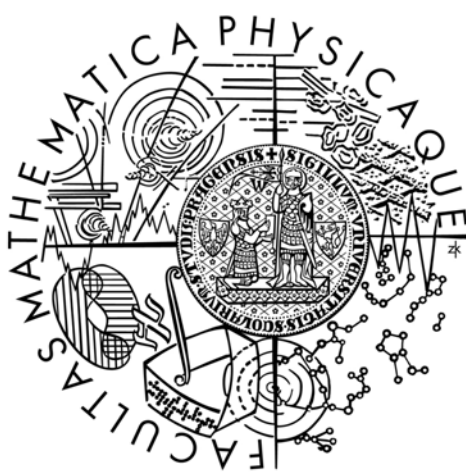


Univerzita Karlova v Praze
Matematicko-fyzikální fakulta

DIPLOMOVÁ PRÁCE



Jan Labuta

Studium fázového přechodu v polymerních
roztocích pomocí metod NMR spektroskopie

Katedra makromolekulární fyziky MFF UK
Vedoucí diplomové práce: RNDr. Lenka Hanyková, Dr.
Studijní program: Fyzika
Studijní obor: Fyzika kondenzovaných a makromolekulárních látek
Studijní plán: makromolekulární fyzika

Poděkování

Rád bych poděkoval RNDr. Lence Hanykové, Dr. za trpělivost a ochotu při konzultacích, korekturách textu a pomoc zejména v začátcích práce s experimentálním zařízením. Dále bych rád poděkoval RNDr. Janu Langovi, Ph.D. za konzultace ohledně experimentálních výsledků a nastavení NMR sekvencí a v neposlední řadě Prof. Ing. Michalu Ilavskému, DrSc. a paní Mejstříkové z ÚMCH AVČR za přípravu vzorků.

Práce vznikla za podpory Grantové agentury Univerzity Karlovy (granty číslo 164/2001/B a 294/2004/B).

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem svou diplomovou práci napsal samostatně a výhradně s použitím citovaných pramenů. Souhlasím se zapůjčováním práce.

V Praze dne 13. srpna 2004

Jan Labuta

Obsah

1 Úvod	6
2 Teoretická část	8
2.1 Popis NMR spektroskopie	8
2.1.1 Základní principy NMR spektroskopie	8
2.1.2 Blochovy rovnice	9
2.1.3 Chemický posuv a intenzita signálu ve spektru	11
2.1.4 Relaxace	13
2.1.5 Podélná spin-mřížková relaxace	16
2.1.6 Příčná spin-spinová relaxace	18
2.1.7 Spektrální hustota pro isotropní rotační difúzi	19
2.1.8 Nukleární Overhauserův efekt (NOE)	20
2.1.9 Chemická výměna	20
2.1.10 Dynamické chování spinového systému	24
2.2 Fázová separace v polymerních roztocích	26
2.2.1 Fázový přechod kapalina-kapalina	26
2.2.2 Dolní kritická rozpouštěcí teplota (LCST)	27
2.2.3 Teorie přechodu klubko–globule	28
2.2.4 Kolaps polymerní sítě	30
3 Současný stav problematiky	32
3.1 Charakteristika polyvinylmethyletheru (PVME)	32
3.2 Vlastnosti PVME	33
4 Cíle diplomové práce	36
5 Experimentální část	37
5.1 Vzorčky	37
5.2 Experimentální vybavení	37
5.3 Analýza NMR spektra: p -faktor	38
5.4 Nastavení experimentů	39
5.4.1 Měření ^1H NMR spekter	39
5.4.2 Měření ^{13}C NMR spekter	39
5.4.3 Měření podélné relaxační doby T_1	40
5.4.4 Měření příčné relaxační doby T_2	41
5.4.5 Měření heteronukleárního NOE	42
5.4.6 Měření chemické výměny	43

6	Výsledky a diskuse	44
6.1	Měření ^1H spekter a relaxací	44
6.1.1	^1H spektrum PVME	44
6.1.2	Teplotní závislost integrálních intenzit a p -faktoru	46
6.1.3	Vliv polymerní koncentrace na fázovou separaci	48
6.1.4	Vliv ethanolové koncentrace na fázovou separaci	50
6.1.5	^1H příčná relaxace vody	51
6.2	Měření ^{13}C spekter a relaxací	53
6.2.1	^{13}C spektrum PVME – nižší polymerní koncentrace	53
6.2.2	^{13}C relaxace ethanolu – nižší polymerní koncentrace	54
6.2.3	^{13}C spektrum PVME – vyšší polymerní koncentrace	56
6.2.4	^{13}C relaxace ethanolu – vyšší polymerní koncentrace	57
6.2.5	^{13}C relaxace a chemická výměna	61
7	Závěr	71
8	Literatura	73

Název práce: Studium fázového přechodu v polymerních roztocích pomocí metod NMR spektroskopie

Autor: Jan Labuta
Katedra: Katedra makromolekulární fyziky
Vedoucí diplomové práce: RNDr. Lenka Hanyková, Dr.
e-mail vedoucího: Hanykova@kmf.troja.mff.cuni.cz

Abstrakt: Diplomová práce se zabývá studiem fázové separace v roztocích polyvinylmethyletheru (PVME) ve směsném rozpouštědle voda/ethanol pomocí metod NMR spektroskopie. Byl stanoven vliv polymerní koncentrace a složení směsného rozpouštědla na výskyt a rozsah fázové separace. Teplotní závislosti integrálních intenzit PVME pásů ukázaly, že s rostoucí polymerní koncentrací dochází k posuvu fázové separace k nižším teplotám a zároveň se zvyšuje podíl PVME segmentů, které se fázové separace účastní. Tento výsledek svědčí o vlivu interakcí polymer–polymer v koncentrovanějších roztocích. Roztoky s vyšší koncentrací ethanolu vykazovaly posuv přechodové oblasti k vyšším teplotám a klesající rozsah fázové separace, což vypovídá o důležité roli ethanolu jako stabilizátora vodíkových vazeb mezi molekulami rozpouštědla a polymerními skupinami. Druhá část práce je věnována podrobné studii dynamiky molekul rozpouštědla během fázové separace užitím relaxačních experimentů. Měření ^1H a ^{13}C spin–spinové relaxační doby molekul vody resp. ethanolu po fázové separaci prokázaly existenci dvou typů molekul rozpouštědla: volné molekuly vyloučené ze zkolabovaných PVME struktur a molekuly vázané na globulární struktury omezené výrazně ve své pohyblivosti. Dynamické chování molekul rozpouštědla se ukázalo být citlivé na polymerní koncentraci a proces stárnutí roztoků PVME.

Klíčová slova: Polyvinylmethylether, fázová separace, přechod klubko–globule, NMR spektroskopie.

Title: Study of the phase transition in polymer solutions using NMR spectroscopy.

Author: Jan Labuta
Department: Department of Macromolecular Physics
Supervisor: RNDr. Lenka Hanyková, Dr.
Supervisor's e-mail address: Hanykova@kmf.troja.mff.cuni.cz

Abstract: The diploma thesis is concerned with the study of a phase separation in water/ethanol solutions of poly(vinyl methyl ether) (PVME) using NMR spectroscopy methods. The effect of the polymer and ethanol concentration on appearance and extent of the phase separation was determined. The temperature dependences of the PVME integrated intensities showed that the increasing polymer concentration shifted the phase separation to lower temperature and at the same time, the ratio of phase separated PVME segments was higher. This result reflects the influence of polymer–polymer interactions in more concentrated solutions. Solutions with higher ethanol concentration revealed the shift of the transition region to higher temperatures and the decreasing extent of the phase separation; it evidences the role ethanol in stabilization of the hydrogen bonding between the polymer and the solvent molecules. The second part of work employed relaxation experiments to study a dynamics of the solvent molecules during the phase separation. Measurements of ^1H and ^{13}C spin–spin relaxation of water and ethanol, respectively, showed the presence of two kinds of solvent molecules: besides the free solvent expelled from the collapsed PVME there are also molecules bound to the globular structures with significantly slowed motion. The dynamic behaviour was found to be responsive to the polymer concentration and the aging of PVME solutions.

Keywords: Poly(vinyl methyl ether), phase transition, coil–globule transition, NMR spectroscopy.

1 Úvod

V posledních letech se s velkým zájmem studují fyzikální vlastnosti tzv. „inteligentních“ polymerních systémů, jako jsou polymerní sítě nabobtnalé ve vodě – hydrogely. Takovéto systémy mohou výrazně měnit svůj objem a fyzikální vlastnosti při malé změně vnějších parametrů (teploty, složení rozpouštědla, pH, atd.). U některých hydrogelů byla při změně vnějších parametrů pozorována skoková změna objemu, která odpovídá fázovému přechodu prvního druhu. Důležitou skupinou těchto materiálů jsou systémy, u kterých se objevuje náhlá změna objemu způsobená malou změnou teploty. Teplotní citlivost těchto systémů je zajímavá pro mnoho aplikací v medicíně, biotechnologii atd. Také k teoretickému studiu se využívá podobnost s teplotní denaturací proteinů.

Fázový přechod prvního druhu v hydrogelech (kolaps) je na molekulární úrovni analogický fázové separaci polymeru ve vodním roztoku. Polymery se schopností fázové separace musí vykazovat dolní kritickou rozpouštěcí teplotu (LCST). Polymer je při nižší teplotě rozpustný, ale při zahřátí nad LCST dochází k fázové separaci. Z mikroskopického hlediska se jedná o fázovou změnu konformace řetězců a koncentrace polymerních segmentů (přechod klubko–globule) způsobenou rozrušením vodíkových můstků mezi polymerními skupinami a molekulami rozpouštědla a převládajícími hydrofobními interakcemi polymer–polymer. Detailní chemická struktura polymerů a interakce s molekulami rozpouštědla hrají tedy při fázové separaci významnou roli. Spektroskopie nukleární magnetické rezonance (NMR) umožňuje podrobně studovat interakce polymer–polymer a polymer–rozpouštědlo, dynamiku polymerních segmentů a molekul rozpouštědla v roztocích během fázového přechodu.

V této práci se zabýváme studiem fázové separace nebo též přechodu klubko–globule v polyvinylmethyletheru ve směsném rozpouštědle deuterované vody a ethanolu. Zaměříme se na vliv polymerní a ethanolové koncentrace na fázovou separaci a na dynamiku rozpouštědla, zejména ethanolu.

Práce je rozdělena do sedmi kapitol. V následující kapitole je popsán teoretický základ, který při studiu používáme. Ve třetí kapitole je uveden přehled současných poznatků týkajících se studované problematiky. Ve čtvrté kapitole jsou formulovány cíle práce. Pátá kapitola obsahuje přesnou specifikaci vzorků a experimentálních podmínek při měření konkrétních veličin. Dosažené experimentální výsledky a jejich interpretace jsou uvedeny v šesté kapitole. Nejdůležitější závěry jsou shrnuty do sedmé kapitoly.

2 Teoretická část

2.1 Popis NMR spektroskopie

2.1.1 Základní principy NMR spektroskopie

V následujícím textu se přidržíme klasického (nikoliv kvantově-mechanického) popisu NMR experimentů. Tento přístup je názorný, dobře popisuje soubor izolovaných spinů a při popisu vzájemných interakcí užívá fenomenologického pojetí. Kvantově-mechanický popis je na místě v případě přesného určení interakcí, konstrukcí složitých pulsních sekvencí a následných teoretických předpovědí tvaru spekter.

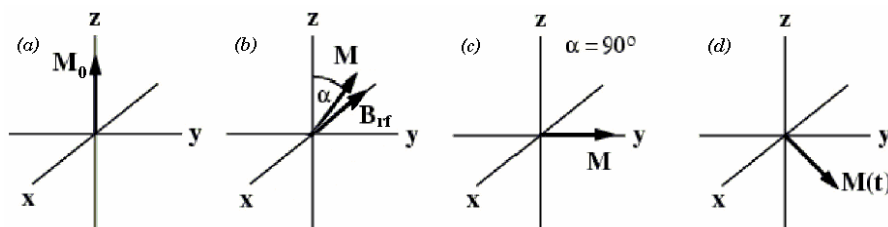
Nukleární magnetická rezonance (NMR) je široce používanou metodou pro studium chování jaderného spinu. V případě syntetických polymerů jsou nejčastěji měřena jádra ^1H a ^{13}C , která mají spin $\frac{1}{2}$. Tato jádra po vložení do vnějšího magnetického pole \mathbf{B}_0 (o velikosti B_0) mohou mít dvě možné energetické hladiny. Nižší hladina odpovídá situaci, kdy je magnetický moment spinu orientován ve směru vnějšího magnetického pole. Vyšší hladina odpovídá stavu, kdy je orientován proti směru vnějšího pole. Při klasickém popisu můžeme soubor spinů popsat vektorem celkové magnetizace \mathbf{M} (v rovnováze o velikosti M_0), který je dán vektorovým součtem magnetických momentů jednotlivých spinů. V rovnováze bude celková magnetizace \mathbf{M} ve směru vnějšího magnetického pole \mathbf{B}_0 . Toto pole konvenčně označuje kladný směr osy z . Přejechy mezi energetickými hladinami lze indukovat radiofrekvenčním polem \mathbf{B}_{rf} o vhodné frekvenci splňující rezonanční podmínku [1-3]:

$$\omega_0 = \gamma B_0, \quad (2.1)$$

kde ω_0 je frekvence Larmorovy precese a γ je gyromagnetický poměr (např.: $\gamma_{^1\text{H}} = 2,68 \cdot 10^8 \text{T}^{-1}\text{s}^{-1}$, $\gamma_{^{13}\text{C}} = 0,67 \cdot 10^8 \text{T}^{-1}\text{s}^{-1}$). Vzhledem k tomu, že energie sousedních stavů spinu jsou relativně malé, je možné budít přechody mezi těmito

stavy poměrně slabým radiofrekvenčním pulsem. Amplituda tohoto pulsu musí být dostatečně malá vzhledem k velikosti vnějšího pole, aby ji bylo možno považovat za poruchu. Radiofrekvenčním pulsem příslušné délky lze sklápět vektor magnetizace \mathbf{M} o libovolný úhel od směru osy z (viz obr. 1). Po této proceduře bude vektor magnetizace konat precesi kolem osy z s Larmorovou frekvencí ω_0 . Dojde tedy ke snížení z -ové komponenty magnetizace a vzniku magnetizace v rovině x,y , která na cívce přijímače (sondy) vytváří oscilující proud. Tímto postupem získáme signál volné precese nazývaný FID (free induction decay). FID reprezentuje NMR spektrum v časové doméně. Fourierovou transformací FIDu získáme NMR spektrum ve frekvenční doméně.

Radiofrekvenční puls má obecně dvě charakteristiky: *sklápěcí úhel* a *fáze*. Výsledek působení takového pulsu na spinový systém tedy závisí na těchto parametrech. Sklápěcí úhel určuje, o kolik úhlových stupňů se otočí vektor magnetizace \mathbf{M} od původního směru. Fáze pulsu určuje, kolem které osy bude k tomuto otáčení docházet. V níže popsanych experimentálních sekvencích se užívají pulsy se sklápěcím úhlem 90° a 180° a fázemi x , $-x$, y , $-y$. Například 90° puls s fází $-x$ sklopí magnetizaci ze směru z do směru y .



Obr. 1: (a) Rovnovážná hodnota magnetizace \mathbf{M}_0 spinového systému v termální rovnováze ve vnějším magnetickém poli \mathbf{B}_0 . (b) Aplikace radiofrekvenčního pulsu s fází $-x$, který sklápí magnetizaci o úhel α od osy z . (c) Magnetizace ve směru osy y po působení 90° pulsu s fází $-x$. (d) Magnetizace koná precesi v rovině x,y s Larmorovou frekvencí ω_0 kolem externího pole.

2.1.2 Blochovy rovnice

Blochovy rovnice jsou fenomenologické rovnice popisující chování magnetizace \mathbf{M} , tj. součtu magnetických momentů v jednotkovém objemu. Jedná se o klasický (nekvantový) popis NMR spektroskopie. Výhodou těchto rovnic je ná-

zorná interpretace parametrů (relaxační doby T_1 a T_2), která bude dále diskutována.

Rovnice vycházejí z popisu chování izolované gyromagnetické částice v externím poli \mathbf{B}_0 a jsou doplněny o členy popisující interakci s mřížkou (spin-mřížková interakce) a vzájemnou interakci (spin-spinová interakce).

