

Министерство образования и науки Российской Федерации

**КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ**

ИНСТИТУТ ФИЗИКИ

**КАФЕДРА КВАНТОВОЙ ЭЛЕКТРОНИКИ И
РАДИОСПЕКТРОСКОПИИ**

Направление: 011800.62 – Радиофизика

КУРСОВАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

**ЯМР диффузометрия водорастворимых
соединений на основе
n-трет-бутилтиакаликс[4]арена**

Работа завершена:

"__" ____ 2015 г. _____ (Л.Б.Магомедова)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель
к.ф.-м.н., с.н.с. КИББ КазНЦ РАН
"__" ____ 2015 г. _____ (Б.И.Хайрутдинов)

Заведующий кафедрой

д.ф.-м.н., профессор
"__" ____ 2015 г. _____ (М.С.Тагиров)

Казань – 2015

Содержание

Содержание.....	2
Введение.....	3
1. Обзор литературы.....	4
1.1. Ядерный магнитный резонанс	4
1.2. Импульсный ЯМР	6
1.3. Измерение самодиффузии методом ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля.	7
1.4. Модель двух состояний, определение критической концентрации мицеллообразования.....	10
2. Экспериментальная часть.....	12
2.1. Оборудование	12
2.2. Объекты исследования	12
2.3. Экспериментальные данные	14
2.4. Анализ полученных результатов.....	16
Результаты и выводы	18
Список использованной литературы	19

Введение

Ядерный магнитный резонанс – уникальный метод исследования структуры, движения и электрических свойств вещества.

Одно из приложений метода – исследование динамики молекул вещества в растворе, т.е. самодиффузии. Анализируя данные об изменении коэффициента самодиффузии можно сделать вывод об образовании молекулами ассоциатов (мицеллярных структур) различных форм и размеров. Для этого используется метод ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля.

Дизайн водорастворимых синтетических рецепторов в последние годы привлекает пристальное внимание исследователей в связи с открывающимися широкими перспективами для создания новых биомиметических систем. Ведутся исследования по созданию соединений, которые, подобно природным рецепторам и ферментам, смогут распознавать катионы металлов, белковые поверхности и органические вещества. В качестве молекулярной платформы для создания рецепторных структур часто используют каликс[4]арены. Эти соединения за счет гидрофобных взаимодействий способны заключать небольшие молекулы в свои молекулярные полости и образовывать комплексы типа «гость-хозяин».

Целью работы является знакомство с методом ядерного магнитного резонанса с импульсным градиеном магнитного поля, применяемым для изучения диффузии веществ в растворе. На основе данных о коэффициенте самодиффузии вещества нужно сделать вывод об агрегации молекул в растворе при различных условиях (разных значениях концентрации), размерах агрегатов и их пространственной конфигурации.

Задача исследования – получить зависимости коэффициентов самодиффузии *n*-*трет*-бутилтиакаликс[4]аренов (в конфигурации конус и 1,3-альтернат) от концентрации, сравнить их для двух различных конфигураций.

1. Обзор литературы

1.1. Ядерный магнитный резонанс

Явление ЯМР основано на взаимодействии ядер атомов, имеющих ненулевой спин, с постоянным (статическим) магнитным полем. Под действием магнитного поля энергетические уровни расщепляются, и с помощью методов ЯМР можно создать наблюдаемые переходы между спиновыми состояниями.

Ядра атомов обладают таким свойством, как спин P . Спин ядра – это момент количества движения для основного состояния ядра [1]:

$$P = \sqrt{I(I + 1)}\hbar, \quad (1)$$

где \hbar - постоянная Планка, I – спиновое квантовое число (которое тоже иногда называют спином). Значения I принимают значения, кратные $\frac{1}{2}$.

Ядро обладает зарядом, поэтому при его вращении создаётся круговой ток, который создаёт магнитный момент μ : $\mu = \gamma P$, где γ – гиromагнитное отношение. Если ядро с угловым моментом количества движения P и магнитным моментом μ поместить в статическое магнитное поле B_0 , то возникнет его прецессия вокруг направления поля.

