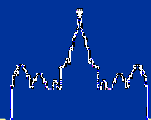


ГУМИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА И ХИМИЯ СЛОЖНЫХ СИСТЕМ: ВВОДНЫЙ КУРС

Лекция 5. ЯМР спектроскопия гуминовых веществ

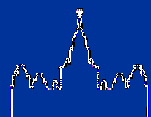
И.В. Перминова

Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

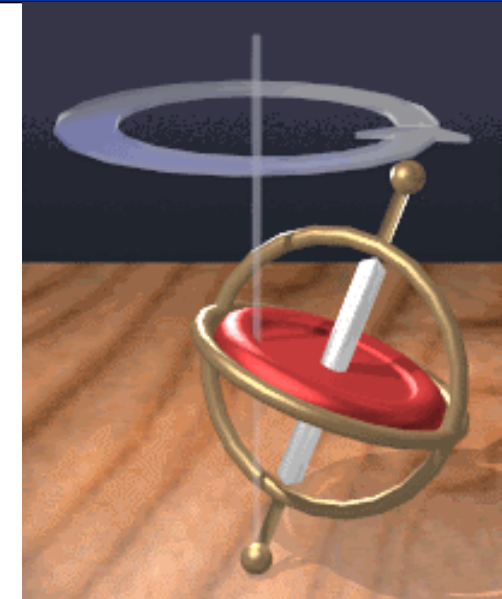
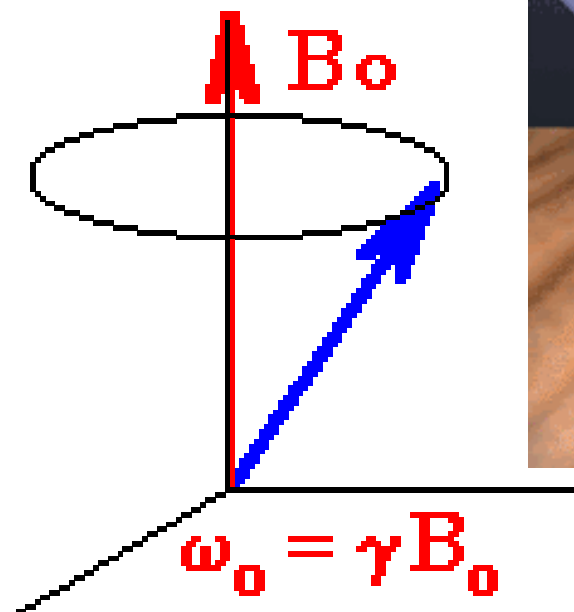
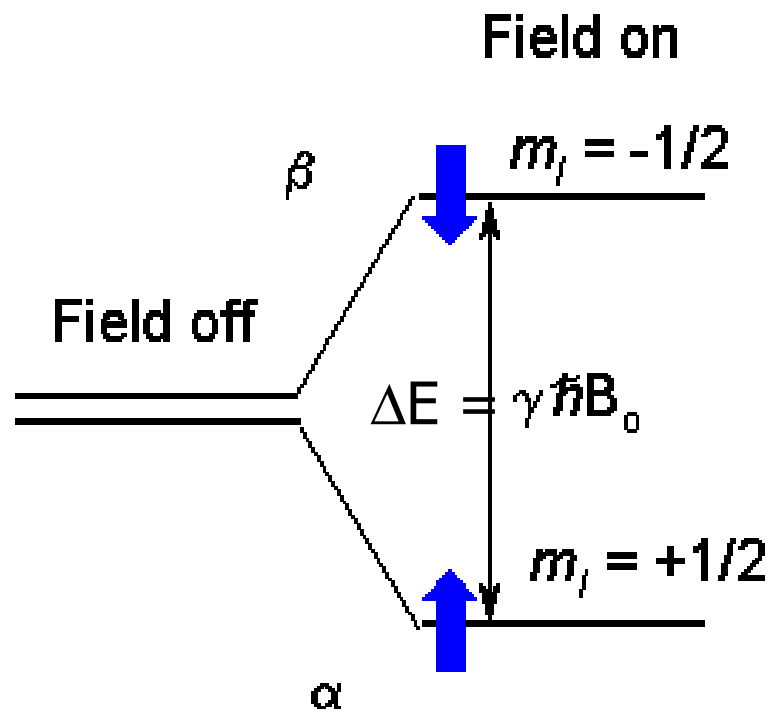


Содержание

- Основные принципы ЯМР
- Основные структурные фрагменты ГВ: каркас и периферия
- Определение распределения углерода по структурным фрагментам – ^{13}C ЯМР
- Определение распределения водорода по структурным фрагментам - ПМР
- Классификация гуминовых веществ по данным ЯМР спектроскопии



ПОВЕДЕНИЕ ЯДРА ВО ВНЕШНЕМ МАГНИТНОМ ПОЛЕ

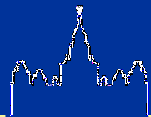


$$\omega_0 = \gamma_N \mathbf{B}_0$$

ω_0 - Ларморова частота

$$\gamma_N = 2\pi\mu_N/hI$$

γ_N - гиромагнитное отношение



ЭНЕРГИИ ПЕРЕХОДОВ МЕЖДУ УРОВНЯМИ

Угловая скорость и частота:

$$\omega_0 = 2\pi\nu \Rightarrow$$

$$\nu = \gamma_N \mathbf{B}_0 / 2\pi$$

Для протона:

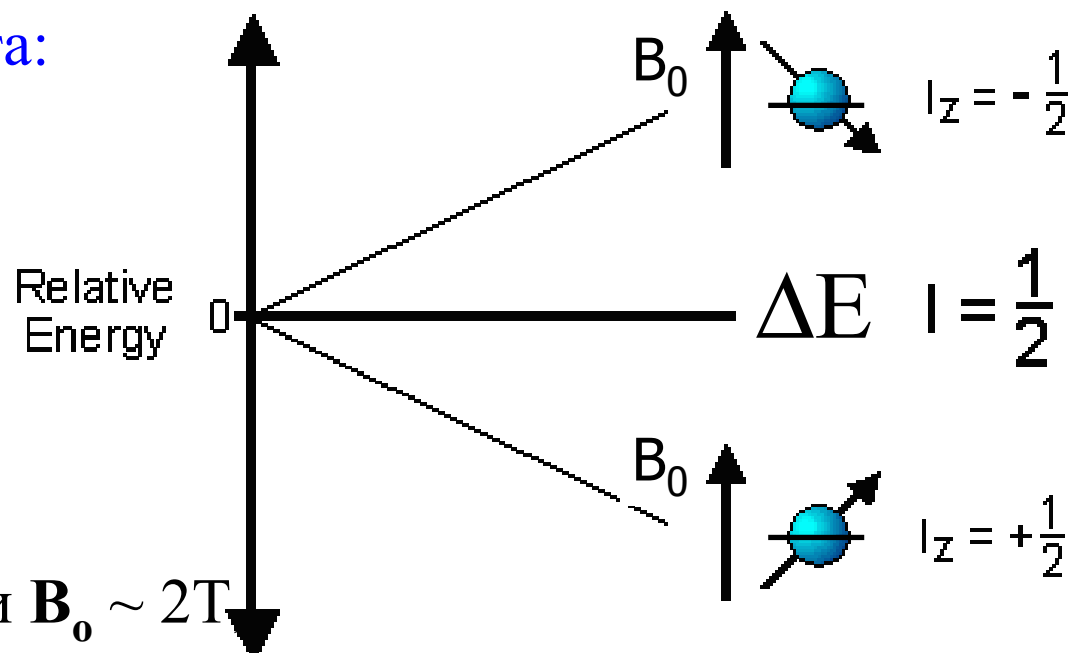
$$\Delta E = h\nu = h\gamma_N \mathbf{B}_0 / 2\pi$$

$$\gamma_N = 26.75 \times 10^7 \text{ rad T}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ и } \mathbf{B}_0 \sim 2\text{T}$$

$$\Delta E = 6 \times 10^{-26} \text{ J}$$

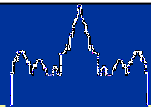
Соотношение населенностей (n) верхнего и нижнего уровней при комнатной температуре по закону Больцмана:

