

Univerzita Karlova v Praze
Matematicko-fyzikální fakulta

DIPLOMOVÁ PRÁCE



Julie Brüllová

Studium teplotně indukované fázové separace v kopolymerních roztocích

Katedra makromolekulární fyziky MFF UK

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Lenka Hanyková, Dr.

Studijní program: Fyzika, obor Fyzika kondenzovaných soustav a materiálů,
Fyzika makromolekulárních látek

2009

Poděkování

Mým rodičům a příteli za to, že mě po celou dobu studia podporovali. Paní doktorce Lence Hanykové za mnoho její energie a času, které mi během vzniku diplomové práce věnovala. Doktorandce Haně Kouřilové za pomoc při NMR měření a doktorce Heleně Valentové za pomoc s mikroskopem. Inženýrce Zdeně Sedlákové a paní Růženě Mejstříkové z Ústavu makromolekulární chemie za přípravu vzorků.

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci napsala samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů. Souhlasím se zapůjčováním práce a jejím zveřejňováním.

V Praze dne

Julie Brüllová

Obsah

1 Úvod	6
2 Teorie	7
2.1 Popis NMR spektroskopie	7
2.1.1 Základní principy NMR spektroskopie	7
2.1.2 Blochovy rovnice	8
2.1.3 Chemický posuv a intenzita signálu ve spektru	10
2.1.4 Relaxace	13
2.1.5 Podélná/spin–mřížková relaxace	15
2.1.6 Příčná/spin–spinová relaxace	17
2.2 Polymery a hydrogely	19
2.2.1 Polymery	19
2.2.2 Hydrogely	20
2.2.3 Aplikace hydrogelů	21
2.2.4 Fázová separace v polymerních roztocích	21
3 Teplotně indukovaná fázová separace polymerů - současný stav problematiky	24
4 Cíle diplomové práce	29
5 Experimentální část	30
5.1 Vzorky	30
5.2 Experimentální vybavení	33
5.3 Analýza NMR spektra: p–faktor	33
5.4 Nastavení experimentů	34
5.4.1 ^1H NMR spektra	34
5.4.2 Měření ^1H podélného relaxačního času T_1	35
5.4.3 Měření ^{13}C podélného relaxačního času T_1	35
5.4.4 Měření ^1H příčného relaxačního času T_2	36
5.4.5 Měření ^{13}C příčného relaxačního času T_2	37
5.5 Teplotní kalibrace sondy TBO	37
5.5.1 Methanol, 290–330K	37

5.5.2	Ethylenglykol, 310–350K	38
6	Výsledky a diskuse	40
6.1	Makroskopický projev fázové separace	40
6.2	^1H spektra	41
6.3	p–faktor	42
6.3.1	p–faktor pro AAm/IPMAM v D_2O	42
6.3.2	p–faktor pro AAm/IPMAM v D_2O /ethanol	42
6.3.3	p–faktor pro AAm/IPMAM v D_2O /aceton	43
6.3.4	Jiné znázornění p–faktorů	44
6.4	Koncentračně indukovaná fázová separace	47
6.5	Relaxační časy	48
6.6	Mikroskop	52
7	Závěr	54

Název práce: Studium teplotně indukované fázové separace v kopolymerních roztocích

Autor: Julie Brülllová

Katedra (ústav): Katedra makromolekulární fyziky

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Lenka Hanyková, Dr.

e-mail vedoucího: hanykova@kmf.troja.mff.cuni.cz

Abstrakt: V předložené práci je studována teplotně indukovaná fázová separace kopolymerního roztoku poly(akrylamidu/*N*-isopropylmethakrylamidu) v deuterované vodě a ve směsných rozpouštědlech deuterované vody a ethanolu a deuterované vody a acetonu. Uvedený jev se na molekulární úrovni podobá fázovému přechodu (kolapsu) v hydrogelech. Ke studiu je použita metoda nukleární magnetické spektroskopie (NMR). Bylo zjištěno, že s přibývajícím procentuálním podílem akrylamidu v kopolymeru je fázová separace pozvolnější, dochází k ní při vyšších teplotách a kopolymer se separuje jen částečně. Stejný efekt má vysoký podíl ethanolu či acetonu v rozpouštědle. Při příliš vysokém zastoupení akrylamidu či ethanolu a acetonu dochází k fázové separaci v závislosti na složení rozpouštědla. Relaxační experimenty ukázaly, že po fázové separaci zůstává část molekul rozpouštědla vázána na globulární struktury a je omezena ve své pohyblivosti.

Klíčová slova: teplotně indukovaná fázová separace, kopolymer poly(akrylamid/*N*-isopropylmethakrylamid), nukleární magnetická rezonance

Title: Study of temperature-induced phase separation in copolymer solutions

Author: Julie Brülllová

Department: Department of Macromolecular Physics

Supervisor: RNDr. Lenka Hanyková, Dr.

Supervisor's e-mail address: hanykova@kmf.troja.mff.cuni.cz

Abstract: The temperature-induced phase transition of poly(acrylamide/*N*-isopropylmethacrylamide) random copolymers in D₂O solutions and in mixtures of D₂O/ethanol and D₂O/aceton is studied in this work. This phenomenon is on the molecular level analogous with a phase transition (collapse) in hydrogels. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy was used for the study. Results showed that with increasing content of acrylamide in the copolymer the transition temperature is shifted to higher values, the transition is more gradual and smaller fraction of copolymer is phase separated. The same behaviour was found for higher content of ethanol or acetone in the solvent. If this content and the content of acrylamide is very high, the phase transition in dependence on the composition of solvent appears. The relaxation experiments showed that after the phase separation a part of solvent molecules remains bound to globular structures and its mobility is restricted.

Keywords: temperature induced phase separation, poly(acrylamide/*N*-isopropylmethacrylamide) random copolymers, nuclear magnetic resonance

Kapitola 1

Úvod

V posledních letech jsou často studovány polymerní sítě nabobtnalé ve vodě, tzv. inteligentní gely, mající mnoho pozoruhodných vlastností. Při malé změně vnějších parametrů (např. teploty, složení roztoku, pH...) u nich dochází ke skokové změně objemu a jiných fyzikálních vlastností, což odpovídá fázovému přechodu prvního druhu. Toho lze využít např. v nejrůznějších molekulárních spínačích či biotechnologiích. Zmíněný proces je na molekulární úrovni analogický fázové separaci polymeru ve vodném roztoku. Přitom musí polymer vykazovat tzv. dolní kritickou rozpouštěcí teplotu. Pod touto teplotou je zcela rozpuštěn, nad ní se fázově separuje a rozpouštědlo ze sebe vytěsňuje. Zmíněný proces souvisí se změnou konformace a hustoty polymerních řetězců (přechod klubko–globule). Lze jej dobře zkoumat pomocí spektroskopie nukleární magnetické rezonance (NMR), umožňující během fázového přechodu studovat interakce polymer–polymer, polymer–rozpouštědlo a dynamiku polymerních segmentů a molekul rozpouštědla.

Tato práce se zabývá studiem teplotně indukované fázové separace poly(akrylamidu/*N*-isopropylmethakrylamidu) (poly(AAm/IPMAm)) v deuterované vodě D₂O a ve směsi deuterované vody a ethanolu (EtOH) a deuterované vody a acetonu. Zkoumá, jak je teplota fázové separace ovlivněna složením kopolymeru a rozpouštědla. Z měření dynamiky molekul rozpouštědla pomocí relaxačních experimentů je možné získat i informaci o vázaném rozpouštědle, které je v interakci s globulemi.

Práce je rozdělena do sedmi kapitol. V následující kapitole najdeme teoretický základ, používaný v práci. Třetí kapitola shrnuje dosavadní poznatky studované problematiky. V další části jsou vytyčeny cíle práce. V kapitole pět lze nalézt popis přístroje, jeho nastavení a popis měřených vzorků. Získané výsledky jsou uvedeny v kapitole šest. Poslední kapitola shrnuje nejdůležitější závěry.

Kapitola 2

Teorie

2.1 Popis NMR spektroskopie

2.1.1 Základní principy NMR spektroskopie

V následujícím textu se přidržíme klasického (tj. nekvantového) popisu. Nukleární magnetická rezonance je absorpční spektroskopie, při které detekujeme absorpci radiofrekvenčního záření jádry atomů v molekule. Používá se pro studium chování nenulového jaderného spinu, nejčastěji pro jádra vodíku ^1H a uhlíku ^{13}C . Obě jádra mají spin $I = 1/2$ a v magnetickém poli dvě energetické hladiny, charakterizované spinovým kvantovým číslem $m_I = -1/2$ nebo $1/2$. Energetický rozdíl mezi hladinami je:

$$\Delta E = \hbar\gamma B_0, \quad (2.1)$$

kde γ je gyromagnetický poměr specifický pro jádro, B_0 velikost magnetického pole a \hbar Planckova konstanta/ 2π . Poměr obsazení dvou hladin α , β je závislý na rozdílu energií obou hladin a dán Boltzmanovým rozdělením

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}}, \quad (2.2)$$

T je teplota v kelvinech, k Boltzmanova konstanta.

V základním stavu jsou spiny jader uspořádány chaoticky, $\Delta E = 0$. Vložíme-li jádra do konstantního magnetického pole \mathbf{B}_0 , uspořádají se jejich spiny rovnoběžně se směrem pole do dvou energetických hladin. Spiny orientované souhlasně s vnějším magnetickým polem budou mít nižší energii než méně početné spiny orientované proti \mathbf{B}_0 . Rozdíl v populacích však bude velmi malý. Např. pro ^1H při $B_0 = 9,5\text{T}$ je $\frac{N_\alpha}{N_\beta} = 1,000064$ [1].

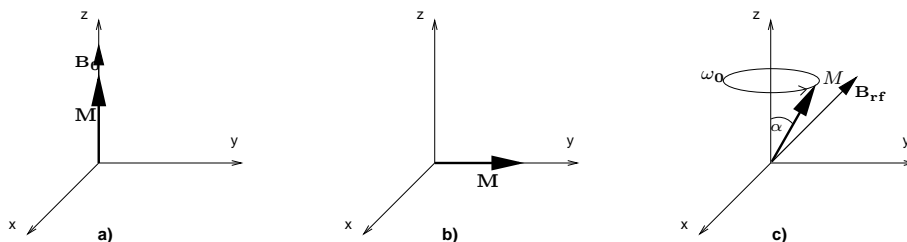
S rostoucím energetickým rozdílem mezi hladinami se NMR stává citlivějším, viz rce. (2.1). Energetický rozdíl je úměrný velikosti magnetického pole B_0 a gyromagnetickému poměru jádra γ . Jelikož izotop ^1H s $\gamma_{^1\text{H}} = 2,68 \cdot 10^8(\text{Ts})^{-1}$ tvoří 99,98% přírodního vodíku

a isotop ^{13}C je v přírodě zastoupen jen z 1,11% s gyromagnetickým poměrem $\gamma_{^{13}\text{C}} = 0,67 \cdot 10^8 (\text{T}\cdot\text{s})^{-1}$, je jádro vodíku ^1H na NMR 63x citlivější než uhlík ^{13}C [2, 3].

Soubor spinů lze klasicky (nekvantově) popsat pomocí vektoru celkové magnetizace \mathbf{M} . V praxi měříme průmět magnetizace \mathbf{M} do roviny xy , kolmé na $\mathbf{B}_0 \parallel z$. \mathbf{M} je dán součtem magnetických momentů jednotlivých spinů. V rovnováze je vektor magnetizace rovnoběžný s vnějším magnetickým polem \mathbf{B}_0 a má velikost M_0 , obr. 1a. Abychom systém vyvedli z rovnováhy, musíme na něj zapůsobit pulsem radiofrekvenčního pole \mathbf{B}_{rf} ($\mathbf{B}_{rf} \perp \mathbf{B}_0$). Tím se změní populace α, β stavů, tedy i směr vektoru magnetizace \mathbf{M} a energie systému. Vektor magnetizace, na který bude stále působit vnější pole \mathbf{B}_0 , bude vykonávat Larmorův precesní pohyb kolem osy z o frekvenci shodné s frekvencí referenčního pole \mathbf{B}_{rf} , viz obr. 1b. Tato frekvence musí splňovat rezonanční podmínku:

$$\omega_0 = \gamma B_0, \quad (2.3)$$

aby systém excitovala. Odkloněním magnetizace ze směru z vznikne její průmět do roviny xy . Jak se magnetizace bude vracet do rovnoběžné polohy (relaxovat), bude na cínce přijímače – sondy ($\parallel x$) vytvářet oscilující proud, který měříme. Radiofrekvenční puls je charakterizován fází a sklápěcím úhlem. Fáze určuje, kolem které osy se magnetizace otáčí ($x, -x, y, -y$), obr. 1c. Sklápěcí úhel určuje o kolik úhlových stupňů se \mathbf{M} otáčí od původního směru a závisí na délce pulsu. Úhel měříme od osy z .

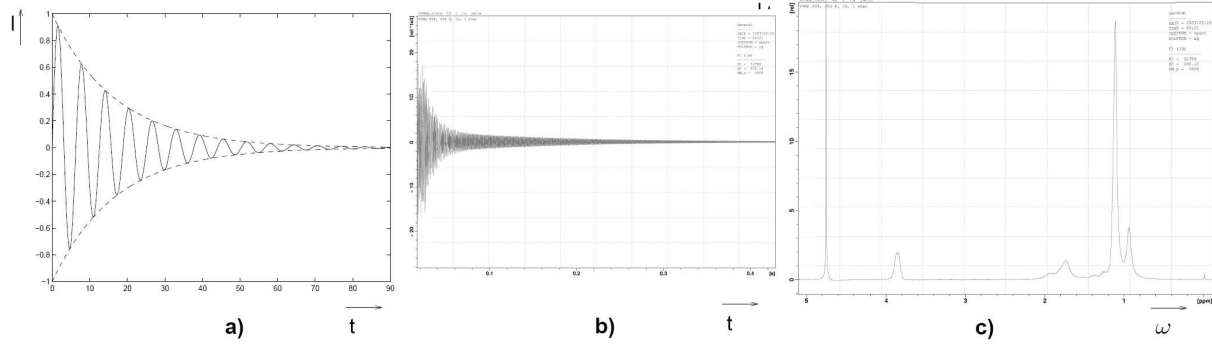


Obrázek 1: Orientace magnetizace \mathbf{M} v prostoru: a) Rovnovážná poloha, magnetizace i magnetická indukce \mathbf{B}_0 jsou ve směru osy z ; b) Magnetizace ve směru osy y po působení 90° pulsu s fází $-x$; c) Aplikace radiofrekvenčního pulsu s fází $-x$, která sklápí magnetizaci o úhel α od osy z . Magnetizace koná kolem osy z precesní pohyb s frekvencí ω_0 .

Kdybychom měli jen jeden spinový systém, detekovali bychom v přijímací cínce exponenciálně ubývajícím kosinovým signálem, obr. 2a. V reálném vzorku excitujeme více spinových systémů s různými frekvencemi. Proto dostaneme kombinaci mnoha ubývajících signálů – signál volné precese, FID (free induction decay), obr. 2b. Fourierovou transformací FIDu získáme NMR spektrum ve frekvenční doméně, obr. 2c.

2.1.2 Blochovy rovnice

Blochovy rovnice popisují chování magnetizace \mathbf{M} (tj. jaderného spinu) v magnetickém poli při působení pulsu radiofrekvenčního pole. V roce 1946 je jako analogii k pohybové



Obrázek 2: a) FID – závislost intenzity I na čase t pro jeden spinový systém; b) FID signál vzorku (pro IPMAm, $T=299\text{K}$); c) frekvenční spektrum získané Fourierovou transformací FIDu (pro IPMAm, $T=299\text{K}$).

rovnici pro setrvačnick odvodil Felix Bloch přidáním spin-mřížkové a spin-spinové interakce [4, 5, 2]:

$$\begin{aligned}
 \frac{dM_x(t)}{dt} &= \gamma (\mathbf{M}(t) \times \mathbf{B}(t))_x - \frac{M_x(t)}{T_2}, \\
 \frac{dM_y(t)}{dt} &= \gamma (\mathbf{M}(t) \times \mathbf{B}(t))_y - \frac{M_y(t)}{T_2}, \\
 \frac{dM_z(t)}{dt} &= \gamma (\mathbf{M}(t) \times \mathbf{B}(t))_z - \frac{M_z(t) - M_0}{T_1}.
 \end{aligned} \tag{2.4}$$

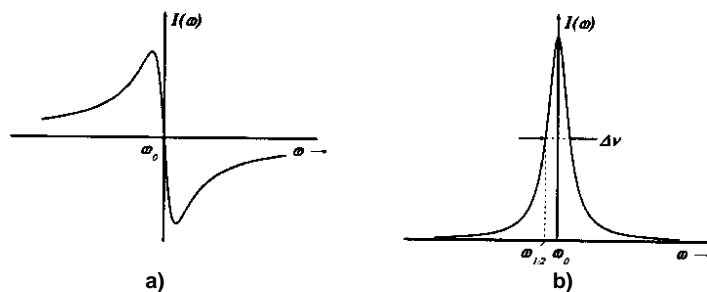
M_0 je velikost magnetizace v rovnováze; M_x , M_y , M_z jsou složky vektoru magnetizace \mathbf{M} ; T_1 podélná relaxační doba popisující relaxaci M_z ; T_2 příčná relaxační doba popisující relaxaci M_x a M_y . \mathbf{B} je celková magnetická indukce působící na jádra, rovná součtu vektoru externího magnetického pole \mathbf{B}_0 ve směru osy z a radiofrekvenčního kruhově polarizovaného harmonického magnetického pole \mathbf{B}_{rf} , tj. $\mathbf{B} = \mathbf{B}_0 + \mathbf{B}_{rf} = (B_{rfx}, B_{rfy}, B_0)$.

Rovnice (2.4) jsou zapsané v laboratorní soustavě. \mathbf{B}_{rf} zde rotuje s frekvencí $\omega_0 = \gamma B_0$ v rovině xy . Proto je lepší přejít do rotující soustavy souřadné, pevně spojené s \mathbf{B}_{rf} , dosazením $B_0 = \frac{\omega_0}{\gamma}$ za třetí složku vektoru magnetické indukce \mathbf{B} . V této soustavě je \mathbf{B}_{rf} časově konstantní.

Experimentálně měříme magnetizaci v rovině xy . Tu lze rozložit na dvě složky:

1. magnetizaci ve fázi s radiofrekvenčním polem \mathbf{B}_{rf} , popsanou disperzní Lorentzovou křivkou, obr. 3a
2. složku magnetizace fázově posunutou o 90° vůči \mathbf{B}_{rf} , popsanou absorpční Lorentzovou křivkou obr. 3b.

Křivky mají buď inflexní bod nebo maximum na frekvenci ω_0 . Pološířka absorpční křivky je ovlivněna vlastní šířkou spektrální čáry a nehomogením rozšířením čáry, způsobeným nehomogenitou \mathbf{B}_0 .



Obrázek 3: Tvar detekovaného signálu ve spektru: a) Disperzní Lorentzova křivka pro magnetizaci ve fázi s radiofrekvenčním polem; b) Absorpční Lorentzova křivka pro magnetizaci fázově posunutou o 90° vůči radiofrekvenčnímu poli.

Převzato z [2].

2.1.3 Chemický posuv a intenzita signálu ve spektru

Chemický posuv je posuv rezonanční frekvence, ovlivněný strukturou molekuly. Udává polohu signálu ve spektru. Může být způsoben elektronovou strukturou okolí jádra, vlastními elektrony jádra nebo způsobem vázání jádra v molekule. Pro jádra s větším atomovým číslem je chemický posuv vyšší, protože více elektronů způsobí větší stínění. (Pro 1H je chemický posuv 10 až 0 ppm, pro ^{13}C 220 - 0 ppm. Zavedení ppm viz níže.)

V prvním přiblížení se při vložení molekuly do externího magnetického pole polarizuje elektronový obal jader v molekule. Tím vznikne magnetický moment, který dle Lenzova zákona působí proti vnějšímu poli a vytváří stínění. Lokální pole v místě jádra B_{lokal} se zmenší o σB_0 , kde σ je chemický posuv (konstanta stínění);

$$B_{\text{lokal}} = (1 - \sigma)B_0. \quad (2.5)$$

Rezonanční frekvence stíněných jader klesne na

$$\omega = \gamma(1 - \sigma)B_0, \quad \sigma > 0. \quad (2.6)$$

(V některých případech může být $\sigma < 0$, např. pokud mají prvky ve sloučenině rozdílnou elektronegativitu. Ta vede k částečnému přesunutí elektronů po vazbě a tím k většímu odstínění jádra.) Výše uvedený popis platí pro kapaliny. Pro pevné látky musíme brát σ jako tenzor.

