



# **UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

**Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas**

## **ESTUDIO DE UNA EMULSIÓN POLIMÉRICA POR RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR. MEDIDAS DE TIEMPOS DE RELAJACIÓN Y DIFUSIÓN**

**TESIS**

**PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS**

Presenta:

**Q. Martha Elena García Aguilera**

Tutor: Dra. Nuria Esturau Escofet  
Instituto de Química UNAM

México, D.F. diciembre 2015



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS  
QUÍMICAS**

**Estudio de una emulsión polimérica por  
Resonancia Magnética Nuclear. Medidas de  
tiempos de relajación y difusión**

**TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA  
Q. Martha Elena García Aguilera**



**TUTOR: Dra. Nuria Esturau Escofet**  
México, D. F., diciembre 2015

SUSTENTANTE: Q. Martha Elena García Aguilera

No. Becario: 295848

TUTORA: Dra. Nuria Esturau Escofet

H. Jurado

- Presidente: Dr. Luis Gerardo Zepeda Vallejo
- Vocal: Dr. Gabriel Cuevas González-Bravo
- Vocal: Dr. José Federico Del Río Portilla
- Vocal: Dra. María Josefa Bernad Bernad
- Secretario: Dra. Anna Kózina

La presente Tesis se realizó en el Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear ubicado en el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la asesoría de la Dra. Nuria Esturau Escofet.

Los resultados derivados de este trabajo se presentaron en:

- "Determinación del coeficiente de difusión de una resina epóxica en emulsión por RMN". Simposio Interno del Instituto de Química, UNAM, D.F., Junio 2015. Cartel.



- "Polymeric emulsion study by NMR. Relaxation times and molecular translational diffusion measurement". QUIMIUNAM, Posgrado en Ciencias Químicas, UNAM, D.F., Abril 2015. Presentación oral.



- "Optimización de experimentos de RMN para medir la difusión molecular de una emulsión polimérica". 49° Congreso Mexicano de Química y 33° Congreso Nacional de Educación Química, Sociedad Química de México, Mérida, Yucatán, Septiembre de 2014. Cartel.



- "Caracterización por Resonancia Magnética Nuclear de una resina epóxica y su emulsión". XXVII Congreso Nacional de Química Analítica, Asociación Mexicana de Química Analítica, Puebla, Puebla, Junio 2014. Cartel.



## **Agradecimientos**

Al CONACyT por la beca 295848 para la realización de mis estudios de Maestría.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por abrirme las puertas de la ciencia.

Al proyecto PAPIIT IA201414 por el apoyo para la realización de este trabajo.

Al Programa de Posgrado en Ciencias Químicas por el apoyo para la asistencia al 49° Congreso Mexicano de Química y 33° Congreso Nacional de Educación Química.

Al Instituto de Química de la UNAM por brindarme los medios necesarios para desarrollar este trabajo.

A la Fundación Educación Superior-Empresa (FESE) por los recursos complementarios.

A la Dra. Nuria Esturau por sus enseñanzas, el tiempo brindado y sobre todo por su amistad entrañable.

A los miembros del H. Jurado por sus valiosas observaciones y comentarios de este trabajo.

A las Técnicas Académicas M. en C. Elizabeth Huerta y Dra. Beatriz Quiroz del laboratorio de RMN del IQ por el apoyo en la adquisición de algunos espectros.

Al Dr. Abel Moreno Cárcamo por el apoyo con las mediciones de DLS.

*A mi familia, por ser mi apoyo incondicional.*

***“La ciencia es el alma de la  
prosperidad de las naciones y la  
fuente de vida de todo progreso.”***

***Louis Pasteur***



## Tabla de contenido

|  |    |
|--|----|
| Lista de abreviaturas, acrónimos y simbología .....          | 1  |
| 1 Introducción.....  | 3  |
| 1.1 Estructura de la tesis .....                             | 5  |
| 2 Objetivos.....   | 7  |
| 3 Marco teórico .....  | 8  |
| 3.1 Sistema de estudio.....                                  | 8  |
| 3.1.1 Resinas epóxicas.....                                  | 8  |
| 3.1.2 Emulsiones.....  | 10 |
| 3.2 Difusión traslacional .....                              | 11 |
| 3.3 Resonancia Magnética Nuclear .....                       | 14 |
| 3.3.1 Conceptos básicos de Resonancia Magnética Nuclear..... | 14 |
| 3.3.2 Procesos de relajación en RMN: $T_1$ y $T_2$ .....     | 16 |
| 3.3.3 Difusión y gradientes de campo magnético .....         | 21 |
| 3.3.4 Gradientes y movimiento .....                          | 23 |
| 3.3.5 Gradientes y difusión.....                             | 24 |
| 3.3.6 Gradientes y convección.....                           | 25 |
| 3.3.7 Secuencias de pulsos utilizadas para determinar D..... | 28 |
| 3.3.8 Representación DOSY .....                              | 35 |
| 4 Metodología .....  | 37 |
| 4.1 Materiales.....  | 37 |
| 4.2 Experimentación .....                                    | 37 |
| 4.2.1 Preparación de las muestras .....                      | 37 |
| 4.2.2 Equipo.....  | 37 |
| 4.2.3 Experimentos de RMN .....                              | 38 |



|       |   |    |
|-------|---|----|
| 5     | Resultados y Discusión .....  | 41 |
| 5.1   | Confirmación de la estructura de la resina en $\text{CDCl}_3$ .....         | 41 |
| 5.2   | Caracterización de la resina en $\text{D}_2\text{O}$ .....                  | 43 |
| 5.3   | Caracterización de la emulsión de la resina en $\text{D}_2\text{O}$ .....   | 44 |
| 5.4   | Determinación de los tiempos de relajación de la resina en la emulsión      | 45 |
| 5.4.1 | Determinación de tiempos de relajación $T_1$ a diferentes temperaturas..... | 45 |
| 5.4.2 | Determinación de tiempos de relajación $T_2$ a diferentes temperaturas..... | 49 |
| 5.5   | Determinación del coeficiente de difusión de la resina en la emulsión       | 51 |
| 5.5.1 | Eliminación de los efectos de convección en experimentos de Difusión        | 54 |
| 5.6   | Cálculo del radio hidrodinámico de la resina en emulsión.....               | 58 |
| 6     | Conclusiones.....   | 60 |



## Lista de abreviaturas, acrónimos y simbología

|            |   |
|------------|---|
| $\delta$   | Duración de los gradientes de campo magnético   |
| $\alpha$   | Estado de mínima energía  |
| $\tau$     | Periodo de tiempo   |
| $\Delta$   | Separación entre los gradientes/ tiempo de difusión   |
| $\eta$     | Viscosidad de la solución   |
| $\Delta E$ | Diferencia de energía   |
| AQ         | Tiempo de adquisición   |
| $B_0$      | Campo magnético   |
| BPP        | Pares de pulsos bipolares   |
| BPPLED     | Secuencia Eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares y tiempo longitudinal para desvanecer las corrientes eddy       |
| BPPSTE     | Secuencia Eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares   |
| cpmg       | Carr-Purcell-Meiboom-Gill   |
| D          | Coeficiente de difusión   |
| D1         | Tiempo de espera entre <i>scans</i>   |
| DBPPLED    | Secuencia doble Eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares y tiempo longitudinal para desvanecer las corrientes eddy |
| DBPPSTE    | Secuencia doble Eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares   |
| DGEBA      | Éter diglicidil de bisfenol A   |
| DLS        | Dispersión Dinámica de Luz  |
| DOSY       | Espectroscopia de difusión ordenada   |
| DPFGSTE    | Experimento Eco de espín estimulado doble   |
| DS         | <i>Dummy scans</i>  |
| $f$        | Coeficiente de fricción   |
| FT-RMN     | Transformada de Fourier   |
| G          | Intensidad de los gradientes  |
| Gp         | Gradiente de purga  |
| $k_B$      | Constante de Boltzman ( $1.38066 \times 10^{-23} \text{ kg m}^2 \text{ K}^{-1} \text{ s}^{-2}$ )                              |
| $M_0$      | Magnetización al equilibrio   |
| $M_{xy}$   | Magnetización transversal   |



|           |  |
|-----------|--|
| $M_z$     | Magnetización en el <b>eje z</b>   |
| NS        | Acumulaciones  |
| PEE       | Peso epóxico equivalente   |
| PFGLED    | Experimento Eco de espín estimulado con tiempo longitudinal para desvanecer las corrientes <i>eddy</i> |
| PFGSE     | Experimento Eco de espín con gradientes  |
| PFGSTE    | Experimento Eco de espín estimulado  |
| $r_{eff}$ | Radio efectivo   |
| Rf        | Radiofrecuencia  |
| $r_h$     | Radio hidrodinámico  |
| RMN       | Resonancia Magnética Nuclear   |
| s         | Forma de los gradientes  |
| SE        | Experimento eco de espín   |
| T         | Temperatura  |
| $T_1$     | Tiempo de relajación longitudinal (espín-red)  |
| $t_{1ir}$ | Recuperación de la inversión   |
| $T_2$     | Tiempo de relajación transversal (espín-espín)   |
| TD        | <i>Time domain</i>   |
| $T_e$     | Periodo de tiempo en el que las corrientes <i>eddy</i> se desvanecen                                   |
| $T_r$     | Periodo de recuperación de los gradientes  |
| $\beta$   | Estado de mayor energía  |
| $\gamma$  | Constante giromagnética  |



## 1 Introducción

En la actualidad, el uso extensivo de resinas epóxicas en las industrias de adhesivos, plásticos, recubrimientos y automotriz tiene un considerable impacto económico y ambiental. La característica más importante que presenta una resina epóxica polimerizada es su alta resistencia eléctrica y al calor, motivo por el cual presenta una alta viscosidad y como consecuencia se hace más difícil su manipulación en un proceso a nivel industrial. Ante tal situación, para aplicarla es necesario abatir su viscosidad, lo cual puede lograrse empleando disolventes orgánicos volátiles como xileno y benceno. Sin embargo, esto es muy costoso, contribuye a la contaminación del medio ambiente y genera problemas de salud. Por lo anterior, en el área de formulación, hay un esfuerzo encaminado en emulsificar estos componentes y estabilizar sus dispersiones en una formulación acuosa con ayuda de tensoactivos.

Las propiedades de una emulsión dependen, entre otros factores, del tamaño de partícula. Consecuentemente, el radio hidrodinámico,  $r_h$ , (radio de la partícula solvatada) es uno de los parámetros más importantes a estimar. Puesto que las partículas de una emulsión están suspendidas libremente en un líquido, la velocidad con la que se mueven depende directamente de su tamaño (las partículas más grandes se mueven más lentamente). Por tanto, si se determina el coeficiente de difusión,  $D$ , de las partículas se puede estimar el  $r_h$ .

La difusión de las partículas se puede determinar por varias técnicas dispersivas, una de las más comunes es la de Dispersión Dinámica de Luz o Dynamic Light Scattering (DLS). Sin embargo, debido a los avances instrumentales en las últimas décadas, como es la incorporación de Gradientes de Campo Magnético pulsado, la espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) se ha convertido en una de las técnicas de análisis más utilizadas, tanto para la elucidación estructural y conformacional de moléculas, como para el estudio del



fenómeno de la difusión traslacional, el cual permite realizar el análisis de mezclas de compuestos<sup>1</sup> y de una gran variedad de interacciones inter- e intra-moleculares.<sup>2,3</sup> La técnica se conoce como DOSY (*Diffusion Order Spectroscopy*) y tiene la gran ventaja sobre otros métodos de que no requiere la separación física de sus componentes, como lo podría ser una separación cromatográfica.

En particular, entre las aplicaciones de DOSY para investigar las propiedades de las emulsiones a nivel molecular se encuentran: la investigación de interacciones entre tensoactivos catiónicos, aniónicos y una resina,<sup>4</sup> el estudio de la formación y crecimiento de micelas entre diversos tensoactivos y dendrímeros,<sup>5</sup> y el análisis de los cambios conformacionales de agregados premicelares de copolímeros y alcoholes.<sup>6</sup>

Al estudiar sistemas de emulsiones por RMN existen limitaciones, principalmente debido a que el gran tamaño de partícula puede causar tiempos de relajación cortos, lo que genera señales muy anchas en el espectro. Cuando no se observan las señales de las moléculas al trabajar a una temperatura dada, si el sistema lo permite, se puede elevar la temperatura para aumentar la movilidad y aumentar los tiempos de relajación; obteniendo así señales más finas.

En este trabajo se llevó a cabo el análisis por RMN de una emulsión comercial acuosa de una resina epóxica del bisfenol A. El estudio se estructuró en dos partes: en la primera se abordó el estudio de la resina en agua, y en la segunda el estudio de la emulsión de la misma resina en su presentación comercial.

El principal objetivo de esta Tesis consiste en evaluar la RMN como técnica para estudiar la difusión de las partículas de una emulsión de la resina epóxica y así poder estimar el radio hidrodinámico de las partículas de la emulsión.

---

<sup>1</sup>Jerschow, A.; Muller, N., *Macromolecules*, 31, 6573-6578 (1998).

<sup>2</sup>Fielding, L., *Tetrahedron*, 56, 6151-6170 (2000).

<sup>3</sup>Bellachioma, G.; Ciancaleoni, G.; Zuccaccia, C.; Zuccaccia, D.; Macchioni, A., *Coordination Chemistry Reviews*, 252, 2224-2238 (2008).

<sup>4</sup>Pettersson, E.; Topgaard, D.; Stilbs, P.; Söderman, O., *Langmuir*, 20, 1138-1143 (2004).

<sup>5</sup>Yang, K.; Cheng, Y.; Feng, X.; Zhang, J.; Wu, Q.; Xu, T., *J. Phys. Chem. B*, 114, 7265-7273 (2010).

<sup>6</sup>Kríz, J.; Dybal, J., *Magn. Reson. Chem.*, 51, 275-282 (2013).



## 1.1 Estructura de la tesis

La presente tesis está estructurada en 5 capítulos, a continuación se describe brevemente el contenido de cada uno de ellos:

En el Capítulo 1 se da una Introducción acerca del tema de investigación de la presente tesis y un resumen del contenido, mientras que en el Capítulo 2 se plantean los objetivos de la misma.

En la primera parte del Capítulo 3, *Marco teórico*, se presenta una revisión general acerca de las resinas epóxicas; mientras que en la segunda parte se da una introducción a la RMN y a los métodos que permiten medir el coeficiente de difusión y los tiempos de relajación. Se hace especial hincapié en el fundamento teórico de la secuencia de pulsos utilizada para medir la auto-difusión, teniendo en cuenta las propiedades y características específicas de la emulsión.

En el Capítulo 4, *Metodología*, se hace una descripción de los materiales, las características de los equipos, los experimentos y las condiciones experimentales empleadas. Particularmente se detallan las condiciones de adquisición y procesamiento de los espectros para la interpretación de resultados.

Posteriormente en el Capítulo 5, *Resultados y Discusión*, se presentan, analizan y discuten los resultados obtenidos ordenados en dos partes: en la primer parte se confirmó la caracterización realizada por Haixiang Sun y colaboradores en el 2013 de la resina en  $\text{CDCl}_3$ ,<sup>7</sup> proporcionando además, los valores de las constantes de acoplamiento. Adicionalmente, aunque está reportado que la resina es insoluble en agua, en una solución muy diluida, fue posible obtener el espectro en  $\text{D}_2\text{O}$  y observar su comportamiento a diferentes temperaturas. En la segunda parte de este capítulo, se muestran los resultados del estudio por RMN de los tiempos de relajación de los protones de la resina en emulsión a diferentes temperaturas. Finalmente, se detallan los factores que se deben controlar para lograr obtener el

---

<sup>7</sup>Haixiang, S.; Weiliang, N.; Bingbing, Y.; Tiantian, W.; Peng, L.; Yunqi, L.; Lintong, W., *Journal of Applied Polymer Science*, 130, 2652-2659, (2013).



valor de **D** a 60°C y poder estimar el ***r<sub>h</sub>***. Este resultado se comparó con el valor obtenido por la técnica de DLS, resultando una buena correlación.

Como parte final de este trabajo, en el Capítulo 6 se presentan las conclusiones obtenidas del desarrollo de este proyecto.



## 2 Objetivos

El objetivo general consiste en evaluar la RMN como técnica para determinar el coeficiente de difusión de las partículas de una emulsión acuosa de la resina epóxica del bisfenol A, para ello los objetivos específicos consisten en:

- Confirmar la estructura de la resina epóxica en un disolvente orgánico.
- Encontrar las condiciones experimentales para poder observar las señales de la resina en emulsión acuosa.
- Evaluar los efectos de la temperatura sobre los tiempos de relajación de los protones de la resina en emulsión.
- Implementar y optimizar las secuencias de pulsos para adquirir los experimentos de difusión.
- Lograr la eliminación de cualquier efecto indeseable para obtener el valor de **D** en sistemas de emulsificantes.
- Estimar el  $r_h$  de las partículas de la emulsión con el **D** determinado por RMN, y comparar dicho resultado con el valor obtenido por DLS.



### 3 Marco teórico

En este capítulo se describe el sistema de estudio (una resina epóxica en emulsión acuosa), se presentan las generalidades de la auto-difusión y se introducen los conceptos básicos de la RMN. Se enfatiza el procedimiento para la determinación de los tiempos de relajación y en cómo, gracias a los gradientes de campo magnético pulsado (PFG-RMN), la RMN permite medir el movimiento de las partículas de la resina en la emulsión.

#### 3.1 Sistema de estudio

El sistema que se usó en este estudio fue la resina epóxica DGEBA n=0 y su emulsión acuosa. El interés de estudiar el sistema en emulsión acuosa radica en poder evitar el uso de disolventes tóxicos y/o contaminantes que afectan la salud, el medio ambiente y, además, aumenten su costo.

##### 3.1.1 Resinas epóxicas

Las resinas epóxicas son consideradas una de las clases más importantes de polímeros termoestables con propiedades sobresalientes, como son una buena resistencia al calor y alta resistencia eléctrica.<sup>8</sup> Las resinas epóxicas y sus derivados han tenido gran aceptación y su uso se ha extendido a todas aquellas actividades donde se requiere un polímero de mucha resistencia mecánica.

Hoy en día, cerca del 90% de la producción mundial de resinas epóxicas está basada en la reacción entre el 2,2'-bis(4-hidroxifenil) propano (bisfenol A) y la epiclorhidrina (Figura 1). Esto se debe a la alta reactividad de la epiclorhidrina que permite su combinación con cualquier molécula portadora de hidrógenos activos, así como a su fácil obtención por petroquímica y también a que el bisfenol A es relativamente barato, ya que los productos de partida para su

---

<sup>8</sup>Soo-Jin, P.; Fan-Long, J.; Jae-Sup, S., *Materials Science and Engineering: A*, 390, 240-245, (2005).



síntesis son acetona y fenol. Al variar la relación estequiométrica entre la epiclorhidrina y el bisfenol A se obtiene una molécula resultante conocida como éter diglicidil de bisfenol A (DGEBA). La DGEBA está representada con su fórmula general mostrada en la Figura 1; en donde  $n$  representa el grado de polimerización. La parte repetida de la molécula tiene un peso molecular de 284, por lo tanto, de acuerdo a la proporción utilizada de los reactivos, es posible formar mezclas variables de resinas de alto y bajo peso molecular, lo cual brinda distintas características a las resinas. Si el peso molecular es mayor a 908, son sólidas; con menor peso molecular son líquidas.

