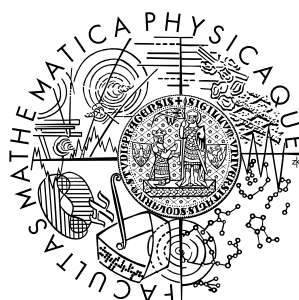


Univerzita Karlova v Praze  
Matematicko-fyzikální fakulta

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



Marek Radecki

### **Studium binárních směsí voda/etanol metodami NMR spektroskopie**

Katedra makromolekulární fyziky

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Lenka Hanyková, Dr.

Studijní program: Obecná fyzika

2007

Chtěl bych poděkovat mým rodičům za podporu během mého studia. Paní doktorce Lence Hanykové za trpělivost, ochotu a spoustu jejího času a energie při konzultacích a korektuře textu vedoucí ke vzniku této bakalářské práce.

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

V Praze dne 9. srpna 2007

Marek Radecki

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>Teoretická část</b>	<b>7</b>
2.1	Podstata NMR spektroskopie . . . . .	7
2.2	Blochovy rovnice . . . . .	9
2.3	Chemický posuv a intenzita signálu ve spektru . . . . .	10
2.4	Podélná spin-mřížková relaxace . . . . .	11
2.5	Příčná spin-spinová relaxace . . . . .	12
2.6	Spektrální hustota . . . . .	13
2.7	Dipól–dipólová interakce . . . . .	14
2.8	Nukleární Overhauserův efekt . . . . .	14
2.9	Ostatní interakce . . . . .	15
2.10	Difúze . . . . .	15
<b>3</b>	<b>Současný stav problematiky binárních směsí voda/ethanol</b>	<b>18</b>
3.1	Fyzikální a chemické vlastnosti ethanolu . . . . .	18
3.2	Rešerše . . . . .	19
<b>4</b>	<b>Cíle bakalářské práce</b>	<b>21</b>
<b>5</b>	<b>Experimentální část</b>	<b>22</b>
5.1	Popis aparatury . . . . .	22
5.2	Příprava vzorků . . . . .	22
5.3	Metody měření pomocí NMR, sekvence pulzů . . . . .	23
5.4	Nastavení experimentů . . . . .	25
<b>6</b>	<b>Výsledky měření a diskuse</b>	<b>27</b>
6.1	$^1\text{H}$ spektra, relaxační časy $T_2$ , difúze, chemický posuv píků . . . . .	27
6.2	$^{13}\text{C}$ spektra, relaxační časy $T_1$ , $T_2$ , NOE . . . . .	30
6.3	Výpočet hydrodynamických poloměrů $r_s$ a $r_c$ . . . . .	31
<b>7</b>	<b>Závěr</b>	<b>36</b>



Název práce: Studium binárních směsí voda/etanol metodami NMR spektroskopie

Autor: Marek Radecki

Katedra (ústav): Katedra makromolekulární fyziky

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Lenka Hanyková, Dr.

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

Abstrakt: V předložené práci byly pomocí metod NMR studovány binární směsi vody a ethanolu o objemové koncentraci 10 – 90%. Byly určeny relaxační časy  $T_1$ ,  $T_2$ , translační difúzní koeficienty, chemický posuv skupin ethanolu ve spektru a nukleární Overhauserův efekt. Z translačního difúzního koeficientu  $D$  a uhlíkové relaxační doby  $T_1$  byly vypočteny a poté srovnány hydrodynamické poloměry. Průběh většiny veličin vykazoval okolo 50 *obj.*% ethanolu extrémální hodnotu, což je spojeno s kritickou mírou vzájemného ovlivňování struktur vody a ethanolu.

Klíčová slova: binární směsi voda/ethanol, vodíková vazba, difúze, nukleární magnetická rezonance

Title: NMR study of binary mixtures water/ethanol

Author: Marek Radecki

Department: Department of Macromolecular Physics

Supervisor: RNDr. Lenka Hanyková, Dr.

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

Abstract: In the present work we studied binary water/ethanol mixtures with volume concentrations between 10 – 90% using NMR spectroscopy. Relaxation times  $T_1$  and  $T_2$ , translation diffusion coefficients and chemical shifts of ethanol in spectra and the nuclear Overhauser effect were determined. We calculated hydrodynamical radii from diffusion coefficients  $D$  and relaxation time  $T_1$  and comparison of both value was done. Most of the quantities showed the extremal value around 50 *vol.*% of ethanol, which is connected with maximum bilateral interaction of water and ethanol.

Keywords: binary mixtures water/ethanol, H – bonding, diffusion, nuclear magnetic resonance

# Kapitola 1

## Úvod

Směsi vody a alkoholů se studují již velice dlouhou dobu nejrůznějšími metodami. Jedná se o běžně se vyskytující směsi, především pak směsi lihu (ethanolu) a vody. Ty jsou velmi často používané jako rozpouštědla při různých chemických a biologických studiích, zkoumá se jejich působení na lidský organismus. Strukturně jednoduché směsi vody a alkoholu slouží jako modely pro složitější komplexní systémy. Opomenout také nelze užití směsí voda/ethanol v potravinářském průmyslu.

Směsi voda/ethanol vykazují anomální chování ve srovnání s vlastnostmi čistých složek. Určité fyzikální vlastnosti, jako např. viskozita, vykazují v oblasti 40–50 *obj.%* ethanolu extrém. Experimentální a teoretické studie ukázaly, že původ tohoto specifického chování je způsoben existencí tzv. *klastrů*, které jsou stabilizovány fyzikálními vazbami, především vodíkovými můstky mezi hydroxidovými skupinami.

V bakalářské práci se budeme zabývat binárními směsemi vody a ethanolu v širokém rozsahu koncentrací ethanolu metodami nukleární magnetické rezonance (dále v textu NMR).

Práce má šest kapitol. Ve druhé kapitole jsou popsány základní principy NMR spektroskopie, teoretický popis studovaných jevů a vzorce pro výpočty proměnných. Třetí kapitola je zaměřena na vlastnosti studované látky- ethanolu a její interakce ve vodním prostředí zjištěné v již uveřejněných publikacích k této otázce. Čtvrtá a pátá část popisuje samotná měření, výsledky, jejich rozbor a srovnání s teoretickými předpoklady. Stručné shrnutí je uvedeno na závěr v šesté kapitole.

# Kapitola 2

## Teoretická část

### 2.1 Podstata NMR spektroskopie

Pro studium chování jaderného spinu se široce používá metoda nukleární magnetická rezonance (NMR). Pulzní NMR je metoda, jíž měříme odezvu vzorku (v tomto případě na vnější magnetické pole), ale také emisi či absorpci energie. V práci budeme charakterizovat experimenty NMR z hlediska klasického ne kvantově mechanického. Kvantově mechanický popis se užívá pro určení teoretického tvaru spekter.

Hmota kolem nás je složena z atomů. Ze znalostí jaderné fyziky víme, že jádra atomů popisují tzv. kvantová čísla – pro účely měření pomocí NMR je důležitý spin. Ten je pro jádra měřená v této práci, vodík  $^1\text{H}$  a uhlík  $^{13}\text{C}$ , roven  $I = \frac{1}{2}$ .

Po vložení jádra do magnetického pole  $\mathbf{B}_0$  (v kartézském systému souřadnic volíme  $\mathbf{B}_0 \parallel z$ ) dojde k rozštěpení na dvě energetické hladiny. Stav charakterizovaný kvantovým číslem  $m_I = +\frac{1}{2}$  odpovídá situaci, kdy je magnetický moment rovnoběžný s vnějším magnetickým polem, a určuje tedy stav s nižší energií. Oproti tomu u stavu  $m_I = -\frac{1}{2}$  míří magnetický moment antiparalelně k  $\mathbf{B}_0$  a energie je zde vyšší. Jejich rozdíl  $\Delta E$  je pak určen rovnicí:

$$\Delta E = \frac{h\gamma B_0}{2\pi}, \quad (2.1)$$

kde  $h$  je Planckova konstanta,  $\gamma$  pro každé jádro specifický gyromagnetický poměr a  $B_0$  velikost vnějšího magnetického pole.

Po zapnutí pole začnou dříve rovnoměrně rozmístěné spiny konat precesi kolem vektoru magnetické indukce vnějšího pole (tzv. Larmorovu precesi) s frekvencí

$$\boldsymbol{\omega}_0 = \gamma \mathbf{B}_0, \quad (2.2)$$

kde  $\gamma$  je tzv. gyromagnetický poměr úměrný náboji a nepřímo úměrný hmotnosti jádra (např. pro vodík  $\gamma_{^1\text{H}} = 2,68 \cdot 10^8 \text{T}^{-1} \text{s}^{-1}$  a  $\gamma_{^{13}\text{C}} = 0,67 \cdot 10^8 \text{T}^{-1} \text{s}^{-1}$

pro jádro uhlíku).

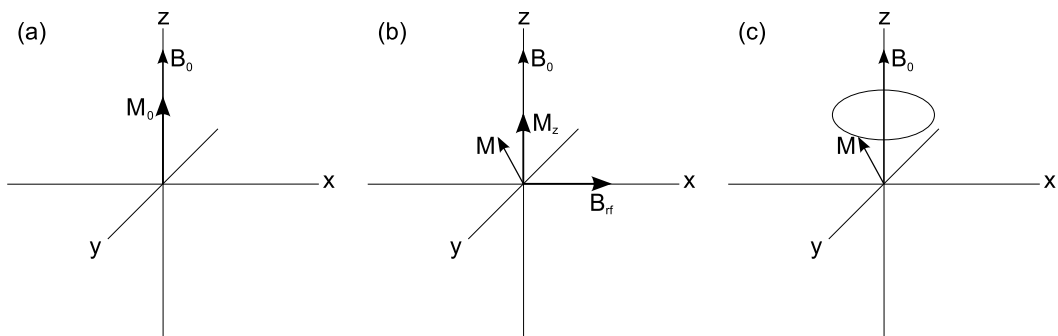
Pro soubor spinů v určitém objemu můžeme souhrnně zavést vektor magnetizace  $\mathbf{M}$ . Ten má nulovou velikost při nulovém vnějším poli, avšak po zapnutí pole se zorientuje ve směru magnetické indukce  $\mathbf{B}_0$  a má velikost  $M_0$ , viz. Obrázek 2.1 a).

