

17

На правах рукописи



Султанова Написат Магомедовна

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНСТАНТ ДИССОЦИАЦИИ  
АЛИФАТИЧЕСКИХ ГИДРОКСИЛЬНЫХ ГРУПП МЕТОДОМ  
ЯМР  $^{13}\text{C}$**

02.00.04 – Физическая химия

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата химических наук

Москва – 2008



**Работа выполнена в Московском государственном университете  
пищевых производств**

**Научный руководитель:** доктор химических наук, профессор  
**Попов Константин Иванович**

**Официальные оппоненты:** доктор физико-математических наук  
**Тарасов Валерий Павлович**  
(Институт общей и неорганической химии им. Н.С.Курнакова РАН)

доктор химических наук,  
**Соловьев Виталий Петрович**  
(Институт физической химии и электрохимии им. А.Н.Фрумкина РАН)

**Ведущая организация:** Химический факультет Московского  
Государственного Университета им.  
М.В.Ломоносова

Защита состоится 13 мая в 11 часов на заседании Диссертационного совета Д 002.021.02 при Институте общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН по адресу: 119991, ГСП-1, г. Москва, Ленинский проспект, д. 31. Автореферат размещен на сайте [www.igic.ru](http://www.igic.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИОХ РАН по адресу: г.Москва, Ленинский проспект д.31.

Автореферат разослан « 11 » апреля 2008 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
кандидат химических наук, доцент



Очертянова Л.И.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность работы

Константа диссоциации ( $pK$ ) является одной из важнейших термодинамических характеристик химических соединений. Количественные характеристики диссоциации лигандов необходимы при оценке устойчивости комплексных соединений, и для корректного моделирования ионных равновесий в технологических водных растворах. В настоящее время экспериментальное измерение  $pK$  при высоких значениях  $pH$  ( $pH > 12$ ) представляет серьезные трудности. Используемая обычно для определения  $pK$  техника потенциметрического титрования со стеклянным индикаторным электродом приводит в области  $pH$  12-14 к существенно заниженным значениям констант. Одним из альтернативных методов является ЯМР-титрование, но сложившаяся практика его применения имеет ряд серьезных методических недостатков, приводящих к неоправданно большим расхождениям значений констант для одного и того же соединения, полученных различными группами исследователей. В связи с этим, критический анализ практики применения ЯМР-спектроскопии, как метода определения констант диссоциации очень слабых электролитов, разработка корректной методики ЯМР-титрования, ее апробация на модельных соединениях и выработка общих рекомендаций по применению ЯМР-титрования представляют широкий интерес. Актуальность данной проблемы была признана ИЮПАК. Настоящая работа является частью проекта ИЮПАК № 2001-038-2-500 «Recommendations for NMR measurements of high  $pK$  values and equilibrium constants in strongly basic solutions», 2001-2005.

### Цель и задачи работы

*Целью работы* является разработка корректной методики ЯМР-титрования для определения высоких значений  $pK$ , апробация методики на серии модельных соединений и получение констант диссоциации

алифатических гидроксильных групп ряда органических веществ, представляющих интерес для координационной химии. Это, в свою очередь, предполагает решение следующих *задач*: проведение критического анализа возможностей ЯМР-спектроскопии по определению констант диссоциации при высоких значениях рН; экспериментальное исследование влияния на параметры спектров ЯМР таких факторов, как ионная сила раствора и состав фонового электролита; разработка подходов, позволяющих избежать прямых измерений рН в ходе титрования; выработка общих рекомендаций по применению ЯМР-титрования для оценки рК при высоких значениях рН; экспериментальное определение в равных условиях констант диссоциации алифатических гидроксильных групп семи веществ, относящихся к трем классам органических соединений: углеводам (сахароза, глюкоза, фруктоза); многоатомным спиртам (этиленгликоль и глицерин); оксикислотам (винная и лимонная кислоты).

#### **Научная новизна**

1. Впервые экспериментально установлено, что химические сдвиги ЯМР  $^{13}\text{C}$  зависят от ионной силы и состава фонового электролита. Показано, что химический сдвиг ЯМР  $^{13}\text{C}$  является линейной функцией концентрации фонового электролита. Проведена оценка погрешности определения рК, возникающей за счет зависимости химического сдвига от природы фонового электролита. Показано, что обнаруженное явление вносит пренебрежимо малый вклад при определении рК в высокощелочной области.
2. Впервые предложена и апробирована методика ЯМР-титрования при рН > 12, исключая применение рН-метра, и учитывающая поправки на расходование щелочи в процессе титрования.
3. Впервые в сопоставимых условиях определены константы диссоциации гидроксильных групп сахарозы, глюкозы, фруктозы,

винной и лимонной кислот, глицерина, посредством разработанной методики ЯМР-титрования.

4. Впервые проведено критическое рассмотрение существующей практики применения ЯМР-титрования и сформулированы общие рекомендации по определению констант ионных равновесий методом ЯМР в высокощелочной области.