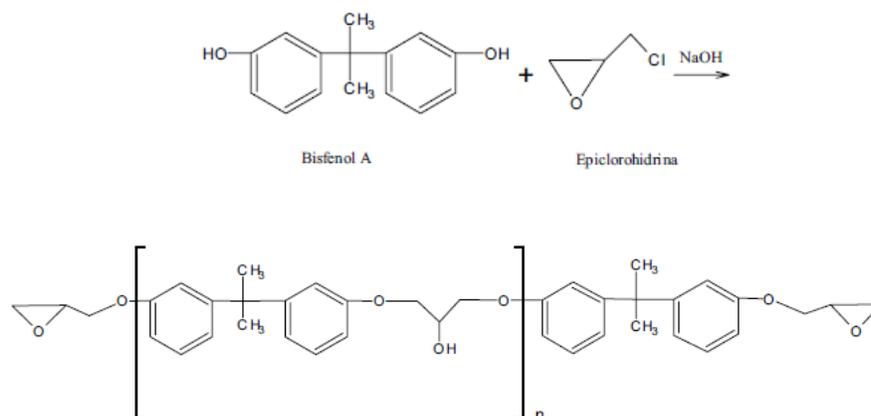


Figura 1. Resina epóxica producto de la reacción entre bisfenol A y epiclorhidrina.

Desde hace muchos años, las resinas epóxicas han sido ampliamente utilizadas como plásticos termoestables para aplicaciones como pinturas marinas, revestimientos para metales, composites y adhesivos.<sup>9,10,11,12,13</sup> Recientemente, ha aumentado el interés en las resinas epóxicas de alto rendimiento debido a su aplicación en productos electrónicos.<sup>14</sup> Actualmente, con el gran número de resinas diferentes y el alto desarrollo alcanzado en los sistemas de aplicación, son

<sup>9</sup>J. Fan-Long, P. Soo-Jin, *Polymer Degradation and Stability*, 97, 2148-2153, (2012).

<sup>10</sup>C. Xiunan, L. Yonggen, Z. Xin, Z. Fangjia, *Materials & Design*, 40, 497-501, (2012).

<sup>11</sup>S. Le Hoang, S. Bui Thanh, T. Nguyen Ngoc, L. Dong-Guk, S. Seunghan, B. Jin-Young, *Reactive and Functional Polymers*, 72, 542-548, (2012).

<sup>12</sup>Ł. Jan, J. Bartosz, K. Marcin, *European Polymer Journal*, 47, 1601-1606, (2011).

<sup>13</sup>W. Jintao, B. Zhi-Yang, X. Cun-Jin, L. Bo-Geng, F. Hong, *Chemical Engineering Journal*, 171, 357-367, (2011).

<sup>14</sup>L. Eun Yong, C. Il Seok, H. Jinkee, K. Sang Wook, *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52, 15713-15717, (2013).



pocas las áreas tecnológicas donde las resinas epóxicas no estén siendo utilizadas.

### 3.1.2 Emulsiones

Las emulsiones son un tipo de sistema coloidal (sistema heterogéneo), son dispersiones termodinámicamente inestables de dos o más líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles. La mayoría de las emulsiones están constituidas por una fase acuosa y otra que contiene un aceite. Una de las fases es un líquido que se distribuye en gotas en el otro líquido y se conoce como la fase dispersa, discontinua o interna. Mientras que el segundo líquido, en el que se distribuye el primero, se conoce como fase continua o externa. Si la fase dispersa es el aceite, se conocen como emulsiones de aceite en agua (oil-in-water, o/w) y las emulsiones que tienen al agua como fase dispersa se conocen como emulsiones de agua en aceite (water-in-oil, w/o). En el presente trabajo, la fase continua de la emulsión es agua y las pequeñas gotas están formadas por la resina epóxica DGEBA n=0.

Aunque se traten de dispersiones termodinámicamente inestables, las emulsiones pueden convertirse en cinéticamente estables. A menudo, esta estabilidad se debe a la presencia de agentes tensoactivos, los cuales favorecen la unión de las fases mediante la disminución de la tensión superficial de la interfase que se encuentra entre los dos líquidos. Generalmente la fase continua es la que solubiliza al agente tensoactivo. El tipo de emulsión que se tiende a formar depende del balance entre las propiedades hidrófilas e hidrófobas del tensoactivo. La concentración del agente tensoactivo es variable, pero por razones de eficiencia y costo en las aplicaciones prácticas, se utilizan mezclas de tensoactivos en un intervalo de concentración del 0.2-3%. Para crear la interfase y poder obtener gotas pequeñas es necesario aplicar energía externa. La formación y la estabilización de estas gotas son las etapas más importantes en la producción de emulsiones.

El estudio de las emulsiones es de gran interés debido a sus diversas e importantes aplicaciones en medicina, cosmetología, agroquímica,



recubrimientos, alimentos, refinería, etc. De acuerdo a la aplicación en la cual serán empleadas, es necesario que las emulsiones tengan ciertas características o propiedades en específico. Sin embargo, existen algunos criterios generales de calidad que pueden ser utilizados. Entre ellos se encuentra el hecho de que una emulsión debe ser estable, es decir, no debe presentar cambio alguno (floculación, sedimentación, coalescencia, etc.) durante un periodo de tiempo suficientemente largo para el propósito de la aplicación práctica.

Las emulsiones tienden a ser turbias o blancas debido a la presencia de muchas gotas pequeñas que dispersan la luz incidente; sus propiedades dependen, entre otros factores, del tamaño de partícula. Consecuentemente el  $r_h$  es uno de los parámetros más importantes a estimar.

Hay muchas técnicas experimentales que permiten medir el tamaño de partícula de una emulsión. Estas pueden agruparse en: (i) observación microscópica, (ii) métodos de dispersión de luz, (iii) espectrometría de ultrasonido, (iv) conductividad eléctrica y (v) determinación de la difusión.<sup>15</sup> Entre estos métodos, los que se basan en la dispersión de la luz son, actualmente, los más ampliamente utilizados.<sup>16,17</sup>

### 3.2 Difusión traslacional

El término difusión es utilizado para describir muchos procesos físicos diferentes. En RMN, difusión puede referirse a difusión de espín, difusión rotacional o difusión traslacional. En la presente tesis, al utilizar el término de difusión sólo se hará referencia a la auto-difusión traslacional, una forma de difusión debida al movimiento Browniano de las moléculas o partículas en solución que ocurre en ausencia de cualquier fuerza externa (como gradientes de concentración o campos eléctricos).

---

<sup>15</sup>M.L. Johns, K.G. Hollingsworth, *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 50, 51–70, (2007).

<sup>16</sup>M.J. Hey, F. Al-Sagheer, *Langmuir*, 10, 1370, (1994).

<sup>17</sup>B. Novales, P. Papineau, A. Sire, M.A.V. Axelos, *Coll. Surf. A*, 221, 81, (2003).



El movimiento de una partícula debido a la difusión traslacional se debe solamente a la energía cinética. Al moverse, las moléculas o partículas colisionan entre sí y cambian la dirección del movimiento. A lo largo del tiempo, el movimiento de una molécula sigue un camino aleatorio que resulta en un valor que representa la facilidad con la que se mueve, este valor es conocido como coeficiente de difusión traslacional, **D**.

Considerando la relación existente entre la energía cinética de una molécula y la fricción, el valor de **D** se puede obtener a partir de la ecuación denominada de **Stokes-Einstein**:

$$D = \frac{k_B T}{f} = \frac{k_B T}{6\pi\eta r}$$

*Ecuación 1. Ecuación de **Stokes-Einstein**.*

donde **k<sub>B</sub>** es la constante de Boltzman ( $1.38066 \times 10^{-23} \text{ kg m}^2 \text{ K}^{-1} \text{ s}^{-2}$ ), **T** la temperatura (en K), **η** la viscosidad de la solución (en  $\text{N s m}^{-2} = \text{kg s}^{-1} \text{ m}^{-1}$ ) y **f** es el coeficiente de fricción que en este caso está definido por **f = 6πηr**. Las unidades del coeficiente de difusión son  $\text{m}^2/\text{s}$ . Esta ecuación fue originalmente desarrollada para partículas esféricas coloidales, donde se define bien el movimiento Browniano. Sin embargo, también es una aproximación para pequeñas partículas no esféricas. El uso de la ecuación de **Stokes-Einstein** para predecir la difusión puede ser mejorada reemplazando el radio de la molécula, **r**, por su radio efectivo, **r<sub>eff</sub>**, también llamado radio hidrodinámico, **r<sub>h</sub>**. El valor de **r<sub>h</sub>** se puede utilizar para compensar factores como las formas de moléculas no esféricas y sus esferas de solvatación.

El valor de **D** representa la facilidad con que cada soluto en particular se mueve en un disolvente determinado y describe la distancia que una molécula se mueve en un medio específico durante un intervalo de tiempo específico. Depende básicamente de tres factores: i) tamaño y forma del soluto, ii) temperatura, y iii) viscosidad del disolvente (el cual por sí mismo es función de la temperatura). Por ello, **D** es definido individualmente para cada soluto en un disolvente dado y a una temperatura específica.



El aumento del tamaño del soluto o de la viscosidad del disolvente dificulta la difusión, mientras que el aumento de la temperatura la acelera. A igual masa molecular, los solutos esféricos difunden con más facilidad en el agua que los solutos alargados principalmente debido a aspectos de superficies de contacto.

Para un mismo disolvente, a mayor masa molecular el valor de **D** disminuye y para un mismo compuesto, el valor de **D** disminuye al aumentar la viscosidad del medio. En algunos casos, valores invertidos pueden ser evidencias de la existencia de diferentes formas de solvatación.

La mayor parte de las técnicas reportadas para estimar el tamaño de partícula recurren a la dispersión de luz. Sin duda alguna, una de las técnicas más utilizadas es la de DLS, que se basa en el análisis de la dispersión de un haz de luz monocromática por las partículas en disolución. Se obtienen fluctuaciones temporales de la intensidad dispersada debido a que las moléculas en disolución están sometidas al movimiento Browniano y las distancias entre ellas están cambiando constantemente. Por tanto, la evolución temporal de la intensidad de luz dispersada proporciona información sobre la velocidad con la que se mueven las partículas en el medio, es decir, el coeficiente de difusión **D**. Con dicha técnica es necesario trabajar con muestras muy diluidas ya que al hacer los cálculos se considera que se está en el dominio de dilución infinita.

Como se verá en la sección 3.3.5, la espectroscopia de RMN de gradientes de campo pulsados (PFG-NMR) también permite medir la auto-difusión para investigar el tamaño de partícula de una emulsión. Esta técnica tiene las ventajas de que se analiza la muestra completa o en concentraciones altas, no se perturba la muestra, es completamente no invasiva, se puede aplicar a muestras relativamente grandes y con presencia de burbujas de gas o sólidos en suspensión, la misma muestra puede ser analizada varias veces, es especialmente



útil cuando hay opacidad en la emulsión y al igual que con DLS, las mediciones pueden ser relativamente rápidas.<sup>18,19</sup>

### 3.3 Resonancia Magnética Nuclear

La RMN es la herramienta analítica que proporciona mayor información estructural y estereoquímica en un tiempo asequible; es una técnica indispensable para la química así como para otras ramas de la ciencia. Sin la destrucción de la muestra, esta espectroscopia permite: identificar moléculas, determinar su estructura y es la única técnica que permite el estudio de procesos dinámicos de manera sencilla y eficaz con resolución atómica en varias escalas de tiempos.

#### 3.3.1 Conceptos básicos de Resonancia Magnética Nuclear

La RMN se basa en la absorción de energía de radiación electromagnética en la región de radiofrecuencias (**rf**) por parte de ciertos tipos de núcleos atómicos con momento magnético de espín nuclear no nulo ( $\mu \neq 0$ ), es decir, núcleos atómicos con un número impar de protones o neutrones (o de ambos). Dicha absorción ocurre a frecuencias únicas que dependen del tipo de núcleo y del ambiente químico en el que se encuentra y se manifiesta en presencia de un campo magnético (**B<sub>0</sub>**) intenso y constante. Este tipo de núcleos son magnéticamente activos, es decir, poseen momento angular de espín y momento magnético, lo que hace que se comporten como si fueran pequeños imanes. En ausencia de **B<sub>0</sub>**, los espines nucleares se orientan al azar y son equivalentes en energía. Sin embargo, cuando una muestra que contiene núcleos magnéticamente activos se coloca en un **B<sub>0</sub>** se orientan en la misma dirección del campo, en un estado de mínima energía denominado estado de espín  $\alpha$ , mientras que los núcleos con espín negativo se orientan en dirección

---

<sup>18</sup>M.L. Johns, K.G. Hollingsworth, *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 50, 51–70, (2007).

<sup>19</sup>R. Bernewitz, G. Guthausen y H. P. Schuchmann, *Magn. Reson. Chem.*, 49, S93-S104, (2011).



opuesta a la de  $\mathbf{B}_0$ , en un estado de mayor energía denominado estado de espín  $\beta$ . Al estar alineados con  $\mathbf{B}_0$  describen un movimiento de precesión a una frecuencia proporcional a dicho campo, llamada frecuencia de Larmor. A temperatura ambiente, el número de espines  $\alpha$  supera levemente al número de espines  $\beta$  de acuerdo a la distribución de Boltzmann (Ecuación 2). Sólo los núcleos en el estado  $\alpha$  son capaces de absorber radiación externa de  $\mathbf{rf}$ , lo cual se traduce en una baja sensibilidad de la técnica.

$$\frac{N_{\beta}}{N_{\alpha}} = e^{-\Delta E/kT}$$

Ecuación 2. Distribución de Boltzmann.

En los equipos de RMN que se usan actualmente, el  $\mathbf{B}_0$  se mantiene constante mientras el breve pulso de  $\mathbf{rf}$ , perpendicular al  $\mathbf{B}_0$  externo, excita simultáneamente a todos los núcleos. El pulso que se aplica tiene la misma frecuencia a la que precesan los núcleos, por ello el término de resonancia magnética nuclear. En otras palabras, la señal en espectroscopia por RMN es el resultado de la diferencia entre la energía absorbida por los espines, que realizan una transición del estado de menor al de mayor energía, y la energía emitida por los espines que simultáneamente realizan una transición del estado de mayor al de menor energía como respuesta a ser irradiados por el pulso de  $\mathbf{rf}$ . La señal es entonces proporcional a la diferencia de población entre los dos estados. Al regresar estas señales a su estado de equilibrio son registradas como la intensidad de señal respecto al tiempo, y posteriormente mediante la transformada de Fourier (**FT-RMN**), se convierten dichos datos en una gráfica de intensidad de señal en función de la frecuencia. Dicha gráfica es conocida como "espectro de RMN".

Los equipos modernos además de las bobinas de  $\mathbf{rf}$ , también incluyen bobinas adicionales con las que se puede generar gradientes de campo magnético en una determinada dirección del espacio, la más habitual es en dirección del **eje z** paralela al campo magnético principal  $\mathbf{B}_0$ , que como se verá en las sección 3.3.5 permiten estudiar el movimiento de las moléculas en disolución.



### 3.3.2 Procesos de relajación en RMN: $T_1$ y $T_2$

En términos de RMN, la condición de equilibrio se caracteriza por un estado de polarización con una magnetización de magnitud  $M_0$  alineada a lo largo del  $B_0$  en dirección al **eje z**. Una vez que se introduce energía adicional en el sistema mediante pulsos de **rf**, se desvía del equilibrio y se provoca una disminución de la magnetización  $M_0$  y la aparición de la magnetización transversal, en el **plano xy**. Al tiempo requerido por el sistema de espines nucleares para volver al equilibrio térmico y disipar el exceso de energía después de apagar el pulso de **rf** se le conoce como “relajación”.

La relajación del componente **z** de la magnetización ( $M_z$ ) hasta alcanzar el equilibrio con un valor de  $M_0$ , se conoce como tiempo de relajación longitudinal o espín-red o  $T_1$ . El término de relajación espín-red se deriva del hecho de que este proceso de relajación involucra el intercambio de energía asociado a las transiciones entre los estados de espín entre los espines nucleares y sus entornos moleculares “la red”. La variación de la magnetización en el **eje z** con respecto al tiempo, suponiendo que el campo magnético es uniforme, sigue la siguiente ecuación diferencial de primer orden:

$$\frac{dM_z}{dt} = -\frac{(M_z - M_z(0))}{T_1}$$

*Ecuación 3. Ecuación diferencial que describe el retorno al equilibrio  $M_z$  en función de  $T_1$ .*

La determinación experimental de  $T_1$  se lleva a cabo utilizando secuencias multipulso, es decir, secuencias en las que se generan varios pulsos de **rf** separados por intervalos de tiempo determinados. En este caso se utiliza la secuencia “recuperación de la inversión” (Figura 2) la cual consiste en aplicar un pulso de  $180^\circ$  para invertir la magnetización y los niveles poblacionales, posteriormente se deja que la magnetización se recupere durante un tiempo  $\tau$ , en el que se produce relajación longitudinal cuya magnitud depende de la duración de dicho intervalo. Finalmente se aplica un pulso de  $90^\circ$  para enviar la magnetización al **plano xy** y poder detectarla.

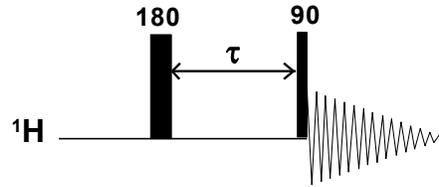


Figura 2. Secuencia de pulsos recuperación de la inversión.

El experimento se repite con una serie de diferentes valores de  $\tau$ . Según el intervalo  $\tau$  que se utilice; se observan señales cuya intensidad varía en función del tiempo de relajación  $T_1$ . Para determinar el valor de  $T_1$ , la intensidad de las señales de los espectros se ajusta a una curva exponencial de 1<sup>er</sup> orden (Figura 3) descrita por la Ecuación 4 (que es la solución a la Ecuación 3 bajo la condición inicial  $M_z(t = 0) = -M_z(0)$ ). Esta curva es asintótica, al cabo de 5 veces  $T_1$  el sistema ha recuperado más del 99% de su magnetización de equilibrio  $M_0$ .

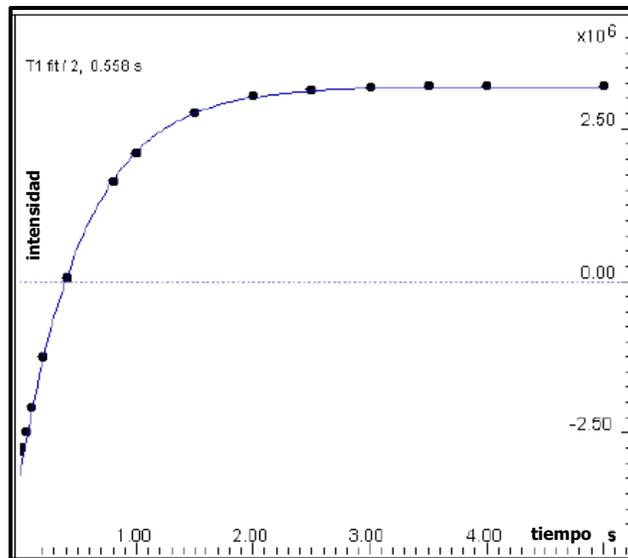


Figura 3. Gráfica exponencial de la intensidad de señal en función del tiempo  $\tau$  para la determinación de  $T_1$ .

$$M_z(t) = M_z(0)(1 - 2e^{-t/T_1})$$

Ecuación 4. Ecuación exponencial con la que se obtiene el valor de  $T_1$ .

