

Лекция 3. Структурно-групповой состав гуминовых веществ

И.В. Перминова

Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова



Содержание

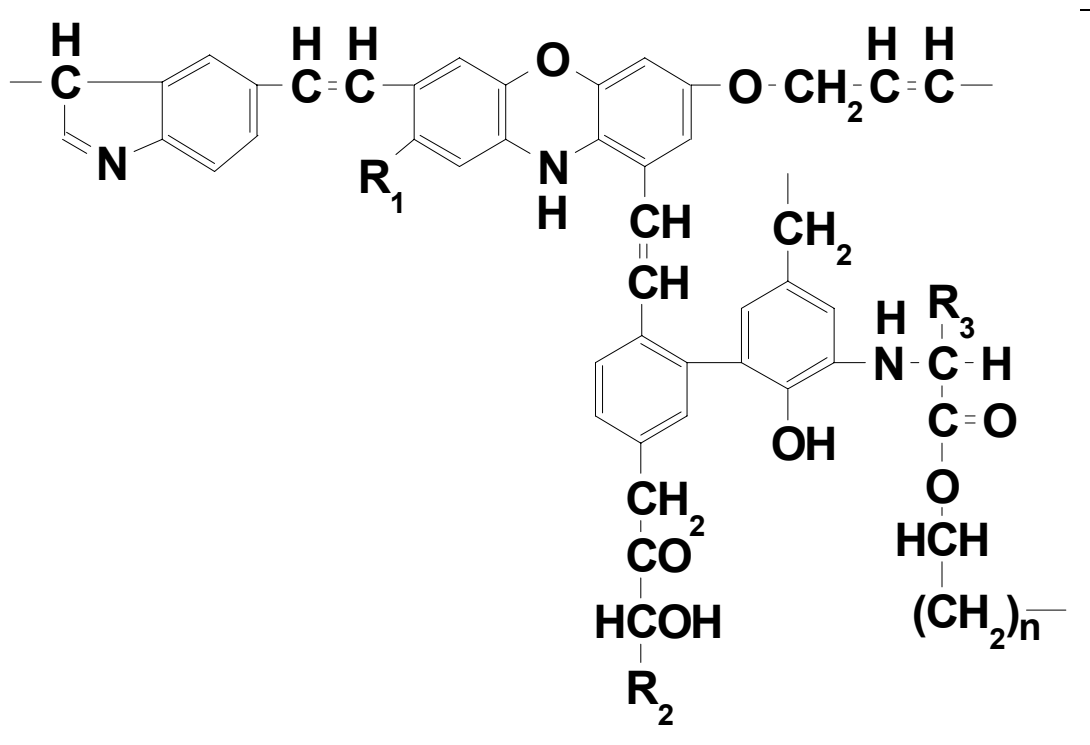
- Основные структурные фрагменты ГВ: каркас и периферия
- Основные принципы ЯМР
- Определение распределения углерода по структурным фрагментам – ^{13}C ЯМР
- Определение распределения водорода по структурным фрагментам - ПМР
- Классификация гуминовых веществ по данным ЯМР спектроскопии



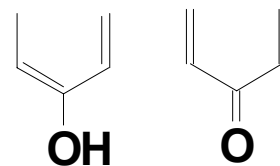
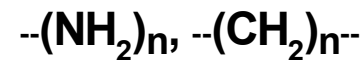
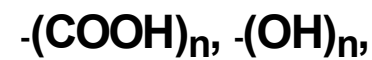
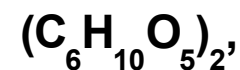
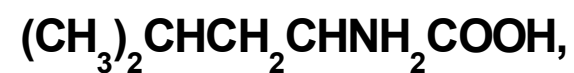
СТРОЕНИЕ ГУМИНОВЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ: КАРКАС И ПЕРИФЕРИЯ

Строение структурной ячейки ГВ (Орлов. 1990)

Негидролизуемая часть



Гидролизуемая часть



Распределение кислорода между функциональными группами в ГВ почв [Schnitzer and Khan, 1972; Stevenson, 1982; Орлов, 1992]

Общее содержание кислорода,	COOH	C _{Ar} OH	C _{Alk} OH	C=O	Учтенный кислород,
%	% кислорода				%
Почвенные гуминовые кислоты					
37.2	24	33	10	8	75
36.8	26	25	15	7	74
35.4	18	38	13	4	73
Почвенные фульвокислоты					
47.3	58	19	12	6	95
44.8	65	12	13	9	99
47.7	61	9	16	4	90

Фрагментный состав ГК "Aldrich" и ФК р. Суваннее по данным ¹³C ЯМР (распределение C, %)

CO	COOH	Ar	Alk-O	Alk	Источник
ФК р. Суваннее					
6	18	33	21	21	Shin, 1996
6	19	28	20	27	Humic substances in the Suwannee river, 1994
7	22	27	13	31	Preston, 1987
ГК "Aldrich"					
1	9	39	4	48	Choudhry, 1989
	15	59	9	17	Shin, 1996
6	9	26	12	44	Malcolm, 1986

