Univerzita Karlova v Praze Matematicko-fyzikální fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



Mária Šoltésová

# Studium vodíkových vazeb v roztoku ethanolu pomocí NMR relaxací

Katedra fyziky nízkých teplot

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jan Lang, Ph.D. Studijní program: fyzika, obecná fyzika

2007

Ďakujem vedúcemu svojej bakalárskej práce RNDr. Janovi Langovi, PhD. za trpezlivosť, ochotu a cenné rady pri písaní práce, Mgr. Pavlovi Srbovi za pomoc s programom hydroNMR a Andrejovi Mikulíkovi za podporu a pomoc pri riešení softwarových problémov.

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

V Praze dne 28. května 2007

Mária Šoltésová

# Obsah

1	Úvod 6					
	1.1	Motivácia	ı	6		
	1.2	Cieľ práce	2	6		
	1.3	Členenie	$práce \ldots \ldots$	7		
2	Teó	ria NMR		9		
	2.1	Elementá	rny kvantový popis	9		
		2.1.1 G	vromagnetická častica v statickom magnetickom poli .	9		
		2.1.2 V	plyv časovo premenného poľa	10		
	2.2	Klasický	popis	11		
		2.2.1 Po	bhyb v statickom magnetickom poli	11		
		2.2.2 Pi	rítomnosť kruhovo polarizovaného poľa	12		
	2.3	Blochove	rovnice	13		
		2.3.1 Ve	ektor magnetizácie	13		
		2.3.2 Fo	ormulácia Blochových rovníc	13		
	2.4	Typy inte	erakcií v magnetickom poli	14		
		2.4.1 C	nemický posun	14		
		2.4.2 Pi	iama dipól-dipólová interakcia	15		
		2.4.3 No	epriama dipól-dipólová interakcia	16		
		2.4.4 Os	statné interakcie	16		
	2.5	Spinová r	elaxácia	16		
		2.5.1 Di	ipól-dipólová relaxácia	18		
		2.5.2 Re	elaxácia vplyvom CSA	19		
		2.5.3 Sp	pektrálna hustota pre izotropnú rotáciu	19		
		2.5.4 N	ukleárny Overhauserov efekt	19		
3	$\mathbf{Exp}$	erimentá	lne metódy NMR	21		
	3.1	Meranie 1	pozdĺžnej relaxačnej doby $T_1$	21		
	3.2	Meranie priečnej relaxačnej doby $T_2$				
	3.3	Meranie I	NOE	24		
	3.4	Meranie t	ranslačnej difúzie	24		
4	Eta	nol		<b>27</b>		
	4.1	Fyzikálne	vlastnosti	27		
	4.2	Molekula	etanolu	27		
	4.3	Klastre et	tanolu	27		

<b>5</b>	Parametre experimentov				
	5.1	Vzork	y	34	
	5.2	Záklao	$\ln e \text{ parametre } \dots $	35	
	5.3	Nasta	venie meraní na jadrách $^1\mathrm{H}$ .   .	35	
		5.3.1	Vodíkové spektrá	35	
		5.3.2	Translačné difúzie	36	
	5.4	Nasta	venie meraní na jadrách $^{13}\mathrm{C}$	36	
		5.4.1	Relaxačné doby $T_1$	36	
		5.4.2	Relaxačné doby $T_2$	36	
		5.4.3	Heteronukleárny NOE	37	
6	Výs	sledky	experimentov a diskusia	9	
	6.1	Sprace	ovanie nameraných dát	39	
	6.2	Vodík	ové spektrá	39	
		6.2.1	Základné charakteristiky	39	
		6.2.2	Chemický posun hydroxylového protónu	40	
	6.3	Uhlíko	ové spektrá	14	
	6.4	Relax	ačné doby	15	
	6.5	Meran	ie NOE	17	
	6.6	Rotač	né korelačné časy	52	
		6.6.1	Určenie konštánt $DCC$ a $CSA_{eff}$	53	
		6.6.2	Korelačné časy	53	
		6.6.3	Aktivačné energie	56	
	6.7	Transl	lačná difúzia	57	
		6.7.1	Difúzne koeficienty	57	
		6.7.2	Aktivačné energie	57	
		6.7.3	Odhad veľkosti klastrov	31	
	6.8	Hydro	odynamické polomery častíc etanolu $\ell$	33	
		6.8.1	Určenie dynamickej viskozity vzoriek	33	
		6.8.2	Určenie hydrodynamického polomeru	34	
	6.9	Progra	am hydroNMR 6	36	
		6.9.1	Základný popis	36	
		6.9.2	Hydrodynamický model použitý v hydroNMR 6	36	
		6.9.3	Metóda výpočtu difúznych koeficientov	37	
		6.9.4	Dáta z hydroNMR	38	
7	Záv	er	7	$\mathbf{'2}$	
$\mathbf{Li}$	terat	túra	7	'3	

Název práce: Studium vodíkových vazeb v roztoku ethanolu pomocí NMR relaxací Autor: Mária Šoltésová Katedra (ústav): Katedra fyziky nízkých teplot Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jan Lang, Ph.D. e-mail vedoucího: Jan.Lang@mff.cuni.cz

Abstrakt: V roztokoch etanolu vznikajú oligomérne klastre viazané dohromady vodíkovými väzbami. Pomocou experimentálnych metód NMR boli skúmané dve vzorky s rôznou koncentráciou etanolu rozpusteného v nepolárnom hexáne-d<sub>14</sub> pri piatich rôznych teplotách. Na jadrách <sup>13</sup>C boli merané priečne a pozdĺžne relaxačné doby a nukleárny Overhauserov efekt. Na jadrách <sup>1</sup>H boli zmerané koeficienty translačnej difúzie. Z nameraných údajov boli vyhodnotené dynamické vlastnosti molekúl etanolu a diskutované parametre vznikajúcich klastrov. Získané poznatky boli porovnané s dostupnými publikovanými výsledkami.

Klíčová slova: etanol, vodíková väzba, NMR, jadrová spinová relaxácia, translačná difúzia

Title: Investigation of Hydrogen Bonding in Ethanol Solution by Means of NMR Relaxation Author: Mária Šoltésová Department: Department of Low Temperature Physics Supervisor: RNDr. Jan Lang, Ph.D. Supervisor's e-mail address: Jan.Lang@mff.cuni.cz

Abstract: Hydrogen bonding between the hydroxyl groups of ethanol molecules leads to formation of oligomeric clusters. Two samples with different concentrations of ethanol disolved in non-polar hexane- $d_{14}$  were investigated by NMR experimental methods at five different temperatures. Tranverse and longitudal relaxation times and nuclear Overhauser effect were measured on <sup>13</sup>C nuclei. The translational diffusion coefficients were measured on <sup>1</sup>H nuclei. Dynamic properties of the molecules of ethanol were obtained from the experimental data and parameters of the formed clusters were discussed. Obtained data were compared with available published results.

Keywords: ethanol, hydrogen bonding, NMR, spin relaxation, translational diffusion

# Kapitola 1

# Úvod

#### 1.1 Motivácia

Zaujímavé fyzikálne vlastnosti kvapalného etanolu viedli k dôkladnému experimentálnemu štúdiu tejto látky a nižších alkoholov všeobecne už v päťdesiatych rokoch minulého storočia. Detailné porozumenie molekulárnej štruktúry a dynamiky v kvapalnom etanole zostáva však dodnes výzvou pre experimentálne aj teoretické odvetvia fyziky.

Špecifické vlastnosti etanolu ako kvapaliny sú dôsledkom nekovalentných intermolekulárnych interakcií protónov v hydroxylovej skupine s voľným elektrónovým párom na kyslíku ďalšej molekuly, nazývaných vodíkové väzby. Práve vodíkové väzby sú fenoménom, ktorý má v kvapalnom etanole za následok vznik klastrov molekúl, t. j. oligomérnych komplexov. Hoci je hypotéza tvorby klastrov známa už pomerne dlhú dobu, detailné poznatky o ich štruktúre, vlastnostiach, ako napríklad dobe života, relatívnom zastúpení a ich závislosti na vonkajších podmienkách zostávajú otvorenou otázkou.

Metódy nukleárnej magnetickej rezonancie sú silným nástrojom na skúmanie komplexov viazaných vodíkovými väzbami. Poskytukú totiž nielen poznatky o chemickej štruktúre skúmanej látky, ale aj informácie o dynamických vlastnostiach molekúl v kvapalnom roztoku, a to ako o translačnom difúznom pohybe, tak o globálnom aj lokálnom rotačnom pohybe molekúl a ich častí. Experimenty založené na skúmaní NMR relaxácií boli preto zvolené na skúmanie vodíkových väzieb v roztokoch etanolu v tejto práci. V tomto zmysle táto práca voľne nadväzuje na diplomovú prácu [1], v ktorej sú klastre etanolu skúmané predovšetkým teoreticky pomocou ab initio kvantovo-chemických výpočtov.

# 1.2 Cieľ práce

Cieľom práce je zoznámiť sa zo základnými metodikami experimentov nukleárnej magnetickej rezonancie a využiť ich na skúmanie tvorby vodíkových väzieb v roztoku etanolu v nepolárnom rozpúšťadle (v našom prípade v hexáne- $d_{14}$ ).

Konkrétne ciele predkladanej bakalárskej práce sú nasledujúce:

- Zmerať relaxačné doby jadier <sup>13</sup>C a heteronukleárny Overhauserov efekt medzi jadrami <sup>13</sup>C a <sup>1</sup>H pri niekoľkých koncentráciách a teplotách.
- Určiť koeficient translačnej difúzie na jadrách <sup>1</sup>H v závislosti na koncentrácii a teplote vzoriek.
- Z experimentálnych dát vyhodnotiť parametre translačnej a rotačnej difúzie molekúl.
- Pomocou vhodne zvoleného modelu difúzie molekúl v roztoku etanolu skúsiť odhadnúť vlastnosti klastrov etanolu a ich závislosť na teplote a koncentrácii vzoriek.
- Porovnať získané výsledky s dostupnými publikovanými poznatkami.

## 1.3 Členenie práce

V teoretickej časti práce sa pojdenáva o základných princípoch nukleárnej magnetickej rezonancie, a to ako z hľadiska elementárnej kvantovej mechaniky, tak pomocou klasického popisu. Ďalej sú rozobrané základné interakcie magnetického spinu vo vonkajšom magnetickom poli a diskutované mechanizmy spôsobujúce relaxáciu spinového systému.

Tretia kapitola sa zaoberá základnými experimentálnymi technikami nukleárnej magnetickej rezonancie. Uvedené sú princípy a pulzné sekvencie potrebné na meranie pozdĺžnej relaxačnej doby pomocou metódy "inversion recovery", priečnej relaxačnej doby pomocou experimentu založenom na spinovom echu, nukleárneho Overhauserovho efektu a translačnej difúzie.

Stvrtá kapitola obsahuje informácie o etanole ako skúmanej látke, jeho základných vlastnostiach, charakteristiku molekúl a výber z doterajších poznatkov o tvorbe klastrov molekúl v etanole.

Experimentálna časť práce začína piatou kapitolou, v ktorej sú popísané premeriavané vzorky roztokov etanolu v hexáne a parametre nastavení jednotlivých experimentov.

Hlavnou časťou práce je šiesta kapitola, ktorej obsah tvoria získané výsledky experimentov a ich diskusia. Prvá časť kapitoly obsahuje podrobný popis vodíkových spektier vzoriek, teplotnej závislosti chemického posunu hydroxylového protónu a jeho súvislosť s veľkosťou klastrov. Pozornosť je taktiež venovaná uhlíkovým spektrám.

Ďalej nasledujú výsledky merania relaxačných dôb  $T_1$  a  $T_2$  a nukleárneho Overhauserovho efektu pre premeriavané vzorky pri rôznych teplotách. V nasledujúcej časti sú tieto výsledky použité na výpočet rotačného korelačného času a teda stanovenie dynamického správania molekúl etanolu v skúmaných roztokoch.

Dôležitým experimetálnym výsledkom sú taktiež koeficienty translačnej difúzie molekuly etanolu a hexánu v študovaných vzorkách. Na základe týcho údajov sme sa pokúsili odhadnúť veľkosť klastrov, ktoré sa tvoria v roztoku, v závislosti na teplote a koncentrácii. Z nameraných hodnôt difúznych koeficientov boli určené hydrodynamické polomery klastrov etanolu a získané výsledky boli porovnané s hodnotami pre ab initio vypočíné štruktúry klastrov. Nasleduje diskusia vhodného modelu translačnej difúzie, ktorý dáva správne výsledky pre veľkosť klastrov v zhode s doterajšími publikovanými výsledkami.

# Kapitola 2

# Teória NMR

# 2.1 Elementárny kvantový popis

# 2.1.1 Gyromagnetická častica v statickom magnetickom poli

Nukleárna magnetická rezonancia (NMR) je jav, pri ktorom dochádza k rezonančnému chovaniu atómových jadier s nenulovým spinom  $\hat{I}$  a nenulovým magnetickým momentom  $\hat{\mu}$  v magnetickom poli. Predpokladáme pritom, že vzťah medzi operátormi oboch týchto veličín je daný gyromagnetickým pomerom  $\gamma$  a redukovanou Planckovou konštantou  $\hbar$  ako

$$\hat{\boldsymbol{\mu}} = \gamma \hbar \hat{\boldsymbol{I}}.\tag{2.1}$$

Základná interakcia, ktorá je zodpovedná za jav NMR, je Zeemanova interakcia – interakcia magnetického momentu  $\hat{\boldsymbol{\mu}}$  s externým magnetickým poľom  $\boldsymbol{B}_0$ . Hamiltonián tejto interakcie má tvar

$$H_0 = -\hat{\boldsymbol{\mu}} \cdot \boldsymbol{B}_0 = -\gamma \hbar \hat{\boldsymbol{I}} \cdot \boldsymbol{B}_0.$$
(2.2)

Ak zvolíme v súlade s konvenciou súradnicovú sústavu s osou z v smere externého magnetického poľa  $B_0$ , je  $B_0 = (0, 0, B_0)$  a výraz (2.2) sa dá zjednodušiť na tvar

$$H_0 = -\mu_z B_0 = -\gamma \hbar I_z B_0, \tag{2.3}$$

kde  $I_z$  je z-ová komponenta spinu jadra.

Riešením stacionárnej Schrödingerovej rovnice s hamiltoniánom (2.3) získame 2I + 1 ekvidistantných energetických hladín, tzv. Zeemanov multiplet. Vzdialenosť susedných hladín  $\Delta E$  je

$$\Delta E = |\gamma| \,\hbar B_0. \tag{2.4}$$

Vlastné hodnoty energie sú dané jednotlivými hodnotami magnetického kvantového číslam,teda

$$E_m = -\gamma \hbar B_0 m. \tag{2.5}$$

Jednotlivé hladiny Zeemanovho multipletu zodpovedajú možným priestorovým orientáciám magnetického momentu  $\mu$  voči magnetickému poľu  $B_0$ . Na obr.



Obr. 2.1: Zeemanov multiplet

(2.1) z [2] je uvedený príklad štruktúry Zeemanovho multipletu pre  $I = \frac{3}{2}$  a  $\gamma > 0$  spolu s príslušnými orientáciami magnetického momentu. Energeticky najnižšia hladina zodpovedá v tomto prípade  $m = \frac{3}{2}$ . Pre časticu s  $\gamma < 0$  by energeticky najnižšia hladina bola  $m = -\frac{3}{2}$ .

### 2.1.2 Vplyv časovo premenného poľa

Uvažujme situáciu, v ktorej na atómové jadro pôsobí okrem statického externého magnetického poľa  $B_0$  orientovaného v smere osi z aj časovo premenné pole  $B_1(t)$  s konštantnou amplitúdou, ktorého vektor rotuje konštantnou uhlovou rýchlosťou  $\omega$  v rovine xy. Celkové magnetické pole pôsobiace na časticu potom môžeme vyjadriť v tvare

$$\boldsymbol{B} = B_1 \left( \boldsymbol{i} \cos \omega_z t + \boldsymbol{j} \sin \omega_z t \right) + \boldsymbol{k} B_0.$$
(2.6)

kde  $\boldsymbol{i}, \boldsymbol{j}, \boldsymbol{k}$ , sú jednotkové vektory v smere osí x, y, z. Hamiltonián interakcie jadrového spinu s magnetickým poľom potom môžeme napísať v tvare

$$H = H_0 + H_1(t). (2.7)$$

pričom prvý člen  $H_0$  je daný vzťahom (2.3) a druhý člen  $H_1(t)$ , popisujúci pôsobenie poľa  $B_1(t)$ , má tvar

$$H_1(t) = -\boldsymbol{\mu} \cdot \boldsymbol{B}_1(t) = -\gamma \hbar B_1 \left( I_x \cos \omega_z t + I_y \sin \omega_z t \right) =$$
  
=  $-\frac{B_1}{2} \gamma \hbar \left( e^{i\omega_x t} I_- + e^{-i\omega_z t} I_+ \right).$  (2.8)

Operátory  $I_+$  a  $I_-$ , tzv. zvyšovacie a znižovacie operátory, sú definované ako

$$I_{\pm} = I_x \pm iI_y \tag{2.9}$$

a pri pôsobení na vlastnú funkciu operátora  $I_z$  znižujú, resp. zvyšujú hodnotu magnetického kvantového čísla m o jednotku.

Za predpokladu, že platí  $B_1 \ll B_0$ , môžeme vplyv časovo závislého operátora  $H_1(t)$  študovať pomocou časovo závislého poruchového počtu, podľa kotrého môže malá časovo závislá porucha indukovať prechody medzi jednotlivými stacionárnymi stavmi neporušeného systému. Pravdepodobnosť prechodu  $P_{m',m}$  medzi stavni charakterizovanými kvantovými číslami m' a m je úmerná štvorcu maticového elementu poruchy (viď napr. [2])

$$P_{m',m} \sim |\langle m' | H_1 | m \rangle|^2$$
. (2.10)

Z tvaru hamiltoniánu (2.8), v ktorom vystupujú operátory  $I_+$  a  $I_-$ , je zrejmé, že nenulové budú len maticové elementy, pre ktoré platí  $m' = m \pm 1$ . Magnetické pole  $B_1$  bude teda indukovať prechody len medzi susednými hladinami Zeemanovho multipletu. Vďaka symetrii maticových elementov  $\langle m' | H_1 | m \rangle$  dochádza s rovnakou pravdepodobnosťou k prechodu na nižšiu hladinu ako na vyššiu hladinu.