Por otro lado, el tiempo necesario para que regrese la magnetización transversal  $M_{xy}$  al equilibrio (alcance un valor igual a cero) es llamado tiempo de relajación transversal o  $T_2$ . Este describe la pérdida de magnetización en el **plano**



**xy**. Por ejemplo, suponiendo que la magnetización neta está localizada en el **plano xy**, rotará en el **eje z** a la frecuencia de Larmor. La magnetización neta comenzará a desfasarse por tres razones: la primera es que cada espín nuclear experimenta un **B<sub>0</sub>** ligeramente diferente debido a las interacciones entre los espines, por ello se denomina relajación espín-espín. La segunda se debe a que en realidad el campo **B<sub>0</sub>** creado por el imán nunca es perfecto y no es totalmente homogéneo, por lo que los núcleos "sienten" un campo ligeramente distinto dependiendo de su localización en el tubo de muestra. Y la última es producida porque los núcleos con diferente desplazamiento químico precesan a diferentes frecuencias. Así, los vectores magnéticos de los núcleos individuales, que componen la magnetización transversal del **plano xy**, se desfasarán, disminuyendo la intensidad de la magnetización transversal. La interacción entre espines no cambia la población neta del estado excitado, pero la duración del núcleo en el estado excitado sí disminuye, por lo que la señal se ensancha. La determinación de **T<sub>2</sub>** podría llevarse a cabo midiendo el ancho de las señales a altura media; sin embargo, este parámetro está dominado por las inhomogeneidades del campo magnético. Por lo tanto, el tiempo de relajación transversal se determina mediante secuencias multipulsos de eco de espín. Una de las secuencias más utilizadas es la secuencia denominada *Carr-Purcell-Meiboom Gill* (Figura 4). Ésta consiste en aplicar un pulso de 90° que envía a la magnetización al plano transversal para alcanzar su valor máximo, seguido de un tiempo  $\tau$  en el que comienza el proceso de relajación y los espines se desfasan. Posteriormente se aplican conjuntos de ecos de espín, formados por pulsos de 180° entre intervalos de tiempo  $\tau$  para reenfocar el desfase debido al desplazamiento químico y a las inhomogeneidades del campo magnético, permitiendo así medir el desfase debido solamente a la interacción entre espines. Al repetir este experimento variando el número de veces que se aplica el eco de espín se obtiene una curva como la mostrada en la Figura 5. Esta curva es asintótica a cero, al cabo de 5 veces **T<sub>2</sub>** el sistema ha perdido más del 99% de la magnetización transversal **xy**. Para determinar el valor de **T<sub>2</sub>** esta curva se ajusta a la Ecuación 5.

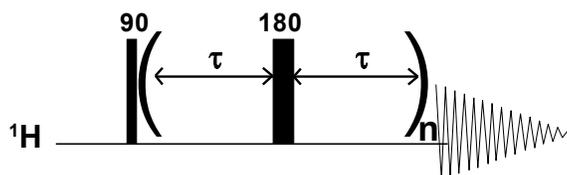


Figura 4. Secuencia de pulsos Carr-Purcell-Meiboom Gill.

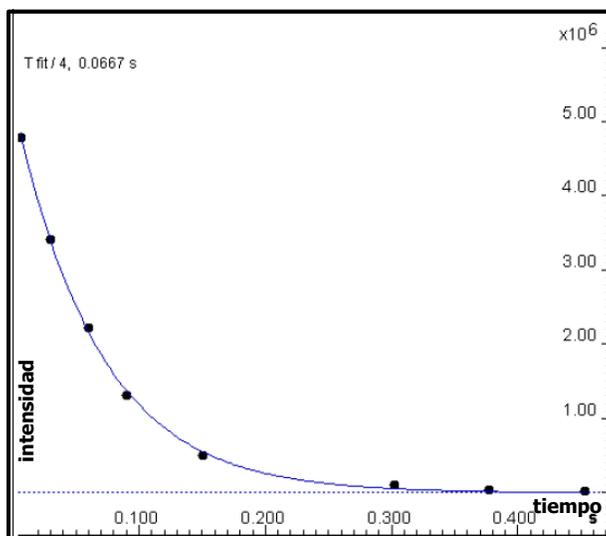


Figura 5. Gráfica exponencial de la intensidad de señal en función del tiempo para la determinación de  $T_2$ .

$$M_{xy}(t) = M_{xy}(0)e^{-t/T_2}$$

Ecuación 5. Ecuación exponencial con la que se obtiene el valor de  $T_2$ .

### 3.3.2.1 Procesos de relajación y tamaño molecular

Como ya se mencionó la relajación  $T_1$  es una medida de la regeneración de la componente en  $M_z$ , causada por campos magnéticos transitorios. La existencia de estos campos magnéticos fluctuantes, originados por el movimiento de la red y la presencia en ésta de núcleos u otras partículas magnéticas (que forman parte de la molécula y de las otras moléculas que componen la muestra), con movimientos con frecuencias asociadas cercanas a la de resonancia de Larmor, crea el mecanismo mediante el cual se intercambia energía entre el sistema de espines y la red. La relajación  $T_1$  será tanto más eficiente en la medida en que sea mayor la intensidad de estos campos magnéticos fluctuantes a la frecuencia de



precesión de Larmor. Esto depende de la movilidad de la red (estado físico, viscosidad, temperatura, masa molecular) y de la frecuencia de resonancia. La movilidad media de la red se expresa mediante el llamado tiempo de correlación molecular,  $\tau_c$ , que es el tiempo promedio requerido por la molécula (o el agregado) para rotar 1 radián alrededor de un eje de coordenadas. En los líquidos, el tiempo de correlación, disminuye con el aumento de temperatura y/o la reducción de la viscosidad. Cuando el tiempo de correlación es del orden del inverso de la frecuencia de resonancia del sistema, se tiene la máxima eficiencia de la relajación  $T_1$  y, por lo tanto, el menor valor de  $T_1$  (Figura 6). Las redes más móviles tienen una distribución más aplanada y campos fluctuantes a la frecuencia de resonancia de menor intensidad, lo que conduce a valores de  $T_1$  superiores. Redes más rígidas generan campos magnéticos fluctuantes de menor intensidad a la frecuencia de resonancia.

Dentro del intervalo de frecuencias de los campos magnéticos asociados al movimiento de la red se encuentra la frecuencia de resonancia. Por lo tanto el movimiento de la red será capaz de inducir con mayor o menor eficiencia transiciones entre los niveles de energía de los espines nucleares y esta eficiencia dependerá de la intensidad de los campos magnéticos fluctuantes a la frecuencia  $\nu_0$ . Sin embargo, en la Figura 6, se puede observar que cuando el movimiento molecular es menor que la  $\nu_0$ ,  $T_1$  vuelve a ser mayor.

Por su parte, como también se puede observar en la Figura 6, la relajación  $T_2$  depende de la influencia de los campos locales, que disminuye mientras mayor sea la movilidad de la red (valores de  $T_2$  mayores) y alcanzan su máxima eficiencia cuando la estructura es muy rígida (valores de  $T_2$  menores). En general, para moléculas chicas y soluciones de baja viscosidad (redes muy móviles)  $T_2 \approx T_1$ , mientras que para moléculas grandes y soluciones de alta viscosidad  $T_2 < T_1$ .

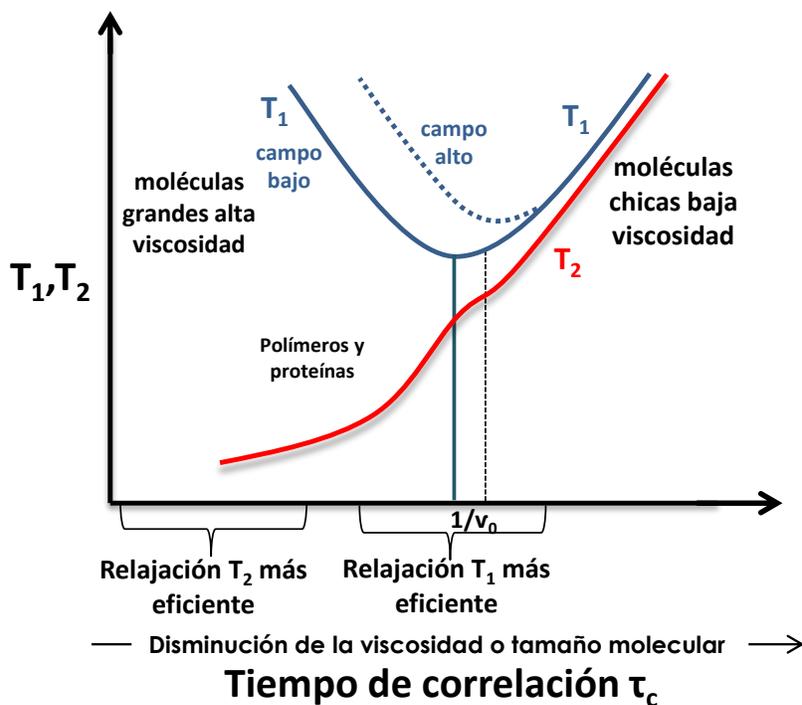


Figura 6. Curva de los tiempos de relajación en función del tiempo de correlación  $\tau_c$ . Una molécula que exhibe movimientos locales con un tiempo de correlación  $\tau_c$  menores que la inversa de la frecuencia de Larmor, va a ser considerada en la región de movimientos rápidos. Procesos cuya escala temporal está en el régimen de la frecuencia de Larmor van a ser responsables de la relajación espín-red.

### 3.3.3 Difusión y gradientes de campo magnético

Gracias a los avances en el diseño de sondas para RMN de alta resolución incorporando gradientes de campo magnético estables, hoy en día es posible realizar el estudio del movimiento de las moléculas en solución. La base es la secuencia de pulsos eco de espín con gradientes, conocida como "pulsed field gradient spin-echo" (PFGSE), propuesta por Stejskal y Tanner<sup>20</sup> en 1965 (sección 3.3.7.2). Esta secuencia es una de las más importantes en RMN y es la base de la aplicación más conocida de la técnica de RMN en el mundo clínico y biomédico: la obtención de imágenes.

<sup>20</sup>E. O. Stejskal, J. E. Tanner, *Journal of Chemical Physics*, 42, 288-292, (1965).



### 3.3.3.1 Gradientes de Campo Magnético

Los gradientes de campo magnético se generan creando variaciones controladas del campo magnético al aplicar una corriente a través de una "bobina de gradiente", que está situada en el interior de la sonda y es adicional a las bobinas que se utilizan para aplicar los pulsos de radiofrecuencias. El campo magnético producido por esta bobina se suma al  $B_0$  principal (estático y permanente), y el resultado es un campo magnético diferente en cada punto de la muestra. Normalmente, la variación del campo siempre es lineal a lo largo de un eje preestablecido. Hoy en día, las casas comerciales ofrecen sistemas con 3 bobinas de gradiente, que se pueden aplicar simultáneamente en tres direcciones ( $x$ ,  $y$ ,  $z$ ). En la presente tesis sólo se utilizaron gradientes en la dirección del eje  $z$ , en donde el campo magnético generado por el gradiente es paralelo al  $B_0$  principal. Usualmente, la bobina de gradiente de las sondas comerciales puede generar gradientes de campo magnético de algunas decenas de G/cm durante periodos de tiempo de algunos milisegundos.

#### 3.3.3.1.1 Corrientes eddy

Las sondas que incorporan una bobina de gradientes tienen que estar diseñadas para que después de aplicar el gradiente se recupere la homogeneidad en toda la muestra lo más rápidamente posible. Desafortunadamente, el cambio rápido del  $B_0$  causado por pulsar una bobina de gradiente induce corrientes en el material conductor de los alrededores. Estas corrientes, conocidas como corrientes eddy, generan un cambio en el  $B_0$  que puede afectar la evolución posterior de los espines nucleares y provocar, entre otras cosas, distorsiones en el espectro resultante. Estas corrientes eddy pueden persistir por algunos milisegundos después de que el gradiente se ha apagado. Hay diferentes aproximaciones para minimizar dichas corrientes:



- Encender y apagar el gradiente suavemente utilizando pulsos con formas (normalmente gaussiano truncado, media onda sinusoidal o triangular) en lugar de usar un pulso rectangular.<sup>21,22</sup>
- Adicionar un tiempo de recuperación antes de la adquisición para que durante este tiempo las corrientes eddy se desvanezcan.<sup>23</sup>
- Usar pulsos bipolares para auto-compensar las corrientes eddy.<sup>24,25</sup>
- Utilizar bobinas de gradiente apantalladas, lo cual consiste en adicionar una bobina complementaria a la primera bobina de gradiente, diseñada de tal forma que el campo magnético fuera de las dos bobinas sea cercano a cero mientras que en el interior se mantenga.<sup>26,27,28</sup> Este método en la práctica puede reducir las corrientes eddy en más de dos órdenes de magnitud (<1%). Esto adiciona una gran complejidad en el diseño de la bobina, pero permite que experimentos de alta resolución se lleven a cabo de forma muy eficaz.

### 3.3.4 Gradientes y movimiento

Para visualizar cómo el movimiento de las moléculas afecta el resultado de un experimento con selección por gradiente, es ventajoso utilizar un modelo donde la muestra está dividida en planos en los cuales el campo magnético aplicado es homogéneo (Figura 7). Antes de la aplicación del gradiente, todos los vectores de magnetización de todos los planos están alineados (Figura 7a). Durante la aplicación del primer gradiente (gradiente de desfase), los vectores de cada plano adquieren una velocidad de precesión diferente, por lo que después de aplicar el gradiente los vectores de magnetización han adquirido una fase

---

<sup>21</sup>Price, W. S.; Hayamizu, K.; Ide, H.; Arata, Y., *Journal of Magnetic Resonance*, 139, 205-212, (1999).

<sup>22</sup>Price, W. S.; Kuchel, P. W., *Journal of Magnetic Resonance*, 94, 133-139, (1991).

<sup>23</sup>Gibbs, S. J.; Johnson Jr, C. S., *Journal of Magnetic Resonance*, 93, 395-402, (1991).

<sup>24</sup>Wider, G.; Dotsch, V.; Wuthrich, K., *Journal of Magnetic Resonance Series A*, 108, 255-258, (1994).

<sup>25</sup>Wu, D. H.; Chen, A. D.; Johnson, C. S., *Journal of Magnetic Resonance Series A*, 115, 260-264, (1995).

<sup>26</sup>Mansfield, P.; Chapman, B., *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, 19, 540-545, (1986).

<sup>27</sup>Mansfield, P.; Chapman, B., *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, 19, 540-545, (1986).

<sup>28</sup>Chapman, B.; Mansfield, P., *Journal of Physics D: Applied Physics*, 19, (1986).



diferente en función de su posición en el **eje z** (Figura 7b). La adquisición de la FID en este punto no nos proporcionaría ninguna señal. En ausencia de movimiento, el segundo gradiente (gradiente de reenfoque) volverá a alinear la magnetización (Figura 7c). Sin embargo, si los espines se mueven entre los gradientes, el segundo gradiente no será capaz de reenfoque toda la señal al final del experimento y su intensidad estará disminuida. Las señales pertenecientes a las moléculas más pequeñas se atenuarán más rápidamente que las pertenecientes a moléculas más grandes debido a que se mueven más rápidamente en solución.

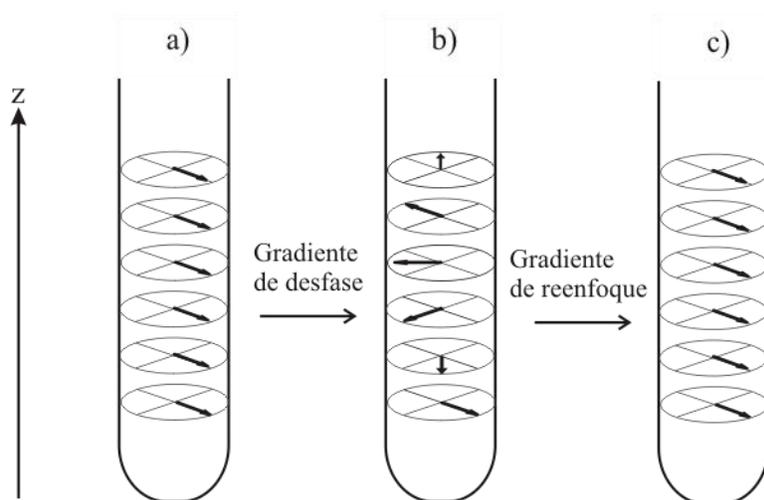


Figura 7. Planos de la magnetización. a) Antes de aplicar el gradiente de desfase todos los vectores están alineados. b) Después del gradiente de desfase los vectores han adquirido una fase dependiendo de su posición en  $z$ . c) Después del gradiente de reenfoque los vectores están nuevamente alineados.

### 3.3.5 Gradientes y difusión

Como se verá en la sección 3.3.7.2, el experimento básico que permite estudiar el movimiento de auto-difusión es el eco de espín con gradientes, **PFGSE**. La determinación experimental se realiza adquiriendo una serie de experimentos de  $^1\text{H}$  utilizando una secuencia basada en **PFGSE** donde se aumenta progresivamente la fuerza de los gradientes y se analiza la atenuación de la intensidad de las señales en cada espectro. La relación que hay entre la intensidad de la señal observada (**A**) que se obtiene al utilizar gradientes  $G_z$  rectangulares es una función exponencial descrita por la Ecuación 6:



$$\frac{A}{A_0} = \exp^{-\gamma^2 G_z^2 \delta^2 \left(\Delta - \frac{\delta}{3}\right) D}$$

Ecuación 6. Ecuación que describe la relación que hay, al variar  $G_z$ , entre la intensidad de señal observada ( $A$ ) y la señal sin aplicar gradiente; donde  $A_0$  es la intensidad de la señal de referencia (con intensidad de gradiente nula),  $\delta$  es la duración de los gradientes (en segundos) y  $\Delta$  es la separación entre los gradientes (en segundos).

Normalmente, el parámetro más conveniente a variar es la fuerza del gradiente  $G_z$ , ya que el cambio de la intensidad de las señales es únicamente debido al proceso de difusión. Pero, aunque se podría variar  $\Delta$  en lugar de  $G_z$ , dicha aproximación no es recomendada ya que el resultado de la variación en la intensidad de la señal no solo reflejaría el proceso de difusión, sino también la relajación, la relajación cruzada y el intercambio químico. También se podría variar la duración del gradiente ( $\delta$ ) en lugar de  $G_z$ , pero en este caso se debería mantener constante en toda la serie de experimentos el tiempo en que la magnetización está en el plano transversal, ya que de lo contrario la intensidad de la señal se vería afectada tanto por la difusión como por la relajación transversal. En resumen, si sólo se varía  $G_z$  la ecuación puede reescribirse sin considerar la pérdida de intensidad por tiempo de relajación.

Desde el punto de vista teórico, en los experimentos de difusión es preferible utilizar gradientes con forma rectangular para que se aproveche al máximo la intensidad de los gradientes, sobre todo si se trabaja con compuestos de alto peso molecular como, por ejemplo, polímeros o biomoléculas, tal como es el caso en la presente tesis.

### 3.3.6 Gradientes y convección

Una de las fuentes de error en los experimentos de difusión es debida al movimiento coherente generado por gradientes de temperatura a lo largo del tubo de RMN. Un movimiento coherente es el movimiento que persiste en dirección y magnitud a lo largo de la escala de tiempo del experimento.

La Figura 8 muestra la secuencia de eventos cuando, después de aplicar un gradiente de desfase (Figura 8b) y antes de aplicar el gradiente de reenfoque (Figura 8c), hay un movimiento coherente en una sola dirección (en este caso el



movimiento es hacia abajo). Como se ve al final del experimento (Figura 8d), las coherencias son realineadas, pero han adquirido una fase diferente y dependiente de la velocidad del movimiento. Es gracias a este efecto que se pueden crear secuencias especiales (ver sección 3.3.7.6) para compensar la atenuación de la señal por el efecto del movimiento a velocidad constante, como lo es el movimiento causado por la convección.