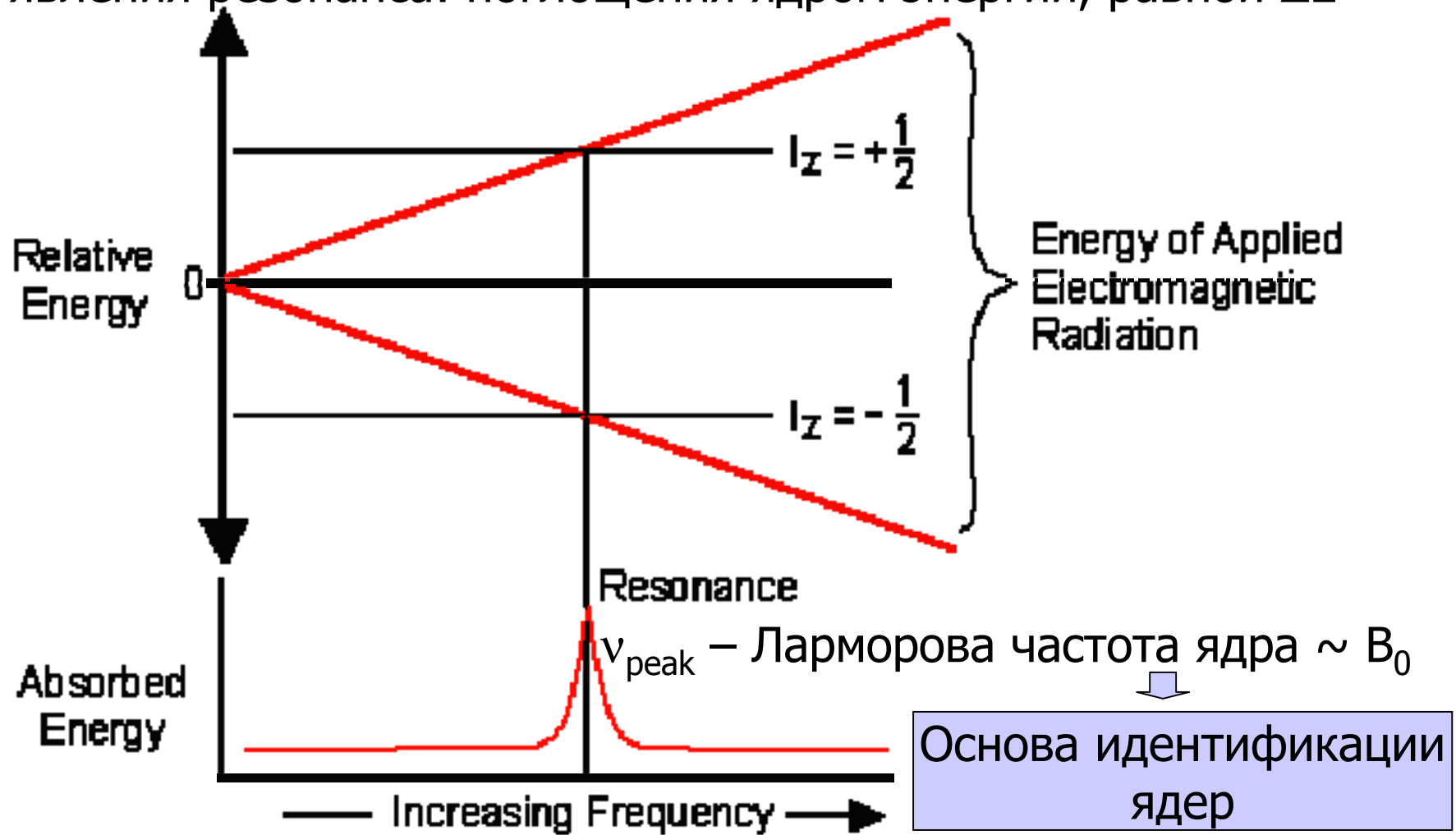
ЧАСТОТЫ РАЗЛИЧНЫХ СПЕКТРОСКОПИЙ

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

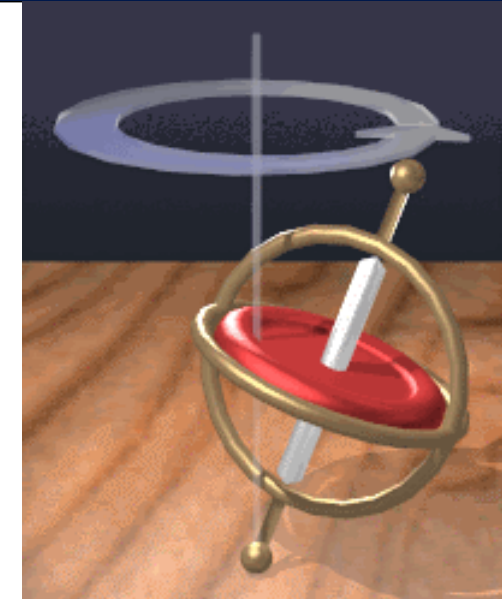
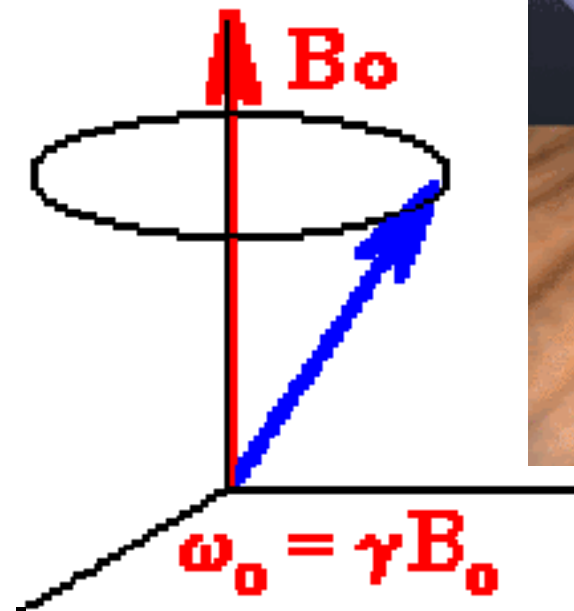
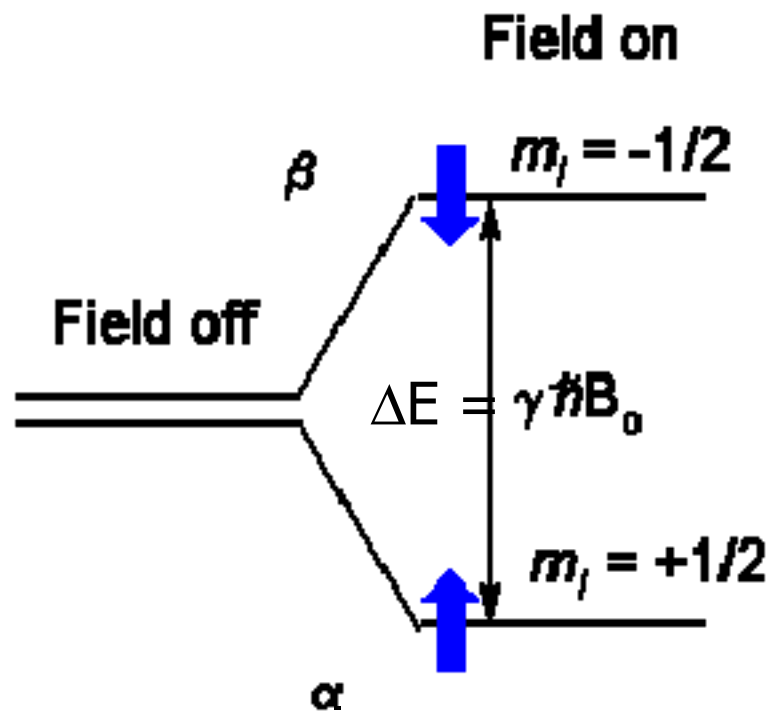


ЯВЛЕНИЕ РЕЗОНАНСА

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



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



ЭКРАНИРОВАНИЕ

Электрон заряжен отрицательно – создает поле против B_0

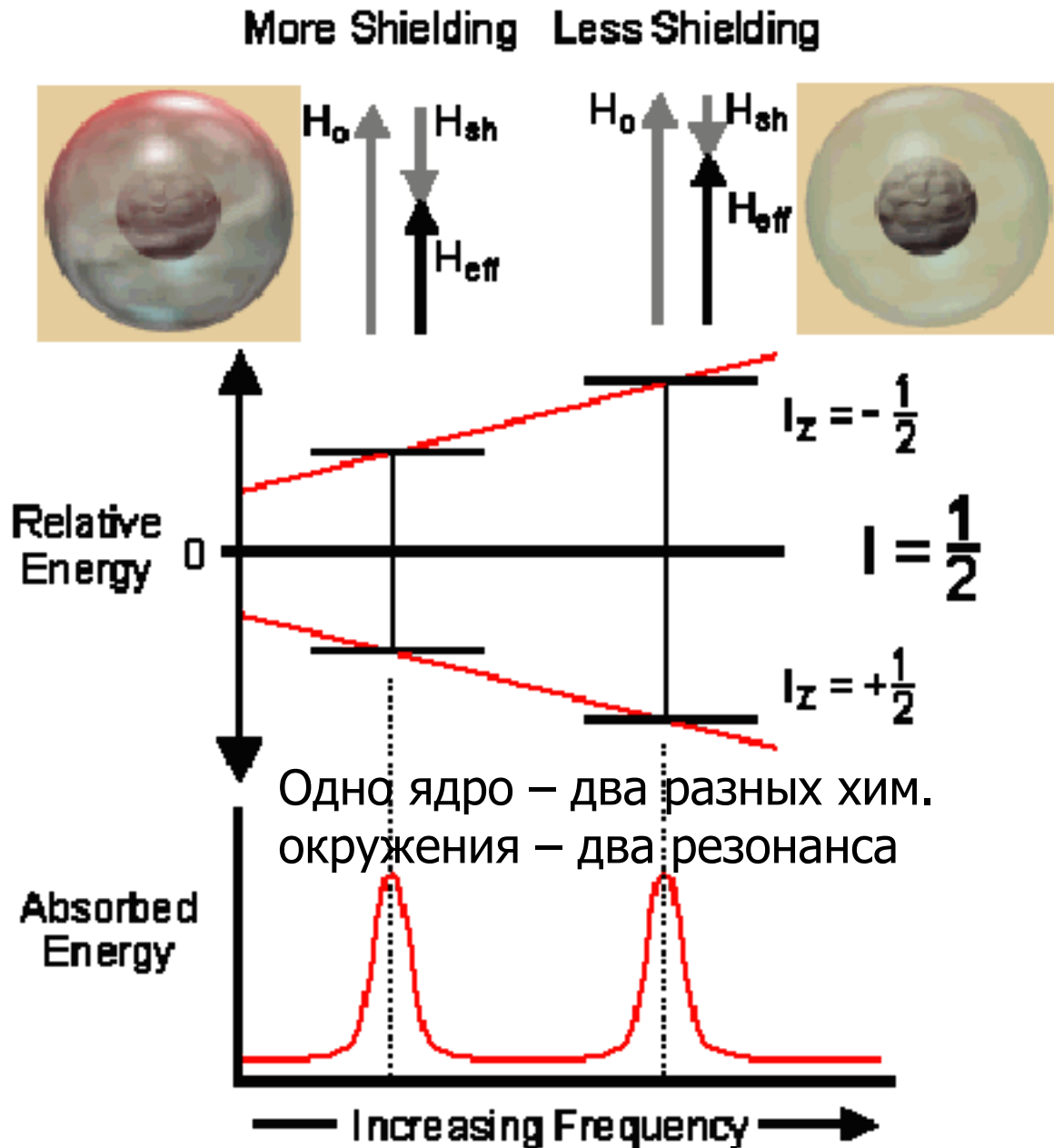
$$B_{\text{eff}} = B_0 - \sigma B_0$$

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

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**



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:

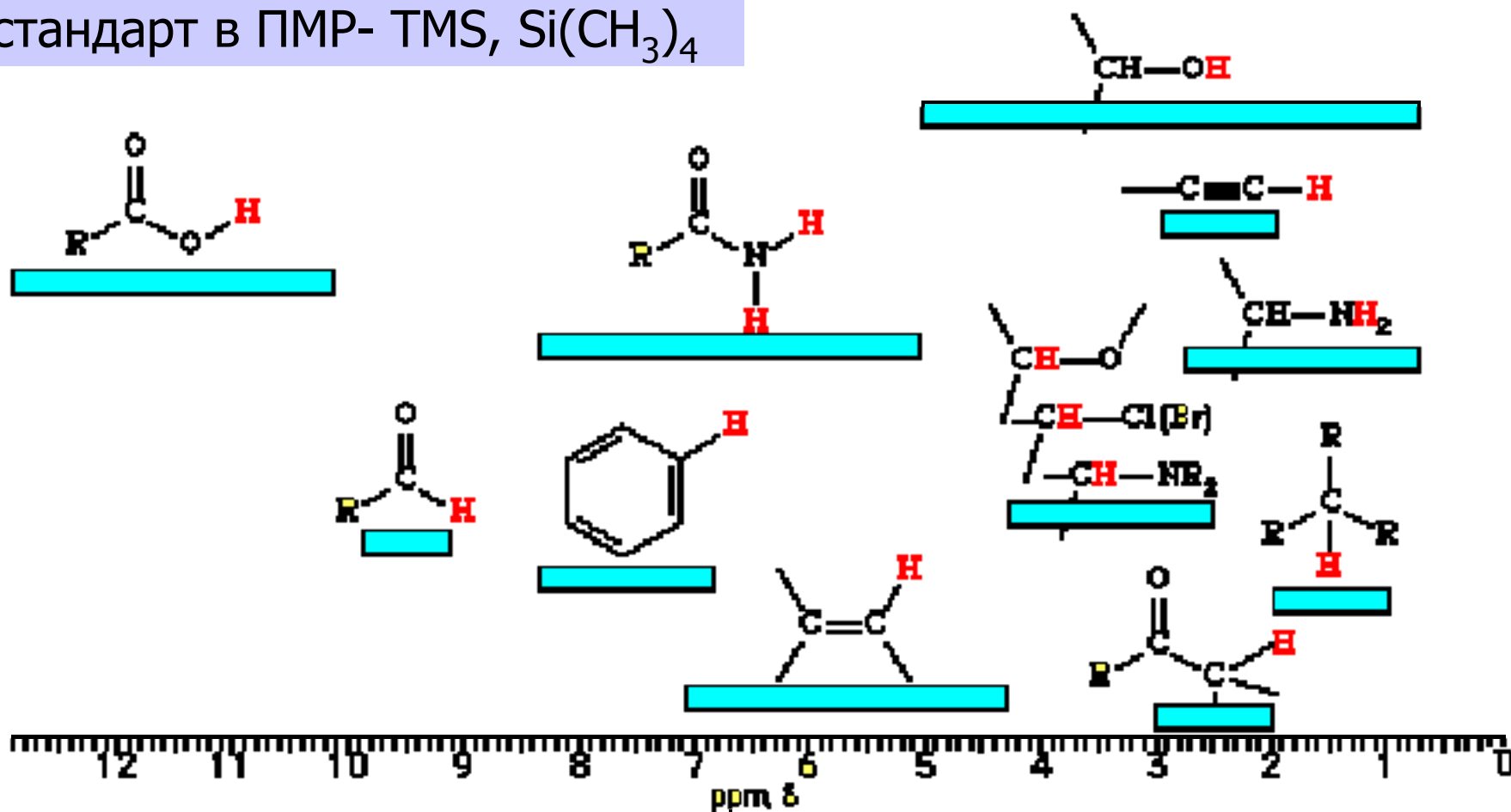
$$(400 / 400,000,000 * 1,000,000) = 1 \text{ ppm.}$$

