



**MATEMATICKO-FYZIKÁLNÍ
FAKULTA**
Univerzita Karlova

DISERTAČNÍ PRÁCE

Petr Dvořák

Dynamika vodíkově vázaných sítí pohledem NMR spektroskopie

Katedra fyziky nízkých teplot

Vedoucí disertační práce: doc. RNDr. Jan Lang, Ph.D.

Studijní program: Fyzika

Studijní obor: Biofyzika, chemická a
makromolekulární fyzika

Praha 2023

Prohlašuji, že jsem tuto disertační práci vypracoval(a) samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů, literatury a dalších odborných zdrojů. Tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Beru na vědomí, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorského zákona v platném znění, zejména skutečnost, že Univerzita Karlova má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle §60 odst. 1 autorského zákona.

V Praze dne 28.2.2023

.....

Podpis autora

Děkuji svému školiteli doc. RNDr. Janu Langovi, Ph.D. za trpělivost a vedení při přípravě této práce. Děkuji všem ostatním členům laboratoře NMR vysokého rozlišení KFNT MFF UK za cenné rady a konzultace, které byly pro přípravu této práce velkým přínosem.

Děkuji RNDr. Lence Kubíčkové, Ph.D. za výbornou spolupráci na projektu magnetických nanočástic.

Dále bych chtěl poděkovat celému svému současnému týmu Optické biosenzory na ÚFE AV ČR za podporu a umožnění dokončení této práce.

V neposlední řadě děkuji celé své rodině a všem mým přátelům za podporu při psaní této práce.

Název práce: Dynamika vodíkově vázaných sítí pohledem NMR spektroskopie

Autor: Petr Dvořák

Katedra: Katedra fyziky nízkých teplot

Vedoucí disertační práce: doc. RNDr. Jan Lang, Ph.D., Katedra fyziky nízkých teplot

Abstrakt:

Práce se zabývá experimentálním studiem dynamických procesů v běžných polárních rozpouštědlech jako je voda a ethanol. K tomuto studiu bylo využito technik nukleární magnetické rezonance (NMR) - především měření NMR relaxací a měření samo-difúzních koeficientů pomocí NMR. V práci byla postupně prostudována tři témata. První se zabývá chemickou výměnou ve směsích lehké a těžké vody. V rámci tohoto tématu byla vyvinuta metodika přípravy ultra čistých vzorků a navržena vhodná metoda potlačení radiačního tlumení. Poté byly připraveny finální vzorky, na nichž byla naměřena relaxační data. V rámci interpretace byly diskutovány tři modely chemické výměny. Druhé téma se zabývá korekcí Stokes-Einsteinova vztahu tak, aby jej bylo možné použít pro stanovení hydrodynamického poloměru malých molekul a klastrů. Tato korekce byla provedena srovnáním naměřených difúzních koeficientů modelových molekul s vypočtenými difúzními koeficienty pomocí hydrodynamických simulací. Třetí téma se zabývá relaxivitou magnetických nanočástic. Byly studovány nové potenciální kontrastní látky pro zobrazování magnetickou rezonancí založená na nanočásticích oxidů železa.

Klíčová slova: NMR, relaxace, chemická výměna, voda, difúze

Title: Dynamics of hydrogen bonded networks viewed by NMR spectroscopy

Author: Petr Dvořák

Department: Department of Low Temperature Physics

Supervisor: doc. RNDr. Jan Lang, Ph.D., Department of Low Temperature Physics

Abstract:

This work describes especially experimental studies of dynamic processes in common polar solvents such as water and ethanol. The nuclear magnetic resonance (NMR) technique was used - primarily measurements of NMR relaxations and measurements of self-diffusion coefficients using NMR. Three main topics were addressed. The first one deals with chemical exchange in mixtures of light and heavy water. Within this topic, a methodology for the preparation of ultra-pure samples was developed and a suitable method for suppressing radiation damping was proposed. Then the final samples were prepared, and the relaxation data were measured. Three models of chemical exchange were discussed. The second topic deals with correction of the Stokes-Einstein relation so that it can also be used for determination hydrodynamic radii of small molecules and clusters. This correction was made by comparing the measured diffusion coefficients of the model molecules with the calculated diffusion coefficients using hydrodynamic simulations. The third topic deals with the relaxivity of magnetic nanoparticles. New potential contrast agents for magnetic resonance imaging based on iron oxide nanoparticles were studied.

Keywords: NMR, relaxation, chemical exchange, water, diffusion

Obsah

Úvod	4
1 Teorie	6
1.1 Nukleární magnetická rezonance.....	6
1.2 NMR interakce	8
1.2.1 Chemické stínění	8
1.2.2 Dipól-dipólová interakce.....	9
1.2.3 Nepřímá dipól-dipólová interakce.....	10
1.3 NMR relaxace.....	11
1.3.1 Měření relaxačních dob	11
1.3.2 Úvod do teorie NMR relaxací	14
1.3.3 Relaxace vlivem dipól-dipólové interakce	16
1.3.4 Relaxace vlivem anizotropie chemického stínění.....	18
1.4 Chemická výměna.....	19
1.5 Translační difúze.....	24
1.5.1 Měření translační difúze pomocí NMR.....	25
1.6 Relaxivita MRI kontrastních látek.....	26
2 Chemická výměna ve směsích lehké a těžké vody.....	29
2.1 Motivace a cíle.....	29
2.2 Směsi lehké a těžké vody	32
2.2.1 Struktura molekuly vody	32
2.2.2 Čistota a složení vody	33
2.2.3 Vodíkové vazby.....	33
2.2.4 Ionizace molekul vody	35
2.2.5 Difúze iontů H_3O^+ a OH^-	36
2.2.6 Rovnováha molekul H_2O , D_2O a HDO	37
2.2.7 Relaxace vlivem dipól-dipólové interakce ve vzorcích vody	37
2.2.8 Relaxace vlivem anizotropie chemického stínění ve vzorcích vody	39
2.3 Experimentální část.....	39
2.3.1 Radiační tlumení.....	39
2.3.2 Metoda čištění vzorků.....	42

2.3.3	Parametry připravených vzorků	45
2.3.4	Parametry NMR měření.....	50
2.4	Výsledky a diskuse.....	51
2.4.1	Vliv čistoty a stabilita připravených vzorků.....	51
2.4.2	Zahřívání vzorku během měření T_2 sekvencí CPMG	57
2.4.3	Chemická výměna ve směsích lehké a těžké vody.....	59
2.5	Shrnutí.....	78
3	Mikrofrikční faktor v Stokes-Einsteinově vztahu v případě malých molekul .81	
3.1	Motivace a cíle.....	81
3.2	Modelové molekuly	84
3.3	Experimentální část	86
3.3.1	Parametry připravených vzorků	86
3.3.2	Měření viskozity	87
3.3.3	Parametry NMR měření.....	88
3.3.4	Hydrodynamické simulace a DFT výpočty	90
3.4	Výsledky a diskuse.....	91
3.4.1	Optimalizace parametrů AER a R_A v hydrodynamických simulacích.....	91
3.4.2	Určení mikrofrikčního faktoru c	94
3.5	Shrnutí.....	99
4	Relaxivita magnetických nanočástic	101
4.1	Motivace a cíle.....	101
4.2	Studované magnetické nanočástice	102
4.2.1	Nanočástice ϵ - Fe_2O_3	102
4.2.2	Nanočástice ϵ - $Al_xFe_{2-x}O_3$	102
4.3	Experimentální část	103
4.3.1	Potlačení radiačního tlumení.....	103
4.3.2	Vzorky nanočástic ϵ - Fe_2O_3	105
4.3.3	Vzorky nanočástic ϵ - $Al_{0,23}Fe_{1,77}O_3$	105
4.3.4	Parametry NMR měření.....	106
4.4	Výsledky měření	106
4.4.1	Výsledky naměřené na nanočásticích ϵ - Fe_2O_3	107
4.4.2	Výsledky naměřené na nanočásticích ϵ - $Al_{0,23}Fe_{1,77}O_3$	109

4.5	Shrnutí.....	111
	Závěr	112
	Seznam použité literatury.....	115
	Seznam obrázků.....	125
	Seznam grafů	126
	Seznam tabulek.....	128
	Seznam použitých zkratk	130
	Seznam publikací.....	131
	Přílohy	132
	Příloha 1: Stanovení molárních zlomků molekul H_2^{16}O , HD^{16}O , D_2^{16}O , H_2^{17}O , HD^{17}O a D_2^{17}O	132
	Příloha 2: Grafy naměřených závislostí R_2 na echočase fitované modelem 1	136
	Příloha 3: Grafy naměřených závislostí R_2 na echočase fitované modelem 2	137
	Příloha 4: Grafy naměřených závislostí R_2 na echočase fitované modelem 3	138
	Příloha 5: Modifikovaná sekvence CPMG kompenzující zahřívání vzorku RF pulsy	139

Úvod

Tématem práce je struktura a dynamika vodíkově vázaných sítí studovaná metodami spektroskopie nukleární magnetické rezonance (NMR).

Běžná polární rozpouštědla, jako je například voda či nejrůznější alkoholy, mají řadu unikátních termodynamických vlastností. Tyto vlastnosti jsou přímým důsledkem tvorby vodíkových vazeb v takovýchto systémech, přičemž vznikající struktury podléhají dynamickým změnám. Takovéto systémy již byly studovány mnoha experimentálními i teoretickými technikami. Dosud však neexistuje sjednocený pohled na jejich strukturu a dynamiku na mikroskopické úrovni.

NMR spektroskopie má široké spektrum technik, které umožňují studovat strukturní a dynamické vlastnosti studovaných systémů. Procesy v časové škále od pikosekund po milisekundy lze studovat zejména pomocí NMR relaxací. Pomalejší procesy lze charakterizovat analýzou spekter. Velmi přínosné jsou také techniky difúzního NMR. Měření samo-difúzních koeficientů může při správné interpretaci přinést informaci o distribuci velikostí přítomných molekulárních clusterů.

V tomto kontextu se tato práce zabývá třemi tématy. První téma se zabývá studiem chemické výměny ve směsích lehké a těžké vody, která je studována pomocí disperze spin-spinové relaxační doby v závislosti na echo-čase v sekvenci CPMG. Druhé téma se zabývá korekcí mikrofikčního faktoru v Stokes-Einsteinově vztahu tak, aby jej bylo možné použít i pro malé molekuly (ve srovnání s molekulami rozpouštědla). Tato část se zaměřuje na využití metod difúzního NMR. Třetí téma má aplikační charakter. Zabývá se měřením relaxivit magnetických nanočástic, které mají potenciál využití jako kontrastní látky při zobrazovacích vyšetřeních pomocí NMR v klinické praxi.

Obsahu práce složené ze tří témat bylo přizpůsobeno členění práce. První

kapitola se věnuje teorii, která je společná všem třem tématům. Postupně jsou zde uvedeny stručné základy NMR, NMR relaxací, chemické výměny, translační difúze a relaxivit kontrastních látek. Druhá, třetí a čtvrtá kapitole se věnuje jednotlivým výše uvedeným tématům. Každá z těchto kapitol je rozdělena na popis motivací a cílů, popis studovaných systémů, experimentální část, výsledky a diskusi po které následuje shrnutí každé kapitoly.

1 Teorie

1.1 Nukleární magnetická rezonance

Nukleární magnetická rezonance (NMR) je jev, při kterém dochází k rezonančnímu chování atomových jader s nenulovým spinem v magnetickém poli. Podrobný popis jevu nukleární magnetické rezonance lze nalézt například v [1], [2].

Základem NMR je Zeemanův jev, který popisuje interakci jaderného magnetického dipólového momentu $\hat{\boldsymbol{\mu}} = \gamma\hbar\hat{\boldsymbol{I}}$ s vnějším statickým magnetickým polem $\mathbf{B}_0 - \hat{\boldsymbol{I}}$ je moment hybnosti jádra, \hbar je redukovaná Planckova konstanta a γ je gyromagnetický poměr. Zeemanovu interakci popisuje hamiltonián

$$\widehat{H}_0 = -\hat{\boldsymbol{\mu}} \cdot \mathbf{B}_0 \quad (1.1)$$

Vezmeme-li vnější magnetické pole ve tvaru $\mathbf{B}_0 = (0,0,B_0)$, to jest pole orientované ve směru osy z , pak řešení Schrödingerovy rovnice s hamiltoniánem (1.1) vede soustavu $2I + 1$ vlastních energetických hladin $E_m = -\gamma\hbar B_0 m$, kde m je magnetické kvantové číslo. Tato soustava energetických hladin se nazývá Zeemanovým multipletem. Hladiny Zeemanova multipletu jsou ekvidistantní a odpovídají jednotlivým orientacím jaderného magnetického momentu ke statickému magnetickému poli. Rozdíl energie dvou sousedních hladin je roven $\Delta E = |\gamma|\hbar B_0$.

Rezonanční podstata jevu NMR je skryta v tom, že jsme schopni vhodným malým střídavým magnetickým polem indukovat přechody mezi hladinami Zeemanova multipletu. Toto pole musí být polarizované v rovině kolmé na směr statického pole \mathbf{B}_0 a dále musí mít úhlovou frekvenci $\omega_0 = |\gamma|B_0$, která se nazývá Larmorovou frekvencí.

Výše zmíněný text popisoval chování izolovaného jaderného spinu v magnetickém poli. Přejdeme-li k látce, to jest k souboru jaderných spinů, pak je třeba

uvážit vzájemné interakce mezi jadernými spiny a interakce těchto spinů s ostatními stupni volnosti – takzvanou „mřížkou“.

K popisu chování souboru jaderných spinů je třeba zavést vektor magnetizace \mathbf{M} . Ten je definován jako výsledný magnetický moment jader připadajících na jednotkový objem.

Chování vektoru magnetizace \mathbf{M} v magnetickém poli je popsáno fenomenologickými Blochovými rovnicemi [3]

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B})_x - \frac{M_x}{T_2}, \quad (1.2)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B})_y - \frac{M_y}{T_2}, \quad (1.3)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B})_z - \frac{M_z - M_0}{T_1}. \quad (1.4)$$

Blochovy rovnice obsahují dva členy. První člen vychází z pohybové rovnice pro střední hodnotu magnetického momentu jádra v magnetickém poli $d\langle\boldsymbol{\mu}\rangle/dt = \gamma[\langle\boldsymbol{\mu}\rangle \times \mathbf{B}]$. Druhý člen popisuje spin-spinovou a spin-mřížkovou interakci.

Spin-spinová interakce souvisí s kolektivním chováním jaderných spinů.

Spin-mřížková interakce souvisí s výměnou energie mezi spiny a mřížkou. Důsledkem je vývoj spinového systému do stavu termodynamické rovnováhy s mřížkou. Působí-li na systém pouze statické magnetické pole \mathbf{B}_0 , pak je rovnovážná magnetizace \mathbf{M}_0 orientovaná ve směru pole \mathbf{B}_0 .

Blochovy rovnice předpokládají relaxační charakter spin-spinové a spin-mřížkové interakce. Pro jejich popis zavádějí spin-mřížkovou (podélnou) relaxační dobu T_1 a spin-spinovou (příčnou) relaxační dobu T_2 . Doba T_1 popisuje časový vývoj podélné složky magnetizace M_z . Doba T_2 popisuje časový vývoj příčných složek M_x a M_y .

1.2 NMR interakce

1.2.1 Chemické stínění

V atomech umístěných do vnějšího statického magnetického pole, dochází k interakci statického magnetického pole s elektronovým obalem atomů. Důsledkem je polarizace elektronů v okolí sledovaného jádra, která způsobí, že lokální pole v místě sledovaného jádra je mírně odlišné od vnějšího statického pole. To vede k mírnému posunu rezonanční frekvence.

Chemické stínění se popisuje tenzorem chemického stínění $\overset{\leftrightarrow}{\sigma}$. Larmorovu frekvenci pak lze vyjádřit vztahem

$$\omega_0 = -\gamma \mathbf{B}_0 (1 - \overset{\leftrightarrow}{\sigma}). \quad (1.5)$$

Tenzor chemického stínění je ranku 2. Každý takovýto tenzor lze rozdělit na izotropní a anizotropní část. Lze nalézt vztahnou soustavu spojenou s molekulou, ve které má izotropní část nenulové pouze diagonální členy σ_{XX} , σ_{YY} , σ_{ZZ} . Takovou soustavu nazýváme „*principal axis system*“.

Izotropní část tenzoru chemického stínění pak lze vyjádřit jako jednotkovou matici násobenou izotropní konstantou chemického stínění σ_{iso} , která je rovna

$$\sigma_{iso} = \frac{1}{3}(\sigma_{XX} + \sigma_{YY} + \sigma_{ZZ}). \quad (1.6)$$

Dále můžeme definovat parametr anizotropie chemického stínění

$$\Delta\sigma = \sigma_{XX} - \frac{1}{2}(\sigma_{YY} + \sigma_{ZZ}). \quad (1.7)$$

Orientace molekul ve vzorku je různá, tudíž bychom měli ve spektru pozorovat rozšířené čáry. V kapalinách ale molekuly rychle izotropně rotují a v důsledku toho se příspěvky různých orientací středují. Ve spektru pozorujeme pouze projev izotropní části tenzoru chemického stínění. Ta je rovna třetině stopy tenzoru chemického stínění. V kapalinách pak pro rezonanční frekvenci sledovaných jader máme

$$\omega_0 = -\gamma B_0(1 - \sigma_{iso}). \quad (1.8)$$

Hodnota chemického stínění závisí na velikosti statického magnetického pole B_0 . Proto se zavádí tzv. chemický posun, jež se uvádí v jednotkách ppm (parts per million). Chemický posun udává velikost chemického stínění vztaženou vůči nějakému zvolenému standardu. Je tedy nezávislý na poli a je definován vztahem

$$\delta_{iso}[ppm] = \frac{\omega_0 - \omega_{st}}{\omega_{st}} \cdot 10^6 = \frac{\sigma_{st} - \sigma_{iso}}{1 - \sigma_{st}} \cdot 10^6 \approx (\sigma_{st} - \sigma_{iso}) \cdot 10^6, \quad (1.9)$$

kde ω_0 je Larmorova frekvence jader, ω_{st} je Larmorova frekvence jader zvoleného standardu, σ_{st} a σ_{iso} jsou izotropní hodnoty chemického stínění zvoleného standardu a měřených jader.

Nejčastěji používaným standardem při měření na jádrech ^1H je molekula TMS (tetramethylsilan, $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$).

Anizotropní část tenzoru chemického stínění se v kapalinách ve spektrech neprojevuje. Může se ovšem projevit jako relaxační mechanismus [2].

1.2.2 Dipól-dipólová interakce

Přímá dipól-dipólová interakce je v souboru spinů $\frac{1}{2}$ nejsilnější interakcí. Máme-li v prostoru blízko sebe dvojici jaderných magnetických momentů $\boldsymbol{\mu}_1$, $\boldsymbol{\mu}_2$ (magnetických dipólů), pak tyto magnetické dipóly spolu interagují. Magnetický dipól $\boldsymbol{\mu}_2$ kolem sebe vytváří lokální dipólové magnetické pole, kterým působí na magnetický dipól $\boldsymbol{\mu}_1$. Podobně magnetický dipól $\boldsymbol{\mu}_1$ působí na dipól $\boldsymbol{\mu}_2$.

Lokální pole tvořené magnetickým momentem $\boldsymbol{\mu}_2$ v místě \boldsymbol{r} je dáno vztahem

$$\boldsymbol{B}_{loc} = -\frac{\mu_0}{4\pi r^3} (\boldsymbol{\mu}_2 - 3\frac{\boldsymbol{r}\boldsymbol{r}}{r^2} \cdot \boldsymbol{\mu}_2), \quad (1.10)$$

kde μ_0 je permeabilita vakua, \boldsymbol{r} je polohový vektor magnetického dipólu $\boldsymbol{\mu}_2$ s počátkem spojeným s magnetickým dipólem $\boldsymbol{\mu}_1$ a $\boldsymbol{r}\boldsymbol{r}$ je tensor – vnější součin polohového vektoru.

Klasická energie dipól-dipólové interakce (E_{DD}) je

$$E_{DD} = \frac{\mu_0}{4\pi r^3} (\boldsymbol{\mu}_1 \cdot \boldsymbol{\mu}_2 - 3\boldsymbol{\mu}_1 \cdot \frac{\mathbf{r}\mathbf{r}}{r^2} \cdot \boldsymbol{\mu}_2). \quad (1.11)$$

Nahradíme-li klasické magnetické dipóly kvantovými výrazy $\gamma_I \hbar \hat{\mathbf{I}}$ a $\gamma_S \hbar \hat{\mathbf{S}}$, kde $\hat{\mathbf{I}}$ a $\hat{\mathbf{S}}$ jsou operátory momentu hybnosti dvou jader I a S, pak dostaneme Hamiltonián dipól-dipólové interakce

$$\hat{H}_{DD} = b_{IS} (3\hat{\mathbf{I}} \cdot \frac{\mathbf{r}\mathbf{r}}{r^2} \cdot \hat{\mathbf{S}} - \hat{\mathbf{I}} \cdot \hat{\mathbf{S}}), \quad (1.12)$$

kde

$$b_{IS} = -\frac{\mu_0 \gamma_I \gamma_S \hbar}{4\pi r^3} \quad (1.13)$$

je dipól-dipólová vazebná konstanta.

Projevem přímé dipól-dipólové interakce ve spektru pevných látek je rozšíření spektrálních čar. Ve spektrech kapalin se tato interakce neprojevuje, neboť se díky rychlým izotropním rotacím molekul středuje k nule [4].

1.2.3 Nepřímá dipól-dipólová interakce

Nepřímá dipól-dipólová interakce (J-vazba, J-coupling) je interakce mezi dvojicí jaderných magnetických momentů, kterou zprostředkovávají vazebné elektrony a jde tedy o projev chemické vazby ve spektru.

Molekulární pohyb v kapalinách, na rozdíl od přímé dipól-dipólové interakce, nestředuje J-vazbu k nule.

J-vazba se ve spektru projeví charakteristickým štěpením rezonanční čáry. Ta je rozštěpena do multipletu, ve kterém počet čar odpovídá počtu možných hodnot celkového magnetického momentu sousedních interagujících skupin ekvivalentních jader. Ekvivalentní jádra jsou ta, která mají stejné chemické okolí v molekule. Velikost této interakce nezávisí na velikosti statického magnetického pole[2].

1.3 NMR relaxace

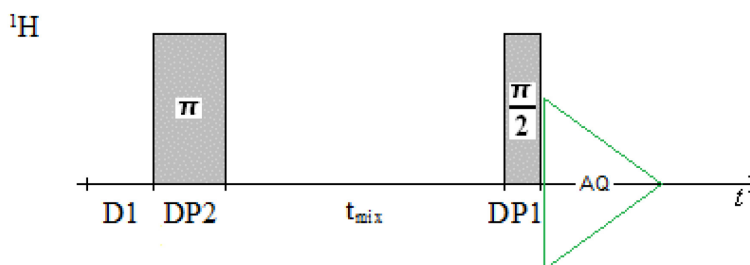
1.3.1 Měření relaxačních dob

Před popisem jednotlivých relaxačních mechanismů nejdříve uvedeme techniky, které dále použijeme pro měření relaxačních dob.

Pro měření spin-mřížkové relaxační doby (T_1) budeme používat sekvenci **Inversion Recovery** (IR) (v překladu „obnova po inverzi“). Tato sekvence je zobrazena na obrázku 1.1. [4]

V sekvenci je nejprve zařazena opakovací doba $D1$, která musí být dostatečně dlouhá, aby během ní systém dospěl do rovnováhy – standardně se používá $D1 \geq 5T_1$.

Po opakovací době následuje π -puls, který rovnovážnou magnetizaci – původně orientovanou v kladném směru osy z – překlápí do záporného směru osy z . Po tomto pulsu tedy máme magnetizaci $\mathbf{M} = (0, 0, -M_0)$.



Obrázek 1.1: Sekvence Inversion Recovery.

$D1$ je opakovací doba, $DP1$ je délka $\pi/2$ -pulsu, $DP2$ je délka π -pulsu, t_{mix} je směšovací perioda, AQ značí akvizici dat.

Dále následuje směšovací perioda (tzv. „mixing time“, t_{mix}). Během této toby magnetizace – resp. její z -ová složka – relaxuje spin-mřížkovou relaxací k rovnovážné hodnotě.

Po uplynutí směšovací periody je aplikován $\pi/2$ -puls. Ten magnetizaci otočí kolem osy x do směru osy $-y$.

Nakonec následuje akvizice. Během ní je nabírán vzniklý signál volné precese (FID). Amplituda signálu je úměrná složce magnetizace M_z v čase t_{mix} .

Jelikož na vzorek během směšovací periody nepůsobí žádné radiofrekvenční pole, tak se Blochova rovnice (1.4) zredukuje do tvaru

$$\frac{dM_z}{dt_{mix}} = -\frac{M_z - M_0}{T_1}. \quad (1.14)$$

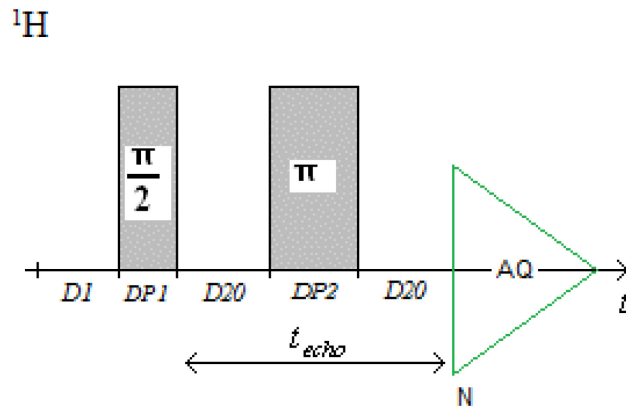
Řešení s počáteční podmínkou $M_z(0) = -M_0$ pak má tvar

$$M_z(t_{mix}) = M_0[1 - 2\exp(-\frac{t_{mix}}{T_1})]. \quad (1.15)$$

Naměříme-li intenzity signálu pro různé časy t_{mix} , můžeme pak výslednou závislost fitovat touto rovnicí, čímž získáme spin-mřížkovou relaxační dobu. V praxi je ovšem obtížně přesně nastavit délky a intenzity pulsů tak, aby sklápěli o přesně definované úhly. Proto je třeba naměřená data fitovat vztahem

$$M_z(t_{mix}) = M_0[1 - 2B\exp(-\frac{t_{mix}}{T_1})]. \quad (1.16)$$

Pro měření spin-spinové relaxační doby T_2 budeme používat sekvenci **CPMG**, jejíž název je odvozen od jejich autorů Carr, Purcell, Meiboom, Gill [4].



Obrázek 1.2: Sekvence spinového echa.

$D1$ je opakovací doba, $DP1$ je délka $\pi/2$ -pulsu, $DP2$ je délka π -pulsu, $D20$ je doba mezi pulsy, t_{echo} je echo čas, AQ značí akvizici dat.

Sekvence CPMG vznikla modifikací sekvence spinového echa, které je zobrazeno na obrázku 1.2.

Nejprve je se spinovém echu opět zařazena opakovací doba $D1$. Po ní následuje $\pi/2$ -puls, jež rovnovážnou magnetizaci sklopí do roviny xy . Po tomto pulsu vzniká signál volné precese (na obrázku není vyznačen). Tento signál je tlumen v důsledku relaxačních procesů a nehomogenit statického magnetického. Bezprostředně po vymizení signálu volné precese však systém spinů není v rovnováze. Příčné složky magnetizace v jednotlivých místech vzorku jsou nenulové. Pouze v důsledku nehomogenit pole precedují s různými fázemi, a tudíž se vzájemně střeďují k 0. Následuje časová prodleva $D20$ během níž se systém vyvíjí. Po ní je zařazen π -puls, jež magnetizaci sklopí kolem osy x o úhel π . Důsledkem tohoto, po uplynutí další časové prodlevy $D20$, dojde k opětovnému zřázkování příčných složek magnetizace a vzniká signál spinového echa, který nabíráme při akvizici.

Celkový vývoj magnetizace probíhá během takzvaného echo-času $t_{echo} = 2D20 + DP2$. Intenzita signálu je úměrná příčné složce magnetizace, jejíž velikost závisí na echo čase t_{echo} . Řešením Blochových rovnic (1.2) a (1.3) dostaneme

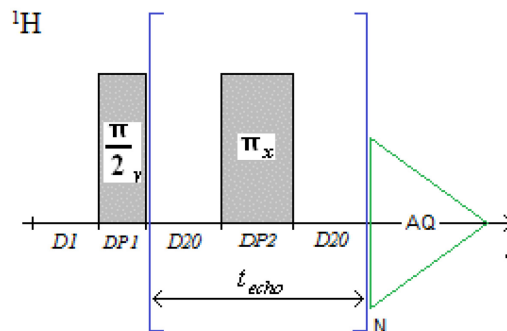
$$M_{x,y}(t_{echo}) = M_0 \exp\left(-\frac{t_{echo}}{T_2}\right). \quad (1.17)$$

Pro určení spin mřížkové relaxační doby je tedy třeba naměřit závislost intenzity signálu na echo-čase.

Modifikace sekvence spinového echa na sekvenci CPMG je patrna z obrázku 1.3. V sekvenci se drží konstantní echo-čas a pod-sekvence $D20 - \pi$ -puls - $D20$ je v ní zařazena N -krát. Druhou změnou je, že se v sekvenci mění fáze pulsů. $\pi/2$ -puls je aplikován v ose y , a π -puls je aplikován v ose x .

Závislost intenzity signálu na počtu aplikovaných ech pak má tvar

$$M_{xy}(Nt_{echo}) = M_0 \exp\left(-\frac{Nt_{echo}}{T_2}\right). \quad (1.18)$$



Obrázek 1.3: Sekvence CPMG.

$D1$ je opakovací doba, $DP1$ je délka $\pi/2$ -pulsu, $DP2$ je délka π -pulsu, $D20$ je doba mezi $\pi/2$ a π -pulem, t_{echo} je echo čas, AQ značí akvizici dat.

Výhodou sekvence CPMG je to, že potlačuje vliv nehomogenit statického magnetického pole a difúze, které negativně ovlivňují měření při použití sekvence spinového echa. Excitované jádro totiž preceduje s frekvencí danou lokální hodnotou magnetického pole. Difúzí se ale po čase dostane do jiného místa, kde je jiná hodnota lokálního pole. A tedy zde preceduje s jinou frekvencí. Nehomogenity statického pole a difúze tak způsobují rychlejší pokles intenzity signálu spinového echa.

1.3.2 Úvod do teorie NMR relaxací

Teorie NMR relaxací je velmi podrobně popsána v knize [4].

Relaxací spinového systému se rozumí proces návratu souboru excitovaných spinových stavů do rovnováhy. Rychlost návratu do rovnováhy charakterizujeme výše zavedenými relaxačními dobami, případně jejími převrácenými hodnotami, které se nazývají relaxačními rychlostmi.

Původcem relaxace souboru jaderných spinů jsou náhodné fluktuační magnetického pole v místě jádra. Tyto fluktuační jsou způsobeny rotačními a translačními pohyby molekul, interakcemi s ostatními jadernými spiny a dalšími interakcemi.

Pro popis těchto náhodných fluktuací se s výhodou využívá teorie náhodných procesů. Máme-li stochastickou funkci času $Y(t)$, pak obecně nemůžeme říct, že vlastnosti funkce $Y(t)$ jsou ve dvou časových okamžicích nezávislé. Pro studium časové korelace stochastické proměnné v časech t a $t + \tau$ se zavádí takzvaná časově korelační funkce

$$C(\tau) = \langle Y(t)Y^*(t + \tau) \rangle, \quad (1.19)$$

kde hvězdička označuje komplexní sdružení.

Je-li $\tau = 0$, pak je $C(\tau)$ rovna rozptylu stochastické funkce $Y(t)$, tj. $C(0) = \sigma^2$. Naopak pro velká τ je rozumné předpokládat, že korelace mezi $Y(t)$ a $Y(t - \tau)$ vymizí. Tj. $C(\tau) \rightarrow 0$ pro $\tau \rightarrow \infty$. V nejjednodušším případě tyto vlastnosti splňuje exponenciální funkce

$$C(\tau) = C(0)\exp\left(-\frac{|\tau|}{\tau_c}\right), \quad (1.20)$$

kde τ_c je korelační čas, který charakterizuje časovou škálu fluktuací stochastické proměnné $Y(t)$.

Při popisu relaxačních mechanismů má důležitou roli spektrální hustota korelační funkce, která je definovaná jako Fourierova transformace korelační funkce $C(\tau)$

$$J(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} C(\tau)\exp(-i\omega\tau) d\tau. \quad (1.21)$$

Význam spektrální hustoty korelační funkce je ten, že udává množství radiofrekvenčního výkonu, generovaného stochastickou funkcí $Y(t)$, na úhlové frekvenci ω .

Pro korelační funkci tvaru (1.20) dostaneme přímou integrací vztah

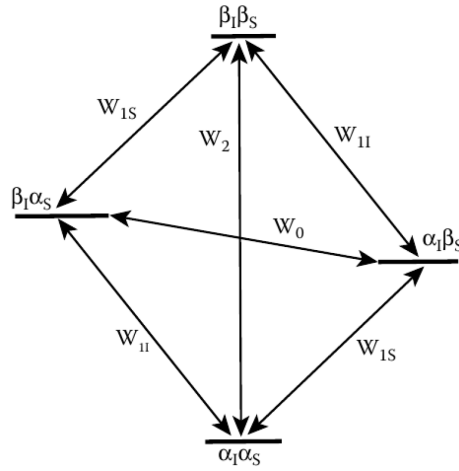
$$J(\omega) = C(0)\frac{2\tau_c}{1+\omega^2\tau_c^2}. \quad (1.22)$$

Mezi nejvýznamnější interakce způsobující relaxaci spinového systému jader se spinem $\frac{1}{2}$ v diamagnetických látkách je dipól-dipólová interakce a anizotropie chemického stínění. U jader se spinem větším, než $\frac{1}{2}$ se dále uplatňuje

relaxace kvadrupólovou interakcí. Tyto interakce jsou podrobněji popsány v následujících podkapitolách.

1.3.3 Relaxace vlivem dipól-dipólové interakce

Přímá dipól-dipólová interakce mezi dvěma v prostoru blízkými jádry s nenulovým spinem je pro spiny $\frac{1}{2}$ nejsilnějším relaxačním mechanismem a je zdrojem informací o molekulární dynamice.



Obrázek 1.4: Schéma energetických hladin a pravděpodobností přechodů pro systém dvou spinů $\frac{1}{2}$.

Uvažme vzorek, ve kterém máme dva druhy jader I a S se spinem $\frac{1}{2}$. Takovýto systém můžeme popsat diagramem se čtyřmi Zeemanovými hladinami a se sadou pravděpodobností přeskoků mezi jednotlivými hladinami – viz obr. 1.4.

Rovnice popisující kinetiku populací v tomto čtyř-hladinovém systému se nazývají Solomonovy rovnice [5]. Pro podélné složky magnetizací $\langle \widehat{I}_z \rangle$ a $\langle \widehat{S}_z \rangle$ mají tyto rovnice tvar

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} \langle \widehat{S}_z \rangle \\ \langle \widehat{I}_z \rangle \end{pmatrix} = - \begin{pmatrix} \rho_I & \sigma_{IS} \\ \sigma_{IS} & \rho_S \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \langle \widehat{I}_z \rangle - I_z^{eq} \\ \langle \widehat{S}_z \rangle - S_z^{eq} \end{pmatrix}, \quad (1.23)$$

kde I_z^{eq} a S_z^{eq} jsou rovnovážné hodnoty podélných magnetizací pro jádra I a S, ρ_I a ρ_S jsou spin-mřížkové relaxační rychlosti jader I a S a σ_{IS} je kros-relaxační

rychlost.

Solomon ukázal, že tyto relaxační rychlosti lze pomocí následujících vztahů ztotožnit s pravděpodobnostmi přechodů ve výše popsaném čtyř-hladinovém systému

$$\rho_I = W_0 + 2W_{1I} + W_2, \quad (1.24)$$

$$\rho_S = W_0 + 2W_{1S} + W_2, \quad (1.25)$$

$$\sigma_{IS} = W_2 - W_0. \quad (1.26)$$

Dále Solomon z časově závislé poruchové teorie odvodil vztahy pro pravděpodobnosti přechodů W_0 , W_{1I} , W_{1S} a W_2 . Tyto přechody jsou indukovány náhodnými poruchami a jsou úměrné spektrálním hustotám těchto náhodných poruch na příslušných frekvencích

$$W_0 = \frac{\pi}{5} b_{IS}^2 J(\omega_I - \omega_S), \quad (1.27)$$

$$W_{1I} = \frac{3\pi}{10} b_{IS}^2 J(\omega_I), \quad (1.28)$$

$$W_{1S} = \frac{3\pi}{10} b_{IS}^2 J(\omega_S), \quad (1.29)$$

$$W_2 = \frac{\pi}{5} b_{IS}^2 J(\omega_I + \omega_S). \quad (1.30)$$

Kros-relaxační člen je v dipól-dipólově relaxujících systémech obecně nenulový. Důsledkem jeho přítomnosti je provázanost relaxačních rovnic pro spiny I a S. Díky této provázanosti má řešení rovnic (1.23) pro $\langle \widehat{I}_z \rangle$ a $\langle \widehat{S}_z \rangle$ tvar součtu dvou exponenciál. V určitých situacích však relaxace splňují mono-exponenciální charakter postulovaný Blochovými rovnicemi.

První situací je případ, kdy jsou obě jádra identická. To je například splněno v molekule vody, kde interagujícími jádry jsou jádra vodíku. V takovémto případě je pozorovatelnou veličinou pouze součet magnetizací a spin-mřížková relaxační rychlost je daná vztahem

$$R_1 = \frac{1}{T_1} = 2(W_1 + W_2), \quad (1.31)$$

kde $W_1 = W_{1I} = W_{1S}$.

Druhou situací je případ, kdy jeden ze spinů (například spin S) relaxuje jiným, mnohem rychlejším relaxačním mechanismem. Pak lze říct, že spin S zůstává v časové škále relaxace spinu I v termodynamické rovnováze. Tato situace nastává například v paramagnetických systémech, kde spinem S je elektron. Druhým příkladem je molekula vody s izotopem kyslíku ^{17}O , který má velký kvadrupólový moment a relaxuje rychle kvadrupólovou interakcí. Spinmřížková relaxační rychlost spinu I je pak rovna

$$\rho_I = \frac{1}{T_{1I}} = W_0 + 2W_{1I} + W_2. \quad (1.32)$$

Třetí situací je případ, kdy druhý spin saturujeme radiofrekvenčním polem na jeho rezonanční frekvenci. To jest měříme s takzvaným dekaplingem. Touto technikou převedeme problém na předchozí případ.

Ze Solomonovy teorie lze odvodit i vztahy pro spin-spinovou relaxační dobu T_2 . Zde si však vystačíme s předpokladem platnosti podmínek takzvaného extrémního zúžení, kdy $\omega^2\tau_c^2 \ll 1$. Za tohoto předpokladu pak platí

$$\frac{1}{T_1^{DD}} = \frac{1}{T_2^{DD}}, \quad (1.33)$$

kde index DD značí, že máme na mysli relaxační příspěvek od dipól-dipólové interakce.

1.3.4 Relaxace vlivem anizotropie chemického stínění

Tenzor chemického stínění je obecně anizotropní. Důsledkem je, že pokud molekula rotuje, pak v místě jádra vzniká lokální fluktuující magnetické pole. Toto pole způsobuje relaxaci jaderné magnetizace.

