



**ОМСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ
АКАДЕМИЯ
КАФЕДРА ХИМИИ**

ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

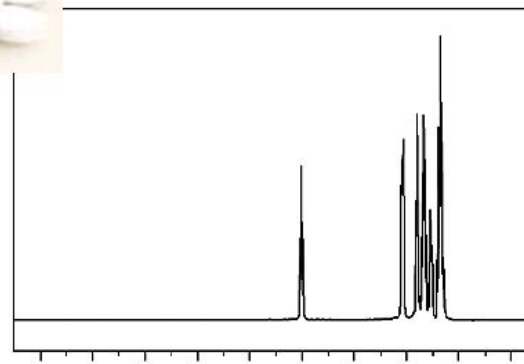
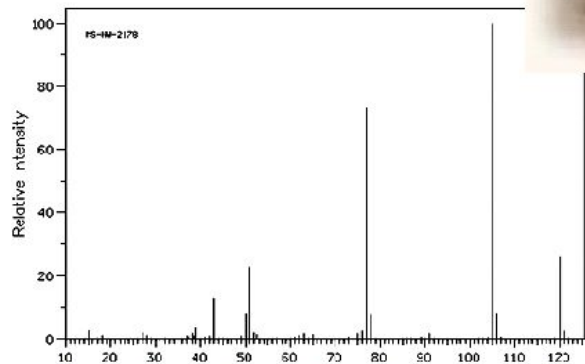
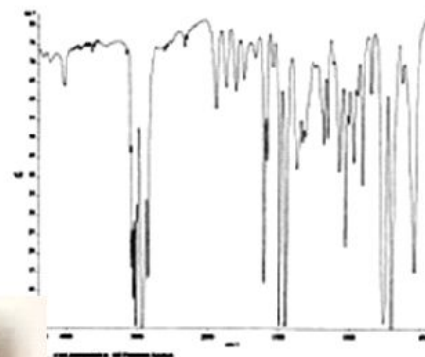
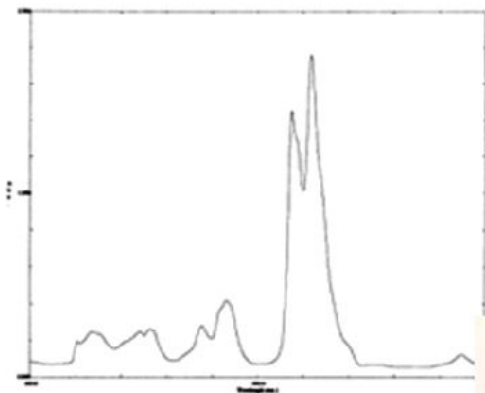
Лекция

Спектральные методы анализа

- 1. Физические методы анализа в химии. Классификация физических методов.**
- 2. Спектральные методы анализа. Классификация спектральных методов.**
- 3. Электронная абсорбционная спектроскопия. УФ-спектроскопия.**
- 4. Молекулярная колебательная спектроскопия. ИК-спектроскопия.**
- 5. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР).**

**Лектор: кандидат биологических наук, старший преподаватель
*Постнова Татьяна Вячеславовна***

Спектральные методы исследования биологически активных веществ



Химическая наука опирается сегодня на ряд физических методов исследования. В их числе магниторезонансные методы, рентгеноструктурный анализ, электронография, нейтронография, спектроскопические методы в широком диапазоне длин волн электромагнитного излучения и др. Большое значение в химии имеют также ионизационные методы, в частности, масс-спектрометрия. К новейшим методам можно отнести лазерную фемтосекундную спектроскопию и некоторые другие.

■ Многие из химических свойств прямо или косвенно связаны с физическими свойствами. Эти свойства важны сами по себе как характеристики вещества. Так, например, известно существенное различие механических свойств алмаза и графита, что обусловлено различием их атомной (кристаллической) структуры. Для химии, однако, важна возможность выявления химических свойств веществ посредством исследования их физических характеристик, что собственно и позволяет применять в химических исследованиях физические приборы. Особое значение физические методы имеют для определения состава веществ, то есть для аналитических целей. Это особый раздел применения физических методов в химии.

■ **Под физическими методами понимают обычно ряд современных инструментальных методов, которые разработаны физиками и используются в химии. Наиболее характерные признаки физического метода состоят в том, что в его основе лежит взаимодействие падающего излучения, потока частиц или какого-либо поля с веществом и измерение результата этого взаимодействия. Такие взаимодействия имеют место, например, при падении рентгеновских лучей на кристалл или прохождении электромагнитной волны через вещество. О наличии взаимодействия и его интенсивности можно судить, исследуя прошедшее, отраженное или рассеянное веществом излучение. Такая последовательность наблюдений характерна для прямой задачи физического метода.**

- **Химика, однако, чаще интересует обратная задача, когда по результату взаимодействия (т.е. по прошедшему через вещество излучению) нужно обнаружить и исследовать некоторое свойство вещества. Это две разные задачи и далеко не всегда решение прямой задачи обеспечивает и решение обратной. При этом, определяемое физическое свойство может иметь различную природу. Это могут быть межатомные расстояния или координаты атомов, наборы частот колебаний атомов в молекуле и т.д.**
- **Химики используют в основном те физические характеристики, которые необходимы для установления химических свойств. В этом состоит задача химика. Любое вновь синтезируемое вещество должно быть изучено и охарактеризовано всеми возможными и необходимыми методами. В**

- В силу особенностей взаимодействий полей с веществом нет и, наверное, не может быть, единого метода, который позволял бы определять все или достаточно большое число физических величин исследуемого образца. По этой, собственно, причине число физических методов достаточно велико и продолжает расти.

Классификация физических методов не может быть абсолютной, поскольку не всегда удается выделить специфические свойства, определяемые данным методом. Но в целом можно выбрать наиболее важные характеристики отдельных методов исследования и на этой основе разделить их на группы.

1. Спектроскопические методы

Эту группу составляют оптические и магниторезонансные методы. В большинстве оптических методов измеряют зависимость интенсивности излучения (I), прошедшего через вещество или рассеянного веществом, от длины волны или частоты падающего излучения (λ, ν), то есть исследуют функцию $I(\lambda, \nu)$. График этой функции и представляет собой соответствующий спектр (см. рис.1).

Классификация физических методов исследования

- *Рис. 1 Электронный (А) и колебательный (Б) спектры поглощения*

■ 2. Дифракционные методы

- В дифракционных методах используются волновые свойства вещественных частиц (электронов, нейтронов и др.).
- В дифракционных методах измеряют зависимость интенсивности рассеянного излучения от угла рассеяния. При этом анализируются лучи, длина волны которых после рассеяния не изменяется, т.е. имеет место так называемое упругое рассеяние.

Классификация физических методов

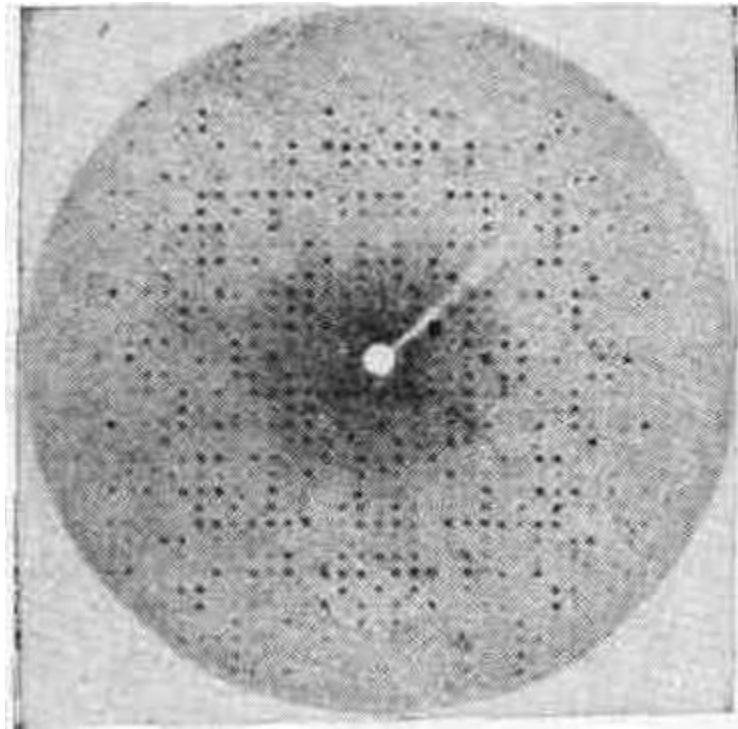


Рис.2 Рентгенограмма от кристалла миоглобина кашалота

3. Ионизационные методы.

Эта группа методов отличается от предыдущих тем, что в результате взаимодействия какого-либо падающего излучения или потока частиц с веществом, молекулы последнего ионизируются и из них формируется новый поток частиц, который направляется на анализ.

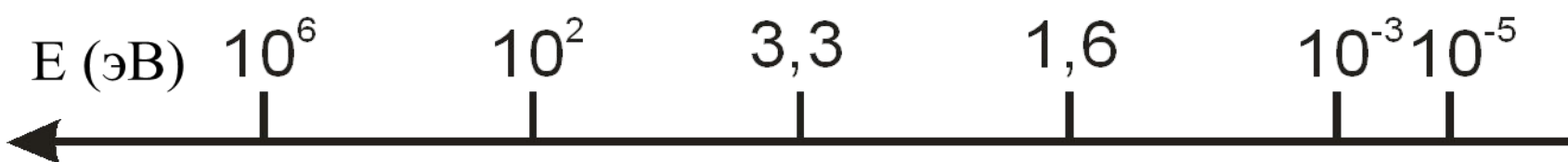
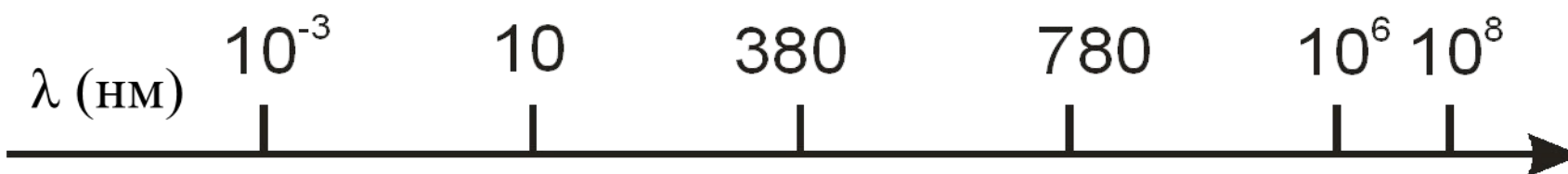
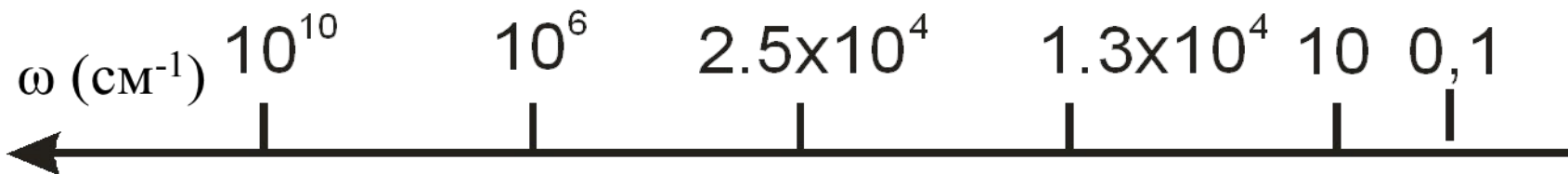
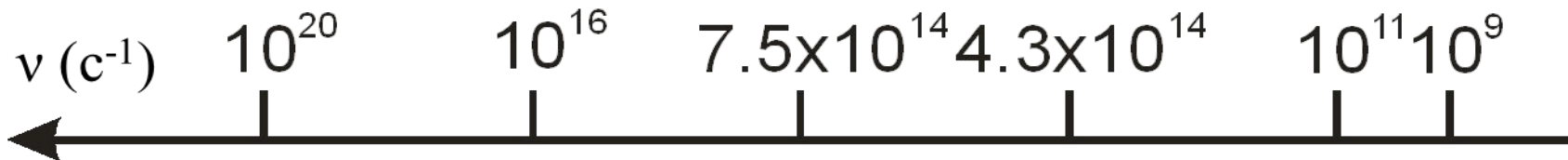
Объединение физики и химии помогает более глубоко познавать явления природы и, в частности, химические явления.

- **Под названием спектральный анализ мы понимаем физический метод анализа химического состава вещества, основанный на исследовании спектров испускания и поглощения атомов или молекул. Эти спектры определяются свойствами электронных оболочек атомов и молекул, колебаниями атомных ядер в молекулах и вращением молекул, а также воздействием массы и структуры атомных ядер на положение энергетических уровней. В соответствии с этим спектральный анализ использует широкий интервал длин волн — от рентгеновых до микрорадиоволн.**

Молекулярная спектроскопия

Области электромагнитного излучения

γ -излучение Рентген УФ Видимый диапазон ИК Микроволны
 Радиоволны



- **Различные типы спектрального анализа следует рассматривать с трех точек зрения.**
- **1. По решаемым задачам:**
 - элементный, когда устанавливается состав пробы по элементам;
 - изотопный, когда устанавливается состав пробы по изотопам;
 - молекулярный, когда устанавливается молекулярный состав пробы;
 - структурный, когда устанавливаются все, или основные структурные составляющие молекулярного соединения.

- **2. По применяемым методам:**
- эмиссионный, использующий спектры излучения, главным образом атомов. Особым случаем эмиссионного анализа является люминесцентный анализ;
- абсорбционный, использующий спектры поглощения, главным образом молекул и их структурных частей; возможен анализ по спектрам поглощения атомов;
- комбинационный, использующий спектры комбинационного рассеяния твердых, жидких и газообразных проб, возбуждаемые монохроматическим излучением, обычно — светом отдельных линий ртутной лампы;

Классификация спектральных методов анализа

- люминесцентный, использующий спектры люминесценции вещества, возбуждаемые главным образом ультрафиолетовым излучением или катодными лучами;
- рентгеновский, использующий а) рентгеновские спектры атомов, получающиеся при переходах внутренних электронов в атомах, б) дифракцию рентгеновых лучей при прохождении их через исследуемый объект для изучения структуры вещества;
- радиоспектроскопический, использующий спектры поглощения молекул в микроволновом участке спектра с длинами волн больше 1 мм.

■ 3. По характеру получаемых результатов:

- 1) качественный, когда в результате анализа определяется состав без указания на количественное соотношение компонентов;
- 2) полуколичественный, в этом случае результат выдается в виде оценки содержания компонентов в некоторых более или менее узких интервалах концентраций в зависимости от применяемого метода приближенной количественной оценки. Этот метод благодаря его быстрой нашел широкое применение при решении задач, не требующих точного количественного определения, например при сортировке металла, при оценке содержания геологических проб при поисках полезных ископаемых;

Классификация спектральных методов анализа

- 3) количественный, при котором выдается точное количественное содержание определяемых элементов или соединений в пробе.
- Все эти типы анализа, за исключением качественных, используют упрощенные или точные методы фотометрирования спектров.
- **4. По способу регистрации спектров различаются следующие методы:**
 - 1. Визуальные при наблюдении спектров в видимой, ультрафиолетовой и ближней инфракрасной областях с помощью простых или специализированных спектроскопов.

Классификация спектральных методов анализа

- 2. Фотографические, использующие фотографическую пластинку или пленку для регистрации спектров с последующей обработкой.
- 3. Фотоэлектрические для ультрафиолетовой, видимой и ближней инфракрасной областей, использующие фотоэлементы разных типов.
- 4. Термоэлектрические для инфракрасной области, в том числе далекой, с использованием термоэлементов, болометров и других типов термоэлектрических приемников.

Электронная, или УФ-спектроскопия

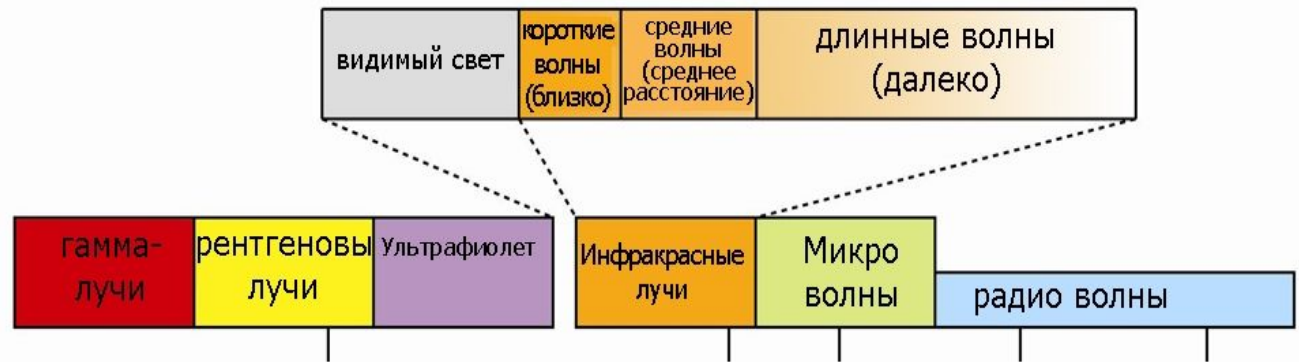
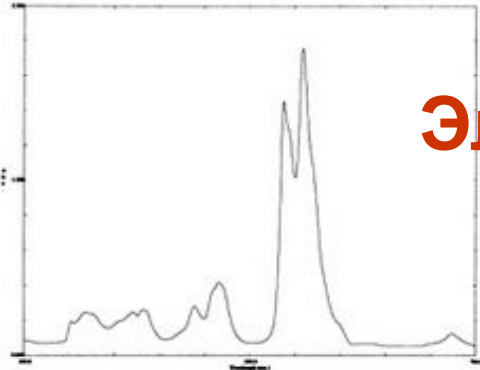
- Закон Бугера-Ламберта-Бера
- Способы изображения электронных спектров
- Взаимосвязь электронных спектров и структуры органических молекул. Хромофоры и ауксохромы.
- Классификация полос поглощения
- Решение задач

УФ-спектроскопия

- При поглощении молекулой вещества электромагнитного излучения, соответствующего ультрафиолетовой (180-400 нм) и видимой (400-800 нм) областям спектра, происходит переход валентных электронов с занятых орбиталей основного электронного состояния на вакантные орбитали возбужденного состояния. Энергия электронного перехода ΔE связана с частотой электромагнитного излучения ν и длиной волны λ соотношением
- **$\Delta E = h\nu = hc/\lambda$,**
- где h – постоянная Планка (имеет размерность действия и равна $6,623 \cdot 10^{-34}$ Дж·с/моль), c – скорость света.



