

Занятие 6

Дисперсные системы. Лиофобные коллоидные растворы.

Гетерогенные смеси двух и более составных частей, с высокоразвитой поверхностью раздела между ними, называются дисперсными системами. Отличительная особенность дисперсных систем заключена в малом размере частиц при наличии значительной межфазной поверхности. Поэтому, наибольшее значение имеют свойства поверхности и происходящие на ней процессы, а не свойства частиц в целом. Итак, такие системы состоят из двух и более фаз, одна из которых находится в мелкораздробленном состоянии (дисперсная фаза) в среде другой фазы (дисперсионная среда).

Классификация дисперсных систем разнообразна:

1. По агрегатному состоянию дисперсной фазы и дисперсионной среды.

Для удобства, дисперсные системы принято условно обозначать через дробь, где в числителе указывают агрегатное состояние дисперсной фазы, а в знаменателе – дисперсионной среды:

Дисперсная фаза	Дисперсионная среда	Условное обозначение	Название
Газ	Газ	Г/Г	Дисперсные системы не образуются
Газ	Жидкость	Г/Ж	Газовые эмульсии
Газ	Твердое вещество	Г/Т	Пористые тела
Жидкость	Газ	Ж/Г	Аэрозоли
Жидкость	Жидкость	Ж/Ж	Эмульсии
Жидкость	Твердое вещество	Ж/Т	Капиллярные системы
Твердое вещество	Газ	Т/Г	Порошки, пыли
Твердое вещество	Жидкость	Т/Ж	Суспензии и золи
Твердое вещество	Твердое вещество	Т/Т	Твердые гетерогенные системы

2. По кинетическим свойствам дисперсной фазы

- свободнодисперсные;
- связнодисперсные.

3. По наличию взаимодействия частиц дисперсной фазы с молекулами дисперсионной среды

— лиофильные — значительное взаимодействие частиц дисперсной фазы с молекулами дисперсионной среды. К ним могут относиться как природные, так и синтетические высокомолекулярные вещества.

— лиофобные — слабое взаимодействие частиц дисперсной фазы с молекулами дисперсионной среды. Это коллоидные растворы металлов, их оксидов, гидроксидов и солей.

4. По размеру частиц дисперсной фазы

- Грубодисперсные — размер частиц > 10 мкм;
- Среднедисперсные — размер частиц от 0,1 до 10 мкм;
- Высокодисперсные — размер частиц от 1 до 100 нм;
- Наноразмерные — размер частиц от 1 до 10 нм.

Предметом изучения коллоидной химии являются *высокодисперсные или коллоидные системы* (10^{-9} - 10^{-7} м).

Коллоидные системы — это гетерогенные системы, в которых дисперсная фаза отделена от дисперсионной среды поверхностью раздела. При условии, что дисперсионная среда является жидкостью, а дисперсная фаза — твёрдым веществом, коллоидную систему называют *золем*; если дисперсная фаза является жидкостью, то коллоидную систему называют *эмульсией*.

Наиболее значимы *коллоидные системы*, в которых в качестве дисперсионной среды выступает вода. Они делятся на *гидрофильные и гидрофобные коллоиды*.

Гидрофильные коллоиды похожи на истинные растворы, которые являются однородными, гомогенными.

Гидрофобные коллоиды можно получить, если только они каким-то образом стабилизируются. Гидрофобные коллоиды можно стабилизировать

при помощи адсорбции ионов на их поверхности. Адсорбированные ионы стабилизируют коллоид, взаимодействуя с водой. Укрупнение частиц и их слипание не происходит вследствие отталкивания частиц с адсорбированными на них ионов с одинаковым зарядом.

В биологических системах, например в крови человека, содержится малорастворимые соли кальция, магния, холестерин и др. малорастворимые вещества. Эти системы представляют собой лиофобные коллоидные растворы. Их называют лиозолями или золями.

