

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 541.64:543.42

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ КАРБОКСИЛЬНЫХ ГРУПП ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОСФЕР КОНДУКТОМЕТРИЧЕСКИМ И ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИМ ТИТРОВАНИЕМ

© 2023 г. Д. О. Шестакова^{a,b,*}, Н. Н. Санькова^b, Е. В. Пархомчук^{a,b}

^aНовосибирский государственный университет

630090 Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 5, Россия

^bИнститут катализа им. Г.К. Борескова Сибирского отделения Российской академии наук

630090 Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 5, Россия

*e-mail: d.shestakova@g.nsu.ru

Поступила в редакцию 27.07.2023 г.

После доработки 01.09.2023 г.

Принята к публикации 18.09.2023 г.

Предложена лабораторная методика определения концентрации карбоксильных групп на поверхности полистирольных микросфер при концентрации латекса порядка нескольких сотых массового процента (концентрация групп COOH ниже 4×10^{-4} моль/л). Методика основана на кондуктометрическом и потенциометрическом титровании. Исследовано влияние концентрации полимерных частиц в системе, ионной силы раствора, длительности титрования и инертности системы на получаемые значения концентрации карбоксильных групп и ошибку измерений.

DOI: 10.31857/S2308112023600102, EDN: DCZBWT

ВВЕДЕНИЕ

Методики синтеза полимерных частиц разного размера (от нескольких нанометров до сотен микрометров [1]), формы [2] (от абсолютно гладких сфер до частиц в форме сердца с неровной поверхностью [3]), строения (макропористые, мезопористые, микропористые [4], полые [5], Янус-частицы [6]) и состава (полистирол [7], полиметилметакрилат [8], поли(N-изопропилакриламид) [9], полидивинилбензол и т.д. [10]) активно разрабатываются на протяжении трех последних десятилетий. Широкая вариативность свойств полимерных частиц определяет разнообразие их применений: от лакокрасочной промышленности до систем доставки лекарств [11, 12]. Экспресс-диагностика с использованием полимерных микросфер в качестве носителей все шире входит в повседневную практику клинико-диагностических лабораторий, позволяя быстро диагностировать инфекционные заболевания, диабет, сердечно-сосудистые заболевания, воспаления различной природы, онкологию и т.д. [13–15]. Применение полимерных частиц особенно привлекательно благодаря простоте иммобилизации на них антител, антигенов, фрагментов ДНК и РНК за счет взаимодействия последних с функциональными группами ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$) на поверхности полимерных частиц. Эффективность связывания определяется природой функ-

циональных групп, плотностью их распределения по поверхности и доступностью. В настоящей работе главное внимание будет уделено микросферам с карбоксильными группами в силу их универсальности и наибольшей распространенности среди тест-систем.

Не все функциональные группы, находящиеся на поверхности частицы, могут активно связываться с пептидами, антителами, белками и иными крупными молекулами в силу стерических затруднений. Для определения концентрации доступных в конкретном методе функциональных групп чаще всего используются флуоресцентные метки [16]. В свою очередь для определения общей концентрации поверхностных групп предлагается множество быстрых и точных методов [17]. J. Dai с соавторами разработали комплексометрическую методику, основанную на взаимодействии ионов Fe^{2+} с карбоксильными группами [18]. На похожем принципе, но уже с использованием колориметрического метода, базируется работа А. Hennig и его коллег [19], которые с помощью пирокатехинового фиолетового определили концентрацию свободных ионов двухвалентных переходных металлов (Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+}), не связавшихся с функциональными группами. Помимо этого существует и прямой колориметрический метод, предполагающий использование красителей, например толуидинового голубого О [20].

В своей работе [21] S. Zhu с соавторами продемонстрировали возможность быстрого определения концентрации поверхностных групп с помощью ζ -потенциала.

Тем не менее, несмотря на многообразие методов, кондуктометрическое [22–27] и потенциометрическое [28–31] титрования являются самыми распространенными методами определения концентрации карбоксильных групп и используются в качестве некоего стандарта, с которым сравнивают результаты, полученные посредством других методик [18, 21, 32]. Данные методы не требуют сложного оборудования и дорогостоящих реактивов, а при соблюдении всех условий способны демонстрировать не меньшую точность, чем высокотехнологичный метод твердотельной ЯМР-спектроскопии [32].

Однако исследователь, впервые столкнувшийся с необходимостью определить концентрацию поверхностных групп, обнаруживает ряд экспериментальных сложностей и противоречий в литературе, особенно для систем с концентрацией латекса на уровне нескольких сотых массовых процентов, что обычно соответствует концентрации карбоксильных групп $c_{\text{COOH}} < 4 \times 10^{-4}$ моль/л. В связи с этим в настоящей работе авторы представляют собственную разработку лабораторной методики определения концентрации карбоксильных групп для полистирольного латекса.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Реагенты

Мономеры стирол (ч, 1% гидрохинона, “Реахим” или “Союзхимпром”) промывали трижды 0.1 М водным раствором NaOH, после чего перегоняли при пониженном давлении и хранили в холодильнике; акриловая (99.5%, “Вектон”) и метакриловая (99.5%, “Ветакхим”) кислоты очищали последовательным вымораживанием. Дивинилбензол (80% смесь изомеров, “Aldrich”) дополнительно никак не очищали.

Инициаторы персульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ (х.ч., “Реахим”) и ДАК (98%, “Кемикал Лайн”) дополнительно не очищали, хранили в холодильнике. Бензоил пероксид (98%, “Хем Полимер”) очищали от примесей бензоиновой кислоты перекристаллизацией из этилового спирта и хранили в холодильнике.

Стабилизаторы лаурилсульфат натрия (х.ч., “Реахим”), поливинилпирролидон $M_w = 4.0 \times 10^4$ (“Sigma-Aldrich”) (ПВП-40); поливиниловый спирт, степень гидролиза 86.7–88.7 мол. %, $M_w = 6.7 \times 10^4$ (Mowiol 8-88, “Aldrich”) использовали без дополнительной очистки.

Растворители этанол (95%, Кемеровская фармацевтическая фабрика), 2-этоксиэтанол (99.9%,

“Реахим”), толуол ($\geq 98.0\%$, “Экос-1”), ацетонитрил ($\geq 99.9\%$, “Koch-Light LTD”).

Набухающий агент дибутилфталат ($\geq 98.0\%$, “Компонент-реактив”).

Ингибитор нитрит натрия (NaNO_2 , $\geq 98.0\%$, “ХлоренХима”).

Для титрования использовали гидроксид натрия NaOH (ч.д.а., “Реахим”), стандарт-титр соляной кислоты HCl и стандарт-титр калий хлористый KCl (оба – Закрытое акционерное общество “Уралхиминвест”).

Синтез полимерных частиц 80 нм

Полимерные частицы 80 нм с карбоксильными группами получали эмульсионной сополимеризацией стирола и акриловой кислоты. В реактор объемом 3 л заливали 2900 мл воды и термостатировали при 60°C , перемешивании 300 об/мин (тефлоновая двухлопастная мешалка, размер лопасти 3×4 см) и барботировании азотом, после чего добавляли 58 мл стирола, 10.8 мл акриловой кислоты и 1.56 г лаурилсульфата натрия. Полученную эмульсию разогревали до 90°C в течение 30 мин, после чего в реакционную смесь вводили 1.5 г $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, предварительно растворенного в 10 мл воды. Начало полимеризации, определенное визуально по опалесценции реакционной смеси, оценивается как 2–5 мин после добавления инициатора. Полимеризацию проводили в течение 24 ч до достижения конверсии не менее 90%. Частицы очищали методом тангенциальной ультрафильтрации с использованием фильтрующих элементов с номинальным пределом молекулярной массы $(300–750) \times 10^3$. Очистка считалась завершенной, когда pH системы достигал 5 (при начальном pH 2.2–2.3), что требовало обычно семикратную смену буфера (деионизованной воды).

Синтез полимерных частиц 900 нм

Полимерные частицы 900 нм с карбоксильными группами получали осадительной сополимеризацией дивинилбензола и метакриловой кислоты. В 100 мл реакторе растворяли 0.11 г ДАК в смеси ацетонитрила (45 мл) и толуола (15 мл). При барботировании азотом к полученному раствору добавляли 1.98 мл дивинилбензола и 0.96 мл метакриловой кислоты. Затем реактор герметично закрывали и оставляли перемешиваться в водяной бане с шейкером в течение 24 ч при 70°C , 150 об/мин. Полученные частицы промывали спиртом методом последовательного центрифугирования и декантации для удаления растворителей, мономеров и олигомеров, после чего диспергировали в деионизованной воде.

Синтез полимерных частиц 5200 нм

Полимерные частицы 5200 нм с карбоксильными группами получали двустадийной затравочной полимеризацией.