Měření NMR je založeno na přidání dalšího pole k této sestavě  $\mathbf{B}_{\text{rf}} \perp \mathbf{B}_0$ . Úhlová frekvence  $\omega_1$  radiofrekvenčního pulzu (dále v textu rf pulz) splňující rezonanční podmínku 2.2, tedy  $\omega_1 = \omega_0$ , zapříčiní vychýlení vektoru magnetizace  $\mathbf{M}$  od vektoru  $\mathbf{B}_0$  (původně  $\mathbf{M} \parallel \mathbf{B}_0$ ), viz. Obrázek 2.1 b).

Rf pulz je charakterizován:

- **sklápěcím úhlem** – odklon  $\mathbf{M}$  od vektoru  $\mathbf{B}_0$  ve stupních, nejčastěji se užívají  $\pi/2$  resp.  $90^\circ$  nebo  $\pi$  resp.  $180^\circ$  pulzy
- **fází** – udává, okolo které osy bude docházet k otáčení, nejčastěji se volí osy  $x$  či  $y$  a jim opačné, fáze je určena směrem pulzu  $\mathbf{B}_{\text{rf}}$

Vhodnou délkou pulzu, tedy  $\pi/2$  pulzem, sklápíme vektor  $\mathbf{M}$  do roviny  $xy \perp z$ . V této situaci je  $\mathbf{M} \perp \mathbf{B}_{\text{rf}}$  a oba vektory leží v rovině  $xy$ . Pokud je amplituda rf pulzu dostatečně malá, můžeme pulz považovat za poruchu k silnému poli  $\mathbf{B}_0$ .



Obrázek 2.1: Orientace magnetizace  $\mathbf{M}$  v prostoru: a) magnetizace i magnetická indukce  $\mathbf{B}_0$  leží ve směru osy  $z$  – rovnovážná poloha; b) magnetizace po vychýlení od osy  $z$  po pulzu  $\mathbf{B}_{\text{rf}}$  v ose  $x$ ; c) situace po skončení pulzu s naznačením Larmorovy precese okolo  $\mathbf{B}_0$ .

Po skončení rf pulzu začne vektor magnetizace  $\mathbf{M}$  vykonávat Larmorovu precesi s frekvencí  $\omega_0$  okolo osy  $z$ , tedy permanentního pole  $\mathbf{B}_0$ , viz. Obrázek 2.1 c). Složka magnetizace  $M_z$  se zmenší a v rovině  $xy$  vznikne nenulová magnetizace. Tato na cívce přijímače (sondy, která rovněž vytvořila rf pulz) vyrobí oscilující proud, neboli signál volné precese (z angl. free induction decay – dále v textu FID). FID představuje NMR spektrum v závislosti na čase.



Poté Fourierovou transformací FIDu získáme NMR spektrum ve frekvenční doméně.

Rozlišení získaných NMR spekter závisí hlavně na velikosti permanentního pole  $\mathbf{B}_0$ , jeho časové neproměnnosti (stálosti), homogenitě pole v místě vzorku a velikosti gyromagnetického poměru měřených jader  $\gamma$ . Zastoupení spinů na vyšší a nižší hladině je úměrné  $\Delta E$ , nepřímo úměrné termodynamické teplotě  $T$  a řídí se Boltzmannovým rozdělovacím zákonem, jak je uvedeno v [1]:

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = e^{-\frac{\Delta E}{k_B T}}, \quad (2.3)$$

kde  $N_\alpha$ ,  $N_\beta$  je populace spinů na základní resp. excitované hladině,  $k_B$  je Boltzmannova konstanta,  $\Delta E$  je určena vztahem 2.1,  $T$  termodynamická teplota

U moderních spektroskopických přístrojů bývá pole  $\mathbf{B}_0$  o velikosti nad  $10T$ .

## 2.2 Blochovy rovnice

Blochovy rovnice poskytují matematický popis složek magnetizace v čase se zapnutým radiofrekvenčním polem  $\mathbf{B}_{\text{rf}}$  pro izolovaný atom. Rovnice jsou analogií setrvačnicku po přidání spin – mřížkové a spin – spinové interakce [2], [3]:

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

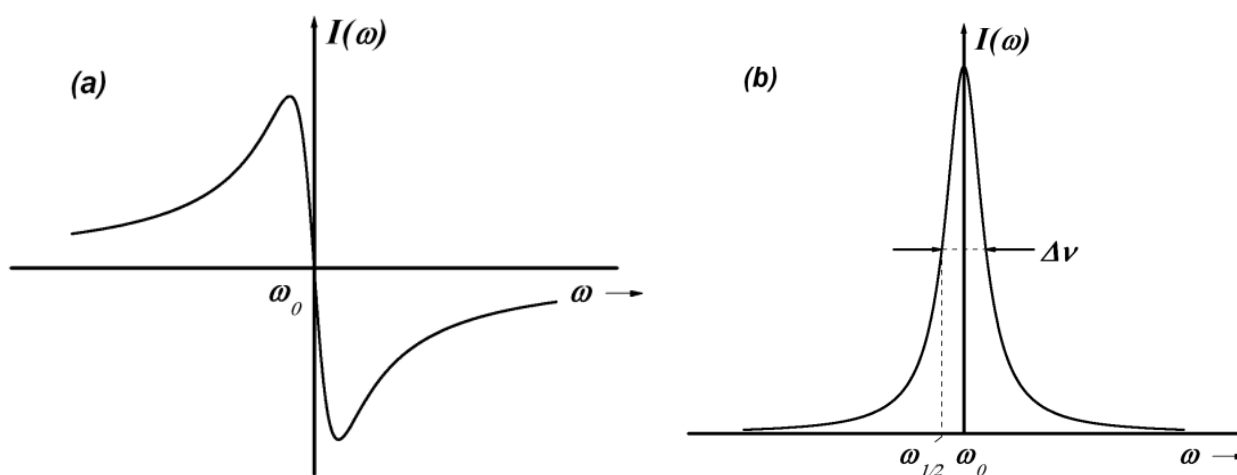
kde vektor celkové magnetické indukce  $\mathbf{B} = \mathbf{B}_0 + \mathbf{B}_{\text{rf}} = (B_{rfx}, B_{rfy}, B_0)$ , magnetizace  $\mathbf{M} = (M_x, M_y, M_z)$ ,  $M_0$  její rovnovážná velikost,  $T_1$  a  $T_2$  jsou podélná resp. příčná relaxační doba.

Jelikož kruhově polarizované pole  $\mathbf{B}_{\text{rf}}$  v rovině  $xy$  rotuje s frekvencí  $\gamma\mathbf{B}_0$  okolo osy  $z$ , je užitečnější použít systém korotující soustavy s vektorem  $\mathbf{B}_{\text{rf}}$  ve směru osy  $x'$ . V rotující soustavě má toto pole v čase konstantní velikost. Pulz lze mnohem lépe popsat v rotující soustavě než v soustavě laboratorní právě díky nevyskytování Larmorovy precese stejné pro všechny vektory v rovnicích.

V korotující soustavě souřadné lze pak zkoumat složky ve fázi s  $\mathbf{B}_{\text{rf}}$  a složky nesfázované:

- **složka ve fázi** – popsána disperzní Lorentzovou křivkou s nulovým bodem pro frekvenci  $\omega_0$
- **složka fázově posunutá o  $90^\circ$  vůči  $\mathbf{B}_{\text{rf}}$**  – Tuto složku popisuje absorpční Lorentzova křivka, která má maximum pro frekvenci  $\omega_0$ . Její pološířka charakterizující přesnost měření je určena vlastní šířkou spektrální čáry související se spin–spinovou interakcí a rozšířeními způsobenými nehomogenitami magnetického pole  $\mathbf{B}_0$ .

Takzvaná absolutní hodnota Lorentzovy křivky je součtem disperzní a absorpční křivky složek ve fázi resp. mimo fázi. Na obrázku 2.2 jsou vykresleny tyto křivky.



Obrázek 2.2: Lorentzovy křivky: a) disperzní b) absorpční (převzato z [4])

## 2.3 Chemický posuv a intenzita signálu ve spektru

Okolí a struktura molekuly ovlivňuje rezonanční frekvenci. Elektronové v atomovém obalu stíní náboj jádra. Po vložení do vnějšího magnetického pole se poté v interakci s jaderným spinem nepřímo projeví právě uvažované elektrony polarizací elektronového obalu. Ty tvoří chemické vazby v molekule a jejich celková distribuce se samotným typem umístění jádra mění vlastní rezonanční frekvenci jader. Tento jev nazýváme chemický posuv.

Přeskupené elektrony v molekule pak stíní určitým způsobem vnější magnetické pole a tedy změny lokálního magnetického pole v místě jádra. Pole  $\mathbf{B}_0$  je zmenšeno o  $\sigma\mathbf{B}_0$  bezrozměrným skalárem  $\sigma$ , který je  $\sigma < 1$  a nazývá se konstanta chemického stínění. Nejčastěji je  $\sigma > 0$ , ve spektru by pak

izolovaná jádra měla vyšší frekvenci než jádra v molekule ovlivněná elektronovým stíněním. Může ale nastat  $\sigma < 0$ , když mají prvky ve sloučenině odlišné elektronegativity. U krystalických látek je  $\sigma$  obecně tenzor. Pro kapaliny, kde dochází k rychlé izotropní rotaci a nediagonální členy jdou k nule, můžeme zjednodušeně napsat  $\sigma = \frac{1}{3}Tr \overleftrightarrow{\sigma}$ . Vztah 2.2 pro rezonanční frekvenci lze přepsat do tvaru

$$\omega = \gamma(1 - \sigma)B_0. \quad (2.5)$$

Chemický posuv píku je tedy rozdíl frekvencí stíněného a nestíněného jádra odvozený od konstanty stínění. Ve frekvenčním spektru se projeví posunutím píku na jiné místo. Lze jej uvádět v běžných jednotkách kruhové frekvence, či v hertzech, ty jsou však závislé na velikosti vnějšího pole, což není vhodné pro srovnání měření na různých přístrojích.

Zavádí se veličina chemického posuvu v jednotkách ppm (partes per million)

$$\delta = \frac{\omega - \omega_{st}}{\omega_{st}} 10^6, \quad (2.6)$$

vztažená k určitému standardu s frekvencí Larmorovy precese  $\omega_{st}$ , která se nastaví jako nulová (referenční) hodnota ve spektru. Pro měření protonových a uhlíkových spekter se užívá standard TMS (tetramethylsilan-  $Si(CH_3)_4$ ). TMS či jakýkoli jiný standard musí být stálý, neinteragující, dobře rozpustný v běžných látkách a jeho signál je teplotně a koncentračně nezávislý. Také volíme standard, pro nějž se nepřekrývají rezonanční křivky.

Pro lehčí jádra s nižším atomovým číslem je stínění menší a tedy i chemický posuv. Naopak pro jádra s vyšším atomovým číslem dochází k většímu stínění. Pro  $^1H$  je chemický posuv 20 až -3 ppm, pro  $^{13}C$  250 až -10 ppm.

