Список литературы

1. Березин, Б.Д. Координационные соединения порфиринов и фталоцианина / Б.Д. Березин. - М.: Наука, 1978. - 280 с.
2. Аскарлов, К. А. Порфирины: структура, свойства, синтез / К. А. Аскарлов и др. - М.: Наука, 1985. - 333 с.
3. Березин, М. Б. Термохимия сольватации хлорофилла и родственных соединений / М. Б. Березин; Отв. ред. О. И. Койфман. - М.: КРАСАНД, 2008. - 256 с.
4. Аскарлов, К. А. Порфирины: спектроскопия, электрохимия, применение / К. А. Аскарлов и др. - М.: Наука, 1987. - 384 с.
5. Антина, Е.В. Химия билирубина и его аналогов / Е.В. Антина, Е.В. Румянцев. - М.: КРАСАНД, 2009. - 352 с.
6. Голубчиков, О.А. Прикладные аспекты химии порфиринов / О.А. Голубчиков, Б.Д. Березин // Успехи химии. - 1986. - 55. - вып.8. - С.1361-1382.
7. Племенков, В. В. Введение в химию природных соединений / В. В. Племенков. - Казань: Казань, 2001. - 376 с.
8. Galimov, R.A. Extraction of vanadyl porphyrins from petroleum asphaltenes / R.A. Galimov et al. // Petroleum Chemistry. - 1993. - 33. - № 6. - P.539-543.
9. Tumolo, Tathiana Copper chlorophyllin: A food colorant with bioactive properties? / Tathiana Tumolo, Ursula Maria Lanfer-Marquez // Food Research International. - 2012. - 46. - № 2. - P. 451-459.
10. Bobbio, P.A. Stability of copper and magnesium chlorophylls / P.A. Bobbio, M.C. Guedes // Food Chemistry. - 1990. -36. - № 3 - P.165-168.
11. Березин, Б.Д. Металлопорфирины / Б.Д. Березин, Н.С. Ениколопян. - М.: Наука, 1988. - 160 с.
12. Вашурин, А. С. Каталитические свойства кобальтового комплекса тетратозилата мезо-тетраakis(4-метилпиридиний)порфирина в реакции окисления диэтилдитиокарбамата / А. С. Вашурин и др. // Макрогетероциклы. - 2012. - 5. - №1. - С.72-75.
13. Е. М. Мухатова, Е. М. Протекторное влияние свободных оснований порфиринов на скорость разложения пероксида водорода гемоллизатом эритроцитов крови человека в присутствии соединений ртути и олова / Е. М. Мухатова и др. // Макрогетероциклы. - 2011. - 4. - №3. - С.216-221.
14. Герасимова, О. А. Оксидазная активность порфиринов железа и марганца с антиоксидантными 2,6-ди-трет-бутилфенольными группами / О. А. Герасимова, Е. Р. Милаева, М. Лоулоуди // Макрогетероциклы. - 2013. - 6. - №1. - С.77-81

15. Малясова, А. С. Металлопорфирины – катализаторы вулканизации жидких силоксановых каучуков / А. С. Малясова и др. // Макрогетероциклы. - 2012. - 5. - №2. - С.166-168.
16. Khelevina, O. G. Metalloporphyrines as catalysts of cross-linking of liquid siloxane rubbers / O. G. Khelevina, E. I. Pukhova // Russian Journal of Applied Chemistry. - 2011. - 84. - № 1. - P.142-146.
17. Rie Miyatani. Photochemical synthesis of formic acid from CO₂ with formate dehydrogenase and water-soluble zinc porphyrin / Rie Miyatani, Yutaka Amao // Molecular Catalysis B: Enzymatic. - 2004. - 27. - № 2-3. - P. 121-125.
18. Yutaka Amao, Tomoe Watanabe. Photochemical and enzymatic synthesis of methanol from formaldehyde with alcohol dehydrogenase from *Saccharomyces cerevisiae* and water-soluble zinc porphyrin / Yutaka Amao, Tomoe Watanabe // Molecular Catalysis B: Enzymatic. - 2007. - 44. - № 1, 2. - P. 27-31.
19. Raghu Chitta Self-assembled tetrapyrrole–fullerene and tetrapyrrole–carbon nanotube donor–acceptor hybrids for light induced electron transfer applications / Raghu Chitta, Francis D'Souza // Materials Chemistry. - 2008. - 18. - P.1440-1471.
20. Xiao-Feng Wang Cyclic tetrapyrrole based molecules for dye-sensitized solar cells / Xiao-Feng Wang, Hitoshi Tamiaki // Energy & Environmental Science. - 2010. - 3. - P.94-106.
21. Dimitra Daphnomili A new porphyrin bearing a pyridinylethynyl group as sensitizer for dye sensitized solar cells / Dimitra Daphnomili et al. // Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. - 2013. - 253. - P.88-96.
22. Andrea Maldotti Photochemistry and photophysics of transition-metal complexes/ Andrea Maldotti // Photochemistry. - 2009. - 37. - P.240-299.
23. Вёрле, Д. Практическое применение фталоцианинов - от красителей и пигментов до материалов для оптических, электронных и фотоэлектронных устройств / Д. Вёрле и др. // Макрогетероциклы. - 2012. - 5. - №3. - С.191-202.
24. Большебородова, А. К. Углеводсодержащие макромолекулы и их применение в гликобиологии, биотехнологии и материаловедении / А. К. Большебородова, Ю. Л. Себякин // Макрогетероциклы. - 2012. - 5. - №3. - С.203-211.
25. Almeida, A. Chapter 5. Porphyrins as Antimicrobial Photosensitizing Agents / A. Almeida et al. // Photodynamic Inactivation of Microbial Pathogens: Medical and Environmental Applications. - 2011. - 11. - P.83-160.
26. Биохимия: Учебник / Под ред. Е.С. Северина. - 2-е изд., испр. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. - 784 с.

27. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии, 4-е изд. / Ю. Б. Филиппович. - М.: Агар, 1999. - 512 с.
28. Блюменфельд Л.А. Гемоглобин / Л.А. Блюменфельд // Соровский образовательный журнал. – 1998. – 4. - С.33-38.
29. Atassi, M.Z. Significance of the amino acid composition of proteins 1. Composition of hemoglobins and myoglobins in relation to their structure, function and evolution / M.Z. Atassi // *Theoretical Biology*. - 1966. - 11. - №2. July 1966. - P.227-241.
30. Branden, C. Introduction to Protein Structure. Second Edition / C. Branden, J. Tooze. – United States: Garland Science, 1999. - 426 с.
31. Бриттон, Г. Биохимия природных пигментов / Г. Бриттон. - М.: Мир, 1986. – 422 с.
32. Chang, T. Artificial cells : biotechnology, nanomedicine, regenerative medicine, blood substitutes, bioencapsulation, cell/stem cell therapy / T. Chang. - World Scientific Publishing Company, 2007. - 484 p.
33. Покров, В.П. Физиология человека / В.П. Покров, Г.Ф. Коротько. - М.: Медицина, 2001. – 656 с.
34. Nelson, D.L. Lehninger Principles of Biochemistry (5th ed.) / D.L. Nelson, M.M. Cox. - Freeman, 2008. - 1294 p.
35. Xiujuan Yang Synchronous Fluorescence Spectra of Hemoglobin: A Study of Aggregation States in Aqueous Solutions / Xiujuan Yang et al. // *Microchemical Journal*. - 1998. - 60. - №3. - P.210-216.
36. Zijlstra1, W. G. Spectrophotometry of Hemoglobin: Absorption Spectra of Bovine Oxyhemoglobin, Deoxyhemoglobin, Carboxyhemoglobin, and Methemoglobin / W. G. Zijlstra1, A. Buursma // *Comp. Biochem. Physiol*. – 1997. - 118B. - №4. - P.743-749.
37. Якушкина, Н.И. Физиология растений / Н.И. Якушкина. - М.: Просвещение, 1980. - 300 с.
38. Anthony W.D. Larkum Chlorophyll d: the puzzle resolved/ Anthony W.D. Larkum, Michael Kuhl // *TRENDS in Plant Science*. - 2005. - 10. - №8. - P.355-357.
39. William E. Kurtin Effects of pH on the absorption, emission and light scattering spectroscopy of bilirubin and xanthobilirubic acid in sodium taurocholate solution / William E. Kurtin et al. // *Journal of the Chemical Society, Perkin Translation 2*. - 1998. - P.1677-1682.
40. Carey, M.C. Physical chemistry of bile pigments and porphyrins with particular reference to bile. In *Bile Pigments and Jaundice; Molecular, Metabolic and Medical Aspects* / M.C. Carey, W. Spivak. - Marcel Dekker, 1986. - 724 p.
41. Samir Kumar Patra State of aggregation of bilirubin in aqueous solution: principal component analysis approach / Samir Kumar Patra, Anil Kumar Mandal, Medini Kanta Pal // *Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. - 1999. - 122. - №1. –P.23-31.

42. Плавский В.Ю. Сенсibiliзирующее действие билирубина и его фотопродуктов на ферменты в модельных растворах / В.Ю.Плавский и др. // Журнал прикладной спектроскопии. - 2008. - 75. - №3. - С.383-394.
43. Агеева, Т. А. Березин Борис Дмитриевич: биобиблиограф. указ. тр. / Т. А. Агеева, В. В. Ганюшкина; под общ. ред. В. В. Ганюшкиной // Серия «Ученые университета». - Иваново: ГОУВПО Иван. гос. химико-технол. ун-т, Информационный центр, 2009. - 184 с.
44. Zimcik, P. Azaphthalocyanines containing pyrazine rings with focus on the alkylheteroatom, aryl and heteroaryl substitution and properties important in photodynamic therapy / P. Zimcik // *Macroheterocycles*. - 2008. - 1.- №.1 - P.21-29.
45. Donato Monti Supramolecular chirality control by solvent changes. Solvodicroic effect on chiral porphyrin aggregation/ Donato Monti et al. // *Chemical Communications*. - 2005. - P.2471-2473.
46. Noboru Ono Synthesis of 2,7,12,17-tetraaryl-3,8,13,18-tetranitroporphyrins; electronic effects on aggregation properties of porphyrins / Noboru Ono et al. // *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*. - 1998. - P.3819-3824.
47. Sazanovich, I. Fluorescence properties of the dicationic porphyrin 5,15-DiMPyP orderly aggregated along DNA surface / Igor Sazanovich et al. // *Photochem. Photobiol. Sci.* - 2008. - 7. - P.1091-1098.
48. Jiří Mosinger Light-induced aggregation of cationic porphyrins / Jiří Mosinger et al. // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. - 2006. - 181. - №2-3. - P.283-289.
49. Francesco Mallamace Fractal aggregation of dyes such as porphyrins and related compounds under stacking / Francesco Mallamace et al. // *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. - 2000. - 5. - № 1-2. - P. 49-55.
50. Luigi Monsù Scolaro Nucleation effects in the aggregation of water-soluble porphyrin aqueous solutions / Luigi Monsù Scolaro et al. // *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*. - 2002. - 304. - № 1-2. - P.158-169.
51. Ластовой, А. П. Исследование ассоциации тетраметилтрибензотетраазахлорина в бинарных смесях полярных растворителей и в коллоидных растворах НПAB / А. П. Ластовой, Г. В. Авраменко // *Макрогетероциклы*. - 2013. - 6. - №1. - P. 98-105.
52. Овсянникова, Е. В. Агрегация окта-[(4'-бензо-15-краун-5)окси]фталоцианинов в полярных растворителях / Е. В. Овсянникова и др. // *Макрогетероциклы*. - 2013. - 6. - №3. - С.274-281.
53. Градова, М. А. Фотофизические свойства и агрегационная устойчивость металлокомплексов тетрасульфопенилпорфирина в микрогетерогенных средах / М. А. Градова, А. В. Лобанов // *Макрогетероциклы*. - 2013. - 6. - №4. - С.340-344.

54. D. Frąckowiak, D. Aggregation of chlorophyll b in model systems / D. Frąckowiak et al. // *Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. - 1996. - 94. - № 1. - P.43-51.
55. Zhenfeng Cao Interfacial behaviors and aggregate structure of atropisomers of “picket-fence” porphyrin at the air/water interface / Zhenfeng Cao et al. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. - 2011. - 377. - № 1-3. - P.130-137.
56. Yong-Bin Yan Protein Thermal Aggregation Involves Distinct Regions: Sequential Events in the Heat-Induced Unfolding and Aggregation of Hemoglobin / Yong-Bin Yan et al. // *Biophysical Journal*. - 2004. - 86. - №3. - P.1682-1690.
57. Yan-Qing Wang A study of the binding of colloidal Fe₃O₄ with bovine hemoglobin using optical spectroscopy / Yan-Qing Wang et al. // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. - 2009. - 337. - №1-3. - P.102-108.
58. Gen-Cheng Zhang Studies on the interaction between chromium(VI) and human serum albumin: Spectroscopic approach / Gen-Cheng Zhang, Jie-Yan Xu, Yan-Qing Wang // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. - 2012. - 86. - P.381-386.
59. Agostiano, A. Chlorophyll a auto-aggregation in water rich region / A. Agostiano et al. // *Biophysical Chemistry*. - 1993. - 47. - №2. - P.193-202.
60. José Wilson P. Carvalho Thermal denaturation and aggregation of hemoglobin of *Glossoscolex paulistus* in acid and neutral media / José Wilson P. Carvalho et al. // *Biological Macromolecules*. - 2013. - 54. - P.109-118.
61. Kejing Chen Aggregation of Normal and Sick Hemoglobin in High Concentration Phosphate Buffer / Kejing Chen et al. // *Biophysical Journal*. - 2004. - 87. - №6. - P.4113-4121.
62. Yan-Qing Wang Investigations on the binding of human hemoglobin with orange I and orange II / Yan-Qing Wang, Hong-Mei Zhang // *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. - 2012. - 113. - P.14-21.
63. Yan-Qing Wang Fluorescence spectroscopic investigation of the interaction between benzidine and bovine hemoglobin / Yan-Qing Wang et al. // *Molecular Structure*. - 2008. - 886. - №1-3. - P.77-84.
64. Quiroz-Segoviano, R.I.Y. Cobalt porphyrin covalently bonded to organo modified silica xerogels / R.I.Y. Quiroz-Segoviano, F. Rojas-González, M.A. García-Sánchez // *Non-Crystalline Solids*. - 2012. - 358. - №21. - P.2868-2876.
65. Rice, Z. Adsorption characteristics of a cationic porphyrin on nanoclay at various pH / Z. Rice, M. Bergkvist // *Colloid and Interface Science*. - 2009. - 335. - P.189-195.
66. Yao-Ji Tang Adsorption of a protein-porphyrin complex at a liquid-liquid interface studied by total internal reflection synchronous fluorescence spectroscopy / Yao-Ji Tang et al. // *Analytica Chimica Acta*. - 2008. - 614. - №1. - P. 71-76.

67. Суворова, О. Н. Интеркаляция 5,10,15,20-тетраakis[1-(3-сульфонатопропил)-пиридиний-4-ил]порфиринов в $V_2O_5 \cdot nH_2O$ / О. Н. Суворова и др. // Макрогетероциклы. - 2010. - 3. - №2-3. - С.134-138.
68. Валькова, Л. А. Влияние природы растворителя на строение двумерных наноагрегатов в Лэнгмюровских слоях тетра-третбутилтетрабензотриазпорфирина меди / Л. А. Валькова, А. С. Глибин, О. И. Койфман // Макрогетероциклы. - 2011. - 4. - №3. - С.222-226.
69. Миронов, А. Ф. Синтез, свойства и возможные области применения порфирин-фуллеренов / А. Ф. Миронов // Макрогетероциклы. - 2011. - 4. - №3. - С.186-208.
70. Abakumova, R. A. pH Sensitivity of a Porphyrin Film Electrode / R. A. Abakumova et al. // Russian Journal of General Chemistry. - 2003. - 73. - №2. - P.300-307.
71. Yatskov, N. N. Electronic Spectra and Fluorescence Polarization Kinetics of Thin Zn-Porphyrin Films / N. N. Yatskov et al. // Journal of Applied Spectroscopy. - 2003. - 70. - №3. - P.372-377.
72. Bianca Sandrino Amphiphilic porphyrin-cardanol derivatives in Langmuir and Langmuir-Blodgett films applied for sensing / Bianca Sandrino et al. // Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. - 2013. - 425. - P. 68-75.
73. Qi, P. The charge transfer characteristic of porphyrin Langmuir-Blodgett films / P. Qi et al. // Applied Surface Science. - 2013. - 279. - P.349-352.
74. Zhengpeng Yang Quartz crystal microbalance studies on bilirubin adsorption on self-assembled phospholipid bilayers / Zhengpeng Yang et al. // Colloid and Interface Science. - 2007. - 305. - №1. - P. 1-6.
75. Jia Ju Improvement of bilirubin adsorption capacity of cellulose acetate/polyethyleneimine membrane using sodium deoxycholate/ Jia Ju et al. // Biochemical Engineering Journal. - 2013. - 79. - P. 144-152.
76. Adil Denizli Bilirubin removal from human plasma in a packed-bed column system with dye-affinity microbeads / Adil Denizli et al. // Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. - 1998. - 707. №1-2. - P. 25-31.
77. Avramescu, M.E. Adsorptive membranes for bilirubin removal / M.E. Avramescu et al. // Journal of Chromatography B. - 2004. - 803. - №2. - P. 215-223.
78. Lei Zhang Novel method for bilirubin removal from human plasma within modified polytetrafluoroethylene capillary / Lei Zhang, Gu Jin et al. // Reactive and Functional Polymers. - 66. - №10. - P.1106-1117.
79. Shinke, K. Properties of various carbon nanomaterial surfaces in bilirubin adsorption / K. Shinke et al. // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. - 2010. - 77. - №1. - P.18-21.

80. Timin, A. Synthesis and application of amino-modified silicas containing albumin as hemoadsorbents for bilirubin adsorption / A. Timin, E. Rumyantsev, A. Solomonov // *Non-Crystalline Solids*. - 2014. - 385. - P.81-88.
81. Хубутя, М.Ш. Адсорбция свободного гемоглобина электрохимически модифицированными активированными углями. Сообщение 1. Водные растворы / М. Ш. Хубутя и др. // *Макрогетероциклы*. - 2012. - 5. - №4-5. - С.321-326.
82. Хубутя, М.Ш. Адсорбция свободного гемоглобина электрохимически модифицированными активированными углями. Сообщение 2. Плазма крови / М. Ш. Хубутя и др. // *Макрогетероциклы*. - 2012. - 5. - №4-5. - С.327-332.
83. Григоров, О.Н. Руководство к практическим работам по коллоидной химии / О.Н. Григоров и др. - М. - 1964. - 326 с.
84. Чухно, А.С. И.Б. Дмитриева, К.П. Тихомолова, Н.В. Воронкова. Электроповерхностные свойства оксидов никеля (II) и железа (III) в водных растворах 1,2,4 триазола / А.С. Чухно и др. // *Журнал прикладной химии*. - 2010. - 83. - №7. - С.1119-1123.
85. Чухно, А.С. Изоэлектрическая точка белков в водных растворах азолов / А.С. Чухно, Д.В. Мартынов, И.Б. Дмитриева. // *Вестник СПбГУ*. - 2011. - Сер. 4. Вып. 2. - С. 129 - 138.
86. Dmitriyeva I.B., Tikhomolova K.P., Chukhno A.S., Prokopovich P.P., Starov V.M. Investigation of the electro-surface properties of NiO and Fe₂O₃ in azole solutions / I.B. Dmitriyeva et al. // *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*. - 2007. - 241. - №1-3. - P. 45-59.
87. Беляев А.П. Физическая и коллоидная химия / Беляев А.П. и др. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 704 с.
88. Raethel, H.A. Wavelengths of light producing photodecomposition of bilirubin in serum from a neonate with hyperbilirubinemia / H.A. Raethel // *The Journal of Pediatrics*. - 1975. - 87. - №1. - P.110-114.
89. Yajie Zhang Structural stability and properties of three isoforms of the major light-harvesting chlorophyll a/b complexes of photosystem II / Yajie Zhang et al. // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA), Bioenergetics*. - 2008. - 1777. - №6. - P.479-487.
90. Чухно, А.С. Адсорбция ионов Н⁺ и ОН⁻ на коллагене / А.С. Чухно и др. // *Вестник СПбГУ*. - 2011. - 4. - №3. - С. 87- 95.
91. Чухно, А. С. Сорбция ионов Н⁺ и ОН⁻ на хлорофилле, влияние рН на устойчивость водных дисперсий хлорофилла / А. С. Чухно и др. // *Бутлеровские сообщения*. - 2013. - 34. - №5. - С.124-130.
92. Чухно, А.С. Влияние солей одно-, двух- и трехзарядных катионов металлов на сорбцию Н⁺ и ОН⁻ ионов на декстране / А.С. Чухно, И.Б. Дмитриева, Д.В. Мартынов // *Бутлеровские сообщения*. - 2011. - 27. - №14. - С. 47-54

93. Панева, В.И. Разработка и аттестация методик количественного анализа проб веществ и материалов / В.И. Панева, Н.А. Макулов, О.Б. Короткина. - М.: Машиностроение, 1987. - 72с.
94. Дёрффель, К. Статистика в аналитической химии / К. Дёрффель. - М.: Мир, 1969. - 248 с.
95. Учаева, И.М. Справочник физико-химических величин: Учебное пособие / И.М. Учаева, Т.Г. Дмитриенко. - Саратов: ООО «Принт-Клуб», 2009. - 163с.
96. Меньшикова, А.Ю. Влияние модификации белком при неполном заполнении поверхности на электроповерхностные свойства микросфер сополимеров стирола и акролеина / А.Ю. Меньшикова и др. // Коллоидный журнал. - 2001. - 63. - №5. - С.1-8.
97. Дмитриева, И.Б. Электроповерхностные свойства оксидов никеля (II) и железа (III) в водных растворах замещенных азолов (производных имидазола и 1,2,4-триазола) / И.Б. Дмитриева, А.С. Чухно // Вестник СПбГУ. – 2012. - 4. - №3. – С. 103-110.
98. Dmitrieva, I.B. Specific Adsorption of Aspartic Acid on Iron (III) and Nickel (II) Oxides / I.B. Dmitrieva et al. // Eurasian Chem. Tech. Journal - 2012 - 14 - P. 45-51.
99. Родионова, Е. Ю. Электрокинетические свойства хлорофилла в водных растворах 1-, 2- и 3-зарядных катионов / Е. Ю. Родионова, И. Б. Дмитриева, А. С. Чухно // Бутлеровские сообщения. - 2013. - Т.34. - №6. - С.130-134.
100. Дмитриева, И.Б. Взаимодействие глицина с катионами железа(III) и никеля(II) в водных растворах и на поверхности их оксидов / И.Б. Дмитриева, А.С. Чухно, Р.В. Новичков // Бутлеровские сообщения. - 2013. - Т.35. - №8. - С.133-137.
101. Чухно, А.С. Изучение взаимодействия белков с биологически активными азотсодержащими гетероциклическими соединениями при различных значениях pH / А.С. Чухно и др. // Бутлеровские сообщения. - 2013. - 34. - №5. - С.91 - 99.
102. Родионова, Е. Ю.. Влияние состава дисперсионной среды на устойчивость и электрокинетические свойства билирубина / Е. Ю. Родионова, И. Б. Дмитриева, А. С. Чухно // Бутлеровские сообщения. - 2014. - 37. - №1. - С.55-61.
103. Родионова, Е. Ю. Электрокинетические свойства гемоглобина в водных растворах 1-, 2- и 3-зарядных ионов / Е. Ю. Родионова, И. Б. Дмитриева, А. С. Чухно // Бутлеровские сообщения. - 2013. - Т.34. - №6. - С.135-140.
104. Davis, J.A. Surface ionization complexation at the oxide – water interface / J.A. Davis, R.O. James, J.O. Leckie // Journal of Colloid and Interface Science. - 1978. - 63. - № 3. - P.480-499.
105. Davis, J.A. Surface ionization complexation at the oxide – water interface. II Surface properties of amorphous iron oxyhydroxide and adsorption of metal ions / J.A. Davis, J.O. Leckie // Journal of Colloid and Interface Science. - 1978. - 67. - № 1. - P.90-107.
106. Davis, J.A. Surface ionization complexation at the oxide – water interface. III Adsorption of anions / J.A. Davis, J.O. Leckie // Journal of Colloid and Interface Science. - 1980. - 74. - № 1. - P.32-

43.

107. Рагимов, А.А. Трансфузиология в реаниматологии / А.А. Рагимов, А.А. Еременко, Ю.В. Никифоров. - М.: ООО "Медицинское информационное агентство", 2005. - 784 с.
108. Andreas Herrmann Correlation of the internal microviscosity of human erythrocytes to the cell volume and the viscosity of hemoglobin solutions / Andreas Herrmann, Peter Müller // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA), Molecular Cell Research*. - 1986. - 885. - №1. - P.80-87.
109. Якубке, Х.Д., Ешкайт Х. Аминокислоты, пептиды, белки / Х.Д. Якубке, Х. Ешкайт. - М.: Мир, 1985. - 456 с.
110. Peula-Garcia, J.M. Colloid stability and electrokinetic characterization of polymer colloids prepared by different methods / J.M. Peula-Garcia, R. Hidalgo-Alvarez, F.J. de las Nieves // *Colloids & Surface. A*. - 1997. - 127. - №1-3. - P.19-24.
111. Родионова, Е. Ю. Электрокинетические свойства гемоглобина в водных растворах HCl и KCl / Е. Ю. Родионова, И. Б. Дмитриева, А. С. Чухно // *Бутлеровские сообщения*. - 2012. - Т.30. - №6. - С.103-107.
112. Бендер, М. Биоорганическая химия ферментативного катализа: Пер с англ. / М. Бендер, Р. Бергерон, М. Комяма. - М.: Мир, 1987. - 352 с.
113. Березин, Д.Б. Макроциклический эффект и структурная химия порфиринов. Монография / Д.Б. Березин. - Москва: Красанд, 2010. - 421 с.
114. Березин, Б.Д. Химические превращения хлорофилла и его использование для создания экологически чистых красителей нового поколения / Б.Д. Березин и др. // *Успехи химии*. - 2004. - 73. - №2. - С.197-207.
115. Xiujuan Yang Synchronous Fluorescence Spectra of Hemoglobin: A Study of Aggregation States in Aqueous Solutions / Xiujuan Yang et al. // *Microchemical Journal*. - 1998. - 60. - №3- P.210-216.
116. Andrew D. Harman Micellar electrokinetic capillary chromatography analysis of the behavior of bilirubin in micellar solutions / Andrew D. Harman et al. // *Journal of Chromatography A*. - 1993. - 652. - P.525-533.
117. Полный медицинский справочник фармацевта. - М.: Эксмо, 2013. - 784 с.
118. Rossi-Fanelli Amino-acid composition of human crystallized myoglobin and haemoglobin / Rossi-Fanelli, D. Cavallini, C. De Marco // *Biochimica et Biophysica Acta*. -1955. - 17. - P.377-381.
119. Чухно, А.С. Изучение взаимодействия белков с биологически активными азотсодержащими гетероциклическими соединениями при различных значениях pH / А.С. Чухно и др. // *Бутлеровские сообщения*. - 2013. - 34. - №5. - С.91-99.
120. Полный медицинский справочник фармацевта. - М.: Эксмо, 2013. - 784 с.