Электронная, или УФ-спектроскопия



«Видимая» часть спектра **400 - 800 нм**

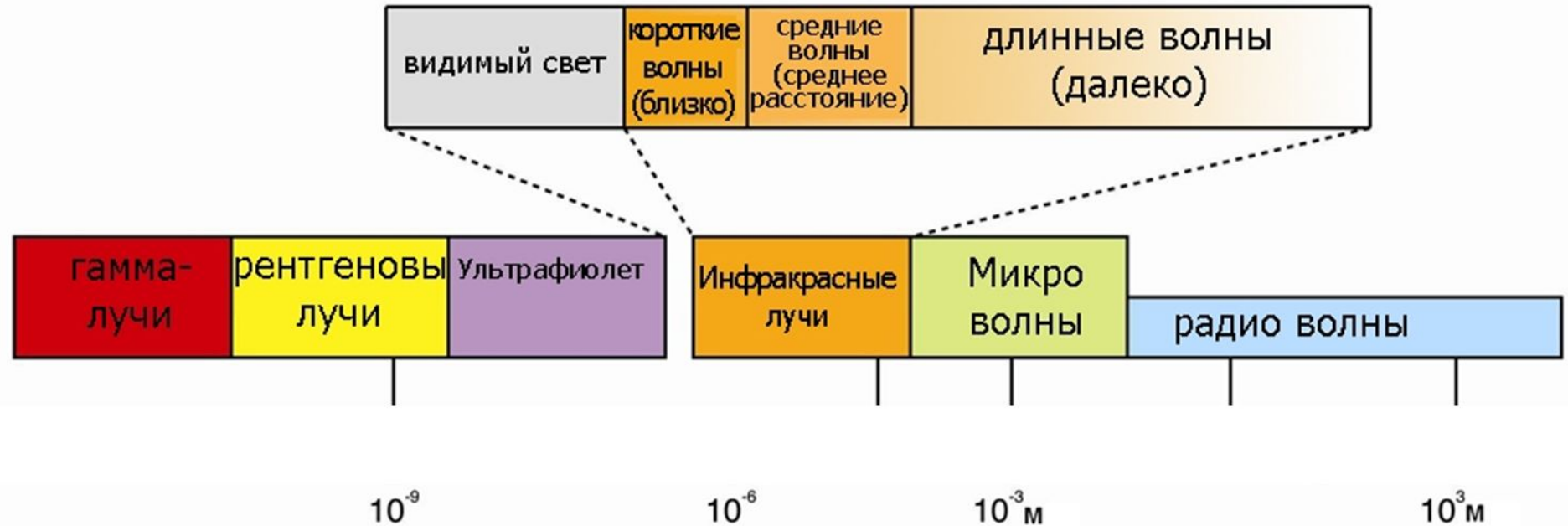
Ультрафиолетовая часть спектра **1- 400 нм**

Область вакуумного УФ-излучения
(дальняя ультрафиолетовая область)
1 – 200 нм

Ближняя УФ-область
(ультрафиолетовые лучи)
200 – 400 нм



Электромагнитный спектр



$$\Delta E = E_k - E_n$$

ΔE – изменение энергии системы;
 E_k и E_n – энергия системы в конечном и начальном состояниях

$\Delta E > 0$ поглощение энергии

Спектр поглощения

Электромагнитный спектр

$\Delta E < 0$ излучение энергии

Эмиссионный спектр

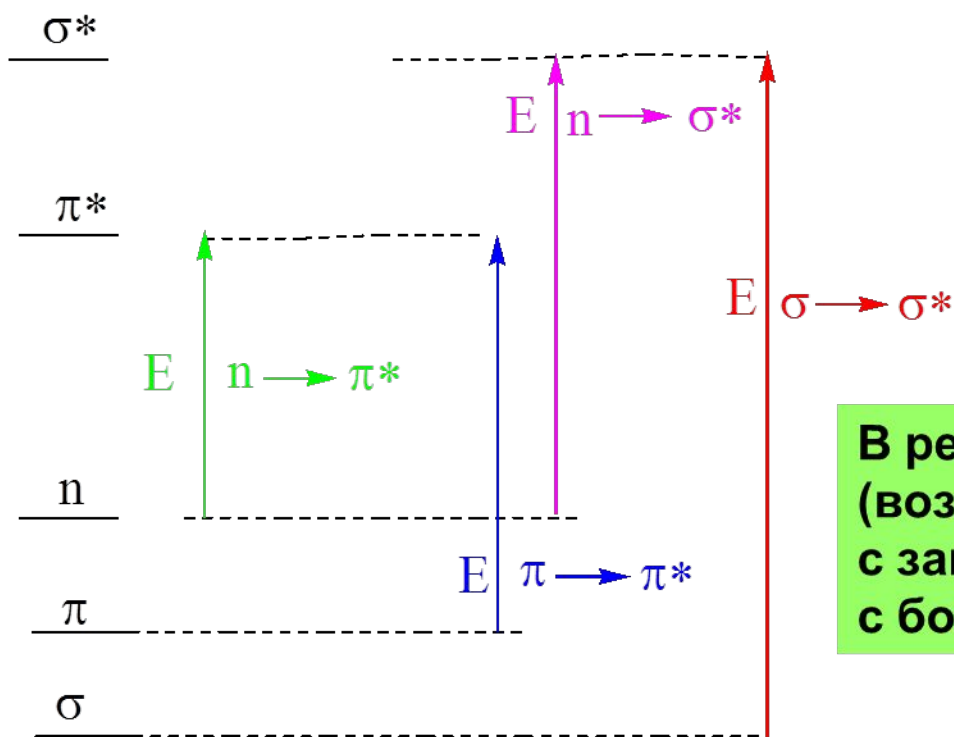


УФ-спектроскопия

- Возможны четыре типа электронных переходов со связывающих и несвязывающих орбиталей основного состояния на разрыхляющие орбитали возбужденного состояния: $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \pi^*$, $n \rightarrow \sigma^*$.
- Для этих переходов характерны разные значения ΔE .

Возбуждение и релаксация

Энергия



Электронные спектры поглощения наблюдаются в результате поглощения ультрафиолетового и видимого излучения

В результате происходит переход (возбуждение) валентного электрона с занимаемого им уровня на уровень с более высокой энергией

Молекула, переведенная в возбужденное электронное состояние, может потерять избыток энергии путем:

Разрыва связи;
Испускания;
Флуоресценции;
Фосфоресценции;
Безызлучательно

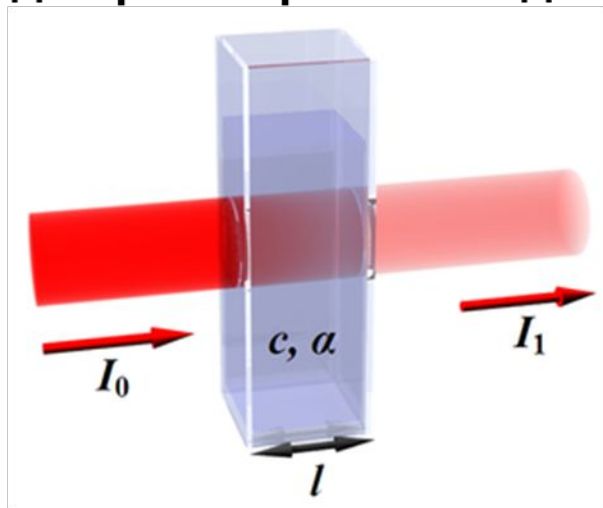


- Полосы поглощения, соответствующие $\sigma \rightarrow \sigma^*$ -переходам, проявляются при малых длинах волн (менее 170 нм) и лежат за пределами рабочего интервала серийных спектрофотометров (190-1000 нм). Алканы и циклоалканы, содержащие только σ -связи, не поглощают свет в ближней УФ и видимой областях спектра, и поэтому их используют в качестве растворителей при съемке спектров других соединений. Наиболее информативны полосы поглощения, обусловленные $\pi \rightarrow \pi^*$ и $n \rightarrow \pi^*$ -переходами, особенно в сопряженных системах. Эти полосы поглощения используют для идентификации и установления структуры соединений, количественного анализа, контроля за ходом реакции.

- Электронный спектр записывается в виде графика зависимости интенсивности поглощения (оптической плотности A) от длины волны λ , выражаемой в нм, или волнового числа ν ($\nu=1/\lambda$), выражаемого в см^{-1}
- Для монохроматического излучения величина A вычисляется по формуле:

Закон Бера-Бугера-Ламберта

Экспериментально открыт П. Бугером (1729),
теоретически выведен И.Г. Ламбертом (1760),
для растворов исследован А. Бером (1852)



$$\lg(I_0/I) = \alpha lc$$

$$A = \epsilon lc$$

α - коэффициент поглощения, константа, зависящая от λ , но не зависящая от концентрации;
 l - длина оптического пути;
 c - концентрация



П. Бугер



И.Г. Ламберт

При c [моль/л], l [см], $A = \epsilon$

ϵ - молярный коэффициент поглощения

Величина молярного коэффициента поглощения пропорциональна вероятности определенного перехода

$$A = \lg(I_0/I)$$

$$T = I/I_0$$

$$A = -\lg T$$

A - погашение

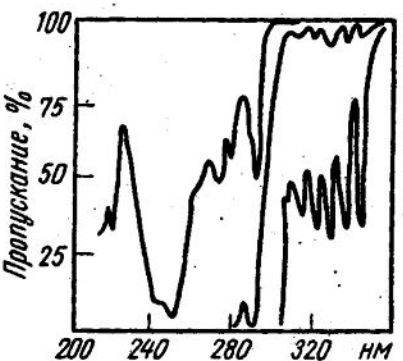
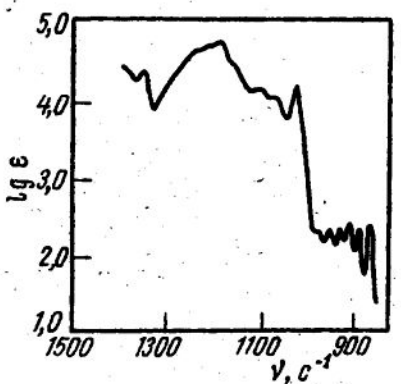
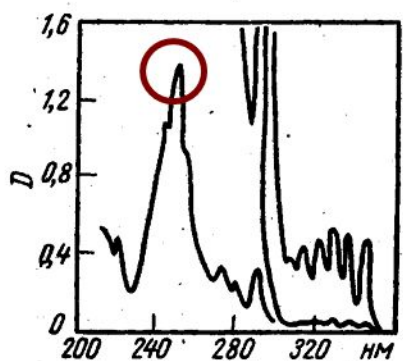
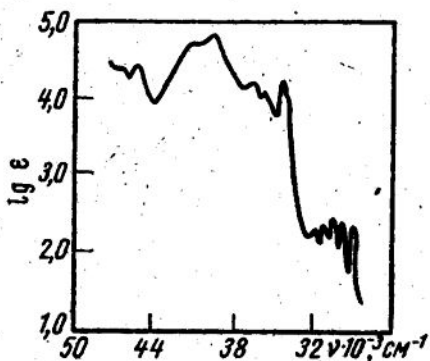
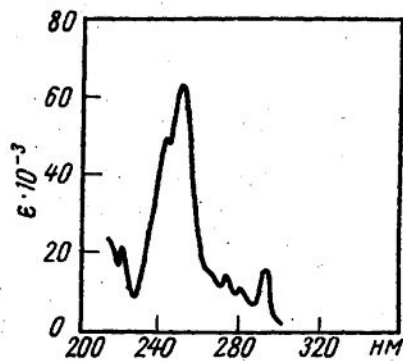
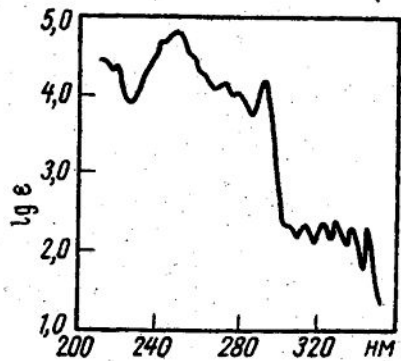
(оптическая плотность D)

T - пропускание

- **Характеристикой электронных спектров поглощения в УФ- и видимой областях, не зависящей от концентрации вещества и длины кюветы, является график в координатах ϵ (или $\lg \epsilon$) и λ (или ν).**

Способы изображения электронных спектров

Электронные спектры поглощения записываются в виде зависимости поглощения от длины волны (Å , нм) или частоты (см^{-1})



Величина поглощения может быть выражена:
процентом поглощения $[(I_0 - I) / I_0 \cdot 100\%]$,
процентом пропускания $[(I / I_0) \cdot 100\%]$,
оптической плотностью D ,
коэффициентом молярного поглощения (ϵ)
или его логарифмом ($\lg \epsilon$)

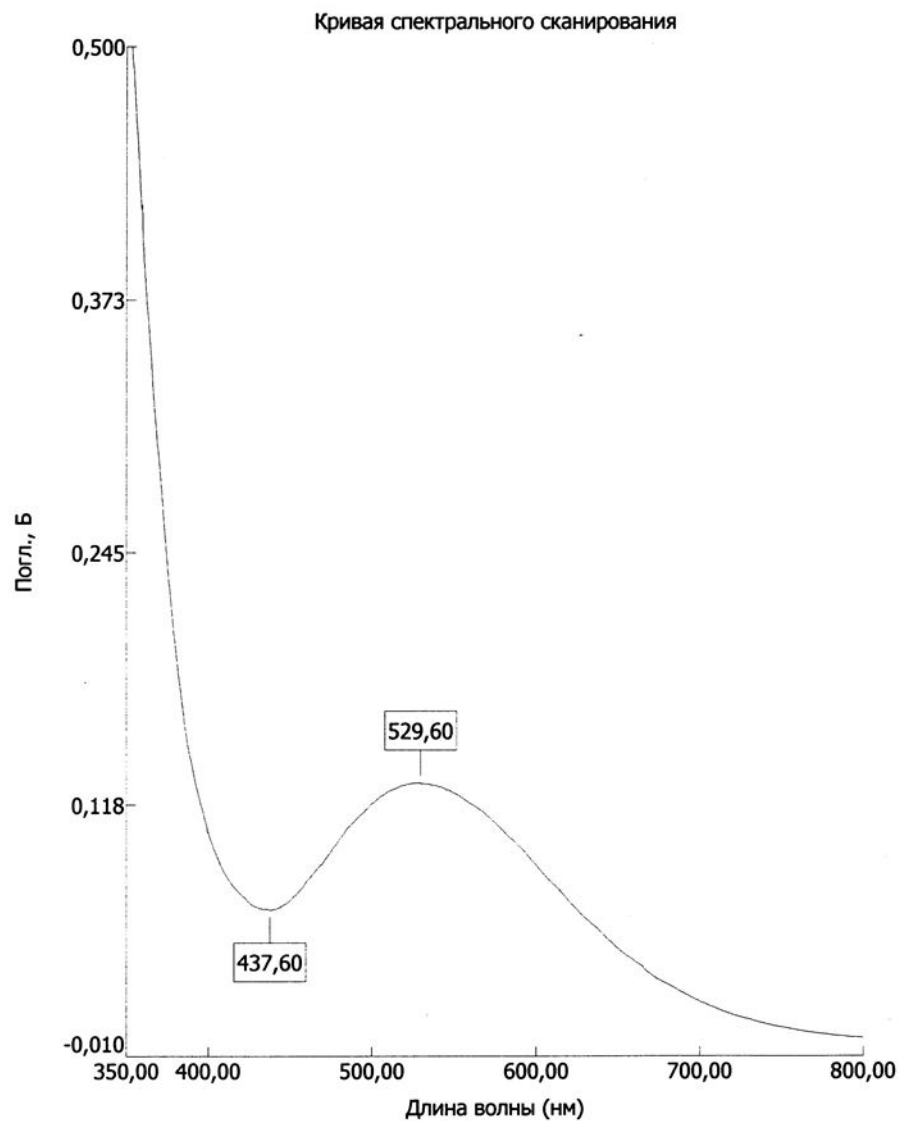
$$\lambda_{\text{макс}} \text{гексан} = 235 \text{ нм} (\epsilon 5400).$$

Области поглощения растворителей, наиболее часто используемых в УФ-спектроскопии

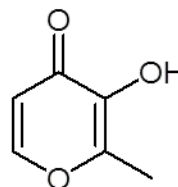


$$A = 0,2 \text{ до } 0,7.$$

сведения о концентрации раствора и толщине кюветы всегда должны сопровождать выдаваемый прибором спектр $A = f(\lambda)$



Водный раствор комплекса
мальтола и железа (III)
(FeMa3 (III), 12.8 мг/л)



3-гидрокси-2-метил-4Н-пирон-4-он
(мальтол)

УФ-спектроскопия

- Положение полос поглощения в УФ-спектре зависит от строения молекулы.
- Структурные группы (кратные связи, ароматические фрагменты), обуславливающие избирательное поглощение УФ-света, называются хромофорами (изолированными или сопряженными).
- Группировки, не содержащие кратные связи, но вступающие в p, π -сопряжение с хромофорами, называются ауксохромами.

