

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

В. Б. ЕВСТИГНЕЕВ

**ПРИМЕНЕНИЕ ТЯЖЕЛОЙ ВОДЫ В КАЧЕСТВЕ РАСТВОРИТЕЛЯ  
ДЛЯ СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ  
В БЛИЖНЕЙ ИНФРАКРАСНОЙ ОБЛАСТИ**

(Представлено академиком А. Н. Терениным 27 XII 1952)

Обычная вода, прозрачная для видимых и ультрафиолетовых лучей, обладает рядом весьма сильных полос поглощения в инфракрасной области спектра, что почти полностью исключает применение ее в качестве растворителя для инфракрасной спектроскопии. В частности, в ближней инфракрасной области, где расположены полосы, соответствующие обертонам частот колебаний атомных групп типа ХН, у воды имеется сильная полоса поглощения с максимумом около  $1,46\mu$ , обусловленная связанной группой ОН, и это делает воду совершенно не пригодной для работы при длинах волн  $1,1-2\mu$ .

Тяжелая вода показывает значительно меньшее поглощение в этой области благодаря тому, что частоты колебаний ОД сильно сдвинуты в длинноволновую сторону по сравнению с ОН (1). Как следует из рис. 1, представляющего полученные нами дифференциальные кривые поглощения для односантиметровых слоев  $\text{H}_2\text{O}$  и  $\text{D}_2\text{O}$ , поглощение последней выражено в виде довольно слабых полос, интенсивность которых несравненно меньше интенсивности полосы обычной воды. Поэтому тяжелую воду в не очень толстых слоях можно считать почти прозрачной в указанном участке спектра, по крайней мере по сравнению с обычной водой.

Отсюда следует, что тяжелая вода может быть использована в качестве растворителя при исследовании свойств воднорастворимых и, в частности, биохимически важных соединений, по спектрам поглощения в ближней инфракрасной области. Попытке показать это на ряде примеров растворов различных воднорастворимых соединений посвящено данное сообщение\*.

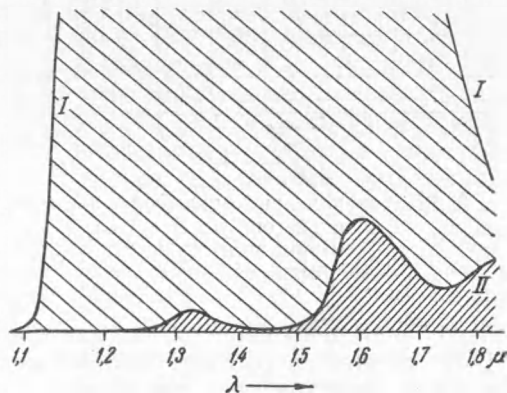


Рис. 1. Дифференциальные кривые поглощения  $\text{H}_2\text{O}$  (I) и  $\text{D}_2\text{O}$  (II). Толщина слоя 1 см. Снято против пустой кюветы.  $\text{H}_2\text{O}$  показывает мощную полосу поглощения, контуры которой выходят далеко за пределы рисунка

\* Недавно были опубликованы результаты довольно успешной попытки использования  $\text{D}_2\text{O}$  в качестве растворителя при работе в некоторых участках спектра в области  $> 5\mu$  между сильными полосами поглощения (2).

Все измерения были проведены на инфракрасном спектрографе конструкции Ярославского — Теренина, описанном в литературе (3). Этот прибор предназначен прежде всего для работы дифференциальным методом, при котором результаты измерений выражаются дифференциальными кривыми с полосами поглощения в виде поднимающихся кверху более или менее острых пиков, положение которых по спектру можно весьма точно определить. Для измерения величин коэффициентов поглощения на данном приборе необходимо пользоваться другим — однолучевым методом с последовательной съемкой кривых пропускания для растворителя и раствора.

Примененные в работе вещества, кроме некоторых, были обычными химически чистыми реактивами. Для измерения спектров поглощения в

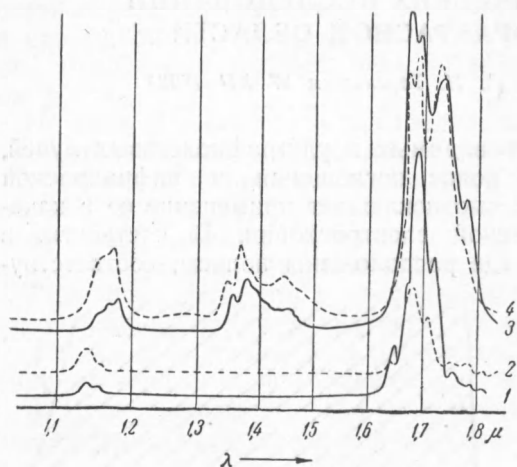


Рис. 2. Дифференциальные кривые поглощения пиридина (1, 2) и ацетона (3, 4) в  $\text{CCl}_4$  (1, 3) и  $\text{D}_2\text{O}$  (2, 4). Усиление при съемке кривых 2 и 4 было большим

случае большинства исследованных веществ приготавлился раствор 0,5 г вещества в 2 мл  $\text{D}_2\text{O}$ . Для веществ с меньшей растворимостью использовался насыщенный раствор. Измерение проводилось в кювете с толщиной слоя 1 см; в качестве контроля служила подобная же кювета, наполненная чистой  $\text{D}_2\text{O}$ .