Energetický rozdiel susedných hladín Zeemanovho multipletu je daný vzťahom (2.4). Prechod indukovaný poľom  $B_1$  je spojený s absorpciou či emisiou kvanta  $\Delta E$ . Ak označíme  $\Delta E = \hbar \omega_0$ , dostaneme miesto podmienky (2.4) podmienku pre tzv. Larmorovu frekvenciu či frekvenciu Larmorovej precesie

$$\omega_0 = |\gamma| B_0. \tag{2.11}$$

Vzťah (2.11) udáva podmienku pre frekvenciu poľa  $B_1$ , nutnú k tomu, aby toto pole mohlo indukovať prechody medzi susednými hladinami Zeemanovho multipletu.

### 2.2 Klasický popis

#### 2.2.1 Pohyb v statickom magnetickom poli

Pri klasickom popise môžeme uvažovať gyromagnetickú časticu s magnetickým momentom  $\mu$  a momentom hybnosti I v klasickom zmysle, medzi ktorými platí priama úmernosť

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \boldsymbol{I}. \tag{2.12}$$

Ak na gyromagnetickú časticu aplikujeme stacionárne pole  $B_0$ , môžeme pre magentický moment  $\mu$  odvodiť pohybovú rovnicu, ktorá má tvar

$$\frac{\mathrm{d}\boldsymbol{\mu}}{\mathrm{d}t} = \gamma \left( \boldsymbol{\mu} \times \boldsymbol{B}_0 \right). \tag{2.13}$$

Riešenie pohybovej rovnice najjednoduchšie získame prechodom k neinerciálnej sústave S' = (x', y', z') rotujúcej konštantnou uhlovou rýchlosťou  $\boldsymbol{\omega}$  okolo osi z. Ak ozančíme  $\delta \boldsymbol{\mu} / \delta t$  deriváciu veličiny  $\boldsymbol{\mu}$  vzhľadom k S', platí

$$\frac{\mathrm{d}\boldsymbol{\mu}}{\mathrm{d}t} = \frac{\delta\boldsymbol{\mu}}{\delta t} + \boldsymbol{\omega} \times \boldsymbol{\mu}.$$
(2.14)

Po dosadení do (2.13) a s využitím (2.12) môžeme pohybovú rovnicu v $S^\prime$ napísať ako

$$\frac{\mathrm{d}\boldsymbol{\mu}}{\mathrm{d}t} = \gamma \left( \boldsymbol{\mu} \times \boldsymbol{B}_{ef} \right), \qquad (2.15)$$

pričom sme zaviedli efektívne magnetické pole $\boldsymbol{B}_{ef}$ vzťahom

$$\boldsymbol{B}_{ef} = \boldsymbol{B}_0 + \frac{\boldsymbol{\omega}}{\gamma}.$$
 (2.16)

Na voľbu uhlovej rýchlosti  $\boldsymbol{\omega}$  nebolo doteraz kladené žiadne obmedzenie. Jej hodnota môže byť teda ľubovoľná. Jednoduchá situácia nastane, ak pre ňu zvolíme hodnotu  $\boldsymbol{\omega}_0$ , pre ktorú je hodnota  $\boldsymbol{B}_{ef}$  nulová, teda

$$\boldsymbol{\omega}_0 = -\gamma \boldsymbol{B}_0. \tag{2.17}$$

Voči takto zvolenej sústave bude magnetický moment nehybný. V laboratórnej sústave S bude magnetický moment opisovať kužeľovú plochu – bude teda konať precesný pohyb s uhlovou frekvenciou  $\omega_0$  danou vzťahom (2.17). Tento pohyb sa nazýva Larmorova precesia a frekvencia  $\omega_0$  sa nazýva Larmorova frekvncia. Zo vzťahu (2.17) plynie vzťah zmedzi vektormi  $\omega_0$  a  $B_0$ 

$$\omega_0 = |\gamma| B_0, \tag{2.18}$$

ktorý je analogický so vzťahom (2.11) získaným pri kvantovom popise.

#### 2.2.2 Prítomnosť kruhovo polarizovaného poľa

V prípade, že na gyromagnetickú časticu pôsobí okrem statického poľa  $B_0$ orientovaného v smere osi z ešte pole  $B_1$  kruhovo polarizované v rovine xy, bude okamžitá hodnota výsledného poľa pôsobiaceho na časticu daná vzťahom (2.6). Rotujúcu sústavu S' zvolíme tak, aby platilo  $B_1 || x'$ . Riešime rovnicu (2.15) s efektívnym poľom

$$\boldsymbol{B}_{ef} = \left(B_0 + \frac{\omega_z}{\gamma}\right)\boldsymbol{k} + B_1\boldsymbol{i}, \qquad (2.19)$$

ktoré je časovo nepremenné. Dostaneme analogický výsledok ako v predošlom prípade, teda že magnetický moment v rotujúcej súradnicovej sústave preceduje okolo efektívneho poľa  $B_{ef}$  s Larmorovou frekvenciou v rotujúcej sústave  $\omega'_0$ 

$$\boldsymbol{\omega}_0' = -\gamma \boldsymbol{B}_{ef},\tag{2.20}$$

uhol precesie je daný počiatočnými podmienkami.

V laboratórnej inerciálnej sústave S bude magnetický moment navyše rotovať okolo osi z s uhlovou rýchlosťou  $\boldsymbol{\omega}$ , výsledný pohyb bude teda precesia doplnená nutáciou.

Ak je splnená podmienka (2.18), teda ak zodpovedá frekvencia kruhovo polarizovaného poľa Larmorovej frekvencii v statickom poli  $B_0$ , redukuje sa efektívne pole na hodnotu

$$\boldsymbol{B}_{ef} = \boldsymbol{B}_1, \tag{2.21}$$

čo zodpovedá stavu magnetickej rezonancie. Magnetický moment potom preceduje okolo osi x' s uhlovou frekvenciou  $\omega' = \gamma B_1$ . Ak bol magnetický moment v čase t = 0 orientovaný v smere  $B_0$ , uhol precesie je  $\pi/2$ .

Ak necháme kruhovo polarizované pole  $B_1$ , ktorého frekvencia je rovná Larmorovej frekvencii  $\omega_0$ , pôsobiť len po určitý časový interval  $\tau$ , vektor magnetického momentu sa pootočí v rovine x'y' o uhol  $\vartheta = \gamma B_1 \tau$ . Po skončení pôsobnia poľa  $B_1$  bude magnetický moment precedovať okolo smeru poľa  $B_0$ . Kruhovo polarizované pole  $B_1$  môže teda meniť uhol precesie, zmena tohto uhlu je daná ako

$$\Delta \vartheta = \gamma B_1 \tau. \tag{2.22}$$

Táto skutočnosť sa využíva v pulzných metódach merania magnetickej rezonancie. Pulzy poľa  $B_1$ , pre ktoré je  $\Delta \vartheta = \pi/2$  resp.  $\pi$  atď., sa nazývajú  $\pi/2$ -pulzy resp.  $\pi$ -pulzy atď.

#### 2.3 Blochove rovnice

#### 2.3.1 Vektor magnetizácie

Jav magnetickej rezonancie spravidla študujeme na makroskopických objektoch, ktoré obsahujú veľké množstvo gyromagnetických častíc. Na popis takéhoto systému častíc je preto výhodné zaviesť veličinu označujúcu výsledný magnetický moment vytvorený iba súborom rezonujúcich gyromagnetických častíc vzorky, ktoré pripadajú na jednotkový objem – vektor magnetizácie M. Tento vektor môže byť vo všeobecnosti odlišný od vektoru totálnej magnetizácie vzorky, určovanej spravidla štatistickými metódami. (Na vektor magnetizácie vo vzorke M môžeme aplikovať podobné úvahy o Larmorovej precesii, ako pre magnetický moment  $\mu$  popísané v predošlých sekciách.)

#### 2.3.2 Formulácia Blochových rovníc

Uvažujme sústavu totožných gyromagnetických častíc s gyromagnetickým pomerom  $\gamma$  umiestnených v magnetickom poli, ktoré sa skladá z dvoch zložiek: zložky  $B_0$  orientovanej v smere osi z a zložky  $B_1 \ll B_0$ , ktorá je všeobecne časovo premenná  $B_1 = B_1(t)$  a leží v rovine xy.

Správanie vektoru magnetizácie M je v takejto situácii popísané tzv. Blochovými rovnicami. Tieto rovnice zahrňujú gyroskopické chovanie častíc, vychádzajú teda z pohybových rovníc v tvare (2.13). Obsahujú však aj vplyv interakcie medzi spinmi navzájom (spin-spinová interakcia), ktorá zaisťuje kolektívne správanie spinov, a interakcie spinov s inými časticami (spin-mriežková interakcia), ktorá zaisťuje výmenu energie medzi spinovým systémom a mriežkou. Spinový systém bude mať teda tendenciu prechádzať do stavu tepelnej rovnováhy s mriežkou. V prípade nulového poľa  $B_1$  a časovo nepremenného poľa  $B_0$  bude rovnovážna hodnota magnetizácie  $M_0$  zrejme orientovaná v v smere  $B_0$ , bude teda platiť  $M_0 = (0, 0, M_0)$ .

Blochove rovnice vychádzajú z predpokladu, že proces ustanovovania rovnováhy medzi spinovým systémom a mriežkou má relaxačný charakter. Pre priečne zložky magnetizácie  $M_x$  a  $M_y$  je zavedená priečna relaxačná doba  $T_2$ . Pre pozdĺžnu zložku magnetizácie  $M_z$  je zavedená pozdĺžna relaxačná doba  $T_1$ . Relaxačné mechanizmy sú bližšie rozobrané v sekcii (2.5).

Časové zmeny jednotlivých zložiek magnetizácie vyvolaná týmito relaxačnými procesmi budú teda dané relaxačnými rovnicami v tvare

$$\left(\frac{\mathrm{d}M_x}{\mathrm{d}t}\right)_{rel} = -\frac{M_x}{T_2} \tag{2.23}$$

$$\left(\frac{\mathrm{d}M_y}{\mathrm{d}t}\right)_{rel} = -\frac{M_y}{T_2} \tag{2.24}$$

$$\left(\frac{\mathrm{d}M_z}{\mathrm{d}t}\right)_{rel} = -\frac{M_z - M_0}{T_1}.\tag{2.25}$$

Kombináciou týchto rovníc s rovnicou tvaru (2.13) dostaneme Blochove rovnice

$$\frac{\mathrm{d}M_x}{\mathrm{d}t} = \gamma \left(\boldsymbol{M} \times \boldsymbol{B}\right)_x - \frac{M_x}{T_2} \tag{2.26}$$

$$\frac{\mathrm{d}M_y}{\mathrm{d}t} = \gamma \left( \boldsymbol{M} \times \boldsymbol{B} \right)_y - \frac{M_y}{T_2} \tag{2.27}$$

$$\frac{\mathrm{d}M_z}{\mathrm{d}t} = \gamma \left(\boldsymbol{M} \times \boldsymbol{B}\right)_z - \frac{M_z - M_0}{T_1}.$$
(2.28)

Blochove rovnice popisujú vlastnosti javu magnetickej rezonancie v látkach pomocou fenomenologických konštánt  $T_1$  a  $T_2$ . Polia  $B_0$  a  $B_1$  musia byť chápané ako mikroskopické lokálne polia vytvorené v mieste rezonujúcej častice. Ich rozdiel oproti makroskopickým poliam aplikovaných na vzorku z vonkajších zdrojov poskytuje dôležité informácie o elektrónovej štruktúre látky. V niektorých prípadoch však môžu byť rozdiely medzi makroskopickými a mikroskopickými hodnotami poľa v prvom priblížení zanedbané.

### 2.4 Typy interakcií v magnetickom poli

#### 2.4.1 Chemický posun

Po vložení systému elektrónov a jadier do magnetického poľa dochádza okrem Larmorovej precesie k mnohým ďalším javom spojeným so vzájomnou interakciou magnetických momentov častíc. Jednou z nich je aj tzv. chemické tienenie, ktoré reprezentuje nepriamu interakciu vonkajšieho magnetického poľa a jadrových spinov zahrnutím elektrónov. Elektrónový oblak prítomný v molekulách ovplyvní lokálne magnetické pole v mieste jadra. Vonkajšie pole  $B_0$  indukuje toky elektrónov, ktoré pôsobia na jadrový spin ako malá aditívna porucha úmerná externému poľu. Vzťah (2.17) tak môžeme prepísať do tvaru

$$\boldsymbol{\omega}_0 = -\gamma (1 - \boldsymbol{\vec{\sigma}}) \boldsymbol{B}_0, \qquad (2.29)$$

kde  $\vec{\sigma}$  je bezrozmerný tenzor chemického tienenia. Smer pôsobenia lokálneho poľa je obecne rôzny od smeru  $B_0$ . Pre každé jadro je tenzor chemického tienenia pevne orientovaný v súradnicovom systéme molekuly.

Tento jav umožňuje odlíšiť atómy s rôznym chemickým okolím. Teoreticky by sme mali v spektre NMR dostať široké, navzájom splývajúce pásy, ktoré by zodpovedali všetkým možným orientáciám molekuly voči vonkajšiemu poľu. Ovšem vďaka rýchlemu tepelnému pohybu molekúl, ku ktorému v kvapalinách dochádza, sa lokálne príspevky magnetického poľa stredujú a meriame izotropnú zložku chemického tienenia

$$\sigma_{iso} = \frac{1}{3} \left( \sigma_{11} + \sigma_{22} + \sigma_{33} \right). \tag{2.30}$$

Absolútna veľkosť chemického tienenia všeobecne závisí na veľkosti statického magnetického poľa  $B_0$ . Aby bolo možné porovnávať výsledky rôznych experimentov, bolo nutné zaviesť relatívnu škálu nezávislú na meracej aparatúre.

Pre bežné magneticky aktívne jadrá boli zvolené štandardné molekuly, ku ktorým je nutné vztiahnuť všetky merania. Bola definovaná veličina chemický posun  $\delta$  udávaná v jednotkách ppm (parts per million):

$$\delta^{iso}[\text{ppm}] = \frac{\omega_0 - \omega_{st}}{\omega_{st}} 10^6 = \frac{\sigma_{st} - \sigma_{iso}}{1 - \sigma_{st}} 10^6 \approx (\sigma_{st} - \sigma_{iso}) 10^6, \quad (2.31)$$

kde  $\omega_0$  je Larmorova frekvencia meranej látky (resp. konkrétnej skupiny ekvivalentných jadier) a  $\omega_{st}$  je Larmorova frekvencia štandardu pre daný izotop. Pre meranie protónových a uhlíkových spektier je štandardom TMS (tetrametylsilán, Si(CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>).

#### 2.4.2 Priama dipól-dipólová interakcia

Pre jadrá so spinom 1/2 je najsilnejšia priama dipól-dipólová interakcia. Je to interakcia medzi jadrovými spinmi ako magnetickými dipólmi. Každý jadrový spin produkuje vo svojom okolí magnetické pole a každý ďalší spin reaguje na toto pole, pričom ich interakcia je vzájomná. Táto interakcia je často označovaná ako pôsobenie "cez priestor", lebo pole medzi jadrovými spinmi pôsobí v priestore medzi spinmi bez započítania elektrónového obalu. Dosah dipóldipólovej interakcie môže byť jednak intramolekulárny, ale tiež intermolekulárny.

Veľkosť je závislá na vzdialenosti oboch dipólov r a na orientácii ich spojnice voči magnetickému poľu  $\boldsymbol{B}_0$ . Dipól-dipólová interakčná konštanta DCC je daná rovnicou

$$DCC = \left(\frac{\mu_0}{4\pi}\gamma_C\gamma_H\hbar\right)r^{-3},\tag{2.32}$$

kde  $\mu_0$  je permeabilita vákua a  $\gamma_H$  a  $\gamma_C$  sú gyromagnetické pomery jadier <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C.

V prípade kvapalných roztokov sa dipól-dipólová interakcia vplyvom rýchleho tepelného pohybu molekúl streduje k nule. Jej význam tým však neklesá, lebo je hlavným relaxačným mechanizmom.

#### 2.4.3 Nepriama dipól-dipólová interakcia

Nepriama dipól-dipólová interakcia, alebo tiež J-interakcia, je nepriama magnetická interakcia jadrových spinov cez väzbové elektróny. Zatiaľ čo priama spin-spinová interakcia je v izotropných kvapalinách stredovaná k nule, sú aj v kvapalných vzorkách jadrové spiny viditeľne spojené prítomnosťou väzbových elektrónov, ktoré menia orientačnú závislosť medzispinovaj interakcie v magnetickom poli prebiehajúcom medzi danými spinmi. Dva spiny majú merateľnú J-interakciu iba pokiaľ sú spojené malým počtom chemických väzieb zahrňujúcich aj vodíkové väzby. Z toho tiež vyplýva, že J-interakcia je väčšinou intramolekulárna. Prípad intermolekulárnej J-interakcie môžu tvoriť vodíkové mostíky, v tomto prípade je J-interakcia omnoho slabšia.

J-interakcia sa v spektre prejavuje štiepením spektrálnych čiar na multiplety, napr. v prípade interakcie dvoch spinov 1/2 sa čiara štiepi na dublet. Rozštiepenie čiar v spektre poskytuje informáciu o vzájomných väzbách medzi atómami. J-interakcia je teda ďalším nástrojom priamej spektroskopickej metódy určovania chemickej štruktúry vzorky.

