

На правах рукописи

БИСИКАЛО Артем Леонидович

**Количественная спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и  $^{17}\text{O}$  в изучении изотопного состава воды и её структурных особенностей в растворах**

02.00.04 — физическая химия

АВТОРЕФЕРАТ  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук

Иркутск – 2012

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном  
учреждении высшего профессионального образования  
«Иркутский государственный университет»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор  
Кушнарев Дмитрий Филиппович

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор  
Кривдин Леонид Борисович  
(Иркутский институт химии им. Фаворского  
СО РАН, зам. директора по науке)

доктор химических наук, профессор  
Воронов Владимир Кириллович  
(Национальный исследовательский  
Иркутский государственный технический  
университет, профессор)

Ведущая организация: Российский университет дружбы народов

Защита состоится «26» декабря 2012 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета  
Д 212.074.03 при Иркутском государственном университете по адресу: г. Иркутск,  
ул. Лермонтова, 126, химический факультет ИГУ, ауд. 430.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Иркутского государственного  
университета, с авторефератом – на сайте ИГУ <http://www.isu.ru>

Отзывы на автореферат в двух экземплярах с подписью составителя, заверенные печатью  
организации, просим направлять на имя ученого секретаря диссертационного совета по  
адресу: 664003, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 1, ИГУ, химический факультет.

Автореферат разослан «23» ноября 2012 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор химических наук, профессор



Л.Б. Белых

## Общая характеристика работы

**Актуальность темы.** Физико-химические свойства водных растворов, в отличие от газов и твердого тела, определяются перераспределением молекул воды между ионами и молекулами неэлектролитов. Трансляционная подвижность молекул и её зависимость от параметров состояния молекулярной системы отражается в особенностях межмолекулярных взаимодействий и структуры жидкофазных систем. Все это определяет термодинамическое состояние бинарных и многокомпонентных систем и проявляется в растворах средних и высоких концентраций. Обнаружено, что физико-химические свойства водных систем имеют целый ряд особенностей, в отличие от большинства органических растворителей. Они связаны со структурированностью воды, которая в свою очередь зависит от свойств растворенных ионов (заряда, ионного радиуса, электронного строения и др.). Особенности растворения обнаруживаются в содержании минорных изотопов дейтерия ( $^2\text{H}$  или  $\text{D}$ ) и его влиянии на структурированность водной матрицы.

Отдельный аспект этой проблемы связан с механизмом участия  $^2\text{H}$  в образовании ассоциатов в воде с переменным изотопным составом, что позволяет дифференцировать упорядоченность микрокластеров различного размера.

Наиболее информативным методом изучения количественного распределения изотопов, формирующих водную матрицу, является спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) – метод измерения интегрального и дифференциального содержания минорных стабильных изотопов во фрагментах органических молекул. Метод позволяет получить исчерпывающую информацию о распределении дейтерия по структурно неэквивалентным положениям в молекуле, позволяя сформировать их «H/D–изотопный портрет».

В большинстве случаев механизм формирования характеристичного изотопного состава молекулы, позволяющего различать органические соединения синтетического и природного происхождения, не рассматривается вовсе, или носит формальный характер. Используются уже известные варианты механизмов реакции, не учитывающих природное обогащение образцов изотопом  $^2\text{H}$  в воде, содержание которого варьируется в широких пределах. Часто не принимается во внимание влияние среды на формирование конечного продукта реакции. Изучение количественных закономерностей, управляющих процессом распределения природной метки дейтерия, позволяет не только развивать теоретические представления о механизме химических реакций, но и совершенствовать методы аутентификации и дифференциации биохимической продукции.

**Цель настоящей работы** включала изучение механизмов структурообразования воды и характера распределения изотопа  $^2\text{H}$  в водных растворах и биохимических реакциях методом количественной спектроскопии ЯМР на ядрах  $^2\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и  $^{17}\text{O}$ .

Для достижения поставленной цели необходимо решение следующих задач:

1. Разработка методики получения воды с пониженным содержанием дейтерия, включающая последовательный цикл «кристаллизация–плавление» и изучение степени влияния изотопного состава воды на структурные особенности водной матрицы.
2. Установление влияния катионов щелочных металлов ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  и  $\text{Li}^+$ ) и органических молекул с гидрофобными свойствами (тетраалкиламмониевые соли) на структуру водной матрицы.
3. Изучение характера распределения  $^2\text{H}$  в растительных тканях, представляющих среду для протекания биохимических реакций и установление влияния дейтерозамещенности воды

на обменные процессы в многокомпонентных системах природного происхождения (гуминовые вещества).

4. Исследование металлокомплексных соединений на основе переходных металлов и углеводных лигандов (синтез, определение состава и свойств, оценка биологической активности).
5. Изучение влияния изотопного состава воды при гликолизе D-глюкозы на фрагментное распределение дейтерия в глицерине (как маркера распределения  $^2\text{H}$  в природных и синтетических соединениях).

#### **Научная новизна и практическая значимость работы:**

- модифицирована методика измерения содержания дейтерия в воде, водно-органических и органических растворах методом спектроскопии ЯМР (свидетельство об аттестации № 224.01.17.011/2006, регистрационный код МВИ по федеральному реестру ФР.1.31.1999.00073);
- впервые рассмотрена взаимосвязь и установлена роль обменных процессов с участием изотопа  $^2\text{H}$  на структурные особенности воды в растительных тканях, многокомпонентных системах природного происхождения и в процессах, основанных на разности температур плавления протиевой и дейтеро воды;
- установлена дискриминирующая роль органического компонента (темплата) в формировании структуры гелей при фиксированном выборе параметров проведения синтеза, на основе растворов тетраалкиламмониевых (TetAlkAm) солей с различной длиной алифатической цепи;
- обнаружено, что катионы натрия и лития обладают структурирующими свойствами, а калий – бинарными. В зависимости от его концентрации в растворе он структурирует или разупорядочивает водную матрицу;
- на основании установленных процессов обмена  $^2\text{H}$  с гидроксильными группами многоатомных спиртов, как фрагментов гуминовых веществ почв, синтезирована и исследована структура металлокомплексного соединения на основе переходных металлов и органических лигандов;
- предложена методика оценки ростовой активности гуминовых кислот по способности подавления кислородного максимума в адсорбционной полярографии;
- для изотопной характеристики исходных углеводов при производстве этанолсодержащей продукции предложено использовать глицерин, как побочный продукт биоконверсии глюкозы. Определена роль воды, как растворителя и донора протонов, при формировании молекулы углеводорода;
- полученные в диссертационной работе результаты позволяют существенно изменить представления о влиянии воды с пониженным содержанием  $^2\text{H}$  на жизнеспособность клеток и микроорганизмов, физиологические механизмы регуляции водно-сырьевого баланса, мембранный транспорт и структурно-динамические свойства водных растворов.

Информативность изотопного профиля молекулы обеспечивает возможность широкого применения спектроскопии ЯМР для детализации теоретических представлений о механизме химических реакций, протекающих в водных средах, в решении вопросов подлинности продукции (происхождение, способ переработки сырья и т.д.) в самых различных технологиях химической и пищевой промышленности.

**На защиту выносятся:**

1. Методика получения обедненной дейтерием воды, включающая последовательный цикл «кристаллизация–плавление», определение содержания дейтерия (D/H) и скорости релаксации ядер кислорода ( $\Delta v_{1/2}^{17\text{O}}$ ) воды.

2. Исследование влияния воды с переменным изотопным составом на содержание  $^2\text{H}$  в растительных тканях и многокомпонентных системах природного происхождения (гуминовые вещества).

3. Структурные особенности водных систем электролитов и катионов, обладающих гидрофобными свойствами (тетраалкиламмоний).

4. Оценка термодинамических параметров воды в водных растворах диамагнитных солей.

5. Изотопная идентификация углеводов при использовании продуктов ферментативных превращений и установление количественных соотношений перераспределения дейтерия углевода в продукты его биоконверсии (глицерин).

**Личный вклад автора.** Автор принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментов, интерпретации и обсуждении полученных результатов, подготовке материалов к публикации. В большинстве опубликованных работ вклад автора является определяющим.

**Апробация работы и публикации.** Результаты исследований докладывались на региональных, Всероссийских и Международных конференциях: Ежегодной научно-теоретической конференции аспирантов и студентов (Иркутск, 2008); Proceedings of 3<sup>RD</sup> international symposium in chemistry «Chemistry and Food Safety-2008» (Mongolia, 2008); II международном форуме «Аналитика и аналитики» (Воронеж, 2008); V Всероссийской научной конференции «Химия и технология растительных веществ» (Уфа, 2008); международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы судебных экспертиз» (Иркутск, 2009); международной научной конференции по аналитической химии и экологии (Республика Казахстан, г. Алма-Аты, 2010); V Всероссийской конференции «Гуминовые вещества в биосфере» (Санкт-Петербург, 2010); Всероссийской конференции с элементами научной школы для молодежи «Актуальные проблемы органической химии» (Казань, 2010).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 15 работ: 4 статьи, из них 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК и 11 тезисов докладов на международных и российских конференциях.