Леофобные коллоиды являются гетерогенными высокодисперсными коллоидными системами. К ним принадлежат большей частью системы из неорганических веществ в водной дисперсионной среде, которые и представляют наибольший интерес для нашего курса. Типично леофобные коллоиды при выделении дисперсной фазы образуют осадки, порошкообразные по структуре и не содержащие значительных количеств дисперсионной среды. Впрочем, наряду с типично леофобными коллоидами существуют и такие леофобные коллоиды, которые обладают уже некоторой, и иногда довольно значительной, леофильностью. К ним принадлежат, например, гидрозолн кремнезема (точнее — кремниевых кислот), гидроокиси алюминия и др. В таких коллоидах частицы дисперсной фазы связывают большие количества воды и могут в известных условиях удерживать значительную часть ее при выделении из раствора, образуя при этом студнеобразные продукты. В определенных условиях такие золн способны даже застудневать, (желатинизоваться), не выделяя воды, т. е. полностью удерживая (и связывая) ее.

Леофобные коллоиды в коллоидной химии принято характеризовать как необратимые, не обладающие агрегативной и термодинамической устойчивостью. Однако правильное понимание смысла таких утверждений может быть достигнуто только на основе более глубоких сведений о внутреннем строении леофобных золей. Пока же можно принять их лишь как противопоставление соответствующим свойствам леофильных коллоидов.

Любое вещество может быть получено в коллоидном состоянии при соблюдении следующих условий:

- малая растворимость ДФ, т.е. плохое сродство к дисперсионной среде,
- размеры частиц ДФ ($10^{-9} \div 10^{-6}$ м),
- присутствие в системе стабилизатора.

Получение лиозолей.

По размерам частиц дисперсной фазы коллоидные растворы занимают промежуточное положение между грубодисперсными системами (гетерогенными) и истинными растворами (гомогенными системами). Поэтому методы получения коллоидных растворов подразделяются на следующие принципиальные направления:

- диспергационные методы. Они связаны с измельчением ДФ гетерогенных систем в присутствии стабилизатора до коллоидного состояния.
- конденсационные методы. Они связаны с объединением молекул или ионов в истинных растворах в более крупные коллоидные частицы.
- отдельную группу составляют методы пептизации, в которых степень дисперсности системы не меняется.

Диспергация гетерогенных систем осуществляется механическим путем в коллоидных мельницах, электрическим распылением в вольтовой дуге или с помощью ультразвука.

Конденсационные методы основаны на проведении химических реакций в растворах с образованием нерастворимых или труднорастворимых веществ. При этом используются различные типы реакций: восстановление, окисление, разложение, гидролиз и т.д. необходимыми условиями являются:

- использование достаточно разбавленных растворов,
- небольшой избыток одного из реагирующих веществ, которое выполняет роль стабилизатора образующихся коллоидных частиц.

К конденсационным методам относится также метод замены растворителя:

- в истинном растворе хороший растворитель замещается на плохой для данного вещества, это приводит к уменьшению взаимодействия между веществом и растворителем и укрупнению частиц вещества до коллоидных (например, разбавление духов водой).

Метод пептизации впервые был предложен биохимиками. В отличие от других методов образования коллоидных растворов при пептизации не происходит изменения степени дисперсности частиц. Ионы или молекулы пептизатора, адсорбируясь на поверхности коллоидных частиц свежеполученного осадка, обуславливают их переход в золь.

Пептизация – процесс, обратный коагуляции. По механизму действия различают адсорбционную (непосредственную) и диссолюционную (посредственную или химическую) пептизацию:

- при непосредственной пептизации на поверхности частиц перед их разделением адсорбируется добавленный пептизатор.

- при посредственной пептизации на поверхности частиц адсорбируется продукт взаимодействия пептизатора с веществом дисперсной фазы (вновь полученный пептизатор).

Пептизация играет существенную роль в моющем действии мыл и детергентов (ПАВ), в повышенной растворяющей способности сыворотки крови по отношению к ряду плохо растворимых в воде веществ, в диспергировании свежесформированных тромбов под действием пептизаторов – антикоагулянтов, в эмульгировании жиров в кишечнике с помощью желчных кислот перед их всасыванием, в рассасывании атеросклеротических бляшек, почечных и печеночных камней и др.

В медицине используются 2 группы коллоидных препаратов: гидрофильные и гидрофобные **защищенные** коллоидные растворы. В отличие от просто коллоидных растворов защищенные коллоидные растворы содержат гидрофильный слой молекул водорастворимого полимера, который ограждает («защищает») гидрофобную систему от дестабилизирующего влияния электролитов. Это обеспечивает агрегативную и седиментационную устойчивость. Поэтому такие системы называют защищенными коллоидами.

В качестве защитных полимеров чаще всего используют белки (желатин, яичный альбумин и др.), синтетические полимеры (ПВП, ПВС).