#### **Научная и практическая значимость**

Проведенный в работе анализ практики применения ЯМР-спектроскопии для оценки констант ионных равновесий, выработанные в результате её выполнения подходы и методики вошли в качестве основной составляющей в опубликованные в 2006 году рекомендации ИЮПАК по использованию ЯМР-спектроскопии для определения констант ионных равновесий в водных растворах: «Guidelines for NMR measurements for determination of high and low pKa values».

Полученные в работе константы диссоциации алифатических гидроксогрупп углеводов, оксикислот и многоатомных спиртов могут быть использованы в качестве справочных данных. Значения рК для глюкозы и сахарозы включены в банк данных ИЮПАК (IUPAC SC Database, 2008) и могут служить основой для моделирования и оптимизации многих технологически важных ионных равновесий, в частности – для оптимизации условий ионно-хроматографического анализа свеколовичного сиропа.

#### **На защиту выносятся следующие положения:**

1. Результаты исследования влияния характера и концентрации фонового электролита на химические сдвиги ЯМР  $^{13}\text{C}$  карбоновых кислот и некоторых других ядер при высоких значениях рН и оценка возможных погрешностей при определениях рК, связанных с влиянием фонового электролита.

2. Разработанная в процессе исследования методика определения высоких значений рК методом ЯМР, исключая использование рН-метра, и

методические рекомендации по применению ЯМР спектроскопии для оценки констант ионных равновесий.

3. Уточненные при помощи метода ЯМР данные по константам диссоциации сахарозы, глюкозы, фруктозы, значения констант диссоциации алифатических гидроксигрупп лимонной и винной кислот, а также константы депротонизации по первой ступени многоатомных спиртов: этиленгликоля и глицерина.

4. Результаты, полученные методом распылительной капельно-ионизационной масс-спектрометрии, подтверждающие образование ионных пар катионами фонового электролита и сахарозы.

#### **Личный вклад автора**

Выбор методов и объектов исследования с учетом их специфики. Планирование эксперимента. Приготовление всех рабочих растворов. Использование программного обеспечения для обработки экспериментальных данных (HYPERNMR) и моделирования ионных равновесий (Species). Анализ и обобщение полученных результатов.

#### **Апробация работы**

Результаты исследования были доложены на научных сессиях Московского Инженерно-Физического Института (Москва, МИФИ, 2003, 2004, 2005 гг.). Выработанные в процессе работы рекомендации прошли в 2005 году экспертизу Отделения аналитической химии ИЮПАК и междисциплинарной комиссии ИЮПАК (специалисты по ЯМР спектроскопии, терминологии, химической термодинамике), скорректированы, одобрены и рекомендованы к публикации под эгидой ИЮПАК.

#### **Публикации**

По результатам работы опубликованы 2 статьи в российском и зарубежном журналах, а также 3 кратких сообщения в сборнике трудов МИФИ и 2 - в сборнике докладов научно-технической конференции-выставки МГУПП.

## **Структура и объём работы**

Диссертация состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, обсуждения результатов, выводов, списка цитируемой литературы (154 наименования) и приложения. Работа изложена на 113 страницах текста, включая 27 таблиц и 35 рисунков.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **ВВЕДЕНИЕ**

Обоснована актуальность темы диссертационной работы.

**ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР** состоит из 5 разделов.

**1.1 Проблемы определения констант диссоциации в области высоких значений pH.** Константы диссоциации, терминология, принятые обозначения и сокращения. Сравнительная характеристика методов определения констант диссоциации.

**1.2 Определение констант диссоциации методом ЯМР-титрования.**

**1.3 Константы диссоциации углеводов, многоатомных спиртов и гидроксикислот.**

**1.4 Метод капельно-ионизационной масс-спектрометрии.**

**1.5 Выводы к обзорной главе и постановка задачи.**

**ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ** содержит 5 разделов.

**2.1 Реагенты.** В качестве основных объектов исследования были использованы сахароза, глюкоза, фруктоза, винная и лимонная кислоты, этиленгликоль и глицерин реактивной квалификации, а также уксусная кислота, иминодиуксусная кислота, фиксанал NaOH (Baker, DILUT IT<sup>R</sup>), NaCl (Merck), NaBr (Merck), Me<sub>4</sub>NCl (Merck), CsNO<sub>3</sub> (Merck), фиксанал HCl (Baker, DILUT IT<sup>R</sup>). Чистота органических соединений контролировалась методом ЯМР.

**2.2 Приготовление образцов.** ЯМР-титрование проводили по дискретным точкам, каждая из которых представляла собой отдельный образец. При этом содержание исследуемого вещества в конце каждой серии ( $pH \approx 14$ ) было на порядок ниже, чем концентрация введенной в систему щелочи. Это позволяло избегать непосредственного измерения  $pH$  при помощи  $pH$ -метра: количество введенной щелочи принимали за равновесное. Первый образец в каждой серии представлял собой децимолярный водный раствор изучаемой кислоты с ионной силой, равной единице. В качестве фонового электролита использовали хлорид натрия, или смесь хлорида и гидроксида натрия, в соотношениях, позволявших получать требуемое значение  $pH$  при соблюдении постоянства ионной силы раствора (1 моль/л). Соответствующие каждому образцу значение  $-\lg[H^+]$  рассчитывали исходя из величины ионного произведения воды  $pK_w$  для данной системы (ионная сила раствора, фоновый электролит, температура). Согласно описанной выше

методике, для проведения исследований были приготовлены серии водных растворов сахарозы, глюкозы, фруктозы, этиленгликоля, глицерина, тартрата и цитрата натрия. Содержание щелочи варьировали в пределах от 0.00 до 1.00 моль/л. Для каждого раствора концентрация исследуемого вещества оставалась постоянной и равной 0.1 моль/л. Образцы готовили за сутки перед съёмкой спектров и хранили в полиэтиленовых пластиковых пробирках с плотно закрытыми крышками и малым объёмом газовой фазы.