$$n_\beta / n_\alpha = e^{-\Delta E / kT} \sim 0.99999$$



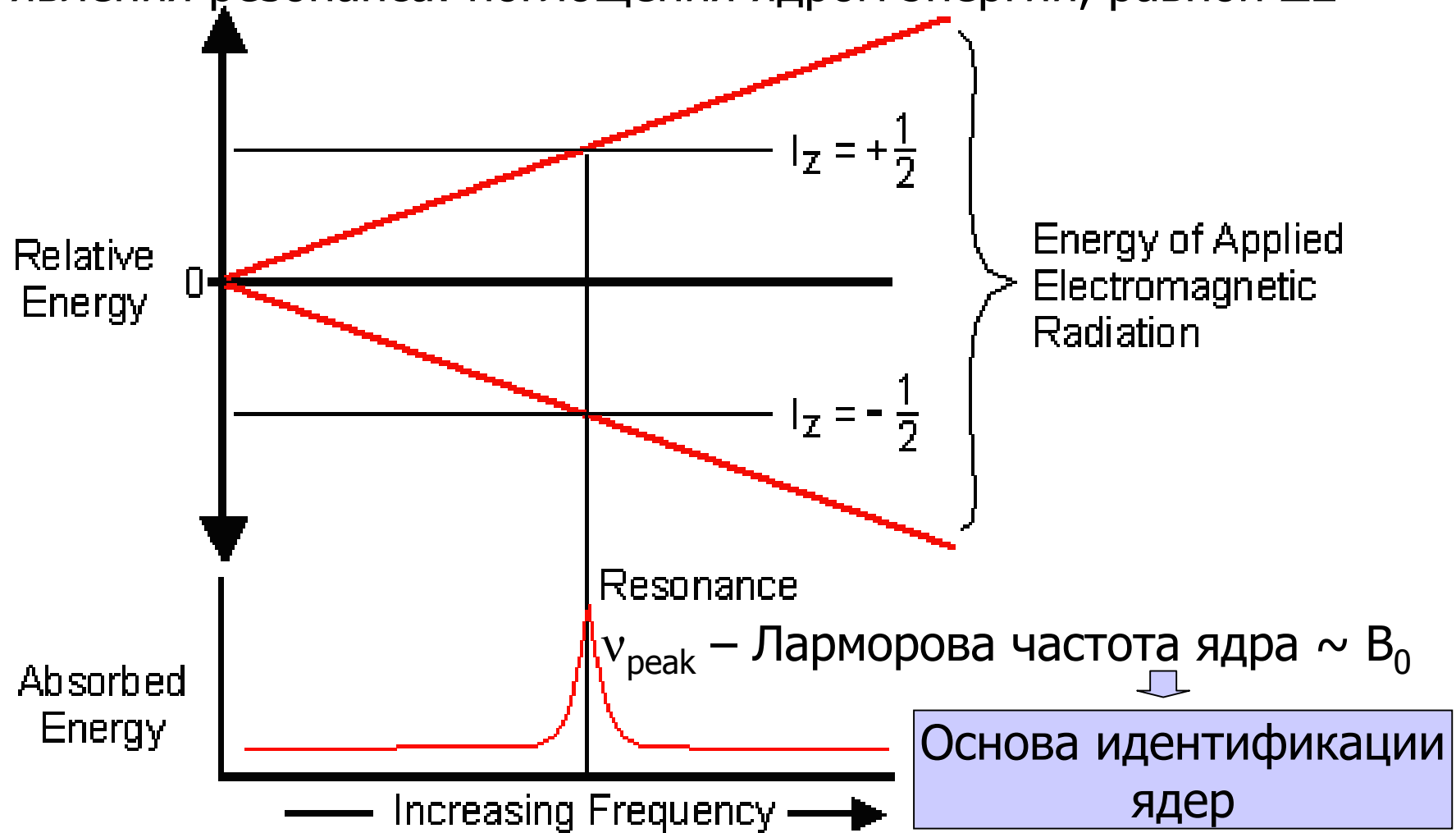
ЧАСТОТЫ РАЗЛИЧНЫХ СПЕКТРОСКОПИЙ

NMR	$\sim 60 \times 10^6 - 600 \times 10^6$ Hz	Probes nucleus' magnetic field
ESR	$\sim 1 \times 10^9$ to 30×10^9 Hz	Probes electron's magnetic field
Microwave	$\sim 1 \times 10^9$ to 600×10^9 Hz	Probes molecular rotation
Infrared	$\sim 6 \times 10^{11}$ to 4000×10^{11} Hz	Probes bond vibrations and bending
Ultraviolet/ Visible	$\sim 7.5 \times 10^{14}$ to 300×10^{14} Hz	Probes outer core electron transitions
Mössbauer	$\sim 3 \times 10^{16}$ to 300×10^{16} Hz	Inner core electron transitions Transitions within the nucleus



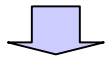
ЯВЛЕНИЕ РЕЗОНАНСА

Образец помещают в постоянное магнитное поле и прикладывают второе – переменное – поле для регистрации явления резонанса: поглощения ядром энергии, равной ΔE



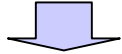
ЭКРАНИРОВАНИЕ

Электрон заряжен отрицательно – создает поле против B_0



$$B_{\text{eff}} = B_0 - \sigma B_0$$

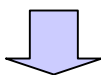
$$B_{\text{eff}} = B_0(1 - \sigma)$$



Ларморова частота с учетом экранирования:

$$\nu = \gamma_N B_{\text{eff}} / 2\pi$$

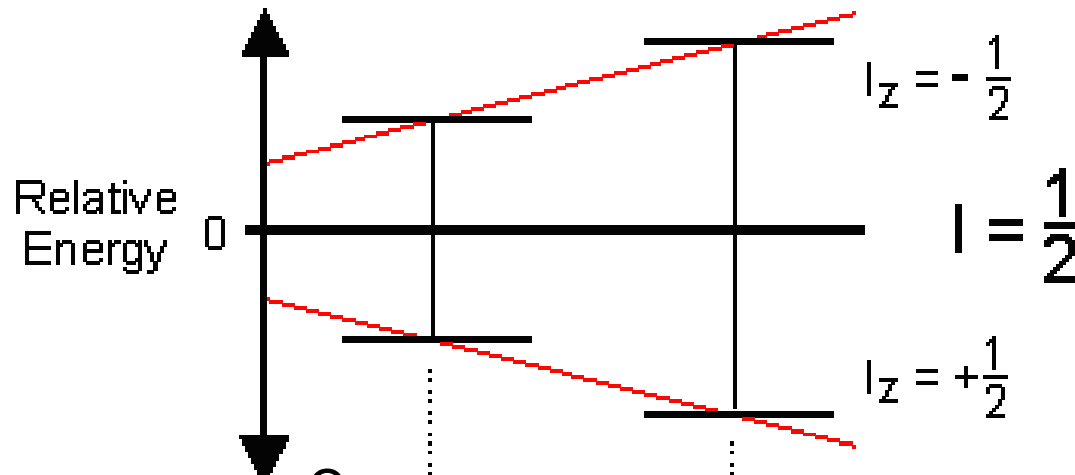
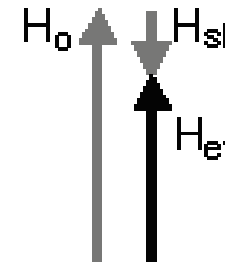
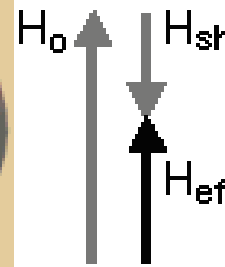
$$\nu = (1 - \sigma) \gamma_N B_0 / 2\pi$$



Изменение ν в зависимости от экранирования назвали

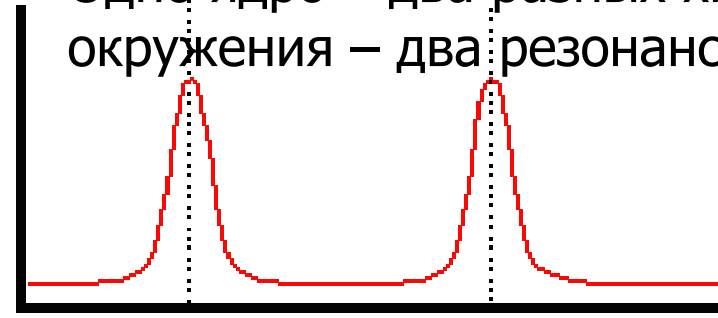
ХИМИЧЕСКИМ СДВИГОМ

More Shielding Less Shielding



Одно ядро – два разных хим. окружения – два резонанса

Absorbed Energy



Increasing Frequency →

ХИМИЧЕСКИЙ СДВИГ

Изменение ν в результате экранирования называют **химическим сдвигом** (δ). По величине δ в миллион раз меньше частоты резонансных переходов ядер.

Величина экранирования пропорциональна B_0 , поэтому **химические сдвиги** выражают в долях от внешнего поля, и из-за их малых размеров используют миллионные доли (ppm).

Пример. На 60 MHz спектрометре, химический сдвиг величиной 60 Hz будет выражаться как:

$$(60 / 60,000,000 * 1,000,000) = 1 \text{ ppm.}$$

Для 400 MHz спектрометра он составит 400 Hz:

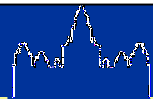
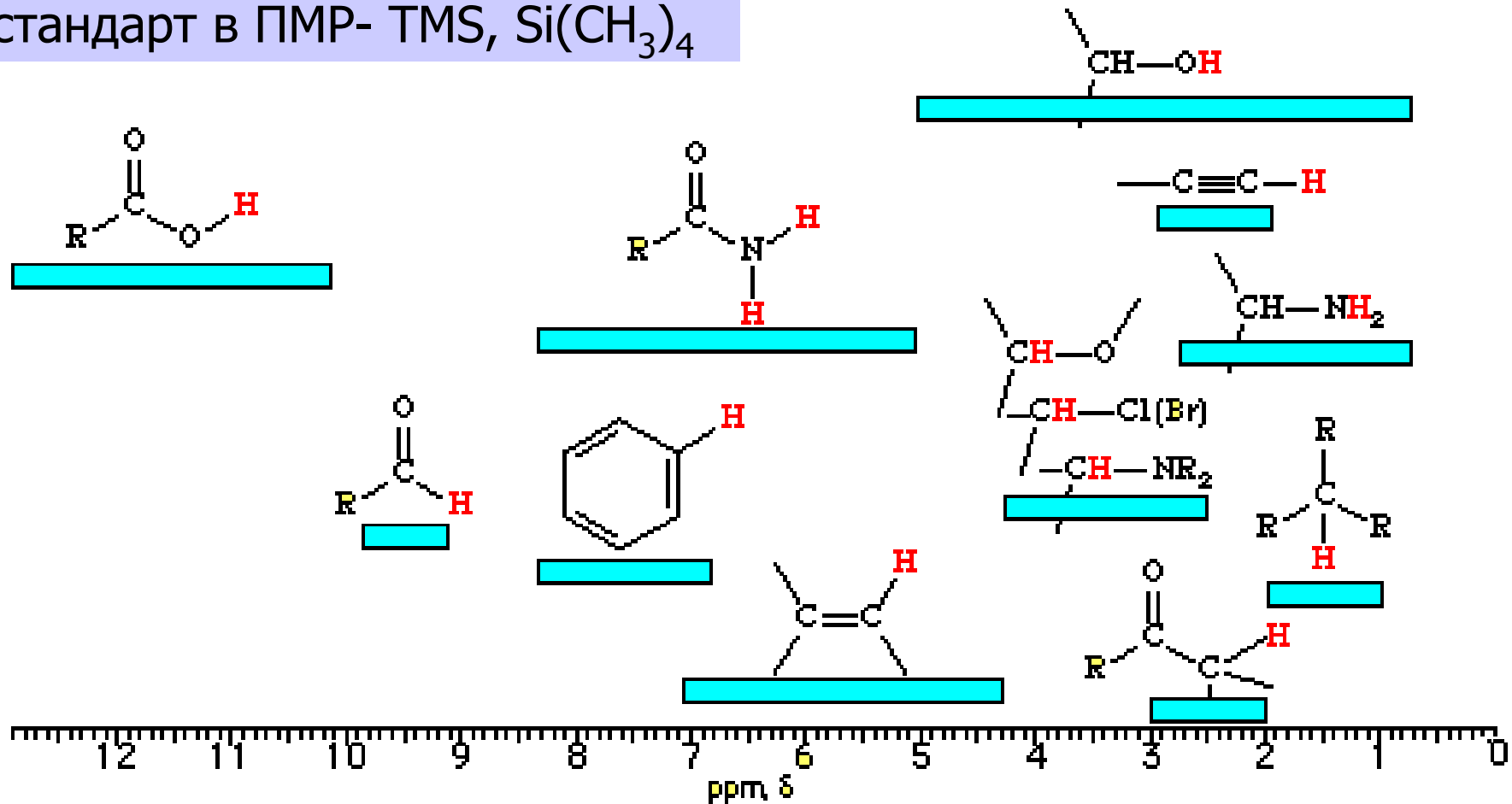
$$(400 / 400,000,000 * 1,000,000) = 1 \text{ ppm.}$$

Для удобства химический сдвиг нормируют на ν стандарта и умножают на 10^6 :

$$\delta = \frac{\nu_{sample} - \nu_{reference}}{\nu_{reference}} \times 10^6$$

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ПМР-СПЕКТРОВ: ХИМИЧЕСКИЕ СДВИГИ ПРОТОНОВ

Наиболее распространенный стандарт в ПМР- TMS, $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$