Таким образом, защищенные коллоиды - сложные системы, содержащие собственно коллоидный компонент (например, коллоидно-измельченное серебро в колларголе) и ВМС (альбумин), обладающее поверхностно-активными свойствами. Благодаря ВМС поверхность коллоидно-растворимого компонента гидрофилизуется. Механизм указанного процесса заключается в адсорбции ВМС на более крупных частицах защищаемого (коллоидно-растворимого) вещества. Из защищенных коллоидов, применяемых в медицине, следует назвать колларгол, протаргол и ихтиол, коллоидные растворы серебра, золота, железа.

Свойства растворов защищенных коллоидов. Защищенные коллоиды способны неограниченно набухать и самопроизвольно превращаться в растворы. Коллоиды не проходят через диализирующую мембрану.

Примеры приготовления растворов защищенных коллоидов

Раствор колларгола (коллоидное серебро, содержащее в качестве защитного коллоида 70% белка) может образоваться самопроизвольно при помещении колларгола в воду. Однако с целью ускорения процесса набухания и окончательного растворения частиц колларгол рекомендуется *растереть с небольшим количеством воды* и постепенно добавить остальное количество воды очищенной. Приготовленный раствор процеживают во флакон оранжевого стекла и оформляют к отпуску.

Растворы протаргола (соль протальбиновой кислоты с содержанием 8% серебра) готовят, *рассыпая протаргол по поверхности воды* очищенной и оставляя до полного растворения (15-20 мин). Раствор процеживают через небольшой тампон ваты во флакон оранжевого стекла и оформляют к отпуску.

Растворы ихтиола готовят в ступке, смешивая (растирая) ихтиол с водой очищенной и последующим доведением до заданного объема в

цилиндре. Раствор процеживают сквозь предварительно промытый ватный тампон во флакон для отпуска и оформляют соответствующим образом.

Стабильность и совместимость растворов защищенных коллоидов

Защищенные коллоиды несовместимы с солями сильных электролитов и особенно с фосфатами, так как наблюдается образование нерастворимых осадков фосфатов соответствующих ионов металлов. Растворы защищенных коллоидов несовместимы с растворами водоотнимающих средств: этиловым спиртом и сахарным сиропом. Растворы защищенных коллоидов несовместимы с солями цинка, меди и другими с более высоким электрохимическим потенциалом.

Коллоидные растворы не подлежат стерилизации, так как температура разрушает защитный слой и коагулирует белки. Стерилизация фильтрованием также невозможна, так как размер частиц превышает размер пор стерилизующего фильтра - 0,22 мкм.

Строение коллоидных частиц. Мицелла. Свойства лиофобных коллоидных растворов.

Согласно общепринятой мицеллярной теории строения коллоидных растворов, золь (коллоидный раствор) состоит из двух частей: *мицелл* и *интермицеллярной* жидкости.

Мицелла – это частица дисперсной фазы золь, окруженная двойным электрическим слоем.

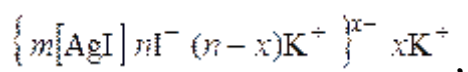
Интермицеллярной (межмицеллярной) жидкостью называют дисперсионную среду, разделяющую мицеллы, в которой растворены электролиты, неэлектролиты и ПАВ, являющиеся стабилизаторами коллоидной системы.

Частицы дисперсной фазы лиофобных золь имеют сложную структуру, которая зависит от условий получения золь. Предположим, что золь иодида серебра AgI образуется в ходе химической реакции между AgNO_3 и KI . При этом основу коллоидных частиц составят микрокристаллы труднорастворимого AgI , включающие в себя m молекул AgI (а точнее, m пар ионов Ag^+ и I^-). Эти микрокристаллы называют *агрегатами*. Если реакция

протекает в присутствии избытка иодида калия, то на поверхности агрегата возникает отрицательно заряженный слой в результате избирательной адсорбции n ионов I^- . Иодид-ионы являются *потенциалобразующими ионами* (сокращенно ПОИ). Агрегат вместе с потенциалобразующими ионами является частицей твердой фазы и его называют *ядром*.