Список сокращений и условных обозначений

- МП - металлопорфирин
- НПАВ - неионогенные поверхностно-активные вещества
- ДМСО - диметилсульфоксид
- ДМФА - диметилформамид
- ЭСП - электронный спектр поглощения
- БАД - биологически активная добавка
- ДЭС - двойной электрический слой
- ДЛФО - теория устойчивости коллоидных систем, разработанная Б. В. Дерягиным, Л. Д. Ландау, Э. Фервеем и Я. Овербеком.
- pH - отрицательный логарифм концентрации ионов водорода
- $pH_{ИЭТ}$ - изоэлектрическая точка - pH , соответствующее нулевому значению электрокинетического потенциала, определяется методом микроэлектрофореза (также можно использовать фотометрию, вискозиметрию и степень набухания для белков)
- $pH_{ТНЗ}$ - точка нулевого заряда. Соответствует pH , при котором количество адсорбированных протонов равно количеству адсорбированных гидроксид-ионов, определяется методом потенциометрического титрования (без доступа CO_2). При отсутствии специфической сорбции $pH_{ИЭТ} \equiv pH_{ТНЗ}$
- U – электрофоретическая подвижность, $m^2/V\ c$
- H - градиент потенциала, V/m ($H=I/(S \cdot \kappa)$)
- κ – удельная электропроводность среды, $Om^{-1}\ m^{-1} - Cm/m$
- S – площадь поперечного сечения ячейки, m^2
- L – расстояние, пройденное частицей ($L = 87\ \mu m$ (1 деление окулярной сетки) = $87 \cdot 10^{-6}\ m$)
- I – сила тока, A
- t – время, за которое частица проходит контрольное расстояние, c
- ζ - ζ -потенциал или электрокинетический потенциал, V

- K_U - постоянная, численно равная $K_U = S \cdot L = 20 \cdot 10^{-6} \text{ м}^2 \cdot 87 \cdot 10^{-6} \text{ м} = 1740 \cdot 10^{-12} \text{ м}^3 = 1,74 \cdot 10^{-9} \text{ м}^3$
- ϵ – относительная диэлектрическая проницаемость среды, для воды $\epsilon=81$;
- η – динамическая вязкость дисперсионной среды, для воды при 20°C
 $\eta=1,01 \cdot 10^{-3} \text{ Па} \cdot \text{с}$;
- ϵ_0 – диэлектрическая проницаемость вакуума, $\epsilon_0=8,85 \cdot 10^{-12} \text{ Ф/м}$.
- K_ζ - постоянная, $K_\zeta = \eta SL / \epsilon \epsilon_0 = 0,001 \cdot 1,74 \cdot 10^{-9} / 81 \cdot 8,85 \cdot 10^{-12} = 2,449 \cdot 10^{-3}$
- D - оптическая плотность
- ΔD - изменение оптической плотности за указанный временной промежуток
- $\frac{x}{m}(\text{H}^+ - \text{OH}^-)$ - избыток сорбированных ионов (протонов или гидроксид-ионов)
- V_I – объем КОН (НСl), пошедший на титрование раствора в присутствии сорбента, мл
- V_0 - объем КОН (НСl), пошедший на титрование раствора без сорбента, мл
- m - масса навески сорбента
- c - концентрация вещества, моль/л
- P - общее давление в системе (разность давлений на концах капилляра)
- P_r - среднее гидростатическое давление
- $P_{\text{вн}}$ - внешнее давление, приложенное к системе, Па
- $g = 9,81 \text{ м/с}^2$ – ускорение силы тяжести
- $\rho = 1000 \text{ кг/м}^3$ – плотность жидкости
- $h = (a+b)/2 \text{ м}$ - средняя высота столба жидкости в вискозиметре, а и b - расстояния от поверхности жидкости в вискозиметре до нижней и верхней риски.
- ΔP - внешнее давление, определяется разностью уровней жидкости в манометре $P_{\text{н}}, P_{\text{в}}$, см вод. столба
- $P_{\text{н}}, P_{\text{в}}$ см вод. столба - нижнее и верхнее отклонение границы жидкости в манометре от нулевой метки, см вод. столба

- \bar{X} - среднее арифметическое или среднее геометрическое результатов для серии из N наблюдений
- X_n - результат измерения
- N - число опытов
- S^2 - дисперсия для одного измерения
- n - общее число проб
- m - число параллельных измерений
- S_n - среднеквадратичное отклонение
- γ – коэффициент Стьюдента, учитывающий ограниченность выборки
- c_T , моль/л - концентрация титранта (кислоты или щелочи)
- где V_T , л - объем титранта; m, г - масса навески гемоглобина.
- X(bas) - количество основных групп, моль/г
- X(ac) - количество кислотных групп, моль/г
- $X(bas)_\infty$ - суммарное количество основных групп, моль/г
- $X(ac)_\infty$ - суммарное количество кислотных групп, моль/г
- Γ - величина адсорбции протонов на основных группах гемоглобина (или гидроксид-ионов на кислотных группах), моль/г
- K_n – константа адсорбции, моль⁻¹
- Γ_∞ – максимальное значение удельной адсорбции, соответствующее количеству функциональных групп, доступных для адсорбции, моль/г
- α_+ , α_- - степень диссоциации основных и кислотных групп
- pQ_{a1}, pQ_{a2} - концентрационные константы диссоциации
- Суд - удельная поверхность билирубина, гемоглобина или хлорофилла
- $N_a = 6,02 \cdot 10^{23}$ моль⁻¹ - число Авогадро
- $S_0 = 20 \cdot 10^{20}$ м² - площадь, занимаемая одним гидроксид-ионом на поверхности.
- $K, K_{bas}, K_{ac}, K_{a1}, K_{a2}, pK, pK_{bas}, pK_{ac}, pK_1, pK_2$ - термодинамические константы диссоциации (bas, ac - основных и кислотных групп, 1 и 2 - первая и вторая, соответственно) и их отрицательные логарифмы.

Приложение А " Коллоидные свойства водных дисперсий гемоглобина "

Таблица А1

Зависимость значений удельной электропроводности, рН и электрокинетического потенциала водных дисперсий лошадиного гемоглобина от времени контакта фаз в растворе HCl $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

рН	$\kappa \cdot 10^{-4}$, См/м	t, ч	$I \cdot 10^{-4}$, А	t, с	$\kappa/I \cdot t$ См/м·А·с	Н, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м²/В·с	ζ, мВ
4,1	289	1	4,38	2,73	24,24	756,9	42,18	59,37
3,6	284	2	4,36	2,69	24,22	768,0	42,15	59,32
3,43	284	3,5	4,63	2,87	21,34	815,7	37,13	52,26
3,35	284	23,5	4,23	3,52	19,11	743,8	33,26	46,81
3,57	256	23,5	4,25	3,63	16,60	830,1	28,89	40,66
3,57	257	47	4,52	3,62	15,72	880,0	27,35	38,49
3,57	258	98	4,34	3,87	15,34	841,9	26,69	39,56
3,54	266	1	4,59	3,19	18,12	863,6	31,54	44,39
3,55	264	2	4,56	3,42	16,91	863,8	29,43	41,42
3,55	264	4	4,34	3,67	16,60	821,1	28,89	40,66
3,56	265	23,5	4,25	3,99	15,64	801,3	27,21	38,30
3,56	266	98,5	4,68	3,06	18,58	878,8	32,33	40,00
3,55	269	1	4,71	2,84	20,11	875,5	35,39	49,25
3,56	267	2	4,62	3,20	18,08	864,2	31,46	44,28
3,55	270	4	4,67	3,27	17,69	865,4	30,77	43,31
3,56	256	23,5	4,22	3,76	16,15	823,6	28,10	39,55
3,56	260	98	4,37	3,57	16,68	841,0	29,02	40,84
3,56	268	1	4,38	3,01	20,34	817,2	35,39	49,81
3,55	266	2	4,60	3,20	18,08	864,7	31,46	44,28
3,54	265	4	4,65	3,36	16,97	877,4	29,53	41,56
3,55	264	6	4,56	3,51	16,50	863,8	28,72	40,42
3,55	264	23,5	4,34	3,73	16,33	821,6	28,42	40,00
3,55	264	48,5	4,31	3,75	16,33	816,3	28,41	39,98
3,55	264	98	4,44	3,64	16,33	840,9	28,42	40,00

Таблица А2

Зависимость значений удельной электропроводности и рН водных дисперсий бычьего гемоглобина от времени контакта фаз в дистиллированной воде.

Время контакта фаз t, ч	рН	κ, мкСм/см
0	7,37	45,4
1	7,2	47,7
2	7,22	48,3
3	7,13	48,9
4	7,13	48,6
5	7,05	49,3
6	7	50,9
26	6,96	50,4
53	6,91	51

Таблица А3

Зависимость электрокинетического потенциала для водных дисперсий лошадиного гемоглобина от рН при различной концентрации хлорида калия.

Концентрация кислоты /щелочи, моль/л	рН	$\kappa \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\kappa/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м ² /В·с	ζ, мВ
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Концентрация КСl $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л								
$2,24 \cdot 10^{-4}$ щ	7,14	227	4,6	5,9	8,4	1006,6	14,6	-20,5
$2,24 \cdot 10^{-5}$ щ	6,58	198	4,0	14,9	3,3	1007,6	5,8	-8,1
$2,24 \cdot 10^{-6}$ щ	6,47	192	3,8	18,3	2,8	981,3	4,9	-6,8
$2,2 \cdot 10^{-7}$ щ	6,34	193,3	3,8	51,9	1,0	986,2	1,7	-2,4
$5 \cdot 10^{-5}$	5,86	197,1	4,4	10,7	4,2	1110,3	7,3	10,3
10^{-4}	5,36	206	4,5	4,3	10,6	1101,9	18,4	25,9
$2 \cdot 10^{-4}$	5,06	206	4,6	3,9	11,6	1105,1	20,2	28,4
$5 \cdot 10^{-4}$	4,27	270	5,0	3,6	15,1	925,9	26,3	37,1
10^{-3}	3,8	385	7,6	2,8	18,0	983,8	31,3	44,1
Концентрация КСl $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л								
$5 \cdot 10^{-5}$	5,77	57,2	1,4	8,3	5,0	1209,5	8,6	12,2

Продолжение таблицы А3								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
10^{-4}	5,42	70,3	1,4	6,2	8,0	1008,5	13,9	19,6
$2 \cdot 10^{-4}$	4,89	71,1	1,5	3,9	12,1	1067,4	21,0	29,5
$5 \cdot 10^{-4}$	4,22	117,4	2,3	3,8	13,7	975,3	23,8	33,5
10^{-3}	3,66	262	4,6	3,3	17,0	884,6	29,7	41,7
$5 \cdot 10^{-5}$	5,96	90,5	2,5	5,7	6,2	1393,5	10,9	15,3
10^{-4}	5,38	81,2	1,9	7,6	5,5	1199,7	9,6	13,5
$2 \cdot 10^{-4}$	4,86	82,3	2,0	4,6	8,9	1227,2	15,4	21,7
$5 \cdot 10^{-4}$	4,26	126,4	2,4	2,9	17,8	965,9	31,0	43,6
10^{-3}	3,63	259	4,6	2,7	20,8	892,9	36,1	50,9
Концентрация КСl $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л								
$2,24 \cdot 10^{-4}$ щ	7,11	845	16,3	6,3	8,2	964,0	14,2	-20,0
$2,24 \cdot 10^{-5}$ щ	6,39	823	16,1	6,5	7,8	977,3	13,7	-19,2
$2,24 \cdot 10^{-6}$ щ	6,48	828	15,7	8,3	6,4	945,3	11,1	-15,6
$2,2 \cdot 10^{-7}$ щ	6,36	824	17,1	11,5	4,2	1034,9	7,3	-10,3
$5 \cdot 10^{-5}$	5,93	838	18,0	12,5	3,7	1076,0	6,5	9,1
$5 \cdot 10^{-5}$	5,88	823	16,3	11,5	4,4	991,9	7,7	10,8
10^{-4}	5,74	859	17,5	13,7	3,6	1021,3	6,2	8,7
10^{-4}	5,49	842	16,6	4,9	10,2	987,9	17,8	25,1
$2 \cdot 10^{-4}$	5,25	874	16,9	7,1	7,3	966,8	12,7	17,9
$5 \cdot 10^{-4}$	4,38	910	18,2	5,5	9,1	1000,0	15,8	22,3
10^{-3}	3,67	1029	19,5	5,2	10,2	948,5	17,7	24,9

Таблица А4

Влияние концентрации одно- и двухзарядных катионов металлов на значение электрокинетического потенциала водных дисперсий бычьего гемоглобина.

Концентрация соли с, моль/л	-lgс	pH	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м ² /В·с	ζ , мВ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
хлорид калия									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	7,15	61,9	1,7	15,4	2,4	1347,8	4,2	-5,9
10^{-4}	4,0	6,93	68,1	1,7	16,2	2,5	1235,9	4,4	-6,1
$2 \cdot 10^{-4}$	3,7	6,74	93,3	2,3	16,2	2,5	1216,5	4,4	-6,2

<i>Продолжение таблицы А4</i>									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$2 \cdot 10^{-4}$	3,7	6,75	89,7	2,4	15,9	2,4	1329,1	4,1	-5,8
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	6,72	138,4	2,6	27,1	2,0	944,7	3,4	-4,8
10^{-3}	3,0	6,83	220	4,4	27,0	1,9	991,5	3,2	-4,6
$5 \cdot 10^{-3}$	2,3	6,76	841	17,3	24,0	2,0	1025,6	3,3	-4,6
хлорид натрия									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	6,76	66,9	1,5	16,5	2,8	1099,5	4,8	-6,7
10^{-4}	4,0	6,74	75	1,6	17,1	2,7	1087,4	4,7	-6,6
$2 \cdot 10^{-4}$	3,7	6,75	85	1,6	20,5	2,6	930,7	4,6	-6,4
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	6,71	124,6	2,6	18,5	2,6	1045,3	4,5	-6,3
10^{-3}	3,0	6,78	193	3,9	27,4	1,9	999,4	3,3	-5,2
$5 \cdot 10^{-3}$	2,3	6,71	724	15,1	16,8	3,0	1044,2	3,3	-5,3
хлорид магния									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	6,72	68,4	1,5	21,0	2,2	1067,3	3,9	-5,5
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	6,79	71,2	1,7	17,9	2,4	1167,3	4,2	-5,8
10^{-4}	4,0	6,7	83,2	2,1	22,8	1,8	1248,7	3,1	-4,3
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	6,72	180,6	3,8	28,9	1,5	1064,6	2,6	-4,7
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	6,91	180,6	4,1	24,7	1,8	1127,1	3,1	-4,4
10^{-3}	3,0	6,72	307	6,5	29,2	1,6	1051,8	2,8	-4,0
10^{-3}	3,0	6,75	315	6,5	28,4	2,2	1028,2	2,9	-4,3
хлорид кальция									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	6,71	70,3	1,7	34,7	1,2	1194,9	2,1	-3,0
10^{-4}	4,0	6,78	84	2,5	31,4	1,1	1486,4	1,9	-2,6
$2 \cdot 10^{-4}$	3,7	6,69	111	3,7	20,1	1,5	1648,6	2,6	-3,7
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	6,86	194	4,2	42,4	1,1	1088,2	1,9	-2,7
10^{-3}	3,0	6,7	277	8,5	34,0	1,0	1528,3	1,7	-2,4

Таблица А5

Расчет электрокинетического потенциала для водных дисперсий бычьего гемоглобина в присутствии различных одно- и двухзарядных катионов металлов (концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, значения рН задаются изменением концентрации соляной кислоты или гидроксида калия).

Концентрация кислоты /щелочи, моль/л	рН	$\kappa \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\kappa/I \cdot t$, См/м·А·с	Н, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м ² /В·с	ζ , мВ
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Хлорид натрия								

<i>Продолжение таблицы А5</i>								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
$5 \cdot 10^{-4}$	4,95	159,8	3,2	7,0	7,2	986,0	12,5	17,7
$2 \cdot 10^{-4}$	6,04	127,7	2,5	19,0	2,7	974,2	4,7	6,6
10^{-4}	6,64	127,4	3,6	11,2	3,2	1398,9	5,5	-7,8
10^{-5}	6,72	145,5	2,8	9,2	5,7	962,2	9,8	-13,8
$2,5 \cdot 10^{-4}$ щ	6,87	171,9	3,0	8,4	6,8	867,4	11,9	-16,8
$5 \cdot 10^{-4}$ щ	7,02	163,3	3,2	9,2	5,6	971,4	9,8	-13,7
$7,5 \cdot 10^{-4}$ щ	9,07	236	3,4	3,6	19,5	719,1	34,0	-47,9
$2,75 \cdot 10^{-3}$ щ	7,14	137,8	4,6	3,9	7,6	1680,9	13,2	-18,6
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	8,56	214	3,6	3,6	16,5	846,3	28,6	-40,3
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	8,65	211	4,3	3,3	14,8	1013,0	25,7	-36,2
Хлорид калия								
$5 \cdot 10^{-4}$	4,86	174,4	3,1	10,2	5,5	897,4	9,5	13,4
$2 \cdot 10^{-4}$	6,11	138,5	3,1	29,0	1,5	1135,4	2,6	3,7
10^{-4}	6,28	137,8	2,7	37,6	1,3	986,9	2,3	-3,3
10^{-5}	6,67	130,6	2,6	19,0	2,7	993,5	4,6	-6,5
$2,5 \cdot 10^{-4}$ щ	7,14	152	3,1	9,3	5,2	1033,6	9,1	-12,7
$5 \cdot 10^{-4}$ щ	6,88	174	3,4	9,7	5,2	979,9	9,1	-12,8
$7,5 \cdot 10^{-4}$ щ	9,31	186,3	3,6	2,9	17,8	960,8	31,0	-43,7
$2,75 \cdot 10^{-3}$ щ	9,79	253	4,6	3,9	14,1	906,5	24,5	-34,5
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	7,86	214	4,0	4,7	11,3	934,6	19,6	-27,6
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	7,91	211	4,1	3,9	13,2	969,5	23,0	-32,4
Хлорид магния								
$5 \cdot 10^{-4}$	4,67	231	4,7	11,9	4,1	1010,3	7,2	10,2
$2 \cdot 10^{-4}$	6,33	188	3,8	31,5	1,6	1020,6	2,7	3,8
$2,5 \cdot 10^{-4}$ щ	6,97	196	3,9	13,2	3,8	1006,4	6,5	-9,2
$5 \cdot 10^{-4}$ щ	7,48	219	4,2	8,5	6,1	969,9	10,6	-14,9
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	9,31	245	4,7	6,3	8,2	964,9	14,3	-20,1
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	9,38	238	4,6	5,3	9,7	968,7	16,9	-23,8
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	9,6	246	4,8	4,8	10,6	981,7	18,4	-25,9
Хлорид кальция								
$5 \cdot 10^{-4}$	4,85	205	4,1	8,5	6,0	987,8	10,4	14,6
$2 \cdot 10^{-4}$	6,27	171	3,4	21,8	2,3	1005,1	4,0	5,6
$2,5 \cdot 10^{-4}$ щ	6,95	181	3,5	13,0	4,0	972,4	6,9	-9,7
$5 \cdot 10^{-4}$ щ	7,52	193	3,8	8,4	6,0	990,3	10,4	-14,7
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	9,45	224	4,2	8,6	6,2	933,9	10,9	-15,3
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	9,59	217	4,1	4,9	10,8	942,1	18,8	-26,4
$2 \cdot 10^{-3}$ щ	9,55	221	4,8	4,3	10,8	1077,4	18,8	-26,4

Таблица А6

Влияние концентрации ионов железа II и III на значения электрокинетического потенциала и рН водных дисперсий бычьего гемоглобина.

Концентрация соли с, моль/л	-lgс	рН	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
Сульфат железа II									
10^{-5}	5,00	6,66	69,5	1,6	36,6	1,2	1131,9	2,1	-3,0
$5 \cdot 10^{-5}$	4,30	6,84	73,5	1,6	22,6	2,0	1100,5	3,5	-4,9
10^{-4}	4,00	6,32	75,8	3,4	25,4	0,9	2266,5	1,5	2,1
$5 \cdot 10^{-4}$	3,30	5,73	180,3	3,8	10,1	4,7	1061,2	8,1	11,4
Сульфат железа III									
10^{-5}	5,00	6,75	53,8	1,4	11,4	3,3	1325,0	5,8	-8,1
$5 \cdot 10^{-5}$	4,30	6,35	63,8	1,6	-	-	1253,9	-	0,0
10^{-4}	4,00	5,58	73,1	1,7	14,2	3,1	1128,6	5,4	7,7
$5 \cdot 10^{-4}$	3,30	3,73	253	4,1	6,5	9,5	807,8	16,5	23,2

Таблица А7

Влияние фосфат-анионов и рН на значение электрокинетического потенциала водных дисперсий бычьего гемоглобина.

Концентрация кислоты, моль/л	рН	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
1	2	3	4	5	6	7	8	9
растворы фосфорной кислоты								
10^{-5}	6,6	52	-	-	-	-	-	0,00
$5 \cdot 10^{-5}$	6,5	51,2	1,3	162,6	0,2	1250,0	0,4	-0,6
10^{-4}	6,56	50,6	-	-	-	-	-	0,00
$5 \cdot 10^{-4}$	5,66	62,5	1,37	10,01	4,56	1095,11	7,94	11,17
$8 \cdot 10^{-4}$	4,58	79,3	1,68	5,38	8,76	1060,53	15,25	21,46
растворы фосфорной кислоты и дигидроортофосфата калия ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л)								
10^{-5}	6,48	128,8	2,7	43,9	1,1	1041,2	1,9	2,7

<i>Продолжение таблицы А7</i>								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
$5 \cdot 10^{-5}$	6,37	138	2,9	40,2	1,2	1037,0	2,1	2,9
10^{-4}	6,29	137,6	2,8	34,6	1,4	1033,8	2,4	3,4
$5 \cdot 10^{-4}$	5,34	137,7	3,0	9,3	4,9	1091,1	8,6	12,1
10^{-3}	4,19	187,5	3,6	4,0	13,1	950,0	22,9	32,2
фосфорной кислоты и гидроортофосфата натрия ($5 \cdot 10^{-4}$ моль/л)								
10^{-5}	7,45	154,9	3,0	5,0	10,3	970,0	17,9	-25,2
$5 \cdot 10^{-5}$	7,31	154,5	3,1	6,1	8,0	1017,8	13,9	-19,6
10^{-4}	7,17	158,6	3,2	6,2	8,1	1002,5	14,1	-19,8
$5 \cdot 10^{-4}$	6,62	155,9	3,3	51,3	0,9	1052,0	1,6	-2,3
10^{-3}	5,88	151	3,2	19,2	2,5	1053,0	4,3	6,1

Таблица А8

Значения электрокинетического потенциала водных дисперсий бычьего гемоглобина в присутствии одно-, двух- и трехзарядных анионов.

Концентрация я кислоты, моль/л	pH	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ мВ/В·с	ζ , мВ
1	2	3	4	5	6	7	8	9
хлорид калия (концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, значения pH задаются изменением концентрации соляной кислоты).								
10^{-3}	3,89	296	5,6	3,2	16,8	940,3	29,2	41,1
$8 \cdot 10^{-4}$	4,16	237	4,6	3,5	15,0	962,6	26,1	36,7
$5 \cdot 10^{-4}$	4,77	178,1	3,6	6,6	7,5	1010,7	13,0	18,3
10^{-4}	6,46	139,4	3,2	92,0	0,5	1147,8	0,8	-1,2
10^{-5}	6,55	138,4	3,2	48,2	0,9	1147,0	1,6	-2,2
0	6,72	138,4	2,6	27,1	2,0	944,7	3,4	-4,8
$2 \cdot 10^{-4}$	6,41	157,8	3,6	79,0	0,6	1140,7	1,0	1,4
$5 \cdot 10^{-4}$	5,41	174,7	3,7	9,2	5,2	1046,2	9,0	12,7
$8 \cdot 10^{-4}$	4,42	230	4,2	5,2	10,4	917,9	18,2	25,6
10^{-3}	4,29	264	5,0	4,7	11,3	938,6	19,6	27,6
$2 \cdot 10^{-4}$	6,11	138,5	3,1	29,0	1,5	1135,4	2,6	3,7
10^{-5}	6,67	130,6	2,6	19,0	2,7	993,5	4,6	-6,5

<i>Продолжение таблицы А8</i>								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
сульфат калия(концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, значения рН задаются изменением концентрации серной кислоты).								
10^{-3}	4,1	309	6,0	7,9	6,6	968,2	11,4	16,1
$8 \cdot 10^{-4}$	4,43	283	6,0	7,9	6,0	1057,1	10,4	14,7
$5 \cdot 10^{-4}$	5,04	243	4,9	12,1	4,1	1010,8	7,1	10,0
$2 \cdot 10^{-4}$	6,14	230	4,8	58,2	0,8	1043,5	1,4	2,0
10^{-4}	6,35	226	4,6	60,0	0,8	1017,7	1,4	2,0
$5 \cdot 10^{-5}$	6,48	215	4,5	29,8	1,6	1045,1	2,8	-3,9
цитрат натрия (концентрация $5 \cdot 10^{-4}$, рН задается содержанием лимонной кислоты или гидроксида калия)								
$0,8 \cdot 10^{-5}$	6,74	162	3,72	10,86	4,01	1148,83	6,98	-9,8
$4 \cdot 10^{-5}$	6,57	168,3	3,66	18,88	2,44	1085,86	4,24	-6
$6,4 \cdot 10^{-5}$	6,42	170,7	3,65	33,86	1,38	1069,13	2,40	-3,4
$0,8 \cdot 10^{-4}$	6,37	164,8	3,43	145,00	0,33	1039,14	0,58	-0,8
$4 \cdot 10^{-4}$	5,07	157,6	3,29	14,46	3,31	1043,43	5,77	8,1
$6,4 \cdot 10^{-4}$	4,63	163,3	3,28	11,14	4,47	1004,29	7,78	11
$0,8 \cdot 10^{-3}$	4,34	171,6	3,48	10,85	4,54	1013,99	7,91	11,1
$2,5 \cdot 10^{-4}$ щ	7,14	178,1	3,42	9,28	5,61	960,135	9,76	-13,7
карбонат калия(концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, значения рН задаются временем подачи CO_2).								
-	7,09	148,8	3,0	8,0	6,2	1010,9	10,8	-15,2
-	6,32	152,5	3,1	41,6	1,2	1012,3	2,1	-2,9
-	6,12	157,6	3,2	74,8	0,7	1001,1	1,2	1,6
-	6,08	138	3,1	105,0	0,4	1126,3	0,7	1,0
-	6,08	144,7	3,2	79,8	0,6	1098,1	1,0	1,4
-	6,23	142,3	3,1	110,5	0,4	1083,8	0,7	1,0
-	7,11	123,7	2,8	7,2	6,1	1139,0	10,6	-15,0

Таблица А9

Расчет адсорбции на гемоглобине в присутствии хлоридов одно- и двухзарядных металлов (концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л)

рН	Объем КОН/НСl, пошедший на титрование фонового раствора V_0 , мл	Объем КОН (НСl), пошедший на титрование водной дисперсии V_1 , мл	Концентрация КОН/НСl, используемых для титрования c , моль/л	Разность объемов $V_1 - V_0$, мл	Избыток сорбированных ионов dx/m , мол/г
1	2	3	4	5	6
Хлорид калия					
3,5	-0,8	-3,4	0,01	2,6	0,65
4	-0,3	-2,5	0,01	2,2	0,55
4,5	-0,2	-1,9	0,01	1,7	0,425
5	-0,1	-1,5	0,01	1,4	0,35
5,5	-0,05	-1,35	0,01	1,3	0,325
6	-0,02	-0,9	0,01	0,88	0,22
6,5	-0,01	-0,6	0,01	0,59	0,1475
7	0	-0,3	0,01	0,3	0,075
7,5	0	0	0,028	0	0
8	0,03	0,1	0,028	-0,07	-0,049
8,5	0,05	0,2	0,028	-0,15	-0,105
9	0,08	0,3	0,028	-0,22	-0,154
9,5	0,1	0,4	0,028	-0,3	-0,21
10	0,1	0,6	0,028	-0,5	-0,35
Хлорид кальция					
3,50	-0,75	-2,95	0,01	2,2	0,55
4,00	-0,32	-2,3	0,01	1,98	0,495
4,50	-0,16	-1,75	0,01	1,59	0,3975
5,00	-0,1	-1,4	0,01	1,3	0,325
5,50	-0,08	-1,15	0,01	1,07	0,2675
6,00	-0,03	-0,89	0,01	0,86	0,215
6,50	-0,01	-0,57	0,01	0,56	0,14
7,00	0,02	-0,27	0,01	0,29	0,0725
7,50	0,05	0,05	0,028	0	0
8,00	0,08	0,15	0,028	-0,07	-0,049
8,50	0,1	0,27	0,028	-0,17	-0,119
9,00	0,12	0,36	0,028	-0,24	-0,168
9,50	0,18	0,47	0,028	-0,29	-0,203
10,00	0,21	0,8	0,028	-0,59	-0,413

<i>Продолжение таблицы А9</i>					
1	2	3	4	5	6
Хлорид натрия					
3,5	-0,9	-3,3	0,01	2,4	0,6
4	-0,3	-2,5	0,01	2,2	0,55
4,5	-0,15	-1,9	0,01	1,75	0,4375
5	-0,1	-1,5	0,01	1,4	0,35
5,5	-0,05	-1,3	0,01	1,25	0,3125
6	-0,05	-1	0,01	0,95	0,2375
6,5	0	-0,5	0,01	0,5	0,125
7	0	-0,3	0,01	0,3	0,075
7,5	0	0	0,028	0	0
8	0	0,05	0,028	-0,05	-0,035
8,5	0,05	0,1	0,028	-0,05	-0,035
9	0,05	0,2	0,028	-0,15	-0,105
9,5	0,1	0,3	0,028	-0,2	-0,14
10	0,1	0,4	0,028	-0,3	-0,21
10,5	0,3	0,6	0,028	-0,3	-0,21
Хлорид магния					
3,5	-0,7	-3,3	0,01	2,6	0,65
4	-0,45	-2,4	0,01	1,95	0,4875
4,5	-0,25	-1,8	0,01	1,55	0,3875
5	-0,18	-1,4	0,01	1,22	0,305
5,5	-0,13	-1,17	0,01	1,04	0,26
6	-0,1	-0,9	0,01	0,8	0,2
6,5	-0,04	-0,6	0,01	0,56	0,14
7	0	-0,3	0,01	0,3	0,075
7,5	0	0	0,028	0	0
8	0,08	0,25	0,028	-0,17	-0,119
8,5	0,11	0,3	0,028	-0,19	-0,133
9	0,12	0,37	0,028	-0,25	-0,175
9,5	0,13	0,43	0,028	-0,3	-0,21
10	0,18	0,58	0,028	-0,4	-0,28

Таблица А10

Адсорбция протонов и гидроксид-ионов на гемоглобине в присутствии хлоридов калия различной концентрации.