Příspěvky k relaxačním rychlostem od anizotropie chemického stínění (CSA) jsou dány vztahy [4]

$$\frac{1}{T_1^{CSA}} = \frac{2}{15} (\gamma B_0)^2 (\Delta\sigma)^2 \frac{\tau_c}{1+\omega_0^2\tau_c^2}, \quad (1.34)$$

$$\frac{1}{T_2^{CSA}} = \frac{1}{15} (\gamma B_0)^2 (\Delta\sigma)^2 \left(\frac{4}{3} \tau_c + \frac{\tau_c}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} \right). \quad (1.35)$$

Při splnění podmínek extrémního zúžení ($\omega^2 \tau_c^2 \ll 1$) pak máme

$$\frac{1}{T_1^{CSA}} = \frac{2}{15} (\gamma B_0)^2 (\Delta\sigma)^2 \tau_c, \quad (1.36)$$

$$\frac{1}{T_2^{CSA}} = \frac{1}{15} (\gamma B_0)^2 (\Delta\sigma)^2 \frac{7}{3} \tau_c. \quad (1.37)$$

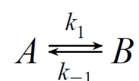
A ze vztahů (1.36) a (1.37) plyne

$$\frac{1}{T_2^{CSA}} = \frac{7}{6} \frac{1}{T_1^{CSA}}. \quad (1.38)$$

1.4 Chemická výměna

Chemická výměna je obecně jakýkoliv chemický děj, při kterém se sledované jádro dostane do stavu s jinou rezonanční frekvencí, nebo do stavu s jinou aparentní relaxační rychlostí – tím je myšlena relaxační bez příspěvku chemické výměny. Procesem chemické výměny může být například chemická reakce, konformační změna, tvorba molekulových komplexů a jiné. V NMR se za určitých podmínek chemická výměna projevuje jak ve spektrech, tak v relaxacích.

Pro ilustraci uvažme výměnu mezi dvěma stavy A a B s relativními populacemi p_A a p_B . Rychlost dopředné výměny popíšeme rychlostní konstantou prvního řádu k_1 a rychlost zpětné výměny označme k_{-1} .



Pro takovýto proces můžeme definovat rychlostní konstantu chemické výměny k_{ex} a korelační čas τ_{ex} , který charakterizuje dobu života jednotlivých stavů.

$$k_{ex} = \frac{1}{\tau_{ex}} = k_1 + k_{-1} = \frac{k_1}{p_B} = \frac{k_{-1}}{p_A}. \quad (1.39)$$

Rychlostní konstanty dopředné a zpětné výměny obecně závisí na teplotě. V řadě případů lze tuto závislost popsat empirickou Arrheniovou rovnicí

$$k(T) = A \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right), \quad (1.40)$$

kde A je před-exponenciální faktor, E_a je aktivační energie procesu, R je molární plynová konstanta a T je absolutní teplota.

Blochovy rovnice (1.2)-(1.4) je pro takovýto případ potřeba modifikovat tak, aby obsahovaly tok magnetizace mezi stavy A a B. Takto upravené rovnice se nazývají Bloch-McConnellovy [6]. Pro případ dvoustavové výměny mají tvar

$$\frac{dM_x^A}{dt} = \gamma(\mathbf{M}^A \times \mathbf{B}^A)_x - \frac{M_x^A}{T_2^A} - k_1 M_x^A + k_{-1} M_x^B, \quad (1.41)$$

$$\frac{dM_y^A}{dt} = \gamma(\mathbf{M}^A \times \mathbf{B}^A)_y - \frac{M_y^A}{T_2^A} - k_1 M_y^A + k_{-1} M_y^B, \quad (1.42)$$

$$\frac{dM_z^A}{dt} = \gamma(\mathbf{M}^A \times \mathbf{B}^A)_z - \frac{M_z^A - M_0^A}{T_1^A} - k_1 M_z^A + k_{-1} M_z^B, \quad (1.43)$$

$$\frac{dM_x^B}{dt} = \gamma(\mathbf{M}^B \times \mathbf{B}^B)_x - \frac{M_x^B}{T_2^B} - k_{-1} M_x^B + k_1 M_x^A, \quad (1.44)$$

$$\frac{dM_y^B}{dt} = \gamma(\mathbf{M}^B \times \mathbf{B}^B)_y - \frac{M_y^B}{T_2^B} - k_{-1} M_y^B + k_1 M_y^A, \quad (1.45)$$

$$\frac{dM_z^B}{dt} = \gamma(\mathbf{M}^B \times \mathbf{B}^B)_z - \frac{M_z^B - M_0^B}{T_1^B} - k_{-1} M_z^B + k_1 M_z^A. \quad (1.46)$$

\mathbf{M}^A a \mathbf{M}^B jsou magnetizace jader ve stavech A a B, M_x^A , M_y^A , M_z^A , M_x^B , M_y^B , M_z^B jsou složky magnetizace jader ve stavech A a B. \mathbf{B}^A a \mathbf{B}^B je magnetické pole v místě jader ve stavech A a B. T_1^A , T_1^B , T_2^A , T_2^B jsou spin-mřížkové a spin-spinové relaxační doby v jednotlivých stavech.

Chemickou výměnu popisují poslední dva členy každé rovnice. Ty popisují úbytek a nárůst magnetizace jednotlivých stavů chemickou výměnou. Zbylé členy jsou standardní Blochovy rovnice.

Ve spektru se chemická výměna projevuje v závislosti na její rychlosti. Je-li pomalá ($k_{ex} \ll \Delta\omega$, $\Delta\omega$ je rozdíl rezonančních frekvencí v jednotlivých stavech), tak ve spektru vidíme dvě úzké čáry, jejichž intenzita je určena populacemi jednotlivých stavů. S rostoucí rychlostí se tyto čáry postupně rozšiřují, až nakonec splynou v jednu širokou čáru. Ta se s dalším růstem rychlosti chemické výměny postupně zužuje.

Je-li výměna velmi rychlá, je rozšíření signálu ve spektru tak malé, že jej

nelze přímo pozorovat. Chemickou výměnu pak ale lze studovat pomocí NMR relaxací. Chemická výměna přispívá k aparentní spin-spinové relaxační době. Tento příspěvek je navíc – oproti ostatním relaxačním mechanismům – závislý na echo-čase v sekvenci CPMG.

Závislostí příspěvku chemické výměny na echo-čase se zabývá článek [7], ve kterém autoři Allerhand a Thiele zpracovali příslušnou teorii pro obecný N-stavový proces chemické výměny.

Pro tento N-stavový proces označme jako $\delta\omega_k$ chemický posun jader ve stavu k , který udáváme vůči radiofrekvenčnímu poli v $rad\ s^{-1}$. Dále necht u_k je x-komponenta magnetizace stavu k a v_k odpovídající y-komponenta. Jako p_k označme populaci stavu k .

Na začátku CPMG experimentu je celková magnetizace v rovnováze, je orientovaná ve směru osy z a má velikost M_0 . Bezprostředně po aplikaci $\pi/2$ -pulsu (v čase $DP1$) jsou složky magnetizace jednotlivých stavů rovny

$$u_k(DP1) = M_0 p_k, \quad (1.47)$$

$$v_k(DP1) = 0. \quad (1.48)$$

Následující π -puls se projeví tak, že komplexní magnetizaci

$$g_k = u_k + i v_k \quad (1.49)$$

převeďte na její komplexně-sdružený protějšek g_k^* . Chování g_k mezi pulsy pak popisuje McConnellůva rovnice

$$\frac{dg_k}{dt} = \sum_{j \neq k} (K_{kj} g_j - K_{jk} g_k) + [i\delta\omega_k - R_{2k}^0] g_k, \quad (1.50)$$

kde $R_{2k}^0 = 1/T_{2k}^0$ je spin-mřížková relaxační rychlost ve stavu k bez příspěvku od chemické výměny. A

$$K_{kj} = -p_j^{-1} \left(\frac{\partial p_j}{\partial t} \right)_k, \quad (1.51)$$

kde $(\partial p_j / \partial t)_k$ je rychlost změny populace p_j v důsledku přeskočení do stavu k . K_{kj} je tedy rychlostní konstanta prvního, nebo pseudo-prvního řádu.

Ve stavu rovnováhy musí platit

$$p_j K_{kj} = p_k K_{jk}. \quad (1.52)$$

Sadu rovnic (1.50) lze přepsat do maticové formy

$$\frac{d|g\rangle}{dt} = (\mathbf{K} - \boldsymbol{\rho} + i\boldsymbol{\omega}) |g\rangle, \quad (1.53)$$

kde složky vektoru $|g\rangle$ jsou magnetizace g_k . Mimodiagonální elementy matice \mathbf{K} jsou dány vztahem (1.51) a pro diagonální elementy platí

$$K_{jj} = -\sum_{j \neq k} K_{jk}. \quad (1.54)$$

Matice $\boldsymbol{\rho}$ a $\boldsymbol{\omega}$ jsou diagonální matice s elementy

$$\rho_{jk} = R_{2j}^0 \delta_{jk}, \quad (1.55)$$

$$\omega_{jk} = \delta\omega_j \delta_{jk}, \quad (1.56)$$

kde δ_{jk} je Kroneckerovo δ a R_{2j}^0 je spin-mřížková relaxační rychlost ve stavu j bez příspěvku od chemické výměny.

Pro celkovou spin-mřížkovou relaxační rychlost ($R_2 = 1/T_2$) pak podle [7] máme

$$R_2(t_{echo}) = -\frac{1}{2t_{echo}} \ln \lambda. \quad (1.57)$$

V tomto vztahu je zahrnut příspěvek chemické výměny a také příspěvky od ostatních interakcí.

λ je největší vlastní číslo hermitovské matice

$$\mathbf{L} = \exp(\mathbf{A}^\dagger t_{echo}) \exp(\mathbf{A} t_{echo}), \quad (1.58)$$

kde \dagger značí hermitovské sdružení a matice \mathbf{A} je rovna

$$\mathbf{A} = \mathbf{S}^{-1}(\mathbf{K} - \boldsymbol{\rho} + i\boldsymbol{\omega})\mathbf{S} = \mathbf{K}' - \boldsymbol{\rho} + i\boldsymbol{\omega}, \quad (1.59)$$

kde diagonalizační matice \mathbf{S} a diagonalizovaná matice \mathbf{K}' mají elementy

$$S_{jk} = p_j^{1/2} \delta_{jk}, \quad (1.60)$$

$$K_{jk}' = \left(\frac{p_k}{p_j}\right)^{1/2} K_{jk}. \quad (1.61)$$

Vlastních čísel λ_k je stejný počet jako je počet stavů. Dá se ukázat, že jsou všechna reálná a platí pro ně omezení $0 < \lambda_k \leq 1$. Příspěvek chemické výměny k relaxační rychlosti je tedy obecně multiexponenciální. Ovšem platí, že velké je jenom jedno, ostatní jsou podstatně menší. Relaxační rychlosti odpovídající těmto malým vlastním číslům jsou pak velké a v měřené křivce (1.18) se projeví pouze na samém začátku, přičemž velmi rychle vymírají, takže je nejsme schopni experimentálně postihnout.

Na závěr ještě uvedeme některé konkrétní tvary matice \mathbf{K} , které budou důležité pro tuto práci.

Předpokládáme-li, že pravděpodobnost přeskočení do stavu j je nezávislá na počátečním stavu, tak matice \mathbf{K} má podle [7] tvar

$$\mathbf{K} = k_{ex} \begin{pmatrix} (p_1 - 1) & p_1 & p_1 & \cdots & p_1 \\ p_2 & (p_2 - 1) & p_2 & \cdots & p_2 \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdots & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdots & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdots & \cdot \\ p_r & p_r & p_r & p_r & (p_r - 1) \end{pmatrix}. \quad (1.62)$$

Dále pro nás bude důležitý případ, kdy je naše sledované jádro vázané k jinému jádru, které má spin větší než $\frac{1}{2}$. Tedy uvažme systém $A_n X$, kde jádro X má spin $S > \frac{1}{2}$ a n ekvivalentních měřených jader A má spin $I = \frac{1}{2}$. V tomto případě je spektrum jader A rozštěpeno J -vazbou na $2S+1$ ekvidistantních čar, kde vzdálenost těchto čar je rovna skalární konstantě J -vazby J_{AX} . Vybereme-li si jednu konkrétní skupinu jader A_n , tak jejich aktuální rezonanční frekvence závisí na aktuální z -projekci spinu jádra X .

Jádra se spinem větším, než $\frac{1}{2}$ jsou tzv. kvadrupólová, a tudíž podléhají relaxaci kvadrupólovou interakcí. Je-li tato interakce silná, tak jádra X v jejím důsledku velmi rychle mění svůj spinový stav. Výsledkem jsou též rychlé změny rezonanční frekvence jader A_n . Přítomnost kvadrupólového jádra se pak v relaxaci jader A_n projeví de facto jako další „falešný“ proces chemické výměny.

Označíme-li jednotlivé stavy jader A_n indexem m jdoucím od $+S$ do $-S$ (m jsou tedy z-projekce spinu jádra X), pak lze tento „falešný“ proces chemické výměny popsat maticí \mathbf{K} pro jejíž nediagonální členy platí [7]

$$K_{m,m\pm 1} = K_{m\pm 1,m} = (2m \pm 1)^2 (S \pm m + 1)(S \mp m)\Omega, \quad (1.63)$$

$$K_{m,m\pm 2} = K_{m\pm 2,m} = (S \mp m)(S \mp m - 1)(S \pm m + 1)(S \pm m + 2)\Omega \quad (1.64)$$

Ostatní nediagonální členy jsou nulové. Diagonální členy jsou rovny

$$K_{m,m} = -(K_{m,m-2} + K_{m,m-1} + K_{m,m+1} + K_{m,m+2}). \quad (1.65)$$

Pro Ω platí

$$\Omega = \frac{3}{80} \frac{1}{S^2(2S-1)^2} \left(\frac{e^2 q Q}{\hbar}\right)^2 \left(1 + \frac{1}{3}\eta^2\right) \tau_c, \quad (1.66)$$

kde $e^2 q Q/\hbar$ a η jsou kvadrupólová vazebná konstanta a parametr asymetrie jádra X.

Dále, předpokládáme-li splnění podmínek extrémního zúžení, platí

$$R_1^X = 2(2S-1)(2S+3)\Omega, \quad (1.67)$$

kde R_1^X je spin-mřížková relaxační rychlost jader X.

1.5 Translační difúze

Molekuly, nebo obecně libovolné částice, v roztoku podléhají náhodnému pohybu, díky kterému v čase náhodně mění svoji pozici. Tento náhodný pohyb se nazýváme Brownovým pohybem, nebo též translační difúzí a lze jej charakterizovat translačním difúzním koeficientem D .

Pro translační difúzní koeficient D platí známý Stokes-Einsteinův vztah [8]–[10]

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r_H}, \quad (1.68)$$

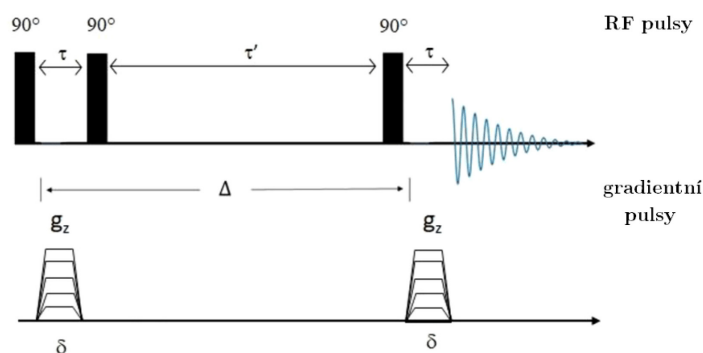
kde T je termodynamická teplota, η je viskozita kapaliny, k_B je Boltzmanova konstanta a r_H je hydrodynamický poloměr sledované molekuly (částice).

Na hydrodynamický poloměr r_H lze nahlížet jako na poloměr hypotetické tuhé koule, která má stejný difúzní koeficient jako studovaná částice. Prostřednictvím tohoto parametru tedy Stokes-Einsteinův vztah dává do souvislosti difúzní koeficient a velikost studované molekuly (částice).

Dolní mezí hydrodynamického poloměru r_H je van der Waalsův poloměr r_{vdW} , přičemž rovnost $r_H = r_{vdW}$ platí pouze pro kompaktní molekuly, které nemají přístupné dutiny [11]. Horní mezí hydrodynamického poloměru je krystalografický poloměr r_{XRay} . Pro určení krystalografického poloměru je potřeba znát objem jednotkové krystalografické buňky studované molekuly. Tento objem se podělí počtem molekul obsažených v buňce a ze získaného objemu se vypočte poloměr koule, jež má stejný objem [11].

1.5.1 Měření translační difúze pomocí NMR

Translační difúzní koeficient lze měřit pomocí NMR. Využívají se k tomu pulzní gradienty magnetického pole, které nám umožňují označit molekuly například v závislosti na jejich z-souřadnici.



Obrázek 1.5: Sekvence Stejskal-Tannerova stimulovaného spinového echa. τ je doba mezi prvním a druhým 90° pulsem, τ' je doba mezi druhým a třetím 90° pulsem, δ je doba trvání gradientního pulsu, g_z značí gradientní puls v ose z a Δ je doba mezi gradientními pulsy.

Jednou z nejjednodušších pulzních sekvencí pro měření translační difúze je Stejskal-Tannerovo stimulované spinové echo – viz. obrázek 1.5 [12]. Princip této sekvence je založen na aplikaci gradientu vnějšího magnetického pole o velikosti G . Tento gradient je aplikován ve směru statického magnetického pole B_0 . Během tohoto gradientního pulsu je magnetické pole ve směru osy z závislé na z -souřadnici a je dáno vztahem

$$B(z) = B_0 + G(z). \quad (1.69)$$

Důsledkem je, že Larmorova frekvence ω_0 daného jádra také závisí na z -souřadnici

$$\omega_0(z) = -\gamma(B_0 + G(z)). \quad (1.70)$$

Pozice daného jádra podél osy z je pak zakódována ve fázovém úhlu

$$\phi(z) = -\omega_0(z) \delta, \quad (1.71)$$

kde δ je doba trvání gradientního pulsu.

Po aplikaci druhého gradientního pulsu se refokusuje signál pouze těch jader, které za dobu mezi gradientními pulsy Δ nezmění svoji z -ovou polohu. Ostatní jádra do signálu nepřispějí. Pro detekovaný signál pak platí rovnice [12]

$$I(2\tau, G) = I(2\tau, 0) \exp[-\gamma^2 G^2 \delta^2 (\Delta - \frac{\delta}{3})], \quad (1.72)$$

kde $I(2\tau, G)$ je intenzita v čase 2τ s aplikovaným gradientním pulsem intenzity G , $I(2\tau, 0)$ je intenzita v čase 2τ bez aplikace gradientního pulsu a $\Delta - \frac{\delta}{3}$ je tzv. difúzní čas.

Difúzní koeficient D lze určit naměřením intenzity signálu pro několik hodnot intenzit gradientních pulsů G a následným fitem rovnicí (1.72).

1.6 Relaxivita MRI kontrastních látek

Zobrazování pomocí magnetické rezonance (MRI) je jednou z velmi přínosných neinvazivních diagnostických metod v současné medicínské praxi. Při

těchto vyšetřeních se často využívá kontrastních látek, které zvyšují citlivost zobrazování v některých tkáních.

Princip účinku kontrastních látek spočívá ve zvýšení relaxačních rychlostí jader ^1H molekul vody v tkáních. Účinek kontrastních látek na relaxační rychlosti (R_1 a R_2) se popisuje pomocí takzvané relaxivity r_i která je definována vztahem

$$R_{i,KL} = r_i c_{KL} + R_{i,H_2O}, i = 1,2, \quad (1.73)$$

kde c_{KL} je molární koncentrace kontrastní látky, $R_{i,KL}$ je spin mřížková, resp. spin-spinová relaxační rychlost jader ^1H v molekulách vody za přítomnosti kontrastní látky a R_{i,H_2O} je spin mřížková, resp. spin-spinová relaxační rychlost jader ^1H v molekulách vody bez přítomnosti kontrastní látky.

Nejčastěji se jako kontrastní látky používají sloučeniny vykazující obecně magnetické vlastnosti (paramagnetické, superparamagnetické,...). Nejznámějšími kontrastními látkami jsou v současné době komplexy chelátů obsahující paramagnetický iont gadolinia Gd^{3+} (např. Gd-DOTA). Tyto magnetické látky vytvářejí lokální nehomogenity vnějšího statického pole. V důsledku toho mění rezonanční frekvenci jader ^1H ve svém okolí a tudíž mění i jejich relaxační rychlosti.

V této práci se zaměříme na superparamagnetické nanočástice, které ovlivňují především spin-spinovou relaxační rychlost. Příspěvek superparamagnetických částic k spin-spinové relaxační rychlosti závisí na velikosti charakteristického difúzního korelačního času molekuly vody

$$\tau_D = \frac{d^2}{4 D_{H_2O}} \quad (1.74)$$

v porovnání se změnou Larmorovy rezonanční frekvence jader ^1H na rovníku částice

$$\Delta\omega = \frac{1}{3} \mu_0 \gamma M_V. \quad (1.75)$$

Význam veličin ve vztazích (1.74) a (1.75) je následující: d je průměr magnetických částic, D_{H_2O} je samo-difúzní koeficient molekul vody, μ_0 je permeabilita vakua, γ je gyromagnetický poměr jader ^1H a M_V je objemová magnetizace částic.

Platí-li Redfieldova podmínka $\tau_D \ll (\Delta\omega)^{-1}$, pak se nacházíme v takzvaném režimu „pohybového středování“ (MAR, z anglického „motional averaging regime“). V tomto režimu se molekuly vody v okolí částice pohybují velmi rychle a cítí širokou škálu lokálních magnetických polí, které jsou efektivně časově středovány. Tento režim platí pro malé částice a pro spin-spinovou relaxační rychlost jader ^1H molekul vody v něm platí vztah [13]–[15]

$$R_{2,MAR} = \frac{16}{45} f \tau_D (\Delta\omega)^2, \quad (1.76)$$

kde f je objemový podíl částic v suspenzi.

Roste-li velikost částic, pak se molekuly vody v jejich okolí začínají jevit jako stále více a více statické a difúze molekul vody není dostatečně rychlá, aby střeďovala variace lokálního magnetického pole. Pokud platí $\tau_D \gg (\Delta\omega)^{-1}$, pak se nacházíme v režimu „statického rozfázování“ (SDR, z anglického „static dephasing regime“) [16], [17]. Relaxační rychlost v tomto režimu nabývá svého maxima, které nezávisí na samo-difúzi vody a je přímo úměrné rozfázování způsobeném rozptylem Larmorových frekvencí jader ^1H [18]

$$R_{2,SDR} = \frac{2\pi}{3\sqrt{3}} f \Delta\omega. \quad (1.77)$$

Rovnice (1.77) zanedbává vliv refokusujících pulsů. Ve skutečnosti tato rovnice platí pro příčnou relaxaci signálu volné precese, která se běžně označuje R_2^* . V oblasti $5/\Delta\omega < \tau_D < 20/\omega$ však představuje dobrou aproximaci [19]. Nicméně pokud nastane případ, kdy $\tau_D > t_{echo}$, kde t_{echo} je echo-čas v sekvenci CPMG, pak je třeba pracovat s modelem částečného refokusování (PRM, z anglického „partial refocusing model“) [14].

2 Chemická výměna ve směsích lehké a těžké vody

2.1 Motivace a cíle

Voda je jednou z nejvíce zastoupených látek na planetě Zemi a má zcela zásadní význam pro život. Struktura molekuly vody je velmi jednoduchá. Skládá se ze dvou atomů vodíku kovalentně vázaných na atom kyslíku. Nelze ovšem říct, že by voda jako taková byla jednoduchou sloučeninou.

Mimo jiné je voda zajímavá řadou anomálních vlastností, přičemž původ řady z nich nebyl dodnes přesvědčivě objasněn. Velmi známé je maximum hustoty v okolí 4 °C, ale je zde i řada méně známých anomálií – podle [20] má voda přes 70 anomálních vlastností. Mezi ně například patří anomálie izotermické kompresibility či anomálie specifické tepelné kapacity při konstantním tlaku.

Obecně se předpokládá, že tyto unikátní vlastnosti jsou důsledkem strukturálních a dynamických vlastností molekulárních sítí pospojovaných vodíkovými můstky, jichž voda tvoří velmi mnoho. Ovšem konkrétní představa o takovéto supramolekulární struktuře a její dynamice je stále předmětem debat a dosud se vyvíjí [21],[22].

Snaze objasnit tyto anomální vlastnosti byla v minulosti věnována řada jak experimentálních, tak i teoretických studií v rámci nichž byla navržena řada hypotéz. Nicméně původ těchto anomálií je stále předmětem debat a od jeho úplného pochopení jsme stále daleko. Aktuální hypotézy lze rozdělit do tří skupin [23],[24]:

1. „stability-limit scenario“,
2. „singularity-free scenario“,

3. „second-critical-point scenario“.

„Stability-limit scenario“ předpokládá existenci retrakční spinodální křivky v PT diagramu a termodynamické anomálie přisuzuje blízkosti k této křivce.

„Singularity-free scenario“ spojuje anomálie s lokálními fluktuacemi hustoty se souhrou mezi objemovým chováním a chováním entropie, které vysvětlují anomální nárůst funkce odezvy bez přítomnosti singularit.

„Second-critical-point scenario“. Tato teorie předpokládá existenci fázové ko-existenční křivky přechodu prvního řádu mezi dvěma strukturními typy kapalné vody (LDL - „low density liquid“ a HDL - „high density liquid“), která končí v kritickém bodě existujícím v metastabilním stavu. Termodynamické anomálie tento model přisuzuje kritickým jevům spojených s tímto kritickým bodem.

Konkrétní možná podoba LDL a HDL struktur byla navržena M. Chaplinem [25]. Existují i experimentální náznaky existence těchto struktur, které byly pozorovány rentgenovou spektroskopií [26]. Ovšem o rychlosti konverze mezi těmito dvěma strukturami a o době života takovýchto struktur konkrétní představy chybí. Pouze je známo, že doba života vodíkové vazby ve vodě je v řádu desítek pikosekund [27], z čehož ovšem nutně neplyne, že doba života celého clusteru je srovnatelná.

Jaderná magnetické rezonance (NMR) vysokého rozlišení je technika, která má řadu nástrojů pro studium dynamických procesů v časové škále od pikosekund po sekundy.

Procesy v oblasti piko- až mikrosekund, což jsou především molekulární rotace a procesy velmi rychlé chemické výměny (v našem případě odpovídající době života jednotlivých vodíkových vazeb), lze studovat prostřednictvím spin-mřížkové relaxace.

Procesy chemické výměny (konformační změny, tvorba molekulových komplexů, vznik a rozpad vodíkově vázaných clusterů, ...) v milisekundové časové škále lze studovat prostřednictvím spin-spinové relaxační doby, zejména díky její závislosti na výkonu příčného radiofrekvenčního pole. Možnými implementacemi je závislost příčné relaxační doby na nastavení echočasu v sekvenci mnohonásobného spinového echa (CPMG) anebo závislost podélné relaxační doby v rotující soustavě souřadné ($T_{1\rho}$) na intenzitě příčného pole.

Zajímavé je, že NMR relaxace vody byly hojně studovány v 50. - 60. letech minulého století [28],[29], ale poté došlo k útlumu těchto studií, aniž by přinesly přesvědčivé závěry.

Například Meiboom [29] měřil závislost $T_{1\rho}$ na intenzitě spin-locku, kterou lze studovat chemickou výměnu v milisekundové časové škále. Naměřená data interpretoval tak, že se jedná o výměnu vodíků mezi molekulami H_2O s izotopy kyslíku ^{16}O a ^{17}O zprostředkovanou ionizací vody – tedy přeskoky protonů mezi molekulami H_2O , H_3O^+ a OH^- . Tato interpretace je však velmi netypická, neboť autor vidí odlišnost stavů (mezi kterými dochází k výměně) danou odlišností J-vazby v obou izotopomerech (92 Hz v příp. ^{17}O , 0 Hz v příp. ^{16}O). V současné době se podobná pozorování standardně interpretují jako chemická výměna mezi stavy s odlišným chemickým posunem.

Nutno ovšem podotknout, že samotné měření NMR dat na vzorcích vody představuje velkou výzvu. Je třeba se vypořádat s vysokou intenzitou signálu daného vysokou koncentrací jader vodíku ve vzorku – pro 100 % H_2O je to přibližně 110 mol l^{-1} . S tím souvisí jev zvaný radiační tlumení, který negativně ovlivňuje měření. Další experimentální obtíž, se kterou se autor této práce setkal již v minulosti, je samotná příprava vzorku.

Dále i interpretace NMR měření je velkou výzvou, a to zejména vzhledem k

nutnosti využití jader vodíku, na která působí vždy řada magnetických interakcí od okolních jader vodíku, a navíc podléhají rychlé chemické výměně.

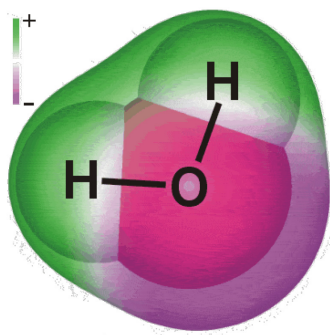
Cíle této práce pro téma chemické výměny ve směsích H_2O a D_2O jsou proto následující:

- Propracovat metodiku přípravy vzorků směsí H_2O a D_2O a metodiku měření relaxačních dob na takovýchto vzorcích.
- Připravit finální vzorky.
- Na připravených vzorcích naměřit sérii relaxačních dat postihujících chemickou výměnu.
- Interpretovat naměřená data zejména s cílem ověřit originální Meiboomovu interpretaci [29] a případně zpřesnit či doplnit jeho výsledky.

2.2 Směsi lehké a těžké vody

Řadu informací o vodě lze nalézt na internetových stránkách prof. Martina Chaplina z London South Bank University. [20] Zde uvedeme pouze stručný přehled informací, které jsou důležité pro tuto práci.

2.2.1 Struktura molekuly vody



Obrázek 2.1: Molekula vody [20].

Molekula vody se skládá ze dvou atomů vodíku a jednoho atomu kyslíku. V těžké vodě jsou místo atomů vodíku atomy deuteria.

V molekule se nachází celkem 8 valenčních elektronů. Dva páry formují dvě kovalentní vazby mezi kyslíkem a vodíkem. Zbylé dva páry jsou volné. Tyto elektronové páry se vzájemně odpuzují a vzniká přibližně tetrahedrální uspořádání elektronové hustoty kolem atomu kyslíku. Důsledkem je tvar molekuly, který připomíná písmeno V.

Každá molekula je celkově elektricky neutrální, ale je polární. Na atomech vodíku je lokalizován částečný kladný náboj, na atomu kyslíku je lokalizován částečný záporný náboj. V důsledku tohoto je voda schopna tvořit vodíkové vazby (můstky) a také má nenulový elektrický dipólový moment.

Z ab-initio výpočtů [30] s bází 6-31G** vychází délka O-H vazby 0,957854 Å a vazebný úhel mezi atomy vodíku 104.50°. V případě těžké vody je délka O-D vazby 0,957835 Å a vazebný úhel 104.49°.

Van der Waalsův poloměr molekuly vody je přibližně 1,6 Å. [20]

2.2.2 Čistota a složení vody

Normální čistá kapalná voda obsahuje řadu molekul a iontů [31]. Například H₂O, HDO ($\approx 10^{-2}$ %), H₃O⁺ a OH⁻ ($\approx 10^{-6}$ %), H₂O₂ ($\approx 10^{-7}$ %), CO₂ ($\approx 10^{-4}$ %), O₂ ($\approx 10^{-4}$ %), a N₂ ($\approx 10^{-3}$ %). Voda dle vídeňského standardu průměrné mořské vody (VSMOW2) obsahuje 99,984426 atomárních % ¹H, 0,015574 atomárních % ²H, $1,85 \times 10^{-15}$ atomárních % ³H, 99,76206 atomárních % ¹⁶O, 0,03790 atomárních % ¹⁷O a 0,20004 atomárních % ¹⁸O [32].

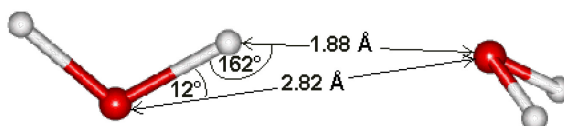
2.2.3 Vodíkové vazby

Kapalná voda tvoří přibližně stejný počet vodíkových vazeb jako kovalentních vazeb. Vodíková vazba je důsledkem elektrostatické interakce částečně kladně nabitého vodíku jedné molekuly s částečně záporně nabitým kyslíkem sousední molekuly. Přesněji je vodíková vazba ve vodě z cca 10 % kovalentní a z cca 90 % je tvořena elektrostatickou interakcí mezi dvěma dipóly[33].

Vodíková vazba je silnější, než van der Waalsova interakce. Důsledkem je, že molekuly vody jsou o cca 15 % blíže sobě než v případě kapaliny, ve které by mezi molekulami byly pouze van der Waalsovy interakce. Je to také důvod, proč je voda za normálních podmínek kapalná. Oproti tomu jsou však vodíkové vazby směrové, čímž se snižuje počet molekul v okolí dané molekuly na cca 4.

Vytvořením jedné vodíkové vazby si molekula zvýší schopnost vytvořit další vodíkovou vazbu. V molekule, jež je donorem vodíku, totiž dojde ke zvýšení elektronové hustoty v oblasti jejích volných párů. Tím se zvýší její schopnost přijmout další vodík do vodíkové vazby. Podobně v molekule, jež je akceptorem vodíku, dojde ke snížení elektronové hustoty na jejích vodících a na jejím zbývajícím volném páru. Tím se zvyšuje její schopnost být donorem vodíku, nicméně schopnost být akceptorem dalšího vodíku se sníží. Důsledkem těchto změn elektronové hustoty je jednak kooperativita (přijetí vodíku zvyšuje schopnost být donorem vodíku) i antikooperativita (přijetí vodíku snižuje schopnost přijmout druhý). Kooperativní tvorbou vodíkové vazby se prodlouží kovalentní vazba vodíku a kyslíku ale také se zkrátí vodíkové vazby s druhou molekulou a zkrátí vzdálenosti mezi atomy kyslíku obou molekul [34],[35].

Důsledkem změny délky vodíkové vazby je i změna síly vodíkové vazby. Síla vodíkové vazby je také závislá také na tom, zda je vazba přímá. Kapalná voda je směsí krátkých, přímých a silných vodíkových vazeb a dlouhých, ohnutých a slabých vodíkových vazeb s řadou mezistavů mezi těmito dvěma extrémy.



Obrázek 2.2: Průměrná struktura dimeru vody [20].

Průměrná struktura dimeru vody při teplotě 4 °C je ukázána na obrázku 2.2. Tato struktura byla získána ze studií magnetického stínění protonů ve

vodě. Délka vodíkové vazby je závislá na teplotě a tlaku, zatímco délka kovalentní O-H vazby na teplotě a tlaku závisí podstatně méně [36].

Obecně se předpokládá, že se v kapalně vodě vytváří molekulární clustery. O struktuře a dynamice těchto clusterů se však příliš mnoho neví. Existují ab initio výpočty struktur izolovaných clusterů různých velikostí (např. [37]), nicméně struktura a dynamika reálných clusterů je stále předmětem diskusí [20].

2.2.4 Ionizace molekul vody

Ionizací vody je děj, při kterém se molekuly H_2O rozpadají na ionty H^+ a OH^- . Příčinou tohoto exotermického děje jsou fluktuace elektrického pole mezi sousedícími molekulami, které jsou způsobeny molekulárními libracemi. Většinou dochází k velmi rychlé rekombinaci takto vzniklých dvojic iontů H^+ a OH^- . Občas však (při 25°C jednou za cca 8 hodin na molekulu) dojde k oddělení těchto iontů. Iont H^+ pak okamžitě hydratuje za vzniku iontu H_3O^+ . Ionty H_3O^+ a OH^- jsou stabilizovány tvorbou vodíkových vazeb a solvatací.

Proces ionizace vody popisuje chemická rovnice



Rovnovážná koncentrace iontů H_3O^+ se udává pomocí pH

$$pH = -\log_{10}[\text{H}_3\text{O}^+], \quad (2.2)$$

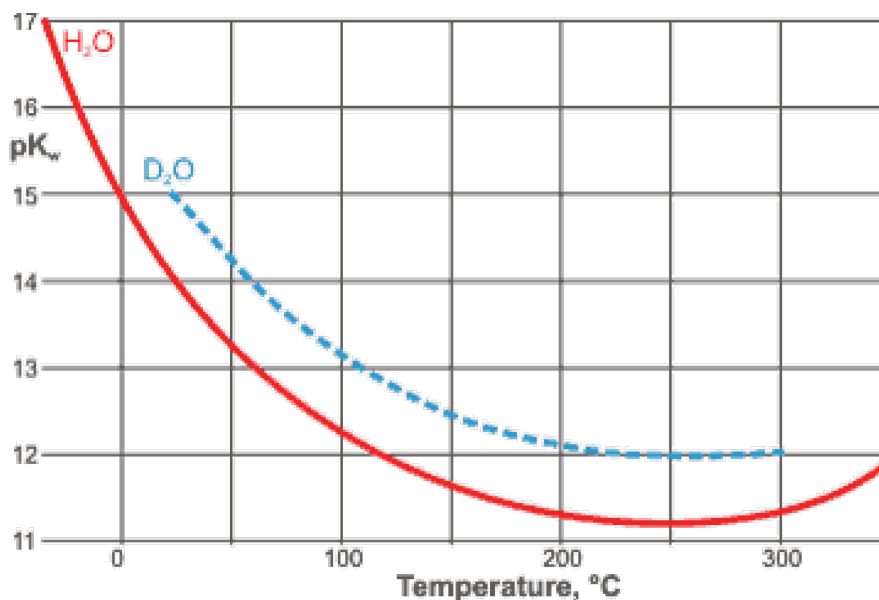
kde hranaté závorky značí molární koncentraci. Za standardních podmínek má voda $pH = 7$.

Dále se pro popis ionizace zavádí iontový součin

$$K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-]. \quad (2.3)$$

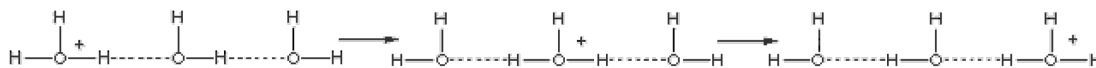
Iontový součin je závislý na teplotě a tlaku, přičemž tato závislost se liší pro lehkou a těžkou vodu. Z obrázku 2.3 ($pK_W = -\log_{10}K_W$) je vidět, že těžká voda ionizuje méně. To je důsledkem toho, že mezi deuteriem a kyslíkem je

silnější vazba než mezi vodíkem a kyslíkem. Ta je silnější z důvodu, že energie nulových kmitů těžké vody je nižší než u lehké vody. Deuterium je totiž těžší než vodík [38].

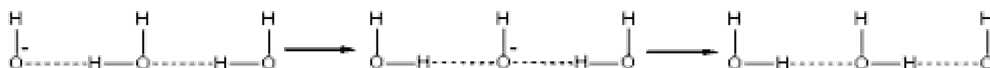


Obrázek 2.3: Závislost pK_w lehké a těžké vody na teplotě [20].

2.2.5 Difúze iontů H_3O^+ a OH^-



Obrázek 2.4: Grotthussův mechanismus pro difúzi iontu H_3O^+ [20].



Obrázek 2.5: Grotthussův mechanismus pro difúzi iontu OH^- [20].

Protony a hydroxidové ionty ve vodě podléhají velmi rychlé difúzi. Přičemž difúze protonů je přibližně dvakrát rychleji než difúze hydroxidových iontů. Tento závěr byl však učiněn z měření driftové pohyblivosti iontů H^+ a OH^- v elektrickém poli 100 V m^{-1} . Skutečný difúzní pohyb těchto iontů tedy může být menší.

