

ZYGMUNT JAMRÓGIEWICZ, KRYSZYNA MOJSIEWICZ-PIEŃKOWSKA^{*)},
DOROTA JACHOWSKA, JERZY ŁUKASIAK

Akademia Medyczna w Gdańsku
Wydział Farmaceutyczny
Katedra i Zakład Chemii Fizycznej
Al. Gen. J. Hallera 107, 80-416 Gdańsk

Badanie zależności czasu relaksacji podłużnej w metodzie ^1H NMR od struktury polidimetylosiloksanów i optymalizacja parametrów rejestracji widm

STUDY ON THE DEPENDENCE OF LONGITUDINAL RELAXATION TIME IN ^1H NMR METHOD ON THE STRUCTURE OF POLYDIMETHYLSILOXANES AND OPTIMIZATION OF SPECTRA REGISTRATION PARAMETERS

Summary — The results of investigations of the effects of size and shape of molecules of oligomers: hexamethyldisiloxane (HMDS) dimer, octamethylcyclotetrasiloxane (OMCTS) tetramer and polydimethylsiloxane, characterized by kinetic viscosity ~ 10 cSt (PDMS10), as well as of two linear polydimethylsiloxanes [one of viscosity about 300 cSt (PDMS300) the other of about 1000 cSt (PDMS1000)] on longitudinal relaxation time (T_1) in ^1H NMR method were presented. The samples were prepared by dissolution of the substances mentioned in the mixture of carbon tetrachloride with deuterated benzene (Table 2). It was found that T_1 time did not significantly depend on the analyte concentration in the sample and was practically independent on the mutual ratio of the solvents used. It was observed the increase in the chain length of PDMS caused T_1 decrease while cyclization of the molecule did not influence its value (Table 2). The investigations showed that to obtain credible results of quantitative PDMS determination it was necessary to use the optimal values of spectra registration parameters, especially delay time (t_d) and data acquisition time (t_a) which should be 15 s and 5 s, respectively.

Key words: polydimethylsiloxanes, ^1H NMR, longitudinal relaxation time, registration parameters' optimization.

Zainteresowanie polidimetylosiloksanami (PDMS) jest związane z powszechnością ich stosowania w różnych dziedzinach. Człowiek styka się bezpośrednio z PDMS przede wszystkim używając leków, środków medycznych, żywności oraz kosmetyków. Polidimetylosiloksany to związki wielkocząsteczkowe z grupy polimerów krzemooorganicznych występujące w postaci liniowej lub cyklicznej. Wraz z zastosowaniem PDMS w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym pojawiła się potrzeba rozwoju technik identyfikacji i oznaczania śladowych ilości tych związków [1—4]. We wcześniejszych publikacjach [5—6] autorzy opisali metodę, która okazała się przydatna do oznaczania PDMS w środkach

spożywczych, wykorzystującą spektrometrię ^1H NMR z zastosowaniem heksametylosiloksanu (HMDS) jako wzorca wewnętrznego. Optymalizacja warunków pomiarowych wymagała znajomości procesów relaksacyjnych, dlatego wykonano badania związane z wyznaczeniem zależności pomiędzy czasem relaksacji podłużnej T_1 protonów grupy CH_3 a strukturą, ciężarem cząsteczkowym i stężeniem PDMS w badanej próbce oraz pozostałym składem badanego roztworu.

Wyznaczenie czasu relaksacji podłużnej T_1 (spin-sieć) umożliwia uzyskanie cennych informacji dotyczących struktury cząsteczek, dynamicznych procesów wewnątrzcząsteczkowych oraz oddziaływań typu cząsteczka-rozpuszczalnik w roztworze [7—9].

Czas relaksacji poprzecznej T_2 (spin-spin) ma natomiast istotny wpływ na szerokość pojedynczej linii sygnału rezonansowego w widmie [10], a od kształtu linii

^{*)} Autor do korespondencji; e-mail: kpienk@amg.gda.pl, tel.: (48) 58 349-31-54, fax: (48) 58 349-32-06.

rezonansowej zależy w pewnym stopniu dokładność otrzymanego wyniku. Czas T_1 nie jest nigdy mniejszy od czasu T_2 , stąd ważnym elementem analizy ilościowej jest dobranie parametrów doświadczenia pozwalających na uzyskanie optymalnego czasu T_1 [10].

