

Misura del coefficiente di autodiffusione di acqua, soltrol 130 e soltrol 170

Daniele Dall'Olio

Carlo Emilio Montanari

5 gennaio 2018

Sommario

Si misura il coefficiente di autodiffusione molecolare di tre liquidi idrogenati (Acqua, Soltrol 130, Soltrol 170) tramite analisi dell'attenuazione dell'eco di spin in una regione con gradiente di campo magnetico. Si fa uso di un MOBILE Universal Surface Exploer per la creazione del gradiente di campo magnetico e la cattura dei dati tramite sequenze CPMG ed infine si utilizza il software UpenWIN per la stima delle frequenze misurate.

Introduzione

In questa parte introduttiva si illustra brevemente la teoria dietro i processi di diffusione molecolare ed in che modo la risonanza magnetica nucleare si colloca come strumento di analisi molto valido.

La diffusione è il moto traslazionale stocastico di molecole e ioni all'interno di una soluzione. Una molecola costituente di un fluido è soggetta a moto browniano. Se il fluido in cui è immersa è omogeneo isotropo ed infinito, la molecola è soggetta a diffusione isotropa tale per cui vale lo spostamento quadratico medio:

$$\langle x^2(t) \rangle = (2Dt) \quad (1)$$

dove D prende il nome di costante di diffusione e si collega direttamente alle dimensioni della molecola secondo l'equazione di Stokes-Einstein,

$$D = KT/f \quad (2)$$

dove, nel caso di molecola sferica, $f = 6\pi\mu r$.

Se la specie molecolare del soluto è la stessa del mezzo in cui le molecole del soluto diffondono, si definisce il tutto un processo di **auto-diffusione**.

Con l'NMR è possibile studiare la diffusione traslazionale basandosi sull'attenuazione dell'eco di spin causato dallo sfasamento degli spin nucleari dovuto ai processi di diffusione in una regione con gradiente di campo magnetico g costante.

Considerando un gradiente g diretto verso z ed una singola molecola dotata di spin, si ha che la fase accumulata nel tempo dalla molecola è data da:

$$\Phi(t) = \gamma B_0 t + \gamma \int_0^t g(t') z(t') dt' \quad (3)$$

dove la prima parte è data dal campo statico e la seconda dal gradiente applicato. Se il gradiente $g(t)$ ha intensità costante l'equazione si semplifica in:

$$\Phi_i(\tau) = \gamma B_0 \tau + \gamma g \int_0^\tau z_i(t') dt' \quad (4)$$

Se, dopo il tempo τ , mandiamo alla molecola un impulso π di inversione, abbiamo che il secondo impulso di gradiente mandato al tempo $t_0 + \tau$, otteniamo al tempo di eco una fase accumulata:

$$\begin{aligned} \Phi(2\tau) &= \left\{ \gamma B_0 \tau + \gamma g \int_{t_0}^{t_0+\tau} z_i(t') dt' \right\}_{\text{primo periodo } \tau} \\ &\quad - \left\{ \gamma B_0 \tau + \gamma g \int_{t_0+\tau}^{t_0+2\tau} z_i(t') dt' \right\}_{\text{secondo periodo } \tau} \\ &= \gamma g \left\{ \int_{t_0}^{t_0+\tau} z_i(t') dt' - \int_{t_0+\tau}^{t_0+2\tau} z_i(t') dt' \right\} \quad (5) \end{aligned}$$

Ergo, per un insieme di nuclei con differenti posizioni iniziali e finali, si avrà un segnale di eco in forma di:

$$S(2\tau) = S(2\tau)_{g=0} \int_{-\infty}^{+\infty} P(\Phi, 2\tau) e^{i\Phi} d\Phi \quad (6)$$

dove $P(\Phi, 2\tau)$ è la probabilità che il singolo spin abbia accumulato la fase Φ . Questo implica che

con assenza di gradiente abbiamo segnale massimo (considerandone solo la parte reale), mentre invece con presenza di gradiente si osserva un segnale attenuato.