рН	Объем КОН/НСl, пошедший на титрование фонового раствора V ₀ , мл	Объем КОН (НСl), пошедший на титрование водной дисперсии V ₁ , мл	Разность объемов V ₁ - V ₀ , мл	Избыток сорбированных ионов dx/m, мол/г	Концентрация КОН/НСl, используемых для титрования с, моль/л
1	2	3	4	5	6
Концентрация хлорида калия 5·10 ⁻⁴ моль/л					
3,25	1,60	4,60	3,00	0,75	0,01
3,5	0,90	3,20	2,30	0,58	0,01
3,75	0,50	2,40	1,90	0,48	0,01
4	0,30	2,00	1,70	0,43	0,01
4,25	0,20	1,60	1,40	0,35	0,01
4,5	0,20	1,40	1,20	0,30	0,01
4,75	0,20	1,30	1,10	0,28	0,01
5	0,10	1,20	1,10	0,28	0,01
5,25	0,10	1,10	1,00	0,25	0,01
5,5	0,10	0,90	0,80	0,20	0,01
5,75	0,10	0,80	0,70	0,18	0,01
6	0,10	0,70	0,60	0,15	0,01
6,25	0,10	0,60	0,50	0,13	0,01
6,5	0,10	0,50	0,40	0,10	0,01
6,75	0,01	0,30	0,29	0,07	0,01
7	0,02	0,20	0,18	0,05	0,01
7,25	0,02	0,03	0,01	0,00	0,01
7,5	0,03	0,09	0,06	0,01	0,01
7,75	0,04	0,04	0,00	0,00	0,025
8	0,05	0,08	-0,03	-0,02	0,025
8,25	0,06	0,12	-0,06	-0,04	0,025
8,5	0,06	0,16	-0,09	-0,06	0,025
8,75	0,07	0,19	-0,12	-0,08	0,025
9	0,08	0,20	-0,12	-0,07	0,025
9,25	0,09	0,30	-0,21	-0,13	0,025
9,5	0,10	0,30	-0,20	-0,13	0,025
9,75	0,10	0,40	-0,30	-0,19	0,025
10	0,10	0,50	-0,40	-0,25	0,025
10,25	0,30	0,70	-0,40	-0,25	0,025

<i>Продолжение таблицы А10</i>					
1	2	3	4	5	6
10,5	0,60	1,10	-0,50	-0,31	0,025
10,75	1,10	1,80	-0,70	-0,44	0,025
11	2,40	3,00	-0,60	-0,38	0,025
11,25	4,20	5,20	-1,00	-0,63	0,025
Концентрация хлорида калия 10^{-2} моль/л					
3,25	1,30	5,40	4,10	1,03	0,01
3,5	0,70	3,80	3,10	0,78	0,01
3,75	0,40	2,90	2,50	0,63	0,01
4	0,30	2,30	2,00	0,50	0,01
4,25	0,20	1,90	1,70	0,43	0,01
4,5	0,20	1,70	1,50	0,38	0,01
4,75	0,10	1,50	1,40	0,35	0,01
5	0,10	1,40	1,30	0,33	0,01
5,25	0,10	1,20	1,10	0,28	0,01
5,5	0,10	1,10	1,00	0,25	0,01
5,75	0,10	1,00	0,90	0,22	0,01
6	0,10	0,80	0,70	0,17	0,01
6,25	0,10	0,70	0,60	0,15	0,01
6,5	0,00	0,50	0,50	0,12	0,01
6,75	0,01	0,40	0,39	0,10	0,01
7	0,02	0,20	0,18	0,05	0,01
7,25	0,03	0,05	0,03	0,01	0,01
7,5	0,03	0,03	0,00	0,00	0,025
7,75	0,04	0,08	-0,03	-0,02	0,025
8	0,05	0,13	-0,08	-0,05	0,025
8,25	0,06	0,19	-0,13	-0,08	0,025
8,5	0,06	0,20	-0,14	-0,08	0,025
8,75	0,07	0,20	-0,13	-0,08	0,025
9	0,08	0,30	-0,22	-0,14	0,025
9,25	0,09	0,30	-0,21	-0,13	0,025
9,5	0,09	0,40	-0,31	-0,19	0,025
9,75	0,10	0,50	-0,40	-0,25	0,025
10	0,20	0,70	-0,50	-0,31	0,025
10,25	0,40	0,90	-0,50	-0,31	0,025
10,5	0,80	1,30	-0,50	-0,31	0,025
10,75	1,50	1,80	-0,30	-0,19	0,025
11	2,60	2,90	-0,30	-0,19	0,025
11,25	5,00	4,60	0,40	0,25	0,025
Концентрация хлорида калия 10^{-1} моль/л					
3,25	1,30	5,80	4,50	1,12	0,01
3,5	0,70	4,60	3,90	0,97	0,01

<i>Продолжение таблицы А10</i>					
1	2	3	4	5	6
3,75	0,40	3,60	3,20	0,80	0,01
4	0,30	2,60	2,30	0,57	0,01
4,25	0,10	2,20	2,10	0,52	0,01
4,5	0,10	1,80	1,70	0,42	0,01
4,75	0,10	1,70	1,60	0,40	0,01
5	0,10	1,50	1,40	0,35	0,01
5,25	0,10	1,30	1,20	0,30	0,01
5,5	0,10	1,10	1,00	0,25	0,01
5,75	0,10	1,00	0,90	0,22	0,01
6	0,10	0,80	0,70	0,17	0,01
6,25	0,10	0,70	0,60	0,15	0,01
6,5	0,00	0,50	0,50	0,12	0,01
6,75	0,01	0,40	0,39	0,10	0,01
7	0,02	0,15	0,13	0,03	0,01
7,25	0,03	0,08	0,05	0,03	0,025
7,5	0,03	0,03	-0,01	-0,01	0,025
7,75	0,04	0,07	0,02	0,02	0,025
8	0,05	0,11	-0,06	-0,04	0,025
8,25	0,06	0,14	-0,09	-0,05	0,025
8,5	0,07	0,19	-0,12	-0,08	0,025
8,75	0,07	0,22	-0,14	-0,09	0,025
9	0,08	0,26	-0,17	-0,11	0,025
9,25	0,09	0,29	-0,20	-0,13	0,025
9,5	0,10	0,33	-0,23	-0,15	0,025
9,75	0,10	0,40	-0,30	-0,19	0,025
10	0,20	0,50	-0,30	-0,19	0,025
10,25	0,40	0,70	-0,30	-0,19	0,025
10,5	0,60	1,00	-0,40	-0,25	0,025
10,75	1,00	1,50	-0,50	-0,31	0,025
11	2,60	2,20	0,40	0,25	0,025
11,25	4,00	4,40	-0,40	-0,25	0,025
Концентрация хлорида калия 1 моль/л					
3,25	1,60	6,40	4,80	1,20	0,01
3,5	0,90	5,40	4,50	1,13	0,01
3,75	0,60	4,60	4,00	1,00	0,01
4	0,40	3,80	3,40	0,85	0,01
4,25	0,30	3,00	2,70	0,68	0,01
4,5	0,20	2,60	2,40	0,60	0,01
4,75	0,20	2,20	2,00	0,50	0,01
5	0,10	1,70	1,60	0,40	0,01
5,25	0,10	1,50	1,40	0,35	0,01

Продолжение таблицы А10

1	2	3	4	5	6
5,5	0,10	1,30	1,20	0,30	0,01
5,75	0,10	1,10	1,00	0,25	0,01
6	0,10	0,90	0,80	0,20	0,01
6,25	0,10	0,70	0,60	0,15	0,01
6,5	0,00	0,50	0,50	0,12	0,01
6,75	0,01	0,40	0,39	0,10	0,01
7	0,02	0,20	0,18	0,05	0,01
7,25	0,03	0,00	-0,03	-0,02	0,025
7,5	0,03	0,05	-0,02	-0,01	0,025
7,75	0,04	0,10	-0,06	-0,04	0,025
8	0,05	0,10	-0,05	-0,03	0,025
8,25	0,06	0,20	-0,14	-0,09	0,025
8,5	0,07	0,20	-0,13	-0,08	0,025
8,75	0,07	0,20	-0,13	-0,08	0,025
9	0,08	0,30	-0,22	-0,14	0,025
9,25	0,09	0,40	-0,31	-0,19	0,025
9,5	0,10	0,50	-0,40	-0,25	0,025
9,75	0,10	0,60	-0,50	-0,31	0,025
10	0,20	0,80	-0,60	-0,38	0,025
10,25	0,35	1,10	-0,75	-0,47	0,025
10,5	0,60	1,40	-0,80	-0,50	0,025
10,75	1,00	2,00	-1,00	-0,63	0,025
11	1,70	2,80	-1,10	-0,69	0,025
11,25	3,20	4,60	-1,40	-0,88	0,025

Таблица А11

Адсорбция протонов и гидроксид-ионов на гемоглобине в присутствии карбоната калия различных концентраций.

рН	Объем КОН/НСl, пошедший на титрование фонового раствора V ₀ , мл	Объем КОН (НСl), пошедший на титрование водной дисперсии V ₁ , мл	Разность объемов V ₁ - V ₀ , мл	Избыток сорбированных ионов dx/m, мол/г	Концентрация КОН/НСl, используемых для титрования с, моль/л
1	2	3	4	5	6
Концентрация карбоната калия 5 · 10 ⁻⁴ моль/л					
3,25	3,20	6,80	3,60	0,90	0,01

<i>Продолжение таблицы А11</i>					
1	2	3	4	5	6
3,5	2,40	5,20	2,80	0,70	0,01
3,75	2,00	4,00	2,00	0,50	0,01
4	1,80	3,80	2,00	0,50	0,01
4,25	1,70	3,30	1,60	0,40	0,01
4,5	1,60	3,10	1,50	0,38	0,01
4,75	1,60	2,90	1,30	0,33	0,01
5	1,50	2,70	1,20	0,30	0,01
5,25	1,50	2,60	1,10	0,28	0,01
5,5	1,40	2,30	0,90	0,23	0,01
5,75	1,30	2,00	0,70	0,18	0,01
6	1,10	1,70	0,60	0,15	0,01
6,25	0,80	1,30	0,50	0,13	0,01
6,5	0,60	0,90	0,30	0,08	0,01
6,75	0,40	0,60	0,20	0,05	0,01
7	0,30	0,40	0,10	0,03	0,01
7,25	0,18	0,20	0,02	0,00	0,01
7,5	0,04	0,10	0,06	0,02	0,01
7,75	0,02	0,01	-0,01	-0,01	0,025
8	0,02	0,04	-0,02	-0,02	0,025
8,25	0,04	0,08	-0,04	-0,02	0,025
8,5	0,06	0,10	-0,04	-0,03	0,025
8,75	0,08	0,10	-0,02	-0,01	0,025
9	0,10	0,20	-0,10	-0,06	0,025
9,25	0,10	0,30	-0,20	-0,13	0,025
9,5	0,20	0,50	-0,30	-0,19	0,025
9,75	0,30	0,70	-0,40	-0,25	0,025
10	0,50	1,00	-0,50	-0,31	0,025
10,25	0,80	1,40	-0,60	-0,38	0,025
10,5	1,10	2,20	-1,10	-0,69	0,025
10,75	1,70	3,00	-1,30	-0,81	0,025
11	2,80	4,00	-1,20	-0,75	0,025
11,25	5,00	6,60	-1,60	-1,00	0,025
Концентрация карбоната калия 10^{-3} моль/л					
3,25	4,20	8,00	3,80	0,95	0,01
3,5	3,60	6,40	2,80	0,70	0,01
3,75	3,10	5,60	2,50	0,63	0,01
4	2,90	5,00	2,10	0,53	0,01
4,25	2,80	4,60	1,80	0,45	0,01
4,5	2,80	4,40	1,60	0,40	0,01
4,75	2,70	4,20	1,50	0,38	0,01
5	2,60	4,00	1,40	0,35	0,01

<i>Продолжение таблицы А11</i>					
1	2	3	4	5	6
5,25	2,50	3,80	1,30	0,33	0,01
5,5	2,40	3,50	1,10	0,28	0,01
5,75	2,20	3,20	1,00	0,25	0,01
6	1,80	2,80	1,00	0,25	0,01
6,25	1,50	2,30	0,80	0,20	0,01
6,5	1,10	1,70	0,60	0,15	0,01
6,75	0,70	1,30	0,60	0,15	0,01
7	0,50	1,00	0,50	0,13	0,01
7,25	0,30	0,70	0,40	0,10	0,01
7,5	0,20	0,30	0,10	0,03	0,01
7,75	0,10	0,20	0,10	0,03	0,01
8	0,10	0,10	0,00	0,00	0,01
8,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,025
8,5	0,02	0,10	-0,08	-0,05	0,025
8,75	0,05	0,10	-0,05	-0,03	0,025
9	0,08	0,20	-0,12	-0,08	0,025
9,25	0,10	0,30	-0,20	-0,13	0,025
9,5	0,20	0,50	-0,30	-0,19	0,025
9,75	0,40	0,70	-0,30	-0,19	0,025
10	0,70	1,00	-0,30	-0,19	0,025
10,25	1,00	1,40	-0,40	-0,25	0,025
10,5	1,50	2,20	-0,70	-0,44	0,025
10,75	2,00	3,00	-1,00	-0,63	0,025
11	3,20	4,00	-0,80	-0,50	0,025
11,25	5,40	6,70	-1,30	-0,81	0,025

Таблица А12

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии гемоглобина с массовой концентрацией 0,1 г/50 мл в водном растворе хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Водный раствор хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л (фон)				Водный раствор хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л с гемоглобином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,52	0	6,55	0	7,55	0	7,55
0,1	9,61	-0,1	4,78	0,1	8,11	-0,1	7,1
0,2	9,71	-0,2	4,17	0,2	8,8	-0,2	6,96
0,3	10,01	-0,3	3,98	0,3	9,21	-0,3	6,71

Продолжение таблицы А12

1	2	3	4	5	6	7	8
0,4	10,22	-0,4	3,83	0,4	9,59	-0,4	6,52
0,5	10,35	-0,5	3,74	0,5	9,87	-0,5	6,34
0,6	10,44	-0,6	3,66	0,6	10,04	-0,6	6,13
0,7	10,5	-0,7	3,59	0,7	10,19	-0,7	5,91
0,8	10,56	-0,8	3,54	0,8	10,28	-0,8	5,72
0,9	10,62	-0,9	3,48	0,9	10,38	-0,9	5,49
1	10,66	-1	3,44	1	10,48	-1	5,26
1,1	10,71	-1,1	3,39	1,1	10,49	-1,1	5,05
1,2	10,74	-1,2	3,36	1,2	10,51	-1,2	4,81
1,3	10,78	-1,3	3,33	1,3	10,52	-1,3	4,66
1,4	10,8	-1,4	3,3	1,4	10,56	-1,4	4,5
1,5	10,83	-1,5	3,27	1,5	10,63	-1,5	4,36
1,6	10,84	-1,6	3,24	1,6	10,66	-1,6	4,24
1,7	10,86	-1,7	3,22	1,7	10,69	-1,7	4,2
1,8	10,87	-1,8	3,19	1,8	10,73	-1,8	4,16
1,9	10,89	-1,9	3,17	1,9	10,76	-1,9	4,06
2	10,9	-2	3,16	2	10,78	-2	3,99
2,1	10,92	-2,1	3,14	2,1	10,81	-2,1	3,91
2,2	10,93	-2,2	3,12	2,2	10,83	-2,2	3,85
2,3	10,95	-2,3	3,1	2,3	10,88	-2,3	3,8
2,4	10,97	-2,4	3,08	2,4	10,89	-2,4	3,75
2,5	10,99	-2,5	3,07	2,5	10,91	-2,5	3,72
2,6	11,01	-2,6	3,05	2,6	10,92	-2,6	3,67
2,7	11,02	-2,7	3,04	2,7	10,95	-2,7	3,62
2,8	11,03	-2,8	3,02	2,8	10,97	-2,8	3,59
2,9	11,05	-2,9	3,01	2,9	10,98	-2,9	3,56
3	11,06	-3	3	3	10,99	-3	3,54
3,1	11,08	-3,2	2,97	3,1	11,01	-3,1	3,51
3,2	11,09	-3,4	2,95	3,2	11,02	-3,2	3,49
3,3	11,1	-3,6	2,93	3,3	11,03	-3,3	3,46
3,4	11,11	-3,8	2,91	3,4	11,07	-3,4	3,44
3,6	11,14	-4	2,9	3,5	11,07	-3,5	3,41
3,8	11,16	-4,2	2,88	3,6	11,09	-3,6	3,4
4	11,19	-4,4	2,86	3,7	11,11	-3,7	3,38
4,2	11,21	-4,6	2,84	3,8	11,1	-3,8	3,37
4,4	11,23	-4,8	2,83	3,9	11,12	-3,9	3,35
4,6	11,26	-5	2,81	4	11,13	-4	3,34
4,8	11,27	-5,2	2,8	4,2	11,15	-4,2	3,31
5	11,29	-5,4	2,78	4,4	11,18	-4,4	3,28
5,2	11,31	-5,6	2,76	4,6	11,19	-4,6	3,25
5,4	11,33	-5,8	2,75	4,8	11,21	-4,8	3,22

Продолжение таблицы А12

1	2	3	4	5	6	7	8
5,6	11,33	-6	2,74	5	11,22	-5	3,19
5,8	11,34	-6,2	2,73	5,2	11,25	-5,2	3,17
6	11,37	-6,4	2,72	5,4	11,28	-5,4	3,16
6,2	11,4	-6,6	2,71	5,6	11,29	-5,6	3,12
6,4	11,41	-6,8	2,7	5,8	11,3	-5,8	3,11
6,6	11,43	-7	2,69	6	11,32	-6	3,08
6,8	11,43	-7,2	2,68	6,2	11,33	-6,2	3,05
7	11,45	-7,4	2,67	6,4	11,35	-6,4	3,03
7,2	11,47	-7,6	2,66	6,6	11,36	-6,6	3,01
7,4	11,47	-7,8	2,66	6,8	11,37	-6,8	3,01
7,6	11,49	-8	2,65	7	11,38	-7	3

Таблица А13

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии гемоглобина (0,1 г/50 мл) в водном растворе хлорида калия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

Водный раствор хлорида калия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л				Водный раствор хлорида калия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л с гемоглобином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,4	0	6,27	0	7,29	0	7,34
0,1	9,67	-0,1	4,53	0,1	7,9	-0,1	7,15
0,2	9,94	-0,2	4,05	0,2	8,29	-0,2	6,98
0,3	10,11	-0,3	3,82	0,3	8,89	-0,3	6,82
0,4	10,21	-0,4	3,74	0,4	9,36	-0,4	6,63
0,5	10,31	-0,5	3,64	0,5	9,63	-0,5	6,46
0,6	10,38	-0,6	3,57	0,6	9,84	-0,6	6,29
0,7	10,44	-0,7	3,5	0,7	10	-0,7	6,13
0,8	10,49	-0,8	3,43	0,8	10,13	-0,8	5,96
0,9	10,54	-0,9	3,39	0,9	10,2	-0,9	5,76
1	10,59	-1	3,33	1	10,31	-1	5,59
1,1	10,59	-1,1	3,3	1,1	10,38	-1,1	5,41
1,2	10,63	-1,2	3,27	1,2	10,44	-1,2	5,18
1,3	10,69	-1,3	3,23	1,3	10,5	-1,3	5,01
1,4	10,7	-1,4	3,2	1,4	10,55	-1,4	4,83

Продолжение таблицы А13

1	2	3	4	5	6	7	8
1,5	10,73	-1,5	3,17	1,5	10,6	-1,5	4,69
1,6	10,77	-1,6	3,15	1,6	10,64	-1,6	4,53
1,7	10,79	-1,7	3,13	1,7	10,68	-1,7	4,42
1,8	10,81	-1,8	3,1	1,8	10,72	-1,8	4,31
1,9	10,85	-1,9	3,08	1,9	10,76	-1,9	4,22
2	10,86	-2	3,06	2	10,78	-2	4,14
2,2	10,9	-2,2	3,03	2,1	10,81	-2,1	4,06
2,4	10,94	-2,4	3	2,2	10,84	-2,2	4,01
2,6	10,95	-2,6	2,97	2,3	10,86	-2,3	3,96
2,8	11,01	-2,8	2,94	2,4	10,89	-2,4	3,91
3	11,02	-3	2,92	2,5	10,92	-2,5	3,87
3,2	11,04	-3,2	2,9	2,6	10,94	-2,6	3,84
3,4	11,07	-3,4	2,87	2,7	10,95	-2,7	3,79
3,6	11,1	-3,6	2,85	2,8	10,97	-2,8	3,76
3,8	11,12	-3,8	2,83	2,9	11	-2,9	3,73
4	11,14	-4	2,81	3	11,02	-3	3,7
4,2	11,19	-4,2	2,8	3,2	11,05	-3,2	3,63
4,4	11,21	-4,4	2,78	3,4	11,08	-3,4	3,58
4,6	11,22	-4,6	2,76	3,6	11,11	-3,6	3,53
4,8	11,22	-4,8	2,75	3,8	11,14	-3,8	3,48
5	11,24	-5	2,73	4	11,17	-4	3,44
5,2	11,26	-5,2	2,72	4,2	11,19	-4,2	3,41
5,4	11,27	-5,4	2,71	4,4	11,21	-4,4	3,37
5,6	11,28	-5,6	2,69	4,6	11,24	-4,6	3,34
5,8	11,29	-5,8	2,68	4,8	11,26	-4,8	3,31
6	11,29	-6	2,67	5	11,29	-5	3,28
6,2	11,3	-6,2	2,66	5,2	11,3	-5,2	3,27
6,4	11,3	-6,4	2,65	5,4	11,31	-5,4	3,25
6,6	11,31	-6,6	2,64	5,6	11,32	-5,6	3,22
6,8	11,32	-6,8	2,63	5,8	11,34	-5,8	3,19
7	11,33	-7	2,62	6	11,35	-6	3,16
7,2	11,34	-7,2	2,61	6,2	11,37	-6,2	3,14
7,4	11,36	-7,4	2,6	6,4	11,38	-6,4	3,11
7,6	11,35	-7,6	2,59	6,6	11,39	-6,6	3,09
7,8	11,37	-7,8	2,58	6,8	11,41	-6,8	3,07
8	11,38	-8	2,58	7	11,43	-7	3,05

Таблица А14

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии гемоглобина (0,1 г/50 мл) мл в водном растворе хлорида калия 0,1 моль/л.

Водный раствор хлорида калия 0,1 моль/л				Водный раствор хлорида калия 10^{-1} моль/л с гемоглобином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,4	0	6,31	0	7,34	0	7,29
0,1	9,62	-0,1	4,14	0,1	7,96	-0,1	7,13
0,2	10	-0,2	4,05	0,2	8,63	-0,2	6,95
0,3	10,17	-0,3	3,89	0,3	9,51	-0,3	6,8
0,4	10,25	-0,4	3,74	0,4	9,7	-0,4	6,66
0,5	10,37	-0,5	3,65	0,5	9,89	-0,5	6,47
0,6	10,44	-0,6	3,56	0,6	10,04	-0,6	6,31
0,7	10,51	-0,7	3,49	0,7	10,18	-0,7	6,13
0,8	10,58	-0,8	3,43	0,8	10,29	-0,8	5,98
0,9	10,63	-0,9	3,38	0,9	10,38	-0,9	5,83
1	10,67	-1	3,33	1	10,44	-1	5,65
1,1	10,77	-1,1	3,29	1,1	10,52	-1,1	5,47
1,2	10,78	-1,2	3,26	1,2	10,58	-1,2	5,3
1,3	10,82	-1,3	3,22	1,3	10,65	-1,3	5,13
1,4	10,84	-1,4	3,19	1,4	10,69	-1,4	5,04
1,5	10,85	-1,5	3,16	1,5	10,74	-1,5	4,94
1,6	10,86	-1,6	3,13	1,6	10,8	-1,6	4,8
1,7	10,87	-1,7	3,1	1,7	10,83	-1,7	4,67
1,8	10,88	-1,8	3,08	1,8	10,85	-1,8	4,58
2	10,89	-1,9	3,06	1,9	10,88	-1,9	4,5
2,2	10,91	-2	3,03	2	10,9	-2	4,42
2,4	10,94	-2,2	2,99	2,2	11,01	-2,2	4,32
2,6	10,97	-2,4	2,96	2,4	11,05	-2,4	4,15
2,8	11,02	-2,6	2,93	2,6	11,06	-2,6	4,08
3	11,06	-2,8	2,89	2,8	11,1	-2,8	3,99
3,2	11,09	-3	2,86	3	11,1	-3	3,93
3,4	11,13	-3,2	2,83	3,2	11,11	-3,2	3,86
3,6	11,16	-3,4	2,81	3,4	11,13	-3,4	3,81
3,8	11,22	-3,6	2,79	3,6	11,16	-3,6	3,77
4	11,24	-3,8	2,76	3,8	11,18	-3,8	3,71

Продолжение таблицы А14

1	2	3	4	5	6	7	8
4,2	11,28	-4	2,74	4	11,2	-4	3,67
4,4	11,31	-4,2	2,73	4,2	11,23	-4,2	3,62
4,6	11,32	-4,4	2,71	4,4	11,25	-4,4	3,57
4,8	11,34	-4,6	2,7	4,6	11,28	-4,6	3,53
5	11,36	-4,8	2,68	4,8	11,29	-4,8	3,48
5,2	11,4	-5	2,67	5	11,3	-5	3,44
5,4	11,43	-5,2	2,65	5,2	11,32	-5,2	3,4
5,6	11,46	-5,4	2,64	5,4	11,34	-5,4	3,36
5,8	11,49	-5,6	2,63	5,6	11,35	-5,6	3,31
6	11,5	-5,8	2,62	5,8	11,36	-5,8	3,28
6,2	11,51	-6	2,61	6	11,37	-6	3,25
6,4	11,52	-6,2	2,59	6,2	11,4	-6,2	3,22
6,6	11,54	-6,4	2,58	6,4	11,4	-6,4	3,19
6,8	11,55	-6,6	2,57	6,6	11,41	-6,6	3,16
7	11,58	-6,8	2,56	6,8	11,42	-6,8	3,13
7,2	11,59	-7	2,56	7	11,44	-7	3,1
7,4	11,6	-7,2	2,55	7,2	11,44	-7,2	3,08
7,6	11,62	-7,4	2,53	7,4	11,45	-7,4	3,06
7,8	11,64	-7,6	2,53	7,6	11,46	-7,6	3,04
8	11,67	-7,8	2,52	7,8	11,47	-7,8	3,02

Таблица А15

Исходные данные потенциометрического титрования 20 мл водной дисперсии гемоглобина (0,1 г/50 мл) в водном растворе хлорида калия 1,0 моль/л.