Mechanismus, popisující difúzi těchto iontů se nazývá Grotthussův mecha-

nismus. Podstatou tohoto mechanismu jsou termálně indukované přeskoky protonů mezi molekulami přes vodíkovou vazbu (viz. obr. 2.4 a 2.5) [39], [40].

2.2.6 Rovnováha molekul H_2O , D_2O a HDO

Důsledkem Grotthusova mechanismu je, že se ve směsi H_2O a D_2O po čase ustanoví rovnováha molekul H_2O , D_2O a HDO .

Za předpokladu, že v rovnováze je rozdělení atomů vodíku a deuteria v jednotlivých pozicích na kyslících zcela náhodné, pak lze ze statistiky odvodit následující vztahy pro molární zlomky molekul H_2O , D_2O a HDO

$$x_{\text{H}_2\text{O}} = x_0^2, \quad (2.4)$$

$$x_{\text{HDO}} = 2x_0(1 - x_0), \quad (2.5)$$

$$x_{\text{D}_2\text{O}} = (1 - x_0)^2, \quad (2.6)$$

kde x_0 je počáteční namíchaný molární zlomek molekul H_2O .

Výsledky práce [41] ukazují, že je mírně upřednostněna tvorba molekul H_2O a D_2O nad molekulami HDO . Například pro $x_0 = 0,5$ vychází $x_{\text{H}_2\text{O}} = x_{\text{D}_2\text{O}} = 0,254$ a $x_{\text{HDO}} = 0,491$. Zatímco podle vztahů (2.4)-(2.6) vychází $x_{\text{H}_2\text{O}} = x_{\text{D}_2\text{O}} = 0,25$ a $x_{\text{HDO}} = 0,5$.

2.2.7 Relaxace vlivem dipól-dipólové interakce ve vzorcích vody

Vztahy uvedené v kapitole 1.3.3 lze velmi dobře použít v případě, kdy se interagující jaderné momenty nacházejí uvnitř jedné molekuly, to jest nedochází k mezimolekulárním interakcím.

Toto je splněno například pro relaxaci jádra ^{13}C v uhlovodících. Jelikož přirozené zastoupení jádra ^{13}C je 1,11%, tak můžeme předpokládat, že interakčními partnery jsou jádra ^1H v nejbližším okolí tohoto jádra ^{13}C . Mezimolekulární interakci můžeme většinou zanedbat, protože dipól-dipólová interakce

klesá s třetí mocninou vzdálenosti a jádro ^{13}C má přibližně 4-krát menší gyromagnetický poměr než jádro vodíku. Relaxace jsou v takovémto případě cenným zdrojem informací o rotačních pohybech molekul a o intramolekulární dynamice.

V případě vody je ale situace komplikovanější. Molární koncentrace vody je $55,3 \text{ mol l}^{-1}$ a molární koncentrace jader vodíků v ní je dvojnásobná. Jedná se tedy o velmi koncentrované médium. V interakčním dosahu daného jádra je nejen sousední jádro vodíku přímo vázaného v molekule vody, ale i mnoho jader z okolních molekul.

Kromě intramolekulární interakce (tj. interakce mezi jádry vodíků přímo vázaných v molekule) tedy ve vzorcích směsí lehké a těžké vody nabývá významu i mezimolekulární interakce. Ta je spojena především s molekulární translací.

Měřením relaxační rychlosti dostaneme pouze superpozici intramolekulárního a mezimolekulárního příspěvku. Separátně tyto příspěvky změřit nelze a zbývá nám pouze možnost jeden z těchto příspěvků semiempiricky odhadnout.

Odhad intramolekulárního příspěvku zpracovali autoři Bloembergen, Purcell a Pound v práci [42]. Označíme-li vzdálenost mezi protony v molekule vody jako r_{HH} , pak podle [42] pro intramolekulární příspěvek platí vztah

$$R_1^{Intra} = \frac{3}{10} \frac{\gamma_H^4 \hbar^2}{r_{HH}^6} \left(\frac{\tau_c}{1 + \omega_H^2 \tau_c^2} + \frac{2\tau_c}{1 + 4\omega_H^2 \tau_c^2} \right), \quad (2.7)$$

který v podmínkách extrémního zúžení ($\omega^2 \tau_c^2 \ll 1$) přejde do tvaru

$$R_1^{Intra} = \frac{3}{10} \frac{\gamma_H^4 \hbar^2}{r_{HH}^6} 3\tau_c. \quad (2.8)$$

Při odhadu korelačního času τ_c autoři vyšli z Debyeovi teorie dielektrické disperze v polárních rozpouštědlech a uvedli pro něj vztah

$$\tau_c = \frac{4\pi\eta a^3}{3k_B T}, \quad (2.9)$$

kde a je poloměr koule, kterou aproximujeme molekulu vody, η je viskozita

vody, k_B je Boltzmanova konstanta a T je termodynamická teplota.

Výše uvedené vztahy platí pro vzorek čisté lehké vody. V případě směsi lehké a těžké vody je potřeba do vztahu (2.9) dosadit viskozitu dané směsi místo viskozity vody.

2.2.8 Relaxace vlivem anizotropie chemického stínění ve vzorcích vody

Podobně jako v případě dipól-dipólové interakce je třeba příspěvek anizotropie chemického stínění k celkové relaxaci ve vzorcích směsi lehké a těžké vody odhadnout.

Odhad tohoto příspěvku lze nalézt v článku [43]. Autoři Modig a Halle v něm zavedli parametr anizotropie chemického stínění středovaný přes vibrační stavy $\langle \Delta\sigma \rangle_V$, který dosadili do vztahu (1.36). Pro tuto veličinu našli experimentální vztah

$$\langle \Delta\sigma \rangle_V = 28,64 - 0,0432t, \quad (2.10)$$

kde t je teplota ve $^{\circ}\text{C}$. $\langle \Delta\sigma \rangle_V$ pak vychází v jednotkách *ppm*.

Korelační čas τ_c v (1.36) nahradili efektivním korelačním časem τ_R^{eff} , pro nějž našli vztah

$$\tau_R^{eff} = 480 \eta(T) \left(\frac{1}{T} + 9,20 \times 10^{-4} \right), \quad (2.11)$$

kde η je viskozita dosazovaná v *cP* a T je teplota v *K*. Efektivní korelační čas pak vyjde v pikosekundách.

2.3 Experimentální část

2.3.1 Radiační tlumení

Důležitým aspektem, který negativně ovlivňuje NMR měření na vzorcích vody a těžké vody je radiační tlumení. Tento jev se vyskytuje při měření na vzorcích s velmi silným NMR signálem. Voda velmi silný signál má, neboť má

velmi velkou molární koncentraci atomů ^1H – 110,6 mol l^{-1} . Popisem radiačního tlumení se zabývá práce [44].

Podstata radiačního tlumení je následující. Mějme rovnovážnou magnetizaci \mathbf{M}_0 orientovanou ve směru statického magnetického pole \mathbf{B}_0 . Vychýlíme-li tuto magnetizaci radiofrekvenčním pulsem o úhel θ , pak magnetizace začne konat precesní pohyb pod tímto úhlem kolem směru statického pole (relaxaci nyní pro jednoduchost neuvažujeme). Důsledkem je, že nám v rovině xy rotuje složka magnetizace o velikosti $M_0 \sin\theta$. Tato rotace příčné složky magnetizace indukuje v rezonančním obvodu sondy proudy, které vytvářejí dodatečné radiofrekvenční pole \mathbf{B}_r (pole radiačního tlumení), které působí na soubor spinů ve vzorku. Toto pole leží v rovině xy a je kolmé na projekci magnetizace do roviny xy . Jeho velikost je daná vztahem

$$B_r = 2\pi Q f M_0 \sin\theta, \quad (2.12)$$

kde Q je faktor kvality charakterizující rezonanční obvod sondy a f je faktor plnění udávající vyplnění cívky vzorkem.

Přítomnost tohoto pole radiačního tlumení lze zahrnout to Blochových rovnic [44]. Vzniklá soustava je však natolik složitá, že ji nelze analyticky řešit. Lze to pouze za velmi omezujících předpokladů – například “vypneme-li” spinmřížkovou relaxaci (viz. např. [44], [45]). Proto je tedy nutné radiační tlumení potlačit.

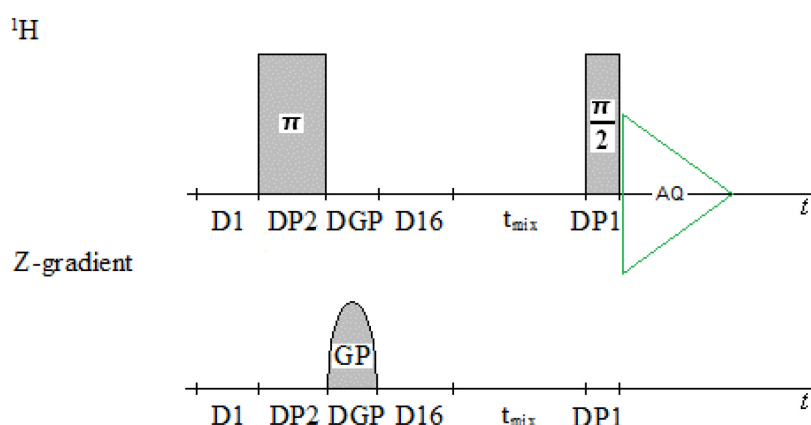
Radiační tlumení a metody jeho potlačení byly v této práci podrobně studovány a při finálních měřeních byly použity následující metody.

Byly použity základní metody, které jsou odvislé od vztahu (2.12) – viz. například [46]–[48]. Pro měření byla použita QNP sonda, jejíž rezonanční obvod byl zatlučen pomocí přidaného odporu. Tím byl snížen faktor kvality Q . Dále místo standardních tenkostěnných NMR kyvet byly použity tlustostěnné kyvety. Standardní 5 mm kyveta má vnitřní průměr 4,2 mm, u tlustostěnné je to

2,16 mm. Tím byl snížen faktor plnění f přibližně 3,8-krát. Ještě tenčí, například kapilární kyvety nebylo možné použít. Důvodem jsou vysoké požadavky na čistotu vzorku, které vyžadovaly speciální metody přípravy vzorků, které použití kapilárních kyvet neumožnily.

Dále byly použity speciální pulsní sekvence určené pro potlačení radiačního tlumení.

Radiační tlumení se při měření T_1 metodou Inversion Recovery projevuje tím, že dodatečné pole radiačního tlumení sklápí magnetizaci směrem k rovnovážné poloze. Spinový systém tak dospěje do rovnováhy rychleji, než by odpovídalo spin-mřížkové relaxaci [49].



Obrázek 2.6: Sekvence Inversion Recovery s gradientním pulsem.

$D1$ je opakovací doba, $DP1$ je délka $\pi/2$ -pulsu, $DP2$ je délka π -pulsu, DGP je délka gradientního pulsu, $D16$ je čekací doba po gradientním pulsu, t_{mix} je směšovací perioda a AQ značí akvizici dat.

Tento projev lze potlačit modifikací sekvence Inversion Recovery podle obrázku 2.6 [50]. V této sekvenci je za π -pulsem aplikován gradientní puls v ose z . Tento gradientní puls rychle rozfázuje příčné složky magnetizace, čímž se projekce magnetizace v rovině xy středuje k nule. Tím dojde k potlačení radiačního tlumení.

V případně měření T_2 byla použita standardní sekvence CPMG jež je sama

za určitých okolností schopna radiační tlumení potlačit [51]. Na radiační tlumení lze v jednoduchosti nahlížet tak, že jde o „pulsní jev“. Nejprve se v rezonančním obvodu volnou precesí magnetizace naindukuje dostatečné radiofrekvenční pole. To sklopí magnetizaci o nějaký úhel. Pak následuje další volná precese magnetizace a vše se opakuje. Tomuto „pulsování“ lze přiřadit charakteristický čas t_{RD} . Je-li echo-čas v sekvenci CPMG malý ve srovnání s t_{RD} , pak sekvence CPMG radiační tlumení potlačí podobně jako vliv nehomogenit statického pole:

Prvním $\pi/2$ -pulesem se magnetizace sklopí do roviny xy . Během doby $t_{echo}/2$ dojde ke sklopení magnetizace radiačním tlumením někam mezi rovinu xy a osu z . Následný π -puls magnetizaci otočí okolo osy y o úhel π . Během další vývojové doby $t_{echo}/2$ dojde ke sklopení magnetizace radiačním tlumením zpět do roviny xy . Amplituda magnetizace v rovině xy je zkrácena T_2 relaxací. S dalšími π -pulsy se vše opakuje.

Drobnou komplikací je to, že t_{RD} je obtížné určit. Proto je třeba při měření závislosti T_2 na echo-čase v delších echo-časech dbát obezřetnosti. Je třeba kontrolovat naměřené závislosti intenzity signálu spinového echa na počtu ech (1.18). Ovlivnění radiačním tlumením lze rozpoznat tak, že fit závislosti (1.18) v datech „nesedí“, protože data pro velké počty ech nekonvergují k nule [51].

Výše popsanými použitými metodami potlačení radiačního tlumení bylo dosaženo možnosti měření relaxačních parametrů na vzorcích o koncentraci H_2O do 30 %.

2.3.2 Metoda čištění vzorků

Dalším důležitým aspektem, kterému je potřeba věnovat pečlivou pozornost je čistota připravených vzorků. V kapitole 2.2.2 bylo uvedeno, že voda obsahuje řadu příměsí, které mohou ovlivnit výsledky měření relaxačních dob. Například je ve vodě rozpuštěn kyslík (O_2). Ten je paramagnetický a zkracuje relaxační

doby jader ^1H , neboť k nim přispívá paramagnetickou interakcí. Dále se ve vodě rozpouští oxid uhličitý (CO_2). Na jeho koncentraci závisí hodnota pH vzorku, přičemž pH může ovlivňovat rovnováhu chemických procesů.



Obrázek 2.7: Destilační aparatura z křemenného skla. Aparatura se skládá z Erlenmeyerovy baňky, která je umístěna ve vyhřívaném duralovém bloku. Následuje nástavec, který vede přímo do kapiláry pomocí níž se destiluje přímo do kyvet. Použití chladiče nebylo při destilaci potřeba. Naopak páry kondenzovaly v místech, kde to nebylo žádoucí. Proto nástavec a hrdlo baňky byly z vnější strany vyhřívány odporovým topením (pod alobalem).

Metody čištění vzorků byly v této práci podrobně studovány. Na základě těchto studií byl navržen následující postup přípravy vzorků:

Pro přípravu vzorků byla použita deionizovaná H_2O pořízená na fyziologickém Ústavu Akademie Věd v Praze. Její konduktivita při odběru byla

$0,05 \mu S cm^{-1}$ (při $25 \text{ }^{\circ}C$). Ta byla skladována v křemenných lahvích o objemu 250 ml . Dále byla pořízena nízko-paramagnetická D_2O od Cambridge Isotope Laboratories, Inc. Izotopové zastoupení deuteria v této D_2O podle certifikace výrobce bylo $99,89 \%$. Výrobce udaná konduktivita byla $0,5 \mu S cm^{-1}$ (při $25 \text{ }^{\circ}C$). Tato D_2O byla skladována v dodaných $100g$ plastových lahvích.

Pro čištění zásobních roztoků před smícháním byla navržena destilační aparatura z křemenného skla (viz. obr. 2.7). Ta byla na konci zakončena přibližně $1,5 \text{ mm}$ tlustou kapilárou, tak aby bylo možné destilovat přímo do kyvet. Aparatura byla umístěna do rukavicového boxu s dusíkovou atmosférou s mírným přetlakem.

Zásobní roztoky byly dvakrát destilovány pod bodem varu. Konkrétně při $98 \text{ }^{\circ}C$. Nižší teplotu neumožnila časová náročnost procesu.

Před každou finální destilací byla aparatura pročištěna prodestilováním velkého množství daného zásobního roztoku. Nejprve bylo prodestilováno a vyhozeno přibližně 50 ml daného zásobního roztoku. Poté bylo nadestilováno přibližně 100 ml prvního destilátu do křemenné destilační baňky. Poté bylo prodestilováno a vyhozeno cca 25 ml prvního destilátu. Následně byl druhý destilát nadestilován přímo do křemenné tlustostěnné kyvety. Takto bylo postupováno nejprve s H_2O a pak s D_2O . Při destilaci bylo vždy postupováno tak, aby byla predestilována maximálně polovina vstupního objemu daného zásobního roztoku a prvního destilátu.

Křemenné kyvety byly při čekání mezi jednotlivými destilacemi uzavřeny teflonovým ventilkem.

Po destilaci byly vzorky následně odplyněny 5-ti cykly metody Freeze-Pump-Thaw (FPT). Při této metodě se vzorek zmrazí. Následně se evakuuje prostor nad vzorkem. A v posledním kroku se uzavře přívod k vývěvě a vzorek

se nechá roztát. Tento postup se několikrát opakuje. Při roztátí vzorku se vyrovnají parciální tlaky plynů nad vzorkem a plynů rozpuštěných ve vzorku. Tím se po několikerém opakování postupu sníží koncentrace rozpuštěných plynů.

Po posledním zmražení a evakuování byla kyveta napuštěna 0,2 bary inertního kryptonu. Následně zatavena pomocí sklářského kahanu na směs propanbutanu a kyslíku. Krypton byl do kyvety přidán pro zvýšení tlaku v kyvetě. Důvodem je nízký bod varu (přibližně 20°C) vzorků bez přidané atmosféry.

2.3.3 Parametry připravených vzorků

Pro studium vlivu čistoty vzorků na měření relaxačních parametrů byl postupem popsaným v kapitole 2.3.2. připraven vzorek 2-krát pod bodem varu destilované 99,89 % D₂O. Vzorek byl připraven do tlustostěnné křemenné 5 mm kyvety. V ní byl odplyněn 5-ti cykly FPT. Nad hladinu byl napuštěn krypton o tlaku 0,2 bar. Následně byl zataven. Pro tento vzorek zavedeme označení „vzorek 0“.

Pro finální měření parametrů chemické výměny a souvisejících relaxačních parametrů na směsích lehké a těžké vody byly připraveny 4 vzorky. Označme je „vzorek 1“ až „vzorek 4“. Vzorky byly připraveny postupem popsaným v kapitole 2.3.2. Jsou to tedy vzorky vyrobené z dvakrát pod bodem varu destilované H₂O a 99,89% D₂O, umístěné v 5 mm tlustostěnné křemenné kyvetě, odplyněné 5-ti cykly FPT, zatavené s kryptonovou atmosférou o tlaku 0,2 bar.

Posledním připraveným vzorkem je „vzorek 5O“. Ten byl připraven ze ¹⁷O izotopově obohacená H₂O (proto je v jeho názvu „O“). Izotopové obohacení atomy ¹⁷O činilo 10,1 %. Tato obohacená H₂O byla v malém množství přímo přidána do kyvety bez destilace. Destilovat ji nebylo možné protože jí bylo k dispozici pouze 1 ml ve skleněné ampulce. Jinak se postup přípravy vzorku 5O nelišil od postupu přípravy vzorků 1-4. D₂O pro jeho přípravu destilována byla.

Množství H₂O a D₂O nadestilované do kyvet bylo stanoveno vážením. Vážení bylo provedeno na analytických laboratorních vahách. Kyvety byly při vážení vždy uzavřeny teflonovým ventilkem, přičemž každé kyvetě byl pevně přiřazen daný ventilek. Nejprve byla zvážena prázdná kyveta, dále kyveta s H₂O a nakonec kyveta s H₂O a D₂O. Každé vážení bylo provedeno 3-krát, z čehož byl určen průměr. Chyba vážení kyvet byla odhadnuta na 0,0005 g. Naměřené hmotnosti jsou uvedeny v tabulce 2.1. Z těchto hmotností byly vypočteny hmotnosti přidané H₂O a D₂O jež jsou taktéž uvedeny v tabulce 2.1. Přenesená chyba takto určených hmotností H₂O a D₂O je 0,0007 g.

Tabulka 2.1: Naměřené hmotnosti prázdných kyvet (m_{kyv}), kyvet s H₂O (m_{kyv+H_2O}), kyvet s H₂O a D₂O ($m_{kyv+H_2O+D_2O}$) a vypočtené hmotnosti H₂O (m_{H_2O}) a D₂O (m_{D_2O}) v připravených vzorcích.

Vzorek	m_{kyv} (g)	m_{kyv+H_2O} (g)	$m_{kyv+H_2O+D_2O}$ (g)	m_{H_2O} (g)	m_{D_2O} (g)
Vzorek 1	10,1256	10,1256	10,3138	0,0000	0,1883
Vzorek 2	10,8890	10,8955	11,1437	0,0066	0,2482
Vzorek 3	10,9278	10,9754	11,2285	0,0476	0,2532
Vzorek 4	10,8727	10,9400	11,1358	0,0672	0,1958
Vzorek 50	10,7825	10,7901	10,9853	0,0076	0,1952

Tabulka 2.2: Molární zlomky molekul H₂¹⁶O ($x_{H_2^{16}O}$), HD¹⁶O ($x_{HD^{16}O}$) a D₂¹⁶O ($x_{D_2^{16}O}$) v připravených vzorcích.

Vzorek	$x_{H_2^{16}O}$	$x_{HD^{16}O}$	$x_{D_2^{16}O}$
Vzorek 1	0,00000121(1)	0,00220(1)	0,99709(2)
Vzorek 2	0,0009(2)	0,057(6)	0,941(7)
Vzorek 3	0,0301(8)	0,287(4)	0,682(4)
Vzorek 4	0,077(1)	0,400(4)	0,522(4)
Vzorek 50	0,0018(3)	0,081(6)	0,912(8)

Tabulka 2.3: Molární zlomky molekul H_2^{17}O ($x_{\text{H}_2^{17}\text{O}}$), HD^{17}O ($x_{\text{HD}^{17}\text{O}}$) a D_2^{17}O ($x_{\text{D}_2^{17}\text{O}}$) v připravených vzorcích.

Vzorek	$x_{\text{H}_2^{17}\text{O}}$	$x_{\text{HD}^{17}\text{O}}$	$x_{\text{D}_2^{17}\text{O}}$
Vzorek 1	0,00000000087(1)	0,00000158(1)	0,000715(4)
Vzorek 2	0,0000006(1)	0,000041(4)	0,000666(5)
Vzorek 3	0,0000198(5)	0,000189(3)	0,000450(3)
Vzorek 4	0,0000479(8)	0,000250(2)	0,000326(3)
Vzorek 5O	0,000009(2)	0,00040(4)	0,0045(4)

Tabulka 2.4: Počáteční molární zlomky molekul H_2O ($x_{\text{H}_2\text{O}}^0$) v připravených vzorcích.

Vzorek	$x_{\text{H}_2\text{O}}^0$
Vzorek 1	0,001100(6)
Vzorek 2	0,030(3)
Vzorek 3	0,174(2)
Vzorek 4	0,277(2)
Vzorek 5O	0,042(3)

Z naměřených hmotností H_2O a D_2O lze postupem popsaným v příloze 1 vypočítat molární zlomky molekul H_2^{16}O , H_2^{17}O , HD^{16}O , HD^{17}O , D_2^{16}O a D_2^{17}O . Tento postup je založen na modelu popsaném v kapitole 2.2.6. Výsledky jsou uvedeny v tabulkách 2.2 a 2.3. Přenesené chyby jsou udány číslem v závorce.

V tabulce 2.4 je dále udán počáteční molární zlomek molekul H_2O , který označíme $x_{\text{H}_2\text{O}}^0$. Slovem počáteční je myšleno, že se jedná o molární zlomek v případě, kdy by nedocházelo k ustanovování rovnováhy molekul H_2O , HDO a D_2O , tj. že by ve vzorku zůstávaly pouze molekuly H_2O a D_2O . V počátečním zlomku jsou zahrnuty oba izotopy ^{16}O a ^{17}O .

Pro výpočet výše jmenovaných molárních zlomků jsou potřeba následující údaje (viz. příloha 1):

- relativní izotopové zastoupení atomů D v použité D₂O

$$p_D^{D_2O} = 0,9989 \quad (\text{dle výrobce})$$

- relativní izotopové zastoupení atomů ¹⁷O v použité D₂O

$$p_{17O}^{D_2O} = 0,000645 \quad (\text{změřeno})$$

- relativní izotopové zastoupení atomů D v použité H₂O

$$p_D^{H_2O} = 0,000156 \quad (\text{přirozené})$$

- relativní izotopové zastoupení atomů ¹⁷O v použité H₂O

$$p_{17O}^{H_2O} = 0,000379 \quad (\text{přirozené})$$

- relativní izotopové zastoupení atomů ¹⁷O v použité ¹⁷O-obohacené H₂O

$$p_{17O}^{H_2O\text{-oboh.}} = 0,101 \quad (\text{dle výrobce})$$

- Hustoty H₂O a D₂O (při 25 °C)

$$\rho_{H_2O} = 0,997 \text{ gcm}^{-3}$$

$$\rho_{D_2O} = 1,104 \text{ gcm}^{-3}$$

- Molární hmotnosti molekul H₂¹⁶O, H₂¹⁷O, D₂¹⁶O a D₂¹⁷O

$$M_{H_2^{16}O} = 18,01528$$

$$M_{H_2^{17}O} = 19,02144$$

$$M_{D_2^{16}O} = 20,02760$$

$$M_{D_2^{17}O} = 21,03376$$

Relativní izotopové zastoupení atomů ¹⁷O v použité D₂O se v důsledku výrobního procesu D₂O liší od přirozeného zastoupení atomů ¹⁷O. Jelikož však výrobce tento údaj neudával, tak bylo nutné jej změřit. To bylo provedeno následujícím způsobem.

Byly připraveno 5 srovnávacích vzorků. Relativní objemové koncentrace H₂O v těchto vzorcích byly: 0,0011, 0,01, 0,25, 0,5 a 0,8. Pro přípravu těchto vzorků byly použity nedestilované zásobní roztoky H₂O a D₂O které byly použity pro přípravu vzorků 1-4 a vzorku 5O. Srovnávací vzorky byly namíchány automatickou pipetou, byly odplyněny 5-ti cykly FPT a zataveny ve standardních ky-

Tabulka 2.5: Viskozity připravených vzorků pro jednotlivé teploty, při kterých byla provedena NMR měření.

Vzorek	T (K)	η (mPa s)
Vzorek 1	281,6	1,7652
	298,6	1,0874
	320,3	0,6862
Vzorek 2	281,6	1,7537
	292,8	1,2557
	304,4	0,9433
	315,2	0,7521
Vzorek 3	292,8	1,2193
	309,8	0,8176
	320,3	0,6667
Vzorek 4	281,6	1,6553
	287,2	1,3940
	292,8	1,1933
	304,4	0,9009
	309,8	0,8025
	315,2	0,7206
Vzorek 5O	292,8	1,2526
	304,4	0,9413
	315,2	0,7505

vetách. Na každém z těchto srovnávacích bylo naměřeno ^{17}O -spektrum při stejném počtu 24576 skenů, kterým bylo předřazeno 1024 slepých skenů. Z těchto spekter byly odečteny integrální intenzity naměřeného signálu. Ze získané závislosti byla extrapolována integrální intenzita čisté H_2O . Použití extrapolace bylo nutné, neboť ^{17}O -spektrum čisté vody nebylo možné přímo naměřit z důvodu absence signálu deuteria pro tzv. „lock“ rezonanční frekvence. S takto získanou integrální intenzitou ^{17}O -signálu čisté vody byla porovnána integrální

intenzita ^{17}O -signálu 99,89 % D_2O . Předpokládáme-li, že izotopové zastoupení atomů ^{17}O v použité čisté H_2O je rovno přirozenému zastoupení, lze snadno určit izotopové zastoupení atomů ^{17}O v použité 99,89 % D_2O . Získaná hodnota byla uvedena výše.

Pro účely interpretace naměřených výsledků dále budeme potřebovat znát viskozity připravených vzorků při jednotlivých teplotách při kterých byla provedena NMR měření. Vzhledem k postupu přípravy vzorků však nebylo možné tyto viskozity přímo naměřit. Nicméně podle [52] lze viskozitu směsi H_2O a D_2O za normálních podmínek velmi dobře aproximovat vztahem

$$\eta(T, x_{\text{H}_2\text{O}}^0) = x_{\text{H}_2\text{O}}^0 \eta(T, \text{H}_2\text{O}) + (1 - x_{\text{H}_2\text{O}}^0) \eta(T, \text{D}_2\text{O}), \quad (2.13)$$

kde $\eta(T, \text{H}_2\text{O})$ a $\eta(T, \text{D}_2\text{O})$ jsou viskozity čisté H_2O a čisté D_2O a $x_{\text{H}_2\text{O}}^0$ zavedený počáteční molární zlomek H_2O udaný v tabulce 2.4. Závislosti $\eta(T, \text{H}_2\text{O})$ a $\eta(T, \text{D}_2\text{O})$ lze nalézt například v [53]. Takto stanovené viskozity připravených vzorků jsou uvedeny v tabulce 2.5.

2.3.4 Parametry NMR měření

Měření byla provedena na spektrometru Bruker Avance III HD. Rezonanční frekvencí jader ^1H je na tomto spektrometru rovna 500 MHz (statické magnetické pole 11,75 T). Měření a zpracování spekter bylo provedeno pomocí programu Bruker Topspin 3.2.

Měření na jádrech ^1H bylo provedeno na QNP sondě, jejíž rezonanční obvod byl zatlumen přidáním paralelního odporu do obvodu. Délka $\pi/2$ -pulsu byla 47,5 μs při výkonu 80 W.

Spin-mřížkové relaxační doby byly měřeny sekvencí Inversion Recovery s přidáním gradientním pulsem (viz. obrázek 2.6). Byl zvolen sinově tvarovaný gradientní puls v ose z. Jeho délka byla 1000 μs a relativní síla 70 %. Absolutní

síla gradientu nebyla kalibrována, neboť to pro účely potlačení radiačního tlumení není podstatné. Po tomto gradientním pulsu následovala čekací perioda délky $100 \mu s$. Měření bylo provedeno na 8 skenů a 14 bodů závislosti (1.16). Délka gradientního pulsu a čekací periody byla při fitu zahrnuta do směšovací periody.

Spin-spinové relaxační doby byly měřeny sekvencí CPMG. Závislost (1.18) byla měřena na 10 bodů. Měření bylo provedeno na 8 skenů.

Dále byly měřeny spin-mřížkové relaxační doby jader ^{17}O . Ty byly měřeny na BBFO sondě s použitím klasické sekvence IR. Délka $\pi/2$ -pulsu při těchto měřeních byla $32,9 \mu s$ při výkonu $20 W$. Měření bylo opět provedeno na 14 bodů.

Teplota vzorku byla při měřeních stabilizována proudem předchlazeného dusíku, který byl dohříván topnou spirálou. Toto dohřívání neustále kontroluje a koriguje teplotní jednotka spektrometru tak, aby teplota na termočlátku v blízkosti kvivety byla konstantní.

Na každé sondě byla provedena teplotní kalibrace pomocí teplotních standardů. V rozsahu teplot 268-298 K byl použit methanolvý standard, pro rozsah teplot 300-352 K byl použit etylenglykol. Přesnost kalibrace teploty je 0,5 K [54].

2.4 Výsledky a diskuse

2.4.1 Vliv čistoty a stabilita připravených vzorků

Otázka vlivu čistoty vzorků byla studována již v mé diplomové práci [55]. V ní byla odhalena zásadní komplikace s přípravou vzorků. Bylo zjištěno, že při opakovaném měření závislosti R_2 na echo-čase (při stejných podmínkách na stejném vzorku) dochází k systematickému posunu této závislosti směrem do vyšších relaxačních rychlostí. To značí, že buď vzorek není v rovnováze, nebo

se postupně mění relaxační doby vzorku.

Prvotní vzorky v [55] byli připraveny prostým smícháním zásobní deionizované H_2O a běžně dostupné D_2O . Následně byly odplyněny metodou FPT a uzavřeny teflonovým ventilkem v kapilárních kyvetách z běžného skla.

V [55] byly stanoveny následující tři potenciální příčiny systematických změn v závislosti $R_2(t_{echo})$:

- Pronikání paramagnetického O_2 přes nedokonale těsnící teflonový ventilek. To vede k postupnému růstu paramagnetického příspěvku k relaxačním rychlostem, a tedy k jejich růstu.
- Pronikání pH ovlivňujícího CO_2 přes nedokonale těsnící teflonový ventilek. Na pH může záviset rovnováha chemických procesů.
- Uvolňování iontů ze skla kyvety. Klasické sklo obsahuje řadu příměsí, které se mohou do vzorku pomalu uvolňovat. Kolem těchto iontů se pak tvoří solvatační obálky a přeuspořádává se struktura vodíkových vazeb.

V [55] byla postupně provedena řada testů studujících tyto potenciální příčiny:

- Pro test vlivu pronikání O_2 byly diskutovány opakovaně naměřené hodnoty spin-mřížkové relaxační rychlosti R_1 . Ty při opakovaném měření vycházely v rámci chyby měření stejně, což vlivu O_2 nenasvědčuje.
- Pro test vlivu pronikajícího CO_2 bylo provedeno měření na vzorku, který byl zataven v kapilární kyvetě z klasického skla. Opakovaně měřená závislost $R_2(t_{echo})$ opět systematicky rostla.
- Pro test uvolňování iontů ze skla byl připraven vzorek v 5 mm křemenné kyvetě. Křemenné sklo obsahuje příměsí v koncentraci menší než 0,05 ppm [56]. Tento vzorek byl uzavřen pouze teflonovým ventilkem, neboť v té době nebylo k dispozici vybavení k zatavení křemenné kyvety – teplota tání křemenného skla je 1610 °C [57]. Závislost $R_2(t_{echo})$ na

tomto vzorku opět systematicky rostla.

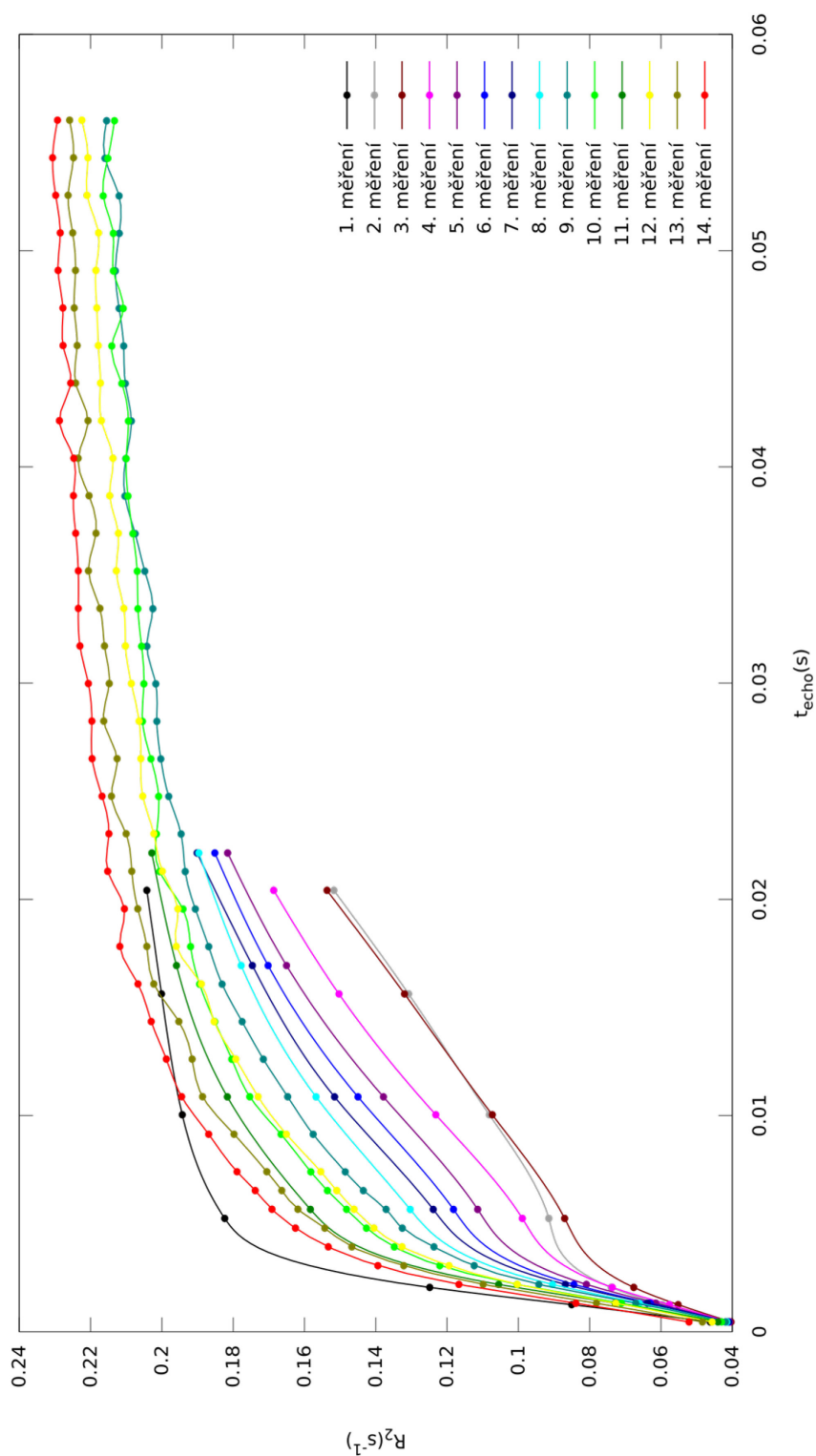
- Pro otestování všech tří možných příčin současně byl připraven vzorek umístěný ve speciální křemenné kyvetě. Ta byla ve své horní části vybavena přechodem ke klasickému sklu a bylo možné ji zatavit. Na tomto vzorku byl pozorován náznak náhodnosti v opakovaném měření závislosti $R_2(t_{echo})$, nicméně nebyl příliš přesvědčivý. U této kyvety je pořád možné pronikání iontů z klasického skla v horní části, neboť stěny kyvety jsou solvatovány.

V návaznosti na výsledky z [55] byla vypracována metoda přípravy vzorků popsaná v kapitole 2.3.2. Takto připravené vzorky jsou – v rámci možností laboratoře – maximálně vyčištěny a inertně izolovány od okolí.

