



UDK:543.554.2

Oydin TO'YEVA,

O'zbekiston Milliy universiteti tayanch doktoranti

E-mail: toyeva_o@nuu.uz

Nigora QUTLIMUROTOVA,

O'zbekiston Milliy universiteti professori, k.f.d

Salohiddin MAHMADOLIYEV,

O'zbekiston Milliy universiteti o'qituvchisi

Ruhiya KUTLIMUROTOVA,

Samarqand davlat veterinariya meditsinasi va chorvachilik va biotexnologiyalar universiteti

Toshkent filiali dotsenti v.b

E-mail: ruhiya@internet.ru

O'zMU professori, k.f.d M.Yuldasheva taqrizi asosida

PREPARATION OF SECONDARY BUFFER SOLUTIONS IN THE PRESENCE OF AMINO ACIDS AND STUDY OF TEMPERATURE EFFECTS ON THEM

Annotation

The article is devoted to the preparation of secondary buffer solutions using amino acids. For this purpose, buffer solutions are prepared, the composition of which consists of amino acids, phosphate and borate. The effect of temperature (10-65°C) on the change in the pH of buffer solutions has been studied. The resulting buffer solutions were used to calibrate the glass electrode and the acid error does not increase by 10^{-5} .

Key words: calibration, buffer solutions, phosphate, amino acid, borate buffers, secondary buffer.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ВТОРИЧНЫХ БУФЕРНЫХ РАСТВОРОВ В ПРИСУТСТВИИ АМИНОКИСЛОТ И ИЗУЧЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ НА НИХ

Аннотация

Статья посвящена приготовлению вторичных буферных растворов с использованием аминокислот. Для этого готовят буферные растворы, состав которых состоит из аминокислоты, фосфата и бората. Изучено влияние температуры (10-65°C) на изменение pH буферных растворов. Полученные буферные растворы применены для калибровки стеклянного электрода и при этом кислотная погрешность не повышает 10^{-5} .

Ключевые слова: калибровка, буферные растворы, фосфатные, аминокислотные, боратные буферы, вторичный буфер

AMINOSIRKA KISLOTA ISHTIROKIDA IKKILAMCHI BUFER ERITMALARNI TAYYORLASH VA ULARGA HARORAT TA'SIRINI O'RGANISH

Annotation

Maqola aminosirka kislota yordamida ikkilamchi bufer eritmalar tayyorlashga bag'ishlangan. Buning uchun tarkibi aminosirka, fosfat va boratdan iborat bo'lgan bufer eritmalar tayyorlangan. Bufer eritmalarning pH ini o'zgarishiga temperaturaning tasiri (10-60°C) o'rganilgan. Olingan bufer eritmalar shisha elektrodni kalibrovkalashda ishlatilgan va kislotali xatolik 10^{-5} dan oshmadi.

Kalit so'zlar: kalibrovkalash, bufer eritmalar, fosfatli, aminosirka kislotali, boratli buferlar, ikkilamchi bufer.

Kirish. Bufer eritmalar kimyo, biologiya va farmatsevtikada asosiy rol o'ynaydi. Ular pH darajasini barqaror saqlab, kimyoviy va biologik jarayonlarning samarali amalga oshirishini ta'minlaydi. Ayniqsa, kimyo sanoatida birlamchi va ikkilamchi bufer eritmalar keng qo'llaniladi. Ikkilamchi buferlar keng pH diapazonida barqarorlikni ta'minlab, pH ± 0.05 oralig'ida ushlab turish imkonini beradi. Ishlab chiqarishda mahsulotlarning sifati va miqdorini nazorat qilishga yordam beradigan turli xil qurilmalar mavjud. Asboblarni kalibrovka qilishda standart buferlar keng qo'llaniladi. Bufer eritmalar pH barqarorligini ta'minlash uchun kimyoviy tahlillarni o'tkazishda keng qo'llaniladi. Amaldagi standart buferlar chet eldan import qilinadi, bu esa o'z navbatida katta mablag' talab qiladi.