В качестве затравочных частиц использовали полистирольные частицы, полученные дисперсионной полимеризацией [33]. Для этого в трехгорлом стеклянном реакторе растворяли 4.25 г ПВП-40 в смеси 150 мл этанола и 50 мл 2-этоксиэтанола. Инициатор (1.3 г ДАК) растворяли в 59 мл стирола, после чего полученную смесь добавляли в реактор. Полимеризацию проводили в течение 24 ч при постоянном перемешивании (200 об/мин, тefлоновая двухлопастная мешалка, размер лопасти 3 × 4 см) и температуре 70°C. Полученные частицы промывали спиртом методом последовательного центрифугирования и декантации для удаления растворителей, мономеров и олигомеров, а затем диспергировали в деионизованной воде.

На следующем этапе производили набухание затравочных частиц в присутствии дибутилфталата. Для этого получили эмульсию дибутилфталата в воде, поместив смесь 12.6 мл дибутилфталата и 400 мл 0.25%-ного водного раствора лаурилсульфата в ультразвуковую ванну (Сапфир 2.81) на 30 мин. К эмульсии добавляли суспензию затравочных частиц в 0.25%-ном водном растворе лаурилсульфата (3.15 г частиц в 40 мл раствора). Процесс набухания проводили в течение 24 ч при 300 об/мин. На следующем этапе к этой системе добавляли эмульсию мономеров в воде, которую получали диспергированием на ультразвуковой ванне в течение 10 мин смеси мономеров (по 14.4 мл дивинилбензола, стирола и метакриловой кислоты) и 400 мл 0.25%-ного водного раствора лаурилсульфата. Предварительно инициатор (бензоил пероксид 2.16 г) растворяли в смеси мономеров. Процесс набухания проводили в течение 24 ч при 300 об/мин. Затем к системе добавляли 0.198 г нитрита натрия и 5.14 г поливинилового спирта, предварительно растворенного в 75 мл воды. Полимеризацию проводили при постоянной подаче азота в течение 24 ч при температуре 80°C и скорости перемешивания 300 об/мин. Полученные частицы промывали спиртом методом последовательного центрифугирования и декантации для удаления растворителей, мономеров и олигомеров, после чего диспергировали в деионизованной воде.

Методы исследований

Размер частиц, полученных методом эмульсионной полимеризации, определяли методом динамического рассеяния света с помощью анализатора размера частиц “Photocor Compact Z” с параметрами лазера $\lambda = 638$ нм, $P = 25$ мВт.

Измерения проводили в квадратной кювете, используя два режима, различающихся углами рассеяния: 90° или 160°. Размер частиц составил 80 нм (рис. 1).

Размер частиц, полученных путем осадительной и двустадийной полимеризации, определяли методами оптической микроскопии с помощью микроскопа “Biomed-5” и камеры “Levenhuk M1000 Plus”, а также сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием микроскопа “Hitachi TM-1000”. Снимки анализировали с помощью бесплатного облачного сервиса ParticlesNN (https://t.me/nanoparticles_nsk) [34–36]. Размер частиц, полученных осадительной полимеризацией, составил 900 нм, а для частиц, полученных двустадийным методом – 5200 нм (рис. 2).

Концентрацию латекса определяли гравиметрическим методом, считая, что весь стабилизатор остается в продукте.

Концентрацию карбоксильных групп на поверхности полимерных частиц находили кислотно-основным кондуктометрическим и потенциометрическим титрованием. Концентрация карбоксильных групп, полученная при кондуктометрическом титровании по оптимизированной методике, равна 660 ± 40 мкмоль/г, ее брали в качестве истинной для теоретической оценки концентрации карбоксильных групп в системах с разной массовой долей полимерных частиц.

Кондуктометрическое и потенциометрическое титрования проводили параллельно в одной ячейке с использованием кондуктометра “Анион 4120” и потенциометра “Hanna Instruments HI 2221” (электрод Hanna HI 1131B) соответственно при перемешивании на магнитной мешалке 200 об/мин.

Измеренный объем латекса разбавляли деионизованной водой или раствором KCl необходимой концентрации (10^{-3} – 10^{-2} моль/л) до суммарного объема 80 мл. Растворы KCl получали разбавлением 0.1 М раствора KCl, приготовленного из стандарт-титра. Титрование проводили при перемешивании и для большинства систем барботировании азотом (скорость подачи газа ~30 мл/мин) с использованием 2 мл микробюретки. В силу большой разницы между объемом раствора и объемом добавляемого титранта изменением объема системы пренебрегали. Установление стабильного значения наблюдалось в течение 1 мин в случае кондуктометрии и около 30 с для потенциометрии. В качестве титранта брали свежеприготовленный раствор NaOH (~0.05 М), концентрацию которого определяли в тех же условиях для исключения систематической ошибки. Для этого 1 мл 0.1 М раствора HCl, приготовленного из стандарт-титра, разбавляли деионизованной водой до суммарного объема 80 мл и титровали раствором щелочи до точки эквива-

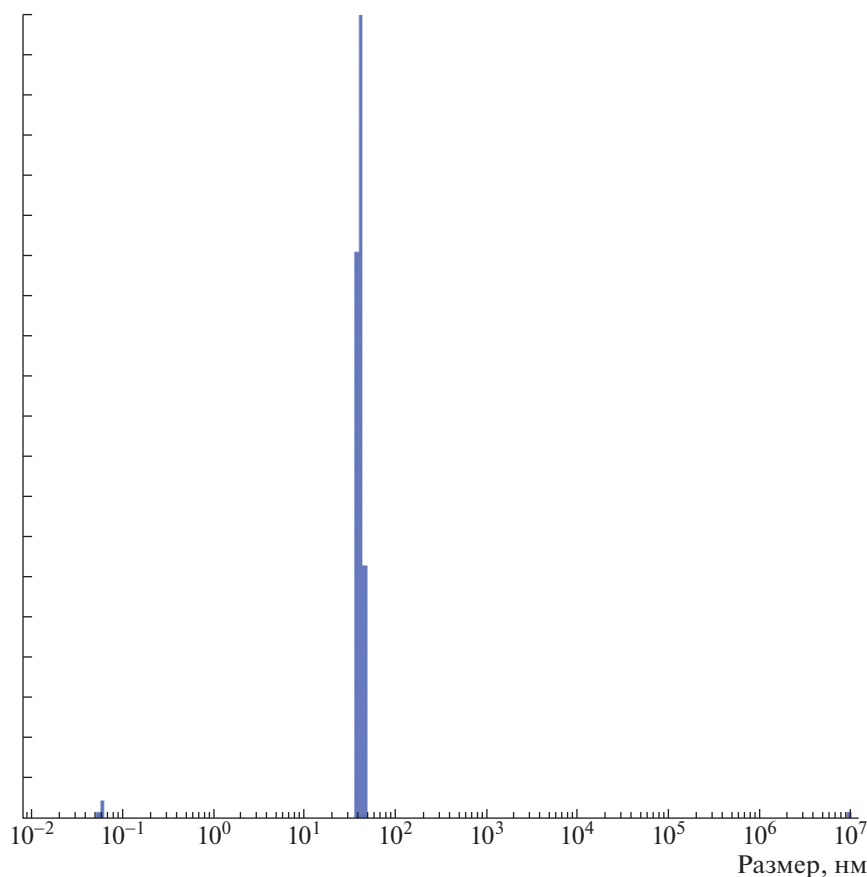


Рис. 1. Динамическое рассеяние света латексных частиц, полученных эмульсионной полимеризацией. Цветные рисунки можно посмотреть в электронной версии.

лентности, определяемой кондуктометрическим и потенциометрическим методами.

Обратное потенциометрическое титрование выполняли с помощью потенциометра “Hanna Instruments HI 2221” при постоянном перемешивании и барботировании азотом (скорость подачи газа ~30 мл/мин). К некоторому объему латекса известной концентрации добавляли 5 мл свежеприготовленного раствора NaOH (~0.05 М), концентрацию которого определяли потенциометрическим титрованием HCl известной концентрации. Полученный раствор герметично закрывали для исключения попадания углекислого газа и оставляли на 1 сутки для установления равновесия, после чего подготавливали для титрования, разбавляя до 80 мл деионизованной водой. Избыток щелочи титровали 0.1 М раствором HCl, приготовленным из стандарт-титра.

Пересчет концентрации карбоксильных групп. В литературе можно встретить различные способы представления данных о концентрации карбоксильных групп.

1. Моль/л — количество (в молях) карбоксильных групп в латексе на один литр латекса. Латекс — водная дисперсия полимерных частиц. Данная

концентрация зависит как от количества карбоксильных групп на самих микросферах, так и от концентрации микросфер в воде. В ходе титрования мы определяли концентрацию карбоксильных групп в моль/л.

2. Моль/г — количество (в молях) карбоксильных групп на грамм сухих полимерных частиц. Характеризует непосредственно количество карбоксильных групп на поверхности микросфер. В литературе также часто можно встретить обозначение мэкв/г, где 1 экв/г = 1 моль групп COOH на 1 г полимерных частиц.

Определенную в ходе титрования концентрацию карбоксильных групп в моль/л по формуле

$$c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{моль}}{\text{г}} \right) = \frac{c_{\text{COOH}} (\text{моль/л})}{c_{\text{лат}}} = \frac{V_{\text{COOH}}}{V_{\text{лат}}} \cdot \frac{V_{\text{лат}}}{m_{\text{микросф}}} = \frac{V_{\text{COOH}}}{m_{\text{микросф}}},$$

V_{COOH} количество (в молях) карбоксильных групп, $V_{\text{лат}}$ — объем латекса, $m_{\text{микросф}}$ масса полимерных частиц) пересчитывали в мкмоль/г, чтобы иметь возможность сравнить полученные результаты с литературными данными.