#### 2.4.4 Ostatné interakcie

Okrem vyššie spomínaných interakcií dochádza madzi jadrovými spinmi ešte k niekoľkým ďalším interakciám. Jednou z nich je napr. spin-rotačná interakcia, čo je interakcia jadrových spinov s magnetickým poľom generovaným rotačným pohybom molekuly. Táto interakcia je však v NMR dôležitá len pre plynné vzorky alebo v prípade kvapalín s veľmi malými molekulami. V izotropných kvapalinách je stredovaná náhodnými fluktuáciami pohybu molekuly k nule.

Okrem magnetických interakcií sa môže prejavovať aj elektrónová kvadrupólová interakcia, tá sa však týka iba jadier so spinom väčším ako 1/2.

### 2.5 Spinová relaxácia

Relaxáciou sa nazýva jav, pri ktorom sa excitovaný spinový systém navracia do rovnováhy (prípadne stacionárneho stavu) a energia systému je disipovaná do okolia v podobe tepelnej energie. Rýchlosť relaxácie je charakterizovaná relaxačnými časmi.

Pre systém spinov s hodnotou 1/2 je hlavnou príčinou relaxácie fluktuácia magnetického poľa. Molekula v rozotku vykonáva náhodný tepelný pohyb, v dôsledku ktorého dochádza k jej interakciám s okolitými molekulami, čo vedie k vzniku lokálneho fluktuujúceho poľa. Tieto okolité molekuly sa nazývajú mriežka.

Rozoznávame dva typy relaxačných procesov. Pozdĺžna relaxácia sa týka zložky  $M_z$  spinovej magnetizácie. Je charakterizovaná relaxačnou dobou  $T_1$ . Tento proces je charakteristický výmenou energie medzi systémom spinov a mriežkou, preto sa nazýva aj spin-mriežková relaxácia. Časový vývoj z-ovej zložky magnetizácie je daný obyčajnou diferenciálnou rovnicou (2.25).  $1/T_1$  v tejto rovnici je teda rýchlostná konštanta prechodu z nerovnovážneho stavu do rovnováhu a označuje sa  $R_1$ . Riešenie rovnice (2.25) má tvar exponenciálneho nárastu magnetizácie v osi z

$$M_z(t) = M_0 \left( 1 - 2e^{-t/T_1} \right).$$
(2.33)

Priečna relaxácia je charakterizovaná relaxačnou dobou  $T_2$ . Táto doba určuje, za aký čas priečne zložky magnetizácie  $M_x$  a  $M_y$  nadobudnú po excitácii opäť rovnovážnu (t. j. nulovú) hodnotu. Tento proces je adiabatický, t. j. nedochádza pri ňom k výmene energie spinového systému s mriežkou, preto býva nazývaný aj spin-spinová relaxácia. Okrem interakcií s okolím k tejto zložke relaxácie prispieva aj rozfázovanie priečnych zložiek spinu vplyvom spin-spinových interakcií. K tejto relaxácii tiež prispieva nehomegenita magnetického poľa. Časový vývoj priečnych zložiek magnetizáci je daný rovnicami (2.24) a (2.25), časový priebeh intenzity (veľkosti magnetizácie) má teda tvar

$$M(t) = M_0 e^{-t/T_2}. (2.34)$$

Vysvetliť relaxáciu ako dôsledok fluktuácie lokálnych magnetických polí pôsobiacich na študované jadrá je možné pomocou odvodenia pre najjednoduchší prípad – náhodne fluktuujúce magnetické pole. Časový priebeh x-ovej zložky lokálneho náhodne fluktuujúceho poľa  $B_x$  má nasledujúce vlastnosti:

- fluktuácia poľa má nulovú strednú hodnotu:  $\langle B_x(t) \rangle = 0$ , čo sa dá chápať ako pre jeden spin v dlhom časovom intervale, tak pre veľký súbor spinov v jednom časovom okamihu
- stredná kvadratická odchýlka fluktuujúceho poľa je  $\langle B_x^2(t) \rangle \neq 0$  a táto hodnota je rovnaká pre každý spin
- zavedieme korelačnú funkciu  $G(\tau)$ , ktorá udáva intenzitu fluktuácií, ako

$$G(\tau) = \langle B_x(t)B_x(t+\tau) \rangle \neq 0.$$
(2.35)

Obecne má korelačná funkcia veľkú hodnotu pre malé  $\tau$  a naopak sa blíži k nule pre  $\tau \to \infty$ . Pre takto definované fluktuujúce pole ide o monoexponenciálny pokles s parametrom  $\tau_c$ , potom má korelačná funkcia tvar

$$G(\tau) = \left\langle B_x^2 \right\rangle e^{-|\tau|/\tau_c},\tag{2.36}$$

kde  $\langle B_x^2 \rangle$  je stredná kvadratická odchýlka pre parameter  $\tau = 0$ . Veličina  $\tau_c$  sa nazýva korelačný čas a udáva rýchlosť fluktuácie. Exponenciálne klesajúca korelačná funkcia charakterizovaná korelačným časom alebo súčet niekoľkých takých korelačných funkcií sa často používa k popisu fluktuácie interakcií jadrového spinu aj v zložitejších reálnych prípadoch.

Dôležitú rolu hrá v teórii NMR relaxácií spektrálne hustota  $J(\omega)$ . Spektrálna hustota je daná Fuorierovou transformáciou korelačnej funkcie  $G(\tau)$  ako

$$J(\omega) = 2 \int_0^{+\infty} G(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau.$$
 (2.37)

Ak vyjdeme zo vzťahu (2.36) pre korelačnú funkciu, dostaneme spektrálnu hustotu v tvare Lorentzovej absorpčnej krivky

$$J(\omega) = 2\left\langle B_x^2 \right\rangle \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}.$$
(2.38)

Zlomok na pravej strane rovnice (2.38) zodpovedá normovanej spektrálnej hustote  $\mathcal{J}(\omega)$ 

$$\mathcal{J}(\omega) = \mathcal{A}(\omega; 0, \tau_c^{-1}) = \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}.$$
(2.39)

V prípade, že fluktuácia je rýchla, potom korelačná funkcia klesá rýchlo (korelačný čas je krátky) a spektrálna hustota je široká. V opačnom prípade je pokles korelačnej funkcie pomalý (dlhý korelačný čas) a spektrálna hustota je úzka.

Ak uvažujeme spiny v molekule v roztoku, je fluktuácia magnetického poľa v mieste spinu s veľkosťou 1/2 spôsobená rotáciou molekuly. Vplyvom pohybu molekuly sa mení veľkosť dipól-dipólovej interakcie medzi dvoma spinmi v molekule a teda aj veľkosť a smer magnetického poľa, ktorým jeden spin pôsobí na druhý. S rotáciou molekuly, t. j. s meniacim sa lokálnym magnetickým poľom, sa menia tiež elektrónové prúdy magnetickým poľom indukované, čo spôsobuje anizotropiu chemického posunu (CSA).

Pre spiny s veľkosťou 1/2 je najdôležitejším relaxačným mechanizmom dipól-dipólová interakcia, potom nasleduje anizotropia chemického posunu a najmenším dielom prispieva spin-rotačná interakcia.

V kvapalných roztokoch preto zodpovedá korelačný čas fluktuácií poľa  $\tau_c$  rotačnému korelačnému času molekuly  $\tau_M$ . Rotačný korelačný čas je tiež ovplyvnený viskozitou kvapaliny a teplotou. Teplotnú závislosť rotačného korelačného času molekuly je spravidla možné popísať Arrhéniovou rovnicou

$$\tau_M = \tau_0 \exp\left(\frac{E_A}{RT}\right),\tag{2.40}$$

kde  $E_A$  je aktivačná energia, R je molová plynová konštanta, T je termodynamická teplota a parameter  $\tau_0$  je predexponenciálny faktor.

#### 2.5.1 Dipól-dipólová relaxácia

Pre relaxáciu jadier <sup>13</sup>C spôsobenú dipól-dipólovou interakciou s jadrami <sup>1</sup>H (ktoré sú behom zmiešavacieho času efektívne saturované) sa dajú odvodiť rovnice (2.41) a (2.42), v ktorých  $R^{DD}$  sú príspevky dipól-dipólovej interakcie k relaxačným procesom,  $N_H$  určuje počet protónov priamo naviazaných na uhlík a výrazy typu  $J(\omega)$  sú normované spektrálne hustoty.

$$R_1^{DD} = \frac{1}{4} N_H \left( DCC \right)^2 \left[ J(\omega_H - \omega_C) + 3J(\omega_C) + 6J(\omega_H + \omega_C) \right]$$
(2.41)

$$R_{2}^{DD} = \frac{1}{4} N_{H} \left( DCC \right)^{2} \left[ 2J(0) + \frac{1}{2} J(\omega_{H} - \omega_{C}) + \frac{3}{2} J(\omega_{C}) + 3J(\omega_{H}) + 3J(\omega_{H} + \omega_{C}) \right]$$
(2.42)

#### 2.5.2 Relaxácia vplyvom CSA

Pre príspevok anizotropie chemického posunu (CSA) k relaxačným rýchlostiam  $R^{CSA}$  platia rovnice (2.43) a (2.44).  $CSA_{eff}$  je amplitúda interakcie, ktorá závisí na zložkách tenzoru chemického posunu.

$$R_1^{CSA} = \frac{1}{3} \left( \gamma_c \boldsymbol{B}_0 \right)^2 CSA_{eff}^2 J(\omega_C)$$
(2.43)

$$R_2^{CSA} = \frac{1}{3} \left( \gamma_c \boldsymbol{B}_0 \right)^2 CSA_{eff}^2 \left[ \frac{2J(0)}{3} + \frac{J(\omega_C)}{2} \right]$$
(2.44)

#### 2.5.3 Spektrálna hustota pre izotropnú rotáciu

Ak uvažujeme izotropne rotujúcu molekulu s korelačným časom  $\tau_M$ , je možné spektrálnu hustotu  $J(\omega)$  vyjadriť vzťahom (2.45)

$$J(\omega) = \frac{2}{5} \left[ \frac{\tau_M}{1 + \omega^2 \tau_M^2} \right]. \tag{2.45}$$

Pre komplikovanjšie systémy, ktoré ako celok rotujú izotropne (s korelačným časom  $\tau_M$ ), avšak obsahujú aj časti s omnoho rýchlejšími anizotropnými lokálnymi pohybmi (s korelačným časom  $\tau_e$ ), je možné použiť Lipari-Szabo prístup. Tento model obsahuje dva korelačné časy: globálny  $\tau_M$ , lokálny  $\tau_e$  a parameter usporiadania  $S^2$ , ktorý určuje, ako sa podieľa globálna a lokálna zložka korelačného času na celkovom korelačnom čase. Redukovaná spektrálna hustota v tomto modeli má tvar váženého súčtu (s váhou  $S^2$ ) dvoch Lorenzových absorpčných kriviek.

#### 2.5.4 Nukleárny Overhauserov efekt

Nukleárny Overhauserov efekt (NOE) je prejavom dipól-dipólovej interakcie medzi dvojicou spinov, pri ktorom dochádza k prenosu energie medzi danými spinmi. Hovoríme vtedy o tzv. krížovej relaxácii, kedy vplyvom vzájomnej dipól-dipólovej interakcie dvoch spinov zmena stavu z-ovej zložky magnetizácie jedného spinu (spôsobená umelo, alebo aj jeho vlastnou pozdĺžnou relaxáciou) ovplyvňuje z-ovú zložku magnetizácie druhého spinu a naopak. V dôsledku toho potom v spektre vystupujú zmenené intenzity signálu od jedného zo spinov. V našom prípade sa jedná o prenos magnetizácie medzi dvoma rôznymi jadrami, <sup>13</sup>C a <sup>1</sup>H, ide teda o heteronukleárny NOE. Ak ožarujeme selektívne jeden spin, napr. jadro <sup>1</sup>H, dostatočne dlhú dobu (tzv. stacionárny NOE), dôjde v dôsledku prenosu energie k navýšeniu magnetizácie na jadre <sup>13</sup>C, ktoré sa prejaví navýšením intenzity signálu v spektre. V prípade uhlíkového spektra získaného pri ožarovaní jadra <sup>1</sup>H pre veľkosť NOE platia rovnice (2.46) a (2.47), kde  $\sigma^{DD}$  je rýchlosť heteronukleárnej krížovej relaxácie.

$$NOE = 1 + \left(\frac{\gamma_H}{\gamma_C}\right) \frac{N_H \sigma^{DD}}{R_1^{DD}}$$
(2.46)

$$\sigma^{DD} = \frac{1}{4} \left( DCC \right)^2 \left( 6\mathcal{J}(\omega_H + \omega_C) - \mathcal{J}(\omega_H - \omega_C) \right)$$
(2.47)

Pre maximum navýšenia intenzity signálu $^{13}\mathrm{C}$ vplyvom NOE medzi $^{1}\mathrm{H}$ a $^{13}$ platí

$$NOE = 1 + \left(\frac{\gamma_H}{2\gamma_C}\right) \approx 3.$$
 (2.48)

Nukleárny Overhauserov efekt sa v praxi využíva napríklad na navýšenie signálu od málo citlivých jadier. Pretože je to prejav dipól-dipólovej interakcie, závisí na šiestej mocnine vzájomnej vzdialenosti sledovaných jadier, čo sa zase využíva k určeniu vzájomnej vzdialenosti spinov, a teda určenie geometrie molekuly v priestore.

Dipól-dipólová interakcia dvoch spinov je ovplyvnená aj rotáciou spojnice príslušného spinového páru. Rýchlosť rotácie molekuly ovplyvňuje NOE hlavne ak je blízka rezonančnej frekvencii niektorého zo spinov, ich súčtu alebo rozdielu, prípadne ak je rýchlosť veľmi malá (na nulovej frekvencii). Pre rôzne páry v molekule môžu mať ich spojnice rôznu rýchlosť rotácie. Nukleárny Overhauserov efekt je teda dôležitý aj z hľadiska získavania dynamickej informácie o rotačných pohyboch molekúl.

# Kapitola 3 Experimentálne metódy NMR

## 3.1 Meranie pozdĺžnej relaxačnej doby $T_1$

Na meranie pozdĺžnej relaxačnej doby sa štandardne používa pulzná sekvencia "inversion recovery" - návrat po inverzii (obr. 3.1). Aplikáciou tvrdého  $\pi$ -pulzu (krátky pulz, ktorý excituje celé spektrum) na vzorku v rovnováhe vo vonkajšom magnetickom poli dôjde k preklopeniu magnetizácie  $M_0$  do záporného smeru osi z. Po uplynutí doby, ktorú nazývame zmiešavací čas  $t_{mix}$ , počas ktorej sa magnetizácia vyvíja (vektor magnetizácie relaxuje ku svojej rovnovážnej polohe), aplikujeme tvrdý  $\pi/2$ -pulz, ktorý obráti magnetizáciu do roviny xy, kde detegujeme signál voľnej precesie (FID). Opakovaním tejto procedúry pre sériu rôznych časov  $t_{mix}$  získame závislosť intenzity signálu na zmiešavacom čase.

Popísaný postup predpokladá, že v prípade stredovania signálu z viacerých skenov sa magnetizácia vrátila do rovnováhy pred začiatkom každého z nich. Za týmto účelom sa pred začiatok každého skenu vkladá doba  $d_1$ , ktorá sa typicky nastavuje tak, aby  $d_1 + AQ \ge T_1$ , kde AQ je doba náberu dát, tzv. akvizičná doba. V praxi je výhodné dobu  $d_1$  obmedziť, pričom je ale potreba nechať odoznieť priečnu magnetizáciu. Pred samotný experiment sa potom vkladá niekoľko skenov bez naberania dát (tzv. dummy scans), ktoré vedú k vytvoreniu stacionárnej hodnoty magnetizácie vo všetkých nasledujúcich priechodoch.

Hodnotu relaxačnej doby  $T_1$  určíme fitovaním experimentálnych údajov vzťahom

$$I(t_{mix}) = I_{\infty} \left( 1 - A \exp\left(-\frac{t_{mix}}{T_1}\right) \right), \qquad (3.1)$$

kde  $I_{\infty}$  je amplitúda signálu v stacionárnom stave a A je voľný parameter súvisiaci s tým, že amplitúda signálu v stacionárnom stave nemusí dosahovať veľkosti amplitúdy v rovnovážnom stave, keď je systém úplne zrelaxovaný (vtedy platí A = 2), ale môže mať o niečo menšiu hodnotu.

Po celú dobu sekvencie sú ožarované jadrá <sup>1</sup>H (tzv. decouplnig). Ide o pôsobenie rádiofrekvenčného poľa na rezonančnej frekvencii <sup>1</sup>H, ktoré spôsobí časté prechody medzi energetickými hladinami. Jeho pôsobenie behom detekčnej periódy odstráni vplyv J-interakcie na spektrum <sup>13</sup>C, čím zo spektra vymiznú multipletné štruktúry. Taktiež dôjde k odstráneniu vplyvu krížovej relaxácie a



Obr. 3.1: Pulzná sekvencia na meranie  $T_1$ 

interferencie relaxačných mechanizmov dipól-dipólovej interakcie a anizotropie chemického posunu.

## **3.2** Meranie priečnej relaxačnej doby $T_2$

Základom sekvencie pre meranie priečnej relaxačnej doby je spinové echo (obr. (3.2)). Magnetizácia je najprv sklopená  $\pi$ -pulzom do priečnej roviny xy. V dôsledku relaxačných mechanizmov dochádza k ubúdaniu priečnej zložky magnetizácie. K tomuto úbytku ale taktiež prispieva rozfázovanie priečnej zložky magnetizácie vplyvom nehomogenít magnetického poľa. Ak na vzorku aplikujeme po uplynutí doby  $t_{echo}/2$ , kde  $t_{echo}$  je tzv. echo-čas,  $\pi$ -pulz, dôjde k preklopeniu priečnej roviny xy. Tým sa zmení smer precesie spinov a dôjde k opätovnému sfázovaniu spinov za rovnakú dobu  $t_{echo}/2$ . Intenzita I získaného signálu tak závisí len na homogénnej relaxácii a nie je ovplyvnená nehomogenitou magnetického poľa (rovnica (3.2)).

$$I(t_{mix}) = I_0 \exp\left(-\frac{t_{mix}}{T_2}\right), \qquad (3.2)$$

kde  $I_0$  je intenzita signálu v čase 0 po aplikácii  $\pi/2$ -pulzu a  $t_{mix}$  je doba, ktorá uplynula od začiatku pulznej sekvencie. Túto dobu určíme ako  $t_{mix} = n(t_{echo} - t_{\pi})$ , kde  $t_{\pi}$  je doba trvania  $\pi$ -pulzu.