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, пяти глав, экспериментальной части и списка цитируемой литературы. Общий объем составляет 144 страницы печатного текста, в том числе 53 рисунков, 14 таблиц, 4 схем и списка цитируемой литературы из 195 наименований.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **ВВЕДЕНИИ** обоснованы выбор и актуальность темы, сформулированы цели и задачи исследования, изложены основные положения, выносимые на защиту (схема 1).

Схема 1



В **ГЛАВЕ I** обобщены литературные данные по изотопному составу воды и роли дейтерия и воды с его переменным составом на протекание биохимических реакций. Вода – растворитель и донор атомов водорода в биохимических реакциях. Рассмотрены ее основные структурные модели и методы, позволяющие их установить. Обоснована возможность использования релаксационных характеристик ядер структурообразующего элемента <sup>17</sup>O воды в количественной спектроскопии ЯМР. Ширина сигнала кислорода на полувысоте в спектре ЯМР <sup>17</sup>O воды позволяет оценить изменение ее состояния (степени структурированности), в зависимости от природы и концентрации растворенных

неорганических солей и их участия в обменных процессах. Рассмотрены возможности применения метода количественной спектроскопии ЯМР  $^2\text{H}$  в анализе распределения природного дейтерия в органических соединениях, для решения ряда практических задач прикладной химии, в частности, дифференциации веществ природного и синтетического происхождения, вследствие нестатического распределения  $^2\text{H}$  по структурно неэквивалентным фрагментам молекул.

В ГЛАВЕ II на основе различия температур плавления молекул  $\text{D}_2\text{O}$  ( $3.8^\circ\text{C}$ ) и  $\text{H}_2\text{O}$  ( $0^\circ\text{C}$ ), в нормальных условиях и при постоянном значении pH ( $7 \pm 0.1$ ), установлено изменение содержания дейтерия в воде в последовательном цикле процесса «кристаллизация–плавление». Изучены сопутствующие изменения структурных особенностей воды – образование и разрушение ассоциатов.

Релаксационные характеристики ядер  $^{17}\text{O}$  получены на основе экспериментов в условиях многоимпульсной последовательности Карра-Перселла-Мейбоума-Гилла и ширины линий на полувысоте Гауссовой формы сигнала поглощения в спектрах ЯМР  $^{17}\text{O}$ . Измерено содержание дейтерия (D/H) и ширина сигналов на полувысоте ( $\Delta\nu_{1/2}^{17}\text{O}$ ), характеризующая скорость спин-спиновой релаксации, а, следовательно, изменение структурированности воды. Обнаружено, что повышение температуры понижает значение ширины линии в спектре ЯМР  $^{17}\text{O}$  до 18 Гц. (рис. 1), ввиду значительного увеличения времени спин-спиновой релаксации, за счет разрушения структуры воды.

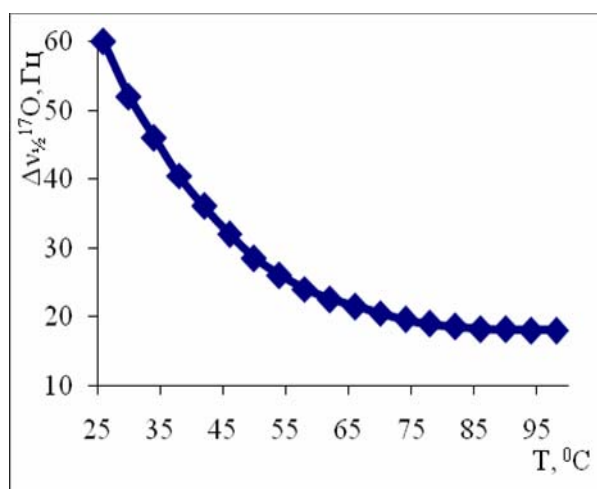
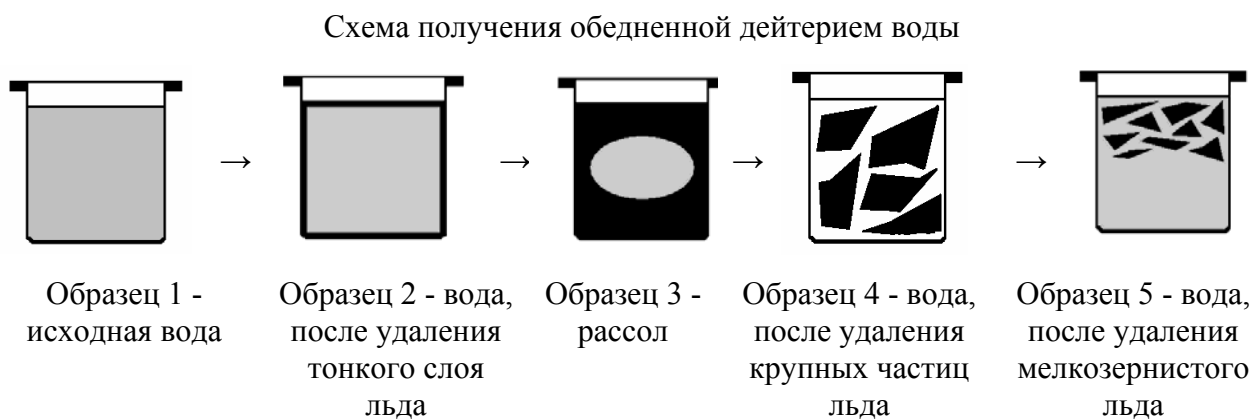


Рис. 1. Зависимость ширины линии на полувысоте от температуры

Предложена схема получения обедненной дейтерием воды, включающая последовательный цикл «кристаллизация–плавление» (схема 2).

Схема 2



Для установления закономерностей изменения структуры воды и содержания изотопа  $^2\text{H}$  в процессе ее обеднения изотопом дейтерия, методом спектроскопии ЯМР проведен анализ образцов, отобранных на каждой стадии удаления тяжелой воды.

Измерение содержания дейтерия в воде и водных растворах проведено в соответствии с модифицированной нами методикой измерения содержания дейтерия в воде, водно-органических и органических растворах.

Различия в изменении значений  $\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$  обусловлены изменением температуры и распределением изотопа  $^2\text{H}$  между фазами, что влияет на структуру водной матрицы.

Впервые проведен анализ образцов, приготовленных на основании воды с содержанием дейтерия в диапазоне 10 600 – 0.02 ppm. На рисунке 2 представлены зависимости содержания дейтерия в образцах воды и их релаксационные характеристики.

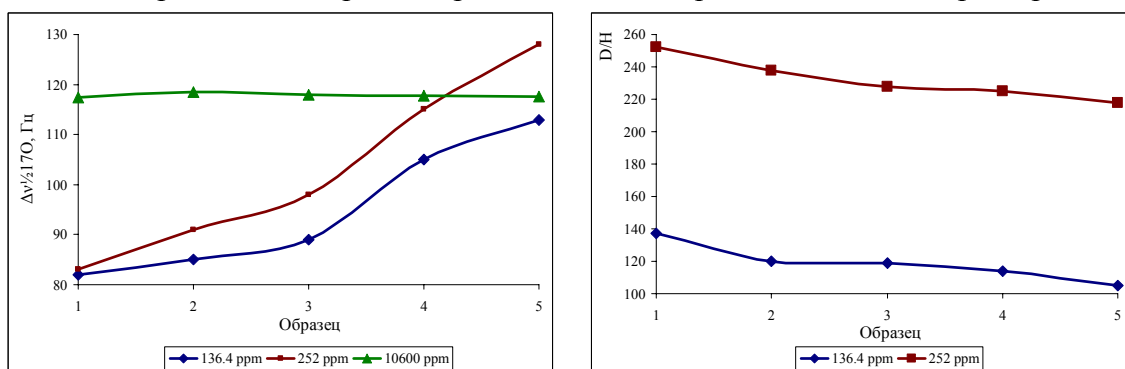


Рис. 2. Изменение содержания изотопа  $^2\text{H}$  и  $\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$ , в процессе «кристаллизация–плавление», с различным исходным содержанием дейтерия в воде

Для образцов с исходным содержанием  $^2\text{H}$  10600 ppm наблюдается понижение содержания дейтерия в воде на 7.5%.

Для образцов 1–5 (схема 2), по мере удаления ассоциатов, содержащих избыточное значение изотомера HOD, обнаружено повышение  $\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$ , при уменьшении D/H (рис. 2). По развиваемым нами представлениям, кластерообразованию, т.е. увеличению значения  $\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$ , способствуют не только процессы упорядочивания молекул воды, происходящие при кристаллизации, но и присутствие растворенного дейтерия, участие которого заключается в образовании объемной сетки, составленной из цепочек молекул HOD.