Если направление поля B_0 совпадает с осью Z , то Z -компоненты углового момента количества движения будет определяться следующим соотношением: $P_z = m\hbar$, где m – магнитное квантовое число ($m = (I, I-1, \dots, -I+1, -I)$).

Рассмотрим поведение ядра с магнитным моментом $\mu = 1/2$ (например, ядро атома водорода H^1). Согласно законам электродинамики, магнитный момент ядра начнёт прецессировать вокруг направления магнитного поля B_0 , составляя с ним некоторый угол θ . При этом возможны два устойчивых состояния: состояние с низкой энергией, называемое α -состояние (проекция μ на ось Z μ_z ориентирована

параллельно вектору поля B_0) и состояние с высокой энергией, называемое β -состояние (μ_z антипараллельна вектору B_0). Таким образом, во внешнем магнитном поле B_0 происходит квантование – расщепление уровней энергии. В общем случае для ядра со спином I возникает $2I+1$ дискретных подуровней. Разность энергий между соседними уровнями определяется формулой 2, и она линейно растет с увеличением B_0 :

$$\Delta E = h\nu = h\gamma B_0. \quad (2)$$

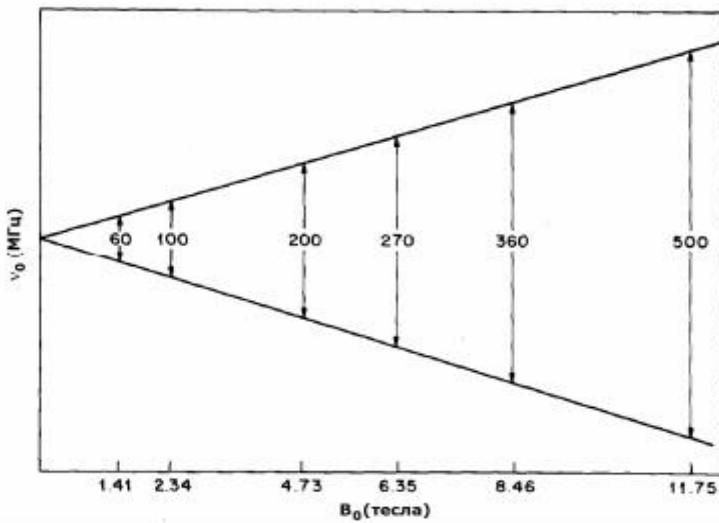


Рисунок 1 - Зависимость разности энергий уровней для протона от напряженности поля.

Под действием радиочастотного поля B_1 с энергией кванта ΔE , ориентированного перпендикулярно B_0 , то между уровнями будут осуществляться переходы. [2]

Сигнал в ЯМР-спектроскопии получается из разности между поглощенной энергией спинами, которые подверглись переходу с более низкоэнергетического уровня на более высокий и энергией, испускаемой спинами, которые одновременно перешли с более высокого энергетического уровня на более низкий. Сигнал пропорционален разности в заселенности уровнях, которая определяется статистикой Больцмана [3]:

$$\frac{N^-}{N^+} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}}. \quad (3)$$

Регистрация этих сигналов является основой ЯМР спектроскопии.

1.2. Импульсный ЯМР

В импульсном методе ядерного магнитного резонанса возбуждение ядер осуществляют с помощью короткого импульса продолжительностью обычно несколько микросекунд.

Исходя из принципа неопределенности

$$\hbar \Delta v \Delta t \sim \hbar \quad (4)$$

можем сказать, что для возбуждения большего диапазона частот необходимо воздействие более коротким импульсом. То есть при воздействии импульсом частоты v с длительностью τ будет возбуждаться диапазон частот $v \pm \frac{1}{\tau}$. [4]

Амплитуды частотных компонент импульса уменьшаются с увеличением расстояния от v . Так как желательно, чтобы все ядра облучались одинаково, необходимо использовать "жесткие импульсы", т.е. короткие импульсы большой мощности. В течение следующего за импульсом времени отклик затухает. Затухание происходит в связи с процессами релаксации. Различают два вида релаксации вектора намагниченности M . Первый связан с уменьшением составляющей вектора намагниченности, перпендикулярной полю B_0 . Второй связан с изменением составляющей вектора намагниченности, параллельной полю B_0 и обусловлен передачей энергии возбужденных ядерных спинов «решетке». Каждый из процессов характеризуется своей временной константой, зависящей от ряда макроскопических и микроскопических параметров системы: временем спин-спиновой (поперечной) и спин-решеточной (продольной) релаксации, соответственно. Потеря продольной намагниченности связана с обменом энергией между ядром и окружающей его «решеткой». При перемещении молекул в пространстве друг относительно друга магнитные моменты,

