

ФИЗИКА МАГНИТНЫХ ЯВЛЕНИЙ

УДК 539.143.43:539.183.2

С.С. ДЖИМАК, А.А. БАСОВ, Г.Ф. КОПЫТОВ, Д.В. КАШАЕВ, М.Е. СОКОЛОВ,
О.М. АРЦЫБАШЕВА, К.С. ШАРАПОВ, М.Г. БАРЫШЕВ

**ПРИМЕНЕНИЕ ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИЗКИХ
КОНЦЕНТРАЦИЙ НЕРАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ В ЖИДКИХ СРЕДАХ¹**

Разработан метод измерения содержания изотопов водорода (^2H) и кислорода (^{17}O) в жидких средах с помощью количественного ядерного магнитного резонанса. Установлено, что наиболее подходящим химическим соединением для создания эталонного образца с целью изучения изотопного состава водных растворов является сдвигающий реагент трифторметансульфонат европия (III). Исследована зависимость парамагнитного химического сдвига ядер ^2H и ^{17}O от концентрации ионов Eu^{3+} в растворе.

Ключевые слова: ядерный магнитный резонанс, спектроскопия, дейтерий, изотопы.

Введение

Основными причинами, обуславливающими флуктуации изотопного состава веществ являются как радиоактивные превращения, так и результаты различных физико-химических и биологических процессов, основную роль в которых играют кинетический и термодинамический изотопные эффекты. 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).

Информация об изотопном распределении элементов в природных и синтетических материалах может использоваться для определения географической локации человека и животных [1] происхождения пищевой продукции, напитков, для определения фальсифицированных товаров, а также для решения таких специфических задач, как идентификация происхождения наркотических веществ в следственном эксперименте.

Для определения изотопного состава используются различные инструментальные методы: масс-спектрометрия [2–4], ИК-спектроскопия [5], ядерный магнитный резонанс (ЯМР) с методологическим подходом SNIF-NMR [6–8].

Сложность решения проблемы определения изотопного состава веществ заключается в трудоёмкости, длительности и дорогостоящей реализации методов детерминирования содержания ядерных изотопов в химических веществах. Наиболее проблематичным при выполнении методик определения изотопов методами количественного ЯМР является выбор оптимальных специфических зондов с подходящими магнитно-релаксационными характеристиками. При определении концентрации дейтерия наибольшие трудности связаны с длительностью съёмки спектра ЯМР.

Несмотря на то, что одним из наиболее совершенных методов определения соотношения нерадиоактивных изотопов в веществе является масс-спектрометрия [4], ее применение тоже несколько ограничено, так как данный метод не позволяет провести количественное измерение в воде соотношения $^{16}\text{O}/^{17}\text{O}$ из-за наложения молекулярного иона H^{16}O^- на пик ^{17}O , что обусловлено одинаковой массы этих частиц.

Исходя из этих примеров, очевидно, что не существует универсальных методов для определения концентрации указанных выше изотопов в веществе, поэтому представляется актуальной разработка альтернативных методов диагностики изотопного состава веществ.

Целью представляемой работы являлась разработка нового метода количественного определения ^2H и ^{17}O с помощью ЯМР спектроскопии и применением лантаноидного сдвигающего реагента (ЛСР), добавляемого в зонд в качестве внешнего ЯМР стандарта, относительно которого проводится измерение.

¹ Работа выполнена при финансовой поддержке Гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых МК-1568.2014.4, государственного задания Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 1269).

Данный подход позволит значительно упростить и ускорить выполнение эксперимента по изотопному составу веществ. Для решения поставленной цели необходимо было подобрать наиболее подходящий по релаксационным и сдвигающим характеристикам ЛСР, его концентрацию для приготовления эталонного образца, провести экспериментальную оценку химического сдвига для ядер ^2H и ^{17}O с построением калибровочных графиков.