Взаимосвязь электронных спектров и структуры органических молекул

Хромофоры

Хромофор -простая функциональная группа, ответственная за поглощение с характеристическими величинами ε и λ

X - - Y

спектр соединения - сумма спектральных характеристик индивидуальных хромофоров X и Y

X - Y

новый, хромофор с новыми спектральными характеристиками

Ауксохром – функциональная группа, которая сама по себе не поглощает в близком ультрафиолете, но может влиять на поведение сопряженного с ней хромофора

Типичные ауксохромы: -SH, -NH₂ , -OH

Основные хромофорные группы



Хромофор	Тип перехода	λ_{\max}	$\log(\epsilon)$
нитрилы	$n \rightarrow \pi^*$	160	<1.0
алкины	$\pi \rightarrow \pi^*$	170	3.0
алкены	$\pi \rightarrow \pi^*$	175	3.0
спирты	$n \rightarrow \sigma^*$	180	2.5
простые эфиры	$n \rightarrow \sigma^*$	180	3.5
кетоны	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	3.0
	$n \rightarrow \pi^*$	280	1.5
альдегиды	$\pi \rightarrow \pi^*$	190	2.0
	$n \rightarrow \pi^*$	290	1.0
амины	$n \rightarrow \sigma^*$	190	3.5
кислоты	$n \rightarrow \pi^*$	205	1.5
сложные эфиры	$n \rightarrow \pi^*$	205	1.5
амиды	$n \rightarrow \pi^*$	210	1.5
тиоспирты	$n \rightarrow \pi^*$	210	3.0
нитросоединения	$n \rightarrow \pi^*$	271	<1.0
азосоединения	$n \rightarrow \pi^*$	340	<1.0

Взаимосвязь электронных спектров и структуры органических молекул

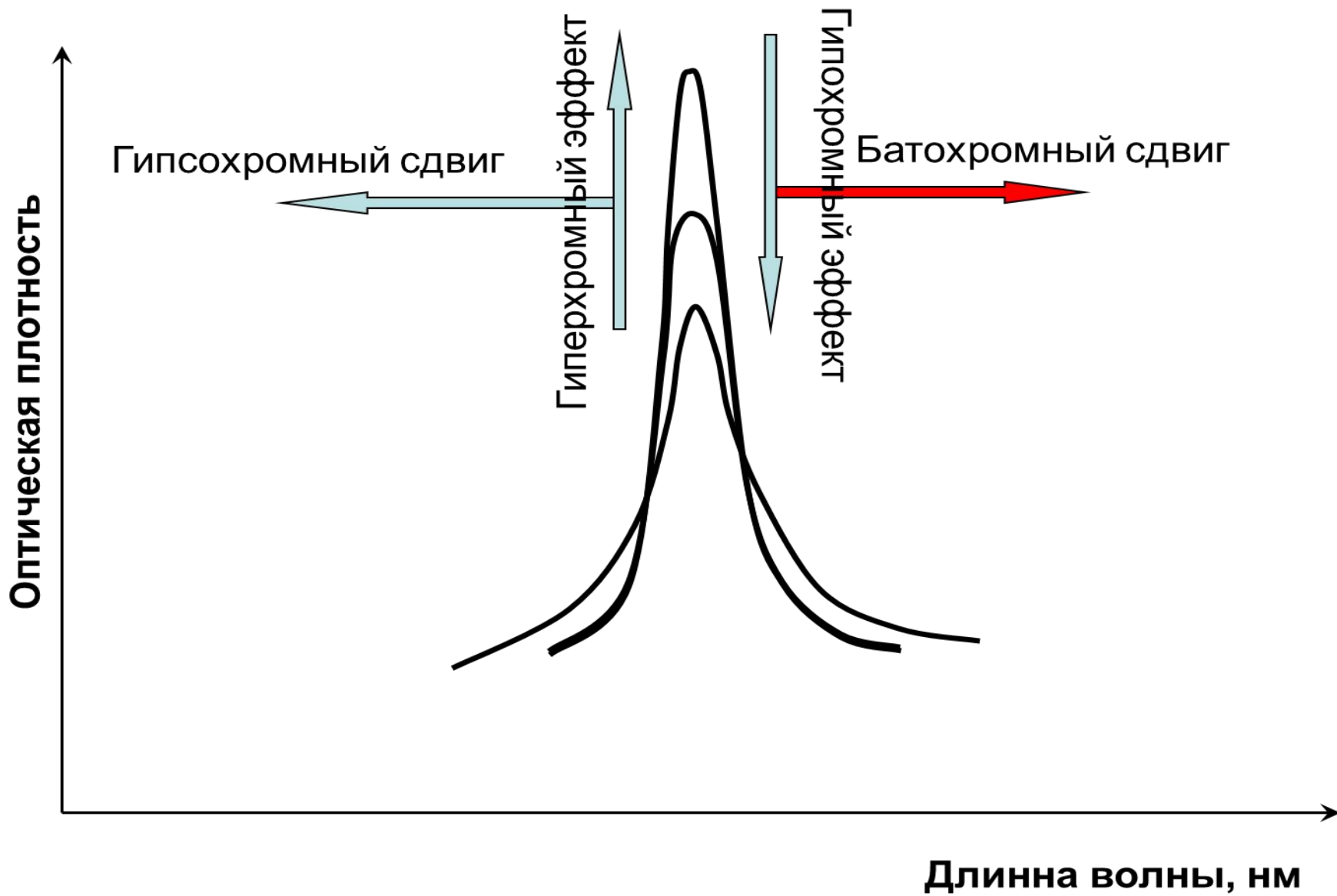
Для характеристики спектральных изменений, вызванных модификацией структуры, введены специальные термины:

гипсохромный сдвиг (синий сдвиг) – для смещения полос поглощения в коротковолновую область спектра;

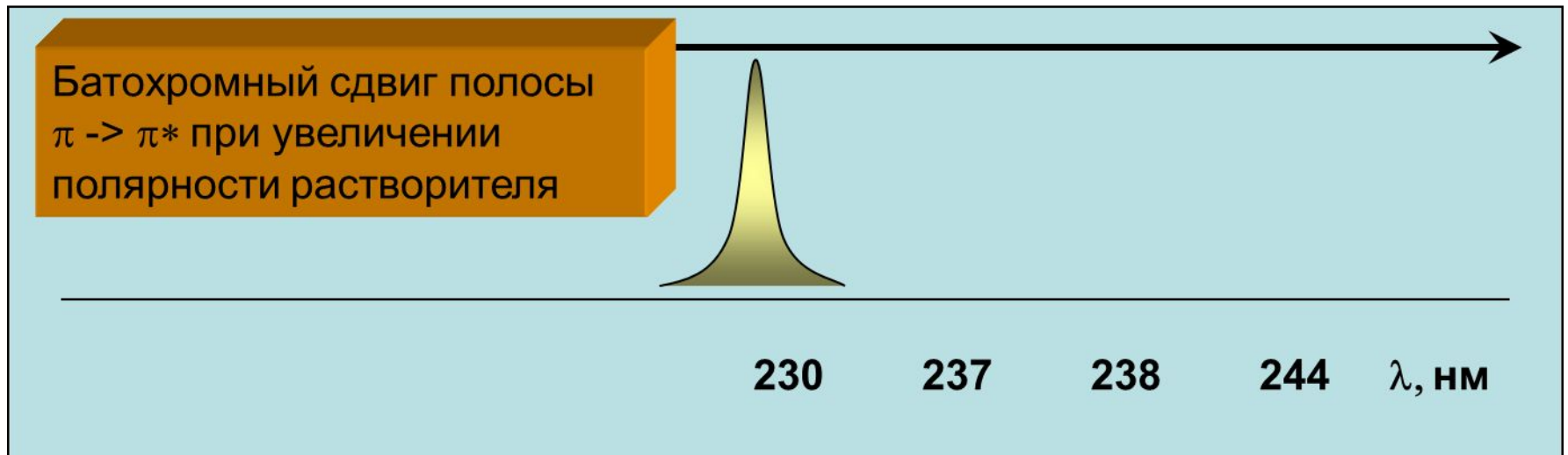
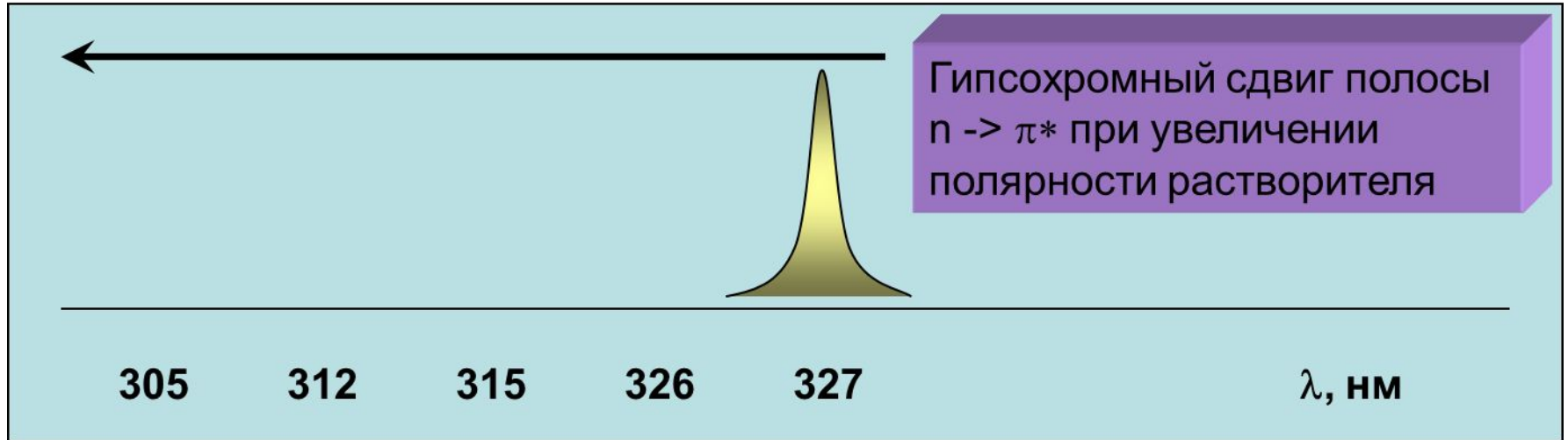
батохромный сдвиг (красный сдвиг) – для смещения полос поглощения в область длинных волн;

гиперхромный эффект – увеличение интенсивности поглощения;

гипохромный эффект – уменьшение интенсивности поглощения.



вода



Электронные спектры поглощения основных классов органических соединений

Предельные углеводороды

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ переходы

Соответствующие им полосы поглощения лежат в далеком ультрафиолете:

- метан – 122 нм
- этан – 135 нм
- алканы - < 150 нм

Насыщенные углеводороды с гетероатомами (O, S, N, галогены)

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ и $n \rightarrow \sigma^*$ переходы

соединение	$\lambda_{\sigma \rightarrow \sigma^*}$, нм	$\lambda_{n \rightarrow \sigma^*}$, нм
CH ₃ OH	150	177
CH ₃ NH ₂	170	215
CH ₃ Cl	150	173

В области 200 – 800 нм большинство углеводородов и их производных «прозрачны», что позволяет использовать их в качестве растворителей.

Для функциональных производных эта область чуть уже: 250 – 800 нм.

Электронные спектры поглощения основных классов органических соединений

Этилены

$\sigma \rightarrow \sigma^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$ ($\lambda_{\max} = 165$ нм, $\epsilon_{\max} > 104$) переходы

Алкильные заместители в этилене смещают $\pi \rightarrow \pi^*$ полосу поглощения в красную область, и с ростом числа алкильных заместителей величина батохромного сдвига увеличивается.

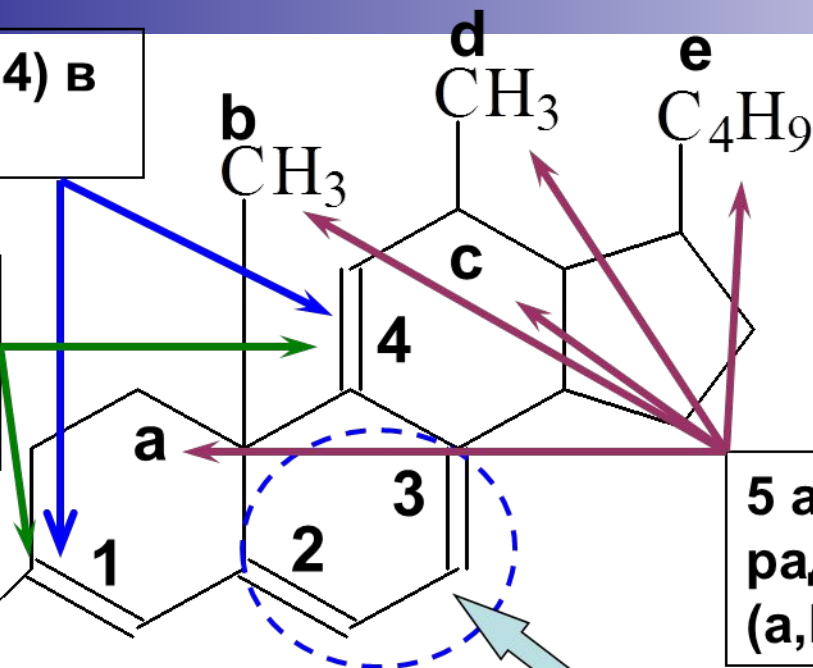
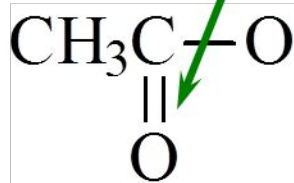
Соединения с сопряженными двойными связями

Сопряжение проявляется в УФ-спектрах батохромным сдвигом для полосы $\pi \rightarrow \pi^*$ перехода

Структура Фрагмента	Величина инкремента, нм
Диеновая система в одном кольце	36
Дополнительное сопряжение, двойная связь	30
Экзоциклическая двойная связь (двойная связь вне цикла)	5
Заместители:	
· алкил	5
· -OR	6
· -OCOR	0
· SR	30
· -NR ₂	60
· -Cl, -Br	5

2 двойные связи (1,4) в сопряжении (+2*30)

3 экзоциклические двойные связи (1,4, C=O: 3*5)



5 алкильных радикалов (a,b,c,d,e: 5*5)

Диеновый фрагмент

(2,3 – диен в цикле: 217 + 36)

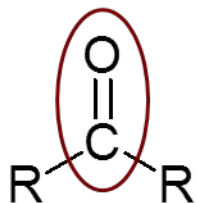
$$\lambda_{\max} = 217 + 36 + 2 * 30 + 3 * 5 + 5 * 5 = 353 \text{ нм}$$

$$\lambda_{\max}^{\text{exp}} = 356 \text{ нм}$$

Электронные спектры поглощения основных классов органических соединений

Карбонилсодержащие соединения

$n \rightarrow \pi^*$ $n \rightarrow \sigma^*$ $\pi \rightarrow \pi^*$ переходы

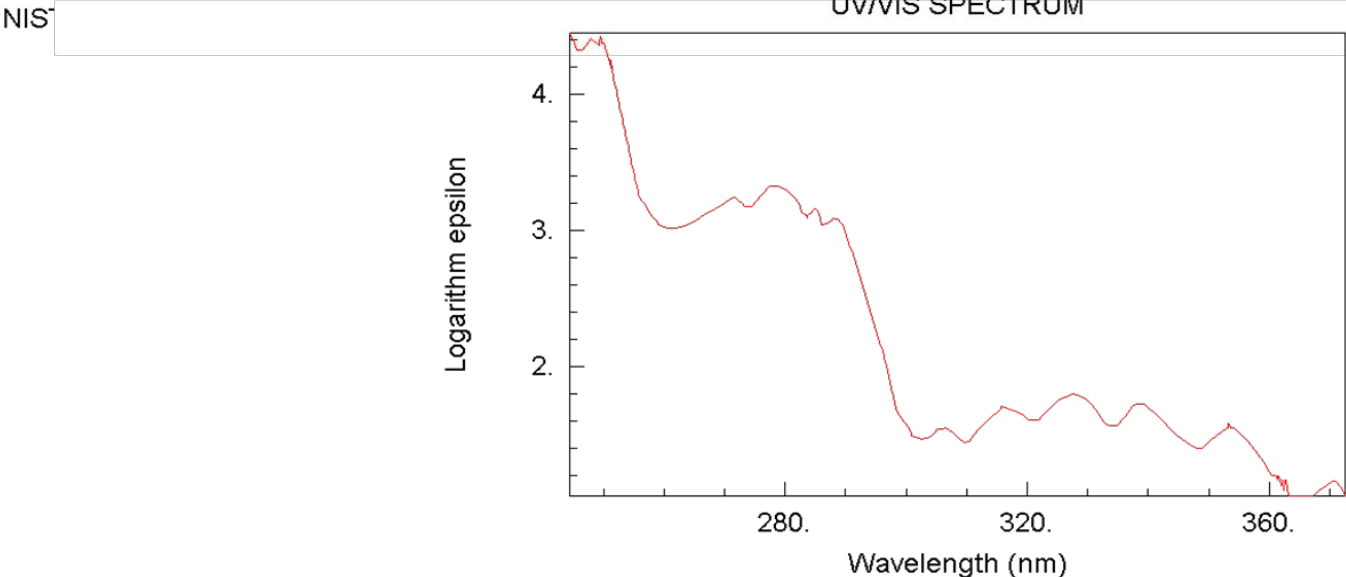
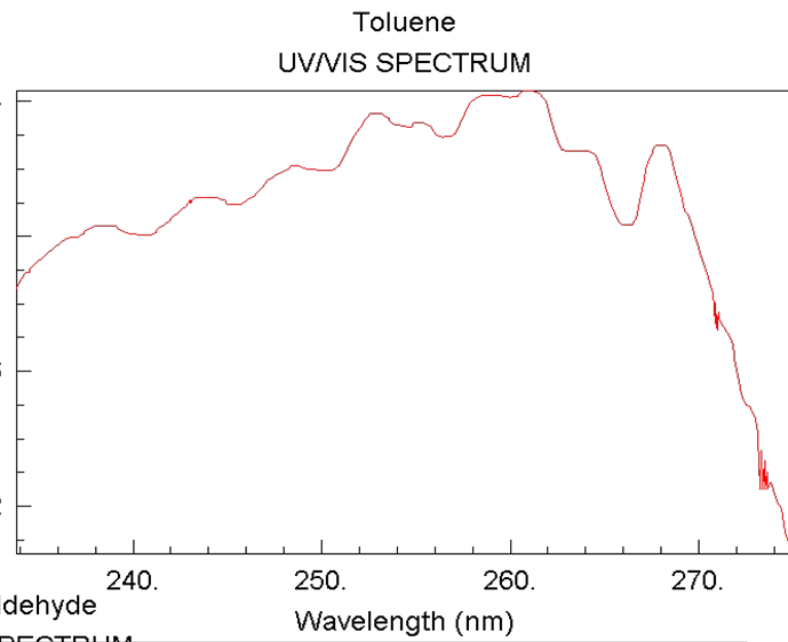
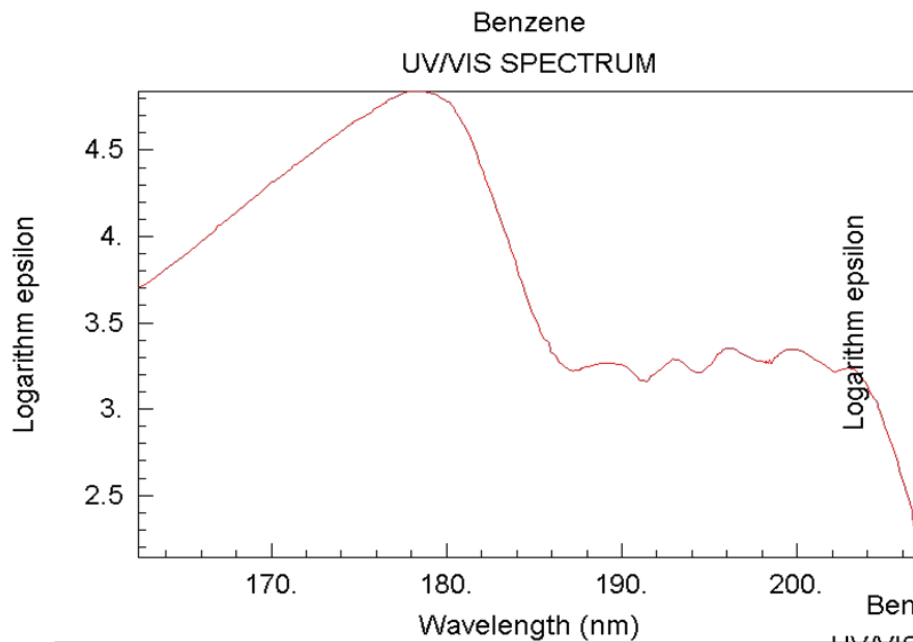


Обнаруживается в УФ-спектре по полосе $n \rightarrow \pi^*$ перехода. Положение чувствительно к полярности растворителя и характеру заместителей X, Y.

