

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΞΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ
ΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ,
ΣΚΛΗΡΟΓΛΥΚΑΝΗ ΚΑΙ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗ, ΣΕ
ΑΡΑΙΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΜΕ ΤΗΝ ΧΡΗΣΗ ΤΗΣ
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ NMR.**

ΒΛΑΧΟΥ Δ. ΣΟΥΛΤΑΝΑ

**ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**

2000

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ το Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης, τόσο για την οικονομική ενίσχυση που μου παρείχε, μα κυρίως για την ευκαιρία που μου προσέφερε, να εκπονήσω αυτή την εργασία.

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Φασματοσκοπίας NMR του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης υπό την επιστημονική επιμέλεια του καθηγητή κ. Φώτη Νταή, τον οποίο ευχαριστώ θερμά για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντας μου την συγκεκριμένη εργασία για τη διαρκή καθοδήγηση και ενθάρρυνσή του κατά την εκπόνηση αυτής της εργασίας.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην κ. Α. Πολίτου για την εκπαίδευση και τις χρήσιμες συμβουλές της στη χρήση των φασματογράφων NMR.

Ευχαριστώ τον Dr. F. R. Tagavel για την άψογη συνεργασία του και τη συμμετοχή του σε ορισμένα στάδια αυτής της ερευνητικής εργασίας.

Ευχαριστώ τον Δρ. Α. Σπύρο για την βοήθειά του και τις συνεχείς του υποδείξεις κατά την διάρκεια αυτής της ερευνητικής εργασίας.

Ευχαριστώ τον Καθηγητή Α. Ρίζο για την πραγματοποίηση των πειραμάτων της δυναμικής σκέδασης φωτός.

Ακόμα, θα ήθελα να εκφράσω τις πιο θερμές, αλλά και ειλικρινείς ευχαριστίες στους συνεργάτες και φίλους Τυλλιανάκη Μανώλη και Λίλα Καραλή για την συνεχή βοήθεια και τις χρήσιμες συμβουλές και υποδείξεις του σε όλο το χρονικό διάστημα της εργασίας αυτής.

Ευχαριστώ επίσης τους φίλους μου Γούλα Άρη και Κούρτη Μαρία και για την ηθική, και όχι μόνο, συμπαράσταση και υποστήριξή τους σε όλο το χρονικό διάστημα εκπόνησης της εργασίας αυτής.

Τέλος, αλλά όχι τελευταίους, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου Δημήτρη και Στέλλα και την αδερφή μου Δέσποινα, για την αμέριστη συμπαράσταση τους όχι μόνο κατά την διάρκεια εκπόνησης αυτής της εργασίας αλλά σε όλη την διάρκεια της έως τώρα ζωής μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΕΛΙΔΑ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ 1

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Comment [PU1]:

1.1	ΘΕΩΡΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ.....	2
1.1.1	ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΠΟΛΟ-ΔΙΠΟΛΟ.....	3
1.1.2	ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΚΑΙ ΦΑΣΜΑΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ.....	6
1.1.3	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ.....	9
1.2	ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ.....	11
1.2.1	ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ T_1	11
1.2.2	ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΝΟΕ.....	15
1.3	ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ.....	16
1.3.1	Η ΣΠΟΥΔΑΙΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΚΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΣΤΗΝ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ.....	16
1.3.2	ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΕΣ ΚΙΝΗΣΕΙΣ ΜΙΑΣ ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ	17
1.3.3	ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ ΣΥΝΑΡΤΗΣΕΙΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΩΝ ΤΜΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΙΝΗΣΕΩΝ.....	18
1.3.3.1	ΜΕΤΑΒΑΣΕΙΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΕΩΝ	18
1.3.3.2	ΤΑΛΑΝΤΩΤΙΚΕΣ ΚΙΝΗΣΕΙΣ (LIBRATIONAL MOTIONS).....	20
1.3.4	ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ ΣΥΝΑΡΤΗΣΕΙΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΗΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΗΣ	22
1.3.4.1	ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΔΙΑΧΥΣΗ.....	23
1.3.4.2	ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ ΜΕ ΑΛΜΑΤΑ.....	24
1.3.4.3	ΠΟΛΛΑΠΛΕΣ ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΕΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΕΣ ΣΤΗΝ ΠΛΕΥΡΙΚΗ ΑΛΥΣΙΔΑ.....	27
1.4	ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ NMR ΔΥΟ ΔΙΑΣΤΑΣΕΩΝ.....	30
1.5	ΒΑΘΜΩΤΑ ΠΕΔΙΑ.....	32

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1	ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	34
	(α) ΣΚΛΗΡΟΓΛΥΚΑΝΗ.....	34
	(β) ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗ.....	35
2.2	ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ.....	36
2.3	ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΥ ΙΞΩΔΟΥΣ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ.....	37
2.4	ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΔΥΟ ΔΙΑΣΤΑΣΕΩΝ.....	39
2.5	ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ.....	40
2.5.1	ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΣΠΙΝ- ΠΛΕΓΜΑ.....	41
2.5.2	ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΝΟΕ.....	43
2.6	ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΕ ΘΕΩΡΗΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ.....	44

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

3.1	ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗ ΣΕ ΝΕΡΟ (D ₂ O) ΚΑΙ ΔΙΜΕΘΥΛΟΣΟΥΛΦΟΞΕΙΔΙΟ (DMSO-d ₆).....	46
3.3.1	ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	46
3.3.1.1	ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟ D ₂ O.....	46
3.3.1.2	ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟ DMSO-d ₆	60
3.3.2	ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	73
3.3.2.1	ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟ D ₂ O.....	73
	(α) ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ.....	73
	(β) ΤΜΗΜΑΤΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ ΤΗΣ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ.....	73
	(γ) ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΕΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΕΣ ΤΩΝ ΥΔΡΟΞΥΜΕΘΥΛΟΜΑΔΩΝ.....	75
3.3.2.2	ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟ DMSO-d ₆	77
	(α) ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ.....	77
	(β) ΤΜΗΜΑΤΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ ΤΗΣ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ.....	77
	(γ) ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΕΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΕΣ ΤΩΝ ΥΔΡΟΞΥΜΕΘΥΛΟΜΑΔΩΝ.....	79
2.3.3	ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟΥΣ ΔΥΟ ΔΙΑΛΥΤΕΣ.....	81

2.3.4 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΑΜΥΛΟΖΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΔΕΞΤΡΑΝΗ.....	83
3.2 ΣΚΛΗΡΟΓΛΥΚΑΝΗ.....	84
3.2.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ^1H ΚΑΙ ^{13}C -NMR ΤΗΣ ΣΚΛΗΡΟΓΛΥΚΑΝΗΣ.....	84
3.2.2 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΗΣ ΣΚΛΗΡΟΓΛΥΚΑΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΤΗ DMSO- d_6	92
3.2.2.1 ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	92
3.2.2.2 ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	105
(α) ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ.....	105
(β) ΤΜΗΜΑΤΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ ΤΗΣ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ.....	105
(γ) ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΕΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΕΣ ΠΛΕΥΡΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ.....	109
 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	 113

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

ΣΕΛΙΔΑ

Σχήμα 1. Μηχανισμός της αλληλεπίδρασης δίπολο- δίπολο ενός ζεύγους πυρήνων ^{13}C - ^1H τοποθετημένων σε ένα συμπαγές μόριο, το οποίο εκτελεί την περιστροφική κίνηση Brown σε διάλυμα. x, y, z είναι το καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων του εργαστηρίου, ενώ το σύστημα x', y', z' είναι τοποθετημένο στο μόριο.	3
Σχήμα 2. Μεταβολή της γωνίας θ που σχηματίζει το άνυσμα C-H με την κατεύθυνση της έντασης του εξωτερικού πεδίου B_0 , λόγω της κίνησης Brown στο διάλυμα. Το πεδίο αυτό B_0 θεωρείται ότι εφαρμόζεται κατά τον άξονα z .	5
Σχήμα 3. Μεταβολή της φασματικής πυκνότητας $J(\omega)$, συναρτήσει της συχνότητας ω για μικρούς, ενδιάμεσους και μεγάλους χρόνους συσχέτισης τ_c .	8
Σχήμα 4. Μεταβολή των χρόνων αποδιέγερσης σπιν-πλέγμα T_1 ως συνάρτηση του χρόνου συσχέτισης τ_c για διάφορες τιμές της έντασης του εξωτερικού πεδίου B_0 .	10
Σχήμα 5. Μεταβολή του παράγοντα NOE ως συνάρτηση του χρόνου συσχέτισης τ_c για διάφορες τιμές της έντασης του εξωτερικού πεδίου B_0 .	10
Σχήμα 6. Απεικόνιση της συμπεριφοράς της μαγνήτισης M_z υπό την υπό την επίδραση της ακολουθίας παλμών IRFT.	12
Σχήμα 7. Η ακολουθία παλμών IRFT για την μέτρηση του χρόνου αποδιέγερσης σπιν-πλέγμα, T_1 .	13
Σχήμα 8. Ακολουθία παλμών περιοδικής αποσύζευξης για την μέτρηση του παράγοντα NOE.	15
Σχήμα 9. Ανισοτροπική ταλαντωτική κίνηση ανύσματος C-H της κύριας πολυμερικής αλυσίδας σύμφωνα με το μοντέλο	20

Dejean ,Laupretre και Monnerie.

- Σχήμα 10.** Σχηματική απεικόνιση της περιστροφικής διάχυσης περιορισμένου πλάτους(α) Γωνία β που σχηματίζει ο άξονας περιστροφής με το άνυσμα C-H. (β)Περιστροφική κίνηση της υδροξυμεθυλομάδας γύρω από τον εξωκυκλικό δεσμό C-5-C-6 με μοριακό χρόνο συσχέτισης τ_i .(γ)Πλάτος περιστροφής, 2χ (από $-\chi$ έως $+\chi$), κατά μήκος του άξονα περιστροφής. 23
- Σχήμα 11.**Σχηματική απεικόνιση των αλμάτων του ανύσματος C-H μεταξύ δύο σταθερών καταστάσεων Α και Β.(α)Γωνία β που σχηματίζει ο άξονας περιστροφής με το άνυσμα C-H. (β) Καταστάσεις Α και Β με χρόνους ζωής τ_A και τ_B , αντίστοιχα.(γ) Πλάτος αλμάτων από $-y$ έως $+y$ γύρω από τον άξονα περιστροφής. 25
- Σχήμα 12.**Ορισμός των συντελεστών διάχυσης D_i και των γωνιών Euler β για την περιστροφική κίνηση μιας πλευρικής αλυσίδας αποτελούμενης από N άτομα άνθρακα. 28
- Σχήμα 13.**Ορισμός των γωνιών Euler $\alpha_{n-1,n}$ και α_{NF} σε μία πλευρική μεθυλενική αλυσίδα που αποτελείται από N άτομα άνθρακα. 29
- Σχήμα 14.** Η γενική μορφή ενός δισδιάστατου πειράματος NMR. 30
- Σχήμα 15.** Χημικός τύπος του πολυσακχαρίτη σκληρογλυκάνη. 34
- Σχήμα 16.** Χημικός τύπος του πολυσακχαρίτη πουλουλάνης. 35
- Σχήμα 17.** Διαγράμματα μεταβολής του ανηγμένου ιξώδους, η_{sp}/C , συναρτήσει της συγκέντρωσης C στους 30°C για τους πολυσακχαρίτες (α) σκληρογλυκάνη στο DMSO (b) πουλουλάνη στο DMSO και (c) πουλουλάνη στο H_2O . 38
- Σχήμα 18.**Μερικώς αποδιεγερμένα φάσματα ^{13}C των ατόμων άνθρακα του πολυσακχαρίτη πουλουλάνη σε διαλύτη D_2O και σε θερμοκρασία 35°C . 42

- Σχήμα 19.** Φάσματα, τα οποία ελήφθησαν με την ακολουθία παλμών της περιοδικής αποσύζευξης για τον προσδιορισμό των παραγόντων NOE των ατόμων ^{13}C της πουλουλάνης σε διαλύτη D_2O και σε θερμοκρασία 35°C . 43
- Σχήμα 20.** Ανθρακικό φάσμα της πουλουλάνης στο D_2O (30°C). 47
- Σχήμα 21.** Πρωτονιακό φάσμα της πουλουλάνης στο D_2O (30°C). 48
- Σχήμα 22.** Μεταβολή του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT_1 συναρτήση της θερμοκρασίας στους τρεις δακτυλίους στα 75.4MHz στο D_2O . 49
- Σχήμα 23.** Μεταβολή του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT_1 συναρτήση της θερμοκρασίας για τους υδροξυμεθυλικούς άνθρακες στους τρεις δακτυλίους στα 75.4MHz στο D_2O . 50
- Σχήμα 24.** Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου A της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5 MHz(\blacktriangle) και 125.6 MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 54
- Σχήμα 25.** Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου B της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5 MHz(\blacktriangle) και 125.6 MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 55
- Σχήμα 26.** Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου C της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του 56

αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5 MHz(\blacktriangle) και 125.6 MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.

- Σχήμα 27.** Πειραματικές(σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6A άτομο άνθρακα του δακτυλίου A της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5MHz (\blacktriangle) και 125.6MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 57
- Σχήμα 28.** Πειραματικές(σύμβολα) και θεωρητικές(καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6B άτομο άνθρακα του δακτυλίου B της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5MHz (\blacktriangle) και 125.6MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 58
- Σχήμα 29.** Πειραματικές(σύμβολα) και θεωρητικές(καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6C άτομο άνθρακα του δακτυλίου C της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5MHz (\blacktriangle) και 125.6MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 59
- Σχήμα 30.** Ανθρακικό φάσμα της πουλουλάνης στο $DMSO-d_6$ στους $30^{\circ}C$. 61
- Σχήμα 31.** Μεταβολή του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT_1 συναρτήσει της θερμοκρασίας στους τρεις δακτυλίους στα 100.5MHz στο $DMSO-d_6$. 62
- Σχήμα 32.** Μεταβολή του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT_1 συναρτήσει της θερμοκρασίας για τους υδροξυμεθυλικούς άνθρακες στους τρεις δακτυλίους στα 125.7MHz στο $DMSO-d_6$. 63

- Σχήμα 33.** Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου A της πουλουλάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5 MHz(\blacktriangle) και 125.6 MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 67
- Σχήμα 34.** Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου B της πουλουλάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5 MHz(\blacktriangle) και 125.6 MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 68
- Σχήμα 35.** Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου C της πουλουλάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5 MHz(\blacktriangle) και 125.6 MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 69
- Σχήμα 36.** Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6A άτομο άνθρακα του δακτυλίου A της πουλουλάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz(\otimes), 100.5 MHz(\blacktriangle) και 125.6 MHz(\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 70
- Σχήμα 37.** Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6B 71

άτομο άνθρακα του δακτυλίου B της πουλουλάνης σε διάλυμα DMSO-d₆ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (\otimes), 100.5 MHz (\blacktriangle) και 125.6 MHz (\square). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.

- Σχήμα 38.** Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT₁ και NOE για το C-6B άτομο άνθρακα του δακτυλίου B της πουλουλάνης σε διάλυμα DMSO-d₆ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (\otimes), 100.5 MHz (\blacktriangle) και 125.6 MHz (\square). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 72
- Σχήμα 39.** Διαγράμματα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική των δακτυλίων A(\otimes), B(\square) και C (\blacktriangle) της πουλουλάνης. 74
- Σχήμα 40.** Διαγράμματα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 για την δυναμική των πλευρικών υδροξυλεθυλομάδων C-6A (\blacktriangle) C-6B(\otimes) και C-6C(\square) της πουλουλάνης. 76
- Σχήμα 41.** Διαγράμματα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική των δακτυλίων A (\otimes), B (\square) και C (\blacktriangle) της πουλουλάνης. 78
- Σχήμα 42.** Διαγράμματα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική των πλευρικών υδροξυλεθυλομάδων C-6A(\blacktriangle), C-6B(\otimes) και C-6C(\square) της πουλουλάνης. 80
- Σχήμα 43.** Ανθρακικό φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C. 85
- Σχήμα 44.** G-COSY φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C. 86
- Σχήμα 45.** TOCSY φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C. 87

- Σχήμα 46.** NOESY φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C. 88
- Σχήμα 47.** HMQC φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C. 89
- Σχήμα 48.** DEPT-135 φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C. 90
- Σχήμα 49.** Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT₁ και NOE για το άτομο άνθρακα C-5C του δακτυλίου C της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO-d₆ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (⊗), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (⊞). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 95
- Σχήμα 50.** Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT₁ και NOE για το άτομο άνθρακα σε δ 86.59 της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO-d₆ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (⊗), 100.5MHz (▲) και 125.6 MHz (⊞). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 96
- Σχήμα 51.** Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT₁ και NOE για το άτομο άνθρακα σε δ 86.81 της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO-d₆ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (⊗), 100.5MHz (▲) και 125.6 MHz (⊞). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 97
- Σχήμα 52.** Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT₁ και NOE για το άτομο άνθρακα σε δ 87.0 της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO-d₆ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (⊗), 100.5MHz (▲) και 125.6 MHz (⊞). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με 98

την εφαρμογή του μοντέλου DLM.

- Σχήμα 53.** Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το άτομο άνθρακα D-5D του δακτυλίου D της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (\otimes), 100.5 MHz (\blacktriangle) και 125.6 MHz (\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 102
- Σχήμα 54.** Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα C-5A του δακτυλίου A και C-6B του δακτυλίου B της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (\otimes), 100.5MHz (\blacktriangle) και 125.6 MHz (\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 103
- Σχήμα 55.** Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου D της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (\otimes), 100.5MHz (\blacktriangle) και 125.6 MHz (\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM. 104
- Σχήμα 56.** Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική του άνθρακα C-5C της σκληρογλυκάνης. 107
- Σχήμα 57.** Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική του άνθρακα C-3C της σκληρογλυκάνης. 107
- Σχήμα 58.** Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική του άνθρακα C-3A(ή C-3B) της σκληρογλυκάνης. 108
- Σχήμα 59.** Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του 108

μοντέλου DLM για την δυναμική του άνθρακα C-3B(ή C-3A)
της σκληρογλυκάνης.

- Σχήμα 60.** Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης για την δυναμική των ανθράκων C-6AB της σκληρογλυκάνης. 110
- Σχήμα 61.** Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης για την δυναμική του δακτυλίου D της σκληρογλυκάνης. 111
- Σχήμα 62.** Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης για την δυναμική του άνθρακα C-6D της σκληρογλυκάνης. 111

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ**ΣΕΛΙΔΑ**

ΠΙΝΑΚΑΣ I. Παράμετροι αποδιέγερσης NT ₁ και NOE για τον δακτύλιο A της πουλουλάνης σε D ₂ O.	51
ΠΙΝΑΚΑΣ II. Παράμετροι αποδιέγερσης NT ₁ και NOE για τον δακτύλιο B της πουλουλάνης σε D ₂ O.	52
ΠΙΝΑΚΑΣ III. Παράμετροι αποδιέγερσης NT ₁ και NOE για τον δακτύλιο C της πουλουλάνης σε D ₂ O.	53
ΠΙΝΑΚΑΣ IV. Παράμετροι αποδιέγερσης NT ₁ και NOE για τον δακτύλιο A της πουλουλάνης σε DMSO-d ₆ .	64
ΠΙΝΑΚΑΣ V. Παράμετροι αποδιέγερσης NT ₁ και NOE για τον δακτύλιο B της πουλουλάνης σε DMSO-d ₆ .	65
ΠΙΝΑΚΑΣ VI. Παράμετροι αποδιέγερσης NT ₁ και NOE για τον δακτύλιο C της πουλουλάνης σε DMSO-d ₆ .	66
ΠΙΝΑΚΑΣ VII. Παράμετροι του μοντέλου DLM για την περιγραφή της δυναμικής της κύριας αλυσίδας της πουλουλάνης σε διάλυμα D ₂ O.	74
ΠΙΝΑΚΑΣ VIII. Παράμετροι του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης, που χρησιμοποιήθηκε στην περιγραφή των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων των δακτυλίων B και C της πουλουλάνης.	76
ΠΙΝΑΚΑΣ IX. Παράμετροι του μοντέλου DLM για την περιγραφή της δυναμικής της κύριας αλυσίδας της πουλουλάνης σε διάλυμα DMSO-d ₆ .	78
ΠΙΝΑΚΑΣ X. Παράμετροι προσομοίωσης του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης που χρησιμοποιήθηκε στην περιγραφή των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων των δακτυλίων B και C της πουλουλάνης.	80
ΠΙΝΑΚΑΣ XI. Χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων της	91

σκληρογλυκάνης στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$.

ΠΙΝΑΚΑΣ XII. Χημικές μετατοπίσεις των ατόμων άνθρακα της σκληρογλυκάνης στο φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$.	91
ΠΙΝΑΚΑΣ XIII. Παράμετροι αποδιέγερσης NT_1 και NOE των ανθράκων C-5C, C-3A, C-3B και C-3C της σκληρογλυκάνης.	94
ΠΙΝΑΚΑΣ XIV. Παράμετροι αποδιέγερσης NT_1 και NOE των υδροξυμεθυλικών ανθράκων της σκληρογλυκάνης συναρτήσει της θερμοκρασίας και των μαγνητικών πεδίων.	100
ΠΙΝΑΚΑΣ XV. Παράμετροι αποδιέγερσης NT_1 και NOE των πέντε ενδοκυκλικών ανθράκων του δακτυλίου D της σκληρογλυκάνης συναρτήσει της θερμοκρασίας και των μαγνητικών πεδίων.	101
ΠΙΝΑΚΑΣ XVI. Παράμετροι του μοντέλου DLM για την περιγραφή της δυναμικής της κύριας αλυσίδας της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO-d_6 .	105
ΠΙΝΑΚΑΣ XVII. Παράμετροι του μοντέλου απλής περιστροφικής διάχυσης και πολλαπλών περιστροφών για την περιγραφή της δυναμικής των πλευρικών ομάδων (υδροξυμεθυλικές ομάδες και δακτύλιος D) της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO-d_6 .	110

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι φυσικές, χημικές και βιολογικές ιδιότητες φυσικών πολυμερών, όπως οι πολυσακχαρίτες, εξαρτώνται άμεσα από την σύσταση, τη δομή και την ευλιγσία της πολυμερικής αλυσίδας. Η μελέτη αυτών των παραμέτρων αποτελεί ένα σημαντικό βήμα για την κατανόηση της σχέσης δομής/ιδιότητες του πολυμερούς.

Ο προσδιορισμός της δομής και της δυναμικής πολυσακχαριτών αποτελούν μία έντονη ερευνητική δραστηριότητα του εργαστηρίου φασματοσκοπίας NMR. Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει μία συστηματική μελέτη της δυναμικής μιας σειράς γραμμικών πολυσακχαριτών σε αραιά διαλύματα ως συνάρτηση της φύσης των μονομερών μονάδων που απαρτίζουν την πολυδατανθρακική αλυσίδα και την στερεοχημεία των γλυκοζιτικών δεσμών. Συγκεκριμένα, μελετήθηκε ποσοτικά η ευλιγσία των πολυσακχαριτών αμυλόζη, η δεξτράνη, η ινουλίνη, η λαμαρινάνη και ο $\beta(1\rightarrow3)$ -D-πολυσακχαρίτης. Προσδιορίστηκε η σχετική ευλιγσία των πολυσακχαριτών στο νερό ή διμεθυλοδουλοφωξείδιο, καθώς επίσης και η ενέργεια ενεργοποίησης, η οποία σχετίστηκε με θεωρητικά δεδομένα της βικλιογραφίας.

Η παρούσα μελέτη αποτελεί συνέχεια της ερευνητικής δραστηριότητας του εργαστηρίου προς αυτή την κατεύθυνση. Αναφέρεται στη μελέτη της δυναμικής συμπεριφοράς ενός γραμμικού ετεροπολυσακχαρίτη, της πουλουλάνης, ο οποίος αποτελείται από επαναλαμβανόμενες μονάδες μαλτοτριόζης συνδεδεμένες με $\alpha(1\rightarrow6)$ γλυκοζιτικούς δεσμούς και της σκληρογλυκάνης, ενός διακλαδισμένου πολυσακχαρίτη. Η επαναλαμβανόμενη μονάδα της σκληρογλυκάνης αποτελείται από τρία μόρια D-γλυκόζης συνδεδεμένων με $\beta(1\rightarrow3)$ γλυκοζιτικούς δεσμούς, ενώ ένα τέταρτο μόριο D-γλυκόζης συνδέεται πλευρικά με $\beta(1\rightarrow6)$ γλυκοζιτικό δεσμό.

Τα τελευταία χρόνια, ένας αριθμός των λεγόμενων μικροβιακών πολυσακχαριτών, όπως οι πολυσακχαρίτες πουλουλάνη και σκληρογλυκάνη της παρούσας μελέτης, έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον επειδή παρουσιάζουν μοναδικές ιδιότητες σε διαλύματα και την ικανότητα να σχηματίζουν δικτυωτά πλέγματα (gels). Σε πολλές περιπτώσεις αυτές οι ιδιότητες έχουν ανοίξει καινούργιες προοπτικές για την βιομηχανική χρήση αυτών των πολυμερών. Χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών και φαρμάκων. Η πουλουλάνη χρησιμοποιείται επίσης σε βιοφυσικές μελέτες, όπως για παράδειγμα στη χρωματογραφία ως πρότυπος πολυσακχαρίτης.

Η μελέτη της δυναμικής των δύο πολυσακχαριτών θα γίνει με την τεχνική της πυρηνικής μαγνητικής αποδιέγερσης του πυρήνα άνθρακα-13 σε συνδυασμό με θεωρητικές συναρτήσεις συσχέτισης, οι οποίες ερμηνεύουν τα πειραματικά αποτελέσματα σε μοριακό επίπεδο. Επίσης, στην παρούσα μελέτη θα προσδιοριστεί η δομή της σκληρογλυκάνης με την χρήση τεχνικών φασματοσκοπίας NMR δύο διαστάσεων.

1. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Comment [PU2]:

1.1 ΘΕΩΡΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΗΣ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ

Είναι γνωστό ότι στην περίπτωση ενεργειακών σταθμών με πολύ μικρή ενεργειακή διαφορά, όπως στην φασματοσκοπία NMR, η πιθανότητα αυθόρμητης εκπομπής είναι ασήμαντη. Συνεπώς η αποδιέγερση πυρηνικών σπιν που έχουν διεγερθεί από κατάλληλο πεδίο ραδιοσυχνότητας δεν είναι αυθόρμητη, όπως συμβαίνει σε άλλους κλάδους της φασματοσκοπίας. Η αποκατάσταση της θερμικής ισορροπίας κατά Boltzmann γίνεται χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας, με δύο διακεκριμένες διαδικασίες¹: τη σπιν-πλέγμα και τη σπιν-σπιν αποδιέγερση. Κατά τη αποδιέγερση σπιν-πλέγμα τα πυρηνικά σπιν αποδιεγείρονται δίνοντας ενέργεια στο περιβάλλον τους (lattice), αλληλεπιδρώντας με αυτό, με χρονική σταθερά T_1 , τον σπιν-πλέγμα χρόνο αποδιέγερσης. Κατά την σπιν-σπιν αποδιέγερση οι μαγνητικοί πυρήνες αλληλεπιδρούν και ανταλλάσσουν ενέργεια μεταξύ τους, με χρονική σταθερά T_2 , τον σπιν-σπιν χρόνο αποδιέγερσης. Και οι δύο παραπάνω διαδικασίες ακολουθούν κινητική πρώτης τάξης.

Ο όρος lattice, στο NMR, αντιπροσωπεύει παλλόμενα μαγνητικά πεδία B_{loc} , τα οποία δημιουργούνται από το ατομικό και ηλεκτρονικό περιβάλλον των πυρηνικών σπιν. Τα τοπικά αυτά πεδία μεταβάλλονται χρονικά με την μοριακή κίνηση. Η χρονική εξάρτηση των τοπικών πεδίων λόγω της μοριακής κίνησης αποτελεί τον συνδετικό κρίκο ανάμεσα στα πειράματα πυρηνικής αποδιέγερσης και μοριακής δυναμικής².

Η αλληλεπίδραση των πυρηνικών σπιν με το πλέγμα γίνεται ουσιαστικά λόγω της αλληλεπίδρασης των μαγνητικών ροπών τους με τα τοπικά μαγνητικά πεδία B_{loc} που δημιουργούνται από το πλέγμα. Αν τα πεδία έχουν συχνότητες ίσες ή περίπου ίσες με την συχνότητα $Larmor$ των πυρήνων, μπορούν να προκαλέσουν αποδιέγερση μεταφέροντας ενέργεια στο πλέγμα.

Στα ρευστά, πηγές των B_{loc} , είναι τα πυρηνικά και ηλεκτρονικά δίπολα, τα ηλεκτρικά τετράπολα, η ανισοτροπία της σταθεράς προστασίας (chemical shift anisotropy), η βαθμωτή σύζευξη (scalar coupling) και η περιστροφή του ίδιου του μορίου ή κάποιου ευλύγιστου τμήματος του (spin rotation), όπως είναι για παράδειγμα η μεθυλική ομάδα. Η αποτελεσματικότητα όλων των παραπάνω πηγών B_{loc} στην αποδιέγερση ενός πυρήνα εξαρτάται από το εύρος της χρονικής διακύμανσης των B_{loc} και την χρονική κλίμακα της μοριακής κίνησης.

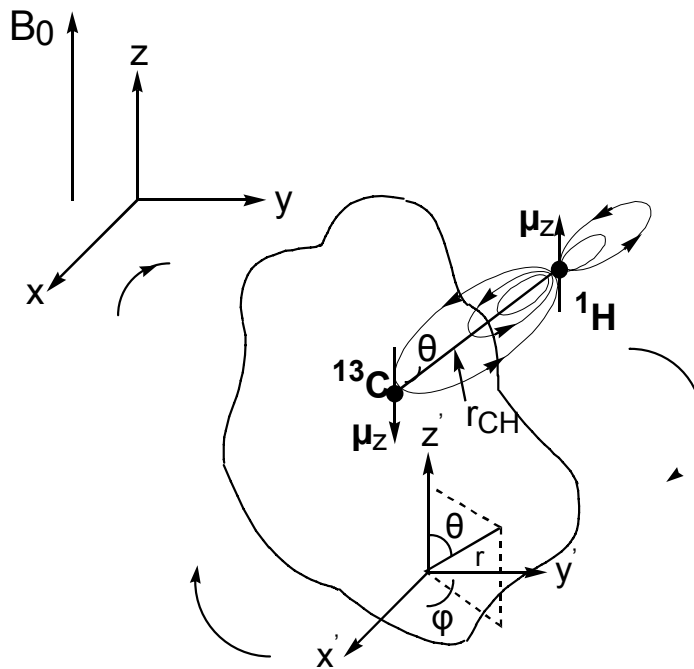
Η μαθηματική περιγραφή της αλληλεπίδρασης του πυρηνικού σπιν με τα τοπικά πεδία B_{loc} είναι παρόμοια για όλους τους μηχανισμούς δημιουργίας τοπικών πεδίων³. Στα μακρομόρια της παρούσας εργασίας η κύρια πηγή αποδιέγερσης ενός πυρήνα ^{13}C (δίπολο) με το τοπικό πεδίο οφείλεται στο απευθείας συνδεδεμένο (με χημικό δεσμό) πυρήνα 1H (δίπολο). Έτσι θα δοθεί αμέσως παρακάτω η αναλυτική περιγραφή του μηχανισμού

αποδιέγερσης δίπολο-δίπολο καθώς επίσης και του υπολογισμού των παραμέτρων αποδιέγερσης T_1 και NOE για τον μηχανισμό αυτόν.

1.1.1 ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΔΙΠΟΛΟ-ΔΙΠΟΛΟ

Στα περισσότερα διαμαγνητικά υγρά, η ενδομοριακή αλληλεπίδραση δίπολο-δίπολο των πρωτονιομένων πυρήνων ^{13}C με τα απευθείας συνδεδεμένα πρωτόνια αποτελεί την κύρια πηγή αποδιέγερσης. Ο μηχανισμός αυτός απεικονίζεται στο Σχήμα 1.

Ένα ζεύγος πυρήνων ^{13}C και ^1H συνδεδεμένων με χημικό δεσμό βρίσκεται σε ένα συμπαγές μόριο που εκτελεί την περιστροφική κίνηση Brown στο διάλυμα, υπό την επίδραση του εξωτερικού πεδίου B_0 . Οι δύο πυρήνες δρουν ως μικροσκοπικοί μαγνήτες ή καλύτερα ως μαγνητικά δίπολα και χαρακτηρίζονται από μία μαγνητική διπολική ροπή.



Σχήμα 1. Μηχανισμός της αλληλεπίδρασης δίπολο-δίπολο ενός ζεύγους πυρήνων ^{13}C - ^1H τοποθετημένων σε ένα συμπαγές μόριο, το οποίο εκτελεί την περιστροφική κίνηση Brown σε διάλυμα. x, y, z είναι το καρτεσιανό σύστημα συντεταγμένων του εργαστηρίου, ενώ το σύστημα x', y', z' είναι τοποθετημένο στο μόριο.

Η ένταση του τοπικού μαγνητικού πεδίου B_{loc} , που δημιουργείται από την μαγνητική ροπή του 1H στον πυρήνα ^{13}C δίνεται από την εξίσωση

$$B_{loc} = \pm \mu_H \frac{(3 \cos^2\theta - 1)}{r_{CH}^3} \quad (1)$$

όπου r_{CH} είναι η απόσταση μεταξύ των δύο πυρήνων, η οποία θεωρείται σταθερή και ίση με το μήκος του δεσμού C-H, θ είναι η γωνία που σχηματίζει το άνυσμα του δεσμού C-H με την κατεύθυνση της έντασης του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου, η οποία εφαρμόζεται στον άξονα z του συστήματος x,y,z (Σχήμα 1). Το πρόσημο του κλάσματος σημαίνει πρόσθεση ή αφαίρεση του B_{loc} στο πεδίο B_0 ανάλογα με τον προσανατολισμό σπιν του πρωτονίου, ως προς το B_0 .

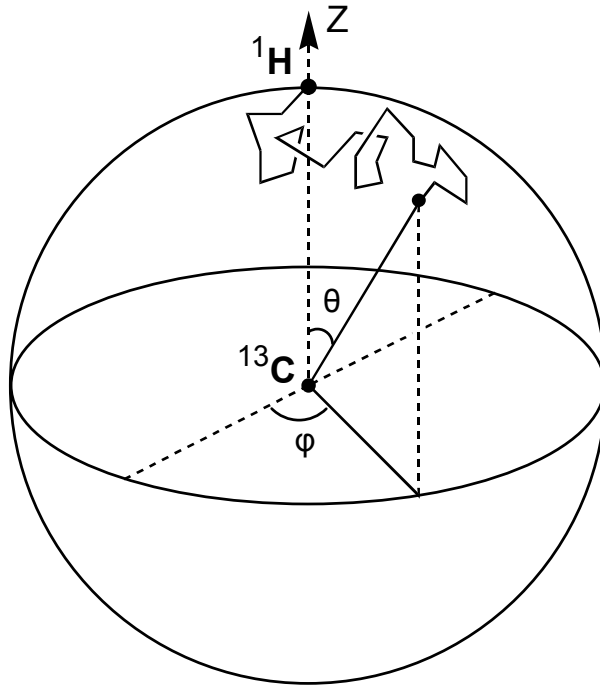
Καθώς το μόριο εκτελεί την περιστροφική κίνηση Brown στο διάλυμα, το τοπικό πεδίο B_{loc} εξαρτάται χρονικά μέσω της χρονικής μεταβολής της γωνίας θ , η οποία μεταβάλλεται συνεχώς καθώς μεταβάλλεται ο προσανατολισμός του ανύσματος C-H (εξίσωση 1). Εάν η διαπυρηνική απόσταση r_{CH} δεν είναι σταθερή, όπως συμβαίνει στις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις ή όταν έχουμε ενδομοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ πυρήνων ^{13}C και πρωτονίων ενός εύκαμπτου τμήματος του μορίου, τότε το χρονικό πεδίο εξαρτάται και από την χρονική μεταβολή του ανύσματος r_{CH} . Παραστατικά η μεταβολή της γωνίας θ κατά την μοριακή κίνηση φαίνεται στο σχήμα 2. Ο πυρήνας ^{13}C θεωρείται ότι βρίσκεται στο κέντρο της σφαίρας ακτίνας r_{CH} (η οποία εδώ θεωρείται σταθερή) στην επιφάνεια της οποίας κινείται ο πυρήνας 1H , ακολουθώντας τυχαία τροχιά, λόγω της περιστροφικής κίνησης του μορίου στο διάλυμα. Η γωνία θ μεταβάλλεται καθ'όλο το μήκος της τροχιάς.

Η χρονική εξάρτηση της γωνίας θ λόγω της τυχαίας περιστροφικής κίνησης Brown, έχει μία σπουδαία συνέπεια. Υπό την προϋπόθεση ότι η μοριακή κίνηση είναι αρκετά γρήγορη, η χρονική μέση τιμή του γωνιακού παράγοντα $\langle 3 \cos^2\theta - 1 \rangle$ στην εξίσωση (1) γίνεται ίση με το μηδέν, οπότε μηδενίζεται και η μέση τιμή του B_{loc}

$$\langle B_{loc} \rangle = 0 \quad (2)$$

Οι αγκύλες υποδηλώνουν χρονικό μέσο όρο.

Οι γρήγορες κινήσεις των μορίων σε διαλύματα, μηδενίζουν ταχέως τη μέση τιμή του B_{loc} . Αντιθέτως, οι αργές κινήσεις μορίων σε πολύ ιξώδη διαλύματα ή στη στερεά φάση προκαλούν πιο αργό ή καθόλου μηδενισμό της τιμής του B_{loc} . Σ' αυτό οφείλονται οι



Σχήμα 2. Μεταβολή της γωνίας θ που σχηματίζει το άνωσμα C-H με την κατεύθυνση της έντασης του εξωτερικού πεδίου B_0 , λόγω της κίνησης Brown στο διάλυμα. Το πεδίο αυτό B_0 θεωρείται ότι εφαρμόζεται κατά τον άξονα z.

λεπτές κορυφές των φασμάτων στα υγρά, σε αντίθεση με τις ευρείες κορυφές που παρατηρούνται στα φάσματα των στερεών. Το χρονικό διάστημα λήψης του χρονικού μέσου όρου $\langle 3 \cos^2 \theta - 1 \rangle$, θεωρείται αρκετά μεγάλο σε σύγκριση με τον χρόνο που απαιτείται για να μεταβληθεί το B_{loc} , ώστε να εξασφαλίζεται μία μαθηματικά αξιόπιστη τιμή αυτού του μέσου όρου. Παράλληλα, θα πρέπει να είναι τόσο μικρό σε σύγκριση με τον χρόνο αποδιέγερσης των πυρήνων, ώστε να μπορεί να παρέχει πληροφορίες σχετικά με την διαδικασία αποδιέγερσής τους.

Σε αντίθεση με την απλή μέση τιμή, η μέση τιμή του τετραγώνου του πεδίου B_{loc} στο ίδιο χρονικό διάστημα είναι διαφορετική από το μηδέν, λόγω του στατιστικά τυχαίου χαρακτήρα της μοριακής κίνησης⁴, δηλαδή

$$\langle B_{loc}^2(t) \rangle \neq 0 \quad (3)$$

1.1.2 ΧΡΟΝΙΚΗ ΣΥΝΑΡΤΗΣΗ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΚΑΙ ΦΑΣΜΑΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ

Η αποτελεσματικότητα των B_{loc} να προκαλέσουν αποδιέγερση εξαρτάται από την χρονική επιμονή (διάρκεια) ύπαρξής τους πριν αυτά μηδενιστούν κατά μέσο όρο από την τυχαία περιστροφική κίνηση του μορίου. Μέτρο αυτής της χρονικής διάρκειας των B_{loc} , αποτελεί η συνάρτηση χρονικής συσχέτισης⁵ (time correlation function, TCF). Αυτή συσχετίζει την τιμή του B_{loc} σε χρόνους t και $t+\tau$ και δίνεται από την μέση χρονική τιμή

$$G(t) = \langle B_{loc}(t) \cdot B_{loc}(t+\tau) \rangle_t \quad (4)$$

Η συνάρτηση συσχέτισης $G(\tau)$, μεταξύ δύο διαδοχικών παρατηρήσεων, είναι ανεξάρτητη του t και εξαρτάται μόνο από τον χρόνο τ , ενώ ταυτόχρονα είναι πραγματική και άρτια συνάρτηση του τ , δηλαδή ισχύει:

$$G(\tau) = G(-\tau) = G^*(\tau) \quad (5)$$

όπου $G^*(\tau)$ η συζυγής συνάρτηση της $G(\tau)$.

Εάν στην εξίσωση (4) θέσουμε ως αρχή του χρόνου $t=0$, έχουμε:

$$G(0) = \langle B_{loc}(0) \cdot B_{loc}(\tau) \rangle_0 \quad (6)$$

Όταν ο χρόνος τ είναι μικρός σε σχέση με τον χρόνο αποδιέγερσης, το $B_{loc}(t)$ αναμένεται να είναι σχεδόν ίδιο με το $B_{loc}(t+\tau)$ και έτσι η τιμή της $G(t)$ θα είναι μεγάλη. Όταν ο χρόνος τ αυξάνεται, τα μεγέθη $B_{loc}(t)$ και $B_{loc}(t+\tau)$ εξακολουθούν να συσχετίζονται, αλλά η πιθανότητα το $B_{loc}(t)$ να είναι διαφορετικό από το $B_{loc}(t+\tau)$ αυξάνεται. Με άλλα λόγια, η τιμή της $G(t)$ μειώνεται με την αύξηση του τ . Για πολύ μεγάλους χρόνους τ , η τιμή της $G(t)$ μηδενίζεται καθώς τα $B_{loc}(t)$ και $B_{loc}(t+\tau)$ δεν συσχετίζονται πλέον.

Για ισοτροπική κίνηση σφαιρικών ή περίπου σφαιρικών μορίων η $G(t)$ φθίνει εκθετικά⁶ με μία χρονική σταθερά, τον μοριακό χρόνο συσχέτισης, τ_c (molecular correlation time). Ο μοριακός χρόνος συσχέτισης, τ_c , στην εξίσωση (7) περιγράφει την ταχύτητα με την οποία τα τοπικά πεδία χάνουν την χρονική συσχέτισή τους.

$$G(t) = \langle B_{loc}^2(0) \rangle_0 \cdot e^{-t/\tau_c} \quad (7)$$

Ο μοριακός χρόνος συσχέτισης τ_c είναι ένα μικροσκοπικό μέτρο της ταχύτητας της περιστροφικής κίνησης των μορίων στα υγρά⁷ και θεωρείται ως ο μέσος χρόνος δύο διαδοχικών μοριακών συγκρούσεων ή ως ο μέσος χρόνος που χρειάζεται ένα μόριο για να περιστραφεί κατά γωνία 1 rad γύρω από έναν μοριακό άξονα.

Από τις εξισώσεις (6) και (7) γίνεται φανερό ότι όσο πιο γρήγορη είναι η κίνηση (μικρό τ_c), τόσο πιο μικρή είναι η συσχέτιση των B_{loc} και επομένως λιγότερο αποτελεσματική θα

είναι η αποδιέγερση. Έτσι μικρά μόρια που χαρακτηρίζονται από μικρούς χρόνους τ_c , αποδιεγείρονται πιο αργά, σε σχέση με μεγαλύτερα μόρια παρόμοιου σχήματος, στην ίδια θερμοκρασία και στον ίδιο διαλύτη.

Με μετασχηματισμό κατά Fourier της συνάρτησης συσχέτισης των B_{loc} , $G(t)$, από την περιοχή του χρόνου στην περιοχή των συχνοτήτων προκύπτει η συνάρτηση φασματικής πυκνότητας (spectral density), $J(\omega)$, των B_{loc} .

$$J(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} G(t) \cdot e^{i\omega t} dt = 2 \int_0^{+\infty} G(t) \cdot e^{-i\omega t} dt \quad (8)$$

Η $J(\omega)$ εκφράζει την κατανομή και το μέγεθος των διακυμάνσεων των B_{loc} στην περιοχή των συχνοτήτων. Επίσης η συνάρτηση $J(\omega)$ αντιπροσωπεύει την ενεργειακή ισχύ των B_{loc} που είναι διαθέσιμη για την αποδιέγερση του πυρηνικού συστήματος, στην συχνότητα ω . Άρα είναι μέτρο της ικανότητας των B_{loc} να προκαλέσουν αποδιέγερση ή όχι στην συχνότητα ω .

Αντικατάσταση της $G(t)$ από την εξίσωση (7) στην εξίσωση (8) και την εκτέλεση της ολοκλήρωσης δίνει:

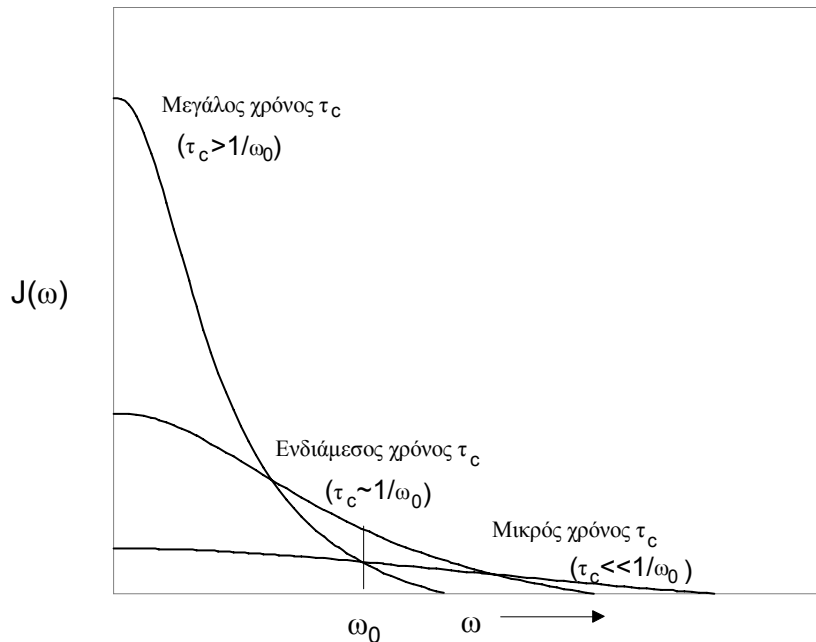
$$J(\omega) = \langle B_{loc}^2(0) \rangle_0 \frac{2\tau_c}{1+\omega_0^2\tau_c^2} = G(0) \frac{2\tau_c}{1+\omega_0^2\tau_c^2} \quad (9)$$

Η εξίσωση (9) αντιπροσωπεύει το πραγματικό μέρος του μετασχηματισμού Fourier (εξίσωση 8). Η $J(\omega)$ παίρνει την μέγιστη τιμή για $\omega_0=0$ και μειώνεται με την αύξηση της συχνότητας ω . Για τιμές της συχνότητας $\omega_0 \ll 1/\tau_c$, η $J(\omega)$ είναι σχεδόν σταθερή και οι τιμές της είναι παρόμοιες της $J(\omega)_{max}$, ενώ μειώνεται όταν $\omega_0 > 1/\tau_c$ ακολουθώντας την συμπεριφορά της $G(t)$.

Στο Σχήμα 3 απεικονίζεται η γραφική παράσταση της μεταβολής της $J(\omega)$ συναρτήσει της συχνότητας ω , για διαφορετικές τιμές του τ_c . Η συνολική φασματική πυκνότητα είναι σταθερή και ανεξάρτητη της τιμής του τ_c . Αυτό το συμπέρασμα προκύπτει από το γεγονός ότι τα εμβαδά των επιφανειών που περικλείουν οι διάφορες καμπύλες στο σχήμα 3 είναι τα ίδια. Έτσι, η μεταβολή του τ_c προκαλεί μόνο μεταβολή στην κατανομή των συχνοτήτων και συνεπώς στην τιμή της $J(\omega)$. Όταν ο τ_c είναι μικρός, δηλαδή $\tau_c \ll 1/\omega_0$, οι μοριακές κινήσεις κατανέμονται σε μία ευρεία περιοχή συχνοτήτων. Αντίστροφα, όταν ο τ_c είναι μεγάλος, δηλαδή $\tau_c > 1/\omega_0$, η τιμή της $J(\omega)$ είναι μεγάλη στην περιοχή των χαμηλών συχνοτήτων, αλλά μηδενίζεται γρήγορα με την αύξηση της συχνότητας. Και στις δύο αυτές ακραίες περιπτώσεις, η τιμή της $J(\omega)$ είναι μικρή για $\omega = \omega_0$, την συχνότητα Larmor του πυρήνα. Η τιμή της $J(\omega)$ παίρνει την μέγιστη τιμή της, όταν ο χρόνος τ_c ικανοποιεί την συνθήκη $\omega_0 \sim 1/\tau_c$, οπότε και η αποδιέγερση του υπό εξέταση πυρήνα είναι μέγιστη.

Το επίπεδο τμήμα της καμπύλης της $J(\omega)$ για $\tau_c \ll 1/\omega_0$ είναι γνωστό ως περιοχή κινητικής στένωσης (motional narrowing region)^{6,8}. Περιέχει συχνότητες, οι οποίες ικανοποιούν τη λεγόμενη συνθήκη κινητικής στένωσης (extreme narrowing condition), $\omega_0 \ll 1/\tau_c$. Σε αυτή την περιοχή η φασματική πυκνότητα είναι ανεξάρτητη της έντασης του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου B_0 , αρκεί η συχνότητα Larmor του πυρήνα ($\omega_0 = \gamma B_0$) να έχει τέτοια τιμή ώστε να ισχύει η συνθήκη $\omega_0 \ll 1/\tau_c$.

Στις συνηθισμένες εντάσεις πεδίων, η συνθήκη κινητικής στένωσης ισχύει για μικρά και μεσαίου μεγέθους μόρια σε διαλύτες σχετικά μικρού ιξώδους, τα οποία χαρακτηρίζονται από μικρούς χρόνους τ_c . Τέτοια είναι τα περισσότερα οργανικά μόρια σε κανονική ή μεγαλύτερες θερμοκρασίες, καθώς επίσης και τα πολυπεπίδια και συνθετικά πολυμερή μικρού μοριακού βάρους³. Στα πολυμερή υψηλού μοριακού βάρους, η συνθήκη της κινητικής στένωσης παραβιάζεται ιδιαίτερα σε χαμηλές θερμοκρασίες.



Σχήμα 3. Μεταβολή της φασματικής πυκνότητας $J(\omega)$, συναρτήσει της συχνότητας ω για μικρούς, ενδιάμεσους και μεγάλους χρόνους συσχέτισης τ_c .

1.1.3 ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ

Οι παράμετροι αποδιέγερσης του πυρήνα ^{13}C , οι οποίες θα χρησιμοποιηθούν στην παρούσα μελέτη, είναι ο χρόνος αποδιέγερσης σπιν-πλέγμα (T_1) και ο παράγοντας NOE. Στο διεθνές σύστημα SI οι τιμές του χρόνου T_1 και του NOE ως συνάρτηση της φασματικής πυκνότητας, $J(\omega)$, για τον πυρήνα ^{13}C δίνονται από τις εξισώσεις (10) και (11), αντίστοιχα⁹:

$$(1/T_1) = (\gamma_H^2 \gamma_C^2 h^2 / 80 \pi^2 r_{C-H}^6) \{ J_0(\omega_H - \omega_C) + 3 J_1(\omega_C) + 6 J_2(\omega_H + \omega_C) \} \quad (10)$$

$$\text{NOE} = 1 + \frac{6 J_2(\omega_H + \omega_C) - J_0(\omega_H - \omega_C)}{J_0(\omega_H - \omega_C) + 3 J_1(\omega_C) + 6 J_2(\omega_H + \omega_C)} \frac{\gamma_H}{\gamma_C} \quad (11)$$

Όπως φαίνεται από την εξίσωση (10), ο χρόνος T_1 είναι αντιστρόφως ανάλογος της έκτης δύναμης της απόστασης r_{C-H} . Γι' αυτό τον λόγο, μη δεσμικά πρωτόνια, απομακρυσμένα από τον πυρήνα ^{13}C , δεν συνεισφέρουν παρά ελάχιστα στην αποδιέγερση του πυρήνα.

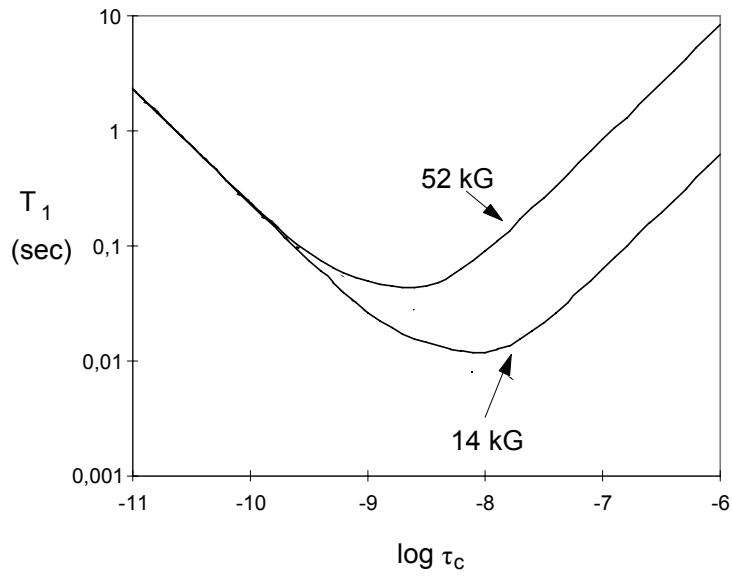
Στην περιοχή συχνοτήτων όπου ισχύει η συνθήκη της κινητικής στένωσης ($\tau_c \ll 1/\omega_0$) η φασματική πυκνότητα γίνεται ανεξάρτητη της συχνότητας και οι εξισώσεις (10) και (11) απλοποιούνται σημαντικά.

$$(1/T_1) = (\gamma_H^2 \gamma_C^2 h^2 / 80 \pi^2 r_{C-H}^6) \tau_c \quad (12a)$$

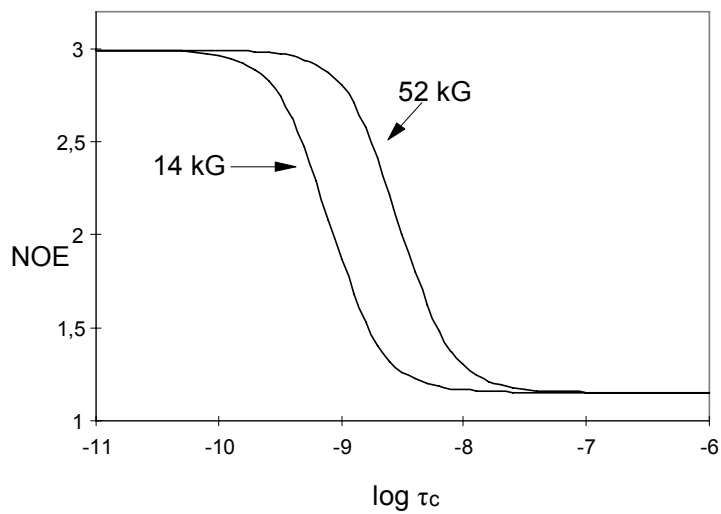
$$\text{NOE} = 1 + (1/2) (\gamma_H / \gamma_C) = 2.988 \quad (12b)$$

όπου γ_H και γ_C είναι οι γυρομαγνητικοί λόγοι των πυρήνων πρωτονίου και άνθρακα αντίστοιχα, ω_H και ω_C είναι οι συχνότητες Larmor των πυρήνων πρωτονίου και άνθρακα αντίστοιχα, h είναι η σταθερά του Plank και r_{C-H} είναι η ενδοπυρηνική απόσταση ή το μήκος δεσμού C-H.

Στα Σχήματα 4 και 5 δίνεται γραφικά η εξάρτηση των παραμέτρων T_1 και NOE από τον μοριακό χρόνο συσχέτισης τ_c , σε δύο μαγνητικά πεδία B_0 , χρησιμοποιώντας την φασματική πυκνότητα της εξίσωσης (9) και τις εξισώσεις (10) και (11). Στο Σχήμα 4 φαίνεται ότι ο χρόνος αποδιέγερσης T_1 μεταβάλλεται με τον μοριακό χρόνο συσχέτισης τ_c . Περνά από ένα ελάχιστο (διαφορετικό για κάθε πεδίο λόγω διαφορετικού ω_0) όπου $\tau_c \sim 1/\omega_0$. Σε αυτή την περιοχή η $J(\omega)$ έχει την μέγιστη τιμή και επομένως η αποδιέγερση σπιν - πλέγμα είναι μέγιστη. Για μικρούς χρόνους τ_c (περιοχή κινητικής στένωσης), η παράμετρος T_1 είναι ανεξάρτητη της έντασης του εξωτερικού πεδίου B_0 . Για μεγάλους χρόνους τ_c (περιοχή αργών κινήσεων), ο χρόνος T_1 εξαρτάται από την ένταση του πεδίου B_0 και αυξάνει με την αύξηση αυτού.



Σχήμα 4. Μεταβολή των χρόνων αποδιέγερσης σπιν-πλέγμα T_1 ως συνάρτηση του χρόνου συσχέτισης τ_c για διάφορες τιμές της έντασης του εξωτερικού πεδίου B_0 .



Σχήμα 5. Μεταβολή του παράγοντα NOE ως συνάρτηση του χρόνου συσχέτισης τ_c για διάφορες τιμές της έντασης του εξωτερικού πεδίου B_0 .

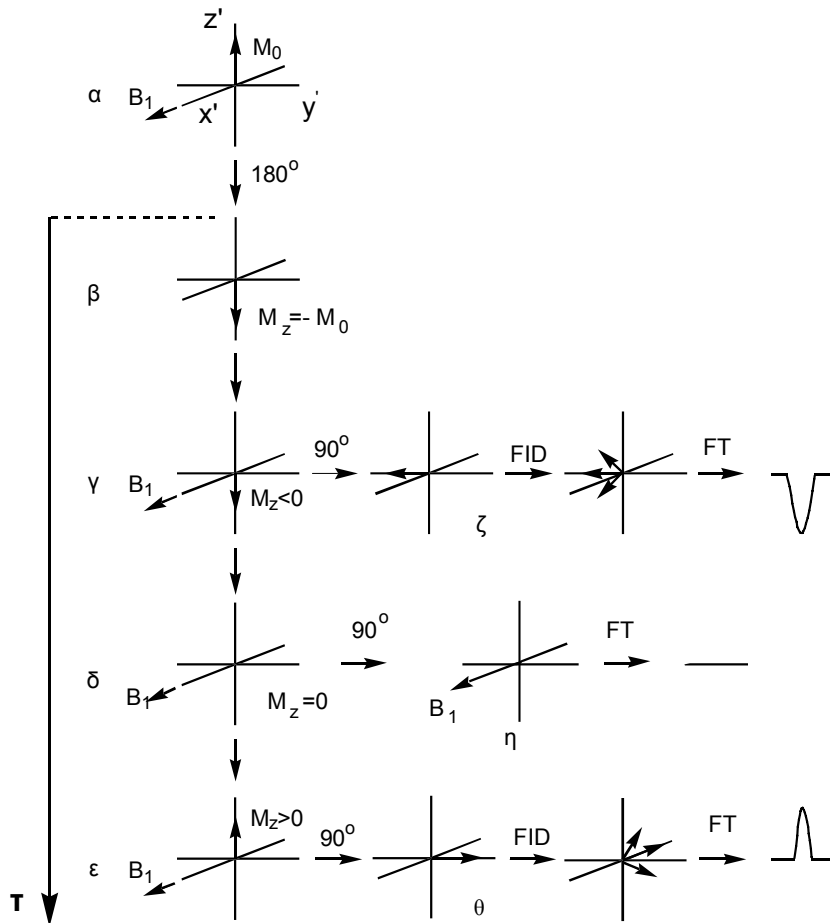
Ο παράγοντας NOE (Σχήμα 5) για γρήγορες κινήσεις (περιοχή κινητικής στένωσης), $\tau_c \ll 1/\omega_0$, έχει την μέγιστη τιμή 2.988. Καθώς η κίνηση γίνεται πιο αργή ($\tau_c > 1/\omega_0$) ο παράγοντας NOE ελαττώνεται ασυμπτωτικά προς την τιμή 1.115 για μεγάλους χρόνους τ_c . Επίσης, στην περιοχή των ενδιάμεσων κινήσεων, $\tau_c \sim 1/\omega_0$, ο παράγοντας NOE εξαρτάται από την ένταση του μαγνητικού πεδίου και ελαττώνεται με την αύξηση της έντασης του πεδίου.

Ο χρόνος συσχέτισης τ_c της συνολικής κίνησης των πολυμερών σε διαλύματα είναι συνήθως μεγάλος, με αποτέλεσμα αυτή να συμβαίνει έξω από την περιοχή της κινητικής στένωσης ($\tau_c \geq 1/\omega_0$). Για τα περισσότερα πολυμερή σε θερμοκρασία δωματίου, οι χρόνοι αποδιέγερσης T_1 εξαρτώνται από την ένταση του πεδίου B_0 ενώ η τιμή του NOE είναι μικρότερη από την μέγιστη τιμή 2.988.

1.2 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ

1.2.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ T_1 .

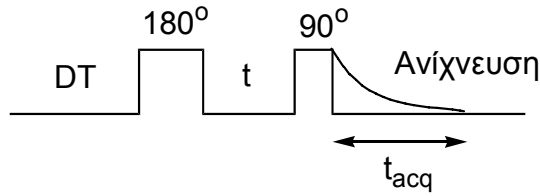
Η μέτρηση των χρόνων αποδιέγερσης σπιν-πλέγματος πραγματοποιείται με την τεχνική της αντίστροφης επαναφοράς της μαγνήτισης (Inversion Recovery Fourier Transform, IRFT) που αναπτύχθηκε από τον Vold και τους συνεργάτες του¹⁰ και βελτιώθηκε από τους Freeman και Hill¹¹. Αρχικά (Σχήμα 6α) η μαγνήτιση στην κατάσταση θερμικής ισορροπίας M_0 , βρίσκεται στον άξονα z. Στην κατάσταση θερμικής ισορροπίας, η πληθυσμιακή κατανομή ανάμεσα στα ενεργειακά επίπεδα ακολουθεί την κατανομή Boltzmann. Στην συνέχεια εφαρμόζεται ένας μη επιλεκτικός παλμός 180° , ο οποίος αντιστρέφει την μαγνήτιση M_0 , των πυρήνων ^{13}C , η οποία βρίσκεται τώρα κατά μήκος του αρνητικού άξονα z ($-M_0$) (Σχήμα 6β). Η αντιστροφή της μαγνήτισης ισοδυναμεί με την ανταλλαγή των πληθυσμών στα ενεργειακά επίπεδα. Στη συνέχεια, ακολουθεί μία χρονική περίοδος αναμονής t, κατά την οποία η μαγνήτιση M_z αρχίζει να αποκαθίσταται εκθετικά κατά μήκος του άξονα z, από την τιμή $-M_0$ στην αρχική της τιμή M_0 λόγω της αποδιέγερσης σπιν-πλέγμα, η οποία τείνει να αποκαταστήσει την αρχική κατανομή Boltzmann των πυρηνικών σπιν στα ενεργειακά τους επίπεδα (Σχήμα 6γ, 6δ και 6ε), με χρονική σταθερά τον χρόνο T_1 . Μετά από χρόνο t, ένας δεύτερος παλμός 90° μεταφέρει την εναπομείνουσα μαγνήτιση M_z στο επίπεδο xy (Σχήμα 6ζ, 6η και 6θ), όπου και ανιχνεύεται η ελεύθερη επαγόμενη απόσβεση (Free Induction Decay, FID) με χρόνο ανίχνευσης t_{acq} . Το πείραμα επαναλαμβάνεται για διάφορες τιμές του χρόνου t. Ανάμεσα στις ακολουθίες παλμών [180° -t- 90° - (t_{acq})] -όπου t_{acq} (acquisition time) είναι ο χρόνος συλλογής ή ανίχνευσης της FID - μεσολαβεί ένας μεγάλος χρόνος αναμονής (Delay Time) DT, ο οποίος είναι συνήθως ίσος ή μεγαλύτερος του πενταπλάσιου χρόνου αποδιέγερσης σπιν-πλέγμα που πρόκειται να μετρηθεί, $5 * T_1^{max}$. Ο χρόνος αναμονής επιτρέπει την επαναφορά της μαγνήτισης στην τιμή ισορροπίας της M_0 , πριν ακολουθήσει η επόμενη



Σχήμα 6. Απεικόνιση της συμπεριφοράς της μαγνήτισης M_z υπό την επίδραση της ακολουθίας παλμών IRFT.

ακολουθία παλμών. Έτσι εξασφαλίζεται η πλήρης αποδιέγερση όλων των υπό εξέταση πυρήνων πριν την επόμενη ακολουθία παλμών (Σχήμα 6α).

Η ακολουθία παλμών IRFT παρουσιάζεται στο Σχήμα 7. Η ακολουθία επαναλαμβάνεται αρκετές φορές για κάθε χρόνο t , ώστε να επιτευχθεί ικανοποιητική ευαισθησία του πειράματος, δηλαδή μεγάλη τιμή του λόγου σήματος προς θόρυβο (signal to noise ratio, S/N). Ο μετασχηματισμός κατά Fourier των FID που αντιστοιχούν σε διάφορες τιμές t , δίνει μία σειρά από φάσματα ^{13}C , στα οποία η ένταση των κορυφών μπορεί να είναι αρνητική (Σχήμα 6ζ), μηδέν (Σχήμα 6η) ή θετική (Σχήμα 6θ), ανάλογα με το χρόνο αναμονής t και το χρόνο T_1 του πυρήνα ^{13}C .



Σχήμα 7. Η ακολουθία παλμών IRFT για την μέτρηση του χρόνου αποδιέγερσης σπιν-πλέγμα, T_1 .

Η επαναφορά της διαμήκουσ συνιστώσας της μαγνήτισης M_z στην τιμή ισορροπίας της M_0 , ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης με σταθερά τον χρόνο αποδιέγερσης σπιν-lattice T_1 :

$$M_z(t) = M_0 \cdot (1 - 2e^{-t/T_1}) \quad (13)$$

$M_z(t)$ είναι η τιμή της διαμήκουσ συνιστώσας της μαγνήτισης μετά από χρόνο αναμονής t . Στη φασματοσκοπία NMR, η ένταση της κορυφής S_t στο φάσμα κατά την χρονική στιγμή t , είναι ανάλογη προς την τιμή της $M_z(t)$, επομένως η εξίσωση (13) παίρνει την μορφή

$$S_t = S_0 \cdot (1 - 2e^{-t/T_1}) \quad (14)$$

Όταν ο παλμός των 90° ακολουθεί σχεδόν αμέσως των παλμό των 180° , δηλαδή για μικρούς χρόνους t , παρατηρούνται ανεστραμμένες κορυφές (όταν $t=0 \Rightarrow S_t = -S_0$), ενώ καθώς ο χρόνος t αυξάνει, η ένταση των αρνητικών κορυφών ελαττώνεται. Για $t=T_1 \ln 2$ η ένταση των κορυφών μηδενίζεται (Σχήμα 6δ). Στη συνέχεια για ακόμα μεγαλύτερες τιμές t , οι κορυφές έχουν θετική ένταση, ενώ όταν $t > 5T_1$ πλησιάζουν ασυμπτωτικά την τιμή θερμικής ισορροπίας $S_t = S_0$.

Εάν η εξίσωση (14) λογαριθμιστεί, ο χρόνος αποδιέγερσης T_1 , μπορεί να υπολογιστεί από την κλίση του διαγράμματος $\ln[(S_0 - S_t)/S_0]$ συναρτήσεως του χρόνου αναμονής t

$$\ln[(S_0 - S_t)/S_0] = \ln 2 - t/T_1 \quad (15)$$

Η παραπάνω προσέγγιση υπολογισμού των T_1 αντιμετωπίζει τις εξής δυσκολίες. Πρώτον οι εντάσεις S_0 πρέπει να μετρηθούν πειραματικά γεγονός που αυξάνει σημαντικά τον χρόνο του πειράματος, δεδομένου ότι για την μέτρησή τους απαιτούνται χρόνοι αναμονής $t \sim 5T_1$ και δεύτερον η μέτρηση της S_0 είναι επιρρεπής σε σφάλματα τυχαία ή συστηματικά, τα οποία μεταφέρονται στον υπολογισμό των τιμών T_1 . Έχει δειχθεί^{12,13} ότι το σφάλμα του όρου $\ln[(S_0 - S_t)/S_0]$ αυξάνεται με την αύξηση του t . Συνήθως, η τιμή της S_0 μετράται δύο ή τρεις φορές σε κάθε πείραμα αυξάνοντας παραπέρα την διάρκεια του πειράματος.

Μία εναλλακτική λύση, που ελαχιστοποιεί τα πειραματικά σφάλματα και μειώνει την διάρκεια του πειράματος, είναι η χρήση μίας εκθετικής συνάρτησεως τριών παραμέτρων

που περιλαμβάνει εκτός από τα S_i και T_1 , την ένταση S_0 ως μεταβλητή παράμετρο. Έτσι επιτυγχάνεται ελαχιστοποίηση της επίδρασης πιθανής ανακρίβειας της τιμής της S_0 στον υπολογισθέντα χρόνο T_1 .

Για τον υπολογισμό του χρόνου αποδιέγερσης T_1 συνίσταται¹⁴ η χρησιμοποίηση οκτώ χρόνων αναμονής t . Έχει αποδειχθεί¹⁴ ότι η χρησιμοποίηση περισσότερων από οκτώ τιμές επιφέρει πολύ μικρή βελτίωση στην ακρίβεια του πειράματος. Πριν την μέτρηση ενός χρόνου αποδιέγερσης T_1 είναι γνωστή η περιοχή εντός της οποίας βρίσκεται η τιμή, είτε εμπειρικά, είτε από την βιβλιογραφία. Όσο μικρότερη είναι η γνώση της ακριβούς τιμής του T_1 τόσο μεγαλύτερη πρέπει να είναι και η περιοχή που πρέπει να κατανομούνται οι χρόνοι αναμονής t , προκειμένου να μετρηθεί με ακρίβεια η τιμή του T_1 . Στην πραγματικότητα όμως σε ένα πείραμα πυρηνικής αποδιέγερσης, μετράμε ταυτόχρονα διαφορετικούς χρόνους T_1 για περισσότερους από έναν πυρήνα ^{13}C στο ίδιο μόριο. Επομένως είναι απαραίτητη η χρήση περισσότερων διαφορετικών χρόνων t , έτσι ώστε να υπάρχουν τουλάχιστον οκτώ κατάλληλες τιμές για τον ακριβή προσδιορισμό κάθε χρόνου T_1 .

Η ένταση μίας κορυφής (ο λόγος S/N) καθορίζει σημαντικά την ακρίβεια του πειράματος. Η χρήση διαφορετικών χρόνων αναμονής t , οδηγούν σε διαφορετικές τιμές εντάσεως S_i και συνεπώς σε διαφορετικούς λόγους S/N . Ως S/N (ευαισθησία) ενός πειράματος IRFT, θεωρείται ο λόγος S/N του σήματος που αντιστοιχεί στον μεγαλύτερο χρόνο t . Γενικά στα πειράματα αποδιέγερσης είναι επιθυμητό να επιτευχθεί η μεγαλύτερη δυνατή τιμή του λόγου S/N , η οποία οδηγεί στο μεγαλύτερο δυνατό αριθμό επαναλήψεων της ακολουθίας παλμών. Ο αριθμός όμως των επαναλήψεων περιορίζεται από την χρονική διάρκεια του πειράματος. Έτσι είναι απαραίτητος κάποιος συμβιβασμός όσον αφορά τον αριθμό των χρόνων t , τον αριθμό των επαναλήψεων και του χρόνου αναμονής DT .

Ο τρόπος επιλογής των τιμών t διαφέρει ανάλογα με το εύρος της περιοχής των T_1 που επιδιώκεται να μετρηθούν και τον τρόπο κατανομής τους. Σε αρκετά πειράματα χρησιμοποιείται για την επιλογή των χρόνων t η εξίσωση¹⁵:

$$t_i = t_1 + (t_n - t_1) \frac{i-1}{(n-1)^r}, \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (16)$$

όπου $r=1$ ή 2 . Δηλαδή οι τιμές των t αντιστοιχούν σε γραμμική ($r=1$) ή σε τετραγωνική κατανομή ($r=2$). Η κατάλληλη επιλογή των t_1 και t_n εξαρτάται από το εύρος της περιοχής των T_1 που πρόκειται να μετρηθούν.

Παραπάνω συζητήθηκε η κατάλληλη επιλογή των παραμέτρων που θα οδηγήσει στην ελαχιστοποίηση των τυχαίων σφαλμάτων. Τα πειράματα πυρηνικής αποδιέγερσης όμως είναι ευαίσθητα όχι μόνο στα τυχαία αλλά και στα συστηματικά σφάλματα, τα οποία οφείλονται, είτε στην διαφορετική επίδραση που μπορεί να έχει ένας παλμός στα ανύσματα της μαγνήτισης πυρήνων που συντονίζονται σε συχνότητες διαφορετικές από

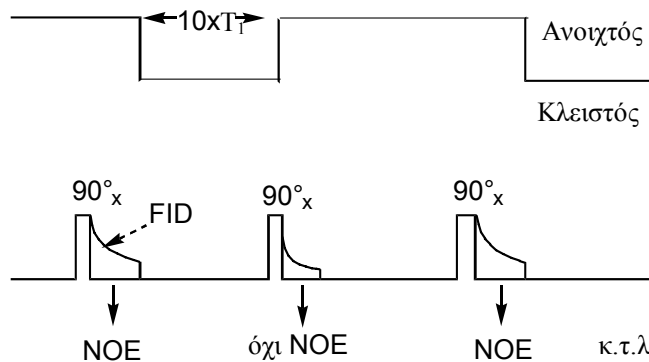
εκείνη στην οποία εφαρμόζεται ο παλμός (frequency offset), είτε σε λανθασμένη ρύθμιση του εύρους των παλμών 90° και 180° , ή άλλων χαρακτηριστικών τους (σχήμα, ομοιογένεια, φάση), είτε σε μικρές μεταβολές της θερμοκρασίας κατά την διάρκεια του πειράματος ή σε τυχόν ανομοιογένεια του εξωτερικού πεδίου B_0 .

Ένας τρόπος αντιμετώπισης των τυχαίων σφαλμάτων είναι η χρήση της μεθόδου block averaging. Σε αυτή την μέθοδο, οι διάφοροι χρόνοι αναμονής t χρησιμοποιούνται σε τυχαία σειρά και οι επαναλήψεις της ακολουθίας παλμών IRFT για ένα χρόνο t , δεν γίνονται όλες μαζί αλλά κατά τμήματα (blocks). Με τον όρο block εννοείται ένας αριθμός επαναλήψεων της ακολουθίας παλμών με χρόνο αναμονής t . Οι FID που προκύπτουν από κάθε επανάληψη, συλλέγονται και αποθηκεύονται στην μνήμη του υπολογιστή. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται μέχρις ότου επιτευχθεί ο προκαθορισμένος συνολικός αριθμός επαναλήψεων του πειράματος.

1.2.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΟΥ NOE

Η πειραματική μέτρηση του παράγοντα NOE, γίνεται με την μέθοδο της περιοδικής αποσύζευξης (reverse gated decoupling) με την εφαρμογή της ακολουθίας παλμών [DT - 90° - t_{acq}]. Σύμφωνα με την μέθοδο αυτή, το πεδίο που προκαλεί αποσύζευξη των ^1H εφαρμόζεται μόνο κατά την διάρκεια της ανίχνευσης της FID δηλαδή κατά την διάρκεια καταγραφής του σήματος, ενώ καθ' όλο το υπόλοιπο χρονικό διάστημα του πειράματος (παλμός 90° και χρόνος αναμονής), ο αποσυζευκτής παραμένει κλειστός (χωρίς πρωτονιακή αποσύζευξη).

Η ανάπτυξη του NOE κατά την διάρκεια της ανίχνευσης είναι αμελητέα, λόγω της μικρής διάρκειας αυτής, λαμβάνοντας έτσι αποσυζευγμένα φάσματα ^{13}C χωρίς NOE, δηλαδή χωρίς αύξηση της έντασης των κορυφών.



Σχήμα 8. Ακολουθία παλμών περιοδικής αποσύζευξης για την μέτρηση του παράγοντα NOE.

Ο λόγος της έντασης μιας κορυφής S_1 στο φάσμα ^{13}C χωρίς NOE, με την ένταση της ίδιας κορυφής S_2 , σε ένα φάσμα που ελήφθη κάτω από συνθήκες πλήρους πρωτονιακής αποσύζευξης, μας δίνει τον παράγοντα NOE

$$\text{NOE} = S_1 / S_2 \quad (17)$$

Συνήθως τα δύο φάσματα λαμβάνονται ταυτόχρονα με την μέθοδο block averaging για την ελαχιστοποίηση των τυχαίων σφαλμάτων. Μετά από κάθε ανίχνευση FID ακολουθεί ένας χρόνος αναμονής $DT = 8-10 * T_1^{\text{max}}$, με στόχο την επαναφορά της μαγνήτισης στην κατάσταση θερμικής ισορροπίας πριν από την εφαρμογή του επόμενου παλμού των 90° . Στο Σχήμα 8 δίνεται η ακολουθία παλμών της περιοδικής αποσύζευξης.

1.3 ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

1.3.1 Η ΣΠΟΥΔΑΙΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΧΡΟΝΙΚΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΣΤΗΝ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

Η συνάρτηση συσχέτισης εμπεριέχει όλες τις πληροφορίες για τους μηχανισμούς και τις ταχύτητες των μοριακών περιστροφικών κινήσεων. Έτσι εάν μπορούσαμε να προσδιορίσουμε πειραματικά την $G(t)$ θα είχαμε την δυνατότητα να περιγράψουμε την μοριακή δυναμική με ποσοτικούς όρους.

Επειδή η φασματοσκοπία NMR μετρά συχνότητες, η $G(t)$, ως χρονική συνάρτηση, δεν μπορεί να προσδιοριστεί πειραματικά. Μπορεί όμως να προσδιοριστεί πειραματικά η φασματική πυκνότητα, $J(\omega)$, η οποία μεταβάλλεται στην περιοχή των συχνοτήτων. Με έναν αντίστροφο μετασχηματισμό Fourier, η $J(\omega)$ μπορεί να οδηγήσει στην μορφή της $G(t)$.

$$G(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} J(\omega) e^{-i\omega t} dt \quad (18)$$

Η $J(\omega)$ προσδιορίζεται πειραματικά εμμέσως από τις πειραματικές τιμές των T_1 και NOE και τις εξισώσεις (10) και (11). Από τις παραπάνω εξισώσεις φαίνεται ότι οι παράμετροι αποδιέγερσης εξαρτώνται από την φασματική πυκνότητα στις συχνότητες Larmor ω_H , ω_C και από τις συχνότητες $\omega_H + \omega_C$ και $\omega_H - \omega_C$. Μία απλή μαθηματική πράξη φανερώνει ότι το άθροισμα και η διαφορά των συχνοτήτων Larmor, είναι της ίδιας τάξης μεγέθους με τις ω_H και ω_C . Επομένως, η μέτρηση των T_1 και NOE για μία συγκεκριμένη ένταση του μαγνητικού πεδίου παρέχει δύο μόνο τιμές διαφορετικής τάξης μεγέθους για την

φασματική πυκνότητα. Δύο όμως τιμές της $J(\omega)$ είναι ανεπαρκείς για τον αντίστροφο μετασχηματισμό Fourier που περιγράφει η εξίσωση (18).

Μία λύση θα ήταν να γίνουν πειράματα σε μεγαλύτερο αριθμό πεδίων, η οποία όμως δεν θα ήταν ιδιαίτερα ικανοποιητική επειδή κάθε πεδίο είναι ένα ξεχωριστό όργανο NMR, του οποίου το κόστος είναι μεγάλο, οι δε πειραματικές τιμές της φασματικής πυκνότητας θα ήταν και πάλι λίγες για έναν αξιόπιστο μετασχηματισμό Fourier.

Επειδή όπως φαίνεται από τα παραπάνω, ο πειραματικός προσδιορισμός της $G(t)$ δεν είναι εφικτός, η φασματοσκοπία NMR συνδυάζεται με θεωρητικές χρονικές συναρτήσεις συσχέτισης (μοντέλα), οι οποίες περιγράφουν την τοπική δυναμική της μακρομοριακής αλυσίδα.

Ένα καλό μοντέλο θα πρέπει να περιγράφει όσο τον δυνατόν καλύτερα την φύση των τοπικών κινήσεων σε μία πολυμερική αλυσίδα με την χρήση μικρού αριθμού παραμέτρων, ώστε η προσομοίωση των πειραματικών δεδομένων να είναι ακριβής.

Επειδή τα πολυμερή χαρακτηρίζονται από πολύπλοκες περιστροφικές κινήσεις, η απλή εκθετική συνάρτηση (7) δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή της δυναμικής της. Πριν προχωρήσουμε στην ανάπτυξη των μοντέλων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη για την περιγραφή της δυναμικής των πολυσακχαριτών, είναι απαραίτητο να εξετάσουμε την φύση των περιστροφικών κινήσεων που συμβαίνουν σε μία υδατανθρακική αλυσίδα.

1.3.2 ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΕΣ ΚΙΝΗΣΕΙΣ ΜΙΑΣ ΠΟΛΥΜΕΡΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ

Οι περιστροφικές κινήσεις που συμβαίνουν σε μία υδατανθρακική αλυσίδα διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: (α) Συλλογικές και (β) Τοπικές κινήσεις.

α) Συλλογικές κινήσεις.

Οι συλλογικές κινήσεις περιλαμβάνουν μεγάλα τμήματα της αλυσίδα, που μπορεί να φτάσουν στο μέγεθος ολόκληρης της αλυσίδα. Είναι πολύ αργές, με μοριακούς χρόνους συσχέτισης 10^{-5} - 10^{-8} s.

Στις ευέλικτες πολυμερικές αλυσίδες τυχαίας σπείρας (random coil), η αποδιέγερση οφείλεται κυρίως στις τοπικές κινήσεις. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα περισσότερα βιοπολυμερή (οι ουδέτεροι πολυσακχαρίτες).

β) Τοπικές κινήσεις

Ανάλογα με την φύση τους διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες:

i) Οι ταλαντωτικές κινήσεις γύρω από τον D-γλυκοζιτικό δεσμό, οι οποίες ονομάζονται και τμηματικές κινήσεις¹⁶. Η χρονική κλίμακα των τμηματικών κινήσεων είναι της τάξης των nanoseconds (10^{-9} s). Τα δυναμικά χαρακτηριστικά των τμηματικών κινήσεων ποικίλουν ανάλογα με την δομή της υδατανθρακικής αλυσίδα, τον διαλύτη και τη θερμοκρασία.

Για πολυμερή με μεγάλο μοριακό βάρος (>10.000) οι τμηματικές κινήσεις θεωρούνται ανεξάρτητες του μοριακού βάρους του πολυμερούς.

ii) Περιστροφικές κινήσεις υποκαταστατών, οι οποίες είναι πιο γρήγορες από τις τμηματικές κινήσεις και συνήθως συμβαίνουν σε χρονική κλίμακα 10^{-10} - 10^{-11} s. Οι περιστροφικές κινήσεις υποκαταστατών μπορεί να είναι από απλές περιστροφές ενός υποκαταστάτη γύρω από τον δεσμό σύνδεσης με την κύρια πολυμερική αλυσίδα¹⁷, όπως για παράδειγμα η περιστροφή της εξωκυκλικής υδροξυμεθυλομάδας στους πολυσακχαρίτες. Το πλάτος της περιστροφικής κίνησης των πλευρικών ομάδων μπορεί να είναι περιορισμένο, λόγω υδροδυναμικών αλληλεπιδράσεων και στερεοχημικών παρεμποδίσεων που υφίστανται από την κύρια αλυσίδα ή και από γειτονικές πλευρικές ομάδες.

iii) Οι ταλαντωτικές κινήσεις δεσμών C-H των μονομερών μονάδων (μονοσακχαριτών) στην κύρια αλυσίδα του πολυμερούς. Αυτές είναι ταχύτερες (10^{-11} - 10^{-12} s) από τις τμηματικές κινήσεις και τις ενδομοριακές περιστροφές υποκαταστατών, είναι περιορισμένου πλάτους ($15-30^\circ$) και χαρακτηρίζονται από μικρή ενέργεια ενεργοποίησης. Λόγω της μικρής ενέργειας ενεργοποίησης είναι ανεξάρτητες από τις υδροδυναμικές αλληλεπιδράσεις της αλυσίδας με τον διαλύτη¹⁶. Οφείλονται στις παραμορφώσεις διεδρών γωνιών.

1.3.3 ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ ΣΥΝΑΡΤΗΣΕΙΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΩΝ ΤΜΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΙΝΗΣΕΩΝ

1.3.3.1 ΜΕΤΑΒΑΣΕΙΣ ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΕΩΝ (CONFORMATIONAL TRANSITIONS)

Η περιγραφή της δυναμικής των τμηματικών κινήσεων βασίζεται στην εξίσωση Langevin, εξίσωση (19), που περιγράφει την κίνηση σωματιδίων Brown στην περιοχή υψηλών τριβών.

$$\beta(d\mathbf{r}_i/dt) = -(1/m)\nabla_i V + A_i(t) \quad (19)$$

Στην εξίσωση Langevin, m είναι η μάζα του ατόμου του άνθρακα, β ο συντελεστής τριβής διαιρεμένος με την μάζα, \mathbf{r}_i η μήτρα συντεταγμένων του ατόμου άνθρακα i και \mathbf{V} το συνολικό δυναμικό. Η επίδραση του περιβάλλοντος μέσου (διαλύτης) στην κίνηση της αλυσίδας, αντιπροσωπεύεται από τις στατιστικά τυχαίες δυνάμεις A_i , οι οποίες έχουν μέση τιμή μηδέν.

Η επίλυση της εξίσωσης Langevin οδήγησε σε μία αντιπροσωπευτική τροχιά (trajectory) του συστήματος, η οποία περιγράφει τη μεταβολή των συντεταγμένων των ατόμων άνθρακα συναρτήσει του χρόνου και συνεπώς παρέχει όλες τις πληροφορίες για την δυναμική εξέλιξη του συστήματος.

Οι Hall και Helfand¹⁸ προχώρησαν στον υπολογισμό των συναρτήσεων συσχέτισης διαμορφώσεων (conformational correlation functions) για διάφορα συστήματα. Στην συνέχεια οι Weber και Helfand¹⁹ υπολόγησαν τις συναρτήσεις συσχέτισης

προσανατολισμού (orientational correlation functions) τεσσάρων διαφορετικών μοναδιαίων διανυσμάτων, τα οποία βρίσκονται κατά μήκος ή κάθετα στην κύρια πολυμερική αλυσίδα. Έτσι βρέθηκε ότι η ημιμπερική συνάρτηση συσχέτισης

$$G(t) = (1-a) e^{-t/\tau_0} e^{-t/\tau_1} I_0(t/\tau_1) + a e^{-\mu t} \quad (20)$$

περιγράφει αρκετά ικανοποιητικά και τις τέσσερις συναρτήσεις συσχέτισης που προέκυψαν από την ανάλυση της τροχιάς. Όπου $a = \tau_0^{-2} + 2(\tau_0 \tau_1)^{-1} - \omega^2$ (το ποσοστό συμμετοχής της κάθε κίνησης), μ είναι ο χρόνος συσχέτισης του ανύσματος C-H καθώς αυτό προσανατολίζεται σε διαφορετικές κατευθύνσεις ως προς την κύρια αλυσίδα και I_0 είναι μία τροποποιημένη συνάρτηση Bessel πρώτου είδους μηδενικής τάξης. Ο μοριακός χρόνος συσχέτισης τ_1 περιγράφει την πραγματοποίηση των συλλογικών (cooperative pairs) διαμορφώσεων δεσμών που οδηγούν στην διάδοση προσανατολισμών κατά μήκος της αλυσίδας. Ο μοριακός χρόνος συσχέτισης τ_0 περιγράφει την πραγματοποίηση διαμορφώσεων ενός δεσμού, που είναι υπεύθυνες για την διακοπή αυτής της διάδοσης.

Στην περίπτωση ανυσμάτων σχεδόν κάθετων στην κύρια αλυσίδα (όπως για παράδειγμα τα ανύσματα C-H της κύριας αλυσίδας) το a είναι πολύ μικρό και η συνάρτηση συσχέτισης απλοποιείται στην

$$G(t) = e^{-t/\tau_0} e^{-t/\tau_1} I_0(t/\tau_1) \quad (21)$$

η οποία είναι χαρακτηριστική συνάρτηση συσχέτισης των τμηματικών κινήσεων του μοντέλου Hall-Weber-Helfand (HWH). Η φασματική πυκνότητα προκύπτει από μετασχηματισμό Fourier της εξίσωσης (21) και δίνεται από την εξίσωση

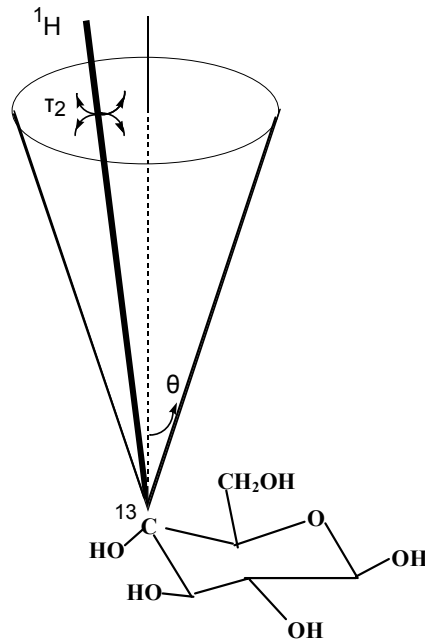
$$J(\omega) = 2 \{ [\tau_0^{-1}(\tau_0^{-1} + 2\tau_1^{-1}) - \omega^2]^2 + [2(\tau_0^{-1} + \tau_1^{-1})\omega]^2 \}^{-1/4} \times \cos(1/2 \arctan \{ 2(\tau_0^{-1} + \tau_1^{-1})\omega / [\tau_0^{-1}(\tau_0^{-1} + 2\tau_1^{-1}) - \omega^2] \}) \quad (22)$$

Σύμφωνα με το μοντέλο HWH, οι συζευγμένες διαμορφώσεις δεσμών λαμβάνουν χώρα διαδοχικά και όχι ταυτόχρονα.

2.3.3.2 ΤΑΛΑΝΤΩΤΙΚΕΣ ΚΙΝΗΣΕΙΣ (LIBRATIONAL MOTIONS)

Σε αρκετές περιπτώσεις η ανάλυση δεδομένων αποδιέγερσης πολυμερών δεν ήταν δυνατή με την χρήση μοντέλων που λαμβάνουν υπόψη μόνο τις διαμορφώσεις δεσμών. Έτσι

εξετάστηκε η περίπτωση να υπάρχει στην κύρια αλυσίδα μία επιπλέον κίνηση, η οποία να εντοπίζει περισσότερο τις τμηματικές κινήσεις σε μία πολυμερική αλυσίδα και να διαφοροποιεί την δυναμική συμπεριφορά των δεσμών C-H στους υδατανθρακικούς δακτυλίους των πολυσακχαριτών. Ακόμα, η πρόσθετη ανισοτροπική κίνηση θα πρέπει να είναι πολύ πιο γρήγορη από τις μεταβάσεις διαμορφώσεων (τουλάχιστον 1-2 τάξεις μεγέθους) ώστε να μην υπάρχει σύζευξη μεταξύ των δύο κινήσεων.



Σχήμα 9. Ανισοτροπική ταλαντωτική κίνηση ανύσματος C-H της κύριας πολυμερικής αλυσίδας σύμφωνα με το μοντέλο Dejean ,Laupretre και Monnerie.

Οι Dejean de la Batie,Laupretre και Monnerie²⁰ ,περιέγραψαν αυτή την κίνηση ως μία γρήγορη ταλαντωτική κίνηση (libration) του ανύσματος ενός δεσμού C-H γύρω από την θέση ισορροπίας του. Οι ταλαντώσεις γίνονται μέσα στο ενεργειακό ελάχιστο των μεταβάσεων διαμόρφωσης και χαρακτηρίζεται από σχεδόν αμελητέα ενέργεια ενεργοποίησης. Σχηματικά, η ταλαντωτική κίνηση των δεσμών C-H απεικονίζεται στο Σχήμα 9. Η κωνική επιφάνεια αποτελεί το όριο της ταλαντωτικής κίνησης, πλάτους ίσου με την ημιγωνία του κώνου θ , του οποίου ο άξονας συμπίπτει με τον δεσμό C-H στην κατάσταση ισορροπίας. Αυτή η αντίληψη οδήγησε τους Dejean de la Batie,Laupretre και Monnerie²⁰, στην πρόταση ενός γενικού μοντέλου (DLM), το οποίο συνδυάζει τις μεταβάσεις διαμορφώσεων στην κύρια αλυσίδα με τις ταλαντώσεις των ανυσμάτων C-H. Ο συνδυασμός των αντίστοιχων συναρτήσεων συσχέτισης οδηγεί στη σύνθετη συνάρτηση συσχέτισης

$$G(t)=(1-A) \cdot e^{-t/\tau_0} \cdot e^{-t/\tau_1} \cdot I_0(t/\tau_1) + A \cdot e^{-t/\tau_2} \cdot e^{-t/\tau_0} \cdot e^{-t/\tau_1} \quad (23)$$

όπου τ_2 είναι ο μοριακός χρόνος συσχέτισης της ανισοτροπικής ταλαντωτικής κίνησης, ενώ τα τ_0 και τ_1 οι χρόνοι συσχέτισης των μεταβάσεων διαμόρφωσης, όπως αυτοί ορίστηκαν στο μοντέλο HWH. Η παράμετρος A συνδέεται με την γωνία θ και δίδεται από την εξίσωση

$$1-A = \left\{ \frac{\cos\theta - \cos^3\theta}{2 \cdot (1 - \cos\theta)} \right\}^2 \quad (24)$$

Επειδή η ταλαντωτική κίνηση είναι πολύ ταχύτερη των τμηματικών κινήσεων, ο χρόνος συσχέτισης τ_2 είναι πολύ μικρότερος από τους αντίστοιχους χρόνους τ_1 και τ_0 . Έτσι, ο δεύτερος όρος της εξίσωσης (23) μπορεί να απλοποιηθεί στην εξίσωση (25)

$$G(t) = (1-A) \cdot e^{-t/\tau_0} \cdot e^{-t/\tau_1} \cdot I_0(t/\tau_1) + A \cdot e^{-t/\tau_2} \quad (25)$$

Ο μετασχηματισμός κατά Fourier της εξίσωσης (25), δίνει την φασματική πυκνότητα

$$J(\omega) = (1-A) \cdot 2 \left\{ \left[\tau_0^{-1} (\tau_0^{-1} + 2 \tau_1^{-1}) - \omega^2 \right]^2 + \left[2(\tau_0^{-1} + \tau_1^{-1}) \omega^2 \right] \right\}^{-1/4} \cdot \cos(1/2 \arctan \{ 2(\tau_0^{-1} + \tau_1^{-1}) \omega / [\tau_0^{-1} (\tau_0^{-1} + 2 \tau_1^{-1}) - \omega^2] \}) + A \tau_2 / (1 + \omega^2 \tau_2^2) \quad (26)$$

Η ύπαρξη των ανισοτροπικών ταλαντώσεων δεσμών σε πολυμερικές αλυσίδες έχει αποδειχθεί θεωρητικά²¹ και πειραματικά με πειράματα σκέδασης νετρονίων²². Η επίδραση των ταλαντωτικών κινήσεων στις παραμέτρους αποδιέγερσης είναι σημαντική, στην περίπτωση όπου η κίνηση της αλυσίδας είναι αργή (εκτός της περιοχής κινητικής στένωσης).

Έχει δειχθεί²⁰ ότι η τιμή του NT_1 στο ελάχιστο της καμπύλης NT_1 ως συνάρτηση της θερμοκρασίας, είναι απευθείας ανάλογη με την τιμή της ποσότητας $1/(1-A)$ και επομένως το ελάχιστο NT_1 εξαρτάται σημαντικά από το πλάτος των ταλαντώσεων του δεσμού C-H, δηλαδή το μέγεθος της γωνίας θ . Το πλάτος των ταλαντώσεων αντανακλά το μέγεθος της στερεοχημικής παρεμπόδισης που υφίσταται η ταλαντωτική κίνηση των δεσμών C-H στην πολυμερική αλυσίδα.

Το μοντέλο DLM έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την περιγραφή της δυναμικής των τοπικών κινήσεων σε μία σειρά από γραμμικούς πολυσακχαρίτες¹⁶.

1.3.4 ΘΕΩΡΗΤΙΚΕΣ ΣΥΝΑΡΤΗΣΕΙΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΗΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΗΣ

Οι περιστροφικές κινήσεις των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων των πολυσακχαριτών αποτελούν μία επιπλέον πηγή αποδιέγερσης της πολυμερικής αλυσίδας. Επομένως, η σωστή περιγραφή της δυναμικής του συστήματος απαιτεί την συμπλήρωση της συνάρτησης συσχέτισης, ώστε να περιγράφει τους μηχανισμούς και τις ταχύτητες αυτών των περιστροφικών κινήσεων. Η συνολική συνάρτηση συσχέτισης, $G(t)$, παραγοντοποιείται σε μία συνάρτηση συσχέτισης, $G_{sg}(t)$, η οποία περιγράφει τις τμηματικές κινήσεις της κύριας αλυσίδας και σε μία συνάρτηση, $G_{sd}(t)$, που περιγράφει την δυναμική των υδροξυμεθυλομάδων.

$$G(t) = G_{sg}(t) \cdot G_{sd}(t) \quad (27)$$

Στην περίπτωση όπου η χρονική κλίμακα κίνησης της πλευρικής ομάδας είναι τουλάχιστον δύο τάξεις μεγέθους μικρότερη από την κίνηση των τμηματικών κινήσεων της κύριας αλυσίδας, τότε οι δύο τύποι κινήσεων θεωρούνται ανεξάρτητες μεταξύ τους και η εξίσωση (27) ισχύει. Όταν οι χρονικές κλίμακες είναι συγκρίσιμες, η παραδοχή της ανεξαρτησίας των δύο κινήσεων αποτελεί μία πρώτη προσέγγιση.

Υπάρχουν δύο προσεγγίσεις στην ανάπτυξη συναρτήσεων συσχέτισης, ανάλογα με την δομή της κύριας αλυσίδας του πολυμερούς και την φύση της πλευρικής ομάδας, για την ποσοτική περιγραφή της περιστροφικής κίνησης των υποκαταστατών. Η πρώτη προσέγγιση²³ περιγράφει τις περιστροφικές κινήσεις υποκαταστατών με άλματα ορισμένου πλάτους, π.χ. 120° για τις μεθυλομάδες, ή 180° για φαινυλικούς δακτυλίους. Η δεύτερη προσέγγιση²⁴⁻²⁶ δίνει στην περιστροφή τα χαρακτηριστικά της διάχυσης, δηλαδή συνεχή περιστροφή γύρω από τον δεσμό με απειροστές μεταβολές της γωνίας περιστροφής. Επίσης ένα σημαντικό χαρακτηριστικό των συναρτήσεων συσχέτισης για τους υποκαταστάτες είναι η ικανότητά τους να περιγράφουν ελεύθερες περιστροφές γύρω από τους δεσμούς (πλάτος περιστροφής 360°) ή παρεμποδισμένες (περιορισμένες) περιστροφές (πλάτος $<360^\circ$). Στην δεύτερη περίπτωση, εκτός από τον μοριακό χρόνο συσχέτισης, που περιγράφει την ταχύτητα περιστροφής, η συνάρτηση συσχέτισης θα πρέπει να περιέχει ως παράμετρο και το πλάτος της περιστροφής.

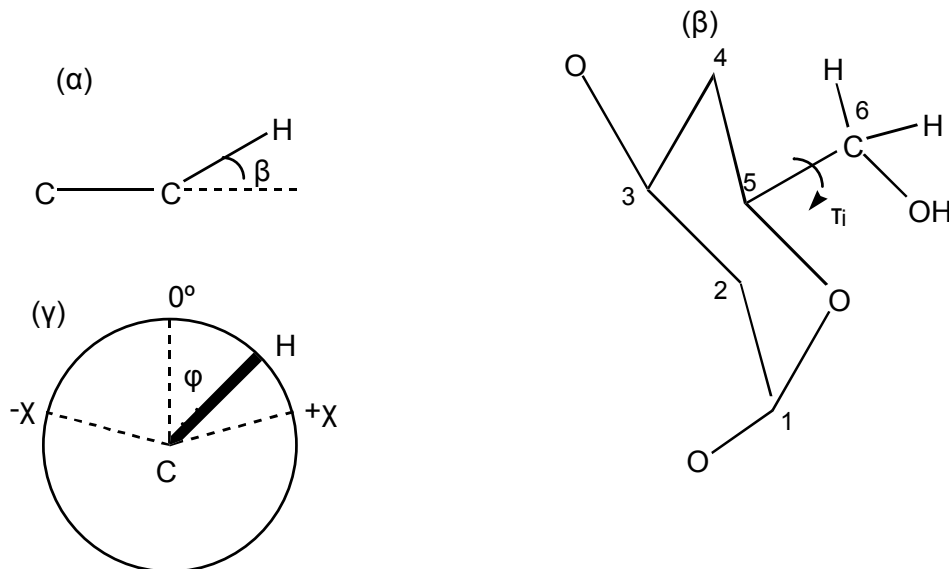
Περιστροφές περιορισμένου πλάτους, αντανακλούν τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της πολυμερικής αλυσίδας, τα οποία δημιουργούν ενδομοριακά δυναμικά φράγματα και παρεμποδίζουν την ελεύθερη περιστροφή των πλευρικών υποκαταστατών. Επειδή οι συναρτήσεις συσχέτισης, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν, αφορούν περιορισμένου πλάτους υποκαταστατών, η αναφορά θα γίνει μόνο σε αυτές τις συναρτήσεις.

1.3.4.1 ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΔΙΑΧΥΣΗ

Η εξίσωση (28) αποτελεί την μαθηματική έκφραση της συνάρτησης συσχέτισης των London και Avitabile²⁷, για παρεμποδισμένες περιστροφές υποκαταστατών, οι οποίες γίνονται με διάχυση

$$G(t) = \sum_{\alpha=-2}^2 |d_{\alpha 0}^{(2)}(\beta)|^2 \langle e^{-i\alpha[\varphi(0)-\varphi(t)]} \rangle \quad (28)$$

$d_{\alpha 0}$ είναι η ανηγμένη μήτρα Wigner²⁷ δεύτερης τάξης, β είναι η γωνία που σχηματίζουν τα ανύσματα των δεσμών C-C και C-H, ενώ $\varphi(t)$ είναι η αζιμουθιακή μετατόπιση του ανύσματος C-H γύρω από τον άξονα περιστροφής του την χρονική στιγμή t .



Σχήμα 10. Σχηματική απεικόνιση της περιστροφικής διάχυσης περιορισμένου πλάτους. (α) Γωνία β που σχηματίζει ο άξονας περιστροφής με το άνυσμα C-H. (β) Περιστροφική κίνηση της υδροξυμεθυλομάδας γύρω από τον εξωκυκλικό δεσμό C-5-C-6 με μοριακό χρόνο συσχέτισης τ_i . (γ) Πλάτος περιστροφής, 2χ (από $-\chi$ έως $+\chi$), κατά μήκος του άξονα περιστροφής.

Ο μετασχηματισμός Fourier της εξίσωσης (28) παρέχει την συνάρτηση φασματικής πυκνότητας

$$J(\omega) = \sum_{\alpha=-2}^2 \sum_{n=0}^{\infty} |d_{\alpha 0}^{(2)}(\beta)|^2 \cdot |E(\alpha, n)|^2 \frac{\tau_i}{1 + \omega^2 \tau_i^2} \quad (29)$$

όπου

$$E(m,0) = \frac{\sin(m\chi)}{m\chi} \quad (29\alpha)$$

$$E(m,n \neq 0) = \frac{\sin(m\chi - n\pi/2)}{2^{1/2}(m\chi - n\pi/2)} + (-1)^n \frac{\sin(m\chi + n\pi/2)}{2^{1/2}(m\chi + n\pi/2)} \quad (29\beta)$$

ενώ

$$\tau_i = \frac{n^2 \pi^2 D_i^2}{4\chi^2} \quad (29\gamma)$$

τ_i και D_i είναι ο μοριακός χρόνος συσχέτισης και ο συντελεστής διάχυσης αντίστοιχα της ενδομοριακής περιστροφικής κίνησης, 2χ είναι το πλάτος της περιστροφικής διάχυσης. Το μοντέλο παριστάνεται στο σχήμα 10.

1.3.4.2 ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ ΜΕ ΑΛΜΑΤΑ

Ένα άλλο μοντέλο περιστροφικής κίνησης που προτάθηκε από τον London²⁸, περιγράφει τη περιστροφική κίνηση του ανύσματος C-H υπό τη μορφή αλμάτων ανάμεσα σε ενεργειακά ελάχιστα της καμπύλης δυναμικής ενέργειας. Αυτά τα ελάχιστα ορίζουν δύο καταστάσεις A και B με χρόνους ζωής τ_A και τ_B , αντίστοιχα. Το πλάτος των αλμάτων είναι $2y$ (από $-y$ έως $+y$). Το μοντέλο αυτό φαίνεται στο σχήμα 11.

Η χρονική συνάρτηση συσχέτισης του μοντέλου αυτού δίδεται από την εξίσωση:

$$G(t) = C_1 \exp(-t/\tau_R) + C_2 \exp[-(1/\tau_R + 1/\tau_c)t] \quad (30)$$

όπου

$$C_1 = (\tau_A + \tau_B)^{-2} [3/4 \sin^4\beta(\tau_A^2 + \tau_B^2 + 2\tau_A\tau_B\cos 4y) + 3\sin^2\beta\cos^2\beta(\tau_A^2 + \tau_B^2 + 2\tau_A\tau_B\cos 2y) + 1/4(3\cos^2\beta - 1)^2(\tau_A + \tau_B)^2] \quad (30\alpha)$$

$$C_2 = 3\tau_A\tau_B(\tau_A + \tau_B)^{-2} [1/2\sin^4\beta(1 - \cos 4y) + 2\sin^2\beta\cos^2\beta(1 - \cos 2y)] \quad (30\beta)$$

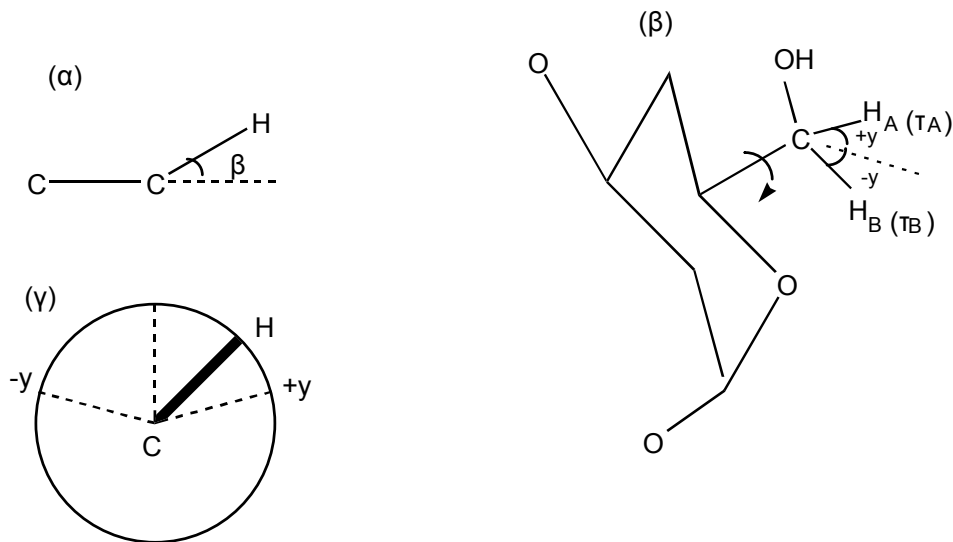
και

$$\tau_c^{-1} = \tau_A^{-1} + \tau_B^{-1} \quad (30\gamma)$$

με αντίστοιχη φασματική πυκνότητα, έπειτα από μετασχηματισμό Fourier της εξίσωσης (30)

$$J(\omega) = C_1 \frac{\tau_R}{1 + (\omega \tau_R)^2} + C_1 \frac{(1/\tau_R + 1/\tau_c)^{-1}}{1 + [\omega/(1/\tau_R + 1/\tau_c)]^2} \quad (31)$$

τ_R είναι ο χρόνος συσχέτισης της συνολικής περιστροφικής κίνησης, β είναι η γωνία που σχηματίζει το περιστρεφόμενο άνυσμα C-H με τον άξονα περιστροφή, $2y$ είναι το πλάτος του άλματος, δηλαδή τα άλματα λαμβάνουν χώρα μεταξύ $-y$ και $+y$.



Σχήμα 11. Σχηματική απεικόνιση των άλμάτων του ανύσματος C-H μεταξύ δύο σταθερών καταστάσεων A και B. (α) Γωνία β που σχηματίζει ο άξονας περιστροφής με το άνυσμα C-H. (β) Καταστάσεις A και B με χρόνους ζωής τ_A και τ_B , αντίστοιχα (γ) Πλάτος άλμάτων από $-y$ έως $+y$ γύρω από τον άξονα περιστροφής.

Οι γενικές συναρτήσεις συσχέτισης των εξισώσεων (28) και (30) μπορούν να συνδυαστούν με μία συνάρτηση συσχέτισης που περιγράφει την τμηματική κίνηση της κύριας αλυσίδας ενός πολυμερούς. Υπενθυμίζεται ότι στην αποδιέγερση ενός πυρήνα ^{13}C , ο οποίος βρίσκεται στον πλευρικό υποκαταστάτη ενός πολυμερούς, συνεισφέρουν, τόσο η κίνηση του πλευρικού υποκαταστάτη, όσο και οι τμηματικές κινήσεις της κύριας αλυσίδας.

Αν εφαρμοστεί η συνάρτηση συσχέτισης του μοντέλου μεταβάσεων διαμορφώσεων της εξίσωσης (21) προκύπτουν οι σύνθετες συναρτήσεις συσχέτισης, οι οποίες περιγράφουν περιστροφική διάχυση περιορισμένου πλάτους και αλμάτων του ανύσματος C-H, μεταξύ δύο σταθερών καταστάσεων A και B στον πλευρικό υποκαταστάτη ενός πολυμερούς, του οποίου η τμηματική κίνηση περιγράφεται από το μοντέλο HWH. Αυτές οι σύνθετες συναρτήσεις συσχέτισης δίνονται από την εξίσωση²⁹:

$$G(t) = \sum_{\alpha=2}^2 |d_{\omega 0}^{(2)}(\beta)|^2 \langle e^{-i\alpha[\varphi(0)-\varphi(t)]} \rangle e^{-t/\tau_0} e^{-t/\tau_1} \quad (32)$$

για την περίπτωση της περιστροφικής διάχυσης περιορισμένου πλάτους. Ο μετασχηματισμός κατά Fourier της εξίσωσης (32) δίνει την αντίστοιχη συνάρτηση φασματικής πυκνότητας, σύμφωνα με την εξίσωση³⁰

$$J(\omega) = 2 \{ [\tau_{01}^{-1}(\tau_{01}^{-1} + 2\tau_1^{-1}) - \omega^2]^2 + [2(\tau_{01}^{-1} + \tau_1^{-1})\omega^2]^{-1/4} \times \cos(1/2 \arctan \{ 2(\tau_{01}^{-1} + \tau_1^{-1})\omega / [\tau_{01}^{-1}(\tau_{01}^{-1} + 2\tau_1^{-1}) - \omega^2] \}) \} \quad (33)$$

όπου

$$\tau_{01}^{-1} = \tau_0^{-1} + \tau_1^{-1} \quad (33a)$$

Οι διάφορες παράμετροι των παραπάνω εξισώσεων έχουν την ίδια έννοια με τις αντίστοιχες παραμέτρους των εξισώσεων (21) και (29).

Οι αντίστοιχες εξισώσεις για την περίπτωση των αλμάτων μεταξύ δύο ευσταθών καταστάσεων A και B είναι για την συνάρτηση συσχέτισης²⁹

$$G(t) = C_1 \cdot e^{-t/\tau_0} \cdot e^{-t/\tau_1} \cdot I_0(t/\tau_1) + C_2 \cdot e^{-t/\tau_c} \cdot e^{-t/\tau_0} \cdot e^{-t/\tau_1} \cdot I_0(t/\tau_1) \quad (34)$$

και η συνάρτηση φασματικής πυκνότητας

$$J(\omega) = C_1 \cdot 2 \{ [\tau_1^{-1}(\tau_1^{-1} + 2\tau_1^{-1}) - \omega^2]^2 + [2(\tau_1^{-1} + \tau_1^{-1})\omega^2]^{-1/4} \times \cos(1/2 \arctan \{ 2(\tau_1^{-1} + \tau_1^{-1})\omega / [\tau_1^{-1}(\tau_1^{-1} + 2\tau_1^{-1}) - \omega^2] \}) \} + C_2 \{ [\tau_{01}^{-1}(\tau_{01}^{-1} + 2\tau_1^{-1}) - \omega^2]^2 + [2(\tau_{01}^{-1} + \tau_1^{-1})\omega^2]^{-1/4} \times \cos(1/2 \arctan \{ 2(\tau_{01}^{-1} + \tau_1^{-1})\omega / [\tau_{01}^{-1}(\tau_{01}^{-1} + 2\tau_1^{-1}) - \omega^2] \}) \} \quad (35)$$

όπου

$$\tau_{01}^{-1} = \tau_0^{-1} + \tau_c^{-1} \quad (35a)$$

Οι διάφορες παράμετροι των παραπάνω εξισώσεων έχουν την ίδια έννοια με τις αντίστοιχες παραμέτρους των εξισώσεων (21) και (30).

1.3.4.3 ΠΟΛΛΑΠΛΕΣ ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΕΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΕΣ ΣΤΗΝ ΠΛΕΥΡΙΚΗ ΑΛΥΣΙΔΑ

Οι Wittebort και Szabo³¹ υπολόγισαν την συνάρτηση συσχέτισης στην περίπτωση πολλαπλών περιορισμένων περιστροφών σε μία αλυσίδα συνδεδεμένη με ένα μόριο. Η γενική συνάρτηση συσχέτισης της κίνησης ενός ανύσματος C_N-H που βρίσκεται στο ελεύθερο άκρο μιας πλευρικής αλυσίδας που αποτελείται από N άτομα άνθρακα δίνεται από την εξίσωση

$$G_{sd}(t) = \sum_{b_1 b_2 b_3 \dots b_n} \Gamma_{b_1 b_1}(D_1 t) d_{b_1 b_2}(\beta_{12}) d_{b_1 b_2'}(\beta_{12}) \Gamma_{b_2 b_2'}(D_2 t) \exp[i (b_2 - b_2') \alpha_{23}]$$

$$d_{b_2 b_3}(\beta_{23}) d_{b_2 b_3'}(\beta_{23}) \dots \dots \Gamma_{b_n b_n}(D_n t) \exp[i (b_n - b_n') \alpha_{NF}] d_{b_n 0}(\beta_{NF}) d_{b_n 0}(\beta_{NF}) \quad (36)$$

Οι όροι $\Gamma_{cc'}$ υπολογίστηκαν από τους Wittebort και Szabo* στην περίπτωση που οι διαδοχικές περιστροφές είναι παρεμποδισμένες, και δίνονται από την εξίσωση

$$\Gamma_{cc'}(Dt) = \sum_{n=0}^{\infty} \Gamma_{cc'n}(\varphi) \exp[-n^2 \pi^2 D/4\varphi^2 t] \quad (37\alpha)$$

όπου

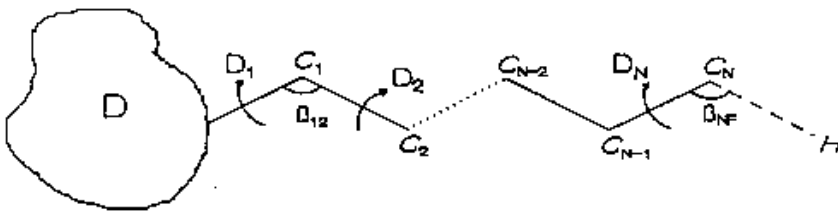
$$\Gamma_{cc'0}(\varphi) = \frac{\sin(c\varphi) \sin(c'\varphi)}{cc' \varphi^2} \quad (37\beta)$$

$$\Gamma_{cc'n}(\varphi) = \frac{cc' \varphi^2 [\cos(c\varphi) \cos(c'\varphi) (1-(-1)^n) + \sin(c\varphi) \sin(c'\varphi) (1-(-1)^n)]}{[(c\varphi)^2 - (n\pi/2)^2][(c'\varphi)^2 - (n\pi/2)^2]} \quad n \geq 1 \quad (37\gamma)$$

Στην περίπτωση ελεύθερων διαδοχικών περιστροφών, ο Wallach³² έδειξε ότι οι όροι $\Gamma_{cc'}$ δίνονται από την σχέση

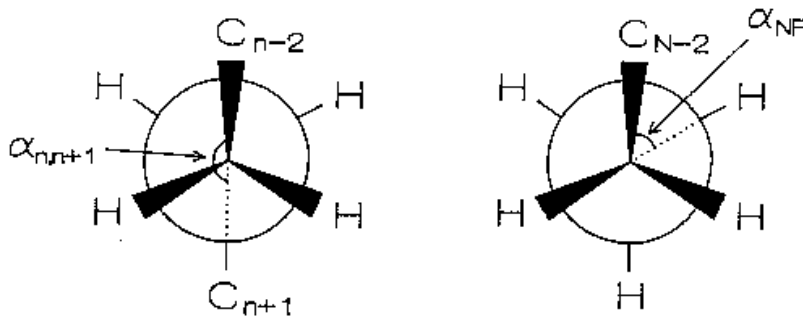
$$\Gamma_{cc'}(Dt) = \delta_{cc'} \exp(c^2 Dt) \quad (38)$$

Στην εξίσωση (36), D_i είναι ο συντελεστής διάχυσης της i περιστροφής. Οι συναρτήσεις $d_{b_{n-1}b_n}(\beta_{n-1,n})$ είναι στοιχεία των ανηγμένων μητρών περιστροφής Winger³³, οι οποίες δίνονται συναρτήσει των γωνιών Euler $\beta_{n-1,n}$, δηλαδή των γωνιών που σχηματίζουν μεταξύ τους οι διαδοχικοί άξονες περιστροφής. Για την τετραεδρική διάταξη μιας πλευρικής ανθρακικής αλυσίδας οι γωνίες $\beta_{n-1,n}$, είναι όλες ίσες με 70.5° (Σχήμα 12). Οι δείκτες $b_1, b_2, b_2, \dots, b_n$ παίρνουν τιμές από -2 έως +2. Η γωνία Euler $\alpha_{n,n+1}$ είναι η διέδρη γωνία μεταξύ των δεσμών $C_{n-2}-C_{n-1}$ και C_n-C_{n+1} όταν παρατηρηθεί κατά μήκος του δεσμού $C_{n-1}-C_n$. Η γωνία α_{NF} είναι η διέδρη γωνία των δεσμών $C_{N-2}-C_{N-1}$ και C_N-H , όπως φαίνεται κατά μήκος του δεσμού $C_{N-1}-C_N$ (Σχήμα 13).



Σχήμα 12. Ορισμός των συντελεστών διάχυσης D_i και των γωνιών Euler β για την περιστροφική κίνηση μιας πλευρικής αλυσίδας αποτελούμενης από N άτομα άνθρακα.

Η γενική συνάρτηση συσχέτισης της εξίσωσης (36) που περιγράφει πολλαπλές ενδομοριακές περιστροφές γύρω από τους δεσμούς C-C μιας πλευρικής ομάδας, μπορεί να συνδυαστεί με μία συνάρτηση συσχέτισης που περιγράφει την τοπική κίνηση της κύριας αλυσίδας ενός πολυμερούς. Στην αποδιέγερση ενός πυρήνα ^{13}C , ο οποίος βρίσκεται στην πλευρική αλυσίδα του πολυμερούς, συνεισφέρουν τόσο η κίνηση της πλευρικής αλυσίδας, όσο και οι τοπικές κινήσεις της κύριας αλυσίδας. Έτσι η ανάλυση δεδομένων αποδιέγερσης της πλευρικής αλυσίδας απαιτεί την χρήση μιας σύνθετης συνάρτησης συσχέτισης, η οποία να περιλαμβάνει τόσο τις περιστροφές στην πλευρική ομάδα, όσο και τις τοπικές κινήσεις της κύριας αλυσίδας.



Σχήμα 13. Ορισμός των γωνιών Euler $\alpha_{n-1,n}$ και α_{NF} σε μία πλευρική μεθυλενική αλυσίδα που αποτελείται από N άτομα άνθρακα.

Η συνάρτηση συσχέτισης της εξίσωσης (36) μπορεί να συνδυαστεί με την συνάρτηση συσχέτισης της εξίσωσης (21) του μοντέλου HWH. Η σύνθετη συνάρτηση φασματικής πυκνότητας των πολλαπλών περιστροφών μιας πλευρικής αλυσίδα σε συνδυασμό με την περιγραφή της κίνησης της κυρίως αλυσίδα με το μοντέλο HWH έχει την μορφή³⁴:

$$J(\omega) = \text{Re} \left\{ \frac{1}{(\alpha' + i\beta')^{1/2}} \right\} \quad (39)$$

όπου

$$\alpha' = \tau_{01}^{-2} + 2(\tau_{01}\tau_1)^{-1} - \omega^2 \quad \text{και} \quad \beta' = -2\omega(\tau_1^{-1} + \tau_{01}^{-1})$$

Για περιορισμένες περιστροφές στην πλευρική αλυσίδα ισχύει

$$\tau_{01}^{-1} = \tau_0^{-1} + n_1^2 \pi^2 D_1 / 4\varphi_1^2 + \dots + n_n^2 \pi^2 D_n / 4\varphi_n^2 \quad (39\alpha)$$

Για ελεύθερες περιστροφές αντίστοιχα

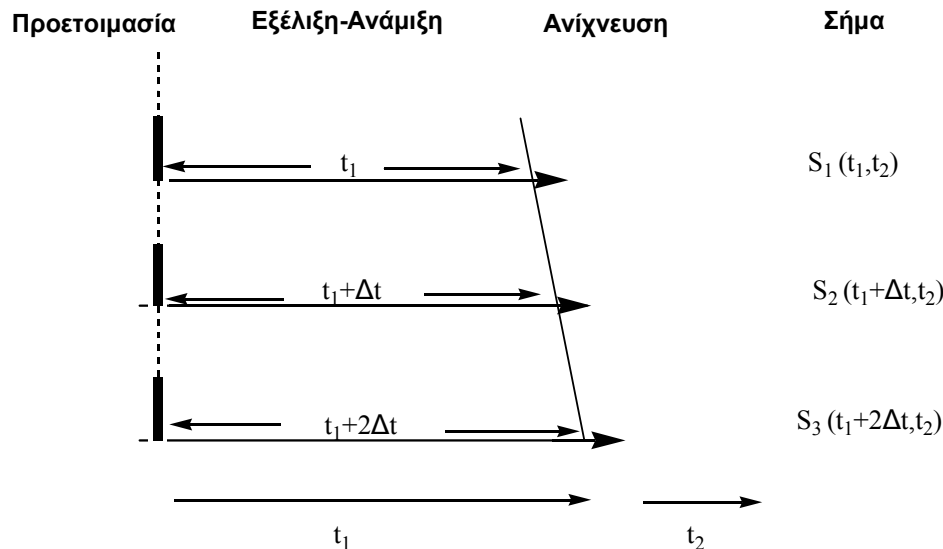
$$\tau_{01}^{-1} = \tau_0^{-1} + b_1^2 D_1 + b_2^2 D_2 + \dots + b_n^2 D_n \quad (39\beta)$$

Η εξίσωση (39) μπορεί να τροποποιηθεί κατάλληλα στην περίπτωση που ορισμένες μόνο περιστροφές θεωρηθούν περιορισμένες, ενώ οι υπόλοιπες ελεύθερες. Η ευελιξία

του μοντέλου των πολλαπλών περιστροφικών κινήσεων είναι αρκετά μεγάλη. Με κατάλληλη επιλογή των γωνιών Euler α , είναι δυνατό να αναπαραχθεί επακριβώς οποιαδήποτε διαμόρφωση της πλευρικής αλυσίδας. Επίσης η εφαρμογή του μοντέλου των πολλαπλών ενδομοριακών περιστροφών δεν περιορίζεται μόνο σε υδρογονανθρακικές αλυσίδες, αλλά μπορεί να επεκταθεί και σε πλευρικές αλυσίδες που περιέχουν διπλούς δεσμούς, βενζολικές ή και ναφθυλικές ομάδες, με κατάλληλη επιλογή των γωνιών Euler $\beta_{n-1,n}$ και β_{NF} , οι οποίες ορίζονται από την γεωμετρία της πλευρικής ομάδας³⁵. Το γεγονός αυτό καθιστά πολύ χρήσιμη της εφαρμογή των σύνθετων μοντέλων στην μελέτη της αποδιέγερσης της πλευρικής αλυσίδας μιας ποικιλίας πολυμερικών συστημάτων.

1.4 ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ NMR ΔΥΟ ΔΙΑΣΤΑΣΕΩΝ

Τα δισδιάστατα φάσματα NMR συνίστανται στην καταγραφή μιας σειράς μονοδιάστατων NMR φασμάτων, τα οποία διαφέρουν μεταξύ τους στην διάρκεια μόνο μιας χρονικής περιόδου.



Σχήμα 14. Η γενική μορφή ενός δισδιάστατου πειράματος NMR.

Γενικά, στα δισδιάστατα πειράματα διακρίνουμε τέσσερις χρονικές περιόδους (σχήμα 14). Στη περίοδο προετοιμασίας (preparation period), οι πυρήνες βρίσκονται συνήθως στην κατάσταση θερμικής ισορροπίας. Μετά την διαταραχή των πυρήνων, π.χ. με την εφαρμογή ενός παλμού, ακολουθεί η περίοδος της εξέλιξης (evolution period) με χρονική διάρκεια t_1 , κατά την οποία αναπτύσσονται οι χημικές μετατοπίσεις και οι σπιν-σπιν συζεύξεις. Η διάρκεια αυτής της χρονικής περιόδου είναι διαφορετική για κάθε

μονοδιάστατο NMR φάσμα που καταγράφεται. Στην συνέχεια, ακολουθεί η περίοδος ανάμιξης (mixing period), όπου εφαρμόζονται ένας ή περισσότεροι παλμοί στη περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων που σκοπό έχουν να δημιουργήσουν μια παρατηρούμενη εγκάρσια μαγνήτιση (transverse magnetization). Η καταγραφή της μαγνήτισης λαμβάνει χώρα στην περίοδο ανίχνευσης (detection period) t_2 . Επομένως, η αρχική δισδιάστατη μήτρα περιλαμβάνει μια σειρά από FID. Μετασχηματισμός Fourier ως προς το χρόνο t_1 , οδηγεί σε ένα σετ μονοδιάστατων φασμάτων NMR. Ένας δεύτερος μετασχηματισμός Fourier ως προς το χρόνο t_1 , οδηγεί στην τελική δισδιάστατη μήτρα συχνοτήτων.

Στην φασματοσκοπία συσχέτισης (correlated spectroscopy) οι δύο άξονες του δισδιάστατου φάσματος περιέχουν πληροφορίες χημικής μετατόπισης, η δε σύνδεσή τους αποκαλύπτει την ύπαρξη σπιν-σπιν σύζευξης ή διπολικής σύζευξης.

Η φασματοσκοπία συσχέτισης εφαρμόζεται σε ομοπυρηνικά (homonuclear spectroscopy) και σε ετεροπυρηνικά (heteronuclear spectroscopy) συστήματα σπιν.

(α) Η ομοπυρηνική φασματοσκοπία συσχέτισης (COrelated SpectroscopY, COSY) βασίζεται στην μεταφορά της μαγνήτισης μεταξύ συζευγμένων στροφορμών. Η παλμική ακολουθία του πειράματος COSY είναι η ακόλουθη:

$$(90^0)_x - t_1 - (90^0)_x - t_2$$

Για την ανάλυση ενός πειράματος COSY θεωρούμε δύο περιπτώσεις, έστω για ένα σύστημα όμοιων πυρήνων AX: α) όταν δεν υπάρχει σύζευξη ($J_{AX} = 0$) και β) όταν η σύζευξη είναι ασθενής ($J_{AX} \neq 0$).

Ο αρχικός παλμός $(90^0)_x$ και στις δύο περιπτώσεις έχει το ίδιο αποτέλεσμα, δηλαδή να φέρει την μαγνήτιση στο επίπεδο $x' y'$, από την αρχική της θέση z.

Με την εφαρμογή του δεύτερου παλμού $(90^0)_x$ ο οποίος αποτελεί και την περίοδο ανάμιξης έχουμε:

α) Όταν $J_{AX} = 0$ οι συνιστώσες της ολικής μαγνήτισης (που διασπείρονται μετά την εφαρμογή του πρώτου παλμού στο επίπεδο $x' y'$ με συχνότητα ν_A) αναμειγνύονται μόνο μεταξύ τους και όχι με αυτές του πυρήνα X αφού δεν υπάρχει σύζευξη, με αποτέλεσμα καμία επίδραση του χρόνου t_1 που μεσολαβεί μεταξύ των δύο παλμών. Στο δισδιάστατο φάσμα παρατηρούμε κορυφές με συντεταγμένες την χημική μετατόπιση του κάθε πυρήνα, A (δ_A, δ_A) και X (δ_X, δ_X). Οι κορυφές βρίσκονται στην διαγώνιο του φάσματος και ονομάζονται διαγώνιες κορυφές (diagonal peaks).

β) Όταν $J_{AX} \neq 0$, ο δεύτερος παλμός $(90^0)_x$ καταλήγει σε μεταβίβαση 'πληροφορίας' σύζευξης από τον έναν πυρήνα στον άλλον, δηλαδή οι συνιστώσες μαγνήτισης του A που περιστρέφονταν με συχνότητα ν_A μεταφέρονται μερικά στην ν_X από τον δεύτερο παλμό και περιστρέφονται με συχνότητα ν_X κατά την περίοδο t_2 . Έτσι η εγκάρσια μαγνήτιση μεταβάλλεται με τρόπο εξαρτώμενο και από τον πυρήνα A και από τον πυρήνα X. Στο δισδιάστατο φάσμα παρατηρούμε κορυφές εκτός της διαγωνίου (cross peaks ή off-diagonal peaks), με συντεταγμένες (δ_A, δ_X) και (δ_X, δ_A) που δείχνουν ότι υπάρχει σύζευξη.

Όλες οι πληροφορίες που παίρνουμε αφορούν πυρήνες που είναι συζευγμένοι μέσω δεσμών.

(β) Η ομοπυρηνική φασματοσκοπία ολικής συσχέτισης (Total COrrelation Spectroscopy, TOCSY) διαφέρει από το COSY ως προς την μορφή του δεύτερου παλμού. Η ακολουθία παλμών του TOCSY είναι η εξής :

$$(90^0)_x - t_1 - (180^0)_x - t_2$$

Το πείραμα TOCSY αποκαλύπτει συζεύξεις $^1\text{H}-^1\text{H}$ μακράς εμβέλειας (μέσω δύο ή τριών δεσμών).

(γ) Το πείραμα ετεροπυρηνικής συσχέτισης σύζευξης ενός δεσμού (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence correlation Spectroscopy, HMQC), δίνει πληροφορίες για την απευθείας σύνδεση ανθράκων και πρωτονίων της υπό εξέταση ένωσης. Η ακολουθία παλμών του πειράματος είναι:

$$90^0(^1\text{H})-t'/2 - 180^0(^{13}\text{C}) - t'/2 - t_1 - [90^0(^1\text{H}), 90^0(^{13}\text{C})] - \text{Ανίχνευση } (t_2) \text{BB}(^1\text{H})$$

Στην πειραματική διαδικασία χρησιμοποιείται αποσύζευξη ευρείας περιοχής συχνοτήτων κατά την διάρκεια ανάκτησης του σήματος.

(δ) Το πείραμα (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy, NOESY) είναι το πιο χρήσιμο πείραμα για την μελέτη της δομής μεγάλων κυρίως μορίων και δίνει πληροφορίες για ζεύγη πρωτονίων που γειτονεύουν στον χώρο.

Η παλμική ακολουθία του πειράματος είναι η εξής:

$$(90^0)_x - t_1 - (90^0)_x - \Delta - (90^0)_x - t_2$$

Η παλμική ακολουθία είναι παρόμοια με το COSY, ως προς τους δύο πρώτους παλμούς, αλλά περιλαμβάνει και μία περίοδο (Δ) μετά τον δεύτερο παλμό που απαιτείται για να δοθεί η δυνατότητα στο NOE να αυξηθεί και να ολοκληρωθεί. Η διάρκεια αύξησης του NOE εξαρτάται από το μέγεθος και το σχήμα του μορίου.

1.5 ΒΑΘΜΩΤΑ ΠΕΔΙΑ

Η μέθοδος των βαθμωτών πεδίων (gradients), που βασίζεται στην γραμμική εξάρτηση της έντασης του πεδίου που αισθάνεται ένας πυρήνας από την θέση του στο δείγμα, βοηθά στην διάκριση των ανεπιθύμητων σημάτων (artifacts) από τα επιθυμητά και μειώνουν την επίδραση των artifacts στο φάσμα. Ανάλογα με το είδος της πληροφορίας που επιθυμεί κανείς να συλλέξει από ένα δισδιάστατο πείραμα NMR, κατευθύνει τη μεταφορά της μαγνήτισης προς μια συγκεκριμένη οδό. Μεταφορά της μαγνήτισης μέσω άλλων εναλλακτικών οδών οδηγεί σε ανεπιθύμητα σήματα (artifacts) που διαστρεβλώνουν την τελική εικόνα του δισδιάστατου φάσματος. Παρόλο που δεν είναι δυνατόν να περιοριστεί η μεταφορά της μαγνήτισης προς την επιθυμούμενη οδό, υπάρχει τρόπος να αναιρεθούν οι δυσάρεστες συνέπειες της μεταφοράς μέσω παραπλεύρων οδών, στο δισδιάστατο φάσμα. Τούτο επιτυγχάνεται με την μέθοδο των gradients.

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου των βαθμωτών πεδίων είναι τα εξής :

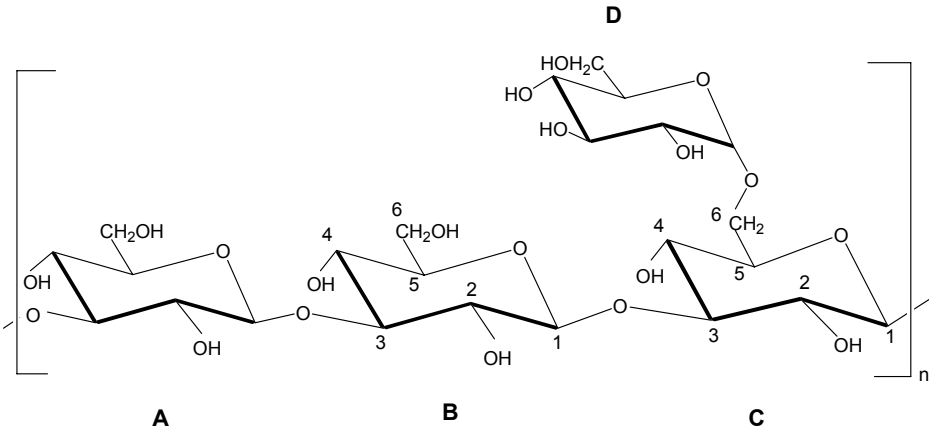
1) ελαχιστοποίηση των artifacts

- 2) μείωση του χρόνου μέτρησης και αύξηση της αναλογίας σήματος προς θόρυβο
- 3) λήψη φασμάτων απορρόφησης, με συνέπεια σε συνωστισμένες φασματικές περιοχές μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΕΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

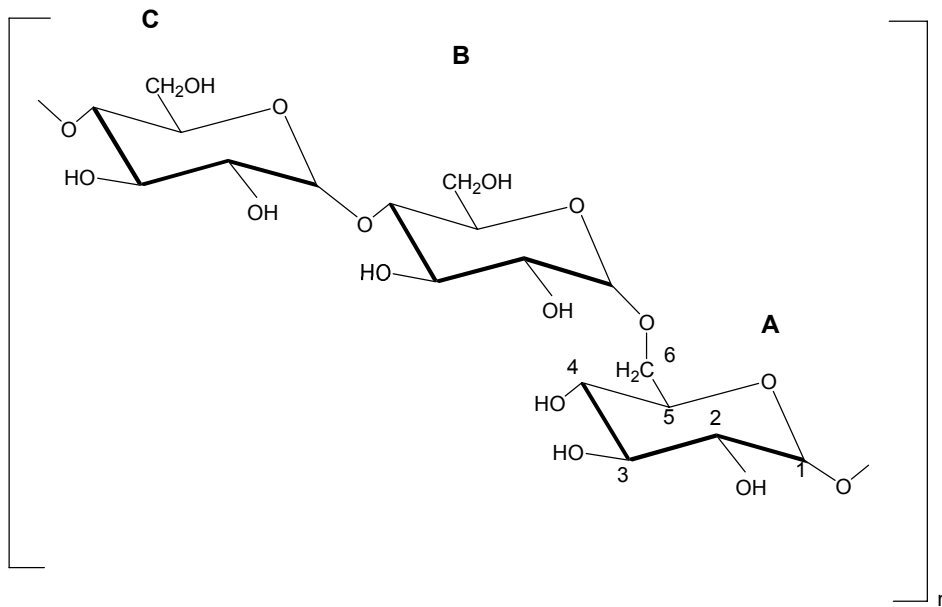
(α) ΣΚΛΗΡΟΓΛΥΚΑΝΗ (SCLEROGLUCAN)



Σχήμα 15. Χημικός τύπος του πολυσακχαρίτη σκληρογλυκάνη.

Η σκληρογλυκάνη είναι ένας μικροβιακός πολυσακχαρίτης που παράγεται από τον μύκητα *sclerotium rolfsii*. Η δομή της επαναλαμβανόμενης μονάδας στην αλυσίδα της σκληρογλυκάνης (σχήμα 15) αποτελείται από τέσσερις β -D-γλυκοπυρανοζικούς δακτυλίους. Ένας από τους τέσσερις β -D-γλυκοπυρανοζικούς δακτυλίους αποτελεί την πλευρική αλυσίδα και συνδέεται με την κύρια αλυσίδα με έναν $\beta(1\rightarrow6)$ γλυκοζιτικό δεσμό. Η σκληρογλυκάνη είναι ένα πολικό πολυμερές, με αποτέλεσμα στις χαμηλές συγκεντρώσεις να δίνει παχύρευστα υδατικά διαλύματα, που χρησιμοποιούνται ως ρυθμιστές του ιξώδους στα τρόφιμα και την φαρμακευτική βιομηχανία. Σε μεγάλες συγκεντρώσεις, η σκληρογλυκάνη σχηματίζει gel. Μελέτες περίθλασης ακτίνων X³⁶ και πειραμάτων ¹³C CP/MAS³⁷ έδειξαν ότι η σκληρογλυκάνη σχηματίζει τριπλή έλικα στην στερεά κατάσταση. Η διαμόρφωση της τριπλής έλικας διατηρείται και σε υδατικά διαλύματα³⁸.

(β) ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗ (PULLULAN)



Σχήμα 16. Χημικός τύπος του πολυσακχαρίτη πουλουλάνης .

Η πουλουλάνη είναι ένας γραμμικός πολυσακχαρίτης που παράγεται από τον μύκητα *Aureobasidium pullulans*, τον οποίο το συναντάμε σε ποικίλλα περιβάλλοντα. Παρουσιάζεται σε μη-κατεργασμένα νερά και στην αποσύνθεση του οργανικού υλικού στο έδαφος των δασών. Ο συγκεκριμένος μύκητας μπορεί να δημιουργήσει πρόβλημα από την στιγμή που προκαλεί αποσύνθεση της μπογιάς. Ιατρικά έχει απομονωθεί από τους λεμφαδένες ανθρώπων πάσχοντες από καρκινώματα Hodgkins και από ενώσεις αρθρώσεων ερεθισμένες από ρευματοειδή αρθροίτιδα. Πρόσφατα χημικώς τροποποιημένη πουλουλάνη προτάθηκε σαν ένα εύκολο βιοαποικοδομήσιμο πολυμερές το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να αντικαταστήσει μη αποικοδομήσιμες μεμβράνες και άλλα πλαστικά.

Η επαναλαμβανόμενη δομική μονάδα στην αλυσίδα της πουλουλάνης είναι η μαλτοτριόζη. Όπως φαίνεται στο Σχήμα 16, η μαλτοτριόζη αποτελείται από τρία μόρια D-γλυκόζης, τα οποία συνδέονται με $\alpha(1\rightarrow4)$ και $\alpha(1\rightarrow6)$ γλυκοζιτικούς δεσμούς. Η πουλουλάνη είναι υδατοδιαλυτή (στο H_2O η πουλουλάνη συμπεριφέρεται σαν γραμμική σπείρα) και βιοαποικοδομήσιμη, ιδιότητες οι οποίες έχουν προκαλέσει το ενδιαφέρον γι' αυτό το πολυμερές. Η πουλουλάνη βρίσκει ευρεία εφαρμογή στην παρασκευή καλλυντικών, φαρμάκων και ως ρυθμιστής ιζώδους στα τρόφιμα.

2.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

Η μέτρηση του μοριακού βάρους της πουλουλάνης έγινε με την τεχνική της δυναμικής σκέδασης φωτός (dynamic light scattering). Η τεχνική της σκέδασης φωτός βασίζεται στην ιδιότητα της ύλης να σκεδάζει μία προσπίπτουσα δέσμη φωτός σε διάφορες κατευθύνσεις. Η ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας είναι διαφορετική από την προσπίπτουσα και εξαρτάται από μία σειρά παραμέτρων, μεταξύ των οποίων και η φύση της ύλης στην οποία προσπίπτει η δέσμη φωτός.

Στα πειράματα δυναμικής σκέδασης, μία μονοχρωματική δέσμη φωτός προσπίπτει στο δείγμα και το σκεδαζόμενο φως συλλέγεται από έναν ανιχνευτή τοποθετημένο σε συγκεκριμένη γωνία ως προς της προσπίπτουσα δέσμη. Η φασματική ανάλυση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας γίνεται με την τεχνική της συνάρτησης συσχέτισης φωτονίων (photocorrelation function). Πρέπει να τονιστεί ότι στη φασματοσκοπία συσχέτισης φωτονίων, το επιθυμητό μέγεθος είναι η συνάρτηση αυτοσυσχέτισης του σκεδαζόμενου ηλεκτρικού πεδίου, $C(q,t)$. Έτσι, ενώ στην πραγματικότητα ο ανιχνευτής δίνει σήμα ανάλογο του τετραγώνου της έντασης της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας, ο συσχετιστής μετρά την συνάρτηση αυτοσυσχέτισης της έντασης, $C(q,t)$. Η $C(q,t)$ παρέχει πληροφορίες σχετικά με την δυναμική των διακυμάνσεων της συγκέντρωσης. Η συνάρτηση συσχέτισης $C(q,t)$ εξαρτάται από την γωνία σκέδασης, θ , μέσω του παράγοντα q

$$q=4\pi (n/\lambda) \sin (\theta/2) \quad (36)$$

Από τη μορφή της συνάρτησης συσχέτισης φωτονίων λαμβάνεται ένας χαρακτηριστικός χρόνος για την απώλεια συσχέτισης, τ , μέσω του οποίου υπολογίζεται ο συντελεστής διάχυσης από την εξίσωση

$$D = 1 / (\tau q^2) \quad (37)$$

Τέλος, από τον συντελεστή διάχυσης D υπολογίζεται η υδροδυναμική ακτίνα του μορίου, R_h , σύμφωνα με την εξίσωση

$$R_h = kT / (6\pi\eta_0 D) \quad (38)$$

k είναι η σταθερά Boltzmann, T είναι η απόλυτη θερμοκρασία Kelvin και η_0 είναι το ιξώδες του διαλύτη στην θερμοκρασία μετρήσεων. Από την υδροδυναμική ακτίνα του μορίου μπορεί να υπολογιστεί το μοριακό του βάρος σύμφωνα με την εξίσωση

$$R_h = K M_w^{1/2} \quad (39)$$

K είναι μία σταθερά που χαρακτηρίζει την δομή της μονομερούς μονάδας του πολυμερούς. Στην περίπτωση των πολυσακχαριτών $K=0.3$.

Τα πειράματα μέτρησης του μοριακού βάρους της πουλουλάνης, έγιναν σε θερμοκρασία δωματίου $\theta=25^{\circ}\text{C}$, και σε σύστημα ALV-5000 αποτελούμενο από Laser (Solid state με δέσμη φωτός μήκους κύματος 532nm), ψηφιακό συσχετιστή ALV-5000/FAST, υπολογιστή, λογισμικό μετρήσεων και υπολογισμών σκέδασης.

Η υδροδυναμική ακτίνα της πουλουλάνης υπολογίστηκε 14nm με σφάλμα $\pm 0.9\text{nm}$. Συνεπώς τ

ο μοριακό βάρος της πουλουλάνης υπολογίστηκε ότι είναι $1.45 \cdot 10^5$ Da ενώ το μοριακό βάρος της σκληρογλυκάνης είναι $1.57 \cdot 10^5$ Da όπως αυτό δόθηκε από την εταιρεία Sanofi Bio-Industries (France).

2.3 ΜΕΤΡΗΣΗ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΥ ΙΞΩΔΟΥΣ ΠΟΛΥΜΕΡΩΝ

Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις εσωτερικού ιξώδους (intrinsic viscosity) του πολυσακχαρίτη σκληρογλυκάνη σε διμεθυλοσουλφοξείδιο και του πολυσακχαρίτη πουλουλάνη σε νερό και διμεθυλοσουλφοξείδιο. Όλες οι μετρήσεις έγιναν στους 30°C .

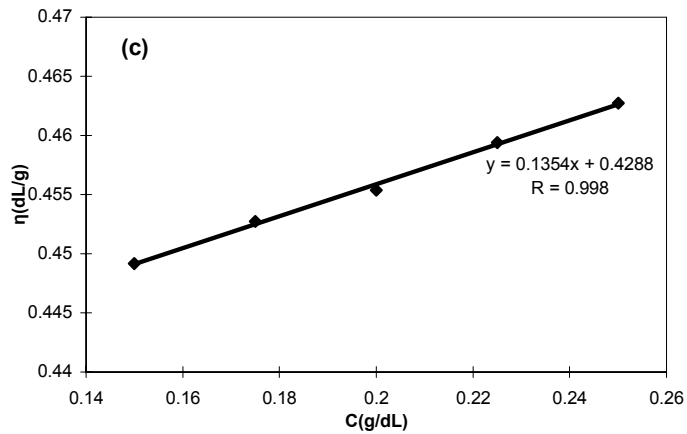
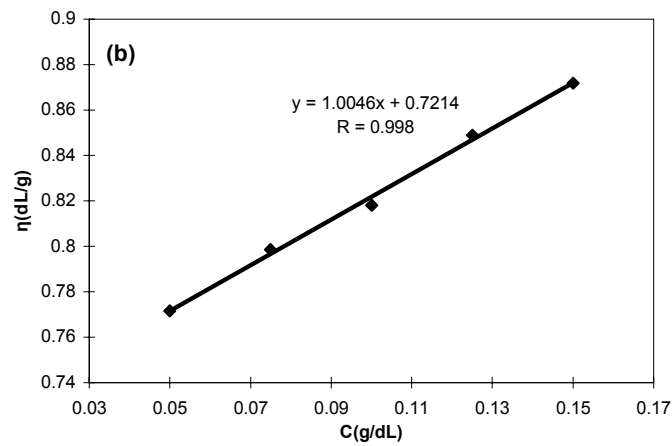
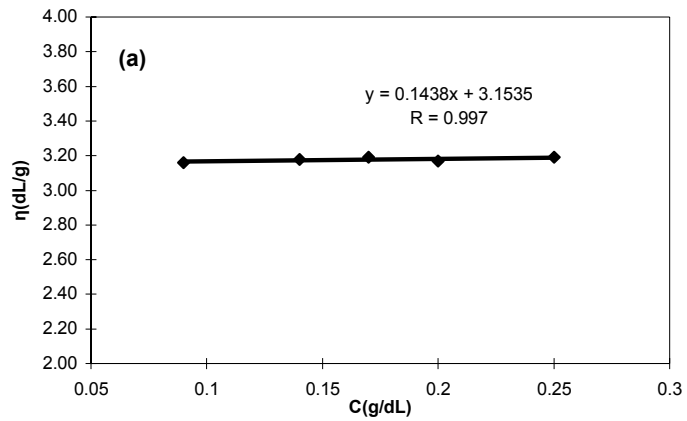
Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκαν ιξωδόμετρα τύπου Ubbelohde της εταιρείας Schott-Gerate, βυθισμένα σε υδατικό λουτρό σταθερής θερμοκρασίας 30°C , με μηχανική ανάδευση. Για την διατήρηση της θερμοκρασίας χρησιμοποιήθηκε θερμοστάτης ακρίβειας $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$.

Ο προσδιορισμός του ιξώδους για την σκληρογλυκάνη έγινε σε μία περιοχή συγκεντρώσεων μεταξύ 0.10 και 0.25 gr/dl ενώ για την πουλουλάνη σε μία περιοχή μεταξύ 0.05 και 0.15 gr/dl σε διαλύτη διμεθυλοσουλφοξείδιο και 0.15 έως 0.25 gr/dl σε διαλύτη νερό. Η περιοχή συγκεντρώσεων εξαρτάται από την φύση του πολυμερούς και του χρησιμοποιούμενου διαλύτη. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του χρόνου διέλευσης του διαλύματος, από δύο καθορισμένα σημεία του ιξωδόμετρου, ως συνάρτηση της συγκέντρωσης C των διαλυμάτων. Ο χρόνος διέλευσης είναι ανάλογος του απολύτου ιξώδους

$$\eta_{\text{rel}} \quad (40)$$

Η μέτρηση του χρόνου διέλευσης, t, για μία συγκεκριμένη συγκέντρωση C του διαλύματος, και του χρόνου διέλευσης του καθαρού διαλύτη, t_0 , επιτρέπει τον υπολογισμό του σχετικού ιξώδους, η_{rel} , από την εξίσωση

$$\eta_{\text{rel}} = t / t_0 = \eta / \eta_0 \quad (41)$$



Σχήμα 17. Διαγράμματα μεταβολής του ανηγμένου ιξώδους, η_{sp}/C , συναρτήσει της συγκέντρωσης C στους $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ για τους πολυσακχαρίτες (a) σκληρογλυκάνη στο DMSO (b) πουλουλάνη στο DMSO και (c) πουλουλάνη στο H_2O .

Επίσης, επιτρέπει τον υπολογισμό του ειδικού ιξώδους, η_{sp} , για την ίδια συγκέντρωση C

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} / C \quad (42)$$

Στην συνέχεια, χρησιμοποιείται η εξίσωση του Huggins³⁹, για τον προσδιορισμό του εσωτερικού ιξώδους του πολυμερικού διαλύματος. Η εξίσωση Huggins παρέχει την μεταβολή του ανηγμένου ιξώδους, η_{sp}/C , ως προς την συγκέντρωση C .

$$\eta_{sp}/C = [\eta] + [\eta]^2 k' C \quad (43)$$

$[\eta]$ είναι το εσωτερικό ιξώδες και k' είναι η σταθερά Huggins. Από τα διαγράμματα (Σχήμα 17) του ανηγμένου ιξώδους ως συνάρτηση της συγκέντρωσης C για τους δύο πολυσακχαρίτες υπολογίζουμε τόσο το εσωτερικό ιξώδες όσο και την σταθερά Huggins.

Το εσωτερικό ιξώδες της σκληρογλυκάνης υπολογίστηκε $[\eta]=3.1535$ dl/gr στο DMSO-d₆. Το εσωτερικό ιξώδες της πουλουλάνης υπολογίστηκε 0.7214 dl/gr στο DMSO-d₆ και 0.4288 dl/gr στο D₂O.

2.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΔΥΟ ΔΙΑΣΤΑΣΕΩΝ

Τα πειράματα NMR δύο διαστάσεων πραγματοποιήθηκαν στον φασματογράφο Bruker AMX-500, με λειτουργική συχνότητα 500 MHz και 125.7 MHz για τους πυρήνες ¹H και ¹³C, αντίστοιχα. Όλα τα δισδιάστατα φάσματα της σκληρογλυκάνης στο DMSO-d₆ πραγματοποιήθηκαν σε διάφορες θερμοκρασίες, από 303 έως 383K. Στην προσπάθειά μας να προσδιορίσουμε όσο τον δυνατό περισσότερα σήματα θα χρησιμοποιήσουμε την φασματοσκοπία NMR δύο διαστάσεων στους 383K. Σε αυτή την θερμοκρασία αποκαλύπτονται 22 σήματα στο μονοδιάστατο ανθρακικό φάσμα, τα περισσότερα που μπορούν να διαχωριστούν στα 100.5MHz. Οι φασματικές παράμετροι των δισδιάστατων πειραμάτων περιγράφονται παρακάτω.

Το πρωτοιακό πείραμα COSY με βαθμωτά πεδία (gradient COSY ή gCOSY) πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας 2048 πραγματικά δεδομένα (data points) στην διάρκεια καταγραφής, 256 data points στην t_1 διάσταση και χρησιμοποιώντας increment διάρκειας 198 μ s για την t_1 διάσταση με 64 σαρώσεις (scans) για κάθε FID. Ο χρόνος αναμονής (relaxation delay) πριν την εφαρμογή της επόμενης ακολουθίας ήταν 1.5 s. Πριν τον μετασχηματισμό Fourier στην t_1 διάσταση, τα δεδομένα αυξήθηκαν με την προσθήκη μηδενικών στην μνήμη του υπολογιστή (zero filling) στην τιμή 1024. Η αύξηση της ευαισθησίας του πειράματος (S/N) επιτεύχθηκε με τον πολλαπλασιασμό των δεδομένων και των δύο διαστάσεων με κατάλληλη μαθηματική συνάρτηση (unshifted sinebell weighting functions).

Το πρωτοιακό πείραμα TOCSY πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας 2048 data points στην διάρκεια καταγραφής, 256 data points στην t_1 διάσταση και χρησιμοποιώντας increment διάρκειας 142 μ s για την t_1 διάσταση. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε με 64

σαρώσεις για κάθε FID και ο χρόνος αναμονής ήταν 1.5 s. Το πείραμα έγινε για διάφορες τιμές mixing time διάρκειας από 20-150ms. Πριν τον μετασχηματισμό Fourier στην t_1 διάσταση, τα δεδομένα αυξήθηκαν με την προσθήκη μηδενικών στην μνήμη του υπολογιστή (zero filling) στην τιμή 1024, ενώ οι μαθηματικές συναρτήσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την αύξηση της ευαισθησίας ήταν η Gaussian function στην t_2 και η $\pi/4$ shifted sinebell function για την t_1 διάσταση.

Στο πείραμα NOESY χρησιμοποιήθηκαν 2048 data points στην διάρκεια καταγραφής, 512 data points στην t_1 διάσταση και χρησιμοποιώντας increment διάρκειας 110 μ s για την t_1 διάσταση. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε με 32 σαρώσεις για κάθε FID και ο χρόνος αναμονής ήταν 2.0 s. Χρησιμοποιήθηκαν διάφορες τιμές mixing time, διάρκειας από 50-300 ms. Πριν τον μετασχηματισμό Fourier στην t_1 διάσταση, τα δεδομένα αυξήθηκαν με την προσθήκη μηδενικών στην μνήμη του υπολογιστή (zero filling) στην τιμή 1024, ενώ οι μαθηματικές συναρτήσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την αύξηση της ευαισθησίας ήταν η Gaussian function στην t_2 και η cosine window function για την t_1 διάσταση.

Το πείραμα HMQC πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας 2048 data points στην διάρκεια καταγραφής, 256 data points στην t_1 διάσταση και χρησιμοποιώντας increment διάρκειας 11.9 μ s για την t_1 διάσταση. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε με 32 σαρώσεις για κάθε FID και ο χρόνος αναμονής ήταν 3.0 s. Πριν τον μετασχηματισμό Fourier στην t_1 διάσταση, τα δεδομένα αυξήθηκαν με την προσθήκη μηδενικών στην μνήμη του υπολογιστή (zero filling) στην τιμή 1024, ενώ οι μαθηματικές συναρτήσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την αύξηση της ευαισθησίας ήταν η squared sine window function στην t_1 και μία εκθετική συνάρτηση για την t_1 διάσταση.

Τα δισδιάστατα φάσματα πραγματοποιήθηκαν μόνο για τον προσδιορισμό του ανθρακικού φάσματος της σκληρογλυκάνης εφόσον ο προσδιορισμός του ανθρακικού φάσματος της πουλουλάνης έχει ήδη πραγματοποιηθεί^{40,41}.

2.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ

Τα πειράματα μαγνητικής αποδιέγερσης του πυρήνα ^{13}C έγιναν στους εξής φασματογράφους NMR:

- α) Bruker AC-300, με λειτουργική συχνότητα 75.4 MHz για τον πυρήνα ^{13}C .
- β) Bruker AM-400, με λειτουργική συχνότητα 100.5 MHz για τον πυρήνα ^{13}C .
- γ) Bruker AMX-500, με λειτουργική συχνότητα 125.7 MHz για τον πυρήνα ^{13}C .

Για κάθε πολυμερές σε κάθε διαλύτη μετρήθηκαν οι παράμετροι αποδιέγερσης σε μία ευρεία περιοχή θερμοκρασιών, η οποία εξαρτάται από το σημείο βρασμού του εκάστοτε διαλύτη. Έτσι οι μετρήσεις έγιναν σε μία περιοχή θερμοκρασιών 35-85°C για το D_2O και σε θερμοκρασίες από 30°C έως 120°C για το DMSO-d_6 , σε τρεις τιμές της συχνότητας Larmor του πυρήνα ^{13}C και συγκεκριμένα στις συχνότητες 75.5 MHz, 100.6 MHz και 125.7 MHz.

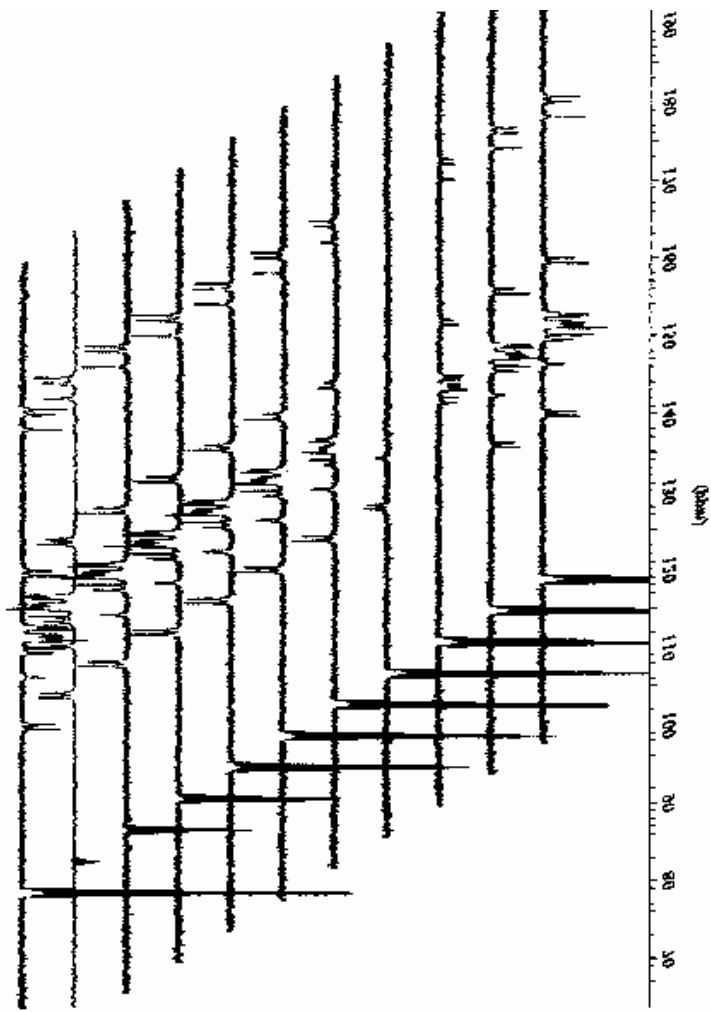
Επειδή η ένδειξη της θερμοκρασίας στο μετρητή θερμοκρασίας του οργάνου ήταν διαφορετική από αυτή του δοκιμαστή (probe) πραγματοποιήθηκε βαθμονόμηση (calibration) του θερμοζεύγους του οργάνου πριν από τα πειράματα αποδιέγερσης. Για την διαδικασία αυτή χρησιμοποιήθηκε διάλυμα αιθυλενογλυκόλης για τις υψηλές θερμοκρασίες ($\theta \geq 25^{\circ}$) και διάλυμα μεθανόλης για τις χαμηλές θερμοκρασίες ($\theta \leq 25^{\circ}$). Η βαθμονόμηση στηρίζεται στο γεγονός ότι οι χημικές μετατοπίσεις πρωτονίων των διαλυμάτων αιθυλενογλυκόλης εμφανίζουν αυστηρή εξάρτηση από την θερμοκρασία¹⁴.

Οι μετρήσεις αποδιέγερσης για την σκληρογλυκάνη έγιναν σε διάλυμα DMSO-d₆ και συγκέντρωση 3% w/v, ενώ οι μετρήσεις για την πουλουλάνη έγιναν σε διάλυμα DMSO-d₆ και D₂O συγκέντρωσης 5% w/v. Η συγκέντρωση του κάθε διαλύματος καθοριζόταν κυρίως από την διαλυτότητα του πολυμερούς, η οποία στην περίπτωση των πολυσακχαριτών είναι μικρή.

Το γεγονός ότι οι μετρήσεις αποδιέγερσης της σκληρογλυκάνης έγιναν σε έναν και μόνο διαλύτη οφείλεται στην μικρή διαλυτότητα του πολυσακχαρίτη σε άλλους διαλύτες.

2.5.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΣΠΙΝ-ΠΛΕΓΜΑ

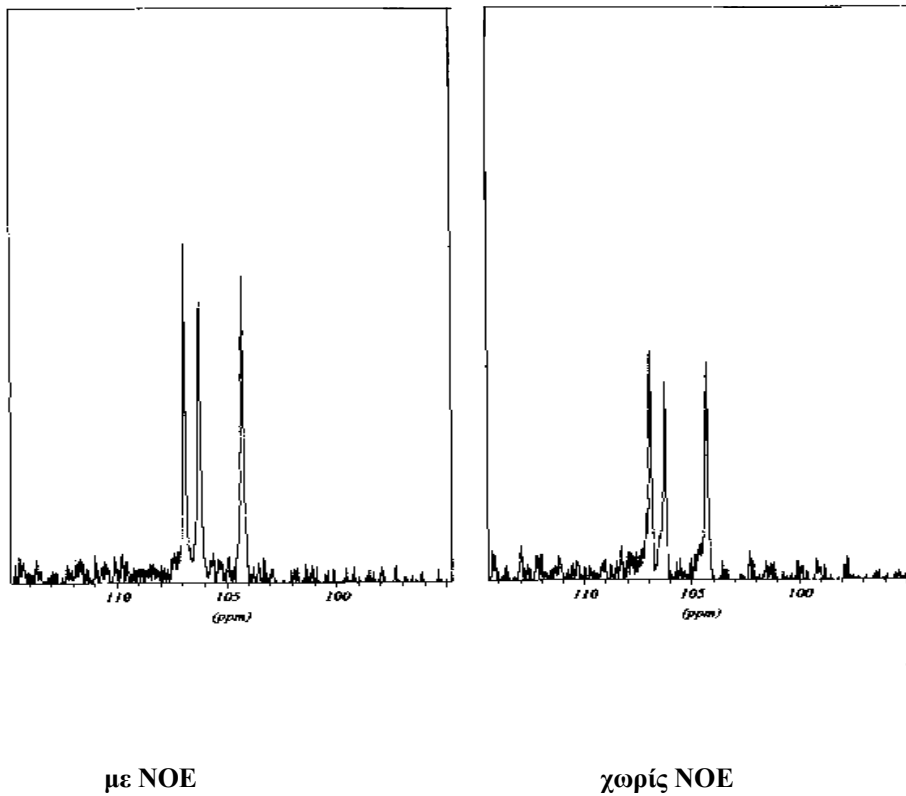
Οι χρόνοι T_1 μετρήθηκαν με την ακολουθία παλμών της τεχνικής αντίστροφης-επαναφοράς της μαγνήτισης, η οποία απεικονίζεται στο σχήμα 6. Για κάθε πείραμα συλλέχθηκαν 768 σαρώσεις για την πουλουλάνη και 1024 σαρώσεις για την σκληρογλυκάνη. Ο υπολογισμός του T_1 έγινε με την χρήση μίας εκθετικής συνάρτησης τριών παραμέτρων. Σε κάθε πείραμα, ο χρόνος αναμονής DT, μεταξύ των ακολουθιών παλμών IRFT, ήταν τουλάχιστον $5 \times T_1^{\max}$, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η κατάσταση θερμικής ισορροπίας του συστήματος πριν από την εφαρμογή της επόμενης ακολουθίας. Κάθε πείραμα προσδιορισμού του χρόνου T_1 επαναλήφθηκε 2 φορές, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η επαναληψιμότητα των μετρήσεων. Η ακρίβεια των μετρήσεων T_1 κυμαίνεται στο 5-10%. Στο Σχήμα 18 παρουσιάζονται τα μερικώς αποδιεγερμένα φάσματα ¹³C των ατόμων άνθρακα του πολυσακχαρίτη πουλουλάνη σε διαλύτη D₂O και σε θερμοκρασία 35°C.



Σχήμα 18. Μερικώς αποδιεγερμένα φάσματα ^{13}C των ατόμων άνθρακα του πολυσακχαρίτη πουλουλάνη σε διαλύτη D_2O και σε θερμοκρασία 35°C .

2.5.2 ΜΕΤΡΗΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ NOE

Οι παράμετροι NOE μετρήθηκαν με την ακολουθία παλμών της περιοδικής αποσύζευξης, η οποία περιγράφηκε στην παράγραφο 1.2.2. Για κάθε πείραμα συλλέχθηκαν 1024 σαρώσεις για την πουλουλάνη και 4000 σαρώσεις για την σκληρογλυκάνη με χρόνο αναμονής DT, πριν από κάθε ακολουθία παλμών $DT=10 \times T_1$. Κάθε πείραμα πραγματοποιήθηκε 3 φορές για να ελεγχθεί η επαναληψιμότητα. Η ακρίβεια των πειραμάτων NOE είναι 10-15%. Στο Σχήμα 19 παρουσιάζονται φάσματα, τα οποία ελήφθησαν με την ακολουθία παλμών της περιοδικής αποσύζευξης για τον προσδιορισμό των παραγόντων NOE των ατόμων ^{13}C της πουλουλάνης σε διαλύτη D_2O και σε θερμοκρασία 35°C .



Σχήμα 19. Φάσματα, τα οποία ελήφθησαν με την ακολουθία παλμών της περιοδικής αποσύζευξης για τον προσδιορισμό των παραγόντων NOE των ατόμων ^{13}C της πουλουλάνης σε διαλύτη D_2O και σε θερμοκρασία 35°C .

2.6 ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΣΕ ΘΕΩΡΗΤΙΚΑ ΜΟΝΤΕΛΑ

Για την θεωρητική ανάλυση των πειραματικών παραμέτρων αποδιέγερσης με τις σύνθετες συναρτήσεις συσχετίσεις, που έχουν ήδη αναφερθεί, χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα MOLLYN⁴². Το πρόγραμμα αυτό περιέχει έναν μεγάλο αριθμό συναρτήσεων φασματικής πυκνότητας, που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένα μοντέλα περιγραφής της δυναμικής μικρών και μεγάλων μορίων σε διαλύματα, οι περισσότερες εκ των οποίων έχουν προστεθεί στο εγραστήριό μας^{16,34}. Το πρόγραμμα αυτό είναι ειδικά κατασκευασμένο για την ανάλυση πειραματικών παραμέτρων αποδιέγερσης.

Στην διαδικασία προσομοίωσης των πειραματικών δεδομένων αποδιέγερσης, οι θεωρητικές παράμετροι T_1 και NOE υπολογίζονται μεταβάλλοντας τις παραμέτρους αποδιέγερσης του μοντέλου και στην συνέχεια συγκρίνονται με τις αντίστοιχες πειραματικές τιμές. Η επιτυχής αναπαραγωγή των πειραματικών δεδομένων αντικατοπτρίζεται σε μία συνάρτηση F (target function), η οποία στην περίπτωση της βέλτιστης τιμής παραμέτρων (optimized values), ελαχιστοποιείται. Η συνάρτηση F , ορίζεται ως το άθροισμα των τετραγώνων των σχετικών αποκλίσεων (sum of square deviations), μεταξύ των πειραματικών και θεωρητικών T_1 και NOE και δίνεται από την εξίσωση

$$F = \sum_{i=1}^k \left(\frac{S_{i,cal} - S_{i,exp}}{S_{i,exp}} \right)^2 \quad (128)$$

όπου $S_i = T_1$ και NOE. Το k αντιπροσωπεύει τον αριθμό των πειραματικών παραμέτρων αποδιέγερσης. Οι αποδεκτές προσομοιώσεις ενός συνόλου πειραματικών παραμέτρων αποδιέγερσης έχουν συνήθως $F \leq 0.01 - 0.001$.

Για την επεξεργασία των πειραματικών δεδομένων με το μοντέλο DLM, η προσομοίωση ξεκινά από την θερμοκρασία εκείνη, στην οποία αντιστοιχεί το ελάχιστο της καμπύλης T_1 . Σε αυτή την θερμοκρασία, υπολογίζονται η γωνία που καθορίζει το εύρος των ταλαντωτικών κινήσεων θ_{CH} και ο χρόνος τ_1 , με σταδιακή μεταβολή των λόγων τ_0/τ_1 και τ_1/τ_2 . Ακολούθως, κρατώντας σταθερές τις τιμές των θ_{CH} , τ_0/τ_1 και τ_1/τ_2 , ο υπολογιστής αναζητά τον καλύτερο χρόνο τ_1 για κάθε μία από τις υπόλοιπες θερμοκρασίες, με κριτήριο την συνάρτηση F . Ακολούθως κρατώντας σταθερές τις τιμές των τ_0/τ_1 , τ_1/τ_2 και τ_1 , ο υπολογιστής αναζητά την γωνία και για τα υπόλοιπα άτομα άνθρακα της κύριας αλυσίδας. Η γωνία παραμένει σταθερή σε όλη την περιοχή των θερμοκρασιών επειδή οι ταλαντωτικές κινήσεις έχουν πολύ μικρή ενέργεια ενεργοποίησης και επομένως οι παράμετροι θ και τ_2 είναι ανεξάρτητοι της θερμοκρασίας.

Η ανάλυση των πειραματικών δεδομένων της πλευρικής ομάδας πραγματοποιείται, αφού προηγουμένως έχει ολοκληρωθεί η αντίστοιχη ανάλυση για την κύρια αλυσίδα. Οι παράμετροι του θεωρητικού μοντέλου που περιγράφουν την δυναμική της κύριας

αλυσίδας για κάθε θερμοκρασία χρησιμοποιούνται ως δεδομένα εισόδου, μαζί με τους χρόνους NT₁ και NOE των πυρήνων ¹³C της πλευρικής ομάδας, καθώς επίσης και τα στοιχεία που δηλώνουν την γεωμετρία δεσμών C-H και C-C. Με αυτόν τον τρόπο υπολογίζονται οι μοριακοί χρόνοι συσχέτισης (ή οι συντελεστές διάχυσης) και το πλάτος της ενδομοριακής περιστροφικής διάχυσης. Κριτήριο της αξιοπιστίας των υπολογισμών είναι η ελαχιστοποίηση της συνάρτησης F.

3. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

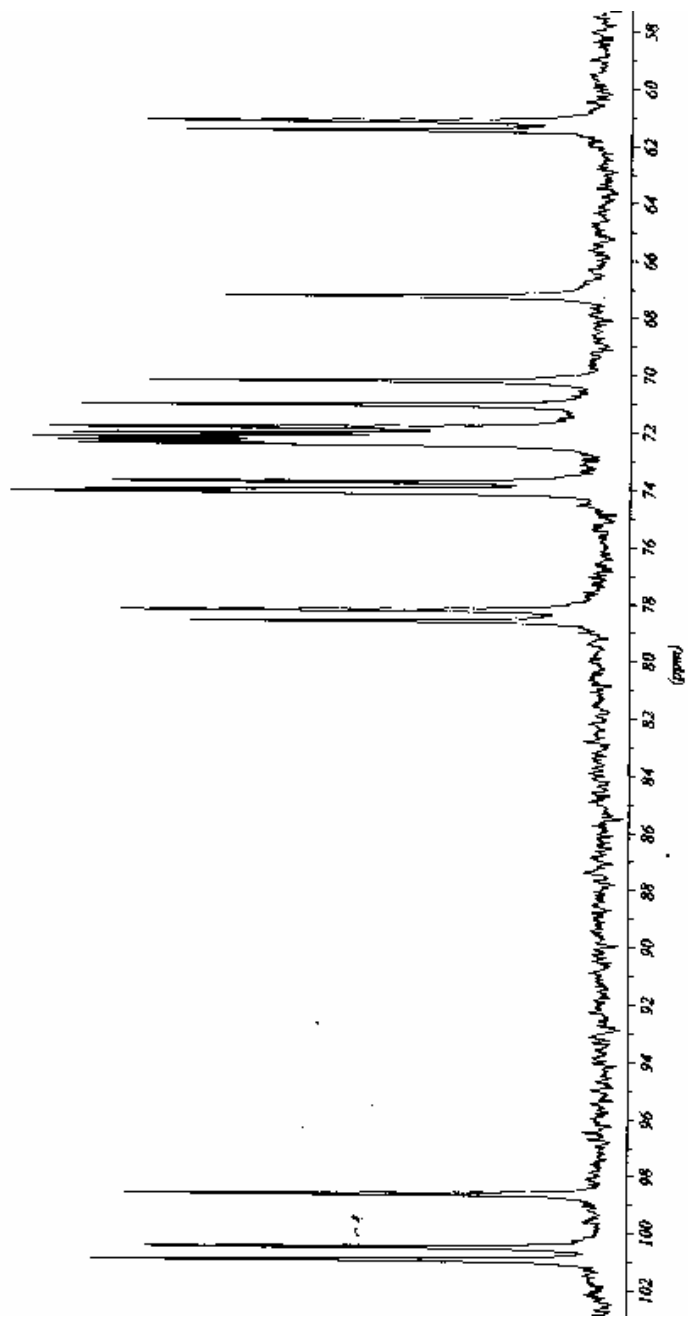
3.1 ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗ ΣΕ ΝΕΡΟ (D₂O) ΚΑΙ ΔΙΜΕΘΥΛΟΣΟΥΛΦΟΞΕΙΔΙΟ (DMSO-d₆).

3.3.1 ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.

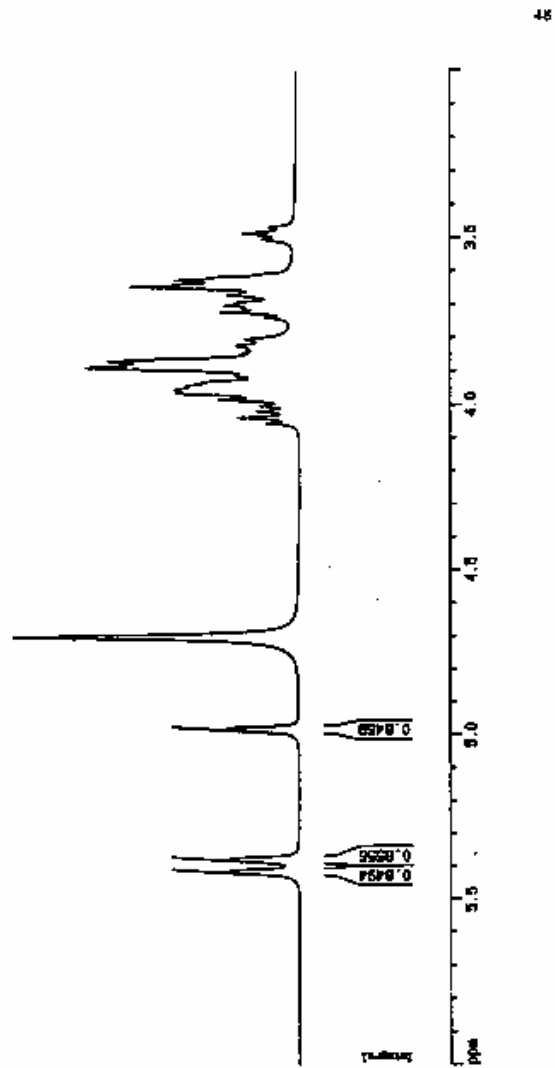
3.3.1.1 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟ D₂O.

Πριν προχωρήσουμε στη συζήτηση των αποτελεσμάτων της πυρηνικής αποδιέγερσης της πουλουλάνης, κρίνεται σκόπιμο να αναφερθούμε στο φάσμα ¹³C του πολυσακχαρίτη. Ο προσδιορισμός του φάσματος της πουλουλάνης είναι σημαντικός για την σωστή ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Στα Σχήματα 20 και 21 παρουσιάζονται το ανθρακικό και το πρωτονιακό φάσμα της πουλουλάνης στο D₂O στους 30⁰C. Από το πρωτονιακό φάσμα μπορούμε να υπολογίσουμε την σύσταση της επαναλαμβανόμενης μονάδας. Τα σήματα με χημικές μετατοπίσεις δ 5.42, 5.38 και 4.98 ανήκουν στα ανωμερικά πρωτόνια (H-1A, H-1B και H-1C) των τριών δακτυλίων. Ολοκληρώνοντας τις εντάσεις των κορυφών παρατηρούμε ότι τα ολοκληρώματά τους είναι ίσα, αποδεικνύοντας ότι το δείγμα έχει αναλογία 1:2 από α(1->6) και α(1->4) διακλαδώσεις. Αυτό σημαίνει ότι η πουλουλάνη αποτελείται αποκλειστικά από μονάδες μαλτοτριόζης που ενώνονται με α(1->6) γλυκοζιτικούς δεσμούς.

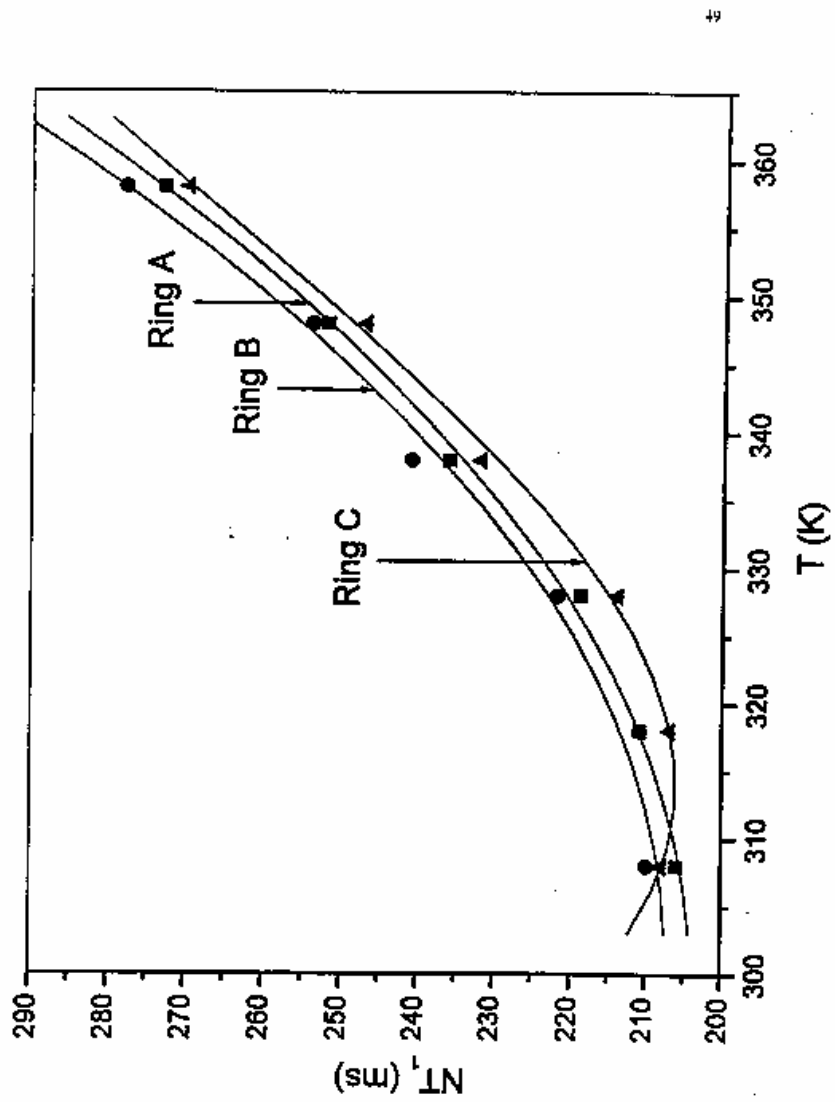
Στους πίνακες I, II και III παρουσιάζονται οι παράμετροι αποδιέγερσης NT₁ (όπου N ο αριθμός των απευθείας συνδεδεμένων πρωτονίων) και οι παράγοντες NOE των ενδοκυκλικών ατόμων ¹³C των τριών δακτυλίων (A, B και C) της πουλουλάνης σε όλα τα πεδία και για όλες τις θερμοκρασίες. Όπως φαίνεται από τους πίνακες, οι παράμετροι αποδιέγερσης των ατόμων άνθρακα που ανήκουν στον ίδιο δακτύλιο, είναι ίσοι μεταξύ τους, εντός του πειραματικού σφάλματος. Γι' αυτό τον λόγο θα χρησιμοποιηθούν οι μέσοι όροι των τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης στην μελέτη της δυναμικής της πουλουλάνης. Στους πίνακες I και II οι τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης των δακτυλίων A και B είναι παρόμοιες μέσα στα όρια του πειραματικού σφάλματος, αποδεικνύοντας την ίδια τοπική δυναμική που χαρακτηρίζει αυτούς τους δύο δακτυλίους. Αυτό φαίνεται γραφικά και από το Σχήμα 22 που παρουσιάζει την εξάρτηση της θερμοκρασίας συναρτήση του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT₁ στους τρεις δακτυλίους στα 75.4MHz στο D₂O. Στο ίδιο σχήμα παρατηρούμε ότι το ελάχιστο για τον δακτύλιο C εμφανίζεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες, αντανακλώντας την γρηγορότερη κίνηση του C δακτυλίου σε σύγκριση με την κίνηση των δακτυλίων A και B. Επιπλέον οι χρόνοι αποδιέγερσης των ατόμων άνθρακα των εξωκυκλικών υδροξυλομεθυλομάδων είναι συστηματικά μεγαλύτεροι από τους αντίστοιχους χρόνους αποδιέγερσης των ατόμων άνθρακα της κύριας αλυσίδας, ως συνέπεια της αυξημένης ευλιγισίας της ομάδας αυτής. Η



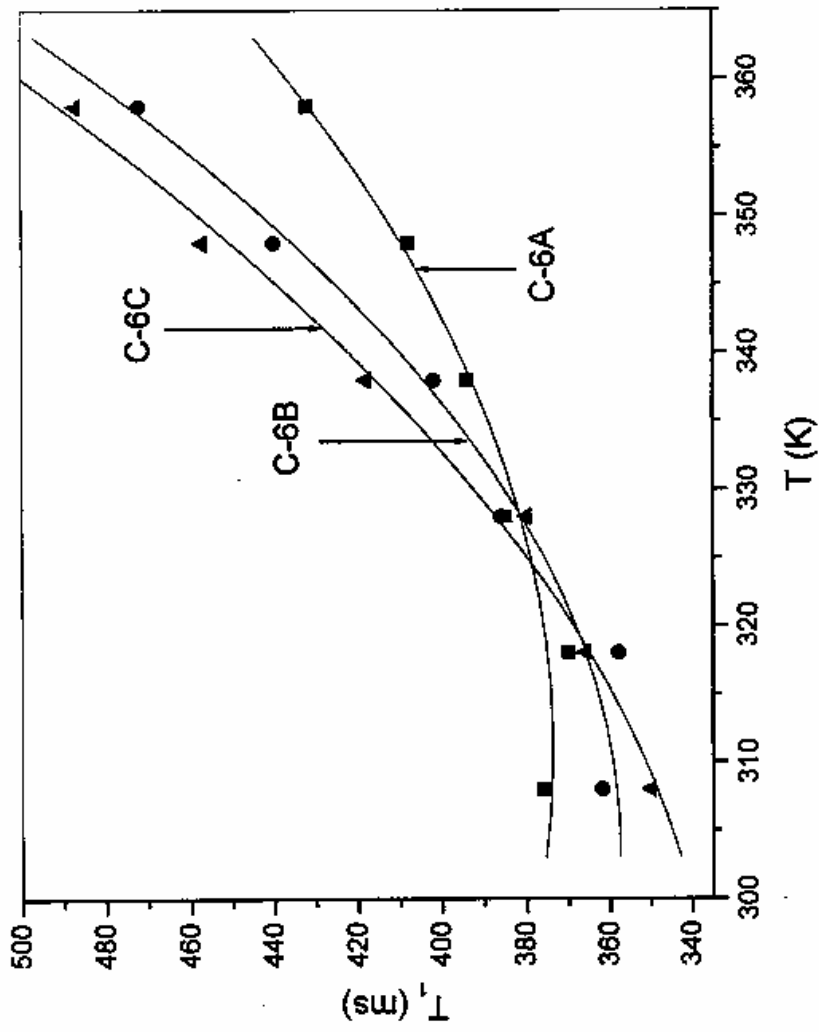
Σχήμα 20. Ανθρακικό φάσμα της πουλουλάνης στο D₂O στους 30°C.



Σχήμα 21. Πρωτονιακό φάσμα της πουλουλάνης στο D₂O στους 30°C.



Σχήμα 22. Μεταβολή του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT_1 συναρτήσει της θερμοκρασίας στους τρεις δακτυλίους στα 75.4MHz στο D_2O .



Σχήμα 23. Μεταβολή του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT_1 συναρτήσει της θερμοκρασίας για τους υδροξυμεθυλικούς άνθρακες στους τρεις δακτυλίους στα 125.7MHz στο D_2O .

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι. Παράμετροι αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τον δακτύλιο Α της πουλουλάνης σε D_2O .

$t(^{\circ}C)$	C-1A		C-2A		C-3A		C-4A		C-5A		C-6A	
	NT_1	NOE	NT_1	NOE	NT_1	NOE	NT_1	NOE	NT_1	NOE	NT_1	NOE
300MHz												
35	206	1.75	206	1.66	202	1.63	202	1.61	214	1.76	238	1.76
45	214	1.84	213	1.67	219	1.67	202	1.64	208	1.81	242	1.77
55	224	1.93	222	1.77	212	1.72	207	1.80	232	1.85	258	1.86
65	248	1.95	227	1.87	234	1.83	226	1.86	243	1.96	258	1.89
75	267	2.06	245	1.91	243	1.91	239	1.89	265	2.01	278	1.98
85	293	2.09	256	1.96	262	1.94	255	1.98	301	2.20	308	2.15
400MHz												
35	269	1.62	280	1.57	276	1.62	277	1.49	282	1.66	294	1.59
45	286	1.77	279	1.63	278	1.64	274	1.59	285	1.75	310	1.74
55	291	1.79	284	1.69	284	1.69	279	1.70	290	1.80	320	1.80
65	303	1.85	286	1.77	293	1.78	282	1.73	298	1.93	330	1.81
75	313	1.95	305	1.81	300	1.87	296	1.79	329	1.97	350	1.84
85	330	2.07	311	1.89	306	1.90	305	1.82	353	2.01	368	1.86
500MHz												
35	335	1.68	361	1.62	354	1.44	341	1.41	342	1.57	376	1.63
45	331	1.74	349	1.67	344	1.56	338	1.54	341	1.62	348	1.58
55	345	1.82	350	1.76	344	1.59	331	1.53	347	1.66	364	1.70
65	364	1.89	362	1.87	348	1.65	346	1.64	368	1.75	394	1.73
75	382	1.89	377	1.84	361	1.66	354	1.65	397	1.75	402	1.93
85	394	2.06	384	2.02	374	1.83	365	1.80	416	1.90	432	1.99

αυξημένη ευλιγισία των ομάδων αυτών φαίνεται και από τις τιμές των NOE, οι οποίες είναι μεγαλύτερες από τις τιμές των NOE των ανθράκων των δακτυλίων, αλλά εξακολουθούν να είναι μικρότερες από την μέγιστη τιμή 2.987. Στο Σχήμα 23 παρουσιάζεται η μεταβολή των τιμών NT_1 για τους υδροξυμεθυλικούς άνθρακες του κάθε δακτυλίου στο D_2O στα 125.7MHz. Η ελάχιστη τιμή NT_1 του υδροξυμεθυλικού άνθρακα C-6A του δακτυλίου Α, μετατοπίζεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες σε σχέση με τους άλλους δύο υδροξυμεθυλικούς άνθρακες. Αυτό οφείλεται στην θέση του άνθρακα C-6A, ο οποίος λόγω του $\alpha(1 \rightarrow 6)$ γλυκοζιτικού δεσμού η ενδομοριακή του κίνηση παρουσιάζει μεγαλύτερη στερική παρεμπόδιση σε σχέση με τους υδροξυμεθυλικούς άνθρακες των δύο άλλων δακτυλίων.

Στα διαγράμματα των Σχημάτων 24, 25 και 26, τα οποία παρουσιάζουν την μεταβολή των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και των παραγόντων NOE συναρτήσει της θερμοκρασίας για τους άνθρακες των δακτυλίων Α, Β και C, λαμβάνονται οι μέσοι όροι των τιμών από

ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙ. Παράμετροι αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τον δακτύλιο Β της πουλουλάνης σε D_2O .

t(°C)	C-1B		C-2B		C-3B		C-4B		C-5B		C-6B	
	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE
300MHz												
35	196	1.68	215	1.64	217	1.71	210	1.60	199	1.62	230	1.67
45	193	1.90	220	1.72	217	1.76	212	1.61	202	1.63	238	1.73
55	211	1.93	233	1.83	228	1.91	213	1.79	205	1.77	264	1.84
65	224	1.97	258	1.92	254	1.93	228	1.85	219	1.82	274	2.01
75	235	2.02	275	2.09	264	1.95	239	1.85	236	1.98	312	2.03
85	263	2.19	299	2.26	288	2.11	259	1.88	251	2.00	342	2.29
400MHz												
35	264	1.61	280	1.66	278	1.61	280	1.59	264	1.57	276	1.56
45	269	1.67	280	1.77	282	1.68	272	1.64	265	1.60	302	1.65
55	274	1.73	285	1.80	287	1.86	277	1.73	270	1.67	312	1.83
65	279	1.75	306	1.93	297	1.86	281	1.73	275	1.77	336	1.92
75	285	1.91	325	1.99	317	1.88	291	1.87	282	1.85	370	2.01
85	316	1.95	348	2.02	350	2.07	312	1.94	300	1.93	414	2.18
500MHz												
35	330	1.51	340	1.51	351	1.79	356	1.57	323	1.47	358	1.68
45	327	1.62	348	1.53	349	1.91	354	1.59	319	1.56	358	1.70
55	325	1.66	354	1.60	356	1.95	342	1.70	320	1.66	384	1.75
65	347	1.73	369	1.69	369	2.10	355	1.76	331	1.81	402	1.91
75	364	1.73	396	1.70	398	2.08	361	1.77	341	1.78	436	2.04
85	374	1.93	416	1.84	410	2.34	375	1.91	353	1.96	470	2.18

τους αντίστοιχους πίνακες. Τέλος στα Σχήματα 27, 28 και 29 απεικονίζονται οι μεταβολές των NT₁ και NOE των ατόμων άνθρακα C-6A, C-6B και C-6C.

Η παρατήρηση αυτών των διαγραμμάτων οδηγεί σε μερικά χρήσιμα ποιοτικά συμπεράσματα για την δυναμική της πουλουλάνης στο D₂O.

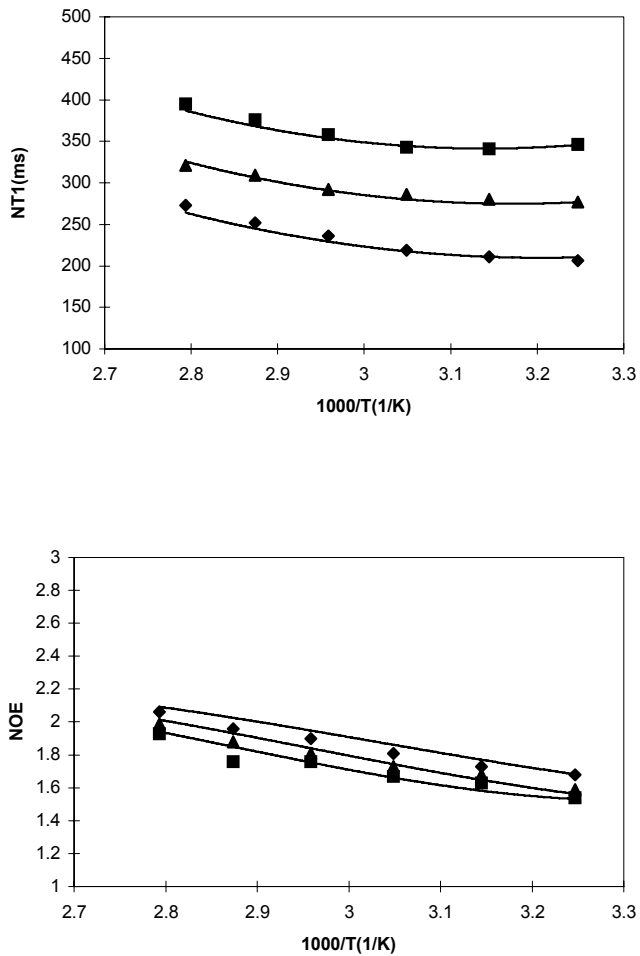
- 1) Οι χρόνοι αποδιέγερσης NT₁ μειώνονται μονότονα με την μείωση της θερμοκρασία, σε όλα τα πεδία, διέρχονται από ένα ελάχιστο και τείνουν να αυξηθούν με παραπέρα μείωση της θερμοκρασίας (περιοχή αργών κινήσεων).
- 2) Το ελάχιστο που παρατηρείται στις καμπύλες των τιμών NT₁ μετατοπίζεται στις υψηλότερες θερμοκρασίες (μικρότερους χρόνους συσχέτισης), καθώς αυξάνεται το μαγνητικό πεδίο.
- 3) Σε μία συγκεκριμένη θερμοκρασία, οι χρόνοι NT₁ αυξάνονται με την αύξηση του μαγνητικού πεδίου.
- 4) Το ελάχιστο που παρατηρείται στην καμπύλη των τιμών NT₁ συναρτήση της θερμοκρασίας στον εξωκυκλικό άνθρακα C-6A του δακτυλίου A, είναι μετατοπισμένο σε **ΠΙΝΑΚΑΣ ΙΙΙ**. Παράμετροι αποδιέγερσης NT₁ και NOE για τον δακτύλιο C της πουλουλάνης σε D₂O.

t(°C)	C-1C		C-2C		C-3C		C-4C		C-5C		C-6C	
	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE
300MHz												
35	197	1.69	208	1.62	217	1.67	211	1.60	203	1.61	232	1.71
45	197	1.70	206	1.70	213	1.73	211	1.77	215	1.69	242	1.92
55	207	1.85	214	1.81	220	1.81	214	1.77	215	1.79	252	1.95
65	218	2.01	221	1.85	245	1.86	243	2.03	231	1.83	288	2.13
75	236	2.10	232	1.88	255	1.86	264	2.03	239	1.89	322	2.18
85	258	2.20	257	2.08	268	2.00	278	2.13	251	2.00	350	2.35
400MHz												
35	260	1.55	272	1.55	285	1.57	267	1.68	281	1.64	294	1.52
45	260	1.66	265	1.67	283	1.66	271	1.74	274	1.64	312	1.63
55	265	1.75	270	1.68	288	1.71	276	1.74	279	1.69	322	1.83
65	277	1.76	271	1.75	295	1.73	294	1.84	292	1.74	342	2.05
75	280	1.82	293	1.79	310	1.84	312	1.84	295	1.90	374	2.05
85	306	1.97	305	1.90	326	1.94	328	2.01	315	1.94	402	2.12
500MHz												
35	320	1.48	344	1.70	357	1.55	332	1.57	347	1.47	344	1.55
45	313	1.54	334	1.69	359	1.64	345	1.70	348	1.52	360	1.57
55	317	1.70	334	1.88	361	1.70	346	1.68	348	1.55	370	1.63
65	335	1.73	341	1.91	366	1.79	357	1.79	354	1.63	414	1.90
75	350	1.79	357	1.94	381	1.78	383	1.78	369	1.64	466	1.94
85	359	1.96	363	2.08	390	1.92	390	1.99	383	1.78	482	1.96

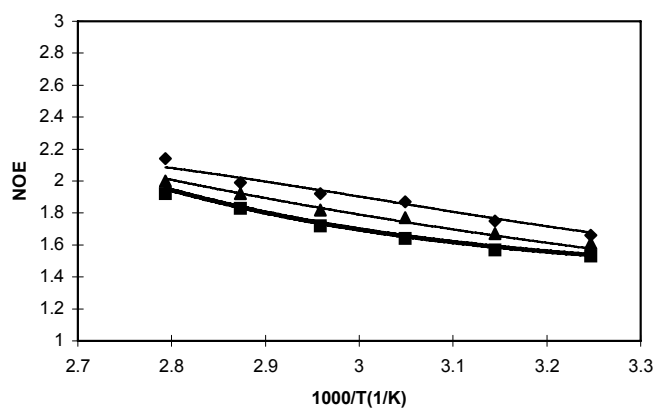
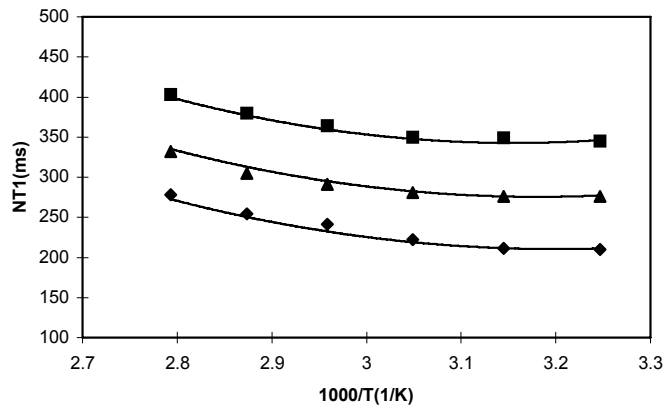
υψηλότερες θερμοκρασίες σε σχέση με το ελάχιστο των εξωκυκλικών ανθράκων C-6B και C-6C των δακτυλίων A και B αντίστοιχα. Αυτό οφείλεται στην θέση του άνθρακα C-6A, ο οποίος ενώνει με α(1->6) γλυκοζιτικό δεσμό τους δακτυλίους A και B, πράγμα που παρεμποδίζει την ελεύθερη περιστροφή του σε σχέση με τους εξωκυκλικούς άνθρακες C-6B και C-6C.

5) Οι παράγοντες NOE ελαττώνονται με την αύξηση του μαγνητικού πεδίου, αν και τείνουν να συμπέσουν ασυμπτωτικά καθώς ελαττώνεται η θερμοκρασία, προσεγγίζοντας την περιοχή των αργών κινήσεων. Σε όλες τις περιπτώσεις οι τιμές NOE είναι μικρότερες από την μέγιστη θεωρητική τους τιμή 2.987 (περιοχή κινητικής στένωσης).

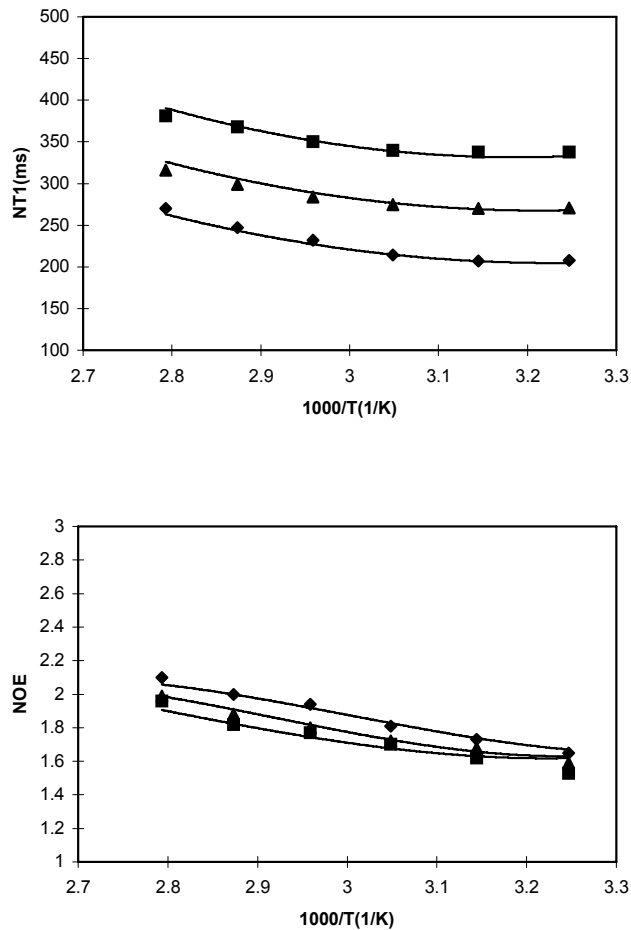
Όλες οι παραπάνω παρατηρήσεις για την συμπεριφορά των παραμέτρων αποδιέγερσης με την μεταβολή της θερμοκρασίας και του μαγνητικού πεδίου, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η δυναμική συμπεριφορά της πουλουλάνη στο D₂O βρίσκεται στην περιοχή των γρήγορων κινήσεων.



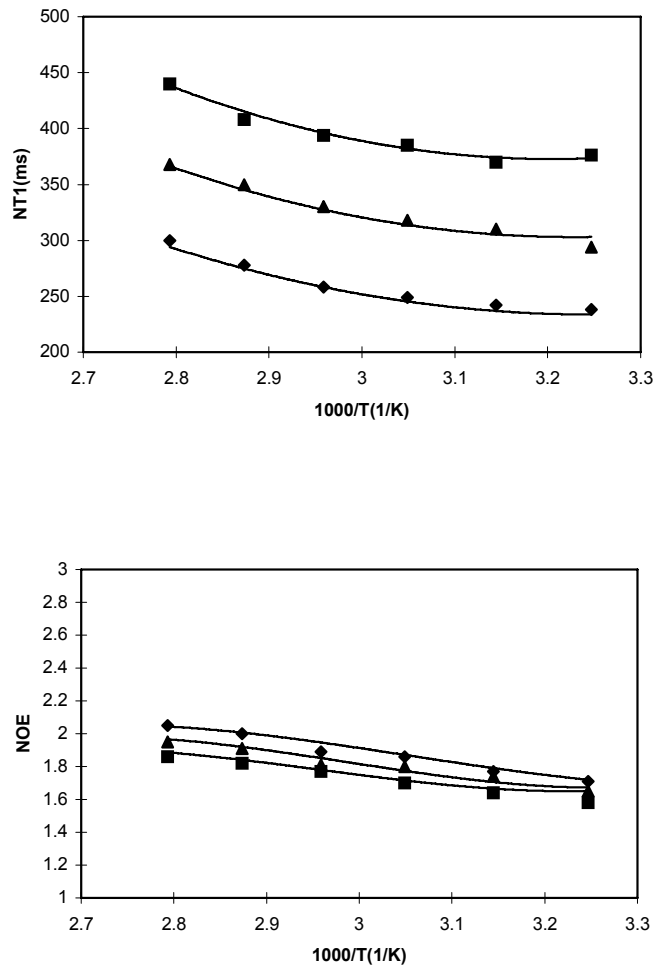
Σχήμα 24. Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου A της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (○), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (◻). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



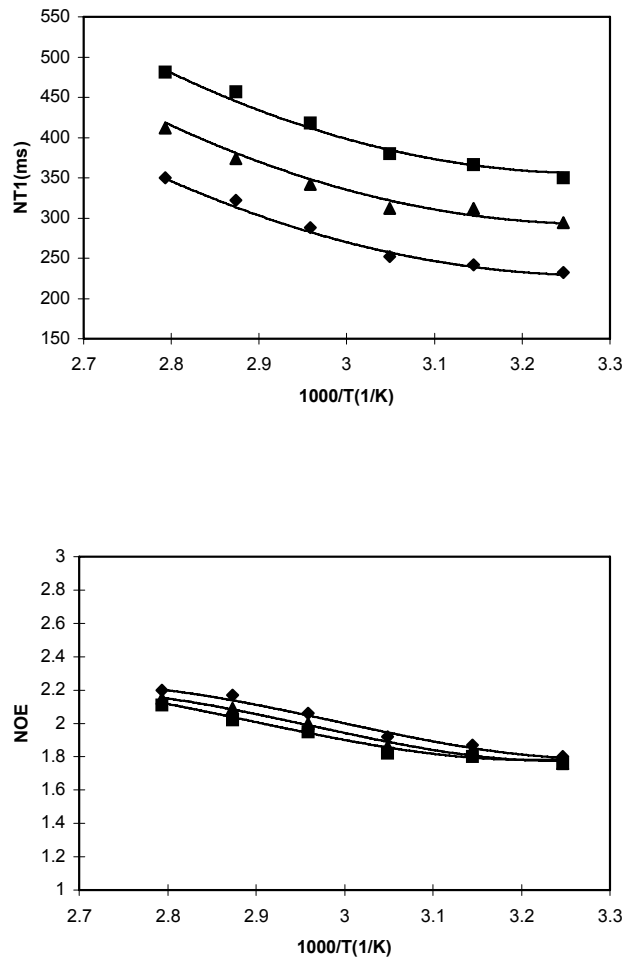
Σχήμα 25. Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου Β της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (□), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (◆). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



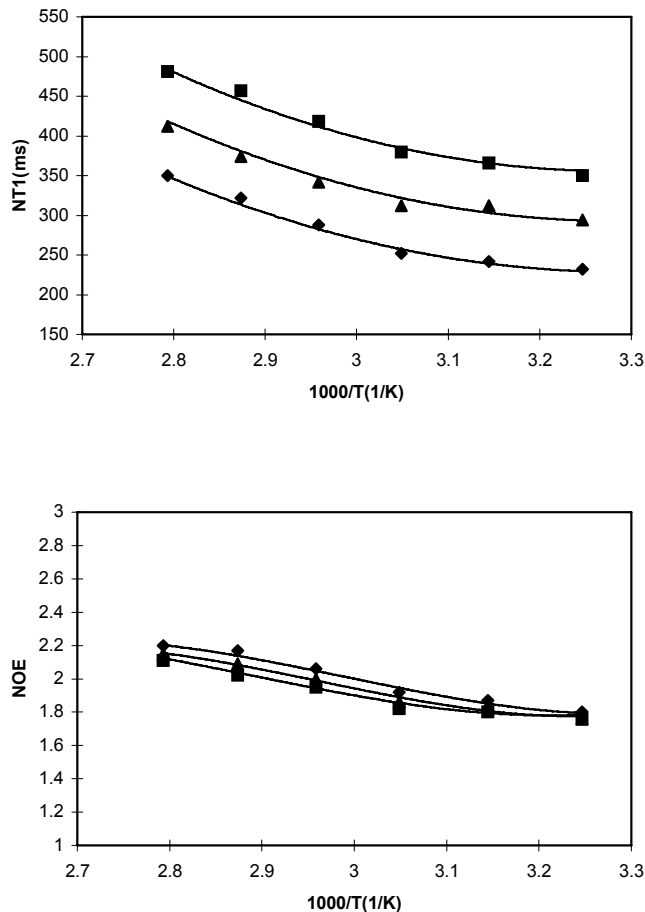
Σχήμα 26. Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου C της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (◉), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (◼). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



Σχήμα 27. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6A άτομο άνθρακα του δακτυλίου A της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (◻), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (◈). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



Σχήμα 28. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6B άτομο άνθρακα του δακτυλίου B της πολυουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (◻), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (◈). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



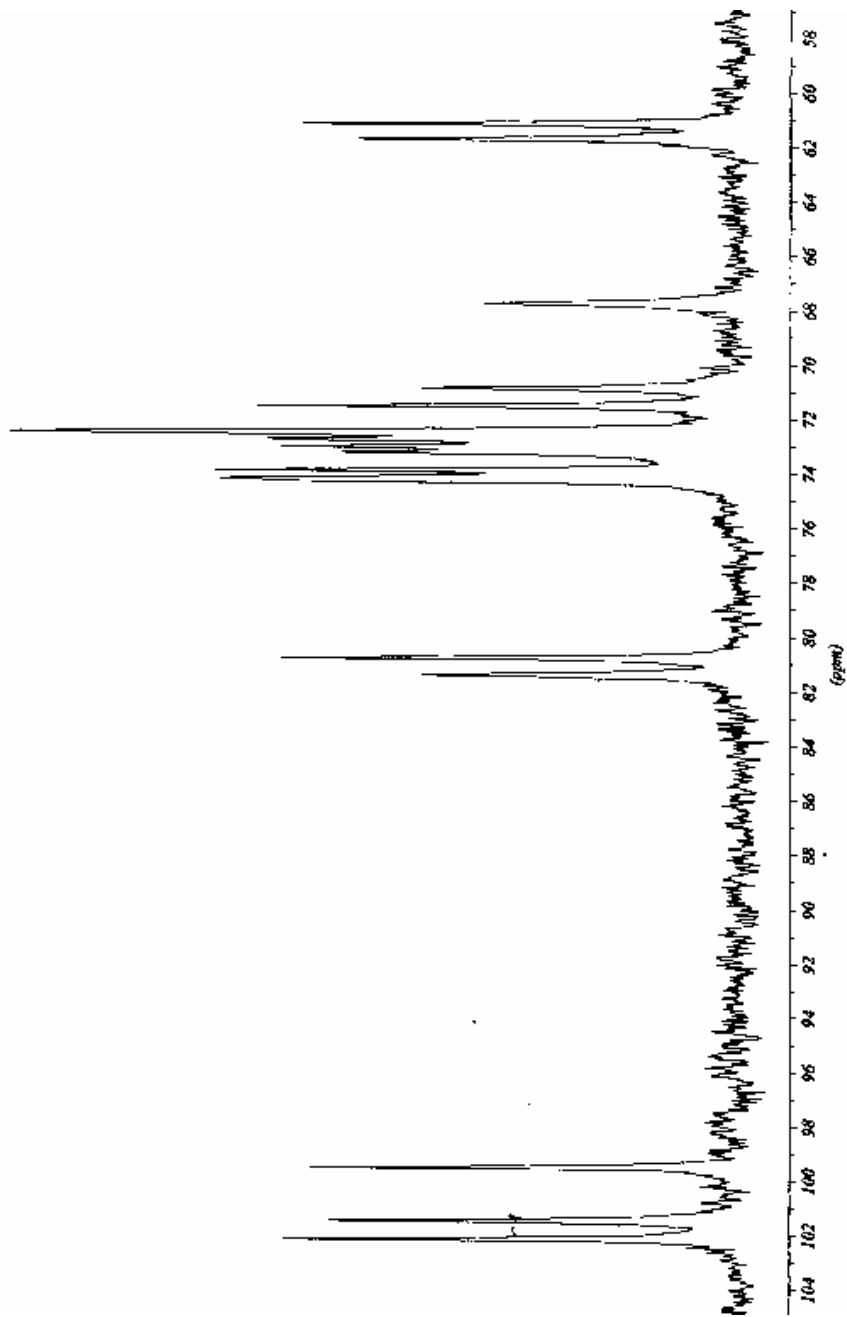
Σχήμα 29. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6C άτομο άνθρακα του δακτυλίου C της πουλουλάνης σε διάλυμα D_2O ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (◻), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (◼). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.

3.3.1.2 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟ $DMSO-d_6$

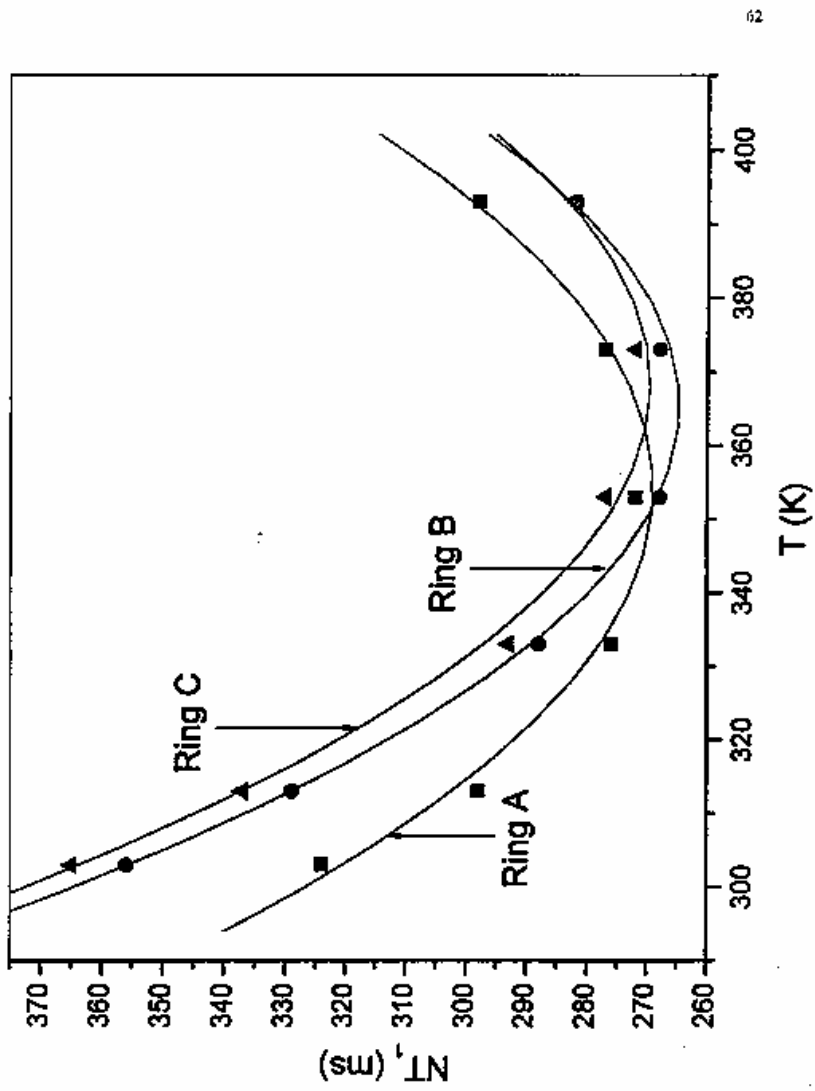
Στο Σχήμα 30 παρουσιάζεται το ανθρακικό φάσμα της πουλουλάνης στο $DMSO-d_6$ στους 30^0 C. Αναγνωρίζουμε στο φάσμα όλους τους άνθρακες που έχουν προσδιοριστεί και στο ανθρακικό φάσμα της πουλουλάνης στο D_2O , με εξαίρεση τους άνθρακες C-2B και C-5C που εμφανίζονται ως μία κορυφή σε δ 77.5. Σε αυτόν τον διαλύτη οι χημικές μετατοπίσεις

παρουσιάζουν άμεση εξάρτηση από την θερμοκρασία. Στις χαμηλότερες θερμοκρασίες, ακόμα και στα 125.7 MHz, παρουσιάζονται λιγότερες κορυφές απ' ότι στο D₂O, λόγω αλληλεπικαλύψεων. Έτσι, οι παράμετροι αποδιέγερσης που αντιστοιχούν σε αλληλεπικαλυπτόμενες κορυφές δεν χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη της δυναμικής της πουλουλάνης.

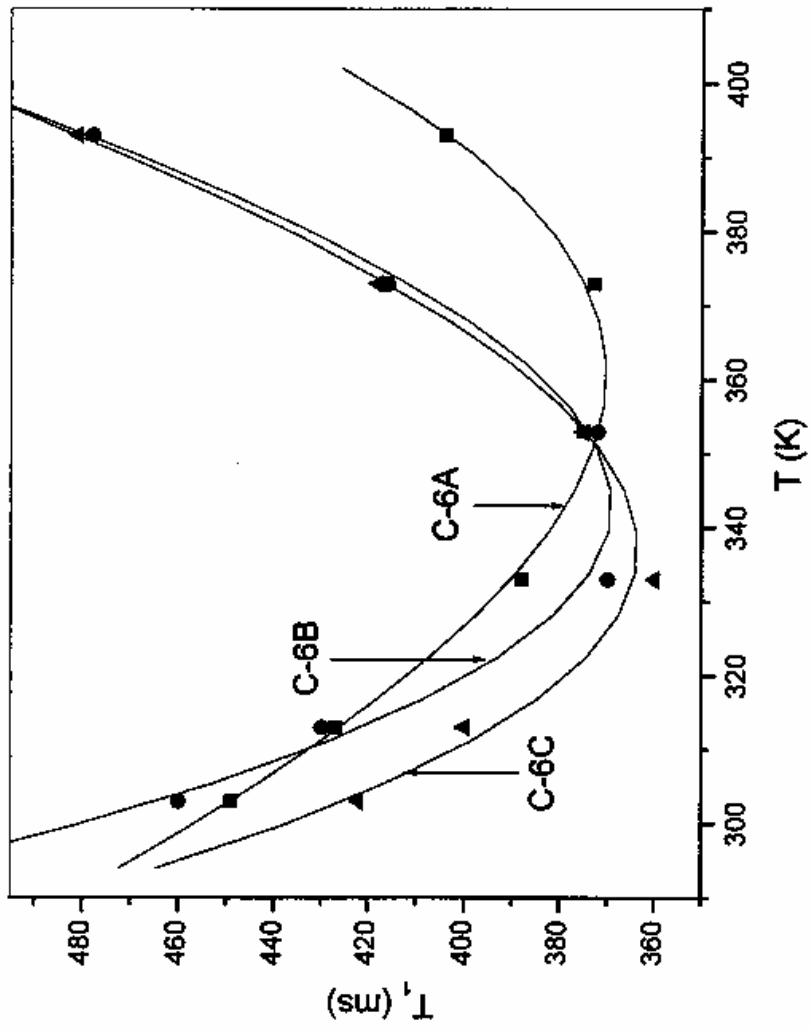
Στους πίνακες IV, V και VI παρουσιάζονται οι παράμετροι αποδιέγερσης NT₁ και οι παράγοντες NOE των τριών δακτυλίων (A,B και C) της πουλουλάνης σε DMSO-d₆. Παρατηρώντας τους πίνακες βλέπουμε ότι οι παράμετροι αποδιέγερσης των ατόμων άνθρακα που ανήκουν στον ίδιο δακτύλιο, είναι ίσες μεταξύ τους, εντός του πειραματικού σφάλματος, το οποίο έχει ήδη παρατηρηθεί και στο διάλυμα της πουλουλάνης σε D₂O. Γι' αυτό τον λόγο και στο DMSO-d₆ θα χρησιμοποιηθούν οι μέσοι όροι των τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης στην μελέτη της δυναμικής της πουλουλάνης. Το Σχήμα 31 παρουσιάζει την εξάρτηση της θερμοκρασίας συναρτήση του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT₁ στους τρεις δακτυλίους στα 100.5MHz στο DMSO-d₆. Παρατηρούμε ότι οι δακτύλιοι B και C παρουσιάζουν παρόμοια τοπική δυναμική, εφόσον το ελάχιστό τους εμφανίζεται σε παρόμοια θερμοκρασία. Ο δακτύλιος A χαρακτηρίζεται από πιο αργή κίνηση, σε σύγκριση με τους δακτυλίους B και C, εφόσον το ελάχιστό του εμφανίζεται σε μικρότερες θερμοκρασίες, σε σχέση με τους άλλους δύο δακτυλίους. Οι χρόνοι αποδιέγερσης των ατόμων άνθρακα των εξωκυκλικών υδροξυλομεθυλομάδων είναι συστηματικά μεγαλύτεροι από τους αντίστοιχους χρόνους αποδιέγερσης των ατόμων άνθρακα της κύριας αλυσίδας, λόγω της αυξημένης ευλιγισίας της ομάδας αυτής. Η αυξημένη ευλιγισία των ομάδων αυτών φαίνεται και από τις τιμές των NOE, οι οποίες είναι μεγαλύτερες από τις τιμές των NOE των ανθράκων των δακτυλίων, αλλά εξακολουθούν να είναι μικρότερες από την μέγιστη τιμή 2.987. Στο Σχήμα 32 παρουσιάζεται η μεταβολή των τιμών NT₁ για τους υδροξυμεθυλικούς άνθρακες του κάθε δακτυλίου στο D₂O στα 125.7MHz. Η ελάχιστη τιμή NT₁ του υδροξυμεθυλικού άνθρακα C-6A του δακτυλίου A, μετατοπίζεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες σε σχέση με τους άλλους δύο υδροξυμεθυλικούς άνθρακες, όπως έχει ήδη αναφερθεί και στο D₂O.



Σχήμα 30. Ανθρακικό φάσμα της πολυακρυλάμης στο DMSO-d₆ στους 30⁰ C.



Σχήμα 31. Μεταβολή του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT_1 συναρτήσει της θερμοκρασίας στους τρεις δακτυλίους στα 100.5 MHz στο $DMSO-d_6$.



Σχήμα 32. Μεταβολή του μέσου όρου των πειραματικών τιμών των NT_1 συναρτήσει της θερμοκρασίας για τους υδροξυμεθυλικούς άνθρακες στους τρεις δακτυλίους στα 125.7MHz στο DMSO- d_6 .

ΠΙΝΑΚΑΣ IV. Παράμετροι αποδιέγερσης NT₁ και NOE για τον δακτύλιο A της πουλουλάνης σε DMSO-d₆.

t(°C)	C-1A		C-2A		C-3A		C-4A		C-5A		C-6A	
	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE
300MHz												
30	233	1.47	259	1.42	223	1.43	280	1.35	220	1.49	266	1.53
40	214	1.48	228	1.55	213	1.51	236	1.51	212	1.59	238	1.56
60	196	1.66	209	1.60	198	1.59	212	1.53	208	1.63	236	1.67
80	200	1.75	206	1.70	213	1.88	197	1.58	217	1.80	236	1.88
100	220	2.05	219	1.81	228	2.04	204	1.73	242	2.01	254	2.05
120	246	2.95	238	2.35	287	2.44	217	2.39	266	2.66	286	2.74
400MHz												
30	324	1.42	366	1.40	321	1.38	397	1.34	326	1.42	380	1.49
40	301	1.45	320	1.49	298	1.49	371	1.41	294	1.48	334	1.54
60	274	1.53	284	1.49	271	1.50	300	1.45	267	1.50	304	1.54
80	267	1.65	273	1.59	273	1.62	275	1.47	275	1.63	302	1.70
100	271	1.88	269	1.72	282	1.86	266	1.69	289	1.80	302	1.96
120	286	2.03	286	1.83	325	1.90	279	1.80	316	1.99	304	2.06
500MHz												
30	397	1.56	460	1.46	414	1.34	491	1.20	387	1.34	454	1.30
40	374	1.54	435	1.49	375	1.42	478	1.25	385	1.40	428	1.36
60	335	1.57	350	1.69	345	1.55	386	1.29	337	1.41	388	1.40
80	322	1.56	338	1.50	332	1.54	346	1.34	334	1.59	376	1.62
100	327	1.74	347	1.69	350	1.71	334	1.49	336	1.64	374	1.69
120	369	2.09	338	2.07	368	2.10	332	1.92	369	1.96	404	2.02

Συνεπώς, στα διαγράμματα των Σχημάτων 33, 34 και 35 τα οποία παρουσιάζουν την μεταβολή των παραμέτρων αποδιέγερσης NT₁ και των παραγόντων NOE συναρτήσει της θερμοκρασίας για τους άνθρακες των δακτυλίων A,B και C, λαμβάνονται οι μέσοι όροι των τιμών από τους αντίστοιχους πίνακες. Τέλος στα Σχήματα 36, 37 και 38 απεικονίζονται οι μεταβολές των NT₁ και NOE των ατόμων άνθρακα C-6A, C-6B και C-6C, αντίστοιχα.

Η παρατήρηση των παραπάνω διαγραμμάτων οδηγεί σε ορισμένα χρήσιμα ποιοτικά συμπεράσματα.

1) Οι χρόνοι NT₁ μειώνονται με τη αύξηση της θερμοκρασία, διέρχονται από ένα ελάχιστο και στην συνέχεια αυξάνονται με την παραπέρα αύξηση της.

ΠΙΝΑΚΑΣ V. Παράμετροι αποδιέγερσης NT₁ και NOE για τον δακτύλιο B της πουλουλάνης σε DMSO-d₆.

t(°C)	C-1B		C-2B		C-3B		C-4B		C-5B		C-6B	
	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE
300MHz												
30	244	1.43	240	1.46	258	1.39	258	1.37	251	1.39	244	1.40
40	225	1.46	220	1.50	231	1.45	228	1.54	233	1.40	228	1.43
60	206	1.59	204	1.64	215	1.48	217	1.62	209	1.52	220	1.71
80	195	1.70	202	1.69	201	1.59	197	1.71	206	1.70	250	1.75
100	206	1.75	204	1.89	221	1.71	209	1.74	214	1.83	288	2.02
120	252	2.15	221	2.45	236	2.31	212	2.58	246	2.92	334	3.01
400MHz												
30	346	1.36	343	1.43	376	1.34	360	1.29	361	1.38	352	1.42
40	318	1.45	310	1.44	351	1.46	337	1.44	321	1.45	308	1.48
60	279	1.55	276	1.51	299	1.47	296	1.55	287	1.50	290	1.51
80	267	1.56	264	1.60	271	1.49	270	1.57	273	1.59	304	1.67
100	265	1.64	259	1.72	276	1.57	263	1.64	270	1.70	332	2.01
120	287	1.82	284	1.82	283	1.60	274	1.72	276	1.71	378	2.14
500MHz												
30	468	1.35	413	1.32	500	1.54	468	1.40	470	1.54	460	1.46
40	433	1.42	396	1.36	445	1.81	432	1.42	433	1.50	430	1.48
60	346	1.46	339	1.42	375	1.72	360	1.62	356	1.43	348	1.46
80	330	1.50	330	1.58	344	1.67	352	1.58	338	1.50	372	1.61
100	322	1.61	301	1.48	352	1.80	312	1.62	334	1.59	414	1.89
120	331	1.95	320	1.88	331	2.15	333	1.89	349	2.05	436	2.25

2) Η θερμοκρασία στην οποία παρατηρείται το ελάχιστο των χρόνων NT₁ αυξάνεται καθώς αυξάνεται το μαγνητικό πεδίο, σε πλήρη συμφωνία με την θεωρία της μαγνητικής αποδιέγερσης.

3) Οι χρόνοι NT₁ αυξάνονται με την αύξηση του μαγνητικού πεδίου.

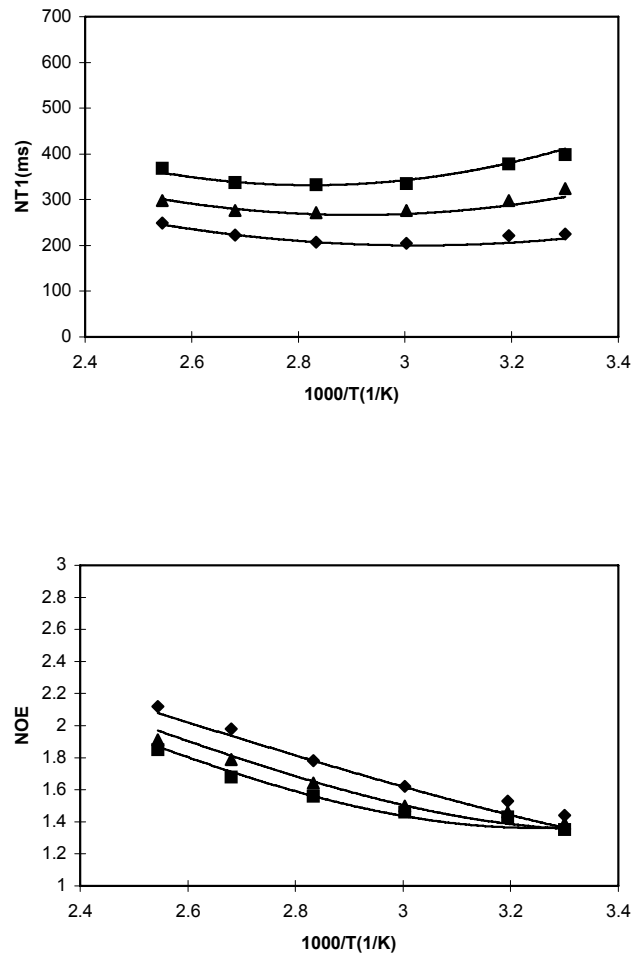
4) Οι τιμές του NOE μειώνονται καθώς αυξάνεται το μαγνητικό πεδίο και τείνουν να εξισωθούν καθώς η θερμοκρασία μειώνεται. Σε όλες τις περιπτώσεις οι τιμές NOE είναι μικρότερες από την μέγιστη θεωρητική τους τιμή 2.987 (περιοχή κινητικής στένωσης).

5) Το ελάχιστο που παρατηρείται στην καμπύλη των τιμών NT₁ συναρτήση της θερμοκρασίας στον εξωκυκλικό άνθρακα C-6A του δακτυλίου A, εμφανίζεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες σε σχέση με το ελάχιστο των εξωκυκλικών ανθράκων C-6B και C-6C των δακτυλίων A και B αντίστοιχα. Αυτό οφείλεται στην θέση του άνθρακα C-6A, ο οποίος ενώνει με α(1->6) γλυκοζιτικό δεσμό τους δακτυλίους A και B, πράγμα που παρεμποδίζει την ελεύθερη περιστροφή του σε σχέση με τους εξωκυκλικούς άνθρακες C-6B και C-6C.

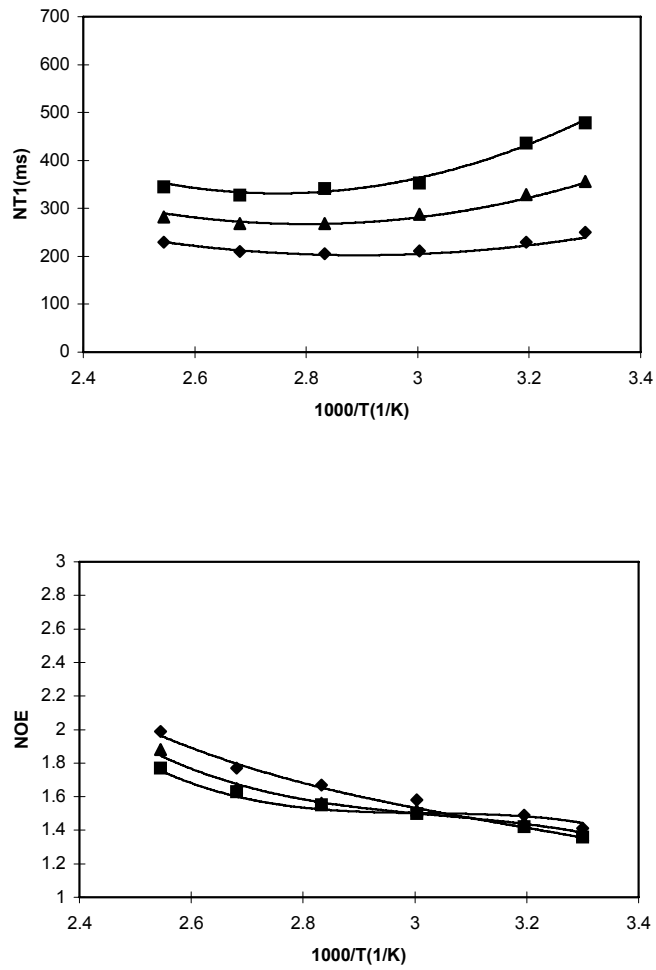
ΠΙΝΑΚΑΣ VI. Παράμετροι αποδιέγερσης NT₁ και NOE για τον δακτύλιο C της πουλουλάνης σε DMSO-d₆.

t(°C)	C-1C		C-2C		C-3C		C-4C		C-5C		C-6C	
	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE
300MHz												
30	227	1.51	259	1.46	258	1.39	224	1.44	240	1.46	240	1.50
40	195	1.52	227	1.55	231	1.43	212	1.62	220	1.50	230	1.56
60	188	1.63	212	1.55	217	1.56	196	1.67	204	1.64	226	1.61
80	190	1.65	197	1.72	207	1.66	204	1.78	202	1.69	254	1.78
100	206	1.92	203	1.73	217	1.84	226	2.05	228	1.88	298	2.00
120	210	3.02	224	2.25	236	2.58	242	2.98	246	2.50	372	2.77
400MHz												
30	311	1.38	388	1.35	376	1.42	301	1.34	343	1.43	344	1.45
40	282	1.42	340	1.41	334	1.52	283	1.49	310	1.44	304	1.46
60	264	1.56	303	1.48	295	1.53	260	1.50	276	1.51	304	1.57
80	245	1.57	278	1.51	275	1.54	262	1.68	264	1.60	314	1.64
100	245	1.73	265	1.60	278	1.68	265	1.86	277	1.81	338	1.92
120	286	1.85	282	1.93	278	1.72	298	2.04	302	1.82	396	2.69
500MHz												
30	426	1.35	493	1.53	445	1.43	403	1.42	413	1.32	420	1.37
40	363	1.47	447	1.58	427	1.57	388	1.54	396	1.36	422	1.47
60	322	1.48	373	1.49	366	1.55	315	1.47	339	1.42	358	1.54
80	308	1.59	346	1.45	355	1.48	318	1.53	330	1.58	372	1.61
100	314	1.73	314	1.67	338	1.64	339	1.71	340	1.71	418	1.72
120	336	1.66	328	1.85	359	1.99	347	2.04	367	1.84	482	2.16

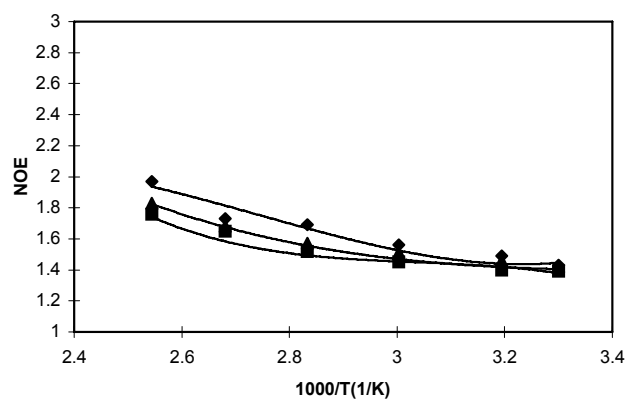
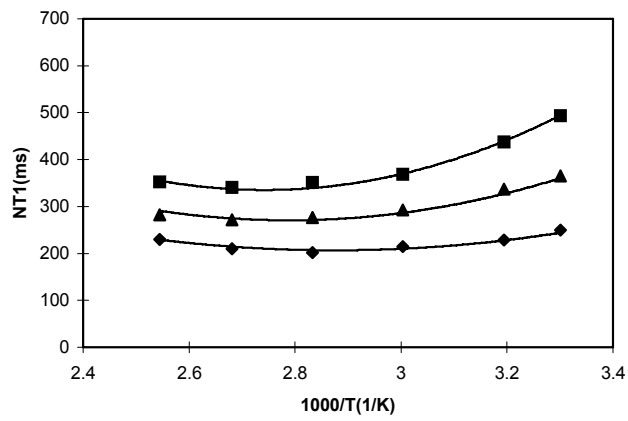
Όλες οι παραπάνω παρατηρήσεις για την συμπεριφορά των παραμέτρων αποδιέγερσης με την μεταβολή της θερμοκρασίας και του μαγνητικού πεδίου, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η δυναμική συμπεριφορά της πουλουλάνης στο D₂O βρίσκεται στην περιοχή των ενδιάμεσων κινήσεων.



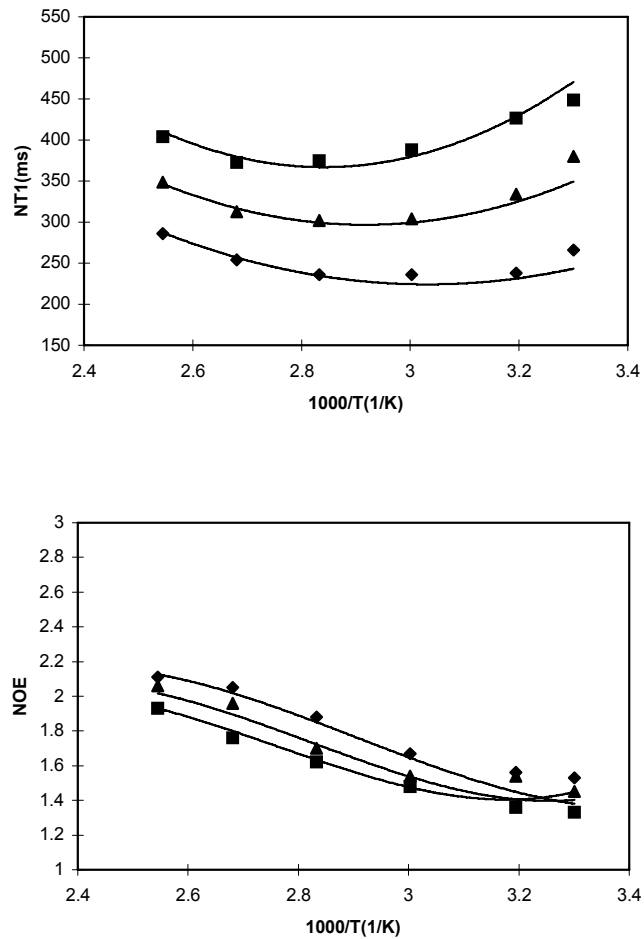
Σχήμα 33. Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου A της πουλουλάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (\boxtimes), 100.5 MHz (\blacktriangle) και 125.6 MHz (\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



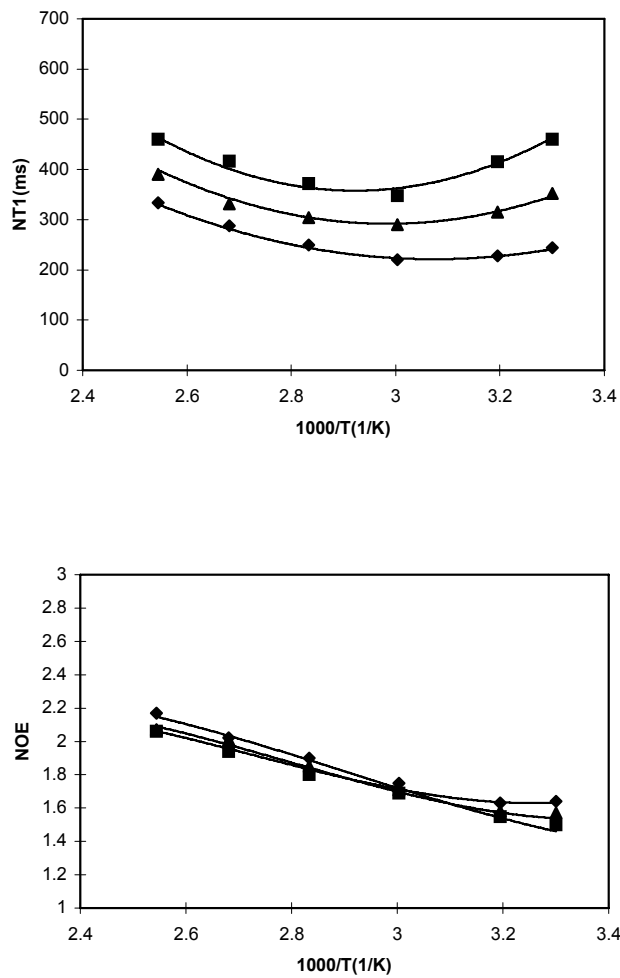
Σχήμα 34. Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου Β της πουλουλάνης σε διάλυμα $DMSO-d_6$ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (\boxtimes), 100.5 MHz (\blacktriangle) και 125.6 MHz (\boxminus). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



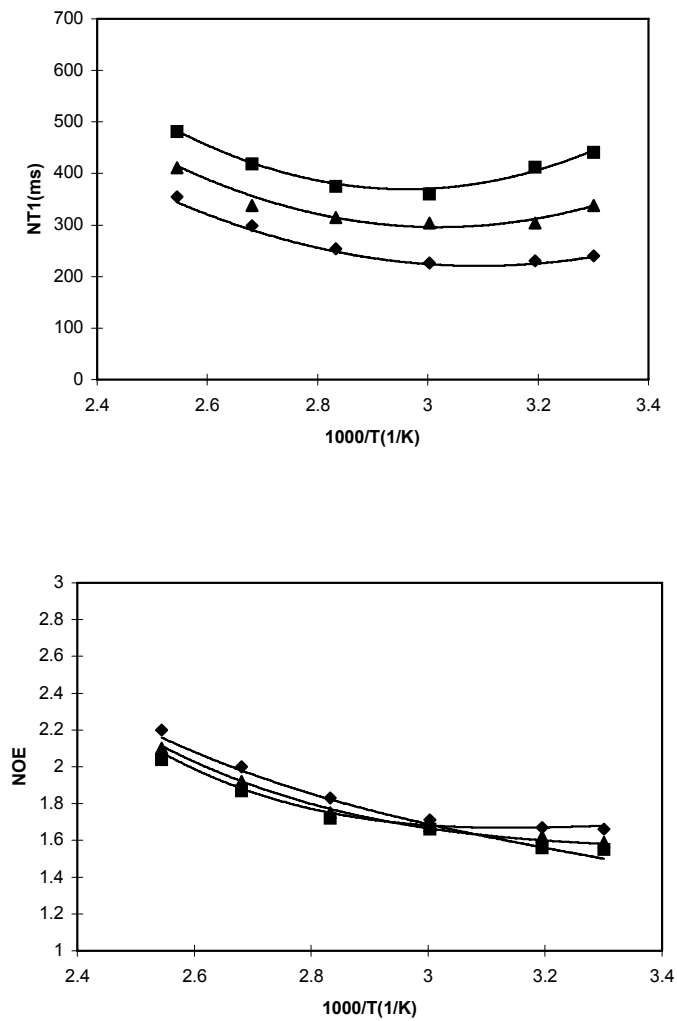
Σχήμα 35. Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου C της πουλουλάνης σε διάλυμα $DMSO-d_6$ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (□), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (◆). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



Σχήμα 36. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6A άτομο άνθρακα του δακτυλίου A της πουλουλάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (○), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (◻). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



Σχήμα 37. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6B άτομο άνθρακα του δακτυλίου B της πλουλουάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (◆), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (■). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



Σχήμα 38. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το C-6C άτομο άνθρακα του δακτυλίου C της πουλουλάνης σε διάλυμα $DMSO-d_6$ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (\square), 100.5 MHz (\blacktriangle) και 125.6 MHz (\blacklozenge). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.

3.3.2 ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

3.3.2.1 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟ D₂O.

(α) ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ

Επειδή η πουλουλάνη έχει μεγάλο μοριακό βάρος (1.45×10^5), η συνολική περιστροφική κίνηση της αλυσίδας είναι πολύ αργή και επομένως αναμένεται να συνεισφέρει ελάχιστα στην αποδιέγερση των ατόμων άνθρακα της αλυσίδας. Ο χρόνος συσχέτισης της συνολικής κίνησης σε άπειρη αραιώση μπορεί να υπολογιστεί από την εξίσωση

$$\tau_R = \frac{2\overline{M_w}[\eta]\eta_0}{3RT} \quad (35)$$

ως συνάρτηση του μοριακού βάρους, $\overline{M_w}$, του εσωτερικού ιξώδους του διαλύματος, $[\eta]$, και του ιξώδους του διαλύτη, η_0 . Το ιξώδες του D₂O είναι $0.798 \cdot 10^{-2}$ g/s·cm στους 303 K και το ιξώδες του διαλύματος της πουλουλάνης στην ίδια θερμοκρασία στο D₂O είναι 0.4288 dl/gr. Έτσι αντικατάσταση στην παραπάνω εξίσωση δίνει:

$$\tau_R = 1.36 \cdot 10^{-6} \text{ s}$$

Η μεγάλη τιμή του τ_R αποδεικνύει ότι η συνεισφορά της συνολικής κίνησης στην αποδιέγερση της πουλουλάνης μπορεί να αγνοηθεί με ασφάλεια στην ποσοτική ανάλυση των παραμέτρων αποδιέγερσης.

(β) ΤΜΗΜΑΤΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ ΤΗΣ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ

Για την ανάλυση της δυναμικής της κύριας αλυσίδας του πολυμερούς χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο DLM, όπως έχει ήδη αναφερθεί, το οποίο έδωσε καλή συμφωνία πειραματικών και θεωρητικών τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT₁ και NOE όπως φαίνεται και από τα Σχήματα 24-26.

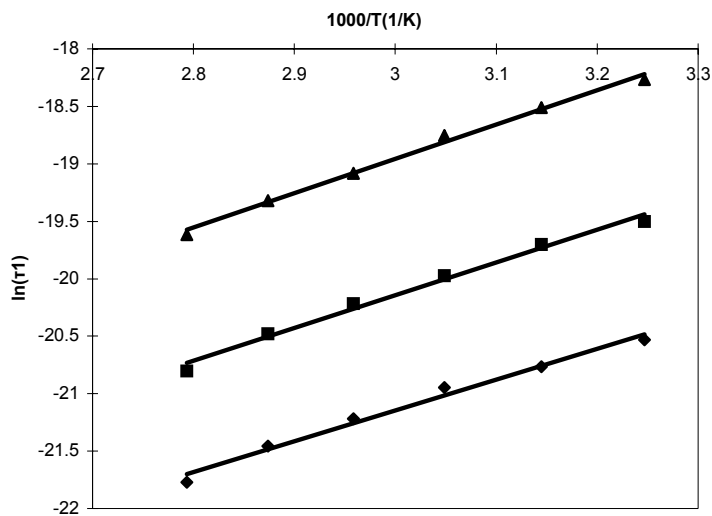
Οι παράμετροι προσομοίωσης για το μοντέλο αυτό φαίνονται στον πίνακα VII. Η γωνία θ , για την ταλαντωτική κίνηση του δεσμού C-H για τα άτομα άνθρακα των δακτυλίων A, B και C είναι κατά μέσο όρο ίση με 29°, 29° και 30° αντίστοιχα. Παρατηρώντας τις τιμές των χρόνων συσχέτισης και στους τρεις δακτυλίους, παρατηρούμε ότι μειώνονται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, γεγονός που φανερώνει την αύξηση της ταχύτητας των τμηματικών κινήσεων με την αύξηση της θερμοκρασίας.

Στον ίδιο πίνακα αναγράφονται και οι ενέργειες ενεργοποίησης των δακτυλίων που υπολογίστηκαν από το διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης των συζευγμένων μεταβάσεων. Από την κλίση του διαγράμματος στο Σχήμα 39 υπολογίζεται η φαινόμενη

ενέργεια ενεργοποίησης ίση με $E^* = 22 \text{ kJ/mol}$ για τον Α δακτύλιο, $E^* = 22 \text{ kJ/mol}$ για τον Β δακτύλιο και $E^* = 15 \text{ kJ/mol}$ για τον C δακτύλιο.

ΠΙΝΑΚΑΣ VII. Παράμετροι του μοντέλου DLM για την περιγραφή της δυναμικής της κύριας αλυσίδας της πουλουλάνης και της δεξτράνης¹⁶ σε διάλυμα D_2O .

	A-δακτύλιος	B-δακτύλιος	C-δακτύλιος	C-6A	Δεξτράνη
$t(^{\circ}C)$	$\tau_1(x10^{-9})$	$\tau_1(x10^{-9})$	$\tau_1(x10^{-9})$	$\tau_1(x10^{-9})$	$\tau_1(x10^{-9})$
35	1.21	1.25	1.58	1.39	1.12
45	0.96	1.02	1.24	1.09	0.75
55	0.80	0.78	0.97	0.85	0.54
65	0.61	0.61	0.70	0.72	0.35
75	0.48	0.47	0.55	0.53	0.25
85	0.35	0.34	0.41	0.44	0.20
τ_0/τ_1	14				8
θ	29	29	30	34	28
τ_1/τ_2	40				140
$E_a(\text{kJ/mol})$	22	22	15	21	31
r	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99



Σχήμα 39. Διαγράμματα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική των δακτυλίων Α (◻), Β (◉) και C (▲) της πουλουλάνης.

(γ) ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΕΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΕΣ ΤΩΝ ΥΔΡΟΞΥΜΕΘΥΛΟΜΑΔΩΝ

Για την δυναμική των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων, εφαρμόστηκαν τα μοντέλα της περιστροφικής διάχυσης γύρω από τον δεσμό C-5-C-6 και των αλμάτων μεταξύ δύο ευσταθών καταστάσεων, για τις ελεύθερες υδροξυμεθυλομάδες C-6B και C-6C και για την μη-ελεύθερη υδροξυμεθυλομάδα C-6A το μοντέλο DLM. Στα Σχήματα 27, 28 και 29 γίνεται σύγκριση μεταξύ θεωρητικών και πειραματικών δεδομένων αποδιέγερσης για τα άτομα C-6A, C-6B και C-6C της πουλουλάνης, εφαρμόζοντας για την ανάλυση δεδομένων, το μοντέλο DLM για τον C-6A και το μοντέλο της περιστροφικής διάχυσης για τις ελεύθερες υδροξυμεθυλομάδες C-6B και C-6C. Η συμφωνία είναι καλή.

Το μοντέλο της περιστροφικής διάχυσης προτιμήθηκε κυρίως γιατί περιλαμβάνει λιγότερες παραμέτρους προσομοιώσεις από ότι το μοντέλο των αλμάτων, με αποτέλεσμα να καθιστά λιγότερο πολύπλοκη την περιγραφή της πλευρικής ομάδας και συνεπώς περισσότερο αξιόπιστη. Επιπλέον το μοντέλο της περιστροφικής διάχυσης δεν κατάφερε να αναπαράγει τα δεδομένα αποδιέγερσης του άνθρακα C-6A ούτε στο D₂O ούτε στο DMSO-d₆. Αυτός ο άνθρακας βρίσκεται στην κύρια αλυσίδα της πουλουλάνης και αποδιεγείρεται μέσω πολλαπλών ενδομοριακών περιστροφών γύρω από τρεις δεσμούς, τους C-5-C-6, C-6-O-1 και O-1-C-1. Γι' αυτό τον λόγο χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο DLM.

Οι γωνίες χ , οι οποίες αντιπροσωπεύουν το μισό του πλάτους της περιστροφικής διάχυσης, καθώς επίσης και οι χρόνοι συσχέτισης που υπολογίστηκαν με την εφαρμογή του μοντέλου συγκεντρώνονται στον πίνακα VIII. Από τον πίνακα γίνεται αντιληπτή η αύξηση του συντελεστή διάχυσης και της γωνίας θ με την θερμοκρασία, γεγονός που αντανακλά την αύξηση της ευλιγισίας της πλευρικής ομάδας με την θερμοκρασία.

Από τον πίνακα VII παρατηρούμε ότι η γωνία, θ , του δεσμού C-H στην θέση C-6A, είναι μεγαλύτερη (34°) από τις υπόλοιπες γωνίες ταλάντωσης των δεσμών C-H στα άτομα άνθρακα των δακτυλίων. Το μεγαλύτερο εύρος ταλάντωσης του ανύσματος C-H του ατόμου C-6A μπορεί να αποδοθεί στο διαφορετικό περιβάλλον του άνθρακα C-6A σε σχέση με τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου. Πιο συγκεκριμένα η διαφορά αυτή οφείλεται στην έλλειψη του υδροξυλίου, το οποίο εμποδίζει την ελεύθερη ταλάντωση του δεσμού C-H.

Συγκρίνοντας όμως την γωνία θ του C-6A με τις γωνίες χ των C-6B και C-6C παρατηρούμε ότι το πλάτος της περιστροφικής διάχυσης των C-6B και C-6C είναι μεγαλύτερο από το εύρος ταλάντωσης του ανύσματος C-H του ατόμου C-6A, γεγονός που φανερώνει την ελεύθερη κίνηση των C-6B και C-6C, σε αντίθεση με την παρεμποδισμένη κίνηση του C-6A. Επιπλέον οι χρόνοι συσχέτισης τ_1 του C-6A είναι πολύ μεγαλύτεροι από τους αντίστοιχους χρόνους συσχέτισης των C-6B και C-6C, αντικατοπτρίζοντας την πιο αργή κίνηση του C-6A σε σύγκριση με την κίνηση των C-6B και C-6C.

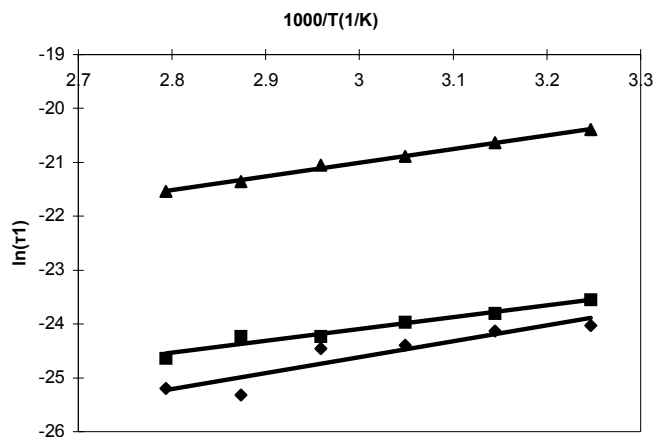
Όπως επίσης φαίνεται συγκρίνοντας τους πίνακες VII και VIII οι χρόνοι συσχέτισης τ_1 των ανθράκων των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων (C-6B και C-6C) είναι δύο τάξεις

μεγέθους μικρότεροι από τους χρόνους συσχέτισης τ_1 των τμηματικών κινήσεων των δακτυλίων B και C, αντανακλώντας την ευελιξία των ομάδων αυτών.

Στο Σχήμα 40 παρουσιάζεται το διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 της περιστροφής των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων. Από την κλίση του διαγράμματος, υπολογίζεται η ενέργεια ενεργοποίησης των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων η οποία είναι ίση με 21 kJ/mol για το άτομο άνθρακα C-6A, 18 kJ/mol για το άτομο άνθρακα C-6B και 20 kJ/mol για το άτομο άνθρακα C-6C.

ΠΙΝΑΚΑΣ VIII. Παράμετροι του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης, που χρησιμοποιήθηκε στην περιγραφή των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων των δακτυλίων B και C της πουλουλάνης.

$t(^{\circ}\text{C})$	C-6B		C-6C	
	$\tau_i \times 10^{-9}$	χ^0	$\tau_i \times 10^{-9}$	χ^0
35	0.052	47	0.059	50
45	0.049	51	0.046	53
55	0.040	54	0.039	52
65	0.031	52	0.030	56
75	0.025	56	0.024	59
85	0.020	56	0.020	59
$E_a(\text{kJ/mol})$	18		20	
r	0.99		0.99	



Σχήμα 40. Διαγράμματα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 για την δυναμική των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων C-6A(▲) C-6B(◻) και C-6C(◊) της πουλουλάνης.

3.3.2.2 ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΑΠΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟ DMSO-d₆.

(α) ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ

Ο χρόνος συσχέτισης τ_R της συνολικής περιστροφικής κίνησης του πολυμερούς σε διαλύτη DMSO- d_6 , υπολογίστηκε ίσως με $5.28 \cdot 10^{-6}$ s, εφαρμόζοντας την εξίσωση (35) και γνωρίζοντας ότι το ιξώδες του διαλύτη είναι ίσο με $1.808 \cdot 10^{-2}$ g/s·cm. Συγκρίνοντας τις τιμές του χρόνου συσχέτισης στο DMSO- d_6 και στο D₂O παρατηρούμε ότι ο χρόνος συσχέτισης στο DMSO- d_6 είναι 4 φορές μεγαλύτερος από τον χρόνο συσχέτισης του πολυμερούς στο D₂O. Αυτό οφείλεται στο μεγαλύτερο ιξώδες του DMSO- d_6 σε σχέση με το ιξώδες του D₂O. Άρα η συνολική περιστροφική κίνηση του πολυμερούς στο DMSO- d_6 είναι μικρότερη από την αντίστοιχη στο D₂O.

Ο χρόνος συσχέτισης είναι αρκετά μεγάλος, με συνέπεια η συνολική περιστροφική κίνηση της αλυσίδας είναι πολύ αργή. Έτσι οι πειραματικές παράμετροι αποδιέγερσης του πολυμερούς μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση των τοπικών κινήσεων, οι οποίες αποτελούν και την κύρια πηγή αποδιέγερσης των ατόμων άνθρακα.

(β) ΤΜΗΜΑΤΙΚΕΣ ΚΙΝΗΣΕΙΣ ΤΗΣ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ

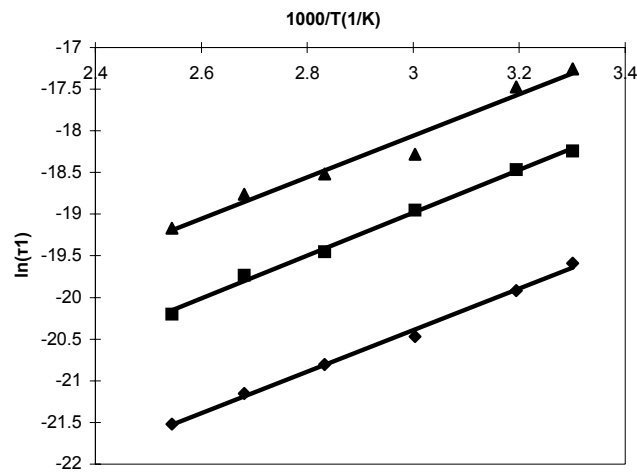
Για την περιγραφή της δυναμικής της αλυσίδας της πουλουλάνης χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο DLM, όπως έχει ήδη αναφερθεί, το οποίο έδωσε καλή συμφωνία πειραματικών και θεωρητικών τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT₁ και NOE όπως φαίνεται και από τα Σχήματα 32-34.

Οι παράμετροι προσομοίωσης για το μοντέλο αυτό φαίνονται στον πίνακα IX. Η γωνία θ , για την ταλαντωτική κίνηση του δεσμού C-H για τα άτομα άνθρακα των δακτυλίων A, B και C είναι κατά μέσο όρο ίση με 29°, 30° και 30.5° αντίστοιχα. Όπως και στο D₂O οι τιμές των χρόνων συσχέτισης και στους τρεις δακτυλίους μειώνονται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, γεγονός που φανερώνει την αύξηση της ταχύτητας των τμηματικών κινήσεων με την αύξηση της θερμοκρασίας.

Η ενέργεια ενεργοποίησης των δακτυλίων που παρουσιάζονται στον πίνακα IX υπολογίστηκε από το διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης των συζευγμένων μεταβάσεων. Από την κλίση του διαγράμματος στο Σχήμα 41 υπολογίζεται η φαινόμενη ενέργεια ενεργοποίησης ίση με $E^* = 21$ kJ/mol για τον A δακτύλιο, $E^* = 22$ kJ/mol για τον B δακτύλιο και $E^* = 21$ kJ/mol για τον C δακτύλιο.

ΠΙΝΑΚΑΣ IX. Παράμετροι του μοντέλου DLM για την περιγραφή της δυναμικής της κύριας αλυσίδας της πουλουλάνης, της αμυλόζης¹⁶ και της δεξτράνης¹⁶ σε διάλυμα DMSO- d_6 .

	A-δακτύλιος	B-δακτύλιος	C-δακτύλιος	C-6A	Αμυλόζη	Δεξτράνη
t(°C)	$\tau_1(x10^{-9})$	$\tau_1(x10^{-9})$	$\tau_1(x10^{-9})$	$\tau_1(x10^{-9})$	$\tau_1(x10^{-9})$	$\tau_1(x10^{-9})$
30	3.10	4.39	4.34	3.58	4.73	3.69
40	2.24	2.53	3.50	2.53	3.93	1.79
60	1.29	1.21	1.56	1.21	2.44	0.97
80	0.92	0.80	1.23	0.80	1.41	0.62
100	0.65	0.55	0.96	0.55	0.93	0.39
120	0.45	0.40	0.64	0.40	0.59	0.23
τ_0/τ_1	5				3	3
θ	29	30	30.5	30	27	28.5
τ_1/τ_2	100				200	200
Ea(kJ/mol)	21	22	21	24	27	28
r	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99	0.99



Σχήμα 41. Διαγράμματα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική των δακτυλίων A (\square), B (\circ) και C (\blacktriangle) της πουλουλάνης.

(γ) ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΕΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΕΣ ΤΗΣ ΥΔΡΟΞΥΜΕΘΥΛΟΜΑΔΑΣ

Η περιγραφή της δυναμικής των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων πραγματοποιήθηκε με την εφαρμογή του δυναμικού μοντέλου της περιστροφικής διάχυσης γύρω από τον δεσμό

C-5-C-6₆, για τις ελεύθερες υδροξυμεθυλομάδες, και με την εφαρμογή του μοντέλου DLM για την μη-ελεύθερη υδροξυμεθυλομάδα, όπως έχει ήδη περιγραφεί και στο D₂O.

Στα Σχήματα 36, 37 και 38 γίνεται σύγκριση μεταξύ θεωρητικών και πειραματικών δεδομένων αποδιέγερσης για τα άτομα C-6A, C-6B και C-6C της πουλουλάνης.

Οι γωνίες χ , οι οποίες αντιπροσωπεύουν το μισό του πλάτους της περιστροφικής διάχυσης, καθώς επίσης και οι χρόνοι συσχέτισης που υπολογίστηκαν με την εφαρμογή του μοντέλου συγκεντρώνονται στον πίνακα X. Από τον πίνακα γίνεται αντιληπτή η αύξηση του συντελεστή διάχυσης και των γωνιών χ με την θερμοκρασία, γεγονός που αντανακλά την αύξηση της ευλιγισίας της πλευρικής ομάδας με την θερμοκρασία.

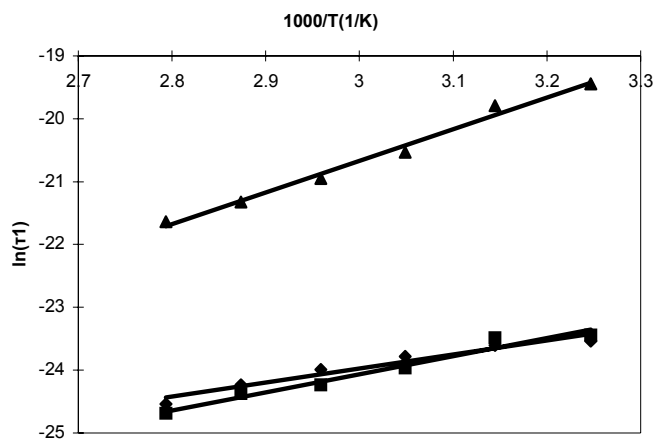
Η γωνία, θ του άνθρακα C-6A, βρέθηκε ότι είναι ίση με 30°. Η γωνία αυτή είναι μεγαλύτερη από τις υπόλοιπες γωνίες των ατόμων άνθρακα του δακτυλίου πράγμα που περιγράφει το διαφορετικό περιβάλλον του άνθρακα C-6A σε σύγκριση με τους υπόλοιπους άνθρακες του δακτυλίου. Επιπλέον συγκρίνοντας την γωνία θ και τους χρόνους συσχέτισης τ_1 του άνθρακα C-6A με τις γωνίες χ και τους χρόνους συσχέτισης των C-6B και C-6C, παρατηρούμε ότι η κίνηση του ανύσματος C-H του άνθρακα C-6A είναι παρεμποδισμένη σε σύγκριση με την κίνηση των C-6B και C-6C.

Τέλος, όπως είναι αναμενόμενο, σύγκριση των τιμών των χρόνων συσχέτισης που υπάρχουν στους πίνακες IX και X, παρατηρούμε την αυξημένη ευλιγισία των ανθράκων C-6B και C-6C.

Στο Σχήμα 42 παρουσιάζεται το διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 της περιστροφής των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων. Από την κλίση του διαγράμματος, υπολογίζεται η ενέργεια ενεργοποίησης των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων η οποία είναι ίση με 24 kJ/mol για το άτομο άνθρακα C-6A, 12 kJ/mol για το άτομο άνθρακα C-6B και 14 kJ/mol για το άτομο άνθρακα C-6C.

ΠΙΝΑΚΑΣ X. Παράμετροι προσομοίωσης του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης, που χρησιμοποιήθηκε στην περιγραφή των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων των δακτυλίων B και C της πουλουλάνης και της αμυλόζης¹⁶ στο DMSO-d₆.

t(°C)	C-6B		C-6C		Δεξτράνη	
	$\tau_i \times 10^{-9}$	χ^0	$\tau_i \times 10^{-9}$	χ^0	$\tau_i \times 10^{-9}$	χ^0
30	0.060	44	0.066	44	0.067	37
40	0.056	44	0.063	46	0.054	39
60	0.047	50	0.039	50	0.045	46
80	0.038	56	0.030	54	0.032	52
100	0.030	63	0.026	61	0.020	52
120	0.022	66	0.019	69	0.018	57
Ea(kJ/mol)	22		14		14	
r	0.99		0.99		0.97	



Σχήμα 42. Διαγράμματα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική των πλευρικών υδροξυλεθυλομάδων C-6A(▲), C-6B(◩) και C-6C(◪) της πουλουλάνης.

2.3.3 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΣΤΟΥΣ ΔΥΟ ΔΙΑΛΥΤΕΣ

Συγκρίνοντας τα σχήματα που παρουσιάζουν τις μεταβολές των NT_1 συναρτήση της θερμοκρασίας και τα αποτελέσματα της δυναμικής καταλήγουμε στα εξής συμπεράσματα:

- 1) Όπως έχει ήδη αναφερθεί οι χρόνοι αποδιέγερσης NT_1 παρουσιάζουν ένα ελάχιστο καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία. Η θέση του ελαχίστου αντανακλά διαφορές στην ταχύτητα των τοπικών τμηματικών κινήσεων των δακτυλίων. Όσο πιο χαμηλή είναι η θερμοκρασία που εμφανίζεται αυτό το ελάχιστο τόσο πιο γρήγορη είναι η τμηματική κίνηση της κύριας αλυσίδας. Από τα Σχήματα 22 και 30 φαίνεται καθαρά ότι στο D_2O αυτό το ελάχιστο εμφανίζεται στην ίδια θερμοκρασία (<308K) για τους δακτυλίους A και B ενώ μετατοπίζεται σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες (318K) για τον δακτύλιο C, αντανακλώντας την πιο αργή κίνηση αυτού του δακτυλίου. Στο $DMSO-d_6$ αυτό το ελάχιστο παρατηρείται στους 353K, 368K και 373K για τους δακτυλίους A, B και C, αντανακλώντας την μικρότερη ταχύτητα της τοπικής κίνησης του δακτυλίου C σε σχέση με την ταχύτητα κίνησης του δακτυλίου B και A.
- 2) Για τους τρεις δακτυλίους της πουλουλάνης, τόσο στο D_2O όσο και στο $DMSO-d_6$, οι τιμές των χρόνων αποδιέγερσης NT_1 που αντιστοιχούν στο ελάχιστο της καμπύλης είναι περίπου ίσες μεταξύ τους, γεγονός που φανερώνει την μικρή αλλαγή στο μέγεθος της ταλαντωτικής κίνησης του ανύσματος C-H του κάθε δακτυλίου.
- 3) Από τις τιμές των πινάκων VII και IX παρατηρούμε ότι οι χρόνοι συσχέτισης τ_1 μειώνονται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία, γεγονός που αντανακλά την αύξηση της ταχύτητας των τμηματικών κινήσεων με την αύξηση της θερμοκρασίας.
- 4) Από τις τιμές των πινάκων VII και IX παρατηρούμε ότι οι χρόνοι συσχέτισης τ_1 είναι συστηματικά μεγαλύτεροι στο $DMSO-d_6$ σε σύγκριση με το D_2O . Αυτό οφείλεται στο μεγαλύτερο ιξώδες του $DMSO-d_6$, που δυσκολεύει την κίνηση, με αποτέλεσμα οι ταχύτητες των τμηματικών κινήσεων στο D_2O να είναι μεγαλύτερες από τις ταχύτητες των τμηματικών κινήσεων στο $DMSO-d_6$.
- 5) Οι χρόνοι συσχέτισης τ_1 των δακτυλίων A και B στο D_2O είναι παρόμοιοι σε κάθε θερμοκρασία, εκφράζοντας την παρόμοια τοπική δυναμική των δύο δακτυλίων. Αντίθετα, η ταχύτητα της τμηματικής κίνησης του δακτυλίου C σε όλη την περιοχή των θερμοκρασιών, είναι πιο αργή από τις τμηματικές κινήσεις των δακτυλίων A και B. Παρατηρώντας την δομή της πουλουλάνης (Σχήμα 16), μπορούμε να πούμε ότι οι γλυκοζιτικοί δεσμοί $\alpha(1 \rightarrow 6)$ επιτρέπουν στους δακτυλίους A και B να κινούνται πιο ελεύθερα σε σύγκριση με τους γλυκοζιτικούς δεσμούς $\alpha(1 \rightarrow 4)$ που παρεμποδίζουν την κίνηση του C δακτυλίου. Στο $DMSO-d_6$ οι χρόνοι συσχέτισης του δακτυλίου A είναι μικρότεροι από τους χρόνους συσχέτισης των δακτυλίων B και C, οι οποίοι είναι περίπου ίσοι μεταξύ τους, εκφράζοντας την μεγαλύτερη ευελιξία του δακτυλίου A σε σύγκριση με τους άλλους δύο, οι οποίοι παρουσιάζουν την ίδια τοπική δυναμική.
- 6) Οι γωνίες ταλάντωσης θ είναι της τάξης των $29^0 - 30^0$ και στους δύο διαλύτες.
- 7) Το μέγεθος της συνεργατικότητας των τοπικών κινήσεων της κύριας αλυσίδας μπορεί να συγκριθεί με βάση τον λόγο τ_0/τ_1 . Στην πουλουλάνη το μήκος της συνεργατικότητας είναι μεγαλύτερο στο D_2O ($\tau_0/\tau_1=14$) σε σύγκριση με το $DMSO-d_6$ ($\tau_0/\tau_1=5$)

- 8) Οι συντελεστές διάχυσης D_i και οι γωνίες χ των ατόμων άνθρακα C-6B και C-6C αυξάνονται καθώς αυξάνεται και η θερμοκρασία αντανακλώντας την αύξηση της ευλιγισίας των πλευρικών ομάδων με την αύξηση της θερμοκρασίας.
- 9) Οι συντελεστές διάχυσης D_i και οι γωνίες χ των ατόμων άνθρακα C-6B και C-6C στους δύο διαλύτες είναι παρόμοιοι αποδεικνύοντας ότι η ενδομοριακή περιστροφή των δύο υδροξυμεθυλομάδων είναι παρόμοια και στους δύο διαλύτες.
- 10) Στον ίδιο διαλύτη η γωνία της περιστροφικής διάχυσης των ατόμων άνθρακα C-6B και C-6C είναι μεγαλύτερη από το εύρος ταλάντωσης του ανύσματος C-H του C-6A και ο χρόνος συσχέτισης τ_1 είναι μεγαλύτερος στον C-6A σε σχέση με τους άνθρακες C-6B και C-6C ($D_i = 1/6\tau_1$). Συνεπώς η κίνηση του C-6A είναι πιο παρεμποδισμένη και αργή από την κίνηση των ατόμων άνθρακα C-6B και C-6C, παρατήρηση που οφείλεται στο ότι ο άνθρακας C-6A συνδέει δύο δακτυλίους και δέχεται περισσότερη στερεοχημική παρεμπόδιση από ότι οι άνθρακες C-6B και C-6C που είναι ελεύθεροι και η κίνησή τους επηρεάζεται μόνο από τον διαλύτη.

2.3.4 ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΗΣ ΠΟΥΛΟΥΛΑΝΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΑΜΥΛΟΖΗ ΚΑΙ ΤΗΝ ΔΕΞΤΡΑΝΗ

Η αμυλόζη είναι ένας γραμμικός πολυσακχαρίτης με γλυκοζιτικούς δεσμούς $\alpha(1 \rightarrow 4)$ και η δεξτράνη ένα ομοπολυμερές με $\alpha(1 \rightarrow 6)$ γλυκοζιτικούς δεσμούς. Προηγούμενες μετρήσεις¹⁶ αποδιέγερσης ^{13}C δείξαν ότι η δεξτράνη είναι πιο ευέλικτη από την αμυλόζη

σε διάλυμα. Η πουλουλάνη διαφέρει από την αμυλόζη και την δεξτράνη αφού στο μόριό της έχει τόσο $\alpha(1\rightarrow4)$ όσο και $\alpha(1\rightarrow6)$ γλυκοζιτικούς δεσμούς.

Η ύπαρξη των $\alpha(1\rightarrow6)$ γλυκοζιτικών δεσμών στην πουλουλάνη αναμένεται να επιτρέπει μία μεγαλύτερη σχετική κίνηση στην μονάδα της μαλτοτριόζης σε σύγκριση με την αμυλόζη, ενώ η ύπαρξη των $\alpha(1\rightarrow4)$ γλυκοζιτικών δεσμών στην πουλουλάνη κάνει την δεξτράνη πιο ευέλικτη. Αυτό φαίνεται συγκρίνοντας τους χρόνους συσχέτισης τ_1 της δεξτράνης στο D_2O και στο $DMSO-d_6$ (Πίνακες VII και IX), οι οποίοι είναι μικρότεροι από αυτούς του δακτυλίου A στην πουλουλάνη, ειδικά σε μεγάλες θερμοκρασίες, φανερώνοντας την μεγαλύτερη ευλιγισία της αλυσίδας της δεξτράνης. Η πιο αργή τμηματική κίνηση της αμυλόζης στο $DMSO-d_6$ (Πίνακας IX), φαίνεται από τους χρόνους συσχέτισης τ_1 , οι οποίοι είναι μεγαλύτεροι από τους χρόνους συσχέτισης των δακτυλίων B και C της πουλουλάνης. Συγκρίνοντας τους λόγους τ_0/τ_1 (Πίνακες VII και IX), η πουλουλάνη παρουσιάζει μεγαλύτερο μήκος συνεργατικότητας απ' ό,τι η δεξτράνη και στους δύο διαλύτες και μικρότερο μήκος συνεργατικότητας σε σύγκριση με την αμυλόζη στο $DMSO-d_6$.

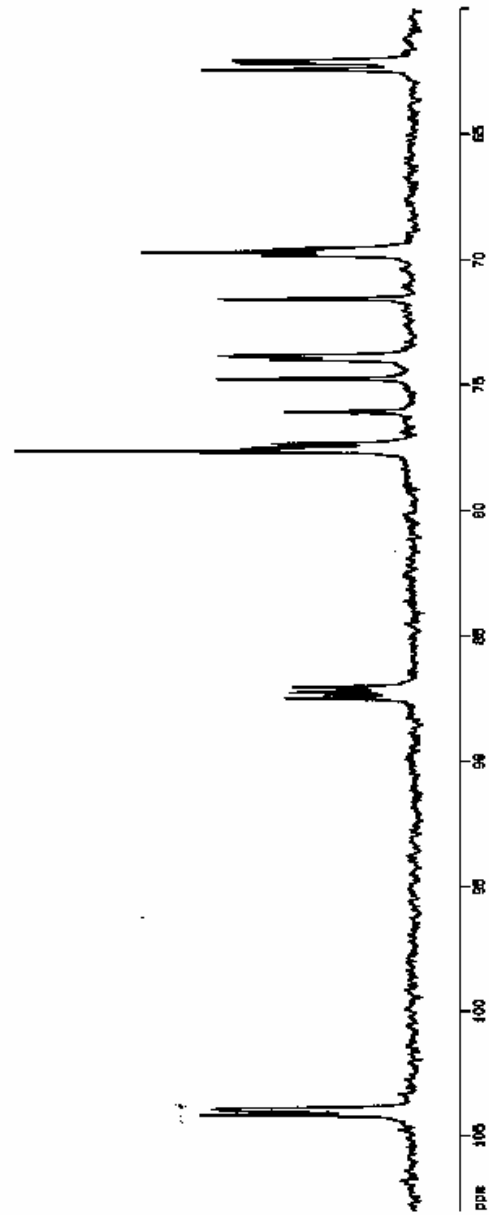
Συγκρίνοντας την κίνηση των πλευρικών υδροξυμεθυλομάδων της πουλουλάνης και της αμυλόζης (Πίνακας X) παρατηρούμε ότι παρουσιάζουν την ίδια δυναμική αντανακλώντας παρόμοια τοπικά περιβάλλοντα.

3.2 ΣΚΛΗΡΟΓΛΥΚΑΝΗ

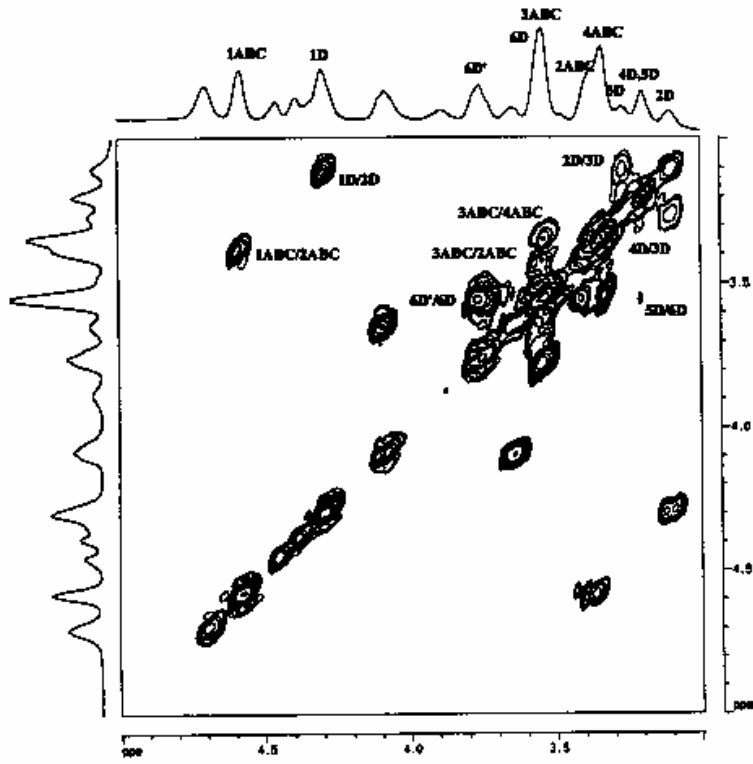
3.2.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΑΣΜΑΤΩΝ ^1H ΚΑΙ ^{13}C -NMR ΤΗΣ ΣΚΛΗΡΟΓΛΥΚΑΝΗΣ

Για να μπορέσουμε να χρησιμοποιήσουμε τις μετρήσεις των παραμέτρων αποδιέγερσης των πρωτονιωμένων ανθράκων της σκληρογλυκάνης για την περιγραφή της δυναμικής της συμπεριφοράς, είναι απαραίτητος ο προσδιορισμός του ανθρακικού φάσματος της. Προσπάθειες για τον προσδιορισμό του ανθρακικού φάσματος⁴³ έχουν ήδη πραγματοποιηθεί σε συνδυασμό με μετρήσεις αποδιέγερσης στους 60°C και σε συχνότητα 62.9 MHz για τον πυρήνα του άνθρακα. Παρόλο που ο προσδιορισμός του ανθρακικού φάσματος επιβεβαιώνει την χημική δομή του πολυσακχαρίτη, η χρήση μαγνητικού πεδίου χαμηλής συχνότητας δεν επιτρέπει τον πλήρη προσδιορισμό του φάσματος (παρατηρούνται 18 διαφορετικά σήματα στο φάσμα ενώ αναμένονται 24 σήματα). Επιπλέον, ο προσδιορισμός του φάσματος έγινε συγκρίνοντας της χημικές μετατοπίσεις με άλλους ομοπολυσακχαρίτες $\beta(1\rightarrow6)$ και $\beta(1\rightarrow3)$, και όπου ήταν εφικτό με τα πειραματικά αποτελέσματα των παραμέτρων αποδιέγερσης ανθράκων που βρίσκονται σε διαφορετικές θέσεις στην πολυμερική αλυσίδα. Στην προσπάθειά μας να προσδιορίσουμε αναμφίβολα όσο τον δυνατό περισσότερα σήματα θα χρησιμοποιήσουμε την φασματοσκοπία NMR δύο διαστάσεων στους 383K. Σε αυτή την θερμοκρασία αποκαλύπτονται 22 σήματα στο μονοδιάστατο ανθρακικό φάσμα (Σχήμα 43), τα περισσότερα που μπορούν να διαχωριστούν στα 100.5MHz.

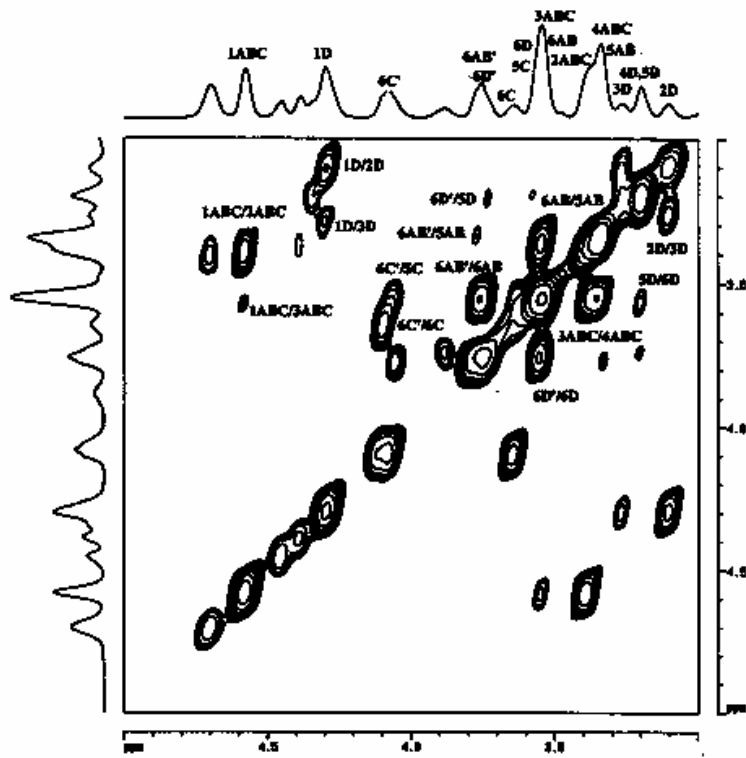
Το gCOSY φάσμα της σκληρογλυκάνης φαίνεται στο Σχήμα 44. Διαπιστώνεται ότι ακόμα και στην θερμοκρασία 383K υπάρχουν πολλές αλληλεπικαλύψεις κορυφών. Είναι γνωστό ότι τα σήματα των ανωμερικών πρωτονίων των $\beta(1\rightarrow3)$ του γλυκοζιτικού δεσμού εμφανίζονται σε χαμηλότερα πεδία από αυτά των $\beta(1\rightarrow6)$ γλυκοζιτικών δεσμών⁴⁴. Έτσι το σήμα σε δ 4.58 αντιστοιχεί στο αλληλεπικαλυπτόμενο σήμα των H-1ABC πρωτονίων των δακτυλίων A, B και C της κύριας αλυσίδας του πολυμερούς ενώ το σήμα σε δ 4.32 αντιστοιχεί στο ανωμερικό πρωτόνιο H-1D του δακτυλίου D. Τα πρωτόνια H-2D (δ 3.12) και H-3D (δ 3.28) αναγνωρίζονται αμέσως, ακολουθώντας τις εκτός διαγωνίου κορυφές στο φάσμα. Το πρωτόνιο H-3D δίνει μία κορυφή εκτός διαγωνίου σε δ 3.21 που αντιστοιχεί στα πρωτόνια H-4D και H-5D τα οποία αλληλεπικαλύπτονται. Τα σήματα σε δ 3.85 και σε δ 3.67 ανήκουν στα δύο διαστερεοτοπικά πρωτόνια H-6D και H-6D' του δακτυλίου D ακολουθώντας την σύζευξη με το πρωτόνιο H-5D. Τα σήματα των πρωτονίων H-6D και H-6D' του δακτυλίου D αλληλεπικαλύπτονται από τα σήματα των πρωτονίων των άλλων τριών δακτυλίων. Το σήμα σε δ 3.40 αντιστοιχεί στα σήματα των πρωτονίων H-2ABC, εφόσον παρουσιάζει κορυφή εκτός διαγωνίου με τα H-1ABC πρωτόνια. Ακολουθώντας τις εκτός διαγωνίου κορυφές διαπιστώνουμε ότι τα σήματα σε δ 3.67 και δ 3.78 αντιστοιχούν στα H-3ABC και στα H-4ABC, αντίστοιχα.



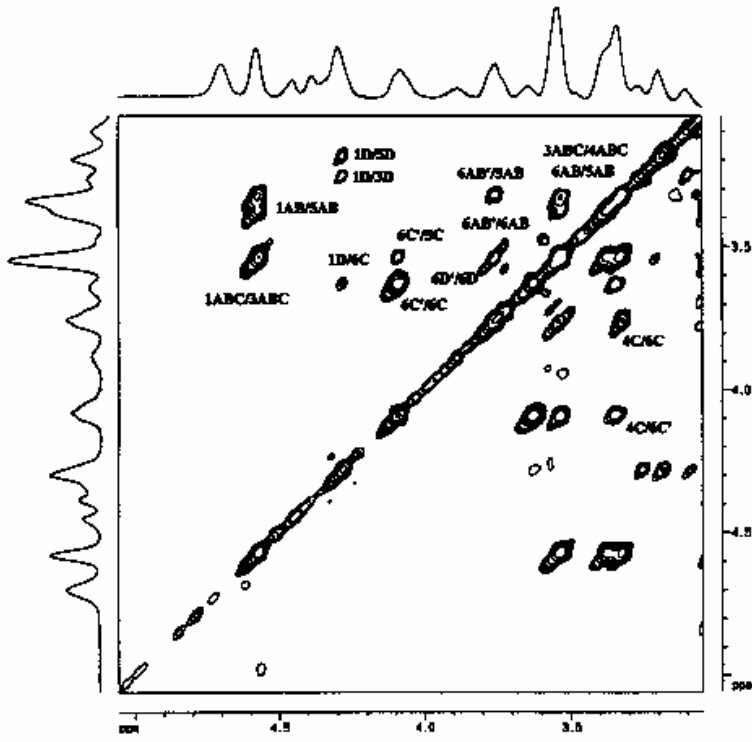
Σχήμα 43. Ανθρακικό φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C.



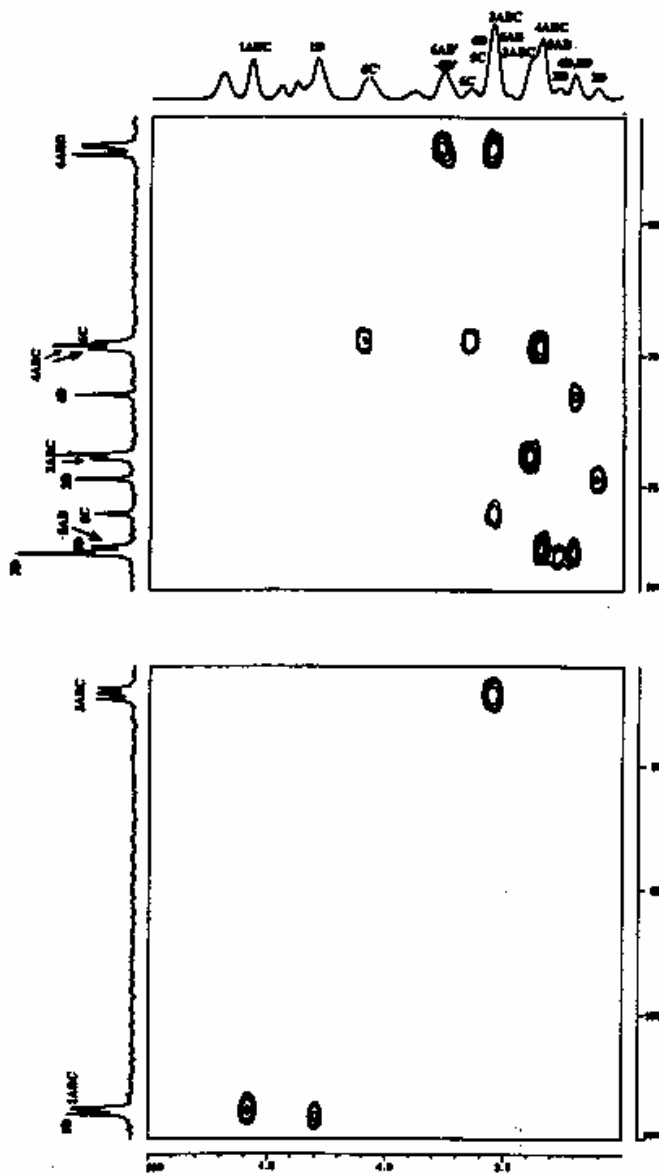
Σχήμα 44. G-COSY φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d_6 στους 120°C .



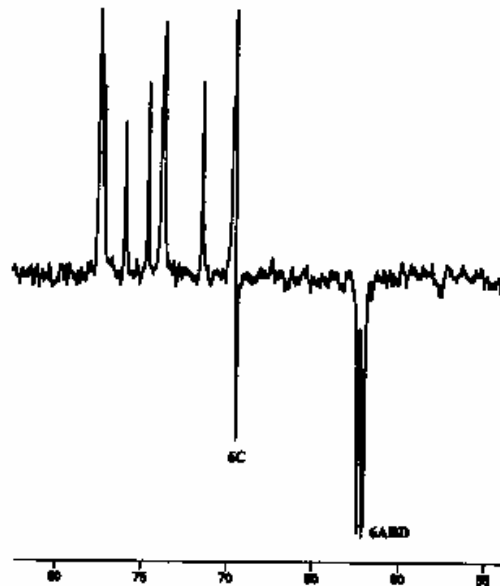
Σχήμα 45. TOCSY φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C.



Σχήμα 46. NOESY φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C.



Σχήμα 47. HMQC φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO-d₆ στους 120⁰ C.



Σχήμα 48. DEPT-135 φάσμα της σκληρογλυκάνης σε DMSO- d_6 στους 120⁰ C.

Οι παραπάνω ταυτοποιήσεις των πρωτονίων επαληθεύονται από το πείραμα TOCSY που εμφανίζεται στο Σχήμα 45. Τα σήματα που δείχνουν την σύνδεση των πρωτονίων H-1ABC με τα H-3ABC και H-1D με H-3D επιβεβαιώνουν την σωστή ταυτοποίηση των πρωτονίων H-3ABC και H-3D. Άλλα σήματα στο TOCSY αποκαλύπτουν τα σήματα των πρωτονίων H-5AB (δ 3.35), H-6AB (δ 3.67) και H-6'AB (δ 3.85). Επίσης σε αυτό το φάσμα γίνεται και η ταυτοποίηση των κορυφών σε δ 4.09 και δ 3.63, που αντιστοιχούν στα H-6C και H-6'C πρωτόνια, αφού το δεύτερο πρωτόνιο (H-6C') εμφανίζει διασταυρούμενη κορυφή με το H-5C πρωτόνιο.

Στο φάσμα NOESY που παρουσιάζεται στο Σχήμα 46 εμφανίζονται σήματα που επιβεβαιώνουν τις προηγούμενες ταυτοποιήσεις, όπως H-1D-H-3D, H-1D-H-5D, H-1AB-H-5AB, H-4C-H-6C, H-4C-H-6'C και H-5C-H-6'C. Σε ένα φάσμα NOESY εκτός από τις συζεύξεις μεταξύ πρωτονίων του ίδιου δακτυλίου αποκαλύπτονται και οι συζεύξεις μεταξύ πρωτονίων γειτονικών δακτυλίων. Έτσι λοιπόν στο φάσμα NOESY φαίνεται καθαρά η σύζευξη μεταξύ του πρωτονίου H-1D και του πρωτονίου H-6C.

Στον πίνακα XI αναγράφονται οι χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων στο πρωτονιακό φάσμα.

ΠΙΝΑΚΑΣ XI. Χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων της σκληρογλυκάνης στο φάσμα $^1\text{H-NMR}$.

ppm	πρωτόνια
4.58	1ABC
4.32	1D
4.09	6'C
3.85	4AB,6'D,6'AB
3.63	6C
3.67	3ABC,6D,5C,6AB
3.40	2ABC
3.35	4C,5AB
3.28	3D
3.21	4D,5D
3.12	2D

ΠΙΝΑΚΑΣ XII. Χημικές μετατοπίσεις των ατόμων άνθρακα της σκληρογλυκάνης στο φάσμα $^{13}\text{C-NMR}$.

ppm	άνθρακες
103.0	1ABCD
86.5-87.0	3ABC
77.2	5D
77.0	3D
76.9	5AB
75.6	5C
74.0	2D
73.0	2ABC
71.0	4D
69.3	4ABC
69.1	6C
61.6-62	6AB,6D

Για την ταυτοποίηση του φάσματος ^{13}C της σκληρογλυκάνης χρησιμοποιήθηκε το πείραμα HMQC που ανιχνεύει συζεύξεις μεταξύ άνθρακα και πρωτονίων που συνδέονται με ένα δεσμό. Το φάσμα HMQC απεικονίζεται στο Σχήμα 47. Ο χρόνος αναμονής (delay time) του πειράματος ήταν $\tau=3.52\text{s}$ ο οποίος αντιστοιχεί σε σταθερά σύζευξης $^1J_{\text{C,H}}=142\text{ Hz}$. Δυστυχώς λόγω της αλληλεπικάλυψης των πρωτονιακών σημάτων, αρκετά σήματα πυρήνων ^{13}C δεν μπόρεσαν να ταυτοποιηθούν. Όπως φαίνεται και από τον πίνακα XII οι άνθρακες C-1D έως C-5D του δακτυλίου D όπως επίσης και οι άνθρακες C-5C και C-6C του δακτυλίου C ταυτοποιήθηκαν πλήρως. Η ταυτοποίηση του άνθρακα C-6C, πιστοποιήθηκε επιπλέον με το πείραμα DEPT-135, το οποίο διακρίνει τα σήματα των ανθράκων CH και CH₂ σε ένα φάσμα. Η γωνία παλμού στην παλμική ακολουθία του πειράματος ήταν 135° , η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αντιστροφή των σημάτων των ανθράκων που είναι απευθείας συνδεδεμένοι με δύο πρωτόνια, αφήνοντας τους υπόλοιπους άνθρακες στην σωστή θέση. Το πείραμα DEPT-135 φαίνεται στο Σχήμα 48. Επίσης στο ίδιο πείραμα τα τρία σήματα στα υψηλότερα πεδία ανήκουν στους υδροξυμεθυλικούς άνθρακες των δακτυλίων A, B και D.

3.2.2 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΥΝΑΜΙΚΗΣ ΤΗΣ ΣΚΛΗΡΟΓΛΥΚΑΝΗΣ ΣΕ ΔΙΑΛΥΤΗ DMSO-d₆.

3.2.2.1 ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Παρά το γεγονός ότι οι χρόνοι αποδιέγερσης NT₁ και NOE μετρήθηκαν για όλους τους άνθρακες του φάσματος συναρτήσει της θερμοκρασίας και του μαγνητικού πεδίου, χρησιμοποιούμε όλα τα δεδομένα για δύο κυρίως λόγους. Πρώτον γιατί όπως είδαμε η ανάλυση του ανθρακικού φάσματος δεν είναι πλήρης και δεύτερον γιατί οι χημικές μετατοπίσεις των ατόμων άνθρακα της σκληρογλυκάνης επηρεάζονται σημαντικά από την θερμοκρασία. Έτσι λιγότερες κορυφές αναλύονται στις χαμηλές θερμοκρασίες παρά στις υψηλές θερμοκρασίες ακόμα και στα 125.7MHz. Για παράδειγμα, 15 σήματα αναλύονται στους 303 K και 313 K, 16 στους 333 K, 18 στους 353 K, 20 στους 373 K και 22 στα 393 K στα 125.7MHz. Επιπλέον, η διακριτική ικανότητα βρέθηκε να εξαρτάται από την ένταση του μαγνητικού πεδίου.

Για να ξεκινήσουμε την μελέτη της δυναμικής της σκληρογλυκάνης είναι απαραίτητες οι τιμές των NT₁ και NOE τουλάχιστον ενός ενδοκυκλικού ατόμου άνθρακα σε κάθε δακτύλιο. Θα χρησιμοποιήσουμε τις τιμές του άνθρακα C5C του δακτυλίου C σε δ 75.87 και των αναλυόμενων κορυφών των ανθράκων του δακτυλίου D. Για τους δακτυλίους A και B, θα χρησιμοποιηθούν οι τιμές των δύο εκ των τριών αναλυόμενων σημάτων σε δ

87.45, δ 87.22 και δ 87.00. Αυτά τα τρία σήματα, τα οποία δείχνουν την ελάχιστη εξάρτηση από την θερμοκρασία, βρέθηκε ότι ανήκουν στους άνθρακες C-3C των δακτυλίων A, B και C. Οι τιμές των ανθράκων C-5C, C-3A, C-3B και C-3C παρουσιάζονται στον πίνακα XIII. Η συμπεριφορά των πειραματικών δεδομένων των χρόνων T_1 και NOE για τους τέσσερις άνθρακες (C-5C, C-3A, C-3B και C-3C) των δακτυλίων της κύριας αλυσίδας για διάφορες θερμοκρασίες και μαγνητικά πεδία παρουσιάζονται στα Σχήματα 48-5.

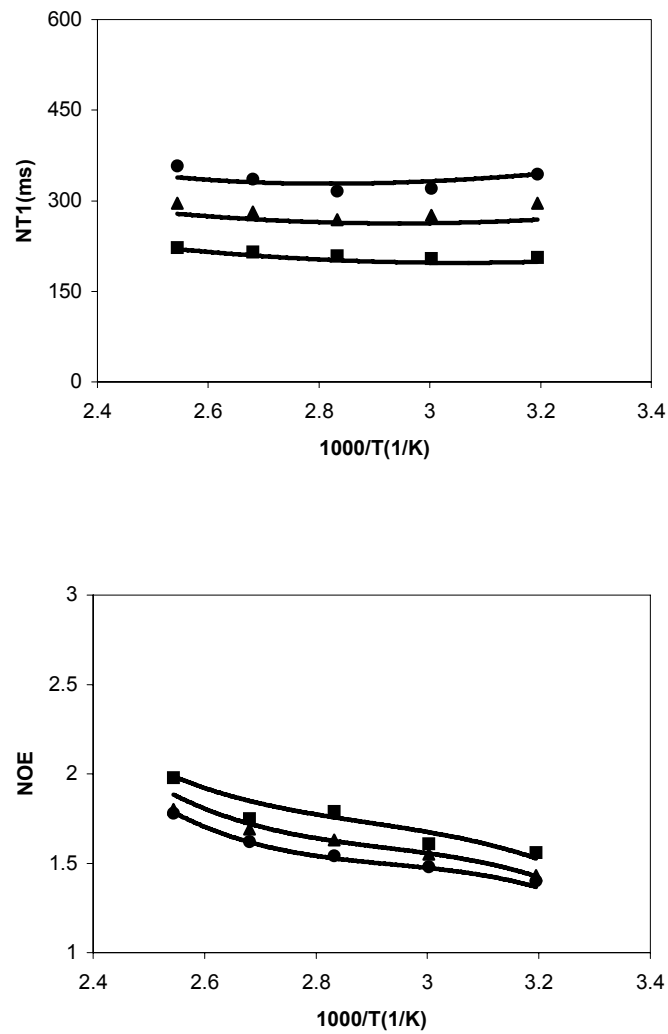
Τα πειραματικά δεδομένα στα Σχήματα 49-52 παρουσιάζουν χαρακτηριστικά που παρατηρούνται στα περισσότερα από τα πολυμερή:

- 1) Καθώς η θερμοκρασία μειώνεται, οι τιμές των NT_1 μειώνεται μονότονα, σε όλα τα πεδία, πλησιάζοντας ένα ελάχιστο, και στην συνέχεια με την παραπέρα μείωση της θερμοκρασίας οι τιμές των NT_1 αυξάνονται. Αυτό δείχνει ότι η τοπική κίνηση αυτών των δακτυλίων βρίσκεται στην περιοχή των αργών κινήσεων.
- 2) Το ελάχιστο μετατοπίζεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες καθώς το μαγνητικό πεδίο αυξάνεται.
- 3) Σε μία συγκεκριμένη θερμοκρασία, οι τιμές των NT_1 αυξάνονται καθώς αυξάνεται η ένταση του μαγνητικού πεδίου.
- 4) Οι τιμές των NOE μειώνονται καθώς αυξάνεται η τιμή του μαγνητικού πεδίου, ωστόσο συγκλίνουν καθώς η θερμοκρασία μειώνεται πλησιάζοντας την περιοχή των αργών κινήσεων.
- 5) Σε υψηλές θερμοκρασίες, όπου οι κινήσεις γίνονται πιο γρήγορες, οι τιμές των NOE είναι μικρότερες από την θεωρητική τιμή.

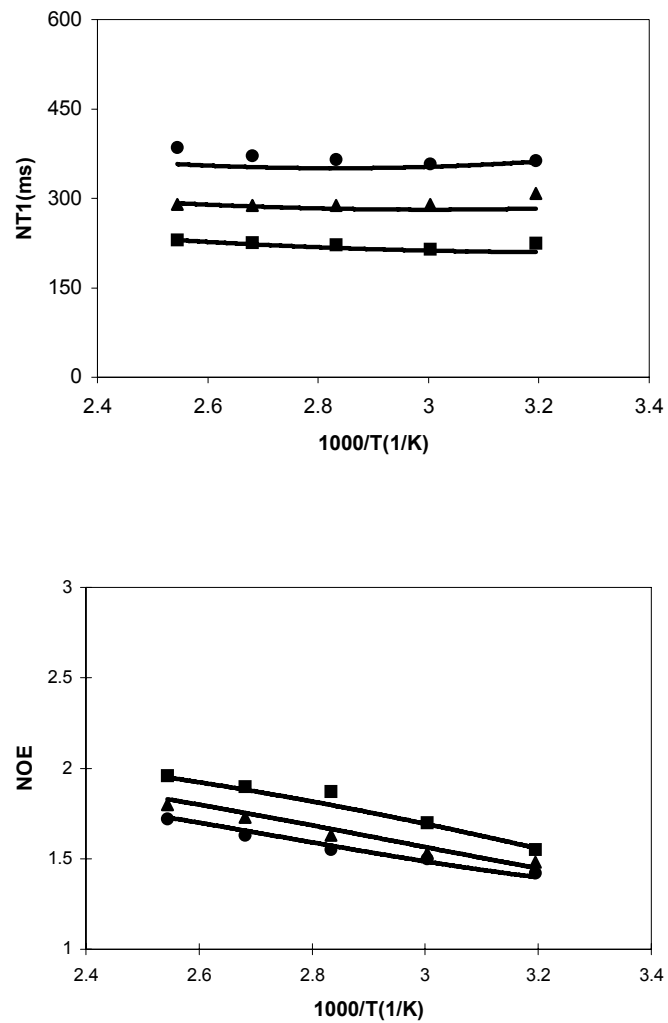
Αυτές οι πειραματικές παρατηρήσεις εμποδίζουν την πιθανότητα περιγραφής της τοπικής δυναμικής της σκληρογλυκάνης χρησιμοποιώντας μία απλή εκθετική συνάρτηση συσχέτισης.

ΠΙΝΑΚΑΣ XIII. Παράμετροι αποδιέγερσης NT₁ και NOE των ανθράκων C-5C, C-3A, C-3B και C-3C της σκληρογλυκάνης.

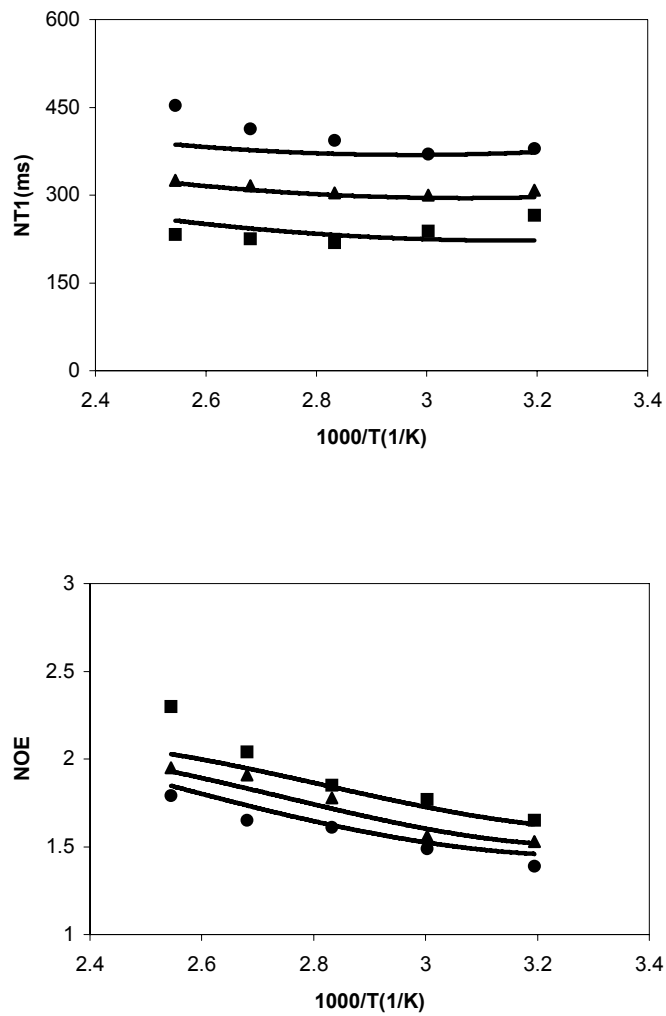
t(°C)	C-5C		C-3A		C-3B		C-3C	
	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE
	300MHz							
40	206	1.56	265	1.65	240	1.59	225	1.55
60	204	1.61	238	1.77	226	1.70	215	1.70
80	209	1.79	219	1.85	205	1.93	222	1.87
100	215	1.75	225	2.04	211	1.87	226	1.90
120	222	1.98	233	2.30	233	1.95	230	1.96
	400MHz							
40	296	1.43	308	1.53	296	1.51	308	1.48
60	276	1.55	300	1.56	290	1.56	290	1.53
80	269	1.63	304	1.78	277	1.76	288	1.63
100	281	1.69	316	1.91	276	1.80	288	1.73
120	296	1.80	325	1.95	292	1.87	290	1.80
	500MHz							
40	344	1.40	379	1.39	365	1.50	363	1.42
60	320	1.48	370	1.49	373	1.48	358	1.50
80	316	1.54	393	1.61	371	1.63	365	1.55
100	336	1.62	413	1.65	380	1.75	372	1.63
120	358	1.78	453	1.79	404	1.80	385	1.72



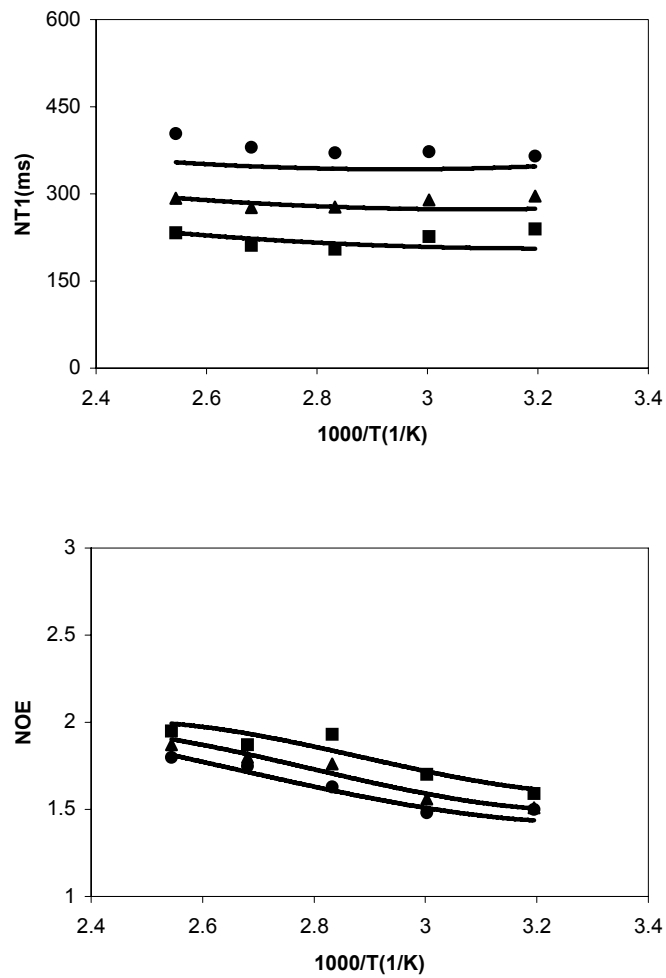
Σχήμα 49. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το άτομο άνθρακα $C-5C$ του δακτυλίου C της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα $DMSO-d_6$ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (●), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (■). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



Σχήμα 50. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το άτομο άνθρακα σε δ 86.59 της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα $DMSO-d_6$ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (●), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (■). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



Σχήμα 51. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το άτομο άνθρακα σε δ 86.81 της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα $DMSO-d_6$ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (●), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (■). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.



Σχήμα 52. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το άτομο άνθρακα σε δ 87.0 της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (\odot), 100.5 MHz (\blacktriangle) και 125.6 MHz (\blacksquare). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.

Όσον αφορά τις ενδομοριακές περιστροφές των πλευρικών ομάδων υπάρχουν δύο είδη ενδομοριακών περιστροφών στην σκληρογλυκάνη. Η απλή ενδοπεριστροφή των

ελεύθερων υδροξυμεθυλικών ομάδων της κύριας αλυσίδας των δακτυλίων A και B γύρω από τον εξωκυκλικό δεσμό C-5-C-6 και η πολλαπλή ενδοπεριστροφή που περιλαμβάνει τις υδροξυμεθυλικές ομάδες των δακτυλίων C και D, όπως επίσης και τον ίδιο τον δακτύλιο D. Ωστόσο για να περιγράψουμε ποσοτικά τις ενδομοριακές περιστροφές στο μόριο της σκληρογλυκάνης, πρέπει πρώτα να γνωρίζουμε σε ποια σήματα του ανθρακικού φάσματος αντιστοιχούν οι άνθρακες των υδροξυμεθυλικών ομάδων. Το σήμα του άνθρακα C-6C έχει ήδη ταυτοποιηθεί από το δισδιάστατο πείραμα HMQC και το μονοδιάστατο πείραμα DEPT-135 στους 383K. Στην περιοχή των σημάτων που εμφανίζονται οι άνθρακες των ελεύθερων υδροξυμεθυλικών ομάδων, το σήμα σε δ 62.22 παρουσιάζει το μεγαλύτερο χρόνο αποδιέγερσης σε όλες τις θερμοκρασίες σε σχέση με τα άλλα δύο. Το σήμα αντιστοιχεί στον άνθρακα C-6D. Αυτός ο άνθρακας ανήκει στον D δακτύλιο, την πλευρική ομάδα της σκληρογλυκάνης και επειδή αποδιεγείρεται μέσω πολλαπλών ενδοπεριστροφικών μηχανισμών είναι πιο ευέλικτος από τις άλλες ελεύθερες υδροξυμεθυλικές ομάδες³⁵. Έτσι τα σήματα σε δ 62.00 και δ 61.88 ανήκουν στους ελεύθερους υδροξυμεθυλικούς άνθρακες των δακτυλίων A και B. Ωστόσο όπως φαίνεται από τον πίνακα IV αυτά τα σήματα είναι δύσκολο να διαχωριστούν με βάση τις παραμέτρους αποδιέγερσης, εφόσον οι τιμές των NT₁ και NOE και των δύο ανθράκων είναι παρόμοιες με απόκλιση 5-10%. Η ομοιότητα των παραμέτρων αποδιέγερσης φανερώνει ότι οι ενδοπεριστροφικοί μηχανισμοί των ανθράκων των υδροξυμεθυλικών ομάδων είναι παρόμοιοι. Έτσι, στην παρούσα ανάλυση θα χρησιμοποιηθεί η μέση τιμή των παραμέτρων αποδιέγερσης των δύο ανθράκων. Στον πίνακα δεν περιλαμβάνονται οι παράμετροι αποδιέγερσης του άνθρακα C-6C επειδή το σήμα του δε διαχωρίζεται σε όλη την περιοχή των θερμοκρασιών όπου έγιναν οι μετρήσεις. Για τον ίδιο λόγο, η μέση τιμή των παραμέτρων αποδιέγερσης για κάθε θερμοκρασία θα χρησιμοποιηθεί και στην περίπτωση του δακτυλίου D. Οι παράμετροι αποδιέγερσης των ενδοκυκλικών ανθράκων του δακτυλίου D συναρτήσει της θερμοκρασίας και του μαγνητικού πεδίου συνοψίζονται στον πίνακα XV. Πράγματι όλοι οι ενδοκυκλικοί άνθρακες του δακτυλίου D παρουσιάζουν τις ίδιες παραμέτρους αποδιέγερσης εντός του πειραματικού σφάλματος. Στον πίνακα XV δεν περιλαμβάνονται οι παράμετροι αποδιέγερσης του άνθρακα C-1D επειδή το αντίστοιχο σήμα στο φάσμα άνθρακα δεν διαχωρίζεται σε όλη την περιοχή των θερμοκρασιών.

ΠΙΝΑΚΑΣ XIV. Παράμετροι αποδιέγερσης NT₁ και NOE των υδροξυμεθυλικών ανθράκων της σκληρογλυκάνης συναρτήσει της θερμοκρασίας και των μαγνητικών πεδίων.

t(°C)	C-6A		C-6B		C-6D	
	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE
	300MHz					
60	224	1.93	262	2.05	356	2.05
80	302	2.05	318	2.06	428	2.22
100	346	2.15	358	2.16	564	2.30
120	420	2.22	430	2.24	760	2.38
	400MHz					
60	336	1.83	350	1.82	384	2.00
80	378	2.00	387	1.90	490	2.18
100	418	2.02	420	2.07	606	2.24
120	466	2.16	470	2.23	822	2.31
	500MHz					
60	376	1.67	364	1.77	410	1.79
80	464	1.84	458	1.77	544	2.14
100	516	1.90	560	1.95	764	2.22
120	592	2.07	598	2.15	944	2.30

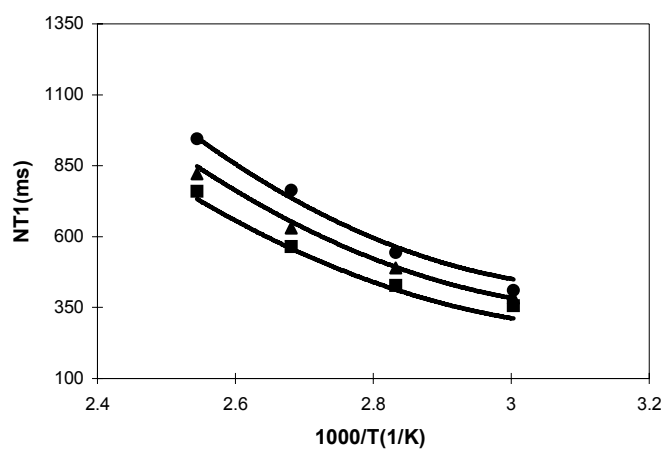
Στα Σχήματα 53-55 παρουσιάζονται οι πειραματικές τιμές και οι θεωρητικές καμπύλες των τιμών NT₁ και NOE για τους άνθρακες C-6D, C-6A, C-6B και των τεσσάρων ενδοκυκλικών ανθράκων του δακτυλίου D. Όπως φαίνεται από τα σχήματα, για όλους τους άνθρακες των πλευρικών ομάδων οι τιμές των NT₁ αυξάνονται μονότονα καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία. Αυτό δείχνει ότι η κίνηση αυτών των ανθράκων βρίσκεται στην περιοχή των γρήγορων κινήσεων και για τα τρία μαγνητικά πεδία. Σε μία συγκεκριμένη θερμοκρασία και μαγνητικό πεδίο, οι χρόνοι αποδιέγερσης των ανθράκων 6A και 6B είναι μεγαλύτεροι από τους χρόνους αποδιέγερσης των ενδοκυκλικών ανθράκων των δακτυλίων A και B. Αυτή η παρατήρηση αντανάκλα την αυξημένη ευελιξία των υδροξυμεθυλικών ομάδων που οφείλεται στην ενδοπεριστροφική κίνηση γύρω από τον δεσμό C-5-C-6.

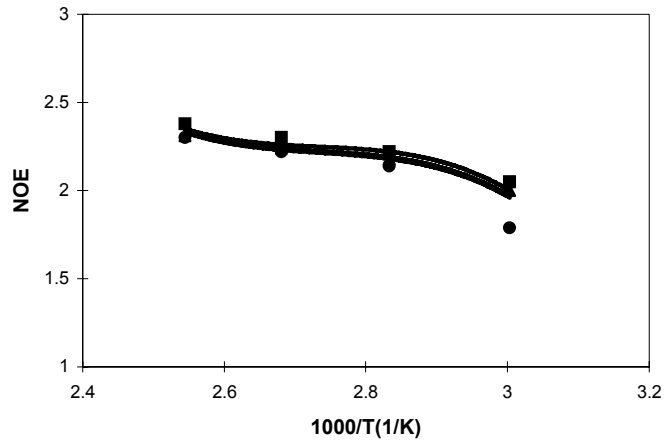
Οι χρόνοι αποδιέγερσης των ατόμων άνθρακα που ανήκουν στον πλευρικό δακτύλιο D είναι μεγαλύτεροι από τους χρόνους αποδιέγερσης των ατόμων άνθρακα 3C ή 5C του C δακτυλίου στο σημείο διακλάδωσης, και αυξάνεται καθώς πηγαίνουμε από τους ενδοκυκλικούς άνθρακες στον άνθρακα 6D. Αυτή η παρατήρηση, η οποία παρουσιάζεται περισσότερο στις υψηλές θερμοκρασίες, είναι φυσιολογική αφού όπως έχει ήδη αναφερθεί αποδιεγείρονται μέσω πολλαπλών ενδοπεριστροφικών μηχανισμών.

ΠΙΝΑΚΑΣ XV. Παράμετροι αποδιέγερσης NT₁ και NOE των πέντε ενδοκυκλικών ανθράκων του δακτυλίου D της σκληρογλυκάνης συναρτήσει της θερμοκρασίας και των μαγνητικών πεδίων.

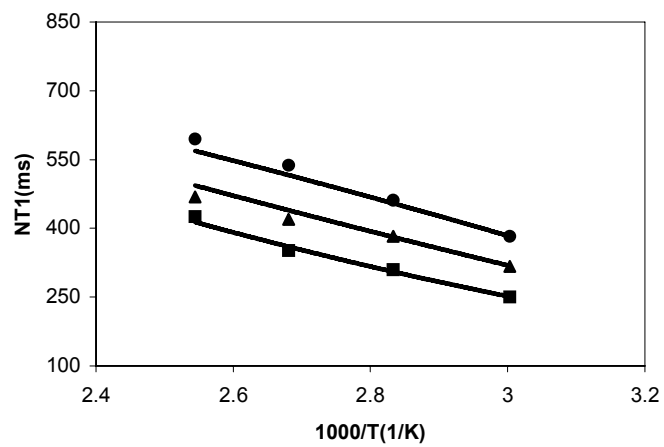
	C-2D	C-3D	C-4D	C-5D
--	------	------	------	------

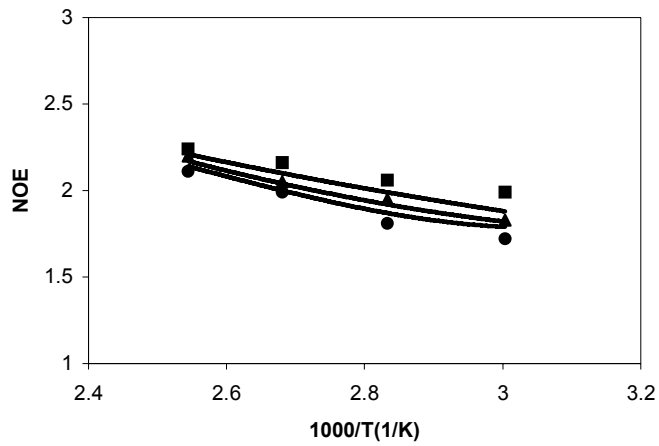
t(°C)	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE	NT ₁	NOE
	300MHz							
40	259	1.81	260	1.75	263	1.70	264	1.74
60	258	1.91	266	1.85	286	1.93	285	1.83
80	293	2.03	282	1.88	306	2.00	304	1.96
100	358	2.23	343	2.24	388	2.31	374	2.35
120	415	2.50	431	2.47	424	2.39	451	2.43
	400MHz							
40	317	1.67	354	1.66	320	1.65	328	1.62
60	327	1.76	338	1.71	360	1.81	351	1.82
80	385	1.95	363	1.86	361	1.96	391	2.06
100	414	2.06	425	2.08	407	2.08	444	2.20
120	544	2.32	541	2.15	528	2.32	551	2.32
	500MHz							
40	363	1.65	393	1.62	380	1.54	361	1.65
60	390	1.70	395	1.74	390	1.74	385	1.74
80	450	1.86	450	1.84	458	1.86	431	2.00
100	535	2.00	524	1.95	508	2.11	543	2.06
120	644	2.11	655	2.05	675	2.20	650	2.22



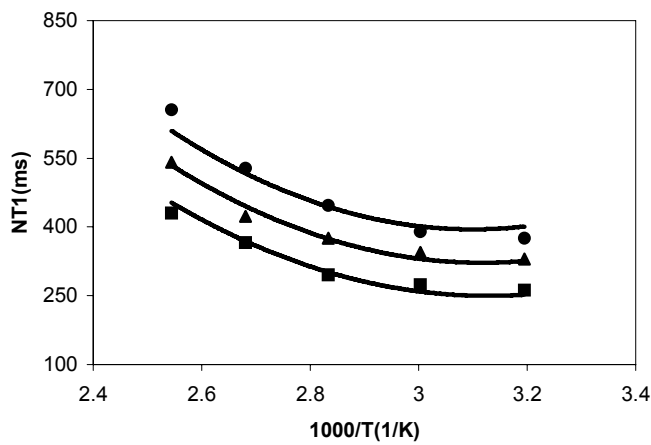


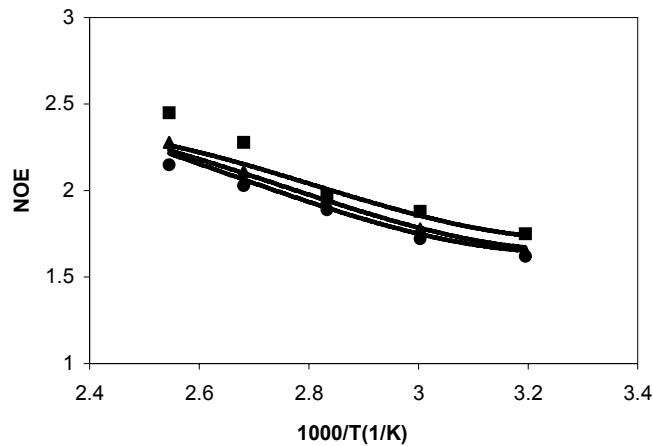
Σχήμα 53. Πειραματικές (σύμβολα) και θεωρητικές (καμπύλες) τιμές των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για το άτομο άνθρακα $C-6D$ του δακτυλίου D της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα $DMSO-d_6$ ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (●), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (■). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.





Σχήμα 54. Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για τα άτομα άνθρακα C-6A του δακτυλίου A και 6B του δακτυλίου B της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (●), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (■). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.





Σχήμα 55. Μέσοι όροι πειραματικών (σύμβολα) και θεωρητικών (καμπύλες) τιμών των παραμέτρων αποδιέγερσης NT_1 και NOE για όλα τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου D της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO- d_6 ως συνάρτηση του αντιστρόφου της θερμοκρασίας για μαγνητικά πεδία έντασης 75.4 MHz (●), 100.5 MHz (▲) και 125.6 MHz (□). Οι θεωρητικές τιμές ελήφθησαν με την εφαρμογή του μοντέλου DLM.

3.2.2.2 ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

(α) ΣΥΝΟΛΙΚΗ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ

Η ταχύτητα της συνολικής περιστροφικής κίνησης της σκληρογλυκάνης υπολογίζεται από την εξίσωση (35). Μετά την αντικατάσταση των $M_w = 157.000$ g/mol, $[\eta]=3.15$ dl /dg και $\eta_0 = 1.808$ cP στους 30° C έχουμε $\tau_R=2.35 \times 10^{-5}$ s.

Η μεγάλη τιμή του τ_R , υποδηλώνει ότι η συνολική περιστροφική κίνηση της αλυσίδας να είναι πολύ αργή. Επομένως η συνεισφορά της συνολικής κίνησης στην αποδιέγερση της σκληρογλυκάνης μπορεί να αγνοηθεί με ασφάλεια στην ποσοτική ανάλυση των παραμέτρων αποδιέγερσης.

(β) ΤΜΗΜΑΤΙΚΗ ΚΙΝΗΣΗ ΤΗΣ ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΙΚΗΣ ΑΛΥΣΙΔΑΣ

Στον πίνακα XVI παρουσιάζονται οι παράγοντες προσομοίωσης για τους άνθρακες C-5C, C-3C, C-3A και C-3B της σκληρογλυκάνης χρησιμοποιώντας το μοντέλο DLM.

ΠΙΝΑΚΑΣ XVI. Παράμετροι του μοντέλου DLM για την περιγραφή της δυναμικής της κύριας αλυσίδας της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO-d₆.

	C-5C	C-3C	C-3A	C-3B
$t_i(^{\circ}\text{C})$	$\tau_i(\times 10^{-9})$	$\tau_i(\times 10^{-9})$	$\tau_i(\times 10^{-9})$	$\tau_i(\times 10^{-9})$
40	1.55	1.47	1.27	1.28
60	1.13	1.09	1.07	1.03
80	0.87	0.83	0.72	0.77
100	0.78	0.72	0.65	0.61
120	0.51	0.56	0.49	0.46
τ_0/τ_1	20	20	20	20
θ	24.4	27.1	29.4	26.3
τ_1/τ_2	100	100	75	75
$E_a(\text{kJ/mol})$	13.2	11.6	12.8	12.3
r	0.98	0.99	0.99	0.99

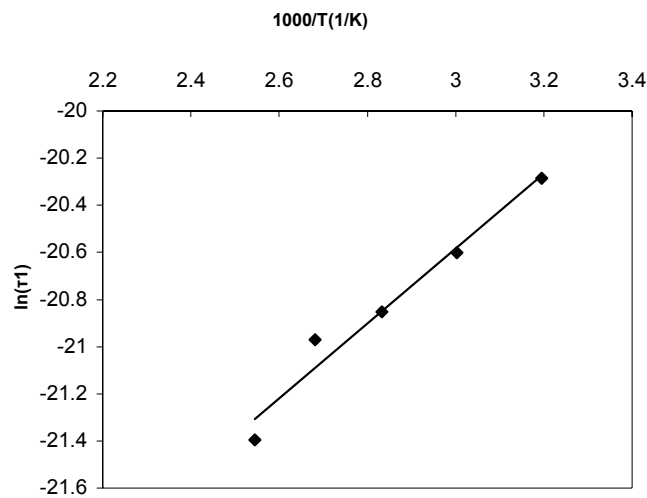
Συγκρίνοντας τις παραμέτρους του πίνακα XVI οδηγούμαστε στα παρακάτω συμπεράσματα:

- 1) Οι τιμές των χρόνων συσχέτισης τ_1 του άνθρακα C-5C είναι παρόμοιες με αυτές του άνθρακα σε δ 87.45 σε όλες τις θερμοκρασίες. Αυτή η ομοιότητα φανερώνει ότι το σήμα σε δ 87.45 πρέπει να ανήκει στον άνθρακα C-3C.
- 2) Οι τιμές των χρόνων συσχέτισης τ_1 του άνθρακα C-5C (και του C-3C) είναι μεγαλύτερες από τις τιμές των παραμέτρων τ_1 των ανθράκων που αντιστοιχούν σε δ 87.22 και δ 87.00 σε όλες τις θερμοκρασίες. Αυτή η παρατήρηση φανερώνει ότι η τμηματική κίνηση του δακτυλίου C είναι πιο αργή σε σχέση με τους άλλους δύο δακτυλίους της κύριας αλυσίδας, γεγονός που δείχνει την μικρότερη ευελιξία της αλυσίδας της σκληρογλυκάνης στο σημείο διακλάδωσης.
- 3) Οι τιμές των χρόνων συσχέτισης τ_1 των ανθράκων σε δ 87.22 και δ 87.00 δεν διαφέρουν σημαντικά. Αυτή η παρατήρηση δηλώνει ότι οι δακτύλιοι A και B χαρακτηρίζονται από την ίδια ευελιξία. Οι δακτύλιοι A και B βρίσκονται μεταξύ δύο σημείων διακλάδωσης της αλυσίδας και αναμένεται να παρουσιάζουν της ίδια ευελιξία.

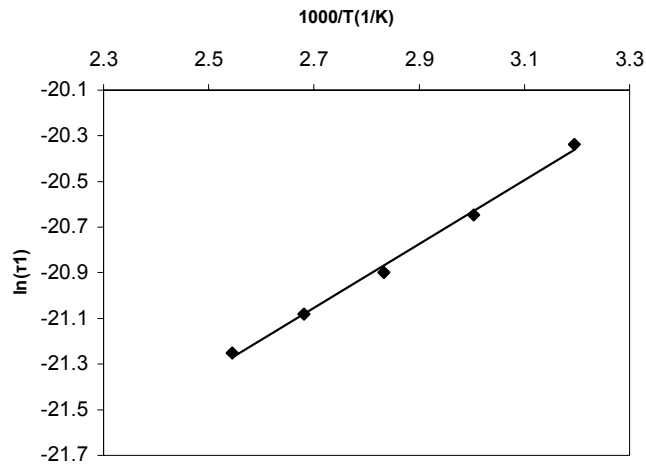
Τα διαγράμματα των λογαρίθμων των τιμών τ_1 συναρτήσει του αντιστρόφου της θερμοκρασίας δείχνουν γραμμική σχέση, με ενέργειες ενεργοποίησης E_a (σε kJ/mol), των οποίων οι τιμές συνοψίζονται στον πίνακα VI.

Τα διαγράμματα Arrhenius απεικονίζονται στα Σχήματα 56-59.

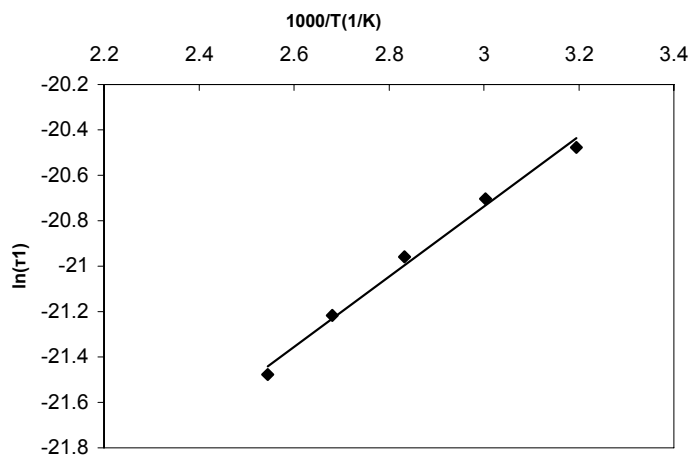
Εκτός από τους χρόνους συσχέτισης που περιγράφουν την κίνηση της κύριας αλυσίδας, σημαντικό ρόλο στην ερμηνεία της τοπικής δυναμικής των πολυσακχαριτών παίζει και η γωνία θ των ταλαντωτικών κινήσεων, η οποία περιγράφει την στερική παρεμπόδιση που ασκείται στην ταλαντωτική κίνηση του δεσμού C-H. Έτσι όσο μεγαλύτερη είναι η στερική παρεμπόδιση τόσο μικρότερη θα είναι και η γωνία θ . Οι τιμές της γωνίας θ των αντισμάτων C-H των ανθράκων C-3A, C-3B και C-3C δεν διαφέρουν και πολύ μεταξύ τους, φανερώνοντας την ίδια τοπική δυναμική για τους τρεις αυτές θέσεις των ανθράκων. Ωστόσο η υπολογιζόμενη γωνία θ για τον άνθρακα C-5C είναι μικρότερη από την υπολογιζόμενη γωνία θ του άνθρακα C-3C στον ίδιο δακτύλιο. Αυτή η διαφορά της γωνίας θ αντανακλά το διαφορετικό μέγεθος της στερικής παρεμπόδισης της ταλαντωτικής κίνησης στις θέσεις C-3C και C-5C της σκληρογλυκάνης. Μία εξήγηση για αυτή την διαφορά είναι η παρουσία της υδροξυμεθυλικής ομάδας, η οποία παρεμποδίζει την ταλαντωτική κίνηση του ανύσματος C-5-H-5.



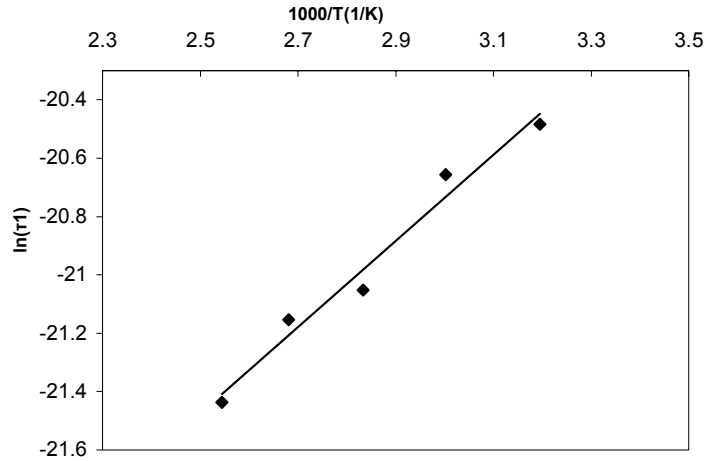
Σχήμα 56. Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική του άνθρακα C-5C της σκληρογλυκάνης.



Σχήμα 57. Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική του άνθρακα C-3C της σκληρογλυκάνης.



Σχήμα 58. Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική του άνθρακα C-3A(ή C-3B) της σκληρογλυκάνης.



Σχήμα 59. Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου DLM για την δυναμική του άνθρακα C-3B(ή C-3A) της σκληρογλυκάνης.

(γ) ΕΝΔΟΜΟΡΙΑΚΕΣ ΠΕΡΙΣΤΡΟΦΕΣ ΠΛΕΥΡΙΚΩΝ ΟΜΑΔΩΝ

Για την ποσοτική περιγραφή των ενδοπεριστροφικών κινήσεων των ελεύθερων υδροξυμεθυλικών ομάδων χρησιμοποιήθηκαν τα μοντέλα αλμάτων και περιστροφικής διάχυσης. Μόνο το μοντέλο της περιστροφικής διάχυσης αναπαρήγαγε ικανοποιητικά τα πειραματικά δεδομένα των NT_1 και NOE των υδροξυμεθυλικών ατόμων άνθρακα της σκληρογλυκάνης δίνοντας ταυτόχρονα ρεαλιστικές τιμές των χρόνων συσχέτισης, οι οποίοι ακολουθούν και την συμπεριφορά Arrhenious.

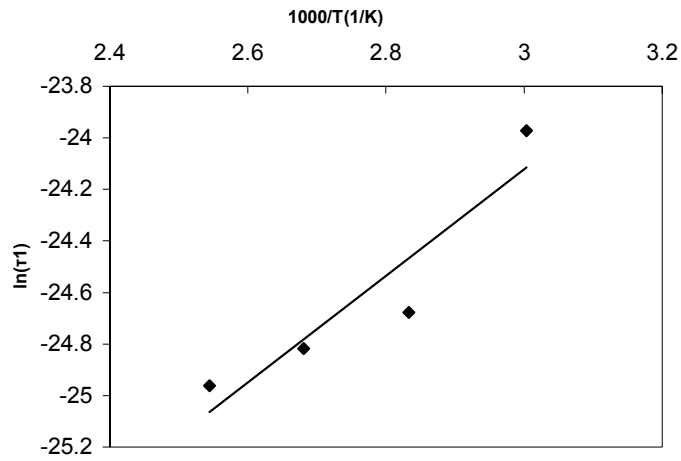
Το Σχήμα 53 συγκρίνουν τις πειραματικές τιμές με τις θεωρητικές καμπύλες των παραμέτρων NT_1 και NOE των ατόμων άνθρακα C-6A και C-6B. Η συμφωνία μεταξύ θεωρητικών και πειραματικών τιμών είναι πολύ καλή. Στον πίνακα XVI συνοψίζονται οι παράμετροι του μοντέλου της διάχυσης. Οι συντελεστές διάχυσης D_i (AB) των A και B υδροξυμεθυλικών ομάδων είναι περίπου δύο τάξεις μεγέθους μεγαλύτερες από τους χρόνους συσχέτισης τ_1 των τμηματικών κινήσεων των δακτυλίων A και B. Τα διαγράμματα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης D_i (AB) έδωσαν ενέργεια ενεργοποίησης 17kJ/mol. (Σχήμα 60) Το πλάτος της γωνίας περιστροφής, 2χ , είναι της τάξης των 100° - 140° στους 60° C.

Ως άξονας περιστροφής του πλευρικού δακτυλίου D θεωρήθηκε ο άξονας περιστροφής C-5C-C-1D. Η επιλογή αυτού του άξονα έγινε εφόσον τιμές αποδιέγερσης για τον άνθρακα C-6C δεν υπάρχουν σε όλες τις θερμοκρασίες και επιπλέον δεν έχουν μετρηθεί τιμές αποδιέγερσης για το οξυγόνο. Έτσι θεωρήσαμε έναν άξονα περιστροφής τον C-5C-C-1D, ο οποίος αντικατέστησε τους τρεις δεσμούς περιστροφής (C-5C-C-6C, C-6C-O και O-C-1D).

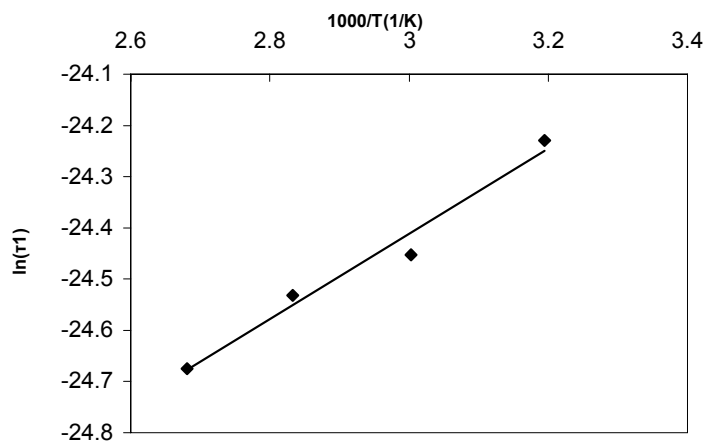
Οι γωνίες μεταξύ του άξονα περιστροφής C-5C-C-1D και των πέντε ενδοκυκλικών C-H δεσμών του δακτυλίου D υπολογίστηκαν από το πρόγραμμα POLYS. Αυτές είναι 122.6° για το άνυσμα C-1-H-1, 122.5° για το άνυσμα C-2-H-2, 125.7° για το άνυσμα C-3-H-3, 118.0° για το άνυσμα C-4-H-4 και 119.6° για το άνυσμα C-5-H-5. Το γεγονός ότι όλοι οι δεσμοί C-H παρουσιάζουν περίπου την ίδια γωνία με τον δεσμό C-5C-C-1D, και επιπλέον οι χρόνοι αποδιέγερσης των ενδοκυκλικών ανθράκων είναι παρόμοιοι μεταξύ τους, ενισχύουν τον ισχυρισμό μας να χρησιμοποιήσουμε αυτόν τον δεσμό ως άξονα περιστροφής. Στους υπολογισμούς χρησιμοποιήθηκε η μέση τιμή των γωνιών (121.7°). Η γωνία που σχηματίζουν το άνυσμα C-6-H-6 και ο εσωτερικός άξονας C-5-H-6 του δακτυλίου D, είναι 109.5° δεδομένου ότι η τιμή της γωνίας β, είναι 76.7°. Η δεύτερη τιμή παρατηρείται από την δομή ελάχιστης ενέργειας της σκληρογλυκάνης.

ΠΙΝΑΚΑΣ XVII. Παράμετροι του μοντέλου απλής περιστροφικής διάχυσης και πολλαπλών περιστροφών για την περιγραφή της δυναμικής των πλευρικών ομάδων (υδροξυμεθυλικές ομάδες και δακτύλιος D) της σκληρογλυκάνης σε διάλυμα DMSO-d₆.

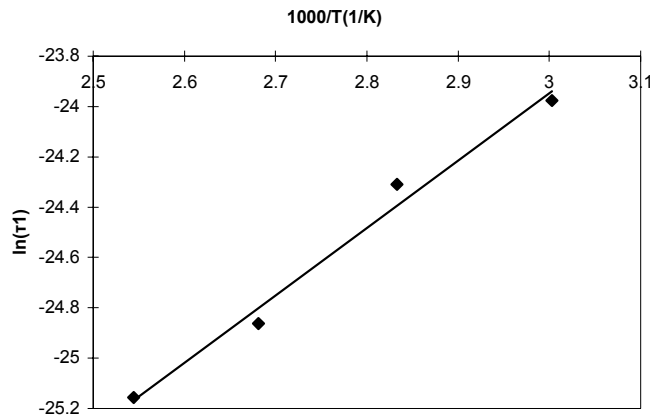
	C-6AB		D-δακτύλιος		C-6D	
t(°C)	D _i (x10 ⁹)	2χ ⁰	D _i (x10 ⁹)	2χ ⁰	D _i (x10 ⁹)	2χ ⁰
40			5.55	98		
60	4.29	102	5.78	106	4.31	117
80	8.69	114	7.51	115	6.02	138
100	9.99	128	8.67	136	10.46	148
120	11.56	140	12.35	156	14.03	170
Ea(kJ/mol)	17		18		22	
r	0.95		0.99		0.99	



Σχήμα 60. Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης για την δυναμική των ανθράκων C-6AB της σκληρογλυκάνης.



Σχήμα 61. Διάγραμμα Arrhenious των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης για την δυναμική του δακτυλίου D της σκληρογλυκάνης.



.Σχήμα 62. Διάγραμμα Arrhenius των χρόνων συσχέτισης τ_1 του μοντέλου περιστροφικής διάχυσης για την δυναμική του άνθρακα C-6D της σκληρογλυκάνης.

Τα αποτελέσματα της προσωμοίωσης των πειραματικών δεδομένων των ενδοκυκλικών ανθράκων του δακτυλίου D και του άνθρακα C-6D χρησιμοποιώντας το μοντέλο των πολλαπλών ενδοπεριστροφών συνοψίζονται στον πίνακα XVII. Αυτό το μοντέλο είναι ικανό να αναπαράγει τα πειραματικά δεδομένα των ατόμων άνθρακα των πλευρικών αλυσίδων πάνω από την θερμοκρασία των 60-70° C και στα τρία πεδία. Οι δύο παράμετροι D_i και $2\chi_i$ του μοντέλου δίνει την ταχύτητα της διάχυσης και το μέγεθος της περιστροφικής κίνησης δεσμών της πλευρικής αλυσίδας. Οι τιμές του D_i αυξάνονται με την θερμοκρασία και σε μία συγκεκριμένη θερμοκρασία η παράμετρος D_i γενικά αυξάνεται καθώς πηγαίνουμε από τον δακτύλιο στον εξωκυκλικό δεσμό C-5-C-6. Η περιστροφή της τελικής υδροξυμεθυλομάδας είναι γρηγορότερη όπως περιμέναμε.

Η σταθερά διάχυσης για κάθε περιστροφή δεσμού δείχνει μία γραμμική εξάρτηση από την θερμοκρασία. Παρόλο που υπάρχει ένα μεγάλο λάθος (~30%) στις υπολογιζόμενες ενέργειες ενεργοποίησης, αυτές οι τιμές είναι σχεδόν ίδιες κατά μήκος της πλευρικής αλυσίδας, και δεν διαφέρουν από τις ενέργειες ενεργοποίησης της περιστροφικής διάχυσης των ελεύθερων υδροξυμεθυλικών ομάδων των δακτυλίων A και B. Το μέγεθος της γωνίας $2\chi_i$ της περιστροφικής διάχυσης αυξάνεται με την θερμοκρασία. Η παρατήρηση αυτή δείχνει αυξημένη ευλιγισία της πλευρικής αλυσίδας καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία. Το

μέγεθος της γωνίας κατά μήκος της αλυσίδας, αυξάνεται από τον πρώτο στον τελικό δεσμό, όπου οι γωνιακοί περιορισμοί μετριάζονται.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) J. R. Lyerla Jr., G. C. Levy, 'Topics in C-13 NMR Spectroscopy', Vol. 1, Chap.3, A Wiley Interscience Publication (1974).
- 2) A. Abraham, 'The Principles of Nuclear Magnetism', Oxford, University Press, London, 1961.
- 3) J. R. Lyerla Jr., G. C. Levy, 'Topics in C-13 NMR Spectroscopy', Ed. G. C. Levy, 1, 79 (1976).
- 4) D. Shaw, 'Fourier Transform NMR Spectroscopy', Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1976.
- 5) A. Abraham, 'The Principles of Nuclear Magnetism', Oxford, University Press, London, 1961.
- 6) A. Carrington, A. D. McLachlan, 'Introduction to Magnetic Rsonance', Harper and Row, New York, 1967.
- 7) R. T. Boere, R. G. Kidd, *Ann. Reports in NMR Spectroscopy*, 13, 319 (1982).
- 8) D. M. Small, *Pure Appl. Sci.*, 53, 2059 (1981).
- 9) J. R. Lyerla Jr., G. C. Levy, 'Topics in C-13 NMR Spectroscopy', 1, 79-148 (1974).
- 10) R. L. Vold, J. S. Waugh, M. P. Klein and D. E. Phelps, *J. Chem. Phys.*, 48, 3831 (1968).
- 11) R. Freeman and D. Hill, *J. Chem. Phys.*, 53, 4103 (1971).
- 12) G. C. Levy and I. R. Peat, *J. Magn. Resonance*, 18, 500 (1975).
- 13) M. Sass and D. Ziessow, *J. Magn. Resonance*, 25, 263 (1977).
- 14) D. J. Craik and G. C. Levy, 'Topics in C-13 NMR Spectroscopy', Ed. G. C. Levy, 4, 293 (1984).
- 15) J. R. Lyerla Jr., G. C. Levy, 'Topics in C-13 NMR Spectroscopy', Vol. 4, Chap.9, A Wiley Interscience Publication (1974).
- 16) M. Tylianakis, A. Spyros, P. Dais, F. R. Taravel, A. Perico, *Carbohydrate Research*, 315, 16 (1999).
- 17) F. Heatley, *Progress in NMR Spectroscopy*, 13, 47 (1979).
- 18) C. K. Hall, E. Helfand, *J. Chem. Phys.*, 77, 3275 (1980).
- 19) T. A. Weber, E. Helfand, *J. Chem. Phys.*, 87, 2881 (1983).
- 20) R. Dejen de la Batie, F. Lauprete and L. Monnerie, *Macromolecules*, 21, 2045 (1988).
- 21) A. Perico, M. Guenza, *J. Chem. Phys.*, 83, 3103 (1985).
- 22) U. Buchenan, M. Monkenbusch, M. Stamm, C. F. Majkrzak, N. Nucker, Workshop on polymer motion in dense systems, Grenoble, September 23-25, 1987.
- 23) A. A. Jones, *J. Polym. Sci. Phys. Ed.*, 15, 863 (1977).
- 24) D. Wallach, *J. Chem. Phys.*, 47, 5258 (1967).
- 25) Y. K. Levine, P. Partington, G. C. K. Roberts, *Mol. Phys.*, 25, 497 (1973).
- 26) Y. K. Levine, M. J. M. Birdsall, A. G. Lee, J. C. Metcale, P. Partington, G. C. K. Roberts, *J. Chem. Phys.*, 60, 2890 (1974).
- 27) R. E. London, J. Avitabile, *J. Am. Chem. Soc.*, 99, 7765 (1977).
- 28) R. E. London, *J. Am. Chem. Soc.*, 100, 2678 (1978).
- 29) P. Dais, R. H. Marchessault, *Macromolecules*, 24(1991).
- 30) P. Dais, M. E. Nede, F. G. Morin, R. H. Marchessault, *Macromolecules*, 23, 3387 (1990).

- 31) R. J. Wittebort, A. Szabo, *J. Chem. Phys.*, 69, 1722 (1978).
- 32) D. Wallach, *J. Chem. Phys.*, 47, 5258 (1967).
- 33) D. M. Brink, G. R. Satchler, 'Angular Momentum ', 2nd Ed., Oxford University Press, Oxford, 1961.
- 34) A. Spyros, P. Dais, F. Heatley, *Macromolecules*, 27, 5845 (1991).
- 35) A. Spyros, P. Dais, F. Heatley, *Macromolecules*, 27 (1994).
- 36) T. L. Bluhm, Y. Deslandes, R. H. Marchessault, S. Perez and M. Ricardo, *Carbohydrate Research*, 100, 117 (1982).
- 37) M. Bardet, A. Rousseau and M. Vincendon, *Magn. Reson. in Chemistry*, 31, 887 (1993).
- 38) S. Bo, M. Milas and M. Rinaudo, *Int. J. Macromol.*, 9, 153 (1987).
- 39) M. L. Huggins, *J. Am. Chem. Soc.*, 64, 2716 (1942).
- 40) D. D. McIntyre, H. J. Vogel, *Starch*, 45, 406 (1993).
- 41) C. Arnosti, D. J. Repeta, *Starch*, 47, 73 (1995).
- 42) D. J. Craik, A. Kumar, G. C. Levy, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1, 30 (1983).
- 43) M. Rinaudo, M. Vincendon, *Carbohydrate Polymers*, 2, 135 (1982).
- 44) D. Gagnaire and M. Vincendon, *Bull. Soc. Chim.* 479 (1977).