

## Определение концентраций природного уровня $^2\text{H}$ в жидких средах с помощью ЯМР–спектроскопии

С. С. Джимаков,<sup>\*</sup> Д. И. Шашков,<sup>†</sup> М. В. Шарафан,<sup>‡</sup> М. Г. Барышев<sup>§</sup>

*Кубанский государственный университет, физико-технический факультет, кафедра радиофизики*

*Россия, 350040, Краснодар, ул. Ставропольская, д. 149*

(Статья поступила 24.07.2017; Подписана в печать 16.10.2017)

В работе представлены результаты апробации методики количественного определения  $^2\text{H}$  с помощью ЯМР спектроскопии с применением лантаноидного сдвигающего реагента, добавляемого в зонд в качестве внешнего ЯМР стандарта, относительно которого проводится измерение. В ходе проведенных исследований было подтверждено, что наиболее подходящим химическим соединением для создания эталонного образца является трифторметансульфонат европия (III). Установлено, что наиболее высокое содержание дейтерия было в соке аргентинской груши ( $144.6 \pm 2.3$  ppm), наименьшая концентрация дейтерия отмечена у соков из картофеля российского и египетского производства ( $\approx 100$  ppm).

PACS: 87.80.Lg, 87.64.kj

УДК: 539.143.43, 539.183.2

Ключевые слова: изотопы, ЯМР спектроскопия, сдвигающий реагент, дейтерий.

### ВВЕДЕНИЕ

Для определения изотопного состава веществ используются различные инструментальные методы: масс–спектроскопия [1], ИК–спектроскопия [2], ядерный магнитный резонанс (ЯМР) с методологическим подходом SNIF–NMR [3].

Подобные исследования характеризуются высокой актуальностью, что объясняется потребностью ряда научных дисциплин в изучении изотопного состава органических элементов, который варьируется в объектах различного характера в том числе и по причинам географических факторов [4]. Причём, фракционирование изотопов в природе сильнее выражено у тех элементов, которые принимают более активное участие в круговороте веществ неорганического и органического мира: кислород, водород, углерод, азот, сера [5].

Все большее значение придается исследованию изотопного состава воды, которая оказывает влияние практически на все биохимические и биофизические процессы в организме [6]. В частности, вода с искусственно измененным содержанием дейтерия может существенно влиять на метаболические процессы в живых системах [7–9].

Известно, что количественная ЯМР спектроскопия является одним из основным прецизионных методов анализа концентрации дейтерия в биологических жидкостях [10, 11], которая благодаря простоте процедур пробоподготовки и аналитического процесса может быть использована в качестве экспресс–метода при изучении изотопного ( $^2\text{H}/^1\text{H}$ ) состава жидкостей.

В связи с вышеизложенным целью представляемой работы являлась разработка метода количественного определения  $^2\text{H}$  с помощью ЯМР спектроскопии с применением лантаноидного сдвигающего реагента, добавляемого в зонд в качестве внешнего ЯМР стандарта, относительно которого проводится измерение.

### 1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе был использован прибор ЯМР фурье–спектрометр 400 МГц (FT NMR SYSTEM модели JNM-ECA 400), с датчиком 40TH5AT/FG2, который имел следующие характеристики: индукция постоянного магнитного поля — 9.389766 Тл; диапазон частот — от 10 до 400 МГц с шагом 0.01 Гц; резонансная частота ядер  $^2\text{H}$  — 61.37 Гц (настраивается прибором); чувствительность для  $^1\text{H}$ :  $\geq 220$  (для 0.1 % раствора этилбензола в дейтерохлороформе); дрейф постоянного магнитного поля: менее 4 Гц/ч; ширина  $^1\text{H}$  ЯМР сигнала на полувысоте: не более 0.45 Гц (для 0.1 % раствора этилбензола в дейтерохлороформе).

Для исследуемого образца использовали откалиброванную основную ЯМР–ампулу диаметром  $4.97 \pm 0.013$  мм и длиной 178 мм. В неё помещали исследуемое на изотопный состав вещество. Также имелась откалиброванная внутренняя ЯМР–ампула (коаксиальный внешний стандарт) с длиной концевой капилляра 32 мм и его ёмкостью 40 мкл, которая являлась вставкой в основную ЯМР ампулу и содержала в себе вещество–эталон с такой же как у определяемого вещества молекулярной структурой, но известным изотопным составом. Внутренняя ЯМР–ампула содержала растворённый лантаноидный сдвигающий реагент (трифторметансульфонат европия (III), Sigma Aldrich, безводный и водорастворимый) благодаря которому сигнал ЯМР вещества внутренней ампулы был смещён относительно определяемого вещества из основной ампулы, что позволяло произ-

\*E-mail: jimack@mail.ru

†E-mail: shinix88@mail.ru

‡E-mail: shafron80@mail.ru

§E-mail: baryshev\_mg@mail.ru

вести интегрирование отдельных сигналов спектра друг относительно друга.

