

СПЕКТРАЛНИ МЕТОДИ ЗА АНАЛИЗ В ОРГАНИЧНАТА ХИМИЯ

Автори: Росен Буюклиев, Доротея Сиджакова

Развитието на науката и техниката през XX век доведе до широко приложение и усъвършенстване на спектралните методи за анализ в органичната химия. Чрез тези методи се получават данни както за елементния състав, така и за структурата на органичните молекули (функционални групи, типове връзки, електронно състояние, пространствен строеж, разпределение на електронната плътност).

Принципът на спектралните методи за анализ е взаимодействие на веществото с електромагнитно лъчение, при което може да протече поглъщане (абсорбция), излъчване (емисия) или разсейване на електромагнитна енергия.

Когато молекулата погълне електромагнитна енергия, нейната обща енергия се изменя съгласно уравнението на Бор:

$$\Delta E = E_n - E_0 = h\nu,$$

където

E_n е енергията на молекулата във възбудено състояние;

E_0 – енергията на молекулата в основно състояние;

h – константата на Планк ($6.63 \times 10^{-34} \text{ J/s}$);

ν – честотата на електромагнитното лъчение, което се поглъща.

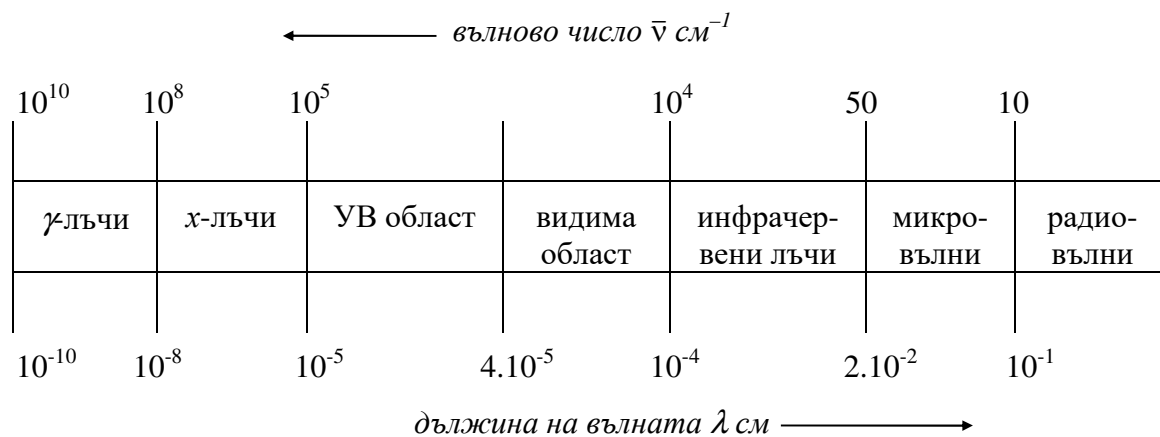
Колкото по-голяма е честотата на лъчението, толкова по-голяма е неговата енергия, съответно е по-малка дължината на вълната λ . Честотата се измерва в херци, но може да се означаи и като вълново число $\bar{\nu}$ в „обратни сантиметри“ cm^{-1} (или cm^{-1})*:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} \hat{m}^{-1}$$

В посочената формула дължината на вълната се измерва в cm . Вълновото число посочва броя вълни, които се събират в 1 cm .

* Англ.: wavenumber $\bar{\nu}$ (reciprocal wavelength).

В зависимост от дължината на вълната електромагнитните лъчения се разделят на няколко вида, като всеки вид електромагнитно лъчение заема определена област от електромагнитния спектър. Видовете лъчения в електромагнитния спектър могат да се представят чрез следната диаграма:



За изследване на структурата на органичните съединения се прилагат главно абсорбционна ултравиолетова, видима и инфрачервена спектроскопия, както и спектроскопията на ядреномагнитен резонанс (ЯМР).

Ултравиолетова (УВ) спектроскопия в органичната химия (електронни спектри)

При облъчването на молекула с електромагнитно лъчение от ултравиолетовата ($100 - 400 \text{ nm}^*$) и видимата област ($400 - 800 \text{ nm}$) произтича изменение в енергията на най-външните (валентните) електрони, участващи в химичните връзки, ето защо тези спектри се наричат електронни. Енергията на ултравиолетовата и видимата светлина предизвиква също и изменение във вибрационната енергия на молекулите (трептението на отделните атоми), както и в ротационната енергия (въртенето на молекулите). Това е причината в УВ спектрите да се получават широки ивици на поглъщане със заоблени върхове.

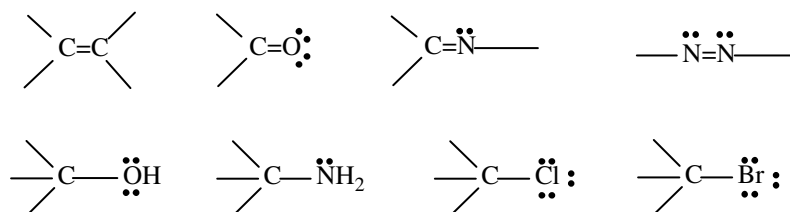
Валентните електрони в молекулата образуват σ и π -молекулни орбитали (свързващи и антисвързващи). Освен това има и валентни електрони, заемащи неподделени p -орбитали. Възможните електронни преходи между различните орбитали са, съответно $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $p \rightarrow \sigma^*$, $p \rightarrow \pi^*$, като σ^* и π^* са антисвързващите молекулни орбитали. p -Орбиталите, които не образуват химична връзка, се наричат несвърз-

* nm или nm – нанометър ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$).

ващи. Свободните (неподелените) електронни двойки при някои от атомите в молекулата се означават общо като *n*-електрони.

Някои електронни преходи са по-вероятни и съответно техните спектрални ивици са по-интензивни, докато тези, които са по-малко вероятни, дават по-слаби спектрални ивици. Някои електронни преходи не могат да се извършат поради симетрия на молекулата или други особености. Те се наричат "забранени преходи" и не дават спектрални ивици в УВ спектрите. Най-високоенергетичният преход е $\sigma \rightarrow \sigma^*$ и неговата област на поглъщане попада под 190-200 нм, което обикновено е извън обхвата на серийно произвежданите УВ спектрофотометри. Ето защо съединенията, съдържащи само σ -връзки, са прозрачни в областта от 200-400 нм. Под 185 нм започват да поглъщат и молекулите на въздуха (азот, кислород), ето защо измерванията в тази област трябва да се провеждат под вакуум. Поради тази причина областта под 200 нм се нарича още "вакуумен ултравиолет". Тази област не представлява интерес за органичната химия.

За да поглъща едно съединение в УВ областта от 200-400 нм, то трябва да притежава сложни връзки, съответно π -електрони, или несвързващи молекулни орбитали (неподелени електронни двойки, *n*-електрони). Сложните връзки и свободните електронни двойки се наричат *хромофори*:



Електронните преходи, които се обуславят от тези хромофори, са $\pi \rightarrow \pi^*$ (например $>\text{C}=\text{C}<$), $p \rightarrow \sigma^*$ ($\equiv\text{C}\text{-OH}$) и $p \rightarrow \pi^*$ ($\text{C}=\text{O}$). Най-нискоенергетични са преходите $p \rightarrow \pi^*$. Те поглъщат лъчи с най-голяма дължина на вълната, т. е. те са най-дълговълнови. Най-високоенергетични, съответно най-късовълнови, са $\pi \rightarrow \pi^*$ преходите. За всички тези преходи е характерна ниска интензивност на ивиците на поглъщане, ето защо УВ спектралното изследване на съединения с изолирани хромофорни групи няма голямо значение. Ако обаче в молекулата има спрегнати хромофорни групи, ивиците на поглъщане стават по-интензивни и се преместват към по-дълговълновата област на спектъра. Отместването е толкова по-силно, колкото повече хромофорни групи са спрегнати помежду си. Това отместване се обяснява с факта,

че когато са налице системи със спрегнати двойни връзки, преходите $\pi \rightarrow \pi^*$ стават повече от един и броят им е в зависимост от броя на спрегнатите двойни връзки, които образуват общи свързващи и антисвързващи молекулни орбитали. Най-нискоенергетичен (с най-голяма дължина на вълната) става преходът между най-високоенергетичната свързваща π -орбитала (НОМО – Highest Occupied Molecular Orbital) и най-нискоенергетичната антисвързваща π -орбитала (LUMO – Lowest Unoccupied Molecular Orbital). Такова отместване към по-дълговълновата област на спектъра се нарича *батохромно отместване*, а ако е налице обратното – отместване към по-късовълновата част на спектъра – *хипсохромно отместване*. Батохромното отместване може да бъде значително и молекулата да започне да поглъща във видимата област (над 380 нм). Цветът на каротена, азобагрилата, индигото, както и на много други цветни съединения, се обяснява с наличието на голям брой спрегнати двойни връзки и хромофорни групи с неподелени електронни двойки. Най-голямо значение имат УВ и видимите спектри на такива съединения със спрегнати хромофори.

УВ и видимите спектри на изследваните съединения се снимат в разреждени разтвори с концентрации от 10^{-2} до 10^{-6} мол/л, тъй като най-характерните ивици на поглъщане в УВ-областта имат висока интензивност. Количеството вещество, необходимо за УВ-спектр, е прибл. 1 мг. Най-подходящи разтворители са тези, които са прозрачни в УВ-областта от 200-400 нм - вода, хексан и други наситени въглеводороди, циклохексан, метанол, етанол, етер, диоксан, бензен, CCl_4 , CHCl_3 . Разтворите се поставят в кварцови кювети с точно определена дебелина, тъй като кварцът е прозрачен в ултравиолетовата област. За измервания във видимата област се използват и по-евтини стъклени кювети. Минималното количество на разтвора е около 1 мл.