Tvar Blochových rovnic je následující [1, 2]:

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B})_x - \frac{M_x}{T_2}, \quad (2.2a)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B})_y - \frac{M_y}{T_2}, \quad (2.2b)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B})_z - \frac{M_z - M_0}{T_1}, \quad (2.2c)$$

kde M_x , M_y , M_z jsou složky vektoru \mathbf{M} , M_0 je velikost magnetizace v rovnováze, T_1 je podélná relaxační doba popisující relaxaci M_z a T_2 je příčná relaxační doba popisující relaxaci M_x a M_y . $\mathbf{B} = \mathbf{B}_0 + \mathbf{B}_{\text{rf}}$, kde \mathbf{B}_0 je externí statické magnetické pole ve směru osy z a \mathbf{B}_{rf} je vektor kruhově polarizovaného harmonického magnetického pole otáčejícího se v rovině x,y . Toto pole se též nazývá radiofrekvenční (zkratka: rf. pole). Obecně pomocí pole \mathbf{B}_{rf} , respektive pomocí pulsů toho pole, manipulujeme se spinovým systémem.

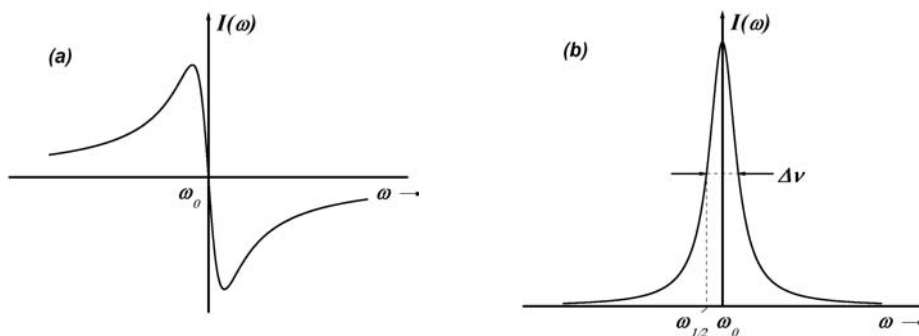
Ve stacionárním řešení Blochových rovnic, kdy se postupuje standardním způsobem, se celý problém transformuje do otáčejícího systému souřadného tak, aby pole \mathbf{B}_{rf} bylo časově konstantní.

Experimentálně detekujeme magnetizaci v rovině x,y , tuto magnetizaci lze rozložit na dvě složky:

- (i) Složka ve fázi s rf. polem \mathbf{B}_{rf} popsaná disperzní Lorentzovou křivkou (viz obrázek 2a).
- (ii) Složka fázově posunutá o 90° oproti poli \mathbf{B}_{rf} popsaná absorpční Lorentzovou křivkou (viz obrázek 2b).

V případě obou křivek se jedná o Lorentzovy křivky, která mají nulový bod nebo maximum na frekvenci ω_0 . Pološířka absorpční křivky, definovaná jako šířka Lorentzovy křivky v polovině výšky, je ovlivněna dvěma příspěvky, tzv. vlastní šířkou spektrální čáry, a nehomogenním rozšířením čáry, které má původ

v nehomogenitách externího pole \mathbf{B}_0 . Vlastní šířka spektrální čáry souvisí s příčnou spin-spinovou relaxací (viz 2.1.6).



Obr. 2: Tvar detekovaného signálu ve spektru. (a) Disperzní Lorentzova křivka pro magnetizaci ve fázi s rf. polem. (b) Absorpční Lorentzova křivka pro případ, kdy je vektor magnetizace fázově posunut o 90° oproti rf. poli.

2.1.3 Chemický posuv a intenzita signálu ve spektru

Rezonanční frekvence každého jádra je ovlivněna elektronovou strukturou jeho okolí, tj. distribucí elektronů tvořících chemické vazby v molekule, vlastními elektrony a celkově způsobem zabudování jádra v molekule látky. Právě zde je styčný bod mezi strukturou molekuly a tvarem a umístěním rezonančních čar ve spektru. Tento jev, posun rezonanční frekvence ovlivněný strukturou molekuly, se nazývá *chemický posuv*.

V prvním přiblížení je možné si představit, že po vložení molekuly do externího pole dojde k polarizaci elektronového obalu konkrétního jádra a ke vzniku magnetického momentu, který podle Lenzova zákona působí proti vnějšímu poli. Tento efekt *stínění* způsobuje, že lokální pole \mathbf{B}_{local} v místě jádra je menší o hodnotu $\sigma\mathbf{B}_0$, kde σ je *chemický posuv* nebo také *konstanta stínění*, a platí vztah [2]:

$$\mathbf{B}_{local} = (1 - \sigma)\mathbf{B}_0. \quad (2.3)$$

Z výše uvedeného plyne, že rezonanční frekvence jader se stejným stíněním bude posunuta na hodnotu:

$$\omega = \gamma(1 - \sigma)B_0 \quad (2.4)$$

a vytvoří ve spektru čáru na nižší (neboť $\sigma > 0$) frekvenci, než by měla izolovaná jádra.

Tato tvrzení platí pro kapaliny, obecně se v případě krystalických vzorků zavádí tenzor chemického stínění σ . Ovšem při studiu kapalných vzorků dochází k izotropní rychlé rotaci molekul, která časově střeďuje nediagonální členy σ k nule a zachovává se pouze stopa tenzoru σ a platí:

$$\sigma = \frac{1}{3} \text{Tr} \sigma . \quad (2.5)$$

Pro kapaliny se konstanta stínění (obdobně tenzor stínění pro krystalické vzorky) skládá ze dvou příspěvků: diamagnetického a paramagnetického. Ovšem k teoretickým výpočtům obou příspěvků je nutné použít kvantově-mechanický popis ve 2. řádu poruchové teorie.

Pozici píku o daném chemickém posuvu lze uvádět v jednotkách frekvence (Hz), potažmo v jednotkách kruhové frekvence ($\text{rad} \cdot \text{s}^{-1}$), ale tato hodnota je závislá na velikosti externího pole \mathbf{B}_0 , jak je vidět ve vztahu (2.4). Vzhledem k tomu, že měřicí aparatury mají různé hodnoty polí (např. 2,3 T, 5,2 T, 11,2 T), je nutné zavést pro chemický posuv jednotku nezávislou na velikosti externího pole. Velikost chemického posuvu se tedy udává vzhledem ke zvolenému standardu pro daný izotop jako bezrozměrná hodnota δ , pro kterou platí:

$$\delta = \frac{\omega - \omega_{\text{standard}}}{\omega_{\text{standard}}} \cdot 10^6 , \quad (2.6)$$

kde δ je v bezrozměrných jednotkách ppm (parts per million), ω je Larmorova frekvence měřené látky (resp. konkrétního píku) a ω_{standard} je Larmorova frekvence standardu pro daný izotopu.

Standard musí být látka stálá, nesmí interagovat, musí být rozpustná v běžně používaných rozpouštědlech a její chemický posuv musí být nezávislý na teplotě, koncentraci apod. Čára standardu ve spektru musí být nerozštěpený singlet a nesmí překrývat rezonanční křivky měřených látek. Obvyklým standardem je tetrametylsilan (TMS) $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$, je použitelný zejména pro spektra jader ^1H , ^{13}C a ^{29}Si .

Pro prvky s nízkým atomovým číslem, které mají málo elektronů, je i rozsah chemických posuvů nižší (pro ^1H 20 až -3 ppm) než pro prvky s vyšším atomovým číslem (pro ^{13}C 250 až -10 ppm). Tento jev je způsoben kumulací efektu polarizace elektronového obalu atomu, více elektronů způsobuje větší stínění.

Poznámka: záporné hodnoty chemických posuvů mohou být způsobeny několika jevy, především rozdílem elektronegativit prvků ve sloučenině, který v důsledku vede k částečnému přesunu elektronů po vazbě a tím k většímu stínění jádra. Na dalším způsobu se může podílet paramagnetická složka chemického posuvu (u některých sloučenin tento příspěvek vychází z nízko ležících *p*-orbitalů).

Dalším důležitým údajem, který lze získat ze spektra, je *intenzita* signálu. Plocha pod rezonančním signálem se nazývá *integrální intenzita* a je přímo úměrná počtu jader (např. protonů) tvořících daný signál. Poměr integrálních intenzit jednotlivých čar ve spektru udává poměrné zastoupení příslušných jader ve struktuře molekuly.

2.1.4 Relaxace

Relaxací se nazývá jev, kdy se excitovaný systém spinů vrací zpět do rovnovážného stavu a energie systému je disipována do okolí v podobě tepelné energie. Rychlost relaxace je charakterizována relaxačními časy. Hodnota relaxačních časů je závislá na pohyblivosti NMR aktivních jader. Molekula v roztoku vykonává náhodný termální pohyb, při kterém dochází k interakcím s okolními molekulami, což vede ke vzniku lokálního fluktuujícího pole [3]. Tyto okolní molekuly se nazývají *mřížka*. Pro systém spinů s hodnotou $\frac{1}{2}$ je fluktuace magnetického pole hlavní příčinou relaxace. Co způsobuje fluktuace magnetického pole? Tento jev má tři hlavní příčiny:

- (i) Přímá dipól-dipólová interakce mezi dvěma jadernými spiny v jedné molekule. Vzhledem k rotaci molekuly mění vektor spojnice obou jader neustále polohu v prostoru, což vede k tomu, že pole tvořené jedním jádrem se v místě druhého jádra neustále mění.
- (ii) Anizotropie chemického posuvu (CSA – chemical shift anisotropy) způsobená proudem elektronů v molekule (indukovaným externím polem) a jeho interakcí s jaderným spinem. Tento jev se vyskytuje převážně u molekul s výrazně nesférickým tvarem (i lokálně), v takových situacích se elektrony nemohou pohybovat po molekule s dostatečnou volností.
- (iii) Spin-rotační interakce. Rotace molekuly a v ní obsažených nábojů generuje lokální magnetické pole, které interaguje s magnetickým momentem jádra. Vliv této interakce se projevuje zejména u malých molekul, které rychle rotují.

V kapalných vzorcích je přímá dipól-dipolární interakce středována k nule rotačním molekulárním pohybem, ale její vliv na relaxaci je největší, ostatní relaxační mechanismy lze zanedbat.

Podrobněji lze o dipól-dipolární interakci říci, že se jedná o interakci dvou spinů přes prostor, která není ovlivněna chemickými vazbami. Její velikost je závislá na vzdálenosti obou dipólů r a na orientaci jejich spojnice vzhledem k vnějšímu magnetickému poli \mathbf{B}_0 . Interakce je charakterizována dipól-dipolární interakční konstantou (DCC), která je dána rovnicí (2.7).

$$DCC = \left(\frac{\mu_0 \gamma_C \gamma_H \hbar}{8\pi^2} \right) r^{-3} \quad (2.7)$$

Kde γ_C a γ_H jsou gyromagnetické poměry jader ^{13}C a ^1H a μ_0 je permeabilita vakua.

Časový průběh x -ové složky lokálního fluktuujícího pole B_x má následující vlastnosti:

- (i) Fluktuace pole má nulovou střední hodnotu: $\langle B_x(t) \rangle = 0$, což lze chápat jak pro jeden spin v dlouhém časovém intervalu, tak pro velký soubor spinů v jednom okamžiku (v korespondenci s ergodickou hypotézou).
- (ii) Střední kvadratická odchylka fluktuujícího pole je $\langle B_x^2(t) \rangle \neq 0$ a tato hodnota je stejná pro každý spin.
- (iii) Zavedeme *korelační funkci* $G(\tau)$, která udává intenzitu fluktuací, jako:

$$G(\tau) = \langle B_x(t) B_x(t + \tau) \rangle \neq 0. \quad (2.8)$$

Obecně má korelační funkce velkou hodnotu pro malé τ a naopak se blíží k nule pro $\tau \rightarrow \infty$. V jednoduchých případech lze často předpokládat, že se jedná o monoexponenciální pokles s parametrem τ_c a pak má korelační funkce tvar:

$$G(\tau) = \langle B_x^2 \rangle \exp\left(-\frac{|\tau|}{\tau_c} \right), \quad (2.9)$$

kde $\langle B_x^2 \rangle$ je střední kvadratické odchylka korelační funkce pro parametr $\tau = 0$, viz vztah (2.8). τ_c se nazývá korelační čas, který udává rychlost fluktuace.

Důležitou roli v teorii NMR relaxací hraje *spektrální hustota* $J(\omega)$. Spektrální hustota je dána jako Fourierova transformace korelační funkce:

$$J(\omega) = 2 \int_0^{+\infty} G(\tau) \exp(-i\omega\tau) d\tau. \quad (2.10)$$

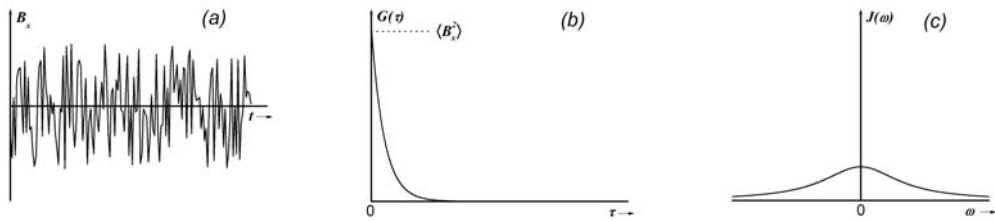
Vycházíme-li ze vztahu (2.9) pro korelační funkci, dostáváme spektrální hustotu ve tvaru absorpční Lorentzovy křivky:

$$J(\omega) = 2 \langle B_x^2 \rangle \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}. \quad (2.11)$$

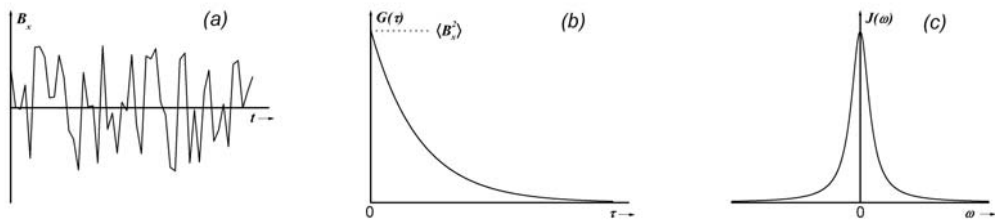
V dalším textu budeme často pracovat s tzv. *redukovanou spektrální hustotou*, což je absorpční Lorentzova křivka, jejíž integrální intenzita je rovna jedné a má tvar:

$$\mathfrak{J}(\omega) = \mathcal{A}(\omega; 0, \tau_c^{-1}) = \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2}. \quad (2.12)$$

V případě, že je fluktuace pole rychlá, pak korelační funkce klesá rychle (korelační čas je krátký) a spektrální hustota je široká (viz obrázek 3). V opačném případě je pokles korelační funkce pomalý (dlouhý korelační čas) a spektrální hustota je úzká (viz obrázek 4).



Obr. 3: (a) Rychlá fluktuace magnetického pole v x -ovém směru transverzální roviny. (b) Rychlý pokles korelační funkce. (c) Spektrální hustota má široký tvar.



Obr. 4: (a) Pomalá fluktuace magnetického pole v x -ovém směru transverzální roviny. (b) Pomalý pokles korelační funkce. (c) Spektrální hustota má úzký tvar.

Ovšem obecně je nutné volit tvar spektrální hustoty (a tím pádem i korelační funkce) podle zvoleného modelu pro dynamické chování molekuly, viz oddíl 2.1.7. V důsledku toho má pak korelační funkce obecnější tvar (např. víceexponenciální pokles). Také je nutné v obecném odvození spektrálních hustot zachytit fluktuaci lokálního pole ve všech třech směrech.

2.1.5 Podélná spin-mřížková relaxace

Bezprostředně po vložení vzorku do vnějšího magnetického pole \mathbf{B}_0 není spinový systém v rovnováze. To je způsobeno tím, že bez vnějšího pole \mathbf{B}_0 jsou všechny spinové stavy obsazeny se stejnou pravděpodobností, z čehož vyplývá, že populace obou energetických hladin spinů (jader) jsou stejné. Z -ová magnetizace je dána jako rozdíl populací spinů na jednotlivých hladinách. Pro vzorek, který není umístěn ve vnějším poli, je tedy rovnovážná hodnota z -ové magnetizace $M_0 = 0$. Ovšem po vložení vzorku do externího pole dochází ke změně v pravděpodobnostech obsazování jednotlivých hladin a tudíž jsou populace obou hladin spinů rozdílné. Dochází ke vzniku nenulové z -ové magnetizace. Po dosažení rovnováhy nabývá z -ová magnetizace své maximální a nenulové hodnoty M_0 dané rozdílem rovnovážných hodnot populací jader na jednotlivých hladinách. Rovnovážné rozdělení těchto populací v externím poli \mathbf{B}_0 je dáno Boltzmannovým rozdělovacím zákonem [2, 3]:

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = \exp\left(\frac{-\Delta E}{kT}\right) = \exp\left(\frac{-\gamma h B_0}{2\pi kT}\right), \quad (2.13)$$

kde N_α , N_β jsou populace jader v základním a excitovaném stavu, ΔE je energetický rozdíl mezi základní a excitovanou hladinou spinu, k je Boltzmannova konstanta, T je absolutní teplota a h je Planckova konstanta.