Использовали ряд калибровочных образцов чистой воды с содержанием примесей не более 0.01 % по массе и с известным содержанием изотопа дейтерия в соответствии с международным стандартом введённым МАГАТЭ (VSMOW и SLAP). Для метода определения отношения  $^2\text{H}/^1\text{H}$  во внутреннюю ЯМР–ампулу помещали образец воды, содержащий  $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Eu}$ , при этом содержание дейтерия воды в данном растворе должно соответствовать исследуемому диапазону концентраций дейтерия измеряемого объекта.

Все эксперименты в рамках серии образцов, включая калибровочные проводили в одинаковых условиях проведения ЯМР измерений и с одинаковыми настройками прибора. Для измерений на ядрах  $^2\text{H}$  нами подобраны оптимальные значения: усиление 60; смещение 5 м.д.; развёртка 10 м.д.; время наблюдения спада свободной индукции 6 с; число сканирований 256; релаксационная задержка  $10 \times T_1(^2\text{H}_2\text{O}) \geq 7$  с; температура внутри резонатора  $25^\circ\text{C}$ . Важным требованием является то, что съёмка спектра должна проводиться без вращения образца в спектрометре, иначе, как нами было выяснено, могут возникать дополнительные погрешности в определении изотопных соотношений.

Выбор в качестве лантаноидного сдвигающего реагента именно соединения европия (III) из всех лантаноидов обусловлен тем, что при достаточном сдвигающем эффекте  $\text{Eu}^{3+}$ , влияние на времена спин-решёточной и спин-спиновой ядерной релаксации невелики, относительно других соединений редкоземельных элементов. Это объясняется тем, что для  $\text{Eu}^{3+}$  основное электронное состояние диамагнитно (терм  $^7\text{F}_0$ ), а парамагнетизм возникает лишь за счёт возбуждённого состояния  $^7\text{F}_1$ . Вследствие этого, времена спин-решёточной и спин-спиновой электронной релаксации  $T_{1e}$  и  $T_{2e}$  крайне короткие и составляют порядка  $10^{-12}$ – $10^{-13}$  с. А, например, ионы гадолиния  $\text{Gd}^{3+}$  и  $\text{Eu}^{2+}$ , уширяющие линии ЯМР, имеют порядок величин электронной релаксации  $10^{-8}$ – $10^{-9}$  с, представляя собой хорошие ЯМР релаксанты, так как их основное состояние  $^8\text{S}_{7/2}$ . У такого термина величина полного углового момента определяется только спином, так как орбитальный момент равен нулю, а, следовательно, при таких условиях они не взаимодействуют с электрическим полем, то есть эффект Штарка не проявляется, поэтому время релаксации электронного спина  $\text{Gd}^{3+}$  и  $\text{Eu}^{2+}$  будет намного больше, чем у  $\text{Eu}^{3+}$ .

Для определения оптимальной концентрации трифторметансульфоната европия (III) в эталонном образце, содержащем воду, нами была изучена концентрационная зависимость соли европия на индуцированный парамагнитный сдвиг ядер дейтерия, входящих в состав молекул воды. При этом, готовили серию водных растворов, содержащих 0.100 моль/л, 0.050 моль/л, 0.020 моль/л, 0.010 моль/л, 0.005 моль/л и 0.001 моль/л сдвигающего реагента (трифторметансульфоната европия (III)). Результаты полученных спек-

тров дейтерия приготовленных растворов показывают заметное смещение сигнала ЯМР в зависимости от концентрации ионов  $\text{Eu}^{3+}$  в полутяжёлой воде. Это обусловлено наличием сильного псевдоконтактного (диполь-дипольного) взаимодействия ионов  $\text{Eu}^{3+}$  с атомами дейтерия. В ЯМР спектрах на ядрах дейтерия наблюдается два разнесённых по шкале химических сдвигов ЯМР сигналов — от дейтерия воды с растворённым в ней трифторметансульфонатом европия (III), которая находится во внутренней вставке в ампулу и от дейтерия исследуемой воды, находящейся в самой ампуле.

Изменяя процентное содержание дейтерия воды, от природного составляющего около 0.015 % до содержащегося в тяжёлой воде 98% дейтерия, нами было показано, что парамагнитный сдвиг одинаков для всего диапазона концентраций дейтерия и зависит только от концентрации ионов  $\text{Eu}^{3+}$ .

На основании проведенных количественных экспериментов по определению изотопного соотношения  $^2\text{H}/^1\text{H}$  в воде, водных растворах и в биологических жидкостях было установлено, что наиболее оптимальная величина концентрации  $\text{Eu}^{3+}$  в эталонном образце воды составляла  $0.045 \pm 0.005$  моль/л.