Si ha quindi l'espressione:

$$S(2\tau) = S(0) \exp\left(-\frac{2\tau}{T_2}\right) f(\delta, g, \Delta, D) \quad (7)$$

che, per una sequenza SE in condizione di gradiente costante, assume la forma:

$$S(2\tau) = S(0) \exp\left(-\frac{2\tau}{T_2}\right) \exp\left(-\frac{2}{3}\gamma^2 D g^2 \tau^3\right) \quad (8)$$

mentre invece, per una sequenza CPMG in condizione di gradiente costante, assume la forma:

$$S(t) = S(0) \exp\left[-\frac{t}{T_2} - \frac{1}{3}\gamma^2 g^2 D \tau^2 t\right] \quad (9)$$

dove, in questo contesto, τ rappresenta metà del tempo di eco della sequenza CPMG.

A questo punto, se si vuole misurare il valore di D tramite misure CPMG, si può operare sulla variazione del tempo di eco 2τ e fare uso della funzione:

$$R_{2\text{oss}}(\tau) = \frac{1}{T_{2\text{oss}}}(\tau) = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{3}\gamma^2 g^2 D \tau^2 \quad (10)$$

dove si distingue $T_{2\text{oss}}$ come valore osservato in contrapposizione al T_2 ideale non affetto da diffusione. Da questa equazione figura come dalla dipendenza lineare di $R_{2\text{oss}}(\tau)$ da D è possibile, se si osservano andamenti lineari, eseguire il best fit dei dati sperimentali ad una retta ed ottenere il valore della costante di diffusione.

Materiali e Metodi

Strumentazione

L'esperimento è stato effettuato utilizzando il Mobile Universal Surface Explorer, detto MOUSE, che consiste in una scatola cubica di lato 12 cm contenente un magnete permanente a ferro di cavallo e una bobina piatta, su cui è posto il campione da studiare. La geometria piatta della bobina consente di trasmettere l'impulso a distanza dalla bobina stessa.

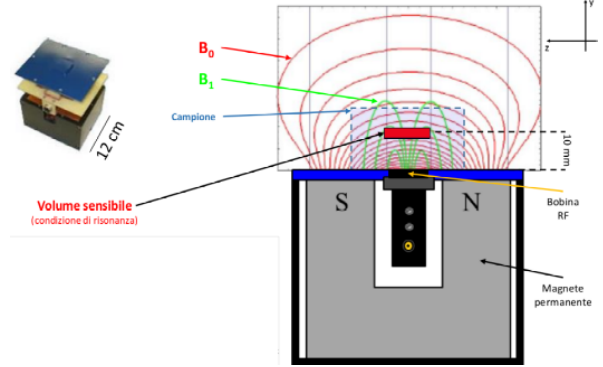


Figura 1: Strumentazione.

Il MOUSE è stato realizzato per generare un campo magnetico con gradiente costante lungo l'asse y per la componente B_z , dove gli assi sono riferiti in figura 1.

Nonostante tale scopo, solo in una certa regione dello spazio è garantita con buona affidabilità un gradiente che sia costante e tale regione è denominata volume sensibile. Lo spessore del volume sensibile è dipendente dalla larghezza della banda di frequenze che si stimolano.

In questa esperienza il volume sensibile è individuato a un'altezza di 3 mm dalla base di appoggio del MOUSE e il valore del gradiente presente in questa regione è pari a $17 \frac{T}{m}$. Lo spessore di questo volume è tra $250 - 300 \mu m$ essendo che l'impulso è stato inviato a 13.88 MHz per una durata di 4.5 ms .

I campioni studiati in questo esperimento sono l'acqua, il soltrol 130 e il soltrol 170. Questi ultimi due sono idrocarburi paraffinici che si presentano come liquidi oleosi e sono sostanze utilizzate come solventi in vari campi di ricerca.