Časový vývoj z -ové složky makroskopické magnetizace je dán obyčejnou diferenciální rovnicí:

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1}. \quad (2.14)$$

$1/T_1$ je tedy rychlostní konstanta přechodu z nerovnovážného stavu to rovnováhy a často ji značíme R_1 . Během tohoto děje se přenáší energie ze spinového systému do okolí, které se nazývá mřížka. Tento proces charakterizovaný rovnicí (2.14) se jmenuje *podélná relaxace* a T_1 je *podélný* nebo *spin-mřížkový relaxační čas*.

Řešení rovnice (2.14) má tvar jednoexponenciálního nárůstu magnetizace v ose z :

$$M_z(t) = M_0 (1 - 2 \exp(-t/T_1)). \quad (2.15)$$

Obecně platí, že příliš dlouhé relaxační časy T_1 způsobují snížení intenzity signálu ve spektru. Tato vlastnost se explicitně projeví rozborem řešení Blochových rovnic (2.2) například pro absorpční Lorentzovu křivku. Naopak příliš krátké relaxační časy T_1 rozšiřují spektrální čáry. Tento jev je způsobený krátkou dobou života excitovaných stavů, což vytváří větší neurčitosti v určení energetického rozdílu hladin ΔE . V korespondenci s principem neurčitosti $\Delta E \Delta t \approx h$ a za použití vztahu $\Delta E = h \Delta \nu$ dostáváme $\Delta \nu \Delta t \approx 1$. Poslední vztah udává neurčitost v určení rezonanční frekvence $\Delta \nu$, která je tím větší, čím je kratší doba života Δt excitovaného stavu. Relaxační doba T_1 přímo koresponduje s dobou života excitovaných stavů, je tedy patrné, že její nízká hodnota způsobí rozšíření spektrálních čar. V roztocích syntetických polymerů, kde je relaxační doba T_1 v řádu sekund, je příspěvek k rozšíření spektrální čáry kolem 0.1 Hz.

Pro měření podélné relaxační doby se nejčastěji používá *inversion recovery* experiment s pulsní sekvencí:

$$180^\circ \cdots \tau \cdots 90^\circ \cdots \text{FID}.$$

Máme-li vzorek v rovnováze, umístěný ve vnějším magnetickém poli \mathbf{B}_0 , pak rovnovážná makroskopická magnetizace M_0 na vzorku vytvořená je ve směru kladné osy z . Aplikací 180° tvrdého pulsu (krátký puls, který excituje celé spektrum) dojde k překlopení magnetizace M_0 do záporného směru osy z . Po uplynutí doby τ , kdy se magnetizace vyvíjí (relaxuje ke své rovnovážné hodnotě), aplikujeme 90° tvrdý puls, který převede magnetizaci do roviny x,y , kde detekujeme signál volné precese FID. Opakováním této procedury pro sérii daných časů τ určíme časový nárůst magnetizace M_z . Hodnotu relaxační doby T_1 určíme fitací experimentálních dat do vztahu (2.15).

Pro podélnou relaxaci jader ^{13}C způsobenou dipól-dipólní interakcí s jádru ^1H (která jsou během směšovacího času τ saturována, viz sekce 5.4.3) lze odvodit rovnici (2.16), viz [4].

$$R_1^{DD} = \frac{1}{4} N_H (DCC)^2 (\Im(\omega_H - \omega_C) + 3\Im(\omega_C) + 6\Im(\omega_H + \omega_C)) \quad (2.16)$$

Kde R_1^{DD} je příspěvek dipól-dipolární interakce k podélné relaxační rychlosti, N_H určuje počet protonů přímo navázaných na uhlík a výrazy typu $\Im(\omega)$ jsou redukované spektrální hustoty.

2.1.6 Příčná spin-spinová relaxace

Hlavním mechanismem příčné relaxace je přenos energie v rámci spinového systému. Celková energie spinového systému se nemění, tento typ relaxace lze charakterizovat jako ztrátu koherence spinového systému a tedy jako entropický proces.

V kapalinách tento typ relaxace ovlivňuje tvar čáry ve spektru a pro pološířku čáry $\Delta\nu$ platí:

$$\Delta\nu = \frac{1}{\pi T_2^*}. \quad (2.17)$$

V relaxační době T_2^* je ovšem zahrnut jak příspěvek vlastní relaxační doby T_2 , tak příspěvek T_{2n} od nehomogenního rozšíření čáry, který je způsobený nehomogenitou vnějšího magnetického pole \mathbf{B}_0 . Pro relaxační dobu T_2^* naměřenou z pološířky čáry platí vztah:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2n}}. \quad (2.18)$$

Pro charakterizaci spinového systému je užitečná jen relaxační doba T_2 . Nehomogenní rozšíření je minimalizováno korekcemi magnetického pole \mathbf{B}_0 . I přesto je zřejmé, že určování hodnoty relaxační doby T_2 z pološířky čáry není vhodný způsob, protože není možné odstranit nehomogenní rozšíření.

Korektní určení doby T_2 lze dosáhnout vhodnou volbou experimentální metodiky založené na *spinovém echu*. Pulsní sekvence spinového echa je založena na následujícím schématu:

$$90^\circ_x \cdots \tau \cdots 180^\circ_x \cdots \tau \cdots \text{FID},$$

kde časový interval 2τ nazýváme echočasem. Uvedená sekvence je první a nejjednodušší metodou určení relaxační doby T_2 , kterou vypracovali Carr a Purcell [5].

Magnetizace je pomocí 90° pulsu sklopena do roviny x,y . Následně pak dochází procesem relaxace k poklesu příčné složky magnetizace. Tento pokles je

ale také způsoben rozfázováním spinů vlivem nehomogenity magnetického pole. Poté je-li za čas τ aplikován na systém 180° puls s fází x , dojde k otočení rozfázovaných spinů v rovině x,y o 180° okolo osy x . Koná-li vektor magnetizace i nadále precesní pohyb ve stejném směru, dojde po identickém časovém intervalu τ k opětovnému zřázování spinového systému. Pak následuje detekce signálu volné precese FID. Intenzita takto získaného signálu pak závisí jen na relaxační době a není ovlivněna nehomogenitou magnetického pole. Časový průběh takto získané intenzity (velikosti magnetizace) má tvar:

$$M(t) = M_0 \exp(-t/T_2). \quad (2.19)$$

K měření příčné relaxační doby se užívá sekvence CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill), viz [2,3]. Tato sekvence byla vylepšena S. Meiboomem a D. Gillem [6]. Je v ní obsažena částečná korekce na nepřesnost délky 180° pulsů. Ovšem v moderním experimentálním uspořádání užíváme ještě dalších zlepšení této sekvence, viz sekce 5.4.4.

Vzhledem k tomu, že dipól-dipolární interakce je hlavním mechanismem relaxace, opět můžeme pro příspěvek této interakce k příčné relaxační rychlosti R_2^{DD} napsat vztah (2.20), viz [4]. N_H určuje počet protonů přímo navázaných na uhlík a výrazy typu $\mathfrak{I}(\omega)$ jsou redukované spektrální hustoty.

$$R_2^{DD} = \frac{1}{4} N_H (DCC)^2 \left(2\mathfrak{I}(0) + \frac{1}{2} \mathfrak{I}(\omega_H - \omega_C) + \frac{3}{2} \mathfrak{I}(\omega_C) + 3\mathfrak{I}(\omega_H) + 3\mathfrak{I}(\omega_H + \omega_C) \right) \quad (2.20)$$

2.1.7 Spektrální hustota pro isotroponí rotační difúzi

Jak již bylo uvedeno v posledním odstavci v sekci 2.1.4, je nutné nejprve zvolit model dynamického chování systému a poté určit příslušný tvar redukované spektrální hustoty. V případě malých molekul rozpouštědla (ethanol), které můžeme považovat za rigidní koule s isotroponí rotací, lze pro tento případ odvodit spektrální hustotu $\mathfrak{I}(\omega)$ ve tvaru (2.21), viz [4]:

$$\mathfrak{I}(\omega) = \frac{2}{5} \left(\frac{\tau_M}{1 + \omega^2 \tau_M^2} \right), \quad (2.21)$$

kde τ_M je korelační čas pro rigidní isotroponě rotující molekulu, který pro kapalné vzorky odpovídá korelačnímu času fluktuace pole τ_c .

Na okraj lze říci, že pro komplikovanější systémy, které jako celek rotují isotropně (s korelačním časem τ_M), avšak obsahují i části s mnohem rychlejšími anisotropními lokálními pohyby (s korelačním časem τ_e), je možno použít Lipari-Szabo přístup [7]. Tento model obsahuje dva korelační časy: globální τ_M , lokální τ_e a parametr uspořádání S^2 , který určuje, jak se podílí globální a lokální složka korelačního času na celkovém korelačním čase. Redukovaná spektrální hustota v tomto modelu má tvar váženého součtu (s vahou S^2) dvou Lorentzových absorpčních křivek.

2.1.8 Nukleární Overhauserův efekt (NOE)

NOE je projevem dipól-dipolární interakce. Jde o přenos energie mezi dvěma spiny (v našem případě se jedná o jádra ^{13}C a ^1H), tzv. křížovou relaxaci [3]. Ozařujeme-li selektivně jeden spin, např. jádro ^1H , dostatečně dlouhou dobu, dojde v důsledku přenosu energie k navýšení magnetizace na jádře ^{13}C , které se projeví navýšením intenzity signálu ve spektru. V případě uhlíkového spektra získaného při ozařování jádra ^1H pro velikost NOE platí rovnice (2.22) a (2.23), kde σ^{DD} je rychlost heteronukleární křížové relaxace [4].

$$NOE = 1 + \left(\frac{\gamma_H}{\gamma_C} \right) \frac{N_H \sigma^{DD}}{R_1^{DD}} \quad (2.22)$$

$$\sigma^{DD} = \frac{1}{4} (DCC)^2 (6\Im(\omega_H + \omega_C) - \Im(\omega_H - \omega_C)) \quad (2.23)$$

Pro maximální navýšení intenzity signálu ^{13}C vlivem NOE mezi ^1H a ^{13}C platí:

$$NOE = 1 + \gamma_H / 2\gamma_C \cong 3. \quad (2.24)$$

2.1.9 Chemická výměna

Chemická výměna je označení pro procesy, při kterých přecházejí jádra z jednoho chemického okolí do jiného, čímž se mění jejich rezonanční frekvence z hodnoty ν_A na ν_B . Neřadí se přímo mezi relaxační mechanismy, ale je jim velice podobná, místo samotné magnetizace se v systému přenáší celé jádro i se svým spinem. V důsledku této podobnosti je popis chemické výměny podobný

spinové relaxaci. Chemická výměna má vliv na podélnou i příčnou složku magnetizace, jak bude uvedeno níže.

Existují dvě skupiny chemických výměn:

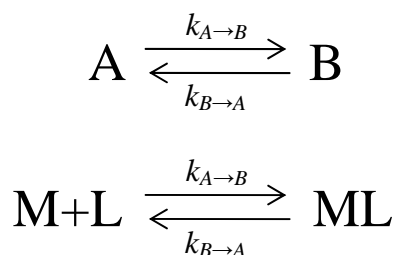
(i) Intramolekulární výměna, např.:

- pohyb bočních řetězců polymeru,
- přechod dvoušroubovice-klubko u nukleových kyselin,
- konformační změny ve struktuře polymerů.

(ii) Intermolekulární výměna, např.:

- tvorba komplexů,
- enzymaticky katalyzované reakce,
- navazování malých molekul na strukturu polymeru.

Uvažujme nyní oboustrannou chemickou reakci prvního řádu se dvěma rychlostními konstantami $k_{A \rightarrow B}$ a $k_{B \rightarrow A}$ (obr. 5).



Obr. 5: Intermolekulární chemická výměna mezi stavem A , kdy jsou složky M a L volné, a stavem B , kdy jsou vázané v komplexu ML . $k_{A \rightarrow B}$, $k_{B \rightarrow A}$ jsou rychlostní konstanty, s jakými komplexy vznikají, resp. zanikají.

Tento model dobře vystihuje situaci, kdy dochází k navazování nízkomolekulárních látek (L) na strukturu syntetického polymeru (M) prostřednictvím vodíkových můstků nebo hydrofobních interakcí.

Pro rychlost této chemické výměny k_{ex} pak můžeme psát:

$$k_{ex} = \frac{k_{A \rightarrow B}}{p_B} = \frac{k_{B \rightarrow A}}{p_A}, \quad (2.25)$$

kde p_A a p_B jsou populace složky L volné ve stavu A a vázané ve stavu B , přičemž platí:

$$p_A + p_B = 1. \quad (2.26)$$

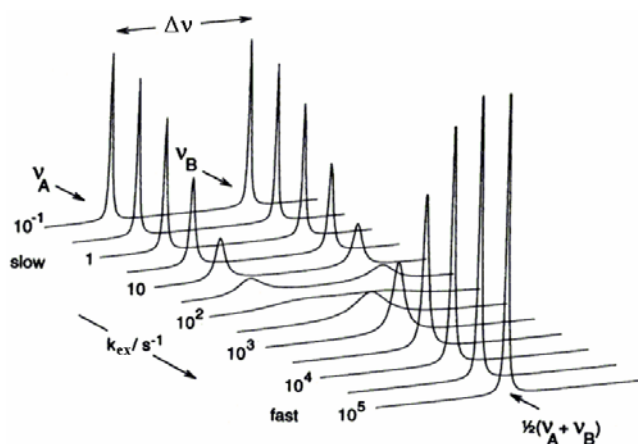
Mezi nejčastěji používané metody k určení rychlosti chemické výměny k_{ex} patří:

- (i) Měření teplotní závislosti NMR spekter. Chemická výměna má vliv na šířku čar ve spektru. Je-li rychlost chemické výměny k_{ex} menší než rozdíl rezonančních frekvencí $\Delta\nu = \nu_A - \nu_B$ v Hz při určité velikosti vnějšího magnetického pole, jedná se o tzv. pomalou výměnu a můžeme ve spektru pozorovat obě frekvence. Pokud je $k_{ex} > \Delta\nu$, jedná se o rychlou výměnu a ve spektru se objeví pouze jeden signál o frekvenci $\frac{1}{2}(\nu_A + \nu_B)$. Rychlost chemické výměny roste s rostoucí teplotou. Přechod mezi rychlou a pomalou výměnou nastává při *koalescenční teplotě*, kdy platí vztah (2.27).

$$k_{ex} = \frac{\pi \Delta\nu}{\sqrt{2}} \approx 2,22\Delta\nu \quad (2.27)$$

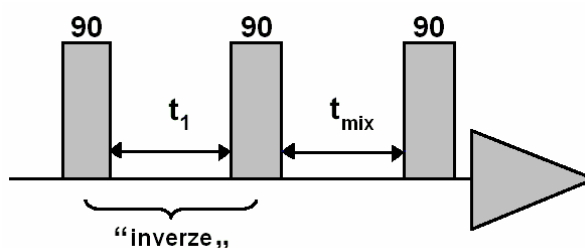
S rostoucí hodnotou k_{ex} roste příspěvek chemické výměny k rozšíření čar, dokud není dosaženo koalescenční teploty. Další zvyšování k_{ex} vede k zužování čáry a při velmi vysoké hodnotě k_{ex} již není rozšíření čáry pozorovatelné, viz obrázek 6, [8].

Tento způsob určování k_{ex} má ovšem pro studium fázové separace v syntetických polymerech značná omezení v tom, že k fázové separaci dochází v poměrně úzkém intervalu teplotní škály, a tedy použití vztahu (2.27) není možné kvůli tomu, že koalescenční teplota se nachází mimo tento interval. Takto určená hodnota rychlosti chemické výměny k_{ex} odráží chování při teplotě, která není pro studium dynamiky systému významná.



Obr. 6: Chemická výměna mezi dvěma stavy A a B – závislost NMR spekter na rychlosti chemické výměny k_{ex} nebo teplotě, která je s hodnotou k_{ex} spjata.

- (ii) Výměnná spektroskopie EXSY (Exchange spectroscopy), která je určena k měření pomalé chemické výměny mezi dvěma stavy. Princip této metody je následující, viz obr. 7.



Obr. 7: Schéma sekvence používané k měření EXSY.