Перед изложением полученных результатов необходимо отметить следующее. Известно, что при растворении в  $\text{D}_2\text{O}$  или даже суспендировании в  $\text{D}_2\text{O}$  нерастворимых соединений, содержащих атом водорода, в ряде случаев происходят интенсивные обменные реакции (см. обзор в (4)).

Водород этих соединений в большей или меньшей степени заменяется на дейтерий растворителя, а в  $\text{D}_2\text{O}$  появляется соответствующее количество НОД. Скорость реакции обмена неодинакова для различных групп атомов, содержащих Н. В то время как равновесие для таких групп, как ОН, NH, SH, достигается почти мгновенно даже в нейтральной среде, группа СН как ароматических, так и алифатических соединений только с большим трудом и только в присутствии сильных щелочей или кислот обменивает свой водород на дейтерий.

Таким образом, при растворении в  $\text{D}_2\text{O}$  соединений, содержащих группы типа ХН, можно ожидать, что в их ближнем инфракрасном спектре останутся неизменными полосы поглощения, соответствующие группам, неспособным к быстрому обмену своего водорода на дейтерий, а полосы, обусловленные группами, содержащими подвижный водород, почти целиком заменяются на полосу ОН в НДО.

Так как интенсивные обертона частот колебаний групп OD, ND и т. д. лежат в более далеком участке спектра, то поглощение с максимумом около 1,46—1,48  $\mu$  будет почти целиком определяться именно этой полосой ОН.

На рис. 2 приводятся примеры дифференциальных спектров поглощения растворенных в тяжелой воде и  $\text{CCl}_4$  ацетона и пиридина, которые не содержат атомных групп с подвижным водородом. Сравнивая спектры в обоих растворителях, можно отметить почти полное их подобие для того и другого соединения. Положение полос по шкале длин волн остается почти без изменения. Несколько различается относитель-

ная величина полос, что, очевидно, объясняется разницей в степени взаимодействия молекул растворенного вещества с растворителем.

Отсюда следует, что в случае такого типа соединений вполне возможно пользоваться  $D_2O$  как растворителем для изучения их спектра поглощения в ближней инфракрасной области. Сравнение спектров водных растворов со спектрами в других более инертных растворителях, как, например, в  $CCl_4$ , позволяет судить о воздействии молекул растворенных веществ с молекулами воды.

На рис. 3 приводится спектр поглощения раствора фенола в  $D_2O$  сразу после растворения наряду с спектром в  $CCl_4$ . Неизменным в обоих случаях остается положение полос с максимумами 1,14  $\mu$  и 1,67—1,68  $\mu$ , соответствующих гидрофобной группе бензольного ядра,

а максимум, обусловленный группой OH и лежащий в  $CCl_4$  при 1,42  $\mu$  перемещается в  $D_2O$  в положение 1,46—1,48  $\mu$ , что соответствует OH, находящейся в жидкой  $H_2O$  или HDO.

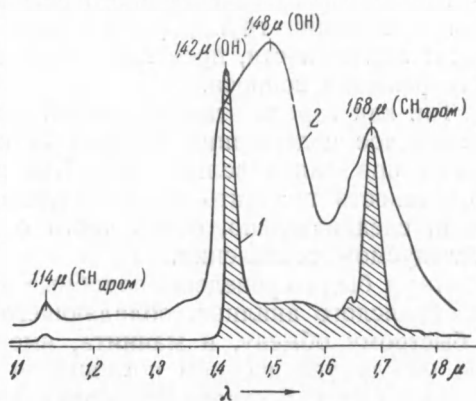


Рис. 3. Дифференциальные кривые поглощения растворов фенола: 1—в  $CCl_4$ , 2—в  $D_2O$ . Кривая 2 снята при большем усилении

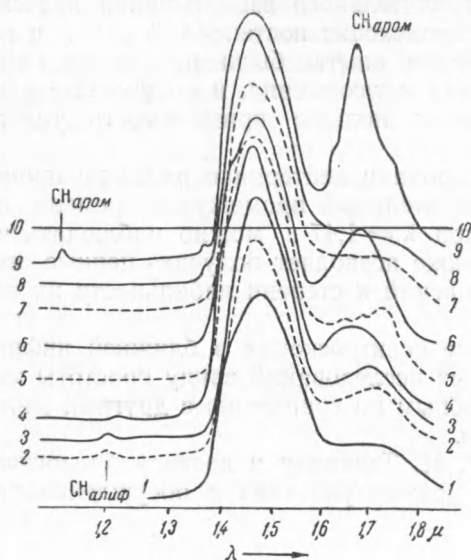


Рис. 4. Дифференциальные кривые поглощения растворов в  $D_2O$ : 1 —  $H_2O$ , 2 — маннита, 3 — сахарозы, 4 — мочевины, 5 — солянокислого цистина, 6 — глутамина (20%, растворен при нагревании), 7 —  $NH_4Cl$ , 8 — солянокислого гидроксилана, 9 — солянокислого анилина, 10 —  $KCl$