In realtà, il campione di acqua è una soluzione acquosa contenente una piccola percentuale di sale EDTA e rame. Il rame legandosi con l'EDTA tende ad accorciare il tempo di rilassamento dell'acqua ma, data la piccola percentuale occupata, ha come unico effetto l'aumento del rapporto segnale rumore.

È importante sottolineare infatti che a differenza delle bobine solenoidali, le bobine piatte hanno un rapporto segnale rumore di circa due ordini di grandezza inferiore, visto che trasmettono a distanza.

L'esperimento ha consistito in primo luogo nell'acquisizione del FID prodotto da una serie di sequenze CPMG presentato in una sezione apposita. Una volta effettuata l'acquisizione, le analisi dei dati sono state condotte grazie all'algoritmo UPEN esposto anch'esso in una delle prossime sezioni.

CPMG

Il metodo *Carr-Purcell-Meiboom-Gill* viene usato per ottenere una misura di T_2 priva dei bias causati dalla non uniformità del campo magnetico applicato B_0 e dagli effetti di diffusione molecolare interni al campione.

Questi fenomeni, infatti, fanno sì che con una misura tramite FID venga sempre misurato un tempo di rilassamento T_2^* molto minore del T_2 "vero", causato solo dalle interazioni intrinseche del sistema. Inoltre, il metodo CPMG risulta più efficace rispetto al metodo Spin Echo (SE) in quanto riduce consistentemente gli effetti di diffusione molecolare, causati sempre dal gradiente del campo magnetico B_0 .

In particolare, in questo esperimento il gradiente di B_0 è stato impostato appositamente ed è stato fissato costante.

Il metodo CPMG può essere presentato come un ampliamento del metodo Spin Echo(SE): ottenuto un segnale di NMR con un segnale di impulso di 90° , si vogliono rimuovere gli effetti di decadimento causati dal gradiente di B_0 applicando segnali di inversione di 180° . Tuttavia, invece di applicare un solo segnale di inversione a diversi tempi τ_i per poi misurare le conseguenti ampiezze di segnale di eco di spin, si va ad applicare una sequenza di segnali di inversione $(\tau_0 - 180^\circ - \tau_0)_n$ dove τ_0 è il tempo più breve possibile ottenibile a livello strumentale.

Riassumendo, con un metodo di acquisizione tramite FID si misura un tempo di decadimento T_2^* , che in letteratura viene spesso assunto nella forma:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2'} \quad (11)$$

dove T_2' è la componente di tempo causata dalla non uniformità del campo B_0 .

Per visualizzare meglio il processo CPMG, si rimanda il lettore alla Figura 2.

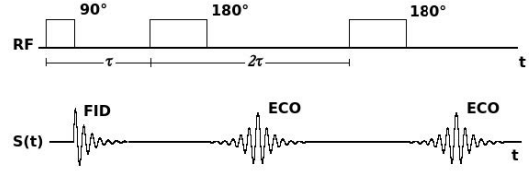


Figura 2: Segnale ottenuto tramite sequenza di impulsi CPMG.

Analisi dati tramite software UPEN-Win

Il segnale acquisito è una curva multi-esponenziale nella forma:

$$S(t) = \sum_{k=0}^M a_k \exp(-t/T_{1/2k}) \quad (12)$$

dove si indica con k una delle tante componenti del materiale non uniforme che presenta inevitabilmente tempi di rilassamento T_1 e T_2 differenti.

Tramite algoritmo UPEN (*Uniform PENality*), implementato nel software UPENWin, si reinterpreta il segnale come una distribuzione continua dei tempi di rilassamento in forma integrale:

$$S(t) = \int f(T_{1/2}) \exp(-t/T_{1/2}) dT_{1/2} \quad (13)$$

dove $f(T_{1/2})$ è una funzione di distribuzione dei tempi di rilassamento. Per invertire quindi il segnale acquisito ed ottenere una espressione valida della funzione di distribuzione, essendo possibili infinite soluzioni a causa degli errori sperimentali associati ad ogni dato acquisito, il software UPEN fornisce una stima di soluzione in base ad un principio di penalizzazione di soluzioni con eccessivi picchi distinti e non sufficientemente giustificati dai dati.