Водный раствор хлорида калия 1 моль/л				Водный раствор хлорида калия 1,0 моль/л с гемоглобином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
Vт, мл	pH	Vт, мл	pH	Vт, мл	pH	Vт, мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,44	0	6,49	0	7,3	0	7,22
0,1	9,55	-0,1	4,98	0,1	7,68	-0,1	7,05
0,2	9,97	-0,2	4,45	0,2	8,16	-0,2	6,92
0,3	10,17	-0,3	4,12	0,3	8,8	-0,3	6,77
0,4	10,3	-0,4	3,92	0,4	9,16	-0,4	6,62
0,5	10,4	-0,5	3,82	0,5	9,5	-0,5	6,47
0,6	10,49	-0,6	3,7	0,6	9,71	-0,6	6,33
0,7	10,57	-0,7	3,61	0,7	9,85	-0,7	6,22
0,8	10,63	-0,8	3,54	0,8	9,94	-0,8	6,06

Продолжение таблицы А15

1	2	3	4	5	6	7	8
0,9	10,69	-0,9	3,48	0,9	10,06	-0,9	5,94
1	10,74	-1	3,44	1	10,16	-1	5,8
1,1	10,79	-1,1	3,4	1,1	10,24	-1,1	5,65
1,2	10,83	-1,2	3,34	1,2	10,37	-1,2	5,51
1,3	10,86	-1,3	3,31	1,3	10,39	-1,3	5,42
1,4	10,89	-1,4	3,28	1,4	10,45	-1,4	5,28
1,5	10,92	-1,5	3,26	1,5	10,51	-1,5	5,21
1,6	10,95	-1,6	3,23	1,6	10,56	-1,6	5,09
1,7	10,98	-1,7	3,2	1,7	10,61	-1,7	5
1,8	11,01	-1,8	3,18	1,8	10,66	-1,8	4,9
2	11,03	-1,9	3,15	1,9	10,7	-1,9	4,83
2,2	11,05	-2	3,13	2	10,74	-2	4,77
2,4	11,09	-2,2	3,09	2,2	10,8	-2,2	4,62
2,6	11,12	-2,4	3,05	2,4	10,86	-2,4	4,54
2,8	11,16	-2,6	3,03	2,6	10,92	-2,6	4,4
3	11,18	-2,8	3	2,8	10,96	-2,8	4,29
3,2	11,21	-3	2,96	3	11,01	-3	4,23
3,4	11,26	-3,2	2,94	3,2	11,05	-3,2	4,16
3,6	11,28	-3,4	2,92	3,4	11,08	-3,4	4,1
3,8	11,3	-3,6	2,89	3,6	11,12	-3,6	4,02
4	11,32	-3,8	2,87	3,8	11,15	-3,8	3,97
4,2	11,34	-4	2,84	4	11,17	-4	3,9
4,4	11,35	-4,2	2,81	4,2	11,2	-4,2	3,84
4,6	11,37	-4,4	2,78	4,4	11,22	-4,4	3,77
4,8	11,38	-4,6	2,77	4,6	11,25	-4,6	3,69
5	11,39	-4,8	2,75	4,8	11,27	-4,8	3,63
5,2	11,41	-5	2,74	5	11,29	-5	3,58
5,4	11,42	-5,2	2,73	5,2	11,31	-5,2	3,52
5,6	11,43	-5,4	2,71	5,4	11,33	-5,4	3,46
5,8	11,44	-5,6	2,7	5,6	11,34	-5,6	3,42
6	11,45	-5,8	2,69	5,8	11,36	-5,8	3,36
6,2	11,47	-6	2,68	6	11,38	-6	3,33
6,4	11,47	-6,2	2,67	6,2	11,39	-6,2	3,28
6,6	11,48	-6,4	2,66	6,4	11,4	-6,4	3,24
6,8	11,49	-6,6	2,65	6,6	11,42	-6,6	3,21
7	11,5	-6,8	2,64	6,8	11,43	-6,8	3,17
7,2	11,5	-7	2,63	7	11,44	-7	3,14
7,4	11,51	-7,2	2,63	7,2	11,45	-7,2	3,12
7,6	11,52	-7,4	2,62	7,4	11,46	-7,4	3,09
7,8	11,53	-7,6	2,61	7,6	11,47	-7,6	3,05

Таблица А16

Исходные данные потенциометрического титрования 20 мл водной дисперсии гемоглобина с массовой концентрацией 0,1 г/50 мл в водном растворе карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Водный раствор карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л				Водный раствор карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л с гемоглобином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	8,32	0	8,26	0	8,05	0	8,08
0,1	9,17	-0,1	7,63	0,1	8,42	-0,1	7,9
0,2	9,44	-0,2	7,38	0,2	8,84	-0,2	7,72
0,3	9,59	-0,3	7,17	0,3	9,07	-0,3	7,47
0,4	9,68	-0,4	7,02	0,4	9,29	-0,4	7,38
0,5	9,81	-0,5	6,95	0,5	9,44	-0,5	7,34
0,6	9,92	-0,6	6,85	0,6	9,58	-0,6	7,29
0,7	9,99	-0,7	6,75	0,7	9,68	-0,7	7,16
0,8	10,08	-0,8	6,68	0,8	9,78	-0,8	7,1
0,9	10,14	-0,9	6,6	0,9	9,88	-0,9	7,02
1	10,19	-1	6,52	1	9,94	-1	6,94
1,1	10,28	-1,1	6,48	1,1	10,04	-1,1	6,88
1,2	10,34	-1,2	6,41	1,2	10,1	-1,2	6,8
1,3	10,43	-1,3	6,34	1,3	10,17	-1,3	6,73
1,4	10,45	-1,4	6,29	1,4	10,23	-1,4	6,68
1,5	10,48	-1,5	6,22	1,5	10,26	-1,5	6,6
1,6	10,52	-1,6	6,16	1,6	10,3	-1,6	6,55
1,7	10,59	-1,7	6,08	1,7	10,34	-1,7	6,5
1,8	10,62	-1,8	6	1,8	10,38	-1,8	6,43
1,9	10,65	-1,9	5,95	1,9	10,42	-1,9	6,39
2	10,71	-2	5,87	2	10,44	-2	6,37
2,2	10,77	-2,1	5,79	2,2	10,49	-2,1	6,34
2,4	10,84	-2,2	5,71	2,4	10,53	-2,2	6,3
2,6	10,89	-2,3	5,58	2,6	10,62	-2,3	6,25
2,8	10,91	-2,4	5,43	2,8	10,7	-2,4	6,19
3	10,96	-2,5	5,23	3	10,75	-2,5	6,14
3,2	10,98	-2,6	4,97	3,2	10,78	-2,6	6,1
3,4	11,01	-2,7	4,55	3,4	10,8	-2,7	6,03
3,6	11,05	-2,8	4,19	3,6	10,85	-2,8	5,99
3,8	11,08	-2,9	3,98	3,8	10,94	-2,9	5,9
4	11,11	-3	3,84	4	10,97	-3	5,85

Таблица А17

Исходные данные потенциометрического титрования 20 мл водной дисперсии гемоглобина с массовой концентрацией 0,1 г/50 мл в водном растворе карбоната калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Водный раствор карбоната калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л				Водный раствор карбоната калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л с гемоглобином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _т , мл	pH	V _т , мл	pH	V _т , мл	pH	V _т , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	7,78	0	7,86	0	7,69	0	7,69
0,1	9,02	-0,1	7,3	0,1	8,42	-0,1	7,38
0,2	9,4	-0,2	7,05	0,2	8,84	-0,2	7,19
0,3	9,62	-0,3	6,89	0,3	9,07	-0,3	7,06
0,4	9,76	-0,4	6,66	0,4	9,29	-0,4	6,94
0,5	9,92	-0,5	6,55	0,5	9,44	-0,5	6,84
0,6	10,02	-0,6	6,4	0,6	9,58	-0,6	6,73
0,7	10,13	-0,7	6,34	0,7	9,68	-0,7	6,64
0,8	10,23	-0,8	6,24	0,8	9,78	-0,8	6,57
0,9	10,33	-0,9	6,14	0,9	9,88	-0,9	6,5
1	10,41	-1	6,03	1	9,94	-1	6,43
1,1	10,46	-1,1	5,89	1,1	10,04	-1,1	6,34
1,2	10,51	-1,2	5,76	1,2	10,1	-1,2	6,29
1,3	10,57	-1,3	5,58	1,3	10,17	-1,3	6,22
1,4	10,62	-1,4	5,29	1,4	10,23	-1,4	6,17
1,5	10,66	-1,5	4,9	1,5	10,26	-1,5	6,13
1,6	10,69	-1,6	4,36	1,6	10,3	-1,6	6,05
1,7	10,74	-1,7	4,1	1,7	10,34	-1,7	5,98
1,8	10,76	-1,8	3,9	1,8	10,38	-1,8	5,9
1,9	10,79	-1,9	3,81	1,9	10,42	-1,9	5,83
2	10,81	-2	3,72	2	10,44	-2	5,75
2,2	10,85	-2,1	3,64	2,2	10,49	-2,1	5,67
2,4	10,92	-2,2	3,59	2,4	10,53	-2,2	5,58
2,6	10,96	-2,3	3,52	2,6	10,62	-2,3	5,47
2,8	10,99	-2,4	3,46	2,8	10,7	-2,4	5,34
3	11,02	-2,6	3,4	3	10,75	-2,5	5,28
3,2	11,05	-2,8	3,35	3,2	10,78	-2,6	5,09
3,4	11,08	-3	3,27	3,4	10,8	-2,7	4,93
3,6	11,11	-3,2	3,21	3,6	10,85	-2,8	4,77
3,8	11,12	-3,4	3,16	3,8	10,94	-2,9	4,63
4	11,14	-3,6	3,14	4	10,97	-3	4,51

Продолжение таблицы А17

1	2	3	4	5	6	7	8
4,2	11,17	-3,8	3,11	4,2	11,01	-3,1	4,38
4,4	11,18	-4	3,07	4,4	11,03	-3,2	4,28
4,6	11,2	-4,2	3,05	4,6	11,05	-3,3	4,2
4,8	11,22	-4,4	3,02	4,8	11,08	-3,4	4,12
5	11,25	-4,6	3	5	11,11	-3,6	4,01
5,2	11,26	-4,8	2,97	5,2	11,14	-3,8	3,86
5,4	11,27	-5	2,94	5,4	11,16	-4	3,74
5,6	11,28	-5,2	2,95	5,6	11,18	-4,2	3,71
5,8	11,3	-5,4	2,92	5,8	11,19	-4,4	3,65
6	11,3	-5,6	2,89	6	11,19	-4,6	3,59
6,2	11,32	-5,8	2,87	6,2	11,21	-4,8	3,53
6,4	11,34	-6	2,85	6,4	11,22	-5	3,51
6,6	11,36	-6,2	2,84	6,6	11,24	-5,2	3,48
6,8	11,37	-6,4	2,82	6,8	11,26	-5,4	3,43
7	11,38	-6,6	2,8	7	11,29	-5,6	3,4
7,2	11,38	-6,8	2,79	7,2	11,33	-5,8	3,37
7,4	11,39	-7	2,78	7,4	11,34	-6	3,34
7,6	11,39	-7,2	2,78	7,6	11,36	-6,2	3,3
7,8	11,4	-7,4	2,76	7,8	11,38	-6,4	3,28
8	11,4	-7,6	2,75	8		-6,6	3,26

Таблица А18

Исходные данные кондуктометрического титрования 50 мл водной дисперсии гемоглобина с массовой концентрацией 0,1 г/50 мл.

Титрование HCl $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л		Титрование КОН $2,35 \cdot 10^{-2}$ моль/л		Титрование HCl $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л		Титрование КОН $3,25 \cdot 10^{-2}$ моль/л	
Объем титранта V _т , мл	Удельная электропроводность κ , мкСм/см	Объем титранта V _т , мл	Удельная электропроводность κ , мкСм/см	Объем титранта V _т , мл	Удельная электропроводность κ , мкСм/см	Объем титранта V _т , мл	Удельная электропроводность κ , мкСм/см
1	2	3	4	5	6	7	8
0	77,8	0	80	0	88,2	0	91,2
0,1	80,3	0,1	85,7	0,1	95,6	0,1	100,4
0,2	82,3	0,2	90	0,2	102,4	0,2	109,7
0,3	83,6	0,3	93	0,3	109,5	0,3	118,2
0,4	84,9	0,4	98,1	0,4	116,6	0,4	128,1
0,5	86,2	0,5	103,5	0,5	127	0,5	140
0,6	87,4	0,6	106,8	0,6	135,8	0,6	155
0,7	88,5	0,7	112,6	0,7	147,5	0,7	168,2

<i>Продолжение таблицы А17</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8
0,8	90	0,8	116,2	0,8	163,9	0,8	180,5
0,9	91,4	0,9	121,6	0,9	180,8	0,9	195
1	92,5	1	127,1	1	204	1	213
1,1	93,4	1,1	132,3	1,1	225	1,1	228
1,2	95,6	1,2	138	1,2	249	1,2	251
1,3	97	1,3	144,4	1,3	278	1,3	268
1,4	98	1,4	151,5	1,4	297	1,4	286
1,5	99,2	1,5	158,4	1,5	319	1,5	306
1,6	100,3	1,6	165,8	1,6	349	1,6	323
1,7	101,7	1,7	172,7	1,7	371	1,7	338
1,8	103,3	1,8	179,1	1,8	391	1,8	358
1,9	104,5	1,9	185,9	1,9	425	1,9	379
2	105,9	2	192,1	2	444	2	397
2,1	107,8	2,1	198,6	2,1	469	2,1	417
2,2	109,4	2,2	205,9	2,2	500	2,2	437
2,3	111,3	2,3	209,4	2,3	531	2,3	455
2,4	112,9	2,4	218,4	2,4	551	2,4	476
2,5	115	2,5	225,3	2,5	581	2,5	493
2,6	116,8	2,6	232	2,6	606	2,6	510
2,7	119,5	2,7	239,3	2,7	637	2,7	531
2,8	121,2	2,8	245,7	2,8	666	2,8	550
2,9	123,5	2,9	252,2	2,9	692	2,9	567
3	126,1	3	260	3	723	3	588
3,1	128,8	3,1	267,3	3,1	753	3,1	606
3,2	131,9	3,2	272,7	3,2	783	3,2	626
3,3	135,5	3,3	279,5	3,3	815	3,3	641
3,4	137,9	3,4	287	3,4	843	3,4	656
3,5	141,1	3,5	294,7	3,5	873	3,5	675
3,6	144,6	3,6	300	3,6	913	3,6	701
3,7	148,2	3,7	307	3,7	947	3,7	720
3,8	152,3	3,8	315	3,8	970	3,8	744
3,9	155,7	3,9	321	3,9	1010	3,9	757
4	159,3	4	327	4	1050	4	766
4,1	163,8	4,1	333	4,1	1083	4,1	779
4,2	167,6	4,2	340	4,2	1121	4,2	794
4,3	172,2	4,3	347	4,3	1160	4,3	812
4,4	175,4	4,4	352	4,4	1190	4,4	829
4,5	180,1	4,5	360	4,5	1222	4,5	849
4,6	185,2	4,6	366	4,6	1266	4,6	869
4,7	193,3	4,7	371	4,7	1314	4,7	887
4,8	197,2	4,8	378	4,8	1348	4,8	910

Определение константы диссоциации основных функциональных групп бычьего гемоглобина.

рН	Адсорбция x/m(H ⁺ -OH ⁻)				Степень диссоциации				$pK_{a1} = pH + \lg \frac{\alpha_+}{1 - \alpha_+} = pQ_{bas}$				$\alpha + c^{1/2}$			
					$\alpha = \frac{x}{m} \frac{(H^+ - OH^-)}{X(bas)_\infty}$											
с(KCl), МОЛЬ/Л	1	0,1	0,01	5·10 ⁻⁴	1	0,1	0,01	5·10 ⁻⁴	1	0,1	0,01	5·10 ⁻⁴	1	0,1	0,01	5·10 ⁻⁴
3,25	1,20	1,12	1,03	0,75	0,89	0,83	0,76	0,56	11,25	8,25	6,40	4,50	1,89	1,15	0,86	0,58
3,5	1,13	0,97	0,78	0,58	0,83	0,72	0,57	0,43	8,50	6,10	4,85	4,24	1,83	1,04	0,67	0,45
3,75	1,00	0,80	0,63	0,48	0,74	0,59	0,46	0,35	6,61	5,20	4,61	4,29	1,74	0,91	0,56	0,37
4	0,85	0,57	0,50	0,43	0,63	0,43	0,37	0,31	5,70	4,74	4,59	4,46	1,63	0,74	0,47	0,34
4,25	0,68	0,52	0,43	0,35	0,50	0,39	0,31	0,26	5,25	4,89	4,71	4,60	1,50	0,71	0,41	0,28
4,5	0,60	0,42	0,38	0,30	0,44	0,31	0,28	0,22	5,30	4,96	4,88	4,79	1,44	0,63	0,38	0,24
4,75	0,50	0,40	0,35	0,28	0,37	0,30	0,26	0,20	5,34	5,17	5,10	5,01	1,37	0,61	0,36	0,23
5	0,40	0,35	0,33	0,28	0,30	0,26	0,24	0,20	5,42	5,35	5,32	5,26	1,30	0,58	0,34	0,23
5,25	0,35	0,30	0,28	0,25	0,26	0,22	0,20	0,19	5,60	5,54	5,51	5,48	1,26	0,54	0,30	0,21
5,5	0,30	0,25	0,25	0,20	0,22	0,19	0,19	0,15	5,79	5,73	5,73	5,67	1,22	0,50	0,29	0,17
5,75	0,25	0,22	0,22	0,18	0,19	0,17	0,17	0,13	5,98	5,95	5,95	5,90	1,19	0,48	0,27	0,15
6	0,20	0,17	0,17	0,15	0,15	0,13	0,13	0,11	6,17	6,15	6,15	6,13	1,15	0,45	0,23	0,13
6,25	0,15	0,15	0,15	0,13	0,11	0,11	0,11	0,09	6,38	6,37	6,37	6,35	1,11	0,43	0,21	0,11
6,5	0,12	0,12	0,12	0,10	0,09	0,09	0,09	0,07	6,60	6,60	6,60	6,58	1,09	0,41	0,19	0,10
6,75	0,10	0,10	0,10	0,07	0,07	0,07	0,07	0,05	6,83	6,83	6,83	6,81	1,07	0,39	0,17	0,08
7	0,05	0,03	0,05	0,05	0,03	0,02	0,03	0,03	7,03	7,02	7,03	7,04	1,03	0,34	0,13	0,06
7,25	0,02	0,03	0,01	0,00	-0,01	0,02	0,00	0,00	7,24	7,27	7,25	7,25	0,99	0,34	0,10	0,02

Определение константы диссоциации кислотных функциональных групп бычьего гемоглобина.

рН	Адсорбция $x/m(H^+ - OH^-)$				Степень диссоциации $\alpha = \frac{x(H^+ - OH^-)}{X(ac)_\infty}$				$pK_{a2} = pH - \lg \frac{\alpha_-}{1 - \alpha_-} = pQ_{ac}$				$\alpha + c^{1/2}$			
	1	0,1	0,01	$5 \cdot 10^{-4}$	1	0,1	0,01	$5 \cdot 10^{-4}$	1	0,1	0,01	$5 \cdot 10^{-4}$	1	0,1	0,01	$5 \cdot 10^{-4}$
7,5	-0,01	-0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	-0,01	7,49	7,50	7,50	7,51	1,01	0,32	0,10	0,01
7,75	-0,04	0,02	-0,02	0,00	0,03	-0,01	0,02	0,00	7,72	7,76	7,73	7,75	1,03	0,30	0,12	0,02
8	-0,03	-0,04	-0,05	-0,02	0,02	0,03	0,04	0,02	7,97	7,97	7,96	7,98	1,02	0,34	0,14	0,04
8,25	-0,09	-0,05	-0,08	-0,04	0,07	0,04	0,07	0,03	8,17	8,21	8,18	8,22	1,07	0,36	0,17	0,05
8,5	-0,08	-0,08	-0,08	-0,06	0,07	0,06	0,07	0,05	8,43	8,44	8,43	8,45	1,07	0,38	0,17	0,07
8,75	-0,08	-0,09	-0,08	-0,08	0,06	0,07	0,06	0,06	8,68	8,67	8,68	8,69	1,06	0,39	0,16	0,08
9	-0,14	-0,11	-0,14	-0,07	0,11	0,09	0,11	0,06	8,88	8,90	8,88	8,94	1,11	0,40	0,21	0,08
9,25	-0,19	-0,13	-0,13	-0,13	0,15	0,10	0,11	0,11	9,07	9,14	9,13	9,13	1,15	0,42	0,21	0,13
9,5	-0,25	-0,15	-0,19	-0,13	0,20	0,12	0,15	0,10	9,25	9,37	9,32	9,39	1,20	0,43	0,25	0,12
9,75	-0,31	-0,19	-0,25	-0,19	0,25	0,15	0,20	0,15	9,42	9,57	9,50	9,57	1,25	0,47	0,30	0,17
10	-0,38	-0,19	-0,31	-0,25	0,30	0,15	0,25	0,20	9,57	9,82	9,67	9,75	1,30	0,47	0,35	0,22
10,25	-0,47	-0,19	-0,31	-0,25	0,38	0,15	0,25	0,20	9,65	10,07	9,92	10,00	1,38	0,47	0,35	0,22
10,5	-0,50	-0,25	-0,31	-0,31	0,40	0,20	0,25	0,25	9,83	10,25	10,17	10,17	1,40	0,52	0,35	0,27
10,75	-0,63	-0,31	-0,19	-0,44	0,50	0,25	0,15	0,35	9,75	10,42	10,57	10,21	1,50	0,57	0,25	0,37
11	-0,69	0,25	-0,19	-0,38	0,55	-0,20	0,15	0,30	9,78	11,17	10,82	10,57	1,55	0,12	0,25	0,32
11,25	-0,88	-0,25	0,25	-0,63	0,70	0,20	-0,20	0,50	8,92	11,00	11,42	10,25	1,70	0,52	-0,10	0,52

Таблица А21

Изменение оптической плотности (А) во времени (t, мин) для дисперсий лошадиного гемоглобина в растворе хлорида калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

pH = 3,8		pH = 4,27		pH = 5,36		pH = 5,86	
t,мин	А	t,мин	А	t,мин	А	t,мин	А
1	0,61	3	0,51	1	0,95	4	0,56
4	0,62	5	0,5	6	0,9	10	0,47
12	0,61	14	0,5	10	0,9	20	0,415
18	0,61	20	0,51	15	0,89	30	0,36
20	0,61	30	0,5	20	0,86	40	0,325
25	0,61	35	0,51	30	0,85	50	0,32
40	0,61	45	0,5	40	0,82	60	0,3
60	0,61	60	0,5	50	0,8	80	0,27
70	0,61	70	0,5	60	0,8	90	0,255
90	0,61	90	0,5	70	0,79	100	0,25
120	0,61	120	0,5	80	0,78	120	0,215
				90	0,78	140	0,205
pH = 6,56		pH = 6,98		pH = 7,16			
t,мин	А	t,мин	А	t,мин	А		
3	0,56	2,5	0,94	3	1,02		
13	0,52	13	0,93	10	1		
20	0,5	20	0,88	20	1		
30	0,47	30	0,88	30	1		
40	0,45	40	0,86	40	1		
50	0,44	50	0,86	50	0,99		
60	0,433	60	0,84	60	0,99		
70	0,42	80	0,84	70	0,98		
80	0,415	100	0,84	80	0,97		
265	0,36	110	0,83	90	0,96		
pH = 8,11		pH = 9,44		pH = 10,48			
t,мин	А	t,мин	А	t,мин	А		
3	0,56	3	0,48	3	0,52		
10	0,56	10	0,48	10	0,52		
20	0,56	20	0,48	20	0,51		
30	0,56	30	0,48	30	0,51		
40	0,56	40	0,475	40	0,51		
50	0,56	50	0,475	50	0,51		
60	0,56	60	0,475	60	0,51		
70	0,56	70	0,475	70	0,51		
90	0,56	90	0,475	90	0,51		
120	0,56	120	0,475	120	0,51		

Таблица А22

Изменение оптической плотности (А) во времени (t, мин) для дисперсий лошадиного гемоглобина в растворе хлорида калия $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

pH = 3,67		pH = 4,38		pH = 5,25		pH = 5,74	
t,мин	А	t,мин	А	t,мин	А	t,мин	А
5	0,49	2	0,54	2	1	2	0,8
10	0,48	10	0,53	10	0,99	6	0,71
30	0,48	20	0,52	20	0,99	10	0,68
20	0,48	30	0,52	30	0,98	30	0,61
30	0,48	40	0,51	40	0,99	40	0,6
40	0,48	50	0,51	50	0,97	50	0,59
50	0,48	60	0,51	60	0,96	60	0,57
60	0,475	70	0,51	70	0,92	80	0,56
70	0,475	80	0,5	80	0,96	90	0,55
80	0,475	90	0,5	90	0,96	100	0,54
120	0,475	140	0,5	100	0,95	120	0,52
pH = 5,93		pH = 6,4		pH = 6,73		pH = 7,23	
t,мин	А	t,мин	А	t,мин	А	t,мин	А
2	0,6	2	0,85	2	0,76	2	1,02
10	0,46	10	0,76	10	0,74	10	1,02
20	0,385	20	0,69	20	0,67	20	1,02
30	0,32	30	0,61	30	0,63	30	1,02
40	0,295	40	0,58	40	0,62	40	1,02
50	0,285	50	0,56	50	0,61	50	1,02
60	0,28	60	0,53	60	0,59	60	1,01
70	0,26	70	0,51	70	0,59	70	1,01
90	0,24	80	0,49	80	0,59	80	1,01
100	0,225	90	0,47	90	0,58	90	1,01
120	0,21	240	0,38	120	0,52	120	1,01
pH = 7,1		pH = 9,35		pH = 10,22			
t,мин	А	t,мин	А	t,мин	А		
3	0,81	3	0,53	3	0,46		
10	0,81	10	0,53	10	0,46		
20	0,81	20	0,53	20	0,46		
30	0,81	30	0,53	30	0,46		
40	0,81	40	0,53	40	0,46		
50	0,81	50	0,53	50	0,46		
60	0,805	60	0,53	60	0,46		
80	0,805	70	0,53	70	0,46		
120	0,805	120	0,53	120	0,46		

Таблица А23

Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий лошадиного гемоглобина от рН в растворах КСl концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л и $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л для времени коагуляции 30 минут и 1 час.

10^{-3} КСl		$5 \cdot 10^{-3}$ КСl	
рН	ΔA	рН	ΔA
через 30 минут			
10,48	0	10,22	0
9,44	0	9,35	0
8,11	0	7,1	0
7,16	0,02	7,23	0
6,98	0,06	6,73	0,13
6,56	0,28	6,4	0,24
5,86	0,2	5,93	0,28
5,36	0,1	5,74	0,19
4,27	0,01	5,25	0,02
3,8	0	4,38	0,02
		3,67	0,01
через 1 час			
10,48	0,01	10,22	0
9,44	0,005	9,35	0
8,11	0	7,1	0,005
7,16	0,03	7,23	0,01
6,98	0,08	6,73	0,17
6,56	0,335	6,4	0,32
5,86	0,26	5,93	0,32
5,36	0,15	5,74	0,21
4,27	0,01	5,25	0,04
3,8	0	4,38	0,03
		3,67	0,015

Таблица А24

Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий лошадиного гемоглобина от значений электрокинетического потенциала в растворах КСl концентрацией $1 \cdot 10^{-3}$ и $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л для времени коагуляции 30 минут.