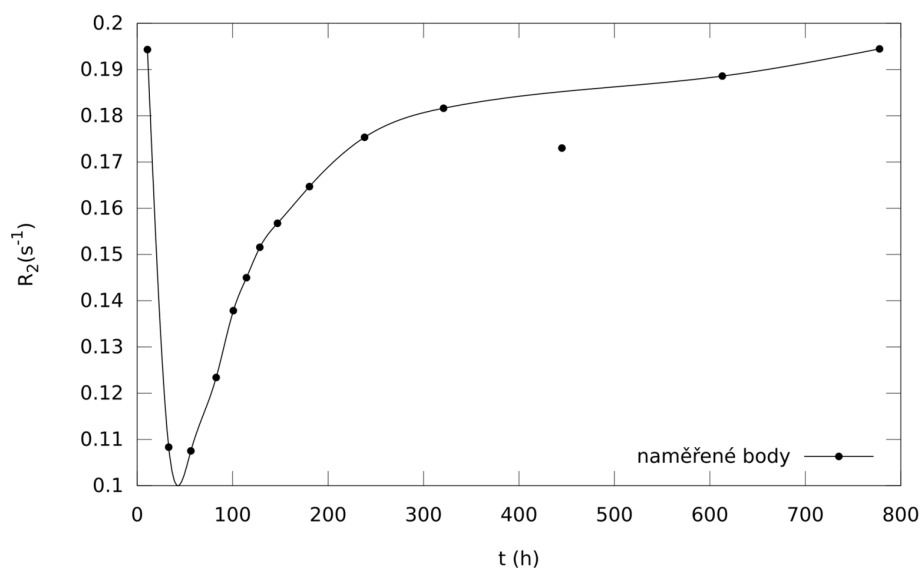
Pro studium efektu vypracované metody přípravy byl připraven vzorek 0 popsaný v kapitole 2.3.3. Vzorek byl vyroben (zataven) 26.10.2015 v 19:30. Na tomto vzorku bylo po vyrobení naměřeno celkem 14 opakovaných měření závislosti $R_2(t_{echo})$ při teplotě 281,6 K. Některé křivky byly změřeny na mnoho bodů, některé pro úsporu času byly změřeny méně podrobně. Výsledek je zobrazen v grafu 2.1. Časy začátku a konce jednotlivých měření jsou uvedeny v tabulce 2.6. Před měřením každé křivky byla také změřena spin-mřížková relaxační rychlost R_1 – ty jsou uvedeny v tabulce 2.7. Dále v grafu 2.2 je závislost R_2 na čase mezi měřením a výrobou. Graf 2.2 byl extrahován z dat v grafu 2.1 při vybraném echo-čase $t_{echo} = 0,0100865$ s – u prvních čtyřech křivkách nebyla hodnota R_2 při tomto konkrétním echo-čase měřena, proto byla interpolována z naměřených dat. Stejná extrakce dat při jiných echo-časech má podobný charakter.

Z grafu 2.1. je vidět, že ani při takto precizním postupu přípravy vzorku, nedošlo k odstranění systematického posunu měřené závislosti. Zajímavé také je, že systematický posun má nejprve rychlý sestupný trend, který se následně

otočí a pak už dochází k posunu pouze směrem nahoru – viz. též graf 2.2 ze kterého je to lépe vidět.



Graf 2.1: Závislosti R_2 na t_{echo} naměřené na vzorku 0 (viz. kap. 2.3.3) při teplotě 281,6 K. Spojité čáry jsou zde pouze pro lepší přehlednost.



Graf 2.2: Závislost R_2 na čase mezi přípravou vzorku a měřením t pro $t_{echo} = 0,0100865$ s. Vzorek 0 (viz. kap. 2.3.3), teplota měření je 281,6 K. Spojitá čára je zde pouze pro lepší přehlednost.

Z grafu 2.2 také vidíme, že závislost po cca měsíci od přípravy konverguje. Dále z tabulky 2.7 vidíme, že spin-mřížková relaxační rychlost R_1 zůstala po celou dobu v rámci chyby měření stejná, což nesevčdí o nějaké postupné kontaminaci vzorku.

Otázka systematického posunu závislosti $R_2(t_{echo})$ byla uzavřena tak, že se jedná o pomalé ustavování rovnováhy chemické výměny, které je nejspíše vlastností samotného vzorku. Před měřením relaxačních parametrů na připravených vzorcích je po výrobě vzorku nutné počkat minimálně měsíc, než vzorek dospěje do rovnováhy. Objasnit příčinu tohoto pomalého ustavování rovnováhy se povede snadněji po prostudování samotného procesu chemické výměny v rovnováze.

Tabulka 2.6: Časy začátku a konce měření jednotlivých závislostí R_2 na t_{echo} měřených na vzorku 0 (viz. kap. 2.3.3). Teplota měření je 281,6 K.

Číslo měření	Začátek měření	Konec měření
1	26.10.15 23:29	27.10.15 09:49
2	27.10.15 21:41	28.10.15 08:01
3	28.10.15 21:00	29.10.15 07:20
4	29.10.15 23:26	30.10.15 09:46
5	30.10.15 17:31	31.10.15 03:59
6	31.10.15 07:21	31.10.15 17:49
7	31.10.15 21:11	1.11.15 07:39
8	1.11.15 15:53	2.11.15 02:21
9	2.11.15 16:10	4.11.15 22:34
10	5.11.15 01:56	7.11.15 08:21
11	8.11.15 21:51	9.11.15 08:19
12	13.11.15 18:22	16.11.15 06:32
13	20.11.15 18:11	23.11.15 06:21
14	27.11.15 15:05	30.11.15 07:38

Tabulka 2.7: Naměřené spin-mřížkové relaxační rychlosti R_1 měřené před každým měřením jednotlivé závislosti R_2 na t_{echo} . Uvedené chyby jsou chyby fitu závislostí (1.16). Vzorek 0 (viz. kap. 2.3.3), teplota měření 281,6 K.

Číslo měření	R_1 (s ⁻¹)
1	0,0306(1)
2	0,0305(1)
3	0,0305(1)
4	0,0306(1)
5	0,0304(1)
6	0,0307(2)
7	0,0307(2)
8	0,0304(2)
9	0,0307(1)
10	0,0309(2)
11	0,0309(2)
12	0,0305(1)
13	0,0309(1)
14	0,0309(1)

2.4.2 Zahřívání vzorku během měření T_2 sekvencí CPMG

Měření na vzorcích H_2O/D_2O může provázet další experimentální komplikace, která souvisí s abnormální délkou relaxačních dob v těchto vzorcích. Ty se v závislosti na koncentraci H_2O a na teplotě pohybují v rozmezí přibližně od 2 do 40 sekund. Při měření sekvencí CPMG tak dochází k aplikaci velkého rozpětí počtu π -pulsů, který závisí na relaxační době a zvoleném echo-čase. Například pro echo-čas 0,4 ms a spin-spinovou relaxační dobu velikosti 10 s je potřeba proměřit závislost (1.18) v intervalu přibližně 200-35000 ech. Při echo-čase 50 ms je pro stejnou relaxační dobu potřeba měřit v intervalu přibližně 2-300 ech.

Vzhledem k tomu, že voda v radiofrekvenční oblasti toto záření absorbuje na rotačních stavech [58], tak může během měření docházet k zahřívání vzorku. Toto zahřívání je proměnlivé. Při měření jedné relaxační doby jsou poslední body závislosti (1.18) změřeny při vyšší teplotě než první body této závislosti, neboť při měření posledních bodů byl aplikován mnohem větší počet π -pulsů než pro první body, a tedy se u jednotlivých bodů závislosti (1.18) liší celkový deponovaný výkon aplikovaných radiofrekvenčních pulsů. Podobně se deponovaný výkon liší u měření s různými echo-časy.

Tomuto aspektu bylo věnováno značné experimentální úsilí již během měření dat pro mou diplomovou práci [55]. V této práci byla naměřena závislost 1D spektra 100 % H_2O na počtu předřazených off-rezonančních (frekvenčně posunutých o 1 MHz) π -pulsech oddělených časovou prodlevou 0,6 ms. Měření bylo provedeno na 8 mm TXI sondě. Vzorek byl umístěn v kapilárním insertu, který byl vložen do 8 mm kyvety. Vně kapilárního insertu byl deuterovaný chloroform, jehož signál byl použit pro tzv. „lock“. Na teplotní jednotce byla při experimentu nastavena teplota 292 K, což podle kalibrace odpovídalo 293,2 K. Při aplikaci 96 a 53248 předřazených off-rezonančních pulsů došlo k posunu

polohy spektrální čáry z 4,92 ppm na 4,88 ppm. Tento rozdíl rezonančních frekvencí byl dán změnou teploty.

Pro kompenzaci odlišného zahřívání vzorku při měření různých relaxačních dob s různými echo-časy byla v [55] navržena modifikovaná sekvence CPMG. Tato sekvence je doplněna off-rezonančními pulsy, které zajišťují rovnoměrné zahřívání vzorku nezávisle na délce relaxační doby a na zvoleném echo-čase. Jednotlivé body závislosti (1.18) jsou tedy touto sekvencí měřeny při stejné teplotě. Stejně tak je tomu i pro různé echo-časy neboť v této sekvenci je za sebou opakována sekvence $D20_{min} - \pi - D20_{min}$ (konstantní minimální časová prodleva následovaná π -pulem následovaným další konstantní časovou prodlevou). Echo-čas je v sekvenci nastavován v lichých násobcích této sekvence tak, že některé pulsy jsou aplikovány off-rezonančně. Schéma sekvence je uvedeno v příloze 5.

V [55] bylo dále s pomocí vzorku 30 % methanolu v D_2O zjištěno, že při použití této modifikované sekvence při měření s TXI sondou, dochází k ohřevu vzorku přibližně o 5 K.

V rámci přípravy této disertační práce bylo ve studiu tohoto jevu pokračováno. Byla pořízena teplotní dioda, kterou bylo možné umístit přímo do kyvety s H_2O , která byla posléze umístěna do sondy ve spektrometru. Při těchto experimentech bylo potvrzeno výše uvedený růst teploty vzorku v TXI sondě.

Nicméně ze dvou důvodů, jednak byla TXI sonda naší laboratoři pouze zapůjčena a bylo ji nutné vrátit a jednak z nedostatečného potlačení radiačního tlumení pomocí TXI sondy, bylo měření dále prováděno na QNP sondě se zatlumeným rezonančním obvodem. QNP sonda má navíc ^{19}F kanál (rezonanční frekvence 470,385 MHz), což umožnilo přesunout off-rezonanční pulsy na tento kanál a vyhnout se tak určitým parazitním efektům spojeným s off-rezonančním pulsováním na 1H kanále.

Měření s teplotní diodou v kyvetě s H₂O, bylo zopakováno i na QNP sondě, přičemž bylo zjištěno, že na této sondě dochází k ohřevu pouze o 0,2 – 0,3 K. To je dáno nejspíše rozdílnou konstrukcí sondy a odlišným řešením systému průtoku chladícího dusíku sondou a kolem vzorku. Tedy se ukázalo, že než absorpce na rotačních stavech molekul vody, má podstatně větší vliv konstrukce sondy. V případě TXI sondy tedy šlo spíše o důsledek kombinace ohmického zahřívání rezonanční cívky a nepříliš šťastně zvoleného systému průtoku chladícího dusíku sondou. V případě QNP sondy je tady teplotní jednotka schopna zahřívání absorpcí uchládit a použití modifikované sekvence CPMG u ní nebylo nutné.

2.4.3 Chemická výměna ve směsích lehké a těžké vody

Na vzorcích 1-4 a vzorku 5O byly naměřeny závislosti spin-spinové relaxační rychlosti jader ¹H na echo-čase pro několik různých teplot. Pro každou z těchto teplot byla změřena i spin-mřížková relaxační rychlost jader ¹H a ¹⁷O. Relaxační rychlosti jader ¹H budeme značit symboly R_1 a R_2 . Pro spin-mřížkovou relaxační rychlost jader ¹⁷O zavedeme označení R_1^{17O} .

Naměřené R_1 a R_1^{17O} jsou uvedeny v tabulce 2.8. Výčet naměřených spin-spinových relaxačních rychlostí jader ¹H zde nebudeme uvádět, neboť jich je příliš mnoho – byly měřeny na 5-ti vzorcích, několika teplotách (viz. tab. 2.8) a pro řadu echo-časů (v převážné většině měření proběhlo na 29 echo-časů, v jednom případě na 35 echo-časů, v jednom případě na 26 echo-časů a ve dvou případech na 19 echo-časů, počet měřených echo-časů zohledňoval aktuální dostupnost instrumentálního času na NMR spektrometru.). Později v textu uvedeme některé vybrané grafy závislosti $R_2(t_{echo})$. Zbývající grafy jsou uvedeny v příloze (viz. dále v textu).

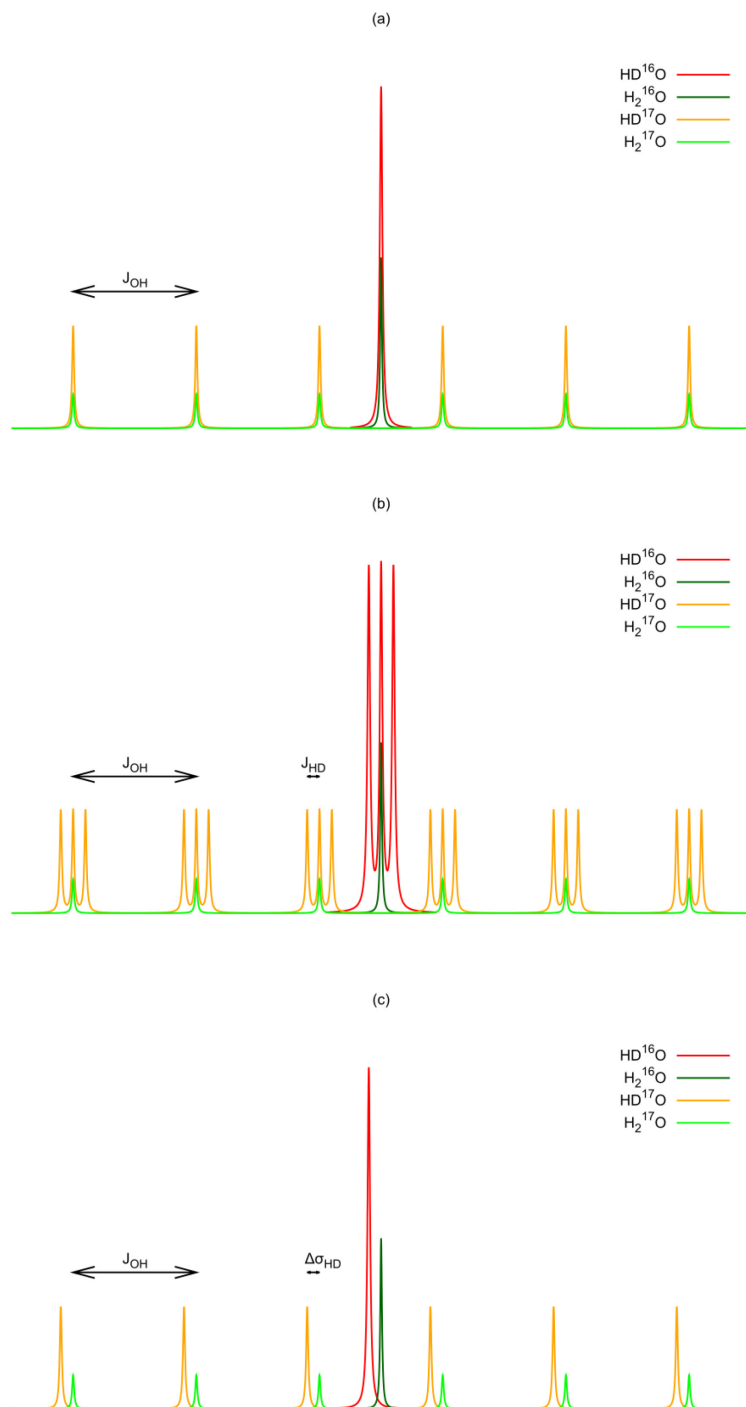
Spin-mřížkové relaxační rychlosti jader ¹H byly měřeny vždy bezprostředně před měřením jednotlivých závislostí $R_2(t_{echo})$.

Tabulka 2.8: Naměřené hodnoty spin-mřížkových relaxačních dob jader ^1H (R_1) a ^{17}O ($R_1^{17\text{O}}$) pro jednotlivé vzorky a teploty. Uvedené chyby jsou chyby fitu závislostí (1.16).

Vzorek	$T(\text{K})$	$R_1(\text{s}^{-1})$	$R_1^{17\text{O}}(\text{s}^{-1})$
Vzorek 1	281,6	0,0318(3)	312(3)
	298,6	0,0208(2)	179(1)
	320,3	0,0131(2)	103(1)
Vzorek 2	281,6	0,0457(2)	310(3)
	292,8	0,0326(1)	211(1)
	304,4	0,0249(1)	153(1)
	315,2	0,0199(1)	117(1)
Vzorek 3	292,8	0,0851(2)	206(2)
	309,8	0,0552(2)	126(1)
	320,3	0,0448(2)	102(1)
Vzorek 4	281,6	0,1672(6)	290(3)
	287,2	0,1411(4)	240(2)
	292,8	0,1209(4)	199(1)
	304,4	0,0915(3)	147(1)
	309,8	0,0802(3)	125(1)
	315,2	0,0723(2)	111(1)
Vzorek 50	292,8	0,0363(1)	214(1)
	304,4	0,0276(1)	155(1)
	315,2	0,0217(1)	117(1)

Spin-mřížkové relaxační rychlosti jader ^{17}O byly naměřeny dodatečně, neboť pro jejich měření bylo třeba vyměnit sondu. Teplota byla nastavena pečlivě podle teplotní kalibrace.

V rámci interpretace dat byly navrženy tři modely chemické výměny, jejichž schématické znázornění stavů je na obrázku 2.8. Všechny tyto modely se v základu opírají o Meiboomovu interpretaci [29] z roku 1961. Ta říká, že se jedná



Obrázek 2.8: Schématické znázornění stavů v navržených modelech chemické výměny. (a) Model 1 uvažující pouze J-vazbu od ^{17}O . Obsahuje 14 stavů, jejichž rezonanční frekvence jsou popsány pomocí konstanty J_{OH} . (b) Model 2 uvažující J-vazbu od ^{17}O a od D. Obsahuje 28 stavů, jejichž rezonanční frekvence jsou popsány pomocí konstant J_{OH} a J_{HD} . (c) Model 3 uvažující J-vazbu od ^{17}O a izotopický chemický posun od D. Obsahuje 14 stavů, jejichž rezonanční frekvence jsou popsány pomocí konstant J_{OH} a $\Delta\sigma_{\text{HD}}$.

o přeskoky atomů vodíku mezi molekulami s izotopy kyslíku ^{16}O a ^{17}O , přičemž těmto přeskokům dochází v důsledku Grotthusova mechanismu popsaném v kapitole 2.2.5.

Jádra ^{17}O mají spin $I = 5/2$ a tudíž spektrální čáru vázaného vodíku štěpí J-vazbou na $2I + 1 = 6$ čar. Jádra ^{16}O mají oproti tomu nulový spin a tedy rezonanční frekvenci jader vodíku nijak neštěpí. Přeskakuje-li vodík, mezi molekulami s kyslíkem ^{16}O a ^{17}O pak neustále pocituje změny rezonanční frekvence a v důsledku toho vzniká příspěvek chemické výměny k spin-spinové relaxační rychlosti jader ^1H .

Meiboom měřil na vzorku 100% H_2O . V našem případě, ale máme směsi H_2O a D_2O ve kterých dochází také k tvorbě molekul HDO. V našich modelech se tedy budeme muset vypořádat s případným vlivem přítomnosti deuteria.

Model 1 přítomnost deuteria zanedbává v tom smyslu, že neuvažuje jeho případný vliv na rezonanční frekvenci vodíku v molekule HDO. Tento model pouze formálně odlišuje molekuly H_2O a HDO. Model uvažuje pouze J-vazbu mezi jádrem ^1H a ^{17}O . V tomto modelu je celkem 14 stavů mezi kterými dochází k výměně. Jeden odpovídá molekule H_2^{16}O , jeden molekule HD^{16}O , šest molekul H_2^{17}O a šest molekul HD^{17}O . Rezonanční frekvence jednotlivých stavů popisujeme konstantou J-vazby J_{OH} .

Model 2 zahrnuje vliv deuteria analogicky vlivu ^{17}O . Tj. kromě J-vazby mezi jádrem ^1H a ^{17}O uvažuje i vliv J-vazby mezi jádrem ^1H a D v molekulách HDO. V tomto modelu je celkem 28 stavů mezi kterými dochází k výměně. Jeden odpovídá molekule H_2^{16}O , tři molekule HD^{16}O , šest molekul H_2^{17}O a osmnáct molekul HD^{17}O . Rezonanční frekvence jednotlivých stavů popisujeme konstantou J-vazby J_{OH} a J_{HD} .

Model 3 oproti tomu uvažuje vliv deuteria v molekulách HDO skrze izotopový chemický posun. Přítomnost deuteria v molekule HDO mírně pozmění

strukturu molekuly, což se může projevit malou změnou chemického posunu jádra H vázaného v molekule. V tomto modelu je celkem 14 stavů mezi kterými dochází k výměně. Jeden odpovídá molekule H_2^{16}O , jeden molekule HD^{16}O , šest molekul H_2^{17}O a šest molekul HD^{17}O . Rezonanční frekvence jednotlivých stavů popisujeme konstantou J-vazby J_{OH} a rozdílem chemického posunu $\Delta\sigma_{HD}$ jader ^1H v molekule obsahující deuterium a v molekule neobsahující deuterium.

Fitování naměřených data spočívá ve fitování numerického řešení vztahu (1.57). K tomu je třeba pro jednotlivé modely model nadefinovat několik potřebných veličin.

Jednak potřebujeme znát populace jednotlivých stavů. Jelikož známe molární zlomky molekul H_2^{16}O , HD^{16}O , H_2^{17}O a HD^{17}O v našich vzorcích (viz. tabulky 2.2 a 2.3), tak pro populace jader ^1H ve stavech H_2^{16}O , HD^{16}O , H_2^{17}O a HD^{17}O můžeme psát

$$p_{\text{H}_2^{16}\text{O}} = \frac{2x_{\text{H}_2^{16}\text{O}}}{2x_{\text{H}_2^{16}\text{O}} + x_{\text{HD}^{16}\text{O}} + 2x_{\text{H}_2^{17}\text{O}} + x_{\text{HD}^{17}\text{O}}}, \quad (2.14)$$

$$p_{\text{HD}^{16}\text{O}} = \frac{x_{\text{HD}^{16}\text{O}}}{2x_{\text{H}_2^{16}\text{O}} + x_{\text{HD}^{16}\text{O}} + 2x_{\text{H}_2^{17}\text{O}} + x_{\text{HD}^{17}\text{O}}}, \quad (2.15)$$

$$p_{\text{H}_2^{17}\text{O}} = \frac{2x_{\text{H}_2^{17}\text{O}}}{2x_{\text{H}_2^{16}\text{O}} + x_{\text{HD}^{16}\text{O}} + 2x_{\text{H}_2^{17}\text{O}} + x_{\text{HD}^{17}\text{O}}}, \quad (2.16)$$

$$p_{\text{HD}^{17}\text{O}} = \frac{x_{\text{HD}^{17}\text{O}}}{2x_{\text{H}_2^{16}\text{O}} + x_{\text{HD}^{16}\text{O}} + 2x_{\text{H}_2^{17}\text{O}} + x_{\text{HD}^{17}\text{O}}}. \quad (2.17)$$

Dvojky před molárními zlomky molekul H_2^{16}O a H_2^{17}O jsou proto, že tyto vztahy udávají populaci jader vodíku, která jsou v těchto molekulách dvě.

Pomocí vztahů (2.14)-(2.17) pak lze snadno vyjádřit populace stavů v našich modelech. Pro model 1 je výsledek zobrazen v tabulce 2.9. Populace stavů v modelu 3 jsou stejné jako populace v modelu 1. Populace stavů v modelu 2 lze zavést analogicky. Každý stav obsahující jádro deuteria je v modelu 2 rozštěpen na 3 stavy podle z-projekce spinu jádra deuteria – jádro deuteria má spin 1. Populace stavů HDO je tedy potřeba vynásobit 1/3.

Tabulka 2.9: Populace (p) a rozdíly úhlových rezonančních frekvencí ($\delta\omega$) stavů v modelu 1. Čísla v závorce ve sloupci stav označují z-ovou projekci spinu jádra ^{17}O .

Číslo stavu	Stav	p	$\delta\omega$
1	H_2^{16}O	$p_{\text{H}_2^{16}\text{O}}$	0
2	HD^{16}O	$p_{\text{HD}^{16}\text{O}}$	0
3	H_2^{17}O (5/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{H}_2^{17}\text{O}}$	$\frac{5}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
4	H_2^{17}O (3/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{H}_2^{17}\text{O}}$	$\frac{3}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
5	H_2^{17}O (1/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{H}_2^{17}\text{O}}$	$\frac{1}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
6	H_2^{17}O (-1/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{H}_2^{17}\text{O}}$	$-\frac{1}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
7	H_2^{17}O (-3/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{H}_2^{17}\text{O}}$	$-\frac{3}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
8	H_2^{17}O (-5/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{H}_2^{17}\text{O}}$	$-\frac{5}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
9	HD^{17}O (5/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{HD}^{17}\text{O}}$	$\frac{5}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
10	HD^{17}O (3/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{HD}^{17}\text{O}}$	$\frac{3}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
11	HD^{17}O (1/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{HD}^{17}\text{O}}$	$\frac{1}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
12	HD^{17}O (-1/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{HD}^{17}\text{O}}$	$-\frac{1}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
13	HD^{17}O (-3/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{HD}^{17}\text{O}}$	$-\frac{3}{2}2\pi J_{\text{OH}}$
14	HD^{17}O (-5/2)	$\frac{1}{6}p_{\text{HD}^{17}\text{O}}$	$-\frac{5}{2}2\pi J_{\text{OH}}$

Dále potřebujeme zavést rozdíly úhlové rezonanční frekvence v jednotlivých stavech $\delta\omega_j$ vztažené vůči středové frekvenci, za kterou bereme rezonanční čáru

stavu H_2^{16}O . Tím zadáme matici $\boldsymbol{\omega}$ danou vztahem (1.56). Pro jednotlivé modely lze $\delta\omega_j$ zadat pomocí konstant J-vazby J_{OH} , J_{HD} a rozdílem chemického posunu $\Delta\sigma_{HD}$. Tyto parametry se pak v jednotlivých modelech fitují. Rozdíly úhlových rezonančních frekvencí $\delta\omega_j$ v jednotlivých stavech modelu 1 jsou též uvedeny v tabulce 2.9. V modelech 2 a 3 lze postupovat analogicky. V modelu 2 je k rezonančním frekvencím stavů týkajících se molekul HDO potřeba přičíst člen $2\pi J_{HD}m_D$, kde m_D je z-projekce spinu jádra deuteria, m_D tedy nabývá hodnot 1, 0, -1. V modelu 3 k rezonančním frekvencím stavů týkajících se molekul HDO potřeba přičíst člen $2\pi\sigma_{HD}$.

Dále je třeba definovat rychlostní matici \mathbf{K} . Tu můžeme předpokládat ve tvaru (1.62) ve kterém vystupuje další fitovaný parametr k_{ex} . Je ovšem třeba zohlednit to, že se ve vzorku nachází silně kvadrupólové jádro ^{17}O , které v důsledku kvadrupólové relaxace rychle mění svůj spinový stav. V případě modelu 1 je podle (1.63)-(1.67) potřeba přičíst k submaticím $K(3\dots 8, 3\dots 8)$ a $K(9\dots 14, 9\dots 14)$ následující matici

$$\mathbf{K}_{^{17}\text{O}} = R_1^{^{17}\text{O}} \begin{pmatrix} -120 & 80 & 40 & 0 & 0 & 0 \\ 80 & -184 & 32 & 72 & 0 & 0 \\ 40 & 32 & -144 & 0 & 72 & 0 \\ 0 & 72 & 0 & -144 & 32 & 40 \\ 0 & 0 & 72 & 32 & -184 & 80 \\ 0 & 0 & 0 & 40 & 80 & -120 \end{pmatrix}, \quad (2.18)$$

kde $R_1^{^{17}\text{O}}$ je naměřená spin-mřížková relaxační rychlost jader ^{17}O (viz tabulka 2.8).

V případě modelu 3 je matice \mathbf{K} stejná jako u modelu 1. V případě modelu 2 je zavedení matice \mathbf{K} analogické s rozdílem, že matici (2.18) je třeba přičítat k submaticím $K(5\dots 10, 5\dots 10)$, $K(11\dots 16, 11\dots 16)$, $K(17\dots 22, 17\dots 22)$ a $K(23\dots 28, 23\dots 28)$.

Naše vzorky také obsahují kvadrupólová jádra deuteria. Nicméně deuterium

má slabý kvadrupólový moment a T_1 deuteria se ve vzorcích $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ pohybuje řádu jednotek sekund. To je o mnoho řádů jiná časová škála, než ve které probíhá měřená chemická výměna – v závislosti R_2 na echočase se projevuje chemická výměna v řádu milisekund. Proto jsou změny spinového stavu jader D natolik pomalé, že se v chemické výměně nemohou projevit.

Poslední veličinou, kterou je potřeba zadat, je matice ρ (1.55), respektive její diagonální elementy R_{2j}^0 , které mají význam spin-spinových relaxačních rychlostí bez příspěvku chemické výměny v jednotlivých stavech modelu. To uděláme s pomocí naměřené spin-mřížkové relaxační rychlosti jader ^1H (viz tabulka 2.8), kterou označíme R_1^{exp} a nejdříve si ji zde rozebereme. Do R_1^{exp} přispívá dipól-dipólová interakce R_1^{DD} a anizotropie chemického stínění R_1^{CSA} .

Uvažme příspěvek R_1^{DD} . Ten je v molekulách H_2O a HDO různý. Zanedbáme-li interakce s jádry deuteria, tak v molekule H_2O máme příspěvek od druhého vodíku v molekule $R_1^{DD,Intra}$ (tzv. intramolekulární příspěvek) a od vodíků v ostatních molekulách $R_1^{DD,Extra}$ (tzv. extramolekulární příspěvek). V molekule HDO se uplatní pouze příspěvek $R_1^{DD,Extra}$. Anizotropie chemického stínění se uplatní v obou molekulách.

Tyto relaxační příspěvky jsou v naměřené R_1^{exp} populačně váženy, tedy platí

$$R_1^{\text{exp}} = (p_{\text{H}_2^{16}\text{O}} + p_{\text{H}_2^{17}\text{O}})R_1^{DD,Intra} + (p_{\text{H}_2^{16}\text{O}} + p_{\text{HD}^{16}\text{O}} + p_{\text{H}_2^{17}\text{O}} + p_{\text{HD}^{17}\text{O}})(R_1^{DD,Extra} + R_1^{CSA}). \quad (2.19)$$

Uvážíme-li že $p_{\text{H}_2^{16}\text{O}} + p_{\text{HD}^{16}\text{O}} + p_{\text{H}_2^{17}\text{O}} + p_{\text{HD}^{17}\text{O}} = 1$, tak z (2.19) můžeme vyjádřit

$$R_1^{DD,Extra} = R_1^{\text{exp}} - (p_{\text{H}_2^{16}\text{O}} + p_{\text{H}_2^{17}\text{O}})R_1^{DD,Intra} - R_1^{CSA}. \quad (2.20)$$

Příspěvek $R_1^{DD,Intra}$ lze za předpokladu platnosti podmínek extrémního zúžení určit ze vztahů (2.8) a (2.9). Do nich je potřeba dosadit viskozitu daného

vzorku (viz. tabulka 2.5), za poloměr koule aproximující molekulu vody a lze vzít Van der Waalsův poloměr vody a vzdálenost vodíků v molekule H_2O r_{HH} lze určit z délky OH vazby a vazebného úhlu – číselné hodnoty těchto veličin jsou uvedeny v kapitole 2.2.1.

Příspěvek R_1^{CSA} lze určit ze vztahů (1.34), (2.10) a (2.11). Hodnoty viskozit opět viz. tabulka 2.5.

Za předpokladu splnění podmínek extrémního zúžení podle (1.33) platí $R_2^{DD,Intra} = R_1^{DD,Intra}$ a $R_2^{DD,Extra} = R_1^{DD,Extra}$ a podle (1.38) $R_2^{CSA} = (7/6)R_1^{CSA}$.

Pro model 1 jsou spin-spinové relaxační rychlosti bez příspěvku chemické výměny v jednotlivých stavech shrnuty v tabulce 2.10. U modelu 3 je toto schéma stejné, u modelu 2 jej lze vytvořit analogicky.

Na závěr poznamenejme, že to, že jsme při definování příspěvků R_{2j}^0 zanedbali interakce s deuteriem nemusí být striktně korektní. Jádro deuteria má přibližně 6,5-krát menší gyromagnetický poměr než jádro vodíku, což k zanedbání DD interakce mezi jádry vodíku a deuteria nemusí stačit. Nicméně při praktickém provedení fitů se ukázalo, že ani výše popsané rozdělení nevýměnných příspěvků není nutné dělat. Zadáme-li totiž do fitů relaxační příspěvky v jednotlivých stavech všechny stejné rovné R_1^{exp} opravené o příspěvek anizotropie chemického stínění, tak výsledné fitované parametry vyjdou stejně. To je dáno tím, že relaxace bez příspěvku chemické výměny jsou v řádu sekund, kdežto výměna probíhá v řádu milisekund. Fitovaný model tedy není na drobné korekce R_{2j}^0 v jednotlivých stavech vůbec citlivý.

Nyní již máme zadané všechny potřebné veličiny pro fity jednotlivými modely a můžeme je provést. Výsledky fitů jednotlivými modely jsou uvedeny v tabulkách 2.11, 2.12 a 2.13. Každá naměřená křivka byla fitována jednotlivě. Pro posouzení kvality jednotlivých fitů jsou dále v tabulce 2.14 uvedeny střední

kvadratické odchylky (RMSD, z anglického „root-mean-square deviation“).

Tabulka 2.10: Příspěvky k R_{2j}^0 v jednotlivých stavech modelu 1. Čísla v závorce ve sloupci stav označují z-ovou projekci spinu jádra ^{17}O .

Číslo stavu	Stav	R_2^0
1	H_2^{16}O	$R_1^{DD,Intra} + R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
2	HD^{16}O	$R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
3	H_2^{17}O (5/2)	$R_1^{DD,Intra} + R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
4	H_2^{17}O (3/2)	$R_1^{DD,Intra} + R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
5	H_2^{17}O (1/2)	$R_1^{DD,Intra} + R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
6	H_2^{17}O (-1/2)	$R_1^{DD,Intra} + R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
7	H_2^{17}O (-3/2)	$R_1^{DD,Intra} + R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
8	H_2^{17}O (-5/2)	$R_1^{DD,Intra} + R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
9	HD^{17}O (5/2)	$R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
10	HD^{17}O (3/2)	$R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
11	HD^{17}O (1/2)	$R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
12	HD^{17}O (-1/2)	$R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
13	HD^{17}O (-3/2)	$R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$
14	HD^{17}O (-5/2)	$R_1^{DD,Extra} + \frac{7}{6} R_1^{CSA}$

Tabulka 2.11: Výsledky fitů naměřených dat modelem 1 pro jednotlivé vzorky při jednotlivých teplotách (T). Fitovanými parametry jsou J-vazba mezi jádrem ^1H a ^{17}O (J_{OH}) a rychlostní konstanta chemické výměny (k_{ex}). Čísla v závorkách udávají chybu fitu jednotlivých parametrů.

Vzorek	T (K)	J_{OH} (Hz)	k_{ex} (s^{-1})
Vzorek 1	281,6	77(1)	847(62)
	298,6	93(3)	554(26)
	320,3	116(4)	496(17)
Vzorek 2	281,6	69(8)	670(560)
	292,8	80(3)	760(160)
	304,4	86(2)	802(89)
	315,2	88(1)	879(62)
Vzorek 3	292,8	103(1)	1395(69)
	309,8	133(5)	640(26)
	320,3	173(12)	444(16)
Vzorek 4	281,6	116(9)	1120(540)
	287,2	116(6)	1130(370)
	292,8	114(3)	1170(210)
	304,4	108(1)	1630(100)
	309,8	119(3)	1240(240)
	315,2	138(9)	651(43)
Vzorek 50	292,8	83(1)	228(2)
	304,4	92(1)	271(2)
	315,2	99(2)	291(3)

Tabulka 2.12: Výsledky fitů naměřených dat modelem 2 pro jednotlivé vzorky při jednotlivých teplotách (T). Fitovanými parametry jsou J-vazba mezi jádery ^1H a ^{17}O (J_{OH}), J-vazba mezi jádery ^1H a D (J_{HD}) a rychlostní konstanta chemické výměny (k_{ex}). Čísla v závorkách udávají chybu fitu jednotlivých parametrů.

Vzorek	T(K)	J_{OH} (Hz)	J_{HD} (Hz)	k_{ex} (s^{-1})
Vzorek 1	281,6	92(3)	0,63(5)	402(22)
	298,6	108(4)	0,65(7)	407(25)
	320,3	134(6)	0,67(7)	394(20)
Vzorek 2	281,6	81(3)	1,05(1)	200(5)
	292,8	84(3)	0,82(3)	457(34)
	304,4	81(1)	0,73(9)	861(52)
	315,2	102(4)	0,69(8)	524(42)
Vzorek 3	292,8	140(5)	0,96(6)	503(25)
	309,8	164(7)	0,92(6)	473(18)
	320,3	244(11)	0,92(3)	331(7)
Vzorek 4	281,6	107(5)	1,62(4)	680(68)
	287,2	124(4)	1,46(3)	591(32)
	292,8	142(4)	1,36(3)	531(19)
	304,4	178(7)	1,18(4)	450(13)
	309,8	162(6)	1,45(3)	522(19)
	315,2	216(9)	1,2(3)	399(10)
Vzorek 50	292,8	86(1)	0,6(1)	215(2)
	304,4	94(1)	0,5(1)	262(4)
	315,2	98(2)	0(90)	292(4)

Tabulka 2.13: Výsledky fitů naměřených dat modelem 3 pro jednotlivé vzorky při jednotlivých teplotách (T). Fitovanými parametry jsou J-vazba mezi jádery ^1H a ^{17}O (J_{OH}), izotopický chemický posun jader ^1H v důsledku přítomnosti jádra D v molekule HDO ($\Delta\sigma_{HD}$) a rychlostní konstanta chemické výměny (k_{ex}). Čísla v závorkách udávají chybu fitu jednotlivých parametrů.

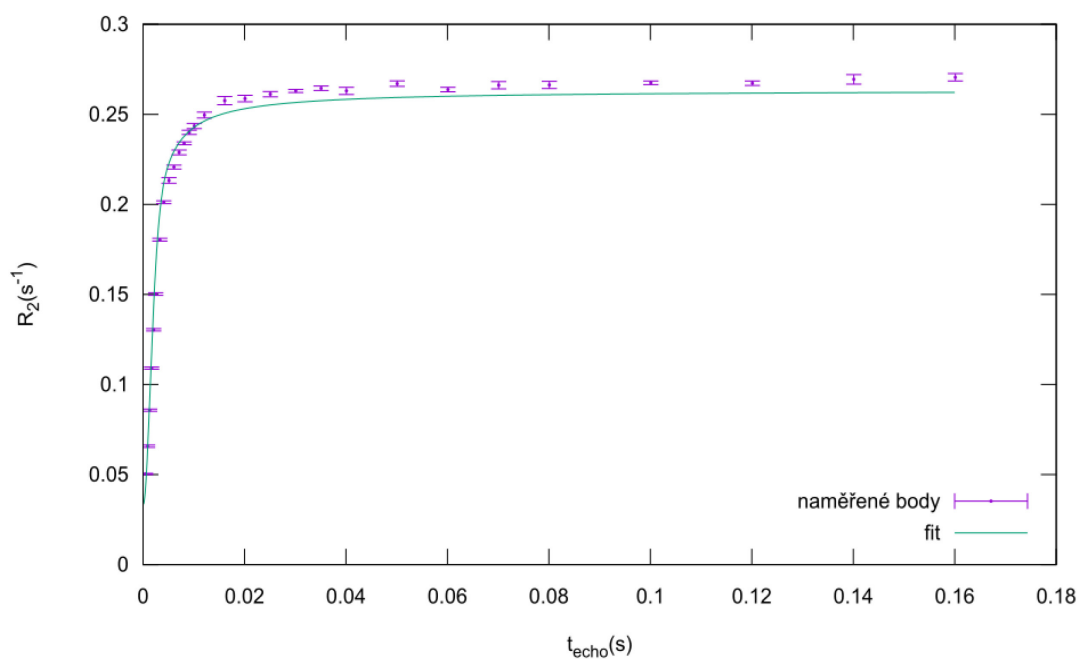
Vzorek	T (K)	J_{OH} (Hz)	$\Delta\sigma$ (ppm)	k_{ex} (s^{-1})
Vzorek 1	281,6	93(3)	0,0328(25)	395(22)
	298,6	108(4)	0,0339(37)	400(25)
	320,3	135(6)	0,0350(38)	390(20)
Vzorek 2	281,6	82(3)	0,0098(1)	198(5)
	292,8	84(3)	0,0077(3)	456(34)
	304,4	81(1)	0,0068(9)	861(52)
	315,2	102(4)	0,0064(7)	524(42)
Vzorek 3	292,8	140(5)	0,0038(2)	503(25)
	309,8	164(7)	0,0036(2)	473(18)
	320,3	244(11)	0,0036(1)	331(7)
Vzorek 4	281,6	107(5)	0,0050(1)	681(68)
	287,2	124(4)	0,0045(1)	591(32)
	292,8	142(4)	0,0042(1)	531(19)
	304,4	178(7)	0,0037(1)	450(13)
	309,8	162(6)	0,0045(1)	522(19)
	315,2	216(9)	0,0037(1)	399(10)
Vzorek 50	292,8	86(1)	0,0049(4)	215(2)
	304,4	94(1)	0,0043(8)	262(4)
	315,2	99(2)	0,0000(4400)	291(6)

Tabulka 2.14: Střední kvadratické odchylky (RMSD) fitů jednotlivými modely pro jednotlivé vzorky a teploty (T).