Analisi

Il coefficiente di diffusione è stato ricavato ripetendo più volte la sequenza CPMG su ciascun campione aumentando progressivamente il tempo di echo(T_E) e quindi τ , pari alla metà di T_E . Come spiegato nella sezione introduttiva, in questo modo è possibile valutare quanto la diffusione influenzi il tempo di rilassamento.

Grazie al software UPENWin è stato possibile elaborare i dati in modo da poter rappresentare il rilassamento sia ponendo in relazione il tempo di acquisizione con l'intensità di segnale, che la scala dei tempi di rilassamento con la densità del segnale.

La prima fase di analisi ha previsto l'analisi qualitativa tra le immagini ottenute aumentando τ in modo da trarre le prime informazioni riguardo al rilassamento. L'effetto atteso da queste analisi qualitative è in primo luogo il progressivo aumento dell'inclinazione delle rette descritte nel grafico semilogaritmico del tempo di acquisizione e dell'intensità di segnale. In aggiunta è attesa la progressiva traslazione dei picchi delle curve presenti nel grafico tra i tempi di rilassamento e la densità del segnale.

In seguito, sono state calcolate le stime dei tempi di rilassamento T_2 dei vari picchi per verificare la relazione espressa dall'equazione 10. È stato quindi tracciato un grafico che descrivesse la relazione 10, considerando come variabile indipendente $\tau^2(x)$.

In particolare è stata eseguita una regressione lineare pesata per ottenere il coefficiente angolare dell'equazione. Da questo è stato calcolato il coefficiente di autodiffusione analiticamente considerando che $D = \frac{3A}{\gamma^2} g^2$.

Per quanto riguarda le incertezze associate alle grandezze, è stato considerato come errore sul coefficiente angolare l'incertezza proviente dal best fit pesato; mentre per il coefficiente di autodiffusione è stata semplicemente propagata l'incertezza relativa di tale grandezza.

Risultati

I risultati ottenuti in questo esperimento sono esposti rispettivamente per ogni sostanza adoperata. Per ciascuna sostanza sono stati tracciati grafici e acquisiti dati provenienti da diverse configurazioni per il software UPENWin.

Le configurazioni usate sono state oltre a quella di default: - l'uso del doppio dei dati per l'inversione; - la variazione del parametro di smoothing, che è stato adoperato per l'analisi in undersmoothing a valori 5 e 10. In particolare queste configurazioni sono state definite rispettivamente su: - ciascun τ ; - i due τ maggiori.

Non è stato ritenuto significativo tener conto dell'analisi in oversmoothing poichè per tutte le sostanze le curve delineate mostrano la presenza ni-

tida di un solo picco. Ciò è confermato anche dai grafici (non riportati) relativi all'undersmoothing.

Lo stesso procedimento è stato adottato per ogni sostanza ed in particolare il valore dei tempi T_2 è stato considerato come il punto con massimo segnale nella curva; mentre l'incertezza associata è stata calcolata come la differenza tra i primi due punti simmetrici dopo il picco.

H_2O

La prima sostanza esaminata è stata una soluzione composta principalmente d'acqua e con una piccola percentuale di rame e di sale EDTA. Sono stati elaborati i dati attraverso il software UPENWin per ottenere la distribuzione dei tempi di rilassamento trasversali per τ (metà del tempo di eco) uguale a 25, 35, 50, 75, 100 e 175 μs .

Sono riportate di seguito (tabella 1) i tempi ricavati con le relative incertezze, i quali sono stati rispettivamente calcolati come la media tra le varie configurazioni e come la massima larghezza tra i primi due punti simmetrici dopo il picco.