Integrální intenzita signálu je určena plochou pod křivkou NMR signálu ve frekvenčním spektru. Je přímo úměrná počtu jader (např. protonů) tvořících daný signál. Poměrné zastoupení jinak vázaných jader (skupin) se shoduje s poměry integrálních intenzit odpovídajících čar ve spektru.

## 2.4 Podélná spin-mřížková relaxace

Po zapůsobení pole  $\mathbf{B}_{rf}$  se dostane systém do nerovnovážného stavu, dojde ke zmenšení složky vektoru magnetizace  $M_z$  z rovnovážné hodnoty  $M_0$ . Poté se systém snaží dostat zpět do rovnováhy, během tohoto procesu se energie přenáší ze spinového systému do okolí nazývaného mřížka. Časový popis  $M_z(t)$  pak vyjadřuje poslední rovnice 2.4, v korotující soustavě souřadné bez prostředního členu

$$\frac{dM_z(t)}{dt} = -\frac{M_z(t) - M_0}{T_1}. \quad (2.7)$$

Řešení diferenciální rovnice 2.7 pak nabývá tvaru:

$$M_z(t) = M_0 \left( 1 - 2e^{-\frac{t}{T_1}} \right), \quad (2.8)$$

kde  $T_1$  nazýváme spin–mřížkový, nebo také podélný relaxační čas. Z průběhu 2.8 je vidět, že  $M_z$  spěje k rovnovážné hodnotě  $M_0$ . Převrácenou hodnotu  $T_1$  pak nazýváme rychlostní konstantou  $R_1$ . Rozdílné rychlosti jsou charakteristické každému jádru.

Měření relaxační doby  $T_1$  se provádí pomocí tzv. experimentu *inversion recovery*.

## 2.5 Příčná spin-spinová relaxace

Z rovnic 2.4 se kromě  $T_1$  dobře interpretuje i relaxační doba  $T_2$ . Celková energie systému se nemění, tedy je to entropický proces. Avšak energie se přenáší v rámci spinového systému- rozfázují se složky spinu v rovině  $xy$ . Pro příčný relaxační čas  $T_2^*$ , v němž je zahrnut vlastní relaxační čas  $T_2$  a čas  $T_2^n$  připadající na nehomogenitu vnějšího magnetického pole  $\mathbf{B}_0$  způsobující další rozšíření čáry ve spektru, platí

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2^n}. \quad (2.9)$$

Významný výsledek spin-spinové relaxace popisuje čas  $T_2$ .

Minimalizace  $T_2^n$  se provádí pomocí tzv. shimování, kdy se nehomogenity magnetického pole v místě vzorku  $\mathbf{B}_0$  korigují přidáním dalších polí pomocí cívek.

Vliv příčné relaxace se projevuje ve tvaru spektrálních čar především pro kapaliny a to tak, že určuje pološířku píku

$$\Delta\nu = \frac{1}{\pi T_2^*}. \quad (2.10)$$

Relaxační čas  $T_2$  se tedy měří z časového průběhu vektoru magnetizace  $\mathbf{M}(t)$  metodou *spinového echa*. Průběh určuje rovnice

$$M(t) = M_0 e^{-\frac{t}{T_2}}. \quad (2.11)$$

## 2.6 Spektrální hustota

Časový průběh složky  $B_x(t)$  fluktujícího pole má následující vlastnosti:

- střední hodnota  $\langle B_x(t) \rangle$  se rovná nule pro soubor spinů i pro jeden izolovaný v delším časovém úseku
- střední kvadratická odchylka  $\langle B_x^2(t) \rangle \neq 0$
- pro popis intenzity fluktuací zavedeme tzv. *korelační funkci*

$$G(\tau) = \langle B_x(t)B_x(t + \tau) \rangle \neq 0 \quad (2.12)$$

Jelikož jde korelační funkce  $G(\tau) \rightarrow 0$  pro  $\tau \rightarrow \infty$  a má velkou hodnotu pro  $\tau \rightarrow 0$ , lze ji pro jednoduchost aproximovat jako

$$G(\tau) = \langle B_x^2 \rangle e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}}, \quad (2.13)$$

kde  $\langle B_x^2 \rangle$  je  $G(0)$  a  $\tau_c$  tzv. *korelační čas* určující rychlost fluktuace.

Fourierovou transformací korelační funkce dostaneme *spektrální hustotu*  $J(\omega)$ , ta hraje roli absorpční Lorentzovy křivky, pokud uijeme pro  $G(\tau)$  vztah 2.13.

$$J(\omega) = 2 \int_0^{+\infty} G(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau \quad (2.14)$$

$$J(\omega) = 2 \langle B_x^2 \rangle \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2} \quad (2.15)$$

Užívá se dále *redukovaná spektrální hustota*

$$\mathcal{J}(\omega) = \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}. \quad (2.16)$$

Pokud dynamické chování molekuly vykazuje izotropní rotaci a studovanou molekulu (v našem případě ethanol) považujeme za rigidní kouli, má redukovaná spektrální hustota pro izotropní rotační difúzi tvar

$$\mathcal{J}(\omega) = \frac{2}{5} \left( \frac{\tau_M}{1 + \omega^2 \tau_M^2} \right), \quad (2.17)$$

kde veličina  $\tau_M$  odpovídá pro kapaliny  $\tau_c$  a nazýváme ji korelační čas pro izotropní rotaci, či rotační korelační čas. Rotační korelační čas je ovlivněn teplotou a rovněž viskozitou.

## 2.7 Dipól–dipólová interakce

Fluktuace magnetického pole je zapříčiněna především dipól- dipólovou interakcí.

Přímá dipól- dipólová interakce vzniká v rámci jedné rotující molekuly. Důsledkem změny vektoru spojnice dvou jader v prostoru je trochu jiné pole v místě prvního jádra tvořené jádrem druhým a opačně.

Matematicky popíšeme dipól- dipólovou interakci jako interakci dvou spinů v molekule ve vzdálenosti  $r$ , avšak se zanedbáním chemických vazeb. Záleží také na orientaci molekuly k vnějšímu magnetickému poli  $\mathbf{B}_0$ . Jev popisuje tzv. *dipól- dipólová interakční konstanta*

$$DCC = \frac{h\mu_0\gamma_H\gamma_C}{8\pi^2}r^{-3}, \quad (2.18)$$

kde  $h$  je Planckova konstanta,  $\mu_0$  permeabilita vakua,  $\gamma_H$  resp.  $\gamma_C$  jsou gyromagnetické poměry jader  $^{13}\text{C}$  resp.  $^1\text{H}$ .

Pro relaxaci jader  $^{13}\text{C}$  s jádry  $^1\text{H}$  (ta jsou během směšovacího času  $\tau$  saturována) zapříčiněnou dipól- dipólovou interakcí můžeme vypočítat příspěvky k podélné relaxační rychlosti  $R_1^{DD}$  resp. příčné relaxační rychlosti  $R_2^{DD}$ :

$$R_1^{DD} = \frac{1}{4}N_H DCC^2 [6\mathcal{J}(\omega_H + \omega_C) + 3\mathcal{J}(\omega_C) + \mathcal{J}(\omega_H - \omega_C)], \quad (2.19)$$

$$R_2^{DD} = \frac{1}{4}N_H DCC^2 [3\mathcal{J}(\omega_H + \omega_C) + \frac{3}{2}\mathcal{J}(\omega_C) + 3\mathcal{J}(\omega_H) + \frac{1}{2}\mathcal{J}(\omega_H - \omega_C) + 2\mathcal{J}(0)]. \quad (2.20)$$

Zde  $N_H$  označuje počet uhlíků přímo navázaný na uhlík, DCC dipól- dipólovou interakční konstantu a tvary  $\mathcal{J}(\omega)$  jsou redukované spektrální hustoty.

## 2.8 Nukleární Overhauserův efekt

Nukleární Overhauserův efekt (dále NOE), je dalším projevem dipól- dipolární interakce, zapříčiněné tzv. *křížovou relaxací* mezi jádry  $^{13}\text{C}$  a  $^1\text{H}$ . Křížovou relaxací míníme efekt přenosu energie z jednoho spinu na druhý. V moderní spektroskopii výběrově ozařujeme jeden druh jader např.  $^1\text{H}$  a zkoumáme transport energie spinům jader cizích, v tomto případě uhlíku. Po dostatečně dlouhé době vzroste na neozařovaném druhu jader magnetizace a to se následně projeví zvýšením intenzity signálu ve spektru. Pro výše volený případ ozařování  $^1\text{H}$  a zkoumání uhlíkového spektra, lze velikost NOE popsat rovnicí

$$NOE = 1 + \frac{N_H\sigma^{DD}}{R_1^{DD}} \left( \frac{\gamma_H}{\gamma_C} \right), \quad (2.21)$$

kde  $\sigma^{DD}$  je rychlost heteronukleární křížové relaxace [5]

$$\sigma^{DD} = \frac{1}{4} N_H D C C^2 [6\mathcal{J}(\omega_H + \omega_C) - \mathcal{J}(\omega_H - \omega_C)]. \quad (2.22)$$

Pro extrémální hodnotu signálu v uhlíkovém spektru při ozařování vodíku platí:

$$NOE = 1 + \frac{\gamma_H}{2\gamma_C} \cong 3. \quad (2.23)$$

## 2.9 Ostatní interakce

Mezi další příčiny fluktuace magnetického pole, které se ovšem u kapalin příliš neuplatňují, patří:

- **Nepřímá dipól dipólová interakce** (J–interakce)– interakce jaderných spinů přes vazebné elektrony, kterými jsou jaderné spiny spojené. Ta ovlivňuje vektor spojnice mezi spiny a tímto mění pole v místě jader. J–interakce je měřitelná, pokud jsou jádra spojena malým počtem vazeb, proto je především intramolekulární, vazby přes vodíkové můstky jsou slabé.
- **Anizotropie chemického posuvu** (anglicky chemical shift anisotropy- CSA)– proud elektronů v molekule indukovaný vnějším polem interaguje s jádry. Jev se projevuje u molekul s výrazně nesymetrickým tvarem, když se elektrony nemohou dostatečně volně pohybovat po molekule.
- **Spin–rotační interakce**– náboje v rotující molekule generují proměnlivé lokální magnetické pole, které znovu ovlivňuje magnetický moment jádra. Malé rychle rotující molekuly nejvíce přispívají k této interakci.
- **Elektronová kvadrupólová interakce**– u jader s vyšším spinem než 1/2.