**2.3 Техника регистрации спектров ЯМР и измерения химического сдвига.** Спектры ЯМР  $^{13}C$  углеводов, кислот, спиртов (концентрация 0.1 моль/л) записаны при температуре  $25^\circ C$  на спектрометрах: Bruker AM-300 с рабочей частотой 121.5 МГц или Bruker DPX-400 с рабочей частотой 161.98 МГц<sup>1</sup>. При  $60^\circ C$  спектры сахарозы регистрировали на спектрометре Bruker

---

<sup>1</sup> Спектры ЯМР получены научным сотрудником лаборатории спектроскопии Носовой В.М. (ГНЦ РФ «ГНИИХТЭОС») и М. Ханну-Кууре (Университет Оулу, Финляндия).



DPX-400. Химический сдвиг приведен относительно тетраметилсилана (ТМС). Поправками на объёмную магнитную восприимчивость пренебрегали, полагая их незначительными для узкого диапазона pH. Большинство спектров записывалось без подавления спин-спинового взаимодействия с протонами для лучшего контроля температуры. Время записи одного спектра составляло 30-40 минут. Использован внешний дейтерированный эталон, одновременно служивший стабилизатором поля - DMSO-D<sub>6</sub>.

Спектры ЯМР <sup>35</sup>Cl, <sup>81</sup>Br и <sup>23</sup>Na, <sup>135</sup>Cs записаны при комнатной температуре на спектрометре Bruker DPX-400 (рабочие частоты, соответственно: 35.203, 108.06, 16.67, 52.48 МГц). В качестве внешних эталонов использованы 0.04±0.1 моль/л растворы NaCl, NaBr или CsNO<sub>3</sub> с соотношением растворителей, различающихся по изотопному составу H<sub>2</sub>O : D<sub>2</sub>O, 1 : 1 по объёму.

#### 2.4 Обработка экспериментальных данных и расчёт констант диссоциации

Константы диссоциации всех семи соединений рассчитывались по единой методике. Основное внимание уделялось диапазону pH 12 ÷ 14, в пределах которого полагали анализируемые объекты одноосновными кислотами, диссоциирующими по схеме:  $\text{HL} \rightleftharpoons \text{L}^- + \text{H}^+$ ,  $K_1 = \frac{[\text{H}^+][\text{L}^-]}{[\text{HL}]}$ , в случае винной (H<sub>2</sub>Tar) и лимонной (H<sub>3</sub>Cit) кислот применяли их ди- и тризамещенные соли. Была также проверена возможность диссоциации по второй ступени, однако погрешность расчетов определяемой величины возростала при этом на порядок, что являлось дополнительным свидетельством одноосновности исследуемых соединений в условиях опыта.

Поскольку изучаемые системы были высоко лабильны в шкале времени ЯМР – в спектрах наблюдался один усредненный сигнал, химический сдвиг которого  $\delta_{\text{набл}}$  линейно зависит от мольных долей ионной  $\chi_{\text{L}^-}$  и молекулярной  $\chi_{\text{HL}}$  форм лиганда:  $\delta_{\text{набл.}} = \chi_{\text{L}^-} \delta_{\text{L}^-} + \chi_{\text{HL}} \delta_{\text{HL}}$ . Взаимосвязь между аналитическим сигналом  $\delta_{\text{набл.}}$ , константой диссоциации  $K_1$  и pH описывается уравнением:  $\delta_{\text{набл.}}$

$= (\delta_L + K_1[H^+] \delta_{HL}) / (1 + K_1[H^+])$ , которое легко решается относительно  $K_1$  при помощи программ HYPNMR или SigmaPlot.

При расчете  $K_1$  нами впервые применялась двухстадийная процедура, с целью корректировки показателей кислотности растворов без использования рН-метра. На первом этапе содержание щелочи в системе полагали неизменным, т.е. начальная концентрация принималась за равновесную. Полученный набор химических сдвигов и рН обрабатывали при помощи программ (SigmaPlot, HupNMR), что давало приближенное значение рК, а также независимые от рН величины химических сдвигов молекулы HL и её аниона L<sup>-</sup>. Разницу в положении резонансного сигнала исходной формы HL и депротонированной L<sup>-</sup>, в свою очередь, использовали в качестве шкалы степени нейтрализации HL (0% для HL и 100% для L<sup>-</sup>). На втором этапе соответствующие поправки вносились в набор значений рН, и данные по химическим сдвигам вновь обрабатывались при помощи алгоритмов (SigmaPlot, HYPNMR) с уточненными рН.