$\tau (\mu s)$	$T (ms)$	$\sigma (ms)$
25	79	9
35	45	18
50	23	8
75	10	3
100	6	3
175	2.6	1.9

Tabella 1: Tempi di rilassamento trasversale relativi ai diversi tempi τ .

Sono stati tracciati i grafici 3 e 4 relativi alle distribuzioni dei tempi di rilassamento e all'intensità dei segnali acquisiti per l'acqua nella configurazione in cui UPEN calcola il doppio dei punti d'inversione, ritenuta la più rappresentativa.

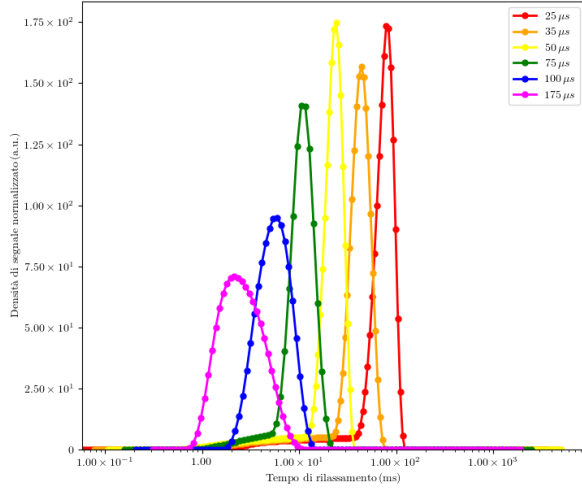


Figura 3: Distribuzioni dei tempi di rilassamento dell'acqua per ciascun τ .

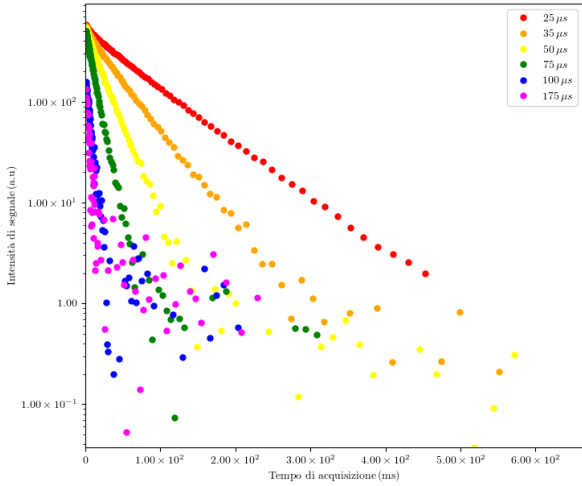


Figura 4: Intensità dei segnali dell'acqua per ciascun τ .

In seguito è stato calcolato analiticamente il coefficiente di autodiffusione a partire da una regressione lineare pesata eseguita sui dati di tabella 1. Il grafico seguente 5 riporta l'andamento di tale fit.

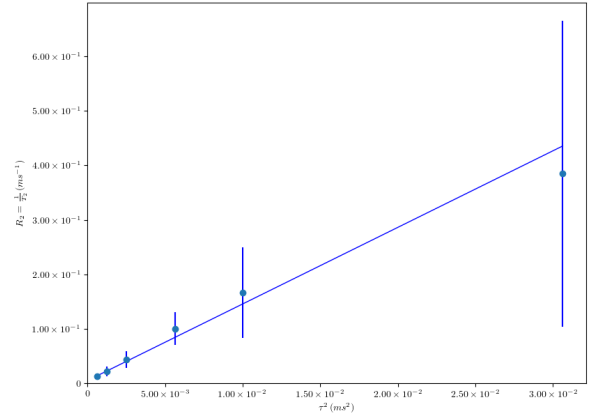


Figura 5: Fit dei dati ottenuti per l'acqua.

Il risultato finale per il coefficiente di autodiffusione associato all'errore è riportato nella tabella seguente.