Под действием электростатических сил к ядру притягивается n ионов противоположного знака – *противоионов*, компенсирующих заряд ядра. В данном случае эту роль выполняют ионы K^+ . Часть противоионов $(n - x)$, наиболее близко расположенных к ядру, находится в слое жидкости, смачивающей поверхность твердого ядра. Эти ионы испытывают действие не только электростатических, но и ван-дер-ваальсовых сил ядра, поэтому прочно удерживаются около него и образуют так называемый *адсорбционный слой противоионов*. Ядро с адсорбционным слоем противоионов образует коллоидную частицу. Остальные x противоионов, слабее связанных с ядром (только электростатически), под влиянием теплового движения располагаются в жидкой фазе диффузно (размыто), почему и носят название *диффузного слоя*. Все это образование вместе и является *мицеллой*.

Мицеллы золей электронейтральны. Структуру мицеллы можно записать в виде формулы:



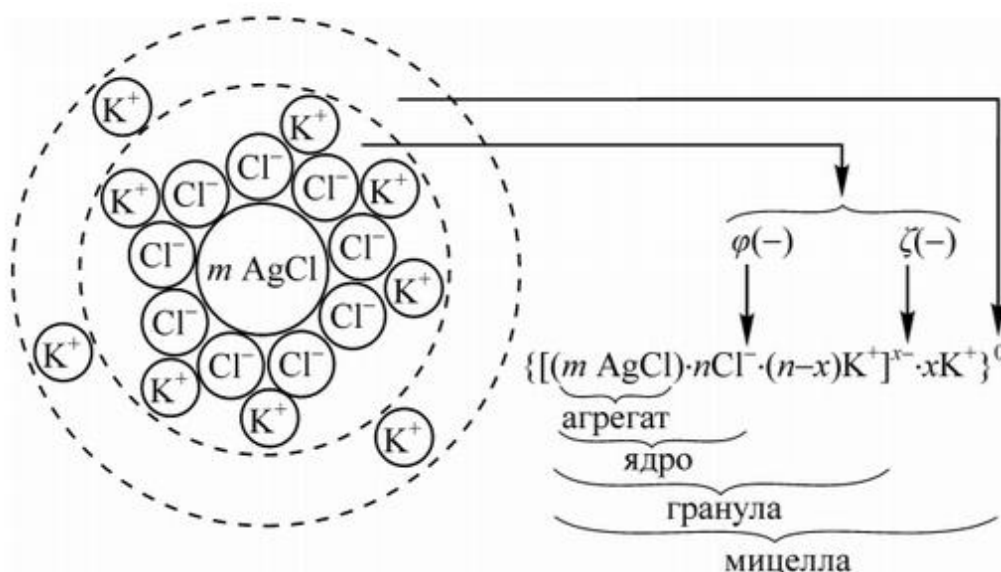
где m – число молекул, входящих в состав агрегата, n – число потенциалобразующих ионов, $(n - x)$ – число противоионов, входящих в адсорбционный слой, x – число противоионов, образующих диффузный слой. Числа m , n и x могут изменяться в широких пределах в зависимости от условий получения и очистки золя. Обычно $m \gg n$. Ядро вместе с адсорбционным слоем противоионов образуют *собственно коллоидную частицу*, или *гранулу*. В отличие от электронейтральной мицеллы коллоидная частица имеет заряд, в данном случае – отрицательный (x^-).

Граница между коллоидной частицей и диффузным слоем носит название *поверхность скольжения*. В формуле мицеллы этой границе

соответствует фигурная скобка между адсорбционным и диффузным слоями (рис.1).

Граница скольжения обозначает ту геометрическую поверхность, по которой происходит разделение («разрыв») мицеллы на коллоидную частицу и диффузный слой в случае ее перемещения относительно дисперсионной среды (например, при участии мицеллы в броуновском движении или при движении под действием электрического поля).

На границе раздела твердое тело – жидкость возникает *двойной электрический слой*. Согласно современным представлениям, двойной электрический слой (ДЭС) - это образующийся на границе двух фаз тонкий поверхностный слой из пространственно разделенных электрических зарядов противоположного знака (потенциалобразующих ионов и противоионов). Потенциалобразующие ионы, адсорбирующиеся на твердой поверхности, - это внутренняя обкладка ДЭС. Внешняя обкладка ДЭС (слой противоионов) состоит из двух частей: плотной и диффузной.



где m — число формульных единиц AgCl в агрегате; n — число адсорбированных потенциалопределяющих ионов Cl^- ; $(n-x)$ — число противоионов K^+ в плотном адсорбционном слое; x — число противоионов K^+ в диффузном слое.