$1 \cdot 10^{-3}$ КСl		$5 \cdot 10^{-3}$ КСl	
рН	ζ , мВ	рН	ζ , мВ
10,64	-46,0	10,62	-43,3
9,88	-50,3	9,98	-30,5
8,6	-34,3	8,42	-30,5
6,82	-16,3	7,03	-26,0
7,14	-20,5	7,11	-20,1
6,58	-8,1	6,39	-19,2
6,47	-6,8	6,48	-15,6
6,34	-2,4	6,36	-10,3
5,86	10,3	5,93	9,1
5,36	25,9	5,88	10,8
5,06	28,4	5,74	8,7
4,27	37,1	5,49	25,1
3,8	44,1	5,25	17,9
		4,38	22,3
		3,67	24,9

Таблица А25

Зависимость обратного времени течения воды и водных дисперсий гемоглобина различной концентрации от разности давлений на концах капилляра (общего давления в системе).

Состав системы	$P_{\text{н}}$, см вод. столба	$P_{\text{в}}$, см вод. столба	Разность уровней жидкости в манометре $\Delta P = P_{\text{н}} + P_{\text{в}}$, дел.	Время истечения t , с	Внешнее давления $P_{\text{вн}} = \Delta P \cdot 10$, Па	Общее давление системы $P = P_{\text{вн}} + P_{\text{г}}$, Па	Обратное время истечения $1/t$
1	2	3	4	5	6	7	8
вода			0	78,6	0,0	0	0
	-	-				1434,7	0,013

	<i>Продолжение таблицы А25</i>						
	2	3	4	5	6	7	8
	40	34	74	51,7	725,9	2160,7	0,019
	60	50	110	42,5	1079,1	2513,8	0,024
	120	100	220	31,5	2158,2	3592,9	0,032
	175	150	325	24,2	3188,3	4623,0	0,041
	230	195	425	20	4169,3	5604,0	0,050
0,05 г/л гемоглобина в воде			0	80	0,0	1434,7	0,013
	60	50	110	47	1079,1	2513,8	0,021
	85	70	155	39	1520,6	2955,3	0,026
	140	120	260	29	2550,6	3985,3	0,034
	170	145	315	25	3090,2	4524,9	0,040
	240	200	440	20,4	4316,4	5751,1	0,049
	278	243	521	17	5111,0	6545,7	0,059
0,1 г/л гемоглобина в воде			0	78	0,0	1434,7	0,013
	70	55	125	41,5	1226,3	2661,0	0,024
	85	70	155	36,5	1520,6	2955,3	0,027
	140	120	260	28,4	2550,6	3985,3	0,035
	162	140	302	25,5	2962,6	4397,3	0,039
	204	172	376	22	3688,6	5123,3	0,045
	240	200	440	20	4316,4	5751,1	0,050
	330	300	630	15,3	6180,3	7615,0	0,065
0,5 г/л гемоглобина в воде			0	77	0,0	1434,7	0,013
	62	52	114	43,6	1118,3	2553,1	0,023
	85	72	157	37	1540,2	2974,9	0,027
	142	122	264	27,6	2589,8	4024,6	0,036
	160	140	300	25	2943,0	4377,7	0,040
	201	170	371	22,1	3639,5	5074,2	0,045
	240	205	445	20	4365,5	5800,2	0,050
1 г/л гемоглобина в воде			0	77	0,0	1434,7	0,013
	60	52	112	44,5	1098,7	2533,4	0,022
	80	65	145	40	1422,5	2857,2	0,025
	140	120	260	27	2550,6	3985,3	0,037
	165	140	305	26	2992,1	4426,8	0,038
	200	170	370	24	3629,7	5064,4	0,042
	235	200	435	20	4267,4	5702,1	0,050
	266	231	497	19	4875,6	6310,3	0,053
2 г/л гемоглобина в воде			0	82	0,0	1434,7	0,012
	65	52	117	45	1147,8	2582,5	0,022
	88	72	160	39	1569,6	3004,3	0,026
	140	120	260	30	2550,6	3985,3	0,033
	168	142	310	26	3041,1	4475,8	0,038
	200	170	370	24,8	3629,7	5064,4	0,040

	Продолжение таблицы А25						
	2	3	4	5	6	7	8
	240	200	440	21	4316,4	5751,1	0,048
	288	252	540	18	5297,4	6732,1	0,056
			0	79,5	0,0	1434,7	0,013
3 г/л гемоглобина в воде	65	52	117	44	1147,8	2582,5	0,023
	85	72	157	40	1540,2	2974,9	0,025
	140	120	260	29	2550,6	3985,3	0,034
	170	143	313	26	3070,5	4505,2	0,038
	205	172	377	23	3698,4	5133,1	0,043
	240	202	442	21	4336,0	5770,7	0,048
	282	250	532	18,2	5218,9	6653,6	0,055
4 г/л гемоглобина в воде			0	79,8	0,0	1434,7	0,013
	60	50	110	46	1079,1	2513,8	0,022
	80	70	150	40	1471,5	2906,2	0,025
	140	120	260	30,2	2550,6	3985,3	0,033
	170	143	313	26	3070,5	4505,2	0,038
	240	200	440	21	4316,4	5751,1	0,048
	288	250	538	18,5	5277,8	6712,5	0,054

Таблица А26

Влияние концентрации глицина и аспарагиновой кислоты на значения электрокинетического потенциала и рН водных дисперсий бычьего гемоглобина.

Концентрация аминокислоты с, моль/л	-lgc	рН	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Глицин									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	6,68	57,2	0,7	24,5	3,4	599,7	5,9	8,3
10^{-4}	4,0	6,81	53	0,7	27,1	2,9	637,3	5,0	-7,1
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	6,85	60,3	0,6	26,2	3,6	532,8	6,2	-8,8
10^{-3}	3,0	6,88	68,8	0,7	23,6	4,1	514,2	7,2	-10,1
10^{-2}	2,0	6,9	77,3	0,9	18,7	4,5	595,1	7,8	-11,0
Аспарагиновая кислота									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	6,59	67,7	-	-	-	-	-	0,0
10^{-4}	4,0	5,6	120,1	1,2	12,0	8,3	503,7	14,4	20,3
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,33	70,4	0,7	10,4	9,4	509,0	16,4	23,1
10^{-3}	3,0	4,23	98,2	2,2	4,1	11,0	1114,5	19,1	26,9

Продолжение таблицы А26

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10^{-2}	2,0	3,31	342	7,2	3,0	16,0	1053,3	27,9	39,2
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	6,9	54,3	1,2	60,9	0,7	1097,6	1,3	-1,8
10^{-4}	4,0	6,71	54	1,3	117,0	0,4	1169,3	0,6	-0,9
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	4,73	64,9	1,4	5,1	9,2	1078,6	16,0	22,5
10^{-3}	3,0	4,13	95,3	2,0	4,3	11,3	1034,7	19,7	27,7
10^{-2}	2,0	3,29	333	6,8	2,8	17,5	1025,5	30,5	42,9

Таблица А27

Электрокинетический потенциал для водных дисперсий бычьего гемоглобина в присутствии глицина и аспарагиновой кислоты (концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, значения рН задаются изменением концентрации соляной кислоты или гидроксида калия - пометка "щ").

Концентрация кислоты /щелочи, моль/л	рН	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
Аспарагиновая кислота								
$5 \cdot 10^{-4}$	3,94	138,6	3,0	2,7	17,6	1068,2	30,6	43,1
10^{-4}	5,15	73	1,8	6,4	6,5	1210,0	11,3	15,9
0	4,73	64,9	1,4	5,1	9,2	1078,6	16,0	22,5
щ $5,6 \cdot 10^{-4}$	7,53	233	3,9	5,5	11,1	827,4	19,3	-27,2
щ $1,1 \cdot 10^{-3}$	9,2	322	6,4	3,4	14,8	1000,4	25,8	-36,3
щ $2,2 \cdot 10^{-3}$	9,64	721	14,6	2,9	16,9	1014,0	29,5	-41,5
Глицин								
10^{-3}	3,68	212	3,9	3,5	15,6	927,7	27,1	38,2
$5 \cdot 10^{-4}$	4,42	115	2,4	4,1	11,7	1051,2	20,3	28,5
10^{-4}	6,61	60,1	1,4	26,2	1,7	1135,6	2,9	4,1
0	6,85	60,3	0,6	26,2	3,6	532,8	6,2	-8,8
щ $5,6 \cdot 10^{-4}$	9,35	157,4	3,2	3,0	16,4	1016,5	28,6	-40,2
щ $1,1 \cdot 10^{-3}$	9,78	274	5,5	3,2	15,7	1005,7	27,3	-38,5

Приложение Б "Коллоидные свойства хлорофилла"

Таблица Б1

Зависимость изменения электропроводности, рН и электрокинетического потенциала во времени водных дисперсий хлорофилла (в растворе хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л).

$t, \text{ч}$	рН	$\kappa \cdot 10^{-4}, \text{См/м}$	$I \cdot 10^{-4} \text{ А}$	$t, \text{с}$	$\kappa/I \cdot t, \text{См/м} \cdot \text{А} \cdot \text{с}$	H, В/м	$U \cdot 10^{-9} \text{ мВ/В} \cdot \text{с}$	$\zeta, \text{ мВ}$
0,5	5,65	166	3,3	3,1	16,3	1004,5	28,3	-39,9
1	5,72	168,2	3,3	3,1	16,8	970,6	29,3	-41,2
2	5,8	170,7	3,3	3,8	13,8	954,9	24,0	-33,7
4	5,85	173,1	3,6	3,1	15,3	1048,5	26,7	-37,6
23	6,29	177,7	3,5	4,4	11,7	978,6	20,4	-28,7
75,5	6,32	172,7	3,8	3,4	13,4	1093,7	23,2	-32,7
0,5	5,6	179,1	3,7	2,6	19,2	1019,0	33,5	-47,1
2	5,62	181,2	3,9	2,4	19,0	1078,7	33,0	-46,4
3	5,68	181	3,6	2,5	19,7	1004,5	34,3	-48,3
4,5	5,72	181,7	3,7	3,1	16,0	1021,6	27,8	-39,1
25	5,81	181,4	3,7	3,8	12,7	1026,1	22,1	-31,1
47,5	5,77	181,6	3,9	3,5	13,5	1060,0	23,4	-33,0

Таблица Б2

Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от концентрации хлорида калия.

Концентрация соли с, моль/л	$-\lg c$	рН	$\kappa \cdot 10^{-4}, \text{См/м}$	$I \cdot 10^{-4} \text{ А}$	$t, \text{с}$	$\kappa/I \cdot t, \text{См/м} \cdot \text{А} \cdot \text{с}$	H, В/м	$U \cdot 10^{-9} \text{ мВ/В} \cdot \text{с}$	$\zeta, \text{ мВ}$
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,51	80,9	1,7	2,7	17,4	1079,5	30,3	-42,7
10^{-3}	3	5,54	157,6	3,5	4,0	11,5	1095,9	20,0	-28,1
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,69	77,4	1,8	2,0	21,8	1169,8	37,9	-53,3
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,7	80,6	1,8	2,5	17,9	1130,0	31,2	-43,9
10^{-3}	5,0	5,7	80,6	1,8	2,5	17,9	1130,0	31,2	-43,9
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	5,61	5,7	0,2	2,8	8,2	2149,1	14,3	-20,1
10^{-4}	4,0	5,56	12,1	0,4	2,4	14,3	1477,3	24,8	-34,9
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,54	19,7	0,5	2,7	15,4	1220,8	26,7	-37,6
10^{-3}	3	5,46	81,2	1,6	2,1	24,2	988,3	42,1	-59,3

Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от концентрации хлорида натрия и хлорида магния.

Концентрация соли с, моль/л	-lg c	pH	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
Хлорид натрия									
10^{-5}	5,0	5,43	5,3	0,2	2,3	9,6	2264,2	16,8	-23,6
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	5,4	10,9	0,3	2,6	13,6	1417,4	23,7	-33,4
10^{-4}	4,0	5,37	17,6	0,5	2,1	18,5	1306,8	32,2	-45,3
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,37	71,6	1,6	1,9	24,0	1103,4	41,8	-58,8
10^{-3}	3	5,38	137,5	3,0	2,0	23,8	1076,4	41,3	-58,2
Хлорид магния									
10^{-5}	5,0	5,48	7	0,20	3,82	9,03	1448,05	15,72	-22,1
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	5,32	16,8	0,42	3,92	10,27	1244,05	17,86	-25,1
10^{-4}	4,0	5,34	29,9	0,70	4,09	10,38	1177,54	18,06	-25,4
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,35	129,3	2,74	3,18	14,84	1057,77	25,83	-36,4
10^{-3}	3	5,33	250	5,31	2,93	16,06	1062,31	27,94	-39,3

Таблица Б4

Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от концентрации сульфатов железа II и железа III.

Концентрация соли с, моль/л	-lg c	pH	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ мВ/В·с	ζ , мВ
Сульфат железа II									
10^{-5}	5,0	5,16	8,2	0,3	3,7	6,9	1978,3	12,0	-16,9
$1,5 \cdot 10^{-4}$	3,8	4,83	54,4	2,0	3,7	7,4	1828,5	12,8	-18,1
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	4,72	148,5	3,1	6,2	7,8	1040,8	13,5	-19,0
10^{-3}	3,0	4,61	297	6,0	8,3	6,0	1004,5	10,4	-14,6
10^{-5}	5,0	5,14	8,7	0,4	3,3	6,9	2168,2	12,1	-17,0
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	5,03	23,1	0,5	4,0	10,6	1168,8	18,4	-26,0
10^{-4}	4,0	4,97	39,9	0,9	5,6	8,2	1091,4	14,3	-20,1
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	4,84	158,4	3,6	4,3	10,3	1125,0	17,9	-25,3
10^{-3}	3,0	4,71	289	5,2	8,1	6,9	899,7	12,0	-16,8
Сульфат железа III									
10^{-5}	5,0	4,68	15,8	0,4	3,0	13,6	1208,3	23,7	-33,4
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	4,04	69	1,2	11,1	5,4	839,3	9,3	-13,2
10^{-4}	4,0	3,76	140	2,4	7,7	7,5	860,4	13,1	18,4
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	3,16	596	10,1	9,7	6,1	849,8	10,6	14,9
10^{-3}	3,0	2,97	962	18,0	11,1	4,8	937,9	8,4	11,8

Таблица Б5

Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от рН в присутствии хлорида магния и сульфата железа II.

Концентрация кислоты, моль/л	рН	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ мВ/В·с	ζ , мВ
Хлорид магния								
0	5,35	129,3	2,7	3,2	14,8	1057,8	25,8	-36,4
10^{-5}	5,05	126,6	2,9	3,5	12,3	1156,8	21,3	-30,0
10^{-4}	4,19	178,9	3,5	3,7	14,0	971,2	24,4	-34,4
$5 \cdot 10^{-4}$	3,58	360	6,3	4,5	12,7	877,3	22,0	-31,0
$8 \cdot 10^{-4}$	3,39	505	9,0	4,7	11,9	888,9	20,7	-29,1
10^{-3}	3,3	605	10,9	4,3	13,0	902,9	22,7	-31,9
$1,5 \cdot 10^{-3}$	3,15	833	15,2	6,8	8,0	911,0	14,0	-19,7
Сульфат железа II								
0	4,72	148,5	3,1	6,2	7,8	1040,8	13,5	-19,0
0	4,84	158,4	3,6	4,3	10,3	1125,0	17,9	-25,3
10^{-5}	4,64	163,8	3,3	5,7	8,6	1014,1	15,0	-21,1
10^{-4}	4,12	206	4,0	6,0	8,7	963,6	15,1	-21,3
$5 \cdot 10^{-4}$	3,52	379	6,7	12,0	4,7	878,0	8,2	-11,6
$8 \cdot 10^{-4}$	3,34	519	9,3	11,5	4,9	896,8	8,4	-11,9
10^{-3}	3,24	561	11,8	15,4	3,1	1054,9	5,4	-7,6
$5 \cdot 10^{-4}$	3,57	370	7,1	8,2	6,3	958,0	11,0	-15,5
10^{-3}	3,27	611	11,6	8,8	6,0	952,5	10,4	-14,6
$1,5 \cdot 10^{-3}$	3,12	844	15,7	34,2	1,6	929,6	2,7	-3,9

Таблица Б6

Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла от концентрации глицина и аспарагиновой кислоты.

Концентрация соли с, моль/л	-lg c	pH	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
Глицин									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	5,68	3,1	0,3	2,6	4,4	4354,8	7,7	-10,8
10^{-4}	4,0	5,72	3,2	0,2	2,4	6,6	3125,0	11,5	-16,2
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,74	3	0,2	3,7	4,6	3000,0	7,9	-11,1
10^{-3}	3,0	5,79	3,2	0,2	2,5	5,6	3578,1	9,8	-13,8
10^{-2}	2,0	5,82	3,7	0,1	3,0	8,9	1891,9	15,6	-21,9
Аспарагиновая кислота									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	4,62	12,6	0,3	3,0	12,3	1342,0	21,4	-30,1
10^{-4}	4,0	4,32	24,3	0,5	3,2	15,4	1005,9	26,7	-37,6
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	3,82	76,2	1,6	3,3	14,5	1056,4	25,3	-35,6
10^{-3}	3,0	3,65	115	2,3	4,3	11,3	1020,9	19,7	-27,7
10^{-2}	2,0	3,24	343	7,1	5,0	9,6	1036,3	16,7	-23,4

Таблица Б7

Зависимость электрокинетического потенциала водных дисперсий хлорофилла с глицином и аспарагиновой кислотой (концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л) от рН.

Концентрация кислоты, моль/л	рН	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	α/I , См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ мВ/В·с	ζ , мВ
Глицин								
0	5,74	3	0,2	3,7	4,6	3000,0	7,9	-11,1
10^{-4}	4,24	35	0,6	2,5	22,4	881,6	39,0	-54,9
$5 \cdot 10^{-4}$	3,47	202	3,6	2,7	21,0	893,6	36,5	-51,4
$8 \cdot 10^{-4}$	3,26	334	6,3	2,4	22,0	936,7	38,3	-54,0
10^{-3}	3,17	421	7,7	3,0	18,4	908,6	32,1	-45,1
$2 \cdot 10^{-3}$	2,89	883	16,1	18,8	2,9	909,2	5,1	-7,2
Аспарагиновая кислота								
0,0	3,82	76,2	1,6	3,3	14,5	1056,4	25,3	-35,6
10^{-4}	3,37	255	5,0	2,2	22,9	980,4	39,9	-56,1
$5 \cdot 10^{-4}$	3,21	390	7,6	3,2	16,2	976,3	28,1	-39,6
10^{-3}	3,14	479	9,2	2,3	22,5	962,4	39,2	-55,2
$1,8 \cdot 10^{-3}$	2,92	830	16,0	12,7	4,1	963,9	7,1	-10,0

Таблица Б8

Адсорбция протонов и гидроксид-ионов на хлорофилле в присутствии хлоридов калия различной концентрации.

рН	Объем КОН/НСl, пошедший на титрование фонового раствора V_0 , мл	Объем КОН (НСl), пошедший на титрование водной дисперсии V_1 , мл	Разность объемов $V_1 - V_0$, мл	Избыток сорбированных ионов $\alpha x/m$, мол/г	Концентрация КОН/НСl, используемых для титрования c, моль/л
1	2	3	4	5	6
Концентрация хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л					
3,25	1,60	1,30	0,30	0,38	0,01
3,5	0,90	0,70	0,20	0,25	0,01
3,75	0,50	0,40	0,10	0,13	0,01

<i>Продолжение таблицы Б7</i>					
1	2	3	4	5	6
4	0,30	0,30	0,00	0,00	0,01
4,25	0,19	0,20	-0,01	-0,02	0,01
4,5	0,15	0,10	0,05	0,06	0,01
4,75	0,10	0,10	0,00	0,01	0,01
5	0,09	0,01	0,08	0,10	0,01
5,25	0,07	0,02	0,05	0,07	0,01
5,5	0,06	0,04	0,02	0,03	0,01
5,75	0,05	0,05	0,00	-0,01	0,01
6	0,03	0,06	-0,03	-0,04	0,01
6,25	0,02	0,08	-0,06	-0,08	0,01
6,5	0,10	0,09	0,01	0,02	0,025
6,75	0,01	0,10	-0,09	-0,29	0,025
7	0,02	0,10	-0,08	-0,26	0,025
7,25	0,02	0,10	-0,08	-0,24	0,025
7,5	0,03	0,20	-0,17	-0,53	0,025
7,75	0,04	0,20	-0,16	-0,50	0,025
8	0,05	0,20	-0,15	-0,48	0,025
8,25	0,06	0,30	-0,24	-0,76	0,025
8,5	0,06	0,30	-0,24	-0,74	0,025
8,75	0,07	0,30	-0,23	-0,71	0,025
9	0,08	0,40	-0,32	-1,00	0,025
9,25	0,09	0,50	-0,41	-1,29	0,025
9,5	0,10	0,70	-0,60	-1,89	0,025
9,75	0,10	0,80	-0,70	-2,19	0,025
10	0,10	0,90	-0,80	-2,50	0,025
10,25	0,30	1,20	-0,90	-2,81	0,025
10,5	0,60	2,00	-1,40	-4,38	0,025
10,75	1,10	3,20	-2,10	-6,56	0,025
11	2,40	5,60	-3,20	-10,00	0,025
11,25	4,20	7,60	-3,40	-10,63	0,025
Концентрация хлорида калия 10^{-2} моль/л					
3,25	1,30	1,40	0,10	0,13	0,01
3,5	0,70	0,80	0,10	0,13	0,01
3,75	0,40	0,50	0,10	0,13	0,01
4	0,30	0,30	0,00	0,00	0,01
4,25	0,20	0,20	0,00	0,00	0,01
4,5	0,10	0,09	-0,01	-0,01	0,01
4,75	0,01	0,05	0,04	0,05	0,01
5	0,07	0,02	-0,05	-0,07	0,01
5,25	0,06	0,01	-0,05	-0,07	0,01
5,5	0,04	0,02	-0,03	-0,03	0,01

<i>Продолжение таблицы Б7</i>					
1	2	3	4	5	6
5,75	0,03	0,03	0,00	0,00	0,01
6	0,02	0,04	0,02	0,03	0,01
6,25	0,10	0,05	-0,05	-0,06	0,01
6,5	0,11	0,06	0,05	0,07	0,01
6,75	0,01	0,07	-0,06	-0,19	0,025
7	0,02	0,08	-0,06	-0,20	0,025
7,25	0,03	0,09	-0,07	-0,21	0,025
7,5	0,03	0,10	-0,07	-0,21	0,025
7,75	0,04	0,10	-0,06	-0,18	0,025
8	0,05	0,10	-0,05	-0,16	0,025
8,25	0,06	0,10	-0,04	-0,14	0,025
8,5	0,06	0,20	-0,14	-0,42	0,025
8,75	0,07	0,20	-0,13	-0,40	0,025
9	0,08	0,30	-0,22	-0,69	0,025
9,25	0,09	0,30	-0,21	-0,67	0,025
9,5	0,09	0,40	-0,31	-0,95	0,025
9,75	0,10	0,50	-0,40	-1,25	0,025
10	0,20	0,60	-0,40	-1,25	0,025
10,25	0,40	0,80	-0,40	-1,25	0,025
10,5	0,80	1,10	-0,30	-0,94	0,025
10,75	1,50	1,50	0,00	0,00	0,025
11	2,60	2,20	0,40	1,25	0,025
11,25	5,00	5,00	0,00	0,00	0,025
Концентрация хлорида калия 10^{-1} моль/л					
3,25	1,30	1,40	0,10	0,12	0,01
3,5	0,70	0,80	0,10	0,12	0,01
3,75	0,40	0,50	0,10	0,12	0,01
4	0,30	0,30	0,00	0,00	0,01
4,25	0,10	0,20	0,10	0,12	0,01
4,5	0,10	0,09	-0,01	-0,02	0,01
4,75	0,10	0,05	-0,05	-0,06	0,01
5	0,10	0,02	-0,08	-0,09	0,01
5,25	0,10	-0,01	-0,11	-0,13	0,01
5,5	0,10	0,01	-0,09	-0,12	0,01
5,75	0,10	0,01	-0,09	-0,11	0,01
6	0,10	0,02	-0,08	-0,10	0,01
6,25	0,10	0,03	-0,07	-0,09	0,01
6,5	0,00	0,03	-0,03	-0,04	0,01
6,75	0,01	0,04	-0,03	-0,09	0,025
7	0,02	0,04	-0,03	-0,08	0,025
7,25	0,03	0,05	-0,02	-0,08	0,025

<i>Продолжение таблицы Б7</i>					
1	2	3	4	5	6
7,5	0,03	0,06	-0,02	-0,07	0,025
7,75	0,04	0,06	-0,02	-0,07	0,025
8	0,05	0,07	-0,02	-0,06	0,025
8,25	0,06	0,08	-0,02	-0,06	0,025
8,5	0,07	0,08	-0,02	-0,06	0,025
8,75	0,07	0,09	-0,02	-0,05	0,025
9	0,08	0,10	-0,02	-0,05	0,025
9,25	0,09	0,10	-0,01	-0,04	0,025
9,5	0,10	0,10	0,00	-0,01	0,025
9,75	0,10	0,10	0,00	0,00	0,025
10	0,20	0,20	0,00	0,00	0,025
10,25	0,40	0,30	0,10	0,31	0,025
10,5	0,60	0,50	0,10	0,31	0,025
10,75	1,00	1,00	0,00	0,00	0,025
11	2,60	3,20	-0,60	-1,88	0,025
11,25	4,00	5,80	-1,80	-5,63	0,025
Концентрация хлорида калия 1 моль/л					
3,25	1,50	1,40	-0,10	-0,13	0,01
3,5	0,90	0,80	-0,10	-0,12	0,01
3,75	0,60	0,50	-0,10	-0,12	0,01
4	0,40	0,30	-0,10	-0,12	0,01
4,25	0,30	0,20	-0,10	-0,12	0,01
4,5	0,20	0,10	-0,10	-0,12	0,01
4,75	0,20	0,10	-0,10	-0,12	0,01
5	0,10	0,10	0,00	0,00	0,01
5,25	0,08	0,02	-0,07	-0,08	0,01
5,5	0,07	0,02	-0,04	-0,05	0,01
5,75	0,05	0,03	-0,02	-0,03	0,01
6	0,03	0,04	0,00	0,00	0,01
6,25	0,10	0,04	-0,06	-0,07	0,01
6,5	0,00	0,05	-0,05	-0,14	0,025
6,75	0,01	0,05	-0,04	-0,14	0,025
7	0,02	0,06	-0,04	-0,13	0,025
7,25	0,03	0,07	-0,04	-0,12	0,025
7,5	0,03	0,07	-0,04	-0,12	0,025
7,75	0,04	0,08	-0,04	-0,11	0,025
8	0,05	0,08	-0,03	-0,10	0,025
8,25	0,06	0,09	-0,03	-0,10	0,025
8,5	0,07	0,10	-0,03	-0,09	0,025
8,75	0,07	0,10	-0,03	-0,09	0,025
9	0,08	0,11	-0,03	-0,08	0,025

Продолжение таблицы Б7

1	2	3	4	5	6
9,25	0,09	0,10	-0,01	-0,03	0,025
9,5	0,10	0,10	0,00	-0,01	0,025
9,75	0,10	0,10	0,00	0,00	0,025
10	0,20	0,20	0,00	0,00	0,025
10,25	0,35	0,40	-0,05	-0,16	0,025
10,5	0,60	0,60	0,00	0,00	0,025
10,75	1,00	1,10	-0,10	-0,31	0,025
11	1,70	1,90	-0,20	-0,63	0,025
11,25	3,20	3,40	-0,20	-0,62	0,025

Таблица Б9

Адсорбция протонов и гидроксид-ионов хлорофилле в присутствии карбоната калия различной концентрации.