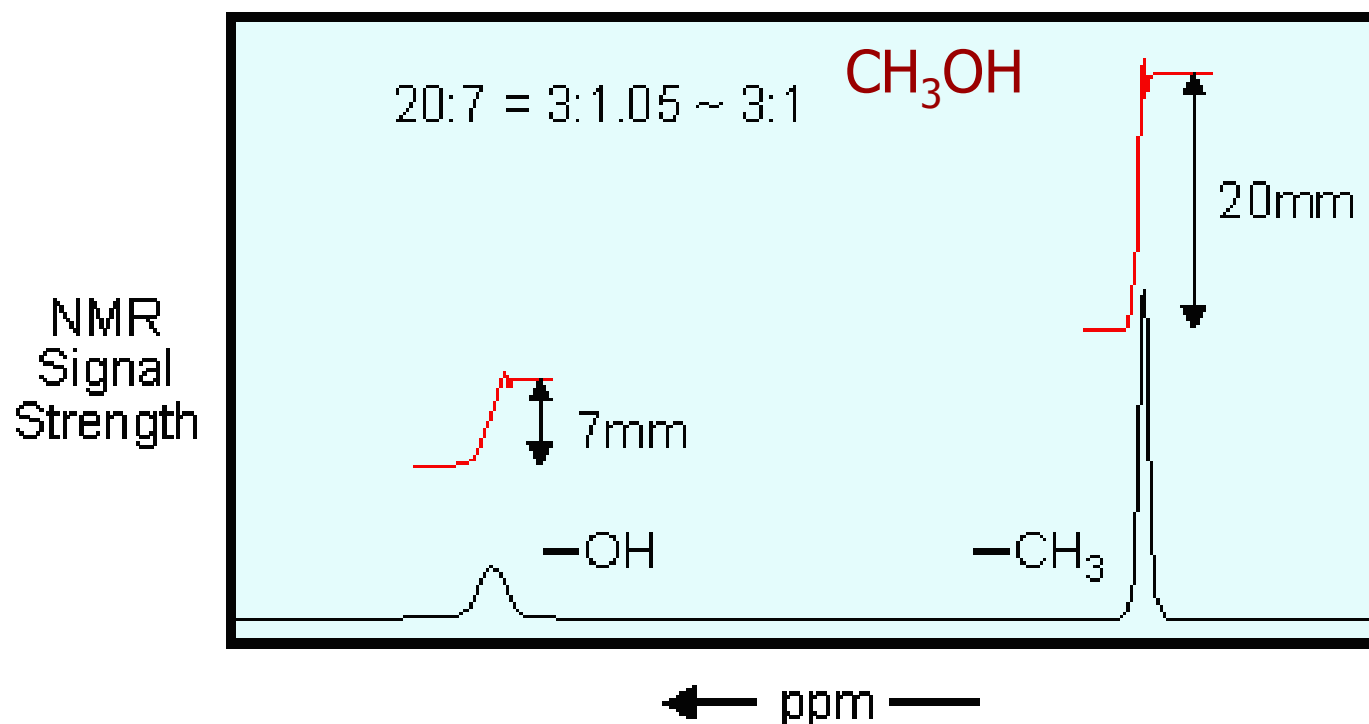


КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ЯМР-СПЕКТРОВ: ИНТЕГРИРОВАНИЕ

Интенсивность сигнала ЯМР (SS) зависит от разности населенностей различных спиновых состояний (ΔN), которая зависит от ΔE и от количества ядер (N_{total}), участвующих в указанных переходах:

$$SS \approx \Delta N = 2N_{total} \frac{1 - K}{K + 1}$$

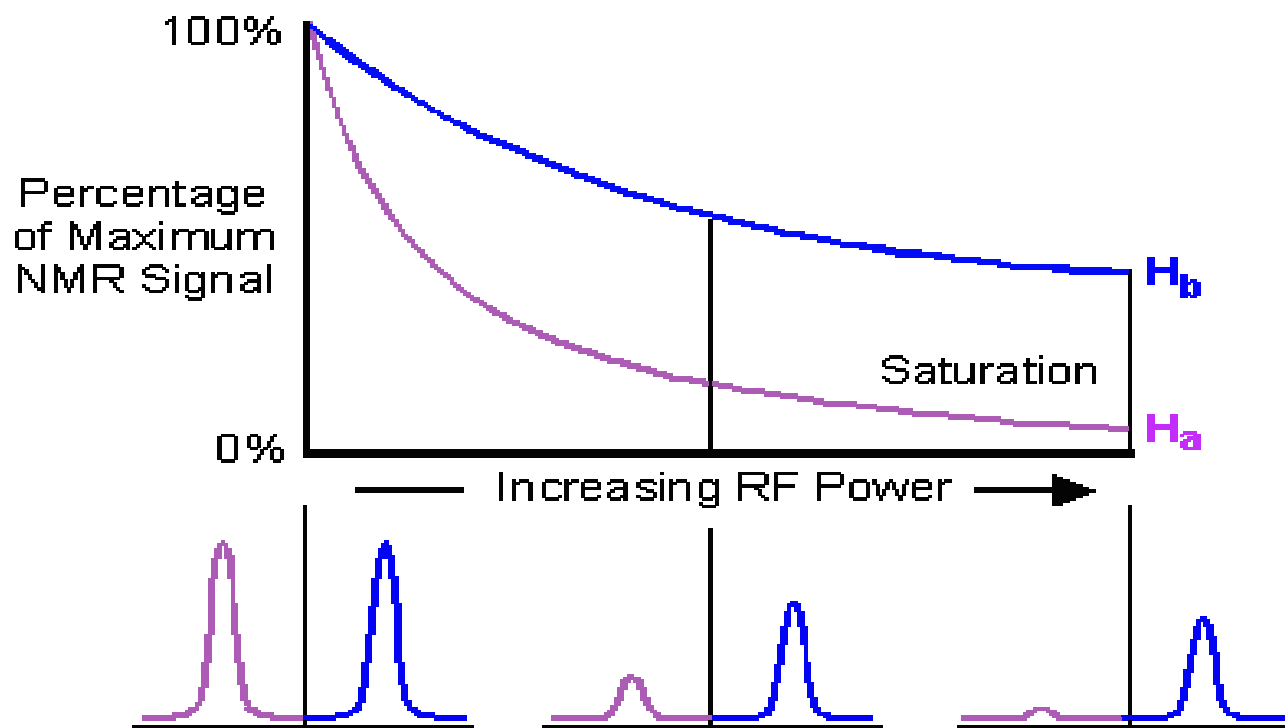
где K – экспоненциальный множитель в распределении Больцмана



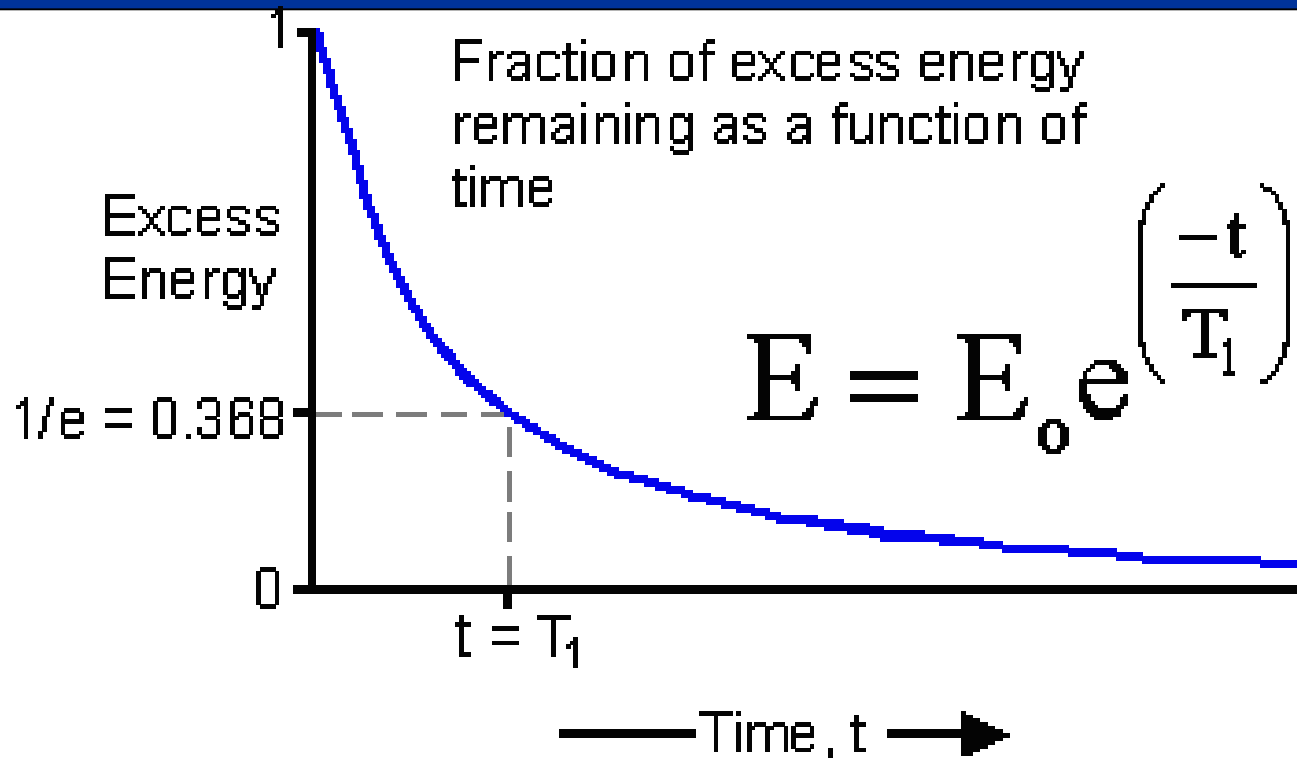
НАСЫЩЕНИЕ

Интенсивность сигнала пропорциональна N_{total} , только если ядра релаксируют быстро.

Если ядра релаксируют медленно, то населенность верхнего уровня быстро достигнет населенности нижнего уровня, то есть произойдет **насыщение** верхнего уровня, и сигнал пропадет.



