

УДК 543.422.4:646.212

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫЙ МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ ИК-СПЕКТРОВ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ В ОБЛАСТИ 1550—1750 см^{-1}

Б. В. ЖАДАНОВ, И. А. ПОЛЯКОВА, А. В. ЧЕКУНОВ

(Кафедра физики)

ИК-спектры водных растворов, как правило, снимают в кюветках из монокристаллического кремния, флюорита, BaF_2 , AgCl KRS-5, толщина слоя которых составляет 20—40 мкм, а концентрация раствора — не менее 0,1 моль/л. При получении этих спектров область 1550—1750 см^{-1} маскируется широкой интенсивной полосой поглощения воды с максимумом 1650 см^{-1} . В то же время это одна из наиболее информативных областей в ИК-спектроскопии. В ней лежат характеристические частоты многих функциональных групп (COOH , COO^- , C=O , NH_2 , N+H_3 , HCO_3 , C=C кольца и др.) [1].

Для записи ИК-спектров водных растворов в области 1550—1750 см^{-1} обычно используют тяжелую воду D_2O , не имеющую полос поглощения в этой области [3]. Однако такая замена не является равноценной, так как при переходе от растворов в H_2O к растворам в D_2O в ИК-спектрах могут существенно меняться значения частот валентных колебаний даже тех групп, которые не участвуют в дейтеробмене. Например, полоса 1573 см^{-1} (ν_{as} COO) в спектре моноаццилата натрия смещается на 25 см^{-1} в длинноволновую область при переходе к растворам в D_2O [2]. В работе [4] установлено смещение полос $\nu\text{C=O}$ (амид I) в спектрах водных растворов протеинов на 13—15 см^{-1} в длинноволновую область. В то же время при исследовании биологических и медицинских объектов (кровь, молоко, моча, сок растений и другие), представляющих собой водные растворы, в процессе выпаривания H_2O и растворения сухого остатка в D_2O возможны необратимые изменения некоторых компонентов. Поэтому при исследовании водных биологических систем важно получать их спектры без использования в качестве растворителя тяжелой воды. Ранее [4] был зарегистрирован ряд спектров водных растворов протеинов в обычной воде в области 1550—1750 см^{-1} с использованием дифференциального метода. Однако погрешность компенсации собственного поглощения воды при этом экспериментально не контролировалась.

В данной работе предложен компенсационный метод получения ИК-спектров водных растворов биологических систем в области сильного собственного поглощения воды в тонких слоях (10 мкм). Контроль

за точностью проводился нами по полосе воды с максимумом поглощения 2130 см^{-1} .

Экспериментальная часть

При толщине слоя воды 10 мкм максимальное поглощение в области 1500—1750 см^{-1} составило около 90%. Это дает возможность получать в указанной области спектры хорошего качества в растворах H_2O при условии компенсации собственного поглощения воды. Из-за большой интенсивности полосы 1650 см^{-1} различие в толщинах слоя рабочей и сравнительной кюветки даже в 1 мкм приводит к заметному искажению спектра. Поэтому толщина одной из кювет (лучше, если это кювета сравнения) должна быть переменной при обеспечении регулировки ее с точностью $\pm 0,2$ мкм. Однако даже если толщины слоя рабочей кюветы и кюветы сравнения уравнены с такой точностью, это не гарантирует получения правильных результатов, так как в растворе, находящемся в рабочей кювете, кроме воды, присутствует растворенное вещество в количестве не менее 0,5 моля для слоя 10 мкм. Следовательно, полоса поглощения воды в рабочей кювете будет менее интенсивной, чем в кювете сравнения.

В области 1600—1700 см^{-1} , как правило, наблюдаются интенсивные полосы поглощения растворенных соединений. По этой причине полоса воды 1650 см^{-1} для контроля компенсации поглощения растворителя непригодна.

Представляется целесообразным использовать для контроля за правильностью компенсации поглощения воды полосу 2130 см^{-1} , относящуюся к $\nu_2 + \nu_L$ колебаниям воды. В этой области большинство химических соединений не имеет интенсивных полос поглощения, за исключением тех, которые содержат группировку $\text{C}\equiv\text{N}$. Количество таких соединений весьма ограничено [1].