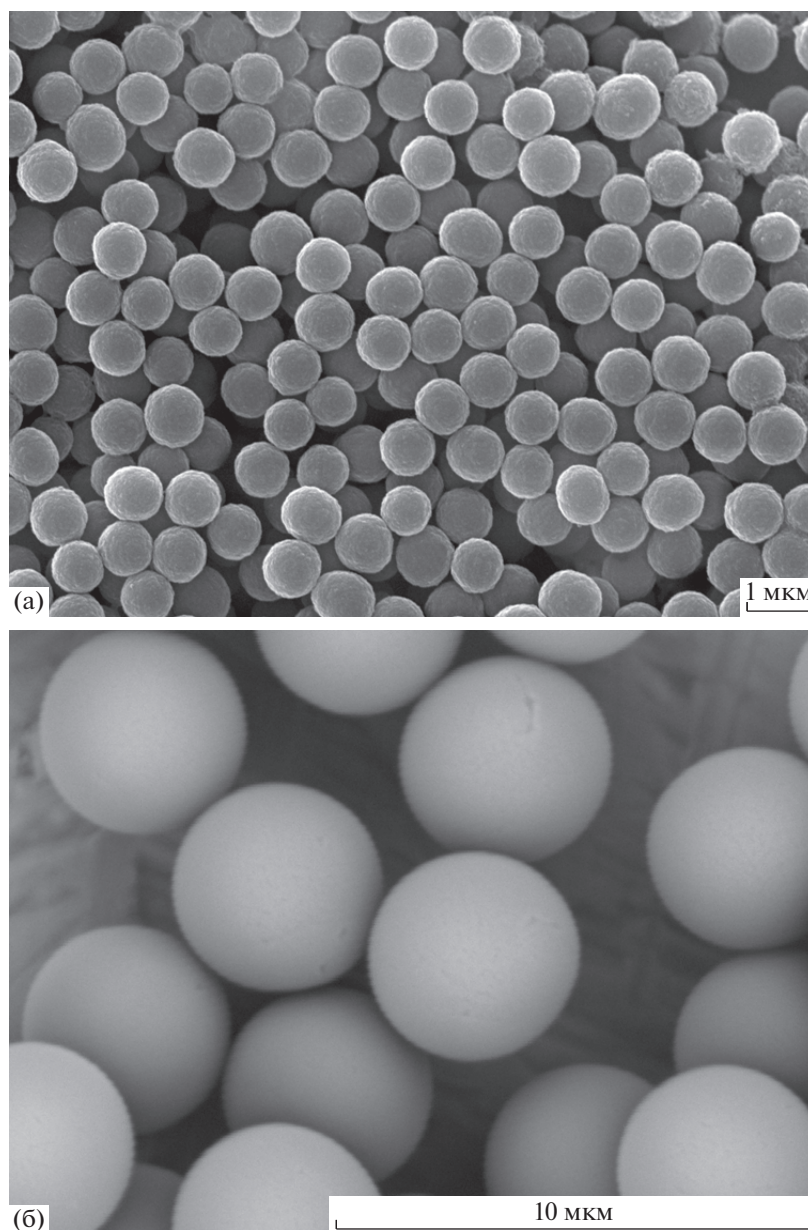


Рис. 2. Снимки СЭМ для образцов, полученных осадительной полимеризацией (а) и двухстадийной полимеризацией (б).

3. Шт/нм² — количество (в единицах) карбоксильных групп на площадь поверхности полимерных микросфер. Также характеризуют количество и плотность карбоксильных групп на поверхности микросфере. Для пересчета использовали формулу

$$\begin{aligned}
 c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{ШТ}}{\text{нм}^2} \right) &= \frac{c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{МОЛЬ}}{\text{Г}} \right) N_A m_{\text{микросф}}}{S_{\text{микросф}}} = \\
 &= \frac{c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{МОЛЬ}}{\text{Г}} \right) N_A \rho_{\text{микросф}} \frac{1}{6} \pi d^3}{\pi d^2} = \\
 &= \frac{1}{6} c_{\text{COOH}} \left(\frac{\text{МОЛЬ}}{\text{Г}} \right) N_A \rho_{\text{микросф}} d,
 \end{aligned}$$

где N_A число Авогадро, $S_{\text{микросф}}$ — площадь поверхности микросфер, $\rho_{\text{микросф}}$ — плотность микросфер (в данном исследовании была использована плотность полистирола, равная 1.06 г/см³, d — диаметр полимерной микросферы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Прямое потенциометрическое и кондуктометрическое титрование

В основе кондуктометрического титрования лежит понятие электропроводности раствора χ . В процессе титрования проводимость раствора меняется, в точке эквивалентности происходит

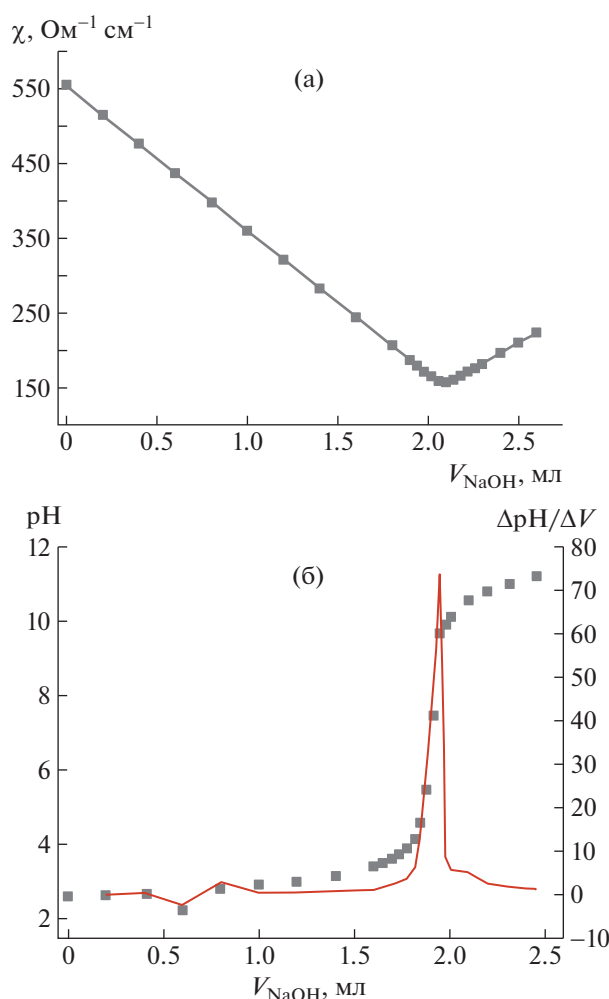


Рис. 3. Кондуктометрическая (а) и потенциометрическая (б) кривая титрования сильной кислоты (HCl) щелочью (NaOH).

скачкообразное изменение (рис. 3а), что позволяет определить концентрацию аналита в системе даже в случае окрашенных или мутных растворов. Изменение электропроводности происходит в силу изменения концентрации ионов, поэтому в ходе титрования необходимо учитывать вклад увеличения общего объема системы при добавлении титранта, либо подбирать такие условия, чтобы изменение общего объема было пренебрежимо малым.

Потенциометрическое титрование основывается на изменении потенциала индикаторного электрода в зависимости от количества прибавляемого титранта. В точке эквивалентности наблюдается перегиб кривой титрования (рис. 3б, точки), который соответствует нейтрализации всех протонов в системе. Точку эквивалентности удобнее всего определять, построив зависимость $d\text{pH}/dV$ от объема добавленной щелочи (рис. 3б,

кривая). Для этого мы здесь и далее использовали формулу численного дифференцирования

$$f'(x) \approx \frac{f(x+h) - f(x)}{h}.$$

Карбоксильные группы на поверхности полимерной частицы можно рассматривать в самом общем случае как слабую кислоту. При кондуктометрическом титровании слабой кислоты может наблюдаться не только перегиб, соответствующий точке эквивалентности, но и минимум, обусловленный исчезновением в системе свободных протонов (рис. 4а). В то же время потенциометрическая кривая титрования такой системы мало отличается от случая титрования сильной кислоты (рис. 4б).

На практике замечается некоторое различие между раствором слабой кислоты и латексом в силу иммобилизации карбоксильных групп на поверхности частицы и, как следствие, их меньшей подвижности [37]. Из-за этого вид и кондуктометрической, и потенциометрической кривых может существенно отличаться. На кондуктометрической кривой можно заметить нелинейность участка, отвечающего за кислотную область, а также менее четкий переход в точке эквивалентности (рис. 4в), что может вносить существенную погрешность при определении координат точки эквивалентности. Потенциометрическая кривая может и вовсе не иметь перегиба или иметь едва заметный перегиб [38] и скорее напоминать кривую с насыщением (рис. 4г), не дающую никакой информации о концентрации функциональных групп. Такие изменения вида кривых, вероятнее всего, обусловлены значительно более медленной диффузией протонов из глубин двойного электрического слоя, окружающего заряженную полимерную частицу, и необходимостью большего времени для установления равновесия: от нескольких часов до нескольких дней [39]. Обеспечить это время возможно, прибегнув к методике обратного титрования, когда образец готовят за несколько часов/суток до самого титрования, добавляя к латексу избыток щелочи.