В полярных растворителях (особенно склонных к образованию водородных связей) эта полоса смещается гипсохромно.

Замена H-атома другими заместителями X, Y также приводит к гипсохромному сдвигу.

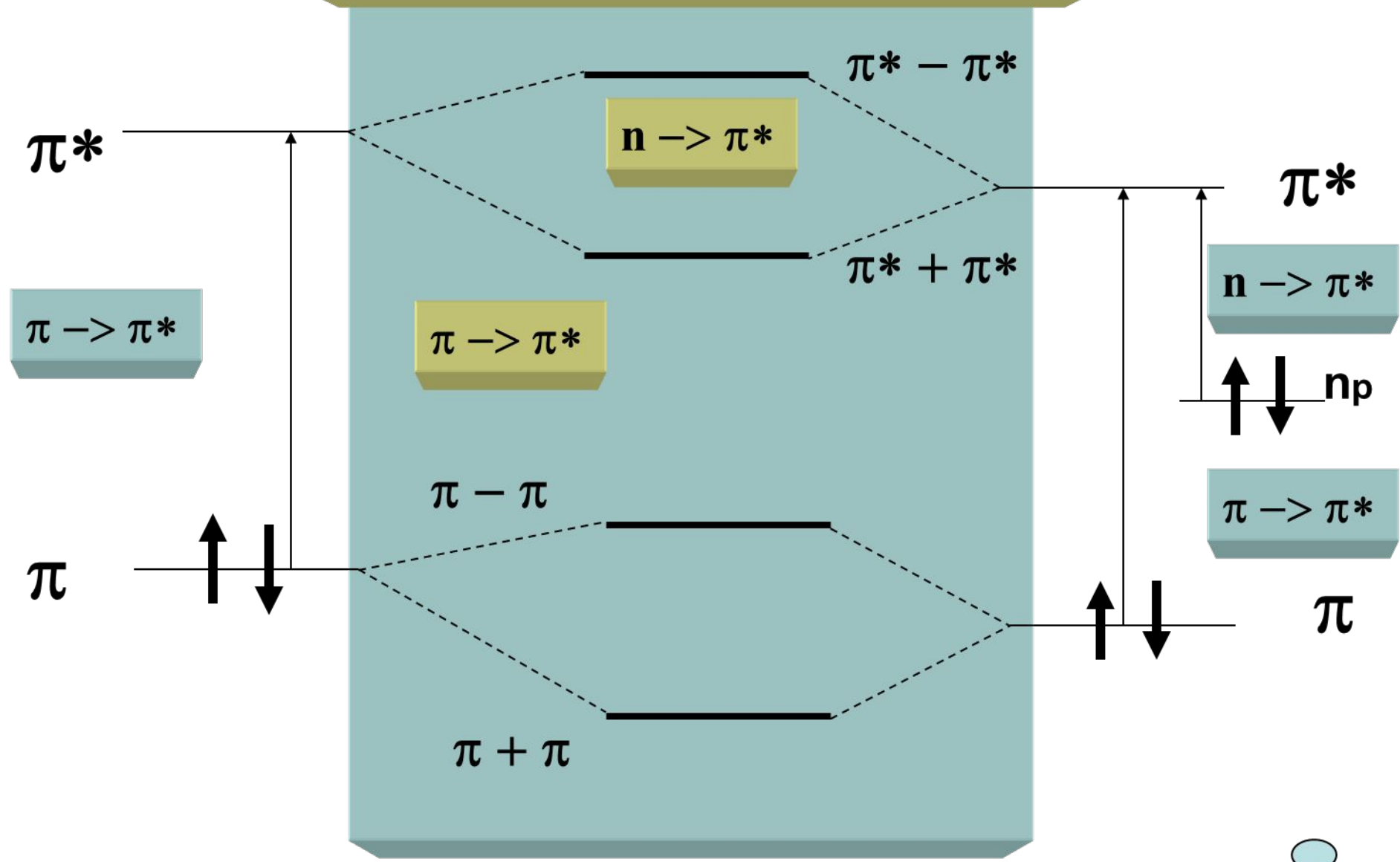


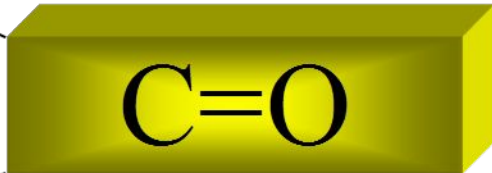


> C=C - СВЯЗЬ

> C=O - СВЯЗЬ

Сопряжение > C=C-C=O





204

214

235

275

290

295

204

214

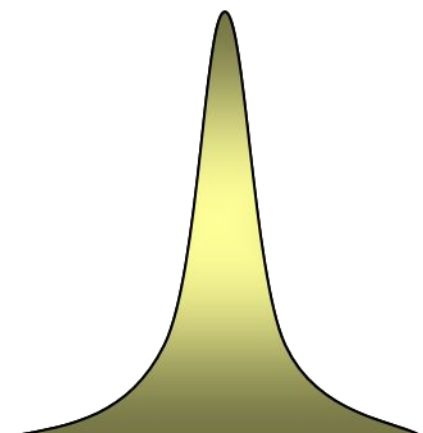
235

275

290

295

λ , **HM**



Применение УФ-спектроскопии

Важная область использования УФ-спектроскопии – это количественный анализ:

- изучение кинетики реакции
- определение примесей в образце органического вещества

Пример:

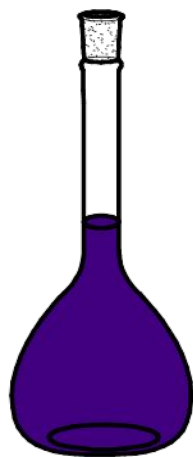
Определение бензола в качестве примеси в этиловом спирте

Задача. Рассчитайте количество (г) бензола в 100 л этанольного раствора, если известны следующие характеристики электронного спектра данного раствора: λ_{\max} 260 нм, $A = 0.0295$, $\varepsilon = 230$, длина кюветы 1 см.

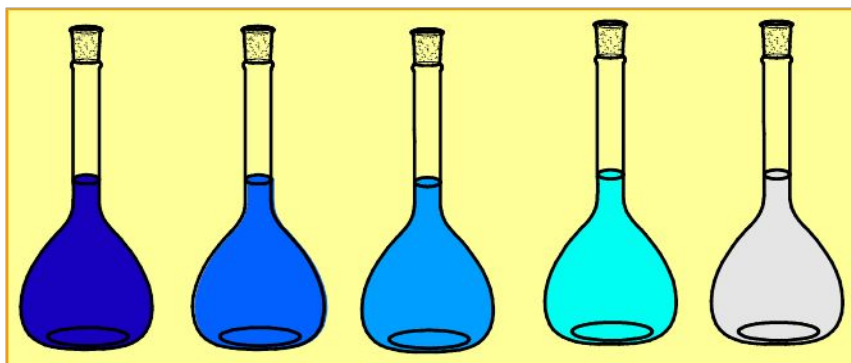
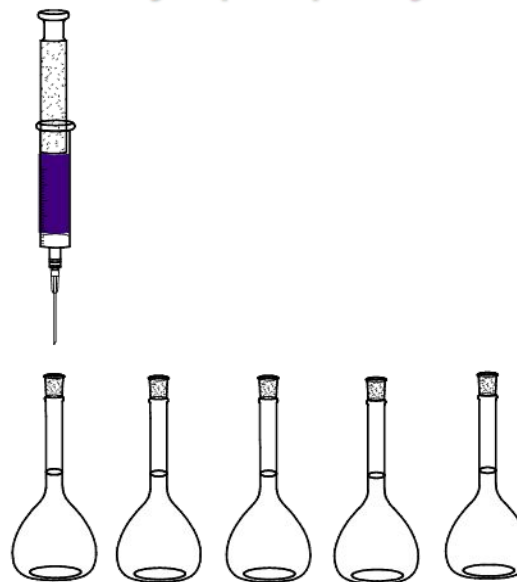
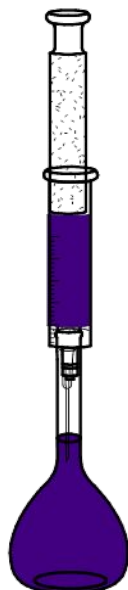
Решение. $A = \varepsilon lc$

Ответ: 100л этанола содержится 0.01 моль (0.78г) бензола

Определение концентрации вещества в анализируемом растворе по калибровочному графику



**Стандартный раствор
исследуемого вещества**



1

2

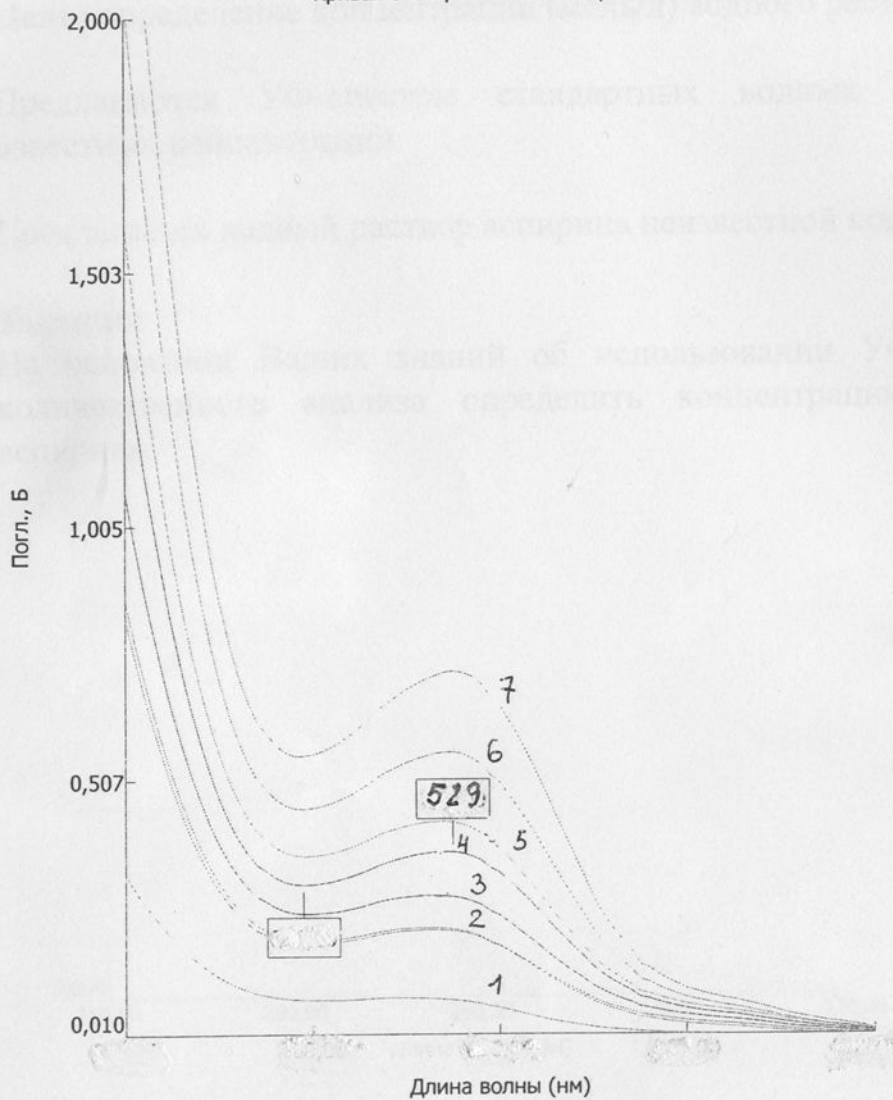
3

4

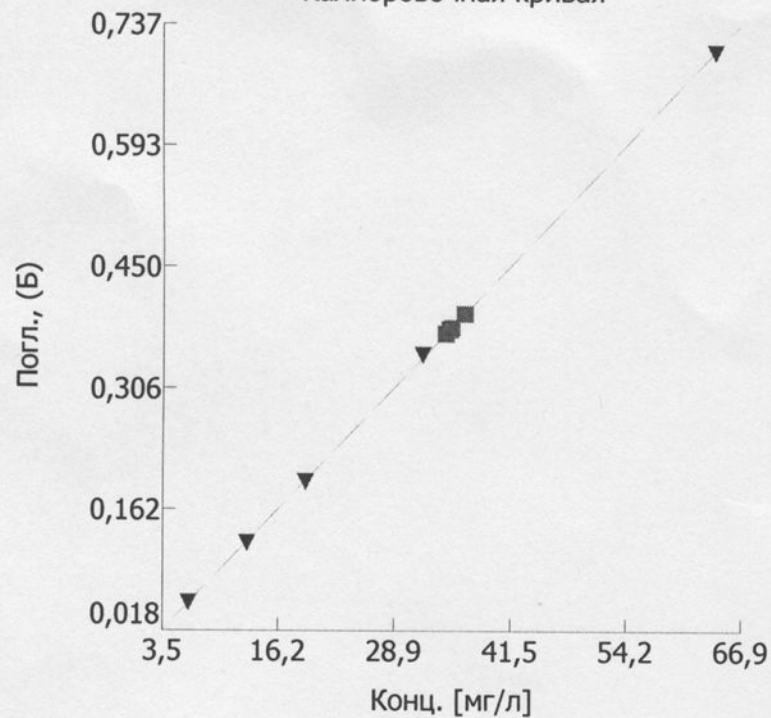
5

**концентрация вещества в
каждом последующем растворе
отличается от концентрации в
предыдущем не менее, чем на
30-50%**

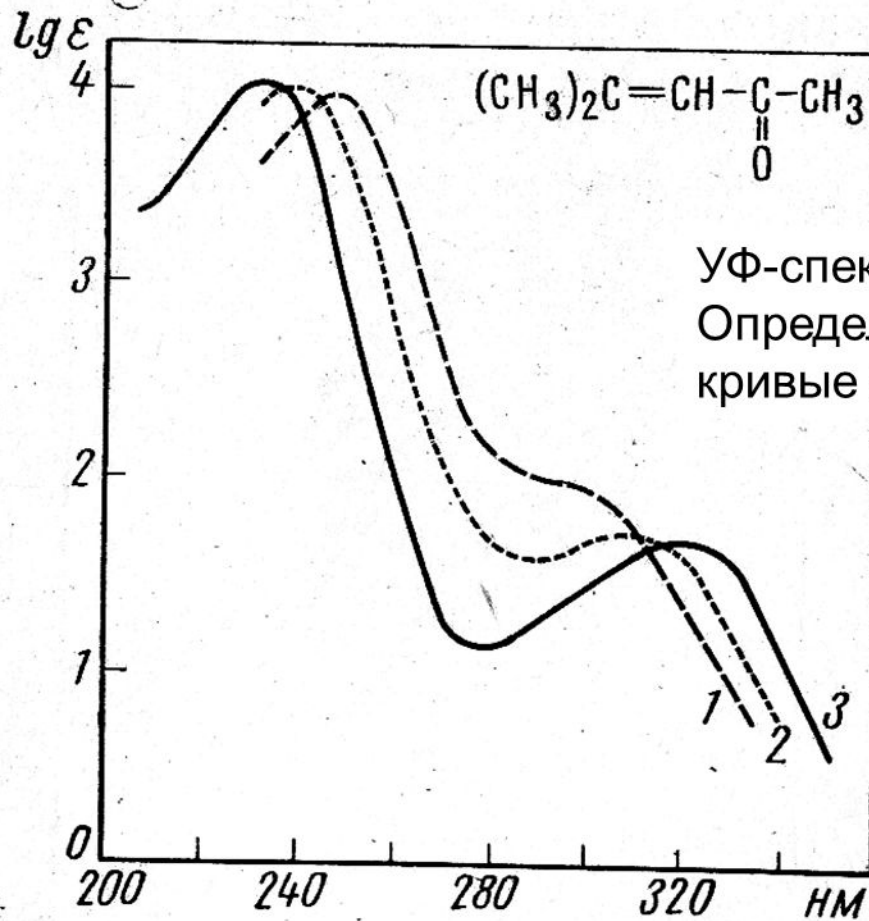
Кривая спектрального сканирования



Калибровочная кривая



Потренируемся!