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, $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$

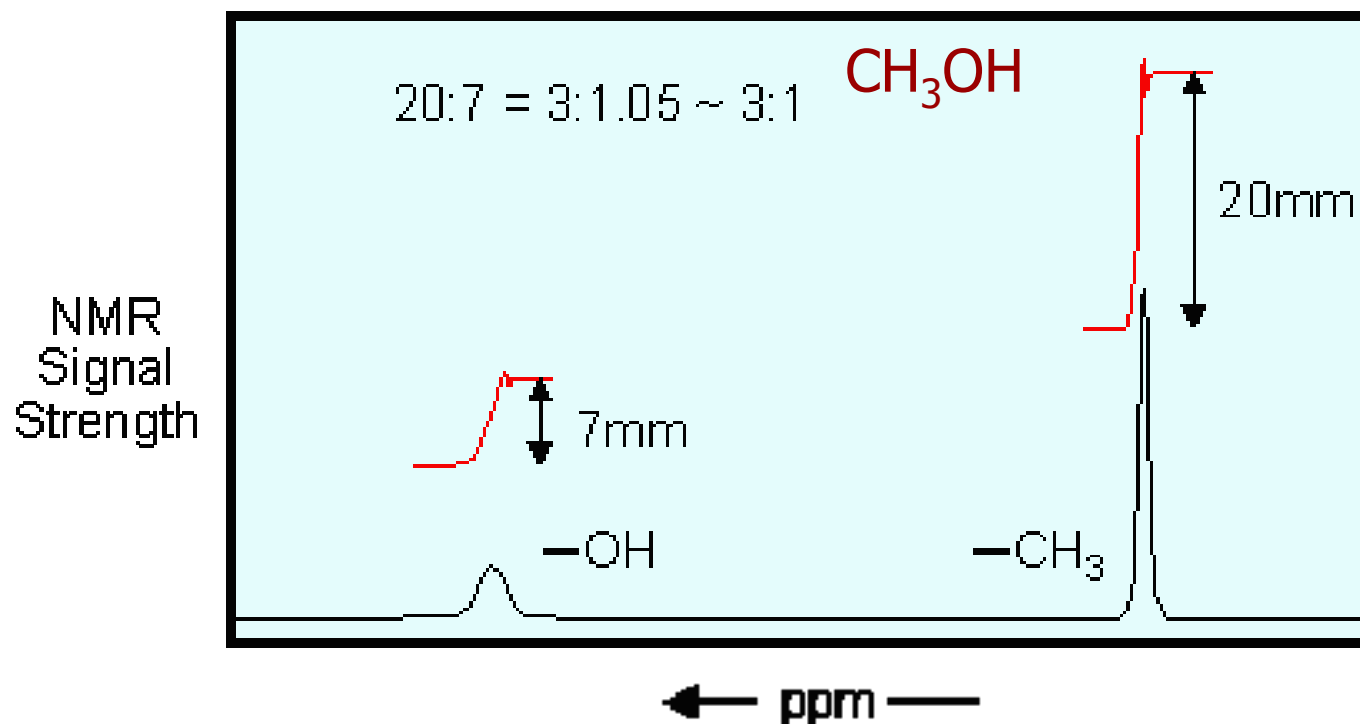


КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ЯМР-СПЕКТРОВ: ИНТЕГРИРОВАНИЕ

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:

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

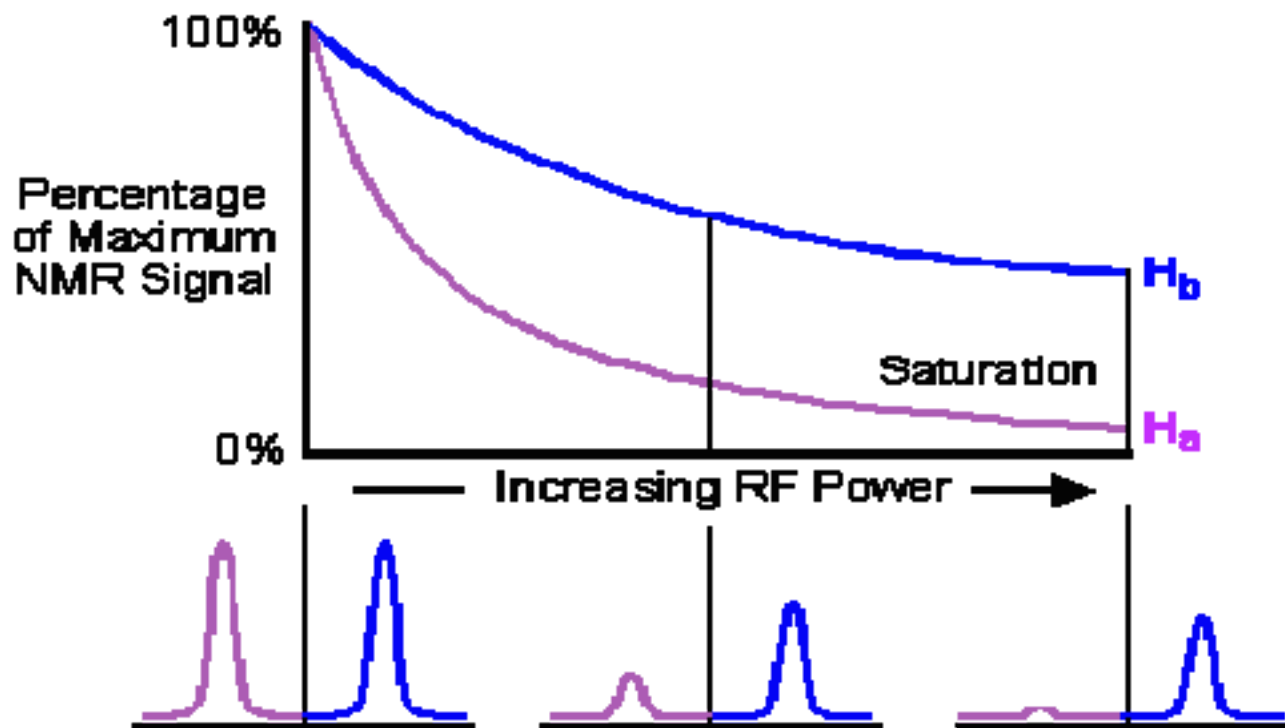
где K – экспоненциальный множитель в распределении Больцмана



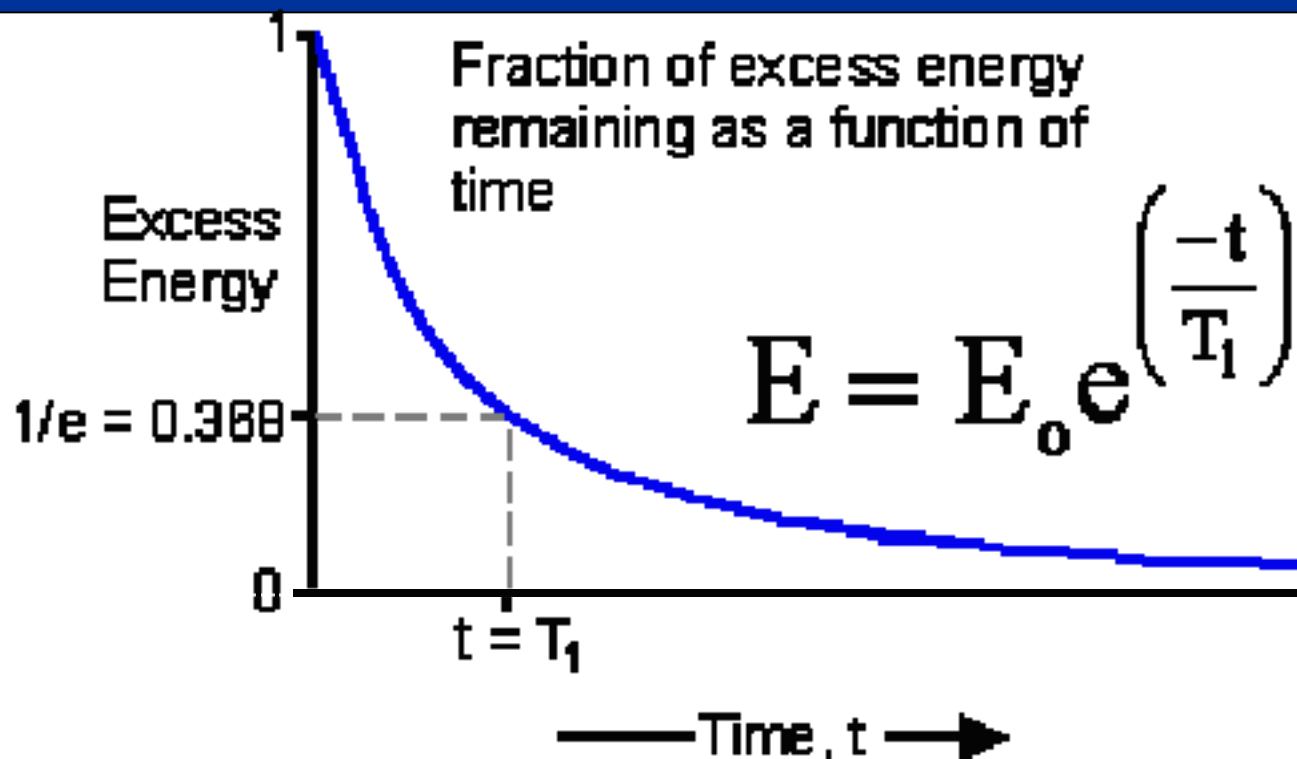
НАСЫЩЕНИЕ

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.