Na meranie priečnej relaxačnej doby sa používa sekvencia CPMG (nazvaná podľa autorov sekvencie: Carr, Purcell, Meiboom, Gill), ktorá spočíva v mnohonásobnom spinovom echu s konštantným echo-časom sa premenným počtom cyklov n (obr. (3.2)). Protónový  $\pi$ -pulz zaisťuje odstránenie interferencie relaxačných mechanizmov dipól-dipólovej interakcie a anizotropie chemického posunu.



Obr. 3.2: Pulzná sekvencia na merani<br/>e ${\cal T}_2$ 



Obr. 3.3: Pulzná sekvencia na meranie NOE

### 3.3 Meranie NOE

Na meranie heteronukleárneho stacionárneho Overhauserovho efektu medzi <sup>13</sup>C a <sup>1</sup>H sa používa sekvenica znázornená na obr. (3.3). Počas doby, keď sú selektívne ožarované jadrá <sup>1</sup>H, dochádza vplyvom NOE k prenosu magnetizácie na jadrá <sup>13</sup>C, ktorých signál následne meriame. Ďalej je zmeraný signál <sup>13</sup>C bez predchádzajúceho ožarovania. Hodnotu NOE získame ako podiel intenzít signálu spektra 1 a spektra 2.

### 3.4 Meranie translačnej difúzie

Translačnou difúziou označujeme náhodný translačný pohyb molekúl v kvapaline alebo roztoku, tiež známy ako Brownov pohyb. Tento pohyb závisí na mnohých fyzikálnych parametroch, ako napríklad na tvare, veľkosti a hmotnosti molekúl, na ich vzájomnej interakcii a zoskupovaní, na teplote, viskozite atď. Ak predpokladáme sférický tvar molekúl, je difúzny koeficient  $D_t$  daný Stokesovou-Einsteinovou rovnicou

$$D_t = \frac{k_B T}{6\pi\eta r_H} \tag{3.3}$$

kde  $k_B$  značí Boltzmanovu konštantu, T je termodynamická teplota,  $\eta$  je viskozita a  $r_H$  je hydrodynamický polomer molekuly.

Pri meraní difúzneho koeficientu pomocou NMR sa využíva gradient magnetického poľa na označenie pozície molekuly vo vzorke. Ak aplikujeme na meranú vzoku gradient externého magnetického poľa B v tvare

$$\boldsymbol{G} = \frac{\partial B_z}{\partial x} \boldsymbol{i} + \frac{\partial B_z}{\partial y} \boldsymbol{j} + \frac{\partial B_z}{\partial z} \boldsymbol{k}, \qquad (3.4)$$

kde $\pmb{i},\,\pmb{j},\,\pmb{k}$ sú jednotkové vektory v smere os<br/>í $x,\,y,\,z,$  bude celkové externé magnetické pole v miest<br/>e $\pmb{r}$ 

$$B(\boldsymbol{r}) = B_0 + \boldsymbol{G} \cdot \boldsymbol{r}. \tag{3.5}$$

Ďalej uvažujeme, že je aplikovaný iba gradient v smere osi z o veľkosti  $G = \boldsymbol{G} \cdot \boldsymbol{k}$ . Účel tohto gradientu je označiť pozíciu spinu v z-ovom smere. To je možné vďaka tomu, že frekvencia, s ktorou precedujú spiny, je úmerná magnetickému poľu v mieste, kde sa spin nachádza

$$\omega(r) = -\gamma B(r). \tag{3.6}$$

Spiny sa teda pootočia za čas t o rôzny fázový uhol  $\Phi(r)$  závislosti od pozície vzhľadom k osi z, pričom

$$\Phi(r) = -\omega(r)t. \tag{3.7}$$

Naprecedovaný fázový uhol je závislý jednak na magnetickom poli v mieste vzorky B(r) a taktiež na dobe, po ktorú aplikujeme gradient. Gradient aplikovaný po dobu  $\delta$  teda spôsobí vznik závislosti fázového uhlu na súradnici z podľa vzťahu

$$\Phi(z) = -\gamma B(z)\delta. \tag{3.8}$$

Najjednoduchšia pulzná sekvencia, ktorá sa používa na meranie difúzneho koeficientu, je experiment modifikovaného spinového echa (obr. (3.4)). Najprv sa pomocou  $\pi/2$ -pulzu sklopí vektor magnetizácie do priečnej roviny xz. Následne sa po dobu  $\delta$  aplikuje gradient, ktorý spôsobí závislosť fázového uhlu na súradnici z a tým označí pozíciu spinov vzhľadom k osi z. Po uplynutí doby  $\tau$ od prvého pulzu aplikujeme  $\pi$ -pulz, ktorý zrkadlovo otočí rovinu xy okolo osi y a následne aplikujeme gradient opäť na čas  $\delta$ , počas ktorého sa spiny znovu sfázujú a po dobe  $\tau$  od aplikovania  $\pi$ -pulzu sa vytvorí signál spinového echa. Aplikácia druhého gradientu spôsobí, že dôjde k sfázovaniu iba tých spinov, ktoré nezmenili počas odstupu medzi pulzami  $\Delta$  svoju z-ovú pozícii. Ostatné spiny, ktoré vplyvom difúzie zmenili z-ovú pozíciu, k signálu spinového echa

To, koľko častíc prispeje k signálu spinového echa, závisí okrem iného aj na veľkosti aplikovaného gradientu. Ak zmeriame sériu spektier pre rôzne veľkosti aplikovaného gradientu G, pričom ponecháme konštantný echočas  $\tau$ , dostaneme závislosť intenzity na sile gradientu v tvare

$$I_{(2\tau,G)} = I_{(2\tau,0)} e^{-D\gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3)},$$
(3.9)

kde  $I_{2\tau,G}$  je intenzita signálu v čase  $2\tau$  (v maxime echa) pri aplikovanom gradiente,  $I_{2\tau,0}$  je intenzita signálu v čase  $2\tau$  bez aplikovaného gradientu, D je



Obr. 3.4: Pulzná sekvencia modifikovaného spinového echa na meranie translačnej difúzie



Obr. 3.5: Pulzná sekvencia dvojitého stimulovaného echa s bipolárnymi gradientami na meranie translačnej difúzie [3]

hľadaný difúzny koeficient,  $\gamma$  je gyromagnetický pomer príslušného jadra,  $\delta$  je doba trvania gradientu,  $\Delta$  je odstup medzi pulzami a  $\Delta - \delta/3$  je tzv. difúzny čas. Nafitovaním tejto závislosti Gaussovou krivkou získame difúzny koeficient.

V praxi sa na meranie koeficientu difúzie používajú zložitejšie pulzné sekvencie, napr. dvojité stimulované echo s bipolárnymi gradientami (obr. (3.5)), ktorá eliminuje vznik vírivých prúdov v detekčnej cievke a konvekčné prúdenie vo vzorke, popísané napr. v [3].

# Kapitola 4

# Etanol

# 4.1 Fyzikálne vlastnosti

Etanol je za normálnych podmienok kvapalina s hustotou 789 g.cm<sup>-3</sup> s bodom tuhnutia pri teplote 159 K a bodom varu 361 K. Štruktúrny vzorec etanolu je CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH, molekulová hmotnosť je  $M_{et} = 46,07$  g.mol<sup>-1</sup> [1].

Špecifické fyzikálne vlastnosti kvapalného etanolu majú pôvod práve vodíkových väzbách pôsobiacich medzi molekulami. Experimentálnemu štúdie tejto látky s nižších alkoholov všeobecne podnietili vznik hypotézy o formovaní klastrov tvorených práve vodíkovými väzbami.

Teoretický popis týchto klastrov je ovšem dodnes veľmi neurčitý. Stále nie je možne predpovedať, aké štruktúry môžu v kvapaline preferenčne vznikať, aká je ich doba života, aký vplyv môžu mať rôzne prímesy a ako tieto veličiny závisia na vonkajších podmienkach.

#### 4.2 Molekula etanolu

Podľa kvantovo-mechanických výpočtov geometrie molekuly eanolu [1], existujú na energetickej nadploche tri lokálne minimá, zodpovedajúce dvom rôznym štruktúram molekupy etanolu, jednému monoméru *trans* a dvom zrkadlovo symetrickým monomérom *gauche* (viď obr. (4.1) z [1]).

#### 4.3 Klastre etanolu

Z doterajších experimentálnych a teoretických štúdijí je známe, že molekuly etanolu sa navzájom spájajú pomocou vodíkových väzieb do oligomérnych klastrov o veľkosti rádovo jednotiek molekúl, ktoré môžu byť lineárne alebo cyklické. V tejto stati sú zmienené niektoré publikáci, ktoré sú zujímavé z hľadiska tejto práce.

Stúdie [4, 5] ukázali, že možnosť tvorby klastrov u alkoholov je, napríklad na rozdiel od vody, obmedzená vďaka tomu, že alkoholy k tvorbe vodíkových väzieb využívajú iba jeden donorový elektrónový pár na kyslíku a môžu tak vznikať iba jednoduchšie štruktúry.



Obr. 4.1: Monoméry etanolu podľa ab initio výpočtu v [1]

Experimnety NMR a infračervenej spektroskopie jasne ukazujú, že sila vodíkových väzieb vedie k formovaniu klastrov v kvapalnom stave. NMR experimenty [4, 6] ukázali, že sila vodíkových väzieb sa odráža v hodnote chemického posunu hydroxylového protónu a výrazne závisí na rozpúšťadle, koncentrácii a teplote vzorky. Informácie o veľkosti klastrov je možné získať z NMR relaxačných štúdií a ab initio výpočtov [4, 6].

Hoci je známe, že nižšie alkoholy tvoria molekulárne klaste, typ klastrov, relatívna populácia klastrov a ich doba života zostávajú otvorenou otázkou. NMR štúdie zahrňujúce teplotnú závislosť veľmi zriedených alkoholov v nepolárnom rozpúšťadle, ako napr. CCl<sub>4</sub> alebo hexán, ukazujú, že populácie klastrov sa menia od primárne monomérov pri teplote 300 K alebo vyššej k primárne cyklickým pentamérom a hexamérom pri nízkych teplotách v rozsahu od 200 K do 230 K [4, 6, 7].

Z hľadiska predkladanej práve je významým materiálom práca [1], v ktorej sa pojednáva o ab initio výpočte štruktúry, energií a NMR parametrov klastrov etanolu od dimérov až po oktaméry, a to lineárnych ako aj cyklických foriem. Z výpočtov energetických a termodynamických parametrov vychádza, že cyklický klastre sú energeticky zvýhodnené oproti linárnym. Chemické posuny hydroxylového protónu vypočítané v tejto práci vykazujú závislosť nielen na dĺžke O-H väzby (ktorá súvisí s veľkosťou klastov) ale aj na tom, či je klaster cyklický alebo lineárny.

Na obrázkoch (4.2) sú znázornené rôzne kombinácie dimérov trans (t) a gauche (g) molekúl, na obr. (4.3) – (4.6) sú znázornené príklady cyklických a lineárnych trimérov až oktamérov skladajúcich sa z molekúl gauche a trans, ako boli vypočítané v [1].



Obr. 4.2: Diméry etanolu podľa ab initio výpočtu v $\left[1\right]$ 



Obr. 4.3: Lineárny trimér až oktamér z trans molekúl podľa ab initio výpočtu v $\left[1\right]$ 



Obr. 4.4: Lineárny trimér až oktamér z gauche molekúl podľa ab initio výpočtu v $\left[1\right]$ 



Obr. 4.5: Cyklický trimér až oktamér z trans molekúl podľa ab initio výpočtu v $\left[1\right]$ 



Obr. 4.6: Cyklický trimér až oktamér z gauche molekúl podľa ab initio výpočtu v $\left[1\right]$ 

# Kapitola 5 Parametre experimentov

## 5.1 Vzorky

Na experimentálne merania sme pripravili dve vzorky (označované vzorka I. a vzorka II.) s rôznou koncentráciou etanolu rozpusteného v deuterovanom hexáne- $d_{14}$ . Na prípravu vzoriek bol použitý čistý etanol, u ktorého výrobca garantuje čistotu 99,9% a obsah vody menší ako 0,1%. Ako rozpúšťadlo bol použitý deuterovaný hexán- $d_{14}$ , u ktorého výrobca zaručuje 99,0%-ný obsah deutéria. Do vzoriek bolo pridané aj malé množstvo štandardu (TMS).

Objem hexánu v oboch vzorkách bol približne 600  $\mu$ l, jeho presné množstvo bolo určení vážením na analytických váhach. Do hexánu bolo pridané v prípade vzorky I. 50  $\mu$ l etanolu a v prípade vzorky II. 5  $\mu$ l etanolu. Vzhľadom k prchavosti etanolu a hexánu boli výsledné vzorky opäť odvážené, aby sme vylúčili prípadné odchýlky v zložení vzoriek. Rozdiel medzi nameranou hmotnosťou pridávaného etanolu a hmotnosťou etanolu vypočítanou z pridávaného objemu je však menší ako 1% v prípade oboch vzoriek.

Pre výpočet molárnej koncentrácie vzoriek bolo potrebné poznať molové hmotnosti  $M_{et}$  a  $M_{hex}$  a hustoty  $\rho_{et}$  a  $\rho_{hex}$  etanolu a hexánu-d<sub>14</sub>. Tieto hodnoty sú uvedené v tabuľke (5.1), zloženie vzoriek vrátane vypočítanej molárnej koncentrácie a objemového zlomku vzoriek je uvedené v tabuľke (5.2).

Pripravené vzorky boli odplynené pomocou niekoľkých cyklov zmrazenia, odčerpania plynu a rozmrazenia, následne boli kyvety s takto pripravenými vzorkami zatavené.

	hustoty	molové hmotnosti
etanol	$ ho_{et} = 789 \ {\rm kg.m^{-3}}$	$M_{et} = 46,07 \text{ g.mol}^{-1}$
$hexán-d_{14}$	$\rho_{hex} = 767 \text{ kg.m}^{-3}$	$M_{hex} = 100, 26 \text{ g.mol}^{-1}$

Tabuľka 5.1: Molové homotnosti a hustoty etanolu a hexánu- $d_{14}$ 

	vzorka I.	vzorka II.
hmotnosť hexánu [g]	0,47007	0,41826
objem pridávaného etanolu $[\mu l]$	50	5
molárna koncentrácia $[mol.dm^{-3}]$	1, 29	0, 16
objemový zlomok [%]	$7,\!5$	0,9
molárny zlomok [%]	15,4	2,0

Tabuľka 5.2: Parametre zvolených zmesí etanolu a hexánu-d<sub>14</sub>

nastavená teplota $T_n$ [K]	200	210	220	230	240	250
skutočná teplota $T$ [K]	197,4	207,7	218,0	228,3	238,6	248,9

Tabuľka 5.3: Kalibrácia teploty

## 5.2 Základné parametre

Všetky <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C spektrá boli merané na spektrometri *Avance 500* od firmy *Bruker*, ktorý vytvára magnetické pole o veľkosti 11, 744 T, pracovná frekvencia je teda 500, 13 MHz pre jadrá <sup>1</sup>H a 125, 76 MHz pre jadrá <sup>13</sup>C. Na ožarovanie a detekciu signálu bola použitá sonda TBO, ktorá je vhodná na detekciu signálu <sup>13</sup>C jadier a na súčasné ožarovnanie <sup>1</sup>H a <sup>13</sup>C jadier.

Dĺžka <sup>13</sup>C  $\pi/2$  pulzu sa pohybovala v rozmedzí od 12,40  $\mu$ s do 15,35  $\mu$ s, dĺžka <sup>1</sup>H  $\pi/2$ -pulsu sa pohybovala od 12,70  $\mu$ s do 15,30  $\mu$ s.

Všetky experimenty na jadrách <sup>1</sup>H aj <sup>13</sup>C boli premeriavané pre päť rôznych nastavených teplôt, vzorka I. od 200 K do 240 K a vzorka II. od 210 K do 250 K s krokom po 10 K.

Teplota bola kalibrovaná pomocou metanolového štandardu podľa vzťahu  $T = 1,03T_n - 8,60$ , kde  $T_n$  je teplota nastavená pri experimente a T je skutočná teplota v mieste vzorky. Presnosť kalibrácie je lepšia ako  $\pm 0,5$  K. Nastavená a skutočná teplota sa v teplotnom rozsahu našich meraní nelíši viac ako o 3 K. Tabuľka (5.3) udáva skutočné teploty vzorky pre nastavené teploty.

# 5.3 Nastavenie meraní na jadrách <sup>1</sup>H

#### 5.3.1 Vodíkové spektrá

Vodíkové spektrá boli zmerané základnou experimentálnou technikou – excitáciou  $\pi/2$ -pulzom a následnou detekciou signálu voľnej precesie (FID). Nameraných bolo 16 k dátových bodov, použítý bol jeden sken (prechod). Doba náberu dát, tzv. akvizičná doba AQ, bola nastavená na 1,02 s. Doba pred každým skenom ( $d_1$ ) bola 13 s. Dĺžka vodíkového pulzu bola 15,3  $\mu$ s.

#### 5.3.2 Translačné difúzie

Na meranie translačnej difúzie na jadrách <sup>1</sup>H bola použitá pulzná sekvencia dvojitého stimulovaného echa s bipolárnymi gradientami (obr. (3.5)). Táto sekvencia obsahuje korekciu na konvekčné prúdenie vo vzorke a redukciu vzniku indukovaných vírivých prúdov v detekčnej cievke.

Bola zmeraná séria protónových spektier s konštantným difúznym časom  $\Delta = 0, 2$  s a premennou veľkosťou aplikovaného gradientu. Veľkosť gradientu sa menila v rozsahu 20-tich rôznych hodnôt (okrem vzorky I. pri teplote 200 K, kde bolo použitých 32 rôznych hodnôt) od takmer nulovej hodnoty 2 % do maximálnej hodnoty 100 % výkonu gradientnej cievky.