Bugungi kunda dolzarb vazifalardan biri bu uzoq vaqt davomida pH qiymatini barqaror ushlab turadigan bufer eritmalarni yaratishdir. Universal buferning klassik namunasi – pH qiymatlarining keng doirasini qamrab olgan Britton-Robinson buferi kabi past konsentratsiyali ionlarni aniqlash va ion selektiv elektrodni kalibrlash uchun ishlatiladigan metall buferlar ham ishlab chiqilgan [1]. Adabiyotlarda 298,15-318,15 K harorat oralig'ida trinitrat limon kislota tuzi ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), glitsin va L-alaninning suvli eritmalarni o'z ichiga olgan pH=7.40 bufer eritmasining zichligi va yopishqoqligini tahlil qilingan [2]. Standart titrlardan foydalangan holda pH=2–3 bo'lgan etalon standart eritmalari tayyorlangan. Ushbu standart titrlar ma'lum pH qiymatlari bilan bufer eritmalarni tayyorlash uchun mo'ljallangan. Ular ma'lum bir ampulalarda, flakonlarda aniq tortilgan massalarda saqlanadi. Bunday standart buferlar kalibrovkalashda eng ma'qul eritmalar hisoblanadi [3]. Milliy Metrologiya, standartlashtirish va sanoat sifati institutining Kimyoviy metrologiya bo'limi (Dquim) - Inmetro 2003 yilda pH o'lchashning asosiy tizimini yaratdi. Ushbu tizimdan asosiy maqsad Braziliyadagi pH o'lchovlarining ishonchiligi o'rganishdan iborat edi, chunki uning o'lchovi butun mamlakat bo'ylab ko'plab laboratoriyalarda o'tkaziladigan eng muhim tahlillardan biridir. Karbonat buferlarining pH qiymatlarini o'lchash maqsadida birlamchi pH sozlash uchun Inmetro CCQM-K18 deb ataluvchi standart buferdan foydalanilgan. Inmetroning ushbu

qo‘shimcha taqqoslash natijalari yakunida uning pH=10 bo‘lgan eritmasi birlamchi standart bufer eritma sifatida ko‘rsatilgan [4]. Olimlar, bufer mavjudligida pH ning sekin o‘shishi sekin sirt passivatsiyasiga va nitrat reaksiyasini yaxshilashga olib keladi degan xulosaga kelishgan [5]. Gemitsellulozaning parchalanish jarayonida bufer eritmasi sifatida HCOOH / HCOONa ishlatilgan va maksimal HMF hosil bo‘lishining eng maqbul shartlari o‘rganilgan [6]. Aromatik aminokislotalar (L-gistidin) va geterosiklik ligantlar (uratsil) ning toza suvdagi (pH=5.4) va suvli bufer eritmalaridagi (pH=7.4) o‘zaro ta’siri kalorimetriya va ultrabinafsha-spektroskopiya bilan o‘rganilgan [7]. Ko‘pgina tadqiqotlarda pH bufer tizimlari tomonidan boshqariladi [8]. ba’zi tadqiqotlar reaksiya paytida pH ni nazorat qilmagan bo‘lsada [9]. Temirni olib tashlash tizimlarida eng ko‘p ishlatiladigan buferlar HAc/Dac yaxshi buferlar guruhi hisoblanadi [10], shu jumladan 2-(n-morfolino)etansulfonik kislota, n-(2-gidroksietil)piperazin-N ‘2-etansulfonik kislota va boshqalar. Ko‘pgina tadqiqotlarda buferning reaksiya tizimlariga ta’siri ko‘rib chiqilmagan, ba’zi adabiyot manbalarida buferning temirdan ifloslanishini olib tashlash samaradorligiga ta’siri haqida qarama-qarshi ma’lumotlar keltirilgan. Mateson va Tratnikov o‘z tadqiqotlarida tris(gidroksimetil)aminometan (Tris), 2-(n-sikloheksilamino)etansulfonik kislota va 3-(N-morfolino)propan sulfonik kislota o‘z ichiga olgan bir qator buferlardan foydalanganlar. Buferlanmagan tizimlar shunga o‘xshash pH qiymatlarida buferlangan tizimlarga mos keladigan degalogenatsiya tezligini beradi [11]. Bundan tashqari, alohida buferlar tetraxlormetan degalogenatsiyasiga sezilarli ta’sir ko‘rsatmadi. Bufer eritmalar havo tarkibidan suv va karbonat angidridni yutish orqali pH ni o‘zgartiradi. Karbonat buferlari esa oziq-ovqat fermentatsiyasiga ta’sir qiladi (Muld va boshq., 2005b) [12], [13]. Kanzas buferining asosi kaliy fosfatdir va pH doimiy bo‘lishi uchun kaliy digidrofosfat va natriy gidrofosfat eritmalarini aralashtirish kerak (Marten va Barnes, 1980). [14]. Kaliy fosfat buferlari muvozanat dializ, HPLC va APE kabi analitik usullarda keng qo‘llaniladi, chunki ular barqaror pH ni saqlaydi, bu tajribalarning aniqligi uchun juda muhimdir, ayniqsa ligandlar va oqsillar o‘rtasidagi o‘zaro ta’sirda. Bufer zichligining harorat, pH va konsentratsiyaga qarab o‘zgarishi erigan moddalar konsentratsiyasiga va erigan ligand tizimidagi bog‘lanishga ta’sir qilishi mumkin. Zichlikni o‘lchash bo‘yicha tajribalar o‘tkazish va zichlikni hisoblash uchun umumiy tenglamani ishlab chiqish analitik tadqiqotlarda ma’lumotlarning ishonchligi va ishonchligini oshirish orqali ma’lumotlarning aniqligini oshirishi mumkin [15].

