

**Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
“Казанский государственный университет им. В.И.Ульянова-Ленина”**

---

На правах рукописи

**ФИЛИППОВ Андрей Васильевич**

**САМОДИФФУЗИЯ В МНОГОФАЗНЫХ СИСТЕМАХ  
С ОГРАНИЧЕНИЯМИ**

Специальность 01.04.07 - физика конденсированного  
состояния

**А в т о р е ф е р а т**

Диссертации на соискание ученой степени доктора  
физико - математических наук

**Казань 2003**

Работа выполнена в Казанском государственном университете

Научный консультант: - доктор физико - математических наук,  
профессор  
**Скирда Владимир Дмитриевич**

Официальные оппоненты: - доктор физико - математических наук,  
профессор  
**Волков Виталий Иванович**

- доктор физико - математических наук,  
профессор  
**Анисимов Александр Васильевич**

- доктор физико - математических наук,  
**Севрюгин Вячеслав Анатольевич**

Ведущая организация: - Институт физической химии РАН,  
г. Москва

Защита диссертации состоится « 18 » декабря 2003 г. в 14.30 на заседании диссертационного совета Д - 053.29.02 по присуждению ученых степеней по физике при Казанском государственном университете (420008, г.Казань, ул.Кремлевская, 18).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Лобачевского Казанского государственного университета.

Автореферат разослан «      »                      2003 г.

Ученый секретарь диссертационного Совета,  
доктор физико-математических наук,  
профессор

М.В.Еремин

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Работа посвящена исследованию самодиффузии молекул жидкостей в гетерогенных микропористых системах различной природы. Самодиффузия - это явление теплового движения молекул в условиях термодинамического равновесия. Гетерогенные системы распространены в природе и находят широкое применение в промышленности (горные породы, катализаторы, строительные материалы, полимерные композиционные материалы, микроэмульсии, пищевые продукты, биологические системы, и др.). Свойства значительной части этих веществ, такие как проницаемость, стабильность во времени и др., определяются происходящими в них процессами диффузии. Кроме того, исследования последних лет показали, что посредством изучения самодиффузии жидкости в гетерогенной среде может быть получена уникальная информация о структуре среды. Часто неоднородности образуются в результате фазовых переходов. В связи с этим актуальной становится проблема изучения диффузии и установления связи размеров и геометрии гетерогенных сред с диффузией и фазовым состоянием содержащихся в ней жидкостей.

Одним из наиболее мощных методов исследования трансляционной молекулярной подвижности является ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля (ЯМР ИГМП) благодаря тому, что он обеспечивает наиболее прямой способ измерения молекулярных смещений. Именно этот метод в последние годы чаще всего используется для исследования самодиффузии в гетерогенных системах.

Экспериментальному исследованию самодиффузии в системах с ограничениями уделяется большое внимание. Ряд экспериментов, целью которых являлась проверка правильности результатов теоретических исследований или компьютерного моделирования, выполнен на объектах с достаточно простой (модельной) геометрией (цилиндрические или щелевидные поры, пространство между сферами одинакового диаметра и др.). В этом направлении наиболее значимые результаты получены в работах Стейскала и Таннера [1], Каллагэна [2], Маклакова и Двояшкина [3]. Объекты, представляющие практический интерес более сложны, чем модельные. При их исследовании одной из главных задач является получение информации об особенностях подвижности молекул, обусловленной и обуславливающей свойства или функционирование систем. Наиболее систематические исследования в этом направлении проводились Хюрлиманном [4, 5], Маклаковым и Двояшкиным [6], Скирдой [7, 8], Балиновым [9], Линдблумом [10] и др. Была изучена самодиффузия в различных пористых средах, в микроэмульсиях, растительных и биологических тканях, биомембранах. Однако многие проблемы остаются нерешенными. Отсутствуют экспериментальные данные в широком диапазоне времен диффузии и молекулярных смещений. В большинстве работ было изучено поведение среднего коэффициента самодиффузии (КСД), в то время как для гетерогенных систем часто характерен спектр КСД, который проявляется в сложной, неэкспоненциальной форме диффузионного затухания спинового эхо, причем разделение

компонент спектра представляет собой нетривиальную задачу. Из анализа данных эксперимента ЯМР ИГМП были получены только усредненные характеристики доступного для диффузанта пространства. Наибольшее внимание уделялось анализу самодиффузии в коротковременном и длинновременном режимах молекулярных смещений, а информация, полученная в промежуточной области, практически не анализировалась.

Большая группа гетерогенных систем, отличающихся по структуре и молекулярной подвижности и имеющих важное практическое значение, представлена полимерами. Для кристаллизующихся полимерных систем характерен полиморфизм и иерархия кристаллических образований, наличие различных по локализации и структуре аморфных областей, зависимость структуры надмолекулярных образований от кинетики кристаллизации. В молекулярной подвижности расплава полимера проявляется эффект цепочечной структуры и возможность образования межмолекулярных зацеплений. Однако при исследовании частично-кристаллических полимеров основное внимание уделяют процессу образования и структуре кристаллической фазы, а самодиффузия в аморфных областях закристаллизованных полимеров и в расплаве при переходе жидкость - кристалл изучена недостаточно.

Актуальным для биологии, медицины и биотехнологии является изучение самодиффузии в биологических дисперсных системах и исследование структуры этих систем. В биологических и биогенных объектах (ткани, лекарственные препараты, пищевые продукты, и др.) клеточные и субклеточные структуры ограничены бислойнными мембранами, состоящими, в основном, из липидов [10, 11], которые, согласно исследованиям последних лет, имеют микродоменную структуру. Моделью для изучения барьерных и транспортных свойств биомембраны является образующийся при гидратации липидов бислой. При исследовании методом ЯМР ИГМП дисперсных систем, образуемых при смешении липидов с водой, и других эмульсий, определению структурных параметров препятствует отсутствие экспериментальных данных в интервале молекулярных смещений близких к размеру образующихся структур и отсутствие подходящих методик и математических методов анализа диффузионных затуханий.

Целью работы является:

1. Экспериментальное исследование самодиффузии молекул жидкостей в пористых системах, использование для этого анализа зависимостей коэффициентов самодиффузии и формы диффузионных затуханий спинового эхо от времени диффузии. Разработка методов, расширяющих возможности ЯМР ИГМП для получения информации о самодиффузии и структуре порового пространства в пористых телах.
2. Исследование самодиффузии в двухфазных аморфно–кристаллических полимерах, в ходе кристаллизации и плавления. Изучение влияния кинетики фазового перехода в этих системах на структуру образующихся фаз и молекулярную подвижность в аморфной фазе.

3. Изучение особенностей самодиффузии в модельных биологических системах: биологических мембранах и мультислойных везикулах, в том числе в условиях фазового разделения. Выяснение влияния состава и температуры на самодиффузию липидов в биомембранах.

Работа выполнена на кафедре молекулярной физики КГУ и является частью проводимых здесь исследований трансляционной молекулярной подвижности в гетерогенных системах, в том числе исследований, проведенных в рамках научно-образовательного центра КГУ. Часть работы выполнена в сотрудничестве с кафедрой биофизической химии Университета Умео (Швеция).

Научная новизна. В работе получены следующие новые результаты:

- Предложены новые подходы к проведению эксперимента ЯМР ИГМП для получения информации о самодиффузии молекул и структуре пористых систем. Разработана импульсная последовательность, позволяющая более детально исследовать микроструктуру порового пространства.

- Для установления деталей структуры порового пространства разработана методика, основанная на исследовании самодиффузии в жидкой фазе в условиях последовательного исключения из диффузионного затухания части сигнала диффузанта в порах большего размера. Такая методика, названная «криодиффузометрия», позволяет оценивать среднеквадратичные размеры участков порового пространства и исследовать их связность.

- Впервые на примере фракций полиэтиленоксида с молекулярными массами от 1500 до 40000, их смесей и смесей с фракциями некристаллизующегося полипропиленоксида изучена самодиффузия в системах, в которых изменение структуры ограничений производится путем варьирования концентрации некристаллизующегося компонента и условий кристаллизации. Показано, что метод ЯМР ИГМП позволяет получить информацию о размерах и сообщаемости межфибриллярных аморфных областей. Установлено, что зависимости размеров этих областей от температуры кристаллизации и концентрации кристаллизующегося компонента для исследованных систем согласуются с феноменологической моделью фибриллярной кристаллизации. Установлено, что в ходе кристаллизации молекулярно-массовое фракционирование является основной причиной изменения коэффициента самодиффузии.

- На примере фракций полиэтиленоксида, введенных в пористые среды с диаметром пор от 40 до 1440 Å, выявлена роль основных факторов, влияющих на кинетику кристаллизации полимера в условиях ограничений. Показано, что скорость кристаллизации определяется, в основном, изменением числа конформационных состояний макромолекулы в присутствии ограничений и геометрией порового пространства. Установлено существование критического размера пор  $d^*$ , близкого к минимальной толщине кристаллической ламели. В порах больше  $d^*$  происходит ламеллярная кристаллизация, аналогично объемному полимеру, а при размере пор меньше  $d^*$  кристаллическая структура разупорядочена по сравнению с объемным полимером и может быть отнесена к

мицелярному типу. Показано, что во всех исследованных системах самодиффузия молекул не является определяющим фактором кристаллизации.

- Для плоских бислоев ряда фосфолипидов (модельных биомембран) детально исследована латеральная самодиффузия фосфолипидов в зависимости от температуры и доли насыщенных углеводородных цепей, а также содержания холестерина в условиях ориентации образца под «магическим углом» ( $54,7^\circ$ ) относительно магнитного поля. Показано, что процесс самодиффузии в таких системах характеризуется моноэкспоненциальным диффузионным затуханием. При этом с ростом доли насыщенных цепей коэффициент самодиффузии уменьшается, а энергия активации процесса самодиффузии увеличивается. Зависимости коэффициента самодиффузии и энергии активации от доли насыщенных цепей носят неаддитивный характер.

- Для бислоевых систем, содержащих бинарные смеси ряда насыщенных фосфолипидов с холестерином, впервые методом ЯМР систематически исследована самодиффузия в условиях жидкокристаллического фазового расслоения на упорядоченную (обогащенную холестерином и характеризующуюся большим порядком в расположении цепей) и неупорядоченную фазы. На основе анализа концентрационных и температурных зависимостей коэффициентов самодиффузии липидов показано, что упорядоченная фаза характеризуется пониженными (до  $\sim 3$  раз) значениями коэффициентов самодиффузии и повышенными (до  $\sim 2$  раз) значениями энергии активации самодиффузии липида по сравнению со значениями для неупорядоченной фазы. Границы области фазового разделения по данным ЯМР ИГМП согласуются с данными других методов.

- Для бислоев фосфолипида, содержащего 50% насыщенных цепей, используя ЯМР ИГМП, впервые экспериментально по признакам отклонения температурной зависимости коэффициента самодиффузии от Аррениусовой формы и нарушению монотонной зависимости коэффициента самодиффузии от концентрации холестерина обнаружено присутствие упорядоченной жидкокристаллической фазы в узком температурном интервале вблизи перехода жидкий кристалл – гель.

- Впервые исследована самодиффузия в бислоях липидов, содержащих тройную смесь компонентов, соответствующих основным компонентам клеточной мембраны (холестерол, фосфолипид с ненасыщенными цепями, сфингомиелин - фосфолипид с насыщенными цепями), в которых могут образовываться особые домены ("rafts") упорядоченной ЖК фазы с повышенным содержанием сфингомиелина и холестерина. И в этом случае, также как для бинарных смесей, границы области фазового разделения по данным ЯМР ИГМП согласуются с данными других методов. Установлены характерные особенности трансляционной динамики фосфолипидов в "rafts", отличающие их от окружающей неупорядоченной ЖК фазы: пониженные коэффициенты самодиффузии липидов (до  $\sim 5$  раз) и более высокая энергия активации самодиффузии (до  $\sim 2$  раз). Показано, что данные ЯМР ИГМП могут быть использованы для построения фазовой диаграммы бислоев, образующих "rafts".

- Установлено, что двухкомпонентная форма диффузионного затухания в этих системах обусловлена вкладом от молекул фосфолипидов в "rafts" и в окружающей жидкокристаллической фазе. Независимость формы диффузионного затухания от времени диффузии свидетельствует о выполнении условий медленного обмена между молекулами этих фаз и об отсутствии эффектов ограничений, связанных с наличием границы фазового раздела. Сделанные на основании этих фактов оценки размеров "rafts" согласуются с данными флуоресцентной микроскопии, полученными для подобных систем.

- На примере латеральной самодиффузии в системе лецитин-вода при концентрациях, соответствующих образованию мультислойных везикул, рассмотрены особенности самодиффузии для случая сферической формы ограничений. На основе анализа полученных экспериментальных данных разработана модель самодиффузии в тонком сферическом слое. Применение этой модели позволило впервые для систем лецитин-вода описать зависимость формы диффузионного затухания ЯМР от времени диффузии в диапазоне от миллисекунд до секунд при использовании одного фиксированного набора структурных (радиусы везикул) и динамических (коэффициенты самодиффузии) параметров.

Научная и практическая ценность. Научная ценность работы обусловлена новизной полученных результатов и возможностью применения обнаруженных закономерностей и разработанных методик к исследованию структуры различных мезопористых и макропористых систем. Предложенные новые экспериментальные методики качественно расширяют возможности метода ЯМР ИГМП для исследования структуры гетерогенных систем различной природы. Установленные закономерности кристаллизации и плавления полимеров в пористых средах могут быть использованы для прогнозирования и управления свойствами полимерного компонента в химической технологии (каталитическая полимеризация, армирование полимеров и др.), экологии и нефтяной индустрии (управление фильтрационными свойствами горных пород). Предложенные методики анализа диффузионных затуханий намагниченности ЯМР в дисперсиях лецитина могут быть использованы для определения размеров везикул других липидных систем, а также для анализа микроструктуры эмульсий, образуемых различными эмульгирующими веществами, применяемых в биологии, медицине, фармакологии, пищевой и косметической промышленности. Обнаруженные особенности самодиффузии в двух- и трехкомпонентных бислоях липидов показывают роль состава (в частности, концентрации холестерина, содержания воды) и температуры на фазовое состояние и подвижность молекул липида в биомембранах, что важно, в особенности, для биологии мембран. Данные по самодиффузии липидов в образцах, образующих домены "rafts", могут быть использованы в биомедицинских исследованиях как основа для изучения и моделирования динамических свойств биологических мембран.

В целом, проведенные исследования показывают, что метод ЯМР ИГМП применим для широкого круга гетерогенных систем, в том числе в условиях фазовых переходов.

Достоверность полученных результатов. Достоверность измерений обеспечивалась комплексным характером проведенных экспериментальных исследований, многократной повторяемостью измерений. При этом, в дополнение к методу ЯМР ИГМП применялись методы ЯМР релаксации, ЯМР высокого разрешения на  $^1\text{H}$ ,  $^2\text{H}$  и  $^{31}\text{P}$ , широко- и малоугловое рентгеновское рассеяние, оптическая микроскопия, дифференциальная сканирующая калориметрия. При проведении исследований использовались образцы с характеристиками, известными из справочных данных или определенными с помощью стандартных методов. Экспериментальные данные обрабатывались с использованием стандартных методов, а в тех случаях, когда применялись новые методы обработки, это теоретически обосновывалось. Полученные результаты неоднократно докладывались на конференциях и совещаниях, где они анализировались на предмет их достоверности и согласия с результатами, полученными другими научными группами.

Апробация работы. Основные результаты работы были доложены и обсуждены на итоговых научных конференциях КГУ в 1988-2000 годах, на III Всесоюзной конференции по пластификации полимеров (Суздаль, 1988), Всесоюзной конференции "Применение магнитного резонанса в народном хозяйстве" (Казань, 1988) XXIV конгрессе Ампера (Познань, 1988), конференции "MARECO'89" (Лейпциг, 1989), XIX Европейском конгрессе по молекулярной спектроскопии (Дрезден, 1989), II Всесоюзной конференции "Смеси полимеров" (Казань, 1990), II Всесоюзном совещании "Динамика макромолекул" (Казань, 1990), Всесоюзной конференции "Фундаментальные проблемы науки о полимерах" (Ленинград, 1990), XV Всесоюзной конференции по химической технологии неорганических веществ (Казань, 1991), VI конференции Технического университета в Кошице (Кошице, 1992), II Всероссийской конференции "Нефтехимия-92" (Нижекамск, 1992), на XXVII конгрессе Ампера (Казань, 1994), Всероссийском совещании "Физико-химические методы исследования структуры и динамики молекулярных систем" (Йошкар-Ола, 1994), Конференции университета в Кошице с приглашением международных участников (Кошице, 1994), V конференции по химии и физикохимии олигомеров (Черноголовка, 1994), III Всероссийской конференции по интенсификации нефтехимических процессов "Нефтехимия-94" (Нижекамск, 1994), VI Европейской конференции по спектроскопии биологических молекул (Франция, 1995), XIII совещании международного общества по гематологии (Стамбул, 1995), Всероссийском семинаре "Структура и динамика полимерных систем" (Йошкар-Ола, 1995), IV конференции по интенсификации нефтехимических процессов "Нефтехимия-96" (Нижекамск, 1996), XIII Европейской конференции по экспериментальному ЯМР (Париж, 1996), IV Международном совещании по новейшим достижениям ЯМР в пористых средах (Тронхейм, 1997), Международном совещании по пористым средам (Дельфы, 1998), III Международном симпозиуме "Молекулярная подвижность и порядок в полимерных системах" (Санкт-Петербург, 1999), VI Всероссийской конференции "Структура и дина-

мика молекулярных систем" (Казань- Йошкар-Ола, 1999), 5 Международной конференции по магнитной резонансной микроскопии (Гейдельберг, 1999), VII Всероссийской конференции "Структура и динамика молекулярных систем" (Москва- Йошкар-Ола, 2000), 46 Ежегодном съезде Биофизического Общества (Сан-Франциско, 2002), 47 Ежегодном съезде Биофизического Общества (Сан-Антонио, 2003), Конференции по ЯМР-Микроскопии (Гётеборг, 2003).