W stosowanej powszechnie technice z impulsowym wzbudzeniem próbki znajomość czasów relaksacji, szczególnie w przypadku zastosowania metody NMR do analizy ilościowej jest ważna ze względu na konieczność dobrania optymalnej wartości czasu przerwy między kolejnymi impulsami t_d (tzw. czas opóźnienia), w trakcie którego wektor magnetyzacji M w wyniku zachodzącego zjawiska relaksacji powraca do wartości równowagowej.

Ze względu na konieczność zsumowania dość dużej ilości koherentnych rejestracji, niekiedy nawet kilkuset FID (z ang. *Free Induction Decay*), wartość parametru t_d powinna być możliwie mała, by ponad miarę nie przedłużać czasu analizy, a z drugiej strony na tyle duża by analizowany układ zdążył powracać do stanu równowagi. Wartość t_d musi być równa co najmniej $5T_1$ [7—9, 11—15]. Także znajomość wpływu na wartość czasu relaksacji T_1 takich czynników jak skład rozpuszczalnika i temperatura pomiaru pozwala dobrać warunki rejestracji umożliwiające skrócenie czasu oznaczania [16].

Czas relaksacji jest także silnie powiązany ze strukturą analitu, co pozwala na wyciąganie na jego podstawie wniosków dotyczących struktury badanej substancji (np. stopnia polimeryzacji PDMS).

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiały

Do badań użyto następujących oligomerów dostarczonych przez firmę Aldrich Chemical Company Inc. (USA):

- dimeru heksametylosiloksanu (HMDS),
- liniowego polidimetylosiloksanu o lepkości kinematycznej ok. 10 cSt (PDMS10),
- trimeru heksametylocyklotrisiloksanu (HMCTS),
- tetrameru oktametylocyklotetrasiloksanu (OMCTS).

Badano także polimery o strukturze liniowej, które były olejami silikonowymi „Polsil” wyprodukowanymi w Zakładach Chemicznych Organika „Sarzyna” w Nowej Sarzynie:

- polidimetylosiloksan o średnim stopniu polimeryzacji i lepkości ok. 300 cSt (PDMS300), dozwolony do stosowania w przemyśle spożywczym i farmaceutycznym,
- polidimetylosiloksan wielkocząsteczkowy o lepkości ok. 1000 cSt (PDMS1000).

Jako rozpuszczalniki stosowano tetrachlorek węgla oraz deuterowany benzen dostarczone przez Aldrich Chemical Company Inc.

Aparatura

W badaniach zastosowano spektrometr ^1H NMR z transformacją Fouriera typu „Tesla BS 587 A” (80 MHz).

Przygotowanie próbek

Próbki do rejestracji przygotowywano rozpuszczając PDMS w mieszaninie tetrachloru węgla i deuterowanego benzenu, z wyjątkiem jednej próbki HMDS, którą rozpuszczano w samym C_6D_6 . Do stabilizacji pola magnetycznego wybrano deuterowany benzen (99,5% deuteru), ponieważ miesza się on z CCl_4 , a opracowana metoda [6] została wykorzystana do oznaczania PDMS izolowanego z badanego materiału w wyniku ekstrakcji za pomocą CCl_4 . Wartości stężeń analitów i skład rozpuszczalników w przygotowanych próbkach zestawiono w tabeli 2.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Pomiaru czasów relaksacji podłużnej (T_1) protonów grup CH_3 dokonano stosując metodę IRFT (odwrócenia i powrotu) [7—9, 17], która polega na zastosowaniu sekwencji impulsów, zapisanych schematycznie w postaci:

$$(t_d - 180^\circ - t - 90^\circ - t_a)_n$$

gdzie: t — odstęp czasowy między impulsami 180° i 90° ; t_a — czas detekcji sygnału swobodnej precesji po impulsie 90° (tzw. czas akwizycji danych); t_d — czas opóźnienia; n — ilość powtórzeń sekwencji.