# 5.4 Nastavenie meraní na jadrách <sup>13</sup>C

Na jadrách <sup>13</sup>C boli merané relaxačné doby  $T_1$ ,  $T_2$  a heteronukleárny NOE. Spektrá boli dekaplované sekvenciou waltz16. Bolo nabraných 32 k dátových bodov, použité boli 4 skeny (prechody). Akvizičná doba bola nastavená na 1,6 s. Šírka spektra bola 10 kHz.

#### **5.4.1** Relaxačné doby $T_1$

Relaxačné doby  $T_1$  boli merané pomocou pulznej sekvencie "inversion recovery" (obr. (3.1)). Pre každú teplotu bola zmeraná séria 1D spektier pre 12 rôznych hodnôt zmiešavacích časov  $t_{mix}$ . Na začiatok každej série bolo zaradené meranie s maximálnym zmiešavacím časom, ktorý bol volený tak, aby sa po jeho uplynutí spinový systém takmer úplne zrelaxoval a intenzita takto nameraného spektra bola maximálna. Potom nasledovali merania od najmenšieho zmiešavacieho času vzostupne. Maximálny zmiešavací čas  $t_{mix\_max}$  je uvedený v tabuľke (5.4), minimálny zmiešavací čas bol nastavený na 10 µs.

Pred každým skenom bola nastavená doba  $d_1$ , počas ktorej dochádza k návratu spinového systému do rovnováhy. V prípade vzorky I. bola táto doba nastavená tak, aby spĺňala podmienku  $d_1 + AQ \ge 3T_1$ , ked AQ je akvizičná doba. V tabuľke (5.4) sú uvedené nastavené hodnoty pre jednotlivé teploty.

V prípade vzorky II. bola zvolená varianta merania, pri ktorej bolo na začiatku merania s každým zmiešavacím časom vložených 6 skenov bez naberania dát (tzv. dummy scans), počas ktorých sa v systéme ustálil návrat do stacionárneho stavu pred začiatkom pulznej sekvencie. Táto varianta umožňuje teda skrátiť dobu  $d_1$  medzi jednotlivými skenmi a tým urýchliť experiment.

#### **5.4.2** Relaxačné doby $T_2$

Na meranie priečnej relaxačnej doby  $T_2$  bola použitá pulzná sekvencia CPMG s konštantným echočasom  $t_{echo} = 0,8$  ms a premenným počtom opakovaní n (obr.3.2). Pre každú teplotu bola zmeraná séria 1D spektier z 12 rôznymi počtami opakovani sekvencie n, a teda rôznym zmiešavacím časom  $t_{mix}$ , ktorý sa menili od 3,08 ms do  $t_{mix\_max} = n_{max}t_{echo} = 3,15$  s v prípade vzorky I. pri
	vzorka I.					
$T_n$ [K]	200	210	220	230	240	
$d_1 + AQ$ [s]	16,6	$16,\!6$	$16,\!6$	16,6	$25,\!6$	
$t_{mix\_max}$ [s]	16	16	16	16	16	
		V	zorka I	I.		
$T_n$ [K]	210	220	230	240	250	
$d_1 + AQ \ [s]$	10,6	10,6	$16,\!6$	21,6	26,6	
$t_{mix\_max}$ [s]	16	16	30	30	30	

Tabuľka 5.4: Nastavenie parametrov pre meranie  $T_1$  pri rôznych teplotách

		V	zorka l	[.	
$T_n$ [K]	200	210	220	230	240
$d_1$ [s]	9	15	15	15	25
$n_{max}$	4096	4096	4096	4096	8192
$t_{mix\_max}$ [s]	3,15	$_{3,15}$	$3,\!15$	$_{3,15}$	6,31
		v	zorka I	I.	
$T_n$ [K]	210	220	230	240	250
$d_1$ [s]	17	17	25	30	40
$n_{max}$	8192	8192	8192	8192	8192
$t_{mix\_max}$ [s]	6,31	$6,\!31$	$6,\!31$	$6,\!31$	$6,\!31$

Tabuľka 5.5: Nastavenie parametrov pre meranie  $T_2$  pri rôznych teplotách

teplotách 200 K – 230 K. V prípade vzorky II. a vzorky I. pri teplote 240 K bol počet zmiešavací čas od 3,08 ms do  $t_{mix\_max} = 6,31$  s (viď tabuľka (5.5)).

Na odstránenie vplyvu interferencie relaxačných mechanizmov bol počas sekvencie použitý vodíkový  $\pi$ -pulz.

Podobne ako pri meraní relaxačných dôb  $T_1$ , bola pred každým scanom nastavená doba  $d_1$  potrebná k návratu spinového systému do rovnováhy. Táto doba bola nastavená tak, aby splňovala podmienku  $d_1 \ge 5T_1$ . Hodnoty pre jednotlivé merania sú uvedené v tabuľke (5.5).

#### 5.4.3 Heteronukleárny NOE

Na meranie nukleárneho Overhauserovho efektu bola použitá pulzná sekvencia pre dynamické NOE (obr. 3.3). Boli zmerané dve spektrá - v prvom boli protóny ožarované veľmi krátku dobu 10  $\mu$ s a v druhom spektre po dobu  $t_o$ rovnú približne 5 $T_1$ . Hodnota NOE bola získaná ako pomer intenzít singálov takto zmeraných dvoch spektier. Doba pred skenmi  $d_1$  bola nastavená tak, aby spĺňala podmienku  $d_1 > 8T_1$ . Nastavenia pre jednotlivé teploty sú uvedené v tabuľke (5.6).

	vzroka I.					VZ	zorka 1	II.		
$T_n$ [K]	200	210	220	230	240	210	220	230	240	250
$d_1$ [s]	20	30	30	30	50	35	40	50	40	70
$t_o$ [s]	12	15	15	15	25	20	20	25	20	40

Tabuľka 5.6: Nastavenie parametrov pre meranie NOE pri rôznych teplotách

## Kapitola 6

# Výsledky experimentov a diskusia

## 6.1 Spracovanie nameraných dát

Namerané dáta boli prenásobené exponenciálnou apodiziačnou funkciou (tzv. line broadening), čím dochádza k potlačeniu šumu, ale zároveň sa objavuje efekt rozšírenia spektrálnych čiar. Následne bola prevedená Fourierova transformácia v priamej (časovej) doméne. Tým bolo získané (v prípade merania  $T_1, T_2$  a NOE) tzv. pseudo 2D spektrum, čiže séria 1D spektier. Takto získané spektrá boli manuálne sfázované a signálu TMS bola priradená nulová hodnota chemického posunu.

### 6.2 Vodíkové spektrá

#### 6.2.1 Základné charakteristiky

<sup>1</sup>H spektrá boli získané pomocou základného NMR experimentu – meraním signálu voľnej precesie. Na obr. (6.1) je znázornené <sup>1</sup>H spektrum vzorky I. a vzorky II. zmerané pri teplote 228,3 K s priradením jednotlivých peakov.

Protónové spektrum etanolu obsahuje tri peaky, zodpovedajúce vodíkom v CH<sub>3</sub> skupine, CH<sub>2</sub> skupine a protónu v OH skupine (viď obr. (6.1)). Za normálnych teplôt totiž dochádza v molekule ethanolu k rýchlej rotácii oboch koncový skupín, CH<sub>3</sub> skupiny aj OH skupiny, okolo jednoduchej C-C, príp. C-O väzby. Vďaka tomu sa v kvapaline stredujú NMR signály zodpovedajúce vodíkom v metylovej skupine aj v CH<sub>2</sub> skupine.

Okrem signálov od vodíkov v etanole sa v <sup>1</sup>H NMR spektre objavujú aj zbytkové signály od hexánu, ktorý nebol stopercentne deuterovaný.

V <sup>1</sup>H spektre má najmenší chemický posun signál od vodíkov v metylovej skupine, nasleduje signál od vodíkov v  $CH_2$  skupine a s najväčším chemickým posunov vystupuje v spektre vodík v OH skupine, čo je spôsobené blízkosťou elektronegatívneho atómu kyslíka.

Relatívne integrálne intenzity signálov I zodpovedajú pomerom <sup>1</sup>H jadier prispievajúcich k danému signálu, platí teda  $I_{CH_3} : I_{CH_2} : I_{OH} \approx 3 : 2 : 1$ .

T [K]	197,4	207,7	218,0	228,3	238,6
posun <sup>1</sup> H v OH [ppm]	6,22	6,14	6,05	5,96	5,86
posun <sup>1</sup> H v $CH_2$ [ppm]	3,57	3,57	3,57	3,58	3,58
posun <sup>1</sup> H v $CH_3$ [ppm]	1,14	1,15	1,15	1,15	1,15

Tabuľka 6.1: Posuny vodíkových peakov vo vzorke I.

T [K]	207,7	218,0	228,3	238,6	248,9
posun <sup>1</sup> H v OH [ppm]	6,11	5,97	5,81	5,60	5,34
posun <sup>1</sup> H v $CH_2$ [ppm]	3,56	3,56	3,57	3,57	3,57
posun <sup>1</sup> H v $CH_3$ [ppm]	1,14	1,14	1,15	1,15	$1,\!15$

Tabuľka 6.2: Posuny vodíkových peakov vo vzorke II.

Vo vodíkovom spektre sa taktiež prejavuje J-intekcia medzi najbližšími vodíkmi čo sa týka chemických väzieb. Vplyvom tejto interakcie je signál od metylovej skupiny štiepený na triplet vodíkmi v  $CH_2$  skupine a podobne signál od vodíkov v  $CH_2$  skupine je štiepený na kvadruplet od troch vodíkov z  $CH_3$ skupiny. Pri nižších teplotách sa prejavuje aj štiepenie signálu protónu z OH skupiny v dôsledku spomalenia chemickej výmeny, ostatné signály v spektre taktiež môžu nadobudnúť zložitejšiu štruktúru. Pri normálnych teplotách nie je signál od OH skupiny štiepený.

#### 6.2.2 Chemický posun hydroxylového protónu

Chemické posuny jednotlivých peakov v spektrách vzoriek I. a II. pri rôznych teplotách sú uvedené v tabuľkách (6.1) a (6.2).

Na obr. (6.2) je zakreslená séria vodíkových spektier vzorky I. a II. nameraných pri rôznych teplotách. Na prvý pohľad sa možno presvedčiť, že zatiaľ čo sa chemické posuny vodíkov v CH<sub>2</sub> a CH<sub>3</sub> skupine s teplotou takmer nemenia, čiara hydroxylu putuje naprieč spektrom. Pre oba vzorky chemický posun hydroxylového protónu konzistentne klesá s teplotou. Tento jav môžeme pozorovať aj v grafe (6.3), kde sú vynesené chemické posuny vodíkov z jednotlivých skupín  $\delta_H$  v závislosti na teplote.

Je nutné poznamenať, že pozorovaný chemický posun je populačne váženým priemerom chemických posunov v jednotlivých druhoch klastrov, ktoré sa vo vzorke vyskytujú.

Podľa poznatkov publikovaných v [1], existuje približne lineárna závislosť medzi chemickým posunom hydroxylového protónu a dĺžkou O-H väzby medzi jednotlivými molekulami etanolu v klastri. Na základe teoretických výpočtov v [1] sa dĺžka O-H väzby v lineárnych klastroch výrazne mení – najmenšia je pre krajné molekuly klastru, dlhšia pre vnútorné molekuly. Cyklické klastre sa vyznačujú obecne dlhšími O-H väzbami, čo indikuje silnejšie vodíkové interakcie v prípade molekúl spojených do cyklického klastru. Najdlhšie O-H väzby vznikajú v cyklických pentaméroch.



Obr. 6.1: <sup>1</sup>H NMR spektrum vzorky I. a II. pri teplote 228,3 K



Obr. 6.2: Séria <sup>1</sup>H NMR spektier vzorky I. a II. pri rôznych teplotách



Obr. 6.3: Chemický posun vodíkových peakov vo vzorke I. a II. v závislosti na teplote

Avizovaná lineárna závislosť chemického posunu OH protónu na dĺžke O-H väzby umožňuje vysvetliť zmenu chemického posunu protónu v OH skupine s teplotou ako teplotnú destabilizáciu vodíkových väzieb v kvapalnom etanole. Pokles posunu hydroxylového protónu totiž znamená pokles priemernej dĺžky O-H väzieb v etanole, čo indikuje slabšie vodíkové väzby. Za vyšších teplôt je teda preferovaný vznik menších klastrov na úkor väčších, naopak za nízkych teplôt dochádza k stabilizácii väčších klastrov.

Pokiaľ ide o vzorky I. a II., z grafu (6.3) môžeme pozorovať väčší pokles chemického posunu pre menej koncentrovanú vzorku II. ako pre vzorku I. Na základe predchádzajúcich úvah by sme z toho mohli uzudzovať na tvorbu menších klastrov etanolu v zriedenejšej vzorke.

Graf (6.4) obsahuje porovnanie závislosti chemického posunu na teplote nameraného pre vzorky I. a II. s experimentálnymi údajmi z [1] nameranými pre vzorky s molárnou koncentráciou 3,75% a 0,47% etanolu rozpusteného v hexáne a s experimentom pre čistý etanol publikovanom v [8]. Nameraný trend závislostí pre vzorky I. a II. rozpustené v hexáne zodpovedá experimentu s čistým etanolom, čo ukazuje oprávnenosť voliť hexán ako rozpúšťadlo, ktoré neinteraguje s molekulami etanolu.

Namerané hodnoty [1] pre koncentrovanejšiu vzorku zodpovedajú aspoň kvalitatívne nami nameraným závislostiam. Chemický posun nameraný pre vzorku s nižšou koncentráciou sa však vymyká pozorovaným trendom. Ako uvádza autor [1], bol signál od OH skupiny v tejto vzorke prekrytý pri niektorých teplotách signálom s vyššou intenzitou, čo indikuje prítomnosť vody v premeriavanej vzorke. Vzhľadom k tomu, že molekuly vody sú schopné tvoriť vodíkové väzby, mohla táto skutočnosť ovplyvniť spomímaný experiment a je



Obr. 6.4: Porovnanie chemického posunu protónu z OH skupiny vo vzorke I. a II. s experimentami publikovanými v [1] a [8]

na uváženie, či ho považovať za relevantný.

Je nutné podotknúť, že uvedené úvahy sú len kvalitatívne, nakoľko na rozdiel od teoretických výpočtov, z ktorých je môžné určiť dĺžky O-H väzieb a chemických posunov jednotlivých molekúl v klastri, experiment poskytuje iba hodnoty stredované cez štatistický súbor. Teto fakt súvisí s chemickou výmenou hydroxylového protónu medzi jednotlivými molekulami etanolu a taktiež s možnosťou reorganizácie klastrov v časovej škále kratšej ako je škála chemických posunov.

## 6.3 Uhlíkové spektrá

<sup>13</sup>C spektrá na obr. (6.6) boli získané vybraním spektra s najvyššou intenzitou zo série spektier nameraných pri meraní relaxačnej doby  $T_1$ . Etanol sa v uhlíkovom spektre prejavuje dvoma signálmi od dvoch ulíkov, ktoré sme v súlade s obrázkom (6.5) označili C1 a C2. Chemický posun uhlíku C1 je väčší ako posun uhlíka C2 vďaka prítomnosti naviazanej OH skupiny, ktorá ovplyvňuje jeho chemické okolie. Signály v spektre nie sú štiepené J-interakciou s vodíkmi, čo je spôsobené dekaplingom.

Okrem signálov od etanolu sa v  ${}^{13}$ C spektre prejavujú aj signály od rozpúšťadla – hexánu.

Na obr. (6.6) je znázornené uhlíkové spektrum vzorky I. a II. pri teplote 228,6 K.



Obr. 6.5: Označenie uhlíkov v molekule etanolu

### 6.4 Relaxačné doby

Pozdĺžne relaxačné doby  $T_1$  boli zmerané pomocou pulznej sekvencie "inversion recovery" (obr. 3.1), priečne relaxačné doby  $T_2$  boli zmerané pomocou pulznej sekvencie CPMG s konštantným echočasom  $t_{echo} = 0, 8$  ms (obr. 3.2).

Hodnoty relaxačných dôb  $T_1$  boli z intenzít nameraných signálov získané nafitovaním podľa rovnice (3.1). Na obr. (6.7) je príklad série spektier vzorky I. nameraných pri teplote 238,6 K. Príklady závislosti intenzity signálu na zmiešavacom čase  $t_{mix}$  pre sériu meraní pri teplote 228,3 K pre vzorky I. a II. sú znázornené v grafoch na obr. (6.8).

Hodnoty relaxačných časov  $T_2$  boli z intenzít nameraných signálov získané nafitovaním podľa rovnice (3.2). Na obr. (6.9) je príklad série spektier vzoky II. nameraných pri teplote 238,6 K. Príklady závislosti intenzity signálu na zmiešavacom čase  $t_{mix}$  pre sériu meraní pri teplote 238,9 K pre vzorky I. a II. sú znázornené v grafoch na obr. (6.10).

Namerané hodnoty relaxačných dôb  $T_1$  a  $T_2$  a relaxačných rýchlostí  $R_1$  a  $R_2$  sú uvedené v tabuľke (6.3) pre vzorku I. a v tabuľke (6.4) pre vzorku II. Závislosti relaxačných dôb  $T_1$  a  $T_2$  na teplote sú vynesené v grafoch na obr. (6.11).

Pozdĺžne relaxačné doby  $T_1$  namerané pre obe <sup>13</sup>C jadrá C1 a C2 vo vzorke I. aj II. s teplotou rastú. Ide o bežné chovanie spinového systému v kvapalnom roztoku. V oboch vzorkách môžeme pozorovať, že jadro C1 relaxuje s dlhšou relaxačnou dobou  $T_2$  ako jadro C2. Vo vzorke I., čiže vo vzorke s vyššou koncentráciou etanolu, sú relaxačné doby kratšie pre obe jadrá v porovnaní so vzorkou s nižšou koncentráciou etanolu II.