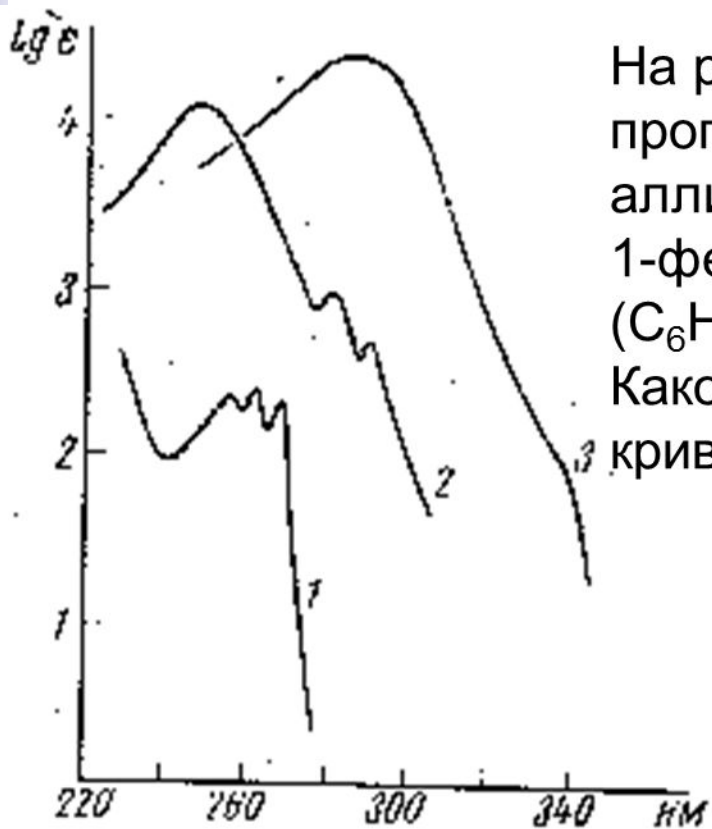


УФ-спектр снимали в воде, гексане, спирте.
Определить какому растворителю принадлежат кривые сканирования 1, 2, 3.

Решение:

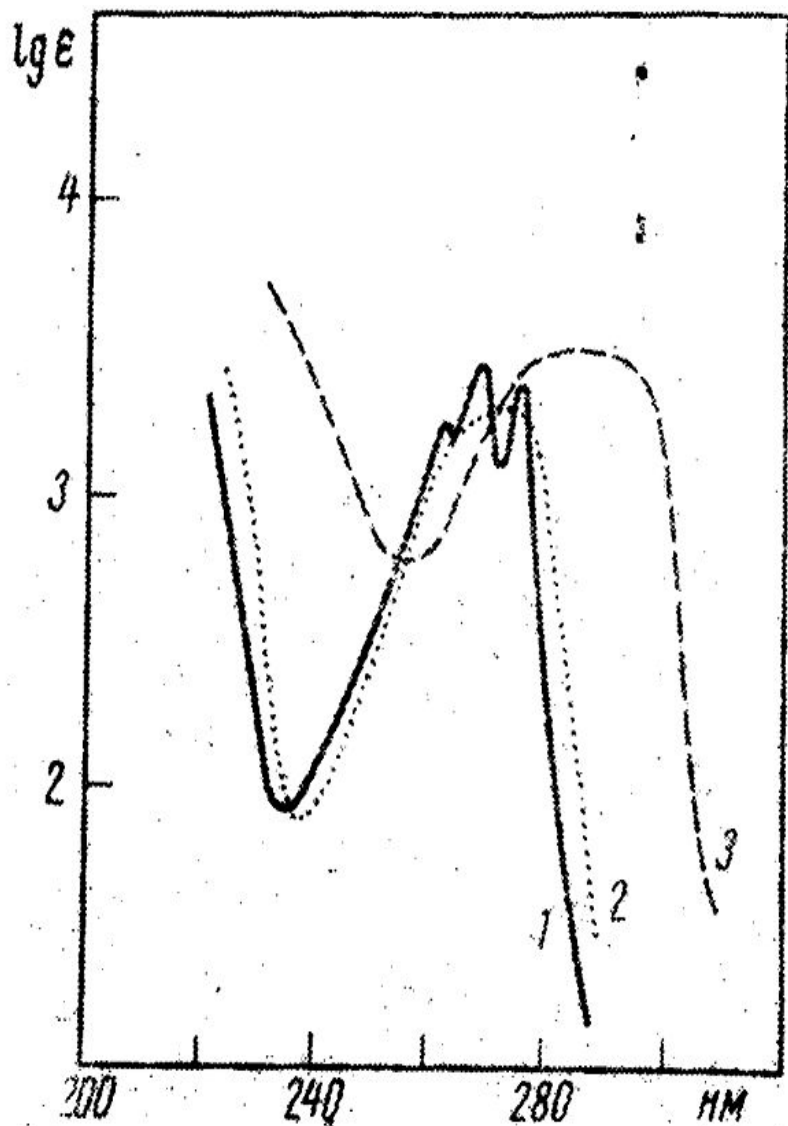
С увеличением полярности растворителя максимум полосы поглощения $n \rightarrow \pi^*$ перехода смещается в коротковолновую область (гипсохромный сдвиг).

Таким образом, кривая 1 соответствует воде, 2 – спирту, 3 – гексану.



На рисунке приведены спектры поглощения пропенилбензола ($C_6H_5CH=CHCH_3$), аллилбензола ($C_6H_5CH_2CH=CH_2$), 1-фенилпентадиена-1,3 ($C_6H_5CH=CH-CH=CHCH_3$).
 Какому соединению принадлежит каждая кривая?

Решение: С удлинением сопряженной цепи полосы поглощения смещаются в длинноволновую область и их интенсивность возрастает. Самая длинная сопряженная цепь наблюдается в случае 1-фенилпентадиен-1,3. Таким образом, данному соединению соответствует кривая 3 на спектре. Пропенилбензолу соответствует кривая 2, аллилбензолу - 1.



На рисунке приведены спектры поглощения фенола в растворе гексана, спирта и щелочном растворе.

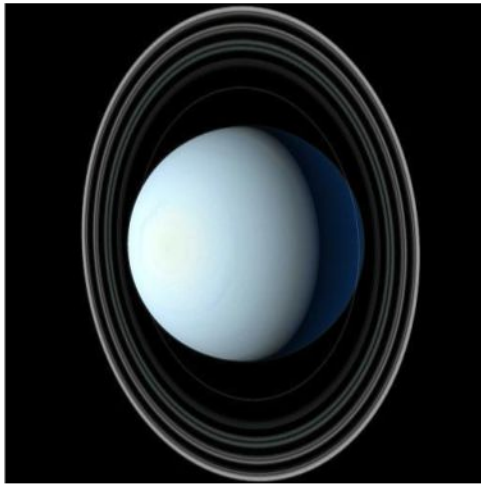
Определите, какому растворителю соответствует каждая кривая

Колебательная спектроскопия

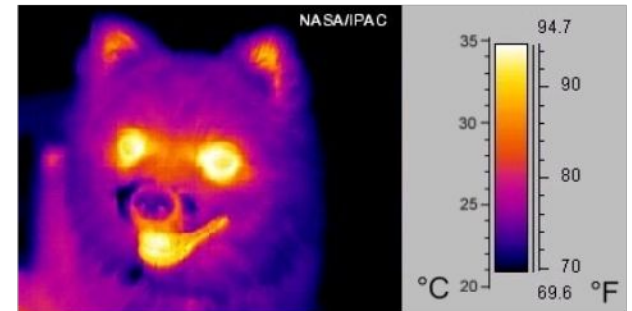
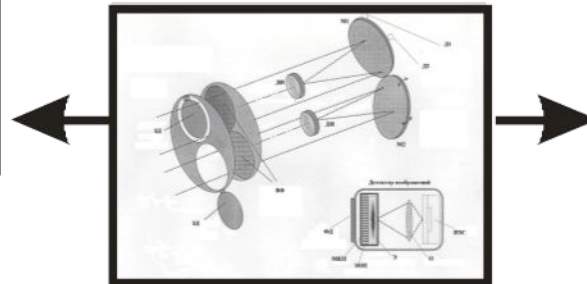
ИК-спектроскопия



Уильям Гершель
1738-1822



Georgium Sidus
Οὐρανός



Колебательная спектроскопия

Области электромагнитного излучения

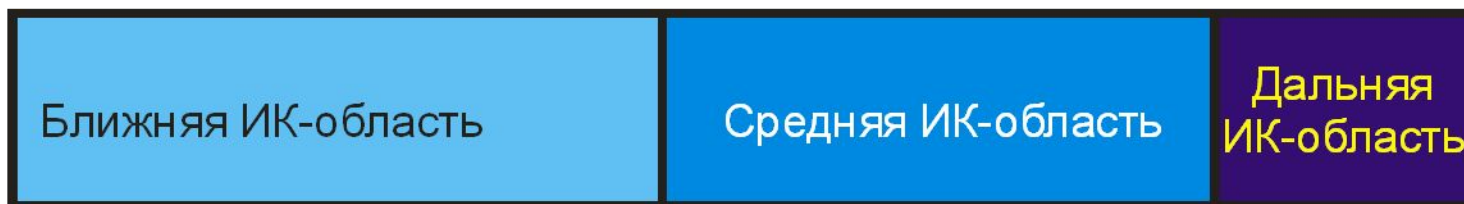
$$\varepsilon < 10^3$$

1000

2500

$2,5 \times 10^4$ 2×10^6

λ (нм)



10000

4000

400

5

ω (см⁻¹)

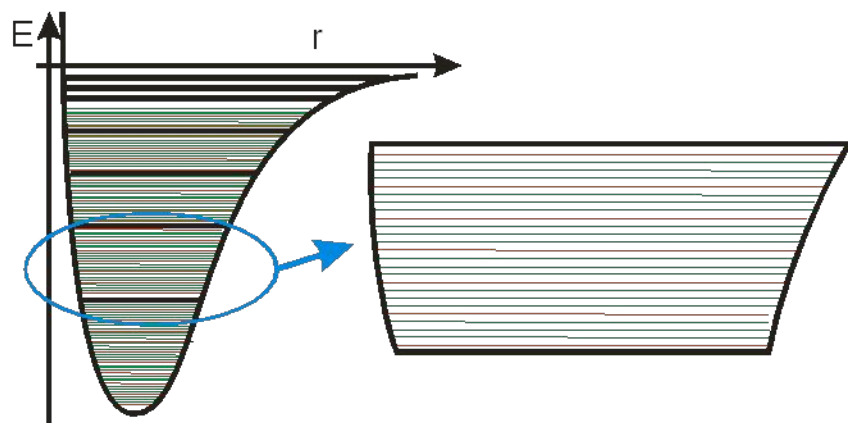
Обертон

Водородная связь

Составные частоты
основных колебаний

Основные частоты.
«Область отпечатков
пальцев»

Связи М-Х
Вращательные
переходы



Колебательно-вращательная
спектроскопия

ИК-спектроскопия является распространенным спектральным методом. В этом виде спектроскопии установлены четкие эмпирические закономерности, связывающие структуру вещества с параметрами спектра, что дает возможность с помощью ИК-спектроскопии решать различные аналитические задачи.

Области применения.

- для идентификации веществ,
- определения отдельных хим. связей и групп в молекулах,
- для исследования внутри- и межмолекулярных взаимодействий,
- различных видов изомерии,
- фазовых переходов,
- водородных связей,
- адсорбирующих молекул и катализаторов,
- для обнаружения микропримесей веществ, загрязняющих окружающую среду
- измерения размера наночастиц,
- исследования распределения напряжений, дислокаций, измерения степени структурного беспорядка в различных твердых веществах,
- определения энергетических диаграмм молекул

ИК-спектр возникает при поглощении веществом электромагнитного излучения с длиной волны от 2,5 до 25 мкм. Поглощенная энергия преобразуется главным образом в энергию колебания атомов, и молекула переходит из исходного нулевого колебательного состояния в возбужденное.



- Молекула, находящаяся на нулевом колебательном уровне, не является жесткой покоейся структурой, составляющие её атомы постоянно колеблются. Эти колебания связанных атомов упрощенно подразделяются на два основных типа.
- Валентные колебания (ν) обусловлены ритмичными движениями атомов вдоль оси связи, расстояние между которыми увеличивается или уменьшается, но сами атомы остаются на оси валентной связи, т.е. валентные колебания связаны с изменением длины связей.

Деформационные колебания (δ)

связаны с изменением углов между связями. Деформации угла могут происходить в одной или разных плоскостях, поэтому деформационные колебания бывают плоскостными и внеплоскостными.

Валентные и деформационные колебания называют нормальными.

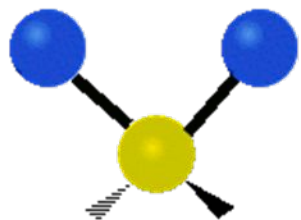
По форме валентные и деформационные колебания бывают симметричными (s) и асимметричными (as).

Колебательная спектроскопия

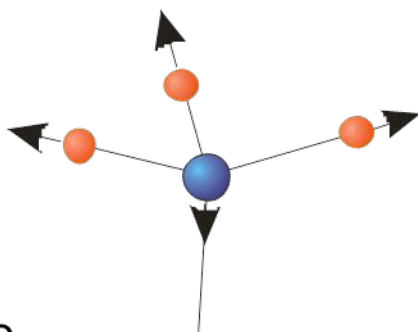
ИК-спектроскопия. Колебания.

Правило отбора:

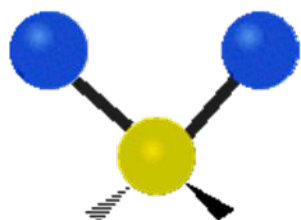
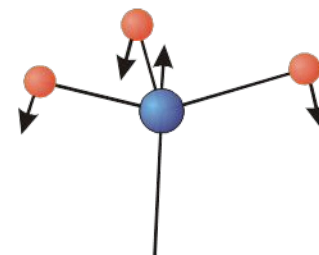
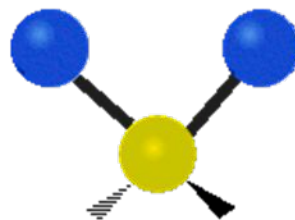
Проявляются колебания, приводящие к изменению дипольного момента молекулы.



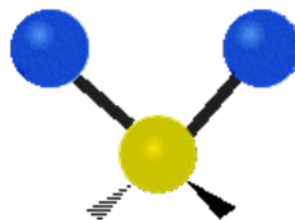
Валентное симметричное ($\nu(s)$)



Деформационное симметричное ($\delta(s)$)



Валентное антисимметричное ($\nu(as)$, $\nu(a)$)

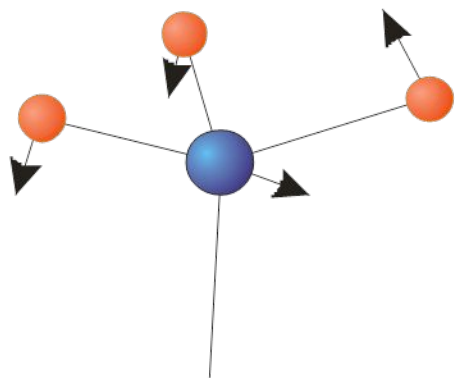


Деформационное антисимметричное ($\delta(as)$)

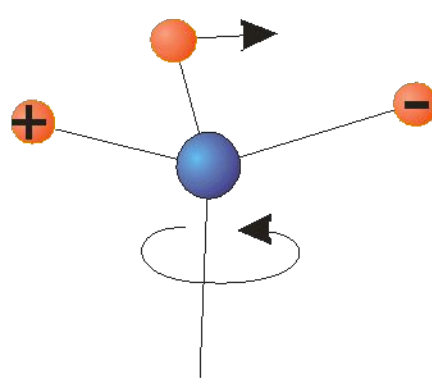
-
- **Деформационные колебания метиленовой группы носят собственные названия – ножничные, маятниковые и др.**

Колебательная спектроскопия

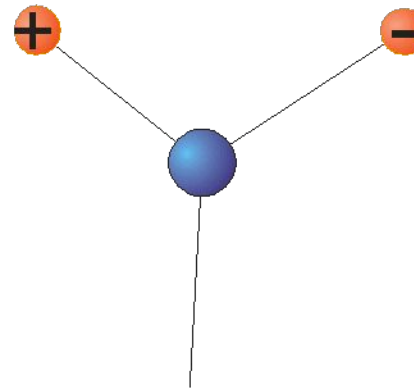
ИК-спектроскопия. Колебания.



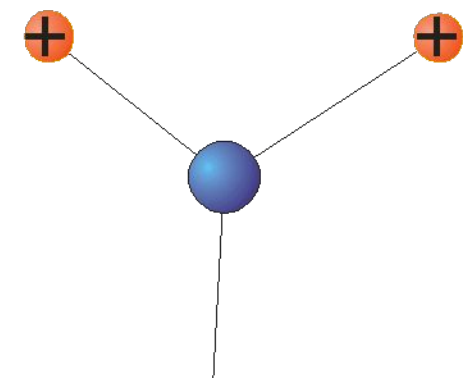
Маятниковое
(ρ)



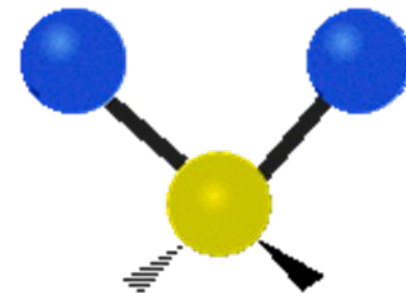
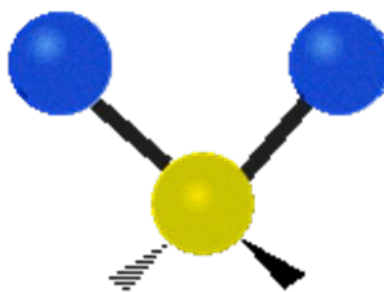
Крутильное
(τ)



Крутильно-
деформационное
(τ)



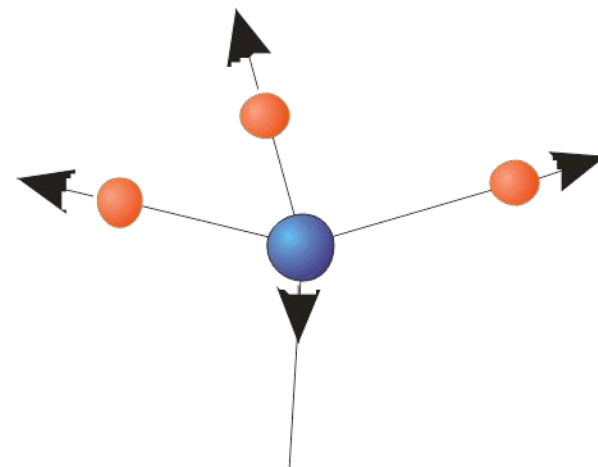
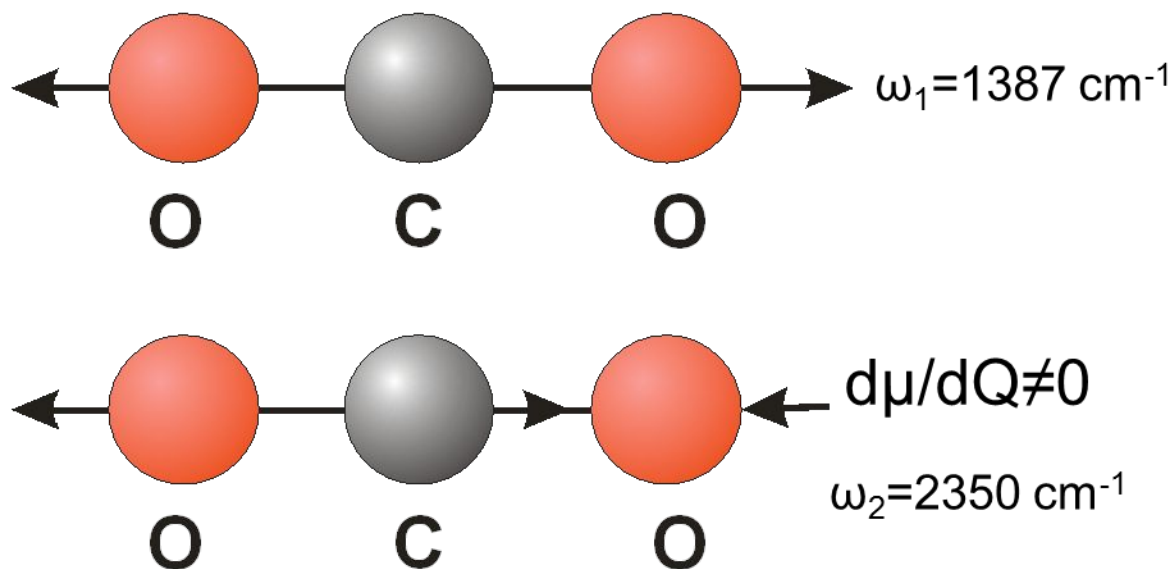
Деформационно-
верное
(ω)



Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Вырождение. Интенсивность сигнала.