Рис. 1. Схема строения мицеллы золя хлорида серебра.

Образование двойного слоя ионов приводит к появлению определенных электрических потенциалов на границе раздела твердой и жидкой фаз. Ионы первого слоя (внутренней обкладки), фиксированные на твердой поверхности, придают этой поверхности свой знак заряда и создают

на ней так называемый *поверхностный или ϕ -потенциал*. Знак ϕ -потенциала совпадает со знаком заряда потенциалобразующих ионов. Величина ϕ -потенциала пропорциональна числу зарядов этих ионов на поверхности частиц.

С точки зрения термодинамики, ϕ -потенциал равен работе переноса единичного (элементарного) заряда из бесконечно удаленной точки объема раствора на поверхность твердой фазы, т. е. представляет собой потенциал твердой поверхности. Прямых методов его измерения не имеется.

Второй потенциал, характеризующий двойной слой ионов, называют *электрокинетическим потенциалом или χ -потенциалом* (дзета-потенциалом). Он представляет собой электрический потенциал в двойном слое на границе между коллоидной частицей, способной к движению в электрическом поле и окружающей жидкостью. χ -потенциал является *потенциалом поверхности скольжения*. Однако в двойном электрическом слое точное расстояние от твердой поверхности до поверхности скольжения неизвестно. Поэтому приближенно можно принять, что поверхность скольжения проходит по границе между адсорбционным и диффузным слоями противоионов. Следовательно χ -потенциал близок, хотя и не совсем равен, потенциалу на границе адсорбционного и диффузионного слоев.

Термодинамически ξ -потенциал можно определить как работу, необходимую для переноса единичного заряда из бесконечно удаленного элемента объема раствора на поверхность скольжения. Знак ξ -потенциала обычно совпадает со знаком ϕ -потенциала. ξ -потенциал является частью ϕ -потенциала и всегда меньше, чем ϕ -потенциал. Величина ξ -потенциала непосредственно связана с числом противоионов в диффузном слое и изменяется пропорционально этому числу. Можно считать, что с увеличением толщины диффузного слоя ξ -потенциал повышается. Поскольку электрокинетический потенциал относится к коллоидной частице и обуславливает ее подвижность в электрическом поле, величина этого потенциала может быть измерена экспериментально по скорости движения

частиц. Направление же перемещения частиц к катоду или аноду указывает на знак ξ -потенциала.

Благодаря наличию ξ -потенциала на границах скольжения всех частиц дисперсной фазы возникают одноименные заряды и электростатические силы отталкивания противостоят процессам агрегации. Таким образом, ξ -потенциал является одним из основных факторов агрегативной устойчивости гидрофобных золь. Величина, а иногда и знаки ϕ - и ξ -потенциалов могут изменяться под влиянием внешних воздействий (электролитов, разведения, повышения температуры). Особенно чувствителен к этим факторам ξ -потенциал.

Электрокинетические свойства коллоидных систем: электрофорез, электроосмос.

К *электрокинетическим явлениям* относят эффекты, связанные либо с относительным движением двух фаз под действием постоянного электрического поля, либо с возникновением разности потенциалов при относительном смещении двух фаз, на границе между которыми существует двойной электрический слой.

Электрокинетические явления подразделяют на две группы: *прямые* и *обратные*. К *прямым* относят те электрокинетические явления, которые возникают под действием внешнего электрического поля (*электрофорез* и *электроосмос*). *Обратными* называют электрокинетические явления, в которых при механическом перемещении одной фазы относительно другой возникает электрический потенциал (*потенциал протекания* и *потенциал седиментации*).

Электрофорез и электроосмос были открыты Ф. Рейссом (1808). Он обнаружил, что если во влажную глину погрузить две стеклянные трубки, заполнить их водой и поместить в них электроды, то при пропускании постоянного тока происходит движение частичек глины к одному из электродов.

Это явление перемещения частиц дисперсной фазы в постоянном электрическом поле было названо *электрофорезом*.

В другом опыте средняя часть *U*-образной трубки, содержащей воду, была заполнена толченым кварцем, в каждое колено трубки помещен электрод и пропущен постоянный ток. Через некоторое время в колене, где находился отрицательный электрод, наблюдалось поднятие уровня воды, в другом - опускание. После выключения электрического тока уровни воды в коленах трубки уравнивались.