При интерпретация на УВ спектрите се използват данните за мястото на ивиците и тяхната интензивност на поглъщане – дължината на вълната (λ) в cm^{-1} , както и моларната абсорбируемост (ϵ_v) в $\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$. Величините λ и ϵ_v се отчитат в максимума на поглъщане на спектралната ивица. В таблица 1 са посочени стойности за λ и ϵ_v за някои органични съединения, разтворени в хексан. Тъй като моларната абсорбируемост може да има много високи стойности, съвременните УВ спектрофотометри показват спектъра в координати $\lambda/\lg \epsilon$. Новите поколения на такива апа-

рати, създадени след 1990 г., притежават компютър и най-напред спектърът се показва на компютърния екран, след което може да се отпечата от принтер (лазерен или мастиленоструен).

ТАБЛИЦА 1: Ултравиолетови спектри

Съединение	λ , нм (ε)	Съединение	λ нм (ε)
Етилен	165	Етанол	183
1,3-Бутадиен	217 (21000)	Метилхлорид (газ)	170 (200)
1,3-Циклопентадиен	238 (3400)	Диетилетер (пари)	184 (1000)
<i>транс</i> -1,3,5-хексатриен	256 (32400)	Триетиламин	199 227 (794)
2,4,6,8-декатетраен	310 (76500)	<i>N,N</i> -диметиланилин	250 (13700) 296 (23000)
Бензен	180 (55000) 201 (7400)	Диетиламин (пари)	194 (3000) 222 (300)
Толуен	206 (7000) 261 (225)	Ацеталдехид	294 (12)
Нитробензен	351 (365)	Бензалдехид	280 (1400) 242 (14000)
Пирол	210 (15000) 350 (300)	Ацетон	279 (14,8)
Пиридин	195 (7500) 250 (2000)	Ацетилхлорид	235 (53)
Хинолин	275 (4500) 311 (6300)	Оцетна киселина (в метанол)	204 (45)

С помощта на УВ спектрите могат да се извършват структурни изследвания и количествени определения, както и да се доказват идентичността и чистотата на органичните съединения.

УВ спектроскопията намира широко приложение във фармацията за качествен и количествен анализ на лекарствени средства. В органичната химия основната област на приложение са структурни изследвания на молекулите. От месторазположението на ивиците на поглъщане може да се съди за наличието на хромофори и за спрежение на двойни връзки в молекулите на изследваното съединение. При наличие на определени заместители в молекулата на определени места абсорбционните ивици претърпяват батохромно или хипсохромно отместване. Заместители като $-\text{NH}_2$, $-\text{OH}$, $-\text{OR}$, $-\text{COOH}$, SO_3H и др., които са слаби хромофори, проявяват батохромно или хипсохромно ефект и влияят върху интензитета на поглъщане на останалите хромофори в молекулата. Те се наричат още *ауксохромни групи*. При ароматните

съединения тези групи отместват батохромно поглъщането и увеличават интензивността му, например бензен ($\lambda=201$ нм, $\epsilon=7400$), анилин ($\lambda=230$ нм, $\epsilon=7400$), бензоена киселина ($\lambda=230$ нм, $\epsilon=11600$), бензонитрил ($\lambda=224$ нм, $\epsilon=13000$).

Върху УВ спектрите влияние оказват и пространствени (стерични) фактори. При *цис*-конфигурация на ненаситени спрегнати съединения максимумът на поглъщане се отмества батохромно, а интензитетът пада (вж. в табл. 1 за 1,3-бутадиен и 1,3-циклопентадиен).

За доказване на киселинен или базичен характер на дадена молекула, молекулни асоциати или комплекси се заснемат спектри при различни температури, различни стойности на рН и разтворители. При търсене на структурата на дадено съединение е полезно да се заснемат спектрите в два или повече разтворители, като се отчита влиянието им. В разтворители, съдържащи хидроксилни групи (вода, алкохоли) полярните съединения могат да образуват водородни връзки. В резултат на тези полярни взаимодействия ивиците, свързани с $\pi \rightarrow \pi^*$ прехода претърпяват батохромно отместване и стават по-интензивни, а ивиците от $p \rightarrow \pi^*$ прехода се отместват хипсохромно. В кисела среда ивицата от $p \rightarrow \pi^*$ прехода при карбонилните съединения изчезват поради протониране на неподделената електронна двойка при кислородния атом.

С УВ спектроскопията се извършват много успешно количествени измервания (определяне на концентрацията на дадено съединение в разтвор). При тези измервания се заснема само тясна област на спектъра, в която попада характерен максимум на поглъщане на молекулата. Изчисленията за концентрацията се базират на закона на *Буге-Ламберт-Беер** за съответна стойност на λ , според който съществува линейна зависимост между абсорбцията A и концентрацията:

$$A = \lg \left(\frac{I_0}{I} \right)_v = \epsilon_v \cdot b \cdot c$$

където

A е светлинната абсорбция (по старата номенклатура - екстинкция E);

I_0 и I са интензитетите на лъчението преди и след поглъщането му;

ϵ_v е моларната абсорбируемост в $\text{л.мол}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$;

b - дебелината на слоя на кюветата в см;

c - концентрацията на изследваното вещество в мол/л.

* *Pierre Bouguer* (1698-1758; френски физик), *Johann Heinrich Lambert* (1728-1777; германски математик и физик), *August Beer* (1823-1863; германски математик, химик и физик).

При количествени измервания тази зависимост се проверява експериментално. Най-често се приготвят еталонни разтвори на веществото с точно определени концентрации и се определя A за избрана стойност на λ . Построява се зависимост A/c , която трябва да бъде права линия. Наклонът ѝ отговаря на моларната абсорбируемост ϵ за същата дължина на вълната. При съвременните спектрофотометри тази зависимост се построява компютърно, показва се на екрана и компютърът чрез подходяща програма показва стойностите на ϵ за зададени дължини на вълните.

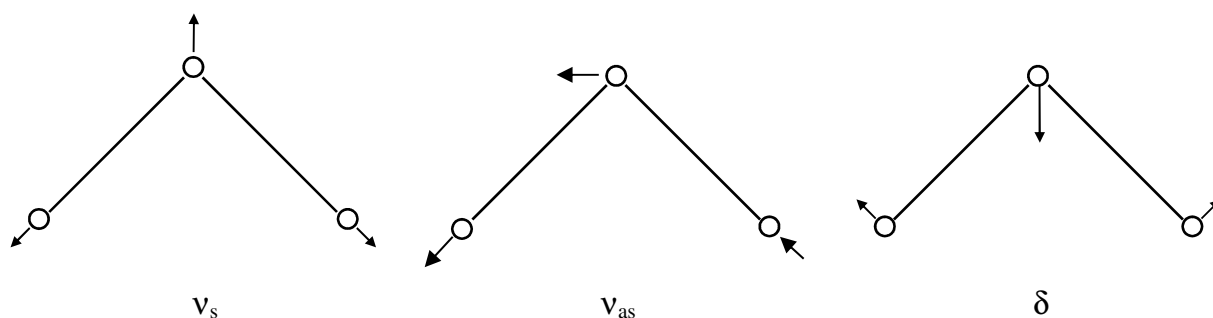
Независимо от възможностите, които предлага УВ спектроскопията във функционалния органичен анализ, нейното значение не трябва да се надценява. Ивиците на поглъщане са широки, ето защо при наличие на няколко функционални групи в молекулата с близки ивици на поглъщане настъпва припокриване, което води до загуба на информативност на спектъра. Този вид спектроскопия не е в състояние да даде подробна информация за строежа на органичните молекули, особено ако в тях няма спрегнати двойни връзки и ауксохромни групи. За да се установи точната структура дадено органично съединение, е необходимо да му се направят и други спектри - инфрачервен, както и спектри на ядрено-магнитния резонанс, които като цяло са по-информативни от УВ спектрите.

Инфрачервена спектроскопия

При поглъщане на инфрачервени (ИЧ) лъчи настъпват промени в енергията на трептения на молекулата ($E_{\text{тр}}$), както и в енергията на въртеливото ѝ движение ($E_{\text{в}}$). $E_{\text{в}}$ е много по-малка от $E_{\text{тр}}$ и промени в нея настъпват под въздействие на микровълново лъчение, което е с по-голяма дължина на вълната от инфрачервеното. Ето защо се приема, че инфрачервените спектри представляват спектри на трептене. Обикновено ИЧ спектрите на молекулите се регистрират в областта $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ (λ от 2,5 до 25 микрона). Областта от 12500 до 4000 cm^{-1} се нарича близка ИЧ област (граничи с видимата област от спектъра), а от 400 до 50 cm^{-1} – далечна ИЧ област. Под 50 cm^{-1} започва микровълновата област на електромагнитния спектър.

В молекулата атомите осъществяват трептенията по два начина: (а) по дължината на валентната връзка и се мени нейната дължина и (б) при трептението се мени ъгълът между две химични връзки. В първия случай става дума за валентни треп-

тения (ν), а във втория – за деформационни трептения (δ). Видовете трептения при триатомна молекула са посочени на Фиг. 1.



Фиг. 1. Трептения на триатомна молекула
 ν_s - валентни симетрични; ν_{as} - валентни асиметрични; δ - деформационни

За да се възбудят валентни трептения е необходима толкова по-голяма енергия, колкото е по-здрава химичната връзка. Валентното трептене на единична връзка между близки по размер и маса атоми има най-ниска честота на трептене (под 1500 cm^{-1}); двойната връзка трепти при по-висока честота ($1900\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$); най-висока е честотата на тройната връзка ($2300\text{-}1900\text{ cm}^{-1}$). Най-високи честоти на възбуждане на валентно трептене имат връзките между лек атом (водород) и по-тежък, електроотрицателен атом (O, N, C). При тези връзки честотата на възбуждане на трептението е в интервала $3000\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$. Ако в такава връзка водородният атом се замени с деутерий (D), съответната честота на трептене се намалява $\sqrt{2}$ пъти, съгласно уравнението $\nu_{\text{X-H}} = \sqrt{2} \cdot \nu_{\text{X-D}}$. Честотата на валентните асиметрични трептения ν_{as} е по-висока от честотата на валентните симетрични трептения ν_s . Деформационните трептения се проявяват в по-нискочестотната област на спектъра.