Правило отбора:
Проявляются колебания,
приводящие к **изменению**
дипольного момента молекулы.



ИК-спектроскопия

- ИК-спектр является характеристикой всей молекулы. Однако, экспериментально установлено, что некоторые группы атомов поглощают ИК-излучение в узком интервале частот почти независимо от строения остальной части молекулы, и эти частоты поглощения мало меняются при переходе от одного соединения к другому.
- Такие частоты (или полосы) и соответствующие им группы атомов называются характеристическими. С помощью характеристических частот определяют наличие в молекуле различных групп атомов и связей и тем самым проводят функционально-групповой анализ.

ИК-спектроскопия

- **Характеристические полосы поглощения в ИК-спектре дают все колебания связей, в которых принимает участие атом Н, а также группы, содержащие кратные связи.**
- **В результате обобщения эмпирического материала составлены таблицы с диапазонами частот и длин волн характеристических полос и соответствующих им структурных фрагментов.**
- **Интенсивность полос в ИК-спектре оценивается качественно – сильная, средняя, слабая, переменная.**

Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Частоты колебаний.

<u>колебание</u>	<u>частотный диапазон (см⁻¹)</u>
------------------	---

карбонил (C=O), растяжение	1870 - 1650
----------------------------	-------------

Спирты

O-H, растяжение	3640 - 3250
-----------------	-------------

C-OH, растяжение	1160 - 1030
------------------	-------------

C-OH, сгибание в плоскости	1440 - 1260
----------------------------	-------------

C-OH изгиб (wag)	700 - 600
------------------	-----------

Алканы

C-H, растяжение	2980 - 2850
-----------------	-------------

CH ₂ изгиб (wag)	1470 - 1450
-----------------------------	-------------

CH ₂ качание	740 - 720
-------------------------	-----------

CH ₃ изгиб (wag)	1390 - 1370
-----------------------------	-------------

CH ₃ скручивание	1470 - 1440
-----------------------------	-------------

Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Частоты колебаний.

<u>колебание</u>	<u>частотный диапазон (см⁻¹)</u>
------------------	---

Алкены

=CH ₂ , растяжение	3040 - 3010
-------------------------------	-------------

=CH ₂ изгиб (wag)	950 - 900
------------------------------	-----------

C=C, растяжение (цис-изомер)	1665 - 1635
------------------------------	-------------

C=C, растяжение (транс-изомер)	1675 - 1665
--------------------------------	-------------

Амины

N-H, растяжение	3460 - 3280
-----------------	-------------

NH ₂ изгиб (wag)	1650 - 1590
-----------------------------	-------------

C-N, растяжение	1190 - 1130
-----------------	-------------

C-N-C, ножницы	510 - 480
----------------	-----------

Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Частоты колебаний.

<u>колебание</u>	<u>частотный диапазон (см⁻¹)</u>
<i>Сложные эфиры</i>	
С-О-С, асимметричное растяжение	1290 - 1180
О-С-О, ножницы	645 - 575
<i>Соединения азота</i>	
NO₂, симметричное растяжение	1570 - 1550
NO₂, асимметричное растяжение	1380 - 1360
NO₂, ножницы	650 - 600
NO₂ качание (rock)	530 - 470
<i>Соединения серы</i>	
SO₂, симметричное растяжение	1170 - 1120
SO₂, асимметричное растяжение	1360 - 1290
SO₂, ножницы	610 - 545

■ Интерпретация ИК-спектров.

- Строгих правил для интерпретации ИК-спектров не существует. Для удобства весь интервал частот спектра делят на четыре области и анализируют каждую из них с помощью таблиц характеристических частот.
- **Область I (3700-2500 см⁻¹)** – это «водородная область». Здесь в виде полос проявляются валентные колебания связей, соединяющих атом водорода с атомами кислорода, углерода или серы. С этой высокочастотной области обычно начинают интерпретацию спектра, т.к. в ней содержится меньше полос и легче сделать правильное отнесение.



ИК-спектроскопия

- **Область II (2500-1900 см^{-1})** – это область «тройных связей». Здесь наблюдаются полосы поглощения таких групп, как $\text{C}\equiv\text{C}$, $\text{C}\equiv\text{N}$, а также кумулированных двойных связей, например $\text{C}=\text{C}=\text{C}$ в алленах, $\text{N}=\text{C}=\text{O}$ в изоцианатах.
- **Область III (1900-1300 см^{-1})** – это область «двойных связей». Здесь проявляются полосы валентных колебаний связей $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{N}$, связей атомов C в ароматическом кольце, группы $\text{O}=\text{N}=\text{O}$ и других групп.
- **Область IV (ниже 300 см^{-1})** – это область «отпечатков пальцев». Она содержит полосы, многие из которых не поддаются расшифровке, т.к. обусловлены колебаниями углеродного скелета всей молекулы.

Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Частоты колебаний.

650 1300 1500 1800 2000 2300 2800 4000

Деформационные колебания

Скелетн.
Валентн.
Колебания
C-C,
C-O,
C-N,...

Колебания
C=C,
C=O,
C=N,...

Колебания
C≡C,
C≡N,...

Колебания
C-H,
O-H,
N-H,...

← Отпечатки
пальцев

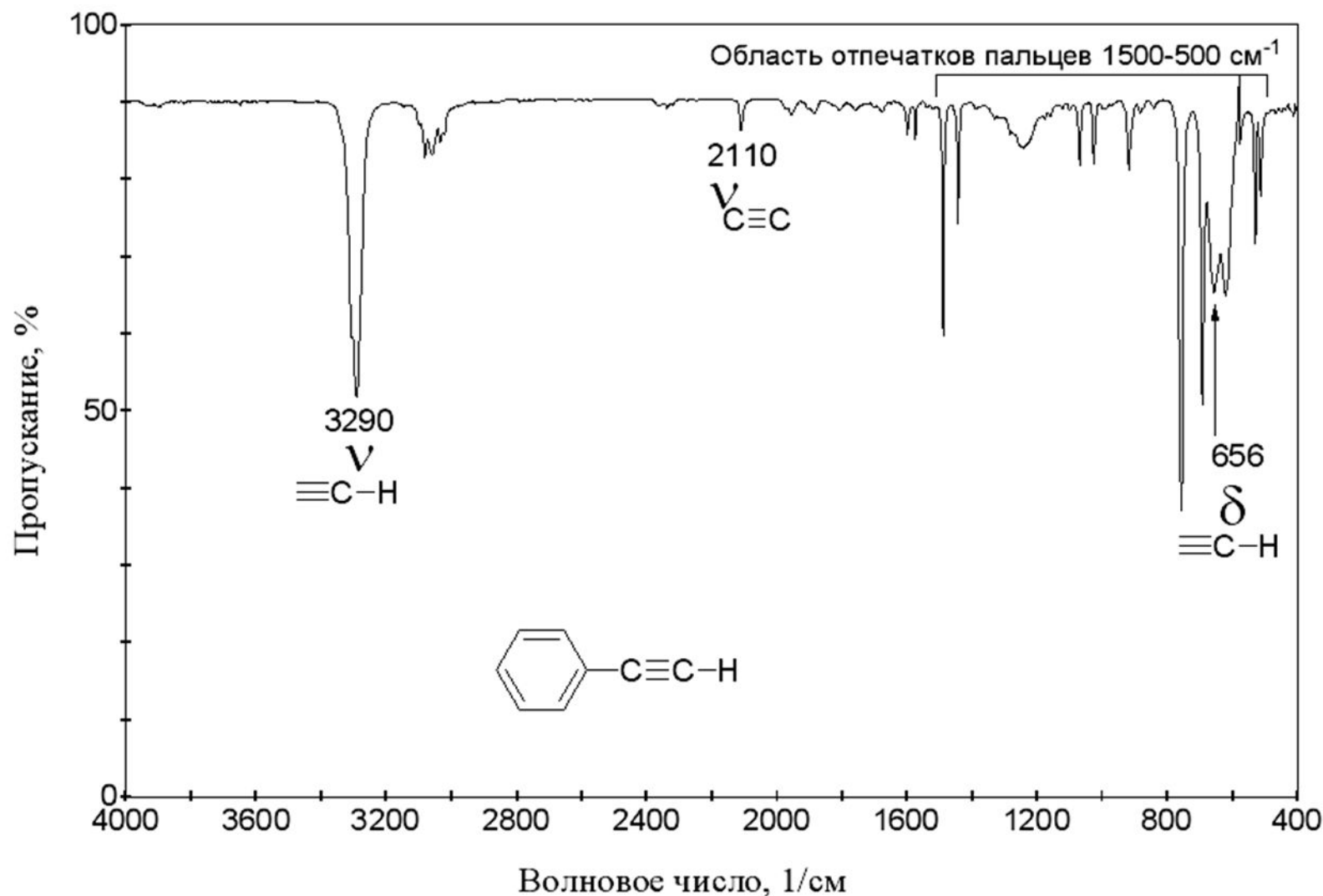
← Область колебаний функциональных групп →

ИК-спектроскопия

- Совпадение частоты сравниваемой полосы с табличным интервалом частот говорит о возможном (но не обязательном) нахождении в молекуле определенного структурного фрагмента. Если же в определенном интервале частот не содержится полос поглощения, то можно сделать однозначный вывод об отсутствии в молекуле групп атомов, дающих полосы поглощения в этой области.
- При анализе ИК-спектров обязательно учитываются условия их съемки.
- Определение структуры соединений по ИК-спектру без привлечения других данных возможно в случае относительной простоты соединений или при наличии эталонных ИК-спектров. Обычно же с помощью ИК-спектров устанавливается наличие отдельных элементов структуры.

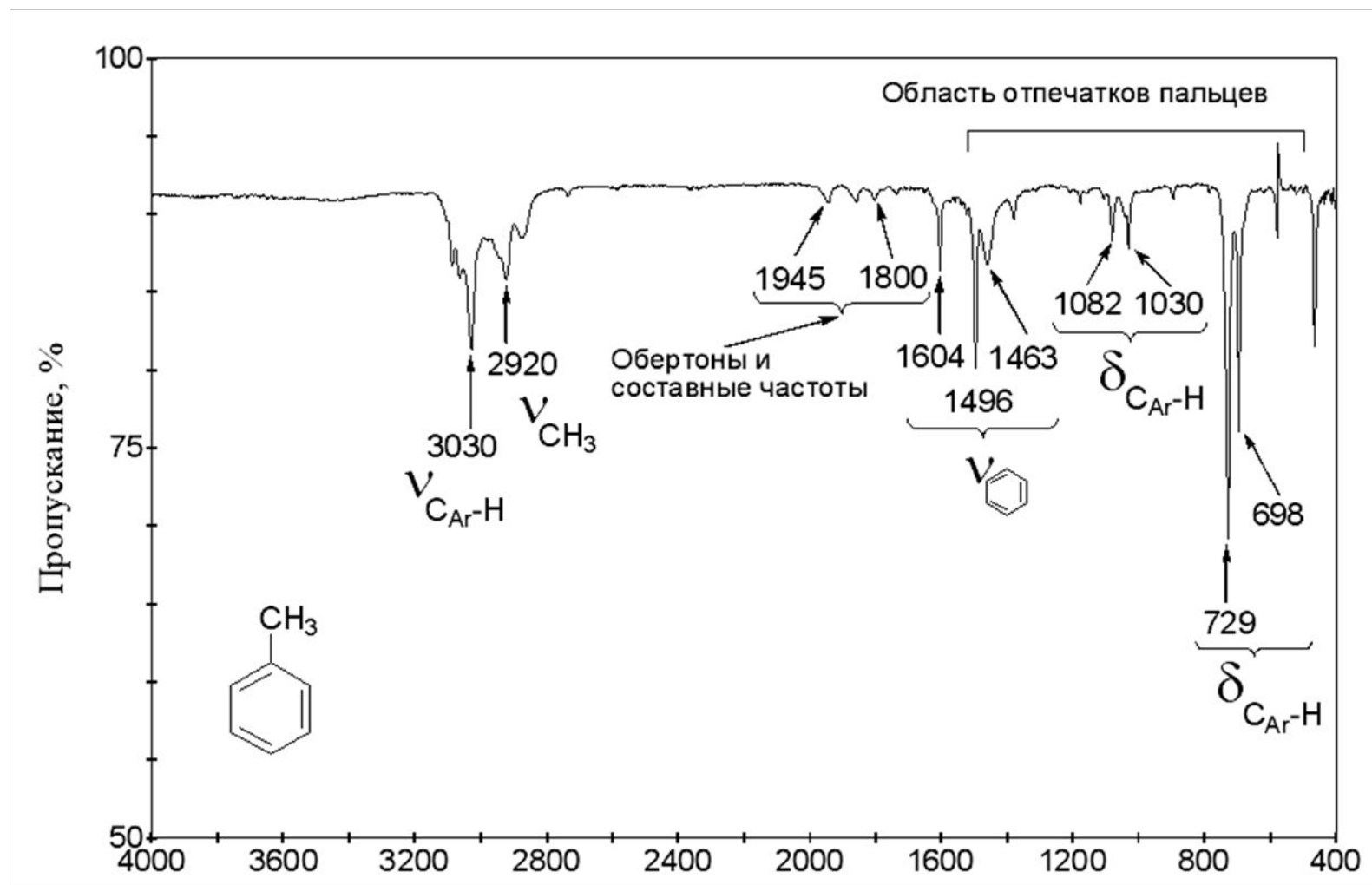
Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Спектры..



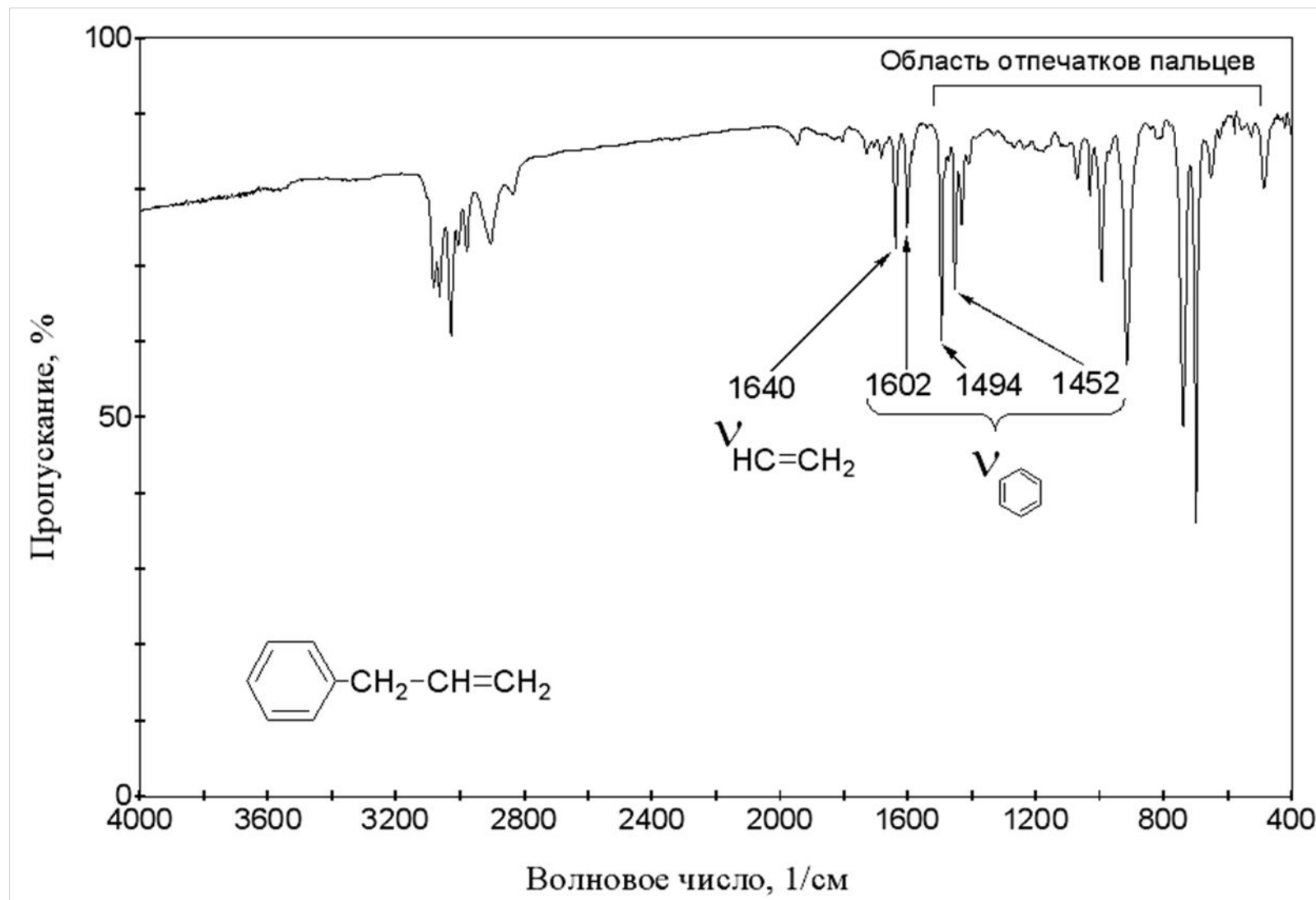
Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Спектры..