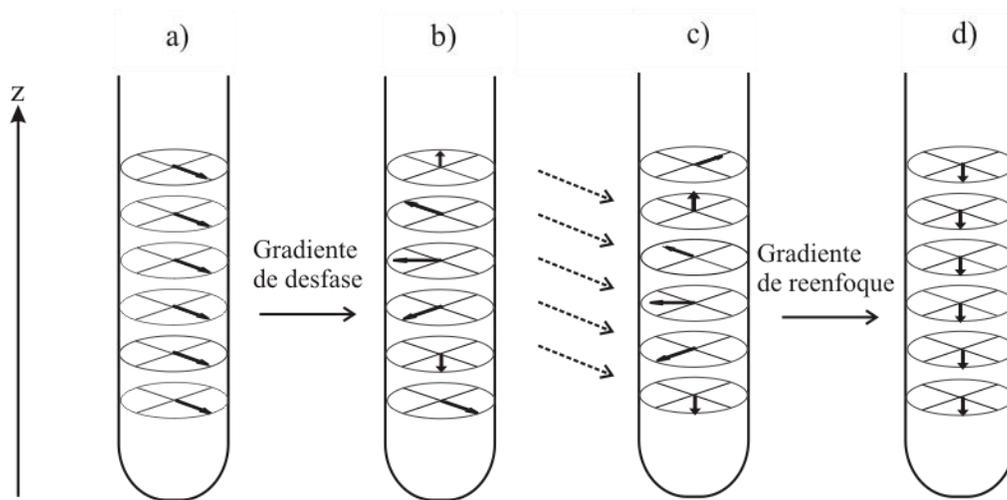


Figura 8. Secuencia de eventos en presencia de movimiento coherente en una dirección. a) Antes de aplicar el gradiente de desfase b) Después del gradiente de desfase. c) Después de un movimiento uniforme de la muestra a lo largo del eje del gradiente. d) Después del gradiente de reenfoque. Al final del proceso, los vectores están alineados pero han adquirido una fase diferente a la inicial dependiente de la velocidad de dicho movimiento.

Los gradientes térmicos se pueden generar por varias causas, pero el más común es debido al flujo de aire utilizado para regular la temperatura. Esto es debido a que el sistema de regulación de temperatura incorporado en los espectrómetros comerciales, ya sea para calentar o enfriar las muestras, está diseñado de tal forma que la corriente de aire o de nitrógeno gas es aplicada por la parte inferior de la sonda (Figura 9). Cuando el líquido en la base del tubo está más caliente que el de la superficie, hay una tendencia de este líquido caliente y menos denso, de subir a la superficie donde se enfría y regresa a la parte de abajo en un ciclo continuo, lo que da lugar al fenómeno de "corrientes de convección".



El efecto de las corrientes de convección térmicas ha atraído mucha atención en los últimos años. Para entender mejor el fenómeno, se han medido las velocidades de convección en el tubo de RMN,<sup>29,30</sup> se han obtenido las imágenes de los patrones del flujo<sup>31,32,33</sup> y las imágenes de la distribución de velocidad sin eliminar los efectos de difusión.<sup>34</sup>

Está descrito que para disminuir los efectos de la convección se puede reducir el diámetro del tubo y/o la altura de la muestra, incrementar la viscosidad de la muestra, trabajar girando el tubo de RMN a velocidades apropiadas<sup>35</sup>, incrementar la velocidad de flujo o rediseñar el sistema de control de temperatura. Sin embargo, cuando se trabaja a temperaturas superiores o inferiores a la temperatura ambiente cada vez es más difícil controlar estas corrientes y por ello se han desarrollado secuencias de pulsos que compensan dichos efectos.

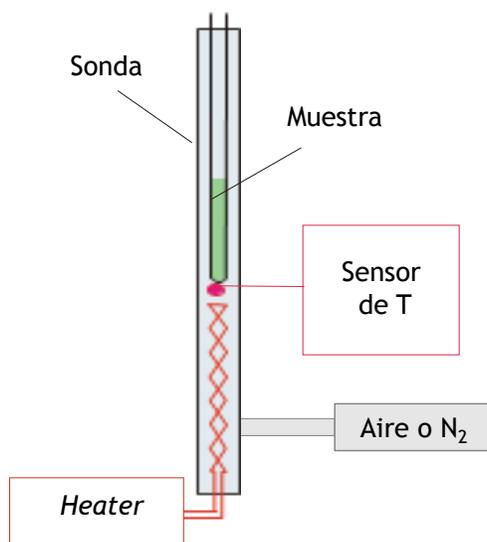


Figura 9. Representación del sistema de control de temperatura.

<sup>29</sup>Manz, B.; Seymour, J. D.; Callaghan, P. T., *Journal of Magnetic Resonance*, 125, 153-158, (1997).

<sup>30</sup>Loening, N. M.; Keeler, J., *Journal of Magnetic Resonance*, 139, 334-341, (1999).

<sup>31</sup>Gibbs, S. J.; Carpenter, T. A.; Hall, L. D., *Journal of Magnetic Resonance, Series A*, 105, 209-214, (1993).

<sup>32</sup>Weis, J.; Kimmich, R.; Müller, H. P., *Magnetic Resonance Imaging*, 14, 319-327, (1996).

<sup>33</sup>Jerschow, A., *Journal of Magnetic Resonance*, 145, 125-131, (2000).

<sup>34</sup>Mao, X. A.; Kohlmann, O., *Journal of Magnetic Resonance*, 150, 35-38, (2001).

<sup>35</sup>N. Esturau, F. Sánchez., *Journal of Magnetic Resonance*, 153, 48-51, (2001).



### 3.3.7 Secuencias de pulsos utilizadas para determinar D

Aunque todos los experimentos que utilizan gradientes son sensibles a la difusión, algunos son mejores que otros para obtener una medida correcta de **D**. En la literatura se han descrito diferentes secuencias de pulsos, todas ellas tratando siempre de mejorar la precisión con la que se obtienen las mediciones.<sup>36,37,38</sup> En las siguientes secciones se describe el experimento básico **PFGE** y su evolución hasta obtener las secuencias de pulsos utilizadas en esta tesis.

#### 3.3.7.1 Experimento eco de espín (SE)

En 1950 Erwin L. Hahn demostró que un pulso de  $180^\circ$  después de un tiempo  $\tau$  revierte el orden relativo de los componentes de la magnetización en el plano transversal y se obtiene un efecto de reenfoque espontáneo de las señales después de un tiempo  $2\tau$ . Por tanto, al cabo de un tiempo  $2\tau$  los componentes de magnetización, que inicialmente fueron desfasados, vuelven a dar un máximo de intensidad de señal. A este fenómeno se le llamó “**eco**” de la FID. La secuencia de pulsos eco de espín (**SE**) basada en el bloque  $90^\circ - \tau - 180^\circ - \tau$  (Figura 10) es uno de los conceptos más simples e importantes en espectroscopia de RMN. La importancia del **SE** reside en que cualquier vector, independientemente de su frecuencia de Larmor, finalizará alineado con el **eje y** al final del segundo periodo de espera. Esto también se expresa manifestando que el efecto del desplazamiento químico ha sido reenfocado por la secuencia **SE**.

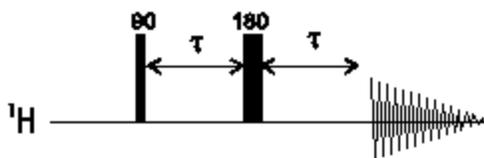


Figura 10. Secuencia eco de espín (SE).

<sup>36</sup>S. J. Gibbs, C. S. Johnson Jr, *Journal of Magnetic Resonance*, 93, 395-402, (1991).

<sup>37</sup>D. H. Wu, A. D. Chen, C. S. Johnson, *Journal of Magnetic Resonance Series A*, 115, 260-264, (1995).

<sup>38</sup>M. D. Pelta, H. Barjat, G. A. Morris, A. L. Davis, S. J. Hammond, *Magnetic Resonance in Chemistry*, 36, 706-714, (1998).



### 3.3.7.2 Experimento eco de espín con gradientes (PFGSE)

La secuencia **PFGSE**<sup>39</sup> es muy similar a la secuencia **SE** excepto que se aplican dos gradientes pulsados (Figura 11). La función del primer gradiente es la de desfasar la magnetización y la del segundo es reenfoclarla. Estos dos gradientes pulsados deben ser idénticos en la forma (**s**), duración ( **$\delta$** ) e intensidad (**G**) para que se cumpla la condición de reenfoque. Los gradientes de desfase y de reenfoque están separados por el tiempo de difusión ( **$\Delta$** ). Si durante este tiempo  **$\Delta$**  los espines se mueven (difunden) a lo largo del **eje z** no serán reenfocados por el segundo gradiente y disminuirá la señal del eco de una forma proporcional a la media del desplazamiento de las moléculas en dirección del eje del gradiente.

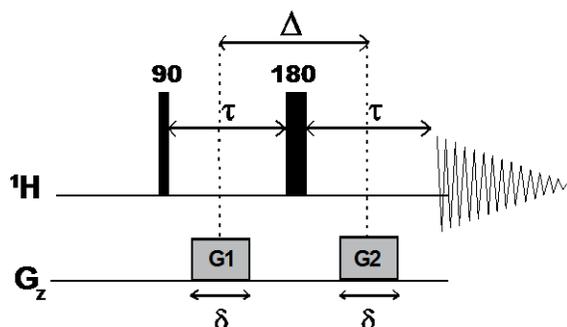


Figura 11. Experimento eco de espín con gradientes (**PFGSE**). En el canal de **Gz** se representan los gradientes **G1/G2** de desfase/reenfoque con forma rectangular, con duración  **$\delta$**  separación  **$\Delta$**  (tiempo de difusión), y cuya fuerza se varía simultáneamente y de manera progresiva durante el experimento.

A pesar de que con la secuencia de pulsos **PFGSE** toda la señal disponible es adquirida, en muchas ocasiones no es la mejor elección, ya que tiene la desventaja de que la magnetización se encuentra amplios periodos de tiempo ( **$2\tau$** ) en el plano transversal y cuando se trabaja con grandes moléculas el tiempo necesario para poder observar completamente la difusión suele ser largo comparado con los tiempos de relajación transversal **T<sub>2</sub>**.

<sup>39</sup>Stejskal, E. O.; Tanner, J. E., *Journal of Chemical Physics*, 42, 288-292, (1965).



### 3.3.7.3 Experimento Eco Simulado (PFGSTE)

El experimento **PFGSTE**<sup>40</sup> (Figura 12) se diseñó para reducir el tiempo en que la magnetización se mantiene en el plano transversal, ya que para medir la difusión sólo es necesario que la magnetización sea transversal durante la aplicación del gradiente. En este experimento la magnetización es transversal durante un corto periodo  $\tau$  (solo un poco mayor que la duración de los gradientes) y, por tanto, los efectos asociados a la relajación dependerán principalmente de  $T_1$ , que suele ser mayor que  $T_2$ . Este experimento incorpora un gradiente de purga  $G_p$ , para desfasar la magnetización transversal residual en el periodo  $T$ .

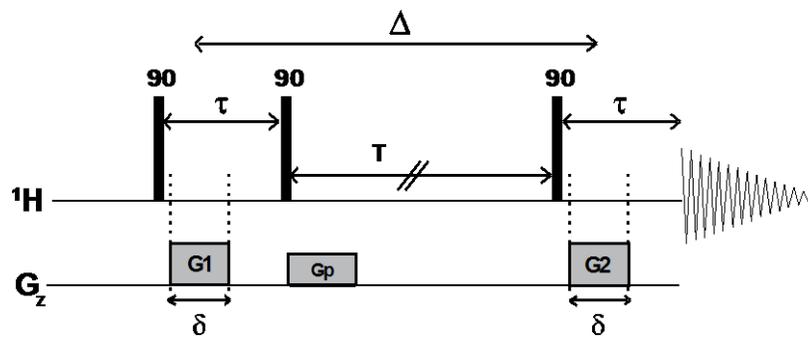


Figura 12. Experimento eco de espín estimulado (**PFGSTE**). En el canal  $G_z$  se representan los pulsos de gradiente:  $G_p$  es un gradiente de purga con fuerza constante, y  $G_1/G_2$  son los gradientes de desfase/reenfoco con forma rectangular, con duración  $\delta$ , separación  $\Delta$ , y cuya fuerza se varía simultánea y progresivamente durante el experimento. La diferencia  $\tau - \delta$  es el periodo de recuperación ( $T_r$ ) de los gradientes.

La sensibilidad del experimento **PFGSTE** es sólo la mitad del experimento original. Esto es resultado del segundo pulso de  $90^\circ$  que gira los componentes de la magnetización del **eje y** al **eje  $\pm z$**  mientras que las componentes del **eje x** continúan en el plano transversal y son eliminadas posteriormente por el gradiente de purga. Sin embargo, esta disminución del 50%, se compensa por la diferente dependencia en la velocidad de relajación ( $T_1 > T_2$ ), por lo que en muchas situaciones, la sensibilidad de **PFGSTE** puede ser comparable o incluso mejor que la del experimento **PFGSE**.

<sup>40</sup>Tanner, J. E., *Journal of Physical Chemistry*, 52, 2523-2526 (1970).



#### 3.3.7.4 Experimento LED (PFGLED)

Un inconveniente de la secuencia **PFGSTE** es que no compensa posibles errores debidos a corrientes *eddy*. Para compensar estos efectos se puede añadir un **filtro-z**, que consiste en añadir dos pulsos de  $90^\circ$  entre los cuales se aplica un gradiente de purga. En el corto periodo de tiempo entre estos dos pulsos la magnetización se encuentra en el **eje z** y el gradiente de purga desfasa la magnetización transversal no deseada.

Al adicionar un **filtro-z** a la secuencia **PFGSTE** se obtiene la secuencia **PFGLED**<sup>41</sup> (Figura 13). Durante el periodo de tiempo que se encuentra entre los dos últimos pulsos de  $90^\circ$ , **Te**, las corrientes *eddy* se desvanecen. Este experimento lleva dos gradientes de purga, **Gp**, para desfasar la magnetización transversal residual en los periodos **T** y **Te**.

Cuando se utilizan gradientes de intensidad moderada la secuencia **PFGLED** da espectros de muy buena calidad. Sin embargo, cuando se requieren gradientes de intensidad fuertes, el periodo **Te** necesario para obtener señales sin distorsiones puede llegar a ser inaceptablemente largo.

---

<sup>41</sup>Gibbs, S. J.; Johnson Jr, C. S., *Journal of Magnetic Resonance*, 93, 395-402, (1991).

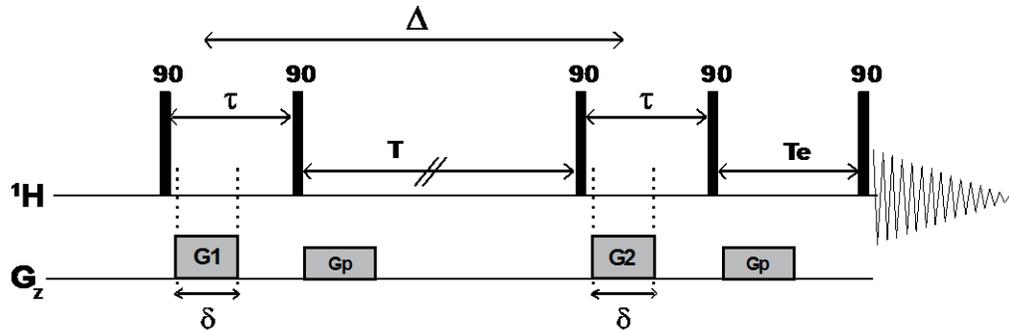


Figura 13. Experimento eco de espín estimulado con tiempo longitudinal para desvanecer las corrientes eddy (**PFGLED**). En el canal  $G_z$  se representan los pulsos de gradiente:  $G_p$  son gradientes de purga con fuerza constante pero diferente entre sí, y  $G_1/G_2$  son los gradientes de desfase/reenfoco con forma rectangular, con duración  $\delta$ , separación  $\Delta$  y cuya fuerza se varía simultánea y progresivamente durante el experimento. La diferencia  $\tau - \delta$  es el periodo de recuperación ( $T_r$ ) de los gradientes.  $T_e$  es el periodo tiempo en que las corrientes eddy se desvanecen.

### 3.3.7.5 Experimentos de difusión con pulsos bipolares (**BPPSTE** y **BPPLED**)

Una modificación que permite disminuir las corrientes eddy inducidas por los gradientes consiste en reemplazar el gradiente pulsado (de duración  $\delta$ ) por dos gradientes pulsados de diferente polaridad (de duración  $\delta/2$  cada uno) separados por un pulso de rf de  $180^\circ$ . Con esta combinación de pulsos de tipo **SE** se obtiene una auto-compensación de las corrientes eddy y, además, se reenfocan tanto la inhomogeneidad del campo  $B_0$  como el efecto del desplazamiento químico durante la aplicación de los gradientes.

Al reemplazar todos los gradientes pulsados en las secuencias **PFGSTE** y **PFGLED** por pares de pulsos bipolares **BPP** (*Bipolar Pulsed Pair*) se obtienen las secuencias **BPPSTE** y **BPPLED**<sup>42</sup> (Figura 14 y Figura 15). Hoy en día, las secuencias con pulsos bipolares son de las más ampliamente aceptadas, ya que presentan la ventaja de que el pulso de  $180^\circ$  insertado en el centro de los gradientes de desfase/reenfoco elimina las modulaciones introducidas cuando hay

<sup>42</sup>Wu, D. H.; Chen, A. D.; Johnson, C. S., *Journal of Magnetic Resonance Series A*, 115, 260-264, (1995).



intercambio químico<sup>43</sup> o intercambio de magnetización (relajación cruzada o difusión de espín).<sup>44</sup>

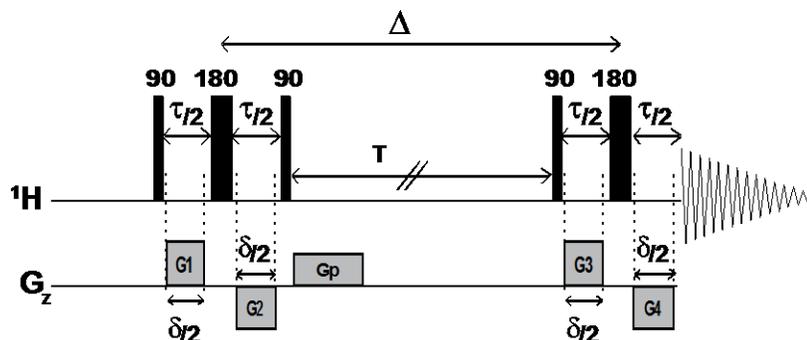


Figura 14. Experimento eco de espín estimulado utilizando pulsos bipolares (**BPPSTE**). En el canal  $G_z$  se representan los pulsos de gradiente:  $G_p$  es un gradiente de purga con fuerza constante y  $G1G2/G3G4$  de duración  $\delta/2$ , son los gradientes de desfase/reenfoque con forma rectangular, con separación  $\Delta$  y cuya fuerza se varía simultánea y progresivamente durante el experimento.

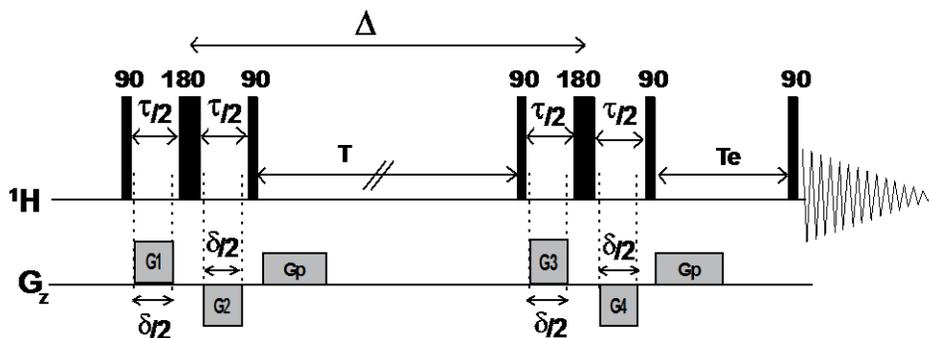


Figura 15. Experimento eco de espín estimulado con tiempo longitudinal,  $T_e$ , para desvanecer las corrientes eddy utilizando pulsos bipolares (**BPPLED**). En el canal  $G_z$  se representan los pulsos de gradiente:  $G_p$  son gradientes de purga con fuerza constante, pero diferente entre sí, y  $G1G2/G3G4$  de duración  $\delta/2$ , son los gradientes de desfase/reenfoque con forma rectangular, con separación  $\Delta$  y cuya fuerza se varía simultánea y progresivamente durante el experimento.