Всеки отделен атом има три степени на свобода, отговарящи на постъпателното му движение. Молекула от n атома има $3n$ степени на свобода. От тях 3 описват постъпателните движения на цялата молекула, 3 описват въртенето ѝ и $3n-6$ описват възможните трептения. При линейни молекули броят на възможните трептения е $3n-5$.

В ИЧ спектрите не винаги броят на наблюдаваните ивици е равен на броя на възможните трептения. Както в УВ областта, така и тук има някои забранени преходи и съответните ивици на поглъщане липсват. Например, ако при дадено трептене на връзка диполният момент не се променя, в ИЧ спектъра съответната ивица липсва. Трябва обаче да се има предвид, че могат да се появят допълнителни иви-

ци, отговарящи на поглъщане на определена връзка, които поглъщат при два пъти по-висока честота. Те се наричат *обертонове*. Явяват се и комбинационни честоти, които са сума или разлика на две основни честоти. При близки стойности на някои обертонове и основни честоти се получава т. нар. *резонанс на Ферми*, който се изразява в появата на нови, интензивни ивици. Поради това не бива да се търси строго съответствие между спектралните ивици и трептенията на молекулата. По-съществено е да се познават т. нар. *характеристични честоти*, които са определящи при тълкуване на инфрачервени спектри. Те се явяват в тясна област, малко се влияят от околното обкръжение и са доказателство за наличие на определени функционални групи в молекулите (вж. табл. 2).

Инфрачервени спектри могат да бъдат направени във всяко агрегатно състояние на веществата. Тъй като в газовете е силно застъпено свободното въртене на молекулите, при снемане на инфрачервени спектри в газове се получават сложни спектрални картини. Течните вещества е удобно да бъдат изследвани във вид на тънък слой (филм). Твърди кристални вещества могат да бъдат изследвани по различни начини: като суспензия в течен парафин (нуйол) или като се пресоват в таблетки от чист калиев бромид. Най-често обаче кристалните вещества се изследват в разтворено състояние. Добри разтворители за ИЧ спектри са тези, които имат малко собствено поглъщане в инфрачервената област, не взаимодействат химически с веществото и позволяват получаването на достатъчно концентрирани разтвори от 0,1 до 1 М. Подходящи разтворители са CCl_4 , CHCl_3 , CS_2 . Сяровъглеродът се използва сравнително рядко, тъй като е силно токсичен, огнеопасен и с неприятна миризма.

Кюветите за изследване на разтворите и призмите в апарата трябва да бъдат напълно прозрачни за инфрачервени лъчи. Те се изработват обикновено от NaCl , NaBr , LiF , KBr и се съхраняват в специални ексикатори. С тези кювети разбира се не може да се работи, когато се изследват водни разтвори. Кюветите са хигроскопични и най-малките следи от влага могат да ги повредят съществено. Затова вещество, което трябва да бъде изследвано с ИЧ спектроскопия, трябва да бъде много добре изсушено. Разтворителите също се подлагат на специално изсушаване и пречистване.

Главната област на приложение на ИЧ спектроскопията е в областта на качествения елементарен и функционален анализ, както и в структурния анализ. Тези спектри

се използват по-рядко за количествен анализ, поради ограничена валидност на закона на *Буге-Ламберт-Беер* за концентрирани разтвори.

При тълкуването на тези спектри е необходимо да се знаят характеристичните ивици на поглъщане на отделните функционални групи. За целта се използват таблици, в които е събран и систематизиран натрупаният досега фактически материал (табл. 2).

Тълкуването на спектрите започва обикновено от областта над 3000 cm^{-1} . В тази област са валентните трептения O-H и N-H. Те могат да се разграничат само ако в изследваното съединение липсват водородни връзки. Образуването на водородни връзки понижава честотата на тези групи поради намаляване на здравината на връзките O-H и N-H. Водородните връзки причиняват широки разляти ивици. Колкото е по-здрава образуваната водородна връзка, толкова повече се понижава честотата на поглъщане, като може да падне и под 3000 cm^{-1} . За да се прецени дали се получават междумолекулни или вътрешномолекулни водородни връзки, се прави серия от спектри с намаляващи концентрации, като се стигне до 10^{-3} мол/л. Ако разреждането не влияе на честотата на съответното трептене, връзката е вътрешномолекулна.

За да се уточни дали поглъщането над 3000 cm^{-1} е от amino- или хидроксилна група, се използват данни от елементния анализ, а също така се наблюдават ивиците на деформационните трептения на молекулата: δ_{NH} притежава по-висока честота ($1640\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$), а δ_{OH} – по-ниска ($1500\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$).

Поглъщанията в областта $3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$ са свързани с трептенията на връзките C-H. Метиленовата група (CH_2) има две характерни ивици: при 2925 и 2850 cm^{-1} . Деформационното ѝ трептене се явява около 1470 cm^{-1} . Направените в нуйол спектри имат силно собствено поглъщане на разтворителя точно в тези области. При хлороформа собственото му поглъщане е в областта $3000\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ и в тази зона не могат да се разграничат други ивици от веществото.

В интервала от 2800 до 1800 cm^{-1} поглъщат тройните връзки. В тази област поглъщат също и четвъртични амониеви соли (широко ивица от 2900 до 2400 cm^{-1}), а и някои азот-съдържащи хетероцикли (морфолин, пиперидин, пиролидин) имат ивици на поглъщане около 2700 cm^{-1} .

Двойните връзки поглъщат в областта $1800\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$. Силно интензивна ивица дава карбонилната група ($\text{C}=\text{O}$), докато азометиновата група ($\text{C}=\text{N}$) и двойна въгле-

род-въглеродна връзка (C=C) дават ивици с нисък интензитет. Бензинов пръстен дава три характерни ивици: 1600, 1500, 1450 cm^{-1} , като точното им положение може да бъде малко отместено в зависимост от заместителите в ядрото.

Областта под 1300 cm^{-1} се нарича "област на отпечатъка на палеца" или "област на дактилоскопическия отпечатък". В тази зона има характерни ивици за всяко съединение. Тук обикновено се припокриват много ивици и трудно могат да се интерпретират. Характерни ивици в тази област са C-O-C (етерна връзка), C-N, N-O и др. Тук попадат и характерни ивици за заместено ароматно ядро и представляват негова точна характеристика. Ако две съединения са идентични, те трябва да имат пълно съвпадение на ивиците в тази област. При тълкуване на ИЧ-спектъра трябва да се отчита и възможното влияние на разтворителя върху веществото – образуване на водородни връзки, допълнителна поляризация, формиране на комплексно съединение и др.

В много случаи ИЧ спектърът дава ценни данни за строежа на молекулата и в комбинация с данните от елементния анализ може еднозначно да потвърди определена структура. Възможностите на ИЧ спектроскопията обаче не трябва да се надценяват. Независимо, че е много по-информативна от УВ-спектроскопията по отношение на молекулния строеж, тя дава интересни, но често недостатъчни данни за строежа на веригата, за различни конформации и др. За разгадаването на точната структура на веществото е необходимо ИЧ спектроскопията да се съчетае задължително и със спектроскопията на ядреномагнитния резонанс (ЯМР).

Спектроскопия на ядреномагнитен резонанс (ЯМР)*

Явлението *ядрено-магнитен резонанс* се обуславя от магнитните свойства, каквито притежават повечето от атомните ядра.

Атомното ядро може да се разглежда като едно твърдо топче, изградено от протони и неутрони, които се държат обединени благодарение на ядрените сили. В зависимост от броя на протоните и неутроните ядрото притежава или не притежава магнитни свойства. Магнитните свойства на едно ядро определят неговото магнитно спиново число I. Възможни са 4 случая:

* *Англ. Nuclear Magnetic Resonance (NMR).*

1. Четен брой протони и четен брой неутрони. Такива ядра имат магнитно спиново число $I = 0$ и не притежават магнитни свойства. Примери: ^{12}C (6 протона и 6 неутрона), ^{16}O (8 протона и 8 неутрона), ^{28}Si (14 протона и 14 неутрона), ^{32}S (16 протона и 16 неутрона). Такива ядра не могат да се изследват чрез ЯМР спектроскопия.

ТАБЛИЦА 2:

Характеристични честоти в ИЧ-спектри на по-важните функционални групи

Функционална група	Вид на трептенията	Област на поглъщане, cm^{-1}
ОН в H_2O	$\nu_{\text{O-H}}$	3710
ОН свободна	$\nu_{\text{O-H}}$	3610-3640
ОН асоциирана	$\nu_{\text{O-H}}$	3600-3500
ОН полиасоциирана	$\nu_{\text{O-H}}$	3400-2500
$-\text{NH}_2$ и $=\text{NH}$ свободни в амини и амиди	$\nu_{\text{N-H}}$	3400-3300
CH_3 , CH_2 , CH	$\nu_{\text{C-H}}$	3100-2800
C-H в CHO	$\nu_{\text{C-H}}$	2850, 2750
-SH	$\nu_{\text{S-H}}$	2700-2500
$-\text{C}\equiv\text{C}-$	$\nu_{\text{C}\equiv\text{C}}$	2250-2100
$-\text{C}\equiv\text{N}$	$\nu_{\text{C}\equiv\text{N}}$	2250-2200
$-\text{C}=\text{O}$	$\nu_{\text{C}=\text{O}}$	1900-1650
$-\text{C}=\text{N}-$	$\nu_{\text{C}=\text{N}}$	1650-1600
$-\text{C}=\text{C}-$	$\nu_{\text{C}=\text{C}}$	1660-1600
$-\text{C}_6\text{H}_5$	$\nu_{\text{C}=\text{C}}$	1600,1500,1450
$-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$	$\nu_{\text{C}-\text{O}}$	1100-1250

2. Нечетен брой протони и нечетен брой неутрони. В този случай магнитното спиново число на ядрата е цяло число: 1,2,3... Такива ядра притежават магнитен момент, но притежават и така наречения квадруполен магнитен момент, поради

което изследването им чрез ЯМР-спектроскопия е затруднено. Примери: ^2H (D), ^{10}B , ^{14}N и т.н.