Ход выполнения эксперимента

В работе использовался 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 ^{17}O – 54.22 МГц; резонансная частота ядер ^2D – 61.37 Гц (настраивается прибором); чувствительность для ^1H : ≥ 220 (для 0.1 % раствора этилбензола в дейтерохлороформе); чувствительность для ^{13}C : ≥ 170 (для 10 % раствора этилбензола в дейтерохлороформе); дрейф постоянного магнитного поля: менее 4 Гц/ч; ширина ^1H 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 ± 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 ЛСР (трифторметансульфонат европия (III), Sigma Aldrich, безводный и водорастворимый) благодаря которому ЯМР спектр вещества внутренней ампулы был смещён относительно определяемого вещества из основной ампулы, что позволяло произвести интегрирование отдельных сигналов спектра друг относительно друга.

Использовали ряд калибровочных образцов чистой воды (содержание примесей не более 0.01 % по массе) с известным содержанием изотопа кислорода ^{17}O и дейтерия в соответствии с международным стандартом введённым МАГАТЭ: VSMOW и SLAP.

Для метода определения отношения $^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутреннюю ЯМР-ампулу помещали образец воды с содержанием ЛСР $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Eu}$ равным (0.120 ± 0.005) моль/л, при этом содержание изотопа кислорода ^{17}O воды в данном растворе должно соответствовать исследуемому диапазону концентраций изотопа кислорода ^{17}O измеряемого объекта. А для метода определения отношения $^2\text{H}/^1\text{H}$ во внутреннюю ЯМР-ампулу помещали образец воды с содержанием $(\text{CF}_3\text{SO}_3)_3\text{Eu}$ равным (0.045 ± 0.005) моль/л, 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 ^{17}O нами были подобраны оптимальные параметры: усиление 90; смещение (-10) м.д.; развёртка 80 м.д.; время наблюдения спада свободной индукции 60 мс; число сканирований 10000; релаксационная задержка $10 \cdot T_1(\text{H}_2^{17}\text{O}) \geq 0.1$ с; температура внутри резонатора 25 °С.

Для измерений на ядрах ^2H 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 $10 \cdot T_1(\text{D}_2\text{O}) \geq 7$ с; температура внутри резонатора 25 °С.

В обоих случаях 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.

Результаты эксперимента (выбор релаксанта)

При количественном определении изотопов методом ЯМР важной проблемой является правильный выбор эталонного образца – вещества, имеющего ЯМР сигнал относительно которого будет производиться определение интегральной интенсивности определяемого пика в спектре.

Так как время спин-решёточной релаксации (T_1) определяет релаксационную задержку при накоплении ЯМР спектра в отсутствии насыщения, поэтому в качестве эталона необходимо использовать вещество, имеющее оптимальное значение T_1 для необходимого ядра.

Соответственно, чем ниже значение T_1 , тем короче время проведения количественного ЯМР анализа. В то же время, при очень коротких временах спин-спиновой релаксации (T_2) ядер наблюдается значительное уширение линии спектра ЯМР, что снижает точность при интегрировании пиков.

Выбор в качестве ЛСР именно соединения европия (III) из всех лантаноидов обусловлен тем, что при достаточном сдвигающем эффекте Eu^{3+} , влияние на времена спин-решёточной и спин-спиновой ядерной релаксации невелики, относительно других соединений редкоземельных элементов. Это объясняется тем, что для Eu^{3+} основное электронное состояние диамагнитно (терм 7F_0), а парамагнетизм возникает лишь за счёт возбуждённого состояния 7F_1 [9]. Вследствие этого, времена спин-решёточной и спин-спиновой электронной релаксации T_{1e} и T_{2e} крайне короткие и составляют порядок 10^{-12} – 10^{-13} с. А, например, ионы гадолиния Gd^{3+} и 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 ${}^8S_{7/2}$. У такого терма 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 Gd^{3+} и Eu^{2+} будет намного больше, чем у Eu^{3+} .