Основная проблема заключалась в необходимости работы в узком интервале  $13 < \text{pH} < 14$ . Верхний предел определялся ионной силой, а нижний – условием  $[L] < [OH^-]$ . В этих пределах получали 7-9 экспериментальных точек, обработка которых приводила к значениям рК<sub>1</sub> с обычной для таких измерений погрешностью 0.05-0.3 логарифмических единицы.

**2.5 Капельно-ионизационная масс-спектрометрия.** В качестве вспомогательного метода исследования возможностей сахарозы, как кислоты, использовали электрораспылительную масс-спектрометрию (прибор - Micromass LCT). Образец на входе представлял собой 0.01 молярный водный раствор сахарозы с рН = 13 (гидроксид натрия). Анализу по определению отношения массы к заряду подвергались только анионы посредством Masslynx NT software. Начальная температура образца 120°C, температура десольватации составляла 150°C. Концентрируемые за счёт интенсивного испарения

растворителя высокозаряженные капли дробились и в соответствии с значением  $m/z$ , под действием направляющего влияния внешнего поля попадали на масс-детектор, которым в данном случае являлся анод. Автоматическая ЭВМ-приставка преобразовывала сигналы в масс-спектр.

### ГЛАВА 3. ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

представлены 6 разделами.

**3.1 Исследование влияния ионной силы раствора и состава фонового электролита на величину химического сдвига ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{81}\text{Br}$ ,  $^{133}\text{Cs}$  и  $^{23}\text{Na}$ .** Исследована чувствительность к величине ионной силы раствора и к составу фонового электролита химических сдвигов  $^{13}\text{C}$  в сопоставлении с таковыми менее экранированных от растворителя ядер  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{133}\text{Cs}$ ,  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{81}\text{Br}$ .

На примере ацетата натрия и уксусной кислоты показано, что химический сдвиг изотопа линейно зависит от ионной силы раствора и состава фонового электролита. В частности, для постоянной ионной силы 1 моль/л изменение составляет 0.05 - 0.1 м.д., Рис. 1 и 2, и в сопоставлении с вкладом, обусловленным диссоциацией карбоксильной группы (4-5 м.д.) или алифатической гидроксигруппы (~1-4 м.д.) не превышает 10%. Таким образом, для большинства рассмотренных в данной работе сигналов ЯМР  $^{13}\text{C}$  изменение  $\delta_{\text{набл}}$  вызванное варьированием состава фонового электролита не может влиять на точность определения рК. Однако, для тех линий ЯМР  $^{13}\text{C}$ , которые в процессе диссоциации характеризуются  $\Delta\delta < 1$  м.д., погрешность становится заметной, и такие линии при расчете рК использовать не рекомендуется.

Для изотопов  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{133}\text{Cs}$ ,  $^{35}\text{Cl}$ ,  $^{81}\text{Br}$  ситуация оказалась принципиально иной. Было установлено, что химические сдвиги перечисленных ядер в ионах  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  существенно зависят от состава фонового электролита и ионной силы раствора, Рис. 3-5. В частности, при замене аниона в рамках постоянной ионной силы 0.4 моль/л химический сдвиг ЯМР  $^{133}\text{Cs}$  изменяются

на 3 м.д.. Эта величина оказалась соизмеримой с эффектом комплексообразования (5 – 30 м.д.). Выдвинуто предположение о том, что причина этих различий связана со степенью экранирования резонирующего ядра от растворителя. Таким образом, в этом разделе диссертации нам удалось обосновать возможность использования  $^{13}\text{C}$  ЯМР-титрования и выбор рабочих полос в спектре, работа с которыми может вестись без поправок на побочные эффекты, связанные с изменением ионной силы или состава поддерживающего электролита, что в общем случае является некорректным для других ядер.

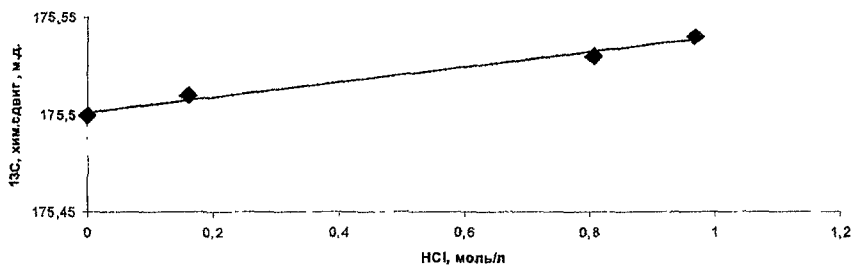


Рис. 1. Зависимость величины химического сдвига  $^{13}\text{C}$  карбоксильного атома углерода децимолярного водного раствора уксусной кислоты при ионной силе равной 1 моль/л  $\text{HCl}/\text{Me}_4\text{NCl}$  от состава фонового электролита при  $24^\circ\text{C}$