## 2.10 Difúze

Translační difúze je jeden z nejdůležitějších způsobů molekulárního transportu [6], kdy částice jedné látky pronikají do látky druhé. Jedná se o náhodný posuvný pohyb souboru částic, molekul i iontů, který je důsledkem jejich termálního pohybu. Je také známa jako Brownův pohyb.

V izotropních homogenních systémech je pravděpodobnost nalezení částice, která byla původně v místě  $r_0$ , v místě  $r$  po uplynutí času  $t_d$  gaussovsky rozdělena v tvaru

$$P(r_0, r, t_d, D) = (4\pi Dt_d)^{-\frac{3}{2}} e^{-\frac{(r - r_0)^2}{4Dt_d}}, \quad (2.24)$$

kde  $D$  je difúzní koeficient,  $t_d$  difúzní čas.

Pro izotropní systém bez hranic, jak vychází z vlastností Gaussova rozdělení, je střední hodnota posunutí částice nulová. Střední kvadratická vzdálenost už však nulová není a je dána Einsteinovou rovnicí v závislosti na dimenzi prostoru  $n$

$$\langle X^2 \rangle = 2nDt_d. \quad (2.25)$$

Einstein–Smoluchovského rovnice

$$D = \frac{RT}{N_A f} = \frac{k_B T}{f} \quad (2.26)$$

ukazuje, že difúze je také spjata s velikostí molekul a jejich tvarem, který je určen tzv. *frikčním koeficientem*  $f$ ,  $R$  je univerzální plynová konstanta,  $N_A$  konstanta Avogadrova,  $k_B$  Boltzmannova konstanta,  $T$  termodynamická teplota [7].

Za předpokladu, že molekulu považujeme za kouli (ethanol) o hydrodynamickém poloměru (Stokesově poloměru)  $r_s$  ve spojitém prostředí o viskozitě  $\eta$ , platí pro frikční koeficient Stokesova rovnice

$$f = 6\pi\eta r_s. \quad (2.27)$$

Odtud dostáváme Stokes–Einsteinovu rovnici

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r_s}. \quad (2.28)$$

Fakticky je difúzní koeficient počítán z výsledku působení gradientu magnetického pole, které označí molekulu ve vzorku. Poté se porovnává závislost intenzity  $I$  na velikosti gradientu  $G$  pro konstantní čas  $\tau$

$$I_G = I_0 e^{-G^2 D \gamma^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)} \quad (2.29)$$

a fitací se určuje difúzní koeficient  $D$ . V rovnici 2.29 označuje  $I_G$  intenzitu signálu v čase  $2\tau$  (v maximě echa), když je aplikován gradient.  $I_0$  je tedy intenzita signálu bez aplikovaného gradientu,  $\gamma$  gyromagnetický poměr měřeného jádra,  $\delta$  doba trvání aplikovaného gradientu,  $\Delta$  odstup mezi pulzy.



Veličinu  $\Delta - \delta/3$  označujeme za tzv. difúzní čas. (Bližší vysvětlení bude provedeno v kapitole 5.3, obrázek 5.2.)

Pro užitý model rotace tuhé koule ve spojitém prostředí dostáváme vztah mezi dielektrickým korelačním časem  $\tau_D$ , makroskopickou viskozitou  $\eta$  a objemem  $V$ , jak uvádí Stokes-Einstein-Debayův model ([8], [9])

$$\tau_D = \frac{3V\eta}{kT}. \quad (2.30)$$

Vztah mezi dielektrickým korelačním časem a rotačním korelačním časem  $\tau_M$ , zjistitelným z NMR experimentů, odvodili Bloembergen, Purcell a Pound [10]. Po dosazení za objem koule o poloměru  $r_c$  dostáváme

$$\tau_M = \frac{\tau_D}{3} = \frac{4\pi\eta r_c^3}{3kT}. \quad (2.31)$$

Můžeme poté srovnat poloměry koulí  $r_s$ , poloměr z translační difúze, a  $r_c$ , poloměr s rotačního korelačního času, z rovnic 2.28 a 2.31.

Výsledky difúzní NMR spektroskopie popisují mezimolekulární interakce, které hrají důležitou roli při rozeznávání molekul v roztocích. Touto metodou dokážeme souběžně měřit difúzní koeficienty u vícesložkových roztoků, dále určit tvar, velikost i váhu molekul, míru shlukování, vyšetřovat iontové rekombinace, obalování i velikost a strukturu labilních systémů. Umožňuje také virtuální separaci směsí s filtrem pro specifické ligandy různých receptorů (příjemců), s jejíž pomocí lze nalézt hlavní složku směsi.

U nehomogenních roztoků je obtížné vyjádřit difúzní koeficient z NMR experimentů.

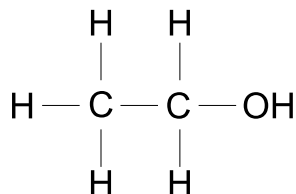
# Kapitola 3

## Současný stav problematiky binárních směsí voda/ethanol

### 3.1 Fyzikální a chemické vlastnosti ethanolu

Ethanol je nejznámějším zástupcem alkoholů, což je skupina uhlovodíků, které mají substitučně navázanou hydroxylovou skupinu na uhlíkovém řetězci místo atomu vodíku. Ethanol je derivátem ethanu.

- strukturní vzorec ethanolu ukazuje obrázek 3.1



Obrázek 3.1: Strukturní vzorec ethanolu

- jeho molekulová hmotnost je  $M = 46,07 \text{ g mol}^{-1}$
- bod tuhnutí čistého ethanolu je 158,8 K, vaří při 351,6 K a je tedy za normálních podmínek kapalný [11]
- ethanol je hořlavina první třídy, tedy vysoce hořlavý, bodu vzplanutí (vznícení) dosahuje při 286,15 K
- závislost hustoty na koncentraci ethanolu ve vodě zobrazuje tabulka 3.1, vidíme, že hustota je lineární funkce koncentrace
- viskozita vzhledem ke koncentraci však lineární závislost nemá a vykazuje extrém okolo 50 *obj.*%, jak rovněž ukazuje tabulka 3.1

hmotnostní %	objemová %	$\rho$ [ $g\ dm^3$ ]	$\eta$ [ $10^{-4} Pa \cdot s$ ]
0	0	997,08	8,94
10	26,4	980,43	13,23
20	44,7	966,39	18,15
30	58,1	950,67	21,80
40	68,3	931,48	23,50
50	76,4	909,85	24,00
60	82,9	886,99	22,40
70	88,3	863,40	20,37
80	92,8	839,11	17,48
90	96,7	813,62	14,24
100	100	785,06	10,96

Tabulka 3.1: Hustota a viskozita ethanolu v závislosti na koncentraci, převzato z [12] a [13]

Při běžných teplotách se u ethanolu v NMR spektroskopii projevují rychle rotující koncové skupiny– methyl ( $CH_3-$ ) i hydroxyl ( $-OH$ ). V protonovém  $^1H$  spektru NMR se vytvoří tři pásy odpovídající skupinám  $CH_3-$  (tripletní),  $-CH_2-$  (kvadrupletní) a  $-OH$  (singletní).

Velice zajímavým a dodnes ne zcela uspokojivě vysvětleným jevem studovaným od padesátých let minulého století je fenomén *klastrů*, útvarů třídímenzionálních, nestálých, často a lehce měnících svou formu i počet jednotek zapojených do útvarů, viz. [14]. Podstatu tvoří tzv. vodíkové můstky (vazby), což je slabá interakce mezi molekulami– mezi atomem vodíku s parciálním kladným nábojem a jiným elektronegativním prvkem– v případě vody i ethanolu se jedná o kyslík. O přesný teoretický popis klastrů se snaží kvantová chemie. Stále se neví, které formy se preferují u vody a ethanolu, jaká je doba života struktur. Příměsi a změna vnějších podmínky tento problém ještě prohlubují. U ethanolu (a nižších alkoholů) vznikají obecně jednodušší struktury, jelikož má na celou molekulu jen jeden donorový elektronový pár na kyslíku.

## 3.2 Rešerše

Experimentálních i teoreticky popisných studií o binárních směsích vody a ethanolu bylo vydáno mnoho. Zajímavé jsou například extrémální body u viskozity a difúzního koeficientu v závislosti na koncentraci ethanolu.

Jedni z prvních se o popis vodíkových můstků vody a její schopnosti tvořit rozlehlé 3D struktury– klastry pomocí téměř čtyřboce uspořádaných

vodíkových vazeb pokusili Eisenberg, Kauzmann a Neméthy v [15] a [16].

Rozšíření této teorie na jiné kapaliny nebo směsi kapalin, u nichž se vyskytuje hydroxylová skupina, bylo popsáno v [17]. Výsledkem bylo, že jednosytné alkoholy mohou tvořit jen lineární nebo cyklické shluky [18]. Tyto informace však nebyly průměrné kvůli zkoumání alkoholů metodami fyzikálně-chemickými a termodynamickými a neumožňovaly přímý náhled do struktury na molekulární úrovni.

Posun při zkoumání struktur vody a směsí látek nesoucí hydroxylovou skupinu přinesla NMR spektroskopie. Tato metoda umožňuje přímo měřit například dobu života vodíkových můstků, výměnu mezi OH skupinami a určovat další nové vlastnosti struktur [19].

Publikací k této problematice lze nalézt mnoho.

Mezi dalšími, kdo problematiku struktur ve směsích nižších alkoholů s nejběžnější kapalinou v přírodě- vodou studovali metodami magnetické rezonance, byli Coccia, Indovina, Podo, Viti v roce 1974 [20].

V této práci se pomocí NMR zjišťovaly chemické posuvy a tvary čar ve spektru v závislosti na teplotě ( $-50 - +80^{\circ}\text{C}$ ) a pracovní frekvenci (60, 100, 220 MHz) přes celý rozsah hmotnostních koncentrací (molárních zlomků)  $w$ . Zjištěné výsledky byly dávány do souvislosti s mechanismem tvorby nadmolekulárních struktur v různých koncentračních oblastech ethanolu.

Již přidání malého množství ethanolu (při  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $w < 0,08$ ) podporuje vznik vodíkových vazeb mezi molekulami vody. Lineární závislost  $w$  na chemickém posuvu signálu vody ve střední koncentrační oblasti (pro  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $0,25 < w < 0,75$ ) dokazuje postupné rozrušování vodních struktur se zvyšující se koncentrací ethanolu. U nejvyšších koncentrací ( $20^{\circ}\text{C}$ ,  $w > 0,8$ ) se pozoruje značná nezávislost chemického posuvu vodního i ethanolového OH píku ve spektru. To má za následek nepředpokládané začlenění vody do lineárních struktur čistého ethanolu. Rozdíl v chemických posuvech čisté vody při  $20^{\circ}\text{C}$  a vody v ethanolu bohatých směsích je okolo 0,33 ppm.