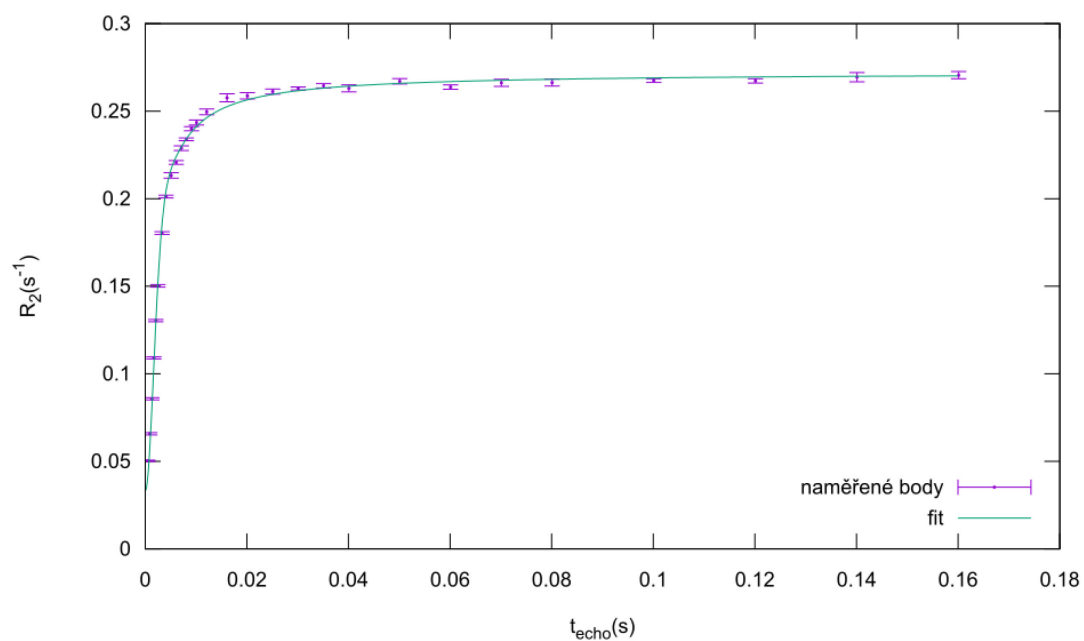
Vzorek	T (K)	<i>RMSD</i>		
		Model 1	Model 2	Model3
Vzorek 1	281,6	0,0037	0,0041	0,0041
	298,6	0,0053	0,0046	0,0046
	320,3	0,0078	0,0061	0,0060
Vzorek 2	281,6	0,0325	0,0055	0,0054
	292,8	0,0076	0,0035	0,0034
	304,4	0,0041	0,0022	0,0022
	315,2	0,0034	0,0040	0,0040
Vzorek 3	292,8	0,0049	0,0067	0,0067
	309,8	0,0093	0,0070	0,0070
	320,3	0,0148	0,0062	0,0062
Vzorek 4	281,6	0,0193	0,0046	0,0046
	287,2	0,0141	0,0051	0,0051
	292,8	0,0094	0,0051	0,0051
	304,4	0,0072	0,0064	0,0064
	309,8	0,0114	0,0065	0,0065
	315,2	0,0153	0,0065	0,0065
Vzorek 50	292,8	0,0135	0,0095	0,0095
	304,4	0,0128	0,0114	0,0114
	315,2	0,0188	0,0189	0,0189

Z tabulky 2.14 vidíme, že RMSD fitů modelem 1 vychází v převážné většině případů větší než RMSD fitů modelem 2 a 3. Dále si lze povšimnout, že mezi RMSD fitů modelem 2 a 3 prakticky není rozdíl. Z tohoto lze usoudit, že model 1 vystihuje naměřená data hůře, než modely 2 a 3 a že modely 2 a 3 jsou v porovnání stejně kvalitní. Toto je vidět i z grafů jednotlivých fitů, které jsou uvedeny v přílohách 2-4. Pro ilustraci jsou zde uvedeny grafy naitovaných závislostí $R_2(t_{echo})$ pro vzorek 2 při teplotě 292,8 K – viz graf 2.3 (model 1), graf 2.4 (model 2) a graf 2.5 (model 3).

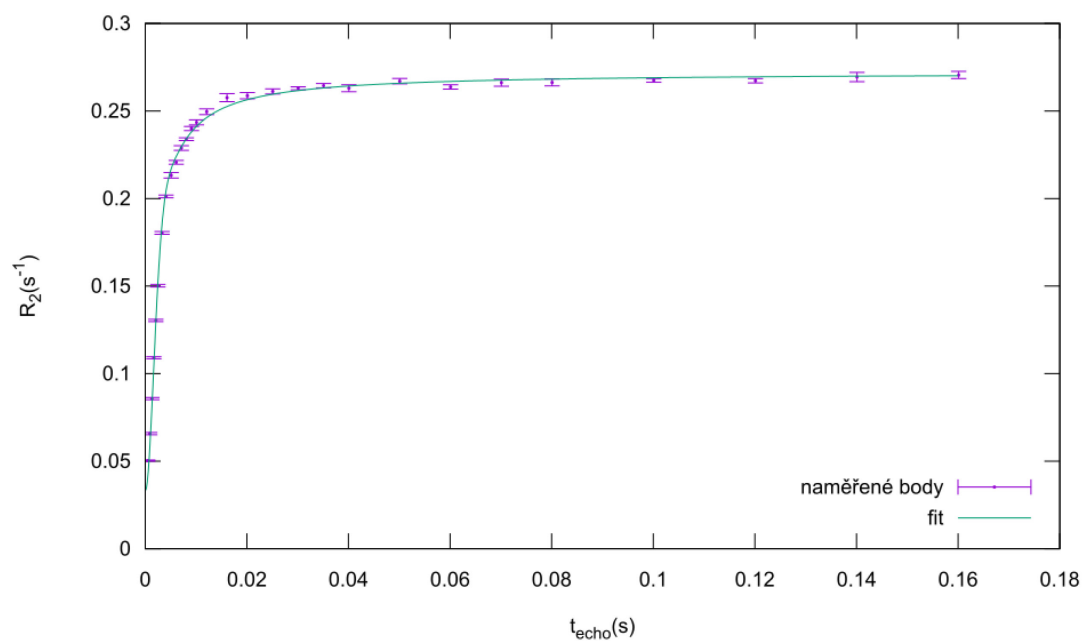
Je tedy patrné, že se v naměřených datech projevuje vliv deuteria a nejdě jej zanedbat. Proto se v další diskusi budeme soustředit na modely 2 a 3.



Graf 2.3: Závislost R_2 na echočase pro vzorek 2 při teplotě 292,8 K. Fit modelem 1.



Graf 2.4: Závislost R_2 na echočase pro vzorek 2 při teplotě 292,8 K. Fit modelem 2.



Graf 2.5: Závislost R_2 na echočase pro vzorek 2 při teplotě 292,8 K. Fit modelem 3.

Věnujme se nyní výsledkům modelu 2. V tabulce 2.12 si lze všimnout, že naměřené hodnoty J_{OH} , J_{HD} a k_{ex} vykazují některé vlastnosti, které by vykazovat neměly.

Konstanta J_{OH} pro některé vzorky výrazně roste s teplotou. Zejména jde o vzorky 1, 3 a 4. Toto by se dít nemělo, neboť skalární konstanty J-vazby obecně na teplotě nezávisí.

Konstanta J_{HD} závislost na teplotě nevykazuje, ale vzorek od vzorku se poměrně výrazně odlišuje. K tomu, aby J_{HD} záviselo na koncentraci molekul HDO však také nejsou důvody.

V neposlední řadě vidíme, že rychlostní konstanta k_{ex} je pro vzorek 1 konstantní s teplotou, pro vzorky 2 a 5O s teplotou roste a pro vzorky 3 a 4 s teplotou dokonce klesá. Je však rozumné se domnívat, že by tato konstanta měla vykazovat závislost na teplotě podle Arrheniova vztahu (1.40).

Je ovšem nutné podotknout, že parametry J_{OH} , J_{HD} a k_{ex} jsou značně korelovány. Například pro vzorek 2 při teplotě 292,8 K dostaneme následující korelační matici

	J_{OH}	J_{HD}	k_{ex}
J_{OH}	1,000	0,526	-0,956
J_{HD}	0,526	1,000	-0,724
k_{ex}	-0,956	-0,724	1,000

Tedy zejména mezi J_{OH} a k_{ex} je silná negativní korelace. Tímto lze rozporuplné hodnoty v tabulce 2.12 vysvětlit. Například se můžeme podívat na vzorek 1. U něj J_{OH} s teplotou roste a k_{ex} je konstantní. Díky této negativní korelaci to však může být naopak a fit pouze zkonvergoval do fyzikálně špatného řešení.

S tímto se můžeme zkusit vyrovnat tak, že do fitu zavedeme závislost k_{ex} ve tvaru (1.40) a fitovat budeme před-exponenciální faktor A a aktivační energii E_a a nafitujeme data současně. To můžeme udělat jednotlivě pro každý vzorek

nebo i současně pro všechny vzorky najednou. Výsledky takovýchto fitů jsou uvedeny v tabulce 2.15.

Tabulka 2.15: Výsledky fitů naměřených dat modelem 2 s předpokladem k_{ex} ve tvaru (1.40). V řádcích označených jako „vzorek 1“ – „vzorek 5O“ jsou fity provedené na teplotně závislých datech získaný pro každý vzorek zvlášť.

V řádku označeném jako „všechny vzorky“ je výsledek fitu, který byl proveden na datech pro všechny vzorky současně. Fitovanými parametry jsou J-vazba mezi jádry ^1H a ^{17}O (J_{OH}), J-vazba mezi jádry ^1H a D (J_{HD}), před-exponenciální faktor (A) a aktivační energii (E_a). V posledním sloupci jsou uvedeny střední kvadratické odchylky fitů ($RMSD$).

Fit pro	J_{OH} (Hz)	J_{HD} (Hz)	A (s^{-1})	E_a (J mol^{-1})	$RMSD$
Vzorek 1	111(3)	0,67(4)	4200(800)	5890(450)	0,0076
Vzorek 2	81(1)	1,00(1)	$27(18) \cdot 10^6$	27200(1600)	0,0095
Vzorek 3	171(10)	0,95(6)	424(21)	0(78)	0,0166
Vzorek 4	148(5)	1,36(3)	505(22)	0(63)	0,0153
Vzorek 5O	94(1)	0,57(10)	23100(3300)	11430(360)	0,0234
Všechny vzorky	108(4)	1,25(2)	7900(3100)	9000(1000)	0,0715

Ani tyto fity ovšem přílišné zlepšení situace nepřinesly. Fity pro vzorky 1 a 2 dopadly alespoň elementárně smysluplně v tom, že dávají rostoucí rychlostní konstantu chemické výměny v závislosti na teplotě. Hodnoty konstant J-vazby mezi ^{17}O a ^1H se však výrazně liší. Pro vzorek 3 a 4 měl fit tendenci sklouzávat do záporných hodnot aktivačních energií. Proto byla aktivační energie při fitu na těchto vzorcích zdola omezena nulou, ani tak se ovšem nepodařilo nalézt jiné minimum, které by dávalo nenulovou kladnou hodnotu. U těchto vzorků tedy fit s k_{ex} ve tvaru (1.40) nepřinesl žádné zlepšení oproti jednotlivým fitům v tabulce 2.12. Nafitované výsledky na vzorku 5O sice dávají rostoucí rychlostní

konstantu, ale RMSD tohoto fitu naznačuje, že tento fit nevystihuje experimentální data příliš dobře. Totéž lze říct i pro fit pro všechny vzorky najednou.

O výsledcích získaných z fitu modelem 3 (viz. tabulka 2.13) lze říci totéž co bylo řečeno u modelu 2. Některé J_{OH} opět závisejí na teplotě a k_{ex} s teplotou někdy klesají. Mezi jednotlivými parametry je opět velká korelace. Fity s k_{ex} ve tvaru Arrheniovy závislosti v tomto případě provádět nebudeme, neboť chemický posun může být závislý na teplotě a nemáme data pro to rozhodnout, jak tuto závislost parametrizovat.

Srovnajme nyní naše výsledky s výsledky z literatury. Meiboom ve své práci [29] naměřil $J_{OH} = 92(15) \text{ Hz}$. Měření provedl na vzorcích 100 % H_2O obohacené o izotop ^{17}O při teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$. Dále v práci [59] autoři měřili závislost J_{OH} na teplotě a pH. Měřili na dvou vzorcích ^{17}O -obohacené vody při teplotách 4, 25 a $46 \text{ }^\circ\text{C}$. První vzorek měl pH nastavené přidáním HCl na 4,47. U druhého vzorku bylo pH nastaveno na 9,21 přidáním NaOH . Autoři žádnou závislost J_{OH} na teplotě ani pH nezjistili. Střední hodnota J_{OH} jim vyšla $J_{OH} = 89,8(23) \text{ Hz}$. Autoři publikace [60] měřili NMR spektrum směsi $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ velmi zředěné v deuterovaném nitromethanu. Měření provedli při teplotě 353 K . Takto určili $J_{OH} = 80,6(1) \text{ Hz}$, $J_{HD} = 1,091(5) \text{ Hz}$ a izotopový chemický posun $\sigma_{HD} = 0,030 \text{ ppm}$. Podobně v [61] měřili spektrum směsi $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ velmi zředěné v acetonu a dostali J-vazbu mezi H a D $J_{HD} = 1,1(1) \text{ Hz}$ a izotopový chemický posun $\sigma_{HD} = 0,030(3) \text{ ppm}$. Dále můžeme uvést výsledek teoretického výpočtu. Například autorům práce [62] vyšel $J_{OH} = 76,71 \text{ Hz}$.

Izotopový chemický posun ve většině našich měření (viz. tabulka 2.13) vychází o řád nižší než uvedené hodnoty z literatury. Je však potřeba poznamenat, že výše uvedené hodnoty z literatury byly naměřeny na izolované molekule HDO zředěné v acetonu, nebo nitromethanu. Proto porovnatelnost těchto hod-

not chemických posunů s našimi daty je otázkou. Nicméně naše hodnoty chemických posunů jsou obecně poměrně malé. Proto se jako nejpravděpodobnější jeví interpretace modelem 2, kde se naše výsledky J_{OH} a J_{HD} s literaturou alespoň řádově shodují.

Je však třeba přiznat, že se naše vzorky mezi sebou velmi pravděpodobně systematicky liší. Nejpravděpodobnějším zdrojem této systematické chyby je problém se stabilitou vzorků po přípravě popsaný v kapitole 2.4.1, kdy je potřeba čekat minimálně měsíc, než vzorek dospěje do rovnováhy. Tento negativní fenomén provázel tuto práci léta a nepovedlo se přesvědčivě odhalit, co je jeho zdrojem. Pokud by Meiboomova interpretace chemické výměny platila, jakože pravděpodobně platí, tak je poměrně nepředstavitelné, aby ustavování rovnováhy molekul H_2O , HDO a D_2O trvalo měsíc. V kapitole 2.2.4 sice bylo uvedeno, že rozpad molekuly H_2O na ionty H^+ a OH^- trvá při $25\text{ }^\circ\text{C}$ přibližně 8 hodin, nicméně v kapalně vodě je řádově 10^{23} molekul a jakákoliv rovnováha by se měla ustavit poměrně rychle. Proto si lze těžko představit proces, který by za tím mohl být. Nicméně jsme to v našich měřeních neustále pozorovali.

Metoda měření v této práci má výhodu v tom, že měření probíhá na čisté vodě. Výsledky v literatuře byly vždy získány na vzorcích s nějakou příměsí. Ať už kvůli nastavení pH, či kvůli izolování molekuly vody. Proto tato metoda má potenciál přinést nové informace o dynamických procesech v čisté vodě, nicméně má však i výše popsanou vadu.

2.5 Shrnutí

V této kapitole byla prostudována chemická výměna ve směsích H_2O/D_2O .

Velké množství času a úsilí bylo věnováno metodické přípravě. Jednak bylo nutné se vypořádat s parazitním jevem radiačního tlumení. Toho bylo dosaženo úpravou rezonančního obvodu sondy a použitím tlustostěnných kyvet. Dále

také byla řešena problematika zahřívání vzorku radiofrekvenčními pulsy v sekvenci CPMG. V počátečních fázích, kdy byla používána sonda TXI, bylo toto zahřívání kompenzováno speciálně upravenou sekvencí CPMG. Po přechodu na QNP sondu se ukázalo, že na této sondě se tento jev, díky odlišné konstrukci sondy, projevuje pouze zanedbatelně a použití upravené sekvence CPMG nebylo potřeba. Nejkomplikovanější částí metodické přípravy, bylo nalezení metodiky přípravy vzorků. Během několikaleté práce byl pozorován problém nestability vzorků. Proto byla vypracována metodika přípravy vzorků, která umožnila přípravu maximálně čistých vzorků, jež bylo v možnostech laboratoře. Vzorky byly dvakrát destilovány v křemenné destilační aparatuře, odplyněny metodou freeze-pump-thaw a zataveny v křemenných tlustostěnných kytetách. Bohužel i po takto důkladné přípravě vzorků bylo zjištěno, že vzorky jsou stále nestabilní a do rovnováhy dospějí až přibližně po 30-ti dnech. Příčiny této nestability však dodnes zůstávají nezodpovězenou otázkou.

Pro finální měření a studium chemické výměny bylo připraveno celkem 5 vzorků různě koncentrovaných směsí $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$. Měření na těchto vzorcích proběhla po nejméně 30-ti dnech od přípravy.

Po naměření série dat na těchto vzorcích byla provedena jejich analýza s cílem ověřit platnost původní Meiboomovy interpretace [29]. Data byla fitována třemi modely odvozenými od Meiboomovy interpretace.

Meiboom ve své práci měřil na vzorku 100 % H_2O . V této práci byly použity směsi $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$. Jedním z důvodů bylo to, že na moderních velmi citlivých přístrojích je měření na vzorku 100 % H_2O problematické z důvodu jevu radičního tlumení. Druhým důvodem bylo využití výhody, které to s sebou přináší. Použitím směsi $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ dojde k zvýraznění příspěvku chemické výměny v důsledku snížení nevýměnného relaxačního příspěvku, který je dán především dipól-dipólovou interakcí.

V rámci interpretace bylo zjištěno, že se v chemické výměně v našich vzorcích kromě jader ^{17}O projevují i jádra D. Jako nejpravděpodobnější model chemické výměny byl vybrán model, kdy jádra vodíku přeskakují mezi molekulami s izotopy kyslíku ^{16}O a ^{17}O a současně též s izotopy ^1H a D jako druhého vodíku v molekule. Jednotlivé stavy v modelu chemické výměny jsou dány J-interakcemi mezi jádry ^1H a ^{17}O a mezi jádry ^1H a D. Naše data tedy představují potenciální nový zdroj informací nejen o J-vazbě mezi jádry ^1H a ^{17}O , ale i o J-vazbě mezi jádry ^1H a D.

Naše výsledky se řádově shodují s výsledky dostupnými v literatuře. Nicméně je třeba podotknout, že jednotlivé vzorky poskytli poněkud odlišné výsledky. To je nejspíše dáno systematickou chybou, která souvisí s nestabilitou vzorků. Proto pro získání jasných závěrů by bylo nutné se tématu dále věnovat, a především vyřešit otázku nestability vzorků. Následně pak by bylo možné případné nesrovnalosti ve výsledcích fitů řešit vhodnou parametrizací těchto fitů.

3 Mikrofrikční faktor v Stokes-Einsteinově vztahu v případě malých molekul

3.1 Motivace a cíle

NMR spektroskopie s pulsními gradienty magnetického pole (PFG NMR) zaznamenala v nedávné době značný technologický vývoj. Díky tomu dnes můžeme rutinně měřit translační samo-difúzní koeficient molekul v kapalinách při absenci gradientu chemického potenciálu.

Toto nám dává nástroj pro určování velikosti, či hmotnosti, molekul nebo supramolekulárních agregátů, který má značný význam v mnoha oborech jako je supramolekulární chemie, biochemie, katalýza, materiálová chemie, chemie polymerů, fyzika a další.

Vztah mezi velikostí molekul a difúzním koeficientem udává Stokes-Einsteinův vztah (1.68) prostřednictvím hydrodynamického poloměru r_H . Tento vztah byl odvozen za předpokladu, že studované molekuly (částice) jsou mnohem větší než molekuly rozpouštědla, a tudíž lze médium považovat za kontinuum. V případě malých molekul podléhajících samo-difúzi v běžných rozpouštědlech však tento předpoklad neplatí.

Snahy o udržení platnosti Stokes-Einsteinova vztahu i pro malé molekuly nejčastěji vedou k zavedení fenomenologického mikrofrikčního faktoru c do vztahu (1.68). Tedy pracujeme se Stokes-Einsteinovým vztahem ve tvaru

$$D = \frac{k_B T}{6c\pi\eta r_H}. \quad (3.1)$$

Mikrofrikční faktor c nabývá hodnot v intervalu (0,1) a je třeba jej vhodně nastavit pro danou studovanou molekulu v daném rozpouštědle. Tento postup lze do určité míry ospravedlnit tím, že při okrajových podmínkách, které se

standardně označují jako „slip boundary conditions“ lze z teorie odvodit hodnotu mikrofrikčního faktoru $c = 2/3$, na rozdíl od výše popsaných podmínek, které vedou na $c = 1$.

Přístupů, jak správně modifikovat rovnici (3.1) je řada. Široce přijatou modifikací rovnice je ta zavedená Giererem a Wirtzem [63]. Tito autoři zavedli korekční faktor založený na poměru molekulárních poloměrů rozpuštěné látky a rozpouštědla.

Dále se praktickou použitelností Stokes-Einsteinova vztahu zabývali Chen a Chen [64], kteří vzali sadu modelových molekul (včetně crown etherů) rozpuštěných v několika jednoduchých alkoholech. Na základě toho navrhli korekční faktor, který vede k přesnějším fitům difúzních koeficientů než v případě Gierer-Wirtzova [63] přístupu. Nicméně zatímco v případě methanolu jako rozpouštědla získali dobré výsledky, tak bohužel pro ostatní rozpouštědla jejich přístup nepřinesl akceptovatelné výsledky.

Další možností, jak nastavit korekci Stokes-Einsteinova vztahu je pozměnění významu molekulárního hydrodynamického poloměru. Nejčastěji se používá Van der Waalsův poloměr. Nicméně někteří autoři používají krystalografický poloměr, což je veličina odvozená od objemu, který molekula zabírá v krystalu. Takovéto konverze vedou k zavedení dodatečného faktoru.

Někteří autoři nezapočítávají celý objem odpovídající jedné molekule v krystalové struktuře, ale uvažují tak, jako by byla veškerá hmota soustředěna do koule s určitým objemovým packingem, tj. uvažují určitý atomový packing faktor. Tento přístup zvolil například Evans s dalšími spoluautory [65], kteří zkonstruovali modifikaci Gierer-Wirtzova modelu, která by měla přímo usnadnit určení hmotnosti malých molekul. Stanovili univerzální efektivní molekulovou hustotu $\rho_{eff} = 619 \text{ kg m}^{-3}$ která platí jak pro rozpouštědlo, tak pro rozpuštěnou látku a měla by pojmout všechny možné korekční faktory. Tato zjevně

numericky příliš nízká hustota (tato hodnota zahrnuje i packing faktor, jako by veškerá hmota byla soustředěna do náhodně zpakovaných koulí, tj. měla by být zhruba 1,5 krát vyšší než skutečná hustota materiálu) kompenzuje korekční faktor, který dříve zavedli Gierer a Wirtz.

Neufeld a Stalke nedávno publikovali svůj přístup založený na konstrukci externích kalibračních křivek z dat několika standardů a použití empirického mocninného zákona korelujícího molekulovou hmotnost a difúzní koeficient za účelem stanovení hmotnosti různých oligomerních a solvatačních stavů organo-metalických sloučenin [66]–[68].

Výše uvedený soupis některých dříve používaných přístupů je zde uveden proto, aby bylo ukázáno, že různí autoři zavádějí do původního Stokes-Einsteinova vzorce různé libovolné korekční faktory k různým proměnným v Stokes-Einsteinově vzorci. Pro čtenáře je tedy často obtížné odlišit principiální příspěvek od pouhého parametrického přeuspořádání.

V této části disertační práce se pokusíme vypracovat nový postup určení mikrofrikčního faktoru c . Tento postup bude založen na porovnání naměřeného samo-difúzního koeficientu určitých modelových molekul s vypočteným samo-difúzním koeficientem těchto molekul na základě hydrodynamických simulací. Tyto hydrodynamické simulace budou provedeny pomocí programů HydroNMR [69] a DiTe [70].

Výhodami tohoto postupu je, že je univerzálně použitelný pro jakékoliv molekuly v jakémkoliv rozpouštědle a že zachovává původní význam jednotlivých proměnných v Stokes-Einsteinově vztahu.

Jako modelové molekuly použijeme především lineární ethery a cyklické crown-ethery doplněné o některé další molekuly. Crown-ethery mají velmi podobnou strukturu k molekulárním clusterům ethanolu, které jsou v naší skupině předmětem výzkumu [71]. Velká část tohoto výzkumu je věnována určení

typu a velikosti clusterů ethanolu v závislosti na různě velkém zředění v hexanu. K tomu lze právě využít difúzních měření, ale je pro to nutné znát mikrofrikční faktor pro jednotlivé vypočtené struktury clusterů.

Cílem této části disertační práce je

- Vypracovat výše popsany postup určení mikrofrikčního faktoru c , založeném na kombinaci měření a hydrodynamických simulací.

V této práci budeme pracovat s výrazem

$$6cr_H = \frac{k_B T}{\pi \eta D}, \quad (3.2)$$

který dostaneme úpravou vztahu (3.1). Výhodou tohoto vyjádření je, že na levé straně máme oddělen molekulově-specifický výraz $6cr_H$ od samo-difúzního koeficientu D a parametrů prostředí (η , T) na pravé straně.

3.2 Modelové molekuly

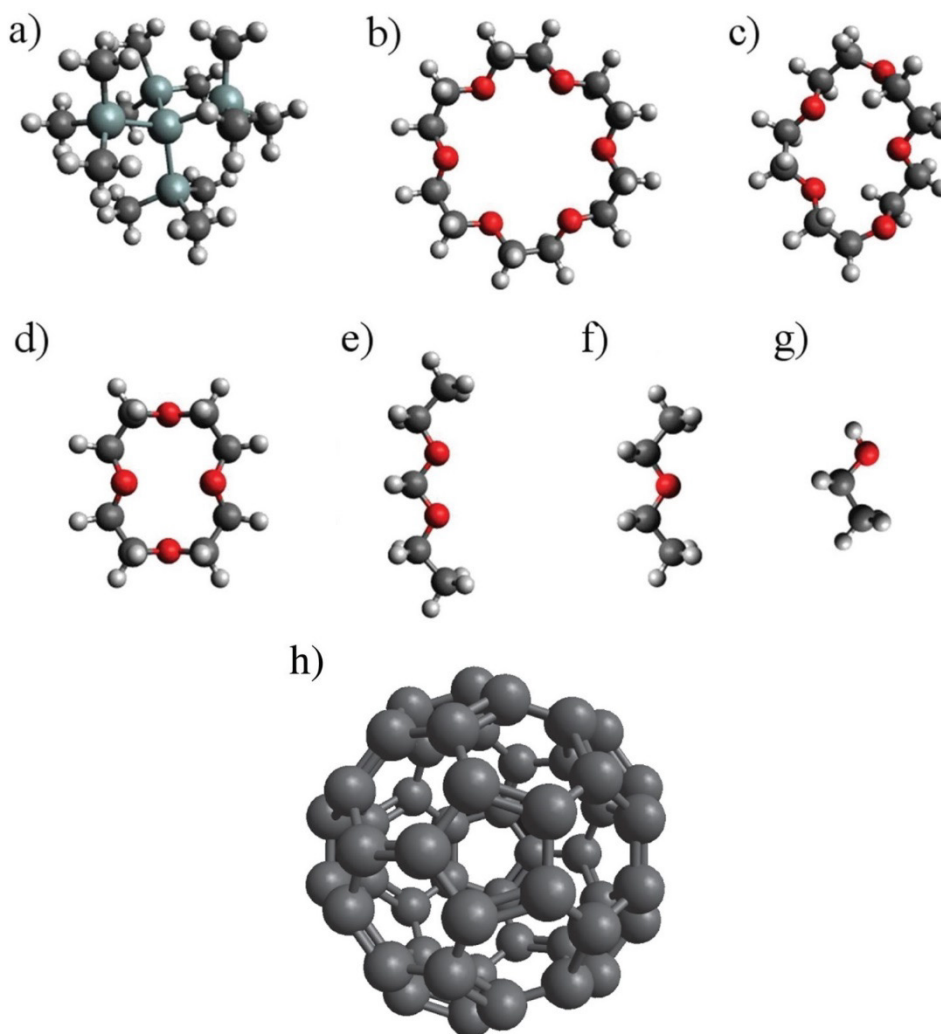
V této práci byly použity následující modelové molekuly:

- a) Tetrakis(trimethylsilyl)silan (TMSS)
- b) 18-crown-6 ether
- c) 15-crown-5 ether
- d) 12-crown-4 ether
- e) Diethoxymethan
- f) Diethylether
- g) Ethanol
- h) Fullerene C₆₀

Struktury těchto molekul jsou uvedeny na obrázku 3.1.

Dále v textu budeme potřebovat znát hodnoty van der Waalsova poloměru (r_{vdW}) a krystalografického poloměru (r_{XRay}) těchto molekul. Van der Waalsův poloměr každé molekuly lze spočítat postupem pospaným v [72]. Krystalogra-

fické poloměry jednotlivých molekul lze vypočíst z dostupných krystalografických dat. Pro TMSS byla použita data z [73], pro 18-crown-6 ether z [74], pro 15-crown-5 ether z [75], pro 12-crown-4 ether z [76], pro diethylether z [77], pro ethanol z [78] a pro fullerene C_{60} z [79]. Pro 18-crown-6 ether a 12-crown-4 ether



Obrázek 3.1: Struktury modelových molekul.

C_{60} . a) tetrakis(trimethylsilyl)silan (TMSS), b) 18-crown-6 ether, c) 15-crown-5 ether, d) 12-crown-4 ether, e) diethoxymethan, f) diethylether, g) etanol, h) fullerene C_{60} .

byla použita krystalografická data molekul s malými hosty (dvě molekuly NH_3 v případě 18-crown-6 etheru a jedné molekuly $LiBr$ v případě 12-crown-4 etheru), která dávala nejmenší objem krystalografické buňky na molekulu. Pro

dietoxymehtan nebyla nalezena žádná publikovaná krystalografická data. Výsledné hodnoty van der Waalových a krystalografických poloměrů jsou uvedeny v tabulce 3.1.

Tabulka 3.1: Hodnoty van der Waalových a krystalografických poloměrů studovaných molekul.

Vzorek	r_{vdW} (Å)	r_{XRay} (Å)
TMSS	4,55	5,28
18-crown-6 ether	3,94	4,61
15-crown-5 ether	3,71	4,11
12-crown-4 ether	3,43	4,05
Diethoxymethan	3,00	neznámý
Diethylether	2,74	3,14
Etanol	2,31	2,87
Fulleren C ₆₀	5,16	5,55

3.3 Experimentální část

3.3.1 Parametry připravených vzorků

Bylo připraveno celkem 7 vzorků pro NMR měření. Pro jejich přípravu byly použity následující chemikálie: tetrakis(trimethylsilyl)silan - TMSS (Sigma-Aldrich, 97 %), 18-crown-6 ether (Acros Organics, 99 %), 15-crown-5 ether (Acros Organics, 98 %), 12-crown-4 ether (Acros Organics, 97 %), diethoxymethan (Acros Organics, 99 %, stabilizovaný), diethylether (Acros Organics, 99.5 %, extra dry, stabilizovaný) and ethanol (Merck, absolutní pro analýzu).

Malé množství (0,5 – 3 μ l nebo přibližně 0,5 mg v případě pevného TMSS a 18-crown-6 etheru) bylo rozpuštěno v 600 μ l deuterovaného n-hexanu (Ar-

mar, 99,16 atomových-% D). Dále bylo do vzorků přidáno malé množství (přibližně 0,5 μ l) NMR standardu TMS – tetramethylsilan (Acros Organics, 99 %). Tento standard byl přidán do všech vzorků kromě vzorku s TMSS, ve kterém by se signály TMS a TMSS mohly překrývat.

Vzorky byly připraveny ve standardních 5 mm NMR kyvetách.

Přibližné koncentrace připravených vzorků byly určeny porovnáním intenzit signálů jednotlivých molekul s intenzitou signálu nedeuterovaných reziduí hexanu. Tento postup byl použit proto, že většina použitých molekul je těkavá a jejich odměřované objemy byly velmi malé. Nicméně pro účely této práce není nutné znát přesnou koncentraci jednotlivých vzorků. Jen poznamenejme, že v případě ethanolu byla použita dostatečně malá koncentrace, aby se zamezilo tvorbě vodíkových vazeb, a tedy aby se ve vzorku nacházely pouze monomery ethanolu [71]. Přibližné koncentrace připravených vzorků jsou uvedeny v tabulce 3.2.

Tabulka 3.2: Přibližné koncentrace připravených vzorků.

Vzorek	Molární koncentrace vzorku (mM)	Molární koncentrace TMS (mM)
TMSS	2	bez TMS
18-crown-6 ether	4	5
15-crown-5 ether	25	5
12-crown-4 ether	10	2
Diethoxymethan	18	1
Diethylether	33	5
Etanol	11	2

3.3.2 Měření viskozity

Viskozita byla měřena pomocí mikroviskozimetru Anton Paar Lovis 2000 ME, který funguje na principu padající kuličky v kapiláře. Byla použita skleněná kapilára o průměru 1,59 mm a nerezová kulička o průměru 1,5 mm s 4

μm vrstvou zlata na povrchu. S tímto uspořádáním je rozsah měřitelných viskozit 0,2 - 65 mPa. Výrobce udává přesnost přístroje je 0,5 % pro viskozitu, 0,02 °C pro teplotu a 0,1° pro úhel náklonu. Kapilára byla kalibrována pomocí ultra-čisté vody (0,890 mPa při 25 °C) [57].

Měření byla provedena při teplotě 25 °C a úhlem náklonu 15°. Byly provedeny tři cykly dopředného a zpětného pádu kuličky. Pro každý vzorek byla viskozita změřena třikrát, přičemž výsledek byl vždy stejný. Uváděné chyby měření jsou proto dané přesností přístroje.

Pro měření viskozity je potřeba znát hustotu měřených vzorků. Ta byla aproximována hustotou deuterovaného hexanu. Tato aproximace je oprávněná, neboť koncentrace přidaných sloučenin v jednotlivých vzorcích je velmi malá. Hustota byla měřena pomocí hustoměru Anton Paar DMA 4100M, který je založen na principu kmitů U-trubice. Přesnost přístroje je 0,0001 g cm⁻³ pro hustotu a 0,05 °C pro nastavení teploty. Měření bylo provedeno při teplotě 25 °C. Byla naměřena hustota deuterovaného hexanu 0,7630 g cm⁻³.

3.3.3 Parametry NMR měření

Všechna NMR měření byla provedena na spektrometru Bruker Avance III HD s protonovou rezonanční frekvencí 500 MHz (magnetické pole 11,7 T). Translační difúzní koeficienty byly měřeny na jádrech ¹H. Byla použita sonda BBFO, která má zabudovanou gradientní cívku v ose z. Absolutní intenzita gradientu byla kalibrována s pomocí standardního vzorku gadolinem dopované vody (1 % H₂O v D₂O) při teplotě 298,15 K. Maximální intenzita gradientu byla 0,506 T m⁻¹. Všechny experimenty byly provedeny při teplotě 298,15 K, která byla kalibrována pomocí standardního vzorku methanolu. Přesnost kalibrace teploty je 0,5 K [54].

Nastavení difúzních měření bylo provedeno pomocí standardní výrobcem

spektrometru dodávané „diff“ utility. Pro měření byla použita sekvence stimulo-
vaného spinového echa [80]. Relaxační perioda d_1 byla nastavena na $5T_1$. Ex-
perimenty byly provedeny na 8 skenů s 8 slepými skeny. Délka $\pi/2$ pulsu byla
 $9,9 \mu s$ při výkonu $22 W$. Hodnoty difúzního času Δ (prodleva mezi dvěma gra-
dientními pulsy v sekvenci) se měnily v závislosti na studované molekule od 20
ms (ethanol) do 50 ms (TMSS). Byly použity gradientní pulsy polo-sinového
tvaru s efektivní délkou $\delta = 1,5$ ms.

V každém difúzním experimentu bylo měřeno celkem 16 1D spekter s line-
árně se měnící intenzitou gradientu magnetického pole v intervalu 2-100 % ma-
ximální intenzity gradientu magnetického pole. Podle difúzního uživatelského
manuálu od firmy Bruker [81] jsou pulsní sekvence „diff“ utilitou generované
tak, že naměřenou intenzitu signálu I na intenzitě gradientu G lze vždy fitovat
rovnici (1.72) nezávisle na použitém typu sekvence a tvaru gradientu. Gyro-
magnetický poměr jader 1H je $\gamma = 4258 Hz/G$.

Pro fitování difúzního koeficientu byly použity pouze intenzity těch píků,
které se nepřekrývaly se signály standardu TMS a zbytkovými signály hexanu
– tj. ze zpracování byly vyjmuty signály metylových skupin diethoxymethanu,
diethyletheru a ethanolu. Všechny experimenty byly zopakovány třikrát. Di-
fúzní koeficienty byly vypočteny zvlášť pro každý signál ve spektru dané mo-
lekuly (kromě uvedených vyřazených signálů). Tj. pro diethoxymethan jsme
dostali celkem 6 hodnot difúzního koeficientu a pro ostatní sloučeniny jsme
získaly tři hodnoty. Hodnoty difúzních koeficientů, které jsou uvedeny dále
v textu, byly získány jako aritmetický průměr hodnot získaných pro různé píky
ve spektru. Standardní chyba měření difúzního koeficientu byla stanovena po-
mocí naměřených difúzních koeficientů standardu TMS v jednotlivých vzor-
cích. Difúzní koeficient tohoto standardu byl považován za stejný ve všech vzor-
cích, neboť rozdíly ve viskozitách těchto vzorků jsou zanedbatelné. Takto bylo

získáno celkem $6 \times 3 = 18$ hodnot difúzního koeficientu TMS. Na základě těchto měření byla relativní chyba měření difúzního koeficientu odhadnuta na méně než 1 %.