Содержание диссертации опубликовано в 92 печатных работах, включающих в себя 27 журнальных статей, 18 статей в сборниках, 47 тезисов в трудах научных конференций и совещаний.

#### На защиту выносятся.

- Экспериментальные данные по самодиффузии воды и углеводов в осадочных породах (на примере Fontainebleau, Indiana limestone и др.) а также в ряде образцов гипсового камня при различных условиях его изготовления. Разработка специальной импульсной последовательности для исследования молекулярного обмена между участками порового пространства. Разработка метода, основанного на последовательном частичном замораживании жидкости, введенной в поры, с целью избирательного исследования самодиффузии в областях порового пространства, содержащих жидкую фазу, а также для получения информации о связности пор в этих системах.

- Экспериментальные данные по самодиффузии и ЯМР-релаксации в частично кристаллических полимерах (на примере полиэтиленоксида) на разных стадиях процесса. Главной особенностью самодиффузии является наблюдение эффекта ограничений на трансляционную подвижность молекул в аморфной фазе, а особенность ЯМР-релаксации – наблюдение в аморфной фазе фракции макромолекул с высокой анизотропией вращательной подвижности. Анализ данных ЯМР-релаксации и самодиффузии в аморфной фазе частично-кристаллического полимера для определения структурных особенностей этой фазы. Установление молекулярно-массового фракционирования как основного фактора, влияющего на изменение самодиффузии в аморфной фазе полимера в ходе кристаллизации фракций и смесей кристаллизующегося полимера.

- Экспериментальные данные по латеральной самодиффузии фосфолипидов с различной долей насыщенных углеводородных цепей (ненасыщенные, 50% насыщенных и полностью насыщенные), полученные при измерении в бислоях, ориентированных под магическим углом относительно магнитного поля. Установление влияния доли насыщенных цепей на коэффициенты и энергии активации самодиффузии липидов.

- Экспериментальные данные по латеральной самодиффузии фосфолипидов в их бинарных смесях с холестерином в условиях, когда фосфолипиды содержали ненасыщенные, 50% насыщенных и ненасыщенные углеводородные цепи. Установление монотонного понижения коэффициента самодиффузии фосфолипида с ненасыщенными цепями в жидкокристаллической фазе при возрастании концентрации холестерина от 0 до ~50 мольных %.

- Экспериментальные данные по латеральной самодиффузии фосфолипидов с насыщенными цепями в их бинарных смесях с холестеролом в условиях жидкокристаллического фазового расслоения на упорядоченную (обогащенную холестеролом и характеризующуюся большим порядком в расположении цепей) и неупорядоченную фазы. Предложенный совместный анализ концентрационных и температурных зависимостей коэффициентов самодиффузии липидов, с целью определения коэффициентов самодиффузии, соответствующих неупорядоченной и упорядоченной жидкокристаллическим фазам и определения границ областей фазового разделения по данным самодиффузии. Оценка размеров фазовых доменов из условия быстрого молекулярного обмена фосфолипида между фазами.

- Экспериментальные данные по латеральной самодиффузии фосфолипида, содержащего 50% насыщенных цепей, в бинарных смесях с холестеролом, свидетельствующие об образовании упорядоченной жидкокристаллической фазы вблизи перехода жидкий кристалл – гель.

- Экспериментальные данные по латеральной самодиффузии в бислоях липидов, содержащих тройную смесь компонентов, соответствующую основным компонентам клеточной мембраны (фосфолипид с ненасыщенными цепями, фосфолипид с насыщенными цепями сфингомиелин и холестерол), образующих домены упорядоченной ЖК фазы особого состава (повышенное содержание сфингомиелина и холестерина), называемые "rafts". Определение коэффициентов самодиффузии и энергий активации самодиффузии фосфолипидов в упорядоченной и неупорядоченной фазах. Оценка размеров доменов при условии наблюдаемого медленного молекулярного обмена фосфолипидов между фазами. Установление характеристик трансляционной подвижности для "rafts", отличающих их от окружающей неупорядоченной ЖК фазы: пониженные коэффициенты самодиффузии липидов (до ~5 раз) и более высокая энергия активации самодиффузии (до ~2 раз). Возможность использования данных самодиффузии молекул фосфолипидов для построения фазовой диаграммы бислоев, образующих "rafts".

- Получение спектра  $^1\text{H}$  ЯМР упорядоченной жидкокристаллической фазы при формировании доменов "rafts" путем анализа данных трансляционной подвижности и спектров трехкомпонентной системы фосфолипид с ненасыщенными цепями – сфингомиелин - холестерол. Оценка состава "rafts" из полученных спектров.

- Экспериментальные данные по самодиффузии в мультислойной везикулярной системе лецитин – вода. Анализ зависимости диффузионных затуханий спинового эхо от времени диффузии в этой системе с использованием модели самодиффузии в тонком сферическом слое для получения информации о размерах везикул.

Личный вклад автора. Автору принадлежат: идея постановки работы, методические аспекты проведения исследований, большая часть эксперименталь-

ного материала, основные идеи по интерпретации результатов. Из опубликованных в соавторстве 44 статей 40 написаны непосредственно автором.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав и заключения, представленного в виде выводов, изложена на 282 страницах машинописного текста, содержит 115 рисунков и 32 таблицы. Список используемой литературы содержит 300 наименований.

## СОДЕРЖАНИЕ

Во «**Введении**» в форме аннотированного изложения глав диссертационной работы приводятся ее основные результаты, обосновывается актуальность темы, формулируются основные цели диссертации, обосновывается новизна, методическая и практическая значимость выполненных разработок и проведенных исследований.

### **Первая глава. «Особенности самодиффузии и применение метода ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля для исследования самодиффузии и структуры гетерогенных систем».**

Дан обзор существующих представлений о структуре гетерогенных систем на примере пористых тел. Рассмотрены основные закономерности самодиффузии молекул жидкостей в объеме и в гетерогенных системах. Дается описание метода ЯМР ИГМП, рассмотрены примеры его применения для исследования динамики молекул в пористых, гетерогенных биологических и полимерных системах, методы представления данных, полученных с помощью ЯМР ИГМП, информация о структуре среды и ее транспортных свойствах, получаемая с помощью этого метода. Изложены основные закономерности фазовых переходов в низкомолекулярных и полимерных веществах в объеме, их особенности в ограниченном пространстве, роль молекулярной диффузии в процессе формирования кристаллической структуры. Обоснована постановка задачи исследования.

### **Вторая глава. «Материалы и методы».**

Описаны характеристики образцов, методики их приготовления, приводятся наиболее существенные для получаемых результатов параметры используемых приборов. Описывается методика проведения эксперимента.

Исследуемые системы. В соответствие с поставленной целью объекты исследования были представлены в основном тремя группами образцов: насыщенные жидкостью пористые вещества, частично кристаллические полимеры и бислойные липидные системы.

В качестве пористых веществ с распределением размеров пор использовали серию образцов, являющихся фактическими стандартами осадочных пород и широко применяемых в геофизических исследованиях, которые различаются размером и распределением размеров пор (песчаники Fontainebleau и Berea, известняк Indiana limestone, мел Austin chalk). Структурные характери-

стики этих образцов представлены в литературе, что делает их удобными объектами для изучения возможностей метода ЯМР ИГМП. Вторую серию пористых веществ представляли образцы гипсового камня (ГК), изготовленные по различной технологии, и характеризующиеся различными распределениями размеров пор. ГК представляет собой кристаллический сросток, в котором кристаллиты могут иметь слоистую или игольчатую морфологию. Высокая пористость и отсутствие парамагнитных примесей делают эти образцы удобными объектами для апробации новых методик ЯМР ИГМП в случае, когда измерения проводятся в широком диапазоне времен диффузии.

В качестве диффузантов применяли как низкомолекулярные, так и полимерные вещества, различающиеся КСД: воду ( $D_0 \sim 10^{-9} \text{ м}^2/\text{с}$ ), углеводороды (гексан, тридекан, циклогексан) ( $D_0 \sim 5 \cdot 10^{-10} - 10^{-9} \text{ м}^2/\text{с}$ ), фракции некристаллизующегося полипропиленоксида (ППО) с молекулярными массами 425, 1025, 4000 ( $D_0 \sim 10^{-11} \text{ м}^2/\text{с}$ ), где  $D_0$  - среднее значение КСД в объемной жидкости при температуре  $\sim 30^\circ\text{C}$ . Использование такого набора в совокупности позволяет исследовать самодиффузию в широком диапазоне пространственных смещений.

При выборе компонентов кристаллизующихся полимерных систем было учтено, что роль внешних факторов и  $M$  полимера наиболее удобно исследовать на узкодисперсных образцах. В качестве образцов использовали фракции типичного гибкоцепного полимера - полиэтиленоксида (ПЭО) производства Fluka и Ferrak (Германия) и смеси этих фракций с фракциями ППО Fluka (Германия). Молекулярная масса ПЭО выбиралась таким образом, чтобы перекрыть диапазон  $M=1500 \div 40000$ , в котором, как известно, происходит изменение механизмов самодиффузии и кристаллизации при изменении молекулярной массы.

В ходе кристаллизации часть макромолекул оказывается заключенной в межкристаллитном пространстве. Для изучения влияния ограниченного объема на подвижность и кристаллизацию полимера исследовали полимер, введенный в пористую среду, в качестве которой использовали пористые стекла с размером пор от 40 до 800Å, с узким распределением размеров пор (Vucor, производства Corning Inc., и аналогичные по структуре произведенные в Институте химии силикатов РАН, Санкт - Петербург), а также углеродные адсорбенты с узким распределением размеров пор в диапазоне 480 и 1440Å (Институт физической химии РАН, Москва). Использовались также микропористые углеродные адсорбенты с широким распределением размеров пор, обладающие вторичной пористостью и произведенные в университете Иллинойса (США).

Как известно, липидные бислои двумерны и могут быть ориентированы на подложке или самопроизвольно принимают сферическую форму в эмульсиях. Для приготовления ориентированных бислоев в работе использовали фосфолипиды с насыщенными цепями (димиристоилфосфатидилхолин (DMPC), дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), сфингомиелин (SM)), ненасыщенными цепями (диолеилфосфатидилхолин (DOPC)) и содержащие насыщенную и ненасыщенную цепи (пальмитоилолеилфосфатидилхолин (POPC)), а также холестерол (CHOL). Раствор, содержащий липиды в смеси метанола с пропа-

нолом наносился на стекло и высушивался при вакууммировании. В конечном счете образец представлял собой стопку из примерно 60-ти стекол с нанесенными на поверхность липидными бислоями, которые затем насыщались водой до заданной гидратации.

Для создания мультибислойных везикул использовали природную смесь липидов - яичный лецитин производства Харьковского ХФЗ. Содержание лецитина составляло от 10 до 90%. В ходе предварительных исследований выяснилось, что время поперечной ЯМР релаксации воды значительно больше, чем лецитина, поэтому в основных экспериментах для увеличения вклада в эхо от протонов лецитина применяли дейтерированную воду. Некоторые эксперименты проводились на суспензии эритроцитов и фрагментах разрушенных клеточных мембран (тромбопластине).

Экспериментальные методы. В ходе выполнения работы использовали комплекс экспериментальных методов: ЯМР ИГМП для исследования трансляционной подвижности молекул; ЯМР релаксация для определения фазового состава и локальной молекулярной подвижности, а также соотношения вкладов в сигнале спинового эхо ЯМР ИГМП к молекулярным и фазовым компонентам системы; широкоугловое и малоугловое рентгеновское рассеяние для определения параметров кристаллической фазы и оценки размеров надмолекулярных образований; оптическая микроскопия для определения размеров дисперсной фазы и скорости кристаллизации в объеме, дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК) для определения температуры фазовых переходов. При моделировании и расчетах на компьютере типа IBM PC использовались специально составленные программы на языке C++.

Основные характеристики диффузометров:

- Диффузометр с резонансной частотой ЯМР для протонов  $f=60$  МГц, максимальная амплитуда импульсов градиента магнитного поля  $g_{\max} = 30 - 200$  Т/м;
- Спектрометр ЯМР Varian/Chemagnetics CMX Infinity, оборудованный датчиком с ИГМП и гониометром (Cryomagnet systems, Indianapolis, IN),  $f=100$  МГц,  $g_{\max} = 1.5$  Т/м;
- Спектрометр ЯМР Varian/Chemagnetics CMX Infinity, оборудованный датчиком с ИГМП и гониометром (Cryomagnet systems, Indianapolis, IN),  $f=400$  МГц,  $g_{\max} = 11$  Т/м.

Первичную информацию получали в виде диффузионного затухания амплитуды спинового эхо (ДЗ) выражение для которого в общем случае:

$$A(\vec{q}, t_d) = \int_V d^3 r \int_V d^3 r_0 \exp\{i \cdot \vec{q} \cdot (\vec{r} - \vec{r}_0)\} P(\vec{r}, t_d | \vec{r}_0, 0) \rho(\vec{r}_0, 0), \quad (1)$$

где  $\vec{q} = \gamma \cdot \delta \cdot \vec{g}$  - волновой вектор,  $\gamma$  - гиромагнитное отношение,  $\delta$  - длительность и  $\vec{g}$  - амплитуда импульса градиента,  $P(\vec{r}, t_d | \vec{r}_0, 0)$  - пропагатор, который представляет собой плотность условной вероятности для спина, изначально находившегося в положении  $\vec{r}_0$ , в момент времени  $t_d$  оказаться в позиции  $\vec{r}$ ,  $t_d$  -

время диффузии,  $\rho(r_0, 0)$  - спиновая плотность в начальный момент времени. Для самодиффузии в свободном пространстве пропагатор имеет Гауссову форму и выражение (1) принимает вид:

$$A(\bar{q}, t_d) = \exp(-q^2 \cdot D_0 \cdot t_d) = \exp(-\gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot g^2 \cdot t_d \cdot D_0). \quad (2)$$

В пространстве, содержащем ограничения, аналитическое выражение для ДЗ может быть получено решением (1) с использованием выражения для  $P(\bar{r}, t_d | \bar{r}_0, 0)$  при учете граничных условий на поверхности поры. В общем случае эта задача не имеет аналитического решения, поэтому для удобства ДЗ часто представляют в виде спектра КСД:

$$A(\bar{q}, t_d) = \int_0^\infty P(D) \cdot \exp(-q^2 \cdot D \cdot t_d) dD. \quad (3)$$

Наиболее объективной и простой физической характеристикой трансляционного движения в системах с ограничениями является средний КСД, который экспериментально определяется как наклон начального участка ДЗ в координатах  $\lg(A)$  от  $g^2$ :

$$\langle D \rangle = -(\gamma^2 \cdot \delta^2 \cdot t_d)^{-1} \frac{\partial \{\ln[A(g)]\}}{\partial (g^2)} \Big|_{g \rightarrow 0}. \quad (4)$$

Для получения ДЗ использовали импульсную радиочастотную последовательность «стимулированное эхо».

При исследовании фазового состояния, процессов плавления и кристаллизации низкомолекулярных веществ и полимеров анализировали спады свободной индукции (ССИ), огибающие эхо Карра - Парселла - Мейбума - Гилла (КПМГ), огибающие эхо Карра - Парселла с инверсией фазы (КПИФ). В присутствии кристаллической фазы спад поперечной намагниченности имеет вид:

$$A(t) = P_c \cdot f_c(t) + P_1 \cdot f_1(t), \quad (5)$$

где первое слагаемое с населенностью  $P_c$  и функцией релаксации  $f_c$  относится к кристаллической фазе, а второе, характеризующееся  $P_1 = 1 - P_c$  и  $f_1(t)$ , - к аморфной фазе. Вид функций  $f_1$  и  $f_2$  и соответствующие им населенности получали путем графического разложения спадов поперечной намагниченности и использовали как для оценки степени кристалличности, так и для получения информации о динамических характеристиках молекул в кристаллическом и аморфном состояниях.

### **Третья глава. «Возможности метода ЯМР ИГМП для исследования самодиффузии и структуры пористых веществ».**

В главе рассмотрены возможности метода ЯМР ИГМП с большими амплитудами импульсного градиента поля для исследования самодиффузии и оценки структурных параметров пористых веществ. Показаны особенности метода, затрудняющие получение информации в образцах с распределением размеров пор. Предложены новые подходы для расширения возможностей ЯМР ИГМП, которые заключаются в выделении и избирательном исследовании са-

модиффузии в отличающихся по какому-либо параметру областях порового пространства, а также в исследовании молекулярного обмена между этими областями.

### Самодиффузия в пористых системах.

Проведенные измерения показали, что для жидкости в осадочных породах и образцах гипсового камня наблюдаются неэкспоненциальная форма ДЗ, зависящая от  $t_d$ . Для сравнения формы ДЗ диффузионные затухания для каждого образца были представлены в координатах  $\lg[A(g)/A(0)] - \gamma^2 \delta^2 g^2 t_d \langle D \rangle (t_d)$ , где  $\langle D \rangle (t_d)$  – зависящий от времени диффузии средний КСД. Проведен анализ влияния типа диффузанта и среднеквадратичного молекулярного смещения на форму ДЗ. Измерения для всего набора диффузантов показали, что для каждого образца при одинаковых среднеквадратичных смещениях молекул тип диффузанта не влияет на форму ДЗ. Это связано главным образом с тем, что размер пор значительно превосходит размер молекул диффузантов.

Одной из особенностей самодиффузии в исследуемых пористых средах, обнаруженной впервые, было сохранение формы ДЗ в большом масштабе среднеквадратичных смещений молекул (~5 - ~50 мкм). Этот факт может свидетельствовать о самоподобии самодиффузии молекул в данном масштабе смещений. В некоторых предшествующих работах [12] отмечались фрактальные свойства осадочных пород (в том числе и исследованных в данной работе). В [13] предполагалось, что фрактальность самодиффузии в пористых средах может быть обусловлена фрактальностью поровой структуры, однако прямых доказательств этого не было представлено. Надо заметить, что в более простых по структуре объектах (упакованных сферических частицах и др.) такой особенности (сложной и независимой от времени диффузии формы ДЗ) не наблюдается, что действительно свидетельствует о достаточно сложной структуре исследуемых пористых систем.