Обратное потенциометрическое титрование

Классическая кривая обратного титрования избытка щелочи кислотой изображена на рис. 5а и представляет собой два перегиба, первый из которых относится к избытку щелочи, а второй — к протонированию карбоксильных групп. Расположение и размер перегибов может изменяться в зависимости от природы и концентрации представленных групп.

Проблема с определением концентрации может возникнуть, если наблюдаемые перегибы накладываются друг на друга или не полностью разделены, что может мешать однозначному опреде-

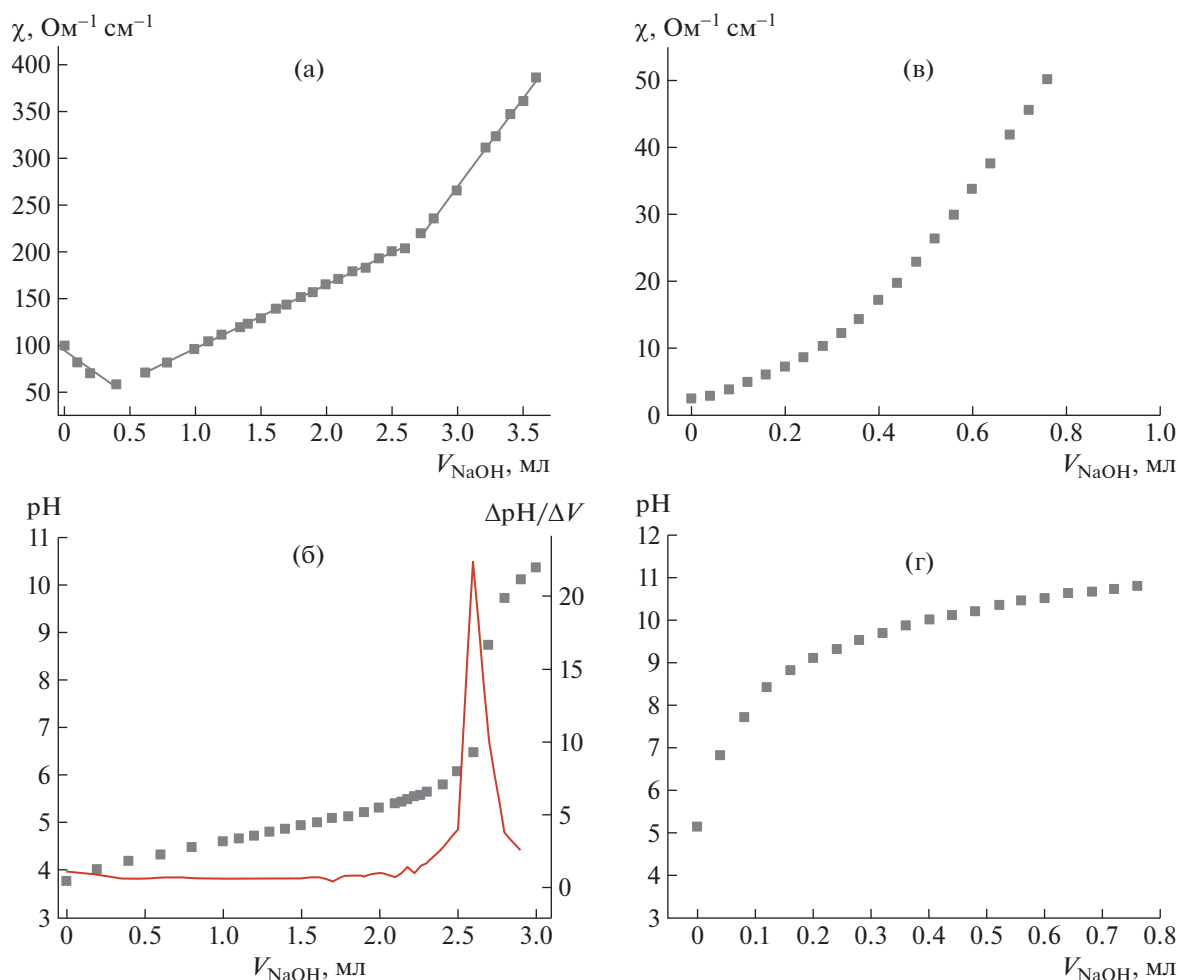


Рис. 4. Кондуктометрическая (а, в) и потенциометрическая (б, г) кривые титрования слабой (пропионовой) кислоты (а, б) и полимерных частиц (в, г) щелочью (NaOH).

лению точек эквивалентности. Такую ситуацию мы можем наблюдать на рис. 5б при титровании сополимерных частиц (полистирол/акриловая кислота), где перегибы на кривой титрования близки. Изменение концентрации латекса не оказывает существенного влияния на вид кривой (рис. 5в). И хотя применение данной методики возможно для охарактеризации полимерных частиц, близость перегибов может вносить ошибки в получаемые результаты. В связи с этим был разработан альтернативный подход измерения концентрации карбоксильных групп на поверхности латекса, который может быть использован как независимо, так и совместно с обратным потенциометрическим титрованием.

Влияние параметров системы на величину определяемой концентрации карбоксильных групп

Для возможности точного определения концентрации карбоксильных групп методами прямого кондуктометрического и потенциометриче-

ского титрования необходимо выполнение нескольких условий: отсутствие в системе примесей, влияющих на точность результата титрования (в первую очередь углекислого газа), и получение кривых титрования, позволяющих однозначно интерпретировать результаты. Нивелированию ошибки, связанной с растворенным или сорбированным на поверхности полимерных частиц CO_2 , может способствовать предварительное барботирование смеси инертным газом или титрование латекса с высокой концентрацией полимерных частиц. Вид кривых титрования можно корректировать, увеличив концентрацию карбоксильных групп в системе или добавив в раствор нейтральную соль, что позволит заострить перегибы на кондуктометрической кривой и сделать их более выраженными на потенциометрической кривой [40]. Ниже будет подробно рассмотрено влияние этих параметров на вид кривой титрования, а главное, на величину определяемой концентрации карбоксильных групп.

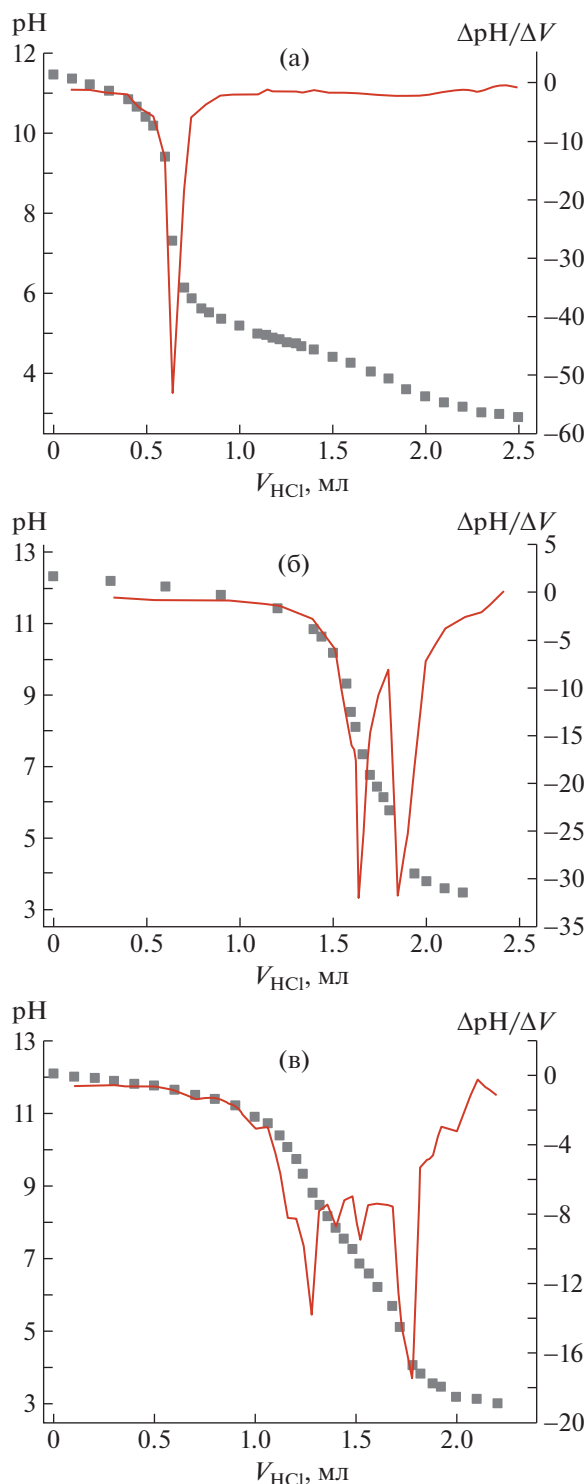


Рис. 5. Кривые обратного потенциометрического титрования пропионовой кислоты (а), латекса 0.04 мас. % ($c_{\text{COOH}} = 2.8 \times 10^{-4}$ моль/л) (б), латекса 0.1 мас. % ($c_{\text{COOH}} = 6.5 \times 10^{-4}$ моль/л) (в). В обоих случаях концентрация карбоксильных групп $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт/нм²).