Нами была проведена серия ЯМР экспериментов по определению времён спин-решёточной и спин-спиновой ядерной релаксации для ядер ${}^2\text{H}$ и ${}^{17}\text{O}$ в присутствии Eu^{3+} широкого диапазона концентраций (от 0.001 до 0.200 моль/л Eu^{3+}) методами “инверсия-восстановление” (для T_1) и СPMG (для T_2). Полученные результаты подтвердили теоретическое обоснование выбора европия (III) в качестве ЛСР для целей данной работы, поскольку изменения времён ядерной релаксации от повышения концентрации Eu^{3+} были незначительные. Для ядер ${}^2\text{H}$ без добавления Eu^{3+} время T_1 составляло $0,43 \pm 0,02$ с, а в при добавлении 0,100 моль/л Eu^{3+} изменялось до $0,35 \pm 0,02$ с. Соответственно, T_2 без добавления Eu^{3+} составляло $0,35 \pm 0,05$ с, а при добавлении 0,100 моль/л Eu^{3+} изменялось до $0,20 \pm 0,05$ с. Аналогично, для ядер ${}^{17}\text{O}$ без добавления Eu^{3+} время T_1 составляло $0,007 \pm 0,001$ с, а при добавлении 0,200 моль/л Eu^{3+} изменялось до $0,005 \pm 0,001$ с. При этом, ядро ${}^{17}\text{O}$, имея высокую величину электрического квадрупольного момента, релаксирует по квадрупольному механизму, следовательно, $T_1=T_2$, что и наблюдалось нами в эксперименте. Соответственно, T_2 без добавления Eu^{3+} составляло $0,007 \pm 0,001$ с, а при добавлении 0,200 моль/л Eu^{3+} изменялось до $0,005 \pm 0,001$ с.

Представленные выше данные подтверждают обоснованность выбора в качестве ЛСР именно соли европия (III). Анион выбирали по принципу соответствия растворимости соли Eu^{3+} в эталоне, в данном случае, трифторметансульфонат европия (III). Таким образом, методологический подход данной работы добавления ЛСР к эталону, которым является вещество с таким же молекулярным строением, как и исследуемое является более перспективным и универсальным, по сравнению с выбранными эталонами аналогичных ЯМР анализов изотопного состава веществ [10, 11].

Результаты эксперимента (подбор концентрации ЛСР для количественного определения дейтерия)

Для нахождения 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, 0.050 моль/л, 0.020 моль/л, 0.010 моль/л, 0.005 моль/л, 0.001 моль/л сдвигающего реагента (трифторметансульфоната европия (III)).

Результаты полученных спектров дейтерия приготовленных растворов, представленные на рис. 1, показывают заметное смещение сигнала ЯМР в зависимости от концентрации ионов Eu^{3+} в полутяжёлой воде. Это обусловлено наличием сильного псевдоконтактного (диполь-дипольного) взаимодействия ионов 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 ЛСР (трифторметансульфоната 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 парамагнит-

ный сдвиг одинаков для всего диапазона концентраций дейтерия и зависит только от концентрации ионов Eu^{3+} .