Согласно существующим представлениям, основным механизмом воздействия пор на самодиффузию введенных молекул является столкновение молекул со стенками. Эффект столкновений зависит от соотношения среднеквадратичного молекулярного смещения  $r \equiv \langle r^2 \rangle^{0.5}$  и размера (диаметра)  $d$  поры. Выделяют три области времен диффузии: малые  $t_d$ , для которой выполняется соотношение  $r \ll d$ ; большие  $t_d$ , для которых  $r \gg d$ , и промежуточные  $t_d$ , для которых  $r \sim d$ . Область времен и смещений, в которой производится измерение, идентифицируется по значениям  $D(t_d)/D_0$  и наблюдению зависимостей формы ДЗ и  $\langle D \rangle$  от  $t_d$ , типичных для так называемых коротковременного, промежуточного и длинновременного режимов самодиффузии.

Для анализа  $D(t_d)$  в коротковременном режиме, используется теория Митры-Сена [14]. В этом случае зависимость КСД от  $t_d$  дается соотношением:

$$\frac{D(t_d)}{D_0} \approx 1 - \frac{4}{9\sqrt{\pi}} \frac{S}{V_p} \sqrt{D_0 t_d} . \quad (6)$$

Наклон зависимости  $D(t_d)/D_0$  от  $(D_0 t_d)^{0.5}$  при  $t_d \rightarrow 0$  определяется характерным размером пор - отношением объема пор к площади их поверхности ( $V_p/S$ ).

Для длинновременного режима измеряемый КСД характеризуется значением  $D_{эфф}$ , не зависящим от  $t_d$ . При этом величина  $D_{эфф}$  связана с извилистостью пор  $\tau$  или проницаемостью образца  $\sigma_p/\sigma_b$  и пористостью:

$$\frac{D_{эфф}}{D_0} = \frac{1}{\tau} = \frac{\sigma_p}{\sigma_b \cdot \phi}, \quad (7)$$

где  $\sigma_p$  и  $\sigma_b$  - проводимость электролита в образце и объеме,  $\phi$  - пористость. Отношение  $D_{эфф}/D_0$  можно рассматривать в качестве характеристики проницаемости среды [15].

В переходной области ( $r \sim d$ ) строгой и универсальной теории для пористых систем с произвольной геометрией не существует. Часто используют интерполяцию между коротковременным и длинновременным режимами с помощью Паде аппроксимации:

$$\frac{D(t)}{D_0} = 1 - \left(1 - \frac{1}{\tau}\right) \times \frac{(4\sqrt{D_0 t} / 9\sqrt{\pi})(S/V) + (1 - 1/\tau)(D_0 t / D_0 \theta)}{(1 - 1/\tau) + (4\sqrt{D_0 t} / 9\sqrt{\pi})(S/V) + (1 - 1/\tau)(D_0 t / D_0 \theta)}, \quad (8)$$

где  $(D_0 \theta)$  - подгоночный параметр. Такая интерполяция удовлетворительно описывает экспериментальную зависимость для систем с относительно простой геометрией (жидкость между однородными по размеру стеклянными сферами, суспензия эритроцитов).

Более физически обоснованный феноменологический подход для описания зависимости  $D(t_d)$  в диапазоне от коротковременного до длинновременного предложен В.Скирдой [7]. Он показывает, что вклады молекул, испытавших и не испытавших столкновение с барьерами за время диффузии, могут быть разделены с помощью соотношения:

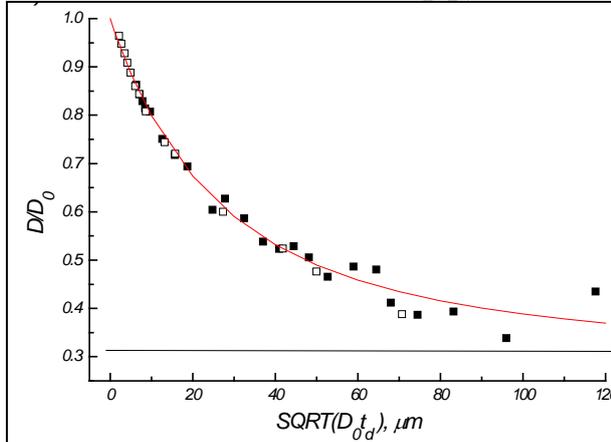
$$D_{орг}(t_d) = (D(t_d) - D_{эфф}) \frac{D_0}{D_0 - D_{эфф}}, \quad (9)$$

где  $D_{орг}(t_d)$  - КСД части молекул, испытавших за время  $t_d$  полностью ограниченную самодиффузию и связанный с расстоянием между ограничениями  $R_{орг}$ :

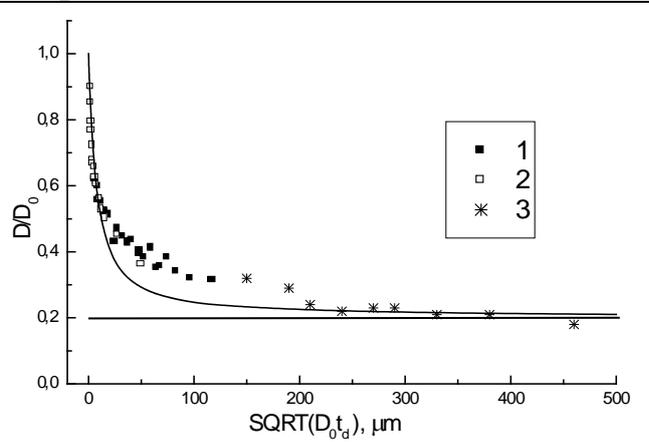
$$D_{орг}(t_d) \sim \frac{R_{орг}}{6 \cdot t_d}. \quad (10)$$

Рассмотренные представления в работе использовались для анализа экспериментальных данных. При извлечении структурной информации (отношения  $V_p/S$ ) из данных самодиффузии путем анализа зависимостей  $D(t_d)$  в области малых среднеквадратичных смещений необходимо, чтобы выполняется условие  $D(t_d)/D_0 < 0,9$ . Ранее [4] удавалось достигнуть  $D(t_d)/D_0 \sim 0,8$  для песчаников, структуру которых полагали близкой к случайной упаковке жестких сфер. При этом соотношение (8), с учетом  $D_{эфф}/D_0$  согласно (7), описывало экспериментальную зависимость и позволяло проводить надежную (что видно при сравнении с нашими непосредственными измерениями (рис.1а)) экстраполяцию в область меньших  $t_d$  для определения  $V_p/S$ . Для образцов с более сложной струк-

турой пор (известняк и мел) при малых  $g_{max}$  был получен лишь участок зависимости с  $D(t_d)/D_0$  от  $\sim 0,3$  до  $\sim 0,6$ , а выражение (8) (кривая на рис.1б) не описывало всю экспериментальную зависимость, что не позволяло использовать (8) для надежной экстраполяции в область малых и больших среднеквадратичных смещений молекул. Участок больших смещений был достигнут [4, 5] при использовании в качестве диффузанта газообразного  $^{131}\text{Xe}$ .



**Рис.1а.** Зависимость КСД воды в порах Fontainebleau от среднеквадратичного смещения молекул при  $30^\circ\text{C}$ . Данные Хюрлимана с сотрудниками ■ [4], наши данные □, кривая - аппроксимация Паде, горизонтальная прямая при  $D(t_d)/D_0 \sim 0,30$  соответствует проницаемости, определенной из электропроводности (соотношение (7)).



**Рис.1б.** Зависимость КСД воды (1, 2) и  $^{131}\text{Xe}$  (3) в порах известняка Indiana limestone от среднеквадратичного смещения молекул при  $30^\circ\text{C}$ . 1, 3 - данные Хюрлимана с сотрудниками [4, 5], 2 - наши данные. Кривая - аппроксимации Паде (8) для лучшего описания эксперимента в коротковременном и длинновременном режимах при  $V_p/S=1$  мкм,  $D_{эфф}/D_0=0,2$ .

Использование нами  $g_{max} > 30$  Т/м и воды в качестве диффузанта позволило провести измерения при  $D(t_d)/D_0 \sim 0,9$  (рис.1б), а при использовании в качестве диффузанта ППО было достигнуто  $D(t_d)/D_0 \sim 0,99$ , что позволило впервые надежно определить  $V_p/S$  для этой системы. Для ППО в порах Indiana limestone с увеличением  $t_d$  наблюдали изменение формы ДЗ от близкой к экспоненциальной, характерной для объемной жидкости, до типичной для воды в порах - такой вид зависимости согласуется с представлениями [8] об аддитивности вкладов в ДЗ молекул, характеризующихся Гауссовым пропэгатором, и молекул, испытавших столкновение со стенками пор. Аналогичные результаты были получены и для образцов гипсового камня.

Результаты измерений для осадочных пород были сопоставлены (Табл.1) с независимо полученными данными адсорбции азота (метод БЭТ) и кондуктометрии ( $\sigma_p/\sigma_b \cdot \phi$ ).

Из таблицы видно, что значения  $V_p/S$ , определенные методом ЯМР ИГМП, больше значений, полученных методом БЭТ. Этот эффект был нами отнесен к шероховатости поверхности пор, что подтверждалось результатами по ЯМР релаксации. Значения  $D_{эфф}/D_0$  оказались близки к значениям  $\sigma_p/\sigma_b \cdot \phi$ ,

определенным из электропроводности и пористости, для песчаников. В тоже время для Indiana limestone значение  $D_{эфф}/D_0$  значительно превышает величину  $\sigma_p/\sigma_b \cdot \phi$ , что связано с наличием в этом образце пор с  $d > 50$  мкм, превышающих максимальные молекулярные смещения, измеряемые методом ИГМП, но дающих вклад в электропроводность системы. Для всех образцов значения  $R_{орг}$  (колонка 3), полученные по соотношениям (9) и (10), превышают  $V_p/S$  (колонка 2), определенные методом Митры – Сена из соотношения (6). По нашему мнению, это связано с распределением размеров пор исследуемых образцов и различными диапазонами усреднения размеров пор в используемых методиках анализа.

**Таблица 1.** Параметры, характеризующие размер ( $V_p/S$ ,  $R_{орг}$ ) и проницаемость ( $D_{эфф}/D_0$ ) пор, определенные в коротковременном режиме по данным метода ЯМР ИГМП, (колонки 2 - 4), и с помощью методик Брунауэра-Эммета-Теллера (колонка 5) и электропроводности (колонка 6).

Образец	$V_p/S$ , мкм (соот.6)	$R_{орг}$ , мкм (соот.10)	$D_{эфф}/D_0$	$V_p/S$ , мкм (БЭТ)	$\sigma_p/\sigma_b \cdot \phi$
1	2	3	4	5	6
Fontainebleau	9,7	113	0,304	1,1	0,306
Berea 100	4,6	34	0,283	0,092	0,28
Berea 500	6,4	45	0,415	0,17	0,41
Indiana limestone	2,1	42	0,320	0,11	0,128
Austin chalk	0,43	11	0,23		

Таким образом, ЯМР ИГМП позволяет получить значения проницаемости, и расстояний между ограничениями веществ с распределением размеров пор. Однако полученные значения являются усредненными по системе пор. Ниже рассмотрены некоторые причины ограниченности возможностей метода ЯМР ИГМП для получения более детальной информации о поровом пространстве и возможные способы расширения этих возможностей.

#### Ограничения метода ЯМР ИГМП для анализа структуры пор.

Эффекты распределения по размерам и формы пор. Присутствие ограничений вызывает уменьшение затухания эхо в методике ИГМП, причем форма ДЗ и его зависимость от времени определяются расстоянием между ограничениями в направлении  $g$ , проницаемостью, временем диффузии и КСД сложным образом, зависящим от структуры системы. Для макроскопически изотропного образца разделить эффекты, вызванные распределением пор по ориентациям и по размерам, не представляется возможным. Например, микроскопические исследования показывают, что в осадочных породах и синтетических пористых материалах на микроуровне часто наблюдается слоистая морфология, а для распределения размеров пор характерны фрактальные закономерности. Если нормаль плоского слоя ориентирована под углом  $\theta$  к направлению вектора градиента поля, то затухание имеет вид:

$$A(q) = \exp(-q^2 \cdot D \cdot x^2 \cdot t_d), \quad (11)$$

где  $x = \cos(\theta)$ . Выражения для равновероятной ориентации цилиндрических и щелевидных пор получены в результате интегрирования соотношений типа (11) [2], в частности для слоистой геометрии выражение для ДЗ:

$$A(q) = \exp(-q^2 \cdot D_0) \int_0^1 \exp(q^2 \cdot D_0 \cdot x^2) dx, \quad (12)$$

в этом случае распределение расстояний между ограничениями в направлении импульсного градиента обусловлено распределением ориентаций слоев.

Для фрактального (степенного) распределения:

$$\rho(R) \equiv \frac{dN}{dR} = \frac{1}{R_{\max}} \left[ \frac{R}{R_{\max}} \right]^{-1-D_f}, \quad (13)$$

где  $dN$ - число пор между  $R$  и  $R+dR$ ,  $D_f$  - фрактальная размерность. В случае не-сообщающихся пор ДЗ может быть записано в виде:

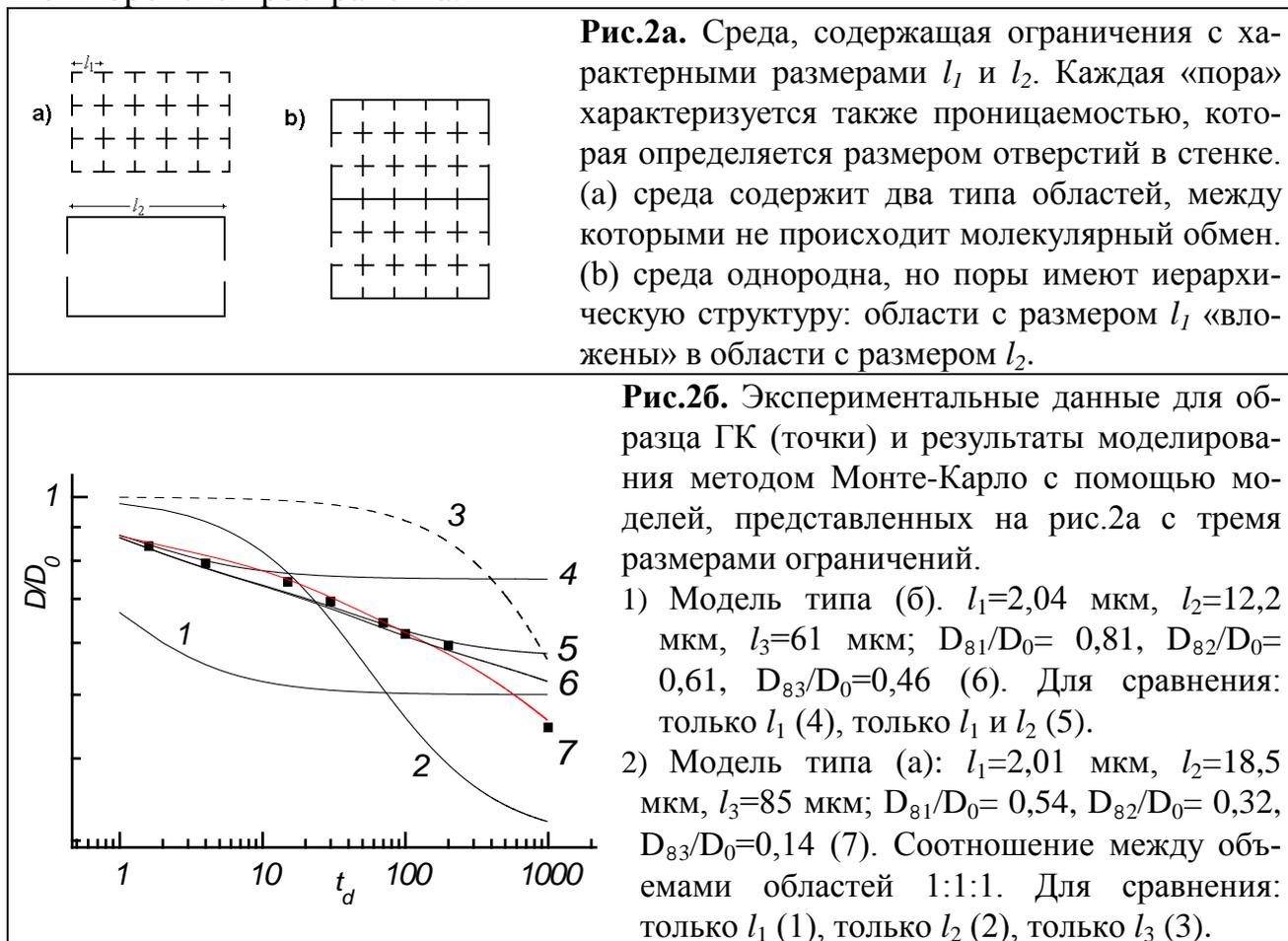
$$A(q) = \frac{1}{R_{\max}^{2-D_f}} \left[ \int_{R_{\min}}^{R_L} dR \cdot R^{2-D_f} \exp(-q^2 \cdot R^2 / 5) + \exp(-q^2 \cdot t_d D_0) \int_{R_L}^{R_{\max}} dR \cdot R^{2-D_f} \right], \quad (14)$$

где  $R_L \equiv r$ ,  $R_{\max}$  и  $R_{\min}$  - границы диапазона фрактальности  $r_1 = R_L / R_{\max}$ ,  $r_{\min} = R_{\min} / R_{\max}$ . При соответствующем наборе параметров распределения (13) можно получить ДЗ, описываемое (12). Заметим, что соотношения (12) и (14) одинаково хорошо описывают ДЗ для образцов ГК и Indiana limestone. Ситуация становится еще более сложной когда поры одновременно анизотропны и характеризуются распределением размеров.