<sup>43</sup>Chen, A. D.; Johnson, C. S.; Lin, M.; Shapiro, M. J., *Journal of the American Chemical Society*, 120, 9094-9095, (1998).

<sup>44</sup>Dvinskikh, S. V.; Furó, I., *Journal of Magnetic Resonance*, 148, 73-77, (2001).



### 3.3.7.6 Experimento de difusión para eliminar los efectos de la convección (DBPPLED)

En los experimentos de difusión con selección por gradientes, el movimiento de los espines durante el tiempo que hay entre el gradiente de desfase y de reenfoque produce cambios en la intensidad y/o en la fase de las señales. Por lo tanto, en la intensidad y/o en la fase de las señales en un experimento con selección por gradientes se reflejarán todos los tipos de movimiento en la muestra, como son los movimientos de difusión y de convección. Esto es indeseable, ya que en la mayoría de los casos es sólo uno de los tipos de movimiento el que interesa estudiar.

Estudiar el movimiento de difusión y separarlo del movimiento de convección es relativamente fácil ya que el movimiento incoherente de la difusión siempre produce un cambio en la intensidad de las señales sin afectar la fase; mientras que el movimiento coherente de la convección cambiará la fase de las señales pero no la intensidad. Por tanto, la intensidad de las señales estará determinada por el movimiento de difusión y la fase por el movimiento de convección (o cualquier movimiento de velocidad constante).

El efecto de la pérdida de señal que se produce por cualquier movimiento en la muestra a velocidad constante se puede compensar colocando un segundo par de gradientes iguales, pero opuestos a los dos primeros (Figura 16). Una explicación muy sencilla del funcionamiento de esta secuencia es que al aplicar la misma secuencia dos veces invirtiendo los gradientes, la fase inducida en la primera parte de la secuencia por el movimiento constante de la convección es igual, pero tiene sentido contrario a la producida en la segunda parte y por el cambio de fase total de la secuencia es nulo. Con base a este principio A. Jerschow y N. Müller<sup>45</sup> proponen doblar la secuencia **PFGSTE** para crear una secuencia insensible a la velocidad *Double-simulated-echo experiment (DPFGSTE)*, o su versión con gradientes bipolares *Double-simulated-echo experiment with*

<sup>45</sup>Jerschow, A.; Müller, N., *Journal of Magnetic Resonance*, 125, 372-375, (1997).



bipolar gradient pulse (**DBPPSTE**) o la versión con un periodo **LED** Double Longitudinal eddy delay experiment using bipolar gradient (**DBPPLED**) (Figura 17).

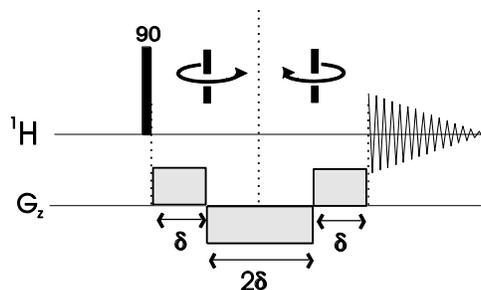


Figura 16. Experimento eco de espín con gradientes, donde el primer momento de gradientes es cero. El sentido del giro magnético está indicado en la parte superior. Esta secuencia es utilizada para reenfoque el cambio de fase inducida por los efectos del flujo.

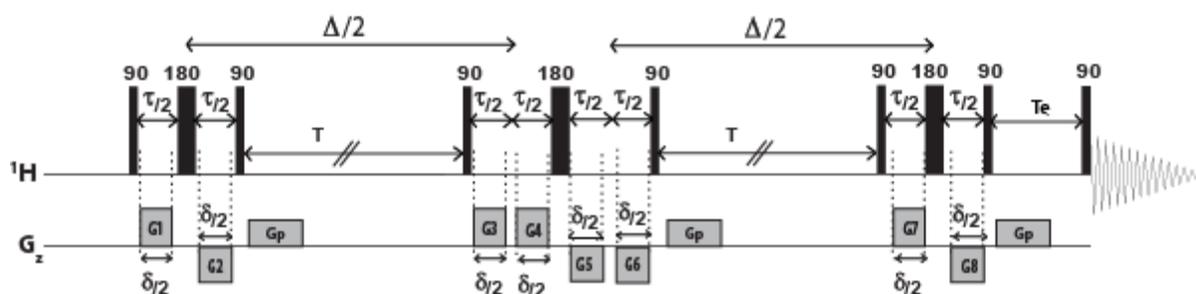


Figura 17. Experimento doble-**BPPLED** que compensa los efectos de convección (**DBPPLED**). En el canal **Gz** se representan gradientes pulsados, **Gp** son gradientes de purga con fuerza constante, y los otros 8 son los gradientes de desfase/reenfoque, con duración  $\delta/2$  y cuya fuerza se varía simultánea y progresivamente durante el experimento. **G1G2/G3G5** y **G4G6/G7G8** son los gradientes de desfase/reenfoque del primer y segundo eco respectivamente. El periodo de difusión  $\Delta$  está dividido entre los dos ecos.

### 3.3.8 Representación DOSY

Una manera muy atractiva para representar los resultados de los datos de difusión es el llamado método DOSY.<sup>46</sup> El cual da como resultado un mapa pseudo 2D con el espectro  $^1\text{H-NMR}$  convencional en el **eje x** y el coeficiente de difusión **D** en el **eje y** (Figura 18).

<sup>46</sup>Johnson, C. S., *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 34, 203-256, (1999).

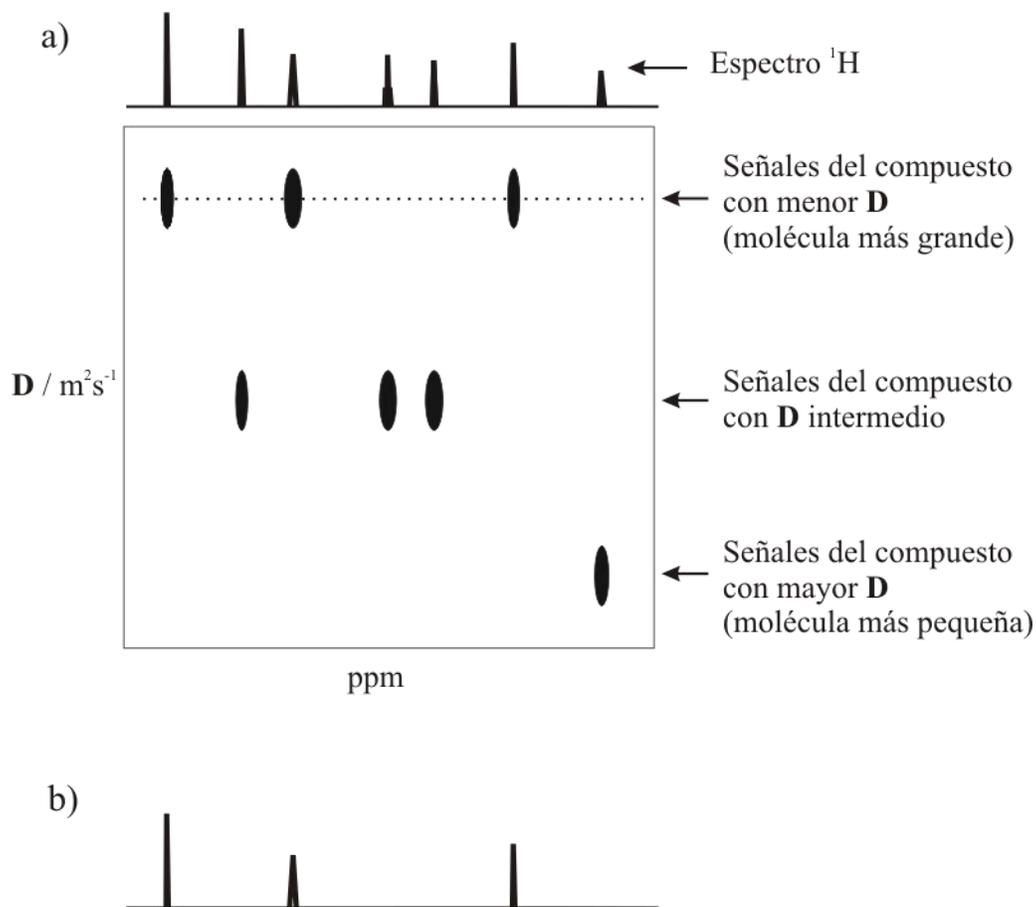


Figura 18. a) Representación clásica de un "espectro DOSY" correspondiente a una mezcla de 3 compuestos con diferentes velocidades de difusión. b) Traza 1D correspondiente a las señales del compuesto que aparecen en la fila marcada con la línea discontinua en (a).

Esta representación consiste en el procesamiento de la serie de espectros de difusión adquiridos con incrementos de la intensidad de gradiente, donde primero se aplica la transformada de Fourier en la dimensión directa para obtener la serie de espectros de  $^1\text{H}$ , a los cuales posteriormente se les aplica la transformada de Laplace inversa en la dimensión indirecta para resolver la exponencial y obtener el valor de  $D$ <sup>47</sup>.

<sup>47</sup>Morris, K. F.; Stilbs, P.; Johnson, C. S., *Analytical Chemistry*, 66, 211-215, (1994).



## 4 Metodología

En este Capítulo se detallan los métodos seguidos para el estudio de la emulsión por RMN a diferentes temperaturas. Se describe el equipo empleado y los parámetros experimentales de adquisición y procesamiento que fueron aplicados para la determinación de los tiempos de relajación y del coeficiente de difusión.

### 4.1 Materiales

Se utilizó la resina epóxica líquida comercial DGEBA n=0 de peso equivalente teórico 190 g/eq y su emulsión comercial. Los disolventes deuterados utilizados fueron  $\text{CDCl}_3$  (99.8 %-d, TMS, 0.1 % V/V) y  $\text{D}_2\text{O}$  (99.9%-d).

### 4.2 Experimentación

#### 4.2.1 Preparación de las muestras

Para la confirmación de la estructura de la resina DGEBA n=0 por RMN en  $\text{CDCl}_3$ , se colocaron aproximadamente 15 mg de dicha resina en un tubo de RMN de 5 mm de diámetro y se disolvió en 1 mL.

Para la caracterización de la resina en  $\text{D}_2\text{O}$ , por ser muy poco soluble en agua, fue necesario preparar una disolución saturada. Para ello se colocaron en un vial aproximadamente 15 mg de la resina y se adicionó 1 ml del disolvente deuterado, posteriormente esta disolución fue decantada al tubo de RMN.

La preparación de las muestras para el estudio de la emulsión se llevó a cabo utilizando  $\text{D}_2\text{O}$ . Se colocaron, aproximadamente 0.1 mL de la emulsión en un tubo de RMN de 5 mm de diámetro y 0.9 mL del disolvente deuterado, para obtener una disolución 1/10, a partir de esta disolución se preparó la dilución 1/100.

#### 4.2.2 Equipo

Los experimentos de RMN realizados para la confirmación de la estructura de la resina en  $\text{CDCl}_3$  se adquirieron en un espectrómetro Varian Unity Inova de 11.7



Teslas (500 MHz para  $^1\text{H}$ ) con una sonda 5mmTR\_PFG. Mientras que el resto de los experimentos fueron adquiridos en un espectrómetro Bruker Avance III (Figura 19) de 9.4 Teslas (400 MHz para  $^1\text{H}$ ), provisto de una sonda de detección indirecta (5 mm BBI), con una unidad de generación de gradientes de campo en el **eje z** (58.9 G/cm), detección en cuadratura y una unidad de control de temperatura VTU.



Figura 19. Equipo Bruker Modelo Avance III de 9.4 Teslas (400 MHz para  $^1\text{H}$ ).

### 4.2.3 Experimentos de RMN

Para llevar a cabo los experimentos a diferentes temperaturas el equipo se dejó estabilizar aproximadamente 10 min antes de adquirir cada espectro para alcanzar el equilibrio térmico. La temperatura de trabajo fue controlada  $\pm 1$  °C con un flujo de aire de 270 a 530 l/h, dependiendo de la misma.

#### 4.2.3.1 Condiciones de adquisición y procesamiento de los experimentos convencionales

Los espectros de protón, RMN- $^1\text{H}$ , se adquirieron mediante la secuencia estándar de la casa comercial (**zg30**), girando el tubo a 20 Hz y con los siguientes parámetros: *time domain* (**TD**) 32K, tiempo de adquisición (**AQ**) de 3.5 s, tiempo de espera entre scans (**D1**) de 1 s, 16 acumulaciones (**NS**) y 4 *dummy scans* (**DS**). Los espectros se referenciaron a la señal residual del disolvente  $\text{D}_2\text{O}$  de acuerdo a la temperatura de trabajo.



Los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , RMN- $^{13}\text{C}$ , también se adquirieron mediante la secuencia estándar de la casa comercial, con un tiempo de adquisición de 0.6 s, un tiempo de espera entre scans de 0.4 s y 512 acumulaciones. Los espectros se referenciaron a la señal residual del disolvente (77.16 ppm).

Los espectros fueron procesados con el software Topspin 3.2 de la casa comercial Bruker-BioSpin, mediante **FT-RMN** con una apodización por función exponencial utilizando un ancho de línea de 1 Hz, ajuste manual de fase y corrección de línea base con ajuste polinomial.

#### 4.2.3.2 Condiciones de adquisición y procesamiento de los experimentos para medir $T_1$ y $T_2$

La determinación experimental de  $T_1$  se llevó a cabo utilizando la secuencia de pulsos "recuperación de la inversión" mostrada en la sección 3.3.2 (denominada en la librería de Bruker como **t1ir**). Los experimentos se llevaron a cabo utilizando 5 s de tiempo de espera entre scans (**D1**), 4 *dummy scans* (**DS**), 16 scans (**NS**), 3.5 s de tiempo de adquisición (**AQ**) y un *time domain* 46K (**TD**). Para todas las temperaturas, se utilizó una lista de 16 puntos con los siguientes valores de  $\tau$  en segundos: 0.001, 0.005, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4 y 5.

Como se planteó en la sección 3.3.2, para la determinación  $T_2$ , se usó la secuencia *Carr-Purcell-Meiboom Gill* **cpmg**. Los experimentos se llevaron a cabo utilizando 5 s de tiempo de espera entre scans (**D1**), 16 *dummy scans* (**DS**), 8 scans (**NS**), 3.5 s de tiempo de adquisición (**AQ**), un *time domain* 46K (**TD**) y un  $\tau$  de 1.5 ms, dando una duración por cada eco de espín (ciclo) de 3 ms. Para cada temperatura, se utilizó una lista con diferentes números de ciclos, cada lista constaba de 8 puntos (Tabla 1).

El procesamiento de los espectros (FTR en la 2ª dimensión, ajuste manual de fase, corrección de línea base, apodización con ancho de línea de 1 Hz) se realizó con el software Topspin 3.2 de la casa comercial Bruker-BioSpin. Se aplicó el método de Monte Carlo para la minimización del error cuadrado entre la curva exponencial ideal y los datos experimentales para la determinación de los



tiempos de relajación  $T_1$  y  $T_2$  con el software Dynamics Center 2.2.4, (Bruker BioSpin) utilizando la intensidad de las señales.

Tabla 1. Número de ciclos utilizados para la determinación de  $T_2$  para cada temperatura.

| Temperatura [°C]                   | 25 | 30 | 35 | 40 | 45 | 50  | 55  | 60  |
|------------------------------------|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|
| Número de ciclos n del bloque cpmg | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 2   | 2   | 10  |
|                                    | 2  | 2  | 3  | 2  | 3  | 6   | 10  | 20  |
|                                    | 3  | 3  | 5  | 4  | 7  | 10  | 20  | 30  |
|                                    | 4  | 4  | 8  | 8  | 10 | 15  | 30  | 50  |
|                                    | 5  | 5  | 10 | 10 | 30 | 20  | 50  | 80  |
|                                    | 6  | 6  | 15 | 20 | 50 | 30  | 100 | 100 |
|                                    | 7  | 7  | 20 | 35 | 65 | 60  | 125 | 150 |
|                                    | 10 | 10 | 30 | 50 | 80 | 100 | 150 | 200 |

#### 4.2.3.3 Condiciones de adquisición y procesamiento de los experimentos para medir la difusión traslacional

Los experimentos de difusión fueron adquiridos utilizando las secuencias de pulsos **LED** con pulsos bipolares **BPPLED** (sección 3.3.7.5) y la doble **LED** con pulsos bipolares **DBPPLED** (sección 3.3.7.6), cuyos nombres en la librería de Bruker son **ledbpgp2s** y **dstebpgp3s**, respectivamente. Se utilizaron gradientes rectangulares, con un periodo de recuperación de las corrientes eddy de 50 ms, las condiciones de duración del gradiente,  $\delta$ , el tiempo de difusión,  $\Delta$ , y la fuerza de gradientes,  $G$ , se indican en cada caso.

Para la obtención del experimento DOSY se adquirieron 8-16 espectros con fuerza del pulso de gradiente del 2 a 95% de la corriente máxima en una rampa lineal.

El procesamiento de los experimentos (FTR en la 2ª dimensión, ajuste manual de fase, corrección de línea base con ajuste polinomial, apodización con ancho de línea de 1 Hz) se realizó con el software Topspin 3.2 de la casa comercial Bruker-BioSpin. Para la determinación del coeficiente de Difusión, se aplicó el método de Monte Carlo para la minimización del error cuadrado entre la curva exponencial ideal y los datos experimentales, con el software Dynamics Center 2.2.4, (Bruker BioSpin) utilizando el área de las señales.



## 5 Resultados y Discusión

En este capítulo se presentan y discuten los resultados obtenidos. Primeramente se muestra la confirmación de la estructura de la resina en  $\text{CDCl}_3$  y posteriormente el estudio, tanto de esta resina como de su emulsión en  $\text{D}_2\text{O}$ . Se analizan los tiempos de relajación a diferentes temperaturas y se describe que para poder estudiar la movilidad molecular de sistemas de agregados que generan señales de RMN muy anchas, es necesario realizar el análisis a determinadas temperaturas.

### 5.1 Confirmación de la estructura de la resina en $\text{CDCl}_3$

La estructura de la resina DGEBA  $n=0$  se muestra en la Figura 20, la numeración utilizada es sólo para fines de la asignación de señales en los espectros de RMN.

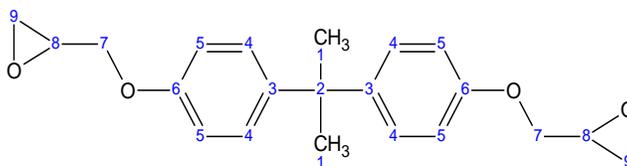


Figura 20. Estructura de DGEBA  $n=0$  (La numeración es con fines de asignación).

La Figura 21 muestra el espectro de RMN- $^1\text{H}$  de la resina DGEBA  $n=0$  en  $\text{CDCl}_3$ , donde se pueden observar las señales características de la resina correspondientes a los cinco protones glicídlicos. Estos protones son magnéticamente no equivalentes debido a la presencia del carbono metínico quiral que hace que los hidrógenos de cada uno de los metilenos sean diastereotópicos entre sí. También se observan pequeñas señales de impurezas con intensidad menor al 1%. En la misma figura (parte superior) se muestran las ampliaciones de las señales para observar mejor la multiplicidad. En la Tabla 2 se enlistan la asignación, los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento de los protones, cuyos valores son los esperados para este tipo de sistemas.