Для установления взаимосвязи изотопных и структурных характеристик воды нами впервые проведен анализ образцов, полученных в цикле «кристаллизация–плавление» с низким исходным содержанием дейтерия: 0.02ppm, 0.05ppm и 13ppm.

Образцы, выделенные в цикле процесса «кристаллизация–плавление» из воды с исходным содержанием дейтерия 0.02 ppm, 0.5 ppm и 13 ppm (рис. 3) характеризуются сложной волнообразной зависимостью с выраженными максимумами

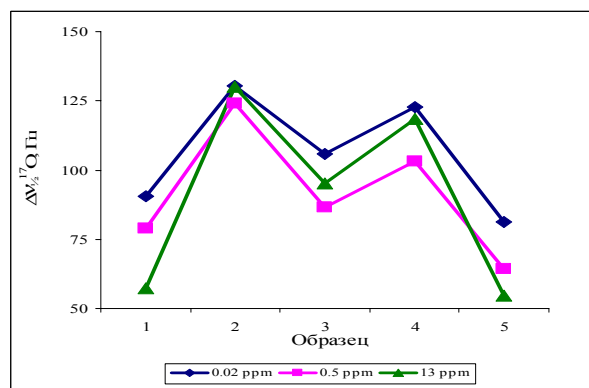


Рис. 3. Изменение параметра  $\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$  с исходным содержанием  $^2\text{H}$  в воде – 0.02, 0.5 и 13 ppm, в процессе «кристаллизация–плавление»



для отдельных стадий. Эти закономерности отличаются от рассмотренных ранее (рис. 2), где наблюдается структурирование воды в процессе ее обеднения дейтерием. В случае с заниженным исходным содержанием дейтерия в образцах воды регистрируется неустойчивое состояние водной основы. Оно может возникать в тонких слоях, образованных специфическими кластерами, перестраивающимися в процессе теплового движения молекул.

Отмеченные закономерности (рис. 2.) изменения  $\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$  и D/H обнаружены для образцов минерализованной воды (концентрация солей = 2 г/л, табл. 1).

Таблица 1

Содержание изотопа  $^2\text{H}$  (D/H) и величина  $\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$  минерализованной воды

Образец*	$\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$ , Гц	D/H, ppm
Вода (исходная)	50.6±0.7	136±4.1
1	56.3±0.8	108±3.2
2	56.8±0.8	109±3.2
3	54.0±0.8	114±3.3

\* 1–3 – результаты трех параллельных экспериментов для конечного продукта обедненного дейтерием.

Минерализованная вода содержит соли, внедрение ионов которых в структуру водной матрицы изменяет степень упорядоченности системы. Для образцов 1–3 в конечных продуктах цикла «кристаллизация–плавление» (табл. 1) наблюдается незначительное уширение сигнала  $^{17}\text{O}$ , характеризующее упрочнение структуры воды. Значение  $\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$  возросло на 3–6 Гц, по отношению к исходной минерализованной воде. Такое изменение скорости релаксации значительно ниже, чем наблюдалось ранее для дистиллированной воды (рис. 2), что может быть обусловлено взаимно компенсирующим эффектом влияния положительно заряженных однозарядных ионов, влияние которых на водную матрицу будет рассмотрено ниже.

Установлено, что существует взаимосвязь структурированности воды и содержания в ней дейтерия. Наблюдаются два максимума (30 ppm и 90 ppm). Методом биотестирования установлено, что существуют соответствующие максимумы в зависимости прироста биомассы семян овса от содержания дейтерия в воде, использованной для полива. Их значения находятся в диапазоне 40 ppm и 100 ppm, тем самым можно предположить существование взаимосвязи прироста биомассы семян, величины  $\Delta v_{1/2}^{17}\text{O}$  и содержания дейтерия в воде.

Изучено влияние воды с переменным изотопным составом на содержание  $^2\text{H}$  в растительных тканях (семенах гороха). В нормальных условиях и при стрессовых воздействиях (термическая обработка при  $T = 75^\circ\text{C}$ ) семена гороха поглощают воду в различных количествах, в зависимости от ее изотопного состава. Снижение в воде количества изотопа дейтерия положительно сказывается на физиологическую активность организмов.

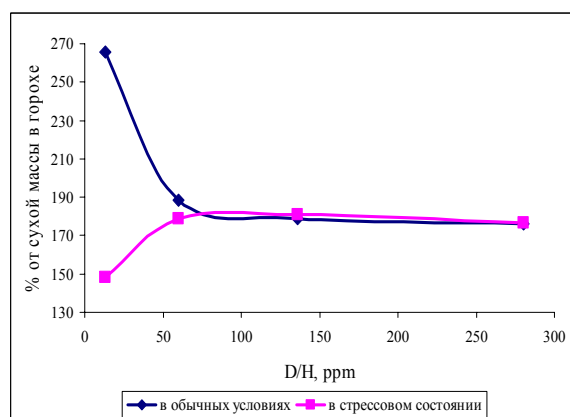


Рис. 4. Насыщение водой (в % от сухой массы) с разным содержанием дейтерия семян гороха в различных условиях

Проведены исследования изотопного обмена в растительных тканях гороха после его насыщения в воде с различным содержанием дейтерия (13 – 1200 ppm). Семена гороха в обычных условиях поглощают преимущественно молекулы воды без дейтерия (с наименьшим содержанием). При увеличении концентрации дейтерия в воде, степень насыщения уменьшается (рис. 4). После температурного воздействия больше поглощается вода с повышенным содержанием дейтерия.

В таблице 2 представлены результаты по содержанию дейтерия в воде поглощенной и выделенной из семян гороха при различных условиях.

Таблица 2

Содержания дейтерия в воде, выделенной из семян гороха при различных условиях

Содержание дейтерия в исходной воде, ppm	Содержание дейтерия в воде, выделенной из гороха, ppm	
	Нормальные условия	Стрессовое состояние
13	29.0±0.9	24.0±0.7
60	69.3±2.1	57.0±1.7
100	99.1±3.0	90.1±2.7
Контроль (136.4)	133.0±4.0	137.1±4.1
280	215.2±6.5	238.3±7.1
700	625.0±10.8	635.0±10.9
1200	993.3±13.8	1074.1±15.2

Результаты получены совместно с д.б.н., проф. Д.И. Стомом

Установлено, что вода, выделенная из семян гороха после предварительной термической обработки, содержит меньше дейтерия, чем из семян гороха в нормальных условиях, при исходном содержании дейтерия в диапазоне 13–136 ppm. При содержании дейтерия свыше 136 ppm зависимости обратные. Для воды с содержанием дейтерия в 1200 ppm наблюдается накопление дейтерия в образцах.

В ГЛАВЕ III рассмотрен характер изменения содержания  $^2\text{H}$  в многокомпонентных системах природного происхождения «ГК– $\text{H}_2\text{O}$ – $\text{NaOH}$ ». Гуминовые кислоты (ГК) – продукты химической модификации растительного сырья (углеводов, белков и лигнина), составляющие до 80% органического вещества почв, природных вод и твердых горючих ископаемых.

Степень замещения «подвижного» водорода  $^1\text{H}$  ГК на дейтерий растворителя (обогащенная дейтерием вода) может служить качественной мерой её активности, как за счёт фрагментов склонных к обменным процессам, так и наличием реакционных парамагнитных центров. Рассмотрена возможность оценки одной из видов активности ГК – ростовой, выделенных из бурых углей различной степени метаморфизма, методом количественной спектроскопии ЯМР  $^2\text{H}$ .

Для определения содержания дейтерия в изучаемых образцах использовался метод градуировочного графика. В качестве стандартных образцов использована вода с известным содержанием дейтерия (табл. 3). Для сравнения, приведены значения изменения содержания дейтерия в растворах дигидрокверцетина и танина, моделирующих отдельные фрагменты ГК.

Результаты измерения содержания дейтерия в растворах ГК

ГК	Содержание $^2\text{H}$ в исходном растворе NaOH, ppm	Содержание $^2\text{H}$ в растворе ГК, ppm	$\Delta^2\text{H}^*$
Загустайское м/р	136.4±4.1	115.8±3.5	20.6
Б-3		127.5±3.8	8.9
Щеткинское м/р		134.5±4.0	1.9
Б-2		127.0±3.8	9.4
Глинкинское м/р		130.0±3.9	6.4
Загустайское м/р	1263.0±17.9	1204.3±16.1	58.7
Б-3		1199.3±16.0	63.7
Щеткинское м/р		1228.3±16.8	34.7
Б-2		1253.5±17.6	9.5
Глинкинское м/р		1247.2±17.4	15.8
Дигидрокверцетин	136.4±4.1	128.1±3.8	8.3
Танин		128.9±3.8	7.5

\* $\Delta^2\text{H}$  – изменение содержания дейтерия в исходном растворе и в растворе с добавлением ГК

Образцы Б-2 и Б-3 выделены из бурых углей Тальбулагского и Увдугхудагского месторождения (Респ. Монголия).