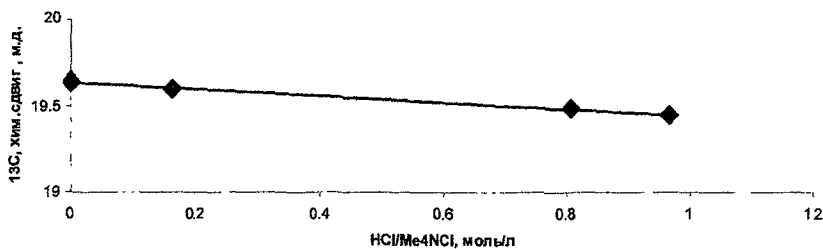


Рис. 2. Зависимость химических сдвигов ЯМР  $^{13}\text{C}$  метильного атома углерода 0.1 М раствора уксусной кислоты от состава фонового электролита при постоянной ионной силе 1.0 моль/л  $\text{HCl}/\text{Me}_4\text{NCl}$ ,  $24^\circ\text{C}$

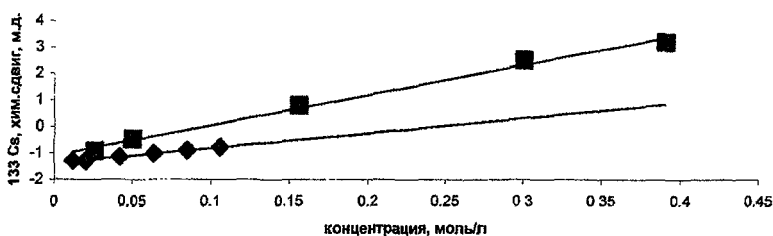


Рис. 3. Зависимость химических сдвигов ЯМР  $^{133}\text{Cs}$  от состава фонового электролита при постоянной ионной силе ( $I=0.4$  моль/л) (♦ CsOH и ■ CsCl)

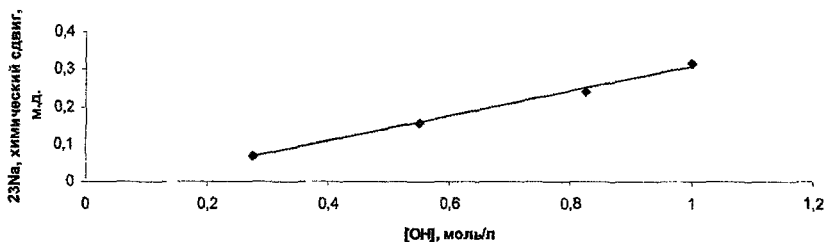


Рис. 4. Зависимость химических сдвигов ЯМР  $^{23}\text{Na}$  в водном растворе NaOH от концентрации NaOH (от ионной силы раствора)

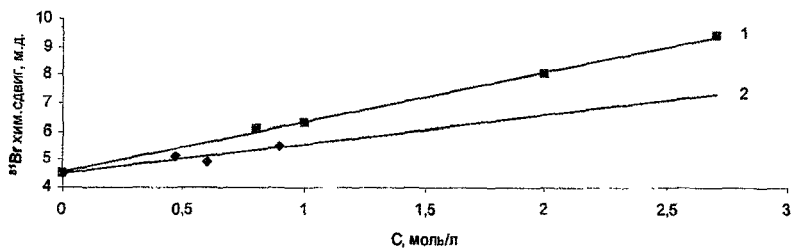


Рис. 5. Зависимость химических сдвигов ЯМР  $^{81}\text{Br}$  в водных растворах хлорида (■) и нитрата (♦) калия от ионной силы раствора при pH 7

### 3.2 Исследование диссоциации сахарозы включает четыре подпункта.

Изложены основные подходы к разработке методики ЯМР титрования на примере сахарозы. Изучено влияние щелочи на химические сдвиги сахарозы в воде и рассчитаны константы диссоциации. Схема нумерации атомов углерода, принятая в данном исследовании, приведена на рис. 6. Оказалось, что при введении щелочи в водные растворы сахарозы, все сигналы углевода смещаются в область слабого поля. Максимальное смещение сигналов при изменении pH среды наблюдается для четырех атомов углерода: C<sub>3</sub>, C<sub>8</sub>, C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>. Наибольший сдвиг (2.7 м.д.) зафиксирован для C<sub>8</sub>, расположенного в фруктофуранозном кольце, Рис. 6, наименьший (0.3 м.д.) – для пятого атома глюкопиранозного цикла. Результат представляется закономерным. Поскольку молекула сахарозы имеет в водном растворе внутримолекулярную водородную связь, то ведет себя как одно целое, что и объясняет смещение в той или иной степени резонансных сигналов всех атомов углерода, обусловленное изменением степени экранированности ядер, вызванного депротонизацией одной гидроксигруппы.