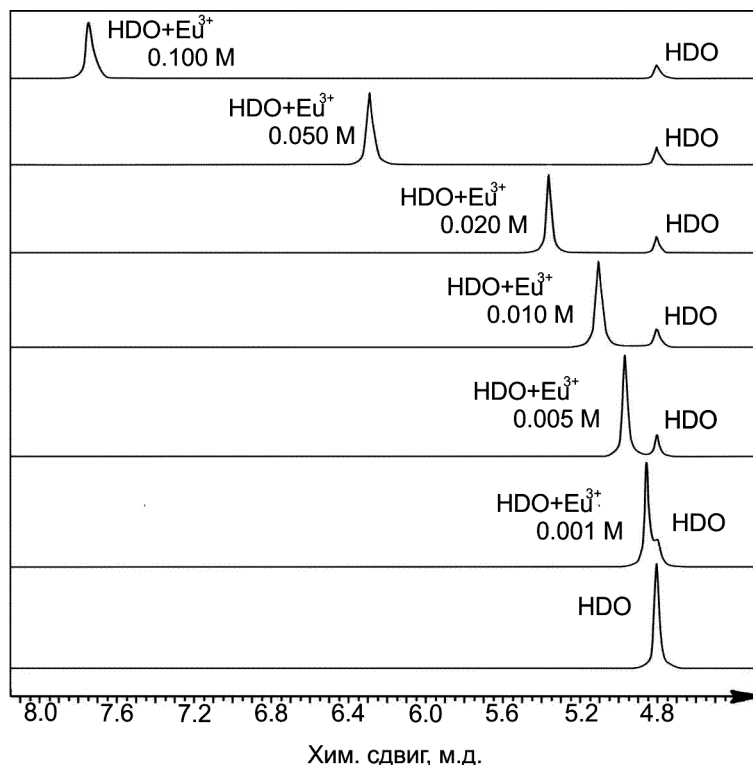


Рис. 1. ЯМР спектры растворов, содержащих 0,100 моль/л, 0,050 моль/л, 0,020 моль/л, 0,010 моль/л, 0,005 моль/л, 0,001 моль/л сдвигающего реагента трифторметансульфоната европия (III)

На рис. 2 представлена зависимость парамагнитного химического сдвига ядер дейтерия (DHO) от концентрации ионов Eu^{3+} в растворе. Рисунок показывает линейный характер зависимости на всём диапазоне концентраций парамагнитного иона европия (III). Таким образом, по калибровочной прямой рис. 2 можно определить оптимальную концентрацию трифторметансульфоната европия (III) для эталонного образца.

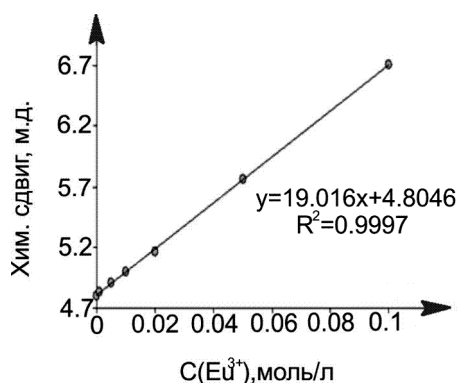


Рис. 2. Зависимость парамагнитного химического сдвига ядер дейтерия от концентрации ионов Eu^{3+} в растворе

При определении изотопного соотношения $^2\text{H}/^1\text{H}$ в исследуемом образце необходимо, чтобы содержание дейтерия воды в эталонном образце воды соответствовало исследуемому диапазону концентраций ^2H измеряемого объекта. Нами для последующих количественных экспериментов по определению изотопного соотношения $^2\text{H}/^1\text{H}$ в воде, водных растворах и в биологических жидкостях была взята оптимальная для целей данного исследования величина концентрации Eu^{3+} в эталонном образце воды, которая составляла 0.045 ± 0.005 моль/л.

Определение изотопного соотношения $^2\text{H}/^1\text{H}$ проводили в пробах воды, взятых из 9 различных артезианских скважин, в удалённых друг от друга местах на территории Краснодарского края (Российская Федерация). Было показано, что значения $^2\text{H}/^1\text{H}$ во всех образцах практически одинаковы и находились в интервале 147–151 ppm, как например, на рис. 3 (вода из скважины № 4). Результаты количественных анализов изотопного соотношения $^2\text{H}/^1\text{H}$ в ряде других объектов исследования, выполненные по разработанной нами методике, представлены в таблице.

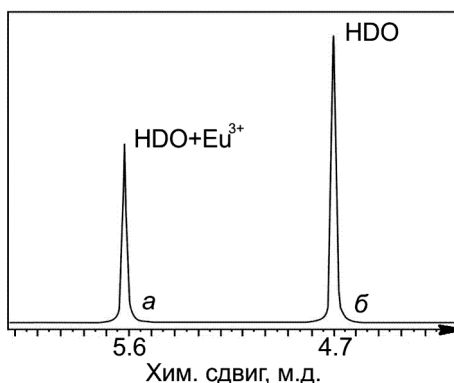


Рис. 3. ЯМР спектр воды из скважины № 4. Сигнал дейтерия в исследуемом образце воды (б), относительно эталона со сдвигающим реагентом (а)