Nejdříve je selektivně převrácen pouze signál A na frekvenci ν_A (viz obr. 7, část označená „inverze“). Probíhá-li mezi signálem A na frekvenci ν_A a signálem B na frekvenci ν_B chemická výměna, dochází během směšovacího času t_{mix} po ozáření k přenosu magnetizace na signál B . Měříme-li spektrum pro několik hodnot směšovacího času t_{mix} , můžeme z naměřené závislosti intenzit signálů na směšovacím čase určit rychlostní konstantu chemické výměny podle vztahu:

$$k_{ex} = \frac{I(\nu_A \rightarrow \nu_B) I(\nu_A)}{t_{mix}}, \quad (2.28)$$

kde $I(\nu_A \rightarrow \nu_B)$ je intenzita signálu (velikost magnetizace) ve stavu B , která byla přenesena ze selektivně ozářených jader ve stavu A . $I(\nu_A)$ je intenzita signálu ve stavu A . Vzorec (2.28) platí pouze pro počáteční nárůst závislosti, který je přibližně lineární. Odchylka od linearity je způsobena členy s vyššími mocninami t_{mix} , které jsou pro dostatečně malé časy zanedbatelné. EXSY lze použít jen k měření pomalé výměny, která příliš nerozšiřuje čáry ve spektru.

(iii) Použití sekvence CPMG (viz sekce 2.1.6) s proměnou délkou echočasu. Tento postup je vhodný v situaci, kdy se jedná o rychlou výměnu, která znatelně nerozšiřuje signály ve spektru. Vzhledem k tomu, že chemická výměna ovlivňuje i hodnotu příčné relaxační doby T_2 , lze z naměřené závislosti relaxační rychlosti R_2 na polovině echočasu τ určit rychlost chemické výměny pomocí vztahů (2.29) a (2.30), jak odvodili Luz a Meiboom [9].

$$R_2 = \frac{p_{A(f)}p_{B(f)}(\Delta\omega_{(f)})^2}{k_{ex(f)}} \left(1 - \frac{\tanh(k_{ex(f)}\tau)}{k_{ex(f)}\tau} \right) + R_2^{DD} \quad (2.29)$$

$$\tau_{ex(f)} = \frac{1}{k_{ex(f)}}, \quad (2.30)$$

kde $p_{A(f)}$ a $p_{B(f)}$ jsou populace stavů $A_{(f)}$ a $B_{(f)}$ mezi kterými probíhá rychlá výměna. Pro $p_{A(f)}$ a $p_{B(f)}$ platí obdobná normovací podmínka jako (2.26). $\Delta\omega_{(f)}$ je rozdíl chemických posunů látky ve stavu $A_{(f)}$ a $B_{(f)}$, $\tau_{ex(f)}$ je korelační čas rychlé chemické výměny, R_2^{DD} je příčná relaxační rychlost, kterou by spinový systém relaxoval pouze vlivem dipól-dipólové interakce, tedy bez přítomnosti chemické výměny. První člen na pravé straně v rovnici (2.29) odpovídá relaxační rychlosti vlivem chemické výměny $R_{ex(f)}$.

Tento způsob výpočtu rychlosti chemické výměny je určen pro rychlosti v řádu (milisekund)⁻¹ až (mikrosekund)⁻¹. Další podmínkou je, aby hodnota korelačního času chemické výměny $\tau_{ex(f)}$ byla mnohem větší než velikost korelačního času náhodných procesů τ_c , způsobujících relaxaci vlivem dipól-dipólové interakce (viz sekce 2.1.4).

2.1.10 Dynamické chování spinového systému

Celkově lze dynamiku spinového systému, která je ovlivněna relaxací (způsobenou dipól-dipólovou interakcí) a chemickou výměnou, popsat modifikovanými Blochovými rovnicemi. K původnímu tvaru rovnic, viz (2.2), jsou přidány členy popisující chemickou výměnu. Takto upravené Blochovy rovnice s chemickou výměnou se nazývají McConnelllovy rovnice [10] a mají tvar:

$$\frac{d}{dt} M_x^A = -\Delta\omega_A M_y^A - \frac{M_x^A}{T_{2A}} - k_{A \rightarrow B} M_x^A + k_{B \rightarrow A} M_x^B, \quad (2.31a)$$

$$\frac{d}{dt} M_x^B = -\Delta\omega_B M_y^B - \frac{M_x^B}{T_{2B}} - k_{B \rightarrow A} M_x^B + k_{A \rightarrow B} M_x^A, \quad (2.31b)$$

$$\frac{d}{dt} M_y^A = \Delta\omega_A M_x^A - \frac{M_y^A}{T_{2A}} - k_{A \rightarrow B} M_y^A + k_{B \rightarrow A} M_y^B - \omega_1 M_z^A, \quad (2.31c)$$

$$\frac{d}{dt} M_y^B = \Delta\omega_B M_x^B - \frac{M_y^B}{T_{2B}} - k_{B \rightarrow A} M_y^B + k_{A \rightarrow B} M_y^A - \omega_1 M_z^B, \quad (2.31d)$$

$$\frac{d}{dt} M_z^A = -\frac{M_z^A}{T_{1A}} + \frac{M_0^A}{T_{1A}} - k_{A \rightarrow B} M_z^A + k_{B \rightarrow A} M_z^B + \omega_1 M_y^A, \quad (2.31e)$$

$$\frac{d}{dt} M_z^B = -\frac{M_z^B}{T_{1B}} + \frac{M_0^B}{T_{1B}} - k_{B \rightarrow A} M_z^B + k_{A \rightarrow B} M_z^A + \omega_1 M_y^B. \quad (2.31f)$$

Obecně tyto rovnice popisují situaci, kdy je spinový systém vložen do externího magnetického pole \mathbf{B}_0 ve směru osy z a současně na něj působí rf. pole \mathbf{B}_{rf} o frekvenci ω_{rf} a amplitudě $B_{rf} = |\omega_1/\gamma|$. Složky magnetizace obou spinových systémů jsou transformovány do rotující vztažné soustavy, která rotuje s kruhovou frekvencí ω_{rf} kolem vertikální osy z . Pole \mathbf{B}_{rf} má orientaci a směr kladné osy x .

Rovnice (2.31) obsahují následující proměnné a konstanty:

- $M_x^A, M_y^A, M_z^A, M_x^B, M_y^B, M_z^B$ - složky magnetizace spinového systému A a B v rotující vztažné soustavě,
- M_0^A, M_0^B - rovnovážné hodnoty magnetizace stavu A a B , které mají ve spektru rezonanční kruhové frekvence ω_A, ω_B ,
- $T_{1A}, T_{1B}, T_{2A}, T_{2B}$ - podélné a příčné relaxační doby spinového systému A a B které nejsou ovlivněny chemickou výměnou,
- $k_{A \rightarrow B}, k_{B \rightarrow A}$ - rychlostní konstanty přechodu ze stavu A do B a naopak,
- $\Delta\omega_A = \omega_A - \omega_{rf}, \Delta\omega_B = \omega_B - \omega_{rf}$ jsou offsety frekvence čar A a B .

Soustava (2.31) je soustavou šesti navzájem svázaných lineárních diferenciálních rovnic prvního řádu, které popisují komplexní chování systému. Jak se později ukáže, je výhodné pro popis dynamického chování soustavy dvou spino-

vých systémů zavést do rovnic (2.31) podmínku, která se vztahuje ke konkrétním použitým experimentálním technikám a způsobí zjednodušení soustavy [11, 12]. V případě měření relaxačních dob T_1 , T_2 pomocí experimentů inversion recovery, resp. CPMG, tato podmínka umožňuje položit $\mathbf{B}_{rf} = \mathbf{0}$. Po dosazení ze soustavy vymizí poslední členy napravo v rovnicích (2.31c-f), které se váží k rf. poli. Soustavu rovnic lze nyní rozdělit na dvě části a každou z nich řešit zvlášť.

První část tvoří čtyři rovnice, které vzniknou z (2.31a-d) a popisují chování magnetizace v příčné rovině. Ovšem tyto rovnice jsou nevhodné pro určování rychlosti chemické výměny a relaxačního času T_2 , protože na tyto parametry má vliv jak pomalá, tak rychlá chemická výměna, a nebylo by možné tyto dva jevy dobře separovat. Proto se pro určení rychlé výměny vzhledem k relaxačním rychlostem budeme přidržovat postupu, který z těchto rovnic odvodili Luz a Meiboom [9], viz sekce 2.1.9 bod (iii). Odvození, které provedli, se zakládá na podmínce rychlé výměny a použití sekvence CPMG s proměnným echočasem.

Druhá část rovnic, která vznikne z (2.31e,f), popisuje vývoj magnetizace podél z-ové osy. Rovnice mají tvar:

$$\frac{d}{dt} M_z^A = -\frac{M_z^A - M_0^A}{T_{1A}} - k_{A \rightarrow B} M_z^A + k_{B \rightarrow A} M_z^B, \quad (2.32a)$$

$$\frac{d}{dt} M_z^B = -\frac{M_z^B - M_0^B}{T_{1B}} - k_{B \rightarrow A} M_z^B + k_{A \rightarrow B} M_z^A. \quad (2.32b)$$

Tyto rovnice jsou vhodné pro určování podélného relaxačního času T_1 a rychlosti chemické výměny srovnatelné s relaxačními časy, protože rychlá výměna vzhledem k relaxačním procesům se zde neprojevuje. Rovnice mají názornou stavbu, první člen na pravé straně se vztahuje k podélné relaxaci a zbylé dva k chemické výměně.

2.2 Fázová separace v polymerních roztocích

2.2.1 Fázový přechod kapalina-kapalina

Systém, který se skládá ze dvou částečně mísitelných kapalin (tj. kapalin, které nejsou mísitelné ve všech poměrech a při všech teplotách) může vykazovat jev zvaný *fázová separace* a být charakterizován *kritickou rozpouštěcí teplotou*.

Toto chování lze popsat následujícím způsobem. Mějme kapalinu A , do které budeme postupně přidávat kapalinu B a zvyšovat tak molární zlomek x_B v roztoku při teplotě T^* , viz obrázek 8 [13]. Po přidání malého množství kapaliny B (do x_{B1}) dojde k jejímu úplnému rozpuštění a roztok obsahuje jednu fázi. Při dalším zvýšení molárního zlomku kapaliny B (od x_{B1} do x_{B2}) již nedochází k jejímu rozpuštění v A a systém je složen ze dvou fází ve vzájemné rovnováze. Opětovným zvyšováním obsahu složky B (nad x_{B2}) dosáhneme toho, že se kapalina A začne rozpouštět v B a systém opět přejde do stavu s jednou fází.

Zda se systém nachází ve stavu s jednou či dvěma fázemi, lze též ovlivnit teplotou (viz obrázek 8). Rozlišujeme takto dva typy chování. První typ je charakterizován tzv. *horní kritickou rozpouštěcí teplotou* UCST (upper critical solution temperature) a platí, že zahřátí systému nad kritickou teplotu UCST způsobí dodatečný tepelný pohyb částic v roztoku a obě komponenty A a B jsou plně mísitelné pro libovolnou hodnotu molárního zlomku. Obdobnou, ale opačnou vlastnost má i druhý typ charakterizovaný tzv. *dolní kritickou rozpouštěcí teplotou* LCST (lower critical solution temperature). Tímto typem se budeme podrobněji zabývat níže.

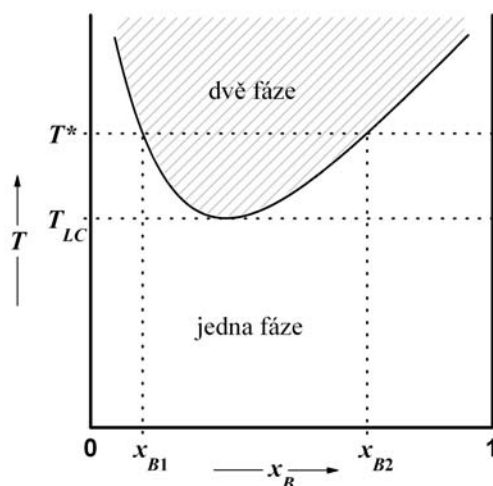
2.2.2 Dolní kritická rozpouštěcí teplota (LCST)

Takové systémy, které vykazují LCST (v grafu označujeme T_{LC}), jsou pod touto teplotou neomezeně mísitelné pro libovolnou hodnotu molárního zlomku x_B (viz. obrázek 8). Systém se zde nachází v jedné fázi. Nad teplotou T_{LC} již tvoří dvě fáze.

Pod teplotou T_{LC} jsou obě komponenty dobře mísitelné, protože tvoří komplexy stabilizované van der Waalsovými interakcemi (např. vodíkovými můstky). Vyšší teplota, nad T_{LC} , narušuje slabou vazbu mezi složkami A a B v komplexu, které jsou pak méně mísitelné a dochází k jejich separaci do dvou fází.

Roztoky některých polymerů ve vodě vykazují také jev dolní kritické rozpouštěcí teploty [např. 14, 15]; při nízkých teplotách je polymer v roztoku rozpustný, ale zahřátím systému nad kritickou teplotu LCST dochází k fázové separaci. Z mikroskopického hlediska se jedná o fázovou změnu konformace řetězců a lokální koncentrace polymerních segmentů (tzv. přechod klubko-globule) způsobenou rozrušením vodíkových můstků mezi polymerními skupinami a mo-

lekulami vody a převládajícími hydrofóbními interakcemi polymer-polymer. Klubko lze popsat jako volně rozpuštěný flexibilní polymerní řetězec v roztoku, kde převládají interakce polymer-rozpouštědlo. Globule je kompaktní hustá struktura s dominujícími interakcemi polymer–polymer. Globule má z důvodu vyloučeného objemu a omezené možnosti měnit konformace řetězce nižší entropii než klubko.



Obr. 8: T - x fázový diagram pro roztok, který vykazuje LCST.

2.2.3 Teorie přechodu klubko–globule

Pro popis přechodu klubko–globule jsou dva způsoby [16]. Jednodušší model využívající Floryho úvah [17, 18] a složitější model který odvodili Lifshitz a kol. [19].

Floryho typ popisu:

Na fázový přechod jednoho polymerního řetězce z klubka do globule budeme nahlížet jako na přechod ze stavu, kde jsou dominantní přitažlivé interakce mezi molekulami rozpouštědla a monomerními jednotkami, do stavu, kde převládají přitažlivé interakce mezi monomery navzájem [18, 20]. Pro jeden polymerní řetězec ve tvaru klubka můžeme napsat Gibbsovu volnou energii ve tvaru součtu dvou příspěvků:

$$G = G_{el}(\alpha) + G_{int}(\alpha), \quad (2.33)$$

kde α je koeficient botnání a vztahuje se k objemu, který řetězec zaujímá v rozpouštědle.

Koeficient botnání je skalární parametr, který popisuje uspořádání polymerního řetězce a platí pro něj $0 < \alpha \leq 1$, ovšem pro toto odvození lze koeficient α zobecnit i na hodnoty $\alpha > 1$.

První člen v Gibbsově volné energii G_{el} náleží změnám v elastické entropii řetězce v průběhu fázové separace a je složen ze dvou částí, kde jedna odpovídá entropii klubka (vystihuje lépe chování pro $\alpha > 1$) a druhá entropii globule (vystihuje chování pro $\alpha < 1$). Při podrobném zkoumání se ukáže, že je možné oba stavy považovat za gaussovská klubka. Pak pro G_{el} dostáváme:

$$G_{el}(\alpha) = \frac{3}{2}RT(\alpha^2 - \ln \alpha^2), \quad (2.34)$$

kde R je molární plynová konstanta a T absolutní teplota.

Druhý člen G_{int} v rovnici (2.33) popisuje interakce monomer–monomer a monomer–rozpouštědlo. Zahrnuje též popis dvoubodových (přitažlivých) a tříbodových (odpudivých) interakcí v polymeru pomocí viriálového rozvoje. Odpudivé interakce se výrazně uplatňují při $\alpha < 1$. Ptitsyn a kol. [18] v tomto kroku odvození zanedbali existenci vazeb mezi monomerními jednotkami a obdrželi vztah podobný van der Waalově rovnici pro reálný plyn:

$$G_{int}(\alpha) = -\frac{N^2 v z U}{2V} - NRT \ln \left(1 - \frac{Nv}{2V} \right), \quad (2.35)$$

kde N je počet statistických segmentů na řetězci, v je vyloučený objem od každého statistického segmentu, U je energetický přírůstek, kterým každý statistický segment přispívá díky interakci s molekulami rozpouštědla, z je koordinační číslo, které udává počet nejbližších sousedů daného segmentu, $V = \alpha^3 V_0$, kde V_0 je objem makromolekuly při Θ -teplotě (teplota fázového přechodu, kdy interakce segment–segment a segment–rozpouštědlo jsou stejně velké a řetězec má ještě nezměněné rozměry).