Барботирование азотом. В работе [41] авторы указывают, что при массовой доле латекса в системе менее 2 мас. % и концентрации карбок-

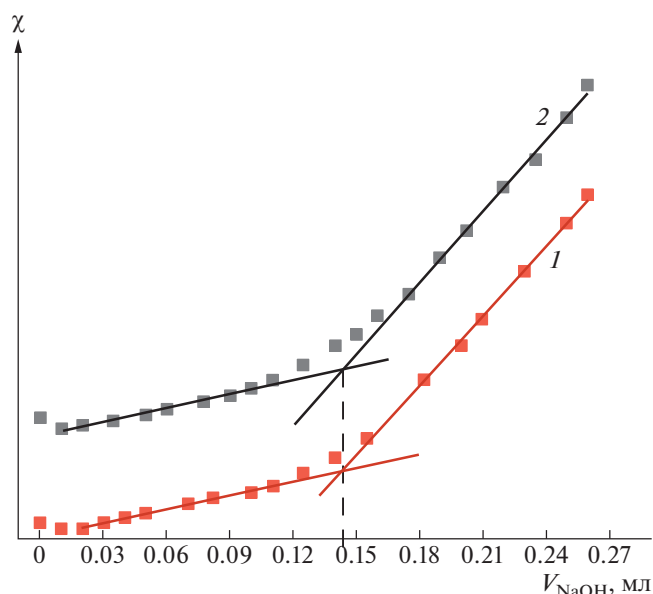


Рис. 6. Кривые кондуктометрического титрования в условиях наличия (1) или отсутствия (2) барботирования азотом латекса (сополимерных частиц стирол/акриловая кислота), с массовой долей частиц 0.013 мас. % и концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт/нм²) ($c_{\text{COOH}} = 8.6 \times 10^{-5}$ моль/л), концентрация KCl равна 10^{-3} моль/л.

сильных групп на поверхности $\sim 2-3$ мкмоль/г ($c_{\text{COOH}} = 6 \times 10^{-5}$ моль/л), не удается получить воспроизводимые результаты титрования, а получаемые величины зачастую завышены. Эти и другие исследователи [42, 43] видят причину в загрязнении титруемого латекса углекислым газом и в качестве решения предлагают барботирование инертным газом в течение нескольких минут/часов перед началом титрования и в ходе него [41, 44].

В своей практике нам часто приходится сталкиваться с системами с ожидаемой концентрацией карбоксильных групп в указанном диапазоне, поэтому мы провели кондуктометрическое титрование после барботирования азотом (скорость подачи газа ~ 30 мл/мин) в течение 30 мин до начала и в процессе титрования и без барботирования для системы, содержащей 0.013 мас. % сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г ($c_{\text{COOH}} = 8.6 \times 10^{-5}$ моль/л). Результаты, представленные на рис. 6, свидетельствуют об отсутствии существенных отличий кондуктометрических кривых.

В некоторых работах утверждается, что только очень интенсивное барботирование способно удалить CO₂ [45], и, вероятно, выбранная в данном исследовании скорость подачи газа недоста-

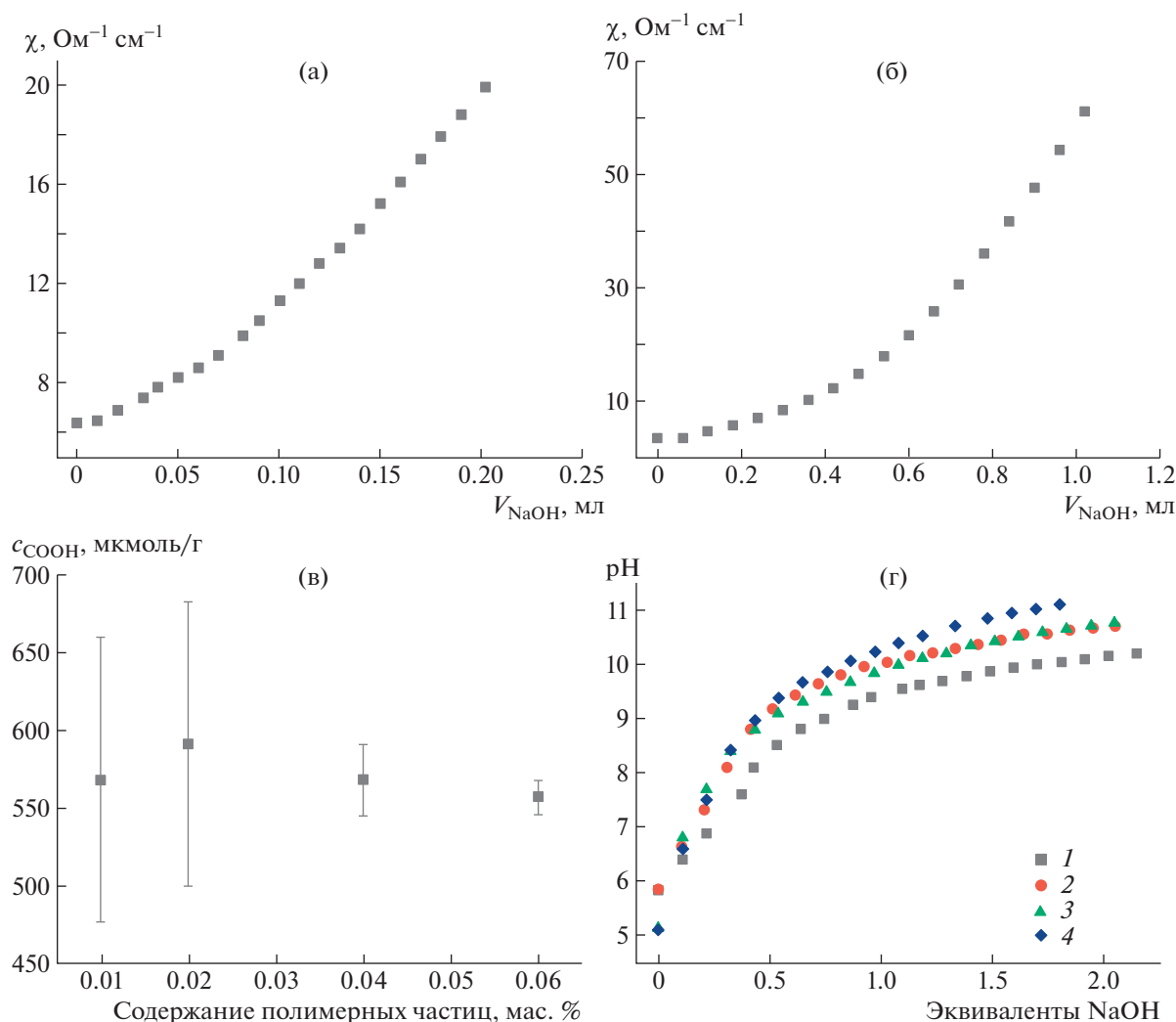


Рис. 7. Кривые кондуктометрического титрования с массовой долей частиц: 0.01 (а), 0.06 мас. % (б), зависимость величин определяемой концентрации карбоксильных групп от массовой доли полимерных частиц в системе (в) и кривые потенциометрического титрования (массовая доля 0.01 (1), 0.02 (2), 0.04 (3) и 0.06 (4)) (г). Данные приведены для латекса сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт./ nm^2) без добавления KCl.

точна. Однако в литературе также можно встретить работы, показывающие, что барботирование инертным газом вовсе не способно очистить систему [39].

Тем не менее, титрование в инертной атмосфере или в условиях барботирования латекса инертным газом является общепринятой практикой [46, 47], в связи с чем все дальнейшие исследования мы проводили в тех же условиях.

Концентрация карбоксильных групп. Концентрация CO_2 в воде в стандартных условиях и в предположении, что содержание углекислого газа в воздухе около 400 м.д., составляет около 1.4×10^{-5} моль/л (константа Генри для CO_2 равна 0.034 моль/(кг_{воды}·бар) [48]). Таким образом, если концентрация карбоксильных групп в системе в 5–10 раз превышает теоретическую концентра-

цию CO_2 [41–43], то получаемые результаты можно считать достоверными. Чтобы убедиться в этом, мы исследовали растворы, содержащие от 1.0×10^{-2} до 6.0×10^{-2} мас. % сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с концентрацией карбоксильных групп на поверхности $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г ($c_{\text{COOH}} \approx 6.4 \times 10^{-5} - 3.9 \times 10^{-4}$ моль/л). Титрование латекса с меньшей концентрацией полистирольных частиц было невозможно ввиду отсутствия видимого перегиба на кондуктометрической кривой титрования.