Изотопное соотношение $^2\text{H}/^1\text{H}$ в объектах исследования

Объект исследования	Изотопное соотношение $^2\text{H}/^1\text{H}$, ppm
Минеральная вода «Ессентуки 4»	153.2 ± 1.8
Лёгкая вода «Лангвей-60»	58.6 ± 2.1
Минеральная вода «Нарзан»	144.1 ± 1.6
Ледниковая вода с горы Муса-Ачитара, пос. Домбай (высота 3200 м над уровнем моря)	134.8 ± 2.2
Облегченная по дейтерию вода, полученная на электролизной установке в КубГУ [12]	40.5 ± 1.9
Артезианская вода (скважина № 4)	148.6 ± 1.4

Результаты эксперимента (подбор концентрации ЛСР для количественного определения ^{17}O)

Также нами была изучена концентрационная зависимость ионов Eu^{3+} на индуцированный парамагнитный сдвиг ядер кислорода ^{17}O , входящих в состав молекул воды. Для нахождения оптимальной концентрации трифторметансульфоната европия (III) в эталонном образце, содержащем воду готовилась серия водных растворов, содержащих 0.200 моль/л, 0.150 моль/л, 0.100 моль/л, 0.070 моль/л, 0.050 моль/л, 0.025 моль/л трифторметансульфоната европия (III). Исходя из калибровочной зависимости, представленной на рис. 4, нами была выбрана оптимальная для целей данного исследования концентрация ионов Eu^{3+} составляющая 0.120 моль/л.

ЯМР спектр системы, состоящей из ампулы, которая содержит исследуемое вещество и вставлен-

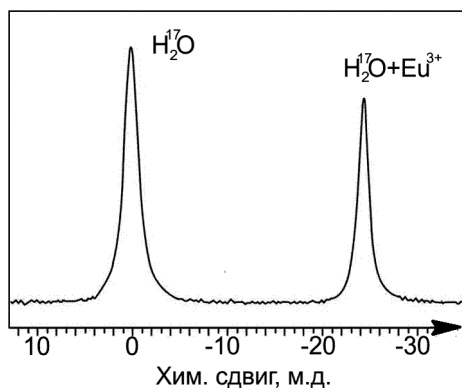


Рис. 5. Сигнал ^{17}O в исследуемом образце воды (слева) и сигнал эталона со сдвигающим реагентом (справа)

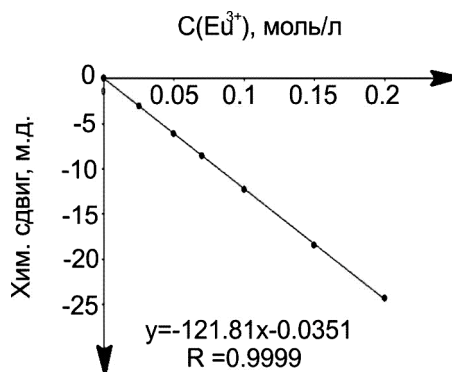


Рис. 4. Зависимость парамагнитного химического сдвига ядер ^{17}O воды от концентрации ионов Eu^{3+} в растворе

ной в неё внутренней ампулы, содержащей эталонный образец воды с ЛСР, где концентрация ионов Eu^{3+} составляет 0.120 моль/л показан на рис. 5.

Из представленного на рис. 5 спектра можно заметить значительное смещение сигнала ЯМР ^{17}O воды, содержащей Eu^{3+} в сильное поле, что характеризуется изменением общей магнитной воспри-

имчивости раствора, а также, предположительно, наличием контактного взаимодействия ионов Eu^{3+} с ^{17}O .