T_1 wyznaczano z równania:

$$\ln \frac{2H_0}{H_0 - H_t} = \frac{1}{T_1} \cdot t \quad (1)$$

gdzie: H_0 — natężenie sygnału po impulsie 90° (w standardowej procedurze rejestracji); H_t — natężenie sygnału uzyskane po zastosowaniu odstępu czasowego t między impulsami 180° i 90° .

Metodę wyznaczania T_1 przetestowano na przykładzie HMDS, ponieważ ma on najprostszą budowę chemiczną spośród badanych związków $[\text{CH}_3\text{-Si}(\text{CH}_3)_2\text{-O-Si}(\text{CH}_3)_2\text{-CH}_3]$. Sygnały protonów, połączonych z atomem węgla związanym bezpośrednio z atomem krzemu, są poniżej 0,5 ppm.

Przed rozpoczęciem badań wyznaczono doświadczalnie, zgodnie z zasadą zawartą w instrukcji [17], impulsy 90° i 180° uzyskując wartości odpowiednio 10 μs i 20 μs . Przyjęto, że długość przerwy między kolejnymi sekwencjami pomiarowymi $D = t_d + t_a$ jest równa 30 s, ilość spójnych rejestracji FID wynosi 12, a odstęp czasowy między impulsami (t) zawiera się w przedziale 1,00—4,00 s. Szerokość widma (SW) obejmuje 1250 Hz, co przy ilości punktów 16 000 odpowiada rozdzielczości 0,08 Hz/punkt. Pomiar jest prowadzony w temp. 25°C , a próbka rotuje z częstotliwością 35 Hz.

Wyniki pojedynczej serii pomiarowej przykładowego widma roztworu HMDS zebrano w tabeli 1.

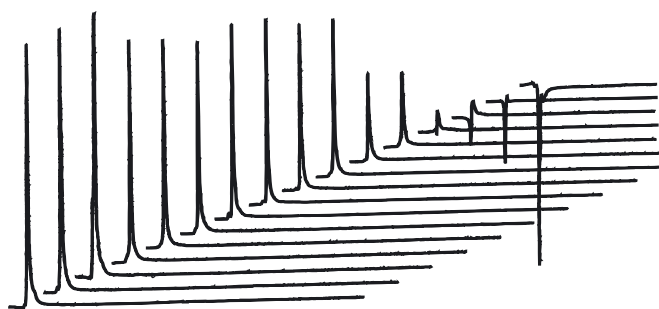
T a b e l a 1. Wyniki pojedynczej serii pomiarowej rejestrowanego widma roztworu HMDS o stężeniu $17 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ w rozpuszczalniku będącym mieszaniną CCl_4 i C_6D_6 (1:5 v/v), $H_0 = 103 \text{ mm}$

T a b l e 1. Results of a single measurement series of the registered spectrum of HMDS solution (concentration $17 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) in the solvent being a mixture of CCl_4 and C_6D_6 (1:5 v/v), $H_0 = 103 \text{ mm}$

$t, \text{ s}$	1,0	1,2	1,4	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	2,0	2,1	2,2	2,3	2,5	2,8	3,0	4,0
$H_t, \text{ mm}$	-31	-25	-20	-18	-15	-10	-8	-3	1	10	13	14	20	21	22	66

Jak wynika z równania (1) wartość H_0 najbardziej wpływa na wartość T_1 , dlatego w celu zminimalizowania błędu wyznaczania T_1 , wartość H_0 wyznaczono jako średnią z trzech pomiarów. Współczynnik determinacji określający liniowość zależności opisanej równaniem (1) wynosi $r^2 = 0,90$, a współczynnik kierunkowy prostej regresji $a = 0,35$, co odpowiada czasowi relaksacji podłużnej $T_1 = 2,85 \text{ s}$. Precyzję pomiarów określono względnym odchyleniem standardowym uwzględniającym $n = 16$ pomiarów, które wyniosło $S_r = 0,042$.