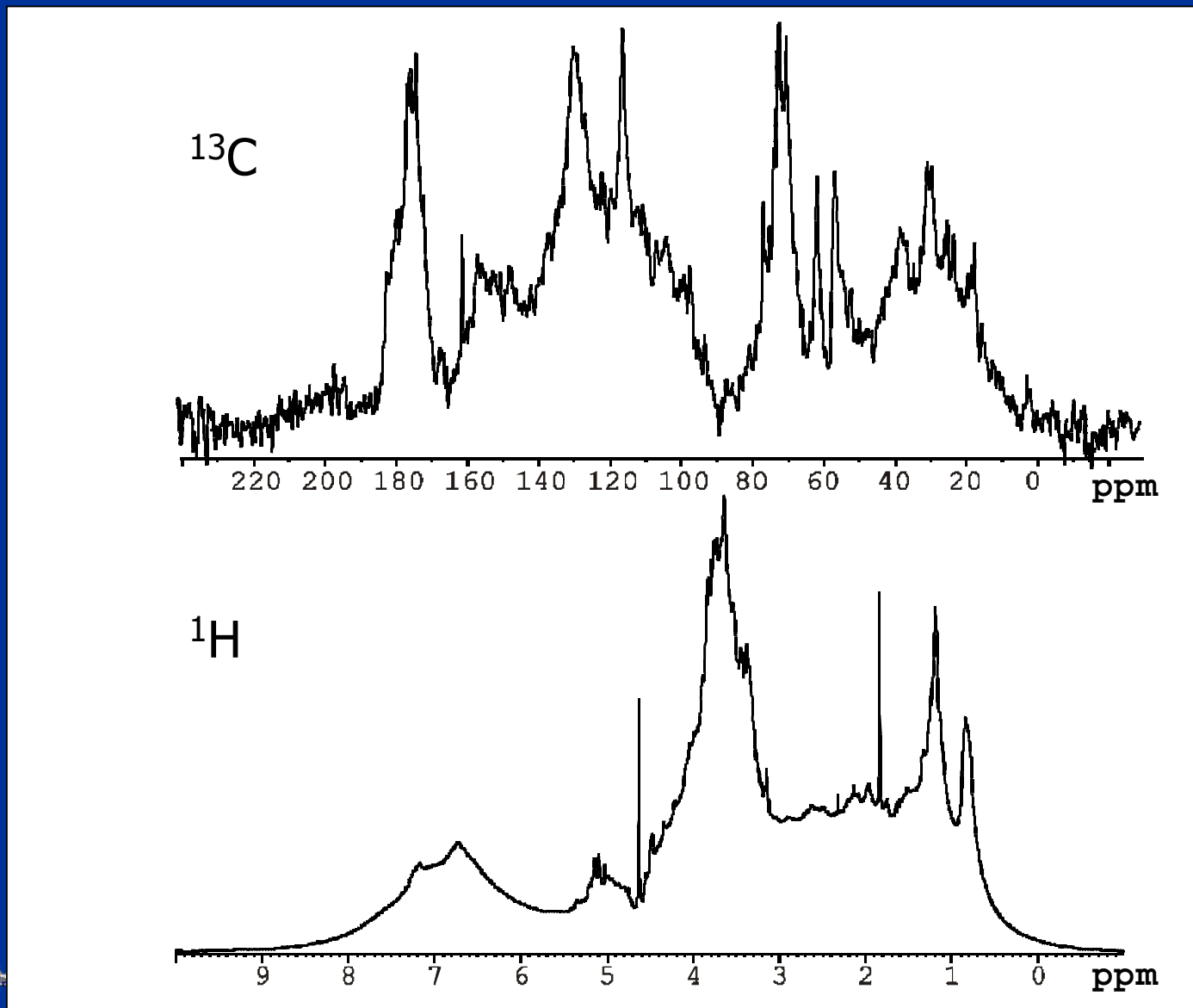
РЕЛАКСАЦИЯ



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.

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



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

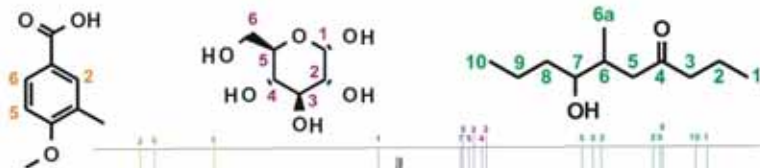
Фрагмент	Интервал, м.д.		Описание
	ПМР	¹³ C ЯМР	
CH-H,C	0.5-1.95	5-48	H-, C-замещенные Алиф. фр.
α-CH	1.95-3.1		Алиф. фр. в α - положении к электроотр. группе / ар. кольцу
CH ₃ -O CH ₂ -O,N CH-O,N	3.1-4.7	48-58 58-64 64-90	Метоксильные фрагменты O- и N-замещенные Алифатические Фрагменты ("карбогидратные")
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



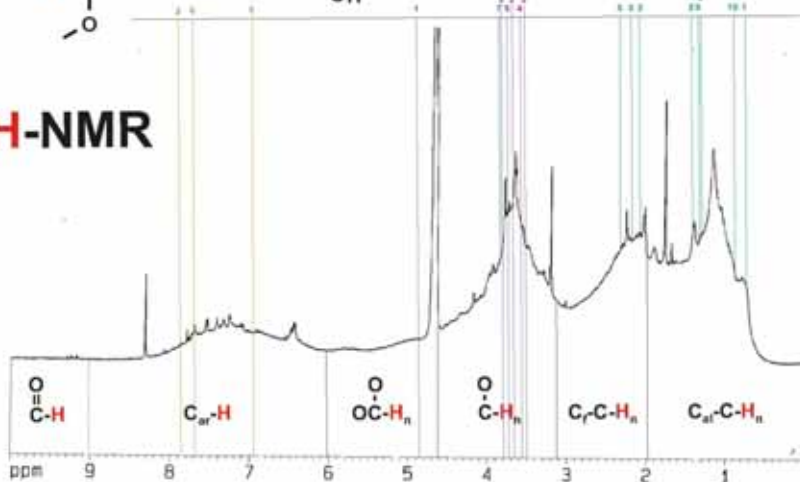
ДОСТОИНСТВА ПМР И ^{13}C ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ ГВ

^1H NMR:

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

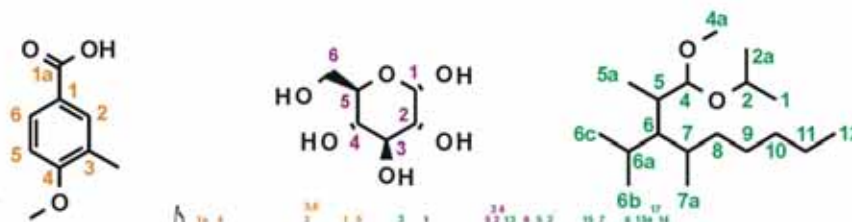


^1H -NMR

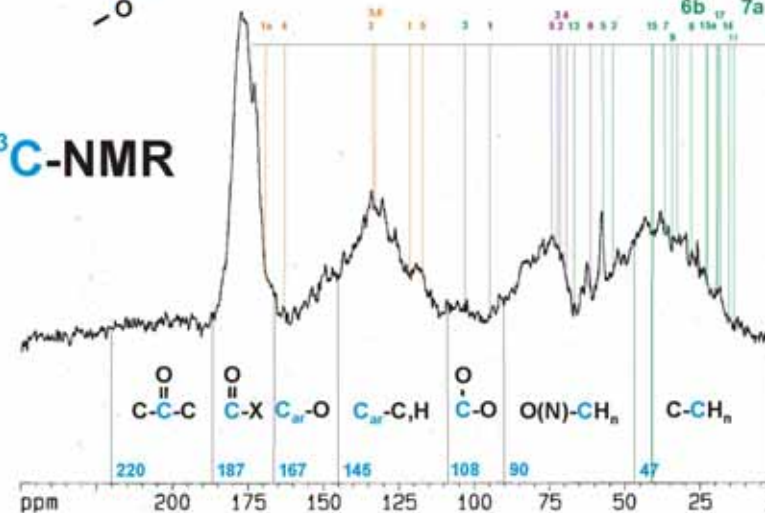


^{13}C NMR:

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



^{13}C -NMR



ПРОБЛЕМЫ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР ^{13}C И ПМР

^{13}C ЯМР

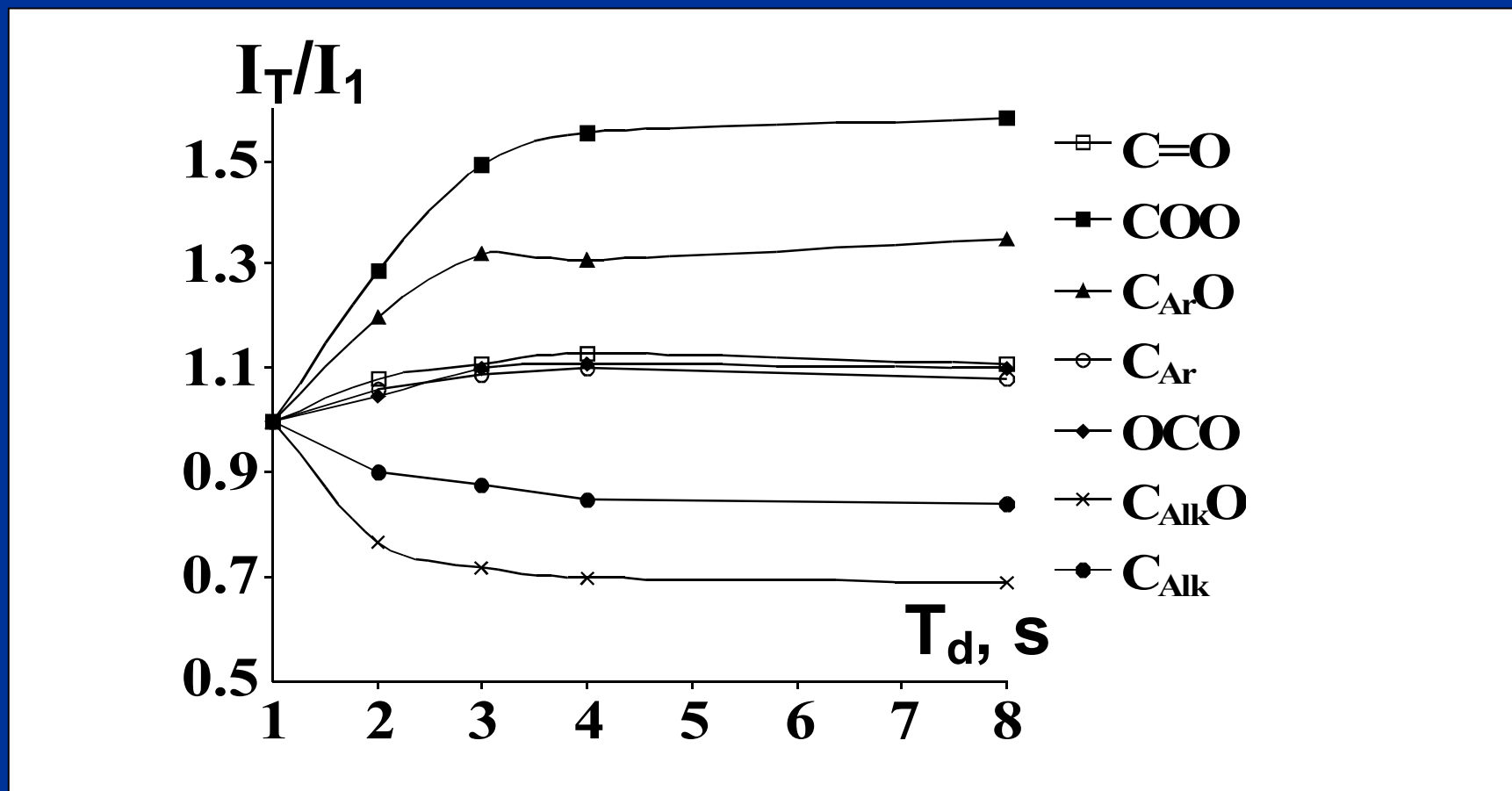
- Ограниченная растворимость ГФК
- Перекрывание спектральных областей
- Различие во временах релаксации ядер углерода различных типов
- Большие затраты времени на получение спектра

ПМР

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

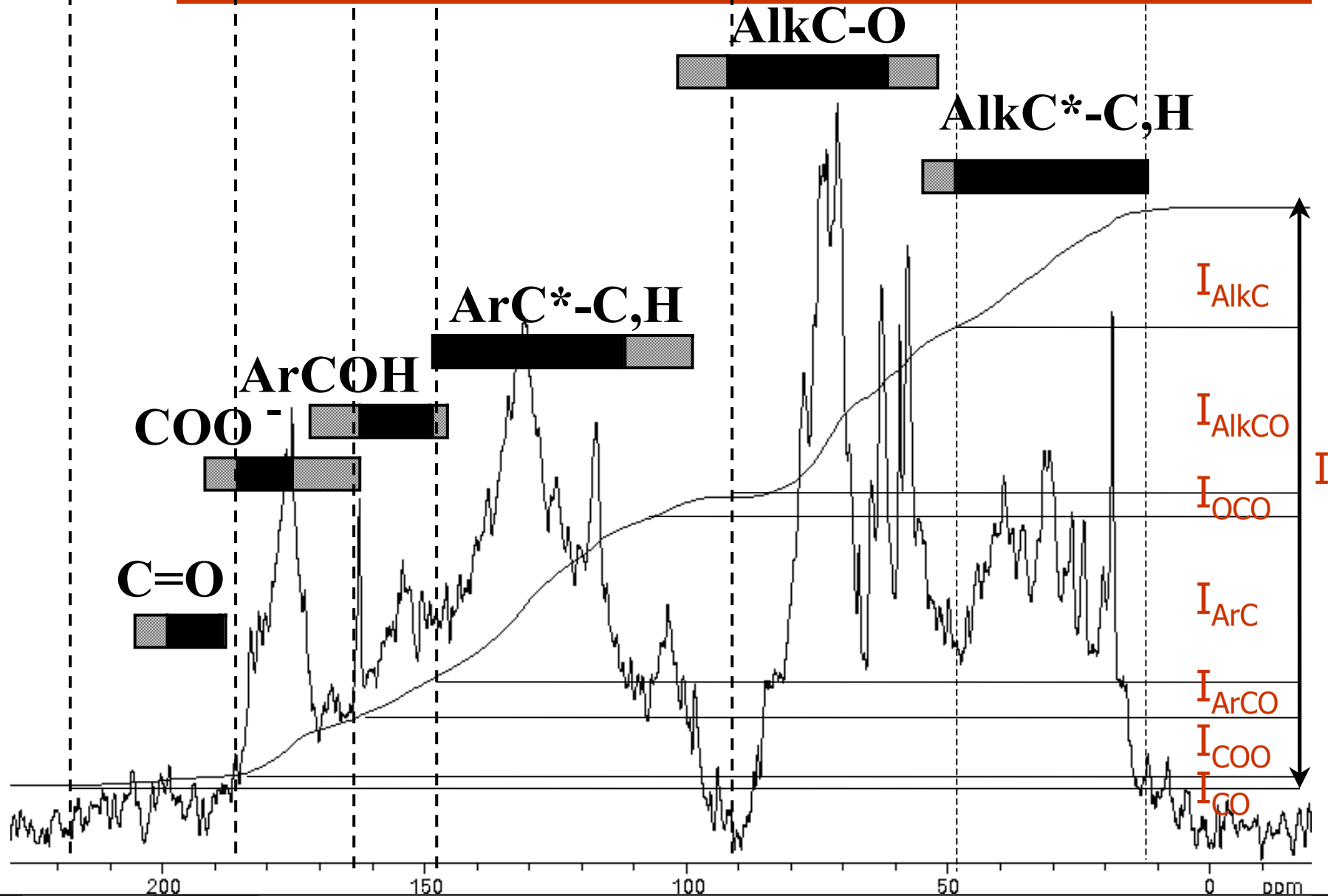
ВЫБОР УСЛОВИЙ РЕГИСТРАЦИИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ^{13}C ЯМР СПЕКТРОВ