В настоящей работе приведены ИК-спектры некоторых водных систем, представляющих интерес в биологическом и медицинском отношениях и полученных по предлагаемому способу компенсации собственного поглощения воды в рабочей кювете с использованием полосы 2130 см^{-1} . Измерения проводили на инфракрасном спектрометре UR-20 с максимально широкой щелью (щелевая программа 8) и большим усилением (8,5), во флюоритовых кюветках толщиной 10 мкм. Объектами исследований

служили пастеризованное коровье молоко, кровь человека, свежеприготовленный и упаренный в 3 раза сок алоэ (*Aloe arborescens*), раствор диметилформамида (ДМФ) в воде и хлороформе 0,5 моль/л для проверки правильности предлагаемого метода. Для замены H_2O на D_2O 1 мл молока и 1 мл концентрата сока высушивали над P_2O_5 в вакуум-эксикаторе и растворяли сухие остатки в 1 мл D_2O .

Рабочая кювета постоянной толщины (10 мкм) заполнялась исследуемым раствором, в канал сравнения помещалась кювета переменной толщины, установленная на толщину 9 мкм и заполненная дистиллированной водой. При регистрации спектра в области $2000-2200\text{ см}^{-1}$ толщина кюветы сравнения регулировалась таким образом, чтобы спектр в этой области представлял собой практически прямую линию без наличия заметно выраженного максимума или минимума полосы поглощения 2130 см^{-1} . Это служило признаком полной компенсации поглощения воды в рабочей кювете для области $1550-1750\text{ см}^{-1}$.

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 приведены ИК-спектры растворов ДМФ в H_2O , D_2O и хлороформе. В области $1550-1750\text{ см}^{-1}$ спектры максимумов полос поглощения $\nu C=O$ практически совпадали (1656 см^{-1} для H_2O и 1655 см^{-1} для D_2O), что подтверждает правильность предложенного метода компенсации собственного поглощения воды. Однако следует отметить, что полоса $\nu C=O$ в спектре раствора в H_2O шире, чем в D_2O (полуширина в случае H_2O 40, в случае D_2O 21,3 см^{-1}), и имеет меньшую интенсивность пика. В то же время интегральные интенсивности полосы $\nu C=O$ в обоих спектрах приблизительно одинаковы. По ширине и интенсивности $\nu C=O$ ДМФ в хлороформе близка к

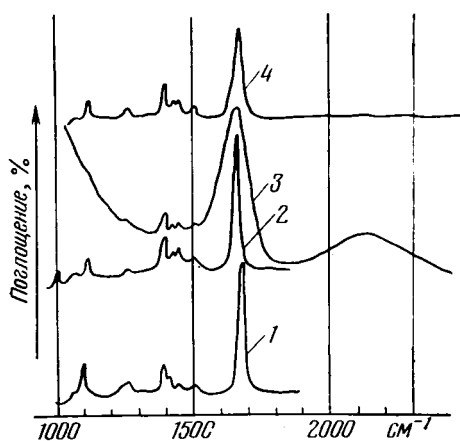


Рис. 1. ИК-спектры поглощения 0,5 М растворов диметилформамида во флюоритовых кюветах толщиной 10 мкм. 1 — в хлороформе с компенсацией поглощения хлороформа; 2 — в D_2O с компенсацией поглощения D_2O ; 3 — в H_2O без компенсации поглощения H_2O ; 4 — в H_2O с компенсацией поглощения H_2O .