Typowy dla omawianej metody zestaw widm ułożonych w porządku zwiększającej się wartości t przedstawiono na rys. 1. Jest to zestaw widm ^1H NMR (zarejestrowany metodą IRFT w temp. $27 \text{ }^\circ\text{C}$) próbki PDMS1000 o stężeniu $17,0 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ w rozpuszczalniku



Rys. 1. Zestaw widm ^1H NMR próbki PDMS1000 (zarejestrowanych metodą IRFT) stosowanych do pomiarów czasów relaksacji T_1

Fig. 1. Set of ^1H NMR spectra (registered by IRFT method) for determination of PDMS1000 relaxation time T_1

będącym mieszaniną CCl_4 i C_6D_6 w stosunku objętościowym 1:5. Do wyznaczenia optymalnych parametrów metody użyto HMDS wykonując 12 serii pomiarowych. Precyzja wyrażona względnym odchyleniem standardowym wynosiła $S_r = 0,01$, różnica pomiędzy wartością najniższą, a najwyższą zwana rozstępem R była równa $0,53 \text{ s}$ przy wartości średniej $2,94 \text{ s}$, a r^2 poszczególnych oznaczeń zawierały się w przedziale $0,99\text{--}0,97$.

Wartość T_1 była średnią otrzymaną z trzech niezależnych serii pomiarowych składających się z 19 pomiarów każda, tj. trzykrotnego pomiaru H_0 oraz 16 pomiarów różniących się zastosowanym czasem przerwy t między impulsami.

Wyniki oznaczeń T_1 oraz przesunięcia chemicznego (δ) sygnału protonów grupy Si-CH_3 zestawiono w tabeli 2.

Czasy relaksacji T_1 są odwrotnością współczynnika kierunkowego (a) równania linii prostej. W celu statystycznego porównania poszczególnych czasów T przeprowadzono test porównawczy współczynników a , przy pomocy którego można weryfikować hipotezę zerową o równości współczynników kierunkowych dwu prostych $a_1 = a_2$, równoważną hipotezie merytorycznej o równoległości testowanych prostych.

Do testu porównawczego wybrano wartości czasów T (tabela 2) odpowiadające próbkom zawierającym PDMS o różnej wielkości i strukturze cząsteczek, a także o różnym składzie rozpuszczalnika. Wyniki testu zamieszczono w tabeli 3.

Wykonana charakterystyka spektralna analizowanych próbek wykazała niewielkie różnice wartości prze-

T a b e l a 2. Wartości przesunięcia chemicznego (δ) oraz czasu relaksacji (T_1) wybranych analitów o strukturze liniowej lub cyklicznej w zależności od ich stężenia w rejestrowanej próbce i rodzaju użytego rozpuszczalnika

T a b l e 2. Chemical shift (δ) and relaxation time (T_1) values for selected analytes of linear or cyclic structures dependently on their concentrations in the samples registered and the type of a solvent used

Analit	Ciężar cząsteczkowy, Da	Stężenie $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$	Skład rozpuszczalnika	$\delta, \text{ ppm}$	$T_1, \text{ s}$		r^2
					wartość średnia	zakres	
HMDS	162	17,0	CCl_4 i C_6D_6 (5:1)	0,09	2,38	2,37—2,41	0,95—0,99
HMDS	162	17,0	CCl_4 i C_6D_6 (1:5)	0,10	2,94	2,67—3,20	0,90—0,99
HMDS	162	1,7	CCl_4 i C_6D_6 (1:5)	0,10	2,90	2,84—3,00	0,92—0,97
HMDS	162	80,0	C_6D_6	0,12	2,92	2,87—2,99	0,98—0,99
PDMS10	1200	17,0	CCl_4 i C_6D_6 (1:5)	0,21	2,44	2,39—2,52	0,90—0,93
PDMS300	12 000	17,0	CCl_4 i C_6D_6 (1:5)	0,18	1,68	1,61—1,75	0,97—0,99
PDMS300	12 000	17,0	CCl_4 i C_6D_6 (5:1)	0,18	1,40	1,34—1,44	0,96—0,99
PDMS1000	30 000	17,0	CCl_4 i C_6D_6 (1:5)	0,20	1,67	1,58—1,75	0,97—0,99
HMCTS	222	17,0	CCl_4 i C_6D_6 (1:5)	0,10	2,20	2,16—2,25	0,98—0,99
OMCTS	296	17,0	CCl_4 i C_6D_6 (1:5)	0,10	2,06	1,92—2,15	0,99