$D\left(\frac{\mu^2}{ms}\right)$	$\sigma\left(\frac{\mu^2}{ms}\right)$
2.04	0.16

Tabella 2: Coefficiente di autodiffusione dell'acqua con relativo errore.

SOLTROL 130

La seconda sostanza considerata è stata il soltrol 130. Come per l'acqua, tramite il software UPEN-Win sono state delineate le distribuzioni dei tempi di rilassamento trasversali per τ (metà del tempo di eco) uguali a 20, 25, 30, 40, 50, 70, 90, 100 μs .

Sono riportate in tabella 3 i tempi ottenuti con le relative incertezze, calcolate secondo lo stesso metodo applicato per l'acqua.

$\tau (\mu s)$	$T (ms)$	$\sigma (ms)$
20	150	40
25	120	30
30	100	20
40	67	16
50	47	12
70	27	6
90	18	5
100	15	4

Tabella 3: Tempi di rilassamento trasversale relativi ai diversi tempi τ per il soltrol 130.

Sono stati poi descritti i grafici 6 e 7 che rappresentano le distribuzioni dei tempi di rilassamento e l'intensità dei segnali acquisiti per il soltrol 130 nella configurazione in cui UPENWin calcola il doppio dei punti d'inversione, ritenuta la più rappresentativa.

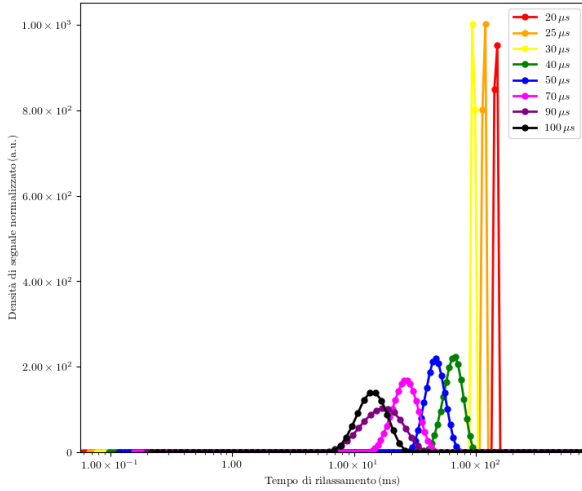


Figura 6: Distribuzioni dei tempi di rilassamento del soltrol 130 per ciascun τ .

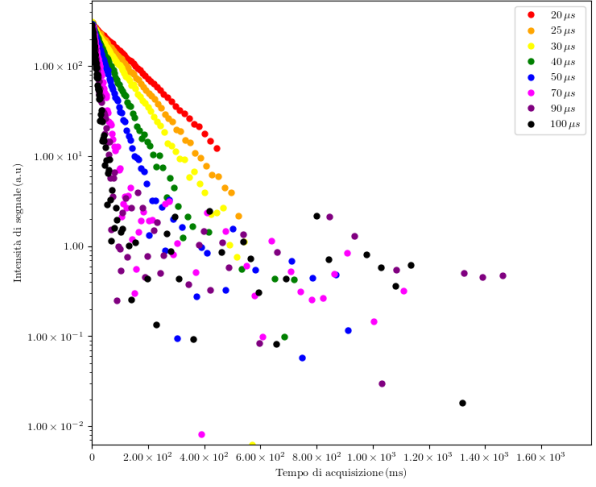


Figura 7: Intensità dei segnali del soltrol 130 per ciascun τ .

È stato poi ottenuto il coefficiente di autodiffusione usando inizialmente una regressione lineare pesata eseguita sui dati di tabella 3, come proceduto per l'acqua. Il grafico seguente 8 riporta l'andamento di tale fit.