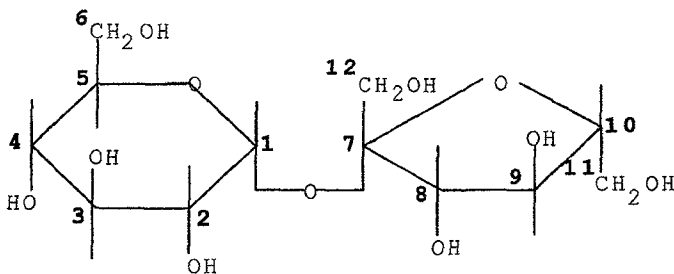


Рис. 6. Структурная формула сахарозы и принятые обозначения атомов

Действительно, минимальные смещения отмечены у атомов углерода с наибольшей основностью ( $C_5, C_{11}$ ) и у атомов, заведомо не участвующих в диссоциации ( $C_1, C_7$ ). Наибольший сдвиг был зарегистрирован у атома  $C_8$ , находящегося в альфа-положении от эфирной группировки. Вероятно, именно близость к мостиковому фрагменту молекулы указанного атома обеспечивает наибольшую способность к диссоциации связанной с ним алифатической группы. Вместе с тем, для данной системы отмечается и исключение. Изменение положения линии центрального атома углерода  $C_2$  превосходит, вопреки ожиданиям, сдвиг сигнала атома  $C_3$ . Поэтому к интерпретации химических сдвигов, обусловленных депротонированием, следует подходить осторожно. Мы соответственно полагаем, что этот вывод требует накопления большего числа данных для корреляции структурных изменений со спектральными параметрами (в частности, с химическими сдвигами). Вероятно, для каждого класса химических соединений будут свои соответствия, а в некоторых случаях их вообще может не наблюдаться. В первую очередь это относится к аминокислотам, у которых депротонирование иногда сопровождается формированием циклических структур.

Константы диссоциации сахарозы в интервале  $12 < \text{pH} < 14$  рассчитывали параллельно по химическим сдвигам нескольких атомов углерода:  $C_7, C_8, C_9, C_{10}$ . Характерная кривая титрования представлена на рис. 7. При обработке результатов нами впервые была использована описанная во второй главе двухступенчатая схема расчета констант. Уже при обработке спектров на первой ступени была обнаружена удовлетворительная согласованность рассчитанных значений  $\text{pK}$  и химических сдвигов, таблица 1. По второй ступени обрабатывались данные для атома углерода, имеющего максимальное изменение химического сдвига (для  $C_8$ ). Было показано, что вводимая нами поправка, несомненно, оправдана, так как позволяет устранить систематическое завышение константы на 0.2 логарифмической единицы.

Сравнение полученных нами данных с литературными позволило установить, что для сахарозы опубликованные ранее значения  $pK_1$  явно занижены. Полученные нами константы позволили произвести моделирование ионных равновесий в щелочных растворах сахарозы и показать, что при ионно-хроматографическом анализе значение  $pH$  раствора, гарантирующее полную ионизацию сахарозы по первой ступени соответствует довольно узкому интервалу.

Предложенная методика поправок была одобрена ИЮПАК и вошла в рекомендуемое ИЮПАК руководство по определению констант диссоциации методом ЯМР в высокощелочных растворах.

Технологически важным параметром свеклосахарного производства является температура в пределах 50-70°C, поэтому была выполнена серия измерений спектров ЯМР  $^{13}C$  для сахарозы при  $t = 60^\circ C$ , и на основе данных по резонансу  $C_7$  рассчитана  $pK_1 = 12.12 \pm 0.05$ , таблица 2, Рис. 7.

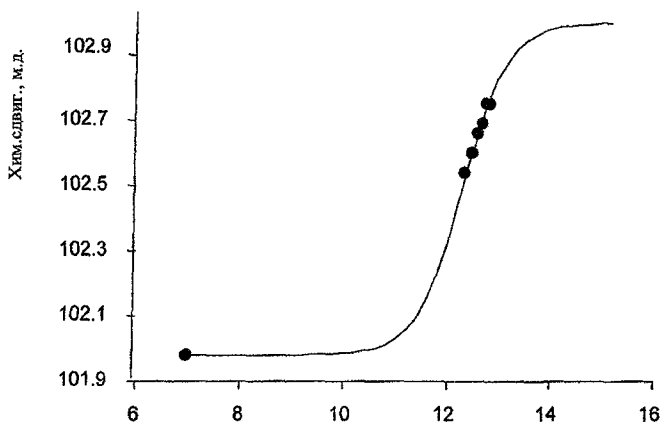


Рис. 7 Кривая ЯМР-титрования  $^{13}C$  для раствора сахарозы (0.1 моль/л) при  $60^\circ C$  для  $C_7$ ;  $I=1.0$  моль/л  $NaCl/NaOH$ ; сплошная линия соответствует расчетной кривой после второго этапа аппроксимации



Таблица 1

Экспериментальные и расчётные значения химических сдвигов ЯМР  $^{13}\text{C}$  и  $\text{pK}_1$  для раствора сахарозы (0.1 моль/л) с  $I=1$  моль/л  $\text{NaCl}/\text{NaOH}$  при  $25^\circ\text{C}$

$C_x$	$\delta_L$ , м.д. (расч.)	$\delta_{\text{HL}}$ , м.д. <sup>6</sup>	$\delta_{\text{HL}}$ , м.д., расч.	$\text{pK}_1$	R	$\Delta\delta_{\text{м.д.}}$
7	$103.97 \pm 0.18$	103.54	$103.00 \pm 0.06$	$13.27 \pm 0.25$	0.982	0.97
8	$80.60 \pm 0.14$	76.55	$76.80 \pm 0.02$	$13.30 \pm 0.22$	0.985	3.60
9	$76.16 \pm 0.28$	74.07	$74.31 \pm 0.10$	$13.23 \pm 0.21$	0.987	1.85
10	$83.99 \pm 0.55$	81.25	$81.52 \pm 0.14$	$13.37 \pm 0.25$	0.980	2.47