3. Нечетен брой протони и четен брой неутрони.

4. Четен брой протони и нечетен брой неутрони.

В последните два случая магнитното спиново число е полуцяло число: $1/2$, $3/2$, $5/2$ и т. н. Това са най-удобните за изследване ядра чрез ЯМР спектроскопия. Примери: ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P и т. н.

Когато попаднат във външно магнитно поле с интензитет H_0 , ядрата се разцепват на $2I+1$ енергетични нива. Енергетичната разлика между две нива е

$$\Delta E = 2\mu H_0,$$

където μ е т. нар. магнетон на Бор. Неговата стойност се изразява с уравнението:

$$\mu = \gamma I \frac{h}{2\pi}$$

В това уравнение γ е т. нар. *жиромагнитно отношение* на ядрото. То зависи от масата на ядрото и от броя на зарядите (протоните) в него. Това отношение е константа за всяко ядро. Величината h е Планковата константа. Ако приемем, че I е равно на $1/2$, тогава се получава уравнението

$$\Delta E = \gamma \frac{h}{2\pi} H_0$$

От уравнението на Планк е известно, че $\Delta E = h\nu$ и след като заместим и съкратим на h , се получава

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} H_0$$

Това е основното уравнение в ЯМР-спектроскопията. Неговият физически смисъл е следният: честотата на поглъщане на ядрата е право пропорционална на интензитета на приложеното външно магнитно поле.

Измерването на тази резонансна честота на поглъщане се извършва с уреди (апарати), наречени ЯМР-спектрометри. На фигурата по-долу (фиг. 2) е показано принципното устройство на един ЯМР-спектрометър.

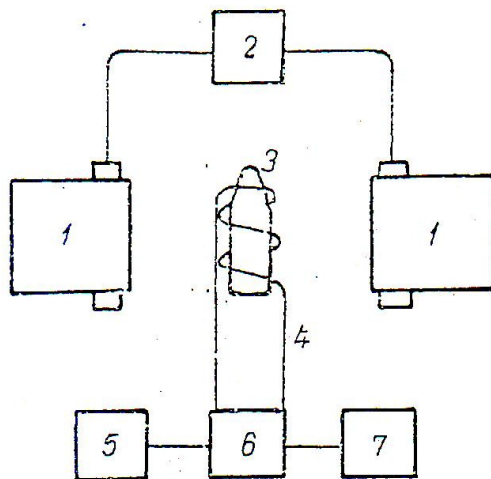


Схема на спектрометър за ЯМР

1) магнит, създаващ поле H_0 ; 2) модулатор, подаващ променливо магнитно поле; 3) кювета с изследваното вещество; 4) намотка, предаваща енергия с честота ν ; 5) генератор с честота ν ; 6) приемник (детектор); 7) регистриращо устройство

Фиг. 2

Принципът на действие на апарата е следният: с помощта на силен магнит (1) се създава силно постоянно магнитно поле. Между полюсите на магнитното поле се поставя намотка, по която се пуска да тече високочестотен ток (радиочестоти, от порядъка на десетки или стотици мегахерци). С помощта на модулатор (2) може да се променя силата на магнитното поле или пък честотата на напрежението, което се подава по намотката. Вътре в намотката (4) се поставя много тънка стъклена епруветка, наречена кювета (3), в която се поставя разтвор на веществото, на което ще се прави спектър. При промяна на силата на магнитното поле или пък на честотата на течащия по намотката ток в определен интервал в даден момент настъпва резонанс, който се изразява в поглъщане на електромагнитна енергия от пробата. Това поглъщане се регистрира от детектор (6), който формира сигнал. Детекторът изпраща формирания сигнал на регистриращо устройство (7), което изписва сигнала. При по-старите апарати това устройство беше аналогов плотер с писец (рапидограф), а при съвременните – лазерен принтер. По този начин се изписва целият спектър в определен честотен диапазон, характерен за поглъщането на определени ядра.

Най-важният атрибут на един ЯМР-спектрометър е неговият магнит. В зависимост от това, какъв е магнитът, различаваме три типа ЯМР-спектрометри.

Първият тип ЯМР-спектрометри е с постоянен магнит. При тях магнитното поле се осъществява от подковообразен магнит с гигантски размери и тегло до 1 тон. Между неговите полюси се поставя намотка, а в нея – кюветата с пробата, след което се работи по обичайния начин. Предимства на този тип спектрометри са: просто устройство, лесно обслужване, малък разход на енергия (постоянният магнит не консумира електроенергия). Имат само един недостатък, но за сметка на това много съществен: с постоянен магнит не може да се получи много силно магнитно поле. Ниският интензитет на магнитното поле обуславя ниска резонансна честота на поглъщане на ядрата, а както ще стане ясно по-нататък, колкото по-висока е резонансната честота на ядрата, толкова по-качествени спектри се получават. Ето защо този тип спектрометри са вече в процес на отхвърляне и сега се използват само за промишлени или учебни цели. С постоянен магнит се получават магнитни полета с интензитет до $1,4 \text{ T}^*$ (14 000 гауса), което отговаря на приблизително 60 MHz резонансна честота за протони.

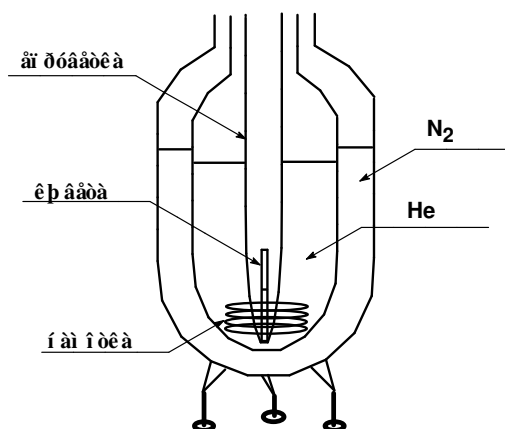
Вторият тип са ЯМР-спектрометри с постоянен електромагнит. При тях магнитното поле се осъществява от електромагнит, който има монтирани намотки на двата си полюса и по тях се пуска да тече силен постоянен ток. С такъв електромагнит се постигат магнитни полета с интензитет до 2,35 T (23 500 гауса), което отговаря приблизително на 100 мегахерца резонансна честота за протони. По-високият интензитет на полето обуславя получаването на по-качествени спектри. Недостатъци на този тип спектрометри са:

1. Голям разход на електроенергия. За да се постигне поле с интензитет 2,35 T, магнитът консумира мощност 8 000 W. Той трябва да е включен денонощно, защото веднъж настроено и стабилизирано, магнитното поле трябва да се поддържа в това състояние. Това прави припл. 200 киловатчаса разход електроенергия на денонощие.
2. Голям разход на студена вода. При тази огромна мощност магнитът силно се загарява и се налага непрекъснато да бъде охлаждан. Охлаждането се извършва със

* T – Тесла, мерна единица за сила на магнитното поле; [1 T = 10 000 G (гауса)]

студена вода от водопровода, като разходът е 10-15 литра в минута. Тези недостатъци са причина и тези спектрометри да са вече в процес на отхвърляне.

Третият тип спектрометри, развитието на които е особено бурно от началото на 80-те години на миналия век, са ЯМР-спектрометри със свръхпроводящ електромагнит. Принципната схема на магнита на един такъв спектрометър е показана на фиг. 3.



Фиг. 3

Външно магнитът на един такъв спектрометър изглежда като един варел, изработен от неръждаема стомана (снимка 1).



Сн. 1. Свръхпроводящ магнит на спектрометър с работна честота 900 МХц за протонен ЯМР

Магнитът е поставен в един двоен дюаров съд (термос). Във външния дюаров съд се налива течен азот с температура -190°C , а във вътрешния – течен хелий с

температура $-270\text{ }^{\circ}\text{C}$. В течния хелий се потапя намотка от специална сплав. Намотката се свързва с външен източник на ток – извършва се “енергетизация” на намотката. След това източникът на ток се отстранява, но токът в намотката продължава да тече и теоретично трябва да тече вечно, защото намотката е станала свръхпроводник при температурата на течния хелий. Тъй като вечни неща в природата не съществуват, приема се, че токът в намотката може да тече примерно 20 години, без да промени параметрите си. Вътре в намотката се потапя широка епруветка от немагнитен материал (самата епруветка също е дюаров съд) и в нея се спуска кюветата с пробата. Издигането и спускането на кюветата става с помощта на сгъстен въздух. С такива свръхпроводящи намотки се постигат изключително интензивни магнитни полета, каквито не могат да се постигнат с железни магнити. Те са в диапазон от 5 до 20 Т, което отговаря на стотици мегахерци резонансна честота на поглъщане на протони. Понастоящем се произвеждат спектрометри с работни честоти за протони 200, 300, 400, 500, 600, 750, 800 и 900 МХц, а от 2006 г. вече има и магнит за 950 МХц, а понастоящем се работи усилено за 1000 МХц магнит. При тези високи резонансни честоти се получават изключително качествени спектри, каквито не могат да се постигнат при спектрометри от I или II тип.

Недостатъците на тези спектрометри са:

1. Висока цена. Колкото МХц е резонансната протонна честота на спектрометъра, толкова е и приблизителната му цена в хиляди долари. С други думи, апарат на 200 МХц струва 200 000 \$, а на 900 МХц – 900 000 \$.