входящие в состав их ядер, также перемещаются, создавая флюктуирующее магнитное поле. В спектре частот этого поля есть частота ω_0 , которая удовлетворяет условию резонанса и может вызвать переходы между стационарными состояниями спиновой системы. [5]

Полученный сигнал называют спадом свободной индукции. Импульсный эксперимент многократно повторяют. После каждого импульса сигнал через АЦП записывается в память компьютера и суммируется с сигналом от предыдущего импульса. Амплитуда сигнала при этом растет пропорционально числу накоплений N . А амплитуда шума меняется случайным образом, и при многократных записях она растет только как \sqrt{N} . В результате отношение сигнал/шум в спектре увеличивается пропорционально \sqrt{N} . Например, чтобы увеличить отношение сигнал/шум в 10 раз, достаточно суммировать сигнал от 100 импульсов.

Результаты измерений представляют собой зависимость амплитуды сигнала от времени. Чтобы перейти к частотному представлению, используют метод математического анализа – преобразование Фурье:

$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t)e^{i\omega t} dt. \quad (5)$$

1.3. Измерение самодиффузии методом ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля.

Самодиффузия - это случайное хаотическое тепловое движение молекул в системе, находящейся в термодинамическом равновесии. Она представляет собой самый фундаментальный вид переноса вещества. Это один из главных факторов, отвечающий почти за все химические реакции, так как реагирующие вещества должны смешаться, прежде чем они прореагируют.

Одним из эффективных методов исследования процессов самодиффузии является метод ЯМР, основанный на явлении спинового эха в

присутствии градиентов магнитного поля. Градиентом магнитного поля является изменение магнитного поля в зависимости от координаты.

Применение метода градиентного ЯМР для исследования трансляционной динамики молекул заключено в регистрации потери фазовой когерентности спинов за счет их трансляционных перемещений в градиенте магнитного поля. Информацию о диффузионном процессе в методе ЯМР с градиентом магнитного поля получают из анализа диффузионного затухания $I(g,t)$ - зависимости амплитуды сигнала спинового эха от параметров градиента магнитного поля и времени t .

Согласно модели Эйнштейна и Смолуховского, хаотически движущаяся частица за достаточно малый промежуток времени τ_0 перемещается на расстояние l . За время t частица совершил N случайных перемещений, $N = t / \tau_0$. Считается, что в диффузионном режиме движение каждой отдельной частицы совершается независимо от других частиц, и что перемещения одной и той же частицы в разные промежутки времени длительностью τ_0 рассматриваются как независимые друг от друга (процесс Маркова). Таким образом, определяется, что для времен τ_0 выполняется условие $\tau_0 \gg \tau_{\max}$, где τ_{\max} – наибольшее время корреляций, связанных со степенями свободы для наблюдаемой частицы. В таком случае траектории отдельных частиц случайны.

Пусть неоднородность внешнего магнитного поля задана линейным по объёму образца и зависящим от времени градиентом $g(t) = \frac{\partial H_0}{\partial z}$ и за время t некоторая молекула проходит путь, проекция которого на ось z равна $z(t)$. То есть через время t молекула окажется в поле $H_0(t) = H_0(0) + g(t)z(t)$. При этом частота прецессии спинов молекулы изменится на $\Delta\omega_0 = \gamma g(t)z(t)$. Относительное изменение фазы к моменту времени t равно

$$\Phi = \gamma [\int_0^t g(t)z(t)dt - \int_t^{2t} g(t)z(t)dt]. \quad (6)$$

Амплитуда спинового эха, измеренная при наличии градиента поля $g(t)$, может быть выражена через функцию распределения $P(\Phi)$ ядерных моментов по относительным фазам Φ .