Эффекты связности пор. В большинстве случаев экспериментальные условия измерения самодиффузии в сообщающихся мезо и макропористых средах с распределением размеров или ориентаций пор соответствуют  $t_d \gg \tau_p$  - времени пребывания молекулы в поре или участке поры, характеризующейся некоторым размером или ориентацией. По этой причине определенные из эксперимента значения КСД являются усредненными за время  $t_d$ . Даже в случае простой геометрии пор аналитическое решение для самодиффузии при наличии обмена является проблематичным. Более универсальную возможность решения этой задачи представляет компьютерное моделирование. Нами было проведено численное моделирование методом Монте - Карло зависимости  $D(t_d)$  для двумерных моделей с набором расстояний между ограничениями, различающихся характером связности «пор» (рис.2а). В случае (а) среда содержит сообщающиеся области, каждая с одним «размером пор», причем области с разными «размерами пор» не сообщаются. В случае (б) «поры» имеют иерархическую структуру: области с меньшим размером «вложены» в области с большим размером.

Как оказалось, обе модели в одинаковой степени пригодны для описания эксперимента (рис.2б), что не дает возможности установить: к какой из типов структур относится объект исследования? Из проведенного рассмотрения следует также, что для образцов с распределением размеров пор из данных ЯМР

ИГМП невозможно получить информацию о сообщаемости отдельных участков порового пространства.



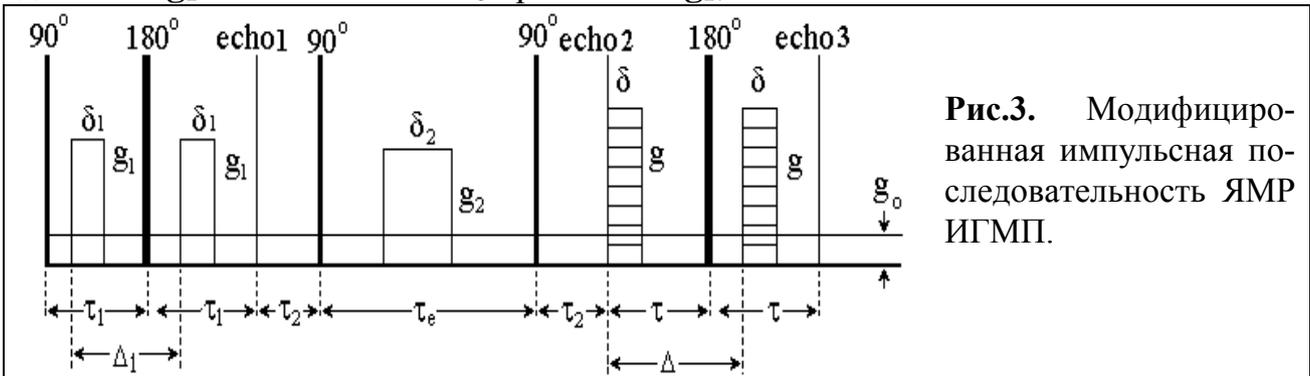
Совершенствование методики ЯМР ИГМП для исследования самодиффузии в порах и определения структурных параметров пористых систем.

Описанные выше ограничения ЯМР ИГМП для исследования структуры пор обусловлены особенностями метода (одновременная регистрация сигнала ЯМР от всех пор, исследование самодиффузии вдоль одного направления) и обменом между сообщающимися порами. Чтобы преодолеть эти ограничения необходимо изменить методику измерения. Например, можно воздействовать на исследуемый объект таким образом, чтобы частично подавить обмен между порами или исключить сигнал от части пор с известными характеристиками. Для этих целей мы предложили: а) использовать специальную импульсную последовательность ЯМР ИГМП и б) селективно замораживать жидкость в порах определенного размера.

Предложенная специальная импульсная последовательность ЯМР ИГМП представлена на рис.3. Последовательность содержит три модуля. Первый модуль (от начала до эхо1) подготавливает систему частично «расфазировав» спины, причем в различной степени для различных молекулярных групп - «фаз», различающихся значением КСД. Степень «расфазировки» определяется как КСД, так амплитудой  $g_1$ .

Второй модуль (до эхо2) представляет собой время эволюции  $\tau_e$  системы, в течение которого происходит молекулярный или спиновый обмен между различными «фазами», зависящий от сообщаемости областей. Третий модуль - измерительный, представляет собой последовательность Хана с импульсным градиентом магнитного поля  $g$ , в результате приложения которой получаем ДЗ в координатах  $\lg[A(g)]$  от  $g^2$  с учетом частичного подавления сигнала и обмена между сообщающимися порами. Изменяя степень расфазировки и время эволюции можно регистрировать наличие процесса спинового или молекулярного переноса и определять количественные характеристики этих процессов.

- Если области, различающиеся КСД, несообщающиеся, то форма ДЗ определяется  $g_1$  и не зависит от  $\tau_e$  при любых  $g_1$ ;



**Рис.3.** Модифицированная импульсная последовательность ЯМР ИГМП.

- Если поры сообщаются, то форма ДЗ определяется как величиной  $g_1$ , так и временем  $\tau_e$ .

Результат применения последовательности показан на рис.4 на примере изучения поровой структуры гипсового камня. Неэкспоненциальность ДЗ свидетельствует о наличии спектра КСД. При  $g_1=0$  (кр.1) диапазон КСД в измеренном ДЗ составляет примерно от  $2 \cdot 10^{-9}$  до  $10^{-11}$  м<sup>2</sup>/с. После подавления ~85% сигнала от молекул с наибольшими КСД остается часть спектра с верхним пределом КСД  $10^{-9}$  м<sup>2</sup>/с (кр.2). Кривая 1 описывается соотношением (12), в то время как кр.2 описывается выражением:

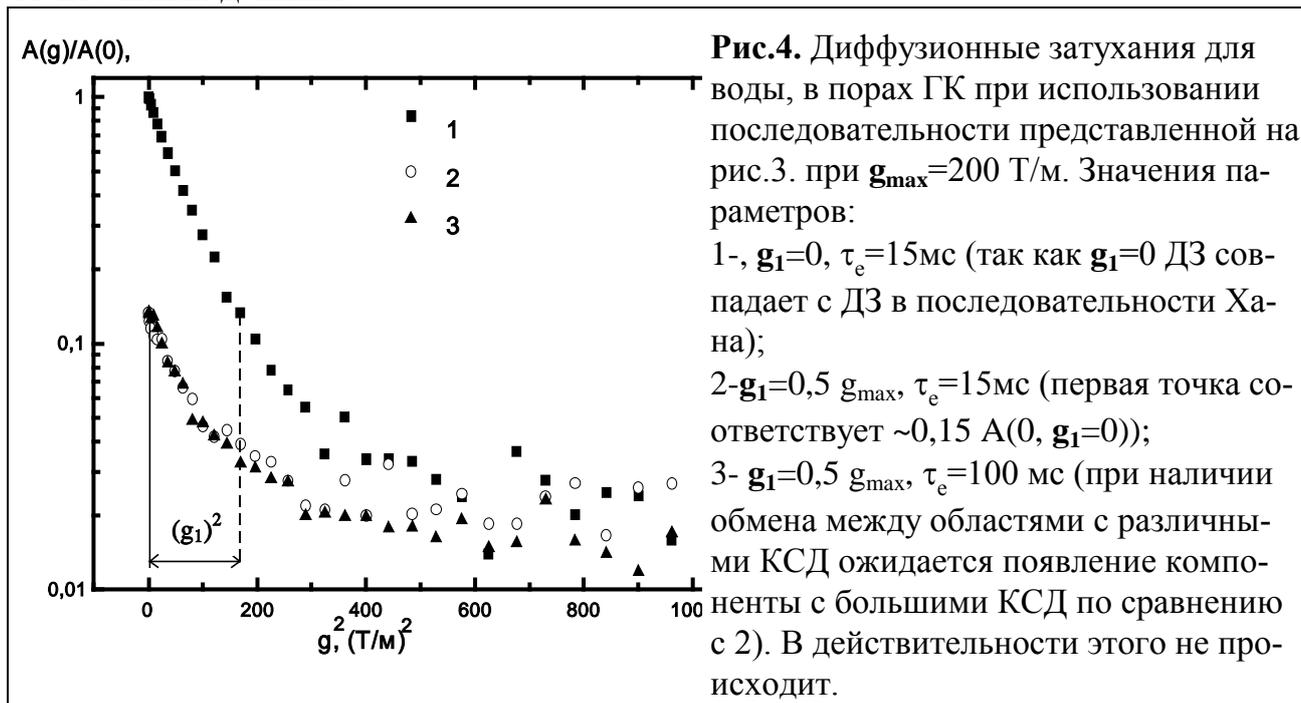
$$A(g) / A(0) = \exp(-(q^2 + q_1^2)D_0) \int_0^1 \exp((q + q_1)D_0 x^2) dx, \quad (15)$$

где  $q_1 = \gamma \delta g_1$ . Заметим, что выражение (15) описывает также участок кр.1 при  $g > g_1$ .

Если поры сообщающиеся, то увеличение  $\tau_e$  должно приводить к обмену молекул между порами и изменению формы ДЗ. В действительности при увеличении  $\tau_e$  от 15 до 100 мс тенденции к восстановлению исходного ДЗ не наблюдается (сравни кр.2 - 3), что указывает на отсутствие эффектов молекулярного обмена между областями порового пространства, характеризующимися различными КСД, по крайней мере, в течение 100 мс. Если представить структуру исследуемого образца слоистой, то согласно соотношению (12) форма ДЗ должна быть неэкспоненциальной, однако молекулярный обмен между слоями с различной ориентацией может быть не наблюдаем при условии достаточно

больших размеров слоев. С таким предположением данные, представленные на рис.4, согласуются.

Следует заметить, что необходимость использования последовательностей, позволяющих избирательно исследовать сигнал от выбранных, согласно определенным характеристикам самодиффузии, областей порового пространства для исследования структуры пористых сред была осознана к 1995 году Митрой [16], однако он, в отличие от нас, только описал возможные принципы работы такого типа последовательностей, не представив каких-либо экспериментальных данных.



Исключение сигнала от жидкости в заданном интервале размеров пор.

Ранее для наблюдения сигнала ЯМР от области порового пространства, характеризующейся определенным интервалом размеров пор, Стрейли [17] использовал частичное заполнение образца смачивающей жидкостью. В работах Стрэнжа [18] было показано, что при таком насыщении жидкость заполняет преимущественно поры меньшего размера. Тем самым поры большего размера исключены из исследования, процесс обмена с ними отсутствует. Этот эффект может быть использован для исследования динамики молекул жидкости в выделенных областях порового пространства. Недостатками использования такого подхода являются необходимость априорной информации о распределении размеров пор, отсутствие контроля за расположением жидкости в порах в ходе измерений и возможность искажения КСД при обмене жидкости с паровой фазой.

Другой подход, предложенной Стренжем [18] заключается в регистрации сигнала от жидкости в порах заданного размера с использованием эффекта Гиббса – Томсона, согласно которому зависимость между размером пор  $d_{кр}$ , где происходит плавление вещества, и температурой плавления  $T_m(d_{кр})$  имеет вид:

$$\Delta T_m = T_m - T_m(d_{кр}) = 6 \cdot \sigma_{sl} \cdot T_m / (d_{кр} \cdot \Delta H_f \cdot \rho_s), \quad (16)$$

где  $T_m$  - температура плавления в объемной фазе,  $\sigma_{sl}$  - свободная поверхностная энергия границы раздела кристалл - жидкость,  $\Delta H_f$  - энтальпия плавления,  $\rho_s$  - плотность кристаллической фазы.

Если все поры заполнены жидкостью и эта жидкость заморожена, то дальнейшее нагревание до температуры  $T_m(d_{кр}) < T_m$  приводит к плавлению в порах с размерами  $d \leq d_{кр}$ . Этот эффект изучен методами ЯМР релаксации [19], и на образцах с известным размером пор показано, что соотношение (16) выполняется с высокой точностью, что позволяет использовать его для оценки распределения размеров пор («криопорометрия»).

Мы предложили развитие этого подхода, основанное на использовании метода ЯМР ИГМП и исследования характеристик самодиффузии молекул в порах, где жидкость не заморожена. В этом случае, за счет сильного уменьшения для  $T_2$  кристаллической фазы в эхо дают вклад исключительно молекулы жидкости. Это позволяет исследовать самодиффузию в жидкой фазе, ограниченной стенками поры и закристаллизованным диффузантом. Для анализа ограниченной самодиффузии могут использоваться обычные методики (например, Митры - Сена и др.). Сканирование по  $T$  и  $t_d$  позволяет определить среднеквадратичные расстояния между препятствиями в областях с диаметрами пор  $d \leq d_{кр}$  и связность части пространства, содержащей эти поры. Достоинство данного метода заключается в возможности определения структурных ( $d_{кр}$ ,  $V_p/S$ ,  $R_{огр}$ ) и динамических ( $D_{эфф}/D_0$ ) характеристик областей порового пространства, различающихся  $d_{кр}$ .

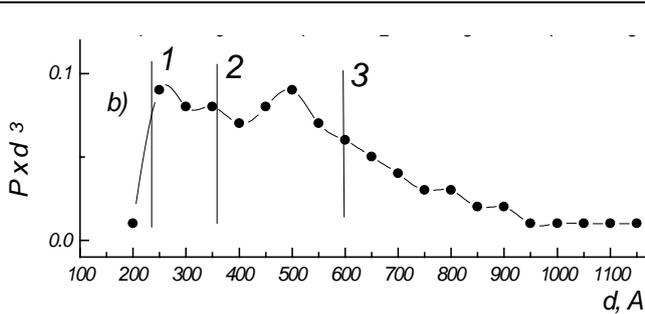
Данная методика была применена для получения информации о внутренней структуре слоев поровой структуры одного из образцов гипсового камня. Для более корректной интерпретации получаемых результатов выражение (16) было обобщено на случаи двумерной (слоевой) геометрии пор, характерной для ГК, и показано, что параметр  $d \equiv d_{кр}$  близок к толщине слоя. Образец был заморожен при  $-15^\circ\text{C}$  и последовательно плавился при температурах от 0 до  $6^\circ\text{C}$ , при этом была получена кривая распределения размеров пор (рис.5а). По мере увеличения температуры получали зависимости  $D(t_d)$  (рис.5б) и рассчитывали среднеквадратичные расстояния между ограничениями ( $R_{огр}$  и  $D_{эфф}/D_0$ ), используя соотношения (9) и (10), а также долю поверхности слоев  $S$ , занимаемую жидкостью в выделенных областях пор. Было найдено, что до достижения  $S \sim 0,4$  проницаемость пор низка и практически не изменяется, в то время как резкое повышение  $D_{эфф}/D_0$  наблюдается только при условии  $S \sim 0,6$ . Такого рода зависимость для двумерной геометрии можно объяснить, тем, что распределение препятствий, образуемых кристаллической фазой, имеет случайный характер. Значение  $S \sim 0,6$ , выше которого происходит резкое повышение проницаемости системы, представляет собой порог перколяции для двумерной решетки  $p_c = 0,59$ , так что при  $S > 0,6$  система является проницаемой.

Путем сопоставления толщины участков слоев  $d_{кр}$ , соответствующих различным  $T$ , и среднеквадратичных расстояний между ограничениями в этих

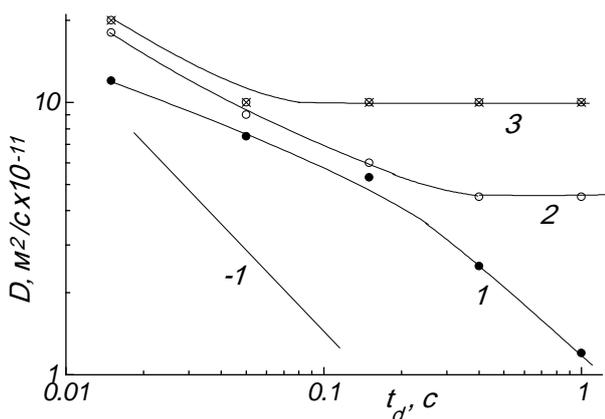
слоях  $d_{ск} \equiv R_{огр}$ , оцененных по данным самодиффузии (10), установлено, что  $R_{огр}$  тем больше, чем меньше  $d_{кр}$ . Это означает, что участки порового пространства, характеризующиеся меньшими  $d_{кр}$ , имеют более анизотропную форму.

Полученная с помощью предложенных методик информация о внутренней структуре слоев, характере распределения толщины слоев, распределении барьеров, представляющих, по-видимому, вторичные кристаллические образования, в зависимости от толщины слоя является новой для поровой структуры гипсового камня.

Таким образом, проведенные исследования показали, что возможности метода ЯМР ИГМП для определения структурных параметров пористой среды могут быть расширены с помощью специальных импульсных последовательностей ЯМР ИГМП. В результате их применения может быть выбрана более достоверная модель геометрии порового пространства, получена информация об ориентации и связности пор. Контролируемое изменение фазового состояния введенного в поры вещества позволяет получить качественно новую, по сравнению со стандартными вариантами метода ЯМР ИГМП и методом криопорометрии, информацию о внутренней структуре и связности отдельных участков пор, различающихся размерами.



**Рис.5а.** Дифференциальная кривая распределения размеров пор гипсового камня, полученная из данных по плавлению ЦГ. Р - доля пор с диаметром d. Цифрами 1, 2 и 3 показаны  $d_{кр}$  соответствующие температурам 0°C (1); 2°C (2); 4°C (3) при которых исследовалась самодиффузия.



**Рис.5б.** Зависимость КСД от времени диффузии для ЦГ в порах ГК7 при температурах плавления 0°C (1); 2°C (2); 4°C (3). Прямая линия показывает наклон -1, соответствующий полностью ограниченной самодиффузии.

#### Четвертая глава. «Самодиффузия в кристаллизующихся полимерах».

Частично-кристаллический полимер - это двухфазная гетерогенная система, содержащая кристаллическую и жидкую фазы, которая в определенном отношении подобна насыщенным жидкостью пористым веществам. Известно, что морфология кристаллической фазы, полученной при кристаллизации из концентрированных систем (расплавов, смесей, концентрированных раство-

ров), является многоуровневой, зависит от природы компонентов системы, их совместимости и соотношения, а также условий кристаллизации. Некристаллические области расположены между кристаллическими структурами на ламеллярном и фибриллярном уровнях. Кристаллизация в полимерных системах и установление равновесия в жидкой фазе происходят достаточно медленно, что обеспечивает возможность получения информации о самодиффузии методом ЯМР ИГМП в квазиравновесных условиях. Известно, что молекулярная подвижность может оказывать влияние на ход кристаллизации и кристаллическую структуру [20, 21]. С другой стороны, образующиеся межфазовые границы и изменения в жидкой фазе в ходе кристаллизации могут влиять на самодиффузию в аморфных областях.