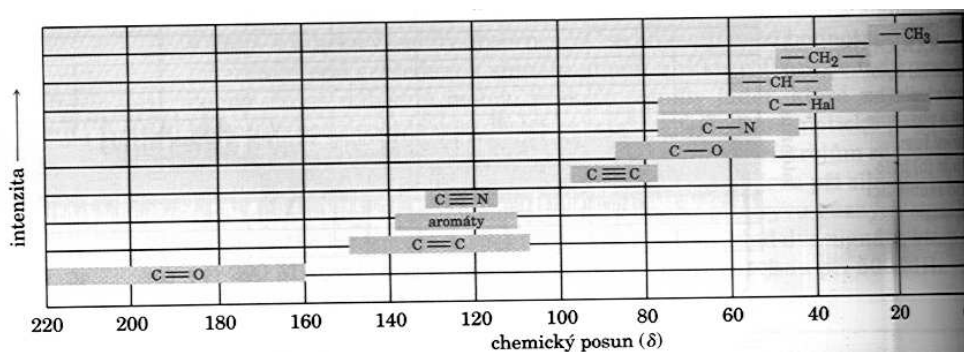
Rezonanční frekvenci určíme jako střed píku ve frekvenčním spektru. Pozici píku ve spektru lze uvádět pomocí Hz nebo rad/s. Ty jsou však závislé na velikosti magnetické indukce B_0 a tudíž je nelze porovnávat při měření na různých spektrometrech. Velikost chemického posuvu se proto udává vzhledem ke zvolenému standardu pro daný izotop jako bezrozměrná jednotka δ – milióntina pracovní frekvence spektrometru, pro kterou platí:

$$\delta = \frac{\omega - \omega_{\text{standard}}}{\omega_{\text{standard}}} 10^6 = \frac{\text{pozorovaný chemický posuv v Hz}}{\text{frekvence spektrometru v MHz}}, \quad (2.7)$$

kde δ je v bezrozměrných jednotkách ppm (parts per milion), ω Larmorova frekvence měřené látky (resp. konkrétního píku) a $\omega_{standard}$ je Larmorova frekvence standardu pro daný izotop. Pro spektrometr o frekvenci 500 MHz $\delta = 1$ odpovídá 500 Hz. Z předchozích tří rovnic je patrné, že vyšší stínění způsobuje menší lokální pole, tudíž menší frekvenci a tím i menší posuv ve spektru (menší δ).

Standard musí být: stálý, rozpustný v běžně používaných rozpouštědlech, neinteragující, jeho pík ve spektru musí být nerozštěpený a nesmí se překrývat s měřenými píky, chemický posuv nesmí být závislý na teplotě ani koncentraci. Pro spektra 1H a ^{13}C se nejčastěji používá tetrametylsilan (TMS), se vzorcem $Si(CH_3)_4$. V této práci je za standard použit sodium 2,2-dimethyl-2-silapentane-5-sulfonate (DSS).

Jak již bylo uvedeno výše, většina jader ^{13}C rezonuje mezi hodnotami δ 0 až 220 – na vyšší frekvenci/při vyšším poli než standard (TMS). Jelikož chemický posun každého atomu uhlíku závisí na jeho elektronovém okolí v molekule, existuje korelace mezi typem atomu uhlíku a chemickým posuvem, viz obr. 4.

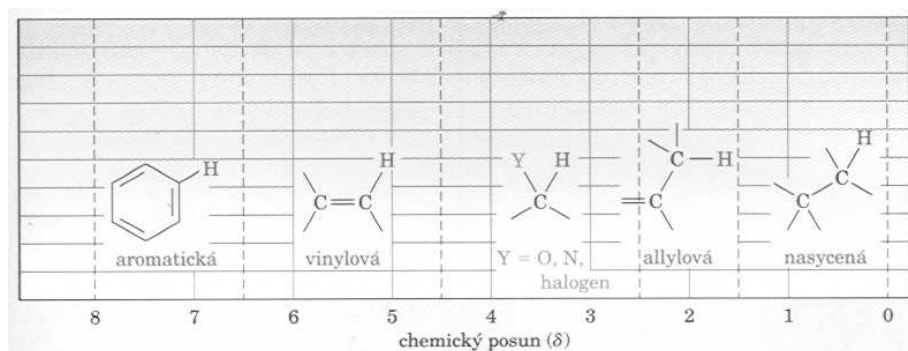


Obrázek 4: Chemický posun v ^{13}C NMR spektrech. Převzato z [6].

Faktory ovlivňující posun ^{13}C jsou složité, avšak existuje několik zákonitostí: 1) Chemický posun atomu uhlíku závisí na elektronegativitě atomů, které jsou na něj vázány, protože elektronegativní atomy přitahují elektrony sousedních atomů a snižují tak jejich stínění. Proto atomy uhlíku vázané na atomy kyslíku, dusíku nebo halogenů mají signál při vyšších frekvencích než atomy uhlíku v alkanech. 2) Chemický posun atomů uhlíku závisí také na jejich hybridizaci – sp^3 hybridizované uhlíky mají signál v oblasti 0 až 90 ppm, kdežto sp^2 hybridizované mezi 110 a 220 ppm. 3) Atomy uhlíku karbonylových skupin ($C=O$) rezonují při extrémě vysokých frekvencích ($\delta=160-220$).

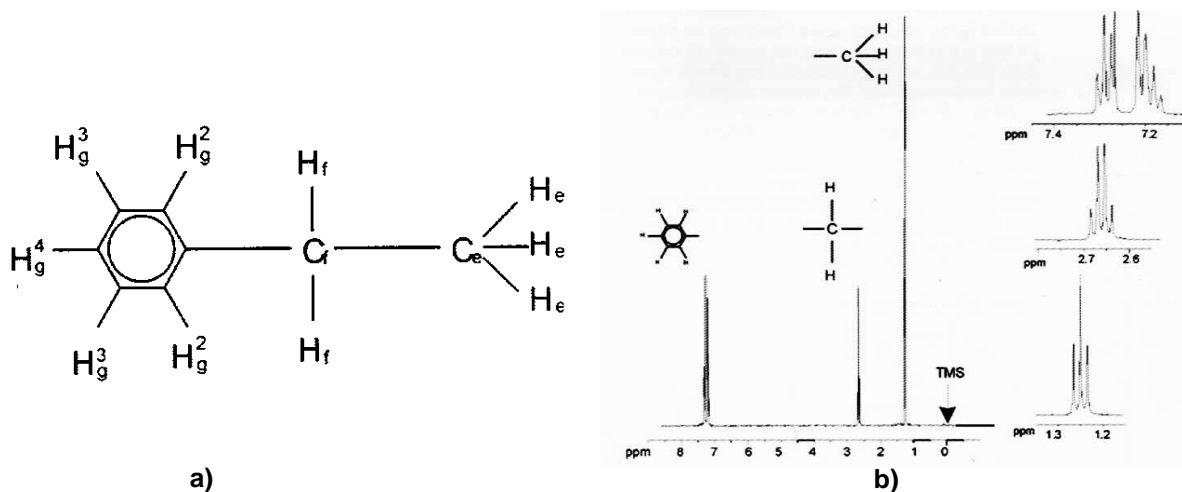
Stejně jako u ^{13}C i ze signálu 1H spekter lze určit chemickou polohu daných protonů. Většina posunů je mezi 0 a 10 ppm. Tuto oblast lze rozdělit do pěti částí, viz obr. 5.

Obecně platí, že signály atomů vodíku vázaných na sp^3 hybridizované uhlíky jsou při nižších frekvencích než vodíky na sp^2 hybridizovaných uhlíkách. Dále atomy vodíku na atomech uhlíku, na kterých jsou vázané elektronegativní atomy, rezonují při vyšších frekvencích [6].



Obrázek 5: Chemický posun v ^1H NMR spektrech. Převzato z [6].

Intenzita signálu (integrální intenzita) je rovna ploše pod křivkou ve frekvenčním spektru a je přímo úměrná počtu jader tvořících daný signál. Proto lze z poměru integrálních intenzit zjistit poměrné zastoupení různě vázaných jader.



Obrázek 6: Etylbenzen: a) vzorec; b) NMR spektrum. Převzato z [3].

Chemický posun a poměr integrálních intenzit lze názorně ukázat na příkladu etylbenzenu – obr. 6a [3]. Vodíky H_e , H_f a H_g jsou v molekule různě vázány. Proto se jejich rezonanční frekvence ve spektru (obr. 6b) liší. Píky jednotlivých skupin jsou rozštěpené, jelikož skupiny na sebe vzájemně působí pomocí spin–spinové interakce (coupling). Např. dva vodíky H_f mohou být ve třech magnetických stavech ($\uparrow\uparrow$, $\uparrow\downarrow=\downarrow\uparrow$, $\downarrow\downarrow$). Šipky znázorňují orientaci spinu: $\uparrow\dots m_I = \frac{1}{2}$, $\downarrow\dots m_I = -\frac{1}{2}$. Pík skupiny H_e se v důsledku spin–spinové interakce s H_f rozdělí na tři píky, tzv. triplet. Prostřední z nich má dvojnásobnou plochu, jelikož nastane jak pro spinovou orientaci ($\uparrow\downarrow$) tak pro ($\downarrow\uparrow$). Tři H_e mohou dohromady být ve čtyřech magnetických stavech ($\uparrow\uparrow\uparrow$, $\uparrow\downarrow\downarrow=\downarrow\uparrow\downarrow=\downarrow\downarrow\uparrow$, $\uparrow\downarrow\uparrow=\uparrow\uparrow\downarrow=\downarrow\uparrow\uparrow$, $\downarrow\downarrow\downarrow$). Proto je

pík H_f čtyřnásobný multiplet. Komplikovanější spektrum aromatické skupiny je důsledkem vzájemného působení jader H_g , jejichž chemické okolí jsou různé.

Plochy pod píky jsou úměrné počtu jader (vodíků) H_g , H_f a H_e v daném stavu, tj. 5:2:3.

2.1.4 Relaxace

Relaxace je jev, při kterém se spinový systém navrácí do termální rovnováhy. Přitom předává přebytečnou energii svému okolí – mřížce. Jádra se spiny 1/2 relaxují převážně kvůli fluktuaci magnetického pole v místě spinu. Fluktuace je způsobena následujícími jevy:

- Přímoú dipól–dipólovou interakcí mezi dvěma spiny v jedné molekule. Při rotaci molekuly se mění směr spojnice spinů vůči směru vnějšího magnetického pole. Pole tvořené jedním jádrem se proto v místě druhého jádra neustále mění.
- Anizotropií chemického posuvu (CSA – chemical shift anisotropy), která je způsobena nesymetrickým obíháním elektronů kolem molekul a tudíž různým stíněním pro různé části molekul. CSA se projevuje u molekul s nesymetrickým tvarem a její vliv roste se silou vnějšího magnetického pole.
- Spin–rotační interakcí. Jak molekuly rotují, rotují s nimi i jejich elektrony a vytvářejí tím lokální magnetické pole. Vliv této interakce se projevuje zejména u malých molekul, které rychle rotují; tj. v plynech nebo v neviskózních kapalinách.

V kapalných vzorcích je přímá dipól–dipólová interakce středována k nule rotačním molekulárním pohybem, ale její vliv na relaxaci je největší; ostatní relaxační mechanismy lze zanedbat.

Uvažujme nyní soubor nevázaných spinů 1/2, vystavených dvěma poli: 1) velkému statickému poli B_0 podél z -osy, stejnému pro všechny spiny; 2) malému magnetickému poli $B_x(t)$ podél x -osy, fluktuujícímu v čase. Fluktuace B_x pro dva spiny spolu nesouvisí v detailu, ale mají stejnou obecnou časovou škálu a amplitudu.

V nejjednodušším modelu se předpokládá, že fluktuace transversálního pole má následující vlastnosti:

- Fluktuující pole má nulový průměr – neustále kmitá mezi kladnými a zápornými hodnotami x :

$$\langle B_x(t) \rangle = 0 \quad (2.8)$$

Průměr je brán buď přes dlouhý čas pro 1 spin, nebo pro mnoho spinů v jeden okamžik. (Oba přístupy jsou brány jako ekvivalentní – ergodynamická hypotéza.)

- Velikost fluktuujícího pole je definována jako střední kvadratické pole

$$\langle B_x^2(t) \rangle \neq 0 \quad (2.9)$$

protože samotná střední hodnota je nulová.

- Předpokládá se, že fluktuující pole jsou nezávislé na spinu – na jeho orientaci a na orientaci jiných spinů. (Tento předpoklad není zcela platný pro dipól–dipólovou relaxaci.)
- K vyjádření rychlosti fluktuace se používá autokorelační funkce pole

$$\mathbb{G}(\tau) = \langle B_x(t)B_x(t + \tau) \rangle \neq 0, \quad (2.10)$$

kde τ je časový interval. Rychlost úbytku a forma autokorelační funkce je podstatná pro spinovou relaxaci.

Autokorelační funkce je nezávislá na čase t a pro $\tau = 0$ se rovná střednímu kvadratickému poli. S rostoucím intervalem τ je vyšší pravděpodobnost že $B_x(t)$ a $B_x(t + \tau)$ se budou lišit znaménkem a $\mathbb{G}(\tau)$ proto klesá. Často se předpokládá exponenciální závislost:

$$\mathbb{G}(\tau) = \langle B_x^2 \rangle e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}}. \quad (2.11)$$

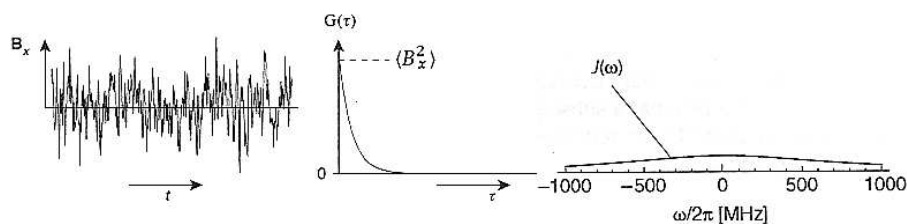
Parametr τ_c se nazývá korelační čas fluktuací. Pro rychlé fluktuace je malý a obráceně. Rotující molekuly v kapalině mívají τ_c v řádech ps až ns. Korelační čas fluktuací závisí na teplotě, protože s ohříváním vzorku se zrychluje molekulární pohyb. Kvalitativně korelační čas ukazuje, jak dlouho trvá, než náhodné pole změní znaménko.

Pro popis naměřeného signálu se zavádí spektrální hustota \mathbb{J} , rovná dvounásobku Fourierovy transformace autokorelační funkce:

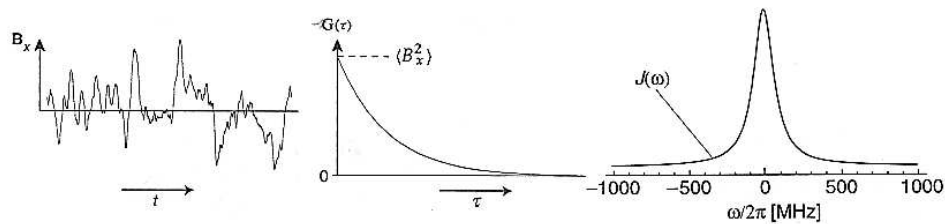
$$\mathbb{J}(\omega) = 2 \int_0^{\infty} \mathbb{G}(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau. \quad (2.12)$$

Pro fluktuující pole podél x–osy s exponenciálním poklesem (rce. (2.11)) platí:

$$\mathbb{J}(\omega) = 2 \langle B_x^2 \rangle \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}, \quad (2.13)$$



Obrázek 7: Fluktuující pole, autokorelační funkce a spektrální hustota pro rychlou fluktuaci. Převzato a upraveno z [7].



Obrázek 8: Fluktuující pole, autokorelační funkce a spektrální hustota pro pomalou fluktuaci. Převzato a upraveno z [7].

Běžně se pod pojmem ”spektrální hustota” myslí ”normovaná spektrální hustota” \mathcal{J} , rovná poslední části rce. (2.13) [7]:

$$\mathcal{J}(\omega) = \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}. \quad (2.14)$$

V případě, že je fluktuace pole rychlá, pak je korelační čas krátký, autokorelační funkce klesá rychle a funkce spektrální hustoty je široká (obr. 7). V opačném případě je pokles korelační funkce pomalý a pík spektrální hustoty úzký (obr. 8). Plocha pod $\mathcal{J}(\omega)$ je nezávislá na τ_c .

2.1.5 Podélná/spin–mřížková relaxace

Bez externího magnetického pole \mathbf{B}_0 jsou energetické hladiny jader (spinů) obsazeny se stejnou pravděpodobností, tj. $\mathbf{M}_0 = 0$. Po zapnutí magnetického pole přejde systém do nové rovnováhy, určené Boltzmanovým vztahem (2.2). Magnetizace \mathbf{M}_0 , daná součtem magnetických momentů jednotlivých spinů, tedy rozdílem rovnovážných hodnot populací jader na jednotlivých hladinách, již není nulová. Časový vývoj z–ové složky magnetizace $M_z(t)$ během jejího návratu do rovnováhy lze popsat obyčejnou diferenciální rovnicí:

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1}. \quad (2.15)$$

Po vyřešení dostaneme

$$M_t(t) = M_0 \left(1 - 2e^{-\frac{t}{T_1}} \right). \quad (2.16)$$

Konstantu T_1 nazýváme podélným/spin–mřížkovým relaxačním časem, $\frac{1}{T_1} = R_1$ rychlostní konstantou. T_1 určuje, za jak dlouho přejde systém z nerovnovážného stavu do rovnováhy. Přitom se přebytečná energie ze spinového systému uvolní do okolí (mřížky). Tomuto jevu říkáme podélná nebo spin–mřížková relaxace. (Název ”spin–mřížková” pochází z dob, kdy se měřilo především NMR krystalických vzorků, kde okolím spinů byla krystalická mřížka [6].)

Relaxace hraje významnou roli v pozorování rezonančního signálu. Pokud na systém spinů zapůsobíme radiofrekvenčním polem B_{rf} , sklopí se celková magnetizace o úhel α od z -osy. Systém se však snaží pomocí relaxace dostat zpět do rovnovážné polohy a tak je část energie z radiofrekvenčního pulsu předána okolí ve formě tepla. Amplituda nové rovnovážné magnetizace závisí na podélné relaxaci a amplitudě pole B_{rf} . Pro silné B_{rf} pole na frekvenci $\omega = \omega_0$ je maximální intenzita

$$I(\omega_0) = \frac{\textit{konstanta}}{B_{rf}T_1}. \quad (2.17)$$

Dlouhé relaxační doby T_1 a velké amplitudy B_{rf} snižují intenzitu signálu. Naopak krátké relaxační časy rozšiřují rezonanční čáry, protože doba života jader v excitovaném stavu klesá a to způsobuje nepřesnost v určení energiového rozdílu ΔE (dle principu neurčitosti). V roztocích syntetických polymerů jsou podélné relaxační časy řádově sekundy a příspěvek k rozšíření spektrální čáry okolo 0,1 Hz. Protože protony jsou většinou na povrchu molekuly, je jejich relaxace silně ovlivněna intermolekulárními interakcemi. Na druhou stranu pro více stíněné molekuly, např. ^{13}C , dominují intramolekulární interakce.

Dipól–dipólovou relaxaci, nejdůležitější relaxační mechanismus pro spiny 1/2, dvou spinového systému popisují Solomonovy rovnice (viz [7]). Pro spin–mřížkovou relaxační dobu protonů (^1H – ^1H interakce) z nich vyjde [7]:

$$\frac{1}{T_1^{HH}} = \frac{3}{10}b^2 (\mathcal{J}(\omega_0) + 4\mathcal{J}(2\omega_0)). \quad (2.18)$$

Spektrální hustota \mathcal{J} je definována v rovnici (2.14) a b je

$$b = -\frac{\mu_0 \hbar \gamma_H^2}{4\pi r_{HH}^3}, \quad (2.19)$$

kde r_{HH} je vzdálenost mezi spiny, které spolu interagují dipól–dipólovou interakcí. Jelikož dipól–dipólová interakce protonů působí převážně intermolekulárně, není jejich vzdálenost r_{HH} známa a výše uvedený vztah není příliš použitelný.