$$I(g) = I(0) \int_{-\infty}^{\infty} P(\Phi) \cos \Phi d\Phi \quad (7)$$

Функция распределения $P(\Phi)$ должна быть однозначно связана с функцией распределения $P(z)$ ядерных моментов по смещениям z . Для Гауссового распределения $P(z)$ диффузионных перемещений x

$$P(z) = (2\pi \langle z^2 \rangle)^{-1/2} \exp(-z^2/2 \langle z^2 \rangle), \quad (8)$$

где $\langle z^2 \rangle$ - средний квадрат смещения ядерных спинов, связанный с коэффициентом их самодиффузии D соотношением Эйнштейна $\langle z^2 \rangle = 2Dt$.

Выразим $P(\Phi)$ в явном виде:

$$P(\Phi) = (2\pi \langle \Phi^2 \rangle)^{-1/2} \exp(-\Phi^2/2 \langle \Phi^2 \rangle), \quad (9)$$

где $\langle \Phi^2 \rangle$ - средний квадрат фазы спинового ансамбля.

Получаем:

$$I(g) = I(0) \int_{-\infty}^{\infty} (2\pi \langle \Phi^2 \rangle)^{-\frac{1}{2}} \exp(-\frac{\Phi^2}{2} \langle \Phi^2 \rangle) \cos \Phi d\Phi = I(0) \exp\left(-\frac{\langle \Phi^2 \rangle}{2}\right) \quad (10)$$

Значение $\langle \Phi^2 \rangle$ в момент времени 2τ можно вычислить так:

$$\langle \Phi^2 \rangle = \gamma^2 \left\langle \left[\int_0^\tau g(t)z(t)dt - \int_\tau^{2\tau} g(t)z(t)dt \right]^2 \right\rangle \quad (11)$$

Если $g(t)$ представлен прямоугольным импульсом длительностью δ , то

$$I(g) = I(0) \exp\left(D\gamma^2 g^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{1}{3\delta}\right)\right), \quad (12)$$

где Δ - интервал между импульсами градиента. [6]

Так как в эксперименте используется не прямоугольный, а синусоидальный импульс, вводится поправочный коэффициент к длительности импульса: $\delta' = \frac{\delta}{0,636}$.