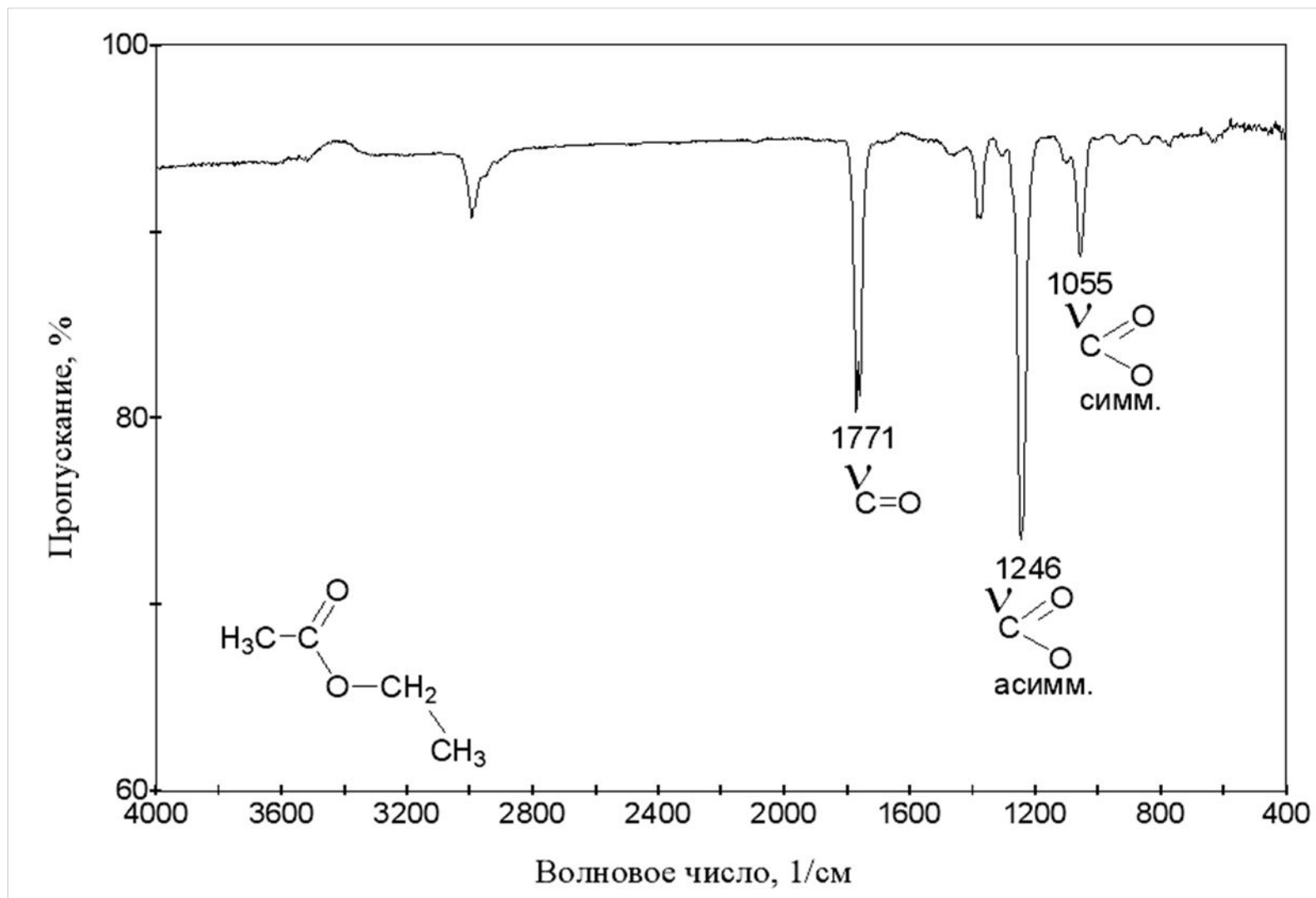
Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Спектры..



Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Спектры..



Колебательная спектроскопия

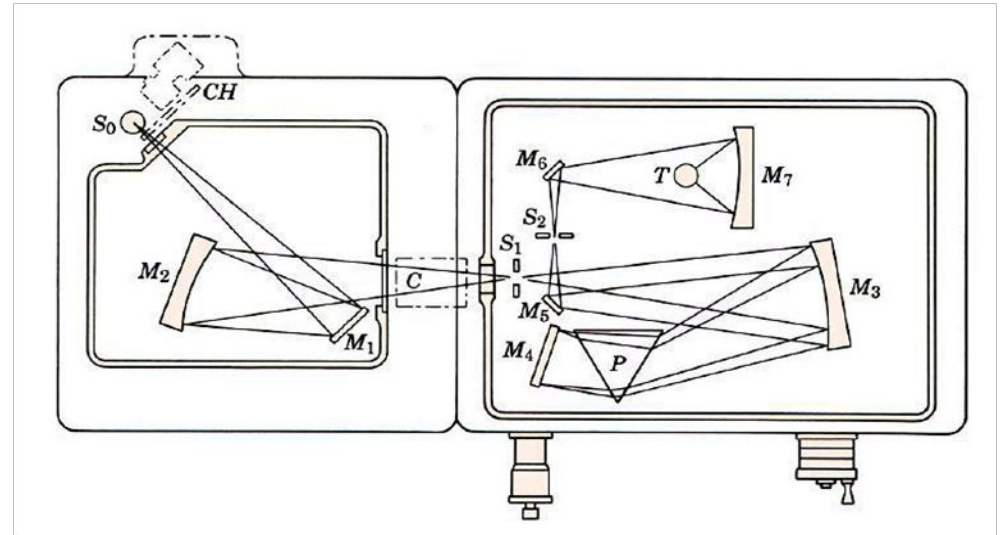
Области применения.

Спектрометры и микроскопы ИК находят широкое применение:

- в материаловедении для исследования любых типов неорганических и органических материалов, включая полупроводниковые элементы,
- в нанотехнологиях для исследования любых типов наноструктур,
- в гемологии, минералогии для изучения драгоценных камней, минералов,
- в органической химии для изучения механизмов реакций и характеристики продуктов синтеза,
- при разработке и контроле различных производственных процессов,
- при проведении криминалистической и таможенной экспертиз,
- в фармацевтике при разработке и контроле производства таблетированных форм и кремов,
- в косметологии для оценки эффективности косметических средств,
- в биологии для изучения культур микроорганизмов, клеточных культур, тканей и природных волокон.

Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Приборы.



Первый серийный ИК-спектрометр
Perkin Elmer Model 12. 1944 г.

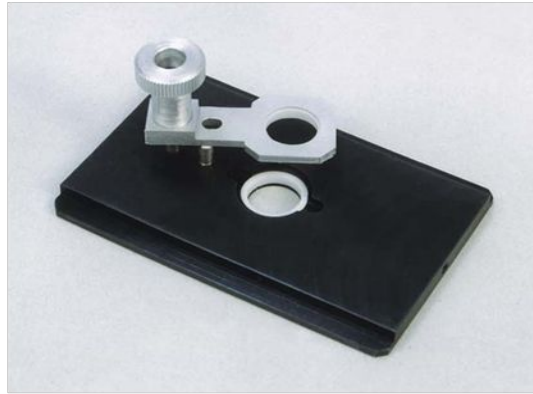
Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Приборы.



Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Аксессуары.



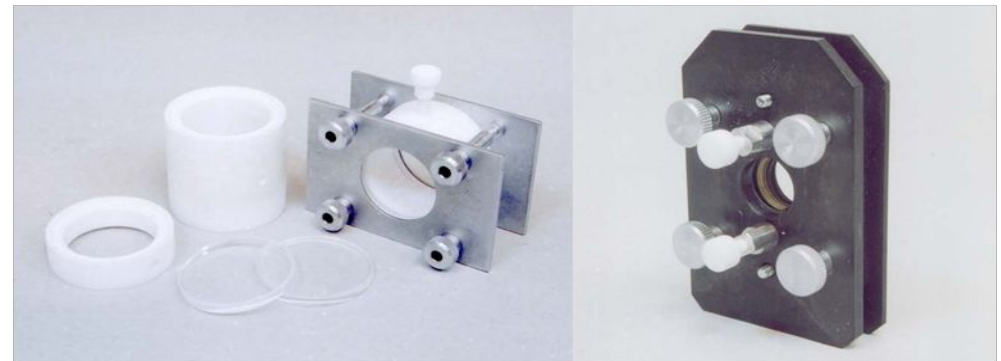
Держатель
таблеток



Приставка для
измерения
пропускания
пластин



Кювета газовая



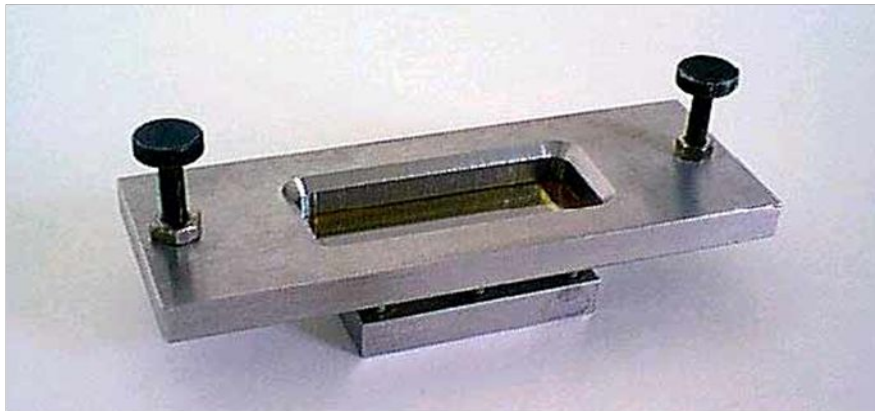
Кювета жидкостная разборная

Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Аксессуары.



Приставка однократного нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО)



Приставка многократного нарушенного полного внутреннего отражения (МНПВО)



Приставка зеркального отражения ПЗО

Колебательная спектроскопия

ИК-спектроскопия. Особенности метода.

- Это неразрушающий метод
- Метод обеспечивает точные измерения, не требующие внешней калибровки
- Можно увеличить скорость, получая сканирование каждую секунду
- Можно увеличить чувствительность – быстрые сканирования суммируются, чтобы уменьшить долю случайных шумов
- Спектрометр имеет большое оптическое пропускание
- Прибор механически прост, имеется только одна подвижная часть.

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса

- Явление ядерного магнитного резонанса
- Протонный магнитный резонанс (ПМР), или ЯМР ^1H
- Основные характеристики спектров ЯМР ^1H
 - Химический сдвиг



ЗАВОЙСКИЙ Евгений Константинович (1907 - 1976)

1941 г. - впервые зарегистрировал сигнал ядерного магнитного резонанса

1944 г. - открытие электронного парамагнитного резонанса

**The Nobel Prize in
Physics 1944**

Isidor Isaac Rabi, USA



За резонансный метод записи магнитных свойств атомных ядер

**The Nobel Prize in
Physics 1952**

**Felix Bloch, USA
Edward Mills Purcell, USA**



За создание нового метода измерения ядерной магнитной прецессии и последующие связанные с ним открытия

**The Nobel Prize in
Chemistry 1991**

Richard R. Ernst, Switzerland



За вклад в развитие методологии спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) высокого разрешения

**The Nobel Prize in Chemistry
2002**

Kurt Wüthrich, Switzerland



За развитие методов спектроскопии ядерного магнитного резонанса для исследования трехмерной структуры биологических макромолекул в растворе

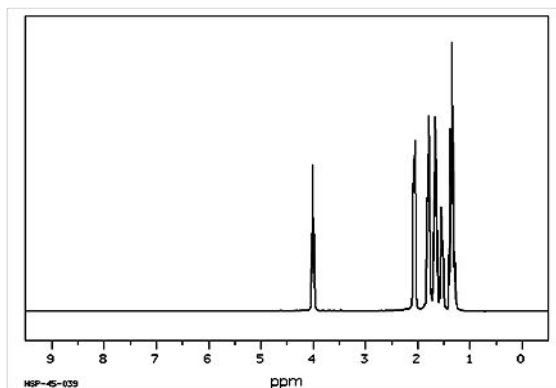
**The Nobel Prize in Physiology or
Medicine 2003**

**Paul C. Lauterbur, USA
Sir Peter Mansfield, UK**



За открытия в области визуализации био-объектов

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса



Спектроскопия ядерного магнитного резонанса регистрирует переходы между магнитными энергетическими уровнями атомных ядер, вызываемые радиочастотным излучением

Сигналы в спектрах ЯМР могут давать только ядра атомов, обладающих нечетным спиновым числом.

Спиновое квантовое число ядра – число протонов и нейтронов в ядре

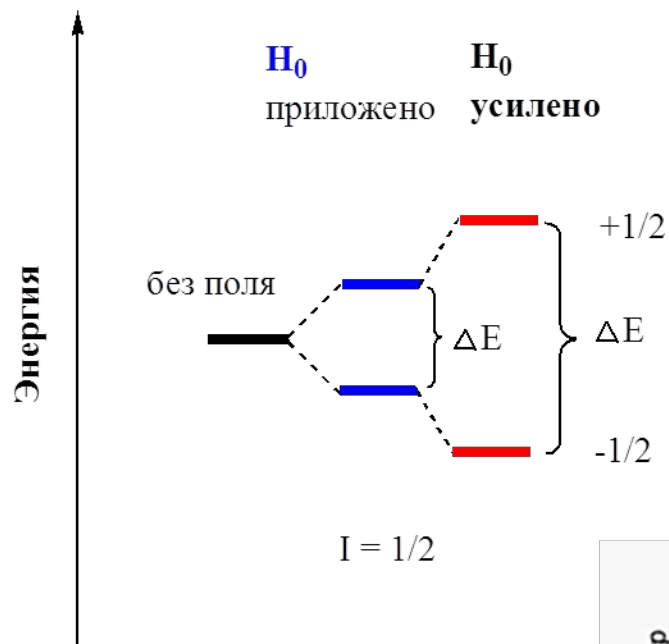
Ядро со спином I может находиться в магнитном поле в $2I+1$ состояниях

Из ядер атомов, наиболее часто встречающихся в органических соединениях, магнитным моментом обладают изотопы ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P , ^{15}N , ^{17}O

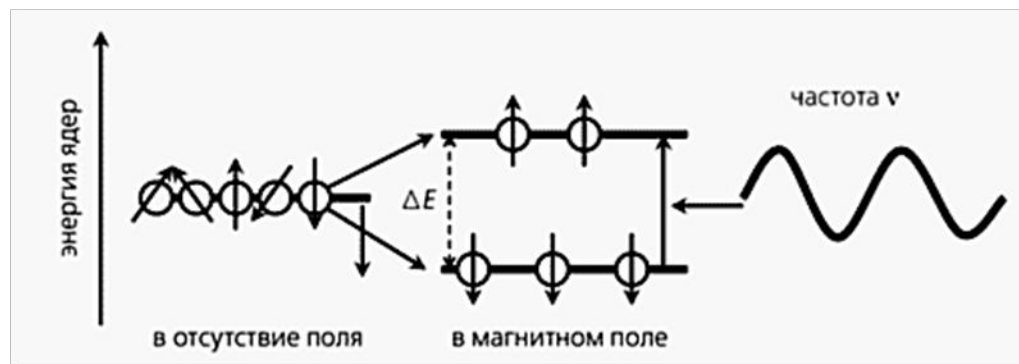
Наибольшее распространение в исследовании органических лекарственных веществ имеет спектроскопия протонного магнитного резонанса (ПМР) и ЯМР ^{13}C

Явление ядерного магнитного резонанса

Образование уровней энергии ядра при наложении внешнего магнитного поля H_0

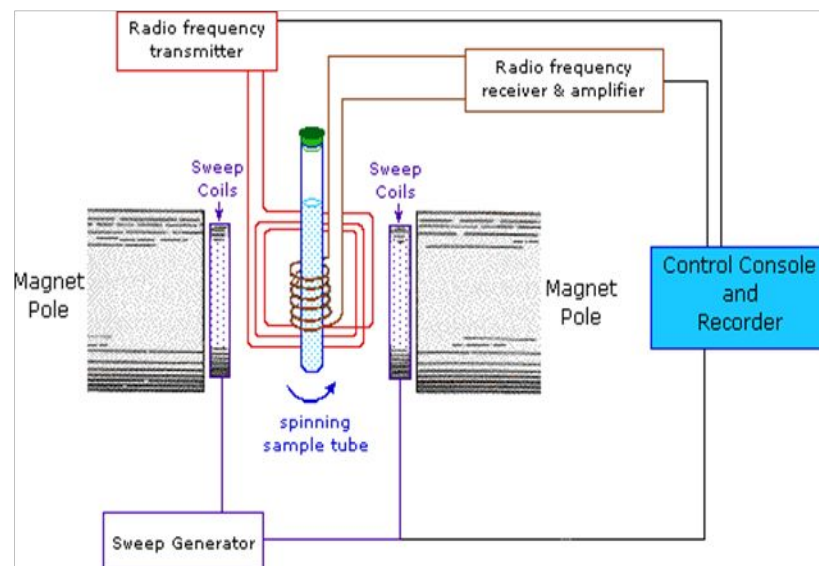


Эксперимент ЯМР состоит в том, чтобы сообщить энергию ядру и перевести его с одного энергетического уровня на другой, более высокий энергетический уровень



Значение ΔE зависит от молекулярного окружения возбуждаемого ядра, потому что имеется возможность связать величину ΔE со строением молекулы и в конечном итоге определить структуру всей молекулы

Аппаратурное оформление эксперимента ЯМР



Сердце спектрометра ЯМР - магнит



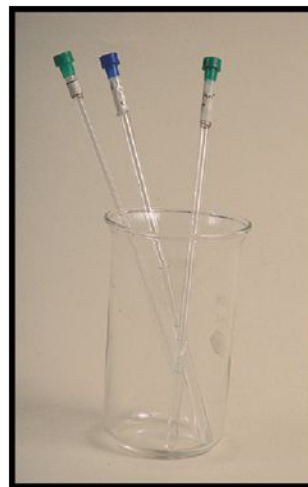
Магнит спектрометра Bruker AVANCE 600 МГц в Центре магнитной томографии и спектроскопии МГУ



Магнит спектрометра Varian 900 МГц

Протонный магнитный резонанс

Методом ЯМР спектроскопии исследуются, как правило, **растворы веществ**, однако ЯМР-анализ можно проводить и в **твердой фазе**. Для анализа необходимо ~ **20 мг** образца.