РЕЛАКСАЦИЯ



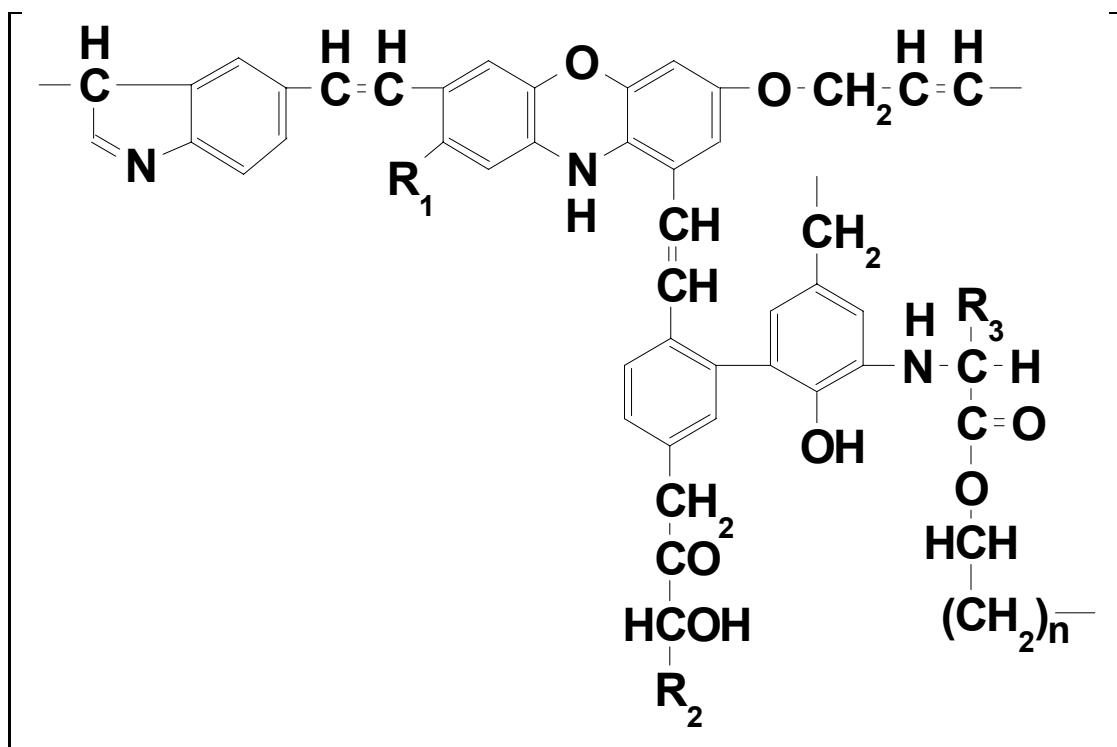
Релаксация происходит по экспоненте и определяется, в основном, спин-решеточной релаксацией. Скорость этой релаксации характеризуется T_1 - временем, необходимым для падения избыточной энергии до величины, составляющей $1/e$ (0.36788) от исходной.

Типичные T_1 для ^1H – секунды и меньше.

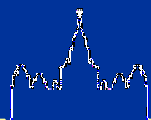
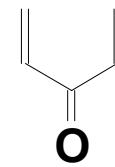
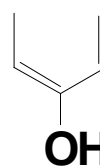
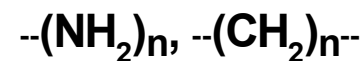
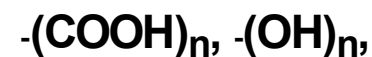
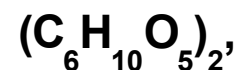
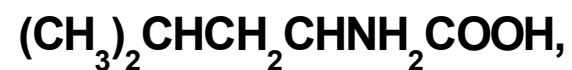
СТРОЕНИЕ ГУМИНОВЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ: КАРКАС И ПЕРИФЕРИЯ

Строение структурной ячейки ГВ (Орлов, 1990)

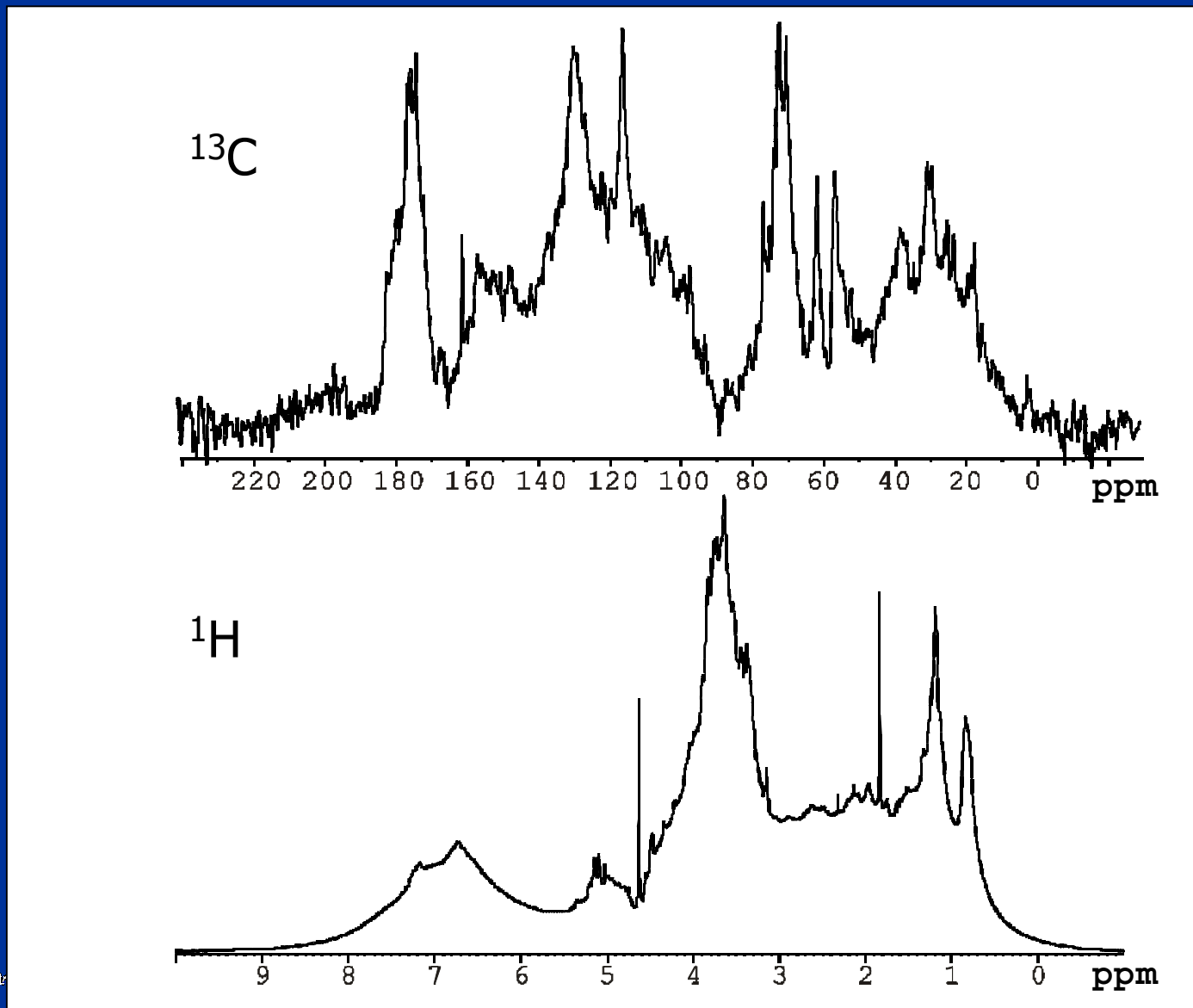
Негидролизуемая часть



Гидролизуемая часть



^{13}C ЯМР и ПМР СПЕКТРЫ ГК ТОРФА В 0.1 М NaOD



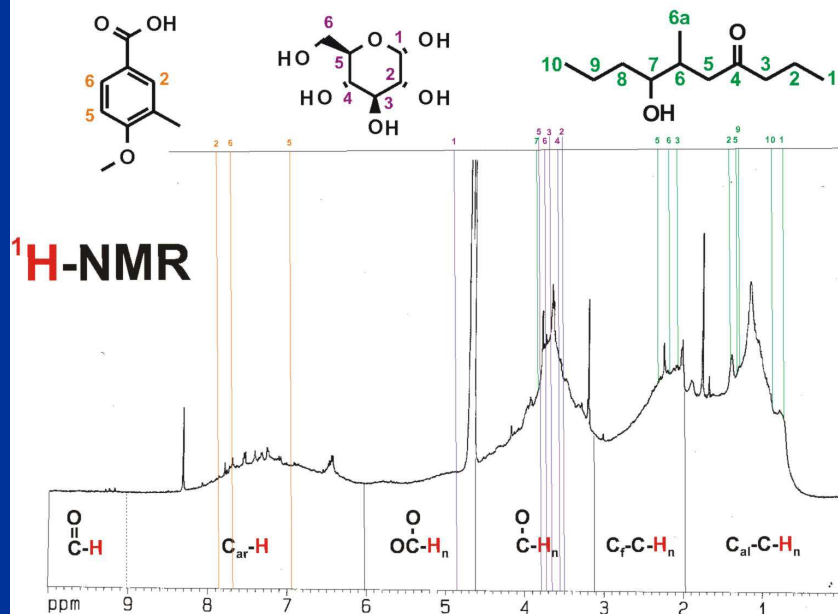
ОТНЕСЕНИЯ В ПМР- И ^{13}C ЯМР-СПЕКТРАХ ГУМИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ (0.1 М NaOD)

Фрагмент	Интервал, м.д.		Описание
	ПМР	^{13}C ЯМР	
CH-H,C	0.5-1.95	5-48	H-, C-замещенные Алиф. фр.
α -CH	1.95-3.1		Алиф. фр. в α - положении к электроотр. группе / ар. кольцу
CH ₃ -O CH ₂ -O,N CH-O,N	3.1-4.7	48-58 58-64 64-90	Метоксильные фрагменты O- и N-замещенные Алифатические Фрагменты ("карбогидратные")
O-CH-O,N	4.7-6.0	90-108	Аномерные Алиф. Фр., дважды замещенные гетероатомами
Ar-H,C	6.0-10.0	108-145	H-, C-замещенные аром. фр.
Ar-O,N	-	145-167	O, N-замещенные аром. Фр.
COO-H,C	-	167-187	Карбокс. гр. и их производные
C=O	-	187-220	кетонные и хинонные группы

ДОСТОИНСТВА ПМР И ^{13}C ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ ГВ

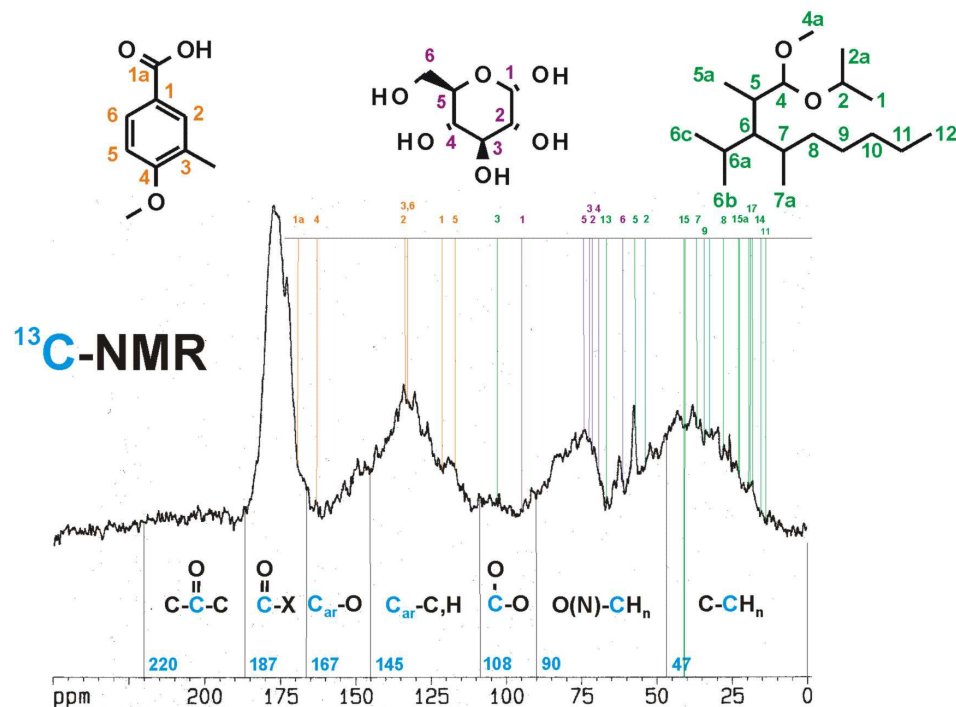
^1H NMR:

sensitive ($5881 \cdot ^{13}\text{C}$):
much better description of
small variations