Se snižující se teplotou dochází postupně ke zužování oblasti, kde OH signál splývají. Tedy OH píky vody a ethanolu tvoří ve spektru pravděpodobněji jeden pík se zvyšující se teplotou.

V této práci [20] byla také ověřena použitelnost adiabatického oboustranného modelu hydroxylových protonů mezi vodou a ethanolem. Užití pro velmi nízké a vysoké koncentrace bylo ověřeno. Pro střední část koncentračního rozsahu tento model použít nelze.

Další rozšíření teorií struktury klastrů a podrobnější náhled přinesli Nischi a kol. v [21] pomocí hmotnostní spektroskopie.

# Kapitola 4

## Cíle bakalářské práce

V práci se budeme zabývat měřeními binárních směsí ethanolu a vody metodami NMR spektroskopie vysokého rozlišení. Pomocí této techniky budeme zjišťovat vývoj veličin popsaných níže v závislosti na objemové koncentraci roztoku zvláště okolo koncentrace 40 – 50 *obj.%* ethanolu.

Cíle práce lze tedy rozložit následovně:

- Seznámení se s problematikou měření  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  spekter pomocí NMR spektrometru vysokého rozlišení, zvládnutí experimentálních technik potřebných k měření.
- Seznámení se s problematikou struktur tvořenými ethanolem a vodouklastřů.
- Měření  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  spekter binárních směsí voda/ethanol
- Provedení a zpracování relaxačních experimentů ( $T_1$ ,  $T_2$  a NOE)
- Měření translační difúze
- Vypočtení rotačních korelačních časů z relaxačních dob a difúzních koeficientů s jejich následným srovnáním.

# Kapitola 5

## Experimentální část

### 5.1 Popis aparatury

Experimenty byly prováděny na spektrometru firmy Bruker Avance 500 za konstantní teploty 300 K, která byla udržována pomocí teplotní jednotky BVT 3000. Získávala se spektra protonová  $^1\text{H}$ , pro které má spektrometr pracovní frekvenci 500,132 MHz, a uhlíková  $^{13}\text{C}$  spektra s pracovní frekvencí 125,765 MHz. Měření probíhala na sondě TBO, jež umožňuje detekci signálu i ozařování jader  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$ . Udávaná stabilita teploty jednotky BVT 3000 je  $\pm 0,1$  K, celkovou přesnost teploty určují na  $\pm 0,2$  K. Vždy 5 minut před započítáním měření probíhala temperace vzorku.

Chybu určení integrálních intenzit prováděných pomocí firemního softwaru dodávanému ke spektrometru odhaduji na  $\pm 5\%$ .

### 5.2 Příprava vzorků

V této práci byly měřeny směsi ethanolu a vody. Objemové zastoupení složek ukazuje tabulka 5.1.

vzorek	1	2	3	4	5	6
ethanol [obj.%]	10	30	40	50	60	90
voda [obj.%]	90	70	60	50	40	10

Tabulka 5.1: Objemové procenta ethanolu a vody v měřených směsích

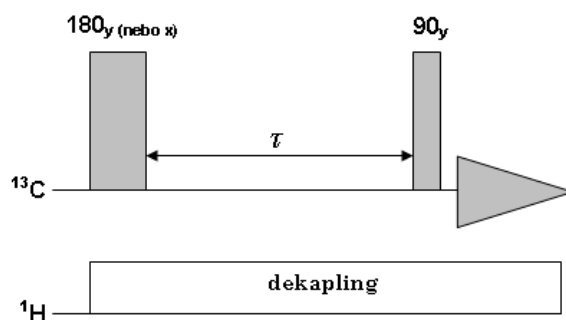
Vzorky byly do spektrometru vkládány ve dvouplášťových kyvetách. Ve vnějším plášti byl umístěn roztok standardu TMS v deuterovaného chlo-roformu  $\text{CDCl}_3$  pro kalibraci frekvenční osy, diskutováno v kapitole 2.3, a korekci nehomogenit, zdůvodněno v kapitole 2.5. Do kyvety vnitřní byly

nalévány roztoky 1–6 s poměry uvedenými v tabulce 5.1. Před uzavřením kyvety byly vzorky odvzdušněny inertním kryptonem a tím bylo zamezeno přítomnosti paramagnetického kyslíku ve vzorcích.

### 5.3 Metody měření pomocí NMR, sekvence pulzů

- **Inversion recovery**– Tato pulzní sekvence, užívaná pro měření podélné relaxační doby  $T_1$ , se skládá z  $180^\circ$  pulzu převádějící magnetizaci do záporného směru osy  $z$ , po uplynutí času  $\tau$ , během něhož magnetizace relaxuje k rovnovážné hodnotě, se aplikuje  $90^\circ$  pulz, který překlápí magnetizaci do roviny  $xy$ . Poté se detekuje signál volné precese FID. Relaxační čas  $T_1$  je poté určen fitací z dat při opakování měření pro různě dlouhé časy  $\tau$ .

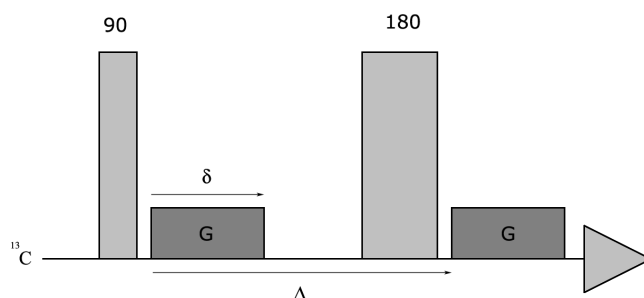
Při měření uhlíkové relaxace se přidává na protonový kanál tzv. *dekapling* odstraňující multipletní struktury způsobené J-vazbou, jak ukazuje obrázek 5.1.



Obrázek 5.1: Sekvence inversion recovery pro měření  $T_1$  uhlíku (převzato z [4])

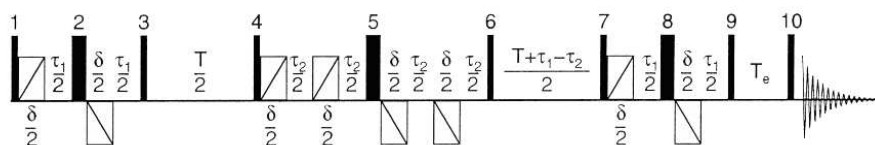
- **Spinové echo**– Tato metoda umožňuje určit příčnou relaxační dobu  $T_2$ . Sekvence začíná  $90^\circ$  pulzem, který překlápí magnetizaci do roviny  $xy$ . Po uplynutí času  $\tau$ , kdy dochází k poklesu příčné složky magnetizace způsobené rozfázováním spinů, zapůsobíme na systém  $180^\circ$  pulzem s fází  $x$ . Ten otočí spiny v rovině  $xy$ , pomalejší přesune na první místo a rychlejší na poslední. Za čas  $\tau$  poté dojde ke koherenci, tzv. *echu*, pro něj pak vyšetřujeme FID.
- **Spinové echo pro měření translační difúze** – Upravená sekvence spinového echa, kdy se za  $90^\circ$  pulz přidá gradient velikosti  $G$  délky  $\delta$ , viz. obrázek 5.2. Díky gradientu se fázový úhel stane závislý na

souřadnici  $z$ , tímto se označí pozice spinu v prostoru. Aplikace druhého gradientu po  $180^\circ$  pulzu protřídí spiny tak, že se sfázuje jen ty, které během doby mezi pulzy  $\Delta$  nezměnily souřadnici  $z$ , jen ty pak přispívají k signálu spinového echa.



Obrázek 5.2: Pulzní sekvence spinového echa pro měření translační difúze

Na obrázku 5.3 vidíme upravenou sekvenci spinového echa pro měření translační difúze, která zahrnuje korekce na konvekční proudění ve vzorku a vznik vířivých proudů v detekční cílce.



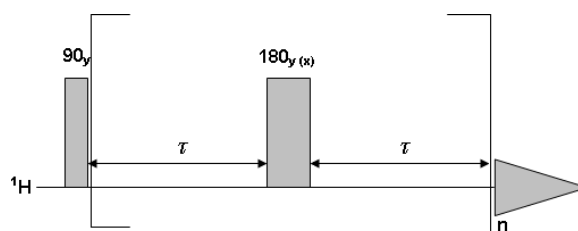
Obrázek 5.3: Sekvence dvojitého stimulovaného echa s bipolárními gradienty pro měření translační difúze (převzato z [22])

- **CPMG** – Je vylepšená sekvence pro spinové echo pro měření relaxační doby  $T_2$ , kterou provedli Carr-Purcell-Meiboom-Gill [23]. Spočívá v tom, že neurčujeme  $T_2$  z různých délek času  $\tau$ , ale z počtu opakování sekvence  $n$ .

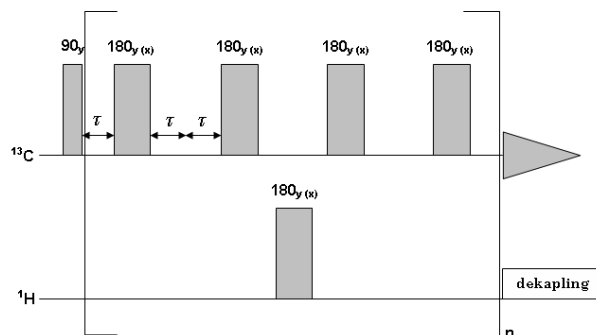
Pro měření protonových spekter je sekvence zobrazena na obrázku 5.4. Sekvenci pro uhlíková spektra vidíme na obrázku 5.5.

- **NOE** – Pro měření heteronukleárního NOE mezi vodíkem a uhlíkem se používá sekvence znázorněná na obrázku 5.6. U této metody zjišťujeme podíl intenzit příslušných pásu pro uhlík, když se vodík neozaruje



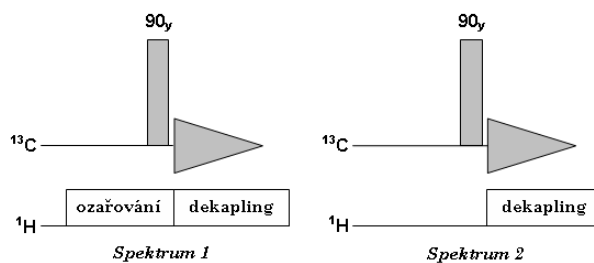


Obrázek 5.4: Sekvence CPMG pro měření  $T_2$  protonů (převzato z [4])



Obrázek 5.5: Sekvence CPMG pro měření  $T_2$  uhlíku (převzato z [4])

(Spektrum 2), a pro uhlík, na nějž se přenáší energie z ozařovaného vodíku (Spektrum 1). Vodík je u obou spekter dekaplován.