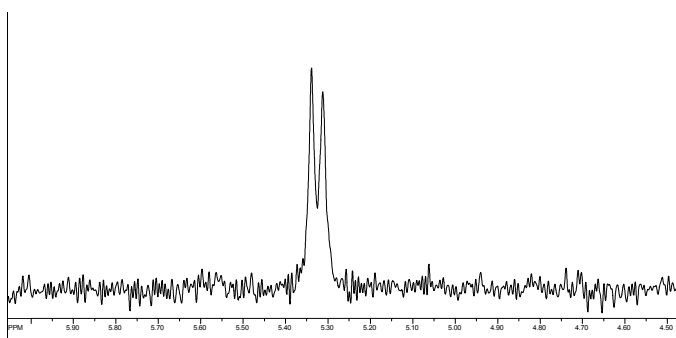


Рис. 5. Спектр ЯМР  $^2\text{H}$  раствора ГК Б-3 в NaOH (D/H = 136.4 ppm)

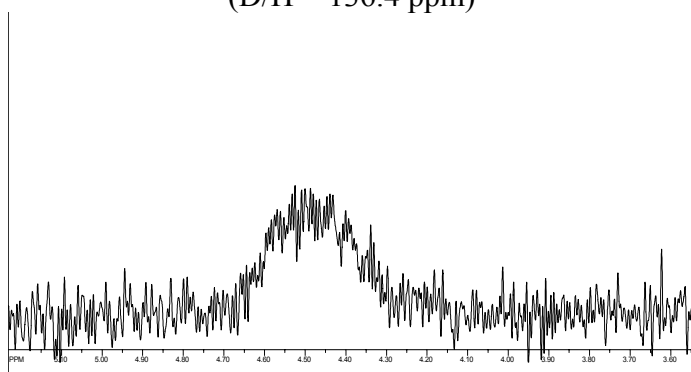


Рис. 6. Спектр ЯМР  $^2\text{H}$  раствора ГК Б-2 в NaOH (D/H = 136.4 ppm)

Анализ изменения содержания  $^2\text{H}$  в растворах ГК показал, что для всех образцов наблюдается уменьшение количества дейтерия, по сравнению с исходным раствором. Возможно, это обусловлено включением изотопа  $^2\text{H}$  в сферу влияния парамагнитных центров, количество которых существенно возрастает при растворении в щелочной среде (pH=10). Линейной зависимости  $\Delta^2\text{H}$  с ростовой активностью не обнаружено.

Активность ГК можно проследить, анализируя форму контуров спектральных линий, характеризующую степень распределения  $^2\text{H}$  между обменными и парамагнитными центрами. В перспективе, возможно, оценивать ростовую активность ГК без

проведения трудоемких полевых испытаний. На рис. 5 и 6 представлены спектры ЯМР  $^2\text{H}$  ГК в растворе NaOH, со стандартным содержанием дейтерия (136.4 ppm).

Анализ типичных спектров ЯМР  $^{13}\text{C}$  ГК различного происхождения в диапазоне ХС 0–240 ppm обнаруживает сигналы, соответствующие углеводному (полисахаридному) фрагменту в диапазоне 65–110 ppm. Оценка ростовой активности, проводимая на основе количественных спектров ЯМР  $^{13}\text{C}$ , также включает анализ этого фрагмента. Можно считать, что обменные процессы с участием воды различной степени обогащения, позволяют выявить существенную роль гидроксильных групп углеводных фрагментов, обеспечивающих обменный процесс, для ГК из углей низкой степени метаморфизма, следовательно, различные виды активности.

Проведены исследования на основе отдельного фрагмента полисахаридов – глюкозы в реакциях синтеза металлоорганических комплексов, используя воду со стандартным содержанием дейтерия (136.4 ppm).

Синтез металлокомплексного соединения осуществлен на основе переходных металлов и углеводных лигандов в буферном растворе ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  и  $\text{H}_2\text{O}$ ), с последующей регистрацией спектров ЯМР  $^{13}\text{C}$  и изучением продуктов синтеза методом адсорбционной полярографии (вольтамперометрия), для установления степени активности. На рисунке 7 представлены спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$ , отражающие превращения углеводородного скелета молекулы глюкозы (А) и осадка (Б).

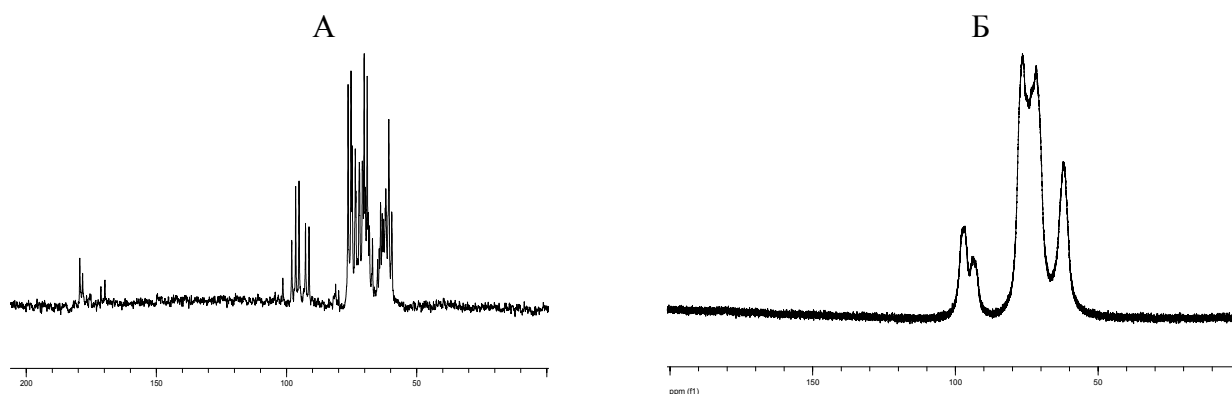


Рис. 7. Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  продуктов превращения глюкозы, после термической обработки исходной смеси (А) и осадка (Б), в условиях off-резонанса

Спектр (рис. 7–Б) значительно уширен, что свидетельствует о прошедшей реакции конденсации глюкозы, с образованием соединения, в состав которого входит парамагнитный комплексообразователь –  $\text{Fe}^{2+}$ . Это приводит к появлению парамагнитных центров, обеспечивающих координацию отдельных молекул глюкозы, приводящих к существенному уширению всех сигналов в спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$ , за счет образования металлокомплексного соединения – глюкомоса. Значения химических сдвигов (ХС) в спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  глюкомоса, с учетом ширины линии и частичного перекрытия сигналов, полностью соответствуют ХС исходной глюкозы, как и соотношение интегральных интенсивностей сигналов в этом диапазоне спектра.

Глюкомос, как следует из анализа характера распределения спектральной плотности, формы линии и значений времени спин-спиновой релаксации, может быть представлен многоядерным комплексом замкнутых кольцевых структур, внутри которых расположены центральные атомы переходных металлов.

Разработанный подход к оценке ростовой активности ГК по способности подавления кислородного максимума в адсорбционной полярографии использован впервые для

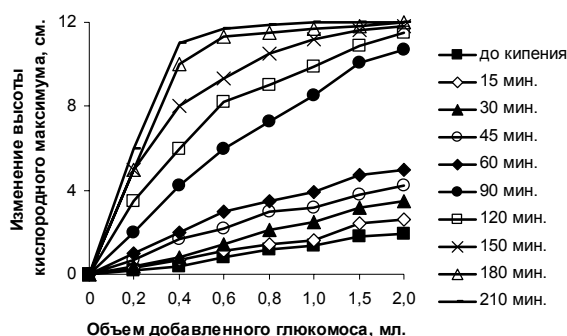


Рис. 8. Подавление кислородного максимума глюкомосом при различной продолжительности термической обработки

активность полученного препарата, относительно товарных ГК.

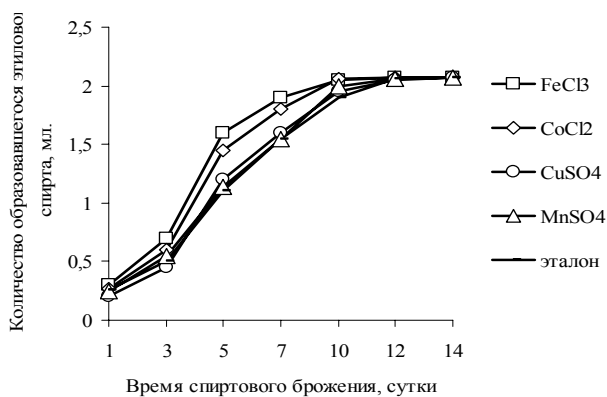


Рис. 9. Зависимость количества образовавшегося этилового спирта в мл. от времени брожения глюкозы

глюкозы наблюдается на пятые сутки процесса.

В ГЛАВЕ IV представлены результаты измерений скорости релаксации ядер кислорода ( $\Delta v_{1/2}^{17O}$ ) для систем «Катион Анион – H<sub>2</sub>O». Влияние катионов щелочных металлов, рассмотрено на основе развиваемых нами подходов, учитывающих взаимное влияние скорости релаксации и температуры на структуру воды.