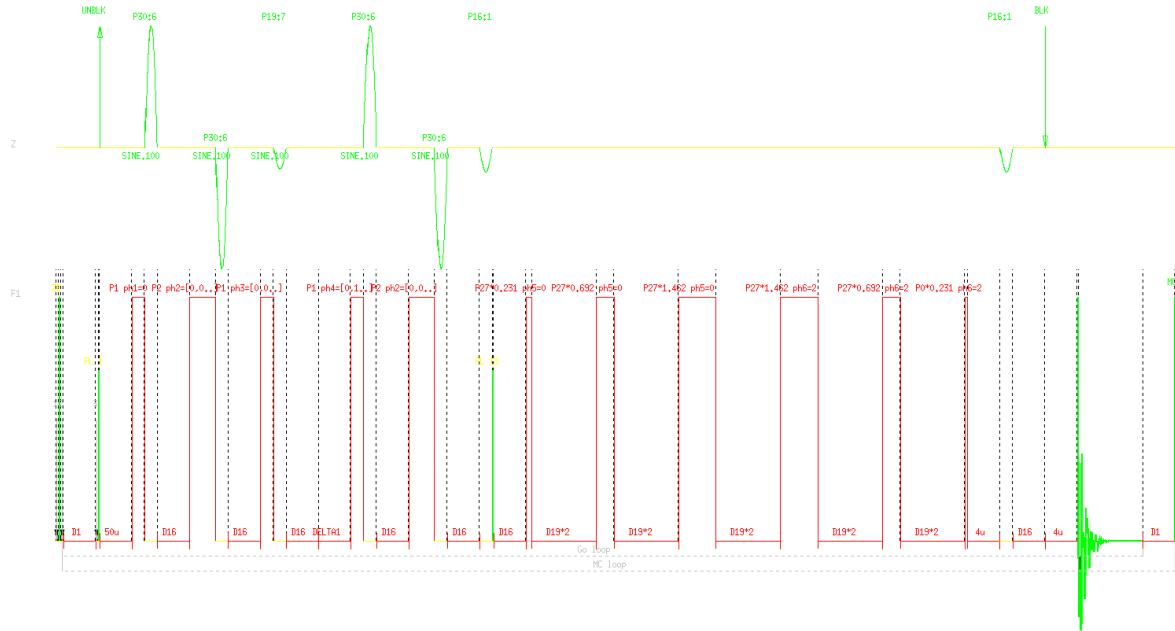


Рисунок 2 – Импульсная последовательность «стимулированное эхо» с биполярными градиентами магнитного поля.

1.4. Модель двух состояний, определение критической концентрации мицеллообразования

При анализе экспериментальных коэффициентов самодиффузии (КСД) использована модель «двух состояний». Согласно этой модели эффективный коэффициент самодиффузии вещества в растворе представляет сумму вкладов диффузационной подвижности мономерной и мицеллярной форм:

$$D = \alpha D_M + (1 - \alpha) D_m, \quad (13)$$

где D_M и D_m – КСД мицелл и свободных мономеров, соответственно, а α – мольная доля мицелл.

При этом предполагается, что при концентрации вещества, не превышающей критическую концентрацию мицеллообразования (ККМ), все молекулы находятся в мономерной форме. При концентрациях выше ККМ в системе формируются мицеллы, но концентрация свободных молекул сохраняется примерно постоянной, на уровне ККМ. Математически это условие выглядит следующим образом:

$\alpha(C) = 0$ при $C < KKM$,

$\alpha(C) = 1 - KKM/C$ при $C \geq KKM$,

где C – концентрация исследуемого вещества в системе.[7,8]

2. Экспериментальная часть

2.1. Оборудование

Экспериментальные данные были получены на ЯМР спектрометре Avance 400 (BRUKER) с датчиком, оснащенным градиентной катушкой. Частота спектрометра $\nu = 400,13$ МГц, магнитная индукция постоянного магнитного поля $B_0 = 9,39798$ Тл.



Рисунок 3 - ЯМР спектрометр Avance 400 (BRUKER).

2.2. Объекты исследования

В данной работе были проведены исследования н-третибутилтиакаликс[4]аренов в конформации конус и 1,3-альтернат, обладающих идентичным химическим составом и построенных из четырёх идентичных моноцепей, но имеющих различную геометрическую форму (относительное пространственное расположение звеньев).