При увеличении концентрации полимерных частиц в системе происходит плавное увеличение глубины перегиба на кондуктометрической кривой, которое хорошо заметно при сравнении кривых с массовой долей частиц 0.01 (рис. 7а) и 0.06 мас. % (рис. 7б). Отчетливый перегиб упро-

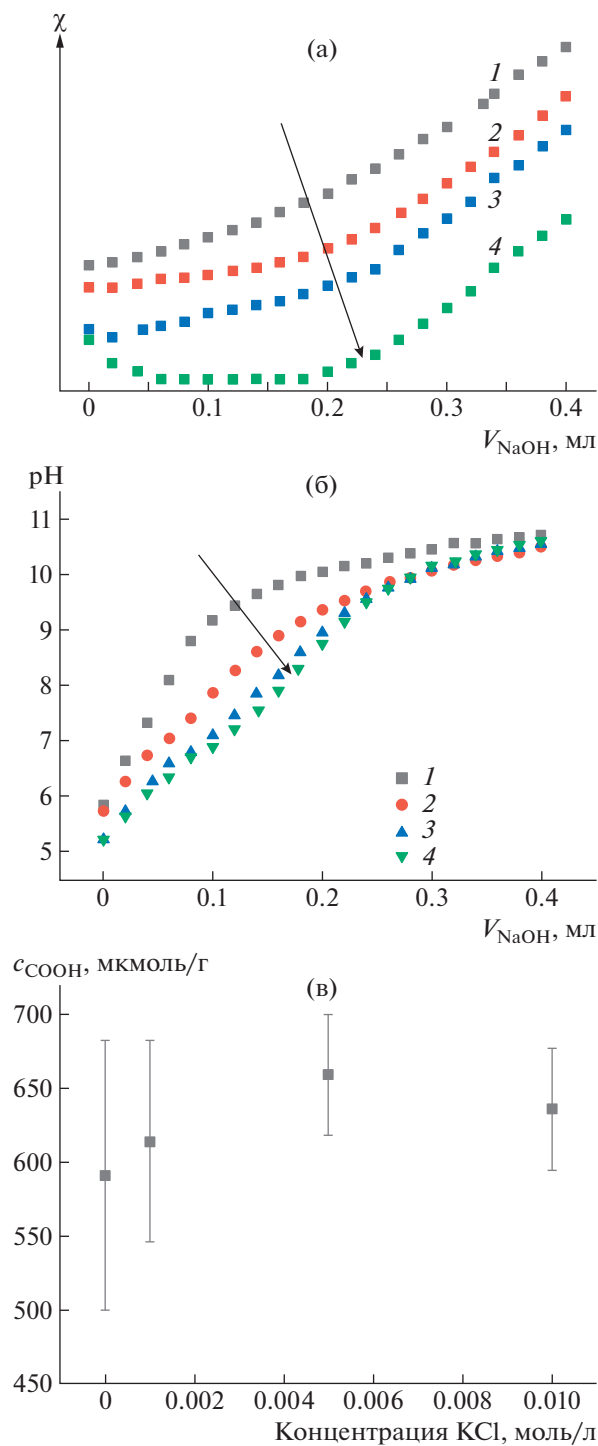


Рис. 8. Кривые кондуктометрического (а) и потенциометрического титрования (б), а также зависимость величины определяемой концентрации карбоксильных групп методом кондуктометрического титрования (в). а, б: 1 – без KCl, 2–4 – в присутствии 10^{-3} , 5×10^{-3} и 10^{-2} соответственно. Данные приведены для латекса сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с массовой долей частиц 0.02 мас. % и концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт./ nm^2).

щает определение точки эквивалентности и уменьшает погрешность ее определения (рис. 7в) с 15% при 0.01 мас. % до 2% при 0.06 мас. %. Изменение концентрации в выбранном диапазоне не приводит к каким-либо существенным изменениям вида потенциометрической кривой титрования (рис. 7г). При этом для разбавленного латекса не наблюдается завышение концентрации карбоксильных групп, и она остается приблизительно одинаковой (557–591 мкмоль/г) для всех концентраций латекса. Можно сделать вывод, что влияние растворенного углекислого газа для данной системы незначительно.

Таким образом, можно утверждать, что повышение концентрации латекса приводит к увеличению перегиба кондуктометрической кривой, что позволяет уменьшить ошибку определения карбоксильных групп, а влияние примесного CO_2 отсутствует.

Концентрация электролита. Увеличение ионной силы раствора (введение в раствор нейтральной соли) способствует высаливанию (уменьшению) двойного электрического слоя [37] вокруг полимерных частиц, что в свою очередь ускоряет процесс установления равновесия в системе. В своем исследовании мы варьировали концентрацию KCl в системе в диапазоне 10^{-3} – 10^{-2} моль/л, что является стандартными величинами при кондуктометрическом титровании латексов [37]. Считается, что влияние меньших концентраций незначительно, а большие концентрации приводят к увеличению приборной погрешности.

Повышение ионной силы раствора изменяет вид как кондуктометрических (рис. 8а), так и потенциометрических (рис. 8б) кривых титрования, делая перегибы в обоих случаях более выраженными. Величина значений, определяемых кондуктометрическим титрованием, при этом существенно не изменяется, однако ошибка измерений уменьшается (рис. 8в). Последнее является следствием лучшей выраженности точки эквивалентности на кондуктометрических кривых титрования. Определение точки эквивалентности также становится возможным и по потенциометрическим кривым при концентрации KCl, равной 10^{-2} моль/л, при этом получаемое значение 620 ± 40 мкмоль/г находится в хорошем соответствии со значениями, полученными кондуктометрически (640 ± 40 мкмоль/г).

Увеличение ионной силы раствора также позволяет различать перегибы кондуктометрической кривой в случае более низких концентраций латекса (рис. 9а) по сравнению со случаем отсутствия электролита в системе (рис. 7а). При концентрации латекса менее 0.01 мас. % величина определяемой концентрации карбоксильных групп увеличивается, что может свидетельствовать о влиянии примесного CO_2 при столь малых

количества полимерных частиц [39]. Таким образом, оптимальными условиями титрования являются концентрация карбоксильных групп не менее 6.6×10^{-5} моль/л (что соответствует 0.01 мас. % латекса для представленной системы), концентрация KCl $\sim 10^{-3}$ – 10^{-2} моль/л для кондуктометрического титрования и концентрация KCl $\geq 10^{-2}$ моль/л для потенциометрического титрования.

Скорость титрования. Добавление нейтральных солей ускоряет процесс установления равновесия в системе. Однако можно рассмотреть и другой путь — увеличить время титрования и дождаться установления равновесия [39]. На рис. 10 представлены две кондуктометрические кривые, полученные за 30 и 120 мин, значения каждой точки в которых фиксировались через 1–2 и 3–4 мин после добавления титранта соответственно. Приведенный график (рис. 10) однозначно демонстрирует, что две кривые никак не отличаются между собой. Это может свидетельствовать как о том, что равновесие в системе устанавливается в обоих случаях, так и о том, что требуется значительно больше времени, возможно, несколько суток, для его установления.

Однако предыдущие данные о влиянии изменения ионной силы и концентрации латекса показывают, что равновесие в системе успевает установиться за 1–2 мин после добавления титранта. Более того, в ходе медленного титрования сам титрант (раствор щелочи) может насытиться углекислым газом, что может вносить существенную погрешность в измерения. Вследствие всего сказанного выше в качестве оптимального времени титрования мы предлагаем 1–2 мин ожидания для записи каждой точки и суммарно не более 60 мин для всего процесса.

Применимость метода. Полимерные микросферы, используемые в диагностических тест-системах, зачастую могут достигать несколько микрон в диаметре и не ограничиваются наночастицами, использованными для разработки методики титрования. Чтобы убедиться, что разработанная лабораторная методика может быть применена к частицам больших размеров, были синтезированы и проанализированы микросферы 900 и 5200 нм в диаметре. Полученные кривые титрования представлены на рис. 11. Они не имеют существенных отличий от кривых титрования, полученных ранее при титровании латекса 80 нм частиц при той же концентрации KCl в растворе. Данные результаты имеют хорошую сходимость с ошибкой не более 10%.