До сих пор изучалась самодиффузия полимера при кристаллизации, но, как правило, из раствора [22]. Некоторые результаты исследования самодиффузии при кристаллизации из расплава [22, 23] носили неоднозначный характер, а самодиффузия в предельно закристаллизованных образцах и при кристаллизации смеси кристаллизующегося и некристаллизующегося полимеров не исследовалась вообще.

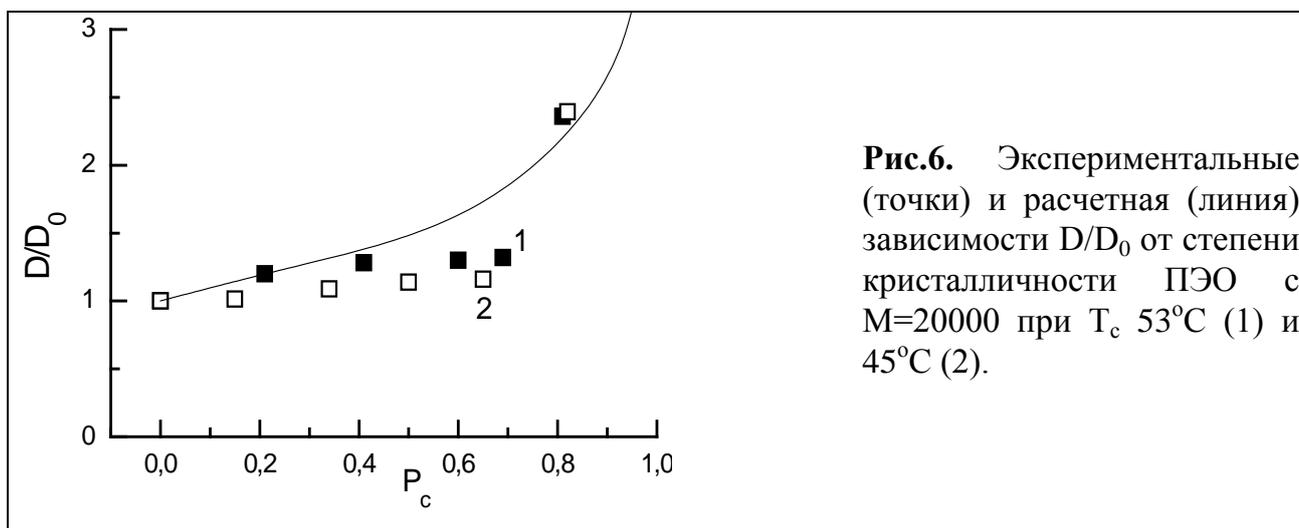
#### Самодиффузия в ходе кристаллизации.

В работе исследовались два типа кристаллизующихся полимерных систем - фракции кристаллизующегося ПЭО и смеси фракций ПЭО с некристаллизующимся ППО. Для исключения температурных градиентов, которые могут привести к термодиффузии или зависимости КСД от пространственного положения молекулы, измерения проводились в квазиизотермических условиях, которые удавалось поддерживать при переохлаждениях  $\Delta T$  относительно температуры плавления в диапазоне  $8^\circ\text{C} < \Delta T < 18^\circ\text{C}$ . Для количественного анализа данных ЯМР ИГМП изучались также кинетика степени кристалличности и самодиффузия компонентов систем в расплаве вблизи температур кристаллизации  $T_c$ . При этом анализ температурной зависимости скорости роста кристалличности  $R_c$  с помощью теории Хоффмана [24] показал, что скорость кристаллизации контролируется процессами вторичного или молекулярного зародышеобразования, а самодиффузия в аморфной фазе не является определяющим фактором. Зависимости  $R_c$  от времени для большинства образцов имели вид, который описывался на начальных стадиях с помощью феноменологической модели Аврами. При кристаллизации смеси, содержащей ПЭО с критической для складывания цепей  $M$  (4000) была обнаружена двухстадийность скорости роста  $R_c$ . причиной которой могло быть изменение, как термодинамических параметров, так и самодиффузии в ходе кристаллизации. Проведенный анализ с учетом указанных факторов показал, что причиной двухстадийности является изменение термодинамических параметров вследствие изменения характера складывания полимерной цепи в ламеллярных кристаллитах.

В ходе кристаллизации было обнаружено изменение формы ДЗ при всех  $M$  и составах образцов. При этом с ростом степени кристалличности наблюдался рост  $\langle D \rangle$  (рис.6). Проведенные в последние годы исследования самодиффу-

зии полимеров в пористых средах [25] показывают, что введение полимера в поры изменяет вид молекулярно-массовой зависимости КСД макромолекул, однако КСД никогда не превышает  $D_0$ . В связи с этим были рассмотрены две причины, которые потенциально могут привести к росту КСД в расплаве: а) ускоренная диффузия компонентов в граничной области между кристаллической фазой и расплавом и б) фракционирование полимера в ходе кристаллизации. Исследование самодиффузии на разных стадиях кристаллизации при варьировании температуры таким образом, что происходили: а) кристаллизация, б) плавление, или в) степень кристалличности не изменялась в течение длительного времени, показали, что форма ДЗ во всех случаях оставалась неизменной. Этим было показано, что неравновесность процесса не может быть причиной обнаруженного изменения КСД при кристаллизации.

Эффект фракционирования полимера при кристаллизации связан с тем, что переход из расплава в кристалл по механизму молекулярного зародышеобразования [21] осуществляется в первую очередь для макромолекул более высокой  $M$ .



Нами была предпринята попытка описать эту зависимость КСД от степени кристалличности  $p_c$ , задавая для ПЭО логарифмически нормальный закон ММР, типичный для полимеров, полученных в результате реакции поликонденсации:

$$P(M) = M \cdot (\pi)^{-0,5} \cdot \sigma^{-1} \cdot \exp[-(\ln M - \ln(M_0))^2 / 2\sigma^2]. \quad (17)$$

Для связи спектра КСД с ММР полимера мы использовали наиболее известные соотношения для  $D(M)$ :

$$\begin{aligned} D_i &= A_1 \cdot M_i^{-1} \text{ при } M_i < 2000 \\ D_i &= A_2 \cdot M_i^{-2} \text{ при } M_i > 2000 \end{aligned} \quad (18)$$

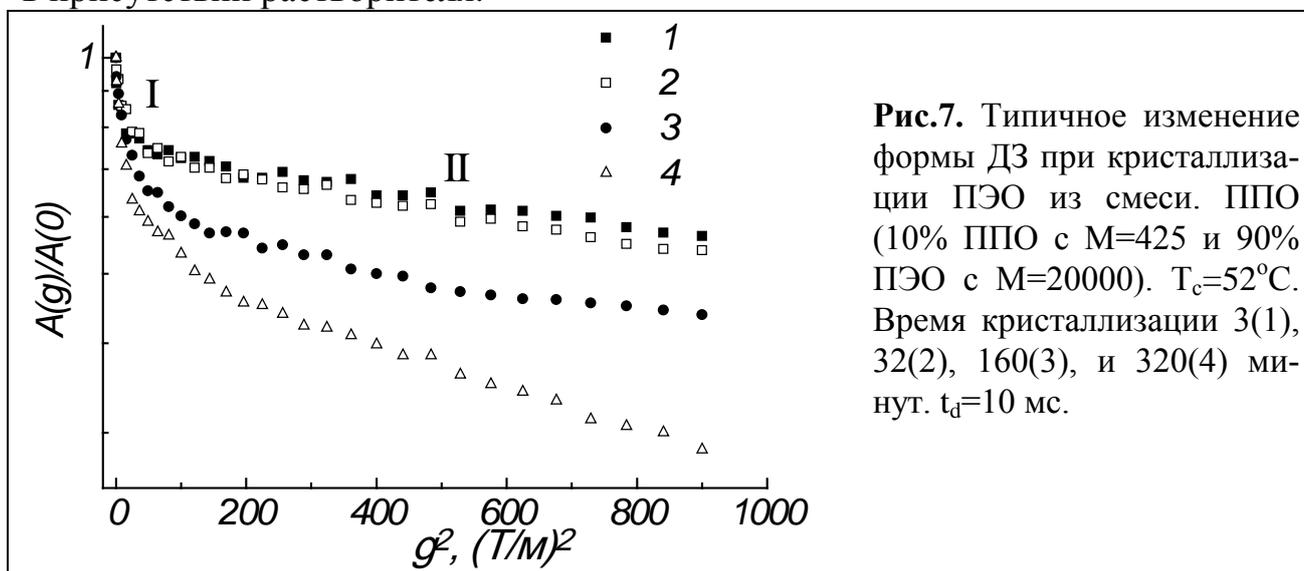
где  $A_1$  и  $A_2$  нормировочные множители,  $M=2000$  - близка к критической  $M$  ПЭО для самодиффузии. Расчетные  $\langle D \rangle$  и  $P_c$ , соответствующие переходу доли  $P_i$  макромолекул в кристаллическую фазу определяли из соотношений:

$$\langle D \rangle = \sum_i P_i \cdot D_i$$

$$P_c = \sum_{i=k}^{i_{max}} P_i \quad (19)$$

Расчеты позволили качественно описать наблюдаемые зависимости (рис.6), в частности более слабый рост  $\langle D \rangle$  при  $P_c < 0,7$  и более сильный при больших  $P_c$ . Это можно рассматривать как аргумент в пользу обусловленности роста  $\langle D \rangle$  в ходе кристаллизации молекулярно-массовым фракционированием расплава. В пользу этого свидетельствует также результат анализа кинетики кристаллизации: на основе анализа температурной зависимости скорости роста  $G_i(T_c)$  с использованием теории кристаллизации Хоффмана [15] было найдено, что свободная энергия образования вторичного зародыша  $\Delta F^{**}$  близка к значению, предсказываемому для молекулярного зародышеобразования [21], сопровождающегося фракционированием полимера.

В кристаллизующейся смеси полимеров, уже на начальных стадиях кристаллизации наблюдается зависимость ДЗ от  $t_d$ , характерная для ограниченной самодиффузии; она усиливается для более высоких концентраций ПЭО и более низких  $T_c$ . Частично избежать эффекта ограничений удастся только для  $T_c$  близких к  $T_m$ , но и в этом случае удалось провести анализ самодиффузии при кристаллизации только качественно. Известно [22], что изменение скорости кристаллизации из раствора, по сравнению с чистой кристаллизующейся фракцией, обусловлено изменением энергии активации самодиффузии полимера  $E_D$  в присутствии растворителя.



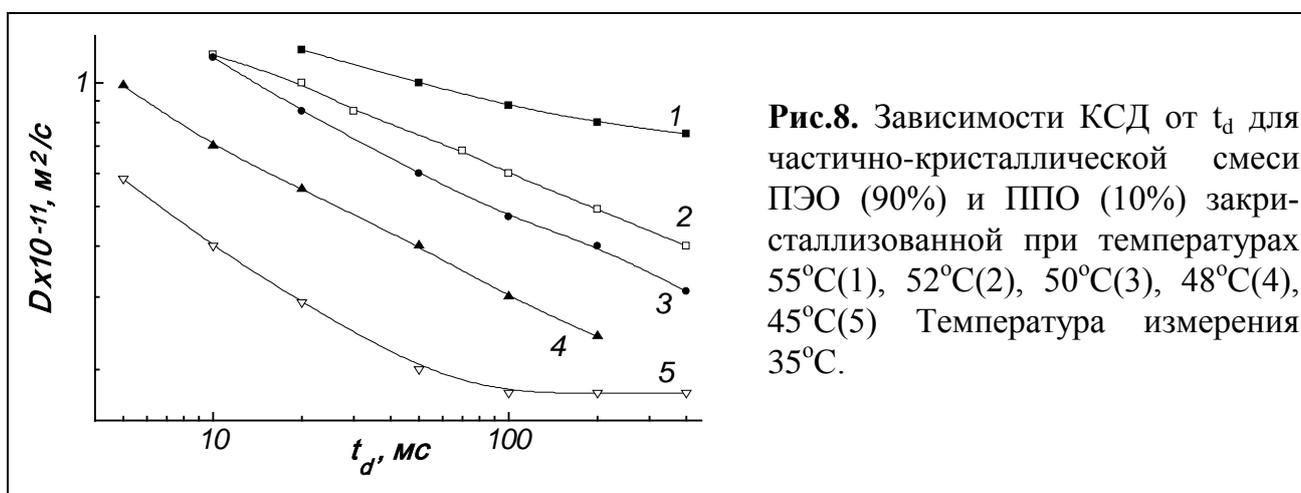
**Рис.7.** Типичное изменение формы ДЗ при кристаллизации ПЭО из смеси. ППО (10% ППО с  $M=425$  и 90% ПЭО с  $M=20000$ ).  $T_c=52^\circ\text{C}$ . Время кристаллизации 3(1), 32(2), 160(3), и 320(4) минут.  $t_d=10$  мс.

В исследуемых нами смесях, присутствие ППО не оказывало влияния на  $E_D$ , а изменение скорости кристаллизации определялось только изменением температуры плавления. Было установлено, что в расплаве смеси полимеров ДЗ имеет двухкомпонентный вид (рис.7) с компонентами, соответствующими ПЭО и ППО. В ходе кристаллизации происходит увеличение доли сигнала от ППО в жидкой фазе. При этом средний КСД, соответствующий ПЭО, возрастает, а ширины спектра КСД для ПЭО увеличивается. Рост КСД ПЭО при кристаллизации в этом случае удастся объяснить как изменением  $\phi_2$ , так и молеку-

лярным фракционированием в аморфной фазе. Следовательно, молекулярно-массовое фракционирование имеет место и при кристаллизации смесей полимеров. Присутствие эффектов ограничений показывает, что при кристаллизации области аморфной фазы оказываются заключенными между кристаллитами.

#### Ограниченная самодиффузия в частично кристаллическом полимере.

При предельно высоких ( $p_c \approx 0,8$ ) степенях кристалличности фракций ПЭО сигнал стимулированного эхо от аморфной фазы получить не удастся вследствие сильного уменьшения для нее значений  $T_2$  ( $\leq 1$  мс). Однако в смесях ПЭО с ППО наблюдается сигнал эхо от аморфной фазы. Сравнение амплитуды сигнала со спиновыми населенностями компонент смеси показывает, что в состав аморфной фазы входят молекулы обоих компонент. При этом ДЗ имеет неэкспоненциальный вид, а увеличение  $t_d$  приводит к уменьшению КСД, что указывает на эффект ограниченной самодиффузии также, как в рассмотренных в главе III неорганических пористых веществах с сообщающимися порами. Наличие двух молекулярных компонент с различными  $D_0$  в аморфной фазе усложняет анализ зависимости ДЗ от  $t_d$ . Тем не менее, полученные зависимости КСД от  $t_d$  (рис.8) при различных условиях кристаллизации и составах можно, по аналогии с пористыми средами, отнести к коротковременному, промежуточному и длинновременному режимам самодиффузии.



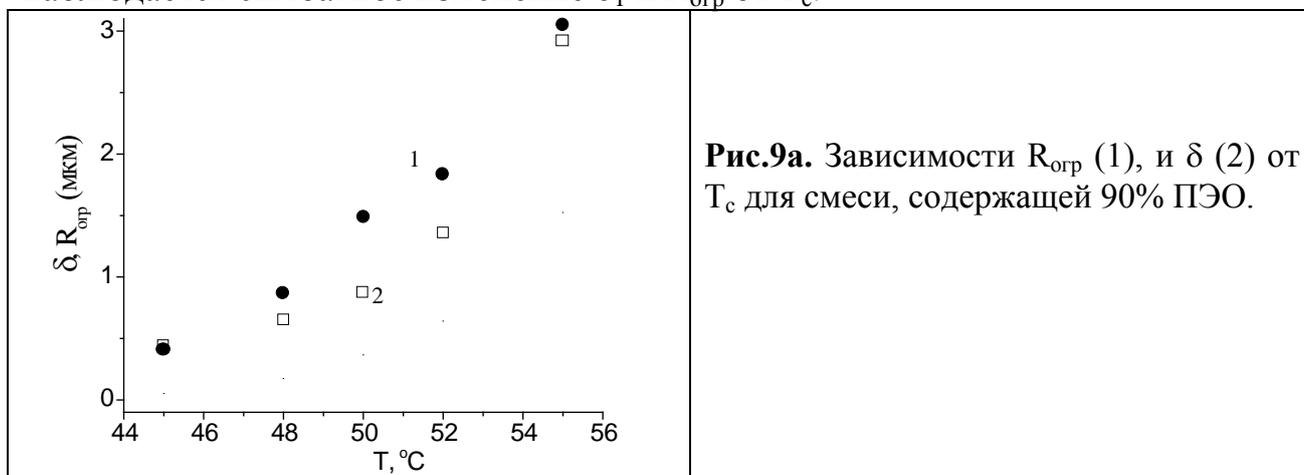
Полученные из анализа ограниченной самодиффузии данные о размерах и сообщаемости аморфных областей частично кристаллического полимера были использованы для расширения существующих представлений об особенностях кристаллизации полимеров и структуре межкристаллитных областей. Дополнительные исследования методами малоугловой рентгеновской дифракции и оптической микроскопии, а также литературные данные свидетельствуют, что кристаллическая фаза исследуемых систем образована тремя видами структур. Первичными являются ламели из сложенных или выпрямленных цепей (в зависимости от  $M$  и  $T_c$ ). Ламели образуют фибриллы. Множество вырастающих из одного центра фибрилл образуют сферолиты. Каждый из этих видов структур характеризуется определенным интервалом размеров, зависящим от состава

ва и  $T_c$ . По данным малоуглового рентгена толщина ламелей  $\sim 100-150\text{\AA}$ . Размеры сферолитов по данным микроскопии - от 0,1 мм до  $\sim 0,5$  см. Диаметр фибрилл точно измерить не удастся, однако по литературным данным [21] он составляет от  $<1$  до нескольких мкм. Аморфные области расположены между ламелями и между фибриллами. Толщина межламеллярной прослойки  $\sim 10-40\text{\AA}$ . Наши данные свидетельствуют, что все области аморфной фазы сообщающиеся. Размеры «пор» составляют от 0,4 до  $\sim 3$  мкм. Расстояния между ограничениями  $R_{\text{огр}}$  значительно превышают толщину межламеллярной прослойки, поэтому с большим основанием эти «поры» могут быть отнесены к межфибрилярным областям.