Tadqiqot metodologiyasi. Ushbu tadqiqotda faqat analitik darajadagi tozalikka ega bo‘lgan kimyoviy moddalar va zamonaviy elektrokimyoviy qurilmalardan foydalanildi.

Tadqiqotimiz doirasida ikkilamchi standart bufer eritmalarini tayyorlashda glitsin ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$), ortofosfat kislotalari (H_3PO_4), borat kislotalari (H_3BO_3) va natriy gidroksidi (NaOH) ni o‘z ichiga olgan bufer eritmasi va kaliy biftalati $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ (0,05 M), natriy gidroksid NaOH (0,1 M), kaliy digidrofosfat KH_2PO_4 (0,067 M) va natriy gidrofosfat Na_2HPO_4 (0,067 M), natriy fosfat Na_3PO_4 (0,034 M) va kaliy digidrofosfat KH_2PO_4 (0,067 M), natriy gidrokarbonat NaHCO_3 (0,067 M) va natriy karbonat Na_2CO_3 (0,025 M) tuzlari eritmalaridan foydalanilgan. Natijada pH=4.01, pH=7.00, pH=10.01 va pH=2.48; 5.57; 7.01; 11.05; 12.35; 12.53 bo‘lgan buferlari Lurie usuli bilan tayyorlangan (Lurie Y.Y.) [15].

Barcha kerakli massadagi tuzlarning bir qismi analitik tarozida tortilib, 250 ml hajmli o‘lchash kolbasida eritildi. Tortish xatosi $\pm 0,00001$ g ni tashkil etdi. Eksperimentni o‘tkazish uchun Heal Force CR-RO30 (Xitoy) distillyatori yordamida olingan bidistillangan suv ishlatilgan. Bidistillangan suvning elektr o‘tkazuvchanligi 0,475 MSM/m ni tashkil etdi. Aminosirka kislota tarkibli buferni tayyorlashda 0,0826 g borat kislota (H_3BO_3) va 0,3 g glitsin ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$) ni tortib olib, 100 ml hajmli o‘lchov kolbasiga solindi. Ortofosfat kislotalarining 98% li eritmasidan 1 ml miqdorida olindi va bidistillangan suv solib, hajmi 250 ml ga yetkazildi. Olingan eritmalardan 0,04 N eritmalar tayyorlandi. Bundan tashqari, mor pipetkasi yordamida har bir eritmadan 33,3 ml dan olib, 100 ml li kolbaga solib, uchta komponentni o‘z ichiga olgan eritma tayyorlandi. Olingan eritmani 0,1000 N NaOH eritmasi bilan turli nisbatlarda aralashtirildi. Ularning vaqt va haroratga bog‘liq xususiyatlari o‘rganildi. Bufer eritmalarining pH darajasi potensimetrik ravishda o‘lchandi. Potensimetrik asbob bufer eritmalarini tayyorlash va pH qiymatlarini aniqlash uchun ishlatilgan. Potensimetr kislota-asosli titrlashda, bir va ko‘p asosli kislotalarning dissotsiatsiya konstantalari va dissotsiatsiya darajalari qiymatlarini, shuningdek asoslarni topish uchun keng qo‘llaniladi.