Priečne relaxačné doby  $T_2$  pre jadrá C1 aj C2 pre obidve koncentrácie s rastúcou teplotou rastú. V obidvoch vzorkách opäť jadro C1 relaxuje s dlhšou relaxačnou dobou ako jadro C2. Podobne ako  $T_1$ , aj relaxačná doba  $T_2$  je kratšia pre vzorku I. s vyššou koncentráciou etanolu ako pre vzorku II. s nižšou koncentráciou.

Z grafu relaxačných dôb  $T_2$  na obr. (6.11) možno usudzovať, že niektoré hodnoty  $T_2$  zjavne nezodpovedajú predpokladanej závislosti. Ide o hodnoty pre vzorku I. pri teplotách 207,7 K a 228,3 K a pre vzorku II. pri teplote 207,7 K. Tieto hodnoty boli nesprávne zmerané pravdepodobne kvôli závade



Obr. 6.6: $^{13}\mathrm{C}$  NMR spektrá vzorky I. a II. pri teplote 228,6 K



Obr. 6.7: Séria spektier $^{13}\mathrm{C}$ pri meraní  $T_1$  pre vzorku I. pri teplote 238,6 K

		C	1		C2			
T [K]	$T_1$ [s]	$R_1  [{ m s}^{-1}]$	$T_2$ [s]	$R_2  [\mathrm{s}^{-1}]$	$T_1$ [s]	$R_1  [\rm s^{-1}]$	$T_2$ [s]	$R_2  [\rm s^{-1}]$
197,4	2,17	0,461	1,78	$0,\!561$	1,16	0,861	1,00	0,997
207,7	2,76	0,362	1,38	0,725	1,55	$0,\!645$	1,05	0,953
218,0	3,44	0,291	2,55	0,391	2,03	0,492	1,58	0,631
228,3	4,14	0,242	1,78	$0,\!562$	2,55	0,392	1,00	0,998
238,6	4,85	0,206	4,18	0,239	3,15	0,318	2,85	0,351

Tabuľka 6.3: Relaxačné doby a relaxačné rýchlosti pre vzorku I.

na meracej sonde a v ďalšom spracovaní pre výpočet korelačných časov neboli použité.

## 6.5 Meranie NOE

Pomocou sekvencie pre dynamické NOE (obr. 3.3) bol meraný prenos magnetizácie z <sup>1</sup>H na <sup>13</sup>C vplyvom dipól-dipólovej interakcie, teda veľkosť stacionárneho heteronukleárneho Overhauserovho efektu. Hodnota NOE bola získaná ako pomer intenzít dvoch spektier – s ožarovaním jadier <sup>1</sup>H a bez ožarovania.

Výsledné hodnotu NOE sú v závislosti na teplote uvedené v tabuľke (6.5) a grafe (6.12). Meranie bolo prevedené pre rovnaké teploty ako meranie relaxačných dôb.

Hodnota NOE sa pri všetkých meraniach blíži teoretickému maximu 3



Obr. 6.8: Závislosť intenzity signálu na zmiešava<br/>com čase pri meraní  $T_1$  pre vzorky I. a II. pri teplot<br/>e $228,3~{\rm K}$ 



Obr. 6.9: Séria spektier $^{13}\mathrm{C}$ pri meraní $T_2$  pre vzorku II. pri teplote 238,6 K

		C	!1		C2			
T [K]	$T_1$ [s]	$R_1  [\rm s^{-1}]$	$T_2$ [s]	$R_2  [\mathrm{s}^{-1}]$	$T_1$ [s]	$R_1  [\rm s^{-1}]$	$T_2$ [s]	$R_2  [{ m s}^{-1}]$
207,7	3,12	0,321	1,52	$0,\!659$	1,77	0,565	1,00	1,01
218,0	3,86	$0,\!259$	3,37	0,297	2,25	0,445	2,07	$0,\!482$
228,3	5,12	$0,\!195$	4,49	0,223	3,02	0,331	$2,\!69$	$0,\!372$
238,6	$6,\!55$	$0,\!153$	5,36	0,187	3,91	$0,\!256$	$3,\!51$	$0,\!285$
248,9	8,07	0,124	6,27	$0,\!159$	5,05	0,198	4,38	0,228

Tabuľka 6.4: Relaxačné doby a relaxačné rýchlosti pre vzorku II.



Obr. 6.10: Závislosť intenzity signálu na zmiešava<br/>com čase pri meraní $T_2$  pre vzorky I. a II. pri teplote 238,6 K



Obr. 6.11: $^{13}\mathrm{C}$ relaxačné doby $T_1$  <br/>a $T_2$ 

V	vzorka I		vzorka II.			
	C1	C2		C1	C2	
T [K]	NOE	NOE	T [K]	NOE	NOE	
197,4	2,59	2,80	207,7	2,73	2,93	
207,7	$2,\!65$	2,77	218,0	2,79	2,94	
218,0	2,71	2,87	228,3	$2,\!68$	2,84	
228,3	2,66	2,94	238,6	2,74	2,87	
238,6	2,72	2,86	248,9	2,76	2,90	

Tabuľka 6.5: Závislosť NOE na teplote pre vzorky I. a II.



Obr. 6.12: Závislosť NOE na teplote pre vzorky I. a II.

(2.48). Z toho možno usudzovať, že jadrá C1 a C2 relaxujú prevažne vplyvom dipól-dipólovej interakcie s vodíkovými jadrami na nich naviazanými. Malé rozdiely v hodnote NOE môžeme pozorovať medzi uhlíkom C1 a C2 u obidvoch vzoriek. Uhlík C1 má menšiu hodnotu NOE v dôsledku príspevku anizotropie chemického posunu k jeho relaxácii. Pre C2 je tento príspevok zanedbateľný.

Z grafu (6.12) možno tiež pozorovať, že hodnota NOE je obecne nižšia (pre jadro C1 aj C2) pre vzorku I. s vyššou koncentráciou.

## 6.6 Rotačné korelačné časy

Namerané relaxačné rýchlosti pri jednotlivých teplotách pre obe vzorky boli použité na výpočet parametrov rotačnej difúzie molekúl etanolu. Pri konštrukcii spektrálnych hustôt sme vychádzali z modelu izotropne rotujúcej molekuly (rovnica (2.45)), ktorý obsahuje jeden nezávislý parameter, a to korelačný čas

C1		C2	
vzdialenosť	[Å]	vzdialenosť	[Å]
$C1 \text{ od } H \text{ v } CH_2$	1,10	$C2 \text{ do H v } CH_3$	1, 10
$C1 \text{ do H v CH}_3$	2, 16	$C2 \text{ od } H \text{ v } CH_2$	2, 16
C1 od H v OH	1,98	C2 od H v OH	3, 24
DCC [kHz]	32,7	DCC [kHz]	40, 0

Tabuľka 6.6: Vzdialenosti C – H v molekule etanolu potrebné na výpočet dipóldipólovej konštanty

 $\tau_c$  pre každú skupinu (C1 a C2).

### 6.6.1 Určenie konštánt DCC a $CSA_{eff}$

Na určenie korelačného času  $\tau_c$  je potrebné poznať konštantu dipól-dipólovej interakcie (*DCC*) medzi atómami C a H v rámci jednej molekuly etanolu. Táto konštanta bola určená podľa vzťahu (2.32). Pre obe jadrá C1 aj C2 boli započítané príspevky od všetkých ostatných jadier <sup>1</sup>H v danej molekule etanolu. Potrebné medzijadrové vzdialenosti jednotlivých atómov v molekule boli získané pomocou programu Molden z ab initio vypočítanej geometrie molekuly etanolu [1] a z nich vypočítané interakčné konštanty boli sčítané. Určené vzdialenosti a z nich vypočítané dipól-dipólové konštanty pre jadro C1 a C2 sú uvedené v tabuľke (6.6).

Na určenie vplyvu anizotropie chemického posunu na relaxáciu je nutné poznať veličinu  $CSA_{eff}$ , získanú zo zložiek tenzoru chemického posunu. Podľa ab initio výpočtov [1] boli hodnoty  $CSA_{eff}$  stanovené ako  $CSA_{eff} = 70$  ppm pre uhlík C1, pre uhlík C2 v metylovej skupine bol príspevok relaxácie vplyvom CSA zanedbaný.

#### 6.6.2 Korelačné časy

Výpočet rotačných korelačných časov bol prevedený zvlášť pre jadro C1 a C2 pre každú teplotu. Z korelačných časov boli vypočítané koeficienty rotačnej difúzie  $D_r$  podľa vzťahu  $D_r = \frac{1}{6\tau_c}$ . Získané hodnoty korelačných časov a koeficientov rotačnej difúzie sú uvedené v tabuľke (6.7) pre vzorku I. a (6.8) pre vzorku II, koeficienty rotačnej difúzie sú uvedené v tabuľke (6.9) pre vzorku I. a (6.10) pre vzorku II. Teplotná závislosť korelačných časov  $\tau_c$  a difúznych koeficientov  $D_r$  je vynesená v grafoch na obr. (6.13).

Chyby korelačných časov boli určené metódou Monte Carlo – bola vygenerovaná sada 100 nových súborov relaxačných dát. Nové hodnoty boli generované náhodne z normálneho rozdelenia zo stredom v experimentálnej hodnote. Pre každý takto vygenerovaný súbor dát bol spočítaný korelačný čas, ktorého štandardná odchýlka je uvádzaná v tabuľke (6.7) ako chyba v stanovenia korelačného času  $\sigma_{\tau_c}$ .

	(	C1	C2		
T [K]	$\tau_c  [\mathrm{ps}]$	$\sigma_{\tau_c} \; [\mathrm{ps}]$	$\tau_c  [\mathrm{ps}]$	$\sigma_{\tau_c} \text{ [ps]}$	
197,4	11,20	0,31	14,01	0,49	
207,7	8,53	0,20	10,23	0,26	
218,0	7,13	0,15	8,10	0,19	
228,3	$5,\!69$	0,10	6,22	0,13	
238,6	4,97	0,15	$5,\!13$	0,10	

Tabuľka 6.7: Korelačné časy pre vzorku I.

	(	C1	C2		
T [K]	$\tau_c  [\mathrm{ps}]$	$\sigma_{\tau_c} [\mathrm{ps}]$	$\tau_c  [\mathrm{ps}]$	$\sigma_{\tau_c} [\mathrm{ps}]$	
207,7	7,55	0,20	8,97	0,13	
218,0	6,23	0,12	7,16	0,20	
228,3	4,70	0,11	$5,\!35$	0,18	
238,6	3,71	0,11	4,13	0,08	
248,9	3,02	0,08	3,21	0,07	

Tabuľka 6.8: Korelačné časy pre vzorku II.

Z výsledkov uvedených v grafe (6.13) vidíme, že veľkosti rotačných korelačných časov molekuly etanolu sú rádovo v pikosekundách. Korelačné časy klesajú s teplotou, čo súhlasí s rýchlejším molekulárnym pohybom pri vyšších teplotách.

Porovnaním hodnôt pre vzorku I. a vzorku II. si môžno všimnúť, že pri rovnakých teplotách sú korelačné časy molekúl vo viac koncentrovanej vzorke I. väčšie ako vo vzorke II., čo znamená, že sa molekuly v koncentrovanejšom roztoku hýbu menej a pomalšie.

Taktiež si z grafu teplotnej závislosti korelačných časov na obr.(6.13) možno všimnúť, že korelačné časy sa líšia pre jadro C1 a C2 v oboch vzorkách, a síce korelačný čas jadra C1, ktoré má na sebe naviazanú OH skupinu, je kratší ako korelačný čas jadre C2 z metylovej skupiny. To by zodpovedalo pomalšiemu pohybu CH<sub>3</sub> skupiny, čo je v prípade jej voľnej rotácie málo pravdepodobné.

	(	01	C2		
T [K]	$D_r \ [10^{-10} \ \mathrm{s}^{-1}]$	$\sigma_{D_r} \ [10^{-10} \ {\rm s}^{-1}]$	$D_r \ [10^{-10} \ \mathrm{s}^{-1}]$	$\sigma_{D_r} \ [10^{-10} \ { m s}^{-1}]$	
197,4	1,49	0,04	1,19	0,04	
207,7	1,95	0,05	1,63	0,04	
218,0	2,34	0,05	2,06	0,05	
228,3	$2,\!93$	0,05	2,68	0,06	
238,6	$3,\!35$	0,10	3,25	0,06	

Tabuľka 6.9: Koeficienty rotačnej difúzie pre vzorku I.

	(	01	C2		
T [K]	$D_r \ [10^{-10} \ \mathrm{s}^{-1}]$	$\sigma_{D_r} [10^{-10} \text{ s}^{-1}]$	$D_r \ [10^{-10} \ \mathrm{s}^{-1}]$	$\sigma_{D_r} \ [10^{-10} \ {\rm s}^{-1}]$	
207,7	2,21	0,06	1,86	0,03	
218,0	2,67	0,05	2,33	0,07	
228,3	$3,\!55$	0,08	3,11	0,10	
238,6	4,50	0,13	4,03	0,07	
248,9	$5,\!52$	0,14	$5,\!19$	0,12	

Tabuľka 6.10: Koeficienty rotačnej difúzie pre vzorku II.



Obr. 6.13: Teplotná závislosť korelačných časov a koeficientov rotačnej difúzie

vzorka I.			vzorka II.			hydroNMR	
	C1	C2		C1	C2		pentamér
T [K]	$\tau_c  [\mathrm{ps}]$	$\tau_c  [\mathrm{ps}]$	T [K]	$\tau_c  [\mathrm{ps}]$	$\tau_c  [\mathrm{ps}]$	T [K]	$\tau_c  [\mathrm{ps}]$
197,4	11,20	14,01	207,7	7,55	8,97	197,4	454
207,7	8,53	10,23	218,0	6,23	7,16	207,7	341
218,0	7,13	8,10	228,3	4,70	5,35	218,0	263
228,3	$5,\!69$	6,22	238,6	3,71	4,13	228,3	207
238,6	4,97	5,13	248,9	3,02	3,21	238,6	166
						248,9	136

Tabuľka 6.11: Porovnanie korelačných časov pre vzorku I. a II. s hodnotami získanými z hydroNMR pre cyklický pentamér

vzorka I.					
	$E_A  [\mathrm{kJ.mol}^{-1}]$	$\sigma_{E_A}  [\mathrm{kJ.mol}^{-1}]$			
C1 vzorka I.	7,67	0,25			
C2 vzorka I.	9,45	0,18			
C1 vzorka II.	9,81	0,30			
C2 vzorka II.	10,9	0,3			

Tabuľka 6.12: Aktivačné energie rotačnej difúzie pre vzorku I. a II.

Rotačné korelačné časy určené z nameraných relaxačných dôb a NOE sú podstatne kratšie ako by zodpovedalo izotropne rotujúcemu klastru. Možné vysvetlenie je v prítomnosti lokálneho pohybu jednotlivých častí molekuly. Pre porovnanie boli korelačné časy spočítané pomocou programu hydroNMR (viď sekciu (6.9)), získané výsledky uvedené v tabuľke (6.11) sú skutočne rádovo väčšie ako hodnoty určené z experimentu. Pohybový model zvolený na výpočet korelačných časov zrejme nebol optimálny.

#### 6.6.3 Aktivačné energie

Nafitovaním Arrhéniovej funkcie v tvare (2.40) na závislosť korelačných časov na teplote (graf (6.13)) boli získané aktivačné energie rotačného pohybu molekuly etanolu. Získané výsledky sú uvedené v tabuľke (6.12). Chyby aktivačných energií  $\sigma_{E_A}$  boli určené obdobným spôsobom ako v prípade korelačného času  $\tau_c$ . Súbory nových hodnôt boli generované v rámci štandardnej odchýlky fitu korelačných časov z experimentu.

Z tabuliek (6.12) ľahko zistíme, že aktivačná energia pre vzorku II. je väčšia ako pre vzorku I. Mikroskopická interpretácia aktivačných energií avšak nie je celkom zrejmá. Pre detailnú diskusiu by bolo potrebné mať k disoizícii merania pri väčšom rozsahu teplôt.

## 6.7 Translačná difúzia

#### 6.7.1 Difúzne koeficienty

Parametre translačnej difúzie boli merané na jadrách <sup>1</sup>H pomocou pulznej sekvencie dvojitého stimulovaného spinového echa s bipolárnymi gradientami (obr. (3.4)). Pre každú teplotu bola získaná séria spektier pre rôzne hodnoty gradientu. Difúzne koeficienty translačnej difúzie  $D_t$  boli určené nafitovaním získanej závislosti intenzity signálu spektier v jednotlivých sériách na veľkosti gradientu podľa rovnice (3.9). Okrem difúznych koeficientov troch <sup>1</sup>H jadier molekuly etanolu boli pre porovnanie určené aj difúzne koeficienty dvoch jadier <sup>1</sup>H zo spektra hexánu.

Príklad závislosti intenzity signálu na veľkosti gradientu pre vzorky I. a II. pri teplote 207,7 K je znázornený v grafoch na obr. (6.14). Vypočítané difúzne koeficienty sú uvedené v tabuľke (6.13) pre vzorku I. a (6.14) pre vzorku II. a zakreslené v grafoch na obr. (6.15).

Z grafov na obr. (6.14) môžeme vidieť, že difúzne koeficienty jednotlivých <sup>1</sup>H jadier etanolu majú v súlade s očakávaním takmer rovnakú hodnotu pri jednotlivých teplotách, a takisto difúzne koeficienty jednotlivých jadier hexánu sa od seba príliš nelíšia. Podobne je možné si z grafov na všimnúť, že difúzne koeficienty so zvyšujúcou sa teplotou rastú, čo zodpovedá väčšej pohyblivoti molekúl pri vyšších teplotách.

Difúzne koeficienty translačnej difúzie závisia na molekulovej hmotnosti  $M_r$  skúmaných látok. Dá sa odvodiť [9] závislosť  $D_t \sim M_r^{-1/3}$  pre molekulu približne sférického tvaru. Ťažšie molekuly majú tendenciu hýbať sa v roztoku pomalšie.