Obrázek 5.6: Sekvence pro měření NOE mezi  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  (převzato z [4])

Pro samotné měření a ovládání spektrometru včetně zpracování výsledků měření byl použit program *Topspin 1.3* dodávaný k spektrometru Bruker Avance 500.

## 5.4 Nastavení experimentů

Měření  $^1\text{H}$  NMR spekter

- šířka spektra: 5,0 kHz
- velikost: 16380
- počet scanů (průchodů): 4
- doba akvizice: 1,63815 s
- doba před každým scanem ( $D1$ ): 10 s
- délka  $\pi/2$  pulsu: 13,9  $\mu$ s

#### Měření $^{13}\text{C}$ NMR spekter

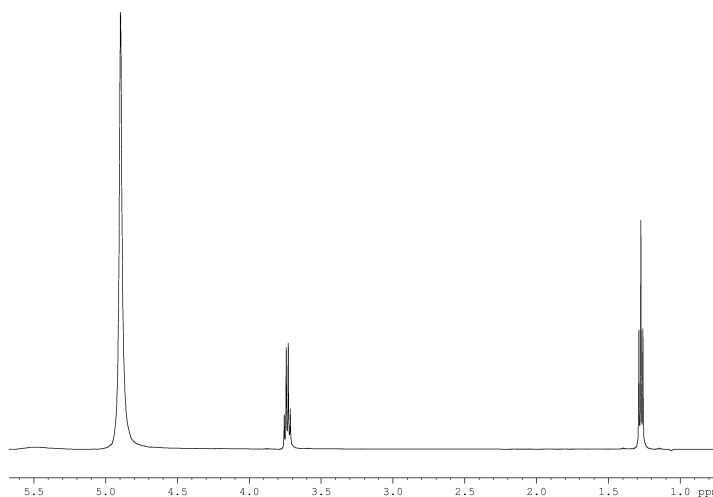
- šířka spektra: 12,53 kHz
- velikost: 32768
- počet scanů (průchodů): 4
- doba akvizice: 1,30749 s
- doba před každým scanem ( $D1$ ): 10 s
- délka  $\pi/2$  pulsu: 13,8  $\mu$ s
- polovina délky echočasu ( $D20$ ): 0,5 ms
- protony  $^1\text{H}$  byly dekaplovány sekvencí waltz-16

# Kapitola 6

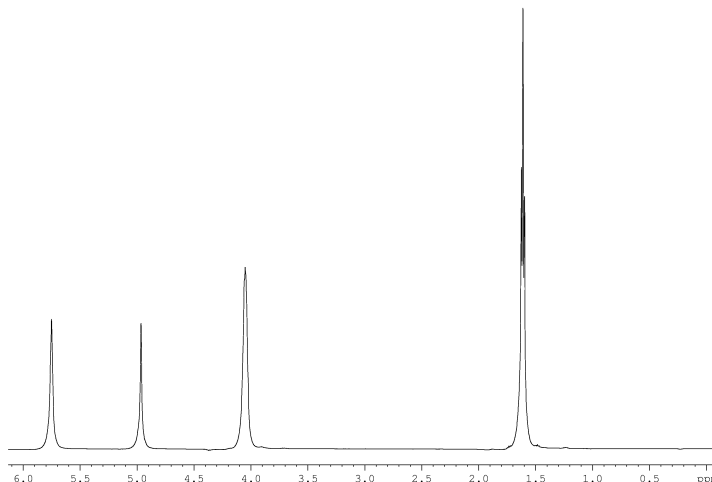
## Výsledky měření a diskuse

### 6.1 $^1\text{H}$ spektra, relaxační časy $T_2$ , difúze, chemický posuv píků

U protonových spekter se pro ethanol objevovalo několik signálů ve spektru. Na obrázcích 6.1 a 6.2 (objemové koncentrace ethanolu 30% resp. 90%) vidíme zleva signál methylové skupiny  $-\text{CH}_3$ , který má tripletní strukturu, kvadruplet methylenu  $-\text{CH}_2-$  a signál skupiny  $-\text{OH}$ , který je pro nižší koncentrace společný pro hydroxyly vody i ethanolu, pro vyšší koncentrace (obr. 6.2) dochází k oddělení těchto signálů. V tomto případě má signál hydroxylové skupiny vody větší chemický posuv (5,75 ppm) než OH skupina ethanolu (4,95 ppm).



Obrázek 6.1:  $^1\text{H}$  spektrum směsi s koncentrací 30 obj.% ethanolu



Obrázek 6.2:  $^1\text{H}$  spektrum směsi s koncentrací 90 *obj.*% ethanolu

Poměr relativních integrálních intenzit by měl pro čistý ethanol odpovídat poměrům počtu protonů vázaných na jednotlivých skupinách. Tedy pro  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$  by mělo přibližně platit

$$I_{\text{OH}} : I_{\text{CH}_2} : I_{\text{CH}_3} = 1 : 2 : 3. \quad (6.1)$$

Tuto rovnici nemůžeme ověřit, pokud je OH pík společný pro vodu i ethanol, pro koncentraci ethanolu 90 *obj.*%, kdy jsou již pík odděleny, je vztah přibližně splněn.

V tabulce 6.1 jsou shrnuty výsledky měření z protonových spekter, relaxačních dob  $T_2$  a difúzí.

Vývoj délky relaxační doby  $T_2$  v závislosti na objemové koncentraci ethanolu ukazují obrázky 6.3 a 6.4.

Pro skupinu OH jsou relaxační časy velice krátké (do 115 *ms*, viz. obrázek 6.4) a dosahují minima u 50 *obj.*%. Malé hodnoty svědčí o existenci chemické výměny hydroxylových protonů vody a ethanolu [20].

Závislost  $T_2$  na ethanolové koncentraci pro skupinu  $\text{CH}_2$  nabývá maxima pro 50 *obj.*% ethanolu.

Pro skupinu  $\text{CH}_3$  z měření vyplývá, že s přibývajícím objemovou koncentrací ethanolu relaxační čas klesá z hodnoty 2005 *ms* na téměř poloviční hodnotu.

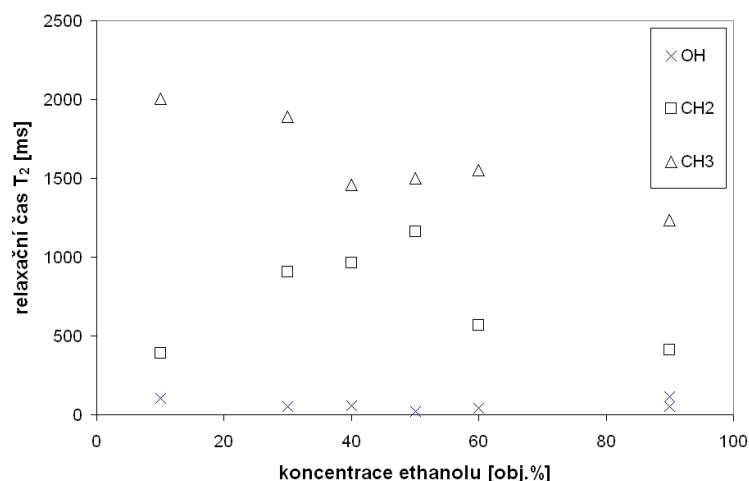
Na obrázku 6.5 vidíme, že chemický posuv píků v protonovém spektru v závislosti na objemové koncentraci ethanolu zůstává pro skupinu  $\text{CH}_3$  resp.  $\text{CH}_2$  konstantní okolo hodnoty 1,3 ppm resp. 3,8 ppm. Pro skupinu OH je

koncentrace ethanolu [obj.%]	skupina	$T_2$ [ms]	chemický posuv [ppm]	$D$ [ $10^{-9} m^2 \cdot s^{-1}$ ]
10	OH	104	4,8	1,97
	CH <sub>2</sub>	393	3,7	0,76
	CH <sub>3</sub>	2005	1,2	0,98
30	OH	53	4,9	1,18
	CH <sub>2</sub>	907	3,7	0,71
	CH <sub>3</sub>	1890	1,3	0,67
40	OH	55	4,9	1,01
	CH <sub>2</sub>	965	3,8	0,66
	CH <sub>3</sub>	1459	1,3	0,62
50	OH	23	4,8	0,87
	CH <sub>2</sub>	1159	3,7	0,58
	CH <sub>3</sub>	1502	1,2	0,54
60	OH	40	4,9	0,91
	CH <sub>2</sub>	567	3,8	0,67
	CH <sub>3</sub>	1550	1,4	0,63
90	OH	51	5,8	0,93
	OH	115	5,0	1,00
	CH <sub>2</sub>	409	4,0	0,89
	CH <sub>3</sub>	1234	1,6	0,89

Tabulka 6.1: Protonová spektra – relaxační čas  $T_2$ , chemický posuv, difúzní koeficient

pro koncentrace ethanolu 10 – 80 *obj.%* chemický posuv také konstantní. Je známo [20], že chemický posuv OH pásů je citlivý na sílu vodíkových vazeb. Vodíkové vazby se mohou měnit v závislosti na koncentraci ethanolu, ale tento efekt může být slabší než vliv chemické výměny. Pro vzorek s 90 *obj.%* ethanolu dojde ke zpomalení chemické výměny a OH pásy vody a ethanolu se oddělí.

Výsledek výpočtu difúzních koeficientů z rovnice 2.29 uvádí obrázek 6.6. U nižších koncentrací znovu vidíme společnou hodnotu pro skupinu OH, která má zároveň pro 10 *obj.%* největší hodnotu difúzního koeficientu  $1,97 \cdot 10^{-9} m^2 \cdot s^{-1}$ . Difúzní koeficient nabývá u 50 *obj.%* minima. Hodnoty pro skupinu OH se pro malé objemové koncentrace ethanolu blíží difúznímu koeficientu čisté vody ( $2,3 \cdot 10^{-9} m^2 \cdot s^{-1}$ , [24]) a pro velké difúznímu koeficientu ethanolu ( $1,08 \cdot 10^{-9} m^2 \cdot s^{-1}$ , [24]).