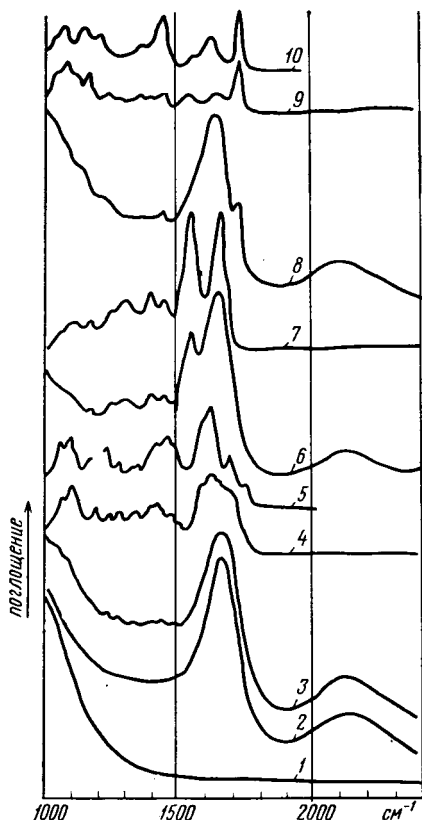


Рис. 2. ИК-спектры поглощения стекла CaF_2 (1), H_2O (2), концентрата сока алоэ без компенсации поглощения H_2O (3) и с его компенсацией (4); в D_2O с компенсацией поглощения D_2O (5); крови человека без компенсации поглощения H_2O (6) и с его компенсацией (7); пастеризованного коровьего молока без компенсации поглощения H_2O (8) и с его компенсацией (9); в D_2O с компенсацией поглощения D_2O (10). Спектры получены для флюоритовой кюветы 1=10 мкм.

аналогичной в случае D_2O , но по частоте максимум смещен в коротковолновую область на 18 см^{-1} .

В области $1550-1750\text{ см}^{-1}$ с использованием описанной методики (рис. 2) записаны интенсивные полосы поглощения, обычно маскируемые собственным поглощением воды, для сока алоэ, молока и крови человека. При замене обычной воды на тяжелую в спектрах последних наблюдаются существенные изменения, связанные как со сдвигом максимумов полос, так и с появлением новых максимумов поглощения, что особенно характерно для сока алоэ. Появление новой полосы 1746 см^{-1} в спектре сока нельзя объяснить эффектом дейтеробмена. По-видимому, эта полоса обусловлена окислительными процессами, протекающими при выпаривании сока до сухого

остатка и приводящими к появлению COOH групп.

Как видно из рис. 2, в спектре крови полоса воды 1650 см^{-1} накладывается на интенсивную полосу крови 1658 см^{-1} , относящуюся к $\nu\text{C}=\text{O}$ колебаниям амида I [1], и существенно искажает ее ширину и интенсивность.

В случае молока (рис. 2) спектр, полученный дифференциальным методом, значительно информативнее спектра, снятого без учета компенсации поглощения воды. Интересно отметить, что при замене в моло-

ке H_2O на D_2O в области $1600\text{--}1700\text{ см}^{-1}$ получен аналогичный спектр. Это также свидетельствует о правильности использованной методики при записи спектра с компенсацией поглощения воды.

Предложенный способ дифференциального измерения ИК-спектров водных растворов в области $1550\text{--}1750\text{ см}^{-1}$ может оказаться полезным при исследовании методом ИК-спектроскопии самых разных водных объектов, представляющих научный и практический интерес.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. М.: ИЛ, 1963.—
2. Жаданов Б. В., Полякова И. А., Селиверстова И. А., Горовой Г. Г. Исследование ИК-спектров водных растворов моно- и динатриевых солей о-, м-,

п-оксibenзойных кислот. — Тр. ИРЕА, 1977, № 39, с. 148—154. — 3. Goulden G. — Spectrochim Acta, 1959, vol. 3 p. 657—660. — 4. Susi H., Timasheif S. N., Stevens L.—J. Biol. Chem., 1967, vol. 242, N 23, p. 5460—5466.

Статья поступила 8 апреля 1980 г.

SUMMARY

The compensation method for obtaining infrared spectra of aqueous solutions of biological systems over the range of strong self-absorption of water ($1550\text{--}1750\text{ см}^{-1}$) by thin cells (10 mkm) of variable thickness is suggested. Accuracy of compensation was controlled on the water band with maximum absorption of 2130 см^{-1} ($\nu_2 + \nu_L$).

IR absorption spectra for N,N-dimethylformamid, milk, human blood and aloe sap are presented as illustration.