Napriek tomu, že hexán ako ťažšia molekula by sa mal pohybovať pomalšie, sú difúzne koeficienty namerané pre molekulu hexánu nezanedbateľne vyššie ako pre etanol pri každej teplote v obidvoch vzorkách (viď graf (6.14)). Vysvetlenie tohto faktu spočíva v zoskupovaní molekúl etanolu do klastrov, ktoré sa v roztoku pohybujú ako jeden celok. Namerané difúzne koeficienty potom nezodpovedajú samostatným molekulám etanolu, ale celým klastrom, ktorých hmotnosť môže byť niekoľkonásobne väčšia ako hmotnosť jednej molekuly etanolu.

Ak porovnávame difúzne koeficienty rovnakých jadier v jednotlivých vzorkách, ukazuje sa, že hodnoty koeficientov pre vzorku I. s vyšším obsahom etanolu sú menšie ako v zriedenejšej vzorke II. Pomalší molekulárny pohyb v koncentrovanejšej vzorke môže byť spôsobený prítomnosťou väčších klastrov.

#### 6.7.2 Aktivačné energie

Z teplotnej závislosti koeficientov translačnej difúzi<br/>e $D_t$  (graf na obr. (6.15) sme nafitovaním Arrhéniovej závislosti v tvare

$$D_t(T) = D_0 \exp\left(\frac{E_A}{RT}\right),\tag{6.1}$$



Obr. 6.14: Závislosť intenzity signálu na veľkosti gradientu pre vzorky I. a II. pri teplote 207,7 K

	$D_t \ [10^{-8} \ \mathrm{m^2.s^{-1}}]$						
T [K]	OH	$\mathrm{CH}_2$	hexán 1	CH <sub>3</sub>	hexán $2$		
197,4	0,018	0,018	0,060	0,019	0,060		
207,7	0,027	0,026	0,073	0,026	0,076		
218,0	0,035	0,035	0,103	0,035	0,098		
228,3	0,041	0,041	0,118	0,041	0,129		
238,6	0,053	0,054	0,171	0,054	0,142		

Tabuľka 6.13: Difúzne koeficienty pre vzorku I.



Obr. 6.15: Závislosť difúznych koeficientov na teplote pre vzorky I. a II.

	$D_t \ [10^{-8} \ { m m}^2.{ m s}^{-1}]$						
T [K]	OH	$CH_2$	hexán 1	$CH_3$	hexán $2$		
207,7	0,035	0,034	0,082	0,035	0,076		
218,0	0,044	0,045	0,098	0,046	0,098		
228,3	0,059	0,060	0,124	0,061	0,127		
238,6	0,081	0,076	$0,\!158$	$0,\!080$	$0,\!153$		
248,9	0,107	0,103	0,208	0,107	0,188		

Tabuľka 6.14: Difúzne koeficienty pre vzorku II.

	vzorka I.						
jadro <sup>1</sup> H	$E_A  [\mathrm{kJ.mol}^{-1}]$	$\sigma_{E_A}  [\mathrm{kJ.mol}^{-1}]$					
OH	9,80	$0,\!65$					
$\mathrm{CH}_2$	9,92	0,46					
$CH_3$	9,74	0,46					
hexán 1	9,69	0,62					
hexán $2$	8,49	0,45					

Tabuľka 6.15: Aktivačné energie translačnej difúzie pre vzorku I.

kde T je termodynamická teplota, R je molová plynová konštanta a  $D_0$  je predexponenciálny faktor, získali aktivačné energie translačnej difúzie  $E_A$ . Aktivačné energie určené zvlášť pre jednotlivé jadrá sú uvedené v tabuľke (6.15) pre vzorku I. a v tabuľke (6.16) pre vzorku II.

Chyby aktivačných energií  $\sigma_{E_A}$  boli získané Monte Carlo simuláciou podobne ako v prípade aktivačných energií rotačnej difúzie.

Z tabuliek (6.15) a (6.16) môžeme vypozorovať, že aktivačné energie pre etanol sú pre obe vzorky o niečo vaščie ako aktivačné energie hexánu.

Aktivačné energie sú veľmi blízke hodnotám aktivačných energií pre rotačnú difúziu (viď tabuľku (6.12). Podobne ako v prípade rotačnej difúzie je vyššia aktivačná energia zistená pre menej koncentrovanú vzorku II. Hodnoty pre rôzne signály sú v rámci chyby totožné.

	vzorka II.						
jadro <sup>1</sup> H	$E_A$ [kJ.mol <sup>-1</sup> ]	$\sigma_{E_A}$ [kJ.mol <sup>-1</sup> ]					
OH	11,87	$0,\!55$					
$CH_2$	11,32	0,32					
$CH_3$	$11,\!59$	0,43					
hexán 1	$9,\!65$	0,61					
hexán 2	9,42	0,14					

Tabuľka 6.16: Aktivačné energie translačnej difúzie pre vzroku II.

#### 6.7.3 Odhad veľkosti klastrov

Koeficient translačnej difúzie  $D_t$  molekúl v roztoku možno vypočítať podľa vzťahu (6.2)

$$D_t = \frac{k_B T}{6\pi \eta r_H},\tag{6.2}$$

kde  $\eta$  je viskozita roztoku,  $r_H$  je hydrodynamický polomer molekuly, T je teplota roztoku a  $k_B$  je Boltzmanova konštanta. Tieto vzťahy platia za predpokladu, že molekulu v roztoku považujeme za pevnú guličku s drsným povrchom.

Za tohto predpokladu môžeme hydrodynamický polomer molekul<br/>y $r_H$ vyjadriť pomocou molekulovej hmotnost<br/>iMdanej molekuly ako

$$\frac{4}{3}\pi r_H^3 = \frac{M}{\rho} \quad \Rightarrow \quad r_H = \sqrt[3]{\frac{3\pi M}{4\rho}},\tag{6.3}$$

kde sme označili  $\rho$  hustotu molekuly ako guličky, pričom predpokladáme, že táto hustota je rovnaká ako pre molekulu etanolu, tak pre molekulu hexánu.

Dosadením (6.3) do (6.2) dostaneme, že koeficient translačnej difúzie závisí na tretej odmocnine prevrátenej hodnoty molekulovej hmotnosti podľa vzťahu (6.4)

$$D_t = \frac{k_B T}{6\pi\eta} \sqrt[3]{\frac{4\rho}{3\pi M}},\tag{6.4}$$

Ak uvažujeme tvorbu klastrov o veľkosti niekoľkých molekúl etanolu v hexáne, ktoré sa pohybujú ako jeden celok, z nameraných difúznych koeficientov  $D_{et}$  pre etanol by sme mali dostať výpočtom zo vzťahu (6.4) molekulové hmotnosti, ktoré sú *n*-krát väčšie ako molekulová hmotnosť etanolu  $M_{et}$  a zodpovedajú hmotnosti celého klastru. Faktor *n* potom udáva počet molekúl spojených do klastru. Pre difúzny koeficient  $D_{et}$  teda platí

$$D_{et} = \frac{k_B T}{6\pi\eta} \sqrt[3]{\frac{4\rho}{3\pi n M_{et}}}.$$
 (6.5)

Na vylúčenie veličín  $\eta$  a  $\rho$ , ktoré sú neznáme, boli použité zmerané koeficienty translačnej difúzie molekúl hexánu  $D_{hex}$ , pre ktorý platí podľa (6.4)

$$D_{hex} = \frac{k_B T}{6\pi\eta} \sqrt[3]{\frac{4\rho}{3\pi M_{hex}}}.$$
(6.6)

Počet molekúl v klastri sa potom dá vyjadriť pomocou pomeru difúznych koeficientov etanolu (6.5) a hexánu (6.6) ako

$$\frac{D_{et}}{D_{hex}} = \sqrt[3]{\frac{M_{hex}}{nM_{et}}} \quad \Rightarrow \quad n = \left(\frac{D_{hex}}{D_{et}}\right)^3 \frac{M_{hex}}{M_{et}}.$$
(6.7)

Vypočítané hodnoty veľkosti klastrov sú uvedené v tabuľkách (6.17) pre vzorku I., (6.18) pre vzorku II. a v grafe (6.16). Ako difúzne koeficienty etanolu  $D_{et}$  a hexánu  $D_{hex}$  boli použité priemerné hodnoty z hodnôt pre jednotlivé jadrá

T [K]	$D_{et} \ [10^{-8}m^2.s^{-1}]$	$D_{hex} [10^{-8}m^2.s^{-1}]$	n
197,4	0,018	0,060	76
207,7	0,026	0,075	50
218,0	0,035	0,100	52
228,3	0,041	0,124	60
238,6	0,054	$0,\!157$	54

Tabuľka 6.17: Veľkosti klastrov vo vzorke I.

T [K]	$D_{et} \ [10^{-8} m^2 . s^{-1}]$	$D_{hex} [10^{-8}m^2.s^{-1}]$	n
207,7	0,035	0,079	25
218,0	0,045	0,098	23
228,3	0,060	0,126	20
238,6	0,079	$0,\!155$	17
248,9	0,106	0,198	14

Tabuľka 6.18: Veľkosti klastrov vo vzorke II.



Obr. 6.16: Veľkosti klastrov

v molekule, nakoľko sa tieto hodnoty od seba príliš nelíšili. Ako molekulové hmotnosti etanolu a hexánu boli použité hodnoty uvedené v tabuľke (5.1).

Z grafu (6.16) možno vidieť, že veľkosť klastrov klesá s rastúcou teplotou pre obidve vzorky. Vo vzorke I. s vyššou koncentráciou vznikajú klastre tvorené viacerými molekulami ako vo vzorke II. s nižšou koncentráciou.

Počty molekúl v klastroch určené týmto odhadom pohybujú rádovo v desiatkach molekúl. Na základe doterajších poznatkov (napr. [1, 8, 10]), dochádza v roztoku etanolu k vzniku podstatne menších štruktúr o veľkosti rádovo jednotiek molekúl.

Neznamená to ale nutne, že použitý Einstein-Debyeov model popisu translačnej difúzie je principiálne nesprávny. Zistený pokles veľkosti klastrov so zvyšujúcou sa teplotou a tendencia tvorby väčších klastrov pri vyššej koncentrácii etanolu je v súlade s teoretickými predpokladmi.

Je ale zrejmé, že pri odhade veľkosti klastrov bolo použitých niekoľko zjednodušujúcich predpokladov, ktoré neboli ničím podložené a ukazuje sa, že neboli správne. Za prehodnotenie stojí hlavne predpoklad o rovnakej hustote molekuly hexánu a etanolu. Taktiež model klastru etanolu ako izotropnej guličky nie je celkom dôveryhodný.

## 6.8 Hydrodynamické polomery častíc etanolu

Einstein – Stkesov vzťah pre výpočet koeficientu translačnej difúzie (6.2) platí za predpokladu, že správanie molekuly v roztoku zodpovedá guličke s drsným povrchom s hydrodynamickým polomerom  $r_H$ . Ako poznáme teplotu roztoku T a jeho viskozitu  $\eta$ , môžeme z nameraných difúznych koeficientov určiť hydrodynamický polomer podľa vzťahu

$$r_h = \frac{k_B T}{6\pi\eta D_t}.\tag{6.8}$$

Hydrodynamický polomer obsahuje informáciu o veľkosti častíc etanolu alebo hexánu, ktoré sa v roztoku pohybujú, a tým môže napovedať o formovaní klastrov molekúl etanolu, prípadne o ich veľkosti.

#### 6.8.1 Určenie dynamickej viskozity vzoriek

Aby sme mohli použiť vzťah (6.8) na určenie hydrodynamického polomeru častíc etanolu, je potrebné určiť viskozitu vzoriek. V dostupných zdrojoch sa nám nepodarilo nájsť hodnoty viskozity pre použité zmesi etanolu a hexánu v nami premeriavanej teplotnej škále. Použili sme preto výsledky z článku [11], v ktorom sa pojednáva o meraní viskozity normálnych parafínov v rozsahu teplôt od 20°C až do blízkosti bodu tuhnutia. V tabuľke (6.19) prevzatej z [11] sú uvedené namerané viskozity  $\eta$  pre *n*-hexán v jednotkách Poise, pričom platí 1 Poise = 1/10 Pa.s. Viskozity v teplotnom rozsahu našich experimentov získame preložením údajov z tabuľky Eyringovou závislosťou

$$\eta = \frac{hN_A}{V} \exp\left(\frac{\Delta F}{RT}\right),\tag{6.9}$$

$T [^{\circ}C]$	20	-20	-40,1	-60,1	-80,3	-90,3	-92,3
$\eta$ [Poise]	0,00310	0,00481	0,00635	0,00894	0,0139	0,0184	0,0195
$T [^{\circ}C]$	-94,3	-95,3	-95,7	-96,3	-96,8	-97,5	-98,5
$\eta$ [Poise]	0,0209	0,0216	0,0219	0,0223	0,0226	0,0231	0,0239

Tabuľka 6.19: Viskozita *n*-hexánu pri rôznych teplotách prevzatá z [11]

T [K]	$\eta$ [Poise]	$\eta$ [Pa.s]
197,4	0,0124	0,00124
207,7	0,0098	0,00098
218,0	0,0079	0,00079
228,3	0,0065	0,00065
238,6	0,0055	0,00055
248,9	0,0047	0,00047

Tabuľka 6.20: Viskozity získané z [11] v teplotnom rozsahu našich meraní

kde h je Planckova konštanta,  $N_A$  je Avogadrovo číslo, V je molový objem kvapaliny,  $\Delta F$  je voľná energia na mol, R je molová plynová konštanta a T je absolútna teplota. Interpolovaním krivky (6.9) preloženej dátami (6.19) sme získali potrebné viskozity hexánu pre teploty našich experimentov, uvedené v tabuľke (6.20).

Aby sme boli scholní posúdiť relevantnosť získaných výsledkov, bolo potrebné odhadnúť, nakoľko prítomnosť etanolu ovplyvní viskozitu hexánu. K tomuto účelu poslúžil článok [12], v ktorom sú rozoberané viskozity zmesi hexánu a etanolu pri teplote 25 °C. Pri tejto teplote je rozdiel oproti viskozite hexánu získanej z [11] a viskozitou udávanou v [12] v prípade vzorky I. približne 5%, v prípade vzorky II. približne 3%. Podobnú odchýlku vo viskozitách predpokladáme aj pri nami premeriavaných teplotách. Do chyby určenia hydrodynamického polomeru sa táto odchýlka premietne maximálne v hodnote 0, 3 Å. Rozdiel viskozity medzi hexánom a deuterovaným hexánom použitým pri experimentoch zanedbávame, pretože viskozita kvapaliny by nemala závisieť na jej molekulovej hmotnosti.

#### 6.8.2 Určenie hydrodynamického polomeru

Z nameraných difúznych koeficientov (tabuľky (6.13) a (6.14)) sme vypočítali difúzny koeficient etanolu  $D_{et}$  a hexánu  $D_{hex}$  ako priemer koeficientov pre jednotlivé jadrá v molekule, nakoľko sa tieto hodnoty od seba príliš nelíšili. S použitím týchto hodnôt a viskozít podľa [11] (tabuľka (6.20)) boli vypočítané hydrodynamické polomery etanolu  $r_{H_{et}}$  a hexánu  $r_{H_{hex}}$  podľa vzťahu (6.8). Vypočítané hodnoty v závislosti na teplote sú pre vzorku I. uvedené v tabuľke (6.21) a pre vzorku II. v tabuľke (6.22). V grafe (6.17) sú vynesené jednotlivé hydrodynamické polomery molekúl etanolu a hexánu pre rôzne teploty.

T [K]	$D_{et} [10^{-8}m^2.s^{-1}]$	$D_{hex} \left[ 10^{-8} m^2 . s^{-1} \right]$	$r_{H_{et}}$ [Å]	$r_{H_{hex}}$ [Å]
197,4	0,018	0,060	6,3	1,9
207,7	0,026	0,075	5,9	2,1
218,0	0,035	0,100	5,8	2,0
228,3	0,041	0,123	6,3	2,1
238,6	0,054	$0,\!157$	6,0	2,0

Tabuľka 6.21: Vypočítané hydrodynamické polomery častíc etanolu a hexánu pre vzorku I.

T [K]	$D_{et} [10^{-8}m^2.s^{-1}]$	$D_{hex} \left[ 10^{-8} m^2 . s^{-1} \right]$	$r_{H_{et}}$ [Å]	$r_{H_{hex}}$ [Å]
207,7	0,035	0,079	4,5	2,0
218,0	0,045	0,098	4,5	$^{2,1}$
228,3	0,060	0,126	4,3	2,0
238,6	0,079	$0,\!155$	4,0	$^{2,1}$
248,9	0,106	0,198	3,7	2,0

Tabuľka 6.22: Vypočítané hydrodynamické polomery častíc etanolu a hexánu pre vzorku II.



Obr. 6.17: Hydrodynamické polomery molekúl etanolu a hexánu vo vzorke I. a II.

Pohľad na graf (6.17) ukazuje, že hydrodynamický polomer etanolu vychádza v prípade oboch vzoriek väčší ako hydrodynamický polomer hexánu napriek tomu, že hexán je väčšia molekula (má väčšiu molekulovú hmotnosť a skladá sa z viacerých atómov). To je v súlade s očakávaním formovanie klastrov molekúl etanolu, ktoré sú viazané vodíkovými väzbami a pohybujú sa v roztoku ako jeden celok, čo sme ostatne predpokladali už z analýzy nameraných difúznych koeficientov.

Taktiež si v grafe (6.17) môžeme všimnúť, že hydrodynamický polomer častíc etanolu je v prípade vzorky I. väčší ako v prípade vzorky II., zatiaľ čo hydrodynamický polomer častíc hexánu je približne rovnaký v oboch prípadoch. To by zodpovedalo formovaniu menších klastrov v prípade menej koncentrovanej vzorky a väčších klastrov v prípade koncentrovanejšej vzorky, pokým molekuly hexánu sa v oboch koncentráciách pohybujú samostatne, a teda ich hydrodynamický polomer na koncentrácii nezávisí.