Nyní minimalizací Gibbsovy volné energie vzhledem k parametru α dostáváme rovnici (pro zjednodušení použijeme substituce q a ρ):

$$\alpha^5 - \alpha^3 = q + \rho \alpha^{-3}, \quad (2.36)$$

kde hodnoty q a ρ interpretujeme následovně: q popisuje kvalitu rozpouštědla, pro velmi dobré rozpouštědlo platí $q \gg 1$, pro špatné platí $q \ll -1$. Parametr ρ

($\rho > 0$) udává rigiditu polymerního řetězce, čím je řetězec rigidnější, tím je hodnota ρ větší a naopak.

Rozborem rovnice (2.36) dostaneme několik charakteristických vlastností fázového přechodu klubko–globule: koeficient botnání makromolekuly α je funkcí jak teploty tak kvality rozpouštědla; v termodynamické limitě může být přechod klubko–globule fázovým přechodem prvního i druhého druhu. Tato vlastnost se váže zejména k parametru ρ , pro malé hodnoty je řetězec více rigidní a přechod má charakter prvního druhu, pro velké hodnoty ρ se jedná o flexibilní řetězec a fázový přechod druhého druhu.

Lifshitzův přístup k popisu fázového přechodu:

Lifshitz a kol. [19] podrobným řešením nelineární operátorové rovnice Schrödingerova typu byli schopni odvodit řadu vlastností fázového přechodu klubko–globule. Zjistili, že hustota rozložení monomerních jednotek ve sféricky symetrické globuli závisí pouze na faktoru $[(T-\Theta)/\Theta]N^{1/2}$. Pro rigidní a semi-rigidní polymerní řetězce vykazovala Gibbsova volná energie dvě minima blízko fázového přechodu (při Θ -teplotě), což odpovídá fázovému přechodu prvního druhu. Ukázali také, že při teplotě fázového přechodu má teplotní derivace Gibbsovy energie skok úměrný $N^{1/2}$. Tento skok odpovídá latentnímu teplu, které je spojené s typem přechodu prvního druhu. Pro flexibilní řetězce je fázový přechod pozvolný a vypadá obdobně jako přechod druhého druhu.

Výsledky z obou předchozích přístupů vedou ke stejným závěrům ohledně chování při fázovém přechodu klubko–globule v polymerních roztocích.

2.2.4 Kolaps polymerní sítě

Jev fázové separace v polymerních roztocích má analogii v tzv. *kolapsu* hydrogelů, během kterého polymerní sítě přecházejí z nabotnalého stavu do stavu zkolabovaného. Tento jev je znám jako fázový přechod prvního druhu a byl experimentálně nalezen v ionizovaných polyakrylamidových hydrogelech ve směsném rozpouštědle voda–aceton zhruba před 20 lety [21]. Během kolapsu dochází k fázové změně konformace řetězců a koncentrace polymerních segmentů (přechod klubko-globule) a polymerní sítě přecházejí z nabotnalého stavu do stavu zkolabovaného při určitém kritickém složení směsného rozpouštědla. Teoretické a experimentální studie [22 – 24] ukázaly, že přítomnost nábojů na ře-

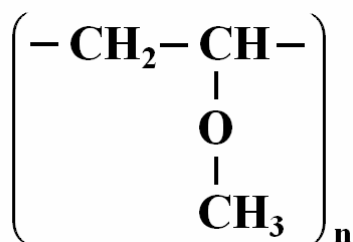
tězci má významný vliv na výskyt a rozsah fázového přechodu. Bylo také nalezeno několik systémů, které procházely kolapsem při změně teploty v samotné vodě [25]. Tento teplotní fázový přechod je typický pro polymery s nižší kritickou rozpouštěcí teplotou. Poprvé byl teplotní kolaps pozorován u poly(N, N-diethylakrylamidových) sítí (PDeAAm) [26].

Hydrogely připravené na bázi polymerů vykazujících LCST skokově mění svůj objem při malé změně teploty a tato schopnost vedla k rozvoji „inteligentních“ hydrogelů pro řízené uvolňování léků, robotiku [27] a jiné aplikace [19 a 28].

3 Současný stav problematiky

3.1 Charakteristika polyvinylmethyletheru (PVME)

Polyvinylmethylether (PVME), viz obrázek 9, je ve vodě rozpustný polymer, který patří do skupiny látek vykazující fázovou separaci a je charakterizován svou LCST, jejíž hodnota je 309 K (34°C). Na molekulární úrovni je fázová separace v PVME dána soupeřením dvou efektů: *vodíkových vazeb* (hydrofilních interakcí), které udržují polymer ve stavu klubka, a *hydrofobních interakcí*, které nutí polymerní řetězce sbalit se do globule a vedou k fázové separaci [29, 30].



Obr. 9: Strukturální vzorec polyvinylmethyletheru (PVME)

Vodíkové můstky, které stabilizují roztok, vznikají mezi etherickým kyslíkem a několika okolními molekulami vody. Etherický kyslík působí jako elektronový akceptor a je schopen vytvořit vazbu s vodíkem okolní vody. Hydrofobní interakce, působící jako destabilizátor roztoku, mají původ především v interakci mezi methylovou skupinou a okolní vodou. Methylová skupina mění ve svém okolí normální strukturu vody na vodní klastry, tzv. „iceberg” strukturu [29].

Obecně platí, že tvorba a stabilita vodíkových můstků je značně závislá na teplotě. V případě lineárního PVME není fázový přechod skokový, ale pozvolnější v rozmezí několika K. Kolem kritické teploty 309 K začínají zanikat vodíkové můstky a s rostoucí teplotou převládají hydrofobní interakce a postupně dojde k fázové separaci.

3.2 Vlastnosti PVME

Na roztoku lineárního PVME ve vodě a ve směsných rozpouštědlech již bylo provedeno několik studií [např. 29 – 34], které objasňují řadu vlastností tohoto systému. Ke studiu byly použity různé experimentální metody jako DSC, NMR, blízká infračervená spektroskopie (*nir*), viskozimetrie, měření dielektrických vlastností a měření turbidity. V následujícím textu jsou uvedeny nejdůležitější výsledky těchto prací.

Maeda [29, 31] provedl dielektrická měření, dále měření metodami DSC, *nir* a viskozimetrie. Z těchto experimentů vyplývají následující závěry, které se vzájemně doplňují. Maeda použil lineární PVME ve vodním roztoku v oboru koncentrací od 5 váh.% do 80 váh.% PVME a měření prováděl v teplotním rozsahu od -150°C do 43°C. Zaměřil se na určení počtu molekul vody, které jsou vázané na monomerní jednotku, bod tání, zásadní změny ve viskozitě a další aspekty, které již přímo nesouvisí s fázovým separací v roztoku PVME/H₂O.

Výsledky, které obdržel, popisují kvalitativně stejné chování ve třech intervalech koncentrací PVME:

- (i) 0 – 39 váh.% PVME ve vodě
 - 2,7 molekul vody na jednu monomerní jednotku je vázáno v komplexu polymer–voda. Tato vazba je zprostředkována vodíkovými můstky mezi éterickým kyslíkem a vodou.
 - 2,3 molekul vody na jednu monomerní jednotku je obsaženo v klastrech kolem methylových skupin – „iceberg” struktura.
 - Ostatní voda je volná a chová se jako „plasticizer”, zvyšuje pohyblivost polymerního klubka, důsledkem čehož má roztok nízkou viskozitu.
 - Z dielektrických měření bylo zjištěno, že roztok má bod tání při 0°C, což odpovídá obsahu volné vody.
- (ii) 39 – 54 váh.% PVME ve vodě
 - 2,7 molekul vody na jednu monomerní jednotku je opět navázáno v komplexu polymer-voda.
 - Ostatní voda je v klastrech kolem metylových skupin.
 - Dochází k zásadnímu nárůstu viskozity, protože zde již není žádný „plasticizer”, jsou komplexy polymer-voda ve vzájemném kontaktu.

- Dielektrická měření ukazují, že se bod tání posouvá z 0°C až k -14°C. Tento jev dokládá, že se v systému již nachází pouze voda, která je v přímém kontaktu s polymerem. Veškerá voda má tedy změněné vlastnosti.
- (iii) 54 váh.% a víc PVME ve vodě
- Veškerá voda je vázána v komplexech polymer-voda.
 - DSC měření ukazuje, že roztok nemá bod tání.
 - V tomto koncentračním intervalu dochází k drastickému nárůstu viskozity, který je způsobem vzájemným kontaktem polymerních řetězců.

Horne a kol. [33] se zabývali měřením turbidity na vzorcích PVME ve smíšeném rozpouštědle vody a různých typů alkoholů. Určovali hodnotu *teploty zakalení (cloud point)* v závislosti na typu a koncentraci alkoholu ve vzorku (v rozmezí od 0% do 100% alkoholu ve smíšeném rozpouštědle). Při teplotě zakalení dochází k fázové separaci, která se projevuje tvorbami globulí, tedy heterogenit, v roztoku. Tyto heterogenity jsou pak zdrojem rozptylu světla. Vzorek již není transparentní, ale stává se neprůhledným.

Z výsledků, které Horne a kol. obdrželi, lze obecně říci, že nízkomolekulární alkoholy (methanol, ethanol) stabilizují vodíkové vazby mezi polymerem a vodou a posouvají teplotu zakalení k vyšším hodnotám. K fázové separaci dochází při teplotě až o 5°C vyšší ve srovnání s vodními roztoky. Vysokomolekulární alkoholy naopak posouvají teplotu zakalení k nižším hodnotám a to velice výrazně. Např. pro alkohol nC_4H_9OH až o 14°C.

Hanyková a kol. [34] a Spěváček a kol. [35] studovali pomocí 1H NMR změny dynamického chování roztoků a gelů PVME v D_2O během teplotou indukovaného fázového přechodu. Provedli měření pro široký obor polymerních koncentrací PVME/ D_2O , od 0,1 váh.% do 30 váh.%, a pro různou síťovou hustotu v gelu. Prokázali podobné chování obou systémů, ve kterých při fázovém přechodu vznikaly globulární struktury. Určili též, jak velká část segmentů se nachází po fázovém přechodu v globulární struktuře. V roztocích lineárního PVME obsahovaly globule asi 85% přítomného polymeru. V gelech byl obsah polymeru

v kolabované struktuře kolem 100%. Tyto hodnoty nebyly závislé na koncentraci roztoku ani hustotě zesíťování.

Dále byl studován tvar a šířka fázového přechodu pomocí teplotních závislostí integrálních intenzit pásů PVME v ^1H spektru. Bylo zjištěno, že fázový přechod v roztoku s nízkou koncentrací PVME má strmější tvar, se šířkou přechodu asi 2 K, než koncentrované roztoky a gely se šířkou přechodu asi 6 K.

Další experimenty se zaměřují na určení příčné relaxační doby T_2 polymerních pásů a ukazují, že v roztoku PVME/D₂O vede fázová separace ke snížení pohyblivosti většiny molekul PVME, což odpovídá vytvoření kompaktních globulárních struktur. Zbylé nízkomolekulární frakce PVME, které neprochází fázovou separací, mají nezměněnou pohyblivost. Měření relaxační doby T_2 metylenových protonů v PVME nad LCST ukazují, že globulární struktury jsou ve zředěných roztocích více rigidní než v koncentrovaných roztocích, kde globule obsahují velké množství vody. Tento fakt dokládá měření na polymerních pásech před (při teplotě 298 a 305 K) a po (309,5 K) fázové separaci. Před fázovou separací má průběh relaxace všech protonů v PVME dvouexponenciální charakter (s relaxačními časy 20-40 ms a 120-370 ms). Po fázové separaci je relaxace tříexponenciální, přibývá ještě velice krátká komponenta relaxační doby (v rozmezí od 0,30-0,85 ms), která odpovídá fázově separovaným segmentům v PVME a její hodnota klesá s klesající polymerní koncentrací. Tyto výsledky odpovídají kompaktnějším globulím pro nižší koncentrace, protože v kompaktnější globuli dochází k silnějším interakcím mezi segmenty polymeru. Velký obsah vody v globulích, pro vyšší polymerní koncentrace, dokládají další ^1H NMR relaxační experimenty na zbytkové vodě HDO. Měření provedená nad LCST, v různých časových okamžicích (ihned po fázové separaci a s časovým odstupem), ukázaly, že voda z globulárních struktur uniká a globule přechází z původně „houbovitě“ struktury na hustší kompaktnější strukturu.

4 Cíle diplomové práce

Hlavní cíle práce lze rozdělit do několika částí:

- (i) Studium vzorků polyvinylmethyletheru (PVME) ve směsném rozpouštědle voda/ethanol ($D_2O/EtOH$) připravených v širokém oboru koncentrací PVME i směsného rozpouštědla. Porovnání těchto nových systémů s pracemi provedenými na roztocích PVME/ D_2O a PVME/ H_2O .
- (ii) Studium vlivu polymerní a ethanolové koncentrace na tvar a rozsah fázového přechodu klubko–globule. Vliv těchto koncentrací na změnu hodnoty LCST polymeru.
- (iii) Studium dynamiky rozpouštědla, především ethanolu, během fázové separace. Určení rychlosti a mechanismu chemické výměny přítomné v systémech.
- (iv) Zvládnutí experimentálních technik potřebných k měření 1H a ^{13}C spekter, 1H a ^{13}C relaxačních experimentů a chemické výměny.

5 Experimentální část

5.1 Vzorky

Měření probíhala na lineárním polyvinylmethyletheru (PVME), který byl zakoupen od fy. Aldrich a dodaný jako 50 váh.% roztok ve vodě. Molekulární hmotnost byla určena metodou GPC v THF: $M_w = 60500$, $M_w/M_n \cong 3$. Takto dodaný vzorek byl vysušen pro přípravu roztoku PVME ve směsném rozpouštědle $D_2O/EtOH$ (D_2O s obsahem 99,9% deuterionů). Připravena byla série vzorků s různou váhovou koncentrací PVME v roztoku (označovanou c) a různým složením směsného rozpouštědla, daného objemovou koncentrací lihu (označovanou c_{EtOH}). Dále byl pro porovnání relaxačních dob připraven roztok směsného rozpouštědla $D_2O/EtOH$ o ethanolové koncentraci $c_{EtOH} = 10$ obj.%. Seznam všech připravených vzorků je v uveden v tabulce 1. Všechny vzorky byly připraveny do 5 mm NMR kyvet, pak odplyněny a zataveny pod argonem.

c [váh.%]	0,1	0,1	0,1	0,1	1	1	1	1	6	6	6	6	20	20	20	20	0
c_{EtOH} [obj.%]	1	5	10	20	1	5	10	20	1	5	10	20	1	5	10	20	10

Tabulka 1: Seznam všech připravených vzorků, kde c je váhová koncentrace PVME v roztoku a c_{EtOH} je objemová koncentrace ethanolu ve směsném rozpouštědle $D_2O/EtOH$.

5.2 Experimentální vybavení

Pro získání 1H a ^{13}C spekter byl použit spektrometr Avance 500, od firmy Bruker, jehož pracovní frekvence je 500,132 MHz pro jádra 1H a 125,765 MHz pro jádra ^{13}C . K ozařování a detekci signálu byla použita sonda TBO, která umožňuje současně ozařovat 1H i ^{13}C jádra. K regulaci teploty jsme použili teplotní jednotku BVT 3000. Stabilita v nastavení teploty byla $\pm 0,1$ K. Teplota byla

kalibrována pomocí ethylenglykolového standardu. Celková přesnost nastavené teploty je $\pm 0,2$ K. Vzorek byl před každým měřením temperován při dané teplotě nejméně 15 minut.

Integrální intenzity byly určovány pomocí speciálního software, který je dodávám k přístrojovému vybavení, s chybou ± 1 %.