La parte aromática de la estructura de la resina representa un sistema  $\text{AA}^{\prime}\text{BB}^{\prime}$ , dicho patrón es un tanto complejo porque el acoplamiento *orto*,  $J_{\text{AB}}$ , es



usualmente mucho más grande que el *meta*,  $J_{AB'}$ . A pesar del hecho de que las constantes de acoplamiento son diferentes, este tipo de sistemas presentan un patrón en su espectro de imágenes especulares. Estas constantes de acoplamiento fueron calculadas con ayuda de la función "simulación de espines" del software MestReNova 10.0.2 y también se encuentran reportadas en la Tabla 2.

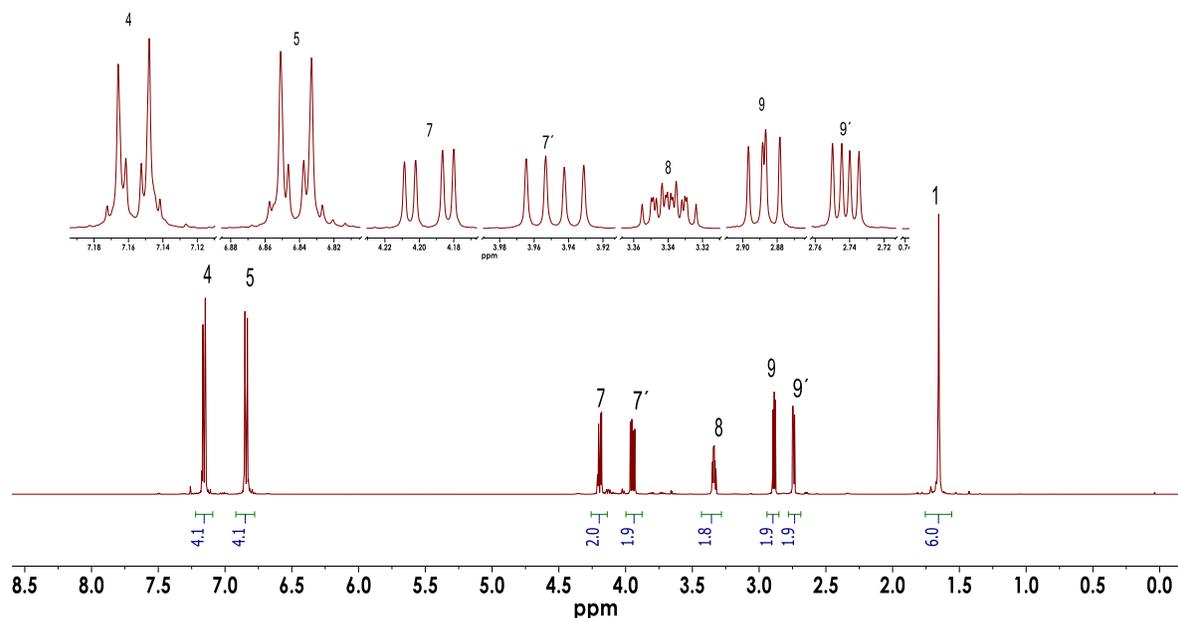


Figura 21. Espectro de RMN- $^1\text{H}$  (500 MHz) en  $\text{CDCl}_3$  a  $25^\circ\text{C}$  de DGEBA  $n=0$  (inferior) y expansión de las señales (superior).

Tabla 2. Desplazamientos químicos ( $\delta$ ), constantes de acoplamiento ( $J$ ) y multiplicidad para el espectro de RMN- $^1\text{H}$  (500 MHz) en  $\text{CDCl}_3$  a  $25^\circ\text{C}$  de DGEBA  $n=0$ .

| Asignación | Multiplicidad | $\delta$ (ppm) | $J$ (Hz)   |
|------------|---------------|----------------|--|
| 1          | s             | 1.62           | -  |
| 4          | m             | 7.15           | $J_{4-5}=J_{4'-5'}=8.8$ , $J_{4-4'}=2.9$ , $J_{4'-5'}=J_{4-5}=0.4$ |
| 5          | m             | 6.85           | $J_{5-4}=J_{5'-4'}=8.8$ , $J_{5-5'}=2.6$ , $J_{5'-4'}=J_{5-4}=0.4$ |
| 7          | dd            | 4.19           | $J_{7-7'}=11.1$ , $J_{7-8}=3.3$                                    |
| 7'         | dd            | 3.95           | $J_{7'-7}=11.1$ , $J_{7'-8}=5.7$                                   |
| 8          | dddd          | 3.34           | $J_{8-7}=3.3$ , $J_{8-7'}=5.7$ , $J_{8-9}=4.1$ , $J_{8-9'}=2.7$    |
| 9 (cis)    | dd            | 2.89           | $J_{9-9'}=5.0$ , $J_{9-8}=4.1$                                     |
| 9' (trans) | dd            | 2.74           | $J_{9'-9}=5.0$ , $J_{9'-8}=2.7$                                    |



La Figura 22 muestra el espectro de RMN- $^{13}\text{C}$ , los desplazamientos químicos de las señales correspondientes a los carbonos del glicidilo así como las señales de los carbonos aromáticos, del saturado y del metilo son consistentes con la estructura (Figura 20). Dicha asignación también se corroboró con espectros 2D HSQC y HMBC (los espectros 2D no se muestran).

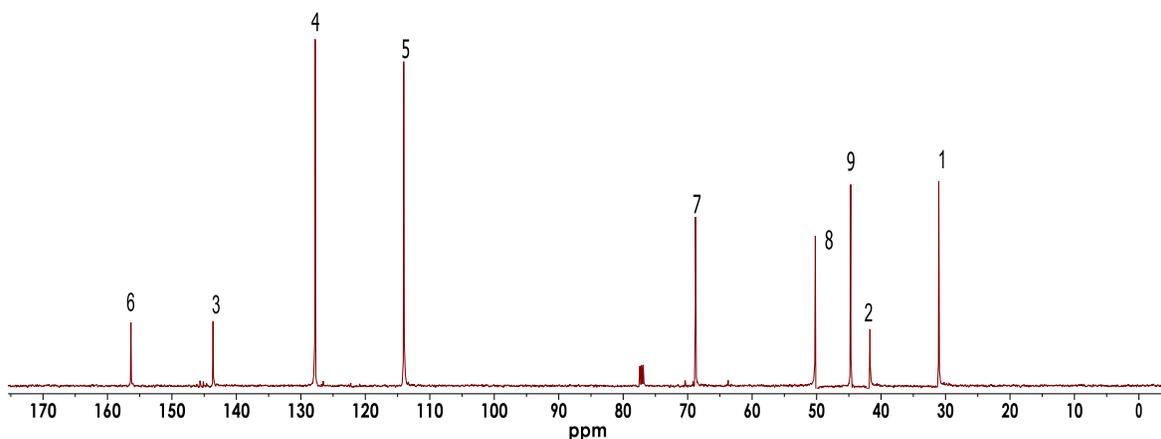


Figura 22. Espectro de RMN- $^{13}\text{C}$  (500 MHz) en  $\text{CDCl}_3$  a  $25^\circ\text{C}$  de DGEBA  $n=0$ .

## 5.2 Caracterización de la resina en $\text{D}_2\text{O}$

La Figura 23a muestra el espectro de RMN- $^1\text{H}$  de DGEBA  $n=0$  en  $\text{D}_2\text{O}$  a  $25^\circ\text{C}$ , se observa que a diferencia del espectro en  $\text{CDCl}_3$ , presenta señales anchas y poco definidas. Lo anterior es debido a una limitada movilidad molecular ya que la resina no es soluble en agua y forma agregados (con un tiempo de relajación transversal  $T_2$  muy pequeño). Sin embargo, a  $60^\circ\text{C}$  (Figura 23b), la movilidad aumenta y las señales se vuelven considerablemente más finas, llegándose a ver en algunas señales la multiplicidad, y presentan ligeros desplazamientos, los cuales se pueden atribuir al promedio de los desplazamientos de las señales de los monómeros agregados y libres, puesto que el equilibrio de agregación es más rápido que la escala de tiempo de la RMN.

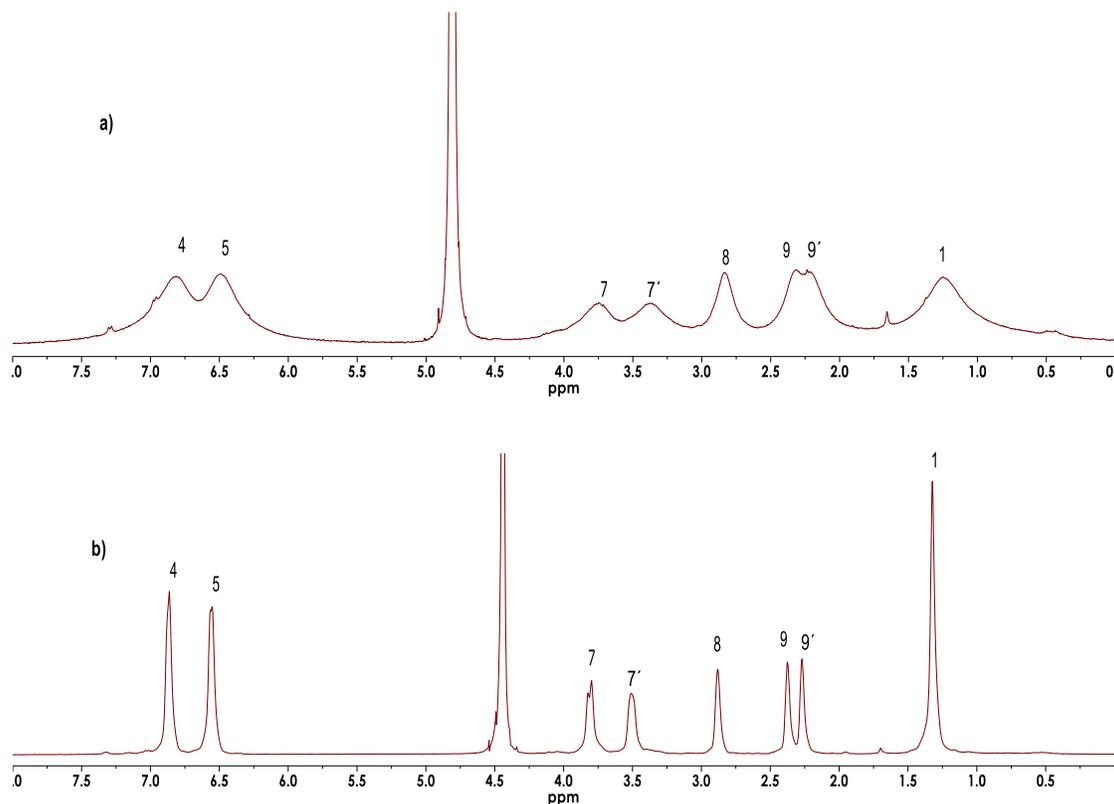


Figura 23. Espectro de RMN- $^1\text{H}$  (400 MHz) en  $\text{D}_2\text{O}$  de DGEBA  $n=0$ . a)  $25^\circ\text{C}$  y b)  $60^\circ\text{C}$ .

### 5.3 Caracterización de la emulsión de la resina en $\text{D}_2\text{O}$

La Figura 24 muestra el espectro de RMN- $^1\text{H}$ , a diferentes temperaturas, de la emulsión. En ese espectro, además de la señal del disolvente, se identificó la presencia de la resina DGEBA  $n=0$  y de etanol (no se observan señales de ningún surfactante posiblemente debido a su baja concentración). La temperatura máxima de trabajo fue de  $60^\circ\text{C}$  debido a la presencia de etanol en la muestra. Al comparar los espectros, se puede observar que al igual que como ocurre en la resina en agua, al incrementar progresivamente la temperatura la movilidad aumenta y las señales se hacen más finas. Por lo tanto, se puede decir que a bajas temperaturas sólo se observan bien los compuestos que relajan lento, es decir, que tienen tiempos de relajación largos.

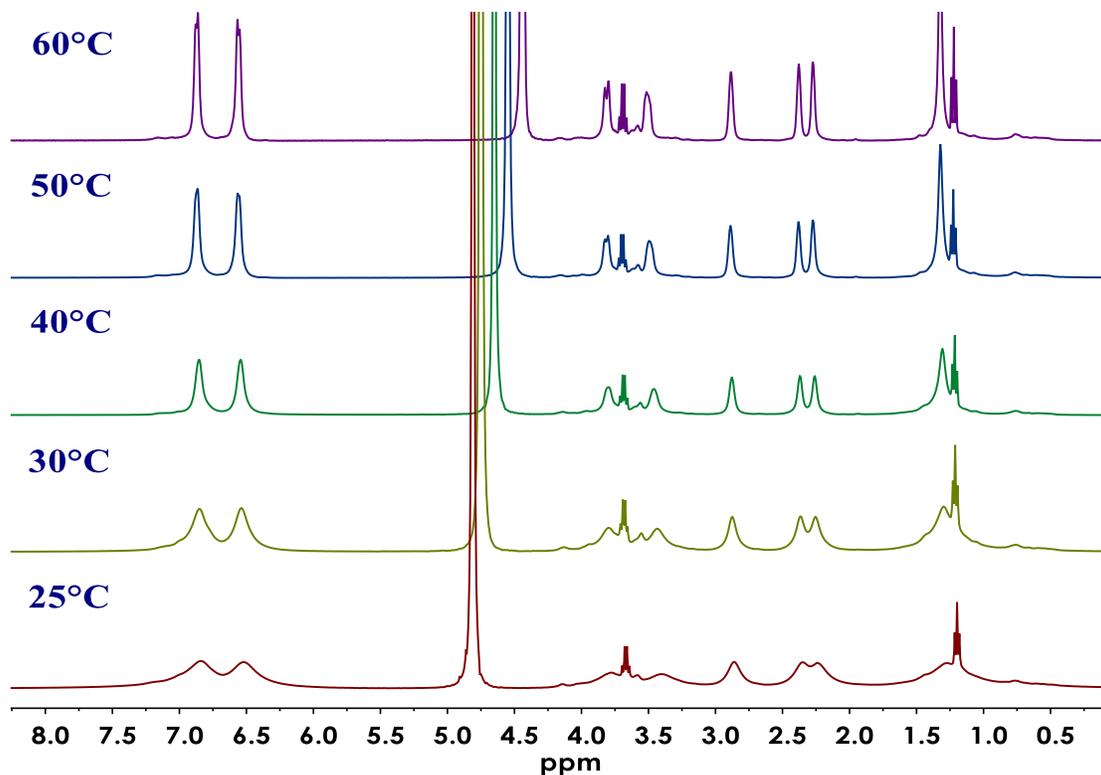


Figura 24. Espectros de RMN- $^1\text{H}$  (400 MHz) en  $\text{D}_2\text{O}$  de la emulsión de DGEBA  $n=0$  a diferentes temperaturas.

## 5.4 Determinación de los tiempos de relajación de la resina en la emulsión

La importancia de conocer los tiempos de relajación para el estudio de la resina y su emulsión, fue evidente al observar que en  $\text{D}_2\text{O}$  a temperatura ambiente se obtenían señales muy anchas. Se determinaron los tiempos de relajación  $T_1$  y  $T_2$  a temperaturas mayores para conocer su comportamiento y así encontrar las condiciones adecuadas para poder aplicar experimentos más largos, como son los experimentos de difusión.

### 5.4.1 Determinación de tiempos de relajación $T_1$ a diferentes temperaturas

Como se mencionó en la sección 4.2.3.2, se utilizó la secuencia de pulsos de "recuperación de la inversión" para la determinación del tiempo de relajación



longitudinal. Como ejemplo: en la Figura 25, se muestra el cambio de la intensidad de la señal del protón aromático número 5 de la resina obtenido con dicha secuencia para los 16 diferentes valores de tiempo de espera  $\tau$  a 40°C. Se puede observar que cuando este tiempo  $\tau$  es muy pequeño la señal es detectada de forma negativa (señales del lado izquierdo de la figura), ya que no se permite su retorno al equilibrio y el espectro resultante es similar al que se obtendría después de la aplicación de un único pulso de 270°. No obstante, si se utiliza un tiempo  $\tau$  muy grande (señales del lado derecho de la figura), la señal detectada es positiva porque se permite su vuelta al equilibrio y el espectro será igual al que se obtendría al aplicar un único pulso de 90°. Una aproximación del valor de  $T_1$  se puede extraer buscando el tiempo  $\tau$  en el cual el valor de la intensidad de la señal es nula,  $\tau_{null}$ , ya que  $\tau_{null} = T_1 \ln 2$ . Utilizando dicha aproximación para el sistema en estudio, el valor de  $T_1$  es 0.65s. Un ajuste más fino se obtiene con la minimización del error cuadrado entre la curva exponencial ideal (Ecuación 4, sección 3.3.2) y los datos experimentales, tal y como se realizó en el presente trabajo.

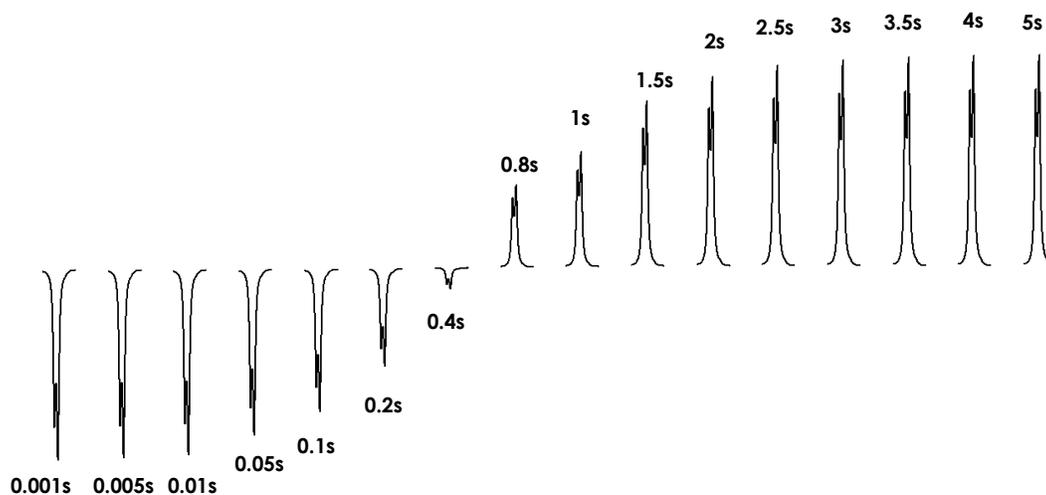


Figura 25. Evolución de la intensidad de la señal del  $^1\text{H}$  aromático no. 5 de la resina con el experimento "recuperación de la inversión" para la determinación de  $T_1$  a 40°C, utilizando 16 tiempos  $\tau$  entre 0.001 s y 5 s. El cambio del dominio negativo al positivo se da en un rango de  $\tau$  de 0.4 a 0.5 s.

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se muestran las curvas de relajación  $T_1$  correspondientes a la señal del protón aromático 5, a las



diferentes temperaturas de trabajo. Se puede observar que a mayor temperatura, la intensidad (medida como la altura) de la señal del protón 5 con la que se trabaja es mayor. Esto se debe a que al aumentar la temperatura la señal es más estrecha y alta. En cuanto al punto de cruce, en todas las curvas para ese protón, se encuentra ente 0.4 s y 0.5 s, por lo que la variación en el valor de  $T_1$  es mínima en el intervalo de temperatura estudiado.

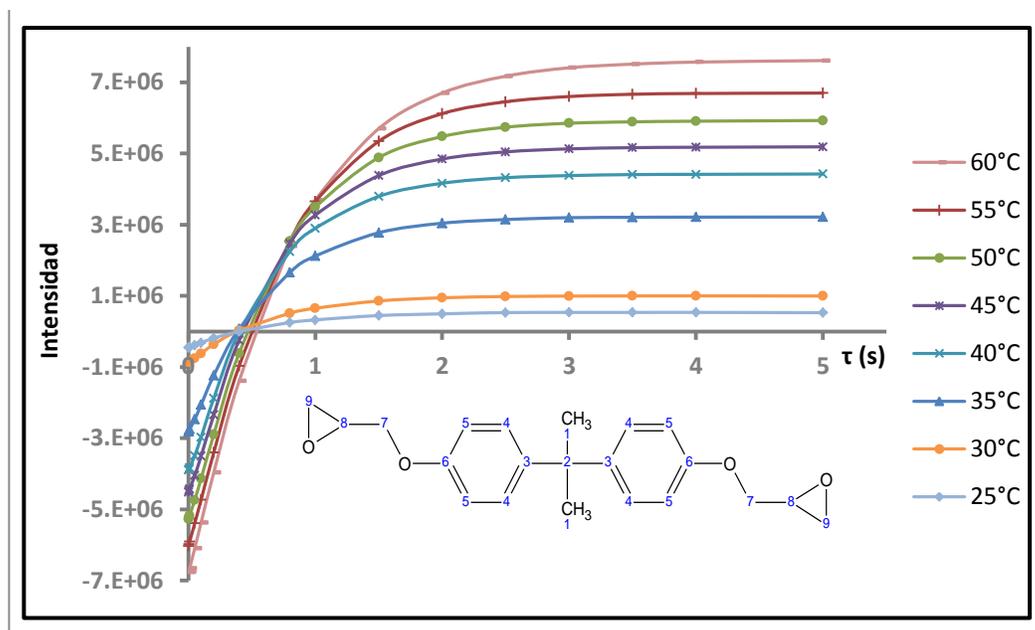


Figura 26. Curvas obtenidas para la determinación de  $T_1$  correspondientes al  $^1\text{H}$  aromático no. 5 a las diferentes temperaturas de trabajo.

La mayoría de las veces, las curvas de relajación se pueden modelar con ecuaciones de uno, dos o más términos exponenciales, donde los diferentes tiempos de relajación de cada término están asociados a poblaciones de moléculas de diferente movilidad. Las especies con tiempos de relajación cortos son menos móviles (estado tipo sólido) que aquellas con tiempo de relajación más largos (estado tipo líquido). En este trabajo, no pudieron diferenciarse poblaciones moleculares con diferentes movilidades, por lo que las curvas de decaimiento fueron modeladas a través de una ecuación exponencial de un sólo término.

Los resultados de  $T_1$  obtenidos para todos los protones de la molécula se encuentran en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** Como ya se



mencionó en la sección 3.3.2.1, la existencia de campos magnéticos fluctuantes con movimientos con frecuencias asociadas cercanas a la de resonancia de Larmor, generará que la relajación  $T_1$  sea más eficiente, tanto que cuando el tiempo de correlación del agregado es del orden del inverso de la frecuencia de resonancia del sistema, se tiene la máxima eficiencia de la relajación  $T_1$  y por lo tanto el menor valor de  $T_1$ . En la figura se puede observar que el menor valor de  $T_1$  se produce en el rango de temperatura de 25°C-45°C para todos los protones, excepto para los H1 (protones del CH<sub>3</sub>). Esto se puede explicar porque el movimiento lento de las partículas en emulsión genera que los protones tiendan a relajarse de forma eficiente ( $T_1$  pequeños). De forma general, este movimiento aumenta con el incremento de la temperatura y la interacción de los protones con el medio es más deficiente, por lo que los valores de  $T_1$  son más grandes. A diferencia de esto, para los protones del metilo H1, al aumentar la temperatura los valores de  $T_1$  disminuyen y presentan una mayor movilidad dentro de la misma molécula, un movimiento de rotación independiente de la reorientación global del sistema. A este mecanismo de relajación se le conoce como "rotación del espín" y consiste en la generación de un campo magnético local por el movimiento circular de los electrones en una molécula de rotación rápida (o parte de una molécula, tal como el grupo metilo presente en la resina)(Figura 28). La magnitud de este campo cambia cuando los niveles de energía de rotación lo hacen como resultado de colisiones moleculares. Estos cambios, si se producen en la frecuencia de precesión de Larmor, pueden causar relajación de los núcleos cercanos. Es característica de estos sistemas una relajación más eficiente ( $T_1$  más corto) a temperaturas más altas.

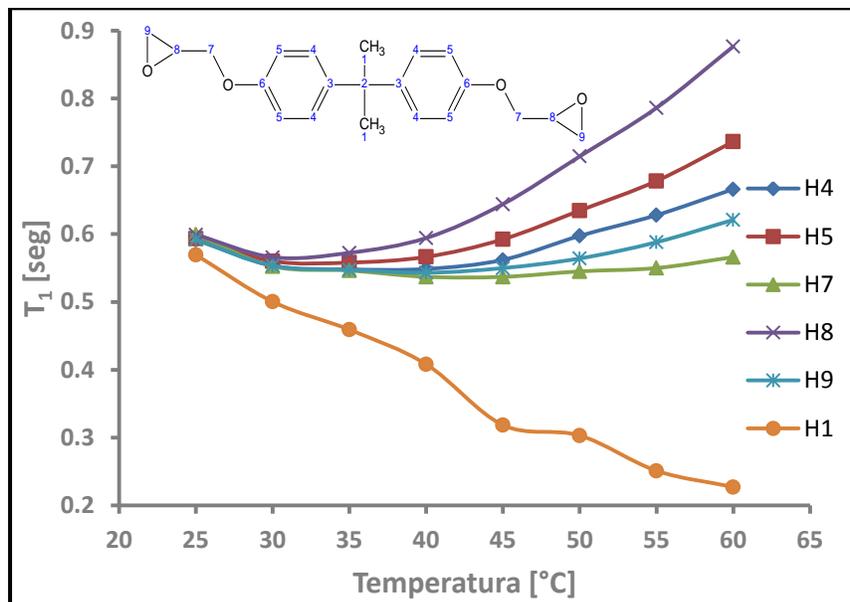


Figura 27. Gráfico del tiempo de relajación longitudinal en función de la temperatura.

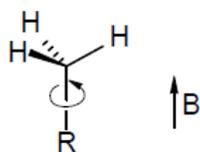


Figura 28. Mecanismo de relajación "rotación del espín" que presenta el grupo metilo de la resina. B cambia al cambiar la velocidad de rotación.

#### 5.4.2 Determinación de tiempos de relajación $T_2$ a diferentes temperaturas

La secuencia de pulsos utilizada para la determinación del tiempo de relajación transversal fue la de "Carr-Purcell-Meiboom Gill" (sección 4.2.3.2). Para ejemplificar, en la Figura 29, se muestra el cambio de la intensidad de la señal del protón aromático número 5 de la resina, obtenido a los diferentes valores de  $\tau$  a 40°C. Se puede observar que cuando el valor de  $\tau$  es pequeño la señal es detectada con máxima intensidad (señales del lado izquierdo de la figura), y conforme aumenta el número de ecos de espín en la secuencia **cpmg** la intensidad de la señal disminuye debido al desfase en el **plano xy** producido por la interacción entre espines (señales del lado derecho de la figura).

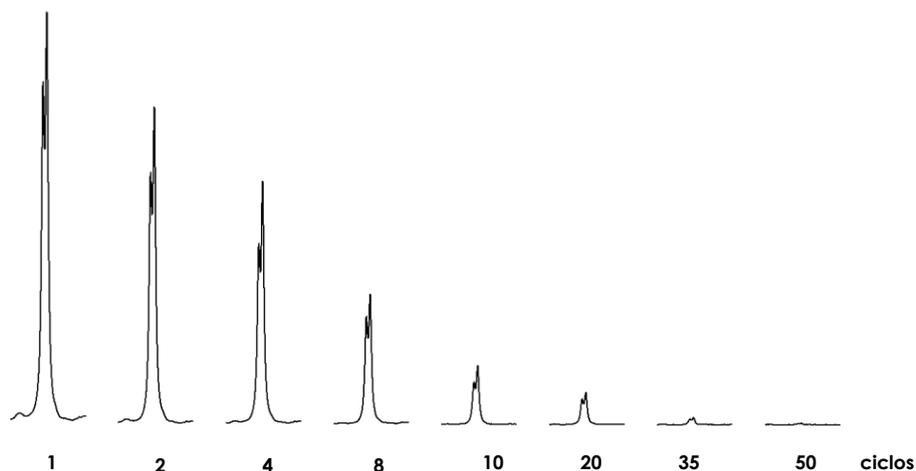


Figura 29. Evolución de la intensidad de la señal del  $^1\text{H}$  aromático no. 5 de la resina con el experimento "Carr-Purcell-Meiboom Gill" para la determinación de  $T_2$  a  $40^\circ\text{C}$ , adquiriendo 8 espectros con un número de ecos de espín entre 1 y 50.

En la Figura 30, se muestran las curvas de relajación  $T_2$  correspondientes a la señal del protón aromático 5, a las diferentes temperaturas de trabajo. Se puede observar que a mayor temperatura, el número de ecos de espín necesarios para que la señal se desfase por completo es mayor que a bajas temperaturas, por lo que se obtienen valores de  $T_2$  más grandes, indicando un aumento de la movilidad de las partículas.

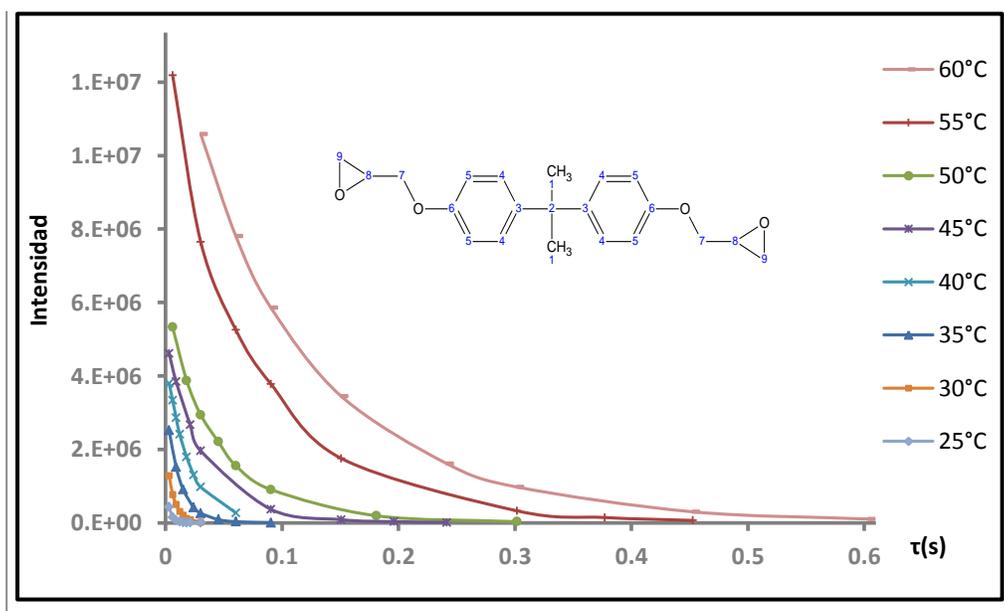


Figura 30. Curvas obtenidas para la determinación de  $T_2$  correspondientes al  $^1\text{H}$  aromático no. 5 a las diferentes temperaturas de trabajo.



Los resultados de  $T_2$  obtenidos para todos los protones de la molécula se encuentran en la Figura 31. Como ya se mencionó en la sección 3.3.2.1, la relajación  $T_2$  disminuye mientras mayor sea la movilidad de las partículas en emulsión, por lo tanto, al aumentar la temperatura el valor de  $T_2$  aumenta. Al comparar los valores experimentales obtenidos de  $T_1$  y  $T_2$ , se puede observar que en todas las temperaturas estudiadas  $T_2 < T_1$ .

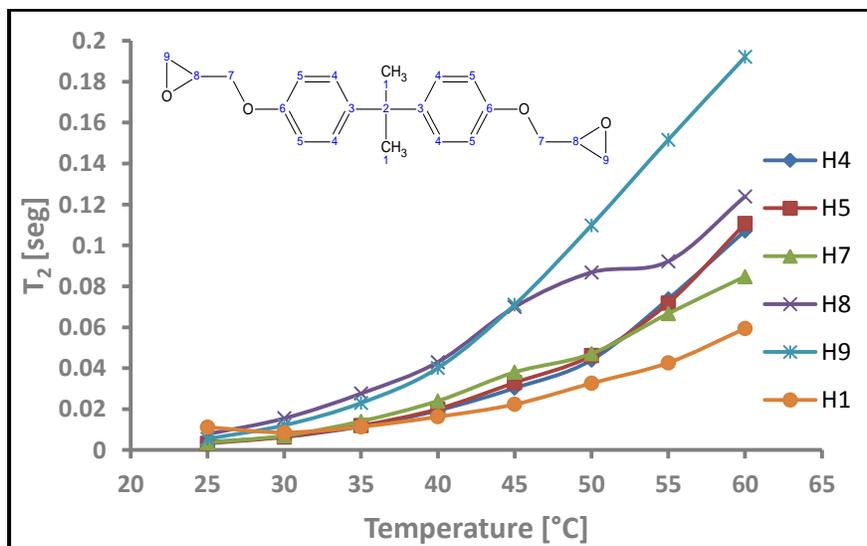


Figura 31. Gráfico del tiempo de relajación transversal en función de la temperatura.

## 5.5 Determinación del coeficiente de difusión de la resina en la emulsión

Para determinar el coeficiente de difusión se utilizó una secuencia basada en **PFGSE** (sección 4.2.3.3) y se analizó la atenuación de la intensidad de las señales en función de la fuerza de gradientes  $G_z$ . Sin embargo, en particular para nuestro caso de estudio, no hay que olvidar que la intensidad de la señal al final de cualquier experimento depende de la relajación, la relajación cruzada y el intercambio químico. En los estudios de difusión cuando la magnetización está en el plano transversal la señal se ve afectada tanto por la difusión como por la relajación transversal, mientras que cuando la magnetización se encuentra en el plano longitudinal, se ve afectada tanto por la difusión como por la relajación longitudinal. Las Ecuación 7a y 7b describen la atenuación de la señal en función



de los tiempos de relajación para la secuencias **BPPLED** y **DBPPLED** respectivamente.<sup>48</sup>

$$a) \quad A_R = A_0 \exp^{-2 \frac{\delta + \tau}{T_2} \frac{T + Te}{T_1}}$$

$$b) \quad A_R = A_0 \exp^{-4 \frac{\delta + (\tau_1 + \tau_2)/2}{T_2} \frac{T + \frac{\tau_1 - \tau_2}{2} + Te}{T_1}}$$

*Ecuación 7. Ecuaciones que describen la dependencia de la intensidad de señal observada en función de la relajación ( $A_R$ ) donde  $A_0$  es la intensidad de la señal de referencia. a) secuencia **BPPLED** y b) **DBPPLED** (ver Figura 15 y Figura 17 respectivamente).*

Después de analizar los tiempos de relajación determinados anteriormente, se sabía que a 25°C no se observarían las señales anchas de la resina al final de los experimentos de difusión y que a esta temperatura se podía estudiar mejor la presencia de compuestos con alta movilidad. Por ejemplo, la Figura 32a muestra el espectro de RMN-1H de la emulsión, donde aún se observan las señales anchas de la resina; mientras que la Figura 32b muestra el espectro de difusión-**BPPLED** con fuerza de gradiente del 5% donde sólo se observan con buena relación señal/ruido la señal del H<sub>2</sub>O y la del etanol. Estos dos espectros deberían ser muy similares entre sí en cuanto a la atenuación de las señales por difusión se refiere, ya que sólo se está aplicando 5% de la corriente máxima; sin embargo, la atenuación de las señales de la resina es grande debido a que los tiempos de relajación  $T_2$  de éstas son muy cortos.

---

<sup>48</sup>Jerschow, A.; Müller, N., *Journal of Magnetic Resonance*, 125, 372-375, (1997).

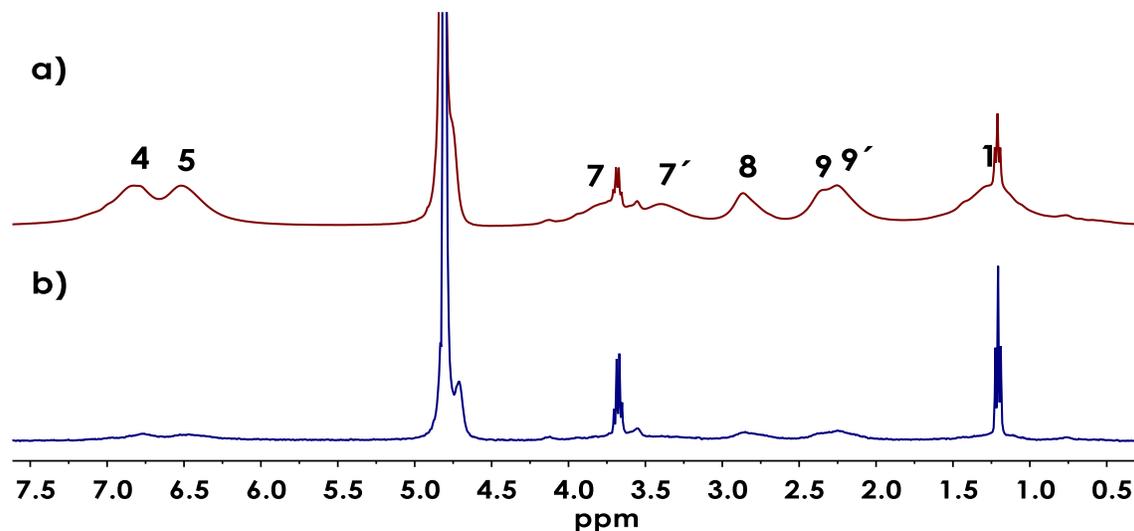


Figura 32. Espectros de RMN- $^1\text{H}$  (400 MHz) en  $\text{D}_2\text{O}$  de la emulsión de DGEBA  $n=0$  a  $25^\circ\text{C}$  a)  $^1\text{H}$  b) Difusión, secuencia **BPPLED**,  $\Delta=600$  ms,  $\delta/2=1.5$  ms, con 5% de la corriente máxima y periodo **LED**=50 ms.

Al saber que era necesario trabajar a una temperatura superior a  $25^\circ\text{C}$ , se probó la secuencia de difusión **BPPLED** a  $40^\circ\text{C}$ . Para ver si había efectos de convección, se utilizó un delta de difusión de tan sólo 100 ms y se adquirieron 16 espectros con incrementos lineales de fuerza de gradiente de 2 a 95%. Se encontró que los efectos de convección eran muy severos. Los resultados se muestran en la Figura 33, donde se observa que la intensidad de la señal del protón aromático 5 presenta una atenuación anormal al incrementar la fuerza de gradientes, incluso con oscilaciones a valores negativos en algunos puntos.

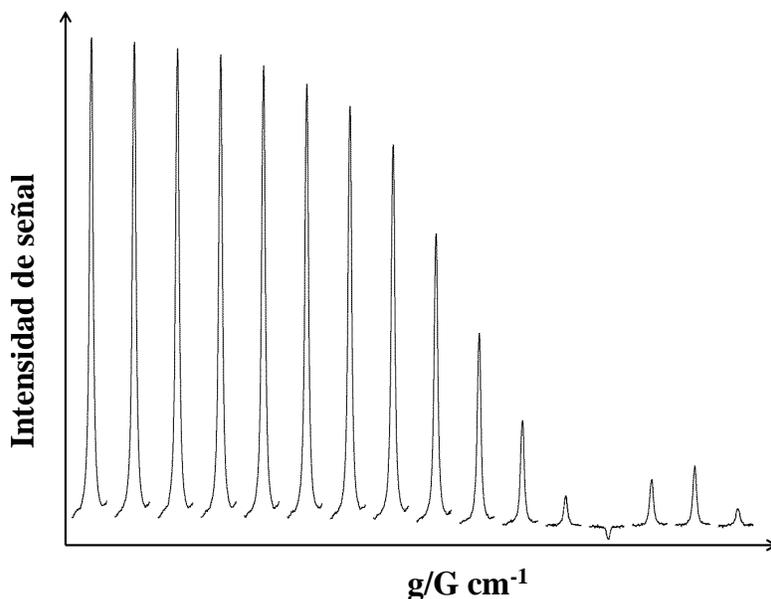


Figura 33. Disminución de la intensidad de la señal correspondientes al  $^1\text{H}$  aromático no. 5 de la resina a  $40^\circ\text{C}$  en función de  $G$  (16 espectros con incrementos lineales de 2 a 95% de la corriente máxima), secuencia **BPPLIED**,  $\Delta=100$  ms y  $\delta/2=15$  ms.

### 5.5.1 Eliminación de los efectos de convección en experimentos de Difusión

Como se mencionó en la sección 3.3.6, para eliminar o minimizar los efectos de convección se puede utilizar la misma secuencia girando el tubo de RMN;<sup>49</sup> sin embargo, por un problema con el equipo que se está utilizando no se obtienen buenos espectros de difusión al activar el giro, por lo que para poder estudiar el movimiento de difusión y separarlo del movimiento de convección se recurrió a utilizar la secuencia especial que compensa el efecto de la pérdida de señal que se produce por cualquier movimiento en la muestra a velocidad constante: **DBPPLED** (sección 3.3.7.6). Al aplicar esta secuencia de pulsos se obtuvo una curva de atenuación normal para las señales de la resina en emulsión.

<sup>49</sup>N. Esturau, F. Sánchez., *Journal of Magnetic Resonance*, 153, 48-51(2001).



La Figura 34 muestra los espectros a 40°C con la secuencia **DBPPLED**, en dicha figura se han igualado las intensidades de las señales de la resina en los espectros adquirido con fuerza de gradiente de 5 y 95 % solo con fines de visualización, el valor real de la intensidad de las señales de la resina en el espectro b) es del 49% respecto a la intensidad de las de a). En el espectro se puede observar que al aplicar el 95% de la corriente máxima las señales del agua y del etanol se han atenuado por completo, ya que son moléculas pequeñas y difunden mucho más rápido que los agregados de la resina en emulsión.

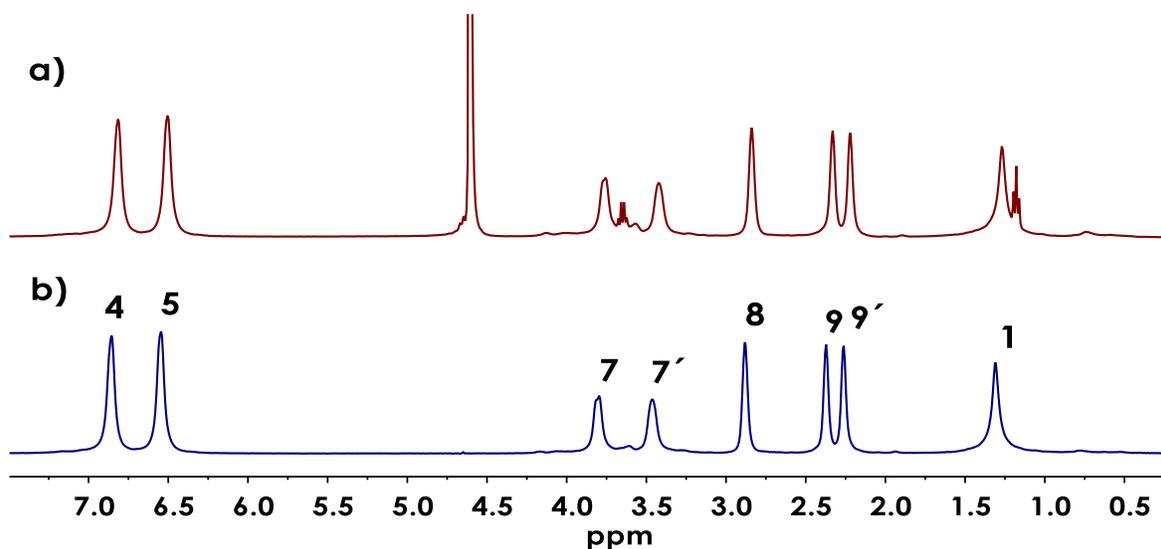


Figura 34. Espectros de difusión de la emulsión de DGEBA  $n=0$  en  $D_2O$  a 40°C. Secuencia **DBPPLED**,  $\Delta=1$  seg,  $\delta/2=3$  ms. Con a) 5% y b) 95% de la corriente máxima. La intensidad de las señales de la resina ha sido igualada en ambos espectros.

La Figura 35 muestra la representación DOSY obtenida con el software Topspin 3.2 de los experimentos obtenidos utilizando la secuencia de pulsos **DBPPLED**, donde se observa cómo las señales de los diferentes compuestos aparecen a diferentes valores del eje de difusión, es decir, los componentes han sido separados en la dimensión de **D**. Se puede observar que las señales de la resina aparecen en un valor de  $\log D = -11.94$  ( $D = 1.14 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$ ). En cuanto a las señales tanto del  $H_2O$  como del etanol, no se ven bien definidas, ya que las condiciones seleccionadas para este experimento DOSY fueron las adecuadas para las señales de la resina que difunden lento y que requieren aplicar gradientes fuertes y tiempos de difusión largos. En estas condiciones la señal del



agua se ha atenuado por completo a partir de 8.2% de la corriente máxima, es decir, en el segundo incremento de la fuerza de gradiente utilizada, por lo que solo se tiene un punto y no es posible realizar la transformada de Laplace inversa. Para poder obtener el valor de **D** del agua en la emulsión ( $\log D = -8.57$  o  $D = 2.69 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ ), fue necesario optimizar los experimentos con condiciones más suaves, con menor duración de los gradientes y menor separación entre ellos. Las curvas de decaimiento con los parámetros utilizados para la resina y para el agua se muestran en la Figura 36.

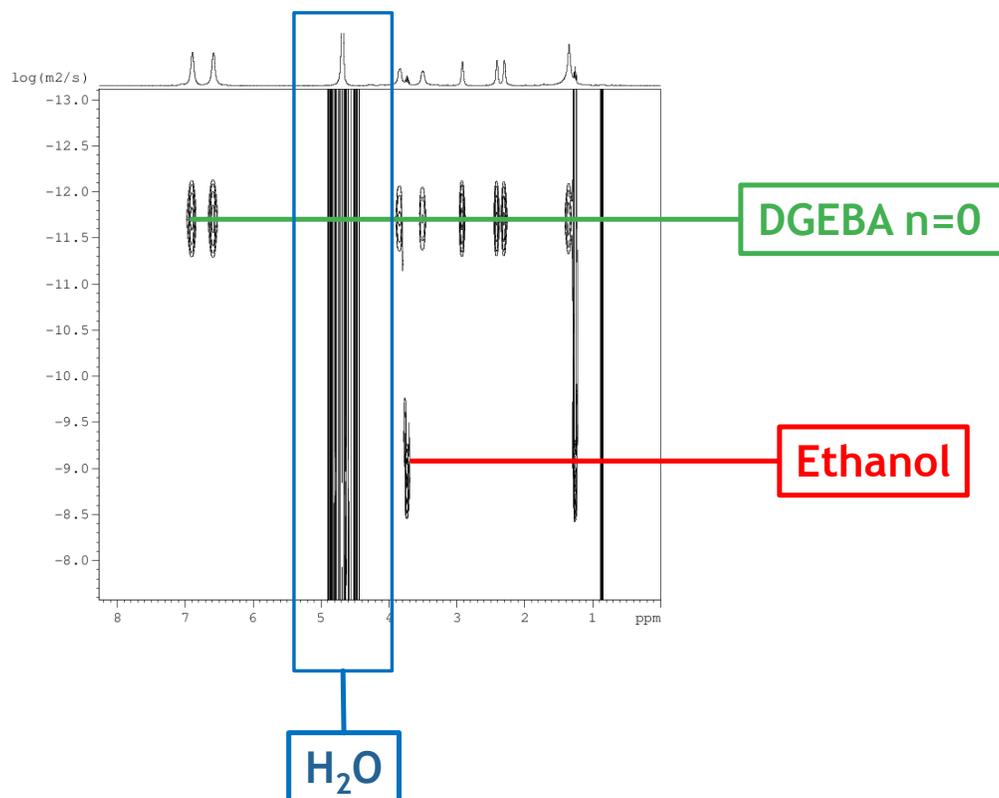


Figura 35. Representación DOSY obtenida con el Topspin 3.2 para la emulsión de la resina DGEBA  $n=0$  a  $40^\circ\text{C}$  con 1 s para el tiempo de difusión, 5 ms para la duración total de los gradientes con forma rectangular ( $\delta/2=2.5 \text{ ms}$ ) y 5 ms para  $T_e$ .

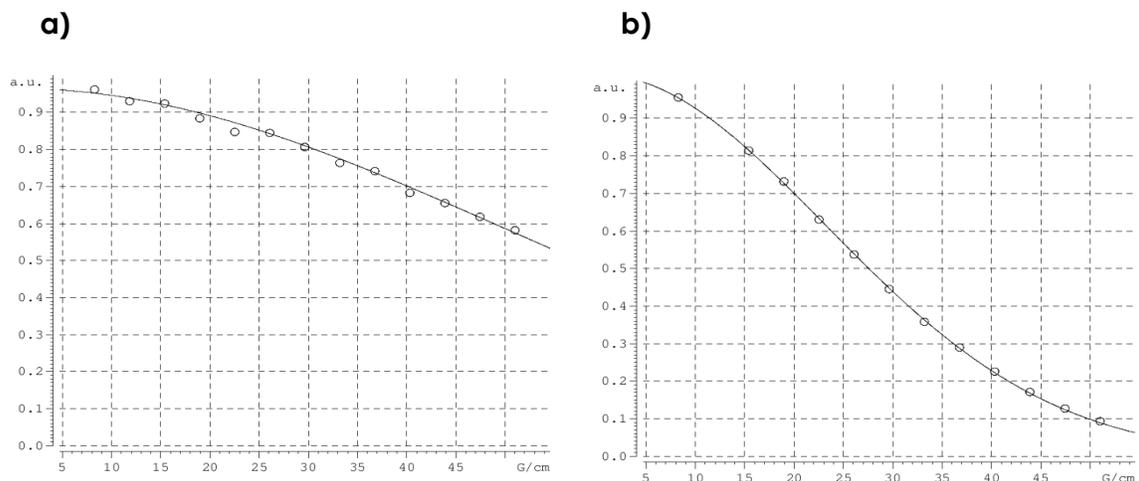


Figura 36. Disminución de la intensidad de la señal con secuencia **DBPPLD** en función de  $G$  (16 espectros con incrementos lineales de 2 a 95% de la corriente máxima) a  $40^{\circ}C$  de a) señales de la resina en emulsión,  $\Delta=1s$  y  $\delta/2=2.5ms$  y b) Señal del  $H_2O/D_2O$ ,  $\Delta=50ms$ ,  $\delta/2=0.8ms$ .

La Figura 37, muestra el mismo espectro DOSY de la Figura 35, pero procesado con el software Dynamics Center. Se puede observar que las señales tanto del  $H_2O$  como del etanol no aparecen, esto se debe a que dicho software permite seleccionar las señales del espectro que se desean procesar.

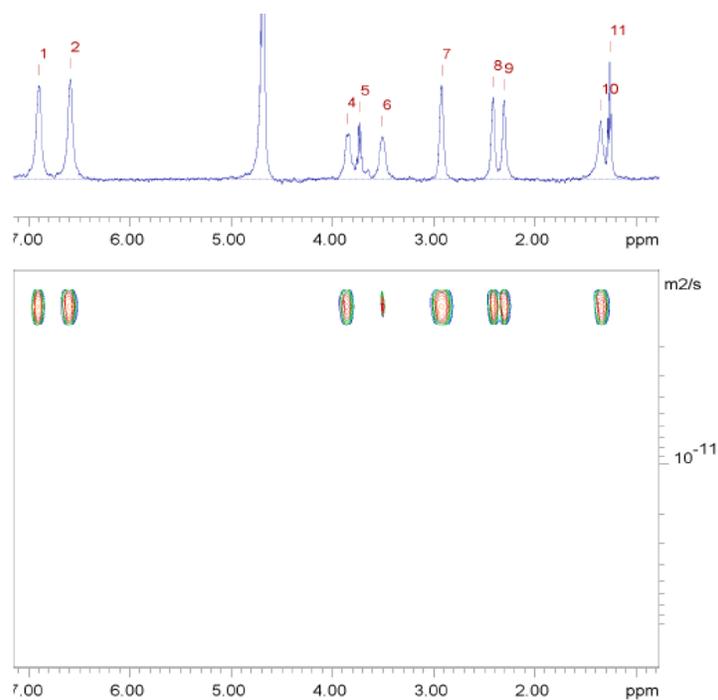


Figura 37. Representación DOSY obtenida con el software Dynamics Center para la emulsión de la resina DGEBA  $n=0$  a  $40^{\circ}C$ .



## 5.6 Cálculo del radio hidrodinámico de la resina en emulsión

El  $r_h$  de un compuesto puede ser estimado con la ecuación de **Stokes-Einstein** (Ecuación 1) al trabajar con soluciones diluidas si se considera que la viscosidad es aproximadamente igual a la del disolvente puro, algunos ejemplos que utilizan esta aproximación son la determinación de  $r_h$  en agregados de n-butil litio<sup>50</sup> o la presencia de aniones y cationes solvatados.<sup>51</sup> El  $r_h$  de un compuesto también puede ser estimado por comparación con un compuesto de referencia en la misma muestra que posea un  $r_h$  conocido. En estos casos no es necesaria la determinación de  $D$  con mucha precisión ni el conocimiento de la viscosidad de la solución ni de la temperatura de la medida ya que el valor de  $D$  de ambos compuestos se determina simultáneamente en la misma solución mediante la relación de la Ecuación 8.<sup>52</sup>

$$r_h = \frac{D_{ref}}{D} r_h^{ref}$$

*Ecuación 8. Ecuación que describe la relación entre el coeficiente de difusión y el radio hidrodinámico de un compuesto de referencia con el coeficiente de difusión y el radio hidrodinámico de un compuesto cuyos parámetros no son conocidos.*

En este estudio, para realizar el cálculo del  $r_h$  de las partículas en la emulsión, se utilizó como referencia interna el  $r_h$  del HDO asumiendo que este no cambia en la emulsión. El  $r_h$  del HDO se calculó con la ecuación de **Stokes-Einstein** considerando una simetría esférica y utilizando el valor de  $D_{HDO}$  en  $D_2O$  a  $40^\circ C$  reportado en la bibliografía.<sup>53</sup> Para calcular el  $r_h$  de las partículas en la emulsión fue necesario hacer ciertas consideraciones respaldadas en las condiciones experimentales. Estas consideraciones fueron: la cantidad de HDO en la esfera de solvatación es mínima y su difusión no contribuye al  $D_{resina}$  determinado y, la

<sup>50</sup>Keresztes, I.; Williard, P. G., *Journal of the American Chemical Society*, 122, 10228-10229 (2000).

<sup>51</sup>Balzano, F.; Cuzzola, A.; Diversi, P.; Ghiotto, F.; Uccello-Barretta, G., *European Journal of Inorganic Chemistry*, 5556-5562, (2007).

<sup>52</sup>Ackerman, M. S.; Shortle, D., *Biochemistry*, 41, 13791-13797, (2002).

<sup>53</sup>R. Mills, *Journal of Physical Chemistry*, 77, 5, 685-688, (1973).



difusión molecular de la resina que pudiera ocurrir dentro de cada partícula de la emulsión no contribuye al  $D_{resina}$  experimental.

- Valores de la literatura:

$$k_B = 1.38066 * 10^{-23} \frac{kgm^2}{KS^2}$$

$$\eta(D_2O_{40^\circ C}) = 0.0008 \frac{kg}{mS} = 0.7866cP^{54}$$

$$D(HDO_{40^\circ C}) = 2.69 * 10^{-9} \frac{m^2}{s}$$

- Sustituyendo en la ecuación de **Stokes-Einstein**, el valor del  $r_h$  calculado para el HDO es:

$$r_{hHDO} = 1.07 * 10^{-10} m$$

- Valores experimentales:

$$D(HDO/EM_{40^\circ C}) = 2.75 * 10^{-9} \frac{m^2}{s}$$

$$D(resina/EM_{40^\circ C}) = 1.14 * 10^{-12} \frac{m^2}{s}$$

- Sustituyendo en la ecuación Ecuación 8, el valor del  $r_h$  y el diámetro de la partícula en la emulsión es:

$$r_{hresina} = 2.58 * 10^{-7} m = 258 nm$$

$$d = 516 nm$$

El valor estimado del diámetro de partícula por RMN se comparó con los resultados preliminares obtenidos por DLS (equipo Malvern Zetasizer Nano S) para la misma emulsión en condiciones muy diluidas (solución translúcida), cuyo valor fue de 515.5 nm. A pesar de que son resultados preliminares y sería conveniente realizar más mediciones, estos valores presentan una muy buena correlación entre ambas técnicas.

---

<sup>54</sup>Hardy Robert C., Cottington Robert L., *Journal of Research of the National Bureau of Standards*, 42, 573-578, (1949).



## 6 Conclusiones

En este trabajo se ha profundizado en el estudio de la emulsión comercial de la resina epóxica líquida DGEBA n=0 mediante la determinación del coeficiente de difusión por RMN a 40 °C. En concreto se pueden citar como conclusiones de la tesis:

- La excelente solubilidad de la resina DGEBA n=0 en  $\text{CDCl}_3$  produce picos finos en los espectros de RMN lo que permite confirmar fácilmente la estructura y estimar el grado de pureza de dicho material.
- El espectro de  $^1\text{H}$  en  $\text{D}_2\text{O}$ , a temperatura ambiente, permite la observación de los compuestos que presentan un proceso de relajación lento, es decir, que tienen tiempos de relajación largos y por tanto señales finas, como es el caso del etanol encontrado en la emulsión. Sin embargo, las señales de la resina en la emulsión acuosa a esta temperatura son muy anchas.
- Los efectos de la temperatura sobre los tiempos de relajación  $T_1$  y  $T_2$ , proporcionan información muy valiosa acerca de la muestra, ya que están relacionados con procesos que involucran tanto la interacción entre los espines nucleares y sus entornos moleculares ( $T_1$ ) como con las interacciones entre los espines nucleares ( $T_2$ ).
- Conocer los valores de los tiempos de relajación facilita la optimización de los experimentos de difusión.
- Para estudiar la auto-difusión de la emulsión es necesario controlar la temperatura, debido a que a temperatura ambiente los agregados se mueven poco y generan señales de  $^1\text{H}$  muy anchas, al subir la temperatura, hay mayor movilidad y los tiempos de relajación son más largos; lo que permite hacer experimentos de difusión.
- El regular la temperatura en los experimentos con gradientes de campo magnético, puede ocasionar efectos indeseables debido a la convección, por lo que es necesario utilizar alguna estrategia para



eliminarla, como lo es el aplicar secuencias especiales diseñadas para este fin.

- El  $r_h$  estimado para las partículas de la resina en emulsión por RMN es similar al obtenido en la prueba preliminar por DLS.
- La técnica de PFG-RMN se distingue de las de dispersión de luz porque es un método no invasivo que además permite hacer un análisis global y determinar la presencia de los compuestos en concentraciones detectables por la técnica de RMN, como fue en este caso la presencia de etanol.