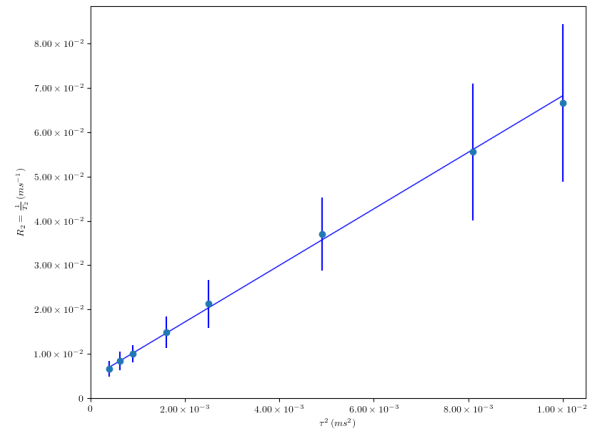


Figura 8: Fit dei dati ottenuti per il soltrol 130.

Il risultato finale per il coefficiente di autodiffusione del soltrol 130 assieme alla sua incertezza è riportato nella tabella seguente.

$D(\frac{\mu^2}{ms})$	$\sigma(\frac{\mu^2}{ms})$
0.927	0.015

Tabella 4: Coefficiente di autodiffusione del soltrol 130 con relativo errore.

SOLTROL 170

L'ultima sostanza analizzata è stata il soltrol 170. Analogamente a come è stato eseguito per l'acqua e il soltrol 130, il software UPENWin è stato adoperato per descrivere le distribuzioni dei tempi di rilassamento trasversali per τ (metà del tempo di eco) pari a 25, 50, 75, 100, 125, 150 μs .

Nella tabella seguente 5 sono riportati i tempi calcolati assieme all'errore associato, ricavati come citato in precedenza.

$\tau (\mu s)$	$T (ms)$	$\sigma (ms)$
25	200	50
50	100	30
75	51	12
100	33	7
125	21	5
150	14	3

Tabella 5: Tempi di rilassamento trasversale relativi ai diversi tempi τ per il soltrol 170.

I grafici seguenti 9 e 10 mostrano le distribuzioni dei tempi di rilassamento e l'intensità dei segnali acquisiti per il soltrol 170 nella configurazione rappresentativa, in cui UPENWin calcola il doppio dei punti d'inversione.

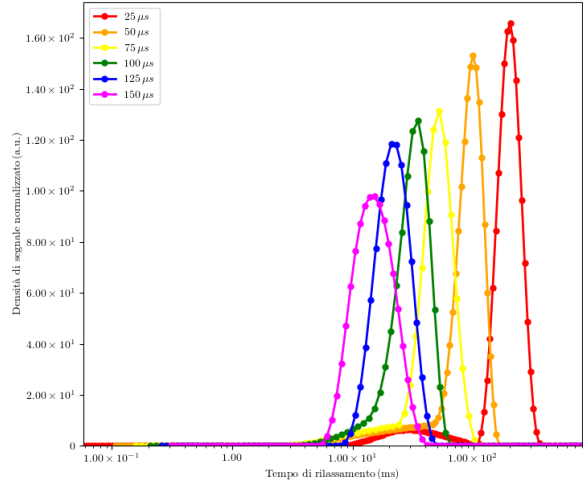


Figura 9: Distribuzioni dei tempi di rilassamento del soltrol 170 per ciascun τ .

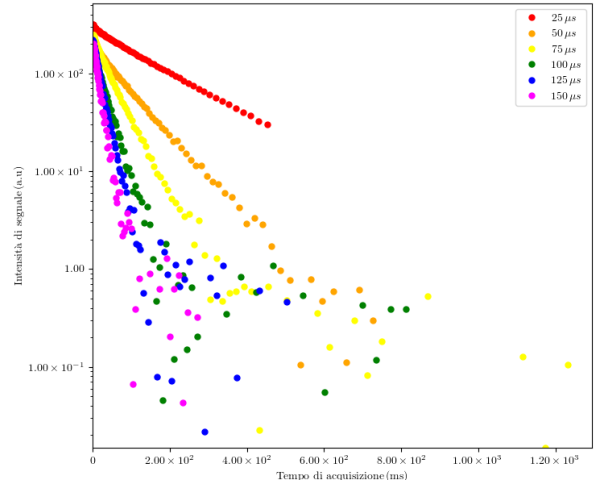


Figura 10: Intensità dei segnali del soltrol 170 per ciascun τ .