Это явление перемещения дисперсионной среды относительно неподвижной дисперсной фазы в постоянном электрическом поле названо *электроосмосом*.

Позже Квинке (1859) обнаружил явление, обратное электроосмосу, названное *потенциалом протекания*. Оно состоит в том, что при течении жидкости под давлением через пористую диафрагму возникает разность потенциалов. В качестве материала диафрагм были испытаны глина, песок, дерево, графит.

Явление, обратное электрофорезу, и названное *потенциалом седиментации*, было открыто Дорном (1878). При оседании частиц суспензии кварца под действием силы тяжести возникала разность потенциалов между уровнями разной высоты в сосуде.

Все электрокинетические явления основаны на наличии двойного электрического слоя на границе твердой и жидкой фаз.

Из описанных явлений электрофорез имеет наиболее широкое практическое применение. При электрофорезе происходит направленное перемещение частиц дисперсной фазы в электрическом поле постоянного тока к электроду, знак которого противоположен знаку заряда частиц. Подвижность частиц в электрическом поле обусловлена тем, что при наложении внешней разности потенциалов происходит разрыв двойного электрического слоя по границе скольжения и частица получает заряд, соответствующий ее ξ -потенциалу. Противоионы диффузного слоя перемещаются при этом к противоположному электроду. Очевидно, что скорость движения частиц дисперсной фазы пропорциональна величине их

ξ -потенциала. Наблюдая электрофоретическое движение частиц, можно определить знак и величину ξ -потенциала коллоидной частицы.

Величина ξ -потенциала связана со скоростью электрофореза заряженных частиц зависимостью, названной уравнением Гельмгольца – Смолуховского:

$$\zeta = \frac{k\pi\eta v}{\varepsilon E}, \quad (1)$$

где k — коэффициент, зависящий от формы частиц (для сферических частиц $k = 6$, для цилиндрических $k = 4$); η — вязкость среды; v — линейная скорость перемещения частиц (или границы золя); ε — относительная диэлектрическая проницаемость среды; E — напряженность поля (градиент потенциала).

Линейная скорость v изменяется пропорционально напряженности поля E , поэтому не может служить характеристикой частиц. В связи с этим введено понятие *электрофоретической подвижности* $v_{эф.}$, равной скорости движения частицы при единичном градиенте потенциала ($E = 1$):

$$v_{эф.} = v/E. \quad (2)$$

Экспериментально найденные значения подвижностей часто оказываются меньше расчетных. Несовпадение этих величин объясняется в основном тем, что теория Гельмгольца - Смолуховского не учитывает два явления: *релаксационный эффект* и *электрофоретическое торможение*. Первый из этих эффектов вызывается нарушением симметрии диффузного слоя вокруг частиц. Второй эффект обусловлен добавочным трением электрической природы при движении частиц и противоионов в противоположные стороны.

Методы электрофореза имеют большое теоретическое и практическое значение. Знание величины ξ -потенциала позволяет судить об устойчивости коллоидного раствора, поскольку изменение его устойчивости, как правило, происходит пропорционально изменению электрокинетического потенциала.

Электроосмос, как и электрофорез, получил широкое применение. Механизм электроосмоса заключается в следующем. Нерастворимый

материал мембраны при контакте с жидкостью (водой) диссоциирует с поверхности, отщепляя в жидкость те или другие ионы. Возникает двойной электрический слой, внутренняя обкладка которого входит в состав твердой фазы, а противоионы диффузно располагаются в жидкости. При включении постоянного электрического тока противоионы диффузного слоя перемещаются к электроду соответствующего знака. Так как ионы в воде всегда гидратированы, то при движении иона с ним увлекается определенный объем дисперсионной среды за счет сил молекулярного трения (вязкости) между гидратной оболочкой иона и окружающей жидкостью. Очевидно, что чем больше толщина диффузного слоя и меньше площадь поперечного сечения капилляра или поры мембраны, тем сильнее проявляется электроосмотический перенос жидкости. Метод электроосмоса имеет большое практическое применение в процессах обезвоживания и сушки многих пористых материалов или весьма концентрированных коллоидных систем. Для этой цели применяют, например, электрофильтр-прессы.