Podobne si môžeme všimnúť pokles hydrodynamického polomeru s teplotou v súlade s predpokladom o formovaní menších klastrov pri vyšších teplotách.

Získané hydrodynamické polomery veľmi dobre zodpovedajú veľkostiam vypočítaných štruktúr [1], ak uvažujeme ich rozmer ako vzdialenosť najvzdialenejších atómov v klastri.

## 6.9 Program hydroNMR

#### 6.9.1 Základný popis

Aby však úvahy o veľkosti klastrov z predošlej sekcie dostali kvantitatívny charakter, je potrebné porovnanie výsledných hydrodynamických polomerov s vhodným modelom. Na tento účel sme využili ab initio vypočítané štruktúry klastrov [1] a program hydroNMR [13], ktorého výstupom boli difúzne koeficienty translačnej difúzie jednotlivých klastrov.

Podľa popisu v [14] je program hydroNMR je primárne navrhnutý na výpočet NMR relaxácií malých, rigidných makromolekúl, ako napríklad globulárnych proteínov. Hlavný vstup do programu je vo forme PDB súboru, ktorý obsahuje súradnice jednotlivých atómov. Program zostaví vhodný hydrodynamický model molekuly a spočíta tenzor rotačnej difúzie, z ktorého ďalej získa rotačné korelačné časy. Potom pokračuje opätovným čítaním vstupného súboru za účelom získania vektorov alebo väzieb, ktoré sa zúčastňujú na dipóldipólovej relaxácii a spočíta relaxačné doby  $T_1$  a  $T_2$ , nukleárny Overhauserov efekt a pomer  $T_1/T_2$ .

#### 6.9.2 Hydrodynamický model použitý v hydroNMR

Procedúra na výpočet hydrodynamických vlastností je založená na korálkovom modeli (bead-model) [15, 16]. Vo všeobecnosti sa korálkovým modelom nazýva reprezentácia častice ako sústavy sférických frikčných elementov (korálok). Každému elementu je priradený koeficient trenia  $\xi_i$  podľa Stokesovho zákona a hydrodynamická interakcia medzi nimi je popísaná v zmysle Oseenovho tenzoru (6.14).

Existujú rôzne stratégie tvorby korálkového modelu v závislosti od danej častice. Pre kompaktnú tuhú časticu sa hydrodynamický odpor častice odohráva na jej povrchu, preto bola navrhnutá varianta korálkového modelu nazvaná shell-model [15, 17], podľa ktorého sa povrch častice reprezentuje obálkou mnohých malých identických frikčných elementov. Polomer elemetov  $\sigma_i$  sa berie tak, aby sa susedné korálky vzájomne dotýkali. Limita hladkej obálky sa dosiahne zväčšovaním počtu elemetov N a súčasným zmenšovaním ich polomeru  $\sigma_i$ , vlastnosti vypočítané pre hladkú obálku sa potom blížia vlastnostiam modelovanej častice.

#### 6.9.3 Metóda výpočtu difúznych koeficientov

V článku [18] je popísaná rigorózna metóda, ktorá je v programe hydroNMR použitá na výpočet difúznych parametrov. Nasledujúci popis zhrňuje poznatky z tohto článku.

Pre časticu ľubovoľného tvaru je hydrodynamický odpor možné vyjadriť  $6 \times 6$  tenzorom  $\Xi$ . Podobne je možno Brownov difúzny pohyb vyjadriť pomocou  $6 \times 6$  difúznej matice  $\mathcal{D}$ , ktorej súvislosť s $\Xi$  je daná zobecneným Enisteinovým vzťahom

$$\mathcal{D} = k_B T \Xi^{-1}. \tag{6.10}$$

Tenzor  $\Xi$  ako aj matica  $\mathcal{D}$  môže byť rozložená na bloky  $3 \times 3$ , ktoré korešpondujú s translačným pohybom (tt), rotačným pohybom (rr) a translačnerotačnou interakciou (tr), takže platí

$$\mathcal{D} = \begin{pmatrix} \mathbf{D}_{tt} & \mathbf{D}_{tr}^{T} \\ \mathbf{D}_{tr} & \mathbf{D}_{rr} \end{pmatrix} = k_{B}T \begin{pmatrix} \Xi_{tt} & \Xi_{tr}^{T} \\ \Xi_{tr} & \Xi_{rr} \end{pmatrix}^{-1}, \qquad (6.11)$$

pričom T zmanemá transpozíciu. Z bloku (tt) dostaneme koeficient translčnej difúzie  $D_t$  ako

$$D_t = \frac{1}{3} \operatorname{Tr}(\boldsymbol{D}_{tt}) \tag{6.12}$$

a koeficient trenia  $f_t$  ako

$$f_t = \frac{k_B T}{D_t},\tag{6.13}$$

kde Tr značí stopu tenzoru.

Teória hydrodynamických vlastností korálkového modelu poskytuje procedúru na výpočet zložiek tenzoru  $\Xi$ . Kľúčovým konceptom v hydrodynamike korálkového modelu je efekt hydrodynamickej interakcie. Trecia sila, ktorá pôsobí na jeden element, závisí nielen na jeho relatívnej rýchlosti a koeficiente trenia, ale aj na trecích silách, ktoré pôsobia na všetky ostatné elementy. Zavádza sa preto  $3 \times 3$  tenzor hydrodynamickej interakcie medzi elementami *i* a *j*,  $T_{ij}$ , ktorý závisí na kartézskych súradniciach a polomeroch všetkých *N* elementov modelu. Tento tenzor bol pôvodne formulovaý Oseenom ako

$$\boldsymbol{T}_{ij} = (8\pi\eta_0 R_{ij})^{-1} \left( \boldsymbol{I} + \boldsymbol{R}_{ij} \boldsymbol{R}_{ij} / R_{ij}^2 \right), \qquad (6.14)$$

kde I je jednotkový tenzor a  $R_{ij}$  je vektor vzdialenosti medzi *i*-tym a *j*-tym elementom. Pri odvodení rovnice (6.14) bolo implicitne poredpokladané, že rozmer elementov je oveľa menší ako  $R_{ij}$ . Preto bol odvodený [19, 20] nový vzťah

$$\boldsymbol{T}_{ij} = \frac{1}{6\pi\eta_0\sigma} \left( \left( 1 - \frac{9}{32} \frac{R_{ij}}{\sigma} \right) \boldsymbol{I} + \frac{3}{32} \frac{\boldsymbol{R}_{ij} \boldsymbol{R}_{ij}}{R_{ij}\sigma} \right),$$
(6.15)

platný pre interagujúce častice s rovnakým polomerom  $\sigma$ , ktorý bol neskôr zovšeobecnený [21] pre elementy s rôznymi polomermi  $\sigma_i$  a  $\sigma_j$ 

$$\boldsymbol{T}_{ij} = (8\pi\eta_0 R_{ij})^{-1} \left( \boldsymbol{I} + \frac{\boldsymbol{R}_{ij}\boldsymbol{R}_{ij}}{R_{ij}^2} + \frac{\sigma_i^2 + \sigma_j^2}{R_{ij}^2} \left( \frac{1}{3} \boldsymbol{I} - \frac{\boldsymbol{R}_{ij}\boldsymbol{R}_{ij}}{R_{ij}^2} \right) \right).$$
(6.16)

Tento vzťah platí, ak  $R_{ij} \ge \sigma_i + \sigma_j$ , inak sa elementy *i* a *j* prekrývajú.

Ďalej definujeme maticu  $3N \times 3N \mathcal{B}$  pozostávajúcu z blokov  $3 \times 3$ :

$$\boldsymbol{B}_{ij} = \boldsymbol{T}_{ij} \text{ ak } i \neq j, \tag{6.17}$$

$$\boldsymbol{B}_{ij} = \frac{1}{\xi_i} \boldsymbol{I},\tag{6.18}$$

kde

$$\xi_i = 6\pi\eta_0\sigma_i \tag{6.19}$$

je koeficient trenia *i*-teho elementu s polomerom  $\sigma_i$  podľa Stokesovho zákona, pričom  $\eta_0$  je viskozita rozpúšťadla. Inverziou matice  $\mathcal{B}$  dostaneme  $3N \times 3N$  maticu

$$\mathcal{S} = \mathcal{B}^{-1},\tag{6.20}$$

ktorá sa rozloží na bloky  $3 \times 3 C_{ij}$ , z ktorých je možné vypočítať komponenty  $\Xi$ , konkrétne  $\Xi_{tt}$  ako

$$\Xi_{tt} = \sum_{i} \sum_{j} \boldsymbol{C}_{ij}.$$
(6.21)

Stratégia výpočtu parametrov difúzie s použitím rigorózneho výpočtu je nasledujúca: Z kartézskych súradníc a polomerov vytvoreného korálkového modelu sa spočíta tenzor  $T_{ij}$  (6.16) a zostaví sa matica  $\mathcal{B}$  (6.17, 6.18), ktorej inverziou je získaná matica  $\mathcal{S}$  (6.20). Komponenta tenzoru  $\Xi$ ,  $\Xi_{tt}$ , je vypočítaná podľa vzťahu (6.21). Následne je  $\Xi$  invertovaný za účelom získania tenzoru  $\mathcal{D}$ , ktorý je rozdelený na bloky 3 × 3. Z nich sú translačné difúzne parametre vypočítané podľa vzťahov (6.12) a (6.13).

#### 6.9.4 Dáta z hydroNMR

Pre naše účely bol program hydroNMR použitý na výpočet koeficientov translačnej difúzie, pričom vstupom bol PDB súbor obsahujúci štruktúru klastru molekúl etanolu, viskozita roztoku z tabuľky (6.20) a teplota. Pre výpočet boli zvolené monoméry gauche a trans, diméry dvoch gauche a trans molekúl a cyklické klastre (ktoré sú podľa [1] energeticky výhodnejšie ako linárne) pozostávajúce celé z trans alebo z gauche molekúl etanolu. Získané hodnoty

	$D_t \ [10^{-8} \ \mathrm{m^2.s^{-1}}]$							
T[K]	1	2	3	4	5	6	7	8
197,4	0,028	0,027	0,020	0,020	0,018	0,017	0,016	0,015
207,7	0,037	0,036	0,026	0,027	0,024	0,023	0,021	0,021
218,0	0,048	0,047	0,034	0,034	0,031	0,030	0,028	0,027
228,3	0,061	0,060	0,043	0,044	0,040	0,038	0,035	0,034
238,6	0,076	0,075	0,054	0,054	0,050	0,047	0,044	0,042
248,9	0,093	0,092	0,066	0,067	0,061	0,058	0,054	0,052

Tabuľka 6.23: Difúzne koeficienty získané programom hydroNMR pre cyklické klastre (monomér (1) – oktamér (8)) zložené z trans molekúl

	$D_t \ [10^{-8} \ \mathrm{m^2.s^{-1}}]$							
T [K]	1	2	3	4	5	6	7	8
197,4	0,027	0,022	0,019	0,022	0,019	0,018	0,017	0,015
207,7	0,036	0,030	0,026	0,029	0,025	0,023	0,022	0,020
218,0	0,047	0,038	0,034	0,038	0,032	0,030	0,029	0,025
228,3	0,060	0,049	0,043	0,048	0,041	0,039	0,037	0,032
238,6	0,074	0,061	0,053	0,060	0,051	0,043	0,046	0,041
248,9	0,091	0,075	0,065	0,073	0,063	0,059	0,056	0,049

Tabuľka 6.24: Difúzne koeficienty získané programom hydroNMR pre cyklické klastre (monomér (1) – oktamér (8)) zložené z gauche molekúl

difúznych koeficientov sú uvedené pre klastre zložené z trans molekúl v tabuľke (6.23) a pre klastre zložené z gauche molekúl v tabuľke (6.24). V grafoch na obr. (6.18) je porovnanie získaných difúznych koeficientov s koeficientami nameranými pre vzorku I. a II.

Vypočítané difúzne koeficienty sa pre klastre zložené z trans a gauche konformérov líšia vo väčšine prípadov len málo. Pre jednotlivé veľkosti klastrov koeficienty rastú s teplotou, zatiaľ čo pre danú teplotu je závislosť difúzneho koeficientu na počte molekúl v klastri o niečo zložitejšia. Počínajúc tetramérom však difúzny koeficient klesá pre väčšie klastre. To je v súlade s predpokladom o nižšej pohyblivosti väčších klastrov a pomalšom pohybe molekúl pri nižších teplotách.

Aby sme mohli porovnať získané difúzne koeficienty s nameranými hodnotami, potrebujeme poznať, akú presnosť môžeme prisudzovať hodnotám z hydroNMR. Podľa článku [14] sa presnosť určenia koeficientu translačnej difúzie pre oligomérne štruktúry pohybuje od 1,0 do 1,3%. Skutočná chyba však môže byť väčšia vzhľadom k tomu, že nie sme schopní odhadnúť, nakoľko je relevantné použitie programu primárne určeného na štúdium molekúl proteínu na výpočet parametrov klastrov etanolu.

Porovnaním koefiecientov získaných programom hydroNMR zo zmeranými údajmi získame akýsi odhad priemernej veľkosti klastru, ktorý sa v danej



Obr. 6.18: Porovnanie difúznych koeficientov určených programom hydro<br/>NMR so vzorkami I. a II.

vzorke vyskytuje. Z grafov (6.18) môžeme vyvodzovať, že namerané hodnoty difúzneho koeficientu pre vzorku II. zodpovedajú približne hodnotám koeficientov monoméru a diméru. V prípade vzorky I. je situácia zložitejšia, veľkosť klastrov zodpovedajúca nameraným difúznym koeficientom sa môže pohybovať od triméru po pentamér až hexamér v prípade trans cyklických klastrov a v prípade gauche klastrov môže ísť o trimér a pentamér, pri nižších teplotách aj hexamér a heptamér.

Hoci majú zistené výsledky skôr kvalitatívny charakter, poskytuje porovnanie nameraných hodnôt cennú konfrontáciu rozdielnych hydrodynamických modelov a fakt, že výsledky z oboch modelov nie sú v rozpore, môžeme považovať za uspokojivý.

## Kapitola 7

## Záver

V predkladanej práci bola preštudovaná tvorba klastrov v roztoku etanolu v nepolárnom rozpúšťadle hexáne- $d_{14}$  pre dve rôzne koncetrácie vzoriek pri piatich rôznych teplotách. Zhrnutie výsledkov práce je nasledujúce:

- Boli zmerané série vodíkových spektier oboch vzoriek a diskutovaná súvislosť teplotnej závislosti chemického posunu hydroxylového protónu s veľkosťou klastrov molekúl
- Boli premerané relaxačné doby jadier <sup>13</sup>C a heteronukleárny Overhauserov efekt medzi jadrami <sup>13</sup>C a <sup>1</sup>H v závislosti na teplote pre obe vzorky. Z týchto závislostí boli vyhodnotené rotačné korelačné časy molekulárneho pohybu.
- Na jadrách <sup>1</sup>H boli určené koeficienty translačnej difúzie v závislosti na koncentrácii a teplote vzoriek.
- Z difúznych koeficientov boli vypočítané hydrodynamické polomery klastrov etanolu a molekúl hexánu.
- Namerané difúzne koeficienty boli porovnané s hodnotami pre ab initio vypočítaných štruktúr klastrov získané programom hydroNMR.
- Získané poznatky boli porovnané s dostupnými publikovanými zdrojmi.
- Výsledky ukazujú, že pri vzorke s nižšou koncentráciou etanolu sa vyskytujú predovšetkým monoméry a diméry, vo vzorke s vyššou koncentráciou prevažujú triméry až oktaméry.
## Literatúra

- Benda L. (2006): Výpočetní studium struktury a vlastností klastrů ethanolu, Diplomová práca na Matematicko-fyzikálnej fakulte Univerzity Karlovej na katedre fyziky nízkych teplôt.
- [2] Englich J., Pilař J., Sedlák B. (1983): Experimenální metody biofyziky II., Státní pedagogické nakladatelství, Praha.
- [3] Jerschov A., Müller N. (1997): J. Magn. Reson. 125, 372-375.
- [4] Ferris T. D., Farrar T. C. (2000): Z. Phys. Chem. 214, 1659-1670.
- [5] Huelsekopf M., Ludwig R. (2000): J. Mol. Liq. 85, 105-125.
- [6] Wendt M. A., Farrar T. C (1998): Mol. Phys. 95, 1077.
- [7] Ludvig R., Weinhold F., Farrar T. C. (1999): Mol. Phys. 97, 465.
- [8] Ferris T. D., Farrar T. C. (2002): Mol. Phys. 100, 303-309.
- [9] Danielsson J., Jarvet J., Damberg P., Gräuslund A. (2002): Magn. Reson. Chem. 40, 89-97.
- [10] Murdoch K. M., Ferris T. D., Wright J. C., Farrar T. C. (2002): J. Chem. Phys. 116, 5717-5724.
- [11] Giller E. B., Drickamer H. G. (1949): Ind. Eng. Chem. Res. 2067
- [12] Papaioannou D., Panayiotou C. (1994): J. Chem. Eng. Data 39, 463-466.
- [13] García de la Torre J., Huertas M. L., Carrasco B. (2000): HYDRONMR: prediction of NMR relaxation of globular proteins from atomic-level structures and hydrodynamic calculations J. Magnetic Reson. 147, 138-146.
- [14] Garcia de la Torre J., Huertas M. L., Carrasco B. (2000): J. Magn. Reson. 147, 138-146.
- [15] Bloomfield V. A., Dalton W. O., Van Holde K. E (1976): Biopolymers 5, 135-148.
- [16] Bloomfield V. A. (1968): Science **161**, 1212-1219.
- [17] Filson D. P., Bloomfield V. A. (1967): *Biochemistry* **6**, 1650-1658.

- [18] Carrasco B., Garcia de la Torre J. (1999): Biophys. J. 75, 3044-3057.
- [19] Rotne J., Prager S. (1969): J. Chem. Phys. 50, 4831-4837.
- [20] Yamakawa H. (1970): J. Chem. Phys. 53, 436-443.
- [21] Garcìa de la Torre J., Bloomfield V. A. (1977): *Biopolymers* 16, 1474-1763.