Tabela 3. Wyniki porównania za pomocą testu Studenta czasów relaksacji wyznaczonych w różnych warunkach
Table 3. Results of comparison of relaxation time determined in various conditions, by Student's test

Rodzaj PDMS	Skład rozpuszczalnika	Stężenie PDMS mg · ml ⁻¹	Rodzaj PDMS	Skład rozpuszczalnika	Stężenie PDMS mg · ml ⁻¹	<i>t</i> ^{*)}	P ^{**)}
HMDS	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (1:5)	17,0	HMDS	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (5:1)	17,0	1,91	0,064
PDMS300	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (1:5)	17,0	PDMS300	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (5:1)	17,0	1,38	0,120
PDMS300	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (1:5)	17,0	HMDS	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (1:5)	17,0	2,34	0,040
PDMS10	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (1:5)	17,0	OCTMS	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (1:5)	17,0	1,00	0,187
HMCTS	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (1:5)	17,0	OCTMS	CCl ₄ i C ₆ D ₆ (1:5)	17,0	0,12	0,455

^{*)} *t* — wartość obliczona testu. ^{**) P} — prawdopodobieństwo graniczne.

sunięć chemicznych δ (0,09—0,21 ppm) w zależności od wielkości ciężaru cząsteczkowego PDMS (tabela 2). Różnice te mogą nasuwać przypuszczenia, że ciężar cząsteczkowy może mieć wpływ na wartość czasu T_1 . Statystyczne opracowanie wyników wykazało zależność T_1 od struktury w przypadku HMDS i PDMS300 oraz PDMS o wyższej lepkości. Sugeruje to prawdopodobną zależność T_1 od długości łańcucha. Ta sama statystyczna weryfikacja wartości T_1 dotyczących HMDS o różnych stężeniach (1,7 mg · ml⁻¹) nie wykazała istotnych statystycznie różnic (poziom istotności $\alpha = 0,05$) pomiędzy czasami T_1 .

Badania próbek HMDS i PDMS300 w rozpuszczalnikach różniących się składem wykazały niewielki wpływ składu rozpuszczalnika na czas relaksacji T_1 . Niemniej stwierdzona na poziomie istotności $\alpha = 0,06$ różnica między czasami T_1 dotyczącymi roztworów HMDS o składzie rozpuszczalnika CCl₄:C₆D₆ od 1:5 do 5:1 sugeruje istnienie takiej zależności. Potwierdza to też wynik testu porównania czasów T_1 roztworów PDMS300 w rozpuszczalnikach o różnym składzie, gdzie wartość krytyczna poziomu istotności α wynosi 0,12. Wartości T_1 odpowiadających roztworom HMDS o skrajnych wartościach stężeń (1,7 mg · ml⁻¹ oraz 80 mg · ml⁻¹) nie porównywano ze względu na ich nieznaczne różnice.

Zauważono, że na ogół wartość T_1 jest większa w przypadku krótszych łańcuchów cząsteczek PDMS. HMDS charakteryzuje się największą średnią wartością $T_1 = 2,94$ s. PDMS o wyższych stopniach polimeryzacji odpowiadają wartości T_1 malejącej wraz ze wzrostem długości łańcucha. Polimery o lepkości większej od 300 cSt praktycznie nie różnią się między sobą czasami T_1 . Czasy te nie różnią się istotnie także pomiędzy polidimetylosiloksanami o budowie cyklicznej HMCTS a OCTMS i są porównywalne z T_1 liniowego PDMS10.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że czas opóźnienia ($t_d = 5T_1$), który oblicza się w stosunku do najdłuższego czasu relaksacji dotyczącego badanych protonów, w przypadku oznaczeń ilościowych PDMS powinien wynosić 15 s. Uzyskanie wiarygodnych wyników oznaczeń ilościowych PDMS (np. w próbkach żywności) wymaga zastosowania optymalnych wartości jeszcze innych parametrów rejestracji widm, do których należą:

— impuls 90°;

— czas akwizycji danych $t_a = 5$ s i długość przerwy między kolejnymi sekwencjami pomiarowymi $D = t_a + t_d = 20$ s;

— szerokość widma $SW = 1250$ Hz, co przy ilości punktów 16 000 odpowiada rozdzielczości 0,08 Hz/punkt;

— rotacja próbki ok. 35 Hz;

— ilość spójnych rejestracji FID dobiera się w zależności od przeprowadzanych analiz do uzyskania minimum stosunku sygnału do szumu $S/N = 1:100$.

WNIOSKI

— Na przykładzie roztworów HMDS o stężeniach od 1,7 do 80 mg · ml⁻¹ stwierdzono, że czas T_1 nie zależy w sposób istotny od stężenia badanego roztworu.

— T_1 w przypadku HMDS i PDMS300 jest praktycznie niezależny od wzajemnych proporcji tetrachloru węgla i deuterowanego benzenu w analizowanej próbce.

— Cyklizacja cząsteczki nie wpływa na wartość T_1 .

— Zaobserwowano, że T_1 maleje wraz ze wzrostem długości łańcucha PDMS.

— HMDS o najkrótszym łańcuchu spośród badanych PDMS o strukturze liniowej ma najdłuższy czas $T_1 = 2,94$ s.

— W celu uzyskania powtarzalnych i statystycznie wiarygodnych wyników analizy ilościowej PDMS metodą ¹H NMR należy przede wszystkim przestrzegać stosowania czasu opóźnienia $t_d = 15$ s, natomiast struktura PDMS, skład rozpuszczalnika i stężenie nie stanowią istotnych przyczyn niepewności analitycznej.

LITERATURA

1. Mojsiewicz-Pieńkowska K., Łukasik J.: *Polimery* 2003, **48**, 403.
2. Praca zbiorowa: „Chemia polimerów” (red. Florjańczyk Z., Penczek S.), Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa 1997.
3. Williams R. J. P.: „General introduction, Silicon Biochemistry, Ciba Foundation Symposium”, 121, A. Wiley Publications 1986.
4. „Oleje metylosilikonowe”, Polsil OM. Zakłady Chemiczne „Sarżyna”, Warszawa 1975.

5. Jamrógiewicz Z., Łukasik J., Mojsiewicz K.: *Chem. Anal. (Warsaw)* 1997, **42**, 659.
6. Mojsiewicz-Pieńkowska K., Jamrógiewicz Z., Łukasik J.: *Food Additives and Contaminants* 2003, **20**, 438.
7. Günther H.: „Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego”, PWN, Warszawa 1983.
8. Wehrli F. W., Wirthlin T.: „Interpretacja widm w spektroskopii ^{13}C NMR”, PWN, Warszawa 1985.
9. Ejchart A., Kozerski L.: „Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego ^{13}C ”, PWN, Warszawa 1988.
10. Hauser K. H., Kalbitzer H. R.: „NMR w biologii i medycynie”, WAM, Puznań 1993.
11. Weiss G. H., Gupta R. K., Ferretti J. A.: *J. Magn. Res.* 1980, **37**, 369.
12. Becker E. D., Ferretti J. A.: *J. Magn. Res.* 1980, **37**, 387.
13. Bernassau J. M., Hyafil F.: *J. Magn. Res.* 1980, **40**, 245.
14. Hanssum H.: *J. Magn. Res.* 1981, **45**, 461.
15. Hansuum H., Rüterjans H.: *J. Magn. Res.* 1980, **39**, 65.
16. Levy G. C., Peat I. R.: *J. Magn. Res.* 1975, **18**, 500.
17. „Oznaczenie czasów relaksacji T_1 ”, Instrukcja Tesla, Brno.

Otrzymano 1 VII 2004 r.