Для проведения анализа используются дейтерированные растворители

Выбор растворителя определяется растворимостью анализируемого вещества и наиболее полным разделением сигналов резонанса вещества и растворителя, если последний содержит ядра, по которым проводится регистрация спектра ЯМР

ацетон- d_6 ;

ацетонитрил- d_3 ;

ДМСО- d_6 ;

четырёххлористый углерод;

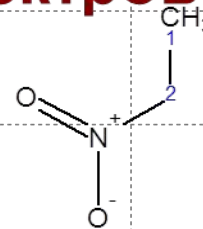
хлороформ- d_3

Основными характеристиками спектров ЯМР ^1H являются:

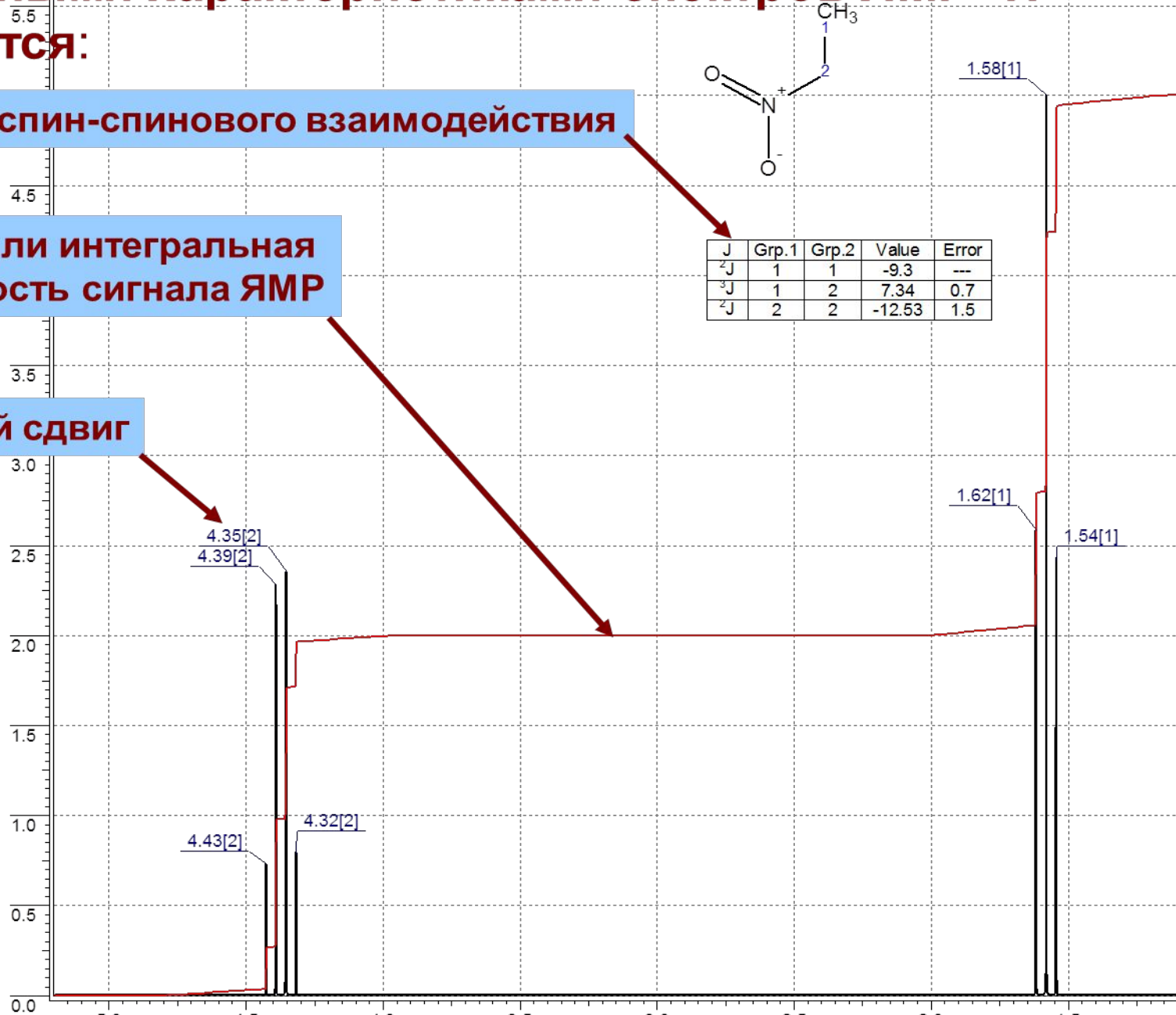
константы спин-спинового взаимодействия

площадь, или интегральная интенсивность сигнала ЯМР

химический сдвиг



J	Grp.1	Grp.2	Value	Error
^2J	1	1	-9.3	---
^3J	1	2	7.34	0.7
^2J	2	2	-12.53	1.5



Измеряемые параметры ЯМР

Наблюдаемые параметры

Химические сдвиги ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P

Интегральные интенсивности сигналов

Скорости обмена подвижных протонов на дейтерий

Константы спин-спинового взаимодействия (через химическую связь)

Ядерные эффекты Оверхаузера (взаимодейств. через пространство)

Ширины линий, времена релаксации ядер, кросс-релаксация

Константы диполь-дипольного взаимодействия

Получаемая из них информация

Отнесение сигналов, вторичная структура белка, НК и т.д.

Количество измеряемого компонента, кинетические характеристики

Положение водородных связей, сворачивание и разворачивание белка и НК

Характеристика хим. связей (^1J и ^2J), диэдральные углы (^3J), водородные связи (^{2h}J и ^{3h}J)

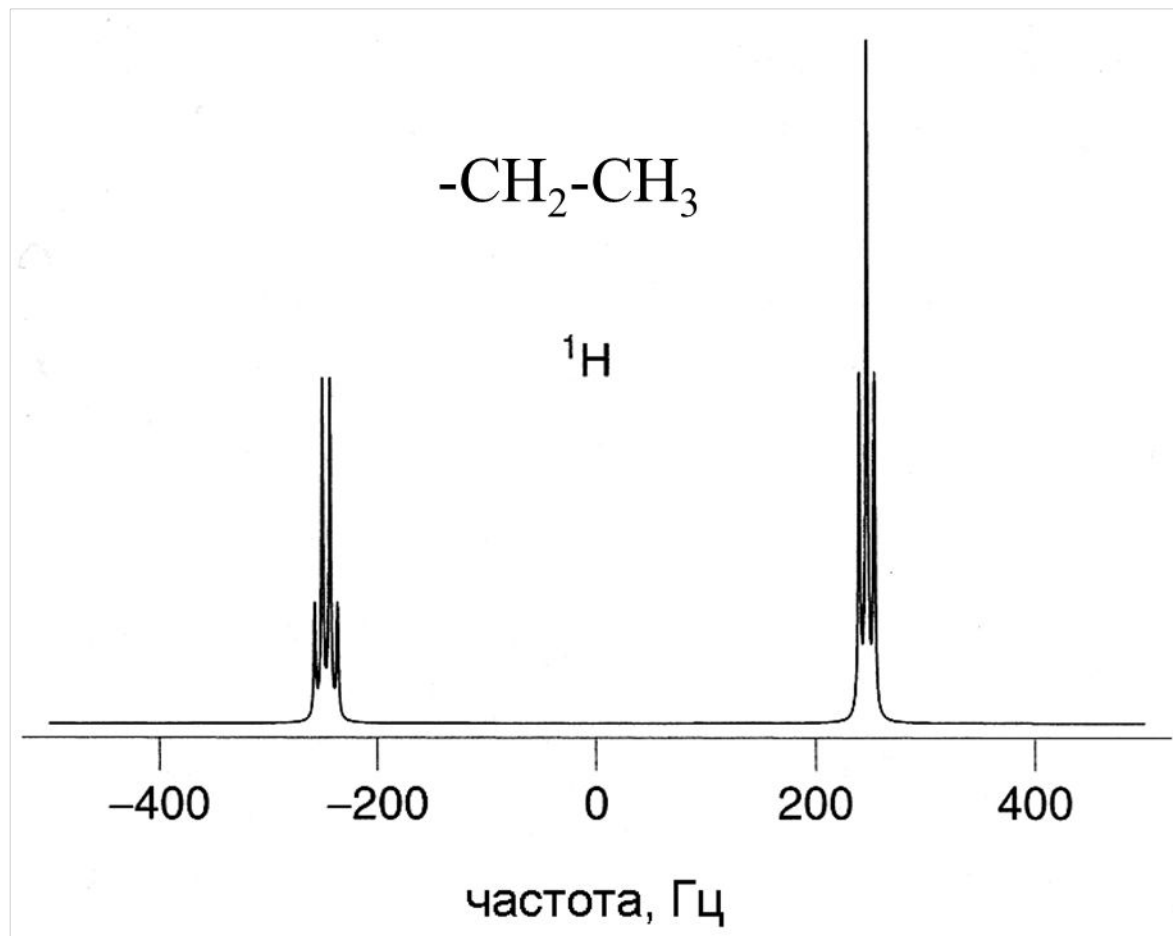
Расстояния между ядрами ($^1\text{H} - ^1\text{H} < 5\text{Å}$), динамические характеристики ($^1\text{H} - ^{15}\text{N}$ и т.п.)

Динамика, подвижность биомолекулы, конформационные переходы

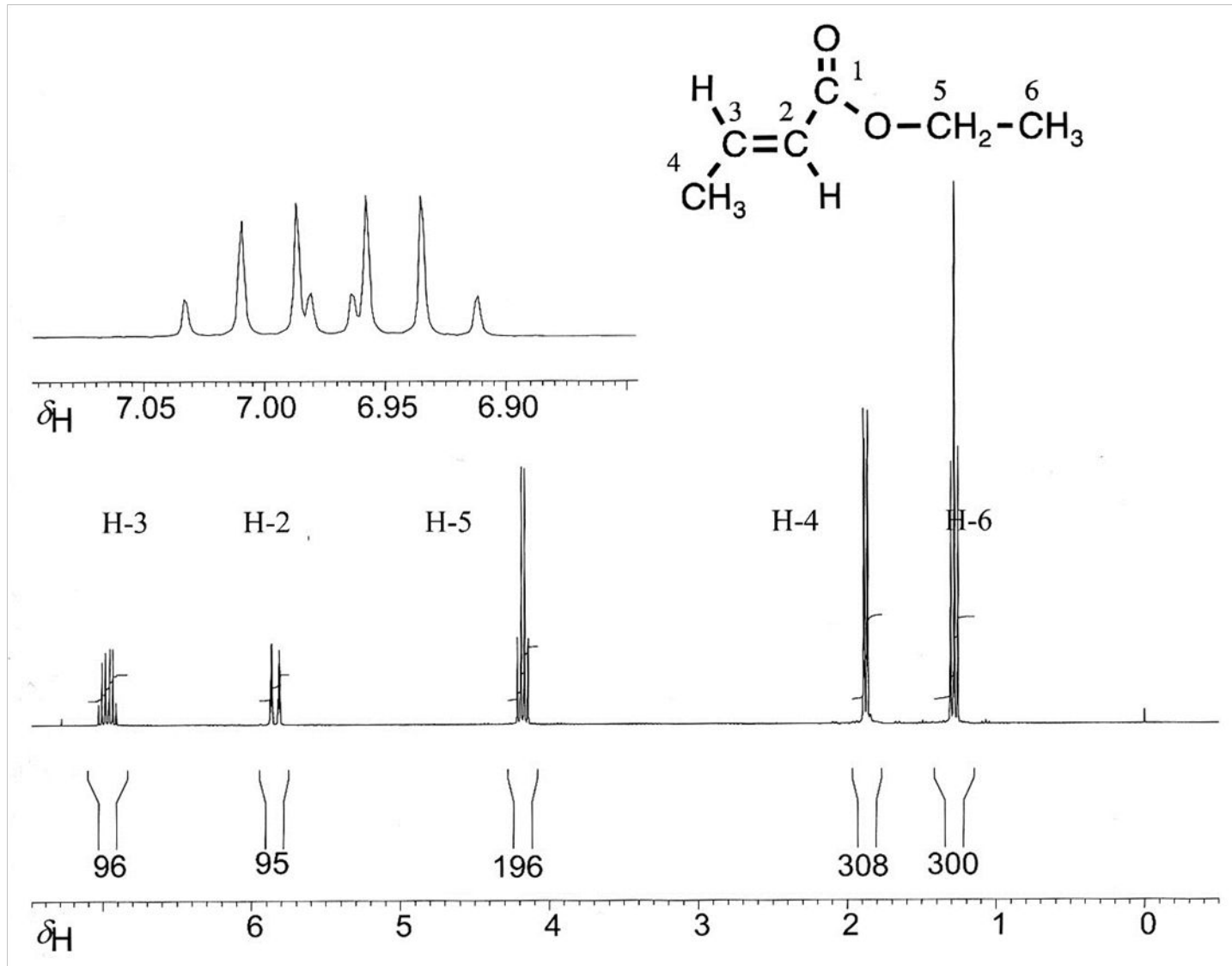
Ориентация белковых доменов и биомолекулы в целом, динамические эффекты

Взаимодействие ядер

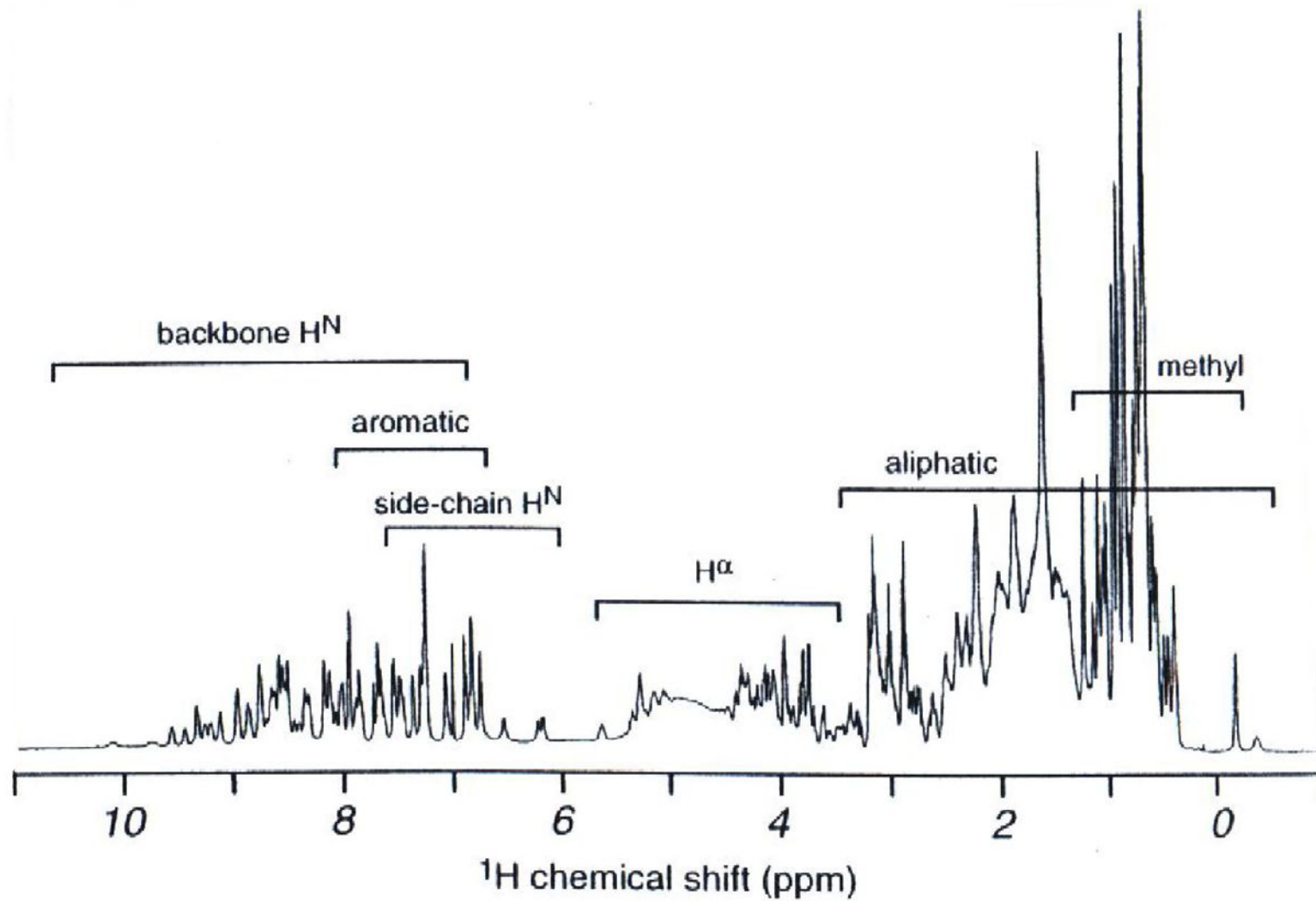
Спин-спиновое взаимодействие (посредством системы электронов => через химические связи)



Спектр ЯМР простого вещества



Спектр ЯМР белка



Важнейшие области применения спектроскопии ЯМР

1. Изучение строения и свойств органических соединений
2. Определение структуры биомакромолекул
3. Изучение динамических свойств биомолекул
4. Изучение белок-лигандных взаимодействий (ЯМР-скрининг биологически активных соединений)
5. Мониторинг состава биологических жидкостей (метабономика)
6. Визуализация объектов живой и неживой природы (ЯМР-томография)
7. Мониторинг процессов, происходящих в живом организме (in-vivo спектроскопия)
8. Исследование функциональной активности мозга (f-MRI)