Существует три различных электрофоретических метода. Под собственно электрофорезом обычно понимают зональный электрофорез (ЗЭ), два других называют методами изоэлектрофокусирования (**ИЭФ**) и изотахофореза (**ИТФ**). Электрофорез применяют главным образом для разделения веществ, молекулы которых различаются по электрофоретической подвижности, т. е. отношению скорости электрофореза (скорости перемещения заряженных частиц вещества) к напряженности электрического поля, которое зависит от свойств заряженных частиц окружающей их среды. Путем изменения внешних условий (например, pH среды, температуры, силы тока, состава и концентрации буферного раствора или носителя) создают подходящие условия для разделения. Вследствие того что при разделении на молекулы действуют только электростатические силы, электрофорез считают «мягким» методом и поэтому часто применяют для работы с лабильными веществами.

Электрофорез можно проводить в растворе, но из-за неизбежного выделения теплоты и возникающей в связи с этим тепловой конвекции процесс, как правило, проводят на носителе. Вследствие некоторых сопутствующих явлений (адсорбция, несоизмеримость размеров высокомолекулярных соединений и пор носителя) введение носителя ограничивает область применения метода. Однако свойства носителя иногда используют для повышения эффективности разделения: например, при электрофорезе в градиенте полиакриламидного геля фракционирование осуществляется не столько за счет различной электрофоретической подвижности веществ, сколько за счет различия в их молекулярных массах.

Зональный электрофорез (ЗЭ) — это метод разделения заряженных частиц в электрическом поле, основанный на том, что частицы с разными соотношениями заряд/масса мигрируют с различными скоростями. В зависимости от знака заряда молекулы вещества мигрируют в электрическом поле по направлению к аноду или катоду.

Результаты этого процесса регистрируются на электрофореграфе (по аналогии с хроматографией).

Ранее использовали один и тот же буфер в слое носителя электродных камерах, т. е. разделение вели в непрерывной буферной системе. В настоящее время этот прием еще применяют при электрофорезе на бумаге и пластинках. При электрофорезе в прерывистой буферной системе (различные буферы в слое носителя электродных камерах) быстро мигрирующие вещества образуют более узкие зоны. Электрофорез в прерывистой буферной системе используют главным образом в гель-электрофорезе. ЗЭ обычно проводят на бумаге, пластинках и в гелях в водных буферных растворах.

При электрофорезе в электродных камерах происходит электролиз раствора и вследствие этого изменяется состав буфера. Поэтому электроды располагают так, чтобы они не касались носителя, а контакт между ними осуществлялся при помощи полосок фильтровальной бумаги. Электродная камера разделена на два отсека, которые соединяются дополнительным мостиком из фильтровальной бумаги. Подбирая соответствующий объем

электродных камер или перекачивая буфер насосом от анода к катоду, поддерживают постоянными концентрацию и значение рН буфера в двухкамерной системе. Рекомендуется также проводить деполяризации электродов после каждого электрофоретического разделения.

Материалы-носители подразделяются на две группы:

первая — бумага, целлюлоза, ацетилированная целлюлоза, агароза и материалы для ТСХ(например, силикагель);

вторая — крахмал и полиакриламид.

Эффективность разделения зависит не только от суммарного заряда молекул анализируемых веществ, но и от размеров молекул. Определяющим параметром является соотношение заряд - масса.

Носители первой группы относительно инертны и слабо влияют на эффективность разделения. Материалы второй группы обладают пористой структурой, что существенно влияет на качество разделения. Поскольку размеры пор соизмеримы с размером макромолекул, то можно разделять вещества с одинаковыми суммарными зарядами, но с разными молекулярными массами (например, при ионообменной хроматографии).

Электрофорез на бумаге позволяет экстрагировать вещества из соответствующих зон или пятен и использовать для дальнейшей работы; обнаруживать вещества, используемые в бумажной хроматографии; проводить фракционирование в двух направлениях.

Для электрофореза на бумаге используют специальные сорта бумаги, характеризующиеся следующими свойствами: достаточной механической прочностью; удовлетворительным для удерживания достаточного количества электролита и образца.

Наряду с камерами погружного типа применяют камеры для электрофореза в тонком слое с охлаждаемыми пластинами, в которых лист бумаги помещают между двумя изолирующими пленками.