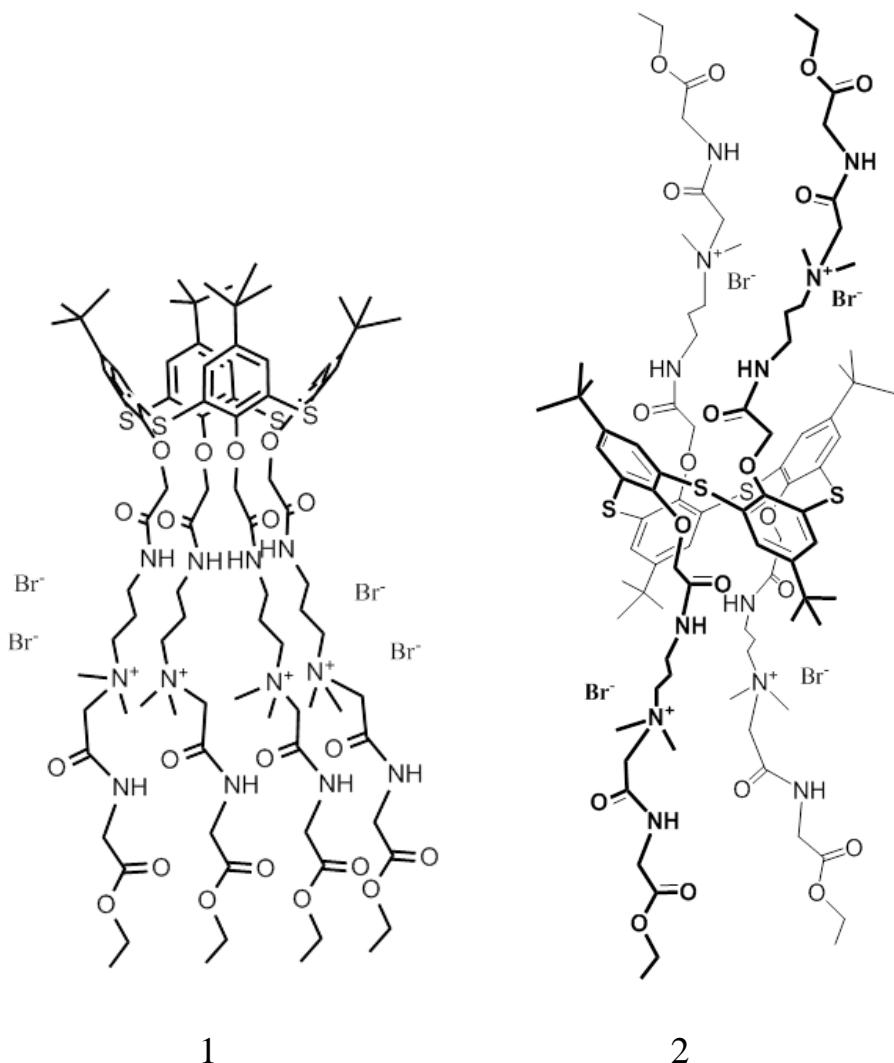


Рисунок 4 - Строение молекул н-трет-бутилтиакаликс[4]арена в конфигурации конус (1) и 1,3-альтернат (2).

Исследовался раствор образца в 10% D_2O и 90% H_2O при температуре 30 °C. Градиент магнитного поля в экспериментах изменяли в интервале от 0 до 0.32 Тл·м⁻¹ при постоянном времени диффузии и длительности импульсов градиента магнитного поля. Использовалась синусоидальная форма градиентного импульса. Диффузионные затухания обрабатывались по сигналам от протонов трет-бутильного фрагмента, так как сигнал от данной группы наиболее интенсивен, за счёт чего уменьшается погрешность измерений (отношение сигнал/шум велико), а так же протоны этой группы не участвуют в обменных процессах. Обработка данных проводилась с использованием программных продуктов Topspin и OriginPro.

2.3. Экспериментальные данные

Для получения зависимости коэффициентов самодиффузии исследуемых образцов от их концентрации в растворе выбирался интервал частот для расчёта интегральной интенсивности линии.

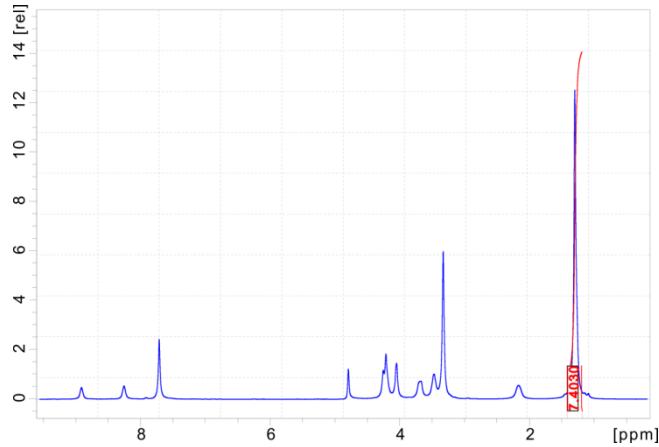


Рисунок 4 – Спектр n-трет-бутилтиакалликс[4]арена в конфигурации 1,3-альтернат, концентрация 10 мМ, выбор диапазона химических сдвигов для расчёта интегральной интенсивности.

В соответствии с выбранным диапазоном вычисляется интенсивность линии для всех значений амплитуды импульса градиента магнитного поля.