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

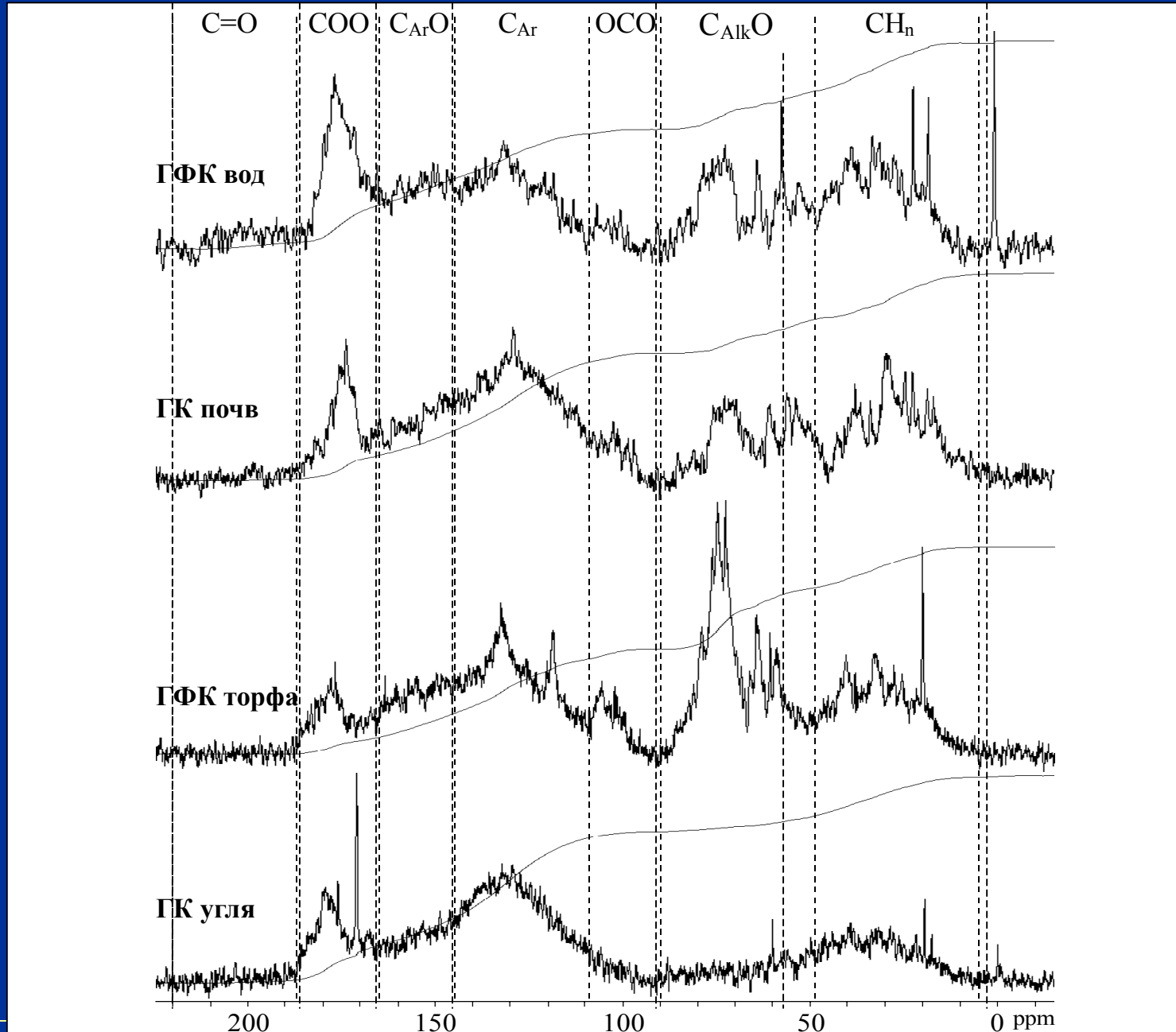


ИНТЕГРИРОВАНИЕ ^{13}C ЯМР СПЕКТРОВ ГВ

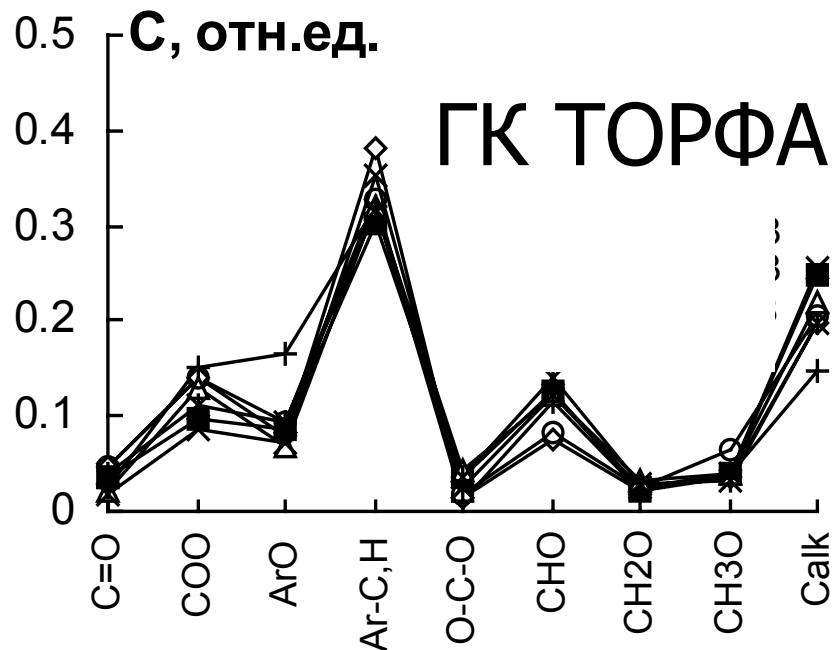
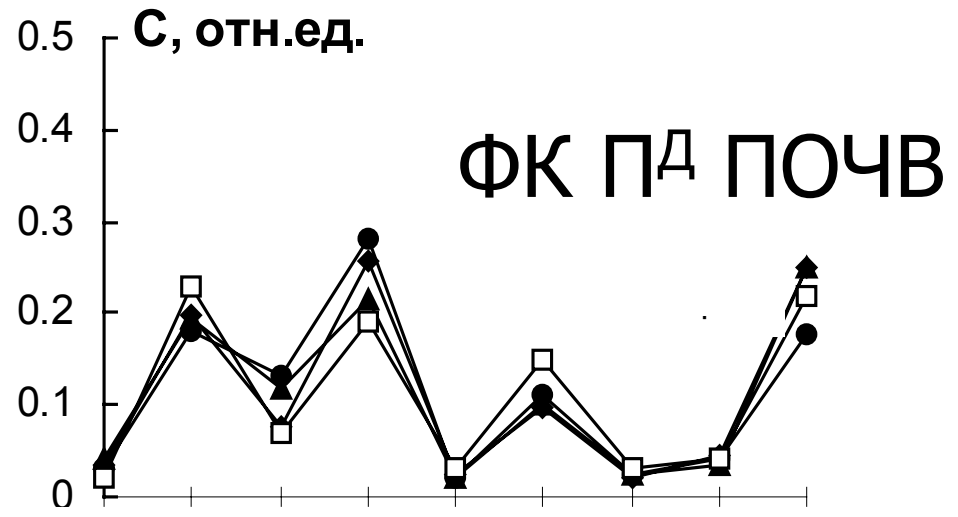
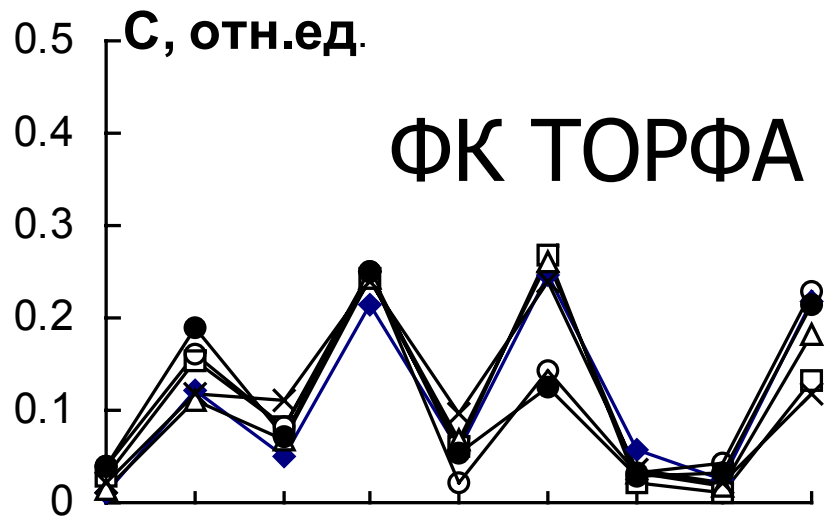
$$I_{\text{CO}} + I_{\text{COO}} + I_{\text{ArCO}} + I_{\text{ArC}} + I_{\text{OCO}} + I_{\text{AlkCO}} + I_{\text{AlkC}} = I = 100\%$$



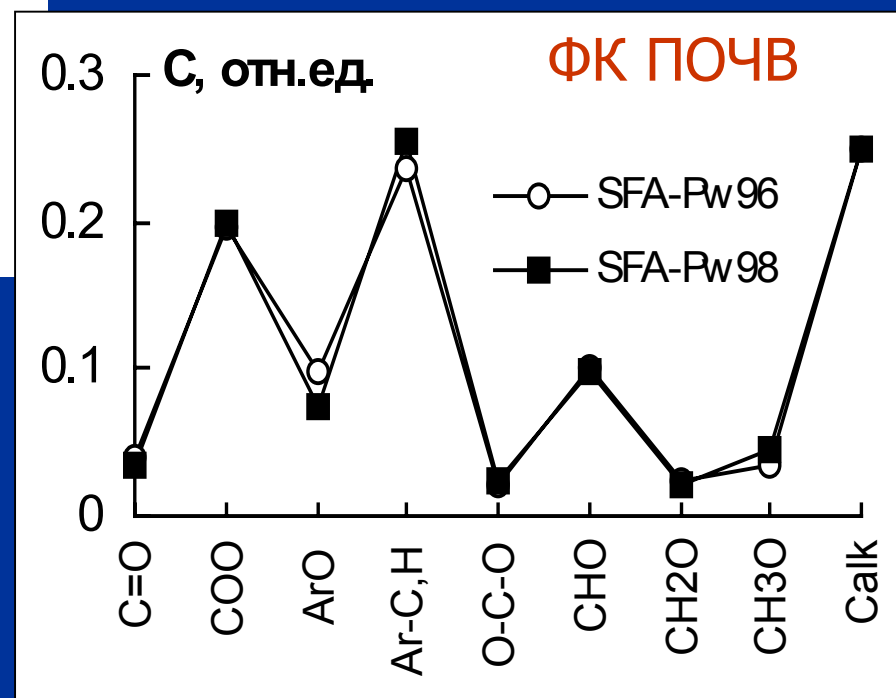
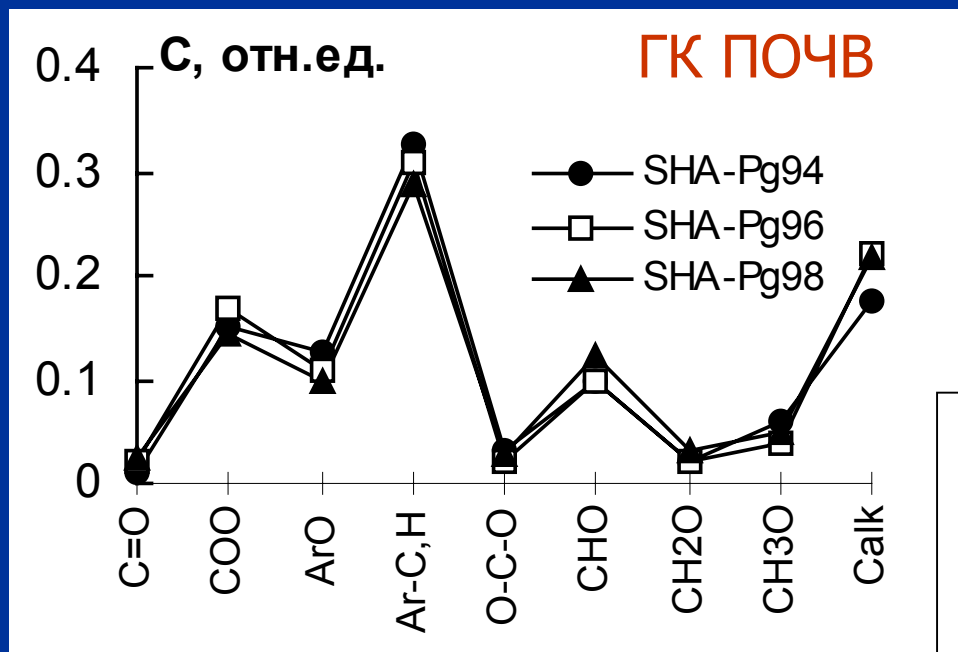
^{13}C ЯМР СПЕКТРЫ ГВ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗИСА



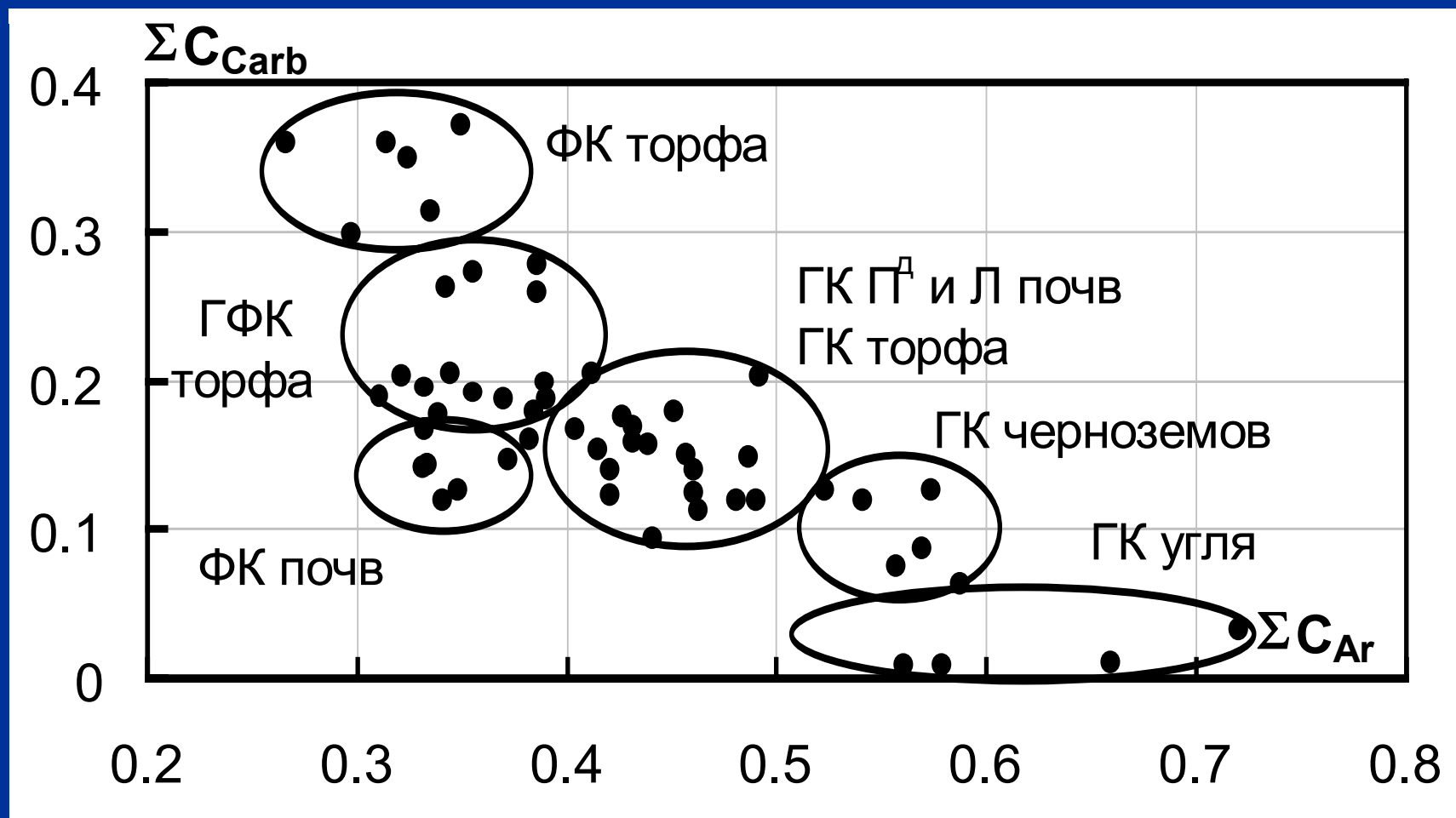
^{13}C ЯМР СПЕКТРЫ ФРАКЦИЙ ГВ



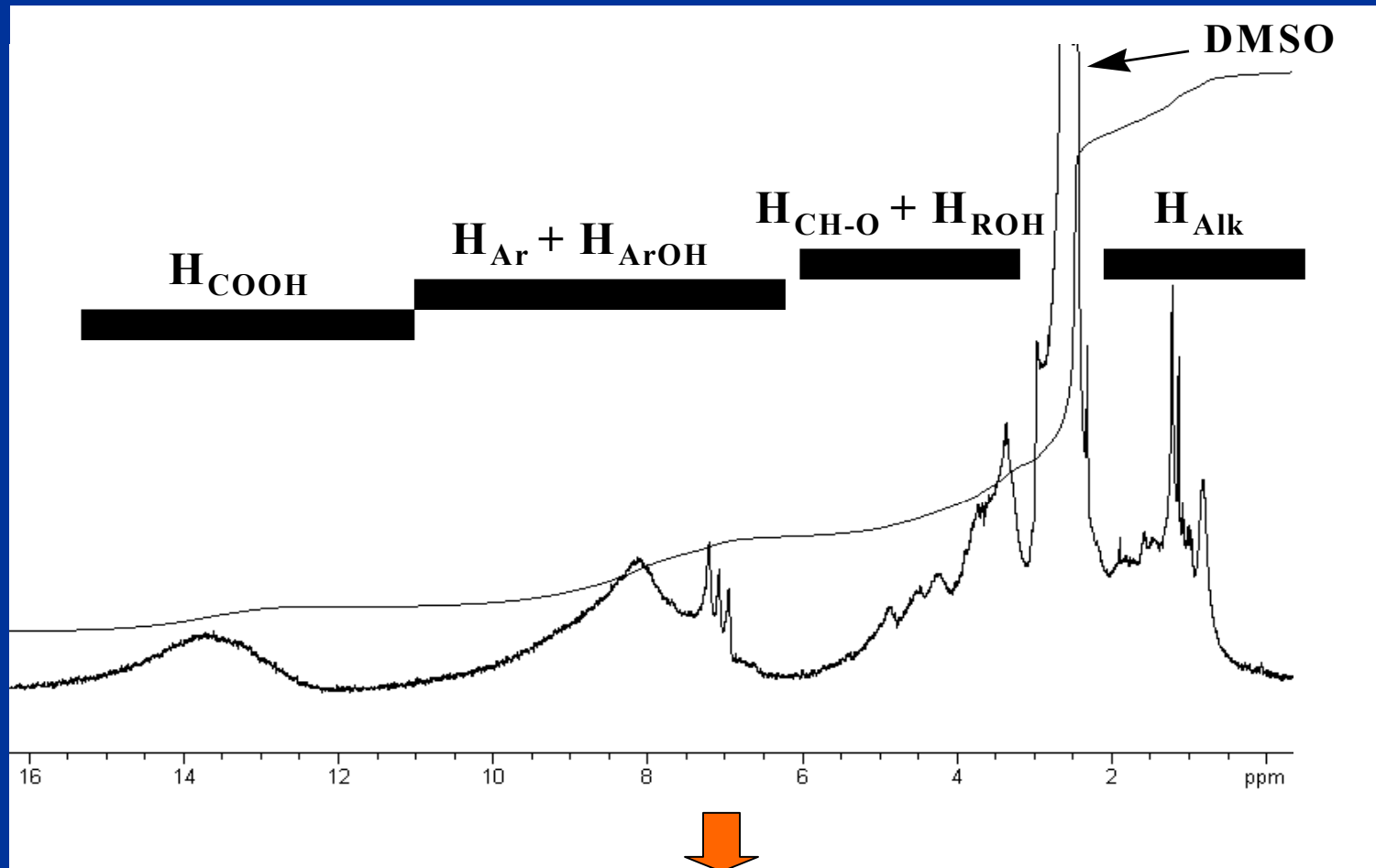
ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ СПЕКТРОСКОПИИ ЯМР ^{13}C



КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕПАРАТОВ ПО РАСПРЕДЕЛЕНИЮ УГЛЕРОДА