2. Необходимост от редовна доставка на течен азот и течен хелий. Това се налага, защото дюаровият съд не е съвършен и макар и много бавно, обменя топлина с външната среда. Ако не се доливат редовно течен азот и течен хелий, ще се стигне до положение, когато всички втечнени газове, намиращи се във вътрешността на магнита, ще се изпарят. След като се изпарят, температурата на намотката ще се повиши, в нея ще се появи съпротивление и тя ще престане да бъде свръхпроводник, т. е. токът, който тече по нея, ще изчезне. Това става експлозивно, намотката се стопява, а заедно с нея – и цялата електроника, която я поддържа. За да не се получава това, е необходимо да се долива течен азот – примерно веднъж на 3 седмици, а течен хелий – средно веднъж на 3 месеца.

Тези недостатъци са валидни за бедни държави. В момента в държавите от стария ЕС, САЩ, Канада, Япония тези недостатъци са отдавна преодолени и сега там се работи само с такъв тип спектрометри. В България такъв спектрометър на 250 МХц протонна честота беше монтиран през 1982 г. в ЕЦ по химия към БАН, а покъсно стана притежание на ИОХЦФ – БАН. В началото на 2007 г. в института беше доставен и втори спектрометър с работна честота 600 МХц, който вече към средата на 2007 г. работи и прави спектри. Необходимите втечнени газове се доставят от ИЯФ – БАН, където от 1992 г. работи инсталация за втечняване и на хелий.

Протонна ЯМР спектроскопия (ПМР, ^1H -ЯМР)

Най-важна за органичната химия е протонната спектроскопия, която изследва ядрата на водородните атоми. Доскоро 90% от всички спектри, правени в световен мащаб, бяха протонни спектри, съответно 8% бяха ^{13}C -въглеродни спектри и само 2% бяха спектри на други ядра. След 2000 г. съотношението започна да се променя главно в полза на ^{13}C , както и на други по-тежки ядра (хетероядрена ЯМР спектроскопия). Очаква се в бъдеще процентът на хетероядрената спектроскопия да се увеличава.

Нека си представим, че имаме постоянен магнит, създаващ магнитно поле с интензитет 1,4 Т. Нека между полюсите му да поставим кювета, съдържаща веществото тетраметилсилан [ТМС, $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$]. Опитът показва, че при този интензитет на магнитното поле протоните на ТМС имат резонансна честота на поглъщане точно 60 МХц или 60 000 000 Хц. Ако в същото магнитно поле поставим кювета с проба, съдържаща веществото етан (C_2H_6), неговите протони ще имат резонансна честота на поглъщане 60 МХц + 60 Хц, или 60 000 060 Хц. И накрая – ако в същото магнитно поле поставим проба, съдържаща веществото метилхлорид (CH_3Cl), неговите протони ще поглъщат при 60 МХц + 180 Хц, или 60 000 180 Хц. Изводът, който следва, е, че в различните химични съединения протоните имат различни резонансни честоти на поглъщане. Причината за това е, че около всеки протон има електронен облак, с който той влиза в състава на химичните съединения като водороден атом. Този електронен облак екранира външното магнитно поле (намалява ефекта му). В зависимост от химичното съединение електронният облак около водородния атом може да бъде по-плътен (неполярни съединения), или по-рехав (полярни съединения с частичен положителен заряд върху водородния атом). Когато електрон-

ната плътност около водородния атом е по-голяма, той оказва по-силно екраниращо действие за външното магнитно поле върху протона и обратно – когато е по-малка, екраниращото въздействие върху протона е по-слабо. При голямо екраниране честотата на поглъщане на протона намалява, а при слабо – се увеличава. С други думи основното уравнение на ЯМР-спектроскопията трябва да се промени така:

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} H_0 (1 - \sigma)$$

където σ е т. нар. константа на екраниране. Тя показва до каква степен електронният облак около протона го екранира от външното магнитно поле.

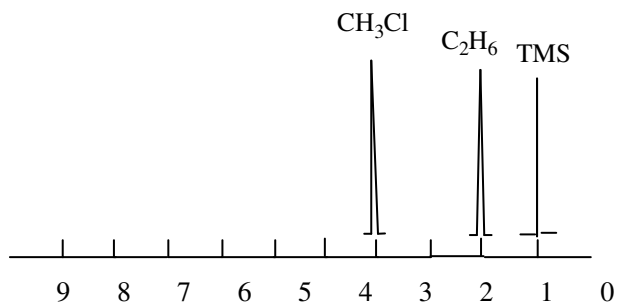
Не е възможно да се измери резонансната честота на поглъщане на гол протон, защото протонът влиза в химичните съединения като водороден атом, около който винаги има някаква електронна плътност. Ето защо в протонната, пък и в ЯМР спектроскопията на други ядра, се постъпва по следния начин: измерва се резонансната честота на поглъщане на протоните в определено химично съединение, която се приема за стандартна, и поглъщанията на протоните или другите съответни ядра се сравняват спрямо тази стандартна резонансна честота. В протонната спектроскопия за такава стандартна честота се приема честотата на поглъщане на протоните на съединението тетраметилсилан (ТМС) с формула $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$. Той е избран неслучайно. На първо място той е химически инертен и не реагира почти с нищо; второ, той е леснолетливо съединение (т.к. 27°C) и при нужда лесно може да се отстрани от изследваната проба. Всички негови протони са еднакви (еквивалентни) помежду си, ето защо в спектрите той дава единичен, добре изразен остър сигнал (фиг. 4):



Фиг. 4

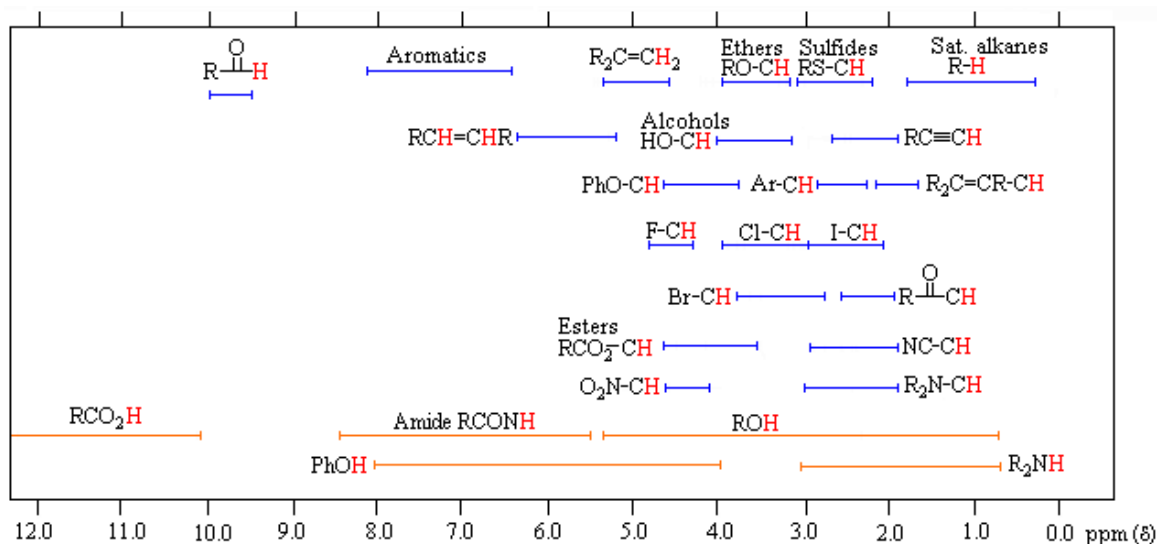
Въвежда се понятието “химическо отместване”. То показва на колко херца протоните на дадена функционална група са отместени от протоните на ТМС. Казва се, че протоните на етана са отместени на 60 Хц, а протоните на метилхлорида – на 180 Хц от протоните на ТМС. Така, но 60 Хц, сравнени с 60 МХц (работната честота на спектрометъра) са точно 1 милионна част (м. ч., на английски ppm – *part per million*); 180 Хц, сравнени с 60 МХц, са 3 милионни части. Въвежда се т. нар. δ -ска-

ла, която показва на колко милионни части протоните в определено съединение са отместени спрямо протоните на ТМС. Тяхното отместване се приема за равно на нула. δ -Скалата започва от нула и достига стойности за протони 10-12 м.ч., рядко до 15 м.ч. и в изключителни случаи до 20 м.ч. На фиг. 5 е показана δ -скалата за протони, както и сигналите на етан и метилхлорид спрямо сигнала на ТМС.



Фиг. 5

В таблица 3 са показани типичните стойности на химичните отмествания на протони от различни функционални групи. Много полезен общ поглед върху химичните отмествания дава диаграмата на Фиг. 6 и тя удобно може да се ползва за интерпретиране на спектри и за справки.




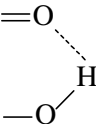
Фиг. 6

Химическите отмествания имат добра повторемост и това позволява да се използват таблични данни при тълкуването (интерпретацията) на ЯМР-спектрите. При някои типове съединения, главно ароматни, се наблюдава т. нар. *магнитна анизотропия*. При бензена шестте π -електрона са под и над равнината на пръстена.

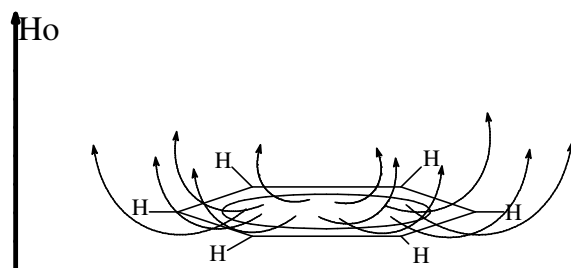
Когато попаднат в магнитно поле, те се завъртат в кръг, при което се генерира вторично магнитно поле, влияещо на ядрата, разположени в равнината на пръстена.