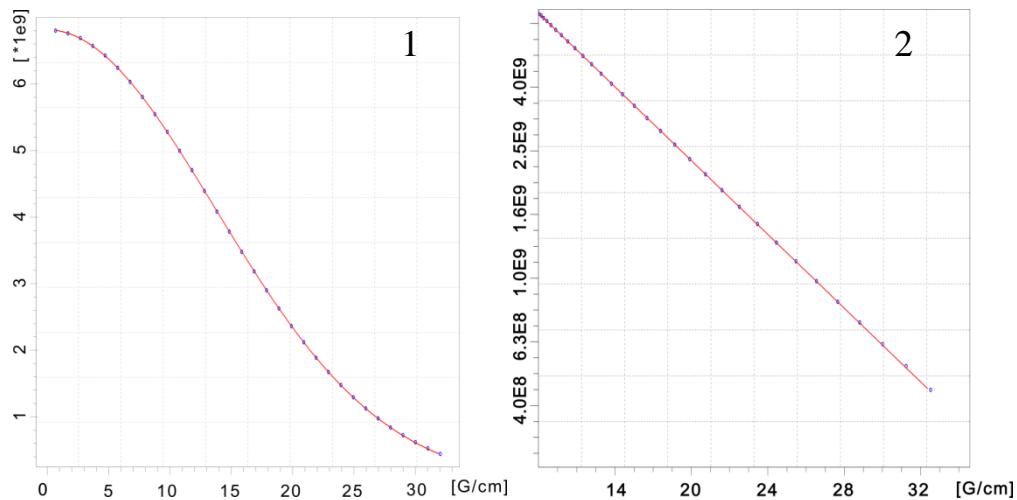


Рисунок 4 – Зависимость интенсивности линии от амплитуды импульса градиента магнитного поля. 1 – оси x и y линейны; 2 - $x' = \sqrt{x}$, $y' = \ln(y)$.

Экспериментальные данные аппроксимируются программой TopSpin.

В соответствии с уравнением (12), при построении зависимости в осях $x' = \sqrt{x}$, $y' = \ln(y)$, тангенс угла наклона прямой прямо пропорционален \sqrt{D} . Отсюда вычисляется коэффициент самодиффузии.

Проводя аналогичные операции для всех значений концентрации для каждого из исследуемых образцов, получили результирующие КСД, представленные в таблице 1.

Таблица 1 – Зависимость коэффициентов самодиффузии п-третиакаликс[4]аренов от концентрации.

M, mM	D (1,3-alternate)	D (cone)
0,1	3,00E-010	3,00E-010
0,3	2,94E-010	2,93E-010
0,5	2,97E-010	3,007E-010
1	2,87E-010	2,918E-010
2	2,95E-010	2,89E-010
5	2,71E-010	2,127E-010
10	2,66E-010	1,596E-010
20	2,42E-010	1,266E-010
50	1,69E-010	1,03E-010

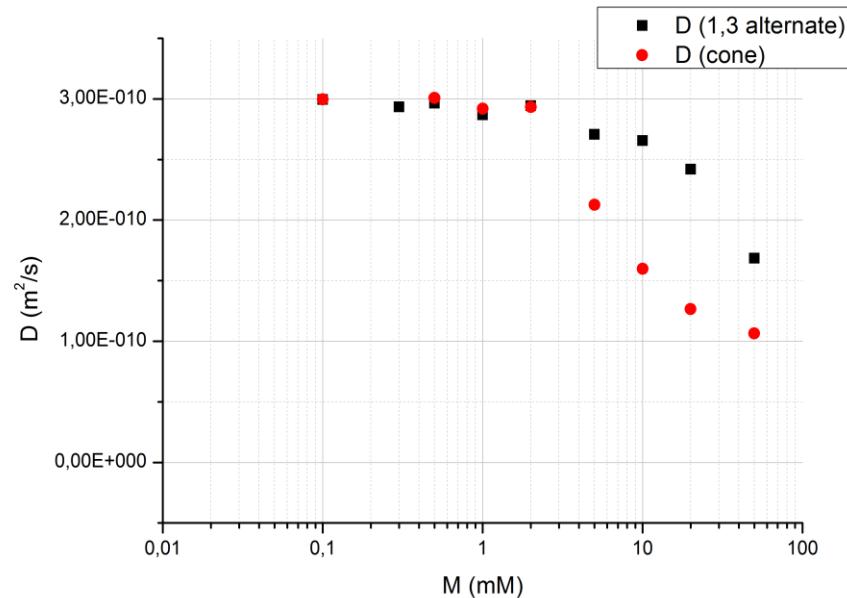


Рисунок 5 – График зависимости коэффициентов самодиффузии тиакаликс[4]аренов в конфигурации 1,3-альтернат и конус от концентрации.