$1/T_1$ je nepřímo úměrné šesté mocnině vzdálenosti spinů r . Zdálo by se proto, že pomocí výše uvedených rovnic by šlo odhadnout vzdálenost interagujících spinů měřením T_1 . To není možné ze dvou důvodů: 1) Molekuly obsahují více než dva spiny a proto je T_1 superpozicí mnoha dipól–dipólových vazeb, jejichž příspěvky je těžké oddělit. 2) K relaxaci přispívají i jiné relaxační mechanismy a neexistuje jednoduchá metoda jak je od sebe separovat.

Pro uhlíkové relaxace jsou nejdůležitější dipól–dipólové interakce ^{13}C – ^1H . Vzdálenost těchto spinů je dána délkou vazby. Zde lze použít rovnici [2]:

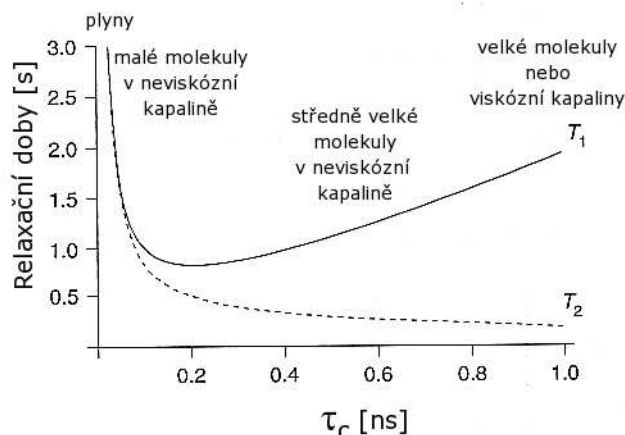
$$\frac{1}{T_1^{CH}} = \frac{\mu_0 \hbar \gamma_C^2 \gamma_H^2}{2\pi r_{CH}^6} \tau_c = \frac{\mu_0}{8\pi} (DCC)^2, \quad (2.20)$$

kde DCC je dipól–dipólová interakční konstanta a od b se liší pouze zaměněním γ^2 za $\gamma_C \gamma_H$.

$$DCC = \frac{\mu_0 \hbar \gamma_C \gamma_H}{2\pi r_{CH}^3} \quad (2.21)$$

Závislost T_1 na korelačním čase je uvedena v grafu 9. Molekuly plynu mají nejkratší korelační čas. Následují malé molekuly v neviskózním prostředí. Velké molekuly nebo molekuly ve viskózním prostředí mají za pokojové teploty korelační čas několik ns. V NMR se nejvíce měří středně velké molekuly v neviskózním prostředí při pokojové teplotě, tedy poblíž minima T_1 . Malá hodnota T_1 dovoluje rychlejší průměrování NMR signálu a tím relativně vysoký poměr signál–šum s daným experimentálním časem.

Závislost podélné relaxační doby na korelačním čase má minimum – relaxace je nejefektivnější pro střední spektrální hustotu τ_c . Je-li τ_c příliš krátká, je spektrální hustota v závislosti na frekvenci široká a pro jakoukoliv frekvenci má nízkou hodnotu. Naopak pro příliš dlouhé τ_c je pík spektrální hustoty úzký a její hodnota pro jakoukoliv vyšší frekvenci opět malá. (Viz např. hodnoty spektrální hustoty pro $\omega/2\pi=500$ MHz v obr. 7 a 8.)



Obrázek 9: Závislost relaxačních dob na korelačním čase. (Počítáno pro $B_0=11,74$ T a $r=0,2$ nm.) Převzato a upraveno z [7].

V praxi závisí T_1 na teplotě, protože náhodně fluktuující pole pochází z molekulárního prostředí a korelační čas τ_c je teplotně závislý. Ohřátí vzorku vede k rychlejším fluktuacím a proto ke kratším τ_c . Jak se mění T_1 s teplotou závisí na poloze T_1 vůči minimu.

T_1 taky závisí na velikosti magnetického pole, protože ω_0 je úměrná B_0 .

2.1.6 Příčná/spin–spinová relaxace

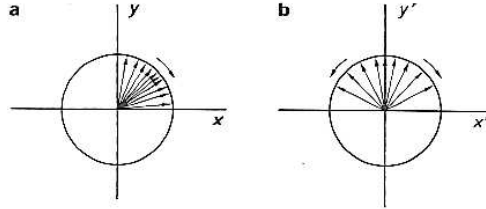
Kromě z–ové magnetizace existuje i magnetizace v rovině xy . Jelikož se časová závislost M_z a M_{xy} většinou liší, zavádí se druhá relaxační doba: spin–spinová/příčná relaxační doba T_2 . Dalším důvodem k zavedení T_2 je šířka čáry ve spektru. Podélná relaxace většinou přispívá méně než 0,1 Hz, ale pozorované čáry jsou mnohem širší [2].

V nejjednodušším případě (pro kapaliny) je $T_1 = T_2$; co ubude v M_{xy} , přibude v M_z . Příčná magnetizace se však může zmenšit aniž by se zvětšila podélná ($T_2 < T_1$).

Podstatný mechanismus pro příčnou relaxaci je založený na přenosu energie uvnitř spinového systému. Každý přechod jádra mezi jeho spinovými stavy změní lokální pole

sousedních jader na té správné frekvenci, takže stimuluje přechod v opačném směru. Doba života spinového systému je tímto procesem zkrácena, což přispívá k rozšíření NMR čar (podobně jako u podélné relaxace). Celková energie spinového systému se přitom nemění. Příčná relaxace tohoto druhu může být považována za entropický proces, kdežto spin-mřížková relaxace je procesem entalpickým [2].

V kapalinách je nejdůležitějším faktorem časové závislosti M_{xy} nehomogenita ΔB_0 magnetického pole B_0 . Vystavení jednotlivých spinů různému externímu magnetickému poli způsobí rozptyl v Larmorových frekvencích a tím "rozvějírování" M_{xy} . (Viz obr. 10.) Výsledná hodnota M_{xy} se tímto sníží, ale hodnota M_z se nezmění.



Obrázek 10: Příčná relaxace v laboratorní a rotující soustavě. Převzato z [2].

Podle kvantitativního klasického přístupu k rezonančnímu procesu a pro malé amplitudy B_1 ($\gamma^2 B_1^2 T_1 T_2 \ll 1$) je rezonanční signál popsán rovnicí:

$$I(\omega) = \frac{\textit{konstanta} B_1 T_2}{1 + (\omega_0 - \omega)^2 T_2^2}. \quad (2.22)$$

Intenzita signálu v místě rezonance ($\omega = \omega_0$) je přímo úměrná relaxační době:

$$I(\omega_0) = \textit{konstanta} B_1 T_2. \quad (2.23)$$

Časový průběh měřené magnetizace má tvar:

$$M(t) = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}}. \quad (2.24)$$

Pro pološířku píku $\Delta\nu$ platí

$$\Delta\nu = \frac{1}{\pi T_2^*} \quad (2.25)$$

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{\gamma \Delta B_0}{2}, \quad (2.26)$$

kde T_2^* je relaxační doba naměřená z pološířky čáry, T_2 vlastní relaxační doba a třetí člen je příspěvek od nehomogeního rozšíření čáry, vzniklý nehomogenitou magnetického pole \mathbf{B}_0 . Tyto nehomogenity lze korekcemi magnetického pole \mathbf{B}_0 , tzv. shimováním, minimalizovat, ne však odstranit.

Jelikož je dipól–dipólová interakce hlavním mechanismem relaxace, lze opět napsat vztahy pro závislost příčné relaxační doby na korelačním čase. Pro protonovou T_2 platí [7]:

$$\frac{1}{T_2^{HH}} = \frac{3}{20}b^2 (3\mathcal{J}(0) + 5\mathcal{J}(\omega_0) + 2\mathcal{J}(2\omega_0)). \quad (2.27)$$

Pro uhlíky dostaneme [8]:

$$\frac{1}{T_2^{CH}} = \frac{1}{4}N_H(DCC)^2 \left(2\mathcal{J}(0) + \frac{1}{2}\mathcal{J}(\omega_H - \omega_C) + \frac{3}{2}\mathcal{J}(\omega_C) + 3\mathcal{J}(\omega_H) + 3\mathcal{J}(\omega_H + \omega_C) \right), \quad (2.28)$$

kde N_H určuje počet protonů přímo navázaných na jádra uhlíků.

Graficky je znázorněna v grafu 9. Je vidět, že narozdíl od podélné relaxační doby T_2 s korelačním časem stále klesá a naopak s teplotou stále roste. Oblast, kde $T_1 = T_2$ se nazývá extrémní zúžení.

Pro polymery v kapalině je T_2 řádově jednotky až stovky ms.

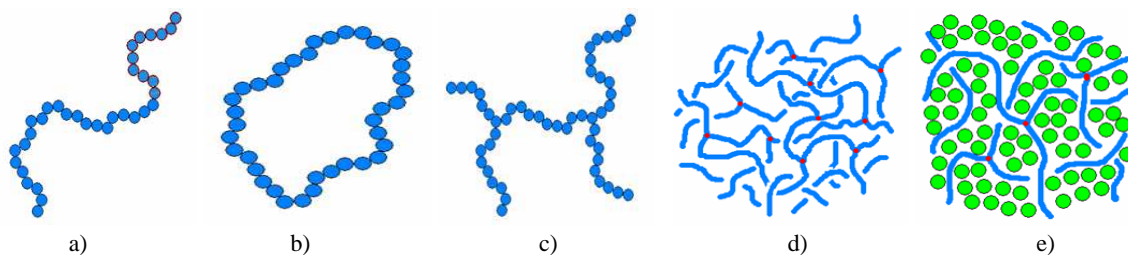
2.2 Polymery a hydrogely

2.2.1 Polymery

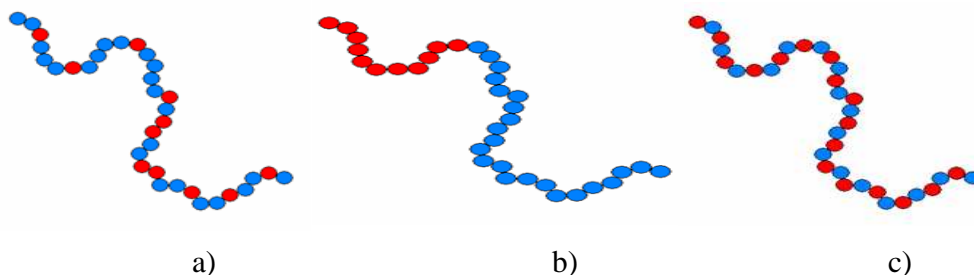
Polymery jsou makromolekulární látky tvořící dlouhé řetězce. Skládají se z mnoha stavebních jednotek – monomerů. (Počet monomerních jednotek u syntetických makromolekul se pohybuje mezi 10^2 a 10^6 , u DNA mezi 10^9 a 10^{10} .) Polymery (americký název) neboli makromolekuly (německý název) se vyznačují malou pohyblivostí a velkou ohebností řetězců. Podle stavby je lze rozdělit do několika skupin:

- lineární – monomerní jednotky řazeny do jednoho řetězce (tj. mají jen dvoufunkční/-dvouvazné monomery), obr. 11a,
- cyklické – lineární polymer spojený do kruhu, obr. 11b,
- větvené – z hlavního řetězce odbočují řetězce vedlejší, obr. 11c,
- polymerní síť – sesíťované větvené polymery do jedné molekuly; na rozdíl od větvených polymerů nejsou rozpustné ve vodě ale botnají, obr. 11d,
- polymerní gely – polymerní síť s rozpouštědlem; tvoří také jednu molekulu jako polymerní síť, ale o větším objemu (obsahují i rozpouštědlo), obr. 11e.

Skládá-li se polymer z více druhů monomerních jednotek, mluvíme o kopolymeru. První kopolymery byly připraveny kolem roku 1920 při hledání náhrady za přírodní kaučuk. Způsobů navázání dvou různých monomerů za sebe existuje více. Při náhodném střídání monomerních jednotek mluvíme o statistickém kopolymeru, obr. 12a. Tento typ je nejčastější, neboť se nejnáze připravuje. Dále známe kopolymer blokový, obr. 12b, s bloky monomerů a alternující, obr. 12c, kde se monomery střídají pravidelně.



Obrázek 11: Druhy polymerů: a) lineární; b) cyklický; c) větvený; d) polymerní síť; e) polymerní gel. Převzato z [9].



Obrázek 12: Druhy kopolymerů: a) statistický; b) blokový; c) alternující. Převzato z [9].

2.2.2 Hydrogely

Hydrogely jsou polymerní sítě, bobtnající ve vodě a jejích roztocích. Mají řadu vlastností vhodných pro praktické aplikace, např. zvýšenou chemickou a tepelnou vodivost nebo vratnost deformace pro velké oblasti deformací.

Hydrogely po vložení do vody bobtnají, tzn. přijímají rozpouštědlo. Jsou schopny svůj objem zvětšit sto- až tisíckrát. Stupeň nabobtnání, tj. kolik vody je hydrogel schopen přijmout, závisí na

- struktury sítě gelů (síťové hustotě),
- interakcích polymeru s rozpouštědlem (v některých rozpouštědlech gel bobtná dobře, v jiných vůbec),
- nekovalentních interakcích (elektrostatické, hydrofóbní, vodíkové můstky),
- vnějších faktorech jako je teplota, pH, intenzita elektrického pole...

Pokud při malé změně vnějších parametrů dojde ke skokové změně objemu gelu, mluvíme o fázovém přechodu prvního druhu, o kolapsu [10]. Během něj se skokově nemění jen objem, ale i index lomu, vodivost, komplexní permitivita a mechanické vlastnosti.

2.2.3 Aplikace hydrogelů

Hydrogely jsou schopny interaktivně měnit svůj objem a navíc jsou netečné k živým tkáním, což umožňuje jejich využití v biotechnologiích a lékařství. Schopnost rychle přejít z expandovaného do zkolabovaného stavu lze využít v umělých svalech, fungujících na principu kolapsu. Změna viskozity hydrogelu, způsobená malou změnou teploty, se uplatní v očních kapkách – po zahřátí na teplotu lidského těla hydrogel zviskózní a vydrží tak v oku i několik hodin. Stejného principu lze využít i na zpevnění kotníků např. u kolečkových bruslí – polštářek s původně tekutým gelem se po kontaktu s nohou ohřeje, ztvrdne a dokonale drží kotník, aniž by tlačil. Kolaps zapříčiněný malou změnou pH lze využít při řízeném uvolňování inzulínu u diabetiků – inzulín obalený gelem se vpraví do těla a při poklesu pH krve bude kontrolovaně uvolňován. Dalším využitím hydrogelů může být zahušťování velmi zředěných roztoků. Vložíme-li do nich malý kousek hydrogelu, dojde k jeho rychlé expanzi. Molekuly rozpouštědla budou rychle pronikat do struktury hydrogelu, který tím nabotná. Nabotnalý gel můžeme vysušit a celý proces opakovat dokud koncentrace roztoku nestoupne na požadovanou hodnotu [11]. Porézní hydrogely lze použít i jako teplotně citlivé filtry, pokud na povrchy pórů naroubujeme teplotně citlivé polymery a tím získáme teplotně citlivou poréznost [12]. Botnání lze využít i v hračkářském půmyslu. V poslední době se na trh dostávají umělá zvířátka (především žáby), která po vložení do vody vratně nabotnají na několiknásobek své původní velikosti.

2.2.4 Fázová separace v polymerních roztocích

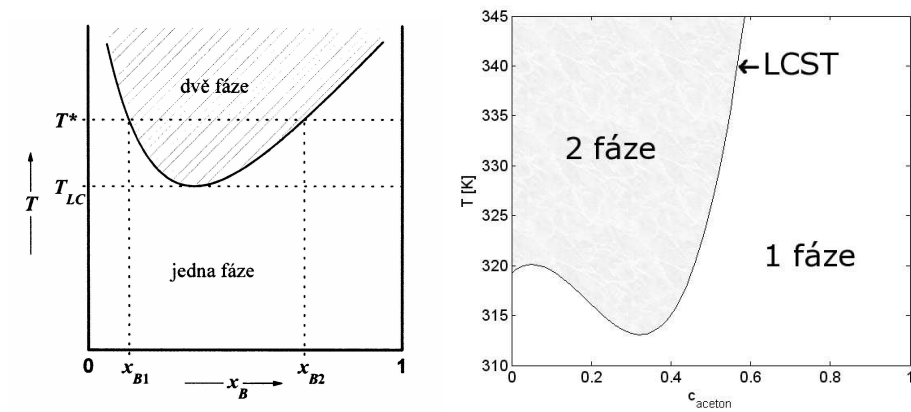
Z předchozí kapitoly je zřejmé, že hydrogely jsou perspektivní materiály. Proto je nutné jejich vlastnosti, zvláště závislost kolapsu na malých změnách vnějších vlivů, nadále studovat.

Pohyblivost polymerních řetězců v gelech je díky uzlům omezena a příslušné pásy v NMR spektrech jsou příliš široké. Vhodnější pro studium pomocí NMR spektroskopie jsou tak roztoky lineárních polymerů, kde dochází k fázové separaci. Je-li kolaps gelu vyvolán změnou teploty, pak v roztoku polymeru se stejnou chemickou strukturou dochází k teplotně indukované fázové separaci při podobné teplotě.

Fázovou separaci polymerních roztoků lze nejlépe vysvětlit na systému složeném ze dvou kapalin A a B, které jsou mísitelné jen při některých koncentracích a teplotách, viz obr. 13 vlevo.

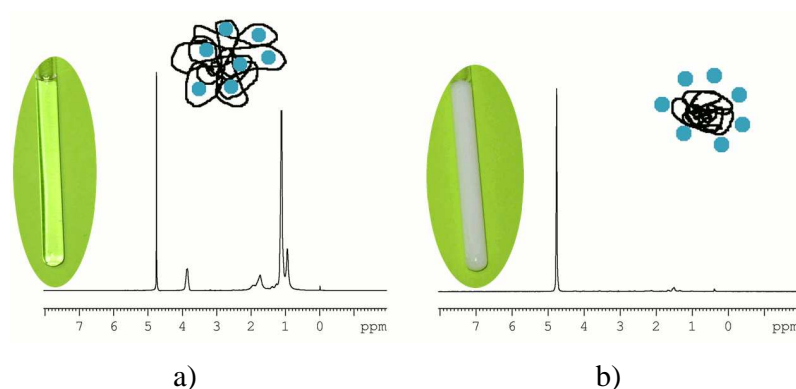
Je-li při teplotě T^* molární zlomek kapaliny B menší než x_{B_1} , je B rozpuštěna v kapalině A. Naopak překročí-li molární zlomek B hodnotu x_{B_2} , je A rozpuštěno v B. Mezi oběma krajními koncentracemi se kapaliny nemísí, existují dvě fáze. Podobné chování se objevuje i v závislosti na teplotě. Pod T_{LC} se kapaliny mísí, nad ní ne. Teplotu T_{LC} nazýváme dolní kritickou rozpouštěcí teplotou – LCST (Lower Critical Solution Temperature). Jsou-li kapaliny mísitelné jen nad určitou teplotou, jedná se o horní kritickou rozpouštěcí teplotu – UCST (Upper Critical Solution Temperature).

Teploty LCST, kterou budeme dále uvažovat, a UCST existují i u polymerních roztoků. Polymer vykazující LCST je pod touto teplotou zcela rozpuštěn a volně se v rozpouštědle



Obrázek 13: T–x fázový diagram vykazující LCST (vlevo) [13] a T–c fázový diagram polymeru rozpuštěného ve směsném rozpouštědle voda/acetone vykazující LCST.

pohybuje, obalen obálkou z molekul vody, viz obr. 14a. Převládají v něm hydrofilní vazby polymer–rozpuštědlo (vodíkové můstky). Roztok polymeru a rozpouštědla je čirý; při měření pomocí NMR spektroskopie získáme úzké píky (řádově desítky Hz), jelikož řetězce polymeru se mohou volně pohybovat. Tento stav nazýváme klubko.



Obrázek 14: Fázový přechod polymeru z klubka a) do zkolabovaného stavu – globule b). Spektra jsou pořízena pomocí NMR spektroskopie. Zkumavky znázorňují zakalení polymeru nad LCST. Schematický obrázek nad spektrem ukazuje, že pod LCST jsou řetězce (černě) volně pohyblivé a obsahují vodu (modré kuličky), kdežto nad LCST je voda z polymeru vytlačena.

