



An Investigation of the Sample Rotation Effects on Suppression of Convective Flows in PGSE Diffusion NMR Experiments

Minkyong Kim¹ and Kee-Choo Chung^{2*}

¹Department of Chemistry, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea, South Korea

²Department of Bioscience and Biotechnology, Sejong University, Seoul 143-747, South Korea

Received Apr 12, 2016; Revised May 12, 2016; Accepted May 19, 2016

Abstract Undesirable convective flow in an NMR tube inhibits the accurate measurement of diffusion coefficients by NMR spectroscopy. To minimize the convection effects, various methods have been suggested, and it has been known that the use of sample rotation can be useful. However, it has not been clearly examined that the convection suppressing effect of the sample rotation under the different spinning speeds. In this study, the relation between convective flow and the sample rotation was investigated using PGSE NMR diffusion experiments to reveal the feasibility for controlling the convective flow in an NMR tube by sample rotation itself. The viscosity effect was also examined using solvents with four different viscosities, acetone-*d*₆, chloroform-*d*, pyridine-*d*₅, and D₂O.

The sample rotation showed apparent convection suppressing effects at all temperature range for the low viscosity solvents, acetone-*d*₆ and chloroform-*d*, even at the faster than 5 Hz spinning rate. The similar patterns were also observed for pyridine-*d*₅ and D₂O, which have higher viscosity. This effect was observed even at high temperatures where convective flow arises conspicuously.

Keywords diffusion, convection, sample rotation, viscosity, volume effect, NMR

서문

Pulsed Gradient Spin Echo (PGSE) NMR 법을 이용한 확산계수 측정은 혼합물을 구성하고 있는 화합물의 구조나 분자량에 관한 정보를 제공할 수 있는데, 특히 다른 분석 방법과 달리 물리적인 분석 과정 없이 혼합물 내의 구성성분을 분석할 수 있다는 점에서 매우 유용한 방법이다.¹⁻³ 그러나 NMR 분광기를 이용하여 확산계수를 측정할 때에는, 설정된 온도로 조절된 공기가 시료의 아래쪽에서 유입되는 분광기 자체의 구조로 인해 액체 시료 내에서 대류현상이 발생하게 되고, 이 때문에 실험을 통해 얻은 확산계수 값에 종종 오차가 발생하게 된다. 이것은 대류의 정도에 차이가 있을지언정 고온이나 저온에서 마찬가지로 양상을 보이는데, 고온의 경우 시료가 담긴 NMR tube의 아래쪽에서 뜨거운 공기가 흘러 들어오므로 대류의 영향을 자연스럽게 예측할 수 있으나 저온에서도 같은 효과가 있다는 것은 일견 이해하기 힘든 일이다. 허나, tube의 아래쪽이 더 차가운 저온실험에서도 시료의 평면상에 생기는 온도 기울기로 인해 z축 방향으로의 시료 입자의 움직임이 유도될 것이라는 해석은 이미 제시된 바 있다.^{4,5} 이와 같이 고온에서 뿐만 아니라 저온에서도 쉽게 관측되는 대류효과를 억제하기 위한 다양한 방법을 여러 연구그룹이

* Address correspondence to: **Kee-Choo Chung**, Department of Bioscience and Biotechnology, Sejong University, Seoul 143-747, South Korea, Tel: 82-2-3408-3766; E-mail: kcchung@sju.ac.kr

제안하였는데, 새로운 형태의 NMR tube 고안,^{6,7} convection compensating pulse sequence와 같은 펄스 시퀀스의 개발⁸ 등이 그것이다. 이와 더불어, 대류 현상에 따른 액체 시료 내 입자의 운동을 최소화 하는 데에는 단순한 sample rotation 만으로도 만족할 만한 효과를 얻을 수 있다는 주목할 만한 연구 내용이 보고된 적이 있다.^{9,10} 그러나, 이전의 연구에서는 그 효과가 시료의 회전속도를 변화시켰을 때에도 유지되는지, 혹은 시료의 점성에 따라 sample rotation의 대류 억제 효과가 달라지는지 등은 따로 보고되지 않았다. 따라서, 이번 연구에서는 점성이 다른 네 가지 용매인 acetone-*d*₆, chloroform-*d*, pyridine-*d*₅, 그리고 D₂O에 대해 0에서 40 Hz까지 spinning rate을 변화시켜 가며 여러 온도에서 확산계수를 얻어 그 결과를 분석해 보았다. 또한 시료 부피에도 변화를 주어 sample rotation의 대류 억제 효과와 시료 부피간의 영향 역시 추가적으로 알아보았다.

실험방법

Sampling - 실험에 사용한 용매인 acetone-*d*₆, chloroform-*d*, pyridine-*d*₅, D₂O는 모두 Sigma-Aldrich 제품을 별도의 정제과정 없이 사용하였다. 각각의 용매들을 보통의 5mm tube에 부피를 다르게 하여 넣고, 대류 효과를 제외한 diffusion coefficient 값의 측정을 위해 capillary tube에도 같은 용매들을 넣어 실험하였다.

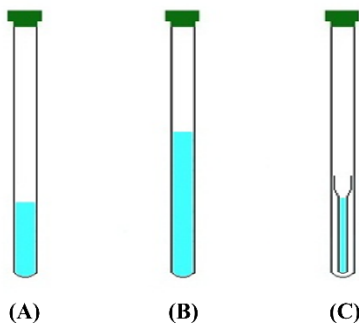


Figure 1. Samples in a normal 5 mm o.d. NMR tube with 4 cm (a) and 8 cm (b) heights, and in a micro-tube (c) with 4 cm height.

Diffusion Experiments - 모든 확산 계수의 측정은 끓는점의 차이로 인해 acetone-*d*₆와 chloroform-*d*의 경우 278K에서 318K까지, 그리고 pyridine-*d*₅와 D₂O의 경우 278K에서 338K까지 10°C 간격으로 Pulsed Gradient Spin Echo (PGSE) 측정법을 통해 이루어졌다. 실험에 사용한 gradient duration time은 1~2 msec였고 diffusion time은 50~70 msec였다. Gradient strength는 2 G/cm에서 80 G/cm까지 16 단계로 변화시키며 spin-echo를 측정하였다. 모든 NMR 실험은 중앙대학교의 Varian VNS 600 NMR 분광기를 사용하였다.

실험의 정확도와 재현성을 확보하기 위하여 90° 펄스를 각 실험마다 새로 구하여 사용하였고 모든 실험은 세 번씩 반복하여 평균값을 구했다. Magnetization의 충분한 이완을 위해서는 10초 이상의 이완 시간을 할당하였다.

결과와 고찰

본 연구에서 대상으로 택한 네 가지 용매들은 크게 viscosity가 적은 acetone-*d*₆와 chloroform-*d*, viscosity가 큰 pyridine-*d*₅와 D₂O 그룹으로 나눌 수 있다. (Table 1) 각 용매에 대해 여러 온도에서 spinning rate을 달리해가며 self-diffusion coefficient를 측정하였고, 그 결과를 Figure 2에 도시하였다. Figure 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 점도가 낮은 acetone-*d*₆와 chloroform-*d*의 경우, 시료의 온도가 실온과 비슷하여 대류효과의 영향을 거의 받지 않는 298K를 제외하고는 거의 전 온도에서 시료를 회전시켰을 때 측정된 self-diffusion coefficient 값이 그렇지 않을 때의 값에 비해 크게 줄어드는 것으로 나타났다.

Table 1. Viscosities of four solvents in cP used in this experiment at various temperatures.¹²⁻¹⁴

Solvent	278K	298K	308K	318K
acetone- <i>d</i> ₆	0.382	0.326	0.297	0.271
chloroform- <i>d</i>	0.678	0.542	0.491	0.440
pyridine- <i>d</i> ₅	-	0.945	0.821	0.721
D ₂ O	1.974	1.092	0.868	0.710

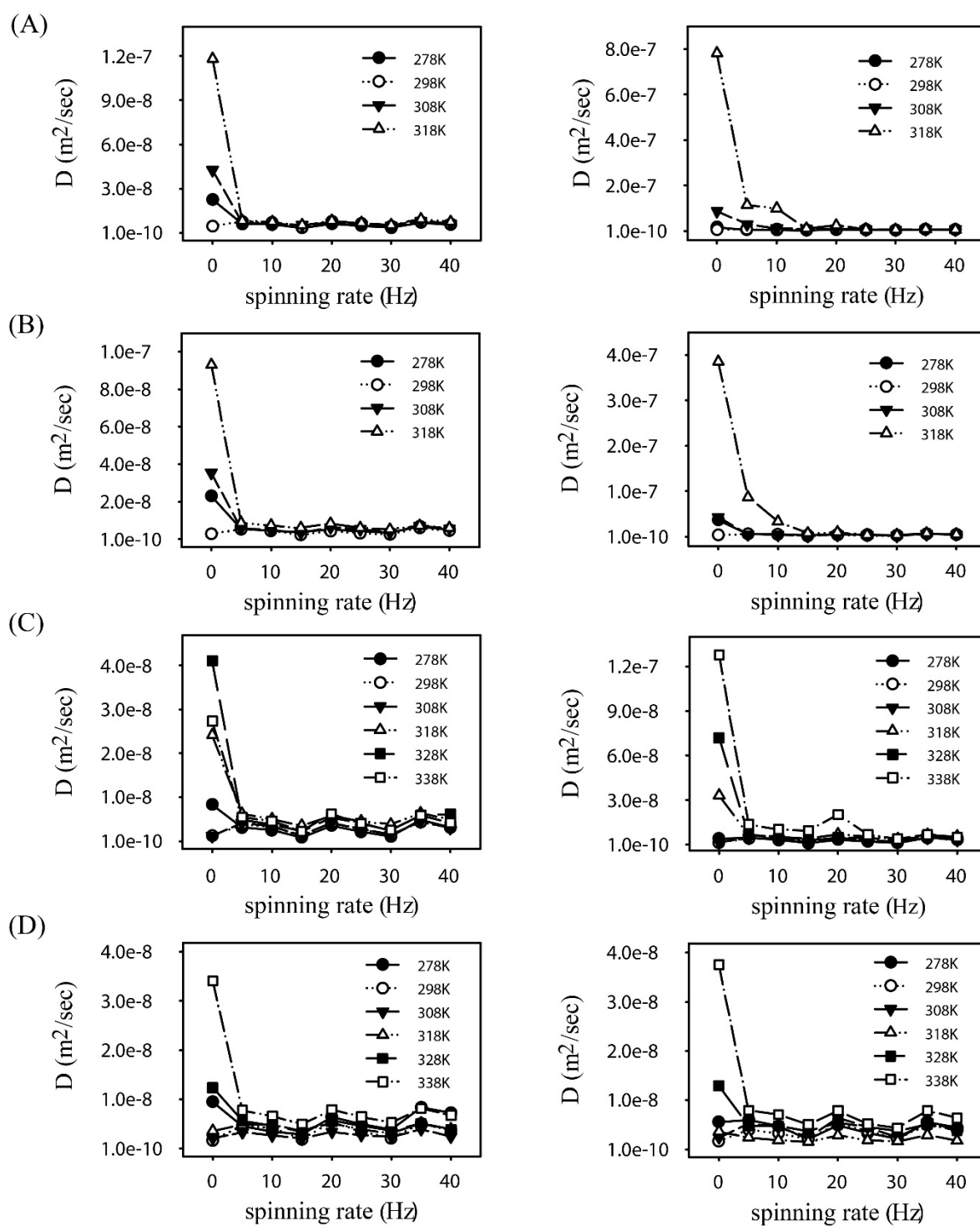


Figure 2. The plots of measured self-diffusion coefficients of (A) acetone- d_6 , (B) chloroform- d , (C) pyridine- d_5 , and (D) D_2O according to the sample spinning rate in Hz. The diffusion coefficients obtained from the samples with 4 cm height are shown in left, and those from the samples with 8 cm height are shown in right.

Pyridine- d_5 와 D_2O 의 경우에는, 두 용매 모두 저온 영역인 278 K 에서 대류 효과를 나타내었고 용매 자체의 높은 점도가 대류 억제 인자로 작용하여 pyridine- d_5 의 경우 318K 이상, D_2O 의 경우 328 K 이상이 되어야 대류 현상을 보였다. 이 때, 전 용매에 대해서 spinning rate 이 15 Hz 이상이 되면 부피의 차이에 따른 확산계수 값의 차이는 크게 나타나지 않았는데, 이는 주목할 만한 결과이다. 왜냐하면, 2 배 부피의 시료에서는 대류효과가 더 크게 나타나는데,¹¹ 이렇게 부피에 따라 크게 증가하는 대류 현상조차 단순한 sample rotation 을 통해 억제할 수 있다는 것을 의미하기 때문이다. 대류 현상을 최대한 억제한다고 알려져 있는 capillary tube 를 사용하여 얻은 확산계수 값과 보통의 5 mm tube 에 담은 시료에 대한 확산계수 값의 비를 spinning rate 에 따라 도시하면 sample rotation 에 따른 효과를 확연히 볼 수 있는데, Figure 3 에 그 한 예를 나타내었다. Figure 3 에서 볼 수 있듯이, 점도가 낮은 acetone- d_6 에서는 sample rotation 이 없을 때 (spin=0) 대류에 의한 용매 입자의 움직임에 의해 capillary tube 에서의 확산계수보다 대략 25 배 정도 큰 확산계수가 측정되었다. 하지만 sample rotation 이 시작되자 그 크기에 거의 상관하지 않고 대류에 의한 입자의 운동이 효과적으로 억제되었다. Pyridine- d_5 의 경우 큰 점도로 인해 spin 이 없을 때의 capillary tube 와의 확산계수 비가 대략 7 배 정도에 지나지 않지만, 이 역시 spin 이 가해지면 급격히 낮아져 거의 1 의 값에 근접하는 것을 볼 수 있다. 이와 같은 sample rotation 의 대류 억제 효과는 Coriolis effect 에 설명될 수 있을 것이다.

Coriolis effect 혹은 Coriolis force 는 회전하는 계에서 발생하는 가상적인 힘을 말하는데, 이 때문에 회전하는 계 내에서의 입자의 운동은 한 쪽 방향으로 편향되게 된다. NMR tube 내에서 대류 현상이 일어난다면 시료의 회전으로 인해 z 축 방향으로 움직이는 입자의 궤적에 변화가 생기게 될 것이고 이것이 대류 효과의 억제로 나타나게 될 것이다. 또한 이러한 편향은 z 축 방향으로의 입자의 운동을

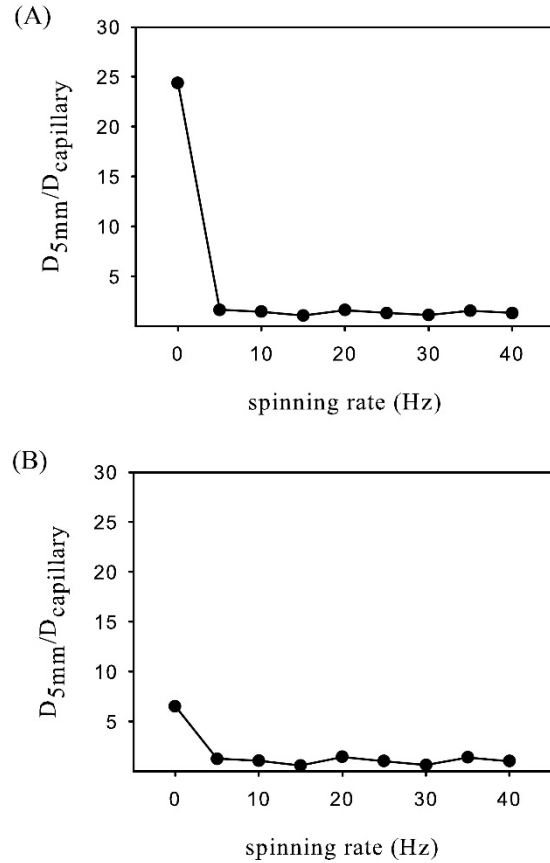


Figure 3. The ratios of diffusion coefficient values for the samples in a 5 mm tube and a capillary tube. (A) acetone- d_6 at 318 K and (B) pyridine- d_5 at 338 K.

유도하는 x,y 평면상의 온도 기울기를 줄일 수 있는데,^{4,5} 이 점 역시 대류 효과의 억제에 기여할 수 있을 것으로 생각된다.

이 연구를 통해 sample rotation 의 대류 억제 효과가 부피, 온도, 용매의 점도에 크게 상관없이 유효함을 확인할 수 있었다. 하지만, 시료의 회전은 분광기 내의 mechanical stability 를 낮추게 되어 생성된 gradient field 에 미세한 공간적 불균일성을 가져올 수도 있어 매우 정밀한 실험을 요할 때에는 좋은 방법이 아닐 수도 있다.¹⁵ 그러나, 일상적으로 사용하는 NMR 분광기의 간단한 기능의 적용이 확산계수 측정에 가장 큰 걸림돌로 작용하는 대류 효과를 효과적으로 억제할 수 있음은 큰 장점이 아닐 수 없다. 따라서,

요구되는 실험의 정밀도가 허락하는 내에서 시료의 회전은 확산 계수 측정 시 대류효과 억제에 한 방법으로 유용하게 사용될 수 있으리라 생각된다.

결론

PGSE-NMR 법을 이용, 점도가 다른 용매 acetone- d_6 , chloroform- d , pyridine- d_5 , 그리고 D_2O 에 대해 spinning rate 을 달리하여 여러 온도에서 self-diffusion coefficient 를 구하였다. 이를 통해 용매의 점도에 상관 없이 대류 현상에 의한 용매 입자의 움직임이 sample rotation 에 의해

상당히 억제되는 것을 확인할 수 있었다. 이때 spinning rate 의 빠르기는 큰 영향을 끼치지 않았다. 뿐만 아니라, 시료 용매의 부피를 두 배로 늘려 역시 sample rotation 에 의한 대류 억제 효과를 관찰했을 때에도 원래 부피와 큰 차이 없이 spinning 이 있으면 대류 현상이 억제되는 것을 알 수 있었다. 이러한 sample rotation 의 대류 억제 효과는 Coriolis effect 에 의한 것으로 설명될 수 있을 것이다. 본 연구에서 확인한 sample spinning 에 의한 대류 억제 효과는 다양한 NMR diffusion experiment 에 적용될 수 있을 것으로 예상된다.

References

1. H. Barjat, G. A. Morris, S. Smart, A. G. Swanson, and S. C. R. Williams, *J. Mag. Reson. B* **108**, 170 (1995)
2. L. Avram and Y. Cohen, *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 15148 (2002)
3. S. W. Jeong and D. F. O'Brein, *Langmuir*. **18**, 1073 (2002)
4. N. M. Loening and J. Keeler, *J. Magn. Reson.* **159**, 55 (2002)
5. K.-C. Chung, H.-Y. Yu, and S. Ahn, *Bull. Korean Chem. Soc.* 1970 (2011)
6. J.-M. Wieruszkeski, B. Fritzing, X. Hanouille, J. C. Martins, and G. J. Lippens, *J. Magn. Reson.* **193**, 37 (2008)
7. K. Hayamizu and W. S. Price, *J. Magn. Reson.* **167**, 328 (2004)
8. G. H. Sorland, J. G. Seland, J. Krane, and H. W. Anthonsen, *J. Magn. Reson.* **142**, 323 (2000)
9. N. Esturau, F. S´anchez-Ferrando, J. A. Gavin, C. Roumestand, M.-A. Delsuc, and T. Parella, *J. Magn. Reson.* **153**, 48 (2001)
10. J. Lounila, K. Oikarinen, P. Ingman, and J. Jokisaari *J. Magn. Reson. A*, **118**, 50 (1996)
11. J. H. Seo and K.-C. Chung, *J. Kor. Mag. Reson. Soc.* **16**, 122 (2012)
12. S. F. Babak and V. V. Udovenko, *J. Gen. Chem.* **20**, 2204 (1950)
13. S. A. Levichev, "Fiziko-chimiceskie Svoystva Rastvorov" (1960)
14. R. Anantharaj and T. Banerjee, *J. Ind. Eng. Chem.* **18**, 331 (2012)
15. I. Swan,, M. Reid, P.W.A. Howe, M.A. Connell, M. Nilsson, M.A. Moore, and G.A. Morris, *J. Mag. Reson.* **252**, 120 (2015)