3.3.4 Hydrodynamické simulace a DFT výpočty

Hydrodynamické simulace byly provedeny pomocí programů HydroNMR [69] a DiTe [70]. Tyto programy byly navrženy pro výpočty hydrodynamických veličiny a NMR parametrů kvazi-rigidních molekul. DiTe umožňuje zahrnout i flexibilitu molekul, ale my se zde omezíme pouze na rigidní aproximaci. Oba programy pracují na principu modelování kuličkami, kdy reálnou difúzi podléhající částici reprezentujeme polem sférických frikčních částic, které podléhají Stokes-Einsteinovu zákonu [82], [83].

HydroNMR používá speciální případ kuličkového modelu – tzv. „shell“ model. Nejdříve program zkonstruuje primární model, kdy všechny nevodíkové atomy nahradí koulemi o poloměru označovaném jako „atomic element radius“ (*AER*). Tento primární model je následně použit k vytvoření sekundárního „shell“ modelu ve kterém je povrch částice reprezentován velkým počtem malých kuliček o poloměru σ . Hydrodynamické výpočty jsou pak provedeny s těmito mini-kuličkami. Výpočet se provede pro několik hodnot σ v intervalu od σ_{min} do σ_{max} a výsledek se následně získá extrapolací $\sigma \rightarrow 0$. Parametry *AER*, σ_{min} a σ_{max} jsou nastavitelné uživatelem. V našich výpočtech jsme σ_{max} a σ_{min} nastavovali tak, aby minimální a maximální počet mini-kuliček byl přibližně 600 a 2000 (což je maximální limit programu). Optimální hodnota parametru *AER* byla určena na 1,9117 Å (detaily této optimalizace jsou uvedeny v sekci výsledky a diskuse). Dále je třeba zadat souřadnice atomů simulovaných molekul, teplotu a viskozitu prostředí. Výstupem programu je translační difúzní koeficient a řada dalších parametrů, které pro tuto práci nejsou podstatné.

DiTe oproti HydroNMR pracuje se základním kuličkovým modelem. Každý

nevodíkový atom je nahrazen kuličkami o poloměru R_A a výpočet je proveden s těmito kuličkami. Nastavitelným parametrem tohoto modelu je poloměr R_A , pro nějž byla nalezena optimální hodnota 2,3450 Å (detaily optimalizace jsou opět uvedeny v sekci výsledky a diskuse). DiTe také umožňuje nastavit mikrofrikční faktor c . V našich simulacích jsme jej ponechali roven 1. V případě HydroNMR je mikrofrikční faktor fixně nastaven na 1. Opět je dále třeba zadat souřadnice atomů simulovaných molekul, teplotu a viskozitu prostředí. Výstupem programu je difúzní tenzor (a řada dalších pro nás nedůležitých parametrů).

Požadované atomové souřadnice studovaných molekuly byly vypočteny pomocí DFT teorie. Pro výpočet byl použit funkcionál B3LYP [84], [85] s bázeovým setem 6-31+G** implementovaném v programu Gaussian [86].

3.4 Výsledky a diskuse

3.4.1 Optimalizace parametrů AER a R_A v hydrodynamických simulacích

Pro provedení výpočtů v programech HydroNMR a DiTe je třeba specifikovat parametry AER (pro HydroNMR) a R_A (pro DiTe). Pro tento účel potřebujeme molekulu, pro kterou známe mikrofrikční faktor v Stokes-Einsteinově vztahu (3.1). Ideálně by to měla být dostatečně velká molekula, tak aby pro ni platilo $c = 1$. V této práci předpokládáme, že tyto podmínky splňuje molekula fullerenu C_{60} (viz. obrázek 3.1 h)) a lze ji tedy použít jako kalibrační standard.

Rozpustnost fullerenu C_{60} v hexanu je ale bohužel velmi malá. Autoři publikace [87] byly schopni připravit roztok o maximální koncentraci 27,8 μM . Takto malá koncentrace je pro NMR měření nedostatečná, protože v případě fullerenu C_{60} by bylo nutné měřit na málo zastoupených jádrech ^{13}C . Proto bylo nutné převzít hodnotu difúzního koeficientu fullerenu $D = 1,37(7) \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ z [87].

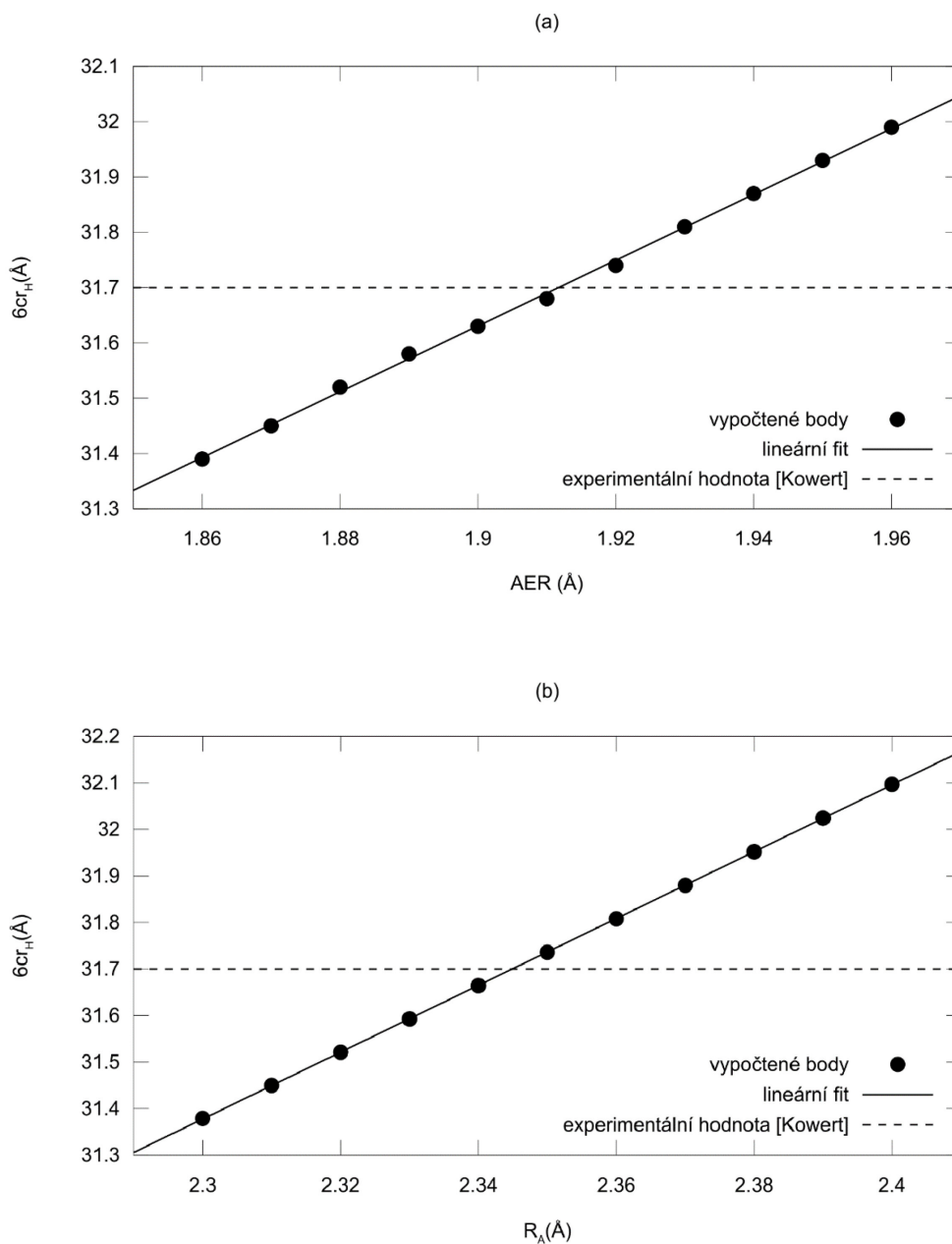
Tato hodnota byla naměřena metodou protlačování zředěného roztoku skrze mikrokapiláru. Tato hodnota byla změřena při teplotě 297,7(5) K a při dynamické viskozitě rozpouštědla (hexan) 0,301 mPa s [87].

Platnost Stokes-Einsteinovy rovnice (3.1) s $c = 1$ pro fulleren C_{60} lze podpořit srovnáním hydrodynamického poloměru fullerenu C_{60} s van der Waalsovým a krystalografickým poloměrem. Dosazením difúzního koeficientu, viskozity a teploty z [87] do rovnice (3.2) dostaneme hodnotu součinu $6cr_H = 31,7(16)$ Å. Předpokládáme-li platnost $c = 1$, pak dostaneme hodnotu hydrodynamického poloměru fullerenu C_{60} $r_H = 5,29(26)$ Å. Tato hodnota perfektně zapadá do intervalu ohraničeném van der Waalsovým poloměrem $r_{vdW} = 5,16$ Å a krystalografickým poloměrem $r_{XRay} = 5,55$ Å (viz. tabulka 3.1). Volba fullerenu C_{60} za kalibrační standard je tímto ospravedlněna.

Také by mělo být poznamenáno, že měření v [87] byla provedena v ne-deuterovaném hexanu, zatímco v našich měřeních byl jako rozpouštědlo použit deuterovaný hexan. Současné teorie [63], [64] ovšem předpokládají, že faktor c závisí na poměru velikostí rozpuštěných molekul a molekul rozpouštědla. Deuterace mění velikost molekuly pouze zanedbatelně, proto lze očekávat, že hydrodynamické poloměry r_H fullerenu C_{60} rozpuštěného v ne-deuterovaném a deuterovaném hexanu jsou stejné.

Pro kalibraci parametru AER byla v programu HydroNMR vypočtena závislost součinu $6cr_H$ fullerenu C_{60} na AER (viz. graf 3.1 (a)). Tato závislost byla spočtena v rozsahu AER 1,86 – 1,96 Å s krokem 0,01 Å. Tato závislost byla porovnána s experimentální hodnotou $6cr_H = 31,7(16)$ Å získanou dosazením difúzního koeficientu, viskozity a teploty převzatých z [87] do rovnice (3.2). Optimální hodnota $AER = 1,9117$ Å byla získána interpolací z vypočtené závislosti. Parametr R_A programu DiTe byl zkalibrován analogickým postupem. Byla vypočtena závislost $6cr_H$ na R_A v rozsahu 2,3 – 2,4 Å s krokem

0,01 Å (viz. graf 3.1 (b)), která byla porovnána s experimentální hodnotou. Takto byla získána optimální hodnota $R_A = 2,3450$ Å.



Graf 3.1: Závislost $6cr_H$ na AER (a), resp. R_A (b), pro fullerén C_{60} vypočtená v programu HydroNMR (a), resp. DiTe (b), za účelem optimalizace nastavení parametrů AER a R_A . Experimentální hodnota $6cr_H = 31,7(16)$ Å byla získána dosazením difuzního koeficientu, viskozity a teploty převzatých od Kowert a kol. [87] do rovnice (3.2). Optimální hodnoty $AER = 1,9117$ Å a $R_A = 2,3450$ Å byly určeny interpolací z vypočtených závislostí.

3.4.2 Určení mikrofrikčního faktoru c

Hodnoty dynamických viskozit, naměřené na jednotlivých vzorcích mikroviskozimetrem, jsou uvedeny v tabulce 3.3. Dále jsou v této tabulce uvedeny hodnoty difuzních koeficientů, která byly měřeny pomocí NMR. Teplota měření byla 298,2(5) K. Relativní chyby uvedených měření jsou 0,5 % pro viskozity a 1 % pro difuzní koeficienty (viz. kapitoly 3.3.2 a 3.3.3). V tabulce 3.3 jsou také uvedeny hodnoty $(6cr_H)_{exp}$ vypočtené dosazením experimentálních dat do rovnice (3.2).

Tabulka 3.3: Experimentální hodnoty dynamické viskozity η , translačních difuzních koeficientů D a experimentální hodnoty $(6cr_H)_{exp}$ vypočtené dosazením naměřených dat do rovnice (3.2).

Vzorek	η (mPa s)	D (10^{-9} m ² s ⁻¹)	$(6cr_H)_{exp}$ (Å)
TMSS	0,328(2)	2,011(20)	19,9(2)
18-crown-6 ether	0,328(2)	2,245(22)	17,8(2)
15-crown-5 ether	0,328(2)	2,467(25)	16,2(2)
12-crown-4 ether	0,328(2)	2,796(28)	14,3(2)
Diethoxymethan	0,327(2)	3,769(38)	10,6(1)
Diethylether	0,327(2)	4,454(45)	9,0(1)
Etanol	0,328(2)	5,381(54)	7,4(1)

Hodnoty $(6cr_H)_{calc}$ vypočtené z výsledků hydrodynamických simulací v programech HydroNMR a DiTe jsou uvedeny v tabulce 3.4. Simulace byly provedeny s nastavením, které bylo popsáno v kapitole 3.3.4. Teplota byla v simulacích nastavena na 298,15 K a hodnoty dynamické viskozity byly v simulacích nastaveny podle naměřených hodnot v tabulce 3.3. V DiTe byl mikrofrikční faktor nastaven na $c = 1$, v HydroNMR je takto nastaven defaultně.

Reálné hodnoty mikrofrikčních faktorů jednotlivých molekul c_{real} lze určit jako poměr experimentálních hodnot $(6cr_H)_{exp}$ a vypočtených hodnot

$(6cr_H)_{calc}$:

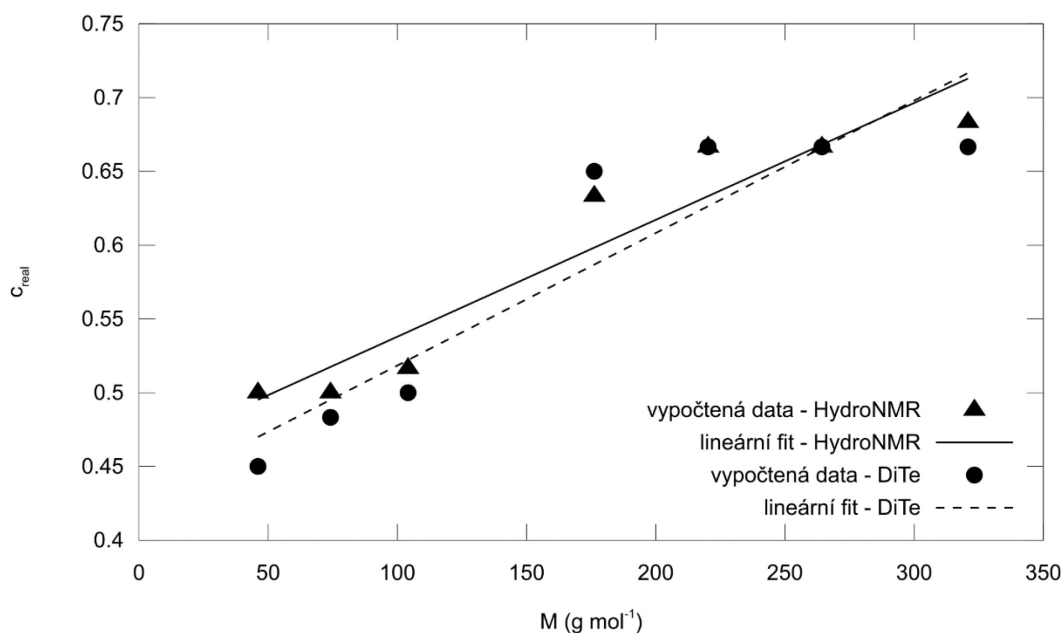
$$c_{real} = \frac{(6cr_H)_{exp}}{(6cr_H)_{calc}}. \quad (3.3)$$

Tabulka 3.4: Hydrodynamické vlastnosti studovaných molekul. Hodnoty $(6cr_H)_{calc}$ byly získány z hydrodynamických simulací v programech HydroNMR ($(6cr_H)_{calc}^{HydroNMR}$) a DiTe ($(6cr_H)_{calc}^{DiTe}$). Faktory c_{real} byly získány z rovnice (3.3). ^aFulleren C₆₀ byl použit jako kalibrační molekula pro nastavení simulačních programů. Bylo o něm předpokládáno, že splňuje Stokes-Einsteinovu rovnici (3.1) s faktorem $c \equiv 1$.

Molekula	M (g mol ⁻¹)	$(6cr_H)_{calc}^{HydroNMR}$ (Å)	$(6cr_H)_{calc}^{DiTe}$ (Å)	$c_{real}^{HydroNMR}$	c_{real}^{DiTe}
Fullerene C ₆₀	720,46	31,7	31,7	1,0 ^a	1,0 ^a
TMSS	320,84	29,1	29,8	0,68	0,67
18-crown-6 ether	264,32	26,9	27,0	0,67	0,67
15-crown-5 ether	220,27	24,5	24,5	0,67	0,67
12-crown-4 ether	176,21	22,3	22,2	0,63	0,65
Diethoxymethan	104,15	20,3	21,5	0,52	0,5
Diethylether	74,12	17,8	18,9	0,5	0,48
Etanol	46,07	14,9	16,2	0,5	0,45

Výsledné faktory c_{real} jsou uvedeny v tabulce 3.4. Faktory c_{real} byly vztaženy k molekulové hmotnosti jednotlivých molekul. Tyto molekulové hmotnosti jsou také uvedeny v tabulce 3.4. Výsledné závislosti c_{real} na molekulové hmotnosti jsou vykresleny v grafu 3.2. Tyto závislosti byly fitovány lineární funkcí $c_{real} = A M + B$. Výsledky fitů jsou $A^{HydroNMR} = 0,00079(11) \text{ g}^{-1} \text{ mol}$ a $B^{HydroNMR} = 0,46(2)$ pro závislosti získané z výsledků simulací v HydroNMR a $A^{DiTe} = 0,00090(17) \text{ g}^{-1} \text{ mol}$ a $B^{DiTe} = 0,43(3)$ pro výsledky ze simulací v DiTe. Střední kvadratické odchylky fitů (RMSD) jsou 0,03 (HydroNMR) a 0,04 (DiTe). Lineární fit je akceptovatelný pouze v omezeném rozsahu faktoru c , kde data nevykazují žádný jiný trend. Nicméně hodnoty faktoru c musí pro

velké hodnoty molekulových hmotností (typicky pro ty, které jsou srovnatelné či větší, než je molekulová hmotnost fullerenu C^{60} , tedy řekněme pro $M > 720 \text{ g mol}^{-1}$) konvergovat k 1. Lze poznamenat, že hodnoty c_{real} získané ze simulací v HydroNMR a v DiTe jsou v dobrém vzájemném souladu.

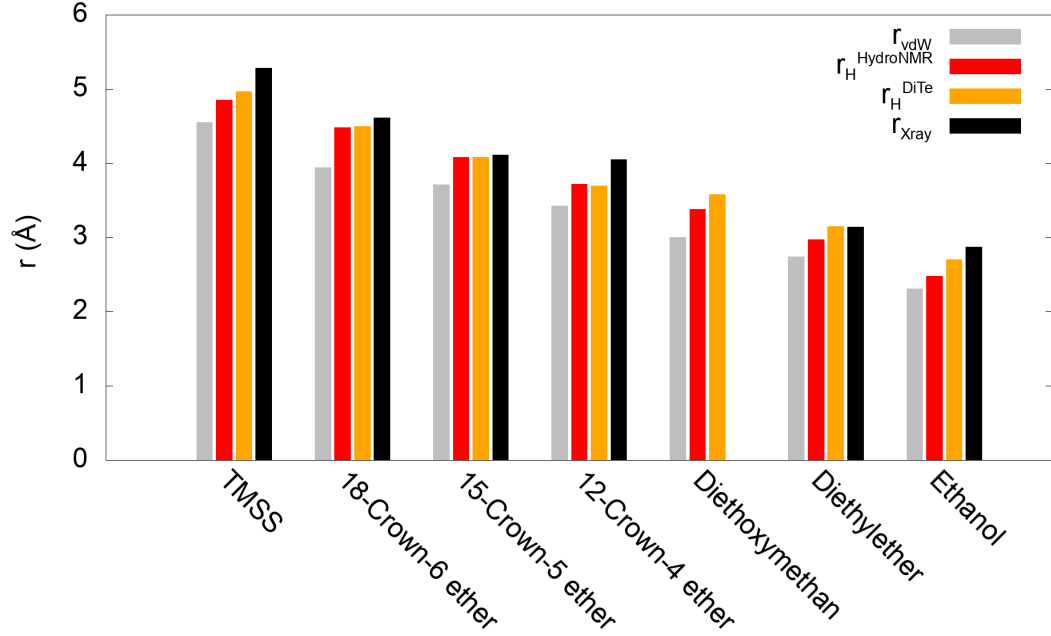


Graf 3.2: Závislosti faktoru c_{real} na molekulové hmotnosti M získané pomocí HydroNMR (trojúhelníky) a DiTe (kruhy). Čáry (plná a čárkovaná) jsou lineární fity získaných dat.

Nyní když známe mikrofrikční faktory c_{real} , tak můžeme z naměřených součinů $(6cr_H)_{exp}$ vyjádřit hydrodynamické poloměry r_H . Výsledky jsou uvedeny v grafu 3.3, ve kterém jsou hydrodynamické poloměry r_H , získané z faktorů c_{real} určených ze simulací v obou programech (HydroNMR a DiTE), porovnány s hodnotami van der Waalsových poloměrů r_{vdW} a krystalografických poloměrů r_{XRay} (viz. tabulka 3.1).

Hodnoty hydrodynamických poloměrů získaných prostřednictvím simulací v HydroNMR a DiTe jsou pro všechny studované molekuly velmi blízké. Navíc

vždy zapadají do intervalu mezi van der Waalsovým poloměrem a krystalografickým poloměrem, což ospravedlňuje naši metodologii.



Graf 3.3: Porovnání hydrodynamických poloměrů získaných prostřednictvím simulací v HydroNMR ($r_H^{HydroNMR}$) a DiTe (r_H^{DiTe}), van der Waalsových poloměrů (r_{vdW}) a krystalografických poloměrů (r_{XRay}) pro jednotlivé studované molekuly.

Na závěr můžeme získané mikrofrikční faktory c_{real} porovnat s těmi, které plynou z přístupů Gierera a Wirtze [63] a Chena a Chena [64].

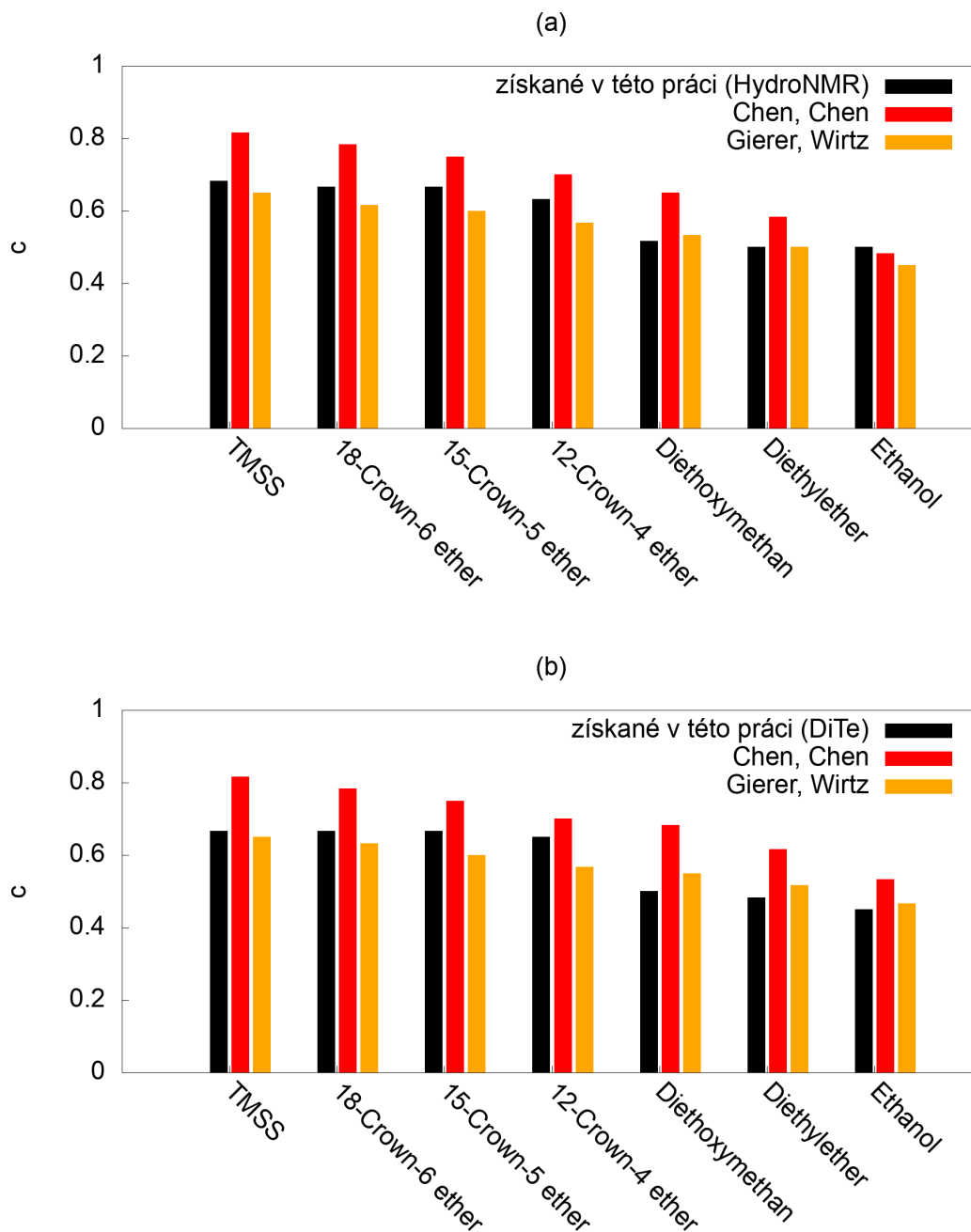
Gierer a Wirtz pro mikrofrikční faktor c zavedli následující vztah [63]

$$c = \left[\frac{3r_{solv}}{2r_H} + \left(1 + \frac{r_{solv}}{r_H}\right)^{-1} \right]^{-1}, \quad (3.4)$$

kde r_{solv} je van der Waalsův poloměr molekuly rozpouštědla a r_H je hydrodynamický poloměr studované molekuly. Chenův a Chenův vztah má tvar [64]

$$c = \left[1 + 0,695 \left(\frac{r_{solv}}{r_H} \right)^{2,234} \right]^{-1}, \quad (3.5)$$

kde význam proměnných je stejný jak v případě rovnice (3.4).



Graf 3.4: Porovnání mikrofrikčních korekčních faktorů c získaných s pomocí simulací v HydroNMR (a) a DiTe (b) s c faktory od autorů publikací [63] a [64] (vztahy (3.4) a (3.5)). Hodnoty hydrodynamických poloměrů jednotlivých modelových molekul byly získány ze součinů $(6cr_H)_{exp}$ v tabulce 3.3 s hodnotami faktorů c z tabulky 3.4 ($c_{real}^{HydroNMR}$ (a), c_{real}^{DiTe} (b)). Za poloměr rozpouštědla byl do vztahů (3.4) a (3.5) dosazen van der Waalsův poloměr deuterovaného hexanu $r_{solv} = 3,0 \text{ \AA}$.

Pro vypočtení hodnot mikrofrikčních faktorů z rovnic (3.4) a (3.5) potřebujeme znát hodnotu van der Waalsova poloměru deuterovaného hexanu jako rozpouštědla. To lze udělat postupem popsáním v [72]. Takto dostaneme hodnotu $r_{solv} = 3,0 \text{ \AA}$. Nyní již můžeme do vztahů (3.4) a (3.5) dosadit v této práci získané hodnoty r_H jednotlivých studovaných molekul. Takto získáme dvě sady (jedna s r_H z simulací v HydroNMR, druhá s r_H z simulací v DiTe) mikrofrikčních faktorů podle autorů prací [63] a [64], které můžeme porovnat s výsledky této práce (faktory c_{real} v tabulce 3.4). Toto porovnání je provedeno v grafu 3.4.

Naše výsledky korelují lépe s modelem Gierera a Wirtze [63] než s modelem Chena a Chena [64]. Chenův a Chenův [64] model dává systematicky větší hodnoty mikrofrikčního faktoru c než náš přístup.

Výhodou našeho přístupu je, že oproti výše popsaným metodám nepotřebujeme zavádět žádné dodatečné výrazy do Stokes-Einsteinova vzorce. Jediné, co potřebujeme je najít takové nastavení simulačních programů, které dává shodný experimentální a vypočtený translační difúzní koeficient zvolené referenční molekuly. Simulační program se pak postará o další rušivé faktory, které mohou vést k potřebě další komplikovanější modifikace Stokes-Einsteinova vztahu. Takovýmto faktorem může například být odchylka difúzní částice od kulového tvaru.

3.5 Shrnutí

V této kapitole byla navržena nová metoda pro určení mikrofrikčních korekčních faktorů c v Stokes-Einsteinově vztahu tak, aby jej bylo možné použít i pro difúzi malých molekul, které nejsou mnohem větší než molekuly rozpouštědla. Praktická použitelnost vyvinuté metody byla otestována na sérii modelových molekul (velikostí pokrývajících rozsah od ethanolu po 18-crown-6 ether

a tetrakis(trimethylsilyl)silan) rozpuštěných v deuterovaném hexanu.

Navržená metoda je postavena na kombinaci teoretického hydrodynamického modelování a měření translačního samo-difúzního koeficientu pomocí NMR spektroskopie. Pro hydrodynamické modelování byly otestovány dva programy – HydroNMR a DiTe, které dávají velmi podobné výsledky. Vnitřní parametry těchto programů je nejdříve potřeba nastavit tak, aby dávaly shodné výsledky difúzního koeficientu s experimentem pro zvolenou kalibrační molekulu, která je dostatečně velká tak, že lze předpokládat, že její mikrofrikční faktor je roven jedné. Následně lze získat mikrofrikční korekční faktory a hydrodynamické poloměry malých studovaných částic (molekul, clusterů, komplexů atp.) porovnáním součinů $6cr_H$ získaných z hydrodynamického modelování a z experimentu. Získané hydrodynamické poloměry pak lze použít pro charakterizaci molekul, clusterů nebo jiných molekulárních komplexů a agregátů.

Navržená metoda nevyžaduje zavedení dalších dodatečných výrazů pro korekční faktory, jako například těch zavedených v pracích [63] a [64]. Navíc další aspekty, jako například odchylka difúzní částice od kulového tvaru, jsou defaultně pokryty hydrodynamickým modelováním.

4 Relaxivita magnetických nanočástic

4.1 Motivace a cíle

Vlastnosti materiálů na bázi oxidů železa byly v posledních dekádách velmi podrobně studovány. Postupem času se výzkum zaměřil na nanočástice těchto materiálů. Ty mají vysoký poměr povrchu k objemu, což vede ke značným změnám fyzikálních a chemických vlastností těchto nanočástic oproti objemovým systémům.

Nanočástice oxidů železa se poměrně snadno připravují, mají relativně nízkou toxicitu vysokou biologickou odbouratelnost. Tyto vlastnosti z nich dělají ideální kandidáty pro potenciální využití v medicíně jak pro diagnostiku, tak pro léčbu. Jedním z jejich potenciálů je jejich použití jako nových kontrastních látek v zobrazování magnetickou rezonancí (MRI), jež je velmi rozšířenou neinvazivní diagnostickou metodou.

Toto téma vzniklo v rámci široké spolupráce s kolegy z Matematicko-fyzikální fakulty Univerzity Karlovy, Fyzikálního ústavu Akademie věd České republiky, 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Institutu klinické a experimentální medicíny a Fakulty chemicko-inženýrské Vysoké školy chemicko-technologické v Praze [88], [89].

Mojí prací na tomto projektu byla participace na měření relaxivit poskytnutých vzorků vodních suspenzí magnetických nanočástic na NMR spektrometru vysokého rozlišení s magnetickým polem 11,75 T, které doplnily výsledky naměřené na relaxometrech a MRI tomografech s nižšími magnetickými poli. Při tomto úkolu bylo využito metodických znalostí a zkušeností získaných při práci na tématu chemické výměny ve směsích lehké a těžké vody. Zejména se

jednalo o zkušenosti s potlačením radiačního tlumení. Bez těchto zkušeností by bylo velmi obtížné požadovaná měření poskytnout.

Cíly této části práce tedy bylo

- Navrhnout vhodnou metodu potlačení radiačního tlumení pro účely měření relaxivit (resp. relaxačních rychlostí) vodných suspenzí magnetických nanočástic.
- Naměření relaxivit (resp. relaxačních rychlostí) poskytnutých vodných suspenzí magnetických nanočástic v poli 11,75 T.

4.2 Studované magnetické nanočástice

4.2.1 Nanočástice ε -Fe₂O₃

Prvním typem nanočástic, studovaných v této práci, jsou nanočástice ε -Fe₂O₃. Jako ε -Fe₂O₃ označujeme jeden z pěti polymorfních stavů krystalického Fe₂O₃, které jsou za normálních podmínek stabilní [90]. Tento polymorfní stav se v přírodě vyskytuje pouze zřídka, a to výhradně v nanokrystalických formách a tenkých vrstvách. Nanočástice ε -Fe₂O₃ se vyznačují vysokou magnetokrystalickou anizotropií, jež vede k blokování stavu jednodoménových částic. Tento stav trvá až do oblasti přechodu z kolineárního ferrimagnetu do paramagnetického stavu při Curieově teplotě $T_c \sim 490 - 500$ K [91]–[93]. Morfologické a magnetické vlastnosti těchto nanočástic byly podrobně prostudovány v [88]. Velikost studovaných nanočástic byla stanovena přibližně na 20 nm. Pro zlepšení cytotoxických vlastností byly tyto částice v tomto projektu obaleny tenkou vrstvou amorfní siliky (SiO₂). [88]

4.2.2 Nanočástice ε -Al_xFe_{2-x}O₃

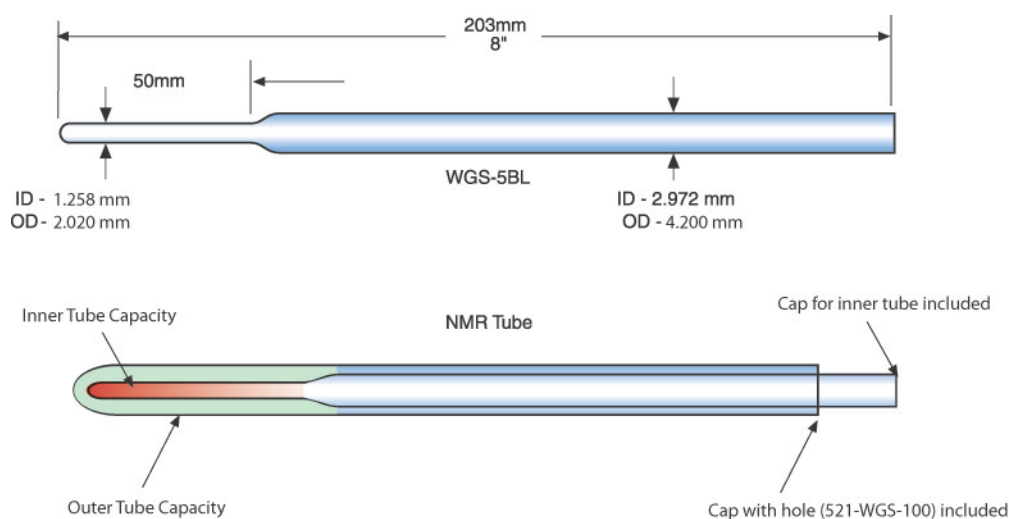
Druhým typem studovaných nanočástic jsou nanočástice ε -Al_xFe_{2-x}O₃ s $x=0,23$. Jedná se o hliníkem dopované nanočástice předchozího typu. Oproti nedopované variantě tyto nanočástice vykazují vyšší magnetizaci [89]. Velikost

těchto nanočástic byla opět přibližně 20 nm. Pro zlepšení cytotoxických vlastností byly tyto částice opět obaleny tenkou vrstvou amorfni siliky (SiO_2) a též pro tento účel byla vyzkoušena citrátová monovrstva [89].

4.3 Experimentální část

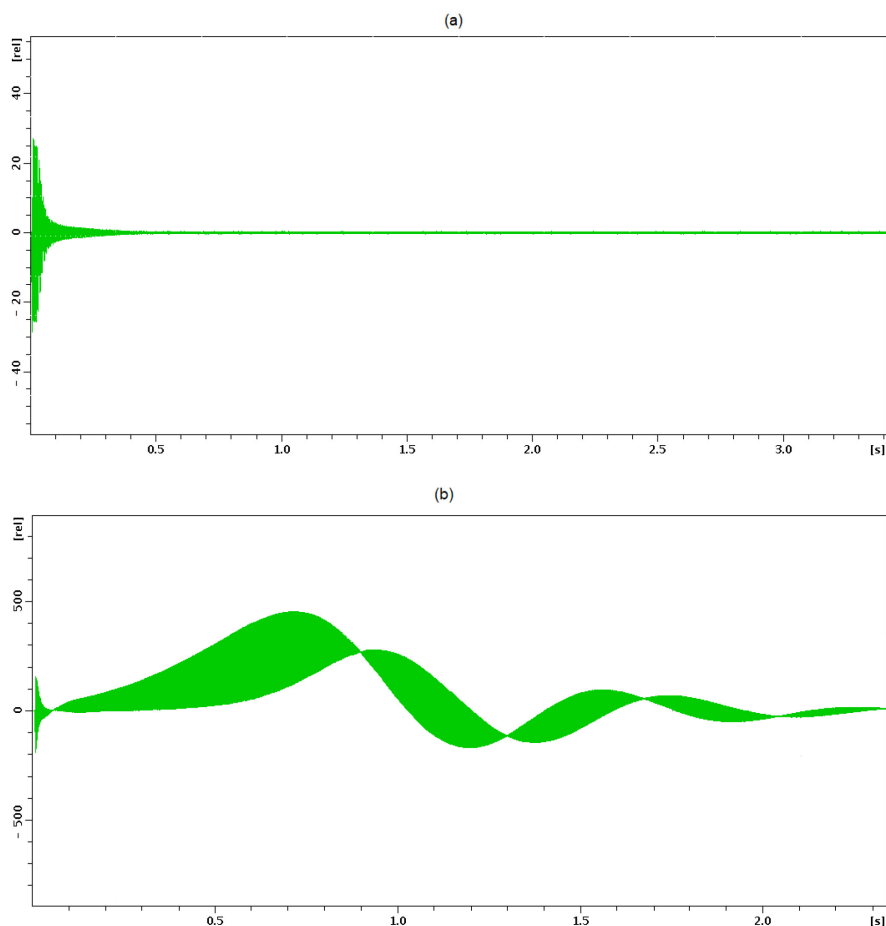
4.3.1 Potlačení radiačního tlumení

Pro potlačení radiačního tlumení při měření na vzorcích tohoto projektu bylo použito umístění vzorku do kapilárního koaxiálního insertu (viz. obrázek 4.1), který se následně vkládá do standardní 5 mm NMR kyvety. Tím dojde k přibližně 11-ti násobnému snížení faktoru plnění f v rovnici (2.12) – vnitřní průměr 5 mm kyvety je přibližně 4,2 mm. To vede k efektivnímu snížení koncentrace vody ze 100 % na přibližně 9 %. To se pro vzorky vody s magnetickými nanočásticemi ukázalo jako dostačující, neboť i samotné zkrácení spin-spinových relaxačních dob těmito nanočásticemi působí pro potlačení radiačního tlumení příznivě. Při měření T_1 sekvencí IR s přidáním gradientním pulsem (viz. obrázek 2.6) a T_2 sekvencí CPMG (která také do určité míry radiační tlumení potlačuje) pak nebyly pozorovány žádné komplikace, které by mohly souviset s tímto jevem.