рН	Объем КОН/НСІ, пошедший на титрование фонового раствора V ₀ , мл	Объем КОН (НСІ), пошедший на титрование водной дисперсии V ₁ , мл	Разность объемов V ₁ - V ₀ , мл	Избыток сорбированных ионов dx/m, мол/г	Концентрация КОН/НСІ, используемых для титрования с, моль/л
1	2	3	4	5	6
Концентрация карбоната калия 5 · 10 ⁻⁴ моль/л					
3,25	3,20	3,00	-0,20	-0,25	0,01
3,5	2,40	2,40	0,00	0,00	0,01
3,75	2,00	1,90	-0,10	-0,13	0,01
4	1,80	1,70	-0,10	-0,12	0,01
4,25	1,70	1,60	-0,10	-0,12	0,01
4,5	1,60	1,50	-0,10	-0,12	0,01
4,75	1,60	1,50	-0,10	-0,12	0,01
5	1,50	1,40	-0,10	-0,12	0,01
5,25	1,50	1,30	-0,20	-0,25	0,01
5,5	1,40	1,20	-0,20	-0,25	0,01
5,75	1,30	1,10	-0,20	-0,25	0,01
6	1,10	0,90	-0,20	-0,25	0,01
6,25	0,80	0,70	-0,10	-0,12	0,01
6,5	0,60	0,50	-0,10	-0,12	0,01
6,75	0,40	0,20	-0,20	-0,25	0,01
7	0,30	0,10	-0,20	-0,25	0,01

<i>Продолжение таблицы Б9</i>					
1	2	3	4	5	6
7,25	0,20	0,00	-0,20	-0,25	0,01
7,5	0,00	0,03	-0,03	-0,10	0,025
7,75	0,00	0,06	-0,06	-0,20	0,025
8	0,00	0,09	-0,09	-0,29	0,025
8,25	0,04	0,10	-0,06	-0,19	0,025
8,5	0,06	0,10	-0,04	-0,13	0,025
8,75	0,08	0,20	-0,12	-0,38	0,025
9	0,10	0,20	-0,10	-0,32	0,025
9,25	0,10	0,40	-0,30	-0,94	0,025
9,5	0,20	0,40	-0,20	-0,63	0,025
9,75	0,30	0,60	-0,30	-0,94	0,025
10	0,50	0,80	-0,30	-0,94	0,025
10,25	0,80	1,10	-0,30	-0,94	0,025
10,5	1,10	1,50	-0,40	-1,25	0,025
10,75	1,70	2,40	-0,70	-2,19	0,025
11	2,80	4,80	-2,00	-6,25	0,025
11,25	5,00	8,00	-3,00	-9,38	0,025
Концентрация карбоната калия 10^{-3} моль/л					
3,25	4,20	4,20	0,00	0,00	0,01
3,5	3,60	3,50	-0,10	-0,13	0,01
3,75	3,10	3,20	0,10	0,13	0,01
4	2,90	3,00	0,10	0,13	0,01
4,25	2,80	2,90	0,10	0,13	0,01
4,5	2,80	2,80	0,00	0,00	0,01
4,75	2,70	2,80	0,10	0,13	0,01
5	2,60	2,70	0,10	0,13	0,01
5,25	2,50	2,60	0,10	0,13	0,01
5,5	2,40	2,40	0,00	0,00	0,01
5,75	2,20	2,20	0,00	0,00	0,01
6	1,80	1,80	0,00	0,00	0,01
6,25	1,50	1,50	0,00	0,00	0,01
6,5	1,10	1,10	0,00	0,00	0,01
6,75	0,70	0,70	0,00	0,00	0,01
7	0,50	0,50	0,00	0,00	0,01
7,25	0,30	0,30	0,00	0,00	0,01
7,5	0,20	0,10	-0,10	-0,13	0,01
7,75	0,10	0,00	-0,10	-0,13	0,01
8	0,10	0,00	-0,10	-0,31	0,025
8,25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,025
8,5	0,02	0,00	0,02	0,07	0,025
8,75	0,05	0,10	-0,05	-0,15	0,025

<i>Продолжение таблицы Б9</i>					
1	2	3	4	5	6
9	0,08	0,10	-0,02	-0,06	0,025
9,25	0,10	0,20	-0,10	-0,31	0,025
9,5	0,20	0,40	-0,20	-0,63	0,025
9,75	0,40	0,80	-0,40	-1,25	0,025
10	0,70	1,10	-0,40	-1,25	0,025
10,25	1,00	1,80	-0,80	-2,50	0,025
10,5	1,50	2,40	-0,90	-2,81	0,025
10,75	2,00	3,40	-1,40	-4,38	0,025
11	3,20	4,80	-1,60	-5,00	0,025
11,25	5,40	7,40	-2,00	-6,25	0,025

Таблица Б10

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии хлорофилла с массовой концентрацией 0,008 г/20 мл в водном растворе хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Водный раствор хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л (фон)				Водный раствор хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л с хлорофиллом			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _т , мл	pH	V _т , мл	pH	V _т , мл	pH	V _т , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,52	0	6,55	0	4,9	0	4,93
0,1	9,61	-0,1	4,78	0,1	6,61	-0,1	4,36
0,2	9,71	-0,2	4,17	0,2	7,39	-0,2	4,05
0,3	10,01	-0,3	3,98	0,3	8,12	-0,3	3,85
0,4	10,22	-0,4	3,83	0,4	8,8	-0,4	3,74
0,5	10,35	-0,5	3,74	0,5	9,12	-0,5	3,63
0,6	10,44	-0,6	3,66	0,6	9,43	-0,6	3,56
0,7	10,5	-0,7	3,59	0,7	9,57	-0,7	3,49
0,8	10,56	-0,8	3,54	0,8	9,73	-0,8	3,43
0,9	10,62	-0,9	3,48	0,9	9,92	-0,9	3,37
1	10,66	-1	3,44	1	10,03	-1	3,33
1,1	10,71	-1,1	3,39	1,1	10,15	-1,1	3,29
1,2	10,74	-1,2	3,36	1,2	10,23	-1,2	3,26
1,3	10,78	-1,3	3,33	1,3	10,26	-1,3	3,22
1,4	10,8	-1,4	3,3	1,4	10,3	-1,4	3,19
1,5	10,83	-1,5	3,27	1,5	10,34	-1,5	3,17
1,6	10,84	-1,6	3,24	1,6	10,36	-1,6	3,14
1,7	10,86	-1,7	3,22	1,7	10,4	-1,7	3,11

Продолжение таблицы Б10

1	2	3	4	5	6	7	8
1,8	10,87	-1,8	3,19	1,8	10,44	-1,8	3,09
1,9	10,89	-1,9	3,17	1,9	10,46	-1,9	3,07
2	10,9	-2	3,16	2	10,48	-2	3,04
2,1	10,92	-2,1	3,14	2,1	10,51	-2,1	3,03
2,2	10,93	-2,2	3,12	2,2	10,54	-2,2	3
2,3	10,95	-2,3	3,1	2,3	10,57	-2,3	2,99
2,4	10,97	-2,4	3,08	2,4	10,57	-2,4	2,97
2,5	10,99	-2,5	3,07	2,5	10,6	-2,5	2,96
2,6	11,01	-2,6	3,05	2,6	10,62	-2,6	2,94
2,7	11,02	-2,7	3,04	2,7	10,67	-2,7	2,93
2,8	11,03	-2,8	3,02	2,8	10,68	-2,8	2,92
2,9	11,05	-2,9	3,01	2,9	10,7	-2,9	2,91
3	11,06	-3	3	3	10,71	-3	2,89
3,1	11,08	-3,2	2,97	3,2	10,75	-3,2	2,86
3,2	11,09	-3,4	2,95	3,4	10,77	-3,4	2,85
3,3	11,1	-3,6	2,93	3,6	10,8	-3,6	2,83
3,4	11,11	-3,8	2,91	3,8	10,81	-3,8	2,8
3,6	11,14	-4	2,9	4	10,84	-4	2,78
3,8	11,16	-4,2	2,88	4,2	10,86	-4,2	2,76
4	11,19	-4,4	2,86	4,4	10,89	-4,4	2,75
4,2	11,21	-4,6	2,84	4,6	10,9	-4,6	2,74
4,4	11,23	-4,8	2,83	4,8	10,93	-4,8	2,71
4,6	11,26	-5	2,81	5	10,95	-5	2,69
4,8	11,27	-5,2	2,8	5,2	10,97	-5,2	2,68
5	11,29	-5,4	2,78	5,4	10,98	-5,4	2,67
5,2	11,31	-5,6	2,76	5,6	11	-5,6	2,66
5,4	11,33	-5,8	2,75	5,8	11,01	-5,8	2,64
5,6	11,33	-6	2,74	6	11,03	-6	2,63
5,8	11,34	-6,2	2,73	6,2	11,03	-6,2	2,62
6	11,37	-6,4	2,72	6,4	11,06	-6,4	2,61
6,2	11,4	-6,6	2,71	6,6	11,07	-6,6	2,6
6,4	11,41	-6,8	2,7	6,8	11,09	-6,8	2,59
6,6	11,43	-7	2,69	7	11,1	-7	2,58
6,8	11,43	-7,2	2,68	7,2	11,11	-7,2	2,57
7	11,45	-7,4	2,67	7,4	11,23	-7,4	2,56
7,2	11,47	-7,6	2,66	7,6	11,13	-7,6	2,56
7,4	11,47	-7,8	2,66	7,8		-7,8	2,55
7,6	11,49	-8	2,65				
7,8	11,5						
8	11,51						

Таблица Б11

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии хлорофилла с массовой концентрацией 0,008 г/20 мл в водном растворе хлорида калия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

Водный раствор хлорида калия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л				Водный раствор хлорида калия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л с хлорофиллом			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,4	0	6,27	0	5,11	0	5,14
0,1	9,67	-0,1	4,53	0,1	7,39	-0,1	4,43
0,2	9,94	-0,2	4,05	0,2	8,33	-0,2	4,09
0,3	10,11	-0,3	3,82	0,3	9	-0,3	3,95
0,4	10,21	-0,4	3,74	0,4	9,38	-0,4	3,83
0,5	10,31	-0,5	3,64	0,5	9,66	-0,5	3,7
0,6	10,38	-0,6	3,57	0,6	9,85	-0,6	3,64
0,7	10,44	-0,7	3,5	0,7	10,01	-0,7	3,55
0,8	10,49	-0,8	3,43	0,8	10,18	-0,8	3,5
0,9	10,54	-0,9	3,39	0,9	10,27	-0,9	3,43
1	10,59	-1	3,33	1	10,36	-1	3,39
1,1	10,59	-1,1	3,3	1,1	10,44	-1,1	3,35
1,2	10,63	-1,2	3,27	1,2	10,52	-1,2	3,31
1,3	10,69	-1,3	3,23	1,3	10,59	-1,3	3,27
1,4	10,7	-1,4	3,2	1,4	10,65	-1,4	3,23
1,5	10,73	-1,5	3,17	1,5	10,71	-1,5	3,21
1,6	10,77	-1,6	3,15	1,6	10,77	-1,6	3,18
1,7	10,79	-1,7	3,13	1,7	10,81	-1,7	3,16
1,8	10,81	-1,8	3,1	1,8	10,86	-1,8	3,14
1,9	10,85	-1,9	3,08	1,9	10,9	-1,9	3,11
2	10,86	-2	3,06	2	10,93	-2	3,09
2,2	10,9	-2,2	3,03	2,2	11	-2,2	3,05
2,4	10,94	-2,4	3	2,4	11,02	-2,4	3,02
2,6	10,95	-2,6	2,97	2,6	11,05	-2,6	2,98
2,8	11,01	-2,8	2,94	2,8	11,06	-2,8	2,95
3	11,02	-3	2,92	3	11,07	-3	2,93
3,2	11,04	-3,2	2,9	3,2	11,1	-3,2	2,9
3,4	11,07	-3,4	2,87	3,4	11,17	-3,4	2,88
3,6	11,1	-3,6	2,85	3,6	11,18	-3,6	2,85

Продолжение таблицы Б10

1	2	3	4	5	6	7	8
3,8	11,12	-3,8	2,83	3,8	11,18	-3,8	2,83
4	11,14	-4	2,81	4	11,19	-4	2,81
4,2	11,19	-4,2	2,8	4,2	11,19	-4,2	2,8
4,4	11,21	-4,4	2,78	4,4	11,21	-4,4	2,78
4,6	11,22	-4,6	2,76	4,6	11,21	-4,6	2,77
4,8	11,22	-4,8	2,75	4,8	11,21	-4,8	2,76
5	11,24	-5	2,73	5	11,25	-5	2,74
5,2	11,26	-5,2	2,72	5,2	11,3	-5,2	2,73
5,4	11,27	-5,4	2,71	5,4	11,31	-5,4	2,72
5,6	11,28	-5,6	2,69	5,6	11,31	-5,6	2,7
5,8	11,29	-5,8	2,68	5,8	11,33	-5,8	2,69
6	11,29	-6	2,67	6	11,35	-6	2,68
6,2	11,3	-6,2	2,66	6,2	11,35	-6,2	2,67
6,4	11,3	-6,4	2,65	6,4	11,36	-6,4	2,66
6,6	11,31	-6,6	2,64	6,6	11,37	-6,6	2,65
6,8	11,32	-6,8	2,63	6,8	11,38	-6,8	2,64
7	11,33	-7	2,62	7	11,39	-7	2,63
7,2	11,34	-7,2	2,61	7,2	11,4	-7,2	2,62
7,4	11,36	-7,4	2,6	7,4	11,42	-7,4	2,61
7,6	11,35	-7,6	2,59	7,6	11,44	-7,6	2,6
7,8	11,37	-7,8	2,58	7,8	11,46	-7,8	2,59
8	11,38	-8	2,58	8	11,48	-8	2,59

Таблица Б12

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии хлорофилла с массовой концентрацией 0,008 г/20 мл в водном растворе хлорида калия 0,1 моль/л.

Водный раствор хлорида калия 10^{-1} моль/л				Водный раствор хлорида калия 0,1 моль/л с хлорофиллом (0,1 г/50 мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _т , мл	pH	V _т , мл	pH	V _т , мл	pH	V _т , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,4	0	6,31	0	5,25	0	5,2
0,1	9,62	-0,1	4,14	0,1	9,16	-0,1	4,38
0,2	10	-0,2	4,05	0,2	9,78	-0,2	4,06
0,3	10,17	-0,3	3,89	0,3	10,12	-0,3	3,92
0,4	10,25	-0,4	3,74	0,4	10,26	-0,4	3,79
0,5	10,37	-0,5	3,65	0,5	10,4	-0,5	3,69

Продолжение таблицы Б12

1	2	3	4	5	6	7	8
0,6	10,44	-0,6	3,56	0,6	10,52	-0,6	3,6
0,7	10,51	-0,7	3,49	0,7	10,59	-0,7	3,54
0,8	10,58	-0,8	3,43	0,8	10,65	-0,8	3,48
0,9	10,63	-0,9	3,38	0,9	10,71	-0,9	3,43
1	10,67	-1	3,33	1	10,75	-1	3,38
1,1	10,77	-1,1	3,29	1,1	10,77	-1,1	3,33
1,2	10,78	-1,2	3,26	1,2	10,76	-1,2	3,3
1,3	10,82	-1,3	3,22	1,3	10,73	-1,3	3,26
1,4	10,84	-1,4	3,19	1,4	10,74	-1,4	3,23
1,5	10,85	-1,5	3,16	1,5	10,77	-1,5	3,21
1,6	10,86	-1,6	3,13	1,6	10,79	-1,6	3,2
1,7	10,87	-1,7	3,1	1,7	10,82	-1,7	3,16
1,8	10,88	-1,8	3,08	1,8	10,85	-1,8	3,16
2	10,89	-1,9	3,06	1,9	10,87	-1,9	3,14
2,2	10,91	-2	3,03	2	10,9	-2	3,13
2,4	10,94	-2,2	2,99	2,2	10,89	-2,2	3,1
2,6	10,97	-2,4	2,96	2,4	10,92	-2,4	3,07
2,8	11,02	-2,6	2,93	2,6	10,95	-2,6	3,04
3	11,06	-2,8	2,89	2,8	10,96	-2,8	3,02
3,2	11,09	-3	2,86	3	10,97	-3	2,98
3,4	11,13	-3,2	2,83	3,2	11	-3,2	2,96
3,6	11,16	-3,4	2,81	3,4	11,03	-3,4	2,94
3,8	11,22	-3,6	2,79	3,6	11,05	-3,6	2,91
4	11,24	-3,8	2,76	3,8	11,07	-3,8	2,88
4,2	11,28	-4	2,74	4	11,09	-4	2,87
4,4	11,31	-4,2	2,73	4,2	11,11	-4,2	2,84
4,6	11,32	-4,4	2,71	4,4	11,12	-4,4	2,83
4,8	11,34	-4,6	2,7	4,6	11,14	-4,6	2,81
5	11,36	-4,8	2,68	4,8	11,16	-4,8	2,79
5,2	11,4	-5	2,67	5	11,17	-5	2,78
5,4	11,43	-5,2	2,65	5,2	11,19	-5,2	2,77
5,6	11,46	-5,4	2,64	5,4	11,21	-5,4	2,75
5,8	11,49	-5,6	2,63	5,6	11,22	-5,6	2,74
6	11,5	-5,8	2,62	5,8	11,24	-5,8	2,73
6,2	11,51	-6	2,61	6	11,28	-6	2,71
6,4	11,52	-6,2	2,59	6,2	11,3	-6,2	2,7
6,6	11,54	-6,4	2,58	6,4	11,32	-6,4	2,69
6,8	11,55	-6,6	2,57	6,6	11,32	-6,6	2,68
7	11,58	-6,8	2,56	6,8	11,334	-6,8	2,67
7,2	11,59	-7	2,56	7	11,37	-7	2,66
7,4	11,6	-7,2	2,55	7,2	11,39	-7,2	2,65

Продолжение таблицы Б12

1	2	3	4	5	6	7	8
7,6	11,62	-7,4	2,53	7,4	11,4	-7,4	2,64
7,8	11,64	-7,6	2,53	7,6	11,41	-7,6	2,63
8	11,67	-7,8	2,52	7,8	11,42	-7,8	2,62
8,2		-8	2,51	8		-8	2,61

Таблица Б13

Исходные данные потенциометрического титрования 20 мл водной дисперсии хлорофилла с массовой концентрацией 0,008 г/20 мл в водном растворе хлорида калия 1 моль/л.

Водный раствор хлорида калия 1 моль/л				Водный раствор хлорида калия 1 моль/л с хлорофиллом (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,44	0	6,49	0	5,06	0	5,2
0,1	9,55	-0,1	4,98	0,1	9,17	-0,1	4,38
0,2	9,97	-0,2	4,45	0,2	9,89	-0,2	4,06
0,3	10,17	-0,3	4,12	0,3	10,03	-0,3	3,92
0,4	10,3	-0,4	3,92	0,4	10,19	-0,4	3,79
0,5	10,4	-0,5	3,82	0,5	10,34	-0,5	3,69
0,6	10,49	-0,6	3,7	0,6	10,45	-0,6	3,6
0,7	10,57	-0,7	3,61	0,7	10,54	-0,7	3,54
0,8	10,63	-0,8	3,54	0,8	10,6	-0,8	3,48
0,9	10,69	-0,9	3,48	0,9	10,64	-0,9	3,43
1	10,74	-1	3,44	1	10,7	-1	3,38
1,1	10,79	-1,1	3,4	1,1	10,75	-1,1	3,33
1,2	10,83	-1,2	3,34	1,2	10,8	-1,2	3,3
1,3	10,86	-1,3	3,31	1,3	10,83	-1,3	3,26
1,4	10,89	-1,4	3,28	1,4	10,87	-1,4	3,23
1,5	10,92	-1,5	3,26	1,5	10,9	-1,5	3,21
1,6	10,95	-1,6	3,23	1,6	10,92	-1,6	3,2
1,7	10,98	-1,7	3,2	1,7	10,95	-1,7	3,16
1,8	11,01	-1,8	3,18	1,8	10,96	-1,8	3,16
2	11,03	-1,9	3,15	1,9	10,99	-1,9	3,14
2,2	11,05	-2	3,13	2	11,03	-2	3,13
2,4	11,09	-2,2	3,09	2,2	11,07	-2,2	3,1
2,6	11,12	-2,4	3,05	2,4	11,11	-2,4	3,07
2,8	11,16	-2,6	3,03	2,6	11,15	-2,6	3,04

Продолжение таблицы Б13

1	2	3	4	5	6	7	8
3	11,18	-2,8	3	2,8	11,17	-2,8	3,02
3,2	11,21	-3	2,96	3	11,2	-3	2,98
3,4	11,26	-3,2	2,94	3,2	11,22	-3,2	2,96
3,6	11,28	-3,4	2,92	3,4	11,25	-3,4	2,94
3,8	11,3	-3,6	2,89	3,6	11,26	-3,6	2,91
4	11,32	-3,8	2,87	3,8	11,27	-3,8	2,88
4,2	11,34	-4	2,84	4	11,3	-4	2,87
4,4	11,35	-4,2	2,81	4,2	11,31	-4,2	2,84
4,6	11,37	-4,4	2,78	4,4	11,33	-4,4	2,83
4,8	11,38	-4,6	2,77	4,6	11,34	-4,6	2,81
5	11,39	-4,8	2,75	4,8	11,36	-4,8	2,79
5,2	11,41	-5	2,74	5	11,327	-5	2,78
5,4	11,42	-5,2	2,73	5,2	11,38	-5,2	2,77
5,6	11,43	-5,4	2,71	5,4	11,39	-5,4	2,75
5,8	11,44	-5,6	2,7	5,6	11,4	-5,6	2,74
6	11,45	-5,8	2,69	5,8	11,41	-5,8	2,73
6,2	11,47	-6	2,68	6	11,43	-6	2,71
6,4	11,47	-6,2	2,67	6,2	11,43	-6,2	2,7
6,6	11,48	-6,4	2,66	6,4	11,43	-6,4	2,69
6,8	11,49	-6,6	2,65	6,6	11,44	-6,6	2,68
7	11,5	-6,8	2,64	6,8	11,46	-6,8	2,67
7,2	11,5	-7	2,63	7	11,47	-7	2,66
7,4	11,51	-7,2	2,63	7,2	11,48	-7,2	2,65
7,6	11,52	-7,4	2,62	7,4	11,47	-7,4	2,64
7,8	11,53	-7,6	2,61	7,6	11,48	-7,6	2,63
8	11,54			7,8	11,49	-7,8	2,62
				8	11,5	-8	2,61

Таблица Б14

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии хлорофилла с массовой концентрацией 0,008 г/20 мл в водном растворе карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Водный раствор карбоната калия 10^{-3} моль/л				Водный раствор карбоната калия 10^{-3} моль/л с хлорофиллом (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	8,32	0	8,26	0	7,68	0	7,62

<i>Продолжение таблицы Б14</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8
0,1	9,17	-0,1	7,63	0,1	8,58	-0,1	7,43
0,2	9,44	-0,2	7,38	0,2	9,02	-0,2	7,34
0,3	9,59	-0,3	7,17	0,3	9,29	-0,3	7,18
0,4	9,68	-0,4	7,02	0,4	9,5	-0,4	7,08
0,5	9,81	-0,5	6,95	0,5	9,6	-0,5	6,92
0,6	9,92	-0,6	6,85	0,6	9,66	-0,6	6,80
0,7	9,99	-0,7	6,75	0,7	9,7	-0,7	6,75
0,8	10,08	-0,8	6,68	0,8	9,72	-0,8	6,7
0,9	10,14	-0,9	6,6	0,9	9,79	-0,9	6,6
1	10,19	-1	6,52	1	9,83	-1	6,53
1,1	10,28	-1,1	6,48	1,1	9,92	-1,1	6,47
1,2	10,34	-1,2	6,41	1,2	10,01	-1,2	6,4
1,3	10,43	-1,3	6,34	1,3	10,06	-1,3	6,33
1,4	10,45	-1,4	6,29	1,4	10,09	-1,4	6,26
1,5	10,48	-1,5	6,22	1,5	10,11	-1,5	6,21
1,6	10,52	-1,6	6,16	1,6	10,14	-1,6	6,14
1,7	10,59	-1,7	6,08	1,7	10,19	-1,7	6,06
1,8	10,62	-1,8	6	1,8	10,22	-1,8	6
1,9	10,65	-1,9	5,95	1,9	10,28	-1,9	5,93
2	10,71	-2	5,87	2	10,33	-2	5,84
2,2	10,77	-2,1	5,79	2,2	10,4	-2,1	5,76
2,4	10,84	-2,2	5,71	2,4	10,47	-2,2	5,68
2,6	10,89	-2,3	5,58	2,6	10,54	-2,3	5,56
2,8	10,91	-2,4	5,43	2,8	10,59	-2,4	5,45
3	10,96	-2,5	5,23	3	10,65	-2,5	5,29
3,2	10,98	-2,6	4,97	3,2	10,69	-2,6	5,1
3,4	11,01	-2,7	4,55	3,4	10,73	-2,7	4,82
3,6	11,05	-2,8	4,19	3,6	10,79	-2,8	4,4
3,8	11,08	-2,9	3,98	3,8	10,83	-2,9	4,14
4	11,11	-3	3,84	4	10,86	-3	3,92
4,2	11,13	-3,1	3,74	4,2	10,9	-3,1	3,79
4,4	11,15	-3,2	3,65	4,4	10,91	-3,2	3,7
4,6	11,16	-3,3	3,61	4,6	10,94	-3,3	3,62
4,8	11,17	-3,4	3,54	4,8	10,98	-3,4	3,56
5	11,2	-3,6	3,45	5	11,01	-3,5	3,49
5,2	11,2	-3,8	3,38	5,2	11,03	-3,6	3,46
5,4	11,25	-4	3,31	5,4	11,05	-3,8	3,37
5,6	11,27	-4,2	3,25	5,6	11,1	-4	3,3
5,8	11,27	-4,4	3,2	5,8	11,12	-4,2	3,24
6	11,29	-4,6	3,17	6	11,13	-4,4	3,21
6,2	11,31	-4,8	3,13	6,2	11,15	-4,6	3,15

<i>Продолжение таблицы Б14</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8
6,4	11,31	-5	3,08	6,4	11,16	-4,8	3,11
6,6	11,32	-5,2	3,06	6,6	11,19	-5	3,07
6,8	11,32	-5,4	3,02	6,8	11,2	-5,2	3,04
7	11,33	-5,6	3,01	7	11,22	-5,4	3,01
7,2	11,33	-5,8	2,98	7,2	11,22	-5,6	2,98
7,4	11,34	-6	2,96	7,4	11,24	-5,8	2,96
7,6	11,34	-6,2	2,93	7,6	11,26	-6	2,94
7,8	11,35	-6,4	2,91	7,8	11,27	-6,2	2,92
		-6,6	2,9	8	11,28	-6,4	2,89
		-6,8	2,88	8,2	11,29	-6,6	2,87
		-7	2,86	8,4	11,29	-6,8	2,85
		-7,2	2,85	8,6	11,31	-7	2,84

Таблица Б15

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии хлорофилла с массовой концентрацией 0,008 г/20 мл в водном растворе карбоната калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Водный раствор карбоната калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л				Водный раствор карбоната калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л с хлорофиллом (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
Vт, мл	pH	Vт, мл	pH	Vт, мл	pH	Vт, мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	7,78	0	7,86	0	7,23	0	7,11
0,1	9,02	-0,1	7,3	0,1	8,06	-0,1	6,84
0,2	9,4	-0,2	7,05	0,2	8,63	-0,2	6,75
0,3	9,62	-0,3	6,89	0,3	9,02	-0,3	6,62
0,4	9,76	-0,4	6,66	0,4	9,24	-0,4	6,6
0,5	9,92	-0,5	6,55	0,5	9,52	-0,5	6,4
0,6	10,02	-0,6	6,4	0,6	9,72	-0,6	6,27
0,7	10,13	-0,7	6,34	0,7	9,85	-0,7	6,18
0,8	10,23	-0,8	6,24	0,8	9,95	-0,8	6,04
0,9	10,33	-0,9	6,14	0,9	10,01	-0,9	5,94
1	10,41	-1	6,03	1	10,14	-1	5,76
1,1	10,46	-1,1	5,89	1,1	10,24	-1,1	5,59
1,2	10,51	-1,2	5,76	1,2	10,33	-1,2	5,46
1,3	10,57	-1,3	5,58	1,3	10,38	-1,3	5,22
1,4	10,62	-1,4	5,29	1,4	10,44	-1,4	4,89

<i>Продолжение таблицы Б15</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8
1,5	10,66	-1,5	4,9	1,5	10,47	-1,5	4,45
1,6	10,69	-1,6	4,36	1,6	10,52	-1,6	4,09
1,7	10,74	-1,7	4,1	1,7	10,55	-1,7	3,92
1,8	10,76	-1,8	3,9	1,8	10,58	-1,8	3,79
1,9	10,79	-1,9	3,81	1,9	10,62	-1,9	3,72
2	10,81	-2	3,72	2	10,64	-2	3,62
2,2	10,85	-2,1	3,64	2,2	10,72	-2,2	3,53
2,4	10,92	-2,2	3,59	2,4	10,75	-2,4	3,42
2,6	10,96	-2,3	3,52	2,6	10,78	-2,6	3,35
2,8	10,99	-2,4	3,46	2,8	10,8	-2,8	3,28
3	11,02	-2,6	3,4	3	10,82	-3	3,22
3,2	11,05	-2,8	3,35	3,2	10,84	-3,2	3,18
3,4	11,08	-3	3,27	3,4	10,86	-3,4	3,12
3,6	11,11	-3,2	3,21	3,6	10,9	-3,6	3,09
3,8	11,12	-3,4	3,16	3,8	10,92	-3,8	3,07
4	11,14	-3,6	3,14	4	10,95	-4	3,03
4,2	11,17	-3,8	3,11	4,2	10,96	-4,2	3
4,4	11,18	-4	3,07	4,4	10,97	-4,4	2,98
4,6	11,2	-4,2	3,05	4,6	10,98	-4,6	2,95
4,8	11,22	-4,4	3,02	4,8	11	-4,8	2,93
5	11,25	-4,6	3	5	11,01	-5	2,91
5,2	11,26	-4,8	2,97	5,2	11,02	-5,2	2,89
5,4	11,27	-5	2,94	5,4	11,04	-5,4	2,87
5,6	11,28	-5,2	2,95	5,6	11,08	-5,6	2,86
5,8	11,3	-5,4	2,92	5,8	11,11	-5,8	2,84
6	11,3	-5,6	2,89	6	11,13	-6	2,82
6,2	11,32	-5,8	2,87	6,2	11,14	-6,2	2,81
6,4	11,34	-6	2,85	6,4	11,16	-6,4	2,79
6,6	11,36	-6,2	2,84	6,6	11,18	-6,6	2,78
6,8	11,37	-6,4	2,82	6,8	11,18	-6,8	2,76
7	11,38	-6,6	2,8	7	11,19	-7	2,75
7,2	11,38	-6,8	2,79	7,2	11,2	-7,2	2,74
7,4	11,39	-7	2,78	7,4	11,22	-7,4	2,72
7,6	11,39	-7,2	2,78	7,6	11,23	-7,6	2,71
7,8	11,4	-7,4	2,76	7,8	11,24	-7,8	2,7
8	11,4	-7,6	2,75	8	11,25	-8	2,7

Приложение В "Коллоидные свойства билирубина"

Таблица В1

Зависимость изменения электропроводности и рН во времени водных дисперсий билирубина.

t, ч	$\kappa \cdot 10^{-4}$, См/м	рН
0,12	6	6,02
0,28	-	-
0,5	6,5	5,9
1	7,1	5,95
1,5	7,3	5,94
2	8,1	5,95
4	8,4	5,94
28	9,2	5,8
144	11	5,82

Таблица В2

Электрокинетический потенциал для водных дисперсий билирубина в присутствии хлорида калия (концентрация $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, значения рН задаются изменением концентрации соляной кислоты).