Při zvýšení teploty nad LCST se náhle oslabí vodíkové můstky, v polymeru převáží hydrofóbní interakce polymer–polymer, polymerní řetězce protrhnou vodní obálku, začnou spolu interagovat a polymer se sbalí do tzv. globule, obr. 14b, přičemž ze sebe vytěsní rozpouštědlo. Tím zmenší svou pohyblivost, jeho pík v NMR spektru se rozšíří (řádově stovky

Hz) a stane se ve spektru vysokého rozlišení neměřitelným. Takto separovaný polymer již není průhledný, ale zakalený. V jednotlivých globulích je vždy několik polymerních řetězců. Jednotlivé globule jsou od sebe oddělené a neshlukují se do makroskopické separace; tvoří tzv. koloidně stabilní systém.

Výše uvedenému jevu říkáme fázová separace polymerních roztoků či přechod klubko-globule. Aby mohl nastat, musí mít polymer v bočním řetězci hydrofilní skupinu (N, O), která je schopna tvořit vodíkové můstky.

Rozpustnost polymeru v rozpouštědle závisí na poměru obou složek, tj. koncentraci polymeru, stejně jako u mísitelnosti dvou kapalin. Podstatný je vztah LCST a složení rozpouštědla, viz obr. 13 vpravo. V tomto konkrétním případě je samotný polymer rozpustný v čisté vodě až do teploty 320 K. Pro vyšší teploty dojde k fázové separaci. S rostoucím poměrem aceton/voda LCST klesá, až dosáhne minima. Pro vysoké koncentrace acetonu je polymer v rozpouštědle rozpustný za všech teplot.

Pro popis fázové separace dělíme polymery na tři typy 1–3 [12]:

1. Polymer vykazuje klasické Flory–Hugginsovo chování; LCST se s rostoucí molární hmotností posouvá k nižším polymerním koncentracím; např. poly(*N*-vinylnkaprolaktam) PVCL.
2. Délka řetězce neovlivňuje polohu minima ve fázovém diagramu; např. poly(*N*-isopropylacrylamide) PIPAAm.
3. Třetím typem jsou bimodální polymery, které mají dvě kritická maxima pro nízké a vysoké polymerní koncentrace, odpovídající typům I a II. Příkladem je polyvinylmethylether PVME.

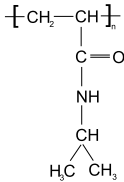
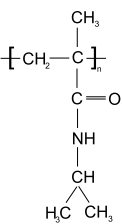
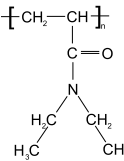
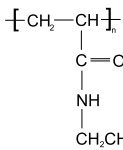
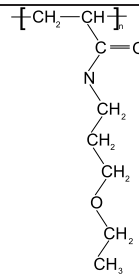
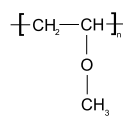
Kapitola 3

Teplotně indukovaná fázová separace polymerů - současný stav problematiky

Na rozhraní 60. a 70. let 20. století se při analýze Flory-Hugginsovy rovnice pro rovnováhu v polymerních sítích zjistilo, že za vhodných podmínek mohou v síti teoreticky koexistovat dvě polymerní fáze, lišící se stavbou řetězců a koncentrací segmentů. Při malé změně v interakcích mezi polymerem a roztokem, dané změnou vnějších parametrů, mělo docházet ke značné změně ve stupni botnění gelu, ke kolapsu. Uvedený jev měl vykazovat znaky fázového přechodu prvního druhu. O deset let později kolaps experimentálně našel japonský vědec Toyochi Tanaka [10] při botnění polyakrylamidových gelů v roztocích vody a acetonu.

Po téměř třiceti letech zkoumání je známo, že teplotu fázové separace (LCST) v polymerních roztocích lze ovlivnit volbou polymeru, kopolymerizací s hydrofóbnějším/hydrofilnějším monomerem nebo nabitým komonomerem. Dále má na LCST vliv typ rozpouštědla a množství rozpuštěných solí. V následujícím textu budou uvedeny experimentální výsledky k výše uvedeným tématům.

Nejprve se zaměříme na homopolymery ve vodě. Polyakrylamid (PAAm), na jehož gelu Tanaka experimentálně objevil fázovou separaci, se se změnou teploty neseperuje. U složitějších polymerů na akrylamidové bázi už k teplotně indukované fázové separaci dochází. Poly(*N*-isopropylakrylamidu) (PIPAAm) stačí 34°C [14]; poly(*N,N*-diethylakrylamidu) (PDEAAm) 32°C [15] a poly(*N*-ethoxypropylakrylamidu) (PEPA) 33°C [16]. Pro poly(*N*-isopropylmethakrylamid) (PIPMAM) je LCST 43°C [14] a pro poly(*N*-ethylakrylamid) (PEA) 82°C [15]. V tabulce 1 jsou uvedeny teploty LCST, spolu se vzorci polymerů. PIPMAM se od PIPAAm liší pouze α -methylovou skupinou, přesto má LCST o 15°C vyšší. Důvodem je právě α -methylová skupina, která při sbalování řetězce do globule překáží a tím LCST zvyšuje. Ještě větší vliv na zvýšení LCST má OH v bočním řetězci PEA. OH tvoří vodní můstky s molekulami vody a zabraňuje tak separaci. Uvedené teploty fázové separace nezávisí na koncentraci polymeru ve vodě. (S výjimkou polymeru PEPA, kde dochází k poklesu LCST ze 42°C na 33°C pro malé koncentrace, menší jak 1 hm% polymeru.)

polymer	PIPAAm	PIPMAm	PDEAAm	PEA	PEPA	PVME
LSCT [°C]	34	43	32	82	~ 33	34 [17]
T _g [°C]	130 [17]	176 [18]	86 [19]	139 [20]		-82-(-22)[17]
vzorec						

Tabulka 1: Přehled teplot fázové separace pro homopolymery rozpuštěné ve vodě.

Teploty LCST se mohou lehce měnit s molekulovou hmotností polymerů.

Pro vybraný homopolmer lze změnit jeho LCST kopolymerizací s jiným monomerem. H. Y. Liu a X. X. Zhu [15] studovali vodné roztoky kopolymerů z následujících monomerů: PAAm, poly(dimethylakrylamid) (PDMAAm), PEA, PIPAAm, PDEAAm a poly(tetra-butylakrylamid) (PTBAAm). (Seřazeny od hydrofilních k hydrofóbním.) První dva polymery jsou ve vodě rozpustné za každé teploty. Oproti tomu PTBAAm je vždy nerozpustný. Po kopolymerizaci různých kombinací vždy dvou výše uvedených monomerů se zjistilo, že LCST kopolymeru leží mezi teplotami separace pro jednotlivé monomery. Pro proložení závislosti LCST kopolymeru na molárním zlomku jednoho z monomerů lze použít vztah:

$$T = \frac{x_1 T_1 + K x_2 T_2}{x_1 + K x_2}, \quad (3.1)$$

kde T je LCST kopolymeru, T_1 a T_2 LCST pro jednotlivé monomery, x_1 a x_2 jejich molární zlomky a K fitační konstanta. Z provedených výsledků vyplývá, že LSCT roste s větším molárním zlomkem hydrofilního polymeru v kopolymeru. Čím je kopolymer hydrofilnější, tím je tento nárůst strmější. Podobně jako u homopolymerů LSCT měřených kopolymerů nezávisí výrazně na koncentraci.

Jelikož kopolymerizací s jiným monomerem lze docílit výrazných změn v teplotě fázové separace, naskytá se otázka, jestli by nestačilo oba polymery pouze smíchat ve vodě. Tímto tématem se zabývali [14, 21, 22], kteří studovali dvojice polymerů PIPMAm + PIPAAm [21, 22] a PIPMAm + poly(vinylmethylether) (PVME) [14]. Pro samotné homopolymery ve vodě nezáviselo LCST na polymerní koncentraci, rychlosti ohřívání/chlazení, ani na molekulové váze polymeru. U směsi homopolymerů byly naměřeny dvě teploty fázové separace. Pro polymer s nižší LCST (PIPAAm, PVME) nezávisela teplota separace na přítomnosti druhého polymeru. Oproti tomu pro PIPMAm, který kolabuje při vyšší teplotě, byla naměřena závislost LCST na polymerní koncentraci: Při vyšší koncentraci se polymerní řetězce vzájemně více ovlivňují a LSCT proto klesá [14]. Roztok kopolymeru PIPMAm/PIPAAm má jen jednu teplotu fázové separace. Ta je lineární v závislosti na molárním zlomku PIPMAm. Proto lze změřením LCST určit zastoupení složek v kopolymeru [22].

Výše uvedené se týká neutrálních polymerů. Jak se mění teplota fázové separace při kopolymerizaci s nabitým komonomerem? Pro PIPMAm a komonomer methakrylát sodný (MNa) nalezneme odpověď v [14, 23]. Pro polymerní koncentraci 1 hm% s rostoucí koncentrací MNa v kopolymeru roste náboj v kopolymeru. Řetězce se vzájemně více odpuzují a proto LCST roste – je nutná vyšší teplota k překonání odpudivých interakcí. Zmenšuje se i procento řetězců sbalených do globulí. Sníží-li se koncentrace polymeru desetkrát, závislost se obrátí – s rostoucí koncentrací MNa bude LCST klesat, a to až pod hodnotu pro samotný PIPMAm. Rozdíl chování pro obě koncentrace způsobují intermolekulární síly. Pro vyšší koncentraci kopolymeru jsou důležité. U nižší koncentrace se jedná o zředěný roztok, kde jsou globule tvořeny převážně z jednotlivých makromolekul a mezimolekulární síly zde nehrají roli.

Variabilita ve volbě homo/kopolymeru již byla vyčerpána. Proto se nyní zaměříme na jiné příměsi v rozpouštědle – na soli. Studie byla provedena na roubovaném kopolymeru poly(allylaminu)-g-poly(isopropylakrylamidu) (PAH-g-PIPAAm) [24]. Pro rostoucí množství chloridu sodného (NaCl) ve vodě LCST kopolymeru klesá. (Z 34°C pro čistou vodu až k 23°C pro jeden mol NaCl na litr vody.) Důvodem je tzv. "salt out efekt", kdy sůl ve vodě disociuje a neutralizuje náboj na nabitých PAH jednotkách. Čím je ve vodě více soli, tím méně náboje brání ve sbalení řetězce a teplota fázové separace proto klesá. Hydrodynamický poloměr (poloměr globulí) největších struktur, měřený pomocí dynamického rozptylu, se při teplotě fázové separace skokově zvýší z cca. 20 nm na přibližně 150 nm, nezávisle na koncentraci soli. Největší globule vznikají v čisté vodě (163 nm), kde není žádný náboj na PAH jednotkách neutralizován. Řetězce se proto odpuzují a nemohou se sbalit příliš těsně. S rostoucí koncentrací soli velikost globulí díky neutralizaci náboje klesá. K poklesu přispívá i osmotický tlak: po sbalení globulí se v jejich okolí vyskytuje velká koncentrace soli a osmotickým tlakem je tam vtahována voda z globulí. U koncentrace soli 0,5 molu na litr nastává minimum (138 nm). Pro vyšší koncentrace se již poloměr globulí zvětšuje. Důvodem je vzrůst prostorové agregační vzdálenosti, a tudíž vzrůst počtu kopolymerických řetězců v jedné globuli.

Ukázalo se, že pro PAH-g-PIPAAm [24] nezávisí LCST na hodnotě pH rozpouštědla. pH však ovlivňuje hydrodynamický poloměr globulí: pro pH vyšší než disociační konstanta pK_a kopolymeru je poloměr přibližně o 30 nm menší.

V roztocích polymerů hraje rozpouštědlo neopomenutelnou roli a proto se nyní na něj zaměříme. Začneme rozborem volné a vázané vody [25]: Pod teplotou fázové separace jsou polymerní řetězce rozpuštěny ve vodě; voda i řetězce se mohou volně pohybovat. Nad teplotou fázové separace byla v roztocích detekována část molekul vody, která zůstává vázána uvnitř nebo na povrchu globulí a vykazuje velmi omezenou pohyblivost. Tato vázaná voda je po určitém čase z globulí uvolněna. Experimentálně lze zmíněný jev sledovat pomocí NMR spin-spinové relaxační doby T_2 vody. Vlivem chemické výměny je většinou v NMR spektru volná i vázaná voda prezentována jedním signálem. Před fázovou separací je T_2 pro sledované polymery PVME, PIPMAm a PIPAAm ve vodě mezi 5-ti a 6-ti vteřinami. Po zvýšení teploty nad LCST T_2 klesne pod jednu vteřinu, protože do signálu přispívají i nemobilní molekuly vázané vody. Pokud se zahřátý roztok nechá několik hodin v klidu, T_2 nejprve zůstane pár hodin konstantní. Během této doby se řetězce v globulích reorganizují

a připravují na uvolnění vody. Pak stoupne T_2 až na svou hodnotu před separací – tj. molekuly vody jsou z globulí uvolněny. Pro různé polymery je jev různě rychlý. Zatímco pro PVME trvá konstantní doba T_2 jen 2 hodiny a za 12 h již nabývá hodnoty před separací, pro PIPMAm a PIPAAm trvá vše déle. (Pro PIPMAm je T_2 konstantní 30 h a svou původní hodnotu získá po 60 h. Pro PIPAAm jsou obě hodnoty dvakrát větší.) Důvody pro odlišné časové závislosti jsou následující: 1) PVME, narozdíl od ostatních, má teplotu zeskenění výrazně pod teplotou separace. PVME globule jsou proto dosti pohyblivé a snadno vodu vypustí. 2) PIPAAm, na rozdíl od PIPMAm, nemá α -methylovou skupinu. Proto se může těsněji sbalit do globulí a lépe uvěznit vodní molekuly.

U směsi PIPMAm a PVME [25] byla pozorována závislost LCST PIPMAm, které ko-labuje při vyšších teplotách, na hydratovanosti PVME. Pokud se po zvýšení teploty nad LCST PVME počkalo 12 h, čas který potřebuje voda aby vydifundovala z globulí PVME, k fázové separaci PIPMAm došlo při teplotě o 4 stupně nižší.

Probrali jsme chování samotné vody a podíváme se na směsi voda/jiné rozpouštědlo. Při určitých složeních rozpouštědla dochází k tzv. cononsolvency efektu [26]. Polymer je rozpustný ve dvou samotných rozpouštědlech (např. čistá voda a čistý ethanol), ale pro určitou koncentraci voda/ethanol rozpustný není. Pro PIPMAm je tato koncentrace 40 obj% ethanolu. Příčinou je pravděpodobně skutečnost, že při této koncentraci vodní molekuly preferují vazby voda/ethanol před vazbami voda/polymer. Zajímavé je, že se v globulích způsobených cononsolvency efektem nenachází žádný vázaný ethanol, ačkoliv v teplotně indukovaných globulích je.

V předchozím textu se pojednává o fázové separaci polymerního roztoku. Zkoumá se, kdy je polymer rozpuštěný a kdy ne. K měření se převážně používá bod zakalení (teplota, kdy se sníží transmise skrz roztok), DSC, NMR a IČ spektroskopie. Všechny metody měří roztok daného polymeru v daném rozpouštědle. Pojdme se nyní podívat na alternativní přístup k měření rozpustnosti, uvedený v [27]:

Existují tři stavy rozpuštěnosti: rozpuštěný, částečně rozpuštěný a nerozpuštěný (vy-srážený). Přitom rozpustnost má dvě různé definice: 1) rozpustnost \equiv hmotnost rozpuštěné látky, která může být rozpuštěna v určitém množství rozpouštědla za dané teploty a tlaku; 2) termodynamickou definici, kterou autoři článku zvolili následovně: rozpustnost \equiv změna povrchového Gibbsova potenciálu ΔG_{121} při vytvoření mezifázového rozhraní rozpuštěné látky 1, rozpouštědla 2 a opět rozpuštěné látky 1. (Tj. fáze 2 od sebe odděluje dvě plochy fáze 1.) Obě definice spolu souvisí. Pokud $\Delta G_{121} \gg 0$ látka 1 se v rozpouštědle rozpustí. Pro $\Delta G_{121} \ll 0$ se nerozpustí. Pro $\Delta G_{121} = 0$ se látka rozpustí jen částečně. Z toho plyne, že pokud zjistíme změnu Gibbsova potenciálu, získáme kvalitativní představu o rozpustnosti. Dle Van Oss, Chaundry, Good (VCG) teorie je změna Gibbsova potenciálu úměrná povrchovému napětí mezi rozpuštěnou látkou a rozpouštědlem γ_{12} : $\Delta G_{121} = -2\gamma_{12}$. Pokud změříme kontaktní úhel pro kapku rozpouštědla na povrchu ze zkoumaného polymeru, můžeme usuzovat na rozpustnost polymeru v tomto rozpouštědle.

Studii parametrů ovlivňujících teplotu fázové separace polymerních roztoků zakončíme rozborem vlivu druhu binárního směšného rozpouštědla voda/jiné rozpouštědlo.

Měření pomocí kontaktního úhlu se zjistilo [27], že PAAm je v rozpouštědle ace-ton/voda rozpustný do 20 obj% acetonu (včetně). Pro ethanol i dimethylformamid je hra-

nicí 40 obj%. V ethylenglykolu se PAAm rozpouští pro všechny koncentrace ethylenglykolu ve vodě. Ze zkoumání polaritý rozpouštědla plyne, že PAAm je rozpustný, pokud polární příspěvek rozpouštědla převažuje nad nepolárním.

Vliv rozpouštědel na PIPAAm je uveden v [28]. Pro rozpouštědla voda/acetón a voda/methanol se zjistilo, že LCST PIPAAm s rostoucím molárním zlomkem acetónu či methanolu klesá, nabývá minima a poté opět roste. Vysvětlením tohoto chování je hydratace molekul rozpouštědla. Pokud do vody přidáme látku s nízkou polaritou, vodní molekuly vytvoří kolem přidané látky obal, zpevněný vodíkovými vazbami mezi molekulami vody. Se zvyšující se koncentrací přidané látky přestane být v systému dostatek vodních molekul k vytvoření vodního obalu a přidaná látka se fázově separuje. Přitom hydrofóbnější rozpuštěné látky stačí menší koncentrace, protože na své obalení potřebuje více molekul vody a je tak vyšší pravděpodobnost protržení vodní obálky. Pokud jsou do vody přidány dvě různé látky (např. polymer a acetón), molekuly vody přednostně obklopí nízkomolekulární látku, protože u ní stačí méně molekul vody na obklopení 1 molekuly přidané látky a obklopení má proto menší entropii.

Nyní můžeme vysvětlit minimum v závislosti LCST PIPAAm na koncentraci acetónu/methanolu ve vodě: Čím více je acetónu ve vodě, tím více molekul vody jej obklopuje, místo aby tvořily vodní obal kolem polymeru. Proto se polymer snáze separuje a LCST klesá (z 35°C na 25°C). Pro určitou koncentraci acetónu již v systému není dostatek vody, aby jej všechen obklopil. Molekuly acetónu se proto mohou dostat do kontaktu s PIPAAm. Jelikož je acetón pro PIPAAm dobrým rozpouštědlem, LCST roste. Pro methanol dochází ke stejné závislosti, jen minimum je posunuto od 10 mol% pro acetón k 35 mol% a LCST klesne až na -5°C. Methanol je méně hydrofóbní než acetón, nepotřebuje tolik vodních molekul na obalení a k protržení vodní obálky proto dochází až při vyšších koncentracích.

PIPAAm ve směsném rozpouštědle voda/ethanol se chová jinak. S rostoucí koncentrací ethanolu LCST klesá až na cca. -5°C pro 15 mol% ethanolu. Pro koncentrace mezi 15 a 30 mol% ethanolu je PIPAAm nerozpustný za každé teploty. Pro vyšší koncentrace se objevuje UCST – teplota, nad níž je polymer opět rozpuštěn. Důvodem existence UCST je převažující nespécifická interakce (dipól–dipólová) mezi ethanolem a polymerem, která je silnější než vodíkové můstky mezi polymerem a vodou. (U methanolu nenastává, protože methanol má příliš malou hydrofóbní skupinu, než aby mohla soupeřit s vodíkovými můstky vody.)