Заключение

В результате проведенной работы достигнута основная цель – разработан метод измерения содержания изотопов ^2H и ^{17}O в жидкой среде с помощью количественного ядерного магнитного резонанса. Среди рассмотренных парамагнитных ионов металлов, наиболее подходящим по релаксационным и сдвигающим характеристикам для целей данной работы являлся трёхзарядный катион европия (Eu^{3+}). Наиболее подходящим химическим соединением, содержащим 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 ^{17}O и ^2H от концентрации трифторметансульфоната европия (III) были определены удельные величины парамагнитного химического сдвига, что позволило установить необходимую концентрацию ионов Eu^{3+} для внешних стандартов (эталонных образцов) по определению изотопного состава веществ. Концентрация ионов Eu^{3+} при определении соотношения $^{17}\text{O}/^{16}\text{O}$ составляла 0.120 ± 0.005 моль/л, при определении соотношения $^2\text{H}/^1\text{H}$ составляла 0.045 ± 0.005 моль/л. Показано, что использование сдвигающих реагентов позволяет повысить информативность спектров ЯМР, при этом, появляется возможность проводить измерения на недорогих приборах с невысокой рабочей частотой. Разработанные методы измерения изотопных соотношений методом ЯМР с применением зондов, содержащих сдвигающий реагент могут быть направлены на решение проблем экологии и мониторинга состояния окружающей среды, в том числе для контроля изотопного состава жидкостей природного и синтетического происхождения, например, для определения изотопного состава плазмы крови [13–15].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. O'Brien D.M. and Wooller M.J. // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* – 2007. – V. 21. – P. 2422–2430.
2. Fischer R.B., Potter R.A., and Voskuyl R.J. // *J. Anal. Chem.* – 1948. – № 20. – P. 571–572.
3. O'Grady S.P., Valenzuela L.O., and Remien C.H. // *Am. J. Primatol.* – 2012. – V. 74. – № 7. – P. 651–660.
4. Dzhimak S.S., Barishev M.G., Basov A.A., and Timakov A.A. // *Biophysics.* – 2014. – Vol. 59. – № 4. – P. 614–619.
5. Shakar J.J., Mann C.K., and Vickers T.J. // *J. Anal. Chem.* – 1986. – V. 58. – № 7. – P. 1460–1461.
6. Compendium of international analysis of methods – OIV Determination of the deuterium distribution in ethanol by SNIF-NMR / Method OIV-MA-AS311-05.
7. Guillou C., Trierweiler M., and Martin G.J. // *Magn. Res. Chem.* – 1988. – V. 26. – P. 491–496.
8. Martin G.J., Sun X.Y., Guillou C., and Martin M. // *Tetrahedron.* – 1985. – V. 16. – P. 3285–3296.
9. Чижик В.И. Ядерная магнитная релаксация: учеб. пособие. – 3-е изд. – СПб.: Изд-во СПбГУ, 2004. – 388 с.
10. Van Vleck J.H. *The theory of electric and magnetic susceptibilities.* – London: Oxford University Press, 1965. – 384 p.
11. Xiaomin M., Pengchi D., Xiaoyan W., et al. // *Talanta.* – 2012. – V. 97. – P. 450–455.
12. Baryshev M.G., Dzhimak S.S., Basov A.A., et al. // *Bulletin of the Russian Academy of Sciences. Physics.* – 2012. – V. 76, № 12. – P. 1349–1352.
13. Lisicin A.B., Barishev M.G., Basov A.A., et al. // *Biophysics.* – 2014. – V. 59, № 4. – P. 620–627.
14. Khaled M.A., Lukaski H.C., and Watkins C.L. // *American Society for Clinical Nutrition.* – 1987. – V. 45. – № 1. – P. 1–6.
15. Basov A.A., Baryshev M.G., Dzhimak S.S., et al. // *Fiziologicheskii Zhurnal.* – 2013. – V. 59, № 6. – P. 50–57.

Кубанский государственный университет, г. Краснодар, Россия
E-mail: jimack@mail.ru

Поступила в редакцию 29.12.14.

Джимаков Степан Сергеевич, к.б.н., доцент каф. радиофизики и нанотехнологий;
Басов Александр Александрович, к.м.н., ст. науч. сотр. НИЧ;
Копытов Геннадий Филиппович, д.ф.-м.н., профессор, зав. каф. радиофизики и нанотехнологий;
Кашаев Денис Владимирович, магистрант;
Соколов Михаил Евгеньевич, доцент каф. радиофизики и нанотехнологий;
Арцыбашева Оксана Михайловна, аспирантка;
Шарапов Кирилл Сергеевич, аспирант;
Барышев Михаил Геннадьевич, д.б.н., профессор каф. радиофизики и нанотехнологий.