Таблица 2

Константы диссоциации 0.1 М сахарозы (HL) при 25 и  $60^\circ\text{C}$ ;  $^{13}\text{C}$  ЯМР титрование в 1 М  $\text{NaCl}/\text{NaOH}$

$t, ^\circ\text{C}$	Процедура	$\delta_L$ , м.д.	$\delta_{\text{HL}}$ , м.д.	$\text{pK}_1$	R
60	Шаг 1-ый	103.00	101.98	$12.32 \pm 0.05$	0.999
	Шаг 2-ой	102.96	101.98	$12.12 \pm 0.05$	0.999
25	Шаг 1-ый	80.6	76.80	$13.3 \pm 0.2$	0.985
	Шаг 2-ой	81.6	76.83	$13.1 \pm 0.3$	0.982

При  $\text{pH} \gg 14$  для сахарозы было обнаружено еще одно скачкообразное изменение всех химических сдвигов, что позволило произвести оценку порядка константы ионизации по второй ступени. Соответствующее значение  $\text{pK}_2 \approx 15.8 \pm 0.8$  является весьма приблизительной величиной и на три логарифмических единицы выше, чем  $\text{pK}_1$ . Таким образом, диапазоны

последовательной диссоциации гидроксильных групп сахарозы не перекрываются.

Однако, поскольку данные ЯМР указывают на диссоциацию сахарозы в высокощелочных растворах не только по первой, но и по второй ступени, то мы исследовали это явление независимым методом электрораспылительной масс-спектрометрии. Начальное концентрационное соотношение сахара: гидроксид составляло 1:10 (0.01 моль/л лиганда в растворе с  $\text{pH}=13$ ). Удалось подтвердить, что диссоциация по второй ступени действительно наблюдается. Был обнаружен ион:  $[\text{NaN}_2\text{L}]^-$  ( $m/z = 363$ ).

Описанная выше на примере растворов сахарозы методика была применена также и к другим соединениям с алифатическими гидроксогруппами, таблица 3.

Таблица 3

Значения  $\text{pK}$ , определенные в данной работе методом ЯМР  $^{13}\text{C}$

Вещество	Условия эксперимента	$\text{pK}$	Литературные данные
Сахароза	$25^\circ\text{C}, I=1.0 \text{ M NaCl}$	$\text{pK}_1 = 13.1 \pm 0.3$	$\text{pK}_1=11.60-12.70$
	$25^\circ\text{C}, I=1+8 \text{ M NaCl}$	$\text{pK}_2 = 15.8 \pm 0.8$	
	$60^\circ\text{C}, I=1.0 \text{ M NaCl}$	$\text{pK}_1 = 12.12 \pm 0.05$	
Глюкоза:			
$\alpha$ -аномер	$25^\circ\text{C}, I=1.0 \text{ M NaCl}$	$\text{pK}_1=12.31 \pm 0.03$	$\text{pK}_1=12.03-13.85$
$\beta$ -аномер		$\text{pK}_1=12.03 \pm 0.01$	
Фруктоза	$25^\circ\text{C}, I=1.0 \text{ M NaCl}$	$\text{pK}_1 = 12.4 \pm 0.3$	$\text{pK}_1=11.68-12.67$
Винная кислота	$25^\circ\text{C}, I=1+8 \text{ M NaCl}$	$\text{pK}_3 = 15.60 \pm 0.07$	$\text{pK}_3= 11.30-15.5$
Лимонная кислота	$25^\circ\text{C}, I=1.0 \text{ M NaCl}$	$\text{pK}_4 = 13.3 \pm 0.13$	$\text{pK}_4= 10.82-16$
Этиленгликоль	$25^\circ\text{C}, I=1+8 \text{ M NaCl}$	$\text{pK}_1 \gg 14.5$	$\text{pK}_1= 15.4$
Глицерин	$25^\circ\text{C}, I=1.0 \text{ M NaCl}$	$\text{pK}_1 = 13.64 \pm 0.13$	$\text{pK}_1= 13.99-15.40$

В частности, нами было показано, что литературные данные для глицерина завышены. Также удалось уточнить  $\text{pK}_4$  для лимонной кислоты. Были определены константы для двух аномеров глюкозы. В случае этиленгликоля и винной кислоты значения  $\text{pK}$  оказались настолько велики, что

для их определения пришлось использовать переменную ионную силу (высокощелочные растворы), что не могло не сказаться на точности измерений. Тем не менее, даже оценочные величины представляют интерес для технологов

В заключение диссертационной работы приведено обобщающее обсуждение полученных экспериментальных результатов в целом и сформулированы выводы. В частности, рекомендовано воздерживаться в ходе ЯМР-титрования от применения внутренних эталонов и от  $D_2O$  в качестве растворителя, предложено использовать двухступенчатую процедуру поправок при определении высоких значений  $pK$  и вводить поправки на изменение  $pK_w$  с изменением состава электролита.