Podobné chování jako pro rozpouštědlo voda/ethanol se na stejném polymeru ukázalo i pro voda/1–propanol a voda/2–propanol. Pokles LCST s nárůstem koncentrace přidaného rozpouštědla je pro 1–propanol největší. Následuje 2–propanol a poté ethanol. Pokles LCST je tím větší, čím více molekul vody je zapotřebí na obalení jedné molekuly přidaného rozpouštědla. Ethanol je nejmenší molekulou a proto potřebuje vody nejmíň. 1– a 2–propanol mají sice skoro stejný počet molekul, ale 2–propanol je větvený a proto kulatější. Tím pádem mu stačí na obalení méně molekul vody a pokles LCST s rostoucí koncentrací je méně strmý.

Kapitola 4

Cíle diplomové práce

V práci se budeme zabývat studiem teplotně indukované fázové separace v roztocích kopolymeru poly(AAm/IPMAm), kde složka IPMAm je citlivá na změnu teploty i složení rozpouštědla a složka AAm kolabuje v závislosti na složení rozpouštědla. Jako rozpouštědlo budeme používat deuterovanou vodu (D_2O) a vodné roztoky voda/ethanol ($D_2O/EtOH$) a voda/acetón ($D_2O/acetón$). Fázovou separaci budeme studovat především metodami NMR spektroskopie vysokého rozlišení. Použijeme i optickou mikroskopii.

Cíle práce lze rozlišit následovně:

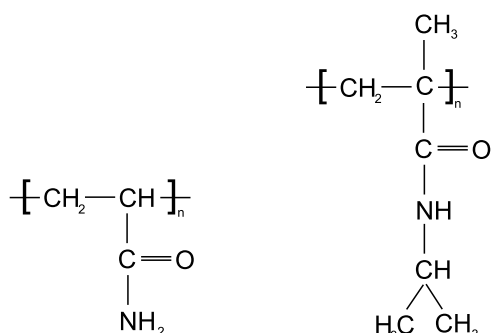
- Seznámení se s problematikou fázové separace v polymerních roztocích.
- Zvládnutí experimentálních technik potřebných k měření 1H NMR spekter a 1H a ^{13}C relaxačních časů.
- Studium teplotní závislosti vzorků kopolymeru poly(AAm/IPMAm) různého složení v D_2O .
- Studium teplotní závislosti vzorků ve směsném rozpouštědle voda/ethanol ($D_2O/EtOH$) a voda/acetón ($D_2O/acetón$)
- Studium vlivu složení kopolymeru a ethanolové či acetónové koncentrace na tvar a rozsah fázového přechodu klubko–globule a jejich vliv na změnu hodnoty LCST kopolymeru.
- Studium vlivu složení kopolymeru a koncentrace ethanolu a acetónu na dynamické chování.
- Studium vlivu složení rozpouštědla na tvar globulí pomocí optického mikroskopu.

Kapitola 5

Experimentální část

5.1 Vzorky

Měření probíhala na statistických kopolymerech akrylamidu a *N*-isopropylmethakrylamidu (poly(AAm/IPMAm)) různého složení, připravených na Ústavu makromolekulární chemie. Chemické vzorce monomerů jsou v obr. 15. Dvacet hmotnostních % monomeru v požadovaném poměru bylo za teploty 60°C rozpuštěno ve směsi ethanol/voda o složení 85/15. Jako iniciátor se použila kyselina 4,4-azo-bis(4-kyanovalerická). Po proběhnutí radikálové kopolymerizace v dusíkové atmosféře byly kopolymery vysráženy a vysušeny. (Volba srážedla závisela na složení komonomerů.)



Obrázek 15: Monomery a) akrylamidu (AAm); b) *N*-isopropylmethakrylamidu (IPMAm).

Kopolymerní prášky byly rozpouštěny ve směsných rozpouštědlech D₂O (D₂O s obsahem 99,9% deuterionů), D₂O/ethanol a D₂O/acetone s různým poměrem rozpouštědel. Hmotnostní procento kopolymeru v rozpouštědle je 5%. Jako standard byl do roztoku přidán sodium 2,2-dimethyl-2-silapentane-5-sulfonate (DSS). V tabulce 2 je seznam měřených vzorků s informacemi, jestli podléhají fázové separaci.

Pro přehledné a krátké značení jednotlivých vzorků byl zvolen následující systém: AAm_xD₂O značí vzorek s *x*% AAm v kopolymerech rozpouštěný ve vodě. Pokud je pou-

označení	AAm/IPMAm	/D ₂ O	separace?	pozn.
IPMAm100D ₂ O	0 / 1	0 / 1	ANO	
AAm5D ₂ O	0,05 / 0,95	0 / 1	ANO	
AAm15D ₂ O	0,15 / 0,85	0 / 1	ANO	
AAm25D ₂ O	0,25 / 0,75	0 / 1	ANO	
AAm40D ₂ O	0,4 / 0,6	0 / 1	ANO	
AAm50D ₂ O	0,5 / 0,5	0 / 1	NE	
AAm70D ₂ O	0,7 / 0,3	0 / 1	NE	
AAm85D ₂ O	0,85 / 0,15	0 / 1	NE	
označení	AAm/IPMAm	EtOH/D ₂ O	separace?	pozn.
IPMAm100L20	0 / 1	0,2 / 0,8	ANO	
AAm5L20	0,05 / 0,95	0,2 / 0,8	ANO	
AAm5L40	0,05 / 0,95	0,4 / 0,6	ANO	
AAm15L20	0,15 / 0,85	0,2 / 0,8	ANO	
AAm15L40	0,15 / 0,85	0,4 / 0,6	ANO	zakaluje se málo
AAm25L20	0,25 / 0,75	0,2 / 0,8	ANO	není vidět v grafu p(T)
AAm25L40	0,25 / 0,75	0,4 / 0,6	NE	
AAm25L80	0,25 / 0,75	0,8 / 0,2	NE	
AAm50L20	0,5 / 0,5	0,2 / 0,8	NE	
AAm50L80	0,5 / 0,5	0,8 / 0,2	NE	
AAm70L80	0,7 / 0,3	0,8 / 0,2	NE	
AAm85L20	0,85 / 0,15	0,2 / 0,8	NE	
AAm85L80	0,85 / 0,15	0,8 / 0,2	ANO	stále zakalený
označení	AAm/IPMAm	aceton/D ₂ O	separace?	pozn.
AAm5a20	0,05 / 0,95	0,2 / 0,8	ANO	
AAm5a40	0,05 / 0,95	0,4 / 0,6	ANO	
AAm5a50	0,05 / 0,95	0,5 / 0,5	ANO	
AAm5a60	0,05 / 0,95	0,6 / 0,4	NE	
AAm15a20	0,15 / 0,85	0,2 / 0,8	ANO	
AAm15a40	0,15 / 0,85	0,4 / 0,6	ANO	
AAm15a60	0,15 / 0,85	0,6 / 0,4	NE	
AAm25a20	0,25 / 0,75	0,2 / 0,8	ANO	
AAm25a40	0,25 / 0,75	0,4 / 0,6	NE	
AAm40a20	0,4 / 0,6	0,2 / 0,8	ANO	zakaluje se málo
AAm50a80	0,5 / 0,5	0,8 / 0,2	NE	
AAm50a90	0,5 / 0,5	0,9 / 0,1	–	nerozpouští se
AAm70a60	0,7 / 0,3	0,6 / 0,4	NE	
AAm70a70	0,7 / 0,3	0,7 / 0,3	ANO	stále zakalený
AAm70a80	0,7 / 0,3	0,8 / 0,2	–	nerozpouští se
AAm85a20	0,85 / 0,15	0,2 / 0,8	NE	
AAm85a40	0,85 / 0,15	0,4 / 0,6	NE	
AAm85a50	0,85 / 0,15	0,5 / 0,5	ANO	stále zakalený
AAm85a60	0,85 / 0,15	0,6 / 0,4	ANO	stále zakalený
AAm85a80	0,85 / 0,15	0,8 / 0,2	–	nerozpouští se

Tabulka 2: Seznam všech připravených vzorků.

obj%	mol% EtOH	mol% acetonu
0	0	0
10	3	3
20	7	6
40	17	14
50	24	20
60	32	27
80	55	50
90	74	69
100	100	100

Tabulka 3: Přepočítání z objemových na molární procenta pro směsná rozpouštědla voda/ethanol a voda/aceton.

A Am/IPMA	vyp. A Am/IPMAm
0/1	
0,05/0,95	-0,06/1,06
0,15/0,85	0,04/0,96
0,25/0,75	0,16/0,84
0,4/0,6	0,29/0,71
0,5/0,5	0,45/0,55
0,7/0,3	0,73/0,27
0,85/0,15	0,90/0,10

Tabulka 4: Seznam všech připravených vzorků v D₂O. V prvním sloupci je poměr monomerních jednotek před polymerizací, v druhém výsledný poměr jednotek v kopolymeru, určený z NMR spektra.

žito směsné rozpouštědlo voda/ethanol či voda/aceton, místo D₂O dáme L_y či a_y , kde y značí počet procent korozpouštědla. Pro čistý IPMAm používáme IPMAm100.

Poměry AAm/IPMAm jsou molární, poměry rozpouštědel objemové. Přepočítání z objemových na molární poměry je v tabulce 3. Všechny vzorky byly připraveny do 5 mm NMR květ, odplyněny a zataveny.

Jelikož při přípravě nepolymerizovaly všechny monomery, skutečný poměr monomerů v komonomeru (tab. 4, 2. sloupec) se od počátečního (tab. 4, 1. sloupec) nepatrně liší. (V popisech grafů je z důvodu přehlednosti uveden počáteční poměr.) Skutečný poměr AAm/IPMAm byl vypočten z poměru integrálních intenzit druhého a třetího (zleva) píku v obr. 16 následujícím způsobem: Pík při 4 ppm náleží skupině CH od IPMAm. V píku okolo 2 ppm se překrývají signály od skupin CH₂ patřících IPMAm a CH, CH₂ patřících AAm. V obou monomerech se skupiny CH a CH₂ vyskytují právě jednou. Proto, označíme-li

integrální intenzity 2. a 3. píku jako I_2 , I_3 a intenzity náležející monomerům AAm, IPMAm jako I_{AAm} , I_{IPMAm} , můžeme procentuální zastoupení x_{IPMAm} IPMAm v kopolymeru vypočítat z následujících vztahů:

$$x_{IPMAm} = \frac{I_{IPMAm}}{I_{IPMAm} + I_{AAm}} 100\% \quad (5.1)$$

$$I_{IPMAm} = I_2; I_{AAm} = \frac{1}{3}(I_3 - 2I_{IPMAm}). \quad (5.2)$$

Relativní chyba I_{AAm} může být pro nízké obsahy až 15%. Tím lze vysvětlit zápornou hodnotu zastoupení AAm u jednoho z polymerů.

5.2 Experimentální vybavení

K získání NMR spekter byl použit spektrometr Avance 500 od firmy Bruker, s magnetickou indukcí 11,75 T, pracující pro jádra ^1H na frekvenci 500,132 MHz. K ozařování a detekci signálu byla použita sonda TBO. Teplota se regulovala teplotní jednotkou BVT 3000 se stabilitou nastavení $\pm 0,1$ K. Celková přesnost nastavené teploty je $\pm 0,2$ K. Před každým měřením byl vzorek při dané teplotě temperován nejméně 10 minut.

Integrální intenzity, určené pomocí speciálního software, dodávaného k přístrojovému vybavení, jsou určeny s chybou $\pm 1\%$.

K měření byl také použit optický mikroskop Nikon eclipse 80i s kamerou PixelINK PL-A662 a teplotní celou Linkam LTS350, profukovanou dusíkem. Měření byla prováděna na tenkých vzorcích, vložených mezi podložní a krycí skličko, při 50ti násobném zvětšení. Vzorek byl zahříván rychlostí 1 až $1,7^\circ\text{C}/\text{min}$.

5.3 Analýza NMR spektra: p-faktor

Pro charakterizaci průběhu fázového přechodu musíme z ^1H spektra určit integrální intenzitu příslušných pásů kopolymeru. Polohu, tvar a šířku fázového přechodu v závislosti na teplotě pak určuje bezrozměrný p-faktor, vypočtený z těchto intenzit. p-faktor lze odvodit následujícím způsobem: Z řešení Blochových rovnic získáme tvar absorpčního signálu:

$$\nu(\omega) = \frac{\omega_0 \chi_0 B_{rf} T_2}{1 + T_2^2 (\omega_0 - \omega)^2 + \gamma^2 B_{rf}^2 T_1 T_2}, \quad (5.3)$$

kde ω_0 je Larmorova frekvence příslušného jádra, B_{rf} amplituda referenčního pole, T_1 a T_2 relaxační časy, γ gyromagnetický poměr a χ_0 jaderná susceptibilita, pro kterou platí:

$$\chi_0 = \frac{N \mu^2}{3kT}. \quad (5.4)$$

$N(T)$ je počet jader v jednotkovém objemu, závisující na absolutní teplotě, μ magnetický dipólový moment jádra, k Boltzmanova konstanta a T absolutní teplota.

Integrální intenzitu pásů získáme integrací vztahu (5.3), viz [29, 30]

$$I = \frac{KN(T)}{T\sqrt{1 + \gamma^2 B_{rf}^2 T_1 T_2}}, \quad (5.5)$$

kde K je konstanta. Člen pod odmocninou, tzv. faktor sycení, můžeme v případě pulsního spektrometru brát jako jednotkový. Pro potlačení relaxačních efektů ve spektru musí být časová prodleva mezi jednotlivými snímanými spektry $\geq 5T_1$. Pak má teplotní závislost integrální intenzity tvar:

$$I_0 = \frac{KN_0(T)}{T}. \quad (5.6)$$

Z předchozích rovnic vyplývá, že pokud lze brát faktor sycení roven jedné, klesá integrální intenzita měřených pásů s rostoucí teplotou jako $1/T$.

Během fázového přechodu jsou v systému jak fázově separované polymerní jednotky, tak jednotky volně rozpuštěné. Podíl separovaných jednotek v systému můžeme určit z teplotní závislosti integrálních intenzit:

$$p(T) = 1 - \frac{I(T)}{I_0(T)}. \quad (5.7)$$

$I(T)$ je integrální intenzita pásů při sledované teplotě, kdy již systém může být částečně či úplně separován. Pro intenzitu $I_0(T)$ při teplotě T pro homogenní vzorek předpokládáme vztah:

$$\frac{I_0(T)}{I_0(T_0)} = \frac{T_0}{T}, \quad (5.8)$$

kde $I_0(T_0)$ je integrální intenzita polymerního pásu při počáteční teplotě, kdy je ještě polymer zcela rozpuštěn. Z výše uvedeného vztahu lze napsat závislost $I_0(T)$ na $I_0(T_0)$:

$$I_0(T) = I_0(T_0) \frac{T_0}{T}, \quad (5.9)$$

p -faktor tedy udává podíl separované fáze polymeru v systému.

5.4 Nastavení experimentů

V této kapitole je popis parametrů, s jakými byla spektra snímána.

5.4.1 ^1H NMR spektra

- šířka spektra (SWH): 5,0 kHz
- velikost (TD): 16380 datových bodů
- počet scanů (průchodů): 8
- doba akvizice (AQ): 1,63815 s

- relaxační doba před každým scanem ($D1$): 10 s
- délka $\pi/2$ pulsu ($P1$): 14 μs

5.4.2 Měření ^1H podélného relaxačního času T_1

Pro měření podélné relaxační doby se nejčastěji používá sekvence inversion recovery:

$$180^\circ \dots \tau \dots 90^\circ \dots \text{FID}. \quad (5.10)$$

Vzorek v rovnováze ve vnějším magnetickém poli \mathbf{B}_0 má rovnovážnou magnetizaci \mathbf{M}_0 ve směru osy z . Aplikací 180° tvrdého pulsu (tj. krátkého pulsu který excituje celé spektrum) se magnetizace \mathbf{M}_0 překlopí do záporného směru osy z . Po uplynutí doby τ , během které se magnetizace vyvíjí – relaxuje ke své rovnovážné hodnotě – aplikujeme 90° tvrdý puls, který převede magnetizaci do roviny xy , kde detekujeme signál volné precese FID. Opakovaným měřením pro sérii daných časů τ určíme časový nárůst magnetizace M_z . Hodnotu relaxační doby T_1 určíme fitací experimentálních dat do vztahu (2.16).

K měření byla použita sekvence t1ir.la s nastavením:

- šířka spektra (SWH): 3,5 kHz
- velikost (TD): 16384
- počet scanů (průchodů): 1
- doba akvizice (AQ): 2,3398280 s
- relaxační doba před každým scanem ($D1$): 80 s
- délka $\pi/2$ pulsu ($P1$): 14,30 μs

5.4.3 Měření ^{13}C podélného relaxačního času T_1

Pro měření podélné relaxace na uhlících se používá podobná sekvence inversion recovery jako u protonů. Oba pulsy se aplikují na uhlíková jádra a protonová jádra se po celou dobu měření dekaplují. (Dekapling znamená ozařování protonů stálým rf. polem. Spiny ^1H neustále a velmi rychle mění svoji orientaci a spiny ^{13}C tak nejsou ovlivňovány vzájemnou interakcí. Proto u jader ^{13}C nedochází ke štěpení signálu v důsledku nepřímých spin-spinových vazeb s jádrem ^1H .)

Detailní parametry měřené sekvence t1irpg1.la jsou:

- k ^1H dekaplingu byla použita sekvence waltz-16
- šířka spektra (SWH): 12,53 kHz
- velikost (TD): 65536 datových bodů

- počet scanů (průchodů): 2
- doba akvizice (AQ): 2,3398280 s
- relaxační doba před každým scanem ($D1$): 80 s
- délka $\pi/2$ pulsu ($P1$): 9,5 μ s

5.4.4 Měření ^1H příčného relaxačního času T_2

První a nejjednodušší metodou určení relaxační doby T_2 je pulsní sekvence založená na spinovém echu, zpracovaná Carrem a Purcelem:

$$90_x^\circ \dots [\tau \dots 180_x^\circ \dots \tau]_n \dots FID \quad (5.11)$$

Časový interval 2τ nazýváme echočasem. Měření probíhá takto: 90_x° puls (dolní index značí fázi) sklopí magnetizaci do roviny xy . Během doby τ spiny relaxují, přičemž snižují příčné složky magnetizace. Kromě relaxace přispívá k tomuto snižování i rozfázování spinů vlivem nehomogenit magnetického pole, viz obr 10. Následuje 180_x° puls, který rozfázované spiny otočí v rovině xy okolo osy x . Pokud vektor magnetizace stále koná precesní pohyb ve stejném směru, po identickém časovém intervalu τ dojde k sfázování spinového systému. Poté detekujeme signál volné precese FID. Intenzita tohoto signálu není ovlivněna nehomogenitami magnetického pole a závisí jen na příčném relaxačním čase. Časový průběh získané intenzity má tvar (2.24). Nafitováním změřené intenzity do tohoto vztahu získáme příčný relaxační čas T_2 .

Nastavení CPMG sekvence:

- šířka spektra (SWH): 3,5 kHz
- velikost (TD): 16384 datových bodů
- počet scanů (průchodů): 1
- doba akvizice (AQ): 2,3398280 s
- relaxační doba před každým scanem ($D1$): 80 s
- délka $\pi/2$ pulsu ($P1$): 14,30 μ s
- doba mezi pulsy ($D20$): 0,5 ms

5.4.5 Měření ^{13}C příčného relaxačního času T_2

K měření relaxační doby T_2 pro ^{13}C byla použita vylepšená sekvence CPMG (Carr–Purcell–Meiboom–Gill), kde se pomocí fázového cyklu kompenzují chyby vzniklé nepřesností délky pulsů. Na jádra uhlíků působíme pulsy:

$$90_y^\circ \dots [\tau \dots 180_{y(x)}^\circ \dots 2\tau \dots 180_{y(x)}^\circ \dots 2\tau \dots 180_{y(x)}^\circ \dots 2\tau \dots 180_{y(x)}^\circ \dots \tau]_n \dots FID \quad (5.12)$$

a na protony působíme $180_{y(x)}^\circ$ pulsem v době mezi prostředními 180° pulsy. Tento puls zajišťuje efektivní dekapling a tím odstraňuje z uhlíkového spektra multiplenní strukturu. Během nabírání signálu (FIDu) protony dekaplujeme.