## 2. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение изотопных соотношений  $^2\text{H}/^1\text{H}$ , выполненные по разработанной нами методике, было проведено в пробах воды, взятых из различных источников на территории Краснодарского края (Российская Федерация), что показало целесообразность использования предложенного метода, данные представлены в табл. 1.

Следует отметить, что разработанный способ измерения изотопных соотношений методом ЯМР с применением зонда, содержащего лантаноидный сдвигающий реагент, может быть использован при выполнении исследований в экологии и для мониторинга состояния окружающей среды, в том числе для контроля изотопного состава жидкостей природного и синтетического происхождения [4], а также для определения изотопного состава плазмы крови [6, 12]. Нами были проведены исследования изотопного D/H состава свежесжатых соков, данные представлены в табл. 2. Для получения образцов воды, свежесжатые соки центрифугировали на 3000 об/мин в течении 15 мин.

Установлено, что самое высокое содержание дейтерия было в соке из груши, привезенной из Аргентины ( $144.6 \pm 2.3$  ppt), тогда как наименьшая концентрация дейтерия отмечена у сока из картофеля египетского производства ( $99.8 \pm 2.4$  ppt). В целом достоверно более низкое содержание дейтерия выявлено в свежесжатых соках из картофеля и капусты, выращенных в разных странах, в сравнении с другими фруктовыми и овощными фрешами. Наименьший диапазон различий в изотопном D/H составе был у свежесжатых соков (из томата, граната и апельсинов) турецких про-

Таблица I: Изотопные соотношения  $^2\text{H}/^1\text{H}$  в пробах воды, взятых из различных источников

Объект исследования	Изотопное соотношение $^2\text{H}/^1\text{H}$ , ppm
Минеральная вода «Ессентуки 17»	$154.3 \pm 1.6$
Лёгкая вода «Лангвей-60»	$58.6 \pm 2.1$
Минеральная вода «Нарзан»	$144.2 \pm 1.8$
Ледниковая вода с горы Муса-Ачитара, пос. Домбай (высота 3200 м над уровнем моря)	$134.8 \pm 2.2$
Облегченная по дейтерию вода, полученная на электролизной установке в КубГУ	$40.5 \pm 1.9$
Артезианская вода (скважина № 4)	$148.6 \pm 1.4$
Минеральная вода «Акваминерале»	$148.9 \pm 1.7$
Минеральная вода «Горячий ключ, скважина 934»	$154.2 \pm 1.2$

Таблица II: Концентрация дейтерия в свежевыжатых соках

Фрукт/овощ, страна происхождения	Концентрация дейтерия, ppm
Апельсин, Египет	$148.2 \pm 2.1$
Апельсин, Турция 1	$122.1 \pm 1.4$
Апельсин, Турция 2	$122.7 \pm 1.9$
Гранат, Турция	$121.4 \pm 1.6$
Гранат, Азербайджан	$120.3 \pm 1.1$
Груша, Аргентина	$144.6 \pm 2.3$
Груша, США	$122.2 \pm 1.5$
Капуста, Польша	$100.6 \pm 1.9$
Капуста, Россия	$113.1 \pm 1.4$
Капуста, Нидерланды	$114.8 \pm 1.6$
Картофель, Египет	$99.8 \pm 2.4$
Картофель, Россия	$102.4 \pm 1.8$
Томат, Турция	$122.4 \pm 1.1$
Томат, Россия	$121.3 \pm 0.9$
Томат, Марокко	$112.0 \pm 1.7$
Яблоко, Испания	$131.5 \pm 1.2$
Яблоко, Сербия	$143.7 \pm 1.4$
Яблоко, Польша	$127.6 \pm 1.8$
Яблоко, Россия	$127.3 \pm 1.5$

изготовителей (концентрации дейтерия в них колебалась от 121 до 123 ppm).

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенной работы разработан и опробирован метод измерения содержа-

ния изотопа  $^2\text{H}$  в жидких средах с помощью количественного ядерного магнитного резонанса. Среди рассмотренных в данной работе парамагнитных ионов металлов, наиболее подходящим по релаксационным и сдвигающим характеристикам, являлся трёхзарядный катион европия ( $\text{Eu}^{3+}$ ). Было показано, что наиболее подходящим химическим соединением, содержащим  $\text{Eu}^{3+}$  для использования его в качестве сдвигающего реагента для водных растворов с целью изучения изотопного состава был трифторметансульфонат европия (III). По результатам исследования зависимостей химического сдвига ядер  $^2\text{H}$  от концентрации трифторметансульфоната европия (III) были определены удельные величины парамагнитного химического сдвига, что позволило установить необходимую концентрацию ионов  $\text{Eu}^{3+}$  для внешних стандартов (эталонных образцов) по определению изотопного состава веществ. Так, концентрация ионов  $\text{Eu}^{3+}$  при определении соотношения  $^2\text{H}/^1\text{H}$  составляла  $0.045 \pm 0.005$  моль/л. В целом установлено, что использование сдвигающих реагентов позволяет повысить информативность спектров ЯМР, при этом, появляется возможность проводить измерения на недорогих приборах с невысокой рабочей частотой. Установлено, что самое высокое содержание дейтерия было в соке аргентинской груши ( $144.6 \pm 2.3$  ppm), наименьшая концентрация дейтерия отмечена у соков из картофеля российского и египетского производства ( $\approx 100$  ppm). В целом достоверно более низкое содержание дейтерия выявлено в свежевыжатых соках из картофеля и капусты, выращенных в разных странах, в сравнении с другими фруктовыми и овощными фрешами.