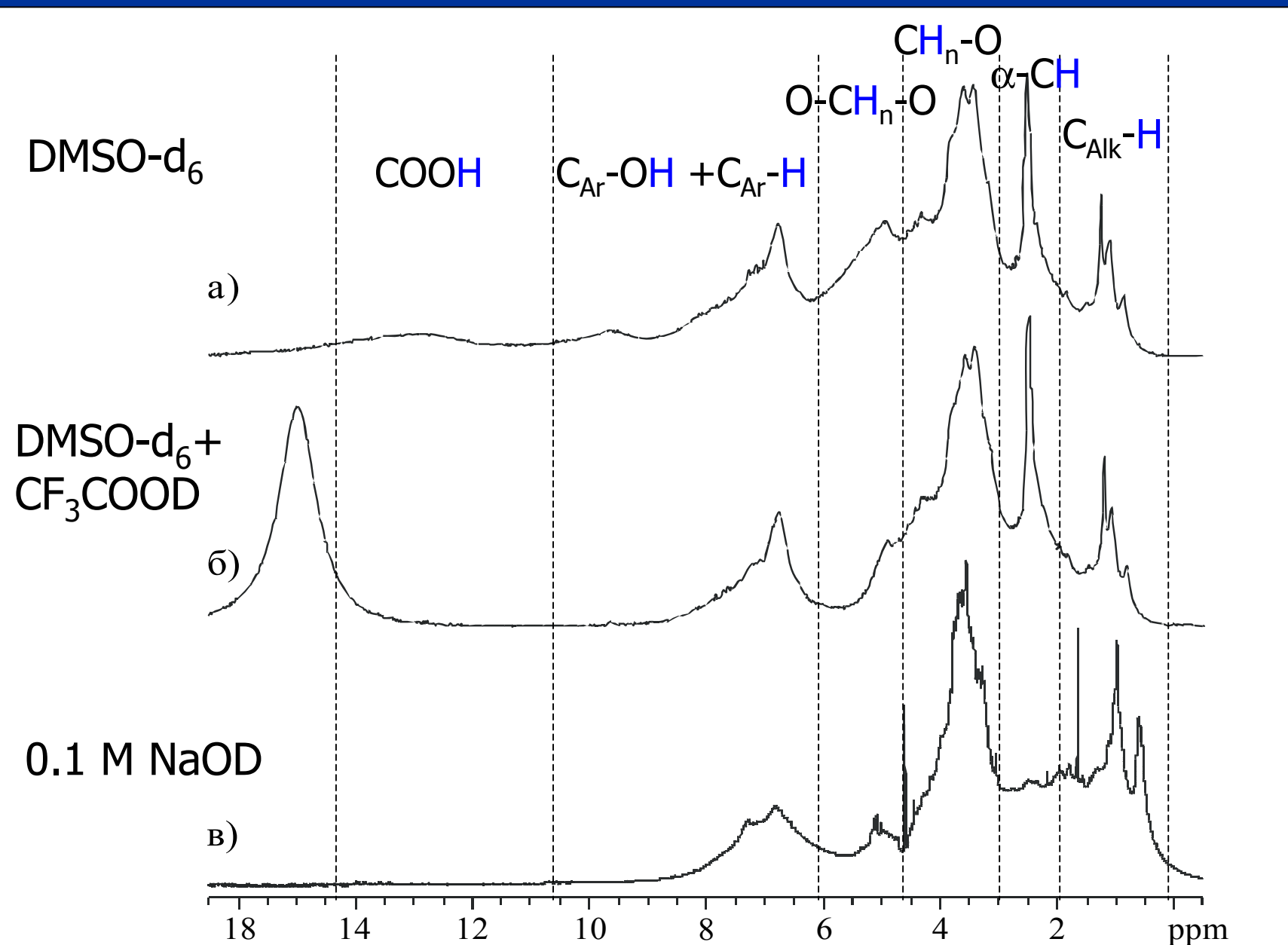


ВЫБОР УСЛОВИЙ РЕГИСТРАЦИИ ПМР-СПЕКТРОВ ГВ

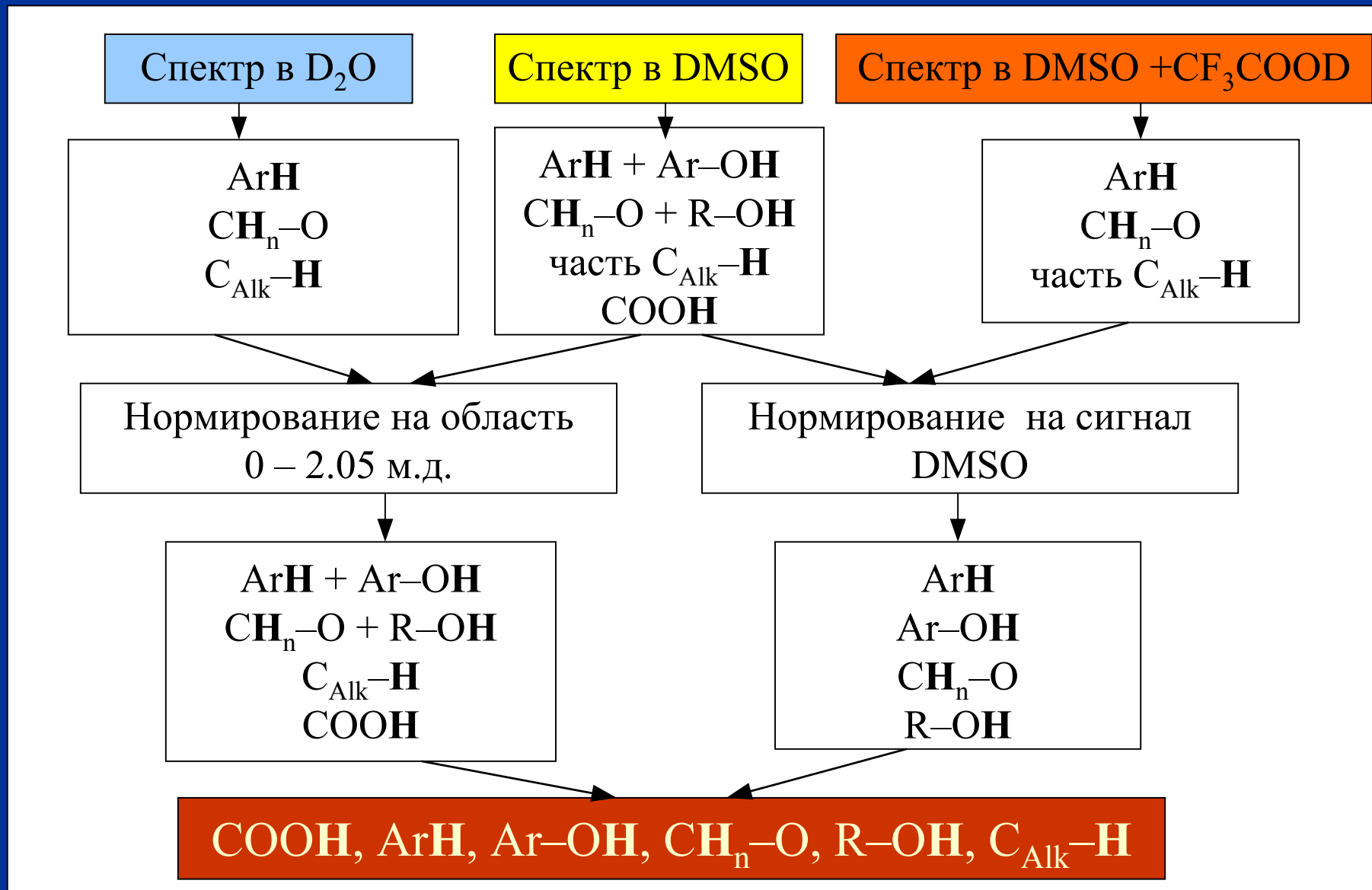


- Пик растворителя закрывает часть спектра
- Значительное уширение сигналов
- Перекрывание подвижных и скелетных протонов

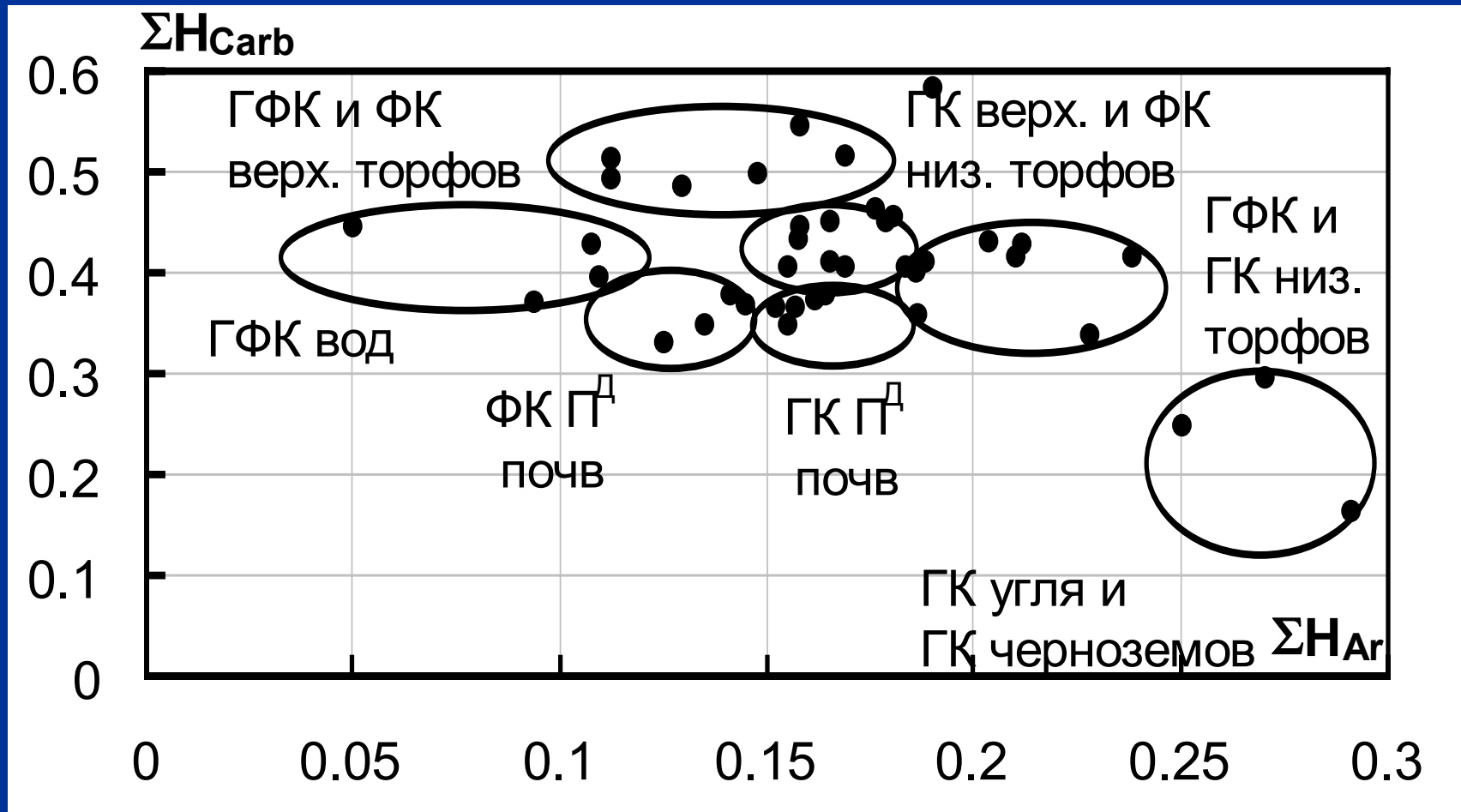
РЕГИСТРАЦИЯ ПОДВИЖНЫХ ПРОТОНОВ ГВ



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.



Следующая лекция

*Молекулярно-массовый состав гуминовых
веществ*

08.04.2011, 15:30, ауд. 446