ТАБЛИЦА 3

Химични отмествания на някои типове протони

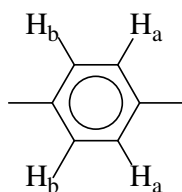
Функционална група (или вид съединение)	Хим. отместване (в м. ч. по δ -скала)	Функционална група (или вид съединение)	Хим. отместване (в м. ч. по δ -скала)
	0,2 – 0,4	Фенолна Ar-OH	4,5 – 6,5
CH_3-C (with three bonds extending from the C atom)	0,8 – 1,0	Енолна [-C=C-OH]	15 – 17
CH_2 (with two bonds extending from the C atom)	1,1 – 1,3		6,5 – 13
CH_2 (with two bonds extending from the C atom)	1,2 – 1,6	Алифатна [$\rightarrow\text{C-NH-}$]	1,0 – 4,0
$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	2,0 – 3,2	Ароматна [$\rightarrow\text{C-NH-}$]	3,9 – 5,6
Олефинови [=C-H]	4,6 – 7,0	Амидна [RNH-COR]	5,0 – 8,5
Ароматни [Ar-H]	6,5 – 8,8	Алифатна [$\rightarrow\text{C-SH}$]	1,5 – 2,5
Алдехидни [-CHO]	9,5 – 10,5	-CO-CH ₃	2,0 – 2,4
Ar-CH ₃	2,0 – 2,5	-CO-CH ₂ -	2,5 – 3,0
-O-CH ₃	3,3 – 3,9	-CO-CH ₂ -CO-	3,3 – 3,7
-CH ₂ -Cl	3,3 – 3,7	-O-CH ₂ -	4,0 – 4,4
Алкохолна $-\text{C}-\text{OH}$ (with three bonds extending from the C atom)	0,5 – 4,6	-COOCH ₃	3,6 – 4,0
-COOH	9,7 – 11,7	Концентрирани минерални к-ни	11,4 – 13,0

Това води до увеличаване на резонансната честота на протоните на бензена, съответно до увеличаване на тяхното химическо отместване, което е около 7 м.ч. (7.17 за бензена) (фиг. 7).



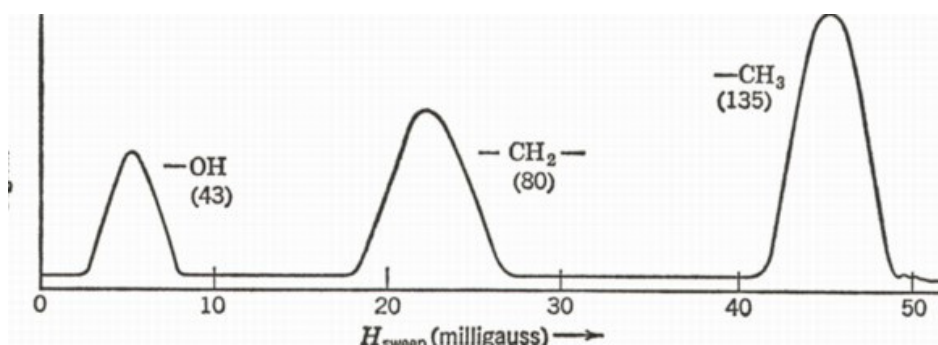
Фиг. 7

Еквивалентните протони имат винаги еднакво химическо отместване. Пример: метилова група (CH_3). Нейните протони са винаги еквивалентни, защото тя се върти свободно в пространството и всеки протон може да заеме мястото на другия. Метиленовата група (CH_2) също притежава еквивалентни протони, с изключение на случаите, когато веществото е оптично активно (хирална молекула). При *p*-дизаместено бензеново ядро например протоните два по два са еквивалентни:



Поради това, че около двете връзки в *p*-положение е възможно свободно въртене, протоните H_a и H_b са два по два еквивалентни.

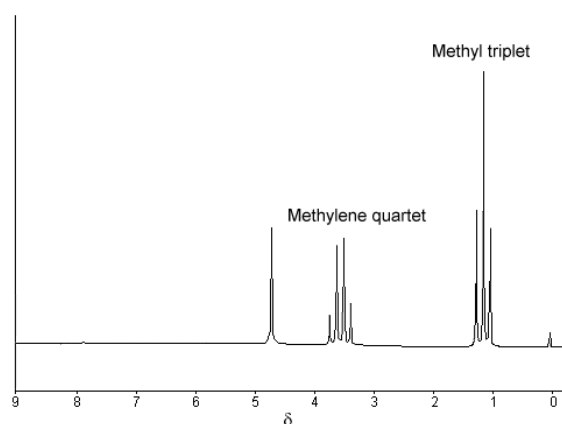
При етиловия алкохол ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), имаме три еквивалентни метилови протона, два еквивалентни метиленови и един хидроксилен протон с различни химически отмествания. Спектърът му изглежда по следния начин (фиг. 8):



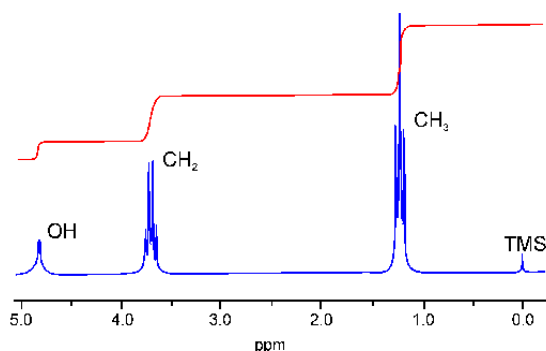
Фиг. 8

Така се изглеждали спектрите, направени на първите ЯМР-спектрометри от средата на миналия век (1950-1955 г.).

ЯМР-спектроскопията започва да се развива като наука след 1945 г., когато се появява публикация на двамата американски физици *Пърсел* и *Блох*. Те използват както резултати от техни опити, така и резултати, получени по-рано (1943 г.) от проф. *Айсидор Раби*, който първи съобщава, че ядрата на някои атоми, поставени в магнитно поле, поглъщат радиочестотна енергия. Първите ЯМР-спектрометри са построени след 1950 г. и отначало спектрите са имали сигнали, които са били широки и заоблени. Такива спектри са се изработвали (снимали) до началото на 60-те години, когато на някой от изследователите му хрумнала простата, но гениална идея да се завърти кюветата с пробата. При това въртене се извършва пълно осредняване на магнитното поле за пробата в трите посоки на пространството (x, y, z) и спектрите придобиват съвсем друг вид. Понастоящем всички спектри се изработват с въртяща се кювета, като въртенето се осъществява със сгъстен въздух и е около 50-70 об./сек. Спектрите на етанол с въртеливо движение на кюветата са показани на фиг. 9 и фиг. 10.



Фиг. 9

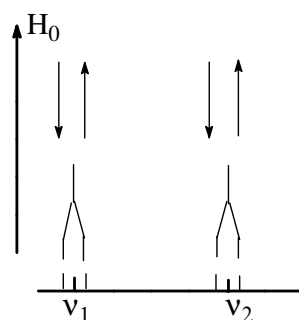


Фиг. 10

На фиг.10 е показан спектърът с т. нар. *интегрална крива*, която се чертае от интегратор. Кривата показва колко еквивалентни протона има във всеки сигнал, като интеграторът чертае интегрални стъпала. При етанола височините на стъпалата се отнасят като 1:2:3, т.е. това са съответно стъпалата за хидроксилната, метиленовата и метиловата групи.

От двата спектъра е видно, че сигналите за отделните протони са разцепени на ивици, наречени мултиплети. Разцепването на сигналите се дължи на т. нар. спин-спиново взаимодействие между протоните. То може да се обясни по следния начин.

Нека в едно външно магнитно поле с интензитет H_0 поставим два протона, достатъчно близо един до друг, така че да могат да си взаимодействат. Нека единият протон да има резонансна честота на поглъщане ν_1 , а другият – ν_2 . Протонът притежава собствен магнитен момент и може да се разглежда като малко магнитче. Възможни са две ориентации на магнитния момент на протона: насоченост по протежение на външното магнитно поле и обратно на външното магнитно поле (фиг. 10).



Фиг. 10

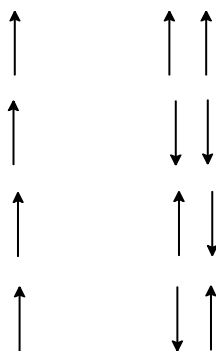
Когато магнитният момент на протона е по посока на външното поле, той е в нискоенергетично състояние, а когато е насочен обратно на външното поле – той е във високоенергетично състояние. При резонанс протонът поглъща енергия и преминава от ниско във високоенергетично състояние.

Ако първият протон с резонансна честота на поглъщане ν_1 се намира в нискоенергетично състояние (ориентация по протежение на външното поле), той със своето магнитно поле малко ще увеличи действащото върху втория протон поле и резонансната честота на поглъщане на втория протон малко ще се увеличи, а ако първият протон със своя магнитен момент е ориентиран обратно на посоката на външното поле (високоенергетично състояние), той със своето магнитно поле малко ще

намали (екранира) действащото върху втория протон магнитно поле и резонансната честота на втория протон малко ще се намали (фиг. 10). Това, което е валидно за втория протон, е валидно и за първия. И неговата резонансна честота на поглъщане или малко ще се увеличи, или малко ще се намали в зависимост от ориентацията на магнитния момент на втория протон. В резултат сигналите и на двата протона се разцепват на по 2 ивици (дублети), с съотношение на интензитетите на сигналите 1:1. Защо съотношението е равно? Защото вероятността протонът да е в ниско- или високо енергетично състояние е еднаква. Всъщност тя не е съвсем еднаква, защото, ако населеностите на двете нива са абсолютно изравнени, няма да се наблюдава резонанс. При стайна температура в ниско енергетичното състояние се намират 50,001% от протоните, а във високоенергетичното – 49,999%. Именно тази нищожна разлика е достатъчна, за да се наблюдава резонансът. Макроскопски погледнато обаче, населеностите на двете нива са еднакви, оттам и компонентите на дублетите са с еднакъв интензитет.

Еквивалентни помежду им протони не се разцепват помежду си.