Obrázek 6.3: Závislost protonových relaxačních časů  $T_2$  různých skupin směsí voda/ethanol na objemové koncentraci ethanolu

Zbývající skupiny ( $\text{CH}_3$  a  $\text{CH}_2$ ), u nichž nedochází k výměně, mají v rámci chyby, kterou odhaduji na 10%, shodné difúzní koeficienty, což vyhovuje podmínce nerozdělitelnosti molekuly. Z rovnice 2.28 vyplývá, že  $D$  je nepřímo úměrná  $\eta$ . Tedy pokud viskozita mezi 40 – 50% (hmotnostními), asi 70 *obj.*% ethanolu, nabývá maxima, musí mít difúzní koeficient někde v této oblasti minimum. Minimum se nachází v 50 *obj.*%, což alespoň kvalitativně odpovídá.

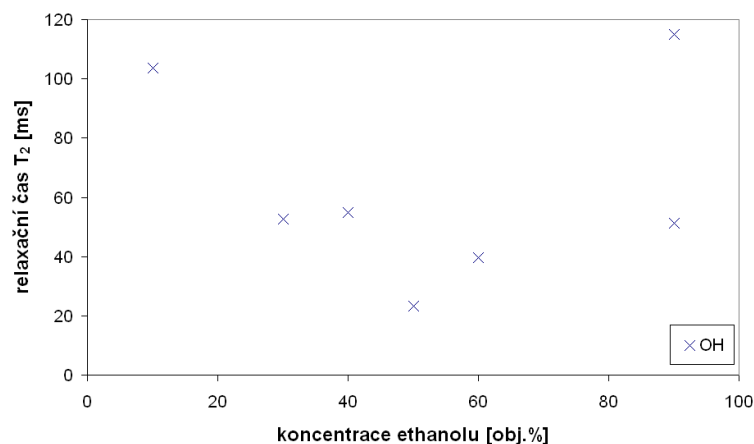
## 6.2 $^{13}\text{C}$ spektra, relaxační časy $T_1$ , $T_2$ , NOE

Uhlíková spektra obsahují dvě čáry od dvou atomů  $^{13}\text{C}$  obsažených v  $\text{CH}_3$  (17 *ppm*) a  $\text{CH}_2$  (57 *ppm*) skupině ethanolu, jak vidíme na obrázku 6.7.

Naměřené hodnoty relaxačních časů  $T_1$ ,  $T_2$  a NOE na uhlíkových jádrech jsou uvedeny v tabulce 6.2.

Z relaxačních časů  $T_1$ , jak je vykresleno na obrázku 6.8, je jasně patrná extrémální závislost s minimem pro obě skupiny, klesající tendence do 50 *obj.*% ethanolu a poté znovu růst.

Relaxační časy  $T_2$  není možno relevantně interpretovat, a protože pro ně neplatí žádná jednoduchá závislost, nebyly vyneseny do grafu. CPMG experimenty jsou velmi citlivé na nastavení pulzů, změnu teploty apod. Přesto lze vypořadovat, že  $\text{CH}_2$  se liší od chování  $\text{CH}_3$  skupiny stejně jako v případě protonových  $T_2$  (6.3). Pro ověření těchto spekulací je nutné experimenty



Obrázek 6.4: Závislost protonových relaxačních časů  $T_2$  skupiny OH směsí voda/ethanol na objemové koncentraci ethanolu

opakovat.

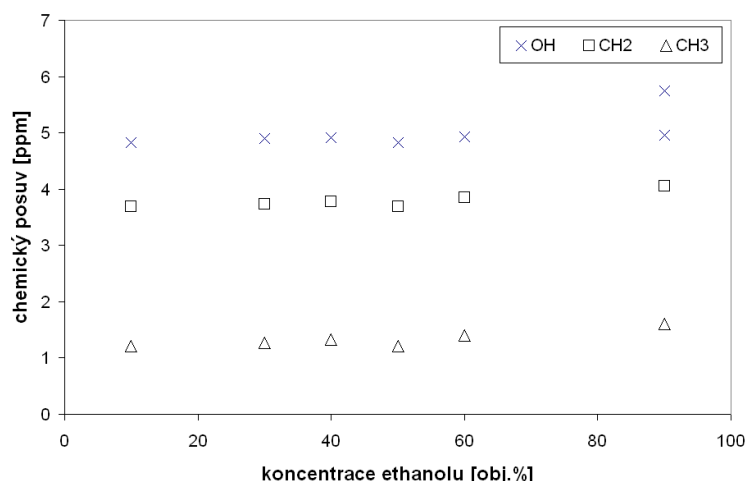
Z tabulky 6.2 a obrázku 6.8 vyplývá, že relaxační čas  $T_2$  je výrazně menší než relaxační čas  $T_1$ , což neodpovídá dynamickému chování malých molekul. U malých molekul jako je ethanol by se hodnoty relaxačních časů měly přibližně rovnat. Efekt snížení relaxačního času  $T_2$  oproti  $T_1$  svědčí o tvorbě klastrů, navíc může být způsoben i chemickou výměnou, jak bylo popsáno v [4].

Hodnoty z měření NOE jsou uvedeny v grafu 6.9. Jak již uváděla rovnice 2.23 v teorii, mají být výsledky tohoto experimentu  $\leq 3$ , což je pro všechny vzorky splněno. Pro první dva vzorky je hodnota nízká- 2,3 a pro zbývající se pohybuje okolo 2,8. Hodnoty NOE pro skupiny  $\text{CH}_2$  a  $\text{CH}_3$  se v rámci chyby neliší.

### 6.3 Výpočet hydrodynamických poloměrů $r_s$ a $r_c$

Hydrodynamický poloměr  $r_c$  lze spočítat, pokud známe rotační korelační časy  $\tau_M$ , viz. tabulka 6.3. Hodnoty v tabulce lze vypočítat z relaxačních dob (jak je uvedeno v kapitole 2.10). Vybrali jsme  $T_1$ , jelikož relaxační časy  $T_2$  vyšly kratší (diskutováno v kapitole 6.2).

Z výsledků vidíme, že vývoj rotačních korelačních časů s přibývajícím objemovou koncentrací ethanolu je nepřímo úměrný stejnému vývoji u relaxačních



Obrázek 6.5: Závislost chemického posuvu různých skupin směsí voda/ethanol na objemové koncentraci ethanolu

dob  $T_1$ . Maximum  $\tau_M$  a minimum  $T_1$  se nachází v oblasti 50 – 60 *obj.%* ethanolu. Skupina  $\text{CH}_3$  má kratší rotační korelační čas než  $\text{CH}_2$ , protože je pohyblivější a vykazuje vlastní rotaci.

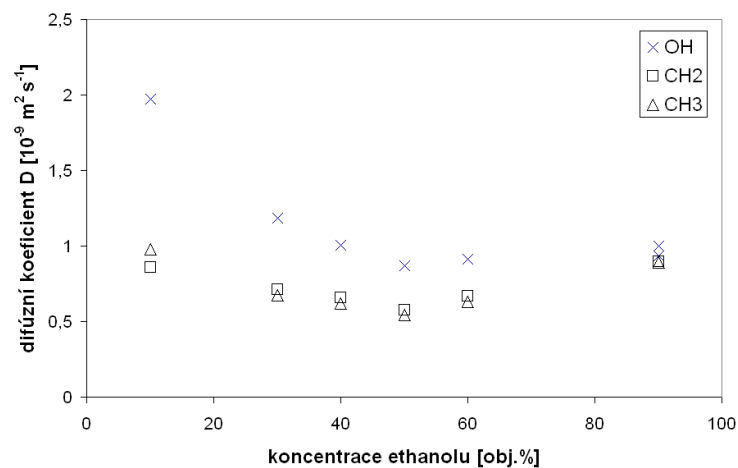
Lze určit hydrodynamické poloměry měřeními difúzí a zároveň i z relaxačních experimentů. Pokusili jsme se tedy oba poloměry spočítat a navzájem je srovnat. Poloměr  $r_c$  byl počítán z rotačního korelačního času, viz. rovnice 2.31, vypočteného z relaxačního času  $T_1$  pro známé hodnoty viskozity z tabulky 3.1 a termodynamické teploty (300K) a Boltzmannovy konstanty  $k_B = 1,38066 \cdot 10^{-23} \text{JK}^{-1}$ . Poloměr  $r_s$  jsme určili z rovnice 2.28, kde rovněž známe viskozitu i teplotu.

Srovnání hydrodynamických poloměrů je uvedeno v tabulce 6.4. Je patrné, že oba hydrodynamické poloměry se velmi dobře shodují. Poloměr určený z relaxačních experimentů je systematicky 2 krát kratší než poloměr počítaný z difúze. Tato odchylka může být způsobena nesplněním teoretických předpokladů o tuhých izotropních koulích. Zajímavým výsledkem je snižování hodnot obou poloměrů s přibývajícím objemovou koncentrací ethanolu.

V [21] Nishi popsal různé typy nadmolekulárních struktur objevující se v binárních směsích voda/ethanol. Tuto struktury mohou mít podobu lineárních řetězků molekul ethanolu nebo složitějších 3D klastrů voda-ethanol v závislosti na koncentraci ethanolu.

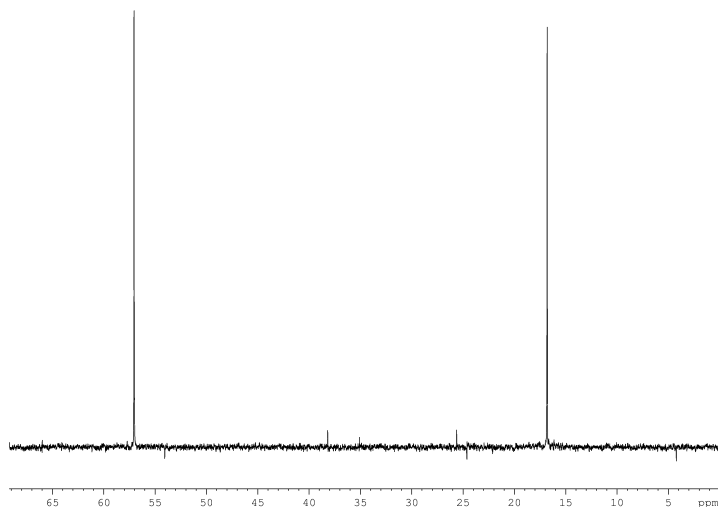
Ze závislosti  $r_s$  a  $r_c$  na objemové koncentraci ethanolu můžeme usuzovat, že lineární struktury se objevují spíše u nižších koncentrací, zatímco





Obrázek 6.6: Závislost difúzních koeficientů  $D$  různých skupin směsí voda/ethanol na objemové koncentraci ethanolu

u vyšších koncentrací ethanolu se molekuly shlukují kompaktněji. Této představě vyhovují i výsledky NOE, viz. obrázek 6.9, kde NOE pro nižší koncentrace nabývá nižších hodnot.