## **ВЫВОДЫ**

1. Экспериментально исследовано влияние ионной силы и состава поддерживающего электролита на величину химического сдвига ЯМР  $^{13}C$ ,  $^{23}Na$ ,  $^{133}Cs$ ,  $^{81}Br$   $^{35}Cl$  ряда модельных соединений. Установлена зависимость химических сдвигов от ионной силы и состава поддерживающего электролита. Найдено, что в случае ЯМР  $^{13}C$  влияние фонового электролита на величину химического сдвига пренебрежимо мало для тех сигналов, у которых величина «скачка» являющегося следствием диссоциации субстрата выше, чем 1 м.д.
2. Показано, что в отличие от ЯМР  $^{13}C$  химические сдвиги остальных изотопов существенно зависят как от состава фонового электролита, так и от ионной силы. Выдвинуто предположение о том, что причина этих различий связана со степенью экранирования резонирующего ядра от растворителя.
3. Впервые разработана и апробирована методика определения высоких значений  $pK$  методом ЯМР, позволяющая избежать прямых измерений  $pH$ . Предложенный подход включает поправки, учитывающие

нейтрализацию части щелочи субстратом, а также изменение величины  $pK_w$  в ходе титрования. Методика одобрена и рекомендована ИЮПАК.

4. Методом ЯМР-титрования определены величины констант кислотной диссоциации гидроксильных групп сахарозы, глюкозы, фруктозы этиленгликоля, глицерина, а также винной и лимонной кислот. Показано, что определенные ранее значения  $pK_1$  для сахарозы занижены, а для глицерина – завышены.
5. Впервые проведен критический анализ методик ЯМР-титрования и выработаны общие рекомендации по применению метода ЯМР для определения рК. Рекомендации одобрены ИЮПАК.

**Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:**

1. K.I.Popov, N.Sultanova, H. Rönkkömäki, M.Hannu-Kuure, J.Jalonen, L.H.J.Lajunen, I.F.Bugaenko, V.I.Tuzhilkin.  $^{13}\text{C}$  NMR and Electrospray ionization mass spectrometric study of sucrose aqueous solutions at high pH: NMR measurement of sucrose dissociation constant. // *Food Chemistry*. 2006. V. 96. P. 248-253.
2. К.И.Попов, Н.М.Султанова, Х.Рёнккомьяки. Измерение константы диссоциации аномеров D-глюкозы методом ЯМР  $^{13}\text{C}$ .// *Журнал физической химии*. 2006. Т.80. №10. С.1889-1891.
3. Н.М.Султанова, Х.Рёнккомьяки, М.Ханну-Кууре, М.В.Рождественская, И.В.Глазкова, К.И.Попов. Влияние ионной силы и состава фонового электролита на величину константы диссоциации, измеренной в процессе ЯМР-титрования. Сборник докладов Всероссийской научно-технической конференции-выставки с международным участием «Качество и безопасность продовольственного сырья и продуктов питания» М.: МГУПП, 2002, Т.2., С. 3-5.

4. А.К.Попов, Н.М.Султанова, И.В.Глазкова, А.Г.Вендило, К.И.Попов. Влияние зависимости химического сдвига сигналов ЯМР от ионной силы и состава фонового электролита на величину константы диссоциации, измеренной в процессе ЯМР-титрования. // Научная сессия МИФИ. Сборник трудов. 2003. «Физическая химия растворов». 2003. М. Т.8. С.239.
5. А.К.Попов, Н.М.Султанова, И.В.Глазкова, Г.Р.Аллахвердов, К.И.Попов. Зависимость химических сдвигов ЯМР субстратов от ионной силы водного раствора.// Научная сессия МИФИ-2004. «Физическая химия растворов». 2004. М. Т.9. С.162.
6. К.И.Попов, Н.М.Султанова, Х.Рёнккомьяки, М.Ханну-Кууре, Й.Ялонен, И.Ф.Бугаенко, В.И.Тужилкин.  $^{13}\text{C}$  ЯМР и электрораспылительная ионизационная масс-спектрометрия растворов сахарозы при высоких значениях рН. Сборник докладов научно-технической конференции-выставки «Высокоэффективные пищевые технологии, методы и средства их реализации», Часть 1, М.: МГУПП, 2004, С. 121-123.
7. К.И.Попов, Н.М.Султанова, М.Ханну-Кууре, Х.Рёнккомьяки, Л.Лайонен.  $^{13}\text{C}$  ЯМР и электрораспылительная ионизационная масс-спектрометрия растворов сахарозы при высоких значениях рН. // Научная сессия МИФИ-2005. «Физическая химия растворов» Сборник трудов. 2005. М. Т.9. С.148-149.

Частично материалы диссертации вошли в текст рекомендаций ИЮПАК:

K.I.Popov, H. Rönkkömäki, L. H. J. Lajunen "Guidelines for NMR Measurements for Determination of High and Low pK Values" (Technical Report), *Pure Appl. Chem.* (2006), V 78, p.p. 663-675.

Подписано в печать 10.04.08.

Формат 30x42 1/8. Бумага типографская № 1. Печать офсетная.

Печ. л. 1,0. Тираж 120 экз. Заказ 88.

---

125080, Москва, Волоколамское ш., 11

Издательский комплекс МГУПП