Obrázek 4.1: Kapilární koaxiální insert [56].

Efektivita zvolené metody potlačení radiačního tlumení je demonstrována na obrázku 4.2. Na něm je v horní části naměřený signál volné precese po π -pulsu na testovacím vzorku vody s magnetickými nanočásticemi ($\sim \epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 0,6 mM) v koaxiálním kapilárním insertu. Vidíme, že po počátečním poklesu zbytkového signálu (pocházejícího z nepřesnosti nastavení π -pulsu), je signál nulový. Pro srovnání je v dolní části uveden signál naměřený na vzorku 20,08 % $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ v 5 mm (naměřený dříve v [55]). Tento signál je silně ovlivněn radiačním tlumením, což se projevuje tím, že nepoklesne rychle k nule.



Obrázek 4.2: Signál volné precese po π -pulsu naměřený (a) na testovacím vzorku vody s magnetickými nanočásticemi ($\sim \epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 0,6 mM) v koaxiálním kapilárním insertu, (b) na vzorku 20,08 % $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$ v 5 mm (naměřený dříve v [55]).

4.3.2 Vzorky nanočástic ϵ -Fe₂O₃

Pro účely NMR měření byly připraveny tři zásobní suspenze nanočástic ϵ -Fe₂O₃, které byly potaženy vrstvou amorfni siliky (SiO₂) o průměrné tloušťce 8 nm, 12 nm a 19 nm. Tyto vzorky jsou označeny ϵ -Fe₂O₃_s08, ϵ -Fe₂O₃_s12 a ϵ -Fe₂O₃_s19 – poslední dvě čísla udávají tloušťku siliky. Podrobný popis přípravy a charakterizace těchto suspenzí je uveden v [88].

Každá zásobní suspenze byla poté naředěna a bylo z ní připraveno 7 vzorků v rozmezí koncentrací 0,168 – 1,68 mM (Fe). Tyto vzorky byly umístěny do koaxiálních kapilárních insertů, které byly uzavřeny standardním plastovým špuntíkem. Insert byl poté vložen do 5 mm NMR kyvety. Do prostoru mezi kyvetou a insertem byl dán deuterovaný tetrachlorethan, který byl použit pro signál tzv. „locku“. Do deuterovaného tetrachlorethanu bylo dále přidáno malé množství (cca 5 μ l) NMR standardu TMS (tetrametylsilan).

4.3.3 Vzorky nanočástic ϵ -Al_{0,23}Fe_{1,77}O₃

Podobně jako v předchozím případě byly připraveny čtyři zásobní suspenze nanočástic ϵ -Al_{0,23}Fe_{1,77}O₃ s vrstvou amorfni siliky o průměrné tloušťce 6, 10, 17 a 21 nm (značení ϵ -AlFe-s06, ϵ -AlFe-s10, ϵ -AlFe-s17 a ϵ -AlFe-s21 – poslední dvě čísla udávají tloušťku siliky). Dále v případě těchto nanočástic byla připravena i suspenze s nanočásticemi s monovrstvou citrátu (značení ϵ -AlFe-cit). Podrobný popis přípravy a charakterizace těchto suspenzí je uveden v [89].

Tyto zásobní suspenze pak byly opět naředěny, tak, že z každé bylo připraveno 5 vzorků v rozmezí koncentrací 0,09 – 1,03 mM (Fe). Tyto naředěné vzorky pak byly umístěny do koaxiálních kapilárních insertů, které byly vloženy do 5 mm NMR kyvet s deuterovaným tetrachlorethanem a TMS.

4.3.4 Parametry NMR měření

Měření byla provedena na spektrometru Bruker Avance III HD s magnetickým polem 11,75 T. Měření a zpracování spekter bylo provedeno pomocí programu Bruker Topspin 3.2. Měření byla provedena na sondě BBFO. Délka $\pi/2$ -pulsu byla 11,1 μs při výkonu 20 W. Pro lock rezonanční frekvence byl použit signál deuterovaného tetrachlorethanu, který byl umístěn vně kapilárního insertu. Deuterovaný tetrachlorethan byl zvolen z důvodu, že jeho zbytkový vodíkový signál se ve spektru nepřekrývá se signálem měřené vody. Měření byla provedena na 8 scanů. Opakovací doba sekvence byla nastavena na $5T_1$.

Spin-mřížkové relaxační doby byly měřeny sekvencí Inversion Recovery s přidaným gradientním pulsem (viz. obrázek 2.6). Byl zvolen sinově tvarovaný gradientní puls v ose z délky 1000 μs o relativní síle 70 %. Absolutní síla gradientu nebyla kalibrována, neboť to pro účely těchto měření není podstatné. Po tomto gradientním pulsu následovala čekací perioda délky 100 μs . Měření bylo provedeno na 10 bodů závislosti (1.16). Délka gradientního pulsu a čekací periody byla při fitu zahrnuta do směšovací periody.

Spin-spinové relaxační doby byly měřeny sekvencí CPMG s echo časem 400 μs . Závislost (1.18) byla měřena na 16 bodů.

Kalibrace teploty byla provedena pomocí teplotních standardů. V rozsahu teplot 268-298 K byl použit methanolvý standard, pro rozsah teplot 300-352 K byl použit etylenglykol. Přesnost kalibrace teploty je 0,5 K [54].

Relaxivity r_1 a r_2 byly určeny lineárním fitem naměřených závislostí R_1 a R_2 na koncentraci – viz rovnice (1.73).

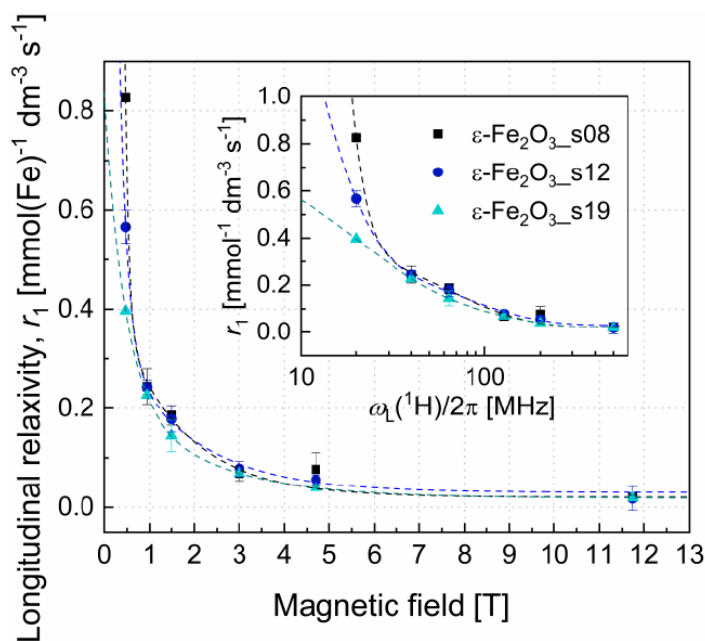
4.4 Výsledky měření

Podrobná interpretace naměřených výsledků nebyla v tomto projektu mojí úlohou (tou byla, jak již bylo zmíněno v kapitole 4.1, participace na měření

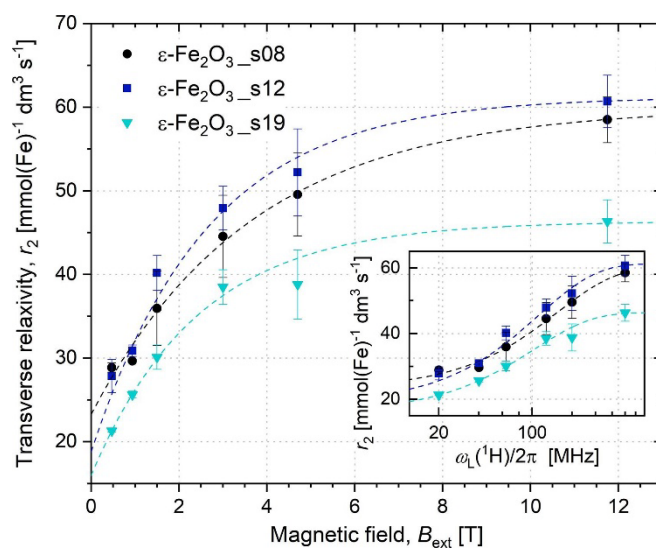
relaxivit na NMR spektrometru vysokého rozlišení s polem 11,75 T). Proto jsou zde výsledky uvedeny pouze přehledově a pro podrobnosti čtenáře odkážeme na publikace [88] a [89].

4.4.1 Výsledky naměřené na nanočásticích $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$

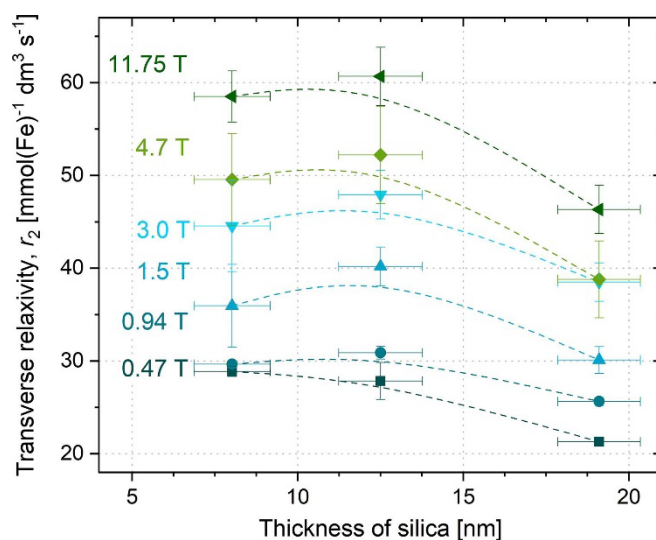
U nanočástic $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ byly měřeny jak podélné (spin-mřížkové), tak příčné (spin spinové relaxivity) r_1 a r_2 . Podélná relaxivita vyšla podle očekávání malá a s rostoucím magnetickým polem klesá k nule. Naměřená závislost podélné relaxivity na vnějším magnetickém poli je uvedena v grafu 4.1. Mnohem zajímavější je závislost příčné relaxivity na vnějším magnetickém poli (viz. graf 4.2). Ty vycházejí srovnatelně s jinými oxidy železa, které jsou zvažovány pro použití jako kontrastní látky [94]. Příspěvkem této práce k těmto závislostem byly body naměřené v poli 11,75 T. Měření byla provedena při teplotě 313 K.



Graf 4.1: Závislost podélné relaxivity nanočástic $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ potažených vrstvou amorfni siliky na vnějším magnetickém poli. Ve vnořeném grafu je pro lepší porovávání s literaturou uvedena závislost na Larmorově frekvenci jader ^1H v logaritmické škále. Data byla fitována empirickou dvojexponenciální funkcí za účelem poskytnutí vodítek pro oči. Teplota měření byla 313 K [88].



Graf 4.2: Závislost příčné relaxivity nanočástic ε -Fe₂O₃ potažených vrstvou amorfni siliky na vnějším magnetickém poli. Ve vnořeném grafu je pro lepší porovnání s literaturou uvedena závislost na Larmorově frekvenci jader ¹H v logaritmické škále. Data byla fitována empirickou funkcí $r_2 = A + C[1 - \exp(D/B_{ext})]$ za účelem poskytnutí vodítek pro oči. Teplota měření byla 313 K [88].

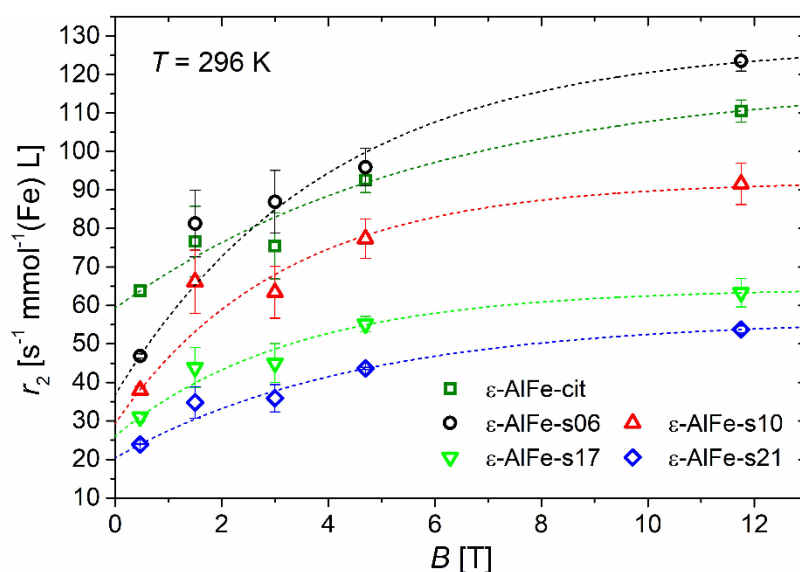


Graf 4.3: Závislost příčné relaxivity na tloušťce amorfni siliky, ve které byly studované nanočástice obaleny, měřené v několika magnetických polích. Čáry jsou zde pouze jako vodítka pro oči. X-ové chybové úsečky udávají standardní odchylku normálního rozdělení tloušťky siliky. Teplota měření byla 313 K [88].

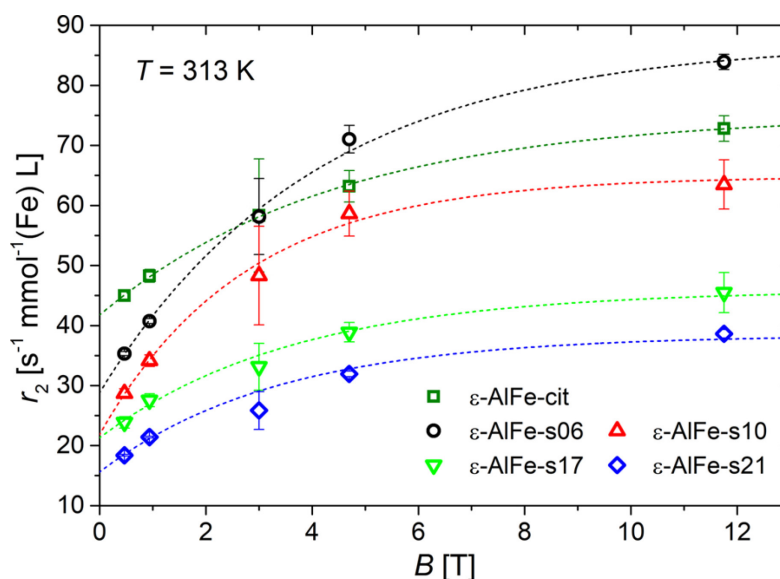
Dále byla studována závislost příčné relaxivity na tloušťce obalové amorfní siliky. Naměřená závislost je zobrazena v grafu 4.3. Jako příčina potenciálního maxima u ϵ -Fe₂O₃_s12, byla v [88] diskutována možnost nižšího podílu potažených částic s více krystality v tomto vzorku. Dále v této souvislosti byla diskutována možná interakce mezi silikou a vodou jako je částečná permeabilita siliky vůči vodě a chemická výměna vod interagujících se silikou s vodami v rezervoáru.

4.4.2 Výsledky naměřené na nanočásticích ϵ -Al_{0,23}Fe_{1,77}O₃

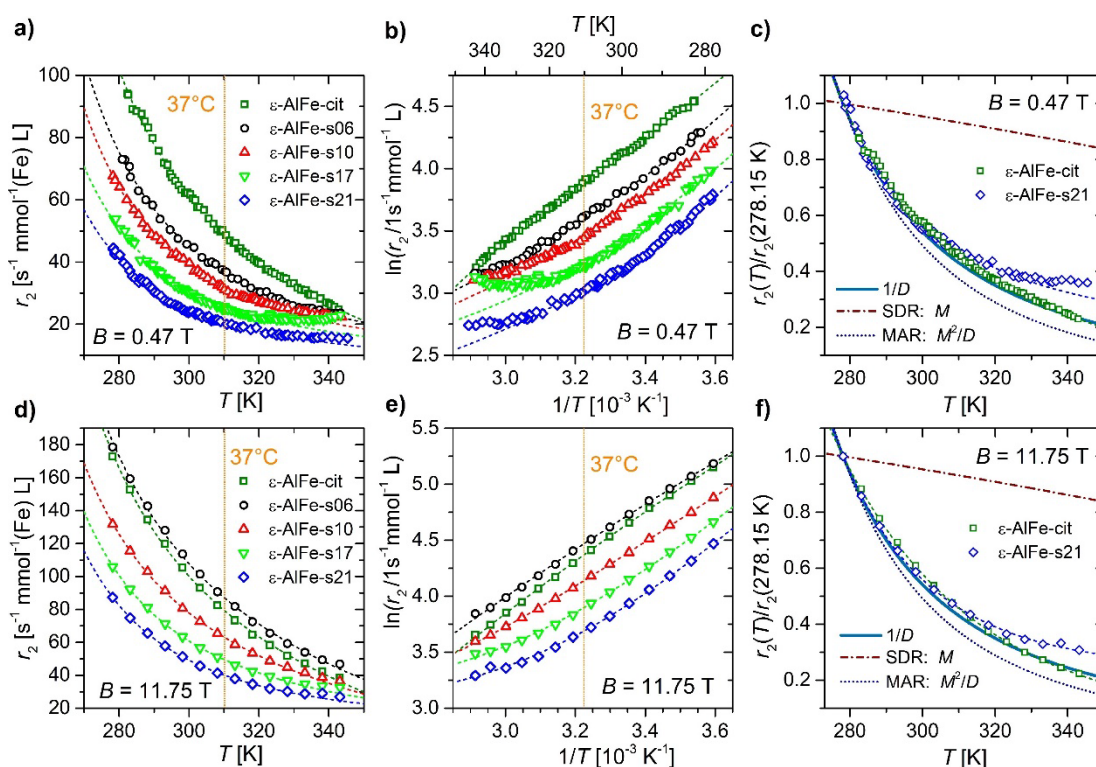
Měření na nanočásticích ϵ -Al_{0,23}Fe_{1,77}O₃ byla soustředěna na příčné relaxivity r_2 . Na připravených vzorcích byla naměřena závislost příčné relaxivity na vnějším magnetickém poli. Měření byla provedena při teplotách 23 a 40 °C. Výsledky jsou uvedeny v grafech 4.4 a 4.5. Příspěvkem této práce jsou opět body naměřené při 11,75 T. Porovnáním s výsledky na předchozích nanočásticích vidíme, že v případě nanočástic ϵ -Al_{0,23}Fe_{1,77}O₃ bylo dosaženo vyšších relaxivit, což souvisí s vyšší magnetizací těchto nanočástic.



Graf 4:4: Závislost příčné relaxivity nanočástic ϵ -Al_{0,23}Fe_{1,77}O₃ na vnějším magnetickém poli při teplotě 296 K [89].



Graf 4.5: Závislost příčné relaxivity nanočástic $\epsilon\text{-Al}_{0,23}\text{Fe}_{1,77}\text{O}_3$ na vnějším magnetickém poli při teplotě 313 K [89].



Graf 4.6: a) Závislost příčné relaxivity připravených vzorků nanočástic $\epsilon\text{-Al}_{0,23}\text{Fe}_{1,77}\text{O}_3$ na teplotě měřená v magnetickém poli 0,47 T, a b) odpovídající závislost $\ln(r_2)$ na $1/T$. c) Relativní příspěvky MAR a SDR k ^1H relaxaci pro vybrané vzorky v magnetickém poli – hodnoty r_2 jsou normalizované hodnotou $r_2(278\text{ K})$. d) - f) Analogické závislosti naměřené v magnetickém poli 11,75 T [89].

Dále byla měřena závislost příčné relaxivity na teplotě. Výsledek je zobrazen v grafu 4.6. Tato závislost byla v [89] interpretována jako kombinace příspěvků MAR a SDR (viz. kapitola 1.5).

4.5 Shrnutí

V této kapitole byla navržena neoptimálnější metoda potlačení radiačního tlumení pro měření relaxačních dob na vzorcích magnetických nanočástic oxidů železa. To umožnilo naměřit relaxivity těchto nanočástic a tím přispět k jejich podrobné charakterizaci, která byla provedena v pracích [88], [89].

Studované nanočástice vykazují velký potenciál pro použití jako kontrastních látek pro MRI vyšetření v klinické praxi. Nanočástice $\varepsilon\text{-Al}_{0,23}\text{Fe}_{1,77}\text{O}_3$ byly v [89] prvotně otestovány na myších s pozitivním výsledkem.

Závěr

V práci byly postupně prostudovány tři témata.

První téma se věnovalo chemické výměně ve směsích lehké a těžké vody, přičemž hlavním cílem bylo ověřit originální Meiboomovu interpretaci [29] a případně ji doplnit, či zpřesnit. K tomu bylo využito moderního spektrometru Bruker Avance III HD a zvýraznění příspěvku chemické výměny díky práci se směsí těžké a lehké vody (nahrazením jader ^1H jádru D dojde ke zmenšení příspěvku dipól-dipólové interakce k relaxačním rychlostem, která tvoří převážnou část „pozadí“ v závislosti R_2 na echo-čase).

Velký důraz byl kladen na metodickou část týkající se přípravy vzorků a specifické metodiky měření relaxačních dob na směsích lehké a těžké vody. Vzorky byly 2-krát destilovány pod bodem varu v křemenné destilační aparatuře, odplyněny 5-ti cykly metody „freeze-pump-thaw“ a zataveny v kyvetách z křemenného skla. To vše za účelem maximálního možného odstranění nejrůznějších (ionty, rozpuštěné plyny, ...) nečistot které ovlivňují NMR relaxace a probíhající procesy ve vzorcích. Specifika metodiky měření spočívala především v potlačení nežádoucího jevu radiálního tlumení. K tomu byla použita speciálně upravená sonda, speciální pulsní sekvence a tlustostěnné křemenné NMR kyvety. Následně byly připraveny finální vzorky, na nichž byla naměřena široká sada experimentálních dat citlivých na chemickou výměnu v závislosti na teplotě a koncentraci H_2O .

V rámci interpretace naměřených dat byly navrženy a diskutovány tři možné modely procesu chemické výměny založené na originální Meiboomově interpretaci [29]. Jako nepravděpodobnější byl označen model 2 (viz. kapitola 2.4.3) ve kterém se uplatňuje J-vazba mezi ^1H a ^{17}O a J-vazba mezi ^1H a D. V porovnání získaných výsledků s originálními výsledky Meibooma a dalších dat z literatury bylo dosaženo řádové shody, přičemž přístup této práce má potenciál přinést

nové informace nejen o J-vazbě mezi jádry ^1H a ^{17}O , ale i o J-vazbě mezi jádry ^1H a D. Je však třeba poznamenat, že data této práce vykazují jistou nekonzistenci, jež je patrně daná stále přítomnou nestabilitou vzorků, jejíž příčinu se přes veškerou snahu nepodařilo odhalit. Vyvozené závěry je tedy třeba brát s rezervou. Pro stanovení finálních závěrů by bylo zapotřebí další systematické práce.

Druhé téma se věnovalo korekci mikrofrikčního faktoru v Stokes-Einsteinově vztahu. Cílem této části bylo vypracovat nový postup určení mikrofrikčního faktoru, který bude založen na porovnání naměřených samo-difúzních koeficientů pomocí NMR se samo-difúzními koeficienty spočtenými pomocí hydrodynamických simulací. Účelem bylo rozšíření platnosti Stokes-Einsteinova vztahu i pro malé molekuly (v porovnání s molekulami rozpouštědla). To do budoucna umožní pomocí difúzního NMR charakterizovat distribuci velikostí molekulárních clusterů ve zvolených studovaných systémech.

Pro tento účel byla vybrána sada modelových molekul (viz. kapitola 3.2). Na nich byla provedena NMR měření samo-difúzních koeficientů. Bylo provedeno nastavení vnitřních parametrů programů pro hydrodynamické simulace (HydroNMR [69] a DiTe [70]), k čemuž byl využit samo-difúzní koeficient fullerenu C_{60} převzatý z literatury. Dále pak byly pomocí těchto programů vypočteny samo-difúzní koeficienty modelových molekul. Porovnáním naměřených a vypočtených samo-difúzních koeficientů pak byly stanoveny reálné hodnoty mikrofrikčních faktorů v závislosti na velikosti molekul podléhajících difúzi.

Tento postup dává srovnatelné výsledky s jinými postupy, které byly v minulosti popsány v literatuře. Ty však byly převážně koncipovány pro nějaký konkrétní systém. Velkou výhodou našeho postupu je, že je univerzálně použitelný. V této práci byl dimenzován pro budoucí práci na charakterizaci distribuce velikostí clusterů ethanolu zředěném v deuterovaném hexanu. V principu

ale nic nebrání tomu tento postup překalibrovat pro libovolné molekuly v libovolném rozpouštědle.

Třetí téma se zabývalo relaxivitou vodných suspenzí magnetických nanočástic na bázi oxidů železa. Cílem bylo navrhnout vhodné experimentální uspořádání tak, aby bylo možné naměřit relaxivity těchto vzorků na spektrometru vysokého rozlišení Bruker Avance III HD s magnetickým polem 11,75 T. Zejména se jednalo o nalezení vhodné metody potlačení radiačního tlumení. Pro to bylo zvoleno umístění vzorků do koaxiálních kapilárních inzertů. Toto navržené experimentální uspořádání pak umožnilo samotné měření relaxivit poskytnutých vodných suspenzí magnetických nanočástic. Tím bylo přispěno k charakterizaci vlastností magnetických nanočástic ϵ -Fe₂O₃ a ϵ -Al_{0,23}Fe_{1,77}O₃, které mají vysoký potenciál pro použití jako nových kontrastních látek pro MRI vyšetření v klinické praxi.

Seznam použité literatury

- [1] A. Abragam, *The Principles of Nuclear Magnetism*. Oxford: Oxford University Press, 1961. ISBN 0-19-851236-8.
- [2] M. H. Levitt, *Spin Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance*, 2nd ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2008. ISBN : 978-0-470-51118-3.
- [3] F. Bloch, “Nuclear Induction,” *Physical Review*, vol. 70, no. 7–8, pp. 460–474, Oct. 1946, doi: 10.1103/PhysRev.70.460.
- [4] J. Kowalewski, *Nuclear Spin Relaxation in Liquids: Theory, Experiments, and Applications*. New York: Taylor and Francis, 2006. ISBN 0-7503-0964-4.
- [5] I. Solomon, “Relaxation Processes in a System of Two Spins,” *Physical Review*, vol. 99, no. 2, pp. 559–565, Jul. 1955, doi: 10.1103/PhysRev.99.559.
- [6] H. M. McConnell, “Reaction Rates by Nuclear Magnetic Resonance,” *J. Chem. Phys.*, vol. 28, no. 3, pp. 430–431, Mar. 1958, doi: 10.1063/1.1744152.
- [7] A. Allerhand and E. Thiele, “Analysis of Carr-Purcell Spin-Echo NMR Experiments on Multiple-Spin Systems. II. The Effect of Chemical Exchange,” *J. Chem. Phys.*, vol. 45, no. 3, pp. 902–916, Aug. 1966, doi: 10.1063/1.1727703.
- [8] A. Einstein, “Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen,” *Ann. Phys.*, vol. 322, no. 8, pp. 549–560, 1905, doi: 10.1002/andp.19053220806.
- [9] W. Sutherland, “A Dynamical Theory of Diffusion for Non-Electrolytes and the Molecular Mass of Albumin,” *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, vol. 9, no. 54, pp. 781–785, Jun. 1905, doi: 10.1080/14786440509463331.
- [10] W. S. Price, *NMR Studies of Translational Motion*. Cambridge University Press, 2009. ISBN 9780511770487. doi: 10.1017/CBO9780511770487.

- [11] A. Macchioni, G. Ciancaleoni, C. Zuccaccia, and D. Zuccaccia, “Determining accurate molecular sizes in solution through NMR diffusion spectroscopy,” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 37, no. 3, pp. 479–489, 2008, doi: 10.1039/B615067P.
- [12] E. O. Stejskal and J. E. Tanner, “Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradient,” *J. Chem. Phys.*, vol. 42, no. 1, pp. 288–292, Jan. 1965, doi: 10.1063/1.1695690.
- [13] R. A. Brooks, F. Moiny, and P. Gillis, “On T_2 -shortening by weakly magnetized particles: The chemical exchange model,” *Magn. Reson. Med.*, vol. 45, no. 6, pp. 1014–1020, Jun. 2001, doi: 10.1002/mrm.1135.
- [14] P. Gillis, F. Moiny, and R. A. Brooks, “On T_2 -shortening by strongly magnetized spheres: A partial refocusing model,” *Magn. Reson. Med.*, vol. 47, no. 2, pp. 257–263, Feb. 2002, doi: 10.1002/mrm.10059.
- [15] A. Roch, R. N. Muller, and P. Gillis, “Theory of proton relaxation induced by superparamagnetic particles,” *J Chem Phys*, vol. 110, no. 11, pp. 5403–5411, Mar. 1999, doi: 10.1063/1.478435.
- [16] A. Roch, Y. Gossuin, R. N. Muller, and P. Gillis, “Superparamagnetic colloid suspensions: Water magnetic relaxation and clustering,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 293, no. 1, pp. 532–539, May 2005, doi: 10.1016/j.jmmm.2005.01.070.
- [17] D. A. Yablonskiy and E. M. Haacke, “Theory of NMR signal behavior in magnetically inhomogeneous tissues: The static dephasing regime,” *Magn. Reson. Med.*, vol. 32, no. 6, pp. 749–763, Dec. 1994, doi: 10.1002/mrm.1910320610.
- [18] R. J. S. Brown, “Distribution of Fields from Randomly Placed Dipoles: Free-Precession Signal Decay as Result of Magnetic Grains,” *Physical Review*, vol. 121, no. 5, pp. 1379–1382, Mar. 1961, doi: 10.1103/PhysRev.121.1379.
- [19] Q. L. Vuong, J.-F. Berret, J. Fresnais, Y. Gossuin, and O. Sandre, “A Universal Scaling Law to Predict the Efficiency of Magnetic Nanoparticles as MRI T_2 -Contrast Agents,” *Adv. Healthc. Mater.*, vol. 1, no. 4, pp. 502–512, Jul. 2012, doi: 10.1002/adhm.201200078.
- [20] M. Chaplin, “Water Structure and Science,” [online]. [cit. 5.1.2023]. Dostupné z:

https://water.lsbu.ac.uk/water/water_structure_science.html

- [21] R. Ludwig, “Water: From Clusters to the Bulk,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 40, no. 10, pp. 1808–1827, May 2001, doi: [https://doi.org/10.1002/1521-3773\(20010518\)40:10<1808::AID-ANIE1808>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/1521-3773(20010518)40:10<1808::AID-ANIE1808>3.0.CO;2-1)
- [22] F. N. Keutsch and R. J. Saykally, “Water clusters: Untangling the mysteries of the liquid, one molecule at a time,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 98, no. 19, pp. 10533–10540, Sep. 2001, doi: [10.1073/pnas.191266498](https://doi.org/10.1073/pnas.191266498).
- [23] O. Mishima and H. E. Stanley, “The relationship between liquid, supercooled and glassy water,” *Nature*, vol. 396, no. 6709, pp. 329–335, Nov. 1998, doi: [10.1038/24540](https://doi.org/10.1038/24540).
- [24] P. G. Debenedetti, “Supercooled and glassy water,” *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 15, no. 45, pp. R1669–R1726, Nov. 2003, doi: [10.1088/0953-8984/15/45/R01](https://doi.org/10.1088/0953-8984/15/45/R01).
- [25] M. F. Chaplin, “A proposal for the structuring of water,” *Biophys. Chem.*, vol. 83, no. 3, pp. 211–221, Jan. 2000, doi: [10.1016/S0301-4622\(99\)00142-8](https://doi.org/10.1016/S0301-4622(99)00142-8).
- [26] A. Nilsson and L. G. M. Pettersson, “Perspective on the structure of liquid water,” *Chem. Phys.*, vol. 389, no. 1–3, pp. 1–34, Nov. 2011, doi: [10.1016/j.chemphys.2011.07.021](https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2011.07.021).
- [27] J. L. Skinner, B. M. Auer, and Y.-S. Lin, “Vibrational Line Shapes, Spectral Diffusion, and Hydrogen Bonding in Liquid Water,” *Advances in Chemical Physics*, vol. 142, 2008, pp. 59–103. doi: [10.1002/9780470475935.ch2](https://doi.org/10.1002/9780470475935.ch2).
- [28] W. A. Anderson and J. T. Arnold, “Proton Relaxation Times in H₂O-D₂O Mixtures,” *Physical Review*, vol. 101, no. 2, pp. 511–512, Jan. 1956, doi: [10.1103/PhysRev.101.511](https://doi.org/10.1103/PhysRev.101.511).
- [29] S. Meiboom, “Nuclear Magnetic Resonance Study of the Proton Transfer in Water,” *J. Chem. Phys.*, vol. 34, no. 2, pp. 375–388, Feb. 1961, doi: [10.1063/1.1700960](https://doi.org/10.1063/1.1700960).
- [30] A. G. Császár *et al.*, “On equilibrium structures of the water molecule,” *J. Chem. Phys.*, vol. 122, no. 21, p. 214305, Jun. 2005, doi: [10.1063/1.1924506](https://doi.org/10.1063/1.1924506).

- [31] P. Needham, “Is water a mixture? Bridging the distinction between physical and chemical properties,” *Studies in History and Philosophy of Science Part A*, vol. 39, no. 1, pp. 66–77, Mar. 2008, doi: 10.1016/j.shpsa.2007.11.005.
- [32] International Association for the Properties of Water and Steam, IAPWS G5-01(2020), Guideline on the Use of Fundamental Physical Constants and Basic Constants of Water.
- [33] E. D. Isaacs, A. Shukla, P. M. Platzman, D. R. Hamann, B. Barbiellini, and C. A. Tulk, “Compton scattering evidence for covalency of the hydrogen bond in ice,” *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 61, no. 3, pp. 403–406, Mar. 2000, doi: 10.1016/S0022-3697(99)00325-X.
- [34] F. Bartha, O. Kapuy, C. Kozmutza, and C. van Alsenoy, “Analysis of weakly bound structures: hydrogen bond and the electron density in a water dimer,” *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, vol. 666–667, pp. 117–122, Dec. 2003, doi: 10.1016/j.theochem.2003.08.020.
- [35] R. Ludwig, “The effect of hydrogen bonding on the thermodynamic and spectroscopic properties of molecular clusters and liquids,” *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 4, no. 22, pp. 5481–5487, 2002, doi: 10.1039/B207000F.
- [36] K. Modig, B. G. Pfrommer, and B. Halle, “Temperature-Dependent Hydrogen-Bond Geometry in Liquid Water,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 90, no. 7, p. 075502, Feb. 2003, doi: 10.1103/PhysRevLett.90.075502.
- [37] D. J. Wales, J. P. K. Doye, A. Dullweber, M. P. Hodges, F. Y. Naumkin F. Calvo, J. Hernández-Rojas and T. F. Middleton “The Cambridge Cluster Database, “ [online]. [cit. 10.1.2033]. Dostupné z: <http://www-wales.ch.cam.ac.uk/CCD.html>
- [38] T. Yagasaki, K. Iwahashi, S. Saito, and I. Ohmine, “A theoretical study on anomalous temperature dependence of pK_w of water,” *J. Chem. Phys.*, vol. 122, no. 14, p. 144504, Apr. 2005, doi: 10.1063/1.1878712.
- [39] N. Agmon, “Mechanism of hydroxide mobility,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 319, no. 3–4, pp. 247–252, Mar. 2000, doi: 10.1016/S0009-2614(00)00136-6.
- [40] N. Agmon, “The Grotthuss mechanism,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 244, no. 5–6, pp. 456–462, Oct. 1995, doi: 10.1016/0009-2614(95)00905-J.
- [41] M. Šubr, “Spektrum Ramanova rozptylu HDO,” Bakalářská práce,

Univerzita Karlova, Matematicko-fyzikální fakulta, Praha, 2012.

- [42] N. Bloembergen, E. M. Purcell, and R. v. Pound, “Relaxation Effects in Nuclear Magnetic Resonance Absorption,” *Physical Review*, vol. 73, no. 7, pp. 679–712, Apr. 1948, doi: 10.1103/PhysRev.73.679.
- [43] K. Modig and B. Halle, “Proton Magnetic Shielding Tensor in Liquid Water,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 124, no. 40, pp. 12031–12041, Oct. 2002, doi: 10.1021/ja026981s.
- [44] S. Bloom, “Effects of Radiation Damping on Spin Dynamics,” *J. Appl. Phys.*, vol. 28, no. 7, pp. 800–805, Jul. 1957, doi: 10.1063/1.1722859.
- [45] D. E. Rourke, “Solutions and linearization of the nonlinear dynamics of radiation damping,” *Concepts Magn. Reson.*, vol. 14, no. 2, pp. 112–129, 2002, doi: 10.1002/cmr.10005.
- [46] H. Barjat, D. L. Mattiello, and R. Freeman, “Suppression of Radiation Damping in High-Resolution NMR,” *Journal of Magnetic Resonance*, vol. 136, no. 1, pp. 114–117, Jan. 1999, doi: 10.1006/jmre.1998.1613.
- [47] C. Anklin, M. Rindlisbacher, G. Otting, and F. H. Laukien, “A Probehead with Switchable Quality Factor. Suppression of Radiation Damping,” *J. Magn. Reson. B*, vol. 106, no. 2, pp. 199–201, Feb. 1995, doi: 10.1006/jmrb.1995.1034.
- [48] S. Zhang and D. G. Gorenstein, “Suppression of Radiation Damping during Acquisition by Pulsed Field Gradients,” *J. Magn. Reson. A*, vol. 118, no. 2, pp. 291–294, 1996, doi: <https://doi.org/10.1006/jmra.1996.0040>
- [49] X. Mao, J. Guo, and C. Ye, “Radiation damping effects on spin-lattice relaxation time measurements,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 222, no. 5, pp. 417–421, May 1994, doi: 10.1016/0009-2614(94)00388-2.
- [50] Doc. RNDr. Jan Lang – osobní sdělení.
- [51] X. Mao, J. Guo, and C. Ye, “Radiation damping effects of transverse relaxation time measurements,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 227, no. 1–2, pp. 65–68, Sep. 1994, doi: 10.1016/0009-2614(94)00817-5.
- [52] J. Kestin, N. Imaishi, S. H. Nott, J. C. Nieuwoudt, and J. V. Sengers, “Viscosity of light and heavy water and their mixtures,” *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, vol. 134, no. 1, pp. 38–58, Dec.