Ако един протон си взаимодейства спин-спиново с два еквивалентни помежду им и нееквивалентни нему протони, са възможни четири случая (фиг. 11):

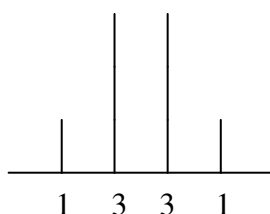


Фиг. 11

В първия случай резонансната честота на първия протон ще се увеличи два пъти повече в сравнение със случая, когато той взаимодейства само с един протон. Във втория – ще се намали два пъти. В третия и четвъртия случай нито ще се увеличи, нито ще се намали, защото магнитните полета, създавани от двата протона, взаимно се унищожават. В резултат сигналът на първия протон ще се разцепи на три ивици (триплет), със съотношение 1:2:1 на компонентите:



Може да се покаже, сега тук няма да го правим, но може да се покаже, че когато един протон си взаимодейства спин-спиново с три еквивалентни помежду си и не-еквивалентни нему протони, сигналът му ще се разцепи на 4 ивици (квартет) със съотношение на интензитетите 1:3:3:1 :



Броят на компонентите в мултиплета е равен на $n+1$, където n е броят на еквивалентните протони, с които си взаимодейства даден протон. Съотношението на интензитетите на компонентите се определя от коефициентите на развитие на Нютония бином $(a+1)^n = a^n + C_n^1 a^{n-1} + C_n^2 a^{n-2} + \dots + C_n^{n-1} a + 1$, където

$$C_n^k = \frac{n(n-1)\dots(n-k+1)}{k!}$$

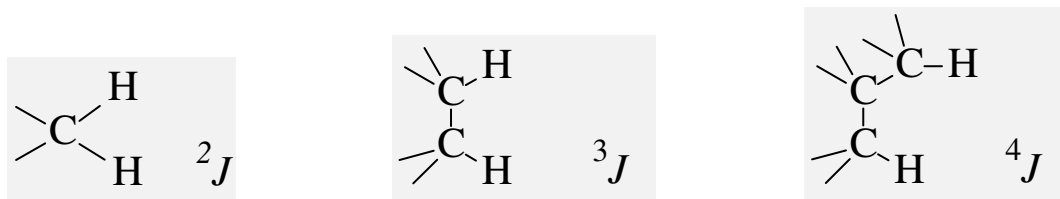
Компонентите се определят лесно по т. нар. *триъгълник на Паскал*. При него външните членове са единици, а всеки вътрешен е равен на сумата от двата горни над него:

$$\begin{array}{ccccccc}
 & & & & 1 & & & & \\
 & & & & & 1 & & 1 & \\
 & & & & & & 1 & 2 & 1 \\
 & & & & & & & 1 & 3 & 3 & 1 \\
 & & & & & & & & 1 & 4 & 6 & 4 & 1 \\
 & & & & & & & & & 1 & 5 & 10 & 10 & 5 & 1
 \end{array}$$

и т. н.

Разстоянията между компонентите на мултиплетите са еднакви, те са константа. Тя се нарича константа на спин-спиново взаимодействие и винаги се измерва в херци (Хц). Прието е тази константа да се бележи с J . Спин-спиновото взаимодействие

се предава през σ -връзките в молекулата. В зависимост от това, през колко σ -връзки са раздалечени протоните, различаваме няколко типа J -константи:

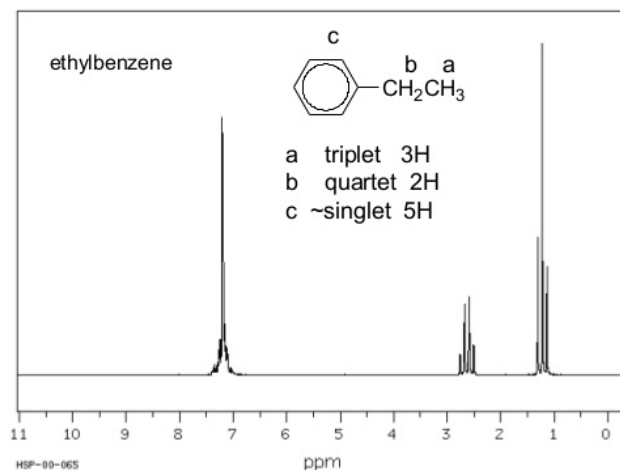


2J се нарича геминална J -константа (от лат. “гемини” – близнаци); 3J се нарича вицинална J -константа (от лат. “вицини” – съседни); 4J , 5J са далечни J -константи. Стойностите на геминалните J -константи са 15-30 Хц, на вициналните J -константи 5-15 Хц и на далечните 0-2 Хц, като обикновено клонят към нула. Важен извод: сигналите на протони, които са отдалечени на повече от 3 σ -връзки, практически не се цепят помежду си. Това разбира се до голяма степен опростява протонните спектри.

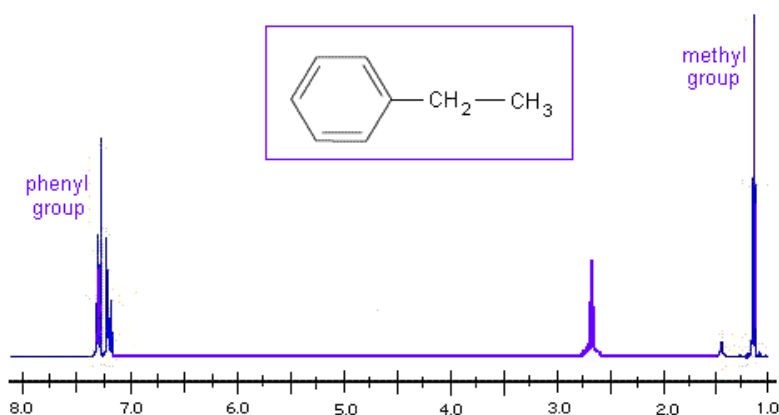
При етанола картината е следната: трите еквивалентни протона от метиловата група се разцепват спин-спиново от двата нееквивалентни тям протони на метиленовата група на триплет. Двата еквивалентни протона от метиленовата група се разцепват спин-спиново от трите нееквивалентни тям протони на метиловата група в квартет. Хидроксилната група обикновено не се разцепва, защото хидроксилните (както и аминните) протони участват в протоннообмен, което означава, че те образуват водородни връзки и сигналите им са уширени и често дори не се виждат в спектрите.

Константата J зависи единствено от разположението на протоните помежду им и не зависи от интензитета на приложеното външно поле. Това означава, че с увеличаване на интензитета на полето сигналите на функционалните групи се раздалечават помежду си и не се наслагват дори при малки разлики в химичното отместване. Ето защо борбата е да се правят спектрометри с високи работни честоти, съответно със силни магнитни полета. На фиг. 12 и 13 са показани спектрите на етилбензен съответно при 60 МХц и 400 МХц.

Вижда се, че при 400 МХц спектърът е много по-прегледен, защото стойността на една милионна част е 400 Хц, докато при 60 МХц тя е 60Хц. И в двата спектъра обаче J -константата си остава 7 херца.



Фиг. 12 (60 MHz)



Фиг. 13 (400 MHz)

¹³C–ЯМР спектроскопия

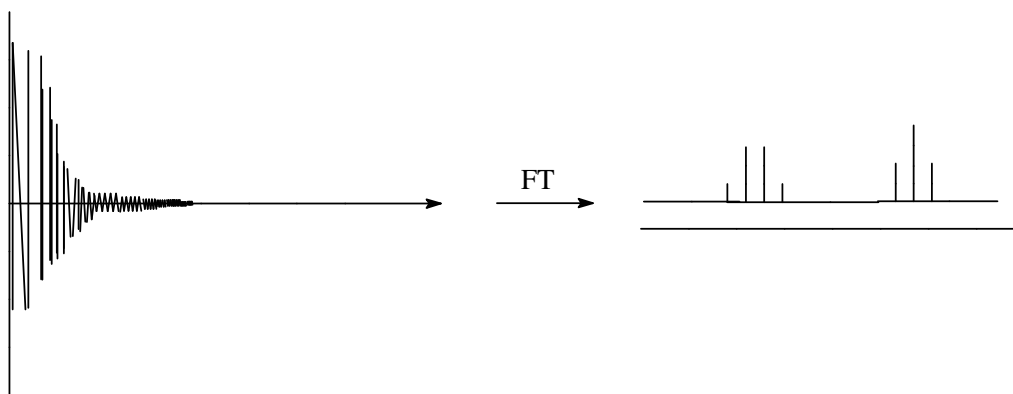
Изотопът ¹³C (въглерод-13) е едва 1% от естествения въглерод. Останалите почти 99 % обаче са въглерод-12, който е немагнитен и не може да се изследва. Това е един сериозен проблем пред спектроскопията на въглерод-13.

Друг неприятен проблем, който се явява пред тази спектроскопия, е, че сигналът на въглерод-13 е 64 пъти по-слаб от протонния. Това се обуславя от физична закономерност, според която интензитетът на сигнала на дадено ядро е пропорционален на третата степен от жиромагнитното отношение на ядрото. Въглерод-13 има 4 пъти по-малко жиромагнитно отношение от протона, оттам – и 4 пъти по-ниска резонансна честота. Ако например протоните поглъщат при 100 МХц при 2,35 Т интензитет на полето, въглерод-13 ще поглъща при 25 МХц. Интензитетът на въглеродния сигнал обаче ще бъде $(1/4)^3 = 1/64$ от този на протона. Той реално обаче е

още 100 пъти по-нисък, защото съдържанието му, както бе споменато по-горе, е около 1%. Ето защо въглеродният сигнал е около 6 000 пъти по-слаб от този на протона. При толкова слаб сигнал е практически невъзможно да се направи спектър на въглерод-13 при класически условия. До началото на 70-те години на миналия век това е било неразрешим проблем.