Существующие оценки размеров межфибрилярного пространства основываются на феноменологической модели образования фибрилл [26], в которой важное место занимает диффузия компонент расплава. Согласно этой модели перед поверхностью кристалла, продвигающейся в направлении  $x$  с постоянной скоростью  $a$ , образуется зона, обедненная кристаллизующимся полимером, концентрация  $\varphi_2$  в которой зависит от расстояния до кристалла как:

$$\varphi_2(x) = \varphi_{20} \cdot \exp\left(-\frac{\alpha}{D_1}\right) + \varphi_{2\infty}, \quad (20)$$

где  $\varphi_{20}$  - у поверхности кристалла,  $\varphi_{2\infty}$  - в объеме;  $\delta = D_1/a$  - характеристическая длина, соответствующая ширине зоны с пониженным содержанием кристаллизующегося компонента вблизи поверхности кристалла,  $D_1$  - коэффициент диффузии более подвижного компонента. Данная модель была использована нами для оценки параметра  $\delta$ , зависимость которого от температуры и концентрации ППО сравнивалась с расстояниями между ограничениями, полученными из данных ЯМР ИГМП. Поскольку  $D_1$  определяется трансляционной подвижностью молекул, можно представить его в виде  $D_1(T_c, \varphi_2) \approx \beta \cdot D_{\text{ППО}}(T_c, \varphi_2)$ ,  $\beta$  - множитель, имеющий слабую зависимость от  $T_c$  и  $\varphi_2$ . Полученная зависимость  $\delta_1 = \beta \cdot D_{\text{ППО}}(T_c, \varphi_2)/a$  и  $R_{\text{огр}}$  от  $T_c$  представлена на рис.9, из которого видно, что наблюдается симбатное изменение  $\delta_1$  и  $R_{\text{огр}}$  от  $T_c$ .



**Рис.9а.** Зависимости  $R_{\text{огр}}$  (1), и  $\delta$  (2) от  $T_c$  для смеси, содержащей 90% ПЭО.

Это обстоятельство подтверждает наше предположение о соотношении «пор» в частично-кристаллическом полимере с межфибрилярными аморфными обла-

стями. Полученная зависимость  $\delta_1(T_c)$  может быть рассмотрена как доказательство применимости феноменологической модели [26] фибриллярной кристаллизации полимеров.

Дополнительная информация о подвижности в аморфных областях была получена из анализа данных поперечной ЯМР релаксации. Проведенное нами исследование показало, что для образцов, закристаллизованных при высоких скоростях кристаллизации ( $\Delta T > 15^\circ\text{C}$ ), спад поперечной намагниченности в аморфных областях, полученный при использовании последовательностей Ха-на или КПИФ, а также КПМГ, может быть записан в виде суммы двух компонент:

$$A(t)/A(0) = A_1(T_c) \cdot f_1(t, T_{2a}) + A_2(T_c) \cdot f_2(t, T_{2b}), \quad (21)$$

где  $A_1 + A_2 = 1$ , функции  $f_1$  и  $f_2$  различаются временами релаксации. Понижение  $T_c$  приводит к уменьшению значений  $A_1$  и  $T_{2a}$ .

На температурной зависимости  $T_{2b}$  наблюдается плато, кроме этого оказалось, что форма спада намагниченности в последовательности КПМГ зависит от интервала между импульсами. Наблюдаемые эффекты могут быть обусловлены как молекулярным обменом между ЯМР «фазами» с различающимися  $T_2$ , так и изменением механизма локальной подвижности макромолекул, по сравнению с объемным расплавом. Для решения указанной проблемы было рассмотрено поведение спинового Гамильтониана при использовании импульсных последовательностей КПМГ и КПИФ, которое одинаково для случая молекулярного «обмена», но различается для систем с неусредненным диполь - дипольным взаимодействием. Такой анализ позволил идентифицировать причину наблюдаемых зависимостей как неусредненное молекулярным движением диполь - дипольное взаимодействие и связать обнаруженные эффекты с анизотропией вращения участков молекул с временами корреляции  $\tau > 10$  мс.

#### Кристаллизация и молекулярная подвижность полимера в пористой среде.

В качестве модельных образцов для изучения влияния ограниченного объема на фазовые переходы и молекулярное движение полимера был выбран ПЭО, введенный в пористые стекла и углеродные адсорбенты с узким распределением размеров пор. Информация о механизме кристаллизации и кристаллической структуре полимера в порах была получена как из анализа кинетики кристаллизации, так и из анализа понижения температуры следующего за кристаллизацией плавления. Мы наблюдали монотонное понижение  $T_m$  при уменьшении диаметра поры  $d$ , при этом форма кривой плавления отличалась от типичной для объемного полимера. Было установлено существование критического размера  $d^*$ , близкого к минимальной толщине кристаллической ламели (около  $100\text{\AA}$ ), выше и ниже которого механизм кристаллизации и кристаллическая структура полимера в порах была различна.

Анализ зависимости скорости роста кристалличности с использованием теории Хоффмана [15] показал, что в порах больше  $d^*$  происходит ламеллярная кристаллизация при тех же значениях термодинамических параметров образующейся кристаллической фазы, что и в свободном объеме. При этом анализ

формы изотерм кристаллизации ПЭО с использованием теории Колмогорова - Аврами показал, что присутствие пространственных ограничений может изменить геометрию роста кристалличности при малых переохлаждениях  $\Delta T_c$ . Для двумерной геометрии пор при тех же условиях значение параметра Аврами  $n$  и, следовательно, геометрия роста кристалличности ПЭО остается такой же, как в объеме ( $2 \pm 0,1$ ), а для одномерного роста  $n$  изменяется и составляет 1. Наблюдаемая зависимость геометрии роста от геометрии среды была воспроизведена с помощью компьютера методом клеточного автомата. Анализ термодинамики процесса показал, что понижение  $T_m$  в присутствии ограничений связано с уменьшением протяженности ламеллярных кристаллических областей в порах с  $d > d^*$ . При этом, в порах с размером меньше  $d^*$  процесс кристаллизации происходит без индукционного периода и образования ламеллярных кристаллитов. Согласно данным ЯМР релаксации вращательная молекулярная подвижность молекул полимера изменяется при переходе от пор с размерами больше  $d^*$  к порам меньшего размера, как для кристаллической так и для аморфной фаз. Данные рентгеновской дифракции на больших углах показывают, что при  $d < d^*$  уменьшаются размеры областей кристаллической фазы и ее структура. Описанные особенности кристаллизации, низкая степень кристалличности, малые размеры и более развитая молекулярная подвижность в кристаллических областях позволяют отнести кристаллическую фазу в порах меньше  $d^*$  к мицеллярному типу.

Во всех случаях наблюдаемые эффекты кристаллизации полимера в объеме и порах были объяснены изменением термодинамических и структурных характеристик кристаллической фазы. Таким образом, показано, что трансляционная молекулярная подвижность не является определяющей стадией этого процесса.

### **Пятая глава. Самодиффузия в бислойных липидных системах.**

Сложность изучения методом ЯМР биологических систем обуславливается присутствием в них множества видов молекул (вода, липиды, протеины) в нескольких фазовых состояниях (жидком, жидкокристаллическом, твердом), различных структурах и наличии фазовых границ (в том числе биомембран - оболочек клеток и внутриклеточных органелл). Это делает биосистемы значительно более сложными для изучения самодиффузии по сравнению с системами жидкость - пористая среда или двухфазными аморфно - кристаллическими полимерами. Точно описать форму ДЗ и зависимость ее от  $t_d$  в таких системах, как правило, не удается.

Более простыми для изучения являются отдельные компоненты биосистем, в частности биомембраны, которые играют особую роль в процессах молекулярного транспорта, обеспечивая перемещение молекул липидов и протеинов по своей поверхности и избирательный перенос воды и ионов через нее. Модельными объектами для исследования особенностей транспорта в мембранах являются бислои, которые самопроизвольно образуются при гидратации липидов [10]. Причем, для исследования самодиффузии в поверхности бислоя

наиболее подходят образцы, ориентированные на какой-либо плоской подложке. В тоже время клеточные компартменты лучше моделируются везикулами, образующимися в отсутствие подложки при большом количестве воды. В каждом из этих случаев число молекулярных компонент и видов образуемых структур достаточно невелико, что позволяет применять подходы, развитые для более простых систем.

### Самодиффузия липидов в ориентированных бислоях.

Самодиффузия молекул липидов в бислое происходит вдоль двумерной поверхности (латеральная диффузия). Молекулы липидов ориентированы перпендикулярно поверхности в каждой ее точке и вращаются вокруг нормали к ней, образуя, таким образом, жидкокристаллическую фазу. В искривленной поверхности бислоя, которая характерна для везикул, клеток и субклеточных структурах, анализ латеральной диффузии сложен из-за изменения ориентации молекул относительно градиента поля. Это затруднение удается преодолеть в макроскопически ориентированных бислоях на плоской подложке (стекло или слюда) помещая образец в постоянное поле магнита, так чтобы нормаль к бислою и направление поля составляли магический угол ( $\sim 54.7^\circ$ ). При этом решаются две задачи: частичное усреднение диполь - дипольных взаимодействий (вследствие вращения молекулы под магическим углом) и наблюдение диффузии в плоскости.

Измерения на однокомпонентных бислоях для фосфолипидов с различной структурой молекул и при различных содержаниях воды при температурах выше температуры фазового перехода ( $T_m$ ) жидкий кристалл – твердая фаза (гель) показали, что ДЗ описывается единственным КСД, а температурная зависимость КСД близка к Аррениусовому типу. Коэффициент латеральной диффузии зависит от молекулярной структуры и уменьшается при понижении концентрации воды относительно равновесного набухания бислоя. Это было объяснено уменьшением площади полярных голов при уменьшении их гидратации и последующим упорядочиванием углеводородных цепей липидов. При температурах вблизи  $T_m$  присутствие геля - фазы обнаруживается по калориметрическим данным и приводит для молекул липида в ЖК фазе к появлению эффектов, типичных для ограниченной диффузии молекул низкомолекулярной жидкости в пористой среде (Глава I): неэкспоненциальной форме ДЗ и зависимости КСД от времени диффузии. При этом температурная зависимость КСД отклоняется от Аррениусовой.

При различных значениях равновесного набухания бислоя для молекул ряда фосфолипидов (диолеоилфосфатидилхолин (DOPC), пальмитоилолеоилфосфатидилхолин (POPC), дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC)) с одинаковыми по структуре полярными головами (холиновая группа) и близкими значениями длины углеводородной цепи, но различающихся долей насыщенных цепей была обнаружено, что с увеличением доли насыщенных цепей коэффициент латеральной диффузии уменьшается, а энергия активации процесса само-

диффузии увеличивается. Причем, эта зависимость имеет неаддитивный характер. Для данного ряда систем температурные зависимости КСД описывались при использовании теории свободного объема. Факт зависимости КСД и энергии активации  $E_a$  от доли насыщенных цепей удовлетворительно объясняется предположением об уменьшении свободного объема, необходимого для самодиффузии молекулы, при переходе от ненасыщенной цепи к насыщенной.

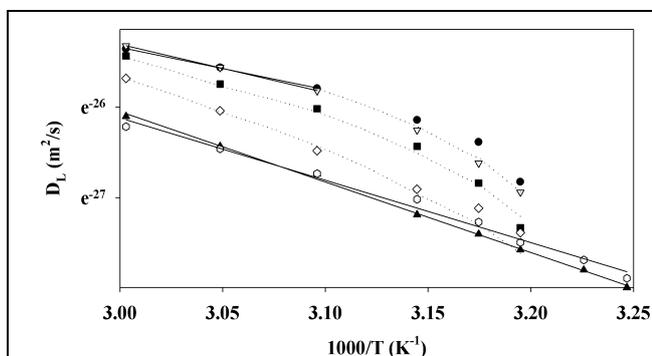
Известно, что в однокомпонентном липидном бислое в отсутствие холестерина (СНОЛ) ЖК фаза однородна, а углеводородные цепи липидов в этой фазе характеризуются меньшей степенью упорядоченности и более интенсивной вращательной подвижностью по сравнению с гелевой фазой ( $s_o$ ). В последнее время в литературе эта фаза называется разупорядоченной ЖК фазой ( $l_d$ ). В присутствии СНОЛ бислоем, содержащим фосфолипид с насыщенными цепями или смесь двух и более липидов один из которых насыщенный, образует фазу, которая является промежуточной по степени упорядоченности и интенсивности вращательной подвижности углеводородных цепей  $l_d$  и  $s_o$  и называется упорядоченной ЖК фазой ( $l_o$ ). Фаза  $l_o$  содержит повышенную концентрацию холестерина, а в случае смеси двух фосфолипидов, насыщенный фосфолипид также преимущественно переходит в  $l_o$  фазу. В двухфазной  $l_d - l_o$  мембране возможно образование доменов одной из фаз (меньшей по объему). Для фосфолипидов, содержащих насыщенные цепи,  $l_o$  фаза экспериментально обнаруживалась методами ЭПР, флуоресцентной и атомной силовой микроскопии, в то время как в присутствии ненасыщенных цепей  $l_o$  фаза экспериментально не обнаруживалась, хотя ее существование предсказывалось теоретически и в компьютерном моделировании.

Исследования, проведенные нами для бислоев ряда насыщенных фосфолипидов (димиристоилфосфатидилхолин (DMPC), DPPC, сфингомиелин (SM)) в смеси с СНОЛ при концентрациях СНОЛ от 0 до ~50 мольных % в интервале температур от  $T_m$  до 60°C, обнаружили немонотонность зависимости КСД фосфолипида от концентрации СНОЛ и температуры. Было установлено, что при концентрациях и температурах, соответствующих  $l_d$  фазе (согласно микроскопическим, ЭПР и данным ионной проницаемости), зависимость КСД фосфолипида от концентрации СНОЛ слабая, также как в области  $l_o$  фазы. При этом КСД в  $l_d$  фазе в 2-3 раза больше, чем в  $l_o$  фазе. Температурные зависимости КСД близки к Аррениусовым, за исключением температур близких к  $T_m$  для  $l_d$  фазы (вследствие образования доменов  $s_o$  фазы), а энергия активации самодиффузии в ~ 2 раза больше для  $l_o$  фазы. Однако в двухфазной  $l_d - l_o$  области происходит отклонение КСД от Аррениусовой температурной зависимости. КСД сильно зависит от концентрации СНОЛ и описывается правилом рычага с учетом значений КСД в  $l_d$  и  $l_o$  фазах на границах области двухфазности. Экспериментально фиксируемая экспоненциальность формы ДЗ свидетельствует о быстром молекулярном обмене между фазами. Оценки сделанные исходя из соотношения времени диффузии эксперимента и условия быстрого обмена показывают, что размеры доменов не превосходят 1 мкм. Таким образом, было показано, что ЯМР ИГМП позволяет обнаружить двухфазную область ЖК фа-

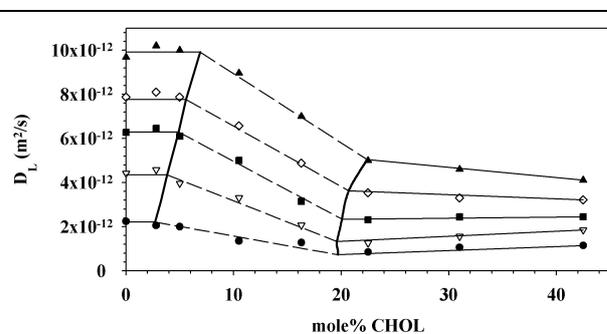
зы по резкому изменению КСД и измерить КСД в упорядоченной и неупорядоченной фазах.

В бислоях фосфолипида с двумя ненасыщенными цепями (DOPC) повышение концентрации CHOL также приводит к понижению КСД, однако монотонному, так что температурная зависимость при всех концентрациях CHOL имеет Аррениусов вид. Такое понижение КСД фосфолипида согласуется с существующими представлениями о замедлении подвижности молекул в ЖК фазе в присутствии холестерина (вследствие взаимодействия ОН группы CHOL с полярной головой фосфолипида) при невозможности образования в этой системе упорядоченной ЖК фазы.

Для липида с одной насыщенной и одной ненасыщенной цепью (POPC) зависимости КСД фосфолипида от концентрации CHOL были линейными вплоть до температур на  $\sim 20^\circ\text{C}$  больше  $T_m$  ( $-2.4^\circ\text{C}$ ), а температурные зависимости КСД имели Аррениусов вид. Однако для интервала  $0 - 20^\circ\text{C}$  наблюдались эффекты типичные для бислоев с фазовым разделением в ЖК фазе, а именно, изломы на концентрационной зависимости КСД и отклонения в температурных зависимостях от Аррениусова вида. Причем эти эффекты наблюдались в интервалах температур и концентраций, ранее предсказанных теоретически для двухфазной  $I_d - I_o$  области системы POPC/CHOL. Таким образом, впервые экспериментально была обнаружена ЖК упорядоченная фаза в бислоях фосфолипида с насыщенной и ненасыщенной цепью и впервые экспериментально получена фазовая диаграмма для такого типа систем.



**Рис.10а.** Температурные зависимости КСД SM в ориентированных бислоях SM/CHOL при содержании воды 35 % и концентрации CHOL %: 0 (●), 5 (▽), 10.5 (□), 16.3 (◇), 31 (Δ) и 42.5 (○).