Монотонное возрастание скорости релаксации (до 160 Гц) для систем «NaCl – H<sub>2</sub>O» в диапазоне концентраций 10<sup>-3</sup>–4 моль/дм<sup>3</sup> позволяет сделать предположение о формировании единой гидратной оболочки (Рис. 10).

Структура гидратной сферы Na<sup>+</sup> образована сеткой водородных связей, представляющие собой сферы, расположенные на разных расстояниях от иона Na<sup>+</sup> и более прочные, чем в исходной воде. С увеличением расстояния от катиона его влияние на молекулы воды постепенно ослабевает. На поверхности кластера водородные связи не разрываются, а представляют собой границу коллективных взаимодействий молекул воды с многочастичным обменом.

глюкомоса, из-за близости ряда физико-химических свойств с ГК. На рисунке 8 представлена зависимость подавления кислородного максимума растворенным синтезированным продуктом при различном времени термической обработки. Синтезированный глюкомос вызывает эффект подавления кислородного максимума при добавлении значительно меньших объемов, чем ГК. Это определяет более высокую эффективность влияния на ростовую

Полученные препараты, на основе солей отдельных ионов металлов (Fe<sup>3+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> и Mn<sup>2+</sup>), применили для оценки влияния на реакцию спиртового брожения глюкозы, в присутствии дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Как видно из рисунка 9, выход этилового спирта остается постоянным для проб с добавлением биомосов на основе ионов различных металлов, при явном ускорении реакции на начальных этапах процесса биоконверсии глюкозы. Максимум ускорения реакции брожения

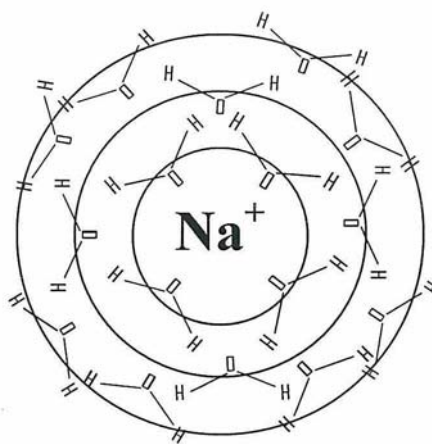
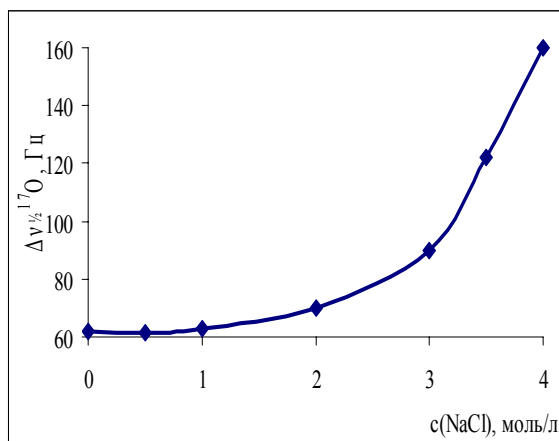


Рис. 10. Зависимость  $\Delta\nu_{1/2}^{17}\text{O}$  от концентрации NaCl и сферический кластер  $\text{Na}^+$  с молекулами воды

Для системы «KCl–H<sub>2</sub>O» в диапазоне концентраций  $10^{-3}$ –5 моль/дм<sup>3</sup>, получены три ярко выраженных максимума (рис. 11). Достижение устойчивой структуры и появление трех максимумов наблюдается через 10 суток после приготовления растворов.

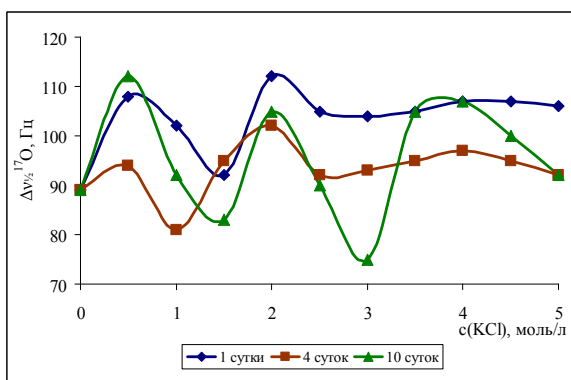


Рис. 11. Зависимость  $\Delta\nu_{1/2}^{17}\text{O}$  от концентрации KCl в растворе

Возрастание скорости спин спиновой релаксации, соответствующее максимумам на кривой, связано с появлением кластеров и изменением структуры воды, формируемых ионом  $\text{K}^+$ .

Наличие максимумов соответствует структурированной воде, которая представлена не концентрическими сферами, как в системе с натрием, а системой микроглобул, где калий

находится в межглобульном пространстве. При деструктурировании водной матрицы (уменьшении скорости релаксации) происходит разрушение микроглобул до стохастического распределения молекул воды, вокруг иона калия (рис.12).

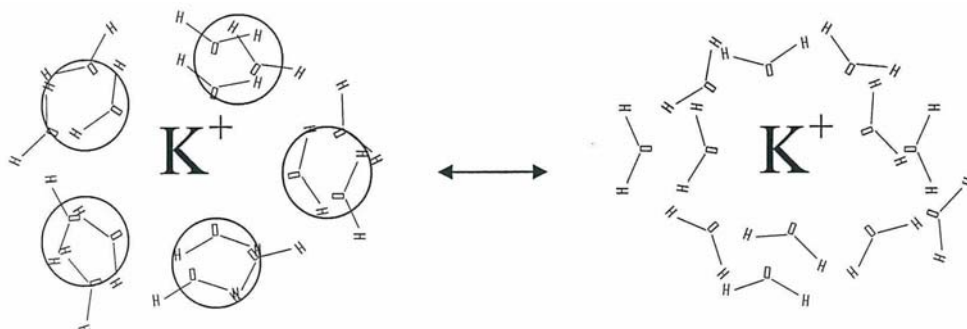


Рис. 12. Формирование микроглобул иона  $\text{K}^+$  с молекулами воды

В диапазоне концентраций  $10^{-3}$ –13 моль/дм<sup>3</sup> для системы «LiCl – H<sub>2</sub>O» наблюдается значительное увеличение скорости релаксации (до 320Гц), что говорит о формировании

гидратной оболочки (рис. 13), более структурированной по сравнению с гидратными сферами иона натрия.

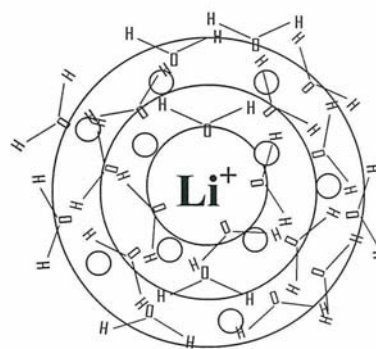
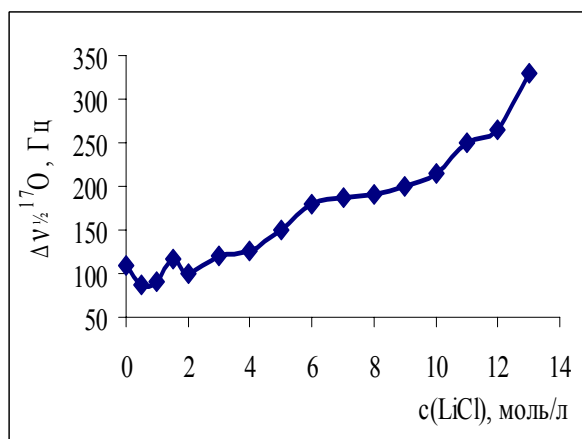


Рис. 13. Зависимость  $\Delta\nu_{1/2}^{17}\text{O}$  от концентрации LiCl и сферический кластер  $\text{Li}^+$  с молекулами воды

Катион Li формирует гидратные сферы, более прочные и сжатые, по сравнению с ионом  $\text{Na}^+$ , а наличие максимума может свидетельствовать о появлении микроглобул (рис. 13). Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о формировании плотной гидратной оболочки вокруг катиона  $\text{Li}^+$ , для разрушения которой недостаточно энергии калиевого канала, что подтверждает наличие катиона лития в межклеточном пространстве.

Органические растворители, содержащие гетероатомы с неподеленными электронными парами и  $\pi$ -связи, изменяют строение водной матрицы. Они были предложены как микрозонды (ацетон, ацетонитрил) на качественном уровне оценки изменения структуры, тем самым, подтверждая или опровергая предложенные модели.

Стабилизирующее структуру растворов действие ацетона проявляется в том, что внедряясь в межглобульное пространство, он образует дополнительную сетку Н-связей с ближайшими молекулами воды, а также взаимодействует с катионом, что определенным образом изменяет упорядоченность во всем объеме раствора. Это должно приводить к дополнительному увеличению скорости релаксации ядер  $^{17}\text{O}$  в растворах «вода–электролит».