Detailní parametry měřené sekvence cpmgx2.la jsou:

- k ^1H dekaplingu byla použita sekvence waltz–16
- šířka spektra (SWH): 28 kHz
- velikost (TD): 65536 datových bodů
- počet scanů (průchodů): 2
- doba akvizice (AQ): 1,1698854 s
- relaxační doba před každým scanem ($D1$): 80 s
- délka $\pi/2$ pulsu ($P1$): 9,5 μs
- délka poloviny echočasu ($D20$): 5 ms

5.5 Teplotní kalibrace sondy TBO

Pro přesné určení teploty byla provedena kalibrace sondy TBO pomocí dvou standardů, použitelných pro různé rozmezí teplot.

5.5.1 Methanol, 290–330K

Teoretická závislost, potřebná k zjištění skutečné teploty T_s v sondě, je

$$T_s = 403,0 - \frac{29,46}{\nu_0} |\Delta\nu| - \frac{23,832}{\nu_0^2} |\Delta\nu|^2. \quad (5.13)$$

$\Delta\nu$ je rozdíl chemického posuvu píků v methanolu, ν_0 je frekvence spektrometru v MHz, v našem případě $\nu_0=500,1325006\text{MHz}$.

Na methanolu byly naměřeny následující hodnoty (viz tabulka 5):

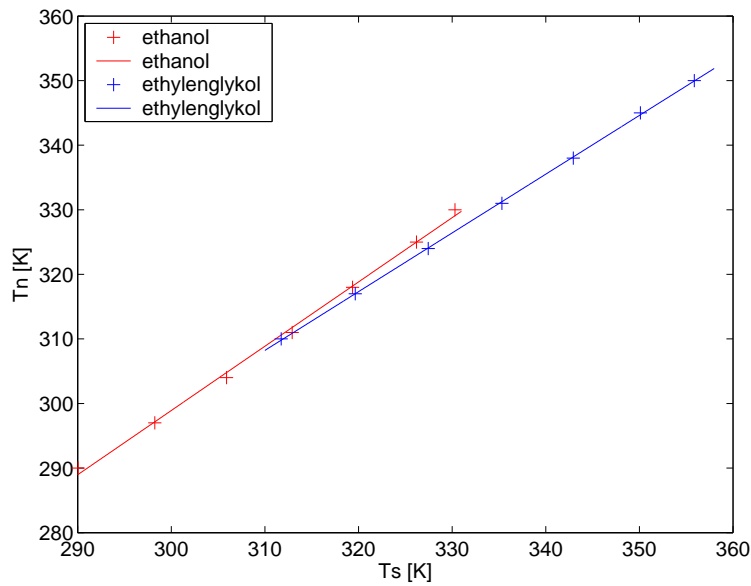
Výsledná závislost nastavované teploty T_n na skutečné teplotě T_s (s chybou $\pm 0,5\text{K}$) je

$$T_n = 0,996T_s + 0,3, \quad (5.14)$$

$$T_s = 1,004T_n - 0,3. \quad (5.15)$$

T_n [K]	$\Delta\nu$ [Hz]
290	822,73
297	784,04
304	746,66
311	711,2
318	677,49
325	640,43
330	617,44

Tabulka 5: Závislost nastavené teploty T_n na rozdílu chemického posuvu píků methanolu



Graf 1: Závislost nastavované teploty T_s na požadované T_n

5.5.2 Ethylenglykol, 310–350K

Teoretická závislost, potřebná k zjištění skutečné teploty T_s v sondě, je

$$T_s = 466,0 - \frac{101,64}{\nu_0} |\Delta\nu|. \quad (5.16)$$

$\Delta\nu$ je rozdíl chemického posuvu píků v methanolu, ν_0 je frekvence spektrometru v MHz, v našem případě $\nu_0 = 500,1325006$ MHz.

Hodnoty naměřené na ethylenglykolu jsou v tabulce 6:

Výsledná závislost nastavované teploty T_n na skutečné teplotě T_s (s chybou $\pm 0,5$ K) je

$$T_n = 0,9097T_s + 26,2, \quad (5.17)$$

T_n [K]	$\Delta\nu$ [Hz]
310	759,07
317	720,09
324	681,75
331	643,02
338	605,49
345	570,23
350	541,92

Tabulka 6: Závislost nastavené teploty T_n na rozdílu chemického posuvu píků ethylenglykolu

$$T_s = 1,0993T_n - 28,8. \quad (5.18)$$

Závislost nastavované teploty na skutečné je v grafu 1. Je vidět, že přejitím při 330 K z ethanolové kalibrace na ethylenglykolovou by vzniknul skok v $T_n(T_s)$. Proto se pro vyšší teploty (max. 345 K) používalo protažení ethanolové kalibrace, které se od ethylenglykolové v daném rozmezí příliš neliší.

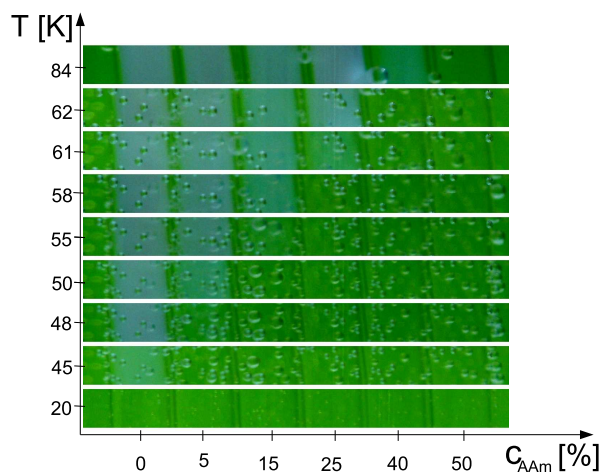
Kapitola 6

Výsledky a diskuse

6.1 Makroskopický projev fázové separace

Pro názornější představu zkoumaného jevu je přiložen graf vytvořený z fotografií kyvet se vzorky při různé teplotě. Jednotlivé proužky jsou výřezy fotek kyvet (podobných jako na obr. 14) ve vodné lázni určité teploty, focené na zeleném pozadí. Teplota je zde určena pouze přibližně; podrobná analýza byla dělána pomocí NMR. Bublinky jsou způsobené rychlým ohříváním.

Je vidět, jak se s rostoucí teplotou postupně zakalují různé vzorky; nejprve málo a pak víc. Při nejnižší teplotě jsou všechny vzorky rozpuštěné a proto průhledné. Při 45°C (318 K) se začíná zakalovat první kyveta – polymer PIPMAm se sbaluje do globulí na kterých se rozptyluje světlo a my vidíme bílou barvu. Z roztoku rozpuštěného kopolymeru vzniknul koloidní roztok.



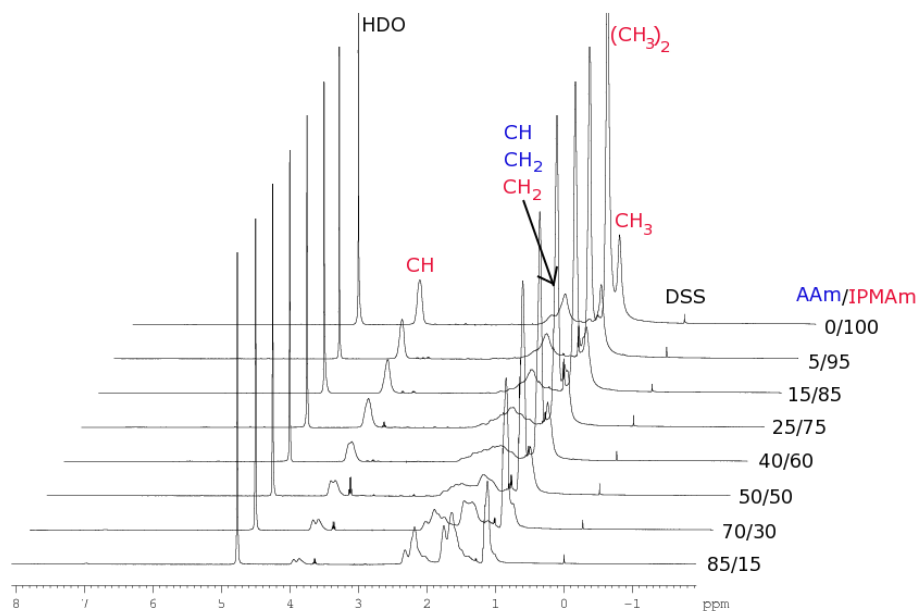
Graf 2: Nafocené kyvety vzorků rozpuštěných v D₂O během fázové separace.

(Koloidní roztok je disperzní stabilní systém s rozměry částic 1 – 1000 nm. Pokud mají

všechny částice přibližně stejný poloměr, absorbují světlo jedné vlnové délky a roztok pak vypadá jako by byl barevný.) Proto lze z pozorované barvy předpokládat velký rozptyl ve velikosti globulí, který vzniká v důsledku různých molekulových délek kopolymerních řetězců, a taky přibližnou (stovky řádů) velikost globulí $10\mu\text{m} - 100\text{ nm}$.

6.2 ^1H spektra

Protonová spektra měřených kopolymerů v D_2O při teplotě 298 K jsou v obr. 16. Zadní spektrum je pro čistý PIPMAm, u následujících spekter postupně přibývá AAm, až k 85 mol%.



Obrázek 16: ^1H spektra měřených kopolymerů v D_2O .

Ve spektru bylo pozorováno šest píků: pík při 5 ppm náleží zbytkové vodě HDO; signály mezi 4 a 1 ppm pochází od CH, CH_2 a CH_3 skupin polymerů, přičemž signály AAm jsou označeny modře a signály z IPMAm červeně. Signál standardu DSS je kalibrován na nulu.

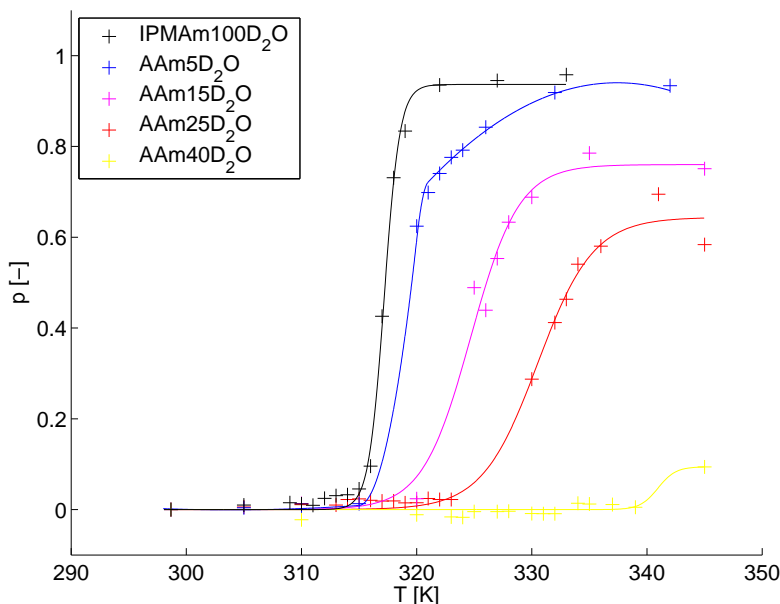
V obr. 16 je vidět, jak se s vyšším podílem AAm v kopolymeru ve spektru objevují silnější signály tohoto komonomeru a naopak intenzita signálů od IPMAm klesá. Malé píky, objevující se okolo 3.4 ppm pro kopolymery s vyšším obsahem AAm jsou signály ethanolu, který byl použit při polymerizaci a nepodařilo se jej zcela vysušit.

^1H spektra výše zmíněných kopolymerů byla měřena pro všechna složení rozpouštědla D_2O , $\text{D}_2\text{O}/\text{ethanol}$ a $\text{D}_2\text{O}/\text{aceton}$, uvedená v tabulce 2, kde docházelo k teplotně indukovanému kolapsu. Ze získaných intenzit byl vypočten p-faktor dle vztahu (5.7), který určuje míru fázové separovanosti. V následujících kapitolách budou uvedeny výsledky pro jednotlivá rozpouštědla.

6.3 p–faktor

6.3.1 p–faktor pro AAm/IPMAm v D₂O

Teplotní závislost p–faktoru pro AAm/IPMAm v D₂O je uvedena v grafu 3. (Proložení naměřených bodů u všech $p(T)$ grafů je jen vodítkem pro oči.) Je vidět, že čím je v kopolymeru více AAm, tím je teplota separace vyšší, kopolymer se separuje v širším teplotním rozmezí a separace není úplná. Pro kopolymery s více jak 40 mol% již k teplotně indukované separaci nedochází.



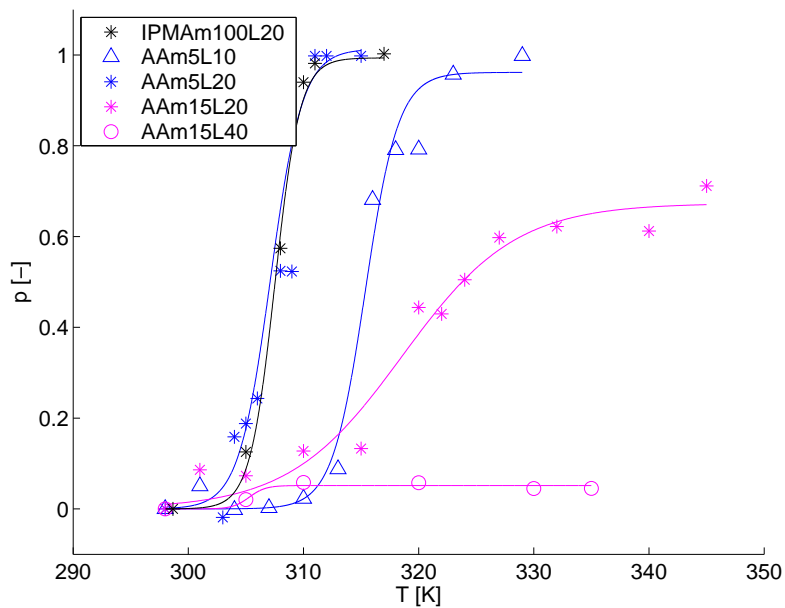
Graf 3: Teplotní závislost p–faktoru pro AAm/IPMAm v D₂O.

6.3.2 p–faktor pro AAm/IPMAm v D₂O/ethanol

p–faktory pro vzorky ve směsném rozpouštědle D₂O/ethanol jsou v grafu 4. Můžeme pozorovat podobné tendence jako u čisté vody: Větší podíl AAm v kopolymeru, stejně jako větší podíl ethanolu v rozpouštědle, zpomaluje kolaps, posouvá jej k vyšším teplotám a způsobuje, že se do globulí sbalí menší procento kopolymerních řetězců.

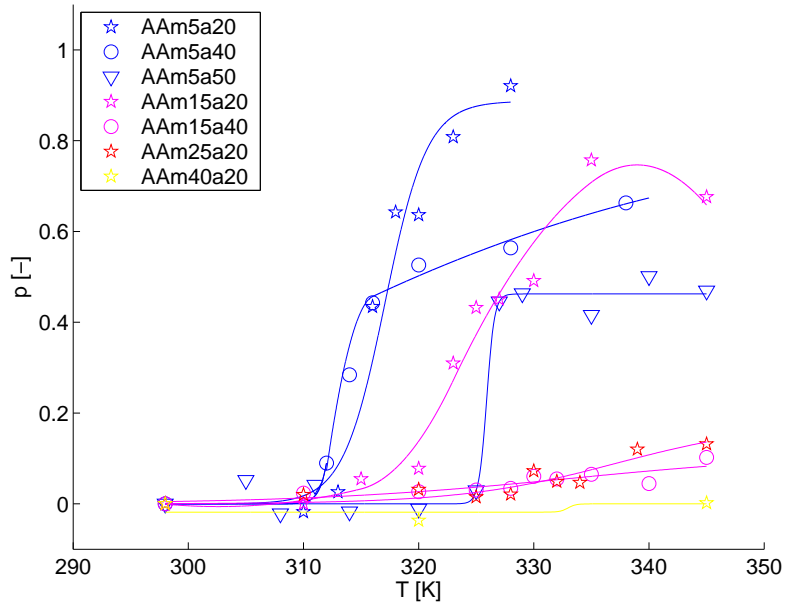
K fázové separaci dochází při maximálně 25ti procentech AAm v kopolymeru (a 20% ethanolu), kde je však kolaps detekovatelný pouze okem (zakalení). V NMR spektru k žádné změně nedochází.

Maximální koncentrace ethanolu, při které ještě dochází k teplotně indukované separaci, je 40 obj%.



Graf 4: Teplotní závislost p–faktoru pro AAm/IPMAm v rozpouštědle D_2O /ethanol.

6.3.3 p–faktor pro AAm/IPMAm v D_2O /aceton



Graf 5: Teplotní závislost p–faktoru pro AAm/IPMAm v rozpouštědle D_2O /aceton.

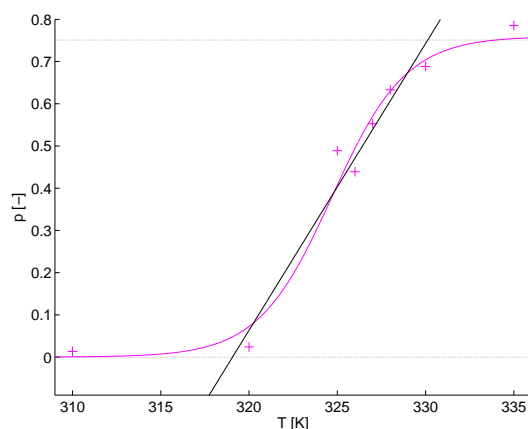
Výsledky pro měření fázové separace pro vzorky v rozpouštědle D₂O/aceton jsou uvedeny v grafu 5. Opět se opakuje chování popsané výše – více AAm popř. méně vody zmenšuje procento zkolabovaného kopolymeru, posouvá kolaps k vyšším teplotám a zpomaluje jej.

V rozpouštědle voda/aceton dochází k fázové separaci ještě pro vzorek se 40ti procenty AAm (20% acetonu).

K teplotně indukované fázové separaci dochází pro maximálně 50% acetonu, a to u vzorku AAm/IPMAm 5/95.

6.3.4 Jiné znázornění p–faktorů

Abychom mohli lépe porovnat p–faktory pro jednotlivé vzorky, vykreslíme si do grafu jen teplotní rozmezí separace. Oblast stoupání $p(T)$ proložíme pomocí metody nejmenších čtverců přímkou. Teplotní rozmezí fázového přechodu je mezi místy, kde přímka protíná $y = 0$ a $y = T_{max}$. Postup je znázorněn v grafu 6.

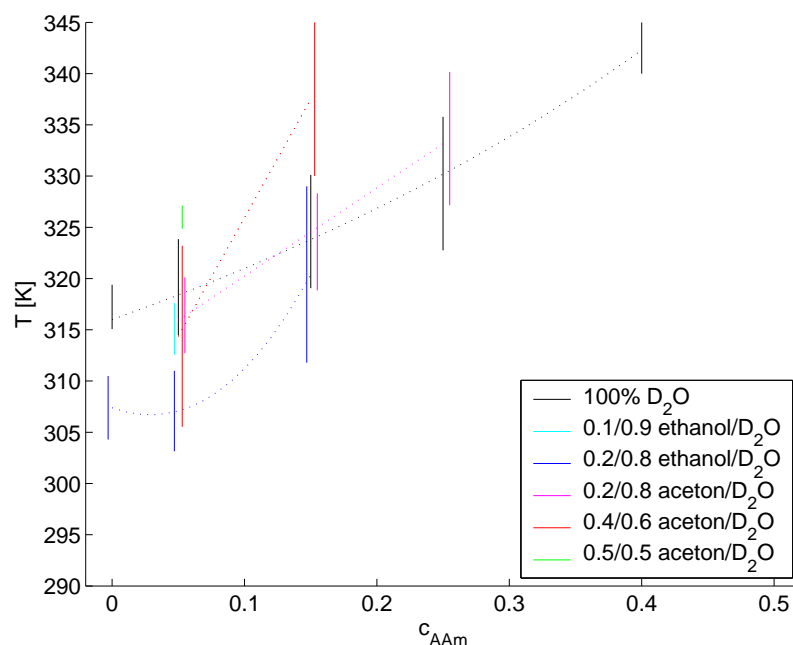


Graf 6: Získání teplotního intervalu fázového přechodu.