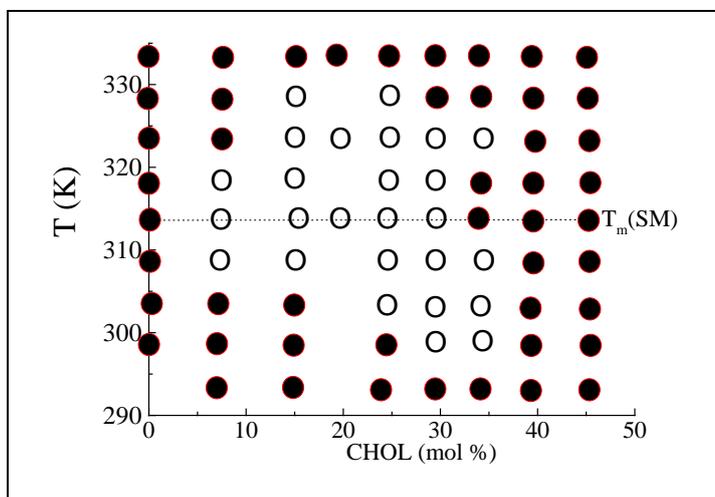
**Рис.10б.** Зависимость КСД SM в ориентированных бислоях SM/CHOL при содержании воды 35 % температурах 313 (○), 318 (▽), 323 (□), 328 (◇), 333 К (Δ).

Особое значение для биологии мембран и биомедицины имеют исследования структуры и функционирования доменов ("rafts") упорядоченной ЖК фазы, так как известно, что "rafts" играют роль в активизации мембранных белков. Домены "rafts" образуются в определенной области температур и концентраций в бислоях содержащих SM, CHOL и фосфолипид с полностью или частично ненасыщенными цепями. Одна из проблем заключается в обнаружении "rafts", так как их образование, в отличие от упорядоченной фазы в системах фосфолипид/CHOL, не сопровождается существенным тепловым эффектом и

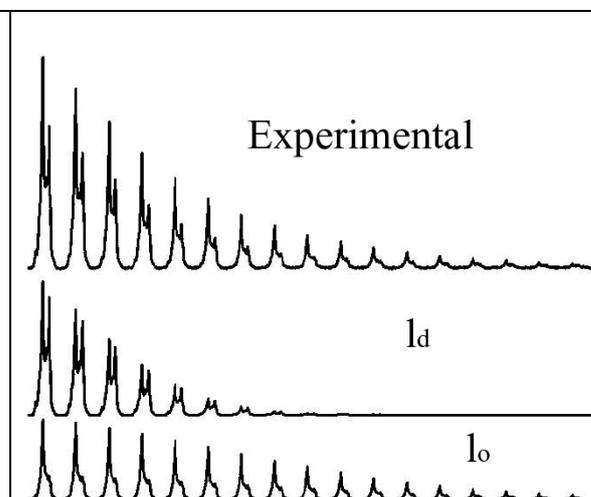
значительным увеличением толщины бислоя. Вторая проблема заключается в определении подвижности молекул в доменах и вне их.

Проведенное нами исследование на бислоях DOPC/SM/CHOL («канонической» системе для наблюдения "rafts"), при концентрациях CHOL от 0 до 45 мольных % и температурах от 293 до 333 К, показало, что существует определенная температурно-концентрационная область (рис.11а), в которой наблюдаются признаки, характерные для двухфазной диффузии: двухкомпонентность ДЗ и зависимости формы спектра  $^1\text{H}$  молекул липидов от величины приложенного импульсного градиента. Эта область двухфазности совпадает с областью наблюдения доменов в везикулах с тем же составом методами флуоресцентной и атомной силовой микроскопии. ЖК фаза в области однофазной самодиффузии при концентрациях CHOL до 15% (неупорядоченная ЖК фаза) характеризуется более интенсивной поступательной молекулярной подвижностью (КСД до  $\sim 3$  раз больше, а энергия активации до  $\sim 2$  раз меньше), чем область однофазной самодиффузии при концентрациях CHOL более 30% (упорядоченная ЖК фаза).

Для разделения сигналов от фаз в температурно-концентрационной области, в которой наблюдается двухкомпонентная самодиффузия, была использована методика компьютерного анализа набора спектров полученных при различных значениях величины градиента поля (Component REsolved spectroscopy [27]). Эта программа основана на двухуровневом подборе параметров для лучшего описания диффузионного затухания амплитуды каждой точки спектра.



**Рис.11а.** Диаграмма, характеризующая самодиффузию в системе DOPC/SM/CHOL (1/1/X) при варьировании температуры и концентрации CHOL. В областях однофазной (•) самодиффузии система описывается единственным КСД, в то время как в областях двухфазной (o) самодиффузии ДЗ представляет собой сумму двух компонент.



**Рис.11б.** ДЗ и формы спектра при последовательном увеличении ИГМП в исходном эксперименте и для  $I_o$  и  $I_d$  фаз, полученные с помощью CORE.

Применение методики CORE позволило определить коэффициенты самодиффузии и количественно оценить состав  $I_d$  и  $I_o$  фаз для области их сосуществования. Большой КСД характеризует фазу с более развитой вращательной по-

движностью углеводородных цепей –  $l_d$ , а меньший – фазу с заторможенной вращательной подвижностью цепей –  $l_o$ . Двухкомпонентность ДЗ и отсутствие зависимости формы ДЗ от времени диффузии свидетельствуют об отсутствии молекулярного обмена между фазами за время около 200 мс. Это означает, что размеры доменов значительно больше молекулярных смещений ( $\sim 1$  мкм), измеряемых в эксперименте, а определенные КСД представляют тем самым истинные значения КСД фосфолипидов в фазах.

#### Самодиффузия в мультислойных везикулах.

Лецитин (смесь природных мембранных липидов) при физиологической температуре в зависимости от концентрации  $\varphi_2$  в воде претерпевает фазовое изменение, при этом изменяются размеры и геометрия микрофазовых образований. Проведенные исследования показали, что в этой системе продольная и поперечная ЯМР релаксация неэкспоненциальна, а форма ДЗ неэкспоненциальна и зависит от  $t_d$ .

Изучение изменения формы ДЗ от времени диффузии показало, что весь диапазон концентраций лецитина  $\varphi_2$  в системе лецитин/вода может быть разделен на три участка для которых наблюдается соответствие с областями фазовой диаграммы этой системы: 90%-80% (гидратация полярных групп), 70%-50% (неламеллярные жидкокристаллические фазы) и 40%-10% (ламеллярная жидкокристаллическая фаза, мультислойные везикулы).

В интервале  $\varphi_2$  от 80% до 90% наблюдается бимодальный спектр КСД с максимумами  $D_{\min} \sim 10^{-12}$  и  $D_{\max} \sim 10^{-10}$  м<sup>2</sup>/с, причем при увеличении  $t_d$  населенность компоненты с меньшим КСД уменьшается с постоянной времени  $\sim 400$  мс. Анализ продольной ЯМР релаксации показал, что данное уменьшение обусловлено различием  $T_1$  воды и лецитина. Протоны, характеризующиеся КСД  $\sim 10^{-12}$  и  $\sim 10^{-10}$  м<sup>2</sup>/с, относятся к лецитину и воде в системе.

В ЖК состоянии лецитина ( $\varphi_2$  10%- 70%) зависимость ДЗ от  $t_d$  типична для ограниченной диффузии. Однако вид этой зависимости сложен и требует для его описания использования не менее чем трех «фаз». Для разделения ДЗ на вклады, относящиеся к различным «фазам» был использован совместный анализ зависимости ДЗ от  $t_d$  и времен релаксации, а также введение парамагнитного допинга в водную фазу для удаления сигнала от части молекул воды. Проведенный анализ позволил разложить ДЗ на три компоненты, соответствующие молекулярным группам («фазам»), различающимся по значениям КСД, характеру зависимости формы ДЗ от  $t_d$  и временам продольной релаксации:

$$A(g) = P_1 f_1(T_{11}, T_{21}, D_1(t_d)) + P_2 f_2(T_{12}, T_{22}, D_2(t_d)) + P_3 f_3(T_{13}, T_{23}, D_3(t_d)). \quad (22)$$

Для «фазы» с наибольшими КСД  $D_1 \sim 1 \cdot 10^{-10}$  м<sup>2</sup>/с, а  $f_1$  экспоненциальна и не зависит от  $t_d$ , что соответствует длинновременному режиму самодиффузии в проницаемой среде. Эти признаки позволяют соотнести «фазу» 1 протонам воды в сообщающихся областях. Для «фазы» 2 поведение  $f_2(t_d)$  соответствует промежуточному режиму самодиффузии при полном ограничении. КСД, характеризующий эту «фазу», изменяется в зависимости от времени диффузии от

$\sim 10^{-10}$  до  $\sim 10^{-13}$  м<sup>2</sup>/с, а вклад в эхо, в зависимости от  $\varphi_2$  и  $t_d$ , может изменяться от  $\sim 0,80$  до  $< 0,1$ . «Фаза» 3 по признакам независимости КСД от  $t_d$  соответствует длинновременному режиму при полном ограничении с КСД  $\sim 10^{-13}$  -  $10^{-14}$  м<sup>2</sup>/с.

Для области существования мультислойных везикул ( $\varphi_2$  10% - 40%) наиболее информативным по отношению к структуре системы является анализ компоненты ДЗ, соответствующий «фазе» 2. Для количественного анализа ограниченной самодиффузии была выбрана модель тонкого сферического слоя, наиболее соответствующая везикулярной геометрии изучаемой системы. В случае латеральной самодиффузии в сферическом слое радиуса  $R$  для распределения спиновой плотности справедливо соотношение:

$$\rho(r_0, 0) = \frac{\delta(r_0 - R)}{4\pi R^2}. \quad (23)$$

В результате соотношение для амплитуды спинового эхо (1) в сферическом слое имеет вид:

$$A(\bar{q}, t_d) = \sum_{j=0}^{\infty} (2j+1) \cdot (\exp(-j(j+1) \frac{D \cdot t_d}{\pi^2})) \cdot (-1)^j \cdot I_j^2(s), \quad (24)$$

где функции  $I_j(s)$ ,  $s=qR$ , связаны с полиномами Лежандра  $P_j(x)$ :

$$I_j(s) = \frac{1}{2} \int_{-1}^1 e^{isx} P_j(x) dx. \quad (25)$$

Нами была разработана итерационная процедура, позволяющая производить на компьютере расчет ДЗ для заданного радиуса сфер:

$$I_{j+1}(s) = i \frac{2j+1}{s} I_j(s) + I_{j-1}(s) \quad (26)$$

$$I_0(s) = \frac{\sin s}{s}, \quad I_1(s) = i \left( \frac{\sin s}{s^2} - \frac{\cos s}{s} \right).$$

Дальнейший анализ заключался в подборе параметров распределения (среднего радиуса сфер, вида и ширины распределения) до наилучшего совпадения расчетных ДЗ с экспериментальными. Лучшие совпадение (рис.12) было получено при использовании лог - нормального распределения радиусов сфер:

$$F(R) = \frac{1}{R\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{(\ln R - \ln R_0)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (27)$$

где  $R_0$  - среднее значение радиуса,  $\sigma$  - ширина распределения и значение КСД  $\sim 2 \cdot 10^{-10}$  м<sup>2</sup>/с. Значения параметров распределения приведены в табл.2.

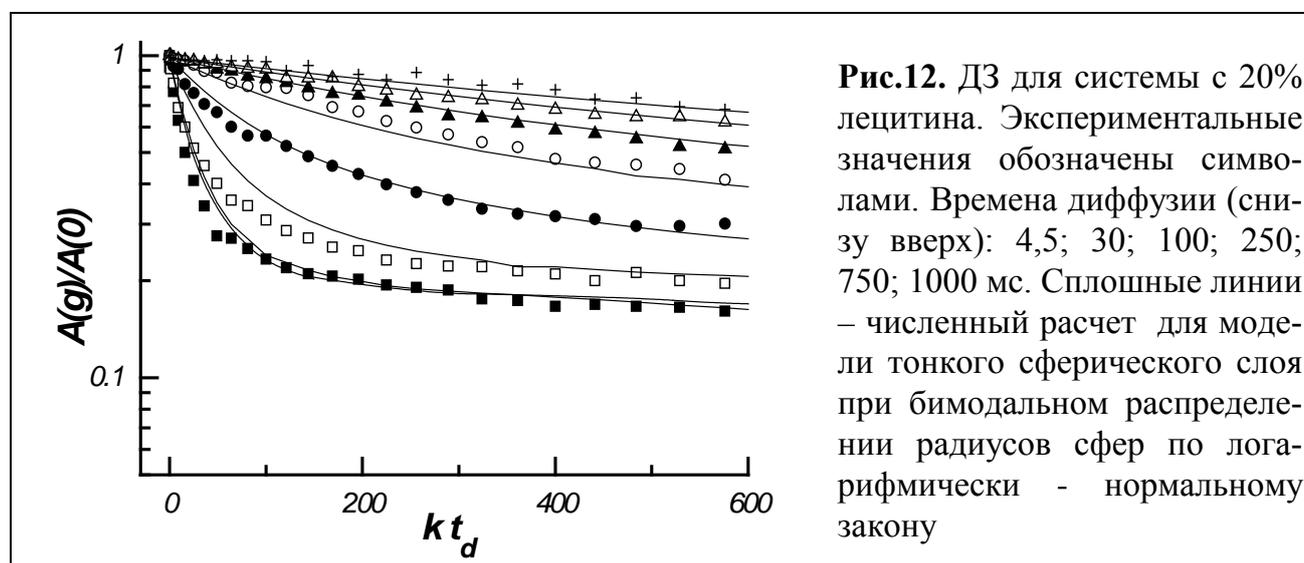
В изучаемой системе самодиффузия в тонком сферическом слое происходит для двух типов молекул – лецитина в бислое и воды между бислоями. Для протонов лецитина в ЖК состоянии сигнал может наблюдаться только при ориентации молекулы под «магическим» углом, что не характерно для большей части молекул исследуемой системы. Поэтому «фаза» 2 в большей мере может

быть отнесена к молекулам воды в сферических прослойках между бислоями лецитина. В пользу этого свидетельствует также значение КСД для «фазы» 2, которое при малых  $t_d$  близко к КСД воды между ориентированными бислоями ( $10^{-10} - 10^{-9} \text{ м}^2/\text{с}$ ) и значительно превышает типичный КСД фосфолипидов в условиях эксперимента ( $\sim 5 \cdot 10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$ ) [10].

**Таблица 2.** Параметры, использовавшиеся для описания самодиффузии в «фазах» 2 и 3 образцов с различной концентрацией лецитина.

Концентрация лецитина	$P_1$	$R_{10}$ (мкм)	$\sigma_1$	$P_2$	$R_{20}$ (мкм)
10%	0,90	3,1	0,30	0,10	0,1
20%	0,82	2,6	0,30	0,18	0,1
30%	0,8	6,0	0,37	0,20	0,1
40%	0,8	8,0	0,38	0,20	0,1

Компонента ДЗ, соответствующая «фазе» 3, может быть отнесена к самодиффузии молекул воды в везикулах с меньшими, чем  $R_1$  размерами. Исходя из этого и используя лог - нормальный вид распределения сферических везикул были определены размеры  $R_{20}$  таких везикул. В этом случае точное значение  $\sigma_2$  и КСД не влияют на форму ДЗ. Результат описания экспериментальных зависимостей показан на рис.12, а параметры лог - нормального распределения радиусов сфер приведены в табл.2. Следует отметить, что бинарное распределение везикул в дисперсиях липидов, полученное из анализа наших данных, было обнаружено также по данным светорассеяния.



**Рис.12.** ДЗ для системы с 20% лецитина. Экспериментальные значения обозначены символами. Времена диффузии (снизу вверх): 4,5; 30; 100; 250; 750; 1000 мс. Сплошные линии – численный расчет для модели тонкого сферического слоя при бимодальном распределении радиусов сфер по логарифмически - нормальному закону

Таким образом, впервые удалось количественно описать зависимости ДЗ( $t_d$ ) в области  $t_d$  от миллисекунд до секунд при использовании единой модели в дисперсии лецитина в воде в области существования мультислойных везикул, и определить их параметры. Полученные методом ЯМР ИГМП результаты согласуются с известными представлениями о структуре везикул [11].

## ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Методом ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля исследована самодиффузия молекул жидкости в системах различной природы с различной геометрией ограничений: полностью насыщенных жидкостью пористых системах, кристаллизующихся полимерах, плоских ориентированных многокомпонентных бислоях липидов и мультислойных липидных везикулах. Рассмотрена возможность получения информации о структуре этих систем из данных о самодиффузии молекул в жидкой фазе с помощью существующих методик анализа ограниченной самодиффузии.
2. Показано, что при исследовании самодиффузии в системах с распределением размеров или анизотропной формой пор экспериментальные данные, полученные с помощью стандартных методик ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля, не позволяют выявить детали исследуемой структуры. Для решения этой проблемы: а) разработана специальная последовательность, содержащая дополнительный временной интервал для анализа развития процесса самодиффузии после частичного подавления сигнала и позволяющая избирательно исследовать самодиффузию отдельных групп молекул, различающихся КСД; б) разработана методика, основанная на использовании эффекта Гиббса-Томпсона, позволяющая избирательно исключать сигнал эхо от части жидкости в крупных порах путем ее замораживания. При этом оставшийся сигнал относится к молекулам жидкой фазы в порах меньшего размера, самодиффузия в которых может быть исследована методом ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля. Преимущества разработанных методик продемонстрированы на примере исследования структуры гипсового камня.
3. Показано, что при кристаллизации полимера изменение формы диффузионного затухания обусловлено главным образом изменением концентрации кристаллизующегося компонента в аморфной фазе и его молекулярно-массовым фракционированием. Эффекты, связанные с неравновесностью процесса, не являются доминирующими.
4. На примере частично-кристаллического полимера полиэтиленоксида показано, что с точки зрения самодиффузии макромолекул он может быть рассмотрен как микро пористая среда, образованная кристаллическими фибриллами. Для самодиффузии в межфибрилярном пространстве могут наблюдаться коротковременной, промежуточный и длинновременной режимы, типичные для самодиффузии низкомолекулярных жидкостей, введенных в пористые тела. Среднеквадратичные смещения, соответствующие переходам между режимами, зависят от концентрации некристаллизующегося компонента в системе и температуры кристаллизации, определяющими сформировавшуюся структуру ограничений.
5. На примере фракций полиэтиленоксида, введенных в пористые среды с

диаметром пор от 40 до 1440 Å, выявлена роль основных факторов, влияющих на кинетику кристаллизации полимера в условиях ограничений. Показано, что скорость кристаллизации определяется, в основном, изменением числа конформационных состояний макромолекулы в присутствии ограничений и геометрией порового пространства. Установлено существование критического размера пор  $d^*$ , близкого к минимальной толщине кристаллической ламели, больше и меньше которого структура надмолекулярных кристаллических образований различна. В порах больше  $d^*$  происходит ламеллярная кристаллизация, аналогично объемному полимеру, а при размере пор меньше  $d^*$  кристаллическая структура упорядочена по сравнению с объемным полимером и может быть отнесена к мицелярному типу. Показано, что во всех исследованных системах самодиффузия молекул не является определяющим фактором кристаллизации.