Работа выполнена при финансовой поддержке государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации, проект № 6.5882.2017/БЧ.

[1] Bowen G.J., Chesson L., Nielson K., Cerling T.E., Ehleringer J.R. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2005.

19. P. 2371.

[2] Shakar J.J., Mann C.K., Vickers T.J. J. Anal. Chem.

1986. **58**. P. 1460.
- [3] *Guillou C., Trierweiler M., Martin G.J.* Magn. Res. Chem. 1988. **26**. P. 491.
- [4] *Быков М.И., Джимаков С.С., Басов А.А., Арцыбашева О.М., Шашков Д.И., Барышев М.Г.* Вопр. Питан. 2015. **84**, № 4. С. 89.
- [5] *West J.B., Bowen G.J., Cerling T.E., Ehleringer J.R.* Trends in Ecol. Evol. 2006. **21**, N 7. P. 408.
- [6] *Джимаков С.С., Басов А.А., Федулова Л.В., Быков И.М., Ивлев В.А., Мелконян К.И., Тимаков А.А.* Авиакосм. и экол. медицина. 2016. **50**, № 3. С. 42.
- [7] *Avila D.S., Somlyai G., Somlyai I., Aschner M.* Toxicol. Lett. 2012. **211**. P. 319.
- [8] *Самков А.А., Джимаков С.С., Барышев М.Г., Волченко Н.Н., Худокормов А.А., Самкова С.М., Карасева Э.В.* Биофизика. 2015. **60**, № 1. С. 136.
- [9] *Джимаков С.С., Басов А.А., Барышев М.Г.* ДАН. 2015. **465**, № 2. С. 245.
- [10] *Ma X., Deng P., Wang X., Zhang C., Hou X.* Talanta. 2012. **97**. P. 450.
- [11] *Джимаков С.С., Басов А.А., Копытов Г.Ф., Кашаев Д.В., Соколов М.Е., Арцыбашева О.М., Шаронов К.С., Барышев М.Г.* Изв. ВУЗов. Физика. 2015. **58**, № 7. С. 47.
- [12] *Чернуха И.М., Федулова Л.В., Котенкова Е.А., Василевская Е.Р., Лисицын А.Б.* Вопр. питан. 2016. № 5. С. 36.

---

## Determination of the concentrations of $^2\text{H}$ natural levels in liquid media using NMR spectroscopy

**S. S. Dzhimak<sup>a</sup>, D. I. Shashkov<sup>b</sup>, M. V. Sharafan<sup>c</sup>, M. G. Baryshev<sup>d</sup>**

*Department of radiophysics, Faculty of Physics, Kuban State University. Krasnodar 350040, Russia*

*E-mail: <sup>a</sup>jimack@mail.ru, <sup>b</sup>shinix88@mail.ru, <sup>c</sup>shafron80@mail.ru, <sup>d</sup>baryshev\_mg@mail.ru*

The results of approbation of the method for the quantitative determination of  $^2\text{H}$  by NMR spectroscopy using a lanthanide shifting reagent added to the probe as an external NMR standard against which the measurement is performed are presented. In the course of the studies, it was confirmed that europium (III) trifluoromethanesulfonate is the most suitable chemical compound for creating a reference sample. It was found that the highest content of deuterium was in the juice of the Argentine pear ( $144.6 \pm 2.3$  ppm), the lowest concentration of deuterium was found in the russian and egyptian potato juices ( $\approx 100$  ppm).

PACS: 87.80.Lg, 87.64.kj

*Keywords:* isotopes, NMR spectroscopy, shifting reagent, deuterium.

*Received 24 July 2017.*

### Сведения об авторах

1. Джимаков Степан Сергеевич — канд. биол. наук, доцент; e-mail: jimack@mail.ru.
  2. Шашков Денис Игоревич — преподаватель; e-mail: shinix88@mail.ru.
  3. Шарафан Михаил Владимирович — канд. хим. наук, доцент; e-mail: shafron80@mail.ru.
  4. Барышев Михаил Геннадьевич — доктор биол. наук, профессор; e-mail: baryshev\_mg@mail.ru.
-