След 1970 г. започва бурно развитие на спектроскопията на въглерод-13. Причината е, че с напредването на изчислителната техника се въвеждат на въоръжение нов вид спектрометри, т. нар. импулсни ЯМР-спектрометри с *Фурие*-преобразование (англ. Fourier Transform - NMR). Тези апарати са задължително снабдени с компютър, който следи за изработването на спектъра. При този вид ЯМР техника се работи по следния начин:

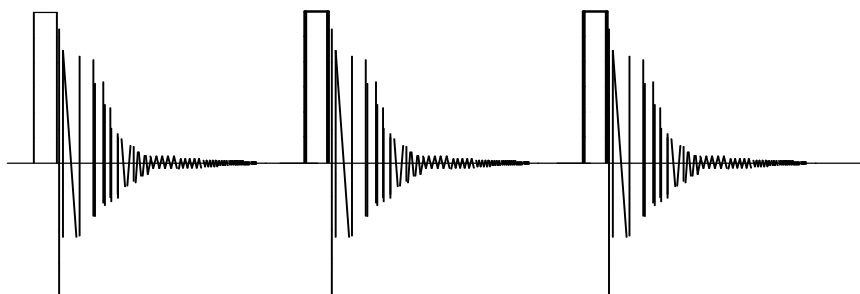
Пробата се облъчва с правоъгълен импулс, който трае микросекунди и който съдържа всички възможни честоти на поглъщане на ядрата. Например при протонна честота 100 МХц – протоните се облъчват с импулс, който съдържа честоти от 100 000 МХц до 100 МХц + 1500 Хц, т. е. от 0 до 15 м.ч. След това следва вторично излъчване на електромагнитно лъчение от пробата – т. нар. спад на свободната индукция (ССИ) (англ. FID – Free Induction Decay). Този спад затихва експоненциално с времето. Той се приема от приемник, като периодът на приемане е от порядъка на 5-15 секунди. Приемникът изпраща получения сигнал на компютъра. Последният прави Фурие-преобразование (ФП, англ. FT) на този затихващ с времето сигнал, при което се получава спектърът в обичайния му вид (фиг. 14).



Фиг. 14

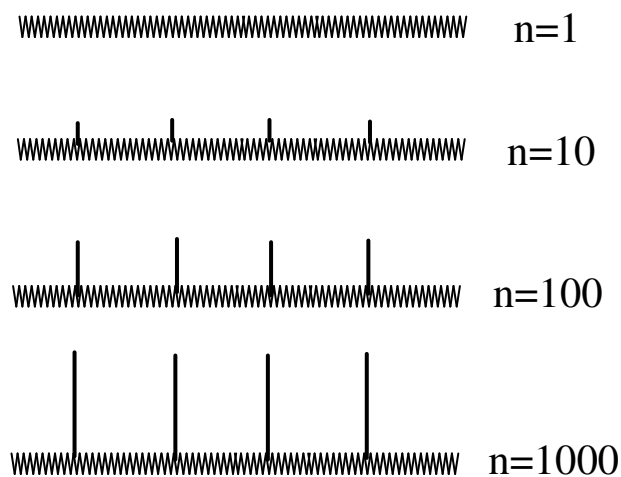
Компютърът обаче не прави само това. Той запомня получения спектър в РАМ паметта си, след което целият цикъл се повтаря: излъчвателят отново облъчва пробата с правоъгълен импулс, отново има ССИ, отново приемане и ФП, след което

компютърът запомня и втория спектър и го наслажда върху първия. Следва трети импулс, трети ССИ, трето ФП и т. н. (фиг. 15).



Фиг. 15

Целият този цикъл – правоъгълен импулс, приемане, ФП, запомняне – се нарича “сканиране”. Компютърът определя колко да бъдат сканиранията, колко микросекунди да бъде импулса, колко секунди да се приема ССИ, през колко секунди да бъдат импулсите, каква да бъде силата на импулса. Всичко това се задава от оператора чрез подходящ софтуер. Компютърът запомня и наслажда един върху друг получените от отделните сканирания спектри и показва резултантния спектър на екрана. Колкото повече сканирания се направят, толкова резултантния спектър ще бъде по четлив и разбираем. Това се вижда на фиг. 16, където n е броят на сканиранията.



Фиг. 16

Вижда се, че с увеличаване на броя на сканиранията се подобрява отношението сигнал-шум. Тъй като шумът има случаен характер, той не расте, докато сигналът, макар и много бавно, расте. Отношението сигнал-шум (*англ.* Signal to noise ratio) е пропорционално на \sqrt{n} . По този начин се получават въглерод-13 спектри, при които

сигналите са видими и могат да се изпишат. Тук възникват два проблема. Първият е, че едно сканиране трае 5-10 секунди. Ако трябва да се изпише резултантния спектър след 1000 сканирания, това прави около 10 000 секунди или около 3 часа. Това значи, че спектрометърът трябва да работи 3 часа, за да се направи само един спектър. За да се направи това време по-приемливо, трябва пробите, на които ще се прави ^{13}C спектър, да бъдат в по-голямо количество, отколкото пробите за протонен спектър (минимум 50 мг проба срещу достатъчни 10 мг за протонен спектър). Другият проблем, който се появява, е спин-спиновото взаимодействие $^{13}\text{C}-^1\text{H}$. Различаваме няколко типа J -константи:

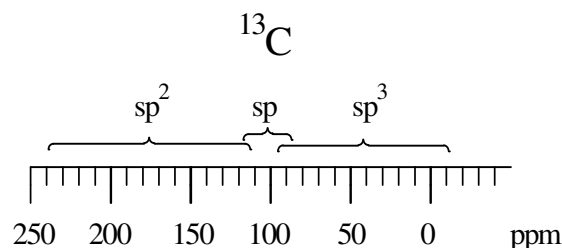
Пряка $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ (стойности 120-250 Хц);

Геминална $^{13}\text{C}-\text{C}-^1\text{H}$ (стойности 15-30 Хц);

Вицинална $^{13}\text{C}-\text{C}-\text{C}-^1\text{H}$ (стойности 5-15 Хц).

Поради това сигналите от въглеродните атоми се разцепват силно от свързаните с тях протони и спектърът става силно усложнен. Ето защо за опростяване на спектъра се прилага техника на пълно потискане на спин-спиновото взаимодействие с протоните (англ. ВВ – broadband decoupling). При нея протоните се облъчват непрекъснато с тяхната резонансна честота, която е 4 пъти по-висока от въглеродната. При това облъчване те са принудени да извършват непрекъснати преходи между двете си енергетични състояния, тяхното въздействие върху въглеродните ядра се усреднява и те повече не могат да ги разцепват. Резултантният въглероден спектър съдържа само единични сигнали (синглети) и за природата на въглеродните атоми може да се съди само по техните химични отмествания.

Химичните отмествания при въглерод-13 заемат широк диапазон по δ -скалата и са в интервал от 250 м.ч. За стандарт (нула) се взема отново ТМС, но неговите въглеродни атоми, а не протоните. Химическите отмествания при ^{13}C зависят от хибридизацията на въглеродния атом (фиг. 17):

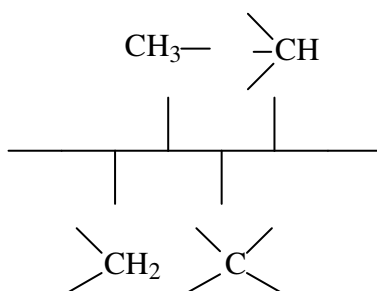


Фиг. 17

Алифатните въглеродни атоми (в sp^3 -хибридно състояние) поглъщат от -10 до около 100 м.ч., тези от ацетиленов тип (sp) – от 90 до 110 м.ч., а олефиновите (sp^2) – в диапазона $110 - 230$ м.ч. Бензенът например поглъща при 128 м.ч. Над $150-155$ м.ч. поглъща почти единствено карбонилната група. Ако над 160 м.ч. има сигнал, той почти сигурно е на карбонилна група.

Спектрите с пълно потискане на спин-спиновото взаимодействие с протоните излизат като синглети. Обаче може да се направи и спектър с непълно потискане на това взаимодействие (англ. off-resonance), при което CH_3 групата излиза като кватертет, CH_2 – триплет, CH – дублет, а четвъртичният въглероден атом излиза като синглет. По този начин се вижда всеки въглероден атом с колко водородни е съединен.

Съвременните спектрометри, използващи ФП ЯМР (FT NMR) импулсната техника, могат да прилагат различни спектрални техники, включващи поредици от импулси, различни времена между отделните импулси, както и различна продължителност на импулсите (в микросекунди). Спектрите, които се получават при тези спектрални техники, граничат с фантастиката и могат да се използват за разгадаване и на най-финия строеж на сложни органични молекули. Възможно е например получаването на спектри, при които четвъртичните и вторичните въглеродни атоми имат сигнали, насочени надолу, а първичните и третичните – насочени нагоре. Това е т. нар. DEPT-спектър:



От 90-те години на миналия век все по-голяма популярност придобиват т. нар. двумерни ЯМР-спектри. При класическите ЯМР-спектри, които са едномерни, на абсцисата се изписва честотата на поглъщането (химическото отместване), а на ординатата – самото поглъщане на ядрата (интензитетът му). При двумерните ЯМР спектри както на абсцисата, така и на ординатата се изписват честоти. Възможно е тези честоти да са протонни и тогава в спектъра се появяват области на спин-спиновото взаимодействие (т. нар. COSY-спектри), така и на абсцисата да е протонен спектър, а на ординатата – въглерод- ^{13}C (т. нар. HETCOR-спектри). Това дава наис-

тина фантастични възможности на изследователите. С помощта на такива спектри могат да се изследват третични и четвъртични структури на белтъците, дори и структурата на някои вируси (напр. на СПИН).

В заключение: спектроскопията на ЯМР е мощен метод за структурен анализ на органични съединения, който се развива много бързо и безспорно му предстои голямо бъдеще.

*Р. Буюклиев, Д. Сиджакова (автори) © 2016**
И. Иванов (редактор) © 4.11.2016

* Този раздел бе частично допълнен и редактиран спрямо първоначалния вариант по отношение на формата (layout); бяха коригирани някои печатни, правописни и езикови грешки – *И. Иванов, октомври 2016 г.*