5.3 Analýza NMR spektra: p -faktor

Pro charakterizaci průběhu fázového přechodu je nutné z ^1H spektra určit integrální intenzitu příslušných pásů PVME. Z takto získaných intenzit pak vypočteme bezrozměrný faktor p , který popisuje polohu, tvar a šířku fázového přechodu v závislosti na teplotě. Odvození p -faktoru provedeme následujícím postupem. Z řešení Blochových rovnic lze získat tvar absorpčního signálu:

$$v(\omega) = \frac{\omega_0 \chi_0 B_{rf} T_2}{1 + T_2^2 (\omega_0 - \omega)^2 + \gamma^2 B_{rf}^2 T_1 T_2}, \quad (5.1)$$

kde ω_0 je Larmorova frekvence příslušného jádra, B_{rf} je amplituda rf. pole, T_1 a T_2 jsou relaxační časy, γ je gyromagnetický poměr a χ_0 je jaderná susceptibilita a platí pro ni:

$$\chi_0 = \frac{N \mu^2}{3kT}, \quad (5.2)$$

kde $N(T)$ je počet jader v jednotkovém objemu (závisí na absolutní teplotě), μ je magnetický dipólový moment jádra, k je Boltzmannova konstanta a T je absolutní teplota. Integrální intenzitu pásu můžeme vyjádřit integrací rovnice (5.1), viz [36, 37]:

$$I = \frac{KN(T)}{T \sqrt{1 + \gamma^2 B_{rf}^2 T_1 T_2}}, \quad (5.3)$$

kde K je konstanta. Faktor sycení, který je dán rovnicí (5.4), můžeme v případě pulsního spektrometru pokládat roven jedné.

$$\sigma = 1 + \gamma^2 B_{rf}^2 T_1 T_2 \approx 1 \quad (5.4)$$

Časová prodleva mezi jednotlivými snímanými spektry musí být $\geq 5T_1$ pro potlačení relaxačních efektů ve spektru. Teplotní závislost integrální intenzity má pak následující tvar:

$$I_0 = \frac{KN_0(T)}{T}. \quad (5.5)$$

Během fázové separace se systém skládá ze dvou složek: fázově separovaného polymeru a volně rozpuštěného polymeru. V polymerním roztoku se tedy vyskytují fázově separované jednotky, jejichž počet je N_S , a zatím neseparované polymerní jednotky, jejichž počet je N_N . Podíl separovaných jednotek v systému můžeme určit z teplotní závislosti integrovaných intenzit jako:

$$p(T) = 1 - \frac{I(T)}{I_0(T)}, \quad (5.6)$$

kde $I_0(T)$ je integrální intenzita polymerního pásu při teplotě, kdy je neseparovaný polymer volně rozpuštěn v roztoku (homogenní systém). $I(T)$ je integrální intenzita příslušného pásu pro systém, který už je částečně nebo úplně fázově separován. p -faktor tedy udává podíl separované fáze polymeru v systému.

5.4 Nastavení experimentů

V této sekci je detailní popis parametrů, s jakými byla spektra snímána. Obecně lze uvést, že délka ^1H $\pi/2$ pulsu se pohybovala v rozmezí 11,6–14,4 μs a délka ^{13}C $\pi/2$ pulsu se pohybovala v rozmezí 6,9–7,3 μs . Další parametry vztahující se k jednotlivým typům měření jsou uvedeny níže.

5.4.1 Měření ^1H NMR spekter

- šířka spektra: 5,0 kHz
- velikost: 16380 datových bodů
- počet scanů (průchodů): 4 až 16
- doba akvizice: 1,63805 s
- doba před každým scanem (DI): 10 s

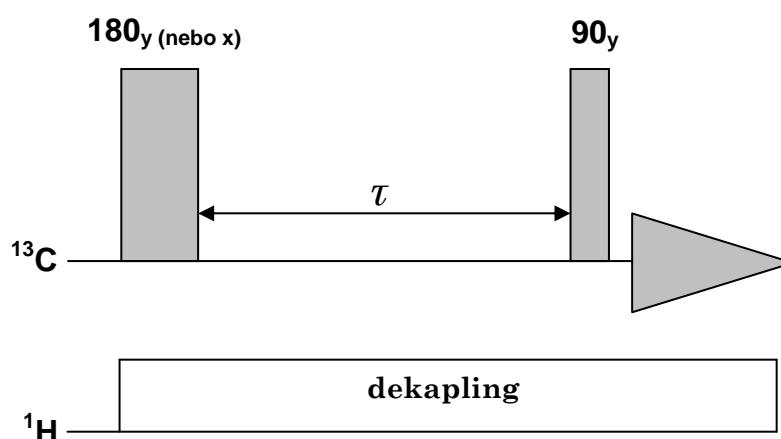
5.4.2 Měření ^{13}C NMR spekter

- spektra byla ^1H -dekaplována sekvencí waltz-16
- šířka spektra: 12,53 kHz
- velikost: 32768 datových bodů
- počet scanů (průchodů): 4 až 16
- doba akvizice: 1,30749 s

- doba před každým scanem (DI): 10 s

5.4.3 Měření podélné relaxační doby T_1

Pro charakterizaci dynamického chování syntetických polymerů často užíváme kromě ^1H relaxace také měření ^{13}C relaxace. Základní princip měření podélné relaxační doby T_1 je uveden v sekci 2.1.5. Obrázek 10 schématicky znázorňuje sekvenci inversion recovery pro měření uhlíkové relaxace.



Obr. 10: Sekvence inversion recovery použitá pro měření ^{13}C relaxační doby T_1 .

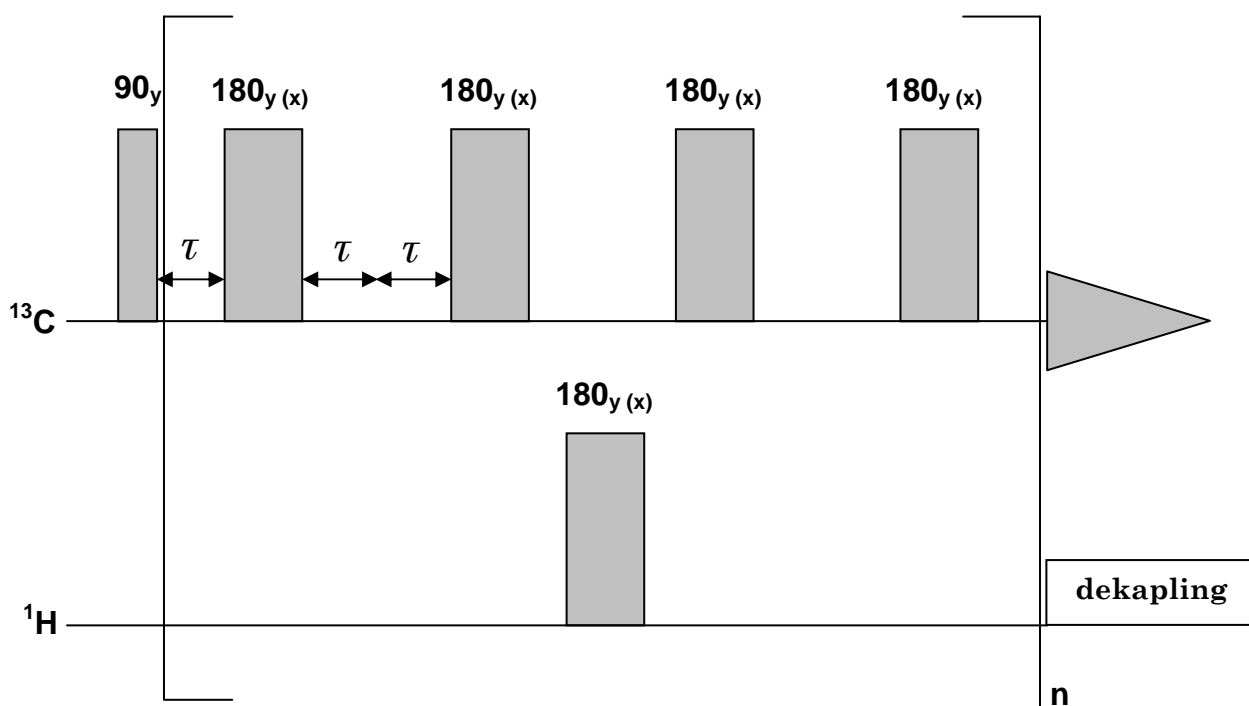
V této sekvenci se používá kontinuální dekapling na protonovém kanálu, který zajišťuje odstranění multiplétní struktury z uhlíkového spektra. Tato struktura vzniká nepřímou spin-spinovou interakcí (tzv. J-vazbou), kterou zprostředkovávají elektrony na vazbě mezi vodíkem a uhlíkem.

Detailní parametry sekvence:

- spektra byla ^1H -dekaplována sekvencí waltz-16
- šířka spektra: 12,53 kHz
- velikost: 65536 datových bodů
- počet scanů (průchodů): 4 nebo 8
- doba akvizice: 2,61494 s
- doba před každým scanem (DI): 80 s

5.4.4 Měření příčné relaxační doby T_2

K měření příčné relaxační doby užíváme vylepšenou sekvenci CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill). Základní princip je uveden v sekci 2.1.6. Jedná se o mnohonásobné spinové echo s konstantním echočasem a proměnným počtem cyklů n , viz obrázek 11. V této sekvenci je navíc pomocí vhodného fázového cyklu pulsů na uhlíkovém kanálu dosažena vzájemná kompenzace chyb způsobených nepřesnou délkou pulsů. Na protonovém kanálu působíme na systém 180° pulsem, který zajišťuje efektivní dekapling a tím odstraňuje z uhlíkového spektra multipletní strukturu. V případě, že měříme ^1H příčnou relaxační dobu, tak spektrum nedekaplujeme a na protonovém kanálu působíme stejnou sérií pulsů jako v předchozím případě na ^{13}C kanálu.



Obr. 11: Sekvence CPMG použitá pro měření ^{13}C relaxační doby T_2 .

Detailní parametry sekvence pro ^{13}C relaxaci:

- spektra byla ^1H -dekaplována sekvencí waltz-16
- šířka spektra: 12,53 kHz
- velikost: 65536 datových bodů

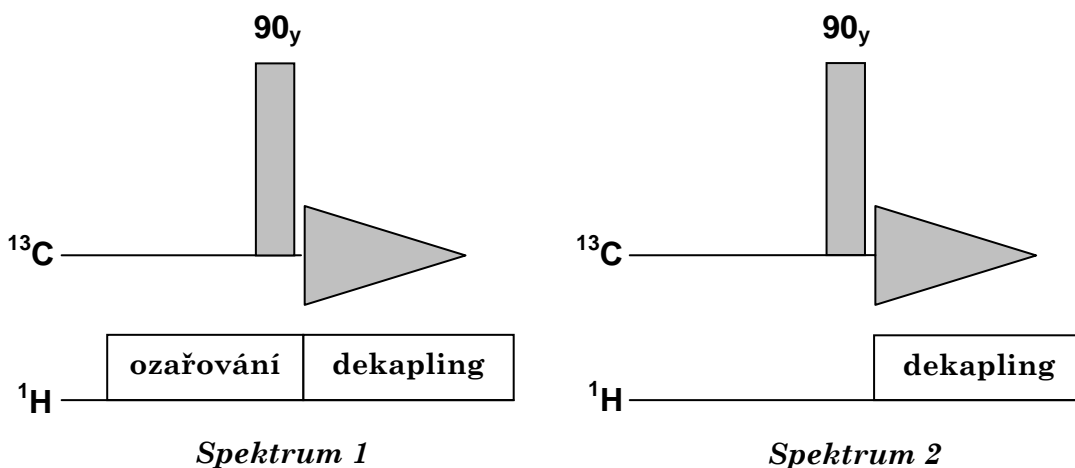
- počet scanů (průchodů): 4 nebo 8
- doba akvizice: 2,61494 s
- délka poloviny echočasu (D20): 0,0005 s
- doba před každým scanem (D1): 80 s

Detailní parametry sekvence pro ^1H relaxace:

- šířka spektra: 10,0 kHz
- velikost: 32768 datových bodů
- počet scanů (průchodů): 20
- doba akvizice: 1,63845 s
- doba před každým scanem (D1): 80 s

5.4.5 Měření heteronukleárního NOE

K měření heteronukleárního stacionárního NOE mezi ^{13}C a ^1H používáme sekvenci znázorněnou na obrázku 12. Během doby, kdy je selektivně ozařován ^1H dochází vlivem NOE k přenosu magnetizace na ^{13}C , jehož signál následně detekujeme. Dále je měřen signál ^{13}C bez předchozího ozařování ^1H . NOE se získá jako podíl intenzit příslušných pásů ze spektra 1 a spektra 2 (viz obrázek 12).



Obr. 12: Sekvence použitá k měření heteronukleárního NOE.

Detailní parametry sekvence:

- spektra byla ^1H -dekaplována sekvencí waltz-16

- šířka spektra: 12,53 kHz
- velikost: 133120 datových bodů
- počet scanů (průchodů): 8
- doba akvizice: 5,31154 s
- doba před každým scanem ($D1$): 80 s

5.4.6 Měření chemické výměny

Pro měření chemické výměny, jejíž rychlost je srovnatelná s relaxačními rychlostmi, je možné použít experiment pro měření relaxačních dob T_1 (viz 5.4.3) a rychlost chemické výměny určit fitací z experimentálních dat.

Měření rychlé chemické výměny vzhledem k rychlostem relaxace je nutné použít experimentu CPMG s proměnným echočasem, viz sekce 2.1.9 bod (iii). Sekvence použitá pro tento případ je stejná jako na obrázku 11, pouze echočas 2τ není konstantní parametr. Délku echočasu měníme a pro každou hodnotu určíme relaxační dobu T_2 . Ze získané závislosti, pak fitací do rovnice (2.29) určíme rychlost chemické výměny.

Detailní parametry sekvence:

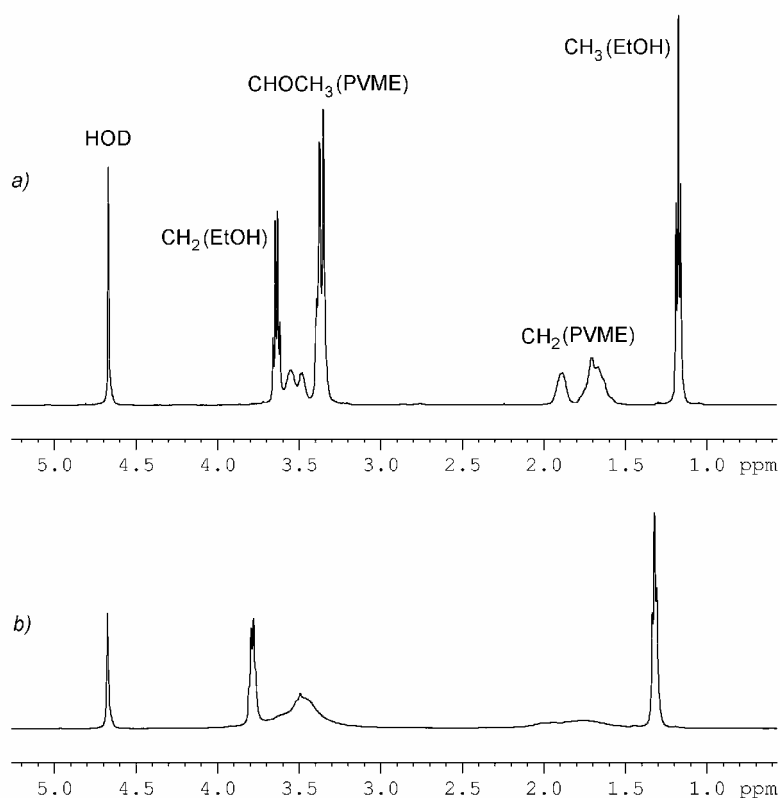
- spektra byla ^1H -dekaplována sekvencí waltz-16
- hodnoty nastavovaných echočasů ($D20$) [ms]: 0,1; 0,2; 0,3; 0,5; 0,75; 1; 2; 3; 4; 5
- šířka spektra: 12,53 kHz
- velikost: 65536 datových bodů
- počet scanů (průchodů): 8
- doba akvizice: 2,61494 s
- doba před každým scanem ($D1$): 80 s

6 Výsledky a diskuse

6.1 Měření ^1H spekter a relaxací

6.1.1 ^1H spektrum PVME

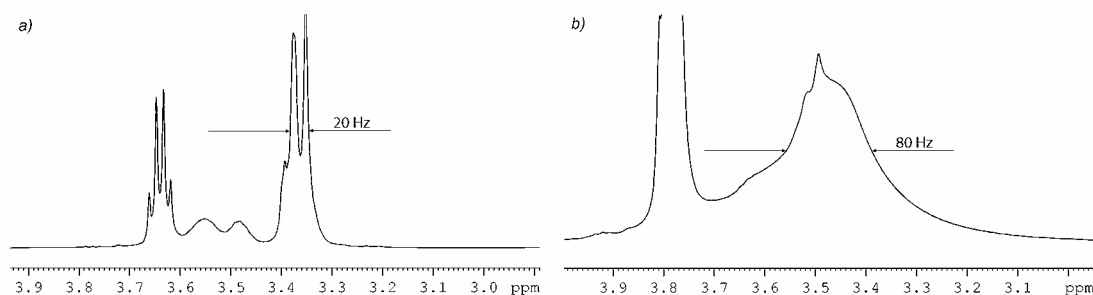
^1H spektrum roztoku PVME/ D_2O /EtOH při teplotě 310 K obsahuje několik signálů od PVME, dva signály od ethanolu a jeden signál od zbytkové HOD. Přiřazení jednotlivých signálů je uvedeno v obrázku 13a.