ВЫВОДЫ

В рамках настоящей работы были рассмотрены методики прямого кондуктометрического и

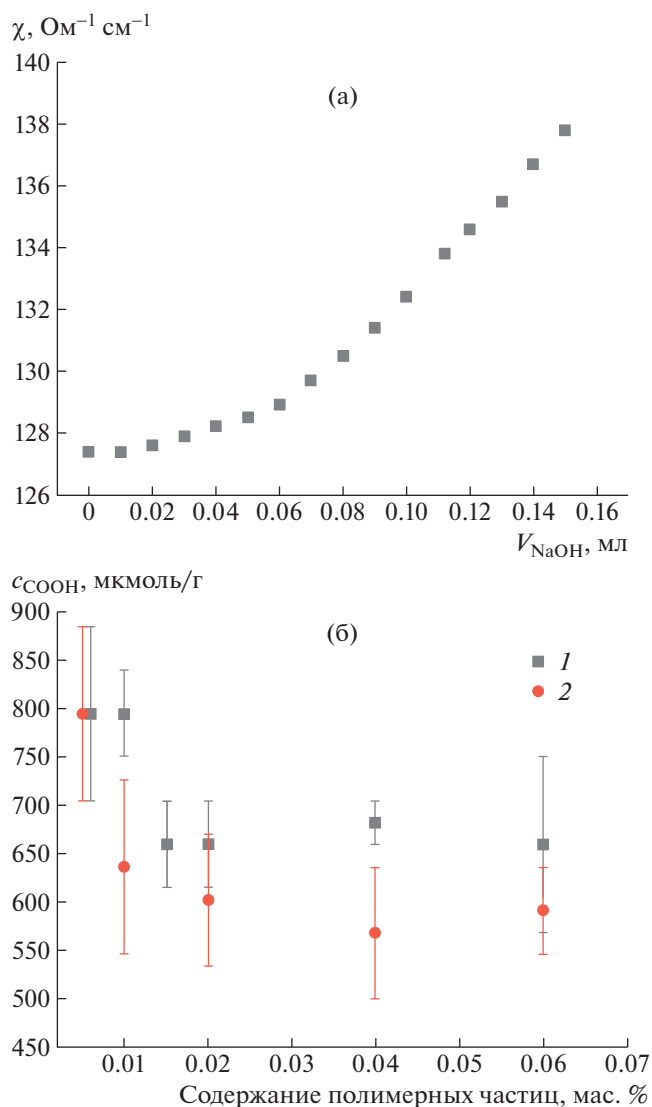


Рис. 9. Кривая кондуктометрического титрования (5×10^{-3} мас. % латекса, 10^{-3} моль/л KCl) (а) и зависимость величины определяемой концентрации карбоксильных групп от массовой доли полимерных частиц при концентрации KCl 5×10^{-3} мас. % (1) и 10^{-3} моль/л (2) (б). Данные приведены для латекса сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с массовой долей частиц 5×10^{-3} мас. % и концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт/нм²).

потенциометрического титрования, а также методика обратного потенциометрического титрования сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота). Изучено влияние различных параметров на вид кондуктометрических и потенциометрических кривых, а также на величину определяемой концентрации карбоксильных групп. Показано, что как повышение концентрации латекса, так и увеличение ионной силы раствора способ-

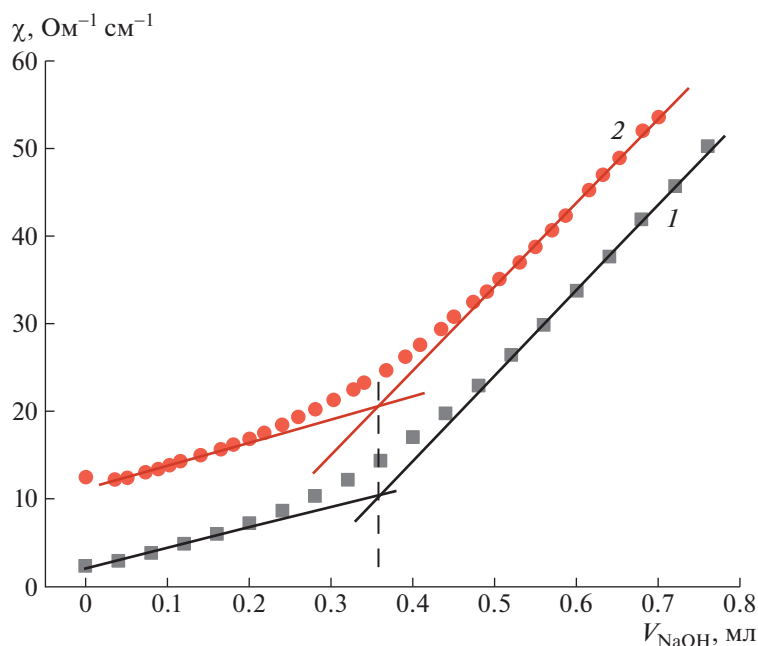


Рис. 10. Кривые кондуктометрического титрования латекса сополимерных частиц (стирол/акриловая кислота) с массовой долей частиц 0.02 мас. % и концентрацией карбоксильных групп на поверхности частиц $\sim 660 \pm 40$ мкмоль/г (5.1 ± 0.3 шт./нм²) ($c_{\text{COOH}} = 1.3 \times 10^{-4}$ моль/л) без добавления KCl. 1 – 30 мин, 2 – 2 ч.

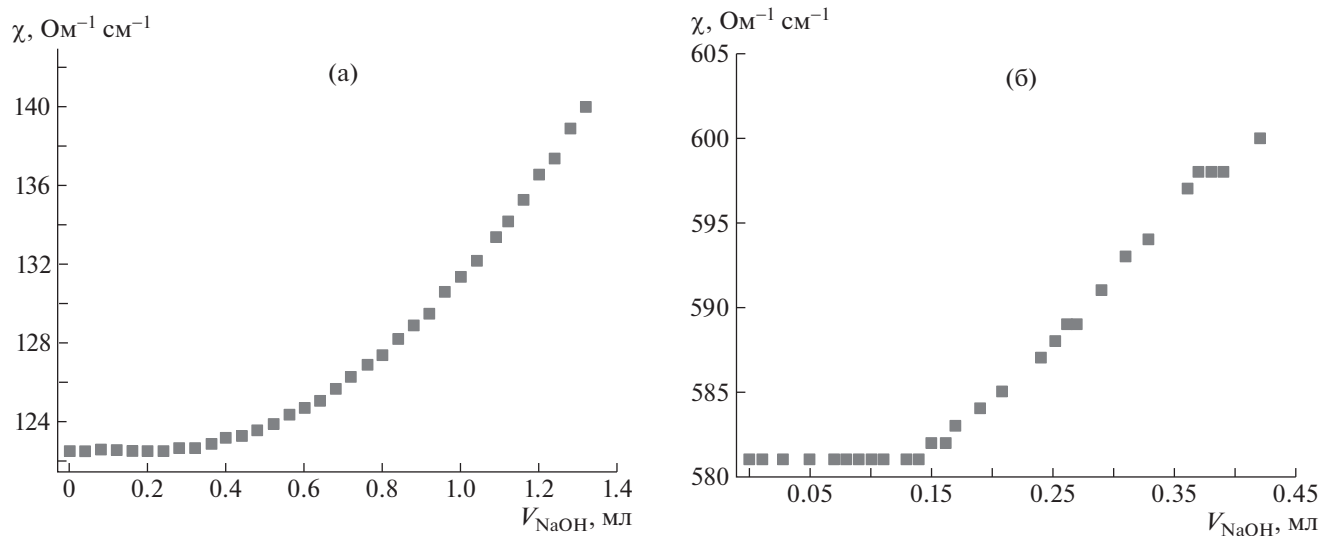


Рис. 11. Кривые кондуктометрического титрования полимерных частиц 900 нм с массовой долей частиц 0.12 мас. % в присутствии KCl с концентрацией 10^{-3} моль/л (полученная концентрация карбоксильных групп на поверхности частиц 340 ± 20 мкмоль/г или 29 ± 2 шт./нм²) (а); полимерных частиц 5200 нм с массовой долей частиц 0.07 мас. % в присутствии KCl с концентрацией 5×10^{-3} моль/л (полученная концентрация карбоксильных групп на поверхности частиц 150 ± 10 мкмоль/г или 80 ± 5 шт./нм²) (б).

ствуют проявлению выраженного перегиба на кривых титрования и уменьшению погрешности измерений. В то же время не обнаружено существенного влияния барботирования азотом или увеличения продолжительности титрования на определяемые значения.

Было показано, что методика обратного потенциометрического титрования, описанная в данной работе, может быть использована в качестве метода анализа концентрации карбоксильных групп на поверхности частиц, однако следует заметить, что близость перегибов может приво-

доть к искажению результатов титрования, в связи с чем авторы рекомендуют использовать данную методику с особой аккуратностью.

Прямое кондуктометрическое и потенциометрическое титрование являются более надежными методиками. В результате проведенной работы могут быть сформулированы следующие рекомендации для лабораторного определения концентрации карбоксильных групп в латексе полистирольных микросфер.

— В качестве титранта необходимо использовать свежеприготовленные растворы щелочи — гидроксида натрия. Эксперименты показывают, что при достаточно герметичном хранении раствора с концентрацией 0.05 моль/л концентрация раствора не меняется в течение недели, а результаты титрования, полученные в ходе этого времени, согласуются между собой.

— Определение концентрации щелочи должно происходить теми же методами и с применением того же оборудования, которые будут использованы для титрования латекса.

— Следует учитывать разбавление системы в ходе титрования либо нивелировать его, добавляя объем титранта существенно меньший по сравнению с объемом системы.

— Концентрация карбоксильных групп в системе должна быть не менее 6.6×10^{-5} моль/л (не менее 0.01 мас.% для частиц 80 нм, рассмотренных в данной работе), чтобы избежать влияния растворенного углекислого газа. Оптимальная концентрация определяется по виду кривой кондуктометрического титрования: перегиб должен быть однозначно определяемым.