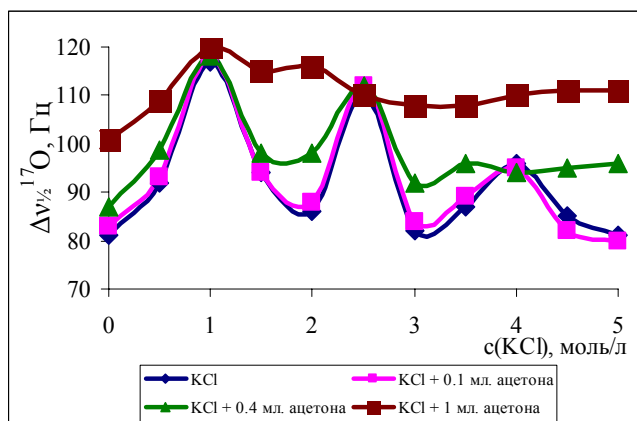


Рис. 14. Зависимость  $\Delta\nu_{1/2}^{17}\text{O}$  от концентрации KCl и количества добавки ацетона (мл)

Добавление в систему «KCl –  $\text{H}_2\text{O}$ » ацетона объемом 1 мл приводит к практически полному исчезновению максимумов. Это свидетельствует о потере бинарности свойств ионов калия. Происходит разрушение микроглобул до стохастического распределения молекул воды (рис. 14), вследствие оказываемого влияния на структуру воды присутствие ацетона, как микрозонда.

Для растворов LiCl и NaCl, с добавлением ацетона, наблюдается увеличение скорости релаксации во всем диапазоне концентраций.

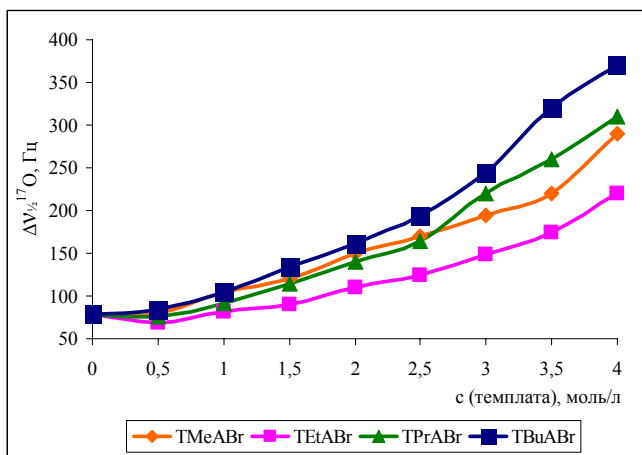


Рис. 15. Зависимость  $\Delta V_{1/2}^{17O}$  от концентрации тетраалкиламмонийного катиона (темплата)

алкильного радикала и концентрации, обнаружено, что структурирующая способность увеличивается в последовательности: Et < Me < n-Pr < n-Bu (рис. 15), нарушающей классическую, основанную на стерических и индукционных эффектах заместителей последовательность изменений значений химических сдвигов.

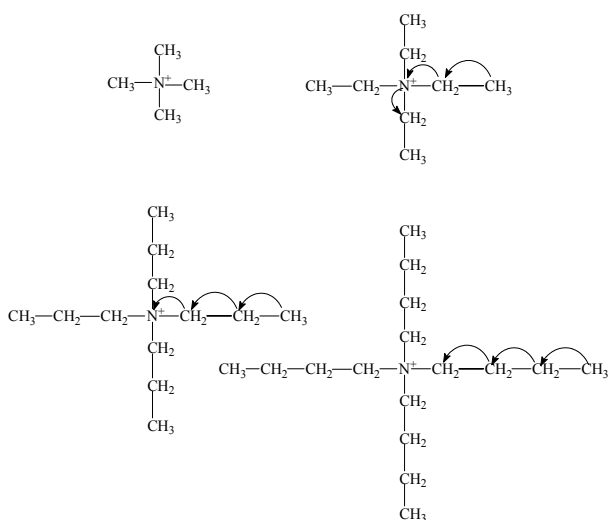


Рис. 16. Электронные эффекты четвертичных аммониевых солей

катионе, по сравнению с остальными рассмотренными четвертичными аммониевыми катионами. Химический сдвиг  $^{13}C$ , рассмотренного атома углерода в ряду этих соединений находится в самом сильном поле (52 м.д.), тогда как в Me, Pr и Bu катионе имеет значение 56, 60 и 58 м.д.

Проявление обнаруженного электронного эффекта в тетраэтиламмонийном катионе, предопределяет многообразие формируемых этим темплатом типов цеолитов таких как: ZSM-5, ZSM-12, ZSM-25, Beta-цеолит, мордернит и др. и катализаторов на их основе. Тогда как темплат TMeAm способствует формированию структуры преимущественно ZSM-4 цеолита, TPrAm – ZSM-5, TBuAm – ZSM-11.

Тетраалкиламмониевые катионы, в отличие от катионов металлов, не образуют донорно-акцепторных связей с молекулами растворителя. Положительный заряд локализован в них на находящемся в центре атоме азота, окруженном инертными углеводородными группами. Вследствие больших радиусов и симметричной формы эти катионы могут служить модельными системами для проверки адекватности предложенных моделей ассоциации. При вариации длины

Особое положение занимает радикал Et. Проведенный нами анализ широких классов гетероатомных линейных, разветвленных и циклических углеводов позволил выявить взаимосвязь этого необычного поведения с проявлением  $\gamma$ -эффекта терминальной  $CH_3$ -группы углеводородной цепочки, особенность которого заключается во включении в последовательность передачи индукционного эффекта центрального атома  $N^+$  (рис. 16).

Электронная плотность на атоме углерода, связанном с атомом азота, максимальна в тетраэтиламмонийном



Нами предложена модель структурирования водной матрицы (рис. 17) четвертичными аммониевыми солями. Упрочнение водородных связей воды происходит за счет эффекта гидрофобизации молекул воды неполярными алкильными радикалами.

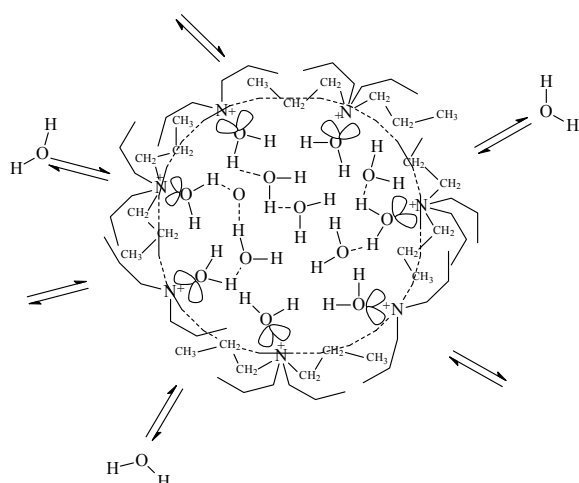


Рис. 17. Модель структурирования водной матрицы четвертичными аммониевыми солями

Происходит образование молекулами воды микроглобул, в которых тетраалкиламмониевый катион, ориентирует молекулы воды неподделенными парами электронов атома кислорода воды внутрь сферы. Углеводородные радикалы при этом создают «эффект препятствия» для подвижности молекул воды, гидрофобизируя поверхность глобулы (рис. 17), что не исключает наличие одно- и многочастичного обмена между

молекулами в глобуле и над ее гидрофобизированной поверхностью.

Для доказательства глобулярного строения водной матрицы нами проведен эксперимент на примере систем: «вода-

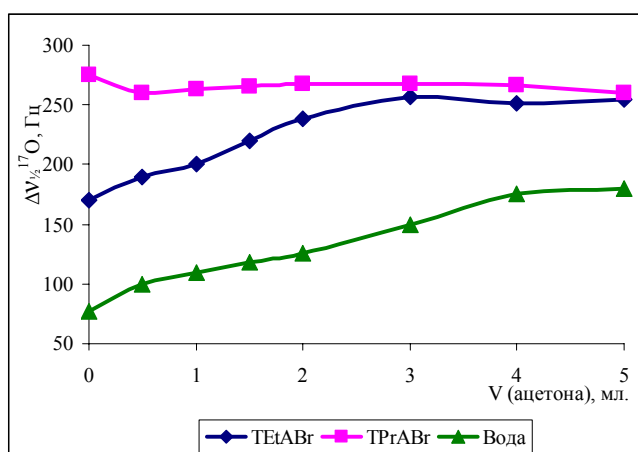


Рис. 18. Зависимость полуширины линии сигнала  $^{17}\text{O}$  от объема добавленного ацетона

«вода-TEtAmBr» и «вода-TPrAmBr» (рис. 18). Использованы 3М растворы солей с применением добавок ацетона, как «индикатора», внедряющегося в дефекты структуры водной матрицы. Происходит замещение дефектных Н-связей вода-вода на связи вода-ацетон.