^{13}C NMR:

improved resolution: $[\Delta\delta]_i / [\Delta\nu_{1/2}]_i$
displays a larger variety of structures:
e. g. quaternary carbon atoms



ПРОБЛЕМЫ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР ^{13}C И ПМР

^{13}C ЯМР

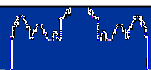
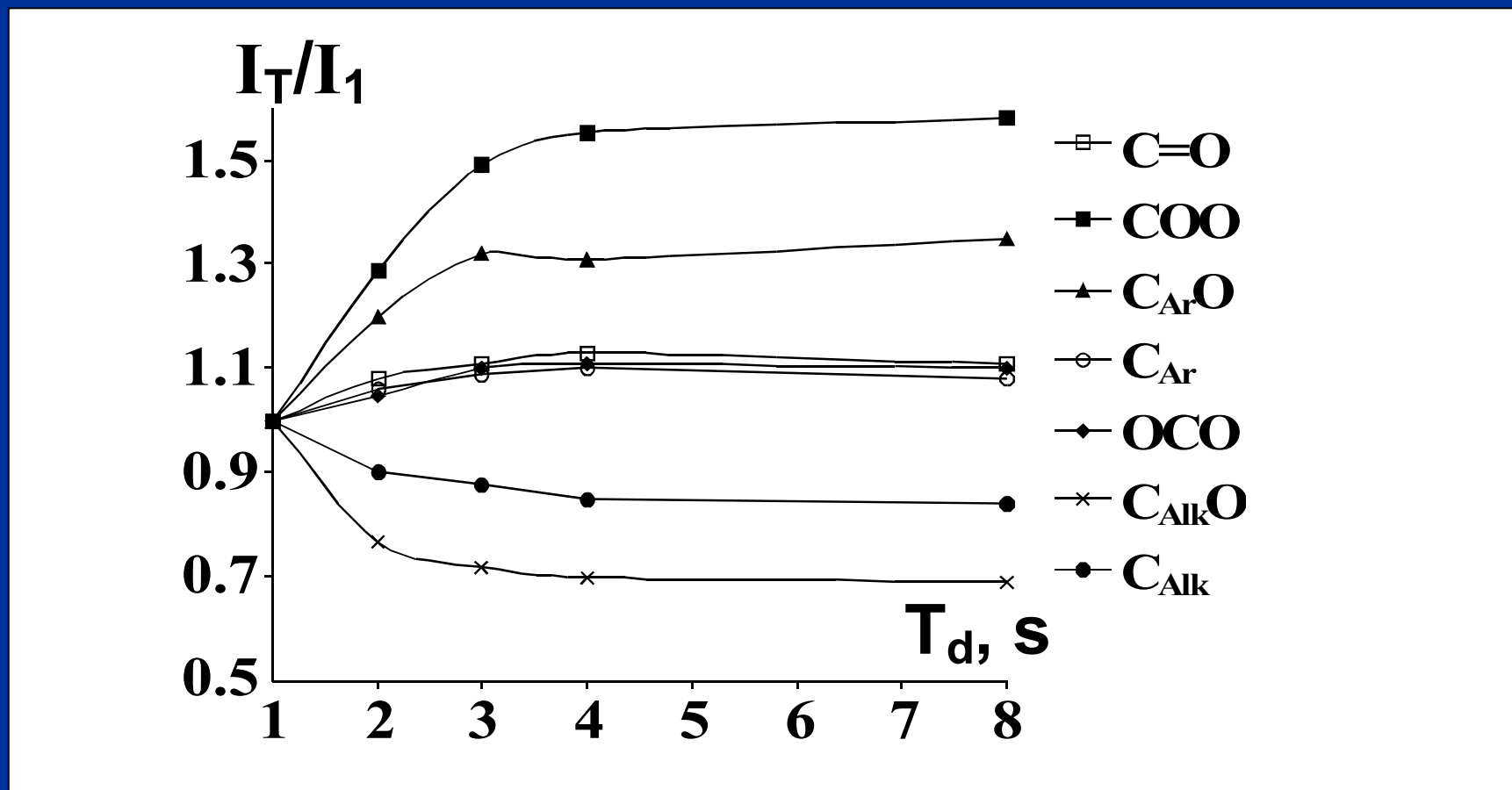
- Ограниченная растворимость ГФК
- Перекрывание спектральных областей
- Различие во временах релаксации ядер углерода различных типов
- Большие затраты времени на получение спектра

ПМР

- Пик растворителя закрывает часть спектра
- Значительное уширение сигналов
- Подвижные протоны ОН- и СООН- групп
- Наличие гигроскопической воды в образцах

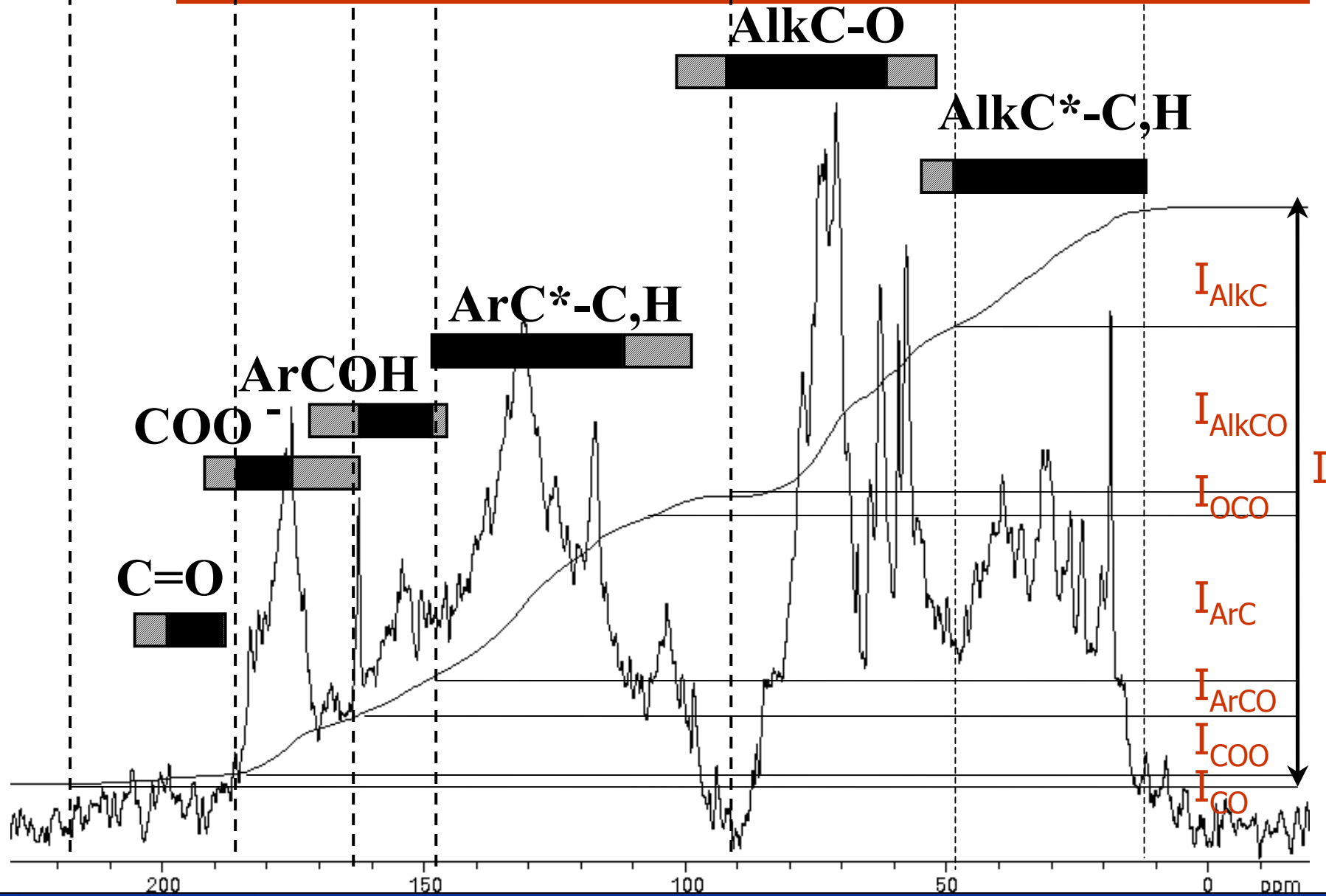
ВЫБОР УСЛОВИЙ РЕГИСТРАЦИИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ^{13}C ЯМР СПЕКТРОВ

- Определение времени задержки (T_d), обеспечивающего полную релаксацию третичных и четвертичных атомов C