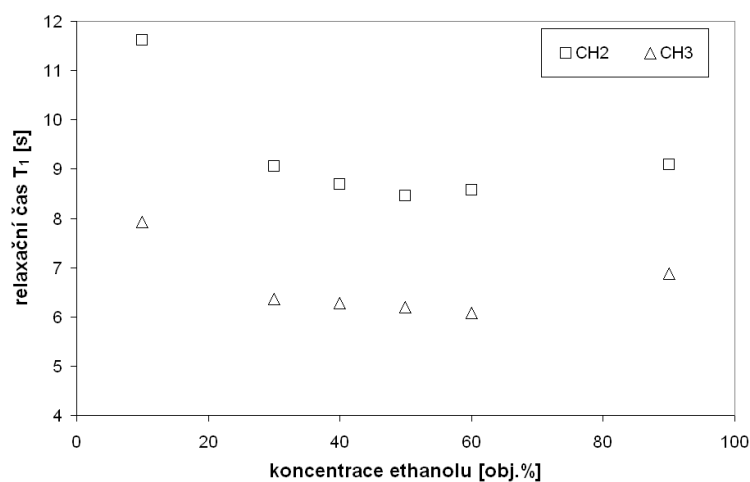
Obrázek 6.7:  $^{13}\text{C}$  spektrum směsi s koncentrací 50 *obj.%* ethanolu

koncentrace ethanolu [obj.%]	skupina	$T_1$ [s]	$T_2$ [s]	NOE
10	$\text{CH}_2$	11,6	5,0	2,3
	$\text{CH}_3$	7,9	4,9	2,3
30	$\text{CH}_2$	9,1	4,7	2,3
	$\text{CH}_3$	6,4	5,5	2,3
40	$\text{CH}_2$	8,7	6,9	2,8
	$\text{CH}_3$	6,3	4,5	2,8
50	$\text{CH}_2$	8,5	6,3	3,0
	$\text{CH}_3$	6,2	4,5	2,9
60	$\text{CH}_2$	8,6	3,6	2,8
	$\text{CH}_3$	6,1	1,9	2,8
90	$\text{CH}_2$	9,1	7,4	2,7
	$\text{CH}_3$	6,9	3,3	2,6

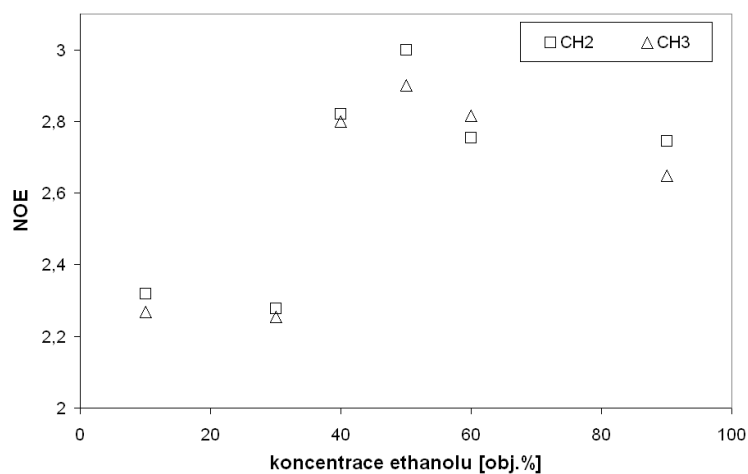
Tabulka 6.2: Uhlíková spektra – relaxační časy  $T_1$ ,  $T_2$ , NOE

	skupina	10 <i>obj.%</i>	30 <i>obj.%</i>	40 <i>obj.%</i>	50 <i>obj.%</i>	60 <i>obj.%</i>	90 <i>obj.%</i>
$\tau_M$ [ps]	$\text{CH}_2$	2,1	2,7	2,8	2,8	2,8	2,6
	$\text{CH}_3$	2,0	2,5	2,6	2,6	2,6	2,3

Tabulka 6.3: Rotační korelační časy  $\tau_M$



Obrázek 6.8: Závislost uhlíkových relaxačních časů  $T_1$  různých skupin směsí voda/ethanol na objemové koncentraci ethanolu



Obrázek 6.9: Závislost nukleárního Overhauserova efektu různých skupin směsí voda/ethanol na objemové koncentraci ethanolu

poloměr	skupina	10 obj.%	30 obj.%	40 obj.%	50 obj.%	60 obj.%	90 obj.%
$r_s [nm]$	CH <sub>2</sub>	0,250	0,219	0,196	0,194	0,147	0,127
	CH <sub>3</sub>	0,220	0,231	0,209	0,205	0,156	0,127
$r_c [nm]$	CH <sub>2</sub>	0,126	0,123	0,117	0,113	0,108	0,110
	CH <sub>3</sub>	0,125	0,121	0,114	0,109	0,105	0,106

Tabulka 6.4: Srovnání hydrodynamických poloměrů  $r_s$  a  $r_c$

# Kapitola 7

## Závěr

Výsledky NMR experimentů na vzorcích voda/ethanol jsou následující.

Relaxační a difúzní experimenty jsou citlivé na změny intermolekulárních interakcí v binárních směsích voda/ethanol. Hodnoty  $^{13}\text{C}$  podélné relaxační doby a  $^1\text{H}$  difúzního koeficientu vykazují extrém v oblasti kolem 50 *obj.%* ethanolu. Chemické posuvy jednotlivých skupin v  $^1\text{H}$  spektru zůstávaly konstantní prakticky v celém rozsahu ethanolové koncentrace. Výsledky z měření příčného relaxačního času nebylo možno interpretovat. Výsledek  $^1\text{H}$  relaxačních experimentů pro skupinu OH byl ovlivněn chemickou výměnou.

Byl přijat model izotropní rotace homogenní koule pro molekulu ethanolu, díky tomu byly spočítány rotační korelační časy ethanolu.

Dále se provedlo srovnání hydrodynamických poloměrů určených z relaxačních experimentů a z difúze. Oba typy poloměrů se velice dobře shodovaly. Závislost hydrodynamických poloměrů na objemové koncentraci ethanolu odpovídá také výsledkům měření NOE. Byla navržena představa různých nadmolekulárních struktur v systémech voda/ethanol.

# Literatura

- [1] Sanders J. K. M., Hunter B. K.: *Modern NMR Spectroscopy- A Guide for Chemists*, Oxford University Press Inc., New York, 1993.
- [2] Bloch F.: *Nuclear induction*, Phys. Rev. **70** (1946) 460 – 474.
- [3] Günter H.: *NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry*, John Wiley and Sons, Chichester, 1995.
- [4] Labuta J.: *Studium fázového přechodu v polymerních roztocích pomocí metod NMR spektroskopie*, Diplomová práce na Matematicko-fyzikální fakultě Univerzity Karlovy na katedře makromolekulární fyziky, 2004.
- [5] Canet D.: *Nuclear Magnetic Resonance: Concepts and Methods*, John Wiley and Sons, Chichester, 1996.
- [6] Cussler E. L.: *Diffusion: Mass Transfer in Fluid Systems*, Cambridge University Press, Cambridge, 1984.
- [7] Cohen Y., Avram L., Frish L.: *Diffusion NMR Spectroscopy in Supramolecular and Combinatorial Chemistry: An Old Parameter—New Insights*, Angew. Chem. Int. Ed. **44** (2005) 520 – 554.
- [8] Ferris T. D., Farrar T. C.: *The Concentration and Temperature Dependence of the Deuterium Quadrupole Coupling Parameter and Rotational Correlation Time of Ethanol-Carbon Tetrachloride Binary Mixtures*, Zeitschrift für Physikalische Chemie **214** (2000) 1659 – 1670.
- [9] Stokes G.: Trans. Cambridge Phil. Soc. **9** (1856) 5.
- [10] Bloembergen N., Purcell E. M., Pound R. V.: *Nuclear Magnetic Relaxation*, Nature **160** (1947) 475 – 476.
- [11] Mikulčák J. a kol.: *Matematické, fyzikální a chemické tabulky*, SPN, Praha, 1989.

- [12] *International Critical Tables of Numerical Data, Physics, Chemistry and Technology*, editováno E. W. Washbrunem, Knovel, New York, 2003.
- [13] Weast R. C.: *Handbook of Chemistry and Physics*, Chemical Rubber Corporation, Cleveland Ohio, 1977.
- [14] Mrázek J.: *Kvantově-chemické výpočty klastrů vody, hydratace molekul HCl a NH<sub>3</sub>*, Diplomová práce na Matematicko-fyzikální fakultě Univerzity Karlovy na katedře chemické fyziky a optiky, 2004.
- [15] Eisenberg D., Kauzmann W.: *The Structure and Properties of Water*, Oxford University Press, Oxford, 1969.
- [16] Némethy G.: Ann. 1st. Sup. Sanith **6** (1970) 491.
- [17] Némethy G., Podo F.: Jerusalem Symp. Quantum Chem. and Biochem. **5** (1973) 715.
- [18] Franks F., Ives D. J. G. : *Structural Properties of Alcohol-Water Mixtures* Quart. Rev. Chem. Soc. **20** (1966) 1 – 44.
- [19] Ageno M., Indovina P. L.: *A Nuclear Magnetic Resonance Study of Water-Ethanol Mixtures* Proc. Natl. Acad. Sci. **57** (1967) 1158 – 1163.
- [20] Coccia A., Indovina P. L., Podo F., Viti V.: *PMR Studies on the Structures of Water-Ethyl Alcohol Mixtures*, Chemical Physics **7** (1975) 30 – 40.
- [21] Nishi N., Koga K., Ohshima C., Yamamoto K., Nagashima U., Nagami K.: *Molecular Association in Ethanol-Water Mixtures Studied by Mass Spectrometric Analysis of Clusters Generated through Adiabatic Expansion of Liquid Jets*, J. Am. Chem. Soc. **110** (1988) 5246 – 5255.
- [22] Jerschow A., Müller N.: *Suppression of Convection Artifacts in Stimulated Echo Diffusion Experiments. Double Stimulated Echo Experiments*, J. Magn. Reson. **125** (1997) 372-375.
- [23] Meiboom S., Gill D.: *Modified Spin- Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times*, Rev. sci. Instrum. **29** (1958) 688 – 691.
- [24] Wensink E. J. W., Hoffmann A. C., van Maaren P. J., van der Spoel D.: *Dynamic properties of water/alcohol mixtures studied by computer simulation*, J. Chem. Phys. **119** (2003) 7308 – 7317.