Tahlil va natijalar. Bufer eritmasi-bu oz miqdordagi kislota yoki asos qo‘shilganda pH o‘zgarishiga qarshilik ko‘rsatadigan eritma. Buferlarning ikki turi mavjud: kislotali buferlar (pH<7) va asosli buferlar (pH>7). Bufer eritmalarining tarkibiy qismlari kuchsiz kislota va u bilan boglangan asos yoki aksincha [11], [12], [13], [14], agar kislotali buferga oz miqdordagi kuchli kislota qo‘shilsa, kuchli kislotalardan H^+ ionlari asos ionlari bilan neytrallanadi, shunda pH o‘zgarishi bo‘lmaydi. Boshqa tomondan, agar kislotali buferga oz miqdordagi kuchli asos qo‘shilsa, kuchli asosdagi OH ioni H^+ ioni bilan birlashib H_2O hosil qiladi va shuning uchun pH o‘zgarmaydi [14]. Buferning pH qiymatini hisoblash uchun Henderson-Hasselbalch tenglamasidan foydalaniladi.

Tayyorlangan KH_2PO_4 (0.067 M) va Na_2HPO_4 (0.067 M), $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ (0.05 M) va NaOH (0.1 M), NaHCO_3 (0.067 M) va Na_2CO_3 (0.025 M) bufer eritmalarining pH qiymati quyidagi qiymatlarni tashkil etdi: 4.01, 7.00 va 10.01.

Tadqiqot davomida ishlatiladigan bufer eritmalarining aniq harorat xususiyatlarini o‘lchash vositasida saqlash kerak. Bundan tashqari, o‘lchash moslamasi harorat sensori yordamida avtomatik ravishda olinishi yoki qo‘lda kiritilishi mumkin bo‘lgan aniq harorat ma’lumotlariga ega bo‘lishi kerak. Shuning uchun haroratning pH ga ta’siri o‘rganildi va olingan ma’lumotlar 1-jadvalda keltirilgan.

Jadval 1

Bufer eritmalarning pH o‘zgarishiga haroratning ta’siri

Harorat	pH		
°C	4.01	7.00	10.01
10	4.00	7.01	10.00
20	3.98	7.03	10.04
30	3.96	7.01	9.98
40	4.02	6.96	10.01
50	3.95	7.02	10.04
60	4.02	7.02	10.01

Ushbu jadvaldan ko‘rinib turibdiki, 10-60 °C haroratda bufer eritmalarining pH miqdori 0,05 dan oshmaydi.

Tayyorlangan bufer eritmalariga haroratning ta’siri bo‘yicha olingan ma’lumotlar ularni GOST ma’lumotlari bilan taqqoslash imkonini berdi. (jadval) 2

Jadval 2

Tayyorlangan bufer eritmalari Gost eritmalariga nisbatan

Gost		Tayyorlangan	
E (mV)	pH	E (mV)	pH
118	5	118	5
0	7	0	7

Ushbu jadvallardan ko'rinib turibdiki, tayyorlangan bufer eritmalari Gost bufer eritmalaridan farq qilmaydi va ular shisha elektrodni kalibrlash uchun ishlatilishi mumkin. Olingan fosfat buferlari gialuron kislotasini eritish va o'lchash natijasida $5,5 \cdot 10^{-5}$ potentsiometrga teng bo'lgan dissotsiatsiya konstantasi aniqlandi. Bu shisha elektrodni kalibrlash uchun tayyorlangan bufer eritmalarini qo'llash mumkinligini isbotlaydi.

Tadqiqot natijasida aminosirka kislotali buferning turli xil qiymatlarga ega pH namunalari tayyorlandi: 2,48; 5,57; 7,01; 11,05; 12,35; 12,53 har bir namuna uchun pH qiymatlari 24, 48, 72 va 120 soatdan keyin o'lchandi. Olingan natijalar 3- jadvalda keltirilgan.