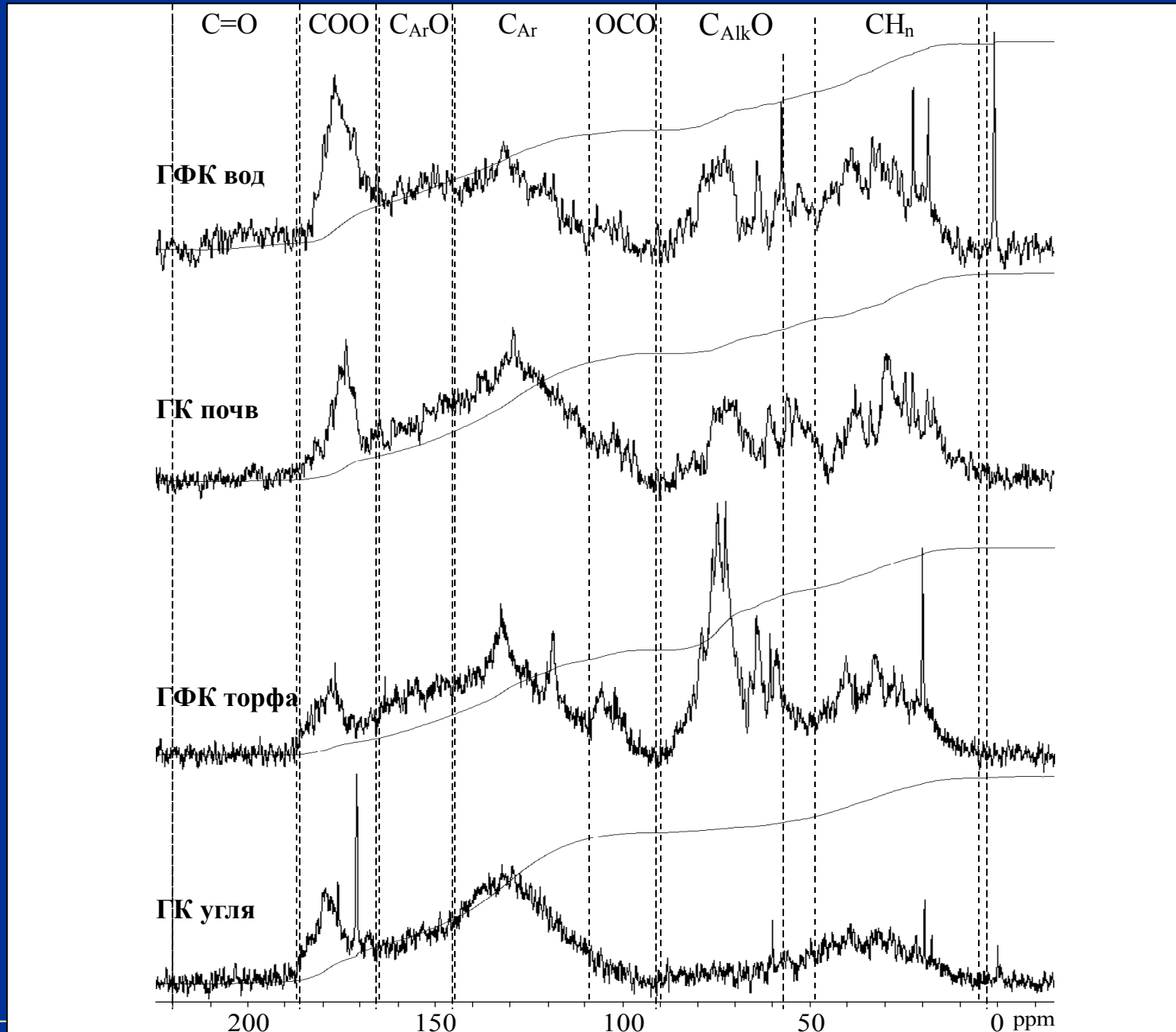


ИНТЕГРИРОВАНИЕ ^{13}C ЯМР СПЕКТРОВ ГВ

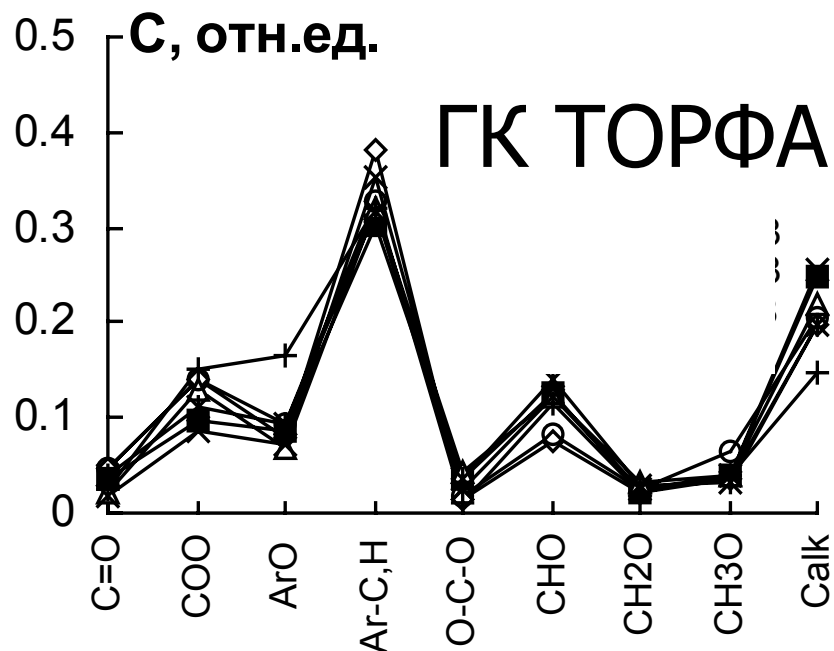
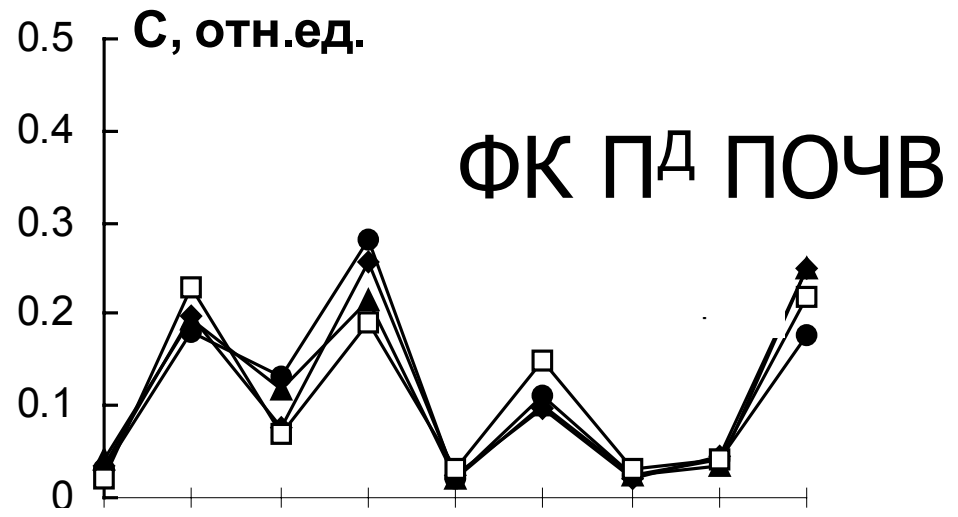
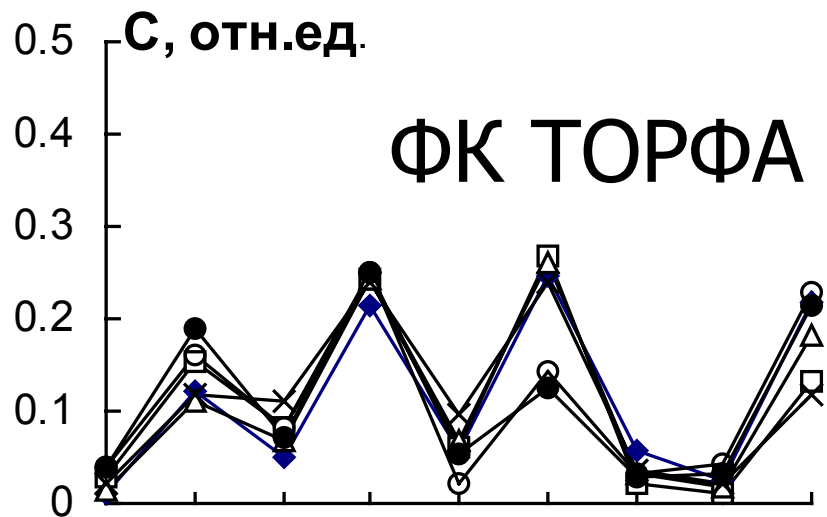
$$I_{\text{CO}} + I_{\text{COO}} + I_{\text{ArCO}} + I_{\text{ArC}} + I_{\text{OCO}} + I_{\text{AlkCO}} + I_{\text{AlkC}} = I = 100\%$$



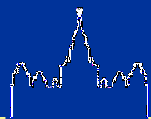
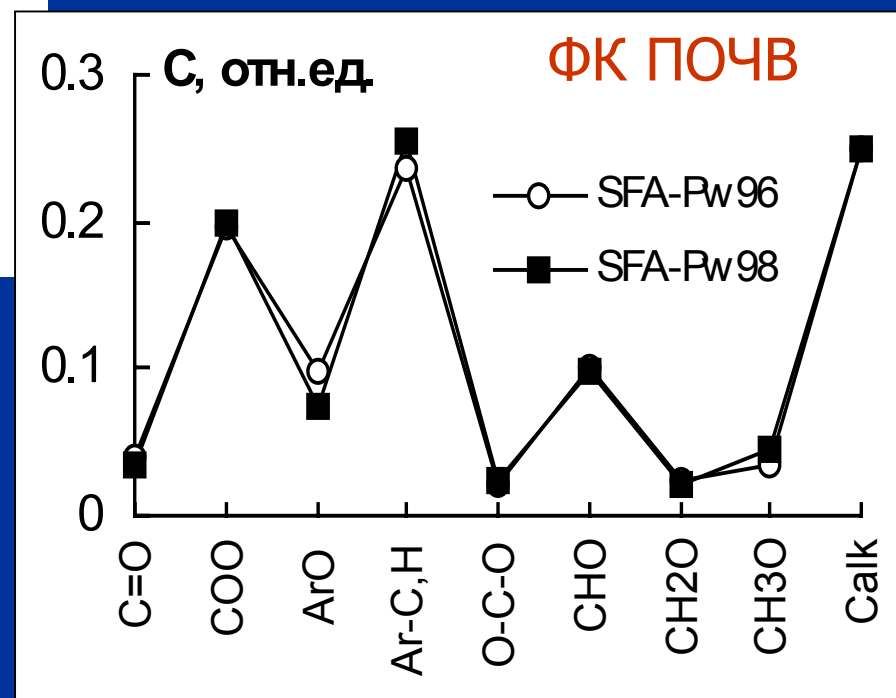
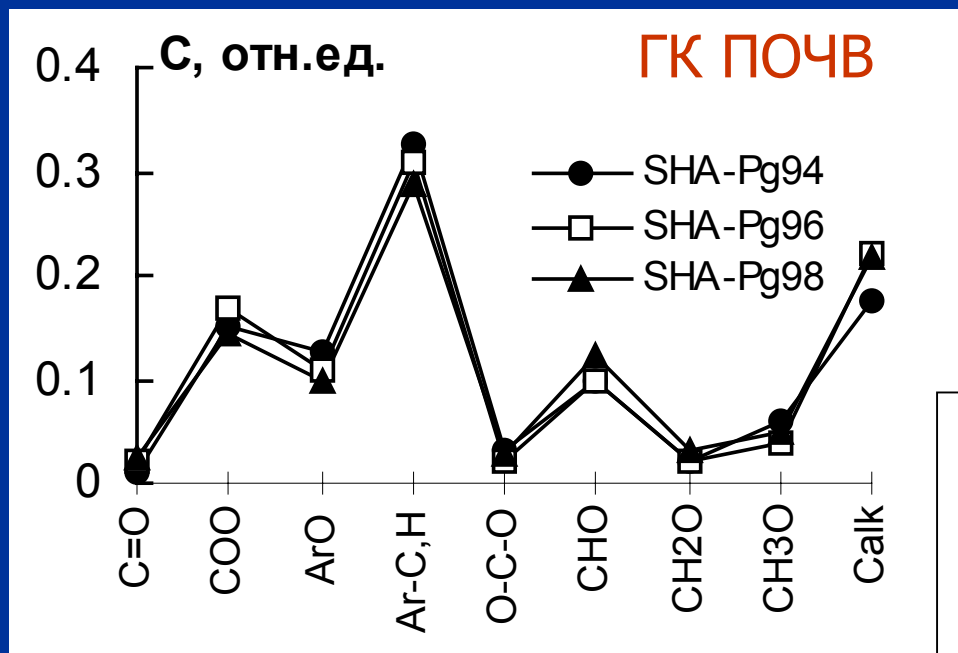
^{13}C ЯМР СПЕКТРЫ ГВ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗИСА



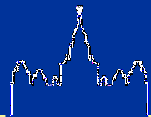
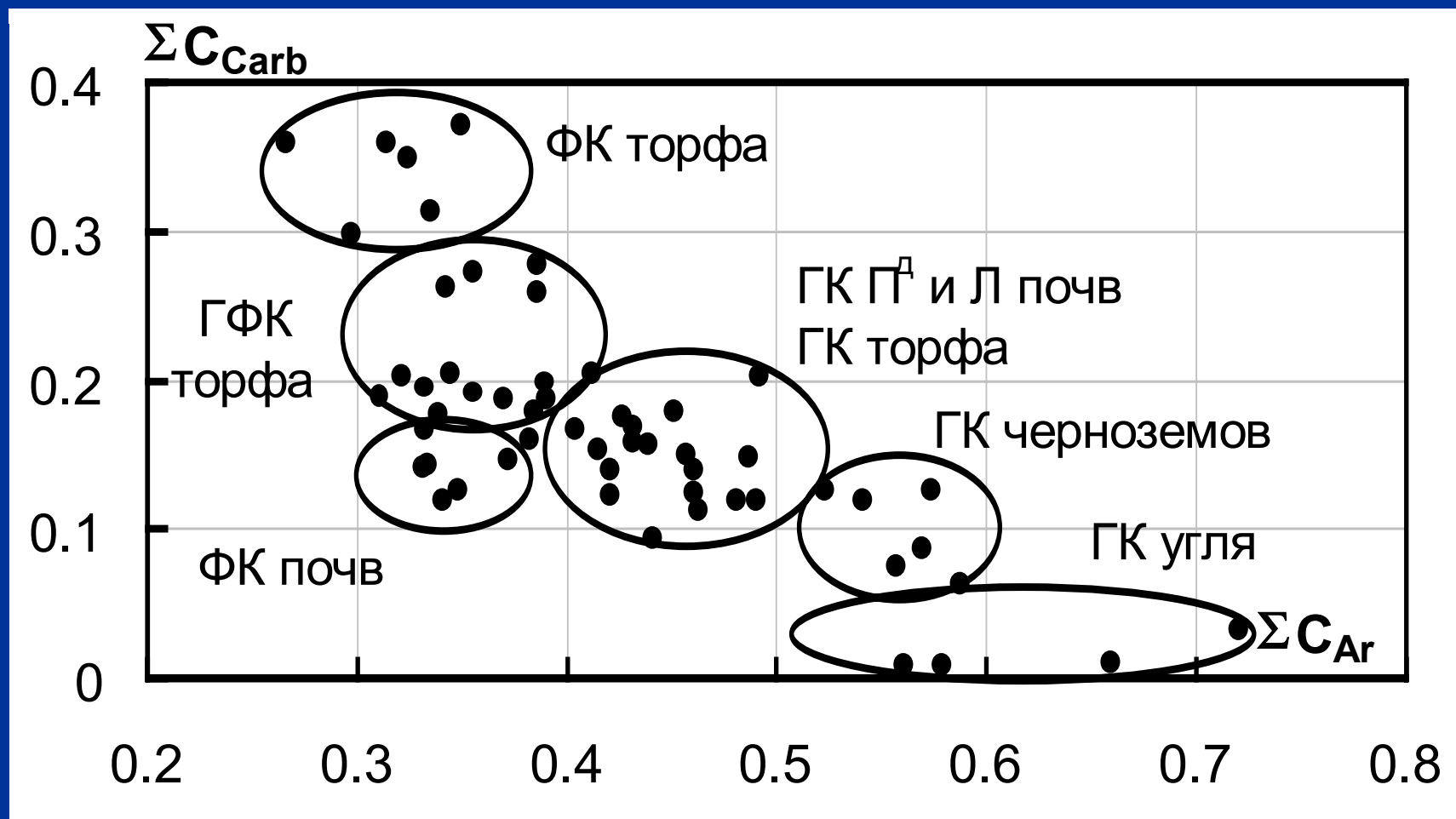
^{13}C ЯМР СПЕКТРЫ ФРАКЦИЙ ГВ



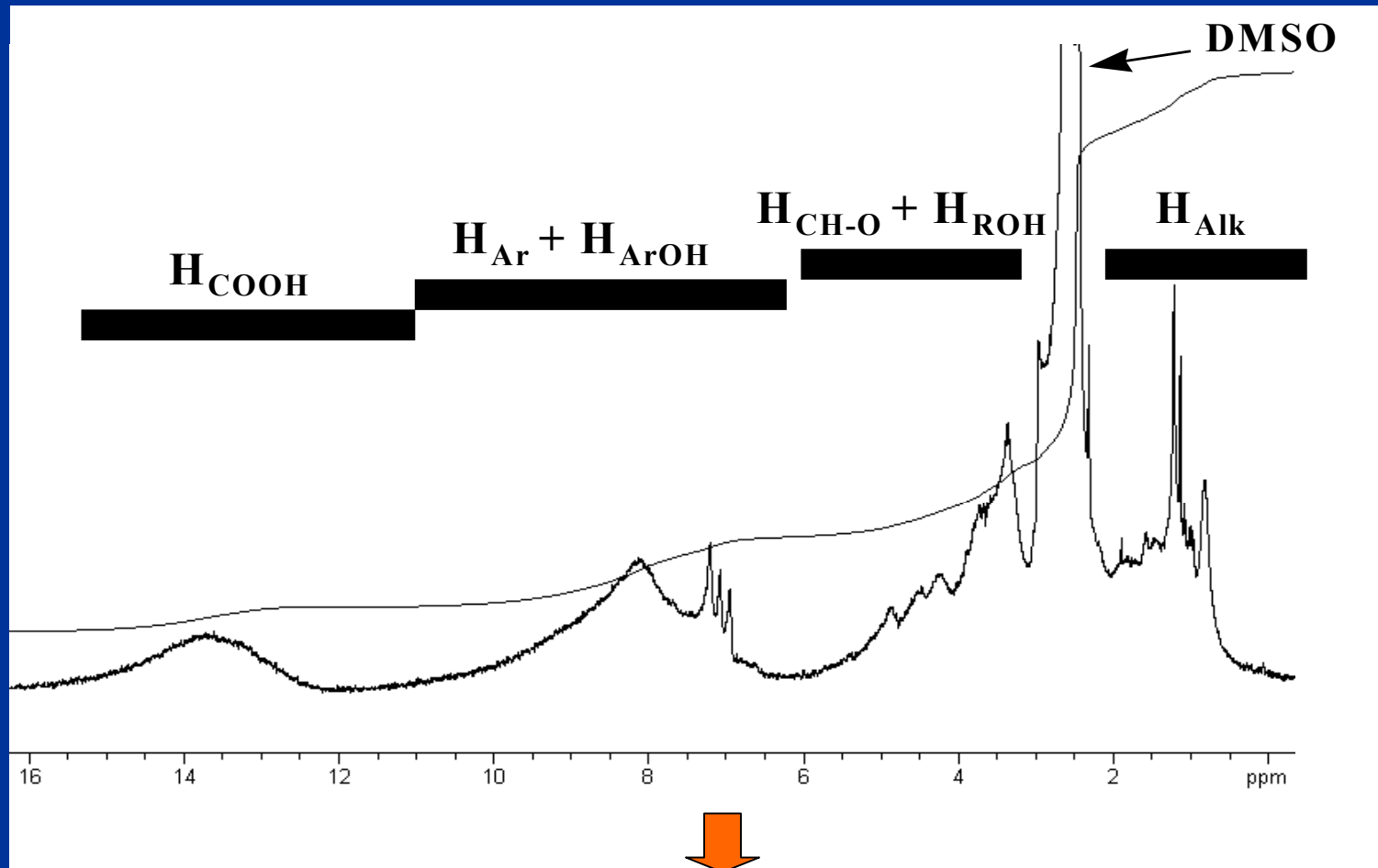
ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР ^{13}C



КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕПАРАТОВ ПО РАСПРЕДЕЛЕНИЮ УГЛЕРОДА