- 1985, doi: 10.1016/0378-4371(85)90155-4.
- [53] C. H. Cho, J. Urquidi, S. Singh, and G. W. Robinson, “Thermal Offset Viscosities of Liquid H₂O, D₂O, and T₂O,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 103, no. 11, pp. 1991–1994, Mar. 1999, doi: 10.1021/jp9842953.
- [54] E. Kolehmainen, *NMR spectroscopy: Basic principles, concepts, and applications in chemistry (English translation by Harald Günther)*, Second Edition., no. 4. Chichester: John Wiley and Sons, 1995.
- [55] P. Dvořák, “Studium dynamického chování směsi H₂O/D₂O pomocí NMR relaxací,” Diplomová práce, Univerzita Karlova, Matematicko-fyzikální fakulta, Praha, 2013.
- [56] “Internetové stránky firmy Wilmad-LabGlass,” [online]. [cit. 19.1.2023]. Dostupné z: <https://sp-wilmadlabglass.com>
- [57] W. M. Haynes, *CRC handbook of chemistry and physics on DVD*, CRC Press, 2013. ISBN 978-1-4665-6422-0.
- [58] D. J. Segelstein, “The complex refractive index of water.,” M. S. Thesis, University of Missouri-Kansas City, Kansas City, 1981.
- [59] L. J. Burnett and A. H. Zeltmann, “¹H-¹⁷O spin-spin coupling constant in liquid water,” *J. Chem. Phys.*, vol. 60, no. 11, pp. 4636–4637, Jun. 1974, doi: 10.1063/1.1680958.
- [60] N. M. Sergeyev, N. D. Sergeyeva, Yu. A. Strelenko, and W. T. Raynes, “The ¹H-²H, ¹⁷O-¹H coupling constants and the ¹⁶O/¹⁸O induced proton isotope shift in water,” *Chem. Phys. Lett.*, vol. 277, no. 1–3, pp. 142–146, Oct. 1997, doi: 10.1016/S0009-2614(97)00933-0.
- [61] J. R. Holmes, D. Kivelson, and W. C. Drinkard, “Proton Magnetic Resonance Spectrum of HDO,” *J. Chem. Phys.*, vol. 37, no. 1, pp. 150–152, Jul. 1962, doi: 10.1063/1.1732940.
- [62] J. Casanueva, J. San Fabián, E. Díez, and A. L. Esteban, “NMR spin-spin coupling constants in water molecule: equilibrium and rovibrational values,” *J. Mol. Struct.*, vol. 565–566, pp. 449–454, May 2001, doi: 10.1016/S0022-2860(00)00904-2.
- [63] A. Gierer and K. Wirtz, “Molekulare Theorie der Mikroreibung,” *Zeitschrift für Naturforschung A*, vol. 8, no. 9, pp. 532–538, Sep. 1953, doi: 10.1515/zna-1953-0903.

- [64] H. C. Chen and S. H. Chen, "Diffusion of crown ethers in alcohols," *J Phys Chem*, vol. 88, no. 21, pp. 5118–5121, Oct. 1984, doi: 10.1021/j150665a063.
- [65] R. Evans *et al.*, "Quantitative Interpretation of Diffusion-Ordered NMR Spectra: Can We Rationalize Small Molecule Diffusion Coefficients?," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 52, no. 11, pp. 3199–3202, Mar. 2013, doi: 10.1002/anie.201207403.
- [66] R. Neufeld and D. Stalke, "Accurate molecular weight determination of small molecules via DOSY-NMR by using external calibration curves with normalized diffusion coefficients," *Chem. Sci.*, vol. 6, no. 6, pp. 3354–3364, 2015, doi: 10.1039/C5SC00670H.
- [67] R. Neufeld, M. John, and D. Stalke, "The Donor-Base-Free Aggregation of Lithium Diisopropyl Amide in Hydrocarbons Revealed by a DOSY Method," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 54, no. 24, pp. 6994–6998, Jun. 2015, doi: 10.1002/anie.201502576.
- [68] S. Bachmann, R. Neufeld, M. Dzemski, and D. Stalke, "New External Calibration Curves (ECCs) for the Estimation of Molecular Weights in Various Common NMR Solvents," *Chemistry - A European Journal*, vol. 22, no. 25, pp. 8462–8465, Jun. 2016, doi: 10.1002/chem.201601145.
- [69] J. García de la Torre, M. L. Huertas, and B. Carrasco, "HYDRONMR: Prediction of NMR Relaxation of Globular Proteins from Atomic-Level Structures and Hydrodynamic Calculations," *Journal of Magnetic Resonance*, vol. 147, no. 1, pp. 138–146, Nov. 2000, doi: 10.1006/jmre.2000.2170.
- [70] V. Barone, M. Zerbetto, and A. Polimeno, "Hydrodynamic modeling of diffusion tensor properties of flexible molecules," *J. Comput. Chem.*, vol. 30, no. 1, pp. 2–13, Jan. 2009, doi: 10.1002/jcc.21007.
- [71] M. Šoltésová, L. Benda, M. Peksa, J. Czernek, and J. Lang, "Determination of Size of Molecular Clusters of Ethanol by Means of NMR Diffusometry and Hydrodynamic Calculations," *J. Phys. Chem. B*, vol. 118, no. 24, pp. 6864–6874, Jun. 2014, doi: 10.1021/jp501648x.
- [72] Y. H. Zhao, M. H. Abraham, and A. M. Zissimos, "Fast Calculation of van der Waals Volume as a Sum of Atomic and Bond Contributions and Its Application to Drug Compounds," *J. Org. Chem.*, vol. 68, no. 19, pp. 7368–7373, Sep. 2003, doi: 10.1021/jo034808o.

- [73] R. E. Dinnebier *et al.*, “Order–disorder phenomena determined by high-resolution powder diffraction: the structures of tetrakis(trimethylsilyl)methane $C[Si(CH_3)_3]_4$ and tetrakis(trimethylsilyl)silane $Si[Si(CH_3)_3]_4$,” *Acta Crystallogr. B*, vol. 55, no. 6, pp. 1014–1029, Dec. 1999, doi: 10.1107/S0108768199006126.
- [74] H. Nuss and M. Jansen, “1,4,7,10,13,16-Hexaoxacyclooctadecane–ammonia (1/2),” *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Rep. Online*, vol. 61, no. 10, pp. o3142–o3144, Oct. 2005, doi: 10.1107/S1600536805027364.
- [75] S. Parsons, “15-Crown-5,” *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Rep. Online*, vol. 63, no. 7, pp. o3130–o3130, Jul. 2007, doi: 10.1107/S1600536807026190.
- [76] T. Morawitz, H.-W. Lerner, and M. Bolte, “Bromido(12-crown-4)lithium,” *Acta Crystallogr. Sect. E Struct. Rep. Online*, vol. 63, no. 7, pp. m1923–m1923, Jul. 2007, doi: 10.1107/S1600536807023562.
- [77] D. André, R. Fourme, and K. Zechmeister, “Crystal and molecular structure of diethyl ether at 128°K,” *Acta Crystallogr. B*, vol. 28, no. 8, pp. 2389–2395, Aug. 1972, doi: 10.1107/S0567740872006181.
- [78] P. G. Jönsson, “Hydrogen bond studies. CXIII. The crystal structure of ethanol at 87 K,” *Acta Crystallogr. B*, vol. 32, no. 1, pp. 232–235, Jan. 1976, doi: 10.1107/S0567740876002653.
- [79] R. M. Fleming *et al.*, “Diffraction Symmetry in Crystalline, Close-Packed C_{60} ,” *MRS Proceedings*, vol. 206, p. 691, Feb. 1990, doi: 10.1557/PROC-206-691.
- [80] J. E. Tanner, “Use of the Stimulated Echo in NMR Diffusion Studies,” *J. Chem. Phys.*, vol. 52, no. 5, pp. 2523–2526, Mar. 1970, doi: 10.1063/1.1673336.
- [81] K. Zick, “Diffusion NMR User Manual, version 003.” Bruker Biospin GmbH, Rheinstetten, 2009.
- [82] V. Bloomfield, W. O. Dalton, and K. E. van Holde, “Frictional coefficients of multisubunit structures. I. Theory,” *Biopolymers*, vol. 5, no. 2, pp. 135–148, Feb. 1967, doi: 10.1002/bip.1967.360050202.
- [83] V. Bloomfield, K. E. van Holde, and W. O. Dalton, “Frictional coefficients of multisubunit structures. II. Application to proteins and viruses,” *Biopolymers*, vol. 5, no. 2, pp. 149–159, Feb. 1967, doi:

10.1002/bip.1967.360050203.

- [84] A. D. Becke, “Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange,” *J. Chem. Phys.*, vol. 98, no. 7, pp. 5648–5652, Apr. 1993, doi: 10.1063/1.464913.
- [85] P. J. Stephens, F. J. Devlin, C. F. Chabalowski, and M. J. Frisch, “Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields,” *J. Phys. Chem.*, vol. 98, no. 45, pp. 11623–11627, Nov. 1994, doi: 10.1021/j100096a001.
- [86] M. J. Frisch and et al., *Gaussian 98, Revision A.7*. Pittsburgh: Gaussian, Inc., 1998.
- [87] B. A. Kowert, N. C. Dang, K. T. Sobush, and L. G. Seele, “Diffusion of Buckminsterfullerene in n-Alkanes,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 107, no. 9, pp. 1253–1257, Mar. 2003, doi: 10.1021/jp022251v.
- [88] L. Kubíčková *et al.*, “Nanomagnets for ultra-high field MRI: Magnetic properties and transverse relaxivity of silica-coated ϵ -Fe₂O₃,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 480, pp. 154–163, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.jmmm.2019.02.067.
- [89] L. Kubíčková *et al.*, “The ϵ -Al_xFe_{2-x}O₃ nanomagnets as MRI contrast agents: Factors influencing transverse relaxivity,” *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 589, p. 124423, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.colsurfa.2020.124423.
- [90] L. Machala, J. Tuček, and R. Zbořil, “Polymorphous Transformations of Nanometric Iron(III) Oxide: A Review,” *Chemistry of Materials*, vol. 23, no. 14, pp. 3255–3272, Jul. 2011, doi: 10.1021/cm200397g.
- [91] J. Tuček, R. Zbořil, A. Namai, and S. Ohkoshi, “ ϵ -Fe₂O₃: An Advanced Nanomaterial Exhibiting Giant Coercive Field, Millimeter-Wave Ferromagnetic Resonance, and Magnetoelectric Coupling,” *Chemistry of Materials*, vol. 22, no. 24, pp. 6483–6505, Dec. 2010, doi: 10.1021/cm101967h.
- [92] M. Kurmoo *et al.*, “Formation of Nanoparticles of ϵ -Fe₂O₃ from Yttrium Iron Garnet in a Silica Matrix: An Unusually Hard Magnet with a Morin-Like Transition below 150 K,” *Chemistry of Materials*, vol. 17, no. 5, pp. 1106–1114, Mar. 2005, doi: 10.1021/cm0482838.
- [93] I. Dézsi and J. M. D. Coey, “Magnetic and thermal properties of ϵ -

Fe₂O₃,” *Physica Status Solidi (a)*, vol. 15, no. 2, pp. 681–685, Feb. 1973, doi: 10.1002/pssa.2210150239.

- [94] S. Laurent *et al.*, “Magnetic Iron Oxide Nanoparticles: Synthesis, Stabilization, Vectorization, Physicochemical Characterizations, and Biological Applications,” *Chem. Rev.*, vol. 108, no. 6, pp. 2064–2110, Jun. 2008, doi: 10.1021/cr068445e.

Seznam obrázků

Obrázek 1.1: Sekvence Inversion Recovery.....	11
Obrázek 1.2: Sekvence spinového echa.	12
Obrázek 1.3: Sekvence CPMG.....	14
Obrázek 1.4: Schéma energetických hladin a pravděpodobností přechodů pro systém dvou spinů $\frac{1}{2}$	16
Obrázek 1.5: Sekvence Stejskal-Tannerova stimulovaného spinového echa.	25
Obrázek 2.1: Molekula vody [20].	32
Obrázek 2.2: Průměrná struktura dimeru vody [20].	34
Obrázek 2.3: Závislost pK_W lehké a těžké vody na teplotě [20].	36
Obrázek 2.4: Grotthussův mechanismus pro difúzi iontu H_3O^+ [20]. . Error! Bookmark not defined.	
Obrázek 2.5: Grotthussův mechanismus pro difúzi iontu OH^- [20]. ... Error! Bookmark not defined.	
Obrázek 2.6: Sekvence Inversion Recovery s gradientním pulsem.....	41
Obrázek 2.7: Destilační aparatura z křemenného skla. Aparatura se skládá z Erlenmeyerovy baňky, která je umístěna ve vyhřívaném duralovém bloku. Následuje nástavec, který vede přímo do kapiláry pomocí níž se destiluje přímo do kyvet. Použití chladiče nebylo při destilaci potřeba. Naopak páry kondenzovaly v místech, kde to nebylo žádoucí. Proto nástavec a hrdlo baňky byly z vnější strany vyhřívány odporovým topením (pod alobalem).	43
Obrázek 2.8: Schématické znázornění stavů v navržených modelech chemické výměny. (a) Model 1 uvažující pouze J-vazbu od ^{17}O . Obsahuje 14 stavů, jejichž rezonanční frekvence jsou popsány pomocí konstanty J_{OH} . (b) Model 2 uvažující J-vazbu od ^{17}O a od D. Obsahuje 28 stavů, jejichž rezonanční frekvence jsou popsány pomocí konstant J_{OH} a J_{HD} . (3) Model 3 uvažující J-vazbu od ^{17}O a izotopický chemický posun od D. Obsahuje 14 stavů, jejichž rezonanční frekvence jsou popsány pomocí konstant J_{OH} a $\Delta\sigma_{HD}$	61
Obrázek 3.1: Struktury modelových molekul.....	85
Obrázek 4.1: Kapilární koaxiální insert [56].	103
Obrázek 4.2: Signál volné precese po π -pulsu naměřený (a) na testovacím vzorku vody s magnetickými nanočásticemi ($\sim \epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 0,6 mM) v koaxiálním kapilárním insertu, (b) na vzorku 20,08 % H_2O/D_2O v 5 mm (naměřený dříve v [55]).	104

Seznam grafů

- Graf 2.1:** Závislosti R_2 na t_{echo} naměřené na vzorku 0 (viz. kap. 2.3.3) při teplotě 281,6 K. Spojité čáry jsou zde pouze pro lepší přehlednost. ... 54
- Graf 2.2:** Závislost R_2 na čase mezi přípravou vzorku a měřením t pro $t_{\text{echo}} = 0,0100865$ s. Vzorek 0 (viz. kap. 2.3.3), teplota měření je 281,6 K. Spojitá čára je zde pouze pro lepší přehlednost. 55
- Graf 2.3:** Závislost R_2 na echočase pro vzorek 2 při teplotě 292,8 K. Fit modelem 1. 73
- Graf 2.4:** Závislost R_2 na echočase pro vzorek 2 při teplotě 292,8 K. Fit modelem 2. 74
- Graf 2.5:** Závislost R_2 na echočase pro vzorek 2 při teplotě 292,8 K. Fit modelem 3. 74
- Graf 3.1:** Závislost $6c_{\text{rH}}$ na AER (a), resp. R_A (b), pro fulleren C_{60} vypočtená v programu HydroNMR (a), resp. DiTe (b), za účelem optimalizace nastavení parametrů AER a R_A . Experimentální hodnota $6c_{\text{rH}} = 31,716$ Å byla získána dosažením difuzního koeficientu, viskozity a teploty převzatých od Kowert a kol. [87] do rovnice (3.2). Optimální hodnoty AER = 1,9117 Å a $R_A = 2,3450$ Å byly určeny interpolací z vypočtených závislostí..... 93
- Graf 3.2:** Závislosti faktoru c_{real} na molekulové hmotnosti M získané pomocí HydroNMR (trojúhelníky) a DiTe (kruhy). Čáry (plná a čárkovaná) jsou lineární fity získaných dat..... 96
- Graf 3.3:** Porovnání hydrodynamických poloměrů získaných prostřednictvím simulací v HydroNMR ($r_{\text{H}}^{\text{HydroNMR}}$) a DiTe ($r_{\text{H}}^{\text{DiTe}}$), van der Waalových poloměrů (r_{vdW}) a krystalografických poloměrů (r_{XRay}) pro jednotlivé studované molekuly. 97
- Graf 3.4:** Porovnání mikrofrikčních korekčních faktorů c získaných s pomocí simulací v HydroNMR (a) a DiTe (b) s c faktory od autorů publikací [63] a [64] (vztahy (3.4) a (3.5)). Hodnoty hydrodynamických poloměrů jednotlivých modelových molekul byly získány ze součinů $(6c_{\text{rH}})_{\text{exp}}$ v tabulce 3.3 s hodnotami faktorů c z tabulky 3.4 ($c_{\text{real}}^{\text{HydroNMR}}$ (a), $c_{\text{real}}^{\text{DiTe}}$ (b)). Za poloměr rozpouštědla byl do vztahů (3.4) a (3.5) dosazen van der Waalsův poloměr deuterovaného hexanu $r_{\text{solv}} = 3,0$ Å. 98
- Graf 4.1:** Závislost podélné relaxivity nanočástic $\epsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ potažených vrstvou

	amorfní siliky na vnějším magnetickém poli. Ve vnořeném grafu je pro lepší porování s literaturou uvedena závislost na Larmorově frekvenci jader ^1H v logaritmické škále. Data byla fitována empirickou dvojeexponenciální funkcí za účelem poskytnutí vodítek pro oči. Teplota měření byla 313 K [88].....	107
Graf 4.2:	Závislost příčné relaxivity nanočástic $\varepsilon\text{-Fe}_2\text{O}_3$ potažených vrstvou amorfní siliky na vnějším magnetickém poli. Ve vnořeném grafu je pro lepší porování s literaturou uvedena závislost na Larmorově frekvenci jader ^1H v logaritmické škále. Data byla fitována empirickou funkcí $r_2 = A + C[1 - \exp(-D/B_{\text{ext}})]$ za účelem poskytnutí vodítek pro oči. Teplota měření byla 313 K [88].....	108
Graf 4.3:	Závislost příčné relaxivity na tloušťce amorfní siliky, ve které byly studované nanočástice obaleny, měřené v několika magnetických polích. Čáry jsou zde pouze jako vodítka pro oči. X-ové chybové úsečky udávají standardní odchylku normálního rozdělení tloušťky siliky. Teplota měření byla 313 K [88].....	108
Graf 4.4:	Závislost příčné relaxivity nanočástic $\varepsilon\text{-Al}_{0,23}\text{Fe}_{1,77}\text{O}_3$ na vnějším magnetickém poli při teplotě 296 K [89].	109
Graf 4.5:	Závislost příčné relaxivity nanočástic $\varepsilon\text{-Al}_{0,23}\text{Fe}_{1,77}\text{O}_3$ na vnějším magnetickém poli při teplotě 313 K [89].	110
Graf 4.6:	a) Závislost příčné relaxivity připravených vzorků nanočástic $\varepsilon\text{-Al}_{0,23}\text{Fe}_{1,77}\text{O}_3$ na teplotě měřená v magnetickém poli 0,47 T, a b) odpovídající závislost $\ln(r_2)$ na $1/T$. c) Relativní příspěvky MAR a SDR k ^1H relaxaci pro vybrané vzorky v magnetickém poli – hodnoty r_2 jsou normalizované hodnotou $r_2(278\text{ K})$. d) - f) Analogické závislosti naměřené v magnetickém poli 11,75 T [89].....	110

Seznam tabulek

Tabulka 2.1: Naměřené hmotnosti prázdných kyvet (m_{kyv}), kyvet s H_2O ($m_{\text{kyv}+\text{H}_2\text{O}}$), kyvet s H_2O a D_2O ($m_{\text{kyv}+\text{H}_2\text{O}+\text{D}_2\text{O}}$) a vypočtené hmotnosti H_2O ($m_{\text{H}_2\text{O}}$) a D_2O ($m_{\text{D}_2\text{O}}$) v připravených vzorcích.	46
Tabulka 2.2: Molární zlomky molekul H_2^{16}O ($x_{\text{H}_2^{16}\text{O}}$), HD^{16}O ($x_{\text{HD}^{16}\text{O}}$) a D_2^{16}O ($x_{\text{D}_2^{16}\text{O}}$) v připravených vzorcích.....	46
Tabulka 2.3: Molární zlomky molekul H_2^{17}O ($x_{\text{H}_2^{17}\text{O}}$), HD^{17}O ($x_{\text{HD}^{17}\text{O}}$) a D_2^{17}O ($x_{\text{D}_2^{17}\text{O}}$) v připravených vzorcích.....	47
Tabulka 2.4: Počáteční molární zlomky molekul H_2O ($x_{\text{H}_2\text{O}}^0$) v připravených vzorcích.....	47
Tabulka 2.5: Viskozity připravených vzorků pro jednotlivé teploty, při kterých byla provedena NMR měření.	49
Tabulka 2.6: Časy začátku a konce měření jednotlivých závislostí R_2 na t_{echo} měřených na vzorku 0 (viz. kap. 2.3.3). Teplota měření je 281,6 K. ...	56
Tabulka 2.7: Naměřené spin-mřížkové relaxační rychlosti R_1 měřené před každým měřením jednotlivé závislosti R_2 na t_{echo} . Uvedené chyby jsou chyby fitu závislostí (1.16). Vzorek 0 (viz. kap. 2.3.3), teplota měření 281,6 K.	56
Tabulka 2.8: Naměřené hodnoty spin-mřížkových relaxačních dob jader ^1H (R_1) a ^{17}O ($R_1^{17}\text{O}$) pro jednotlivé vzorky a teploty. Uvedené chyby jsou chyby fitu závislostí (1.16).....	60
Tabulka 2.9: Populace (p) a rozdíly úhlových rezonančních frekvencí ($\delta\omega$) stavů v modelu 1. Čísla v závorce ve sloupci stav označují z-ovou projekci spinu jádra ^{17}O	64
Tabulka 2.10: Příspěvky k R_{2j}^0 v jednotlivých stavech modelu 1. Čísla v závorce ve sloupci stav označují z-ovou projekci spinu jádra ^{17}O	68
Tabulka 2.11: Výsledky fitů naměřených dat modelem 1 pro jednotlivé vzorky při jednotlivých teplotách (T). Fitovanými parametry jsou J-vazba mezi jádry ^1H a ^{17}O (J_{OH}) a rychlostní konstanta chemické výměny (k_{ex}). Čísla v závorkách udávají chybu fitu jednotlivých parametrů...	69
Tabulka 2.12: Výsledky fitů naměřených dat modelem 2 pro jednotlivé vzorky při jednotlivých teplotách (T). Fitovanými parametry jsou J-vazba mezi jádry ^1H a ^{17}O (J_{OH}), J-vazba mezi jádry ^1H a D (J_{HD}) a	

rychlostní konstanta chemické výměny (k_{ex}). Čísla v závorkách udávají chybu fitu jednotlivých parametrů.....	70
Tabulka 2.13: Výsledky fitů naměřených dat modelem 3 pro jednotlivé vzorky při jednotlivých teplotách (T). Fitovanými parametry jsou J-vazba mezi jádry ^1H a ^{17}O (J_{OH}), izotopický chemický posun jader ^1H v důsledku přítomnosti jádra D v molekule HDO ($\Delta\sigma_{\text{HD}}$) a rychlostní konstanta chemické výměny (k_{ex}). Čísla v závorkách udávají chybu fitu jednotlivých parametrů.....	71
Tabulka 2.14: Střední kvadratické odchylky (RMSD) fitů jednotlivými modely pro jednotlivé vzorky a teploty (T).....	72
Tabulka 2.15: Výsledky fitů naměřených dat modelem 2 s předpokladem k_{ex} ve tvaru (1.40). V řádcích označených jako „vzorek 1“ – „vzorek 50“ jsou fity provedené na teplotně závislých datech získané pro každý vzorek zvlášť. V řádku označeném jako „všechny vzorky“ je výsledek fitu, který byl proveden na datech pro všechny vzorky současně. Fitovanými parametry jsou J-vazba mezi jádry ^1H a ^{17}O (J_{OH}), J-vazba mezi jádry ^1H a D (J_{HD}), před-exponenciální faktor (A) a aktivační energii (E_a). V posledním sloupci jsou uvedeny střední kvadratické odchylky fitů (RMSD).....	76
Tabulka 3.1: Hodnoty van der Waalsových a krystalografických poloměrů studovaných molekul.....	86
Tabulka 3.2: Přibližné koncentrace připravených vzorků.....	87
Tabulka 3.3: Experimentální hodnoty dynamické viskozity η , translačních difúzních koeficientů D a experimentální hodnoty $(6cr_{\text{H}})_{\text{exp}}$ vypočtené dosazením naměřených dat do rovnice (3.2).	94
Tabulka 3.4: Hydrodynamické vlastnosti studovaných molekul. Hodnoty $(6cr_{\text{H}})_{\text{calc}}$ byly získány z hydrodynamických simulací v programech HydroNMR ($(6cr_{\text{H}})_{\text{calc}}^{\text{HydroNMR}}$) a DiTe ($(6cr_{\text{H}})_{\text{calc}}^{\text{DiTe}}$). Faktory c_{real} byly získány z rovnice (3.3). a Fulleren C_{60} byl použit jako kalibrační molekula pro nastavení simulačních programů. Bylo o něm předpokládáno, že splňuje Stokes-Einsteinovu rovnici (3.1) s faktorem $c \equiv 1$	95

Seznam použitých zkratek

CPMG – Sekvence pro měření spin-spinové relaxační doby (podle jmen autorů Carr, Purcell, Meiboom, Gill).

CSA – Anizotropie chemického stínění (z anglického „chemical shift anisotropy“).

FID – Signál volné precese (z anglického „free induction decay“).

FPT – Metoda odplynění vzorků zmrazit-vyčerpát-rozmrazit (z anglického „freeze-pump-thaw“).

HDL – Strukturní typ kapalně vody s vysokou hustotou (z anglického „high density liquid“).

IR – Sekvence pro měření spin-mřížkové relaxační doby (z anglického „inversion recovery“, v překladu obnova po inverzi).

LDL – Strukturní typ kapalně vody s nízkou hustotou (z anglického „low density liquid“).

MAR – Režim pohybového středování (z anglického „motional averaging regime“).

MRI – Zobrazování pomocí nukleární magnetické rezonance (z anglického „magnetic resonance imaging“).

NMR – Nukleární magnetická rezonance.

PFG NMR – NMR s pulsními gradienty magnetického pole (z anglického „pulsed-field gradient NMR“).

PRM – Model částečného refokusování (z anglického „partial refocusing model“).

RMSD – Střední kvadratická odchylka (z anglického „root-mean-square deviation“).

SDR – Režim statického rozfázování (z anglického „static dephasing regime“).

Seznam publikací

Publikace související s touto prací:

- 1) P. Dvořák, M. Šoltésová, and J. Lang, “Microfriction correction factor to the Stokes–Einstein equation for small molecules determined by NMR diffusion measurements and hydrodynamic modelling,” *Mol. Phys.*, vol. 117, no. 7–8, pp. 868–876, Apr. 2019, doi: 10.1080/00268976.2018.1510144.
- 2) L. Kubíčková *et al.*, “Nanomagnets for ultra-high field MRI: Magnetic properties and transverse relaxivity of silica-coated ε -Fe₂O₃,” *J. Magn. Magn. Mater.*, vol. 480, pp. 154–163, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.jmmm.2019.02.067.
- 3) L. Kubíčková *et al.*, “The ε -Al_xFe_{2-x}O₃ nanomagnets as MRI contrast agents: Factors influencing transverse relaxivity,” *Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 589, p. 124423, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.colsurfa.2020.124423.

Další publikace autora:

- 1) O. Kaman *et al.*, “Mn–Zn Ferrite Nanoparticles With Silica and Titania Coatings: Synthesis, Transverse Relaxivity, and Cytotoxicity,” *IEEE Trans. Magn.*, vol. 53, no. 11, pp. 1–8, Nov. 2017, doi: 10.1109/TMAG.2017.2721365.
- 2) Y. Baravets, P. Dvorak, F. Todorov, J. Ctyroky, P. Peterka, and P. Honzatko, “Broadly tunable laser based on novel metallic resonant leaky-mode diffraction grating,” *Opt. Express*, vol. 28, no. 3, p. 4340, Feb. 2020, doi: 10.1364/OE.384550.

Přílohy

Příloha 1: Stanovení molárních zlomků molekul H_2^{16}O , HD^{16}O , D_2^{16}O , H_2^{17}O , HD^{17}O a D_2^{17}O

Popis problému:

Máme 2 zásobní roztoky – roztok H_2O a roztok D_2O . Tyto roztoky mají nějaké dané zastoupení atomů H, D, ^{16}O a ^{17}O . Víme jakou hmotnost zásobního roztoku H_2O a zásobního roztoku D_2O jsme přidali do vzorku. Chceme spočítat molární zlomky molekul H_2^{16}O , HD^{16}O , D_2^{16}O , H_2^{17}O , HD^{17}O a D_2^{17}O ve výsledném zlomku.

Postup:

1) Stanovíme počáteční hmotnosti molekul D_2^{16}O , D_2^{17}O , H_2^{16}O a H_2^{17}O . Slovem počáteční myslíme to, že zatím neuvažujeme izotopovou výměnu – tedy vznik molekul HD^{16}O a HD^{17}O . To necháme až nakonec.

Vezměme jeden zásobní roztok. Označme:

$p_{17\text{O}}$ - izotopové zastoupení atomů ^{17}O v daném zásobním roztoku,

p_{D} - izotopové zastoupení atomů D v daném zásobním roztoku.

Pak pro počty molekul D_2^{16}O , D_2^{17}O , H_2^{16}O a H_2^{17}O (vyjádřeno v molech) platí:

$$n_{\text{D}_2^{16}\text{O}} = p_{\text{D}}(1 - p_{17\text{O}})n, \quad (\text{P.1})$$

$$n_{\text{D}_2^{17}\text{O}} = p_{\text{D}}p_{17\text{O}}n, \quad (\text{P.2})$$

$$n_{\text{H}_2^{16}\text{O}} = (1 - p_{\text{D}})(1 - p_{17\text{O}})n, \quad (\text{P.3})$$

$$n_{\text{H}_2^{17}\text{O}} = (1 - p_{\text{D}})p_{17\text{O}}n, \quad (\text{P.4})$$

kde n je celkový počet molekul všech typů.

Dále jako m_{celk} označme celkovou hmotnost daného zásobního roztoku, která byla přidána do vzorku. Pak pro počáteční hmotnosti molekul $D_2^{16}O$, $D_2^{17}O$, $H_2^{16}O$ a $H_2^{17}O$ platí:

$$m_{celk} = m_{D_2^{16}O}^0 + m_{D_2^{17}O}^0 + m_{H_2^{16}O}^0 + m_{H_2^{17}O}^0. \quad (P.5)$$

Z poměru rovnic (P.2)/(P.1) dostaneme:

$$\frac{n_{D_2^{17}O}}{n_{D_2^{16}O}} = \frac{\frac{m_{D_2^{17}O}^0}{M_{D_2^{17}O}}}{\frac{m_{D_2^{16}O}^0}{M_{D_2^{16}O}}} = \frac{m_{D_2^{17}O}^0}{m_{D_2^{16}O}^0} \frac{M_{D_2^{16}O}}{M_{D_2^{17}O}} = \frac{p_{17O}}{1-p_{17O}} \quad (P.6)$$

a odtud tedy:

$$m_{D_2^{17}O}^0 = \frac{p_{17O}}{1-p_{17O}} \frac{M_{D_2^{17}O}}{M_{D_2^{16}O}} m_{D_2^{16}O}^0 = K_{D_2^{17}O} m_{D_2^{16}O}^0. \quad (P.7)$$

Podobně poměry rovnic (P.3)/(P.1) a (P.4)/(P.1) dají:

$$m_{H_2^{16}O}^0 = \frac{1-p_D}{p_D} \frac{M_{H_2^{16}O}}{M_{D_2^{16}O}} m_{D_2^{16}O}^0 = K_{H_2^{16}O} m_{D_2^{16}O}^0, \quad (P.8)$$

$$m_{H_2^{17}O}^0 = \frac{(1-p_D)p_{17O}}{p_D(1-p_{17O})} \frac{M_{H_2^{17}O}}{M_{D_2^{16}O}} m_{D_2^{16}O}^0 = K_{H_2^{17}O} m_{D_2^{16}O}^0. \quad (P.9)$$

Velká M ve vztazích (P.6)-(P.9) jsou molární hmotnosti jednotlivých typů molekul.

Dosazením (P.7), (P.8), (P.9) do (P.5) dostaneme:

$$m_{D_2^{16}O}^0 = \frac{m_{celk}}{1+K_{D_2^{17}O}+K_{H_2^{16}O}+K_{H_2^{17}O}}. \quad (P.10)$$

Zbylé počáteční hmotnosti pak získáme ze vztahů (P.7), (P.8) a (P.9).

2) Postup **1)** aplikujeme jak na část zásobního roztoku H_2O , kterou jsme přidali do vzorku, tak na část zásobního roztoku D_2O , kterou jsme přidali do vzorku. Prostým součtem pak dostaneme počáteční hmotnosti molekul $D_2^{16}O$, $D_2^{17}O$, $H_2^{16}O$ a $H_2^{17}O$ v našem vzorku.

3) Ze vzorce $n_i = m_i/M_i$ vypočteme počáteční počty molekul $D_2^{16}O$, $D_2^{17}O$, $H_2^{16}O$ a $H_2^{17}O$ v našem vzorku.

4) Ze vzorce:

$$x_i = \frac{n_i}{\sum n_i} \quad (\text{P.11})$$

vypočteme počáteční molární zlomky molekul D_2^{16}O , D_2^{17}O , H_2^{16}O a H_2^{17}O v našem vzorku. Tyto molární zlomky označme $x_{\text{D}_2^{16}\text{O}}^0$, $x_{\text{D}_2^{17}\text{O}}^0$, $x_{\text{H}_2^{16}\text{O}}^0$ a $x_{\text{H}_2^{17}\text{O}}^0$.

5) Zbývá vyřešit izotopovou výměnu. To jest stanovit finální molární zlomky molekul H_2^{16}O , HD^{16}O , D_2^{16}O , H_2^{17}O , HD^{17}O a D_2^{17}O ve vzorku.

Pakliže předpokládáme, že žádný z těchto typů molekul není vůči ostatním nijak zvýhodněn, pak lze prostě použít kombinatorické pravidlo součinu. Předpokládejme, že máme dva koše. V koši 1 máme atomy ^{16}O a atomy ^{17}O . V koši 2 máme atomy H a atomy D. Označme:

$P_{^{16}\text{O}}$ - pravděpodobnost, že z koše 1 vytáhneme atom ^{16}O ,

$P_{^{17}\text{O}}$ - pravděpodobnost, že z koše 1 vytáhneme atom ^{17}O ,

P_H - pravděpodobnost, že z koše 2 vytáhneme atom H,

P_D - pravděpodobnost, že z koše 2 vytáhneme atom D.

Pak pro finální molární zlomky molekul H_2^{16}O , HD^{16}O , D_2^{16}O , H_2^{17}O , HD^{17}O a D_2^{17}O platí:

$$x_{\text{H}_2^{16}\text{O}} = P_{^{16}\text{O}} P_H^2, \quad (\text{P.12})$$

$$x_{\text{HD}^{16}\text{O}} = P_{^{16}\text{O}} 2P_H P_D, \quad (\text{P.13})$$

$$x_{\text{D}_2^{16}\text{O}} = P_{^{16}\text{O}} P_D^2, \quad (\text{P.14})$$

$$x_{\text{H}_2^{17}\text{O}} = P_{^{17}\text{O}} P_H^2, \quad (\text{P.15})$$

$$x_{\text{HD}^{17}\text{O}} = P_{^{17}\text{O}} 2P_H P_D, \quad (\text{P.16})$$

$$x_{\text{D}_2^{17}\text{O}} = P_{^{17}\text{O}} P_D^2. \quad (\text{P.17})$$

Dvojka ve vztazích (P.13) a (P.16) je proto, že při skládání molekuly HD^{16}O resp. HD^{17}O jsou dva možné způsoby, jak to udělat. Buď z koše 2 vytáhneme nejprve atom H a potom atom D, nebo nejprve vytáhneme atom D a potom

atom H.

Pro pravděpodobnosti P_{16O} , P_{17O} , P_H a P_D platí:

$$P_{16O} = x_{D_2^{16O}}^0 + x_{H_2^{16O}}^0, \quad (\text{P.18})$$

$$P_{17O} = x_{D_2^{17O}}^0 + x_{H_2^{17O}}^0, \quad (\text{P.19})$$

$$P_H = x_{H_2^{16O}}^0 + x_{H_2^{17O}}^0, \quad (\text{P.20})$$

$$P_D = x_{D_2^{16O}}^0 + x_{D_2^{17O}}^0. \quad (\text{P.21})$$

Příloha 2: Grafy naměřených závislostí R_2 na echočase fitované modelem 1

V této příloze jsou uvedeny grafy závislostí $R_2(t_{echo})$ pro vzorky 1-5 a jednotlivé teploty. Závislosti byly fitovány modelem 1 popsáním v kapitole 2.4.3.

Jedná se o datovou přílohu. Grafy jsou k dispozici na přiloženém CD ve složce *prilohy* – soubor *priloha2_grafy_model1.pdf*.

Příloha 3: Grafy naměřených závislostí R_2 na echočase fitované modelem 2

V této příloze jsou uvedeny grafy závislostí $R_2(t_{echo})$ pro vzorky 1-5 a jednotlivé teploty. Závislosti byly fitovány modelem 2 popsáním v kapitole 2.4.3.

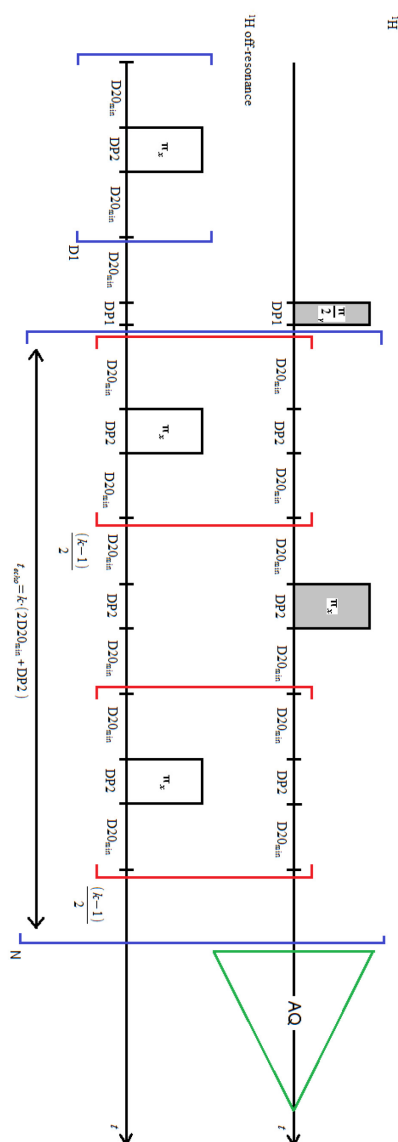
Jedná se o datovou přílohu. Grafy jsou k dispozici na přiloženém CD ve složce *prilohy* – soubor *priloha2_grafy_model1.pdf*.

Příloha 4: Grafy naměřených závislostí R_2 na echočase fitované modelem 3

V této příloze jsou uvedeny grafy závislostí $R_2(t_{echo})$ pro vzorky 1-5 a jednotlivé teploty. Závislosti byly fitovány modelem 3 popsáním v kapitole 2.4.3.

Jedná se o datovou přílohu. Grafy jsou k dispozici na přiloženém CD ve složce *prilohy* – soubor *priloha2_grafy_model1.pdf*.

Příloha 5: Modifikovaná sekvence CPMG kompenzující zahřívání vzorku RF pulsy



Obrázek P.1: Sekvence CPMG kompenzující zahřívání vzorku RF pulsy [55].
 Horní kanál - on-rezonanční pulsy, dolní kanál - off-rezonanční pulsy. $DP1$, $DP2$ – délky $\pi/2$ a π -pulsu, $D20_{min}$ – konstantní časová prodleva, $D1$ – počet π -pulsů vyplňující čekací dobu, k – počet π -pulsů vyplňujících echo-čas, N – počet ech, AQ – akvizice dat.