Obr. 13: Spektrum roztoku PVME/ D_2O /EtOH pro polymerní koncentraci $c = 6$ váh. % a koncentraci směsného rozpouštědla $c_{\text{EtOH}} = 5$ obj.%. (a) Spektrum při teplotě 310 K s přiřazením jednotlivých čar. (b) Spektrum při teplotě 325 K.

Signál od polymerní skupiny CHOCH_3 při teplotě 310 K (viz obr. 13a), kde lze rozlišit signály od skupin CH (3,5 ppm) a CH_3 (3,35 ppm), zpracováváme jako celek, protože během teplotních měření již nelze tyto signály při vyšší teplotě od sebe oddělit. Na obrázku 13 můžeme vidět, že se změnou teploty dochází ke změně polohy všech čar kromě čáry vody. Tento jev ve spektru nemá žádný fyzikální význam a je způsoben pouze nastavením vody jako standardu, vůči kterému jsou vztaženy chemické posuny ostatních čar (voda má ve všech spektrech stále stejný chemický posuv). Signály od polymerních skupin CH (3,5 ppm), CH_3 (3,35 ppm) a CH_2 (1,8 ppm) mají tvar multipletu, tento efekt je způsoben takticitou [38].

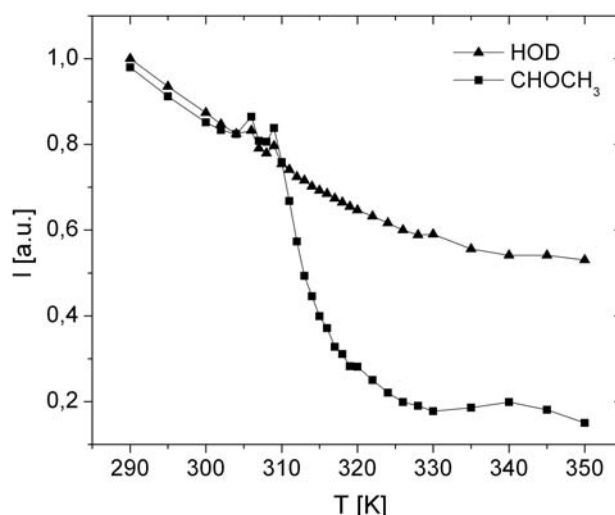
Obrázek 13a zachycuje spektrum při teplotě 310 K, před fázovou separací PVME. Na obrázku 13b je znázorněno spektrum při teplotě 325 K, po fázové separaci PVME. U všech čar je při vyšší teplotě patrný úbytek intenzity, který odpovídá teplotnímu poklesu danému rovnicí (5.5). Ovšem v případě pásů PVME dochází k výraznějšímu poklesu intenzity a rozšíření čar způsobeného tvorbou globulárních struktur v roztoku. Na obrázku 14b je v detailu vidět rozšíření polymerního pásu CHOCH_3 při teplotě 325 K. Jsou zde patrné dvě složky tohoto pásu, jedna složka patří fázově separovaným jednotkám v globulární struktuře, které jsou omezeny v pohyblivosti (šířka pásu se pohybuje kolem 80 Hz), a druhá složka odpovídá volně rozpuštěnému PVME (klubko), který není omezen v pohyblivosti (šířka pásu je kolem 20 Hz). Na obrázku 14a je pro porovnání detail příslušného pásu při teplotě 310 K, kdy se ve spektru objevuje jen složka odpovídající PVME ve formě klubka.



Obr. 14: Detail pásu skupiny CHOCH_3 ze spektra PVME/ D_2O /EtOH při $c = 6$ váh.% a $c_{\text{EtOH}} = 5$ obj.%. (a) Spektrum, při teplotě 310 K, odpovídající volně rozpuštěnému polymeru ve formě klubka – obsahuje pouze úzkou komponentu (b) Spektrum, při teplotě 325 K, odpovídající stavu po fázové separaci – obsahuje úzkou i širokou komponentu náležící globulárním strukturám.

6.1.2 Teplotní závislost integrálních intenzit a p -faktoru

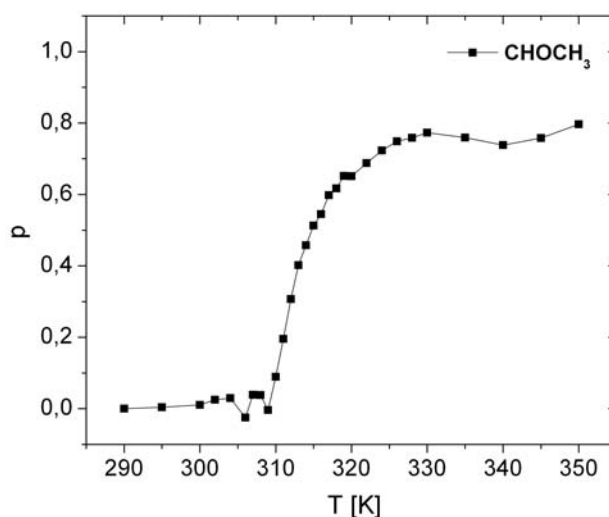
Pro charakterizaci fázové separace a určení hodnoty LCST pro konkrétní polymerní a ethanolovou koncentraci vynášíme do grafu teplotní závislost integrálních intenzit příslušných polymerních pásů. V grafu 1 jsou vyneseny integrální intenzity zbytkové HOD a polymerní skupiny CHOCH_3 pro vzorek s koncentracemi $c = 0,1$ váh.% a $c_{\text{EtOH}} = 1$ obj.%. Můžeme vidět, že křivka integrálních intenzit HOD s teplotou klesá jako $1/T$, což odpovídá jednosložkovému systému (viz rovnice 5.5), tzn. že fázová separace PVME neovlivňuje teplotní průběh integrálních intenzit vody. Křivka pro polymerní pás CHOCH_3 , při teplotě 310 K začíná klesat strměji. Tento pokles, který není způsoben jen teplotním efektem, připisujeme fázové separaci PVME. Pro zachycení průběhu fázové separace je vhodné určovat integrální intenzity polymerního pásu CHOCH_3 , protože polymerní pás CH_2 se při vyšších teplotách značně rozšiřuje a je obtížné určit integrační meze. Provedli jsme pro vybrané vzorky přibližné srovnání teplotních závislostí integrálních intenzit pásů CHOCH_3 a CH_2 a chování skupin v hlavním a vedlejším řetězci lze považovat za totožné. To odpovídá výsledkům získaným na roztocích PVME ve vodě [34]. Pro další analýzu proto dále budeme zpracovávat signál skupiny CHOCH_3 .



Graf 1: Teplotní závislost integrálních intenzit pásů HOD a CHOCH_3 pro vzorek o polymerní koncentraci $c = 0,1$ váh.% a ethanolové koncentraci $c_{\text{EtOH}} = 1$ obj.%.

Jednotkou integrální intenzity je a.u. (arbitrary units), což je jednotka úměrná magnetizaci spinového systému. Tato jednotka se zavádí, protože nejsme schopni měřit absolutní velikost magnetizace. Protože jsou integrální intenzity relativní jednotky, jsou v grafu 1 obě křivky normovány tak, aby byly vzájemně porovnatelné.

Úbytek integrální intenzity vlivem teploty popsáný rovnicí (5.5) je nutné pro charakterizaci fázové separace odstranit. Dále je nutné zavést bezrozměrný faktor, který bude nezávisle na koncentraci PVME v roztoku a koncentraci směsného rozpouštědla charakterizovat fázový přechod tak, aby bylo možné jeho porovnání mezi jednotlivými vzorky. Tuto vlastnost splňuje p -faktor daný rovnicí (5.6). Pro vzorek, jehož integrální intenzity jsou v grafu 1, je teplotní průběh p -faktoru pro polymerní pás CHOCH_3 vyneseno v grafu 2.



Graf 2: Teplotní závislost p -faktoru polymerního pásu CHOCH_3 pro vzorek o polymerní koncentraci $c = 0,1$ váh.% a ethanolové koncentraci $c_{\text{EtOH}} = 1$ obj.%.

Graf 2, resp. teplotní závislost p -faktoru, poskytuje celou řadu informací o průběhu fázové separace. Udává, při jaké teplotě začíná k separaci docházet. Znázorňuje teplotní interval, ve kterém dochází k nejprudšímu nárůstu separované frakce PVME v roztoku (tento interval budeme nazývat šířkou fázového přechodu). Maximální hodnota p -faktoru při vysoké teplotě (označovaná p_∞) popisuje, jak velké procento PVME v roztoku se fázově separuje. Pro graf 2 může-

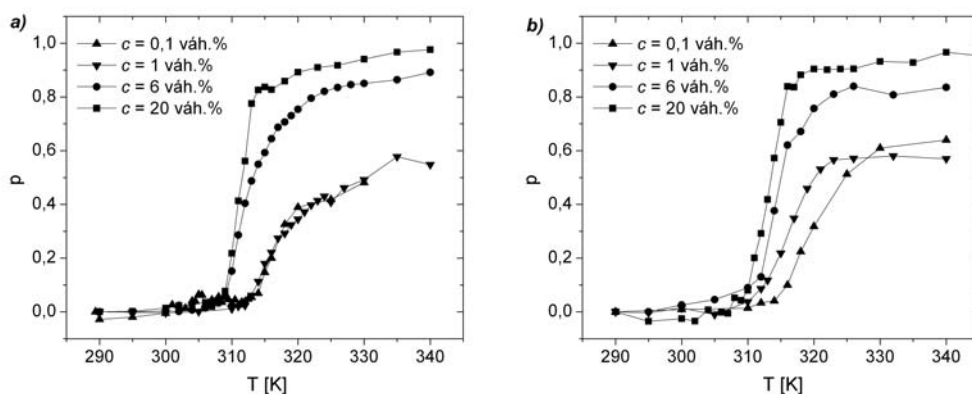
me říci, že k fázové separaci začíná docházet při teplotě 310 K, interval nejprudšího nárůstu separované frakce PVME je od 310 K do 328 K a hodnota $p_{\infty} = 0,8$, což znamená, že 80% PVME v roztoku je fázově separováno a tvoří globulární struktury. Zbytek PVME je stále volně rozpuštěný ve formě klubka a není omezen v pohyblivosti, jedná se zejména o frakce s nižší molekulární hmotností [34].

Chyba v určení p -faktoru ve všech uvedených grafech je maximálně $\pm 0,05$ a je způsobena především nepřesností v určení integračních mezí při stanovení integračních intenzit ze spekter.

6.1.3 Vliv polymerní koncentrace na fázovou separaci

V této podkapitole je popsán vliv koncentrace PVME v roztoku (při konstantní ethanolové koncentraci) na tvar fázového přechodu.

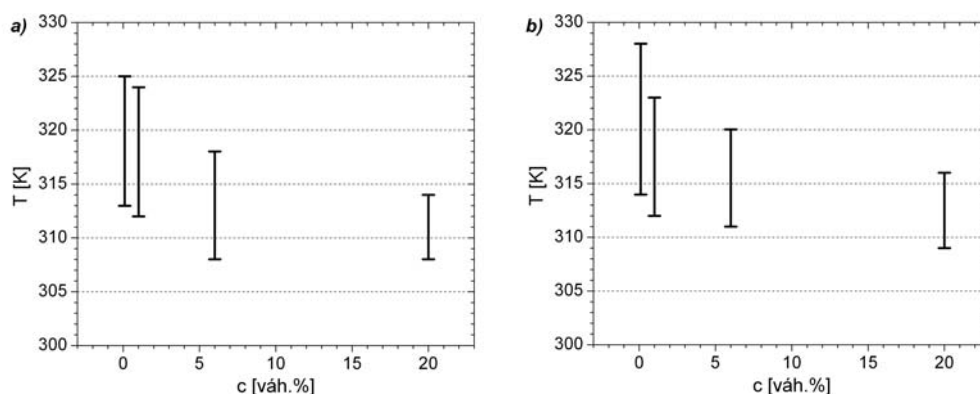
V grafu 3 jsou vyneseny teplotní závislosti p -faktoru pro dvě ethanolové koncentrace $c_{EtOH} = 5$ obj.% a $c_{EtOH} = 10$ obj.%.



Graf 3: Vliv polymerní koncentrace. Teplotní závislost p -faktoru polymerního pásu CHOCH_3 pro dvě ethanolové koncentrace. (a) Vzorky s ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 5$ obj.%. (b) Vzorky s ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.%.

Můžeme obecně konstatovat, že s rostoucí polymerní koncentrací začíná docházet k fázové separaci PVME při nižších teplotách, což odpovídá představě o tom, že polymerní řetězce jsou v těsnějším kontaktu a dříve (při nižší teplotě) začínají převládat hydrofobní interakce polymer–polymer. Dále je patrné, že s rostoucí polymerní koncentrací má fázový přechod strmější charakter. Tato skutečnost opět dokládá větší kontakt mezi řetězci a jejich kooperativní chování

při fázové separaci. Posledním jevem, ke kterému s rostoucí koncentrací PVME dochází, je zvyšování hodnoty p_{∞} . Při nižších koncentracích PVME, za přítomnosti ethanolu v roztoku, obecně nedochází k fázové separaci veškerého PVME. Ethanol ve vzorku stabilizuje polymer ve formě klubka a zabraňuje fázové separaci PVME [33]. Tato vlastnost PVME byla diskutována v sekci 3.2. Chování, které vykazují vzorky v grafu 3, bylo pozorováno i pro ethanolové koncentrace $c_{EtOH} = 1$ obj.% a $c_{EtOH} = 20$ obj.%. Výše zmíněné závěry o teplotě, při které se polymer začíná fázově separovat, a šířce fázového přechodu lze shrnout do přehledných grafů 4a a 4b, které popořadě odpovídají grafům 3a a 3b.



Graf 4: Schématický graf tvaru fázového přechodu v závislosti na polymerní koncentraci. Spodní hrana příslušné úsečky udává hodnotu teploty, při které začíná docházet k fázové separaci. Délka úsečky znázorňuje šířku fázového přechodu. (a) Vzorky s ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 5$ obj.%. (b) Vzorky s ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.%.

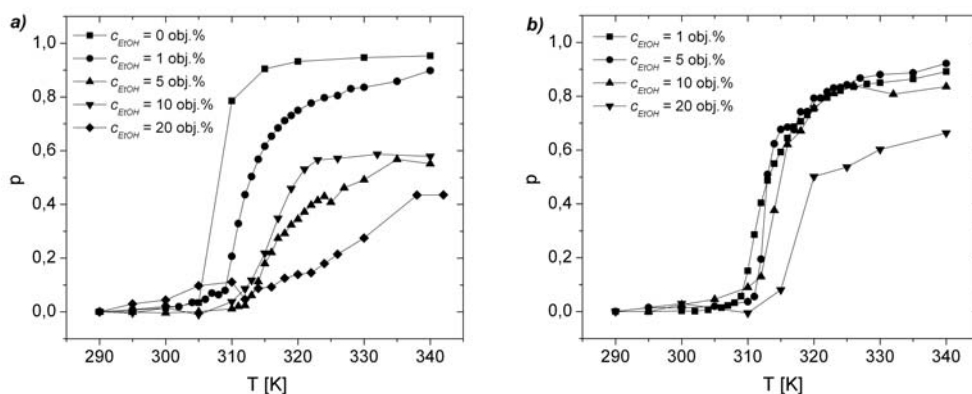
V grafu 4 je dobře patrný efekt, který způsobuje zvyšování polymerní koncentrace v roztoku: snižování teploty, při které začíná docházet k fázové separaci, a zužování šířky fázového přechodu (přechod má strmější charakter).

Rozdílné chování bylo zjištěno v roztocích PVME ve vodě [34]. Bez přítomnosti ethanolu v roztoku nemá nízká polymerní koncentrace (do 6 váh.%) vliv na tvar a strmost (šířku) fázového přechodu a k separaci začíná docházet při stejné teplotě.

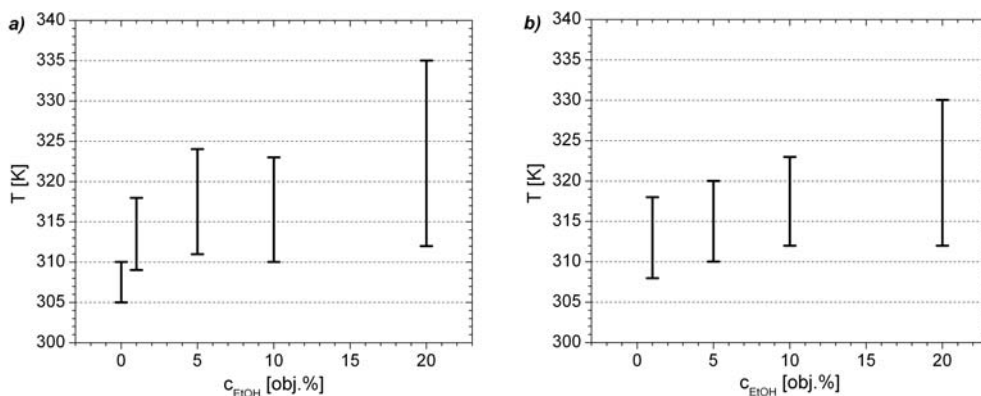
6.1.4 Vliv ethanolové koncentrace na fázovou separaci

Můžeme také pozorovat vliv ethanolové koncentrace na fázovou separaci (při konstantní polymerní koncentraci).