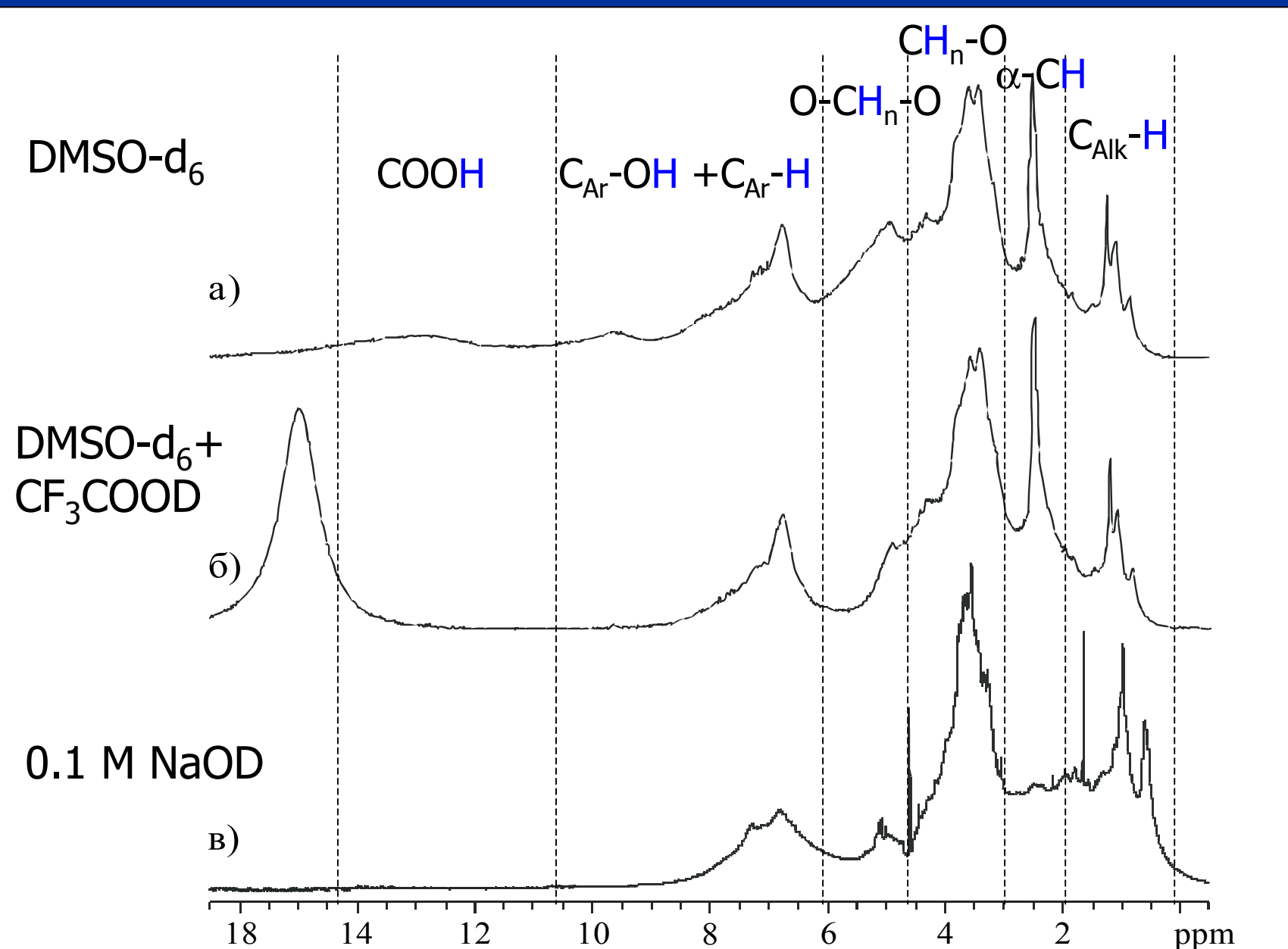


ВЫБОР УСЛОВИЙ РЕГИСТРАЦИИ ПМР-СПЕКТРОВ ГВ

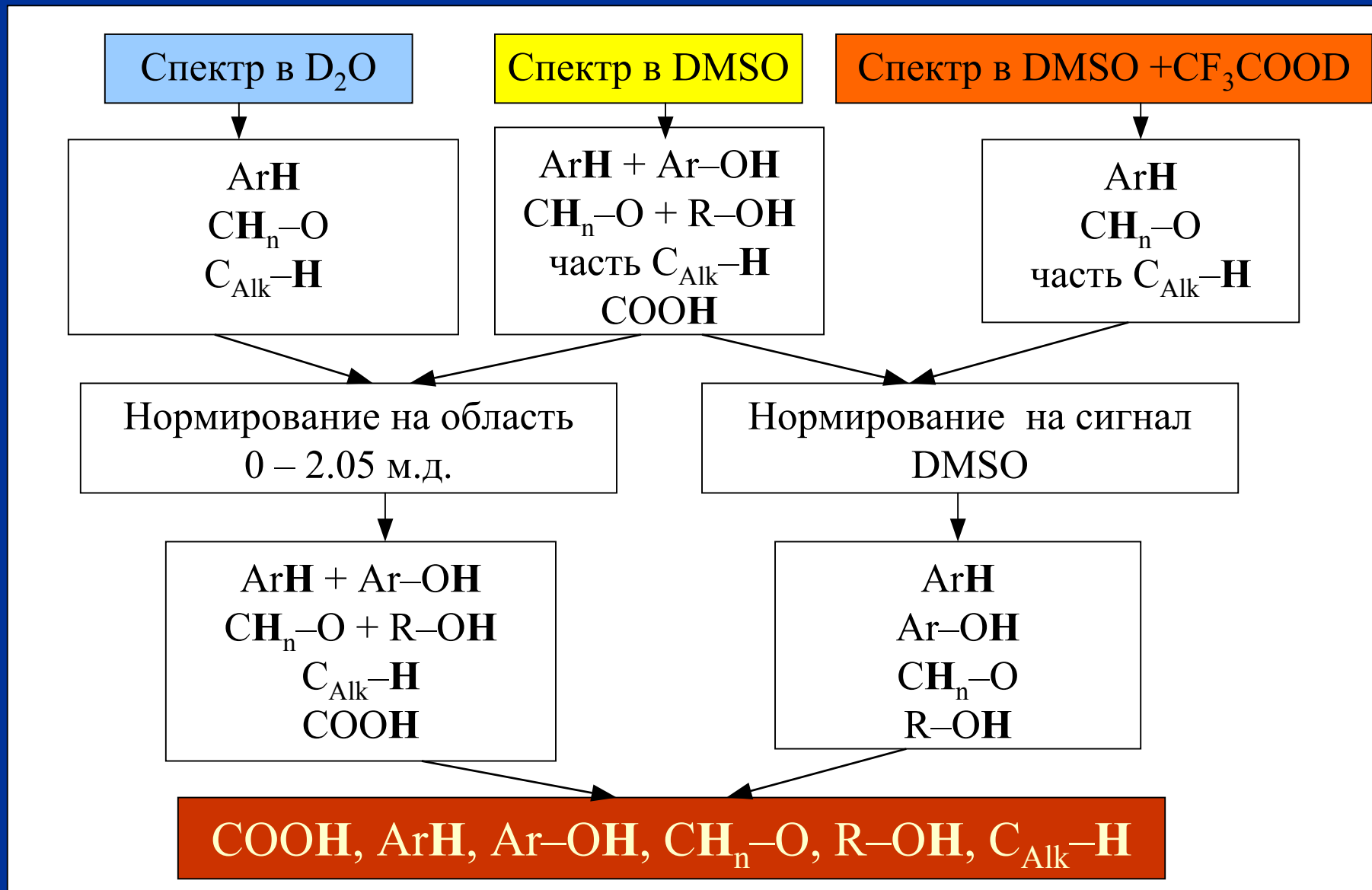


- Пик растворителя закрывает часть спектра
- Значительное уширение сигналов
- Перекрывание подвижных и скелетных протонов

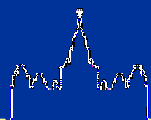
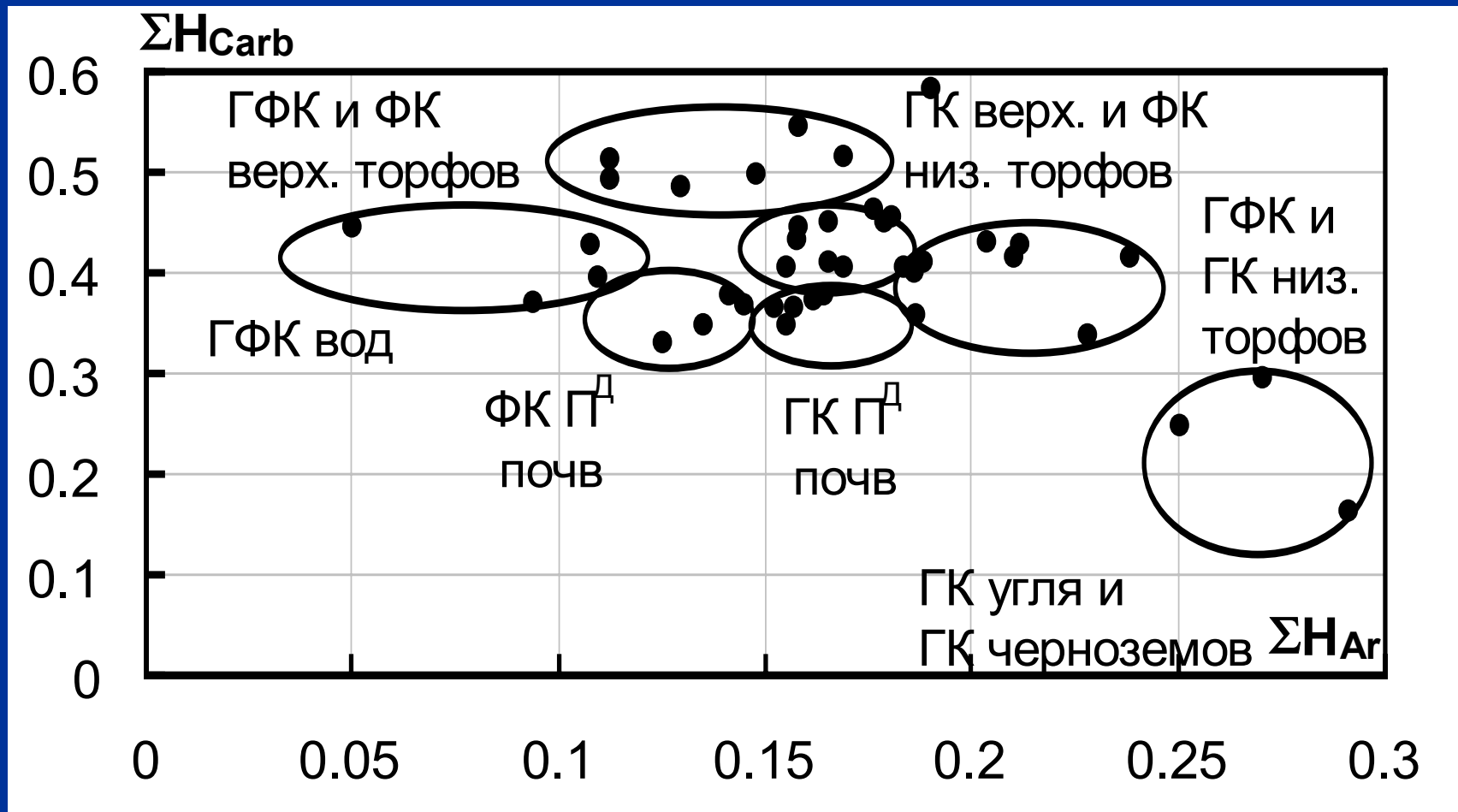
РЕГИСТРАЦИЯ ПОДВИЖНЫХ ПРОТОНОВ ГВ



РАСЧЕТ СОДЕРЖАНИЯ ПРОТОНОВ В ГВ



КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕПАРАТОВ ПО РАСПРЕДЕЛЕНИЮ ВОДОРОДА



ВЫВОДЫ

1. Спектроскопия ЯМР является самым мощным методом структурного анализа гуминовых веществ - позволяет получить полное распределение углерода и водорода между структурными фрагментами ГВ
2. Основной проблемой спектроскопии ЯМР ^{13}C гуминовых веществ является получение количественных спектров.
3. Основной проблемой спектроскопии ПМР гуминовых веществ является регистрация подвижных протонов.
4. Количественные данные по распределению углерода и водорода могут быть использованы для классификации и выяснения генетической взаимосвязи различных классов гуминовых веществ.
5. Для полного структурного анализа гуминовых веществ необходимо применение двумерного ЯМР.