Обнаружен максимальный стабилизационный эффект добавок ацетона для чистой воды, менее всего организованной из трех образцов, где проявляется чисто «дефектный» механизм структурирования, характерный для

ацетона. В меньшей степени ( $\approx 70$  Гц) эффект стабилизации проявился в системе «вода-TEtAmBr», за счет усиления гидрофобизации поверхности глобул, организованных тетраэтиламмониевым катионом. Стабилизирующего действия молекул ацетона не обнаружено в системе «вода – TPrAmBr». Возможно, это связано со сравнительно большим размером пропильного радикала. Таким образом, эффект стабилизации в данной системе наименьший. Водная матрица организована наиболее эффективно и у молекул ацетона не хватает возможностей для инициирования структурных изменений.

Наблюдаемая эволюция формы сигнала ядер  $^{17}\text{O}$  в бинарных системах позволяет найти основания для интерпретации результатов межмолекулярного взаимодействия в водном растворе как глобулярного, так и радиального построения водной матрицы.

Роль противоиона в тетраалкиламмониевых солях проявляется в сохранении последовательности изменения скорости релаксации при переходе  $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$ .

В системе «вода – ароматический углеводород» с донорно-акцепторными заместителями (анилин, нитробензол) на основании закономерностей изменения  $\Delta v_{1/2}^{17O}$  предположен «эстафетный» механизм стабилизации водной матрицы, при котором происходит синхронный перенос двух протонов без нарушения структуры раствора (анилин) и «глобулярный» механизм стабилизации водной матрицы, с образованием глобул сложного сетчатого строения (нитробензол).

На основе закономерности изменения ХС в зависимости от температуры проведена оценка термодинамических параметров (изменение энтальпии и энтропии) воды в водных растворах диамагнитных солей (табл. 4).

Таблица 4

Значения термодинамических величин процесса «структурирования» молекул воды в системах «вода – TEtAmBr», «вода – TEtAmOH»

Объект исследования	$\Delta H$ , кДж/моль	$\Delta S$ , Дж/моль•К
«вода – TEtAmBr»	-7.48	-9.46
«вода – TEtAmOH»	-5.04	-8.38

Процесс «структурирования» молекул воды в системах «вода – TEtAmBr», «вода – TEtAmOH» сопровождается тепловыми эффектами выигрыша энергии ( $\Delta H = -7.48$  кДж/моль и  $\Delta H = -5.04$  кДж/моль соответственно, табл. 4). Энтропия рассматриваемого процесса также имеет отрицательный знак, причем для системы «вода – TEtAmBr» абсолютная величина её несколько превышает таковую для системы «вода – TEtAmOH», что, вероятно, связано с ролью противоиона в организации водной матрицы. Отрицательные значения энтропии (табл. 4) обусловлены не взаимодействием между молекулами воды и тетраалкиламмонийными катионами, а коллективными изменениями структуры воды в сторону большей её упорядоченности.

В ГЛАВЕ V рассмотрен процесс биоконверсии глюкозы в тяжелой воде. Исследован вклад изотопов воды при формировании молекулы глицерина при сбраживании D-глюкозы. Вода играет важную роль в биохимических процессах, выступая в них не только в роли растворителя, но и донора атомов водорода и дейтерия. Методом количественной спектроскопии ЯМР  $^{13}C$  изучено внутримолекулярное распределение дейтерия в глицерине, полученном при биоконверсии D- и D-[1- $^{13}C$ ] глюкозы (I и II, соответственно) в тяжелой воде в присутствии *Saccharomyces cerevisiae*. На рисунке 19 представлен количественный спектр ЯМР  $^{13}C$  метиленовой группы [1- $^{13}C$ ]-глицерина с подспектрами, полученными методом спинового эха.

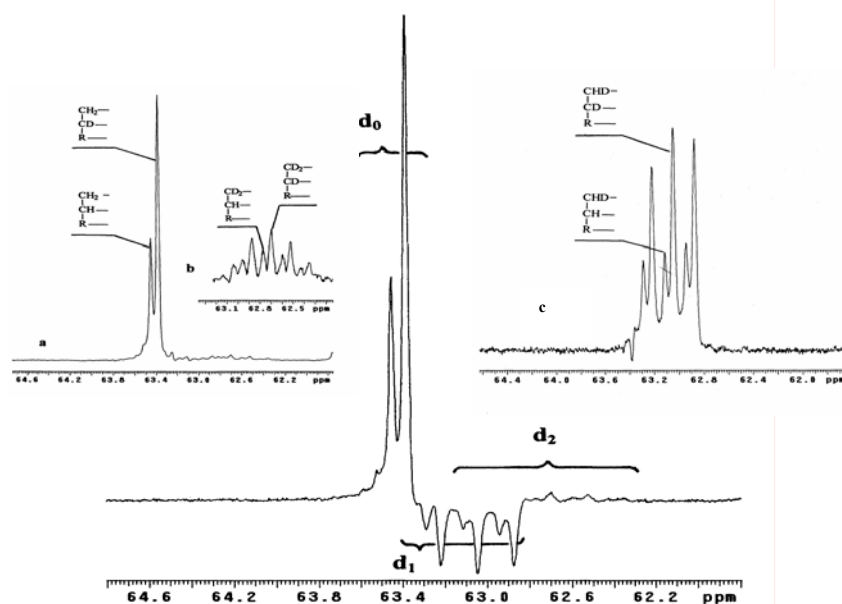


Рис. 19. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  метиленовой группы  $[1-^{13}\text{C}]$ -глицерина, полученный с использованием импульсной последовательности «спинового эха»

В результате детального анализа и оценки интегральных интенсивностей сигналов рассчитан изотопмерный состав глицерина, в % (табл. 5).

Таблица 5

Изотопмерный состав глицерина, полученного при сбраживании D-глюкозы в  $^2\text{H}_2\text{O}$  в присутствии *Saccharomyces cerevisiae*, %.

Глюкоза	Фрагмент глицерина						
	Метиленовые группы				Метиновая группа		
	d <sub>0</sub>	d <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	Σd*	d <sub>0</sub>	d <sub>1</sub>	Σd*
I	42,4	28,1	29,5	0,87	34	66	0,66
II	64,9	29,9	5,2	0,40	31	69	0,69

\*Σd – суммарное содержание дейтерия во фрагменте (г-ат), определяемое как  $\sum d_i/100$ , где  $i$  – число атомов дейтерия.

Сопоставление полученных результатов для обычной и меченой глюкозы позволяет установить фрагментное распределение дейтерия в глицерине, образующемся при биоконверсии D-глюкозы в тяжелой воде. Проведенные расчеты на базе полученных результатов показали, что в процессе трансформации D-глюкозы в глицерин в  $\text{C}^1\text{H}_2$  и  $\text{C}^3\text{H}_2$  группы последнего из воды переходит 0.2 и 1.54 г-ат дейтерия, соответственно. В метиновой группе содержание дейтерия составляет 0.66–0.69 г-ат.

Механизм появления дейтерия воды в молекуле глицерина обсужден в рамках общепринятой схемы биоконверсии углеводов. В частности, показано, что формирование метиленовых групп глицерина происходит из различных источников. Для атомов водорода  $\text{C}^1\text{H}_2$  группы глицерина в основном, а в присутствии изотомера воды  $d_1$  полностью, таковым является углевод.  $\text{C}^3\text{H}_2$  группа формируется в результате водородного обмена

молекул глюкозы с водой на стадии динамического равновесия между фосфатами диоксиацетона и D-глицеральдегида. В метиновое положение дейтерий попадает из  $C^3H_2$  группы при участии НАД, причем степень его переноса ( $K_n$ ) определяется содержанием изотопмерной формы последней. Для  $d_1$  она колеблется в пределах 0.25–0.32.

Известно, что фрагментное распределение природного дейтерия в углеводах может меняться в широких пределах в зависимости от их происхождения. Прямое определение такого дейтерия в углеводах представляет сложную задачу, поэтому для изотопной характеристики предлагается использовать продукт их сбраживания – глицерин. Поскольку вода также участвует в образовании последнего, ясно, что информативность этого подхода будет более полной и точной при условии дифференциации молекул, источником дейтерия для которых является сам углевод. В условиях природного содержания дейтерия, когда все молекулы представлены исключительно изотопмером  $d_1$ , изотопный состав  $C^1H_2$  группы глицерина полностью определяется дейтерием углевода и может служить изотопной характеристикой последнего. В спектре ЯМР  $^2H$  глицерина идентифицируются сигналы, соответствующие суммарному количеству дейтерия обеих метиленовых групп  $D^{1+3}$  и один сигнал метиновой группы  $D^2$ . Поскольку содержание дейтерия во второй метиленовой и в метиновой группах связаны определенной пропорцией ( $K_n$ ), анализ спектра позволяет рассчитать количество дейтерия, перешедшего в глицерин из глюкозы по уравнению  $D^1 = D^{1+3} - D^2/K_n$ .