Концентрация кислоты/щелочи, моль/л	рН	$\kappa \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\kappa/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
1	2	3	4	5	6	7	8	9
$8 \cdot 10^{-4}$	3,44	419	419,0	7,1	4,0	14,8	847,3	25,8
10^{-3}	3,36	495	495,0	8,1	4,2	14,4	819,1	25,1
$2 \cdot 10^{-3}$	2,99	952	952,0	14,9	3,5	18,1	779,9	31,5
0	5,71	76,1	76,1	1,8	6,0	7,0	1190,5	12,1
10^{-5}	5,54	83,1	83,1	2,0	5,7	7,4	1182,6	12,9
$2 \cdot 10^{-5}$	5,12	81,9	81,9	1,9	4,9	8,6	1181,3	15,0
$2,5 \cdot 10^{-4}$ щ	6,98	124,8	124,8	2,6	3,9	12,1	1060,6	21,1
10^{-5}	5,79	78	78,0	2,0	8,8	4,5	1280,8	7,8
$5 \cdot 10^{-5}$	4,79	92	92,0	2,2	10,2	4,0	1221,0	7,0
$8 \cdot 10^{-5}$	4,42	105,4	105,4	2,1	14,8	3,5	974,6	6,0
10^{-4}	4,29	114,5	114,5	2,4	12,3	3,9	1051,7	6,7

Продолжение таблицы В2								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
$2 \cdot 10^{-4}$	3,96	157,2	157,2	2,8	12,4	4,5	896,2	7,8
$5 \cdot 10^{-4}$	3,55	294	294,0	5,2	5,2	10,9	882,8	19,0
10^{-3}	3,27	518	518,0	9,3	3,5	15,8	896,6	27,5
$2,5 \cdot 10^{-4}$ щ	7,15	128,1	128,1	2,8	3,9	11,7	1102,3	20,3
0	5,78	79,9	79,9	1,9	6,9	6,3	1163,0	10,9
10^{-5}	5,36	84,3	84,3	1,8	8,5	5,6	1047,8	9,8
$3 \cdot 10^{-5}$	4,89	89,2	89,2	1,9	5,5	8,6	1057,9	15,0
$5 \cdot 10^{-5}$	4,63	96	96,0	2,1	13,1	3,5	1072,9	6,2
$8 \cdot 10^{-5}$	4,35	111,9	111,9	2,4	9,7	4,8	1073,4	8,3
10^{-4}	4,27	121	121,0	2,4	18,6	2,7	980,7	4,8
$2 \cdot 10^{-4}$	3,93	163,5	163,5	3,0	41,0	1,3	913,9	2,3
$5 \cdot 10^{-4}$	3,59	293	293,0	4,4	12,0	5,6	746,6	9,8

Таблица В3

Расчет электрокинетического потенциала для водных дисперсий билирубина в присутствии катионов железа II и катионов железа III (концентрация концентрация сульфатов железа II,III - $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л, значения рН задаются изменением концентрации соляной кислоты или гидроксида калия).

Концентрация кислоты/ щелочи, моль/л	рН	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
1	2	3	4	5	6	7	8	9
сульфат железа II								
0	4,99	150,8	3,1	6,0	8,1	1030,1	14,1	-19,8
10^{-5}	4,93	156,1	3,3	12,3	3,8	1070,5	6,6	-9,3
$5 \cdot 10^{-5}$	4,51	171,5	3,6	12,3	3,9	1052,5	6,7	-9,4
$8 \cdot 10^{-5}$	4,34	180,7	3,6	17,9	2,8	1001,7	4,9	6,8
10^{-4}	4,24	186,1	3,4	9,4	5,8	918,3	10,1	14,2
$2 \cdot 10^{-4}$	3,96	225	4,6	7,9	6,3	1012,2	10,9	15,3
$5 \cdot 10^{-4}$	3,53	342	6,3	6,4	8,4	925,9	14,6	20,6
10^{-3}	3,25	562	10,5	8,4	6,4	933,2	11,1	15,6
0	4,77	151,8	3,2	9,6	5,0	1045,0	8,7	-12,2
10^{-5}	4,68	158,1	3,2	18,4	2,7	1020,6	4,6	-6,5

Продолжение таблицы В3								
1	2	3	4	5	6	7	8	9
$5 \cdot 10^{-5}$	4,52	174,9	3,5	23,5	2,1	1013,2	3,7	5,1
$8 \cdot 10^{-5}$	4,31	178	4,2	23,6	1,8	1176,3	3,1	4,4
10^{-4}	4,28	187,2	4,0	6,9	6,7	1078,2	11,7	16,5
$2 \cdot 10^{-4}$	3,98	225	4,2	12,1	4,4	935,6	7,7	10,8
$5 \cdot 10^{-4}$	3,55	346	6,8	7,8	6,6	975,4	11,5	16,2
10^{-3}	3,25	537	10,8	7,9	6,3	1004,7	10,9	15,4
сульфатов железа III								
0	3,16	545	4,0	8,3	16,5	366,4	28,8	40,5
$5 \cdot 10^{-5}$ щ	3,22	466	3,4	14,1	9,7	365,1	16,9	23,8
$2,5 \cdot 10^{-5}$ щ	3,29	476	3,2	18,1	8,1	339,9	14,2	19,9
$5 \cdot 10^{-4}$ щ	3,51	392	2,7	18,9	7,6	349,8	13,2	18,6
10^{-3} щ	5,89	295	2,5	28,6	4,1	422,4	7,2	-10,1
$1,5 \cdot 10^{-3}$ щ	6,58	381	3,1	7,6	15,9	412,1	27,7	-39,0
$2,5 \cdot 10^{-3}$ щ	9,07	477	3,9	2,8	43,7	406,4	76,1	-107,1

Таблица В4

Расчет значений электрокинетического потенциала водных дисперсий билирубина в зависимости от логарифма концентрации катионов железа II и катионов железа III через сутки и через трое суток (выделено серым).

Концентрация соли, моль/л	Логарифм концентрации	pH	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
сульфат железа II									
10^{-5}	6	5,53	17,9	0,6	3,1	9,8	1676,0	17,0	-24,0
$5 \cdot 10^{-5}$	5,3	5,31	22,8	0,6	3,8	10,7	1228,1	18,6	-26,1
10^{-4}	5	5,33	42,5	1,0	4,5	9,7	1134,6	16,9	-23,8
$5 \cdot 10^{-4}$	4,3	4,99	150,8	3,1	6,0	8,1	1030,1	14,1	-19,8
10^{-5}	6	5,75	17	0,5	3,8	9,0	1458,8	15,6	-22,0
$5 \cdot 10^{-5}$	5,3	4,92	24	0,7	7,6	4,6	1425,9	8,0	-11,2
10^{-4}	5	5,05	43,8	1,0	6,1	7,6	1084,5	13,2	-18,6
$5 \cdot 10^{-4}$	4,3	4,77	151,8	3,2	9,6	5,0	1045,0	8,7	-12,2
сульфат железа III									
10^{-5}	6	4,61	23,2	1,1	3,5	5,8	2442,5	10,1	-14,2
$5 \cdot 10^{-5}$	5,3	4,07	60,2	1,1	4,1	13,4	905,8	23,3	32,8

Продолжение таблицы В4

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10^{-4}	5	3,79	122,5	1,9	6,8	9,8	759,2	17,0	23,9
$5 \cdot 10^{-4}$	4,3	3,16	545	4,0	8,3	16,5	366,4	28,8	40,5
10^{-5}	6	4,76	20,5	0,5	17,1	2,3	1268,3	4,0	-5,6
$5 \cdot 10^{-5}$	5,3	4,17	55,9	1,0	9,6	5,8	894,5	10,1	14,2
10^{-4}	5	3,82	120,2	1,8	8,0	8,3	752,4	14,5	20,3
$5 \cdot 10^{-4}$	4,3	3,19	504	8,3	7,5	8,0	826,4	14,0	19,7

Таблица В5

Значения электрокинетического потенциала для водных дисперсий билирубина в зависимости от концентрации глицина и аспарагиновой кислоты.

Концентрация аминокислоты, моль/л	Отрицательный логарифм концентрации	pH	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	$I \cdot 10^{-4}$ А	t, с	$\alpha/I \cdot t$, См/м·А·с	H, В/м	$U \cdot 10^{-9}$ м2/В·с	ζ , мВ
Глицин									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	5,42	4,3	0,5	5,5	1,7	5348,8	2,9	-4,1
10^{-4}	4,0	5,47	5,5	0,2	4,4	6,1	1863,6	10,7	-15,0
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	5,48	5,4	0,2	3,6	6,8	2037,0	11,8	-16,6
10^{-3}	3,0	5,55	4,5	0,2	3,7	6,7	2020,2	11,7	-16,5
10^{-2}	2,0	5,61	6,3	0,3	3,8	6,3	2063,5	11,0	-15,4
Аспарагиновая кислота									
$5 \cdot 10^{-5}$	4,3	4,82	14	0,5	6,9	3,9	1857,1	6,8	-9,5
10^{-4}	4,0	4,36	28	0,6	6,6	6,7	1125,0	11,7	-16,4
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	3,82	83,5	1,7	4,7	10,5	998,8	18,4	25,8
10^{-3}	3,0	3,63	124	2,5	3,6	13,8	1001,6	24,0	33,8
10^{-2}	2,0	3,18	362	7,5	4,0	12,1	1035,9	21,0	29,6
$5 \cdot 10^{-4}$	3,3	3,96	63,2	7,5	6,1	1,4	5933,5	2,4	-3,4

Таблица В8

Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий билирубина от рН и электрокинетического потенциала в растворах КСl концентрацией $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л для времени коагуляции 30 минут и 1 час (значения рН задаются изменением концентрации соляной кислоты).

рН	ΔА через 30 минут	ΔА через час	ζ, мВ
4,68	0,07	0,11	7,9
4,16	0,05	0,085	22,1
3,51	0,045	0,065	33,1
5,71	0,04	0,059	-17
5,54	0,04	0,057	-18,2
5,12	0,065	0,085	-21,2
4,35	0,05	0,08	-11,7
4,27	0,065	0,12	-6,7
3,93	0,075	0,095	-3,3
3,59	0,07	0,11	13,7

Таблица В10

Изменение оптической плотности (А) во времени (t, мин) для водных дисперсий билирубина в растворе глицина и аспаргиновой кислоты $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л (значения рН задаются изменением концентрации соляной кислоты).

Глицин									
рН=5,92		рН=4,55		рН=4,11		рН=3,38		рН=3,09	
t, мин	А	t, мин	А	t, мин	А	t, мин	А	t, мин	А
1	0,43	1	0,59	1	0,59	1	0,7	1	0,59
2	0,42	2	0,59	2	0,58	2	0,69	2	0,58
5	0,415	5	0,58	5	0,57	5	0,67	5	0,55
10	0,4	10	0,56	10	0,55	10	0,64	10	0,53
20	0,39	20	0,55	20	0,54	20	0,6	20	0,5
30	0,38	30	0,52	30	0,5	30	0,52	30	0,43
40	0,37	40	0,51	40	0,48	40	0,5	40	0,41
50	0,36	50	0,5	50	0,48	50	0,47	50	0,39
60	0,36	60	0,5	60	0,47	60	0,43	60	0,38

<i>Продолжение таблицы В10</i>									
Аспарагиновая кислота									
рН=6,38		рН=3,83		рН=3,62		рН=3,17		рН=3,01	
t,мин	A	t,мин	A	t,мин	A	t,мин	A	t,мин	A
1	0,36	1	0,4	1	0,52	1	0,62	1	0,54
2	0,35	2	0,4	2	0,51	2	0,62	2	0,53
5	0,348	5	0,39	5	0,5	5	0,6	5	0,52
10	0,34	10	0,38	10	0,48	10	0,58	10	0,5
20	0,335	20	0,36	20	0,45	20	0,57	20	0,48
30	0,325	30	0,35	30	0,415	30	0,56	30	0,46
40	0,315	40	0,325	40	0,41	40	0,52	40	0,42
50	0,31	50	0,31	50	0,395	50	0,5	50	0,39
60	0,3	60	0,3	60	0,38	60	0,5	60	0,39

Таблица В11

Зависимость изменения оптической плотности водных дисперсий билирубина от рН и электрокинетического потенциала в растворах глицина и аспарагиновой кислоты концентрацией $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л для времени коагуляции 30 минут и 1 час (значения рН задаются изменением концентрации соляной кислоты).

Концентрация соляной кислоты с	рН	$\alpha \cdot 10^{-4}$, См/м	ζ , мВ	ΔA через 30 минут	ΔA через час
Глицин					
0	5,92	4,1	-6,7	0,05	0,07
$5 \cdot 10^{-5}$	4,55	20,7	-13,1	0,07	0,09
10^{-4}	4,11	46,3	-22,5	0,09	0,12
$5 \cdot 10^{-4}$	3,38	234	5,4	0,18	0,27
10^{-3}	3,09	463	17,6	0,16	0,21
Аспарагиновая кислота					
$5 \cdot 10^{-4}$ (щелочи)	6,38	76	-25,3	0,035	0,06
0	3,83	76,2	-6,8	0,05	0,1
10^{-4}	3,62	139,7	-9,0	0,105	0,14
$5 \cdot 10^{-4}$	3,17	372	20,8	0,05	0,12
10^{-3}	3,01	579	20,8	0,06	0,15

Таблица В12

Адсорбция протонов и гидроксид-ионов на билирубине в присутствии хлоридов калия различной концентрации.

рН	Объем КОН/НСl, пошедший на титрование фонового раствора V ₀ , мл	Объем КОН (НСl), пошедший на титрование водной дисперсии V ₁ , мл	Разность объемов V ₁ - V ₀ , мл	Избыток сорбированных ионов dx/m, мол/г	Концентрация КОН/НСl, используемых для титрования с, моль/л
1	2	3	4	5	6
Концентрация хлорида калия 5·10 ⁻⁴ моль/л					
3,25	1,60	1,40	-0,20	-0,05	0,01
3,5	0,90	0,80	-0,10	-0,02	0,01
3,75	0,50	0,40	-0,10	-0,02	0,01
4	0,30	0,30	0,00	0,00	0,01
4,25	0,20	0,20	0,00	0,00	0,01
4,5	0,20	0,20	0,00	0,00	0,01
4,75	0,20	0,10	-0,10	-0,02	0,01
5	0,09	0,10	0,01	0,00	0,01
5,25	0,07	0,00	-0,07	-0,02	0,01
5,5	0,06	0,01	0,05	0,01	0,01
5,75	0,05	0,02	0,03	0,01	0,01
6	0,03	0,02	0,01	0,00	0,01
6,25	0,02	0,03	-0,01	0,00	0,01
6,5	0,00	0,04	-0,04	-0,02	0,025
6,75	0,01	0,05	-0,04	-0,02	0,025
7	0,02	0,05	-0,04	-0,02	0,025
7,25	0,02	0,06	-0,04	-0,02	0,025
7,5	0,03	0,07	-0,04	-0,02	0,025
7,75	0,04	0,07	-0,03	-0,02	0,025
8	0,05	0,08	-0,03	-0,02	0,025
8,25	0,06	0,09	-0,03	-0,02	0,025
8,5	0,06	0,10	-0,03	-0,02	0,025
8,75	0,07	0,10	-0,03	-0,02	0,025
9	0,08	0,10	-0,02	-0,01	0,025
9,25	0,09	0,10	-0,01	-0,01	0,025
9,5	0,10	0,20	-0,10	-0,06	0,025
9,75	0,10	0,30	-0,20	-0,13	0,025
10	0,10	0,30	-0,20	-0,13	0,025
10,25	0,30	0,50	-0,20	-0,13	0,025

<i>Продолжение таблицы В12</i>					
1	2	3	4	5	6
10,5	0,60	0,70	-0,10	-0,06	0,025
10,75	1,10	1,30	-0,20	-0,13	0,025
11	2,40	2,60	-0,20	-0,13	0,025
11,25	4,20	6,40	-2,20	-1,38	0,025
Концентрация хлорида калия 10^{-2} моль/л					
3,25	1,30	1,50	0,20	0,05	0,01
3,5	0,70	0,90	0,20	0,05	0,01
3,75	0,40	0,60	0,20	0,05	0,01
4	0,30	0,40	0,10	0,03	0,01
4,25	0,20	0,20	0,00	0,00	0,01
4,5	0,20	0,20	0,00	0,00	0,01
4,75	0,09	0,10	0,01	0,00	0,01
5	0,07	0,10	0,03	0,01	0,01
5,25	0,06	0,10	0,04	0,01	0,01
5,5	0,04	0,00	0,04	0,01	0,01
5,75	0,03	0,01	0,02	0,01	0,01
6	0,02	0,01	0,00	0,00	0,01
6,25	0,00	0,02	-0,02	-0,01	0,01
6,5	0,00	0,03	-0,03	-0,01	0,01
6,75	0,01	0,04	-0,03	-0,02	0,025
7	0,02	0,05	-0,03	-0,02	0,025
7,25	0,03	0,06	-0,03	-0,02	0,025
7,5	0,03	0,07	-0,04	-0,02	0,025
7,75	0,04	0,08	-0,04	-0,02	0,025
8	0,05	0,09	-0,04	-0,02	0,025
8,25	0,06	0,10	-0,04	-0,02	0,025
8,5	0,06	0,11	-0,04	-0,03	0,025
8,75	0,07	0,11	-0,04	-0,03	0,025
9	0,08	0,12	-0,04	-0,03	0,025
9,25	0,09	0,13	-0,05	-0,03	0,025
9,5	0,09	0,20	-0,11	-0,07	0,025
9,75	0,10	0,30	-0,20	-0,13	0,025
10	0,20	0,40	-0,20	-0,13	0,025
10,25	0,40	0,60	-0,20	-0,13	0,025
10,5	0,80	1,00	-0,20	-0,13	0,025
10,75	1,50	1,50	0,00	0,00	0,025
11	2,60	2,40	0,20	0,13	0,025
11,25	5,00	4,40	0,60	0,38	0,025
Концентрация хлорида калия 10^{-1} моль/л					
3,25	1,30	1,50	0,20	0,05	0,01
3,5	0,70	0,90	0,20	0,05	0,01

<i>Продолжение таблицы В12</i>					
1	2	3	4	5	6
3,75	0,40	0,60	0,20	0,05	0,01
4	0,30	0,40	0,10	0,02	0,01
4,25	0,09	0,20	0,11	0,03	0,01
4,5	0,08	0,20	0,12	0,03	0,01
4,75	0,07	0,10	0,03	0,01	0,01
5	0,06	0,10	0,04	0,01	0,01
5,25	0,05	0,00	-0,05	-0,01	0,01
5,5	0,04	0,00	0,04	0,01	0,01
5,75	0,03	0,01	0,02	0,00	0,01
6	0,01	0,02	0,00	0,00	0,01
6,25	0,00	0,03	-0,02	-0,01	0,01
6,5	0,00	0,03	-0,03	-0,01	0,01
6,75	0,01	0,04	-0,03	-0,02	0,025
7	0,02	0,05	-0,03	-0,02	0,025
7,25	0,03	0,06	-0,03	-0,02	0,025
7,5	0,03	0,07	-0,03	-0,02	0,025
7,75	0,04	0,08	-0,03	-0,02	0,025
8	0,05	0,08	-0,03	-0,02	0,025
8,25	0,06	0,09	-0,03	-0,02	0,025
8,5	0,07	0,10	-0,03	-0,02	0,025
8,75	0,07	0,10	-0,03	-0,02	0,025
9	0,08	0,10	-0,02	-0,01	0,025
9,25	0,09	0,15	-0,06	-0,04	0,025
9,5	0,10	0,20	-0,10	-0,06	0,025
9,75	0,10	0,40	-0,30	-0,19	0,025
10	0,20	0,50	-0,30	-0,19	0,025
10,25	0,40	1,10	-0,70	-0,44	0,025
10,5	0,60	1,90	-1,30	-0,81	0,025
10,75	1,00	2,40	-1,40	-0,88	0,025
11	2,60	3,20	-0,60	-0,38	0,025
11,25	4,00	4,80	-0,80	-0,50	0,025
Концентрация хлорида калия 1 моль/л					
3,25	1,60	1,30	-0,30	-0,07	0,01
3,5	0,90	0,80	-0,10	-0,02	0,01
3,75	0,60	0,50	-0,10	-0,02	0,01
4	0,40	0,30	-0,10	-0,02	0,01
4,25	0,30	0,20	-0,10	-0,02	0,01
4,5	0,20	0,20	0,00	0,00	0,01
4,75	0,20	0,10	-0,10	-0,02	0,01
5	0,10	0,10	0,00	0,00	0,01
5,25	0,10	0,10	0,00	0,00	0,01

<i>Продолжение таблицы В12</i>					
1	2	3	4	5	6
5,5	0,10	0,01	-0,09	-0,02	0,01
5,75	0,10	0,02	0,08	0,02	0,01
6	0,10	0,03	0,07	0,02	0,01
6,25	0,10	0,04	0,06	0,02	0,01
6,5	0,00	0,05	-0,04	-0,03	0,025
6,75	0,01	0,05	-0,04	-0,03	0,025
7	0,02	0,06	-0,04	-0,03	0,025
7,25	0,03	0,07	-0,04	-0,03	0,025
7,5	0,03	0,08	-0,04	-0,03	0,025
7,75	0,04	0,09	-0,05	-0,03	0,025
8	0,05	0,10	-0,05	-0,03	0,025
8,25	0,06	0,10	-0,04	-0,03	0,025
8,5	0,07	0,10	-0,03	-0,02	0,025
8,75	0,07	0,10	-0,03	-0,02	0,025
9	0,08	0,10	-0,02	-0,01	0,025
9,25	0,09	0,20	-0,11	-0,07	0,025
9,5	0,10	0,30	-0,20	-0,13	0,025
9,75	0,10	0,40	-0,30	-0,19	0,025
10	0,20	0,50	-0,30	-0,19	0,025
10,25	0,35	1,00	-0,65	-0,41	0,025
10,5	0,60	2,00	-1,40	-0,88	0,025
10,75	1,00	2,80	-1,80	-1,13	0,025
11	1,70	4,00	-2,30	-1,44	0,025
11,25	3,20	6,20	-3,00	-1,88	0,025

Таблица В13

Адсорбция протонов и гидроксид-ионов на билирубине в присутствии карбоната калия различной концентрации.