3-Jadval

Bufer eritmasining pH o'zgarishining vaqtga bog'liqligi

Bufer tarkibi	Vaqt,soat	pH
pH=2.48 (0,04M glitsin, borat kislotaning tuzi va fosfat kislotasidan tashkil topgan aralashma 14 ml dan+NaOH 0.1000 N1 ml)	24	2,48
	48	2,49
	72	2,49
pH=12.36 (0.04M glitsin, borat kislotaning tuzi va fosfat kislotasidan tashkil topgan aralashma 5 ml dan+NaOH 0.1000N10 ml)	24	12,36
	48	12,31
	72	12,24
	120	12,19
pH=7.01 (0.04M glitsin, borat kislotaning tuzi va fosfat kislotadan tashkil topgan aralashma 10 ml+NaOH 0.1000 N 4.35 ml)	24	7.01
	48	7.02
	72	7.01

Xulosa qilib shuni ta'kidlash kerakki, yuqoridagi jadvaldan ko'rinib turibdiki, tayyorlangan bufer eritmalari ikkilamchi bufer tizimlariga qo'yiladigan talablarga javob beradi. Na'munalar orasidagi pH qiymatlaridagi o'zgarishlar 3 kun ichida ham $\pm 0,05$ dan oshmaydi, bu ularning barqarorligini tasdiqlaydi.

ADABIYOTLAR

1. Stefan R. I. Electrochemical sensors in bioanalysis. – CRC press, 2001.
2. Патяр П., Каур Г. Молекулярные взаимодействия буферных растворов глицина и L-аланин + цитрат при различных температурах: объемный, вискозиметрический и ИК-Фурье подходы. – 2022.
3. Добровольский В. И. и др. Исследование метрологических характеристик буферных растворов //175 лет ВНИИМ им. ДИ Менделеева и Национальной системе обеспечения единства измерений. – 2018. – С. 134-141.
4. Borges P., Fraga I., Marques B. et al. See more 1st IMEKO TC24 International Conference on MEFNM. – 2008. P. 216-218
5. Чжан Т.С., Хуан Й.Х. Влияние выбранных буферов Гуда на восстановление нитрата железным порошком // Журнал инженерной экологии. – 2005. – Т. 131. – №. 3. – С. 461-470.
6. Ли Й. и др. Гемиллюлоза в кукурузной соломе: экстрагирована из щелочного раствора и получена из 5-гидроксиметилфурфурола в буферном растворе HCOOH/HCOONa // Китайский журнал химической инженерии. – 2016. – Т. 24. – №. 12. – С. 1786-1792.
7. Тюнина Е.Ю., Баделин В.Г., Межевой И.Н. Наблюдение комплексообразования L-гистидина с гетероциклическими соединениями в воде и водно-буферных растворах калориметрическими и спектроскопическими методами // Молекулярные жидкости. – 2019. – Т. 278. – С. 505-511.
8. Юн И. Х. и др. Механизмы восстановления и адсорбции селената нуль-валентным железом и связанная с этим коррозия железа // Прикладной катализ Б: Экология. – 2011. – Т. 104. – № 1-2. – С. 185-192.
9. Sun Y. et al. Влияние слабого магнитного поля на удаление арсената и арсенита из воды нульвалентным железом: исследование XAFS // Экология и технологии. – 2014. – Т. 48. – №. 12. – С. 6850-6858.
10. Ferreira CMH et al. (He)пригодность использования pH-буферов в биологических, биохимических и экологических исследованиях и их взаимодействие с ионами металлов – обзор // Rsc Advances. – 2015. – Т. 5. – №. 39. – С. 30989-31003.
11. Matheson L. J., Tratnyek P. G. Reductive dehalogenation of chlorinated methanes by iron metal //Environmental science & technology. – 1994. – Т. 28. – №. 12. – С. 2045-2053.
12. Herod EL et al. Буферная способность нескольких соединений in vitro и влияние выбранной комбинации буферов на продукцию рубцовой кислоты in vivo // Журнал молочной науки. – 1978. – Т. 61. – №. 8. – С. 1114-1122.
13. Молд Ф. Л. и др. Обзор и упрощение среды инкубации in vitro // Наука и технология кормов для животных. – 2005. – Т. 123. – С. 155-172.
14. Мартен Г.К., Барнс Р.Ф. Прогнозирование энергетической усвояемости кормов с помощью ферментации рубца in vitro и грибковых ферментных систем //Стандартизация аналитической методологии для кормов: труды... – IDRC, Оттава, Онтарио, Калифорния, 1979.
15. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. – Рипол Классик, 2013.