Nyní můžeme vykreslit teplotu kolapsu v závislosti na koncentraci AAm (graf 7) a na koncentraci acetonu a ethanolu (graf 8). Drobné posuny v koncentracích (na x -ose) jsou kvůli přehlednosti.

V prvním z grafů je závislost teploty na koncentraci AAm v kopolymeru (černě) proložena závislostí (3.1). Data ze vzorku s ethanolem (modrá) jsou proložena polynomem 3. stupně. V závislosti pro vzorky s acetone (červená a fialová) chybí první bod (čistý PIPMAm) a proto jsou proloženy přímkou.

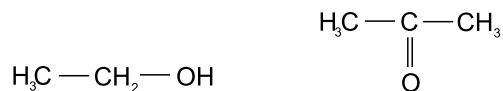
Z grafu vidíme, že přidání ethanolu nebo acetonu pro vzorek s 5% AAm sníží teplotu fázové separace. Pro vyšší podíl AAm ve vzorku stoupají teploty separace pro různá rozpouštědla s různým sklonem. Nejpomalejší nárůst je pro D₂O, poté následuje 20% acetonu, 20% ethanolu a nakonec 40% acetonu v D₂O.



Graf 7: Závislost rozmezí teploty kolapsu na koncentraci AAm pro všechna rozpouštědla.

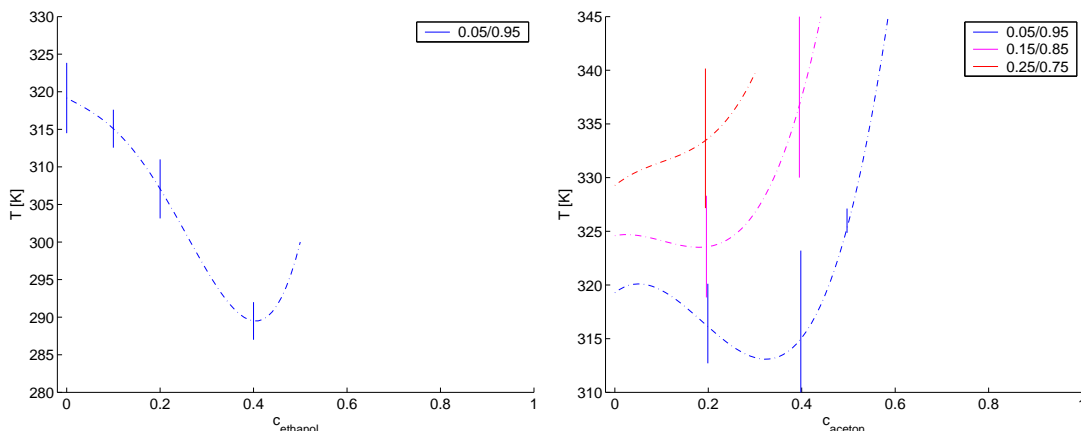
Rozdíl ve strmosti závislosti teploty fázové separace na koncentraci acetonu pro jednotlivá rozpouštědla lze vysvětlit pomocí hydratace molekul rozpouštědla, popsané v kapitole o současném stavu problematiky. Když vložíme kopolymer do vody, molekuly vody vytvoří kolem jednotlivých molekul kopolymeru tzv. vodní obálku, stabilizovanou vodíkovými můstky. V tomto okamžiku nemůže nastat fázová separace, protože polymerní řetězce jsou od sebe prostorově separovány a nemůžou spolu interagovat. Se zvyšující se teplotou síla vodíkových vazeb klesá, kopolymer upřednostňuje hydrofóbní vazbu polymer–polymer před vazbou polymer–rozpouštědlo, vodní obálky se protrhnou a dojde k fázové separaci.

Pokud do systému vložíme nízkomolekulární látky (ethanol, aceton), molekuly vody je při tvorbě vodních obálek budou upřednostňovat, jelikož tak budou mít větší množství možných konfigurací a tudíž větší entropii. Molekuly rozpouštědla budou obaleny molekulami vody, které by jinak byly v kontaktu s polymerem, a tím se vodní obálka kopolymerních řetězců stane chatrnější a k jejímu narušení bude stačit nižší teplota. Tím lze odůvodnit pokles LSCT pro vzorky AAm/IPMAM 5/95 s ethanolem či acetonem vůči vzorkům v čisté vodě.



Obrázek 17: Chemické vzorce ethanolu a acetonu.

Různá strmost závislosti $T(c_{AAm})$ je způsobena různým množstvím molekul vody, nutným k obalení molekul rozpouštědla. (Čím více vody je potřeba, tím je závislost strmější.) Molekula acetonu je více kulová než u ethanolu (obr. 17) a proto potřebuje k obalení méně vody. Pro 40% acetonu je pochopitelně potřeba více molekul vody než pro 20% acetonu či ethanolu.



Graf 8: Závislost rozmezí teploty kolapsu na koncentraci ethanolu a acetonu.

V grafu 8 je závislost LCST na koncentraci ethanolu (vlevo) a acetonu, znázorňující fázové diagramy obou systémů. Naměřené body jsou nafitované polynomem třetího stupně. K získání minima přispívá skutečnost, že pro koncentraci 60 obj% každého z korozpouštědel už k teplotně indukované fázové separaci nedochází. Poslední bod pro ethanol, při 40%, je pouze přibližný. Kopolymer zde kolabuje jen málo, tj. p -faktor je nízký a s velkou chybou, a proto se dá LCST zjistit pouze okem. Do grafu je vyneseno rozmezí teplot, mezi kterými se vzorek zakalí.

Minimum v grafech opět vysvětlíme pomocí hydratace molekul. S rostoucím množstvím přidaných molekul ethanolu je zapotřebí více molekul vody na jejich obklopení. Proto polymer obklopuje vody méně a k separaci mu stačí nižší teplota – závislost klesá. Při určité koncentraci ethanolu již v systému není dostatek molekul vody, aby jej všechen obklopil. Ethanol se proto může dostat do kontaktu s polymerem, pro který je dobrým rozpouštědlem a proto LCST stoupne.

Pro aceton při stejném složení kopolymeru (5% AAm) je minimum méně patrné, protože molekula acetonu nepotřebuje tolik vody k obalení. Pro vyšší podíl AAm v kopolymeru se LCST posouvá k vyšším teplotám a minimum ve fázovém diagramu nastává dříve. Pro vysoké koncentrace AAm již k teplotně indukované fázové separaci nedochází. Důvodem může být struktura PAAM v porovnání s PIPMAm (obr. 15). PIPMAm má v bočním řetězci jak skupiny schopné tvořit vodíkové můstky ($C=O$, NH), tak skupiny hydrofóbní (CH_3 , CH). Při vyšší teplotě, kdy se vodíkové vazby oslabí, mohou převážit hydrofóbní interakce a dojít k fázové separaci. U PAAM se změnou teploty k separaci dojít nemůže, protože v bočním

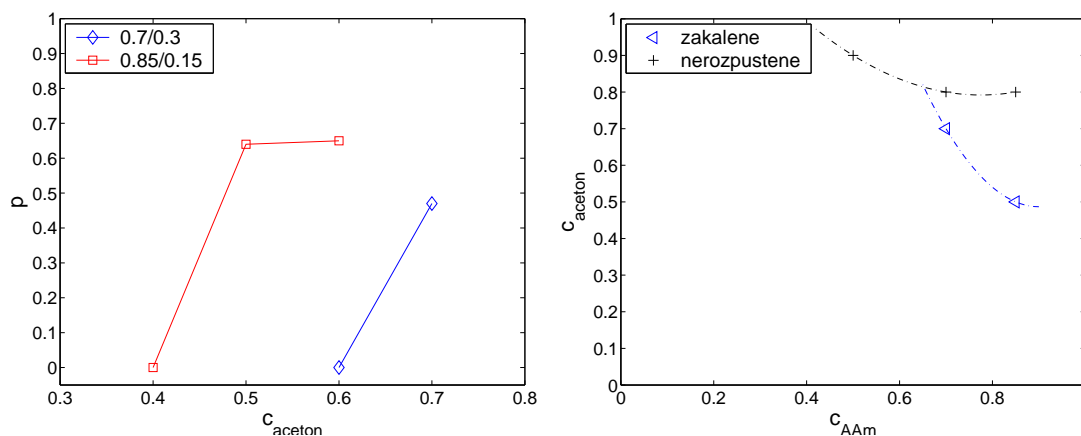
řetězci jsou jen hydrofilní skupiny. Proto větší množství AAm v kopolymeru znesnadňuje teplotně indukovanou fázovou separaci.

6.4 Koncentračně indukovaná fázová separace

U PAAm dochází ke koncentračně indukované fázové separaci. Pro vyšší procento ethanolu či acetonu ve vodném rozpouštědle se polymer sbalí do globulí, protože v bočním řetězci nemá žádné hydrofóbní skupiny. Přehled rozpustnosti čistého AAm ve směsných rozpouštědlech D₂O/ethanol a D₂O/aceton je v tabulce 7. Vidíme, že kolaps začíná u 40 obj% korozpouštědla ve vodě. (Tyto výsledky se shodují s měřením v článku [27].)

% v D ₂ O	ethanol	aceton
20%	čirý (malé plovoucí sraženinky)	čirý
40%	zakalený (sedimentuje)	zakalený (mícháním lze vysrážet v hrudku)
60%	mírně zakalený + povlak na dně	zakalený + povlak polymeru na dně
80%	polymer vysrážený (není přilepen ke dnu)	polymer vysrážený (hruška drží u dna)

Tabulka 7: Přehled rozpustnosti čistého AAm ve směsných rozpouštědlech D₂O/ethanol a D₂O/aceton.



Graf 9: Závislost p-faktoru na koncentraci acetonu (vlevo) a kritické koncentrace AAm a acetonu.

Nerozpustnost PAAm při vyšších koncentracích acetonu způsobuje, že u kopolymeru AAm/IPMAm dochází kromě fázové separace při změně teploty i k separaci při změně rozpouštědla, viz graf 9. Vlevo vidíme hodnoty p-faktoru měřené pro zakalené vzorky. Pro vyšší koncentrace acetonu již docházelo k vysrážení, jak je znázorněno ve fázovém diagramu v pravém z grafů. Naměřené body byly pro názornost proloženy polynomem

druhého stupně. V oblasti nad černou křivkou, tj. pro vysoké koncentrace acetonu a AAm, se kopolymer nerozpouští. Pro koncentrace v oblasti mezi černou a modrou křivkou dochází k fázové separaci v závislosti na složení rozpouštědla D₂O/acetone. Fázová separace nastává u vzorků s obsahem AAm alespoň 70% a obsahem D₂O max. 50%. U ethanolu je hranice nerozpustnosti 85% AAm a 80% EtOH.

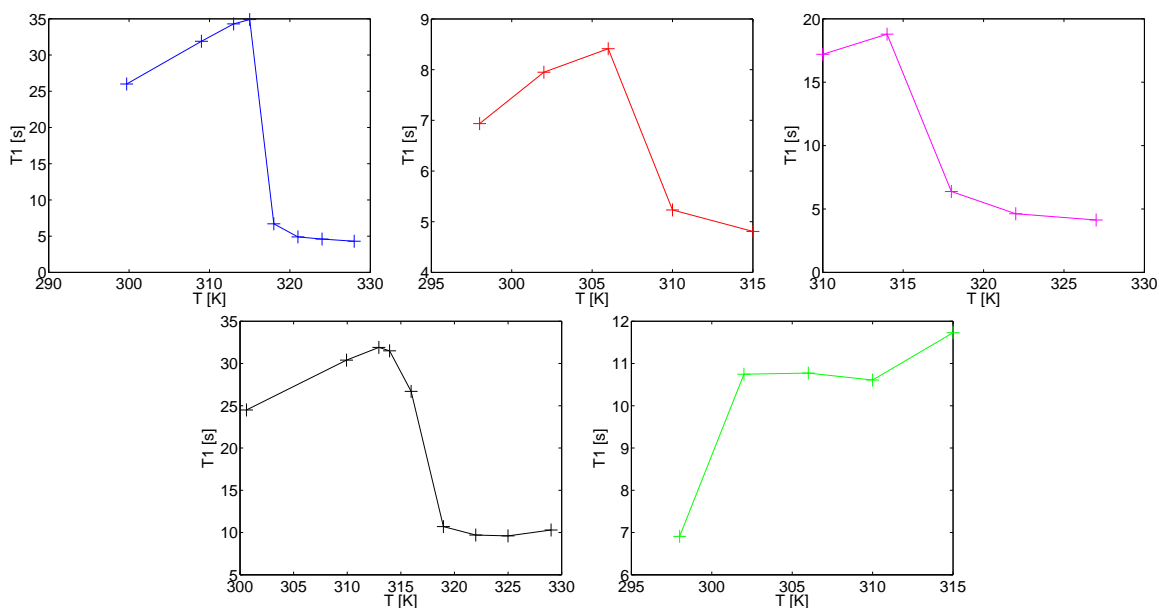
6.5 Relaxační časy

Studiem relaxačních dob signálů rozpouštědla obsažené ve vzorcích dostáváme informace o pohyblivosti molekul rozpouštědla v systému a o jejím kontaktu s polymerními řetězci. Zaměřili jsme se na roztoky čistého PIPMAm a kopolymeru AAm/IPMAm 5/95, který kolaboval nejlépe ze všech připravených kopolymerů. Změny v dynamice molekul různých rozpouštědel (D₂O, D₂O/EtOH a D₂O/acetone) byly zjišťovány měřením teplotních závislostí ¹H a ¹³C podélných a příčných relaxačních dob T₁ a T₂. Většina relaxačních časů pro počáteční teplotu 300 K vyšla v řádu jednotek sekund (tab. 8).

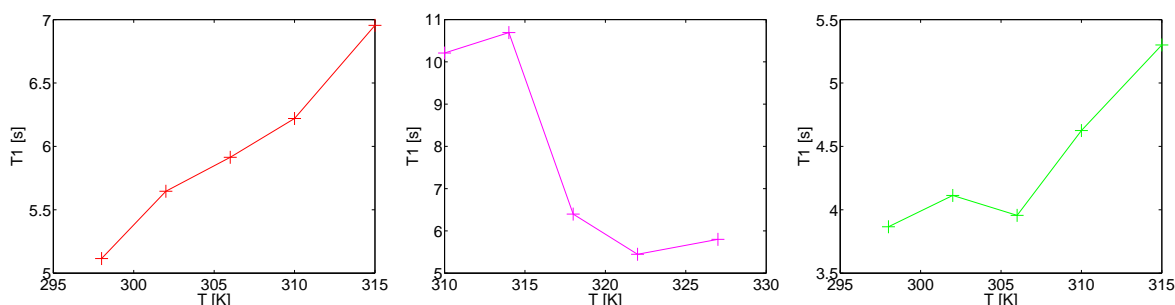
	AAm5D ₂ O	AAm5L20	AAm5a20	PIPMAmD ₂ O	PIPMAmL20
¹ H T ₁ pro OH	25	7	18	25	10
¹ H T ₁ pro CH ₃	–	5	10	–	4
¹³ C T ₁ pro CH ₃	–	6.5	20.5	–	6
¹ H T ₂ pro OH	3	0.06	2	7	0.4
¹³ C T ₂ pro CH ₃	–	4.2	10	–	3

Tabulka 8: Přehled délek relaxačních časů (v s) pro počáteční teplotu 300 K (u vzorků s acetonem 310 K).

Protonové T₂ pro OH vzorku s ethanolem jsou výrazně menší, protože zde přispívá chemická výměna. I T₁ vzorku s ethanolem je nižší, ale zde zřejmě z důvodu menší pohyblivosti ethanolu než vody či acetonu. Měřením relaxací pásů rozpouštědla ve vzorcích před fázovou separací dostáváme dobrou představu o pohyblivosti rozpouštědla v systému. Po fázové separaci ovšem dochází ke vzniku dvou typů vody: volné a vázané, která je v kontaktu s globulárními strukturami. Relaxační doba vázané vody, která je omezena v pohyblivosti, se výrazně zkrátí. Ve všech měřených spektrech jsme našli signály rozpouštědla společné pro volný a vázaný stav. Tyto dva stavy nebylo možné oddělit a získané relaxační časy jsou tedy váženým průměrem relaxačních dob volného a vázaného rozpouštědla. Naměřené teplotní závislosti relaxačních dob jsou v grafech 10 až 14. Skupiny CH₃ a CH₂ ethanolu se chovaly stejně a pro jednoduchost budeme uvádět pouze relaxační doby odpovídající skupině CH₃.

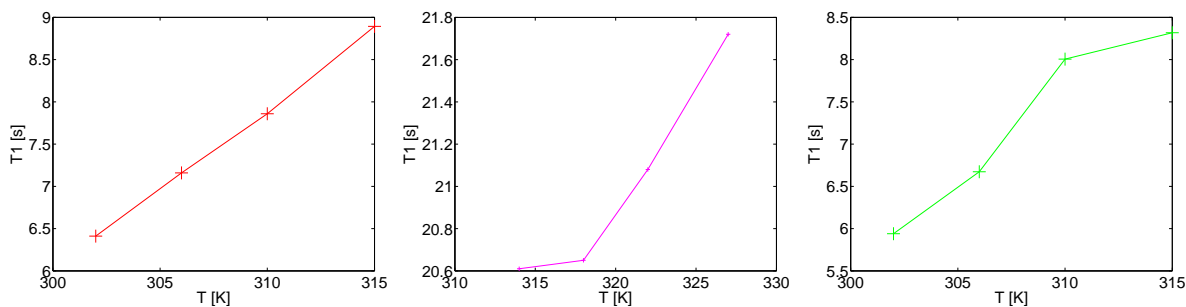


Graf 10: ^1H T_1 píku OH vody a lihu pro (zleva) AAm5D₂O, AAm5L20, AAm5a20, IPMAm100D₂O, IPMAm100L20.

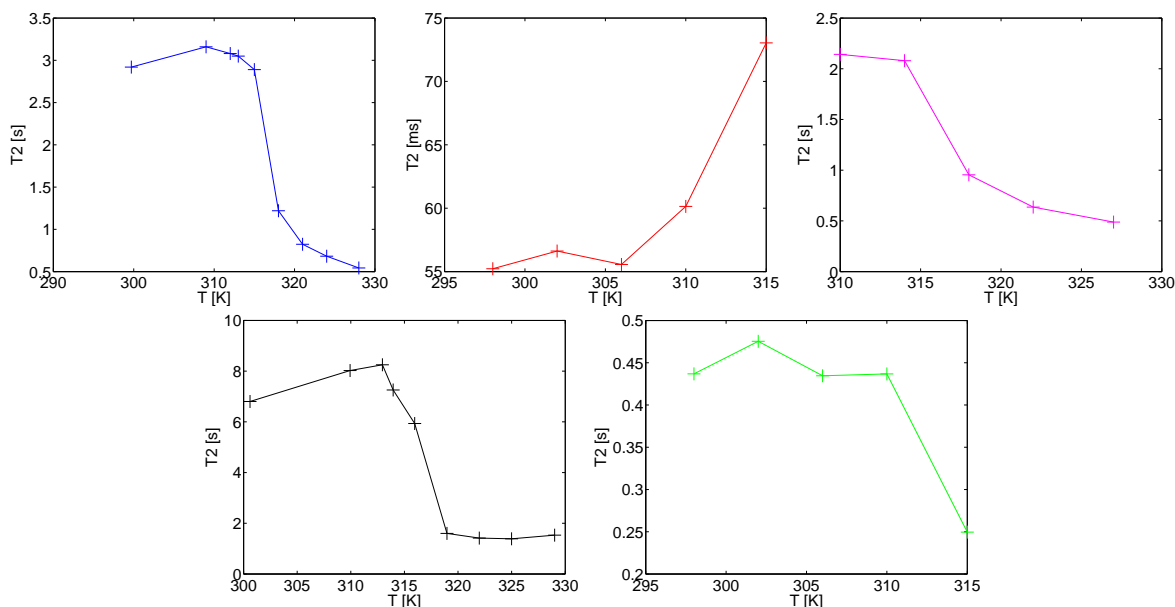


Graf 11: ^1H T_1 CH₃ píku ethanolu nebo acetonu pro (zleva) AAm5L20, AAm5a20, IPMAm100L20.