V grafu 5 jsou opět vyneseny teplotní závislosti p -faktoru pro dvě polymerní koncentrace $c = 1$ váh.% a $c = 6$ váh.%. Pro posouzení vlivu ethanolu na fázovou separaci byl graf 5 doplněn o teplotní závislost p -faktoru získanou pro roztok bez přítomnosti ethanolu z práce [34]. V grafu 6 jsou schématicky znázorněny šířky přechodu a počáteční teploty fázové separace.



Graf 5: Vliv ethanolové koncentrace. Teplotní závislost p -faktoru polymerního pásu CHOCH_3 pro dvě polymerní koncentrace. (a) Vzorky s polymerní koncentrací $c = 1$ váh.%. Pozn.: Hodnoty p -faktoru pro vzorek s koncentracemi $c = 1$ váh.% a $c_{EtOH} = 0$ obj.% jsou převzaty z [34]. (b) Vzorky s polymerní koncentrací $c = 6$ váh.%.



Graf 6: Schématický graf tvaru fázového přechodu v závislosti na ethanolové koncentraci. (a) Vzorky s polymerní koncentrací $c = 1$ váh.%. (b) Vzorky s polymerní koncentrací $c = 6$ váh.%.

Z grafů 5 a 6 můžeme o chování systému PVME/D₂O/EtOH říci, že s rostoucí ethanolovou koncentrací začíná k fázové separaci docházet při vyšších teplotách, šířka přechodu se zvětšuje a hodnota frakce celkově separovaného polymeru p_{∞} klesá. Např. fázový přechod roztoku s polymerní koncentrací $c = 1$ váh.% a s nejvyšší ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 20$ obj.% je posunut o 7 K výš než fázový přechod roztoku v čisté vodě, přechod má šířku 23 K a hodnota p_{∞} dosahuje pouze 0,43. Z molekulárního hlediska je zde opět patrný stabilizující vliv ethanolu v roztoku. Molekuly ethanolu stabilizují vodíkové vazby mezi vodou a polymerem a posouvají tak fázový přechod k vyšším hodnotám a způsobují jeho rozšiřování. Stejně chování v závislosti na koncentraci ethanolu vykazují i vzorky s polymerní koncentrací $c = 0,1$ váh.% a $c = 20$ váh.%.

6.1.5 ¹H příčná relaxace vody

Studiem protonové příčné relaxace zbytkové HOD obsažené ve vzorcích PVME/D₂O/EtOH dostáváme informace o pohyblivosti vody v systému, o jejím kontaktu s PVME a o kompaktnosti globulárních struktur po fázové separaci. Zaměřili jsme se na tři vzorky s ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.% a polymerními koncentracemi $c = 0,1$; 6 a 20 váh.%. Vzorky s těmito polymerními koncentracemi jsou zástupci zředěných, středně zředěných a koncentrovaných roztoků PVME a mají odlišnou interpretaci dynamického chování vody a globulárních struktur. V tabulce 2 jsou uvedeny naměřené hodnoty protonové příčné relaxační doby T_2 pro zmíněné vzorky.

		$c_{EtOH} = 10$ obj.%		
		$c = 0,1$ váh.%	$c = 6$ váh.%	$c = 20$ váh.%
$T = 310$ K	T_2 [s]	2,72	3,82	3,09
	δ_{T_2} [%]	15	12	14
$T = 325$ K	T_2 [s]	3,53	0,42	8,68
	δ_{T_2} [%]	13	72	10

Tabulka 2: Hodnoty protonových příčných relaxačních dob T_2 , pro vzorky s ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.%, při dvou teplotách: při teplotě před fázovou separací (310 K) a při teplotě, kdy je systém fázově separován (325 K).

Chyby uvedené v tabulce 2 byly určovány jako součet relativní chyby fitu a relativní systematické chyby, které byla odhadnuta na 5%.

Všechna relaxační měření byla prováděna při dvou teplotách 310 K a 325 K. Tyto teploty byly vybrány tak, aby bylo možné všechny vzorky navzájem porovnávat. Obě teploty by měly být co nejbližší, aby nedocházelo k velkému vlivu rozdílné teploty na hodnoty relaxačních časů. Teplota 310 K byla volena jako nejvyšší teplota, při které ještě u vzorků nedochází k fázové separaci. Teplota 325 K je určena podmínkou, aby u všech vzorků byla většina PVME fázově separována. Obě teploty byly tedy určovány porovnáním teplotních průběhů p -faktorů všech vzorků.

Měřením ^1H příčné relaxace pásu HOD ve vzorcích před fázovou separací dostáváme dobrou představu o pohyblivosti vody v systému. Přestože je mechanismus relaxace vody komplikovaný, dává poměrně dobrou představu o procesech v roztocích PVME. Po fázové separaci ovšem dochází ke vzniku dvou typů vody: volné a vázané, která je v kontaktu s globulárními strukturami. Relaxační doba vázané vody, která je omezena v pohyblivosti se výrazně zkrátí. My ovšem nejsme schopni tyto dvě vody oddělit a relaxační časy jsou tedy váženým průměrem relaxačních dob volné a vázané vody. Tento problém odpadá až u měření relaxačních dob ethanolu obsaženého v roztoku (při vysokých koncentracích ethanolu), viz sekce 6.2.4.

Hodnoty v tabulce 2 lze, s přihlédnutím k výše uvedenému, interpretovat následujícím způsobem. Při nízkých polymerních koncentracích ($c = 0,1$ váh.%) vzrůstá relaxační doba T_2 během fázového přechodu jen málo. V molekulárním přiblížení to vypovídá o tom, že při nízkých koncentracích je roztok hodně zředěný, nedochází ke kontaktu mezi polymerními řetězci a každá molekula se po fázové separaci sbalí do globule jednotlivě. Globulární struktury jsou kompaktní a většina vody je z nich vyloučena a tedy volná. Pro středně zředěné roztoky ($c = 6$ váh.%) dochází k řádovému poklesu relaxační doby. Část vody je po fázové separaci vázána v globulárních strukturách a tato složka se svou krátkou relaxační dobou řádově snižuje celkovou relaxační dobu T_2 . Polymerní řetězce jsou již ve vzájemném kontaktu, ovšem po fázové separaci nejsou globulární struktury natolik kompaktní jako při nízkých koncentracích PVME. Pro koncentrovaný roztok ($c = 20$ váh.%) hodnota relaxační doby po fázové separaci výrazně vzrůstá. Toto chování je velmi podobné situaci v gelech [39]. V [39] je uveden obdobný

efekt prudkého nárůstu příčné relaxační doby T_2 po fázové separaci v gelu. V roztoku lineárního PVME jsou již přítomny zapleteniny, roztok se chováním přibližuje gelu, protože obsahuje velké množství fyzikálních uzlů a fázová separace je jejich přítomností podporována. Dochází k tvorbě velmi kompaktních globulárních struktur (hustších než pro nízké koncentrace PVME v roztoku).

Toto chování plně odpovídá měřením provedeným na stejných systémech PVME/D₂O, ale bez přítomnosti ethanolu, viz. [35]. Můžeme tedy konstatovat, že dynamika vody není během fázového přechodu ovlivněna přítomností ethanolu.

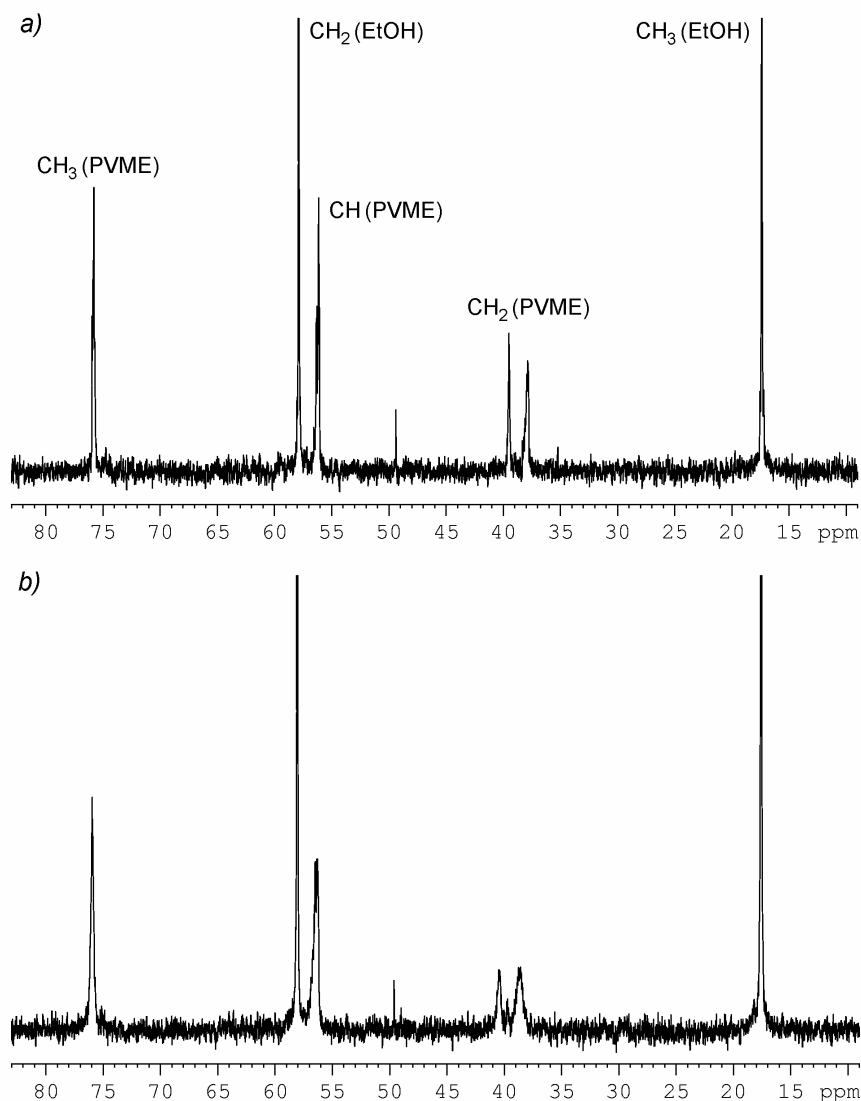
6.2 Měření ¹³C spekter a relaxací

V této sekci věnované měření uhlíkových spekter a relaxací se budeme odděleně zabývat vzorky, které ve svém spektru mají čáry vázaného ethanolu a vzorky, které tyto čáry ve spektru neobsahují. Tato vlastnost rozděluje vzorky i podle polymerní koncentrace v roztoku. Vzorky s vysokou polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% ve svém ¹³C spektru obsahují čáry vázaného ethanolu, zatímco vzorky s nižší polymerní koncentrací ($c = 0,1; 1$ a 6 váh.%) nikoliv. Tyto dvě skupiny budeme dále nazývat jako vzorky s *vyšší* a *nižší* polymerní koncentrací. Toto dělení je vhodné jak z hlediska interpretace naměřených hodnot, jak bude patrné později, tak i z hlediska přehlednosti.

6.2.1 ¹³C spektrum PVME – nižší polymerní koncentrace

Na obrázku 15a je ¹³C spektrum PVME/D₂O/EtOH při teplotě 310 K. Na obrázku jsou také přiřazené jednotlivé signály příslušným uhlíkům ve struktuře.

Spektrum obsahuje tři signály od PVME a dva od ethanolu. Signál uhlíku v polymerní skupině CH₂ tvoří ve spektru multiplet z důvodů takticity. Obrázek 15 znázorňuje spektrum před fázovou separací (obr. 15a) a po fázové separaci (15b). Opět je ve spektru patrný pokles intenzity všech čar způsobený jak zvýšením teploty tak fázovou separací. Ve spektru jsou nyní dobře odděleny jednotlivé signály a můžeme na nich měřit relaxace. V dalším textu jsme se zaměřili na dynamiku ethanolu ve vzorku, tedy měření relaxačních dob a NOE u čar ethanolu.



Obr. 15: ^{13}C spektrum roztoku PVME/D₂O/ EtOH pro polymerní koncentraci $c = 6$ váh.% a koncentraci směsného rozpouštědla $c_{\text{EtOH}} = 10$ obj. %. (a) Spektrum při teplotě 310 K s přiřazením jednotlivých čar. (b) Spektrum při teplotě 325 K.

6.2.2 ^{13}C relaxace ethanolu – nižší polymerní koncentrace

Studium ^{13}C relaxačních dob ethanolu má několik výhod oproti ^1H relaxaci vody. Hlavní výhodou je dobrý popis uhlíkového relaxačního mechanismu způsobeného dipól–dipolární interakcí uhlíku s přímo navázaným protonem naproti mechanismu relaxace protonu v molekule HOD, který je velice komplikovaný.

V tabulce 3 a 4 jsou uvedeny uhlíkové relaxační doby T_1 , T_2 a NOE pro vzorky s polymerní koncentrací $c = 0,1$ a 6 váh.% a ethanolovou koncentrací $c_{\text{EtOH}} = 10$ obj.%.

$c = 0,1$ váh.% $c_{EtOH} = 10$ obj.%		CH ₂ skupina	δ [%]	CH ₃ skupina	δ [%]
$T = 310$ K	T_1 [s]	13,30	5	9,04	5
	T_2 [s]	4,28	10	9,03	10
	<i>NOE</i>	2,66	30	2,87	30
$T = 325$ K	T_1 [s]	17,02	5	12,43	5
	T_2 [s]	6,59	10	10,24	10
	<i>NOE</i>	2,48	30	2,67	30

Tabulka 3: Hodnoty ¹³C relaxačních dob T_1 , T_2 a *NOE* ethanolu při teplotě před fázovou separací (310 K) a po fázové separaci (325 K) pro vzorek s koncentracemi $c = 0,1$ váh.% a $c_{EtOH} = 10$ obj.%.

$c = 6$ váh.% $c_{EtOH} = 10$ obj.%		CH ₂ skupina	δ [%]	CH ₃ skupina	δ [%]
$T = 310$ K	T_1 [s]	12,56	5	8,99	5
	T_2 [s]	8,47	10	7,02	10
	<i>NOE</i>	2,66	30	3,03	30
$T = 325$ K	T_1 [s]	15,39	5	11,77	5
	T_2 [s]	2,96	10	1,24	10
	<i>NOE</i>	2,63	30	2,91	30

Tabulka 4: Hodnoty ¹³C relaxačních dob T_1 , T_2 a *NOE* ethanolu při teplotě před fázovou separací (310 K) a po fázové separaci (325 K) pro vzorek s koncentracemi $c = 6$ váh.% a $c_{EtOH} = 10$ obj.%.

Pro všechny hodnoty uhlíkových relaxačních dob a *NOE* byly relativní chyby odhadnuty. Chyba fitu je malá ve srovnání s odhadnutou systematickou chybou. Relativní chyby jsou uvedeny v tabulkách vždy za příslušnou veličinou, ke které se vztahují.

Ve vzorcích v tabulkách 3 a 4 je vidět, že relaxační doba T_2 je výrazně menší než relaxační doba T_1 , což neodpovídá dynamickému chování malých molekul. U malých molekul jako je ethanol by hodnoty relaxačních dob v teplotním intervalu, ve kterém měříme, měly být přibližně stejné. Efekt snížení relaxační doby T_2 oproti T_1 je způsoben přítomností chemické výměny, tento aspekt bude diskutován později, viz. sekce 6.2.5.

Hodnota *NOE* by měla pro malé molekuly být blízká 3, viz kapitola 2.1.8. Nízká hodnota *NOE* může být ovlivněna několika faktory, které jsou uvedeny dále. Doba mezi jednotlivými scany by měla dosahovat 5–tinasobku hodnoty T_1 , námi nastavená doba byla pouze 80 s. Také se na zkrácení hodnoty *NOE* mohl podílet vliv interference relaxačních mechanismů několika dipól-dipólových párů. Celkově je *NOE* experiment citlivý na nestability v průběhu měření jako např. fluktuace teploty. Z těchto důvodů je relativní chyba *NOE* ve všech tabulkách odhadnuta na 30 %. Proto k hodnotám *NOE* přihlížíme pouze informativně pro porovnