

# Untersuchung von Flüssig-flüssig-Phasengrenzen mit ortsauflösender NMR-Spektroskopie

Jörg Lambert, Roland Hergenröder, Dieter Suter und Volker Deckert\*

Phänomene, die an der Grenzfläche zweier nichtmischbarer Flüssigkeiten auftreten, sind allgegenwärtig und haben einen großen Einfluss auf Prozesse des täglichen Lebens.<sup>[1]</sup> So ist die Stabilität von Emulsionen von den Wechselwirkungen der Proteine oder Tenside an der Öl-Wasser-Grenzfläche abhängig,<sup>[2]</sup> und Lösungsmittelextraktion und Phasentransferkatalyse beruhen auf der Optimierung von Reaktionen an der Grenze zwischen zwei Flüssigkeiten. Ferner ist die Flüssig-flüssig-Grenzfläche zwischen einem organischen Lösungsmittel und Wasser ein einfaches Modell für biologische Membranen. Historisch gesehen stammt das Wissen über die Strukturen<sup>[3]</sup> und Dynamiken<sup>[4]</sup> von Flüssig-flüssig-Grenzflächen hauptsächlich von Messungen der Oberflächenspannung und thermodynamischen Analysen.<sup>[1]</sup> In den letzten Jahrzehnten wurden Flüssig-flüssig-Grenzflächen zunehmend mithilfe nichtlinearer optischer Methoden untersucht.<sup>[5]</sup> Viele traditionelle Techniken, die im Allgemeinen größere Probenmengen benötigen, wurden für die Untersuchung von Grenzflächen angepasst. Die Frequenzverdopplung (second harmonic generation, SHG) und die Summenfrequenzgenerierung (sum-frequency generation, SFG) liefern beide von Natur aus oberflächenspezifische Informationen.<sup>[6]</sup> Mit der zweiten Technik, gekoppelt mit Moleküldynamiksimulationen,<sup>[7]</sup> konnten bereits die Strukturen vieler Grenzflächen bestimmt werden. Röntgenbeugung<sup>[8]</sup> und Neutronenstreuung<sup>[9]</sup> wurden ebenfalls angewendet, um Flüssig-flüssig-Grenzflächen zu untersuchen. Dabei können nützliche und sichere Informationen über die Grenzflächendicke gewonnen werden. Bei der Untersuchung von Oberflächeneffekten mithilfe der SHG werden hauptsächlich molekulare Sonden (z. B. push-pull-substituierte Moleküle) verwendet.

Obwohl die Untersuchung von Flüssig-flüssig-Grenzflächen mit Rastersondenverfahren nach wie vor eine Herausforderung ist, wurden erste Ergebnisse mithilfe der Rasterkraftmikroskopie (atomic force microscopy, AFM)<sup>[10]</sup> und der Rasterelektronenmikroskopie (scanning electron microscopy,

SEM)<sup>[11]</sup> erhalten. Experimente mit evaneszenten Feldern, die aus einer inneren Totalreflexion an der Grenzfläche zwischen einer polaren, absorbierenden und einer nichtpolaren, transparenten Phase resultieren, wurden genutzt, um die Dimension von Flüssig-flüssig-Grenzflächen zu vermessen.<sup>[12]</sup> Mithilfe der SFG<sup>[13]</sup> wurde selektiv die molekulare Struktur an Kohlenwasserstoff-Wasser-Grenzflächen untersucht, wobei sich ergab, dass die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen benachbarten Wassermolekülen im Bereich der Grenzfläche geschwächt sind, was zu einem beachtlichen Ausrichten der Wassermoleküle in der Grenzflächenregion führt.<sup>[14]</sup> Die elektrochemische Rastermikroskopie (scanning electrochemical microscopy, SECM) ermöglicht ebenfalls die lokalisierte Untersuchung von Prozessen an Flüssig-flüssig-Grenzflächen.<sup>[15]</sup>

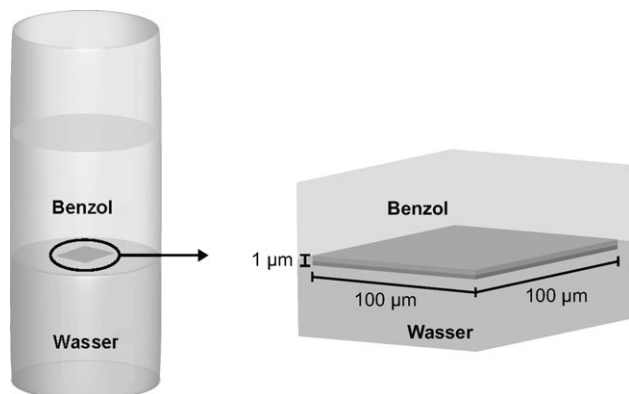
Allgemein muss für die Untersuchung von Flüssig-flüssig-Grenzflächen eine wesentliche technische Herausforderung gelöst werden: die Unterscheidung der Informationen, die in dem winzigen Bereich der Grenzfläche erhalten werden, von Informationen, die von den umgebenden Medien herrühren. Abgesehen von den oben erwähnten nichtlinearen optischen Techniken existiert nur ein Ansatz, mit dem die Informationen ohne Modifizierung der Oberfläche erhalten werden können. Eine Kombination aus Nahfeldmikroskopie und Raman-Spektroskopie<sup>[16,17]</sup> wurde verwendet, um mit hoher örtlicher Auflösung Informationen über molekulare Veränderungen zu erhalten, die mit dem Abstand zur Phasengrenze korrelieren. Bei der Bestrahlung einer Probenoberfläche mit einer Nahfeldsonde lässt sich eine hohe örtliche Auflösung erzielen, die unter dem Beugungslimit liegt. Theoretisch beträgt das axiale Auflösungsvermögen bei einem Durchmesser von 100 nm etwa 10 nm. In Kombination mit der Raman-Spektroskopie können somit hoch orts aufgelöste Informationen über die molekulare Struktur der Oberfläche erhalten werden. Der Nachteil dieser Technik ist die Verwendung einer Messsonde, die der Oberfläche sehr nah sein muss, sie aber nicht berühren darf, denn dann bildet sich ein Meniskus, und das gesamte Experiment muss wiederholt werden. Zusätzlich kann die Sondenspitze die Ergebnisse beeinflussen, da mit ihr eine weitere Komponente („Phase“) in das System eingebracht wird.

Hier präsentieren wir eine auf volumenselektiver NMR-Spektroskopie<sup>[18]</sup> basierende Technik, die keine mechanischen Störungen der Oberfläche induziert, obwohl sie ebenfalls einen hohen chemischen Kontrast liefert. Bei der volumenselektiven NMR-Spektroskopie wird die Detektion der magnetischen Resonanz auf ein Volumenelement definierter Größe und Position beschränkt. Diese Methode ist beispielsweise aus medizinischen Anwendungen bekannt. Das Volumen dieses Elements wird durch die gewünschte örtliche

[\*] Priv.-Doz. Dr. V. Deckert  
Abteilung Proteomics, ISAS – Institute for Analytical Sciences  
Bunsen-Kirchhoff-Straße 11, 44139 Dortmund (Deutschland)  
und  
IPHT – Institut für Photonische Technologien  
Albert-Einstein-Straße 9, 07745 Jena (Deutschland)  
Fax: (+49)3641-206-139  
E-Mail: volker.deckert@ipht-jena.de  
Homepage: <http://www.ipht-jena.de>  
Dr. J. Lambert, Dr. R. Hergenröder  
Abteilung Materialwissenschaften, ISAS  
Prof. Dr. D. Suter  
Lehrstuhl Experimentelle Physik 3  
Technische Universität Dortmund (Deutschland)

Auflösung, die geforderte Nachweisgrenze und die Sensitivität des NMR-Experiments bestimmt. Der entscheidende Punkt ist die Verwendung eines quaderförmigen Volumenelements, das nur eine geringe Ausdehnung senkrecht zur Grenzfläche hat und nahezu beliebig größer in den anderen beiden Raumrichtungen sein darf: Um Informationen über eine Flüssig-flüssig-Grenzfläche zu erhalten, sind nicht alle drei Raumrichtungen gleich wichtig; Fluktuationen parallel zur Grenzfläche sind auf NMR-Zeitskalen langsam und können somit vernachlässigt werden.

In Abbildung 1 ist schematisch die Geometrie des Volumenelements zu sehen, das in unseren Experimenten verwendet wurde. Die Zahl an Spins, die für ein NMR-Signal

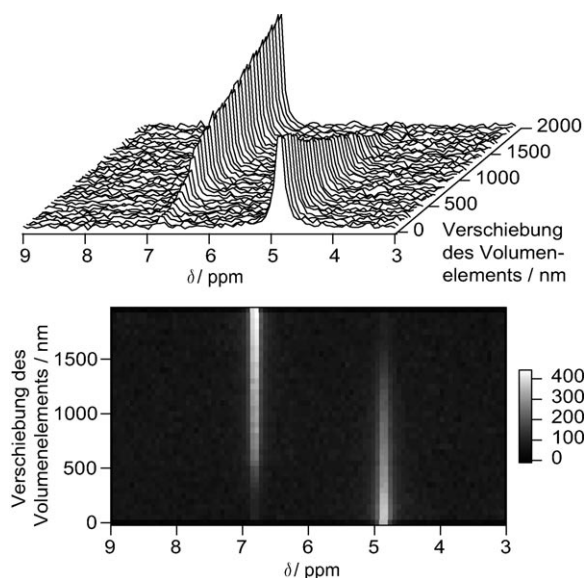


**Abbildung 1.** Das für die Ortswahl verwendete Volumenelement ist quaderförmig. Dies sichert einerseits eine ausreichende Auflösung im interessierenden Gebiet und andererseits eine genügende Zahl an Spins für ein gutes Signal-Rausch-Verhältnis.

benötigt werden, wird dadurch sichergestellt, dass das Volumenelement, dessen Ausdehnung senkrecht zur Oberfläche verringert wird, parallel zur Oberfläche vergrößert wird. Somit trägt die gleiche Zahl an Spins zum Signal bei wie im würfelförmigen Anfangsvolumenelement. Die Auflösung in der gewünschten Richtung verbessert sich also auf Kosten der Auflösung in den beiden anderen Raumrichtungen, die nicht von Interesse sind.

Das Messvolumenelement kann gewöhnlich innerhalb der flüssigen Probe zu jeder beliebigen Position verschoben werden, indem die Trägerfrequenz eines der selektiven NMR-Pulse geändert wird. Das heißt, diese Positionsänderung findet ohne die Hilfe mechanischer Elemente statt, die die Phasengrenze stören könnten. Indem man sich der Grenzfläche ausgehend von einer der beiden Phasen in (Sub)mikrometer-Schritten nähert, können Veränderungen der Struktur und der Zusammensetzung durch die Messung der chemischen Verschiebung bzw. der Signalintensitäten erfasst werden. Abbildung 2 zeigt eine pseudodreidimensionale Darstellung und ein mithilfe von Graustufen codiertes Bild einer Serie von  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren, die mithilfe der volumenselektiven NMR-Technik für das System Wasser/Benzol erhalten wurden.

Ein Volumenelement der Größe  $250 \times 250 \times 1 \mu\text{m}^3$  wurde in 50-nm-Schritten von der Benzolphase durch die Grenzfläche in die Wasserphase verschoben. Dabei wurden in rund



**Abbildung 2.** Eine Serie volumenselektiver  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren des Systems Benzol/Wasser in einer pseudodreidimensionalen Darstellung und als mithilfe von Graustufen codiertes Bild. Für Einzelheiten siehe Text und Experimentelles.

zwanzig aufeinanderfolgenden Spektren Signale von Benzol und Wasser detektiert. Dies stimmt gut mit der Höhe des Messvolumens von  $1 \mu\text{m}$  und dem Schichtinkrement von 50 nm überein, beides senkrecht zur Flüssig-flüssig-Grenzfläche gemessen. Die Dicke der Wasser-Benzol-Grenzfläche kann bei den im Experiment verwendeten Abmessungen vernachlässigt werden. Die Abmessungen des Volumenelements sind durch die Stärke des Feldgradienten im derzeitigen Versuchsaufbau in  $z$ -Richtung,  $G_z = 1 \text{ T m}^{-1}$ , limitiert. Grundsätzlich gilt jedoch, dass Feldgradienten von  $100 \text{ T m}^{-1}$  und damit eine Auflösung unter 10 nm erreicht werden können. Mögliche Einschränkungen der örtlichen Auflösung, z. B. durch thermisch angeregte Kapillarwellen verursachte Störungen an der Wasser-Benzol-Grenzfläche (Oberflächenspannung:  $35 \text{ mN m}^{-1}$ ), haben eine Größenordnung von einigen Nanometern und sind damit weit unter der Längenskala der Messung.<sup>[19]</sup>

Der Einfluss der Diffusion auf die Einschränkung der örtlichen Auflösung wird gewöhnlich überbewertet. Unter der Bedingung freier Diffusion wird mit einem typischen Diffusionskoeffizienten  $D$  von  $10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$  und einem  $t_{\text{seq}}$ -Wert von 60 ms ( $t_{\text{seq}}$ : Dauer einer Pulssequenz) eine freie Weglänge  $\langle x^2 \rangle = 2Dt_{\text{seq}}$  von  $10 \mu\text{m}$  berechnet. Dennoch weisen Moleküldynamikstudien darauf hin, dass die Selbstdiffusion nahe Flüssig-flüssig-Grenzflächen anisotrop ist. Wenn die Selbstdiffusion durch Diffusionskoeffizienten parallel ( $D_{\text{s,T}}$ ) und senkrecht ( $D_{\text{s,N}}$ ) zur Grenzfläche beschrieben wird, kann rechnerisch gezeigt werden, dass nahe der Grenzfläche  $D_{\text{s,T}} > D_{\text{s,N}}$  gilt.<sup>[20]</sup> Dennoch ist die Diffusion in einem größeren Volumen isotrop. Um einen experimentellen Nachweis zu bekommen, wurden Gradientenecho-NMR-Diffusionsmessungen<sup>[21]</sup> am untersuchten Benzol-Wasser-System durchgeführt. Mit einer Anregungsfrequenz unter Verwendung eines geeigneten RF-Pulses in Gegenwart eines  $G_z$ -Gradienten

wurde eine 10- $\mu\text{m}$ -Scheibe ausgewählt, die die Benzol-Wasser-Grenzfläche enthält. Für Benzol und Wasser wurde eine Abnahme von  $D_{\text{s,N}}$  um den Faktor 5.4 bzw. 4.8 bezüglich  $D_{\text{s,T}}$  gefunden. Diese Reduktion von  $D_{\text{s,N}}$  für Benzol und Wasser in Mikrometerabständen von der Grenzfläche gegenüber den  $D_{\text{s}}$ -Werten in der reinen Phase schwächt die Einschränkung durch Diffusion deutlich ab, die gewöhnlich für volumenselektive NMR-Experimente gilt, und hilft, die örtliche Auflösung um eine Größenordnung in den Mikrometerbereich zu erhöhen. Als eine Ursache wird das Auftreten einer Translationsbarriere vermutet, die undurchlässig für übersetzende Spins ist. Dies führt zu einer Verringerung der freien Weglänge senkrecht zur Oberfläche.<sup>[20]</sup> Eine höhere örtliche Auflösung in den Nanometerbereich hinein lässt sich durch zwei Strategien erreichen: durch Erweiterung des selektiven Pulses für die  $z$ -Richtung und durch stärkere  $z$ -Gradienten. Während bei der ersten Vorgehensweise die Sequenzdauer verlängert und entsprechend durch die eingeschränkte Diffusion limitiert ist, wird bei der zweiten Strategie die Sequenzdauer konstant gehalten. Sie ist damit eindeutig die Methode der Wahl.

Hier wurde ein neuartiger Ansatz für die Untersuchung von Flüssig-flüssig-Grenzflächen vorgestellt, der auf dem Grundgedanken beruht, einen flachen Quader als Volumenmesseinheit zu verwenden. In dieser Geometrie ist die Zahl der zum NMR-Signal beitragenden Spins ausreichend groß, und zugleich wird eine hohe örtliche Auflösung in Richtung der Phasengrenzfläche aufrechterhalten. Der Diffusionskoeffizient an der Grenzfläche ist gegenüber dem in der reinen Phase auf ein Fünftel verringert. Aus diesen Befunden lässt sich folgern, dass Messungen mit einer verbesserten Auflösung im niedrigen Nanometerbereich möglich sein und das Potenzial haben sollten, molekulare Veränderungen an der Grenzfläche sichtbar zu machen. Künftige Untersuchungen zielen einerseits auf Tenside an der Grenzfläche, z.B. als Modelle für Biomembranen, andererseits auf die Verbesserung der örtlichen Auflösung senkrecht zur Oberfläche durch die Verwendung stärkerer Gradientenfelder.

## Experimentelles

Die Messungen wurden bei einer Feldstärke von 14.1 T (600 MHz) in einem 15-mm-Probenröhrchen vorgenommen, um Effekte durch Kapillarkrümmung an der Grenzfläche zu reduzieren. Für die Präparation der Probe wurden doppelt destilliertes Wasser und Benzol p.A. verwendet. Für die Volumenselektion wurde die STEAM-Technik<sup>[18]</sup> verwendet, und die Detektionseinheit war  $250 \times 250 \times 1 \mu\text{m}^3$  groß ( $x, y, z$ ), wobei die  $z$ -Richtung senkrecht zur Flüssig-flüssig-

Grenzfläche orientiert war. Die größere Ausdehnung in  $x$ - und  $y$ -Richtung wurde zur Erhöhung der Empfindlichkeit gewählt. Die aufeinanderfolgenden, sich überlappenden Scheiben waren in  $z$ -Richtung um jeweils 50 nm verschoben, was einem Trägerfrequenzinkrement von 2.15 Hz entsprach. Die Gradientenfelder in  $x$ -,  $y$ - und  $z$ -Richtung betrugen  $G_x = 95.8$ ,  $G_y = 96.9$  bzw.  $G_z = 1010 \text{ mTm}^{-1}$ . Die Bandbreiten des selektiven  $90^\circ$ -Pulses in  $x$ -,  $y$ - und  $z$ -Richtung waren 1.03 kHz, 1.02 kHz bzw. 43 Hz. 112 Scans wurden für jedes Inkrement aufgenommen. Bei den Diffusionsmessungen wurde zur Anregung ein selektiver sinc-förmiger  $90^\circ$ -Puls (sinc: sinus cardinalis) mit einer Bandbreite von 100 Hz und einem Feldgradienten  $G_z$  von  $234 \text{ mTm}^{-1}$  verwendet.

Eingegangen am 12. März 2009

Online veröffentlicht am 13. Juli 2009

**Stichwörter:** Flüssig-flüssig-Grenzflächen · NMR-Spektroskopie · Ortsauflösende NMR-Spektroskopie

- [1] I. Benjamin, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1997**, *48*, 407–451.
- [2] S. Tamilvanan, *Prog. Lipid Res.* **2004**, *43*, 489–533.
- [3] J. Chowdhary, B. M. Ladanyi, *J. Phys. Chem. B* **2006**, *110*, 15442–15453.
- [4] S. Tsukahara, *Anal. Chim. Acta* **2006**, *556*, 16–25.
- [5] A. G. Lambert, P. B. Davies, D. J. Neivandt, *Appl. Spectrosc. Rev.* **2005**, *40*, 103–145.
- [6] X. Y. Chen, M. L. Clarke, J. Wang, *Int. J. Mod. Phys. B* **2005**, *19*, 691–713.
- [7] J. B. Buhn, P. A. Bobb, M. J. Hampe, *J. Mol. Liq.* **2006**, *125*, 187–196.
- [8] M. L. Schlossmann, *Phys. B* **2005**, *357*, 98–105.
- [9] A. Zorbakhsh, A. Querol, J. Bowers, *Langmuir* **2005**, *21*, 11704–11709.
- [10] D. Filip, V. I. Uricanu, M. H. G. Duits, *Langmuir* **2005**, *21*, 115–126.
- [11] K. Adachi, K. Chayama, H. Watarai, *Chirality* **2006**, *18*, 599–608.
- [12] P. Brodard, E. Vautey, *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 4668–4678.
- [13] L. F. Scatena, M. G. Brown, G. L. Richmond, *Science* **2001**, *292*, 908–912.
- [14] G. L. Richmond, *Chem. Rev.* **2002**, *102*, 2693–2724.
- [15] G. Wittstock, M. Burchardt, S. E. Pust, Y. Shen, C. Zhao, *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 1604–1640; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1584–1617.
- [16] M. De Serio, H. Mohaptra, R. Zenobi, V. Deckert, *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *417*, 452–456.
- [17] M. De Serio, A. N. Bader, M. Heule, R. Zenobi, V. Deckert, *Chem. Phys. Lett.* **2003**, *380*, 47–53.
- [18] S. F. Keevil, *Phys. Med. Biol.* **2006**, *51*, R579–R636.
- [19] J. Jäcke, *J. Phys. Condens. Matter* **1998**, *10*, 7121–7131.
- [20] D. S. Grebenkov, *Rev. Mod. Phys.* **2007**, *79*, 1077–1137.
- [21] B. Stejskal, J. Tanner, *J. Chem. Phys.* **1965**, *42*, 288.