6. Для плоских бислоев ряда (диолеоилфосфатидилхолин, пальмитоилолеоилфосфатидилхолин, дипальмитоилфосфатидилхолин) фосфолипидов (модельных биомембран) в условиях ориентации образца под «магическим углом» относительно магнитного поля детально исследована латеральная самодиффузия фосфолипидов в зависимости от температуры и доли насыщенных углеводородных цепей, а также содержания холестерина. Показано, что процесс самодиффузии в этих системах характеризуется моноэкспоненциальным диффузионным затуханием. При этом с ростом доли насыщенных цепей коэффициент самодиффузии уменьшается, а энергия активации процесса самодиффузии увеличивается. Зависимость коэффициента самодиффузии и энергии активации от доли насыщенных цепей носит неаддитивный характер.
7. Для бислоевых систем, содержащих бинарные смеси ряда (димиристоилфосфатидилхолин, дипальмитоилфосфатидилхолин, сфингомиелин) насыщенных фосфолипидов с холестерином, впервые методом ЯМР систематически исследована самодиффузия в условиях жидкокристаллического фазового расслоения на упорядоченную (обогащенную холестерином и характеризующуюся большим порядком в расположении цепей) и неупорядоченную фазы. Анализ концентрационных и температурных зависимостей коэффициентов самодиффузии липидов, проведенный во всей области исследования, позволил определить коэффициенты самодиффузии, соответствующие неупорядоченной и упорядоченной жидкокристаллическим фазам. Показано, что упорядоченная фаза характеризуется пониженными (до ~3 раз) значениями коэффициентов самодиффузии и повышенными (до ~2 раз) значениями энергии активации самодиффузии липида по сравнению со значениями для неупорядоченной фазы. Границы области фазового разделения по данным ЯМР ИГМП согласуются с данными других методов.
8. Для бислоев фосфолипида, содержащего 50% насыщенных цепей (пальмитоилолеоилфосфатидилхолин), впервые экспериментально (по призна-

кам отклонения температурной зависимости от Аррениусовой формы и нарушению монотонной зависимости коэффициента самодиффузии от концентрации холестерина) обнаружено присутствие упорядоченной жидкокристаллической фазы в узком температурном диапазоне вблизи перехода жидкий кристалл – гель.

9. Впервые исследована самодиффузия в бислоях липидов, содержащих тройную смесь компонентов, соответствующую основным компонентам клеточной мембраны (холестерол, фосфолипид с ненасыщенными цепями и сфингомиелин - фосфолипид с насыщенными цепями), в которых могут образовываться особые домены ("rafts") упорядоченной ЖК фазы с повышенным содержанием сфингомиелина и холестерина.

а) Установлены характерные особенности трансляционной динамики фосфолипидов в "rafts", отличающие их от окружающей неупорядоченной ЖК фазы: пониженные коэффициенты самодиффузии липидов (до ~5 раз) и более высокая энергия активации самодиффузии (до ~2 раз). Показано, что данные ЯМР с импульсным градиентом поля могут быть использованы для построения фазовой диаграммы бислоев, образующих "rafts".

б) Установлено, что двухкомпонентная форма диффузионного затухания в этих системах обусловлена наличием вкладов от молекул фосфолипидов в "rafts" и в окружающей жидкокристаллической фазе. Независимость формы диффузионного затухания от времени диффузии свидетельствует о выполнении условий медленного обмена между молекулами этих фаз и об отсутствии эффектов, связанных с наличием границы фазового раздела. Сделанные на основании этих фактов оценки размеров доменов "rafts" не противоречат данным флуоресцентной микроскопии.

10. На основе экспериментальных данных, полученных для системы лецитин-вода при концентрациях, соответствующих образованию мультислойных везикул, рассмотрены особенности самодиффузии при сферической форме ограничений, разработана и применена модель самодиффузии в тонком сферическом слое. Применение этой модели позволило впервые для такого типа дисперсных систем описать зависимость формы диффузионного затухания ЯМР от времени диффузии в диапазоне от миллисекунд до секунд при использовании одного фиксированного набора структурных и динамических (коэффициенты самодиффузии) параметров.

### **ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Филиппов А.В. Самодиффузия жидкости в песчаниках Fontainebleau/ А.В.Филиппов, Г.И.Васильев, В.Д.Скирда // Структура и динамика молекулярных систем. Сборник статей. - Уфа-Казань-Москва-Йошкар-Ола., 2002. – Вып. IX. - Т.2. - С.202 – 204.
2. Филиппов А.В., Хозина Е.В., Хозин В.Г. Исследование самодиффузии в порах отвержденного гипса методом ЯМР с импульсным градиентом магнитного поля. // Химическая физика. - 1993. - Т.12. - N.11. - С.1519-1525.

3. Filippov A.V., Khosina E.V., Khosin V.G. Liquid Self-Diffusion in Pores of Hardened Gypsum: Pulsed Field Gradient NMR Study. // Journal of Materials Science. - 1996. - V.31. - P.1809-1814.
4. Filippov A.V., Altykis M.G., Khaliullin M.I., Rachimov R.Z., Lantsov V.M. Study of the Porous Structure of Hardened Gypsum by Pulsed Nuclear Magnetic Resonance. // Journal of Materials Science. - 1996. - V.31. - P.4369-4374.
5. Филиппов А.В., Халиуллин М.И., Алтыкис М.Г., Рахимов Р.З., Ланцов В.М., Исследование пор гипсового камня методами импульсного ЯМР. // Журнал прикладной спектроскопии. - 1996. - Т.63. - N.3. - С.477-485.
6. Филиппов А.В., Алтыкис М.Г., Халиуллин М.И., Структура пор гипсового камня по данным самодиффузии жидкости. // Журнал физической химии. - 1966. - Т.70. - С.116-119.
7. Филиппов А.В., Вартапетян Р.Ш. Исследование связности пор методом ЯМР. // Коллоидный журнал. - 1997. - Т.59. - N2. - С.248-251.
8. Филиппов А.В. Диффузоксиопорометрия/ А.В.Филиппов, В.Д.Скирда // Структура и динамика молекулярных систем. Сборник статей. - Казань: Унипресс., 1999. – Вып.VI. - С.387 – 392.
9. Филиппов А.В., Скирда В.Д. Исследование структуры пористого вещества методом ЯМР криодиффузометрии. // Коллоидный журнал. - 2000. - Т.62. - №6. - С.837-843.
10. Вартапетян Р.Ш., Кларксон Р.Б., Одинцов Б.М., Филиппов А.В., Скирда В.Д. Изучение пористой структуры активных углей по данным адсорбции паров воды и плавления воды и циклогексана в порах. // Коллоидный журнал. - 2000. - Т.62. - №5. - С.590-595.
11. Филиппов А.В. Метод ЯМР исследования самодиффузии молекул в системах со сложной формой диффузионного затухания/ А.В.Филиппов, В.Д.Скирда, Д.Ш.Идиятуллин // Структура и динамика молекулярных систем. Сборник статей. - Йошкар-Ола- Казань- Москва, 1996. - Ч.2. - С.15-20.
12. Филиппов А.В., Смирнов В.С., Дорогиницкий М.М., Гиматдинов Р.С. Диффузия в межкристаллитном пространстве частичнокристаллической смеси полимеров. // Высокомолекулярные Соединения. Сер.Б. - 1989. - Т.31. - N.1. - С.72-74.
13. Филиппов А.В., Смирнов В.С. Природа аномалии в кинетике кристаллизации смеси полиэтиленоксида с полипропиленоксидом. Высокомолекулярные соединения. Сер.А. - 1994. - Т.36. - N.12. - С.2021-2025.
14. Филиппов А.В., Смирнов В.С., Гиматдинов Р.С., Дорогиницкий М.М., Самодиффузия в расплаве полиэтиленоксида при изотермической кристаллизации. // Высокомолекулярные соединения. Сер.Б. - 1992. - N.4. - С.67-71.
15. Филиппов А.В., Смирнов В.С., Гиматдинов Р.С., Шибанов Ю.Д. Особенности кристаллизации смесей полиэтиленоксида с полипропиленоксидом. // Высокомолекулярные Соединения. Сер.Б. - 1988. - Т.30. - N.11. - С.854-855.
16. Филиппов А.В., Смирнов В.С., Гиматдинов Р.С., Шибанов Ю.Д. Влияние температуры кристаллизации и состава на форму спада поперечной намаг-

- ниченности ЯМР в кристаллизующихся смесях полимеров. // Высокомолекулярные Соединения. Сер.Б. - 1988. - Т.30. - N.7. - С.552-553.
17. Filippov A.V., Smirnov V.S. and Doroginickij M.M. Crystallization of crystallizable and amorphous polymer mixtures and peculiarities of their structure: an NMR study. // *Magnetic Resonance Imaging*. - 1998. - V.16. - N.5-6. - P.631-633.
  18. Filippov A.V., Doroginickij M.M. and Vartapetyan R.Sh. Crystallization of poly(ethylene oxide) confined in pores of active carbon. // *Magnetic Resonance Imaging*. - 1998. - V.16. - N.5-6. - P.629-630.
  19. Филиппов А.В., Зарипов А.М., Пименов Г.Г. Плавление гибкоцепного полимера закристаллизованного в пористой среде. // *Коллоидный журнал*. - 2000. - Т.62. - №3. - С.417-424.
  20. Филиппов А.В., Пименов Г.Г., Зарипов А.М. Кинетика кристаллизации гибкоцепного полимера введенного в поры. // *Коллоидный журнал*. - 2000. - Т.62. - №3. - С.425-430.
  21. Filippov A., Oradd G., and Lindblom G. Lipid and water self/diffusion in oriented lipid/cholesterol bilayers studied by NMR. // *Biophysical Journal*. - 2002. - V.82. - N.1. - Part 2 of 2. - P.155a.
  22. Lindblom G., Filippov A., and Oradd G. The effect of cholesterol on the lateral diffusion of phospholipids in oriented bilayers. // *Biophysical Journal*. - 2003. - V.84. - N2. - Part 2 of 2. - P.378a.
  23. Filippov A., Oradd G., and Lindblom G. The effect of cholesterol on the lateral diffusion of phospholipids in oriented bilayers. // *Biophysical Journal*. - 2003. - V.84. - N5. - P. 3079–3086.
  24. Filippov A., Oradd G., and Lindblom G. Influence of cholesterol and water content on phospholipid lateral diffusion in bilayers. // *Langmuir*. - 2003. - V.19. - P.6397–6400.
  25. Filippov A., Oradd G., and Lindblom G. Domain formation and lateral self-diffusion in lipid bilayers. // *Magnetic Resonance Imaging*. - 2003. - V.21. - N.3/4. - P.443.
  26. Filippov A., Oradd G., and Lindblom G. Lipid lateral diffusion in ordered and disordered phases in raft mixtures. // *Biophysical Journal*. (in press).
  27. Филиппов А.В., Дорогиницкий М.М., Хакимов А.М., Скирда В.Д. Ограниченная самодиффузия лецитина в системе лецитин-вода. // *Коллоидный журнал*. - 2000. - Т.62. - №5. - С.633-639.
  28. Байкеев Р.Ф., Филиппов А.В., Исмаев И.Э. Динамическая гетерогенность липидов в системе диэтиловый эфир-вода-лецитин. // *Биофизика*. - 1996. - Т.41. - Вып.6. - С.1227-1233.
  29. Filippov A.V. Self-diffusion of lecithin in the ether-water-lecithin dispersions/ A.V.Filippov, R.F.Baykееv // VI Vedecka Konferencia Kosice. Zbornik prednasok. - Kosice, 1992. - P.209-214.
  30. Дорогиницкий М.М. Модели движения молекул в сферическом слое/ М.М.Дорогиницкий, А.В.Филиппов // Структура и динамика молекулярных систем. Сборник статей. - Москва, 2000. – Вып. VII. - С.46 - 49.

31. Doroginizkij M.M. Restricted diffusion in lecithin - water system/ M.M.Doroginizkij, A.V.Filippov // *Magnetic Resonance in Food Science. A view to the future.* – Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2002. - P.165–171.

### СПИСОК ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Stejskal E.O., Tanner J.P. // *J. Chem. Phys.* - 1965. - V.42. - P.288 - 292.
2. Callaghan P.T. *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy.* - Oxford: Clarendon, 1991. - 516 p.
3. Двояшкин Н.К., Маклаков А.И. // *Коллоид. Ж.* - 1992. - Т.54. - P.30 - 37.
4. Hurlimann M.D., Helmer K.G., Latour L.L., Sotak C.H. // *J. Magn. Reson.* - 1994. - V.111 A. - P.169 - 178.
5. Mair R.W., Wong G.P., Hoffmann D., Hurlimann M.D., Patz S., Schwartz L.M., Walsworth R.L. // *Phys. Rev. Lett.* - 1999. - V.83. - P. 3324 - 3327.
6. Маклаков А.И., Фаткуллин Н.Ф., Двояшкин Н.К. // *ЖЭТФ.* - 1992. - V.101. - P. 901-912.
7. Valiullin R.R., Skirda V.D., Kimmich R., Stapf S. // *Phys. Rev. E.* - 1997. - V. 55. - P. 2664 - 2671.
8. Васина Е.Н., Скирда В.Д., Волков В.И., Нечаев А.Н., Мчедлишвили Б.В. // *ЖФХ.* - 1999. - Т.73. - P.285 - 290.
9. Balinov V., Soderman O., Ravey J.C. // *J. Phys. Chem.* - 1994. - V.98. P.393 - 396.
10. Lindblom G., Oradd G. // *Progr. NMR Spectr.* - 1994. - V.26. - P.483 - 515.
11. Щипунов Ю.А. // *Успехи химии.* - 1997. - V.66. - P.328 - 352.
12. Katz A.J., Thompson A.H. // *Phys. Rev. Lett.* - 1985. - V.54. P.1325 - 1328.
13. Chachaty C., Korb J.-P., Van der Maarel J.-P.C., Bras W., Quinn P. // *Phys. Rev. B.* - 1991. - V.44. - P.4778 - 4793.
14. Mitra P.P., Sen P.N. // *Phys. Rev. B.* - 1992. - V.45. - P.143 - 156.
15. Hoffman J.D. // *Macromolecules.* - 1986. - V.19. - P.1124 - 1128.
16. Mitra P.P. // *Phys. Rev. B.* - 1995. - V.45. - P.15074 - 15078.
17. Straley C. *NMR in Partially Saturated Rocks: Laboratory Insights on Free Fluid Index and Comparison with Borehole Logs/* C.Straley, C.E.Morriss, W.E.Kenyon, J.J.Howard // *SPWLA 32nd Annual Logging Symposium.* 1991
18. Strange J.H. // *Nondestr. Test. Eval.* - 1994. - V.11. - P.261 - 271.
19. Strange J.H., Rahman M., Smith E.G. // *Phys. Rev. Lett.* - 1993. - V.71. - P.3589 - 3591.
20. Douglass D.C., McCall D.W. // *J. Phys. Chem.* - 1958. - V.62. - P. 1102.
21. Вундерлих Б. *Физика макромолекул. Т.2. Зарождение, рост и отжиг кристаллов.* - Москва: Мир, 1979. - 574 с.
22. Двояшкин Н.К., Маклаков А.И., Смирнов В.С. // *Высокомолек. Соедин.* - 1979. - V.12. - P.2702 - 2707.
23. Гиматдинов Р.С., *Влияние молекулярной массы на кинетику кристаллизации полиэфиров и структуру образующихся фаз.* КГУ: Казань. - 1984. - 204 p.

24. Hoffman J.D. The rate of crystallization of linear polymers with chain folding/ J.D.Hoffman, G.T.Davis, J.I.Lauritzen Jr. // Treatise of Solid State Chemistry. - New York: Plenum Press. 1976. - P.497- 614.
25. Скирда В.Д. К вопросу о рептационном механизме движения полимерной цепи по данным о самодиффузии макромолекул, введенных в пористое стекло «Vycor»/ В.Д.Скирда, М.В.Скирда // Структура и динамика молекулярных систем. Сборник статей. - Йошкар-Ола-Казань-Москва: 1997. - P.181-185.
26. Keith H.D. // J. Polym. Sci. A. - 1964. - V.2. - P.4339 - 4343.
27. Stilbs P., Paulsen K., Griffiths P.C. // J. Phys. Chem. - 1996. - V.100. - P.8180 - 8189.

**Автор выражает благодарность:**

- Научно-образовательному центру КГУ (грант BRHE, REC-007);
- Королевской Шведской академии наук (грант «NMR studies of biological membranes and heterogeneous lipid systems»);
- Российскому фонду фундаментальных исследований (гранты «Трансляционная динамика макромолекул и надмолекулярная структура в полимерных растворах, расплавах и объеме: изучение методом ЯМР», 1994 – 1995г.г.; «Экспериментальное изучение особенностей подвижности молекул в гетерогенных системах», 1996 – 1997г.г.; «Процессы самодиффузии, спинового и молекулярного обмена в полимерных системах, интра- и интермолекулярных корреляций в динамике полимерной цепи: изучение методом импульсного ЯМР», 1997 – 1999; «Трансляционная диффузия макромолекул в системах с ограничениями», 2000 - 2002 г.г.; ).
- Коллективам кафедры молекулярной физики КГУ и кафедры биофизической химии Университета Умео за помощь в проведении исследования; персонально научному консультанту проф.В.Д.Скирде и проф.Й.Линдблуму за плодотворные дискуссии и помощь в обсуждении результатов.