Successivamente è stato ricavato il coefficiente di autodiffusione applicando una regressione lineare pesata sui dati di tabella 5, allo stesso modo che per l'acqua e il soltrol 130. Il grafico 11 riporta l'andamento del fit.

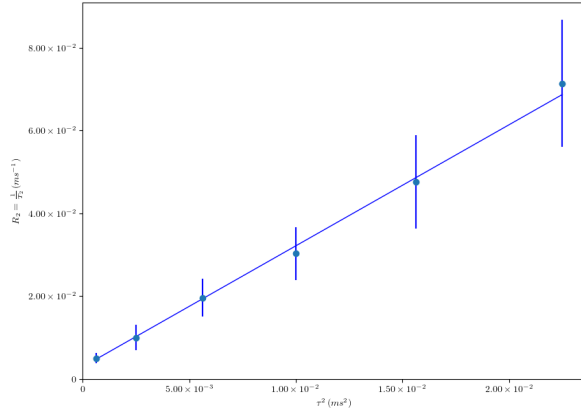


Figura 11: Fit dei dati ottenuti per il SOLTROL 170.

Il risultato finale per il coefficiente di autodiffusione del soltrol 170 affetto da errore è contenuto in tabella 5.

$D \left(\frac{\mu^2}{ms} \right)$	$\sigma \left(\frac{\mu^2}{ms} \right)$
0.425	0.011

Tabella 6: Coefficiente di autodiffusione del soltrol 170 con relativo errore.

	$D \left(\frac{\mu^2}{ms} \right)$	$\sigma \left(\frac{\mu^2}{ms} \right)$
H_2O	2.04	0.16
Soltrol 130	0.927	0.015
Soltrol 170	0.425	0.011

Tabella 7: Coefficienti di autodiffusione per ogni sostanza.

differenza tra valore teorico e dato sperimentale è riconducibile alla diffusione ristretta.

Infatti, quando una sostanza è racchiusa in un volume sufficientemente piccolo la diffusione risente della restrizione spaziale. L'assenza di diffusione libera comporta un abbattimento del valore del coefficiente di autodiffusione. In particolare, le molecole dell'acqua sbattendo contro le pareti del contenitore si ritrovano ad occupare posizioni sempre più ristrette e influenzate dalla forma della superficie di contenimento. Il sistema di acquisizione usato non riconosce l'assenza di diffusione libera e ciò induce al calcolo di un coefficiente di autodiffusione minore.

Per questa ragione, in questo esperimento, il coefficiente di autodiffusione dell'acqua è attenuato di un terzo del valore teorico.

Conclusioni

I risultati ottenuti hanno confermato le ipotesi qualitative attese. Infatti, dai grafici 3, 6 e 9 è possibile osservare una traslazione dei picchi verso l'origine degli assi in relazione all'incremento di τ . Analogamente dai grafici 4, 7 e 10 è confermato l'aumento dell'inclinazione delle rette per τ crescente.

La tabella seguente 7 riassume i valori ricavati per i coefficienti di diffusione delle sostanze utilizzate.

É possibile concludere dalla tabella che l'acqua è la sostanza che diffonde più rapidamente.

Il valore del coefficiente di autodiffusione riportato per l'acqua è però differente dal dato teorico conosciuto, pari a $3 \frac{\mu^2}{ms}$, e, seppur il dato sperimentale sia affetto da errore, non è presente interpolazione.

Trascurando possibili errori sistematici sconosciuti e le piccole impurità nel campione, la netta