исследуемом веществе групп, содержащих подвижный водород, и только в частных случаях, когда в исследуемом веществе может иметься или не иметься заведомо только одна из этих групп, можно сделать заключение именно об ее отсутствии или присутствии. Необходимость быстрого решения задач такого типа встречается достаточно часто, так что в

На рис. 4 приведены дифференциальные спектры ряда растворов соединений, содержащих группы OH, NH, SH, снятые с применением  $D_2O$  в качестве растворителя. Для сравнения на этом же рисунке приводятся кривые поглощения  $H_2O$  и  $KCl$ , растворенных в  $D_2O$ . Все кривые доказывают правильность вышеприведенных соображений. Полосы поглощения тех групп атомов, которые содержат H, неспособный быстро замещаться на D, остаются на своих местах, и по их положению можно судить о присутствии данных групп в молекуле, а группы OH, NH, SH (в цистине) дают одну и ту же полосу OH (1,46—1,48  $\mu$ ).

Таким образом, в общем случае по спектру поглощения в ближней инфракрасной области, снятому для растворов в тяжелой воде, можно судить исключительно о суммарном наличии в

этом отношении применение  $D_2O$  в качестве растворителя представляет большой интерес.

Кроме такого качественного решения вопроса о наличии в исследуемом соединении групп, содержащих лабильный водород, весьма интересны возможности, представляемые данной методикой для количественного решения вопроса.

Так как в результате обменной реакции в растворе образуется  $HOD$ , процентное содержание которой легко определить по величине поглощения при длине волны  $1,46-1,48 \mu$ , то измерение поглощения дает возможность получить представление о количестве лабильного водорода и, следовательно, очень часто о количестве тех или иных групп в исследуемом соединении.

Нами были проведены подобные измерения и расчеты для растворов солянокислого анилина, обладающего 3 атомами водорода, способными к быстрому обмену, и маннита, имеющего 6 таких атомов. Соотношение между увеличением поглощения при длине волны  $1,47 \mu$  и содержанием  $OH$  в растворе устанавливалось в предварительных опытах с прибавлением известного количества  $H_2O$  и  $D_2O$ . Полученные цифры (4,1 атома  $H$  для солянокислого анилина и 6,2 атома  $H$  для маннита) вполне удовлетворительно соответствовали тем, которые можно было ожидать, принимая во внимание формулу взятых соединений.

В том случае, когда исследуемые соединения недостаточно хорошо растворимы, чтобы возможно было получить требуемые концентрации в 10—20%, обменная реакция может быть проведена или при более высокой температуре, когда растворимость значительно выше (а измерение после охлаждения), или путем длительного взбалтывания навески вещества с  $D_2O$ , в результате чего происходит постепенный обмен в гетерогенных условиях. Соответствующие опыты были проведены нами для амидов аминокислот — аспарагина и глютамина, и полученные данные измерений опять-таки показывают полную применимость такого приема исследований.

В тех случаях, когда обмен водорода и дейтерия в растворе происходит не мгновенно, а занимает значительный промежуток времени, по изменению величины поглощения при  $\lambda = 1,47 \mu$  можно наблюдать за кинетикой обменной реакции, что также позволяет получить ценные сведения о строении исследуемых соединений и степени лабильности их водородных атомов.

Следует отметить, что применение спектроскопии в ближней инфракрасной области для вышеупомянутых исследований ввиду простоты методики представляется особенно удобным по сравнению с другими методами, применяемыми для этой цели.

Приношу благодарность акад. А. Н. Теренину и доктору биологических наук А. А. Красновскому за ценные указания и обсуждение работы.

Институт биохимии им. А. Н. Баха  
Академии наук СССР

Поступило  
4 XI 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> G. Champetier, R. Freymann, Yeau Ta, Bull. Soc. Chim., (5), 5, 929 (1938); L. Kellner, Proc. Roy. Soc. London, A 159, 410 (1937). <sup>2</sup> R. Gore, B. Barnes, E. Peterson, Anal. Chem., 21, 382 (1949); H. Lenormant, C. R., 234, 1959 (1952); H. Lenormant, J. Chouteau, C. R., 234, 2057 (1952). <sup>3</sup> А. Н. Теренин, Н. Г. Ярославский, Acta Physico-chimica URSS, 17, 240 (1942); Изв. АН СССР, сер. физ., 9, 203 (1945). <sup>4</sup> Г. П. Миклухин, Усп. хим., 17, 663 (1948).