Jak se chová závislost relaxačních dob na teplotě je schématicky shrnuto v tabulce 9. Z tabulky je zřejmé, že protonové relaxační doby jsou obecně citlivější na přítomnost vázaného rozpouštěla. Výskyt vázané formy vede ke zkrácení hodnot ^1H T_1 a T_2 , ale příslušné uhlíkové podélné relaxační doby T_1 menší hodnotu nevykazují (např. AAm/IPMAm ve smíšeném rozpouštědle D₂O /aceton). Důvodem může být mechanismus, přes který relaxace probíhá. U uhlíkové relaxace je dominantní C-H dipól-dipólová interakce, ale u protonových relaxačních mechanismů nelze dominantní příspěvek určit. Vzdálenost dvou protonů není fixní jako u C–H interakce a interakce mezi protony jsou tak špatně definované. Srovnáme-li hodnoty v tabulce 9 a grafech 10–14, je zřejmé, že po fázové separaci v roztocích kopolymery AAm/IPMAm 5/95 je vždy přítomna část molekul vody vázaná ke globulárním struktu-

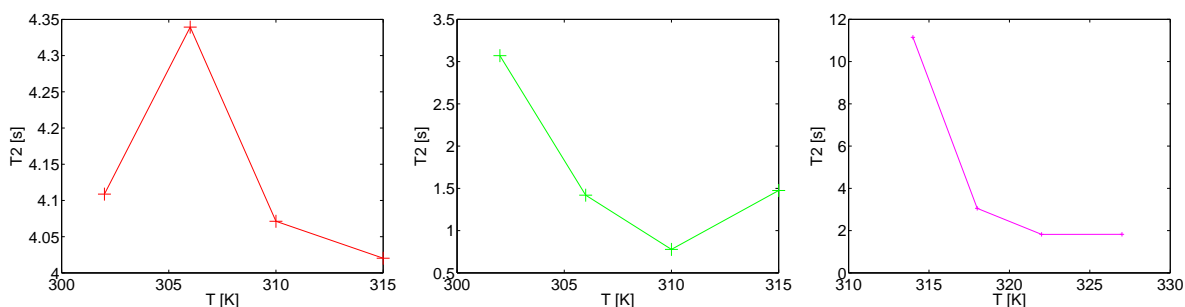


Graf 12: ^{13}C T_1 CH_3 píku pro (zleva) AAm5L20, AAm5a20, IPMAm100L20.



Graf 13: ^1H T_2 pro (zleva) AAm5D₂O, AAm5L20, AAm5a20, IPMAm100D₂O, IPMAm100L20.

rá. Chování korozpouštědla ve směsích $\text{D}_2\text{O}/\text{EtOH}$ a $\text{D}_2\text{O}/\text{aceton}$ se liší. Zatímco část molekul acetonu vykazuje společně s vodou omezenou pohyblivost a je tak pravděpodobně také vázán ke globulím, relaxační doby skupin ethanolu nejsou výrazněji zkráceny a lze tedy z toho předpokládat, že ethanol se významněji nezapojuje do interakcí se zkolabovaným kopolymerem po fázové separaci. Zároveň u vzorků ve vodě s 20ti procenty ethanolu vidíme rozdíl mezi chováním kopolymeru a čistého PIPMAm. U kopolymeru skokově klesá pouze protonová T_1 skupiny OH a indikuje tak v globulích přítomnost pouze vázané vody. Oproti tomu u PIPMAm hodnoty T_2 odpovídající skupinám OH i CH_3 klesají. V předešlých studiích [13, 31, 32] dynamického chování rozpouštědla v systémech PVME/ $\text{D}_2\text{O}/\text{EtOH}$ vždy bylo chování vody a ethanolu analogické; pokud bylo rozpouštědlo vázáno ke globulím,



Graf 14: ^{13}C T_2 CH_3 píku pro (zleva) AAm5L20, IPMAm100L20, AAm5a20.

	AAm5D ₂ O	AAm5L20	AAm5a20	PIPMAmD ₂ O	PIPMAmL20
^1H T_1 pro OH	↓	↓	↓	↓	↗
^1H T_1 pro CH_3	–	↗	↓	–	↑
^{13}C T_1 pro CH_3	–	↗	↗	–	→
^1H T_2 pro OH	↓	↑	↓	↓	↓
^{13}C T_2 pro CH_3	–	→	↓	–	↓
vázaná D ₂ O ?	✓	✓	✓	✓	✓
vázaný EtOH/ aceton ?	–	x	✓	–	✓

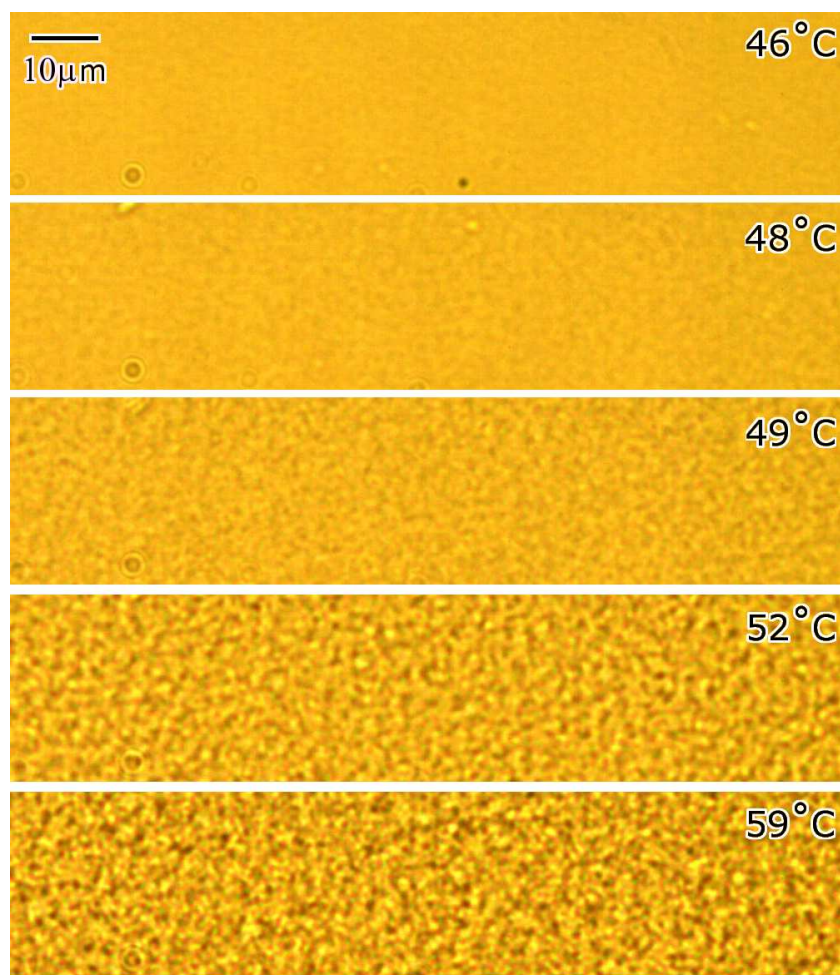
Tabulka 9: Přehled chování relaxačních časů pro vzorek s 5% AAm v různých rozpouštědlech. Vysvětlivky: ↓ ... skokový pokles při LCST alespoň o 45%, ↑ ... skokové zvětšení při LCST o přibližně 30%, ↗ ... rovnoměrný nárůst s rostoucí teplotou, → ... konstantní (pokles či zvětšení menší než 7%).

pak se to projevilo v relaxačním chování obou typů molekul. Na základě těchto skutečností se domníváme, že odlišné chování ethanolu ve vzorku AAm/IPMAm 5/95 souvisí s kopolymerním charakterem řetězce a s přítomností akrylamidových jednotek, které mohou ve zkolabovaném stavu bránit ethanolu vázat se.

6.6 Mikroskop

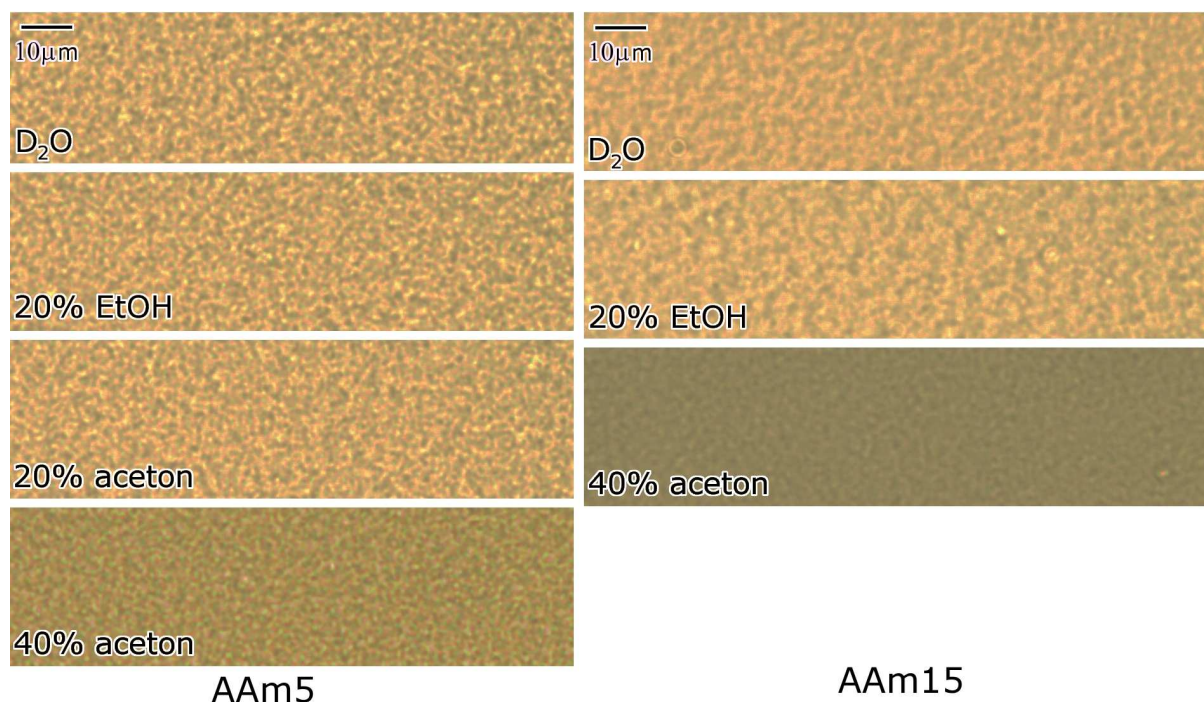
Kromě NMR spektroskopie byla ke studiu fázové separace kopolymerů použita optická mikroskopie, která měla odlišit velikosti globulí v různých rozpouštědlech. Obrázky byly snímány při 50ti násobném zvětšení a byl upraven jas a kontrast, aby byly vzniklé struktury více patrné.

Na obrázku 18 je se zvyšující se teplotou vidět vznik globulárních struktur, až vzniknou kulovité útvary. V porovnání se vzorky s 6 hm% PVME v $D_2O/EtOH$ s 10% EtOH v [31] jsou globule mnohem menší – menší než μm .



Obrázek 18: Obrázky z optického mikroskopu – teplotní vývoj kopolymeru AAm5D₂O.

Výsledky pro dobře kolabující kopolymery AAm5 a AAm15 v různých rozpouštědlech jsou v obrázku 19. Vzorky s 40% acetonu jsou tmavší, protože byly měřeny zvlášť a pravděpodobně při nižší intenzitě osvětlení.



Obrázek 19: Obrázky z optického mikroskopu při teplotě nad LCST.

V obrázkách jsou vidět struktury globulí. Struktury pro AAm5 jsou ostřejší než pro AAm15, protože v AAm5 se do globulí balí všechny kopolymerní řetězce (p -faktor je blízký 1), ale u AAm15 dochází jen k částečné fázové separaci. Rozdíl mezi jednotlivými rozpouštědly není patrný.

Globule jsou pro rozlišení optického mikroskopu příliš malé a koncentrace polymeru (5 hm%) nízká. Aby bylo možné učinit konkrétnější závěry o velikosti vzniklých struktur, musela by se použít jiná experimentální technika – např. dynamický světelný rozptyl nebo elektronová mikroskopie, kde by ale vznikl problém s rozpouštědlem.

Kapitola 7

Závěr

Z teplotně závislých NMR experimentů měřených na vzorcích statistického kopolymeru poly(akrylamidu/*N*-isopropylmethakrylamidu) v deuterované vodě a směsných rozpouštědlech D₂O/ethanol a D₂O/acetone mohou být vyvozeny následující závěry:

- Měření teplotní závislosti separované frakce (*p*-faktoru) kopolymeru v D₂O ukázalo, že s rostoucím zastoupením AAm v kopolymeru dochází k fázovému přechodu při vyšších teplotách, fázový přechod má méně strmý charakter a procento celkově separovaného kopolymeru se po fázovém přechodu snižuje. Pro 50-ti procentní a vyšší zastoupení AAm v kopolymeru již k fázové separaci nedochází.
- Z *p*-faktoru se také zjistilo, že vyšší podíl ethanolu či acetonu v rozpouštědle má podobný efekt jako rostoucí podíl AAm v kopolymeru. Při 60ti a více procentech již kopolymer se změnou teploty nekolabuje.
- U PAAm dochází k fázové separaci v závislosti na složení rozpouštědla. V čisté vodě a vodě s 20ti procenty ethanolu či acetonu je polymer zcela rozpuštěn, ale pro 40% a více dochází k fázové separaci – zakalení. Při 80% dochází k vysrážení polymeru.
- Výše zmíněná vlastnost PAAm způsobuje, že kopolymery s jeho vysokým zastoupením (alespoň 70%) také kolabují se změnou rozpouštědla při min. 50% acetonu. Pro ethanol je hranice při 85% AAm a 80% EtOH.
- Měření relaxačních časů vzorku s 5% AAm ukázalo, že část molekul vody je v globulích vázaná vždy. Ve směsných rozpouštědlech je v globulích vázán také acetone.
- Z měření také plyne, že uhlíková T₁ není citlivá na přítomnost vázaného rozpouštědla.

Ze studia struktury zkolabovaného kopolymeru na optickém mikroskopu lze vyvodit závěr, že globule jednoho kopolymeru v různých rozpouštědlech vypadají podobně, ale pro různé kopolymery se nepatrně liší.

Literatura

- [1] R. Hrabal, H. Dvořáková, and J. Lang, “Studijní materiály.” <http://staff.vscht.cz/nmr>.
- [2] H. Günter, *NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry*. John Wiley and Sons, Chichester, 1995.
- [3] E. Butler, *Avancetm - Beginners Guide*, pp. 30–33. Rheinstetten Germany, 2003.
- [4] A. Edison, “Class notes for bch 6746 - structural biology: Theory and applications of NMR spectroscopy.” University of Florida, 2000.
- [5] F. Bloch, “Nuclear induction,” *Phys. Rev.*, no. 70, pp. 460–474, 1946.
- [6] J. McMurry, *Organická chemie*, ch. 13, pp. 424 – 452. VUTIUM, 1st ed., 2007.
- [7] M. H. Levitt, *Spin Dynamics – Basic of Nuclear Magnetic Resonance*, ch. 20, pp. 543 – 593. John Wiley & Sons Ltd, 2nd ed., 2008.
- [8] D. Canet, *Nuclear Magnetic Resonance: Concepts and Methods*. John Wiley & Sons, Chichester, 1996.
- [9] I. Krakovský, “Studijní materiály k přednášce: Úvod do fyziky kondenzovaných soustav.”
- [10] T. Tanaka, “Phase transitions in gels and a single polymer,” *Polymer*, pp. 1404 – 1412, 1979.
- [11] <http://cnn.com/TECH/9705/16/t.t/gels/index.html>.
- [12] V. O. Aseyev, H. Tenhu, and F. M. Winnik, “Temperature dependence of the colloidal stability of neutral amphiphilic polymers in water,” *Adv. Polym. Sci*, no. 196, pp. 1–85, 2006.
- [13] J. Labuta, “Studium fázového přechodu v polymerních roztocích pomocí metod NMR spektroskopie.” diplomová práce, Univerzita Karlova v Praze – Matematicko-fyzikální fakulta, 2004.

- [14] J. Spěvák, “Phase separation in aqueous polymer solutions as studied by NMR methods,” *Macromol. Symp.*, no. 222, pp. 1–13, 2005.
- [15] H. Y. Liu and X. X. Zhu, “Lower critical solution temperatures of N-substituted acrylamide copolymers in aqueous solutions,” *Polymer*, no. 40, pp. 6985 – 6990, 1999.
- [16] E. Uğuzdogan, T. Çamli, O. S. Kabasakal, S. Patir, E. Öztürk, E. B. Denkbaş, and A. Tuncel, “A new temperature-sensitive polymer: Poly(ethoxypropylacrylamide),” *European Polymer Journal*, no. 41, pp. 2142 – 2149, 2005.
- [17] R. J. Andrews and E. A. Grulke, *Polymer Handbook*. J. Brandrup, E. H. Immergut, E. A. Grulke, Eds., Wiley.
- [18] M. S. Sanchéz, L. Hanyková, M. Ilavský, and M. M. Pradas, “Thermal transitions of poly(n-isopropylmethacrylamide) in aqueous solutions,” *Polymer*, no. 45, pp. 4087 – 94, 2004.
- [19] X. André, “New double-responsive micelles of block copolymers based on n,n-diethylacrylamide: Synthesis, kinetics, micellization, and application as emulsion stabilizers.” PhD thesis, Bayreuth, 2005.
- [20] M. Nichifor and X. X. Zhu, “Copolymers of N-alkylacrylamides and styrene as new thermosensitive materials,” *Polymer*, no. 44, pp. 3053 – 3060, 2003.
- [21] L. Starovoytova, J. Spěvák, and M. Ilavský, “¹H NMR study of temperature-induced phase transitions in D₂O solutions of poly(N-isopropylmethacrylamide)/poly(N-isopropylacrylamide) mixtures and random copolymers,” *Polymer*, no. 46, pp. 677 – 683, 2005.
- [22] E. Djokpé and W. Wogt, “N-isopropylacrylamide and N-isopropylmethacrylamide: Cloud points of mixtures and copolymers,” *Macromol. Chem. Phys.*, no. 2002, pp. 750 – 757, 2001.
- [23] L. Starovoytova, J. Spěvák, L. Hanyková, and M. Ilavský, “¹H NMR study of phase transition of uncharged and negatively charged poly(N-isopropylmethacrylamide) in D₂O solutions,” *Macromol. Symp.*, no. 203, pp. 239 – 246, 2003.
- [24] C. Gao, B. Chen, and H. Möhwald, “Thermosensitive poly(allylamine)-g-poly(N-isopropylacrylamide) copolymers: Salt-tuned phase separation, particle formation and their applicability on curved surface,” *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, no. 272, pp. 203 – 210, 2006.
- [25] L. Starovoytova and J. Spěvák, “Effect of time on hydration and temperature-induced phase separation in aqueous polymer solutions. ¹H NMR study,” *Polymer*, no. 47, pp. 7329 – 7334, 2006.

- [26] J. Spěváček, L. Starovoytova, L. Hanyková, and H. Kouřilová, “Polymer–solvent interactions in solutions of thermoresponsive polymer studied by NMR and IR spectroscopy,” *Macromol. Symp.*, no. 273, pp. 17 – 24, 2008.
- [27] S. Wu and R. A. Shanks, “Solubility study of polyacrylamide in polar solvents,” *Journal of Applied Polymer Science*, pp. 1493 – 1499, 2004.
- [28] R. O. R. Costa and R. F. Freitas, “Phase behavior of poly(*N*-isopropylacrylamide) in binary aqueous solution,” *Polymer*, no. 43, pp. 5879 – 5885, 2002.
- [29] J. Spěváček, L. Hanyková, and M. Ilavský, “Phase separation in poly(*N,N*-diethylacrylamide)/D₂O solutions and physical gels as studied by ¹H NMR spectroscopy,” *Macromol. Chem. Phys.*, no. 202, pp. 1122–1129, 2001.
- [30] J. Spěváček and B. Schneider, “Aggregation of stereoregular poly(methyl methacrylates),” *Adv. Colloid Interface Sci.*, no. 27, pp. 81–150, 1987.
- [31] J. Labuta, “Study of interactions in macromolecular and supramolecular systems.” disertační práce, Univerzita Karlova v Praze – Matematicko-fyzikální fakulta, 2008.
- [32] L. Hanyková, J. Labuta, and J. Spěváček, “Nmr study of temperature-induced phase separation and polymer–solvent interactions in poly(vinyl methyl ether)/d₂o/ethanol solutions,” *Polymer*, no. 47, pp. 6107–6116, 2006.