— Для увеличения четкости перегиба как на кондуктометрической, так и на потенциометрической кривой возможно добавление нейтральных солей, с концентрацией $\sim 10^{-3}$ – 10^{-2} моль/л (в случае однозарядных ионов).

— Барботирование азотом титруемых растворов при скорости подачи газа ~ 30 мл/мин не оказывает какого-либо влияния на кривые титрования, однако является повсеместно принятой практикой. В случае использования, барботирование должно проводиться за несколько минут (15–30 мин) до начала титрования и на всем его протяжении.

— В ходе титрования равновесие в системе должно успевать установиться. Поэтому при работе с новой, незнакомой системой рекомендуется провести по меньшей мере два титрования с разной продолжительностью, после чего выбрать оптимальное время либо оптимизировать систему, добавив большее количество нейтральной соли.

— Использование одновременно кондуктометрического и потенциометрического титрования

позволяет получить более надежные результаты, подтвержденные двумя методиками, и удобно даже в случае отсутствия перегиба на потенциометрической кривой. Потенциометрическое титрование помогает в определении конца титрования (переход в щелочной буфер с малым изменением pH при добавлении титранта), что облегчает сам процесс титрования.

Представленная методика определения концентрации карбоксильных групп отработана на суспензиях частиц размером 80 нм и опробована для частиц размером 900 нм, полученных сополимеризацией дивинилбензола и метакриловой кислоты, и размером 5 мкм, синтезированных сополимеризацией стирола и метакриловой кислоты. Во всех случаях удалось получить согласующиеся данные с ошибкой не более 10%.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках государственного задания Института катализа Сибирского отделения Российской академии наук.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Arshady R.* // Colloid Polym. Sci. 1992. V. 270. № 8. P. 717.
2. *Yu B., Cong H., Peng Q., Gu C., Tang Q., Xu X., Tian C., Zhai F.* // Adv. Colloid Interface Sci. 2018. V. 256. P. 126.
3. *Li M., Joung D., Hughes B., Waldman S.D., Kozinski J.A., Hwang D.K.* // Scientific Reports. 2016. V. 6. № 30463. P. 1.
4. *Gokmen M.T., Prez F.E. Du.* // Progr. Polym. Sci. 2012. V. 37. № 3. P. 365.
5. *Shevchenko N.N., Evseeva T.G., Shevaldysheva D.I., Pankova G.A., Shabsel's B.M., Men'shikova A.Yu.* // Colloid J. 2013. V. 75. № 4. P. 460.
6. *Onishi S., Tokuda M., Suzuki T., Minami H.* // Langmuir. 2015. V. 31. № 2. P. 674.
7. *Sun K., Wang Q., Huang X.H., Zhen M.C., Li W., Zhang L.J.* // Acta Pharmacol. Sinica. 2007. V. 28. № 12.
8. *Lee K.C., Lee S.Y.* // Macromol. Res. 2007. V. 15. № 3. P. 244.
9. *Kondo A., Fukuda H.* // J. Ferment. Bioeng. 1997. V. 84. № 4. P. 337.
10. *Newman D.J., Henneberry H., Price C.P.* // Ann. Clinical Biochem. 1992. V. 29. № 1. P. 22.
11. *Warson H., Finch C.* // Applications of Synthetic Resin Latices, Latices in Diverse Applications. New York: Wiley, 2001.
12. *Roy D., Cambre J.N., Sumerlin B.S.* // Progr. Polym. Sci. 2010. V. 35. № 1–2. P. 278.
13. *Chou J., Wong J., Christodoulides N., Floriano P.N., Sanchez X., McDevitt J.* // Sensors (Switzerland). 2012. V. 12. № 11. P. 15467.

14. Jokerst J.V., Chen Z., Xu L., Nolley R., Chang E., Mitchell B., Brooks J.D., Gambhir S.S., Kumar-Sinha C. // PLoS ONE. 2015. V. 10. № 9.
15. Sankova N., Shalaev P., Semeykina V., Dolgushin S., Odintsova E., Parkhomchuk E. // J. Appl. Polym. Sci. 2021. V. 138. № 8. P. 49890.
16. Qi K., Ma Q., Remsen E.E., Clark C.G., Wooley K.L. // J. Am. Chem. Soc. 2004. V. 126. № 21. P. 6599.
17. Geißler D., Nirmalanathan-Budau N., Scholtz L., Tavernaro I., Resch-Genger U. // Microchim. Acta. 2021. V. 188. № 10.
18. Dai J., Liu Y., Li J., Lu Z., Yang W. // Surface Interface Analysis. 2009. V. 41. № 7. P. 577.
19. Hennig A., Hoffmann A., Borchering H., Thiele T., Schedler U., Resch-Genger U. // Analyt. Chem. 2011. V. 83. № 12. P. 4970.
20. Rödiger S., Ruhland M., Schmidt C., Schröder C., Grossmann K., Böhm A., Nitschke J., Berger I., Schimke I., Schierack P. // Anal. Chem. 2011. V. 83. № 9. P. 3379.
21. Zhu S., Panne U., Rurack K. // Analyst. 2013. V. 138. № 10. P. 2924.
22. Zwetsloot J.P.H., Leyte J.C. // J. Colloid Interface Sci. 1994. V. 163. № 2. P. 362.
23. Hen J. // J. Colloid Interface Sci. 1974. V. 49. № 3. P. 425.
24. Kamel A.A., El-Aasser M.S., Vanderhoff J.W. // J. Dispersion Sci. Technol. 1981. V. 2. № 2–3. P. 183.
25. James R.O., Davis J.A., Leckie J.O. // J. Colloid Interface Sci. 1978. V. 65. № 2. P. 331.
26. Kim J.W., Park J.G., Ryu J.H., Chang I.S., Suh K.D. // Colloid Polym. Sci. 2005. V. 283. № 11. P. 1233.
27. Song S., Zhang W., Hu Z., Zhang Z. // Colloids Surfaces A. 2009. V. 348. № 1–3. P. 1.
28. Bastos D., De Las Nieves F.J. // Colloid Polym. Sci. 1993. V. 271. № 9. P. 860.
29. Stone-Masui J., Watillon A. // J. Colloid Interface Sci. 1975. V. 52. № 3. P. 479.
30. Saija L.M., Stefanoli V., Umiski M., Cozzi M. // J. Dispersion Sci. Technol. 1995. V. 16. № 3–4. P. 273.
31. Tuncel A., Tuncel M., Ergun B., Alagöz C., Bahar T. // Colloids Surfaces A. 2002. V. 197. № 1–3. P. 79.
32. Hennig A., Borchering H., Jaeger C., Hatami S., Würth C., Hoffmann A., Hoffmann K., Thiele T., Schedler U., Resch-Genger U. // J. Am. Chem. Soc. 2012. V. 134. № 19. P. 8268.
33. Sankova N., Vyvdenko D., Luzina E., Shestakova D., Babina K., Malakhova Y., Yakush E., Parkhomchuk E. // Colloid Polym. Sci. 2022. V. 300. № 6. P. 625.
34. Okunev A.G., Mashukov M.Yu., Nartova A.V., Matveev A.V. // Nanomaterials. 2020. V. 10. № 7. P. 1.
35. Okunev A.G., Mashukov M.Yu., Sankova N.N., Nartova A.V., Matveev A.V. // IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering. 2021. V. 1155. № 1. P. 012015.
36. Матвеев А.В., Машуков М.Ю., Нартова А.В., Санькова Н.Н., Окунев А.Г. // Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов. 2021. V. 13. P. 300.
37. Labib M.E., Robertson A.A. // J. Colloid Interface Sci. 1980. V. 77. № 1. P. 151.
38. Sakota K., Okaya T. // J. Appl. Polym. Sci. 1976. V. 20. № 7. P. 1735.
39. Everett D.H., Gültepe M.E., Wilkinson M.C. // J. Colloid Interface Sci. 1979. V. 71. № 2. P. 336.
40. Kissa E. // Dispersions: Characterization, testing, and measurement. Routledge, 2017.
41. Polymer Colloids II / Ed. by R.M. Fitch. Springer Science & Business Media, 2012.
42. Everett D.H., Gültepe M.E., Wilkinson M.C. // J. Colloid Interface Sci. 1979. V. 71. № 2. P. 336.
43. Wilkinson M.C., Hearn J., Steward P.A. // Adv. Colloid Interface Sci. 1999. V. 81. № 2. P. 77.
44. Chainey M., Hearn J., Wilkinson M.C. // J. Colloid Interface Sci. 1987. V. 117. № 2. P. 477.
45. Kamel A.A., El-aasser M.S., Vanderhoff J.W. // J. Colloid Interface Sci. 1982. V. 87. № 2. P. 537.
46. Moser M., Nirmalanathan N., Behnke T., Geißler D., Resch-Genger U. // Analyt. Chem. 2018. V. 90. № 9. P. 5887.
47. Gong Y.K., Nakashima K., Xu R. // Langmuir. 2000. V. 16. № 22. P. 8546.
48. Carbon dioxide [Electronic resource]. — URL: <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C124389&Units=SI&Mask=10#Solubility> (дата обращения: 12.03.2023).