Естественно, доля дейтерия, переносимого от метиленовой в метиновую группу ( $K_n$ ) может меняться в зависимости от условий сбраживания, однако, проведение серии калибровочных экспериментов в строго стандартизированных условиях позволит установить границы его применения.

## Выводы

1. Разработана методика получения воды с пониженным содержанием дейтерия, включающая последовательный цикл «кристаллизация–плавление». Изучено влияние изотопного состава воды на структурные особенности водной матрицы.
2. Модифицирована методика измерения содержания дейтерия в воде, водно–органических и органических растворах методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса.
3. Установлено, что катионы натрия и лития являются структурообразующими элементами, а катион калия обладает бинарными свойствами в водных растворах. В зависимости от его концентрации в растворе он структурирует или разупорядочивает водную матрицу.
4. Предложен механизм структурирования водной матрицы четвертичными аммониевыми солями с упрочнением водородных связей за счет эффекта гидрофобизации молекул воды неполярными алкильными радикалами.
5. Оценены термодинамические параметры воды в водных растворах диамагнитных солей.
6. Обнаружено, что растительные ткани семян при инкубации в воде с различным содержанием дейтерия интенсивно поглощают легкую воду, а в стрессовом состоянии – тяжелую; потери влаги семенами в стрессовом состоянии минимальны для легкой, а в нормальных условиях – тяжелой воды.
7. Выявлены возможности оценки физиологической активности гуминовых кислот методом ЯМР  $^2\text{H}$ , анализируя форму контуров спектральных линий, характеризующую обменные процессы и степень распределения  $^2\text{H}$  по активным центрам. Это позволит оценивать ростовую активность гуминовых кислот без проведения трудоемких полевых испытаний.
8. Впервые синтезирован биологически активный комплекс (глюкомос) на основе различных переходных металлов и органических лигандов – глюкозы (использована вода со стандартным значением содержания дейтерия 136.4 ppm). Оптимизировано время термического и УФ воздействия для достижения максимального выхода продукта.
9. Изучено распределение дейтерия в глицерине, полученного при сбраживании D- и [1- $^{13}\text{C}$ ]-D-глюкозы в тяжелой воде в присутствии *Saccharomyces cerevisiae*. Установлено, что комплектование водородной периферии двух метиленовых групп глицерина осуществляется из различных источников: одна формируется преимущественно за счет атомов водорода субстрата, вторая – полностью атомами водорода среды.

Список публикаций по теме диссертации:

1. Биоконверсия D-глюкозы в тяжелой воде. Влияние изотопного состава воды на фрагментное распределение дейтерия в этаноле / А. Г. Сахабутдинов, **А. Л. Бисикало**, Д. Ф. Кушнарев, А.В. Рохин, Н.В. Кулагина // Журнал прикладной химии. – 2010. – Т. 83, вып. 11. – С. 1928–1930 (из списка журналов, рекомендованных ВАК).
2. Гликолиз D-глюкозы в тяжелой воде: роль промежуточных стадий при формировании изотопного строения этанола / А. Г. Сахабутдинов, **А. Л. Бисикало**, Д. Ф. Кушнарев, Н. В. Кулагина // Журнал прикладной химии. – 2011. – Т. 84, вып. 6. – С. 979–982 (из списка журналов, рекомендованных ВАК).
3. Биоконверсия глюкозы в тяжелой воде. Вклад атомов дейтерия воды в формирование изотопного состава глицерина / А. Г. Сахабутдинов, **А. Л. Бисикало**, Д. Ф. Кушнарев, Н. В. Кулагина // Журнал прикладной химии. – 2012. – Т. 85, вып. 6. – С. 953–959 (из списка журналов, рекомендованных ВАК).
4. **Бисикало, А. Л.** Синтез, состав и свойства биомосов / А. Л. Бисикало // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. Научный журнал. – 2011. – Вып. 1. – С. 37–42.
5. Aprelkova, N. F. Estimation of the physiological activity of humic substances using polarography and  $^{13}\text{C}$  NMR methods / N. F. Aprelkova, **A. L. Bisikalo**, N. S. Matvievsckaya // Chemistry and Food Safety-2008 : proceeding of 3<sup>RD</sup> internat. symposium in chem., 2–4 oct. 2008 y. – Mongolia, 2008. – P. 126.
6. Апрелькова, Н.Ф. Изучение состава и свойств гуминовых веществ методом полярографии и количественной спектроскопии ЯМР  $^{13}\text{C}$  / Н. Ф. Апрелькова, **А. Л. Бисикало**, Н. С. Матвиевская // Аналитика и аналитики : материалы II междунар. форума, 22–26 сент. 2008 г. – Воронеж, 2008. – С. 564.
7. **Бисикало, А. Л.** Синтез, состав и свойства биомосов / А. Л. Бисикало // Вестник Ирк. универ. : материалы ежегод. науч.-теорет. конф. аспирантов и студентов. – Иркутск, 2008. – С. 392.
8. Апрелькова, Н. Ф. Количественная спектроскопия ядерного магнитного резонанса гуминовых веществ: методология и методики исследования состава и строения / Н. Ф. Апрелькова, Н. С. Матвиевская, **А. Л. Бисикало** // Химия и технология растительных веществ : материалы V Всерос. науч. конф., 8–12 июня 2008 г. – Уфа, 2008. – С. 73.
9. Кушнарев, Д. Ф. Определение подлинности спиртов и спиртосодержащих жидкостей методом количественной спектроскопии ЯМР / Д. Ф. Кушнарев, А. В. Рохин, **А. Л. Бисикало** // Актуальные вопросы судебных экспертиз : материалы Междунар. науч.-практ. конф., 22–23 апр. 2009 г. – Иркутск, 2009. – С. 131–137.
10. Лапина, С. А. Адсорбционная полярография в определении молекулярных масс гуминовых веществ углей различного генезиса / С. А. Лапина, **А. Л. Бисикало**, Н. Ф. Апрелькова // Материалы Междунар. науч. конф. по аналит. химии и экологии, 6–8 окт. 2010 г. – Алматы, 2010. – С. 137.
11. Апрелькова, Н. Ф. Особенности адсорбционной полярографии в изучении свойств и активности гуминовых веществ / Н. Ф. Апрелькова, **А. Л. Бисикало**, С. А. Лапина // Гуминовые вещества в биосфере : материалы V Всерос. конф., 1–4 марта 2010 г. – СПб., 2010. – С. 108–111.
12. **Бисикало, А. Л.** Количественная спектроскопия ЯМР  $^2\text{H}$  гуминовых веществ в растворах с различным содержанием дейтерия / А. Л. Бисикало, М. Ю. Кондакова,

Д. Ф. Кушнарв // Гуминовые вещества в биосфере : материалы V Всерос. конф., 1–4 марта 2010 г. – СПб., 2010. – С. 112-114.

13. Структурные особенности водной матрицы «Гуминовое вещество-Н<sub>2</sub>О-углевод» из спектров ЯМР <sup>13</sup>С, <sup>17</sup>О / М. Ю. Кондакова, **А. Л. Бисикало**, А. С. Богданова, Д. И. Стом // Гуминовые вещества в биосфере : материалы V Всерос. конф., 1–4 марта 2010 г. – СПб., 2010. – С. 152-154.

14. **Бисикало, А. Л.** Биоконверсия D-глюкозы в тяжелой воде. Влияние изотопмерного состава воды на фрагментное распределение дейтерия в этаноле / А. Л. Бисикало, А. Г. Сахабутдинов, Д. Ф. Кушнарв // Актуальные проблемы органической химии : материалы Всерос. конф. с элементами науч. шк. для молодежи, 6–8 окт. 2010 г. – Казань, 2010. – С. 146.

15. Адсорбционная полярография и активность гуминовых веществ / Н. Ф. Апрелькова, С. А. Лапина, Д. Ф. Кушнарв, **А. Л. Бисикало** // Теория и практика электроаналитической химии : материалы симп., 13–17 сент. 2010 г. – Томск, 2010. – С. 83–84.

**Благодарности.** Автор выражает искреннюю благодарность д-ру хим. наук, с.н.с. А. Г. Сахабутдинову, д-ру хим. наук А. В. Рохину за помощь в планировании и проведении экспериментов и обсуждении результатов, а также д-ру биол. наук, профессору Д. И. Стому за предоставленные образцы для проведения опытов.

---

*Научное издание*

**Бисикало Артем Леонидович**  
**Количественная спектроскопия ЯМР <sup>2</sup>Н, <sup>13</sup>С и <sup>17</sup>О в изучении изотопного  
состава воды и её структурных особенностей в растворах**

Подписано в печать 20.11.2012. Формат 60x90 1/16  
Усл. печ. л. 1,4. Тираж 100 экз. Заказ 68

Издательство ИГУ  
664003, Иркутск, бульвар Гагарина, 36; тел. (3952) 24–14–36