рН	Объем КОН/НСl, пошедший на титрование фонового раствора V ₀ , мл	Объем КОН (НСl), пошедший на титрование водной дисперсии V ₁ , мл	Разность объемов V ₁ - V ₀ , мл	Избыток сорбированных ионов dx/m, мол/г	Концентрация КОН/НСl, используемых для титрования с, моль/л
1	2	3	4	5	6
Концентрация карбоната калия 5 · 10 ⁻⁴ моль/л					
3,25	3,20	3,00	-0,20	-0,05	0,01
3,5	2,40	2,40	0,00	0,00	0,01
3,75	2,00	2,00	0,00	0,00	0,01
4	1,80	1,80	0,00	0,00	0,01
4,25	1,70	1,70	0,00	0,00	0,01
4,5	1,60	1,60	0,00	0,00	0,01
4,75	1,60	1,50	-0,10	-0,03	0,01
5	1,50	1,50	0,00	0,00	0,01
5,25	1,50	1,40	-0,10	-0,03	0,01
5,5	1,40	1,30	-0,10	-0,03	0,01
5,75	1,30	1,20	-0,10	-0,03	0,01
6	1,10	1,10	0,00	0,00	0,01
6,25	0,80	0,80	0,00	0,00	0,01
6,5	0,60	0,60	0,00	0,00	0,01
6,75	0,40	0,40	0,00	0,00	0,01
7	0,30	0,30	0,00	0,00	0,01
7,25	0,18	0,20	0,02	0,00	0,01
7,5	0,04	0,00	-0,04	-0,01	0,01
7,75	0,02	0,10	-0,08	-0,05	0,025
8	0,02	0,12	-0,10	-0,06	0,025
8,25	0,04	0,13	-0,09	-0,06	0,025
8,5	0,06	0,15	-0,09	-0,06	0,025
8,75	0,08	0,16	-0,08	-0,05	0,025
9	0,10	0,18	-0,08	-0,05	0,025
9,25	0,10	0,19	-0,09	-0,06	0,025
9,5	0,20	0,25	-0,05	-0,03	0,025
9,75	0,30	0,40	-0,10	-0,06	0,025
10	0,50	0,60	-0,10	-0,06	0,025

<i>Продолжение таблицы В13</i>					
1	2	3	4	5	6
10,25	0,80	0,90	-0,10	-0,06	0,025
10,5	1,10	1,30	-0,20	-0,13	0,025
10,75	1,70	2,20	-0,50	-0,31	0,025
11	2,80	3,60	-0,80	-0,50	0,025
11,25	5,00	7,40	-2,40	-1,50	0,025
Концентрация карбоната калия 10^{-3} моль/л					
3,25	4,20	4,60	0,40	0,10	0,01
3,5	3,60	3,80	0,20	0,05	0,01
3,75	3,10	3,40	0,30	0,08	0,01
4	2,90	3,20	0,30	0,08	0,01
4,25	2,80	3,00	0,20	0,05	0,01
4,5	2,80	3,00	0,20	0,05	0,01
4,75	2,70	2,90	0,20	0,05	0,01
5	2,60	2,80	0,20	0,05	0,01
5,25	2,50	2,70	0,20	0,05	0,01
5,5	2,40	2,50	0,10	0,03	0,01
5,75	2,20	2,30	0,10	0,02	0,01
6	1,80	1,90	0,10	0,03	0,01
6,25	1,50	1,50	0,00	0,00	0,01
6,5	1,10	1,20	0,10	0,03	0,01
6,75	0,70	0,80	0,10	0,03	0,01
7	0,50	0,60	0,10	0,03	0,01
7,25	0,30	0,40	0,10	0,03	0,01
7,5	0,20	0,20	0,00	0,00	0,01
7,75	0,10	0,00	-0,10	-0,03	0,01
8	0,06	0,00	-0,06	-0,02	0,01
8,25	0,00	0,03	-0,02	-0,01	0,025
8,5	0,02	0,05	-0,03	-0,02	0,025
8,75	0,05	0,08	-0,03	-0,02	0,025
9	0,08	0,10	-0,02	-0,01	0,025
9,25	0,10	0,20	-0,10	-0,06	0,025
9,5	0,20	0,30	-0,10	-0,06	0,025
9,75	0,40	0,60	-0,20	-0,13	0,025
10	0,70	1,00	-0,30	-0,19	0,025
10,25	1,00	1,60	-0,60	-0,38	0,025
10,5	1,50	2,40	-0,90	-0,56	0,025
10,75	2,00	3,40	-1,40	-0,88	0,025
11	3,20	4,80	-1,60	-1,00	0,025
11,25	5,40	7,20	-1,80	-1,13	0,025

Таблица В14

Исходные данные потенциометрического титрования 20 мл водной дисперсии хбилирубина с массовой концентрацией 0,04 г/20 мл в водном растворе хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Водный раствор хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л (фон)				Водный раствор хлорида калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л с билирубином			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,46	0	6,45	0	5,21	0	5,2
0,1	9,55	-0,1	4,48	0,1	8,61	-0,1	4,57
0,2	10,02	-0,2	4,03	0,2	9,32	-0,2	4,07
0,3	10,22	-0,3	3,86	0,3	9,63	-0,3	3,85
0,4	10,37	-0,4	3,72	0,4	10,02	-0,4	3,74
0,5	10,5	-0,5	3,62	0,5	10,16	-0,5	3,64
0,6	10,58	-0,6	3,54	0,6	10,31	-0,6	3,55
0,7	10,65	-0,7	3,48	0,7	10,45	-0,7	3,51
0,8	10,71	-0,8	3,43	0,8	10,52	-0,8	3,45
0,9	10,75	-0,9	3,38	0,9	10,57	-0,9	3,4
1	10,8	-1	3,34	1	10,62	-1	3,35
1,1	10,84	-1,1	3,3	1,1	10,67	-1,1	3,32
1,2	10,87	-1,2	3,27	1,2	10,73	-1,2	3,28
1,3	10,9	-1,3	3,23	1,3	10,73	-1,3	3,26
1,4	10,94	-1,4	3,21	1,4	10,77	-1,4	3,24
1,5	10,96	-1,5	3,18	1,5	10,81	-1,5	3,22
1,6	10,98	-1,6	3,15	1,6	10,84	-1,6	3,17
1,7	11	-1,7	3,13	1,7	10,86	-1,7	3,15
1,8	11,03	-1,8	3,1	1,8	10,88	-1,8	3,14
1,9	11,04	-1,9	3,09	1,9	10,9	-1,9	3,12
2	11,06	-2	3,06	2	10,93	-2	3,1
2,2	11,09	-2,2	3,02	2,2	10,95	-2,2	3,08
2,4	11,12	-2,4	2,99	2,4	10,97	-2,4	3,04
2,6	11,16	-2,6	2,96	2,6	10,99	-2,6	3,01
2,8	11,17	-2,8	2,94	2,8	11,01	-2,8	2,99
3	11,19	-3	2,91	3	11,03	-3	2,95
3,2	11,21	-3,2	2,88	3,2	11,04	-3,2	2,92
3,4	11,24	-3,4	2,86	3,4	11,04	-3,4	2,91
3,6	11,25	-3,6	2,84	3,6	11,06	-3,6	2,89
3,8	11,26	-3,8	2,82	3,8	11,08	-3,8	2,86
4	11,28	-4	2,8	4	11,1	-4	2,84
4,2	11,29	-4,2	2,79	4,2	11,11	-4,2	2,82

Продолжение таблицы В14

1	2	3	4	5	6	7	8
4,4	11,3	-4,4	2,76	4,4	11,12	-4,4	2,81
4,6	11,31	-4,6	2,75	4,6	11,14	-4,6	2,78
4,8	11,31	-4,8	2,73	4,8	11,16	-4,8	2,76
5	11,32	-5	2,72	5	11,17	-5	2,75
5,2	11,35	-5,2	2,71	5,2	11,17	-5,2	2,74
5,4	11,38	-5,4	2,69	5,4	11,18	-5,4	2,72
5,6	11,39	-5,6	2,68	5,6	11,19	-5,6	2,7
5,8	11,4	-5,8	2,67	5,8	11,22	-5,8	2,69
6	11,42	-6	2,66	6	11,23	-6	2,68
6,2	11,43	-6,2	2,65	6,2	11,25	-6,2	2,67
6,4	11,45	-6,4	2,64	6,4	11,25	-6,4	2,66
6,6	11,46	-6,6	2,63	6,6	11,26	-6,6	2,65
6,8	11,47	-6,8	2,62	6,8	11,27	-6,8	2,64
7	11,48	-7	2,61	7	11,28	-7	2,63
7,2	11,48	-7,2	2,6	7,2	11,29	-7,2	2,62
7,4	11,49	-7,4	2,6	7,4	11,3	-7,4	2,61
7,6	11,5	-7,6	2,59	7,6	11,31	-7,6	2,6
		-7,8	2,58	7,8	11,32	-7,8	2,6
		-8	2,57	8	11,33	-8	2,59

Таблица В15

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии билирубина с массовой концентрацией 0,04 г/20 мл в водном растворе хлорида калия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л.

Водный раствор хлорида калия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л				Водный раствор хлорида калия $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л с билирубином			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,4	0	6,27	0	5,59	0	5,49
0,1	9,67	-0,1	4,53	0,1	8,35	-0,1	4,62
0,2	9,94	-0,2	4,05	0,2	9,26	-0,2	4,24
0,3	10,11	-0,3	3,82	0,3	9,73	-0,3	4,04
0,4	10,21	-0,4	3,74	0,4	9,88	-0,4	3,88
0,5	10,31	-0,5	3,64	0,5	10,01	-0,5	3,76
0,6	10,38	-0,6	3,57	0,6	10,15	-0,6	3,66
0,7	10,44	-0,7	3,5	0,7	10,28	-0,7	3,59
0,8	10,49	-0,8	3,43	0,8	10,39	-0,8	3,52

Продолжение таблицы В15

1	2	3	4	5	6	7	8
0,9	10,54	-0,9	3,39	0,9	10,42	-0,9	3,46
1	10,59	-1	3,33	1	10,48	-1	3,41
1,1	10,59	-1,1	3,3	1,1	10,55	-1,1	3,37
1,2	10,63	-1,2	3,27	1,2	10,59	-1,2	3,33
1,3	10,69	-1,3	3,23	1,3	10,67	-1,3	3,3
1,4	10,7	-1,4	3,2	1,4	10,72	-1,4	3,27
1,5	10,73	-1,5	3,17	1,5	10,75	-1,5	3,24
1,6	10,77	-1,6	3,15	1,6	10,8	-1,6	3,2
1,7	10,79	-1,7	3,13	1,7	10,84	-1,7	3,18
1,8	10,81	-1,8	3,1	1,8	10,87	-1,8	3,16
1,9	10,85	-1,9	3,08	1,9	10,88	-1,9	3,14
2	10,86	-2	3,06	2	10,89	-2	3,11
2,2	10,9	-2,2	3,03	2,2	10,92	-2,2	3,07
2,4	10,94	-2,4	3	2,4	10,95	-2,4	3,04
2,6	10,95	-2,6	2,97	2,6	11,01	-2,6	3,01
2,8	11,01	-2,8	2,94	2,8	11,04	-2,8	2,97
3	11,02	-3	2,92	3	11,08	-3	2,95
3,2	11,04	-3,2	2,9	3,2	11,12	-3,2	2,92
3,4	11,07	-3,4	2,87	3,4	11,15	-3,4	2,88
3,6	11,1	-3,6	2,85	3,6	11,18	-3,6	2,85
3,8	11,12	-3,8	2,83	3,8	11,2	-3,8	2,84
4	11,14	-4	2,81	4	11,22	-4	2,83
4,2	11,19	-4,2	2,8	4,2	11,24	-4,2	2,81
4,4	11,21	-4,4	2,78	4,4	11,25	-4,4	2,8
4,6	11,22	-4,6	2,76	4,6	11,27	-4,6	2,78
4,8	11,22	-4,8	2,75	4,8	11,29	-4,8	2,76
5	11,24	-5	2,73	5	11,3	-5	2,75
5,2	11,26	-5,2	2,72	5,2	11,31	-5,2	2,74
5,4	11,27	-5,4	2,71	5,4	11,32	-5,4	2,72
5,6	11,28	-5,6	2,69	5,6	11,33	-5,6	2,71
5,8	11,29	-5,8	2,68	5,8	11,34	-5,8	2,7
6	11,29	-6	2,67	6	11,36	-6	2,69
6,2	11,3	-6,2	2,66	6,2	11,37	-6,2	2,68
6,4	11,3	-6,4	2,65	6,4	11,38	-6,4	2,66
6,6	11,31	-6,6	2,64	6,6	11,39	-6,6	2,65
6,8	11,32	-6,8	2,63	6,8	11,4	-6,8	2,64
7	11,33	-7	2,62	7	11,41	-7	2,63
7,2	11,34	-7,2	2,61	7,2	11,43	-7,2	2,62
7,4	11,36	-7,4	2,6	7,4	11,44	-7,4	2,61
7,6	11,35	-7,6	2,59	7,6	11,45	-7,6	2,6
7,8	11,37	-7,8	2,58	7,8	11,45	-7,8	2,59

Таблица В16

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии билирубина с массовой концентрацией 0,04 г/20 мл в водном растворе хлорида калия 0,1 моль/л.

Водный раствор хлорида калия 0,1 моль/л				Водный раствор хлорида калия 0,1 моль/л с билирубином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH (2,5·10 ⁻² моль/л)		Титр. HCl (1·10 ⁻² моль/л)		Титр. NaOH (2,5·10 ⁻² моль/л)		Титр. HCl (1·10 ⁻² моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	6,4	0	6,31	0	5,46	0	5,26
0,1	9,62	-0,1	4,14	0,1	8,5	-0,1	4,52
0,2	10	-0,2	4,05	0,2	9,48	-0,2	4,16
0,3	10,17	-0,3	3,89	0,3	9,58	-0,3	4,02
0,4	10,25	-0,4	3,74	0,4	9,66	-0,4	3,86
0,5	10,37	-0,5	3,65	0,5	9,9	-0,5	3,76
0,6	10,44	-0,6	3,56	0,6	10,01	-0,6	3,66
0,7	10,51	-0,7	3,49	0,7	10,06	-0,7	3,57
0,8	10,58	-0,8	3,43	0,8	10,1	-0,8	3,52
0,9	10,63	-0,9	3,38	0,9	10,16	-0,9	3,46
1	10,67	-1	3,33	1	10,2	-1	3,41
1,1	10,77	-1,1	3,29	1,1	10,25	-1,1	3,37
1,2	10,78	-1,2	3,26	1,2	10,3	-1,2	3,34
1,3	10,82	-1,3	3,22	1,3	10,35	-1,3	3,3
1,4	10,84	-1,4	3,19	1,4	10,38	-1,4	3,27
1,5	10,85	-1,5	3,16	1,5	10,4	-1,5	3,24
1,6	10,86	-1,6	3,13	1,6	10,42	-1,6	3,21
1,7	10,87	-1,7	3,1	1,7	10,45	-1,7	3,19
1,8	10,88	-1,8	3,08	1,8	10,48	-1,8	3,16
2	10,89	-1,9	3,06	1,9	10,5	-1,9	3,14
2,2	10,91	-2	3,03	2	10,52	-2	3,12
2,4	10,94	-2,2	2,99	2,2	10,62	-2,2	3,07
2,6	10,97	-2,4	2,96	2,4	10,74	-2,4	3,05
2,8	11,02	-2,6	2,93	2,6	10,78	-2,6	3,01
3	11,06	-2,8	2,89	2,8	10,83	-2,8	2,98
3,2	11,09	-3	2,86	3	10,96	-3	2,96
3,4	11,13	-3,2	2,83	3,2	10,98	-3,2	2,93
3,6	11,16	-3,4	2,81	3,4	11,02	-3,4	2,91
3,8	11,22	-3,6	2,79	3,6	11,06	-3,6	2,88
4	11,24	-3,8	2,76	3,8	11,11	-3,8	2,86
4,2	11,28	-4	2,74	4	11,13	-4	2,84

Продолжение таблицы В16

1	2	3	4	5	6	7	8
4,4	11,31	-4,2	2,73	4,2	11,16	-4,2	2,83
4,6	11,32	-4,4	2,71	4,4	11,17	-4,4	2,81
4,8	11,34	-4,6	2,7	4,6	11,21	-4,6	2,79
5	11,36	-4,8	2,68	4,8	11,23	-4,8	2,78
5,2	11,4	-5	2,67	5	11,26	-5	2,76
5,4	11,43	-5,2	2,65	5,2	11,27	-5,2	2,75
5,6	11,46	-5,4	2,64	5,4	11,3	-5,4	2,73
5,8	11,49	-5,6	2,63	5,6	11,33	-5,6	2,72
6	11,5	-5,8	2,62	5,8	11,35	-5,8	2,71
6,2	11,51	-6	2,61	6	11,37	-6	2,69
6,4	11,52	-6,2	2,59	6,2	11,39	-6,2	2,68
6,6	11,54	-6,4	2,58	6,4	11,41	-6,4	2,67
6,8	11,55	-6,6	2,57	6,6	11,43	-6,6	2,66
7	11,58	-6,8	2,56	6,8	11,47	-6,8	2,65
7,2	11,59	-7	2,56	7	11,48	-7	2,64
7,4	11,6	-7,2	2,55	7,2	11,49	-7,2	2,63
7,6	11,62	-7,4	2,53	7,4		-7,4	2,62
7,8	11,64	-7,6	2,53	7,6		-7,6	2,61

Таблица В17

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии билирубина с массовой концентрацией 0,04 г/20 мл в водном растворе хлорида калия 1,0 моль/л

Водный раствор хлорида калия 1,0 моль/л				Водный раствор хлорида калия 1,0 моль/л с билирубином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
Vт, мл	pH	Vт, мл	pH	Vт, мл	pH	Vт, мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	5,21	0	5,2	0	5,59	0	5,49
0,1	8,61	-0,1	4,57	0,1	8,35	-0,1	4,62
0,2	9,32	-0,2	4,07	0,2	9,26	-0,2	4,24
0,3	9,63	-0,3	3,85	0,3	9,73	-0,3	4,04
0,4	10,02	-0,4	3,74	0,4	9,88	-0,4	3,88
0,5	10,16	-0,5	3,64	0,5	10,01	-0,5	3,76
0,6	10,31	-0,6	3,55	0,6	10,15	-0,6	3,66
0,7	10,45	-0,7	3,51	0,7	10,28	-0,7	3,59
0,8	10,52	-0,8	3,45	0,8	10,39	-0,8	3,52
0,9	10,57	-0,9	3,4	0,9	10,42	-0,9	3,46

Продолжение таблицы В17

1	2	3	4	5	6	7	8
1	10,62	-1	3,35	1	10,48	-1	3,41
1,1	10,67	-1,1	3,32	1,1	10,55	-1,1	3,37
1,2	10,73	-1,2	3,28	1,2	10,59	-1,2	3,33
1,3	10,73	-1,3	3,26	1,3	10,67	-1,3	3,3
1,4	10,77	-1,4	3,24	1,4	10,72	-1,4	3,27
1,5	10,81	-1,5	3,22	1,5	10,75	-1,5	3,24
1,6	10,84	-1,6	3,17	1,6	10,8	-1,6	3,2
1,7	10,86	-1,7	3,15	1,7	10,84	-1,7	3,18
1,8	10,88	-1,8	3,14	1,8	10,87	-1,8	3,16
1,9	10,9	-1,9	3,12	1,9	10,88	-1,9	3,14
2	10,93	-2	3,1	2	10,89	-2	3,11
2,2	10,95	-2,2	3,08	2,2	10,92	-2,2	3,07
2,4	10,97	-2,4	3,04	2,4	10,95	-2,4	3,04
2,6	10,99	-2,6	3,01	2,6	11,01	-2,6	3,01
2,8	11,01	-2,8	2,99	2,8	11,04	-2,8	2,97
3	11,03	-3	2,95	3	11,08	-3	2,95
3,2	11,04	-3,2	2,92	3,2	11,12	-3,2	2,92
3,4	11,04	-3,4	2,91	3,4	11,15	-3,4	2,88
3,6	11,06	-3,6	2,89	3,6	11,18	-3,6	2,85
3,8	11,08	-3,8	2,86	3,8	11,2	-3,8	2,84
4	11,1	-4	2,84	4	11,22	-4	2,83
4,2	11,11	-4,2	2,82	4,2	11,24	-4,2	2,81
4,4	11,12	-4,4	2,81	4,4	11,25	-4,4	2,8
4,6	11,14	-4,6	2,78	4,6	11,27	-4,6	2,78
4,8	11,16	-4,8	2,76	4,8	11,29	-4,8	2,76
5	11,17	-5	2,75	5	11,3	-5	2,75
5,2	11,17	-5,2	2,74	5,2	11,31	-5,2	2,74
5,4	11,18	-5,4	2,72	5,4	11,32	-5,4	2,72
5,6	11,19	-5,6	2,7	5,6	11,33	-5,6	2,71
5,8	11,22	-5,8	2,69	5,8	11,34	-5,8	2,7
6	11,23	-6	2,68	6	11,36	-6	2,69
6,2	11,25	-6,2	2,67	6,2	11,37	-6,2	2,68
6,4	11,25	-6,4	2,66	6,4	11,38	-6,4	2,66
6,6	11,26	-6,6	2,65	6,6	11,39	-6,6	2,65
6,8	11,27	-6,8	2,64	6,8	11,4	-6,8	2,64
7	11,28	-7	2,63	7	11,41	-7	2,63
7,2	11,29	-7,2	2,62	7,2	11,43	-7,2	2,62
7,4	11,3	-7,4	2,61	7,4	11,44	-7,4	2,61
7,6	11,31	-7,6	2,6	7,6	11,45	-7,6	2,6
7,8	11,32	-7,8	2,6	7,8	11,45	-7,8	2,59
8	11,33	-8	2,59	8	11,46	-8	2,59

Таблица В18

Исходные данные потенциометрического титрования 20 мл водной дисперсии билирубина с массовой концентрацией 0,04 г/20 мл в водном растворе карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л.

Водный раствор карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л				Водный раствор карбоната калия $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л с билирубином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	8,32	0	8,26	0	8,02	0	7,93
0,1	9,17	-0,1	7,63	0,1	8,94	-0,1	7,69
0,2	9,44	-0,2	7,38	0,2	9,25	-0,2	7,49
0,3	9,59	-0,3	7,17	0,3	9,39	-0,3	7,35
0,4	9,68	-0,4	7,02	0,4	9,56	-0,4	7,22
0,5	9,81	-0,5	6,95	0,5	9,63	-0,5	7,12
0,6	9,92	-0,6	6,85	0,6	9,75	-0,6	6,98
0,7	9,99	-0,7	6,75	0,7	9,81	-0,7	6,83
0,8	10,08	-0,8	6,68	0,8	9,89	-0,8	6,73
0,9	10,14	-0,9	6,6	0,9	9,95	-0,9	6,65
1	10,19	-1	6,52	1	9,99	-1	6,58
1,1	10,28	-1,1	6,48	1,1	10,05	-1,1	6,52
1,2	10,34	-1,2	6,41	1,2	10,1	-1,2	6,44
1,3	10,43	-1,3	6,34	1,3	10,14	-1,3	6,39
1,4	10,45	-1,4	6,29	1,4	10,15	-1,4	6,28
1,5	10,48	-1,5	6,22	1,5	10,2	-1,5	6,24
1,6	10,52	-1,6	6,16	1,6	10,23	-1,6	6,17
1,7	10,59	-1,7	6,08	1,7	10,28	-1,7	6,11
1,8	10,62	-1,8	6	1,8	10,3	-1,8	6,04
1,9	10,65	-1,9	5,95	1,9	10,33	-1,9	5,98
2	10,71	-2	5,87	2	10,36	-2	5,9
2,2	10,77	-2,1	5,79	2,2	10,42	-2,1	5,84
2,4	10,84	-2,2	5,71	2,4	10,47	-2,2	5,77
2,6	10,89	-2,3	5,58	2,6	10,54	-2,3	5,68
2,8	10,91	-2,4	5,43	2,8	10,59	-2,4	5,56
3	10,96	-2,5	5,23	3	10,64	-2,5	5,43
3,2	10,98	-2,6	4,97	3,2	10,69	-2,6	5,28
3,4	11,01	-2,7	4,55	3,4	10,75	-2,7	5,07
3,6	11,05	-2,8	4,19	3,6	10,8	-2,8	4,84
3,8	11,08	-2,9	3,98	3,8	10,83	-2,9	4,75

<i>Продолжение таблицы В18</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8
4	11,11	-3	3,84	4	10,87	-3	4,23
4,2	11,13	-3,1	3,74	4,2	10,92	-3,1	4,03
4,4	11,15	-3,2	3,65	4,4	10,93	-3,2	3,87
4,6	11,16	-3,3	3,61	4,6	10,96	-3,3	3,78
4,8	11,17	-3,4	3,54	4,8	11	-3,4	3,69
5	11,2	-3,6	3,45	5	11,01	-3,5	3,62
5,2	11,2	-3,8	3,38	5,2	11,03	-3,6	3,56
5,4	11,25	-4	3,31	5,4	11,05	-3,8	3,45
5,6	11,27	-4,2	3,25	5,6	11,08	-4	3,38
5,8	11,27	-4,4	3,2	5,8	11,12	-4,2	3,32
6	11,29	-4,6	3,17	6	11,13	-4,4	3,26
6,2	11,31	-4,8	3,13	6,2	11,16	-4,6	3,21
6,4	11,31	-5	3,08	6,4	11,18	-4,8	3,16
6,6	11,32	-5,2	3,06	6,6	11,21	-5	3,14
6,8	11,32	-5,4	3,02	6,8	11,21	-5,2	3,09
7	11,33	-5,6	3,01	7	11,23	-5,4	3,06
7,2	11,33	-5,8	2,98	7,2	11,25	-5,6	3,04
7,4	11,34	-6	2,96	7,4	11,26	-5,8	3,01
7,6	11,34	-6,2	2,93	7,6	11,27	-6	2,98
7,8	11,35	-6,4	2,91	7,8	11,29	-6,2	2,96
		-6,6	2,9	8	11,32	-6,4	2,94
		-6,8	2,88			-6,6	2,92
		-7	2,86			-6,8	2,9
		-7,2	2,85			-7	2,87
		-7,4	2,83			-7,2	2,86
		-7,6	2,81			-7,4	2,84
		-7,8	2,8			-7,6	2,83

Таблица В19

Исходные данные потенциметрического титрования 20 мл водной дисперсии билирубина с массовой концентрацией 0,04 г/20 мл в водном растворе карбоната калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Водный раствор карбоната калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л				Водный раствор карбоната калия $5 \cdot 10^{-4}$ моль/л с билирубином (0,1г/50мл)			
Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. NaOH ($2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л)		Титр. HCl ($1 \cdot 10^{-2}$ моль/л)	
V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH	V _T , мл	pH
1	2	3	4	5	6	7	8
0	8,32	0	8	0	7,63	0	7,46
0,1	9,17	-0,1	7,44	0,1	7,7	-0,1	7,36
0,2	9,44	-0,2	7,12	0,2	9,4	-0,2	7,17
0,3	9,59	-0,3	6,98	0,3	9,61	-0,3	6,82
0,4	9,68	-0,4	6,79	0,4	9,75	-0,4	6,67
0,5	9,81	-0,5	6,63	0,5	9,88	-0,5	6,58
0,6	9,92	-0,6	6,5	0,6	9,98	-0,6	6,44
0,7	9,99	-0,7	6,33	0,7	10,1	-0,7	6,34
0,8	10,08	-0,8	6,28	0,8	10,15	-0,8	6,25
0,9	10,14	-0,9	6,17	0,9	10,23	-0,9	6,13
1	10,19	-1	6,06	1	10,29	-1	6,02
1,1	10,28	-1,1	5,92	1,1	10,36	-1,1	5,82
1,2	10,34	-1,2	5,82	1,2	10,41	-1,2	5,69
1,3	10,43	-1,3	5,6	1,3	10,45	-1,3	5,43
1,4	10,45	-1,4	5,46	1,4	10,51	-1,4	5,18
1,5	10,48	-1,5	5,18	1,5	10,54	-1,5	4,65
1,6	10,52	-1,6	4,67	1,6	10,58	-1,6	4,3
1,7	10,59	-1,7	4,22	1,7	10,62	-1,7	4,07
1,8	10,62	-1,8	4,02	1,8	10,65	-1,8	3,92
1,9	10,65	-1,9	3,88	1,9	10,68	-1,9	3,79
2	10,71	-2	3,77	2	10,72	-2	3,69
2,2	10,77	-2,1	3,7	2,2	10,75	-2,2	3,54
2,4	10,84	-2,2	3,64	2,4	10,81	-2,4	3,44
2,6	10,89	-2,3	3,57	2,6	10,85	-2,6	3,36
2,8	10,91	-2,4	3,52	2,8	10,88	-2,8	3,3
3	10,96	-2,6	3,42	3	10,91	-3	3,24
3,2	10,98	-2,8	3,36	3,2	10,94	-3,2	3,19
3,4	11,01	-3	3,31	3,4	10,98	-3,4	3,15
3,6	11,05	-3,2	3,24	3,6	11	-3,6	3,12
3,8	11,08	-3,4	3,21	3,8	11,01	-3,8	3,08

<i>Продолжение таблицы В19</i>							
1	2	3	4	5	6	7	8
4	11,11	-3,6	3,17	4	11,03	-4	3,05
4,2	11,13	-3,8	3,13	4,2	11,05	-4,2	3,02
4,4	11,15	-4	3,1	4,4	11,09	-4,4	2,99
4,6	11,16	-4,2	3,07	4,6	11,11	-4,6	2,96
4,8	11,17	-4,4	3,03	4,8	11,12	-4,8	2,94
5	11,2	-4,6	3,01	5	11,13	-5	2,92
5,2	11,2	-4,8	2,98	5,2	11,14	-5,2	2,89
5,4	11,25	-5	2,96	5,4	11,15	-5,4	2,88
5,6	11,27	-5,2	2,93	5,6	11,16	-5,6	2,86
5,8	11,27	-5,4	2,91	5,8	11,17	-5,8	2,84
6	11,29	-5,6	2,89	6	11,18	-6	2,83
6,2	11,3	-5,8	2,88	6,2	11,19	-6,2	2,82
6,4	11,31	-6	2,87	6,4	11,2	-6,4	2,79
6,6	11,32	-6,2	2,85	6,6	11,21	-6,6	2,78
6,8	11,32	-6,4	2,83	6,8	11,22	-6,8	2,77
7	11,33	-6,6	2,82	7	11,22	-7	2,76
7,2	11,33	-6,8	2,8	7,2	11,24	-7,2	2,75
7,4	11,34	-7	2,79	7,4	11,24	-7,4	2,74
7,6	11,34	-7,2	2,78	7,6	11,26	-7,6	2,73
7,8	11,35	-7,4	2,76	7,8	11,27	-7,8	2,72
8		-7,6	2,75	8	11,27	-8	2,7
		-7,8	2,74			0	7,46
		-8	2,73				