2.4. Анализ полученных результатов

Уменьшение коэффициента самодиффузии при данных условиях может свидетельствовать о том, что увеличиваются линейные размеры частиц в растворе. Из рисунка 5 видно, что образец конфигурации конус образовывает ассоциаты при меньших значениях концентрации. Основываясь на геометрическом строении молекулы конфигурации конус, можно предположить, что они организуются в мицеллы сферической формы таким образом, чтобы гидрофобная трет-бутильная группа оказалась внутри мицеллы. О строении мицелл, образованных молекулами образца конфигурации 1,3-альтернат, сложно сделать предварительные выводы.

Более точная оценка характеру самосборки молекул может быть дана при помощи модели «двух состояний».

Погрешности измерений обуславливаются вкладом от неточности приборов, неэквивалентностью условий при проведении экспериментов, отношения сигнала/шум, несовершенной настройки нулевой линии спектра и другими факторами.

Учесть все это достаточно проблематично, поэтому можно получить оценочное значение доверительного интервала.

Основываясь на модели «двух состояний», будем считать, что КСД постоянен для концентраций, не превышающих 2 мМ, то есть при этих концентрациях в растворе содержатся только отдельные молекулы (мономер).

Среднее значение КСД $D_{cp} = 2,949 \cdot 10^{-10} \frac{m^2}{c}$.

Среднеквадратичное отклонение равно $S = 4,376 \cdot 10^{-12} \frac{m^2}{c}$.

Относительная погрешность определяется соотношением:

$$\varepsilon = \frac{S \cdot t_{0,95;5}}{D_{cp}} = \frac{4,376 \cdot 10^{-12} \cdot 2,78}{2,949 \cdot 10^{-10}} \cdot 100\% = 4,13\%. \quad (14)$$

Так как измерения коэффициента самодиффузии молекулы в конфигурации 1,3-альтернат проводились в примерно одинаковых условиях, можем считать, что значения относительной погрешности измерения КСД сходны для обоих соединений.

Результаты и выводы

- 1) Был изучен метод измерения коэффициентов самодиффузии ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля.
- 2) Методом ЯМР диффузометрии выявлено, что пространственная конфигурация каликсаренов влияет на процесс самоассоциации.
- 3) Мицеллообразование в растворе с образцом в конфигурации конус начинается при меньших значениях концентрации, чем для образца конфигурации 1,3-альтернат, и на основании этого можно сказать, что исследуемый объект, имеющий структуру “конус” эффективнее образует мицеллярно-подобные структуры.

Список использованной литературы

1. Мухин, К.Н. Экспериментальная ядерная физика; М.: Атомиздат, 1974.
2. Лекции по спектроскопии ядерного магнитного резонанса Ю.А.Устинюк; МГУ.
3. Joseph P.Hornak. The basics of NMR; Rochester Institute of Technology;
<http://www.cis.rit.edu/htbooks/mri/inside-r.htm>.
4. Клочков В.В., Каратаева Ф.Х. // ЯМР высокого разрешения в органической и биоорганической химии. Конспекты лекций; Казань.: 2013.
5. Латеральная диффузия в липидных мембранах в присутствии холестерина Филиппов А.В., Скирда В.Д., Рудакова М.А. Казань. 2010.
6. Маклаков, А.И.; Скирда, В.Д., Фаткуллин, Н.Ф. Самодиффузия в растворах и расплавах полимеров; Казань, 1987.
7. Зуев Ю.Ф., Гнездилов О.И., Зуева О.С., Усьяров О.Г. Эффективные коэффициенты самодиффузии ионов в мицеллярных растворах додецилсульфата натрия. Коллоидный журнал. 2011. Т.73.
8. Зуев Ю.Ф., Курбанов Р.Х., Идиятуллин Б.З., Усьяров О.Г. Коллоидный журнал. 2007. Т.69.
9. Дероум, Э. Современные методы ЯМР для химических исследований; М.: Мир, 1992.