Электрофорез в тонком слое проводят на стеклянных пластинках, покрытых слоем носителя. По сравнению с полосками бумаги пластины более удобны в обращении. Электрофорез на бумаге и в тонком слое

применяют для исследования фракций, полученных при колоночной хроматографии, ферментативных гидролизатов белков, метаболитов, а также для разделения аминов, аминокислот, пептидов и белков, нуклеотидов, фенолов, нафтолов, фенолкарбоновых кислот, красителей, неорганических соединений.

Гель-электрофорез. Вместо целлюлозы и силикагеля можно использовать мягкие гели. Ниже приведены основные рабочие стадии проведения электрофореза в слое геля: приготовление гелей и подготовка образца ® электрофоретическое разделение ® детектирование ® анализ результатов и оформление их в рабочем журнале. Из множества гелей на практике применяют только два - гели агарозы и полиакриламида. В зависимости от способа приготовления геля и типа буферной системы различают несколько вариантов метода:

- электрофорез в геле полиакриламида (ПААГ);
- диск-электрофорез (диск-ПААГ) в прерывистой буферной системе;
- электрофорез в геле полиакриламида в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН-ПААГ);
- электрофорез в градиенте пористого полиакриламидного геля.

Гель окрашивают красителем. Поскольку молекулы красителя заряжены, гель можно обесцвечивать электрофоретически при напряжении 50 В. В местах, не содержащих исследуемое вещество, гель обесцвечивается. Количественную оценку проводят спектрофотометрически при помощи сканирующего денситометра.

После усадки гелей в водном этаноле или ацетоне их высушивают между двумя листами целлофана в вакууме при слабом нагреве.

Гель-электрофорез применяют для разделения всех классов заряженных веществ, например белков, ферментных комплексов, вирусов, олигонуклеотидов и нуклеиновых кислот; определения молекулярных масс биополимеров; анализа белков на микроуровне (антигенов при количественном иммуноэлектрофорезе).

При электрофорезе в свободном потоке электролит (буфер) перемещается в вертикальном направлении (перпендикулярно направлению электрического поля). Заряженные частицы под действием электрического поля мигрируют в горизонтальном направлении и одновременно увлекаются потоком буфера. В итоге разделенные вещества распределяются в потоке в соответствии с их электрофоретической подвижностью и элюируются из прибора в различных фракциях. Электрофорез в свободном потоке применяют для препаративного разделения заряженных частиц, в том числе коллоидных, субклеточных частиц и клеток.

Изоэлектрическое фокусирование (ИЭФ). С помощью изоэлектрического фокусирования по изоэлектрическим точкам (ИЭТ) разделяют амфотерные вещества, в частности белки. Сущность метода заключается в том, что молекулы белков мигрируют под действием электрического поля в среде с линейным и стабильным градиентом pH до достижения области pH, соответствующей их ИЭТ.

Изоэлектрическое фокусирование отличается от зонального электрофореза тем, что разделение осуществляется не в буфере с постоянным значением pH, а в среде с линейным градиентом pH. Значение pH минимально вблизи анода, максимально — вблизи катода. Главное условие эффективного разделения белков - наличие стабильного градиента pH среды. В связи с тем что белки обладают амфотерными свойствами, необходимо, чтобы амфолиты – носители - вещества, с помощью которых формируется градиент pH, обладали высокой буферной емкостью. Амфолиты - носители представляют собой многокомпонентную смесь изомеров и гомологов алифатических полиаминополикарбоновых кислот, сульфокислот и фосфоновых кислот, изоэлектрические точки которых располагаются в широкой области значений pH.

ИЭФ применяют для аналитического разделения пептидов, белков, нуклеотидов, органических кислот, ионов металлов и препаративного разделения белков; накопления следовых количеств веществ из больших объемов пробы; определения электрофоретической подвижности.

Необходимым условием проведения ИЭФ является наличие высокого напряжения при низкой ионной силе раствора. Однако именно в этих условиях усиливается электроосмос. Отрицательное воздействие на эффективность разделения веществ оказывают так же примеси солей, занесенные вместе с реактивами. Для проведения ИЭФ более всего подходит полиакриламидный гель с низкими электроосмотическими свойствами. Продолжительность эксперимента зависит от напряженности поля и характера изменения рН-градиента. Препаративное изoeлектрическое фокусирование проводят в вертикальных колонках (в градиенте плотности сахарозы, глицерина, этиленгликоля) или в слое инертного материала. В качестве таких материалов используют гранулированные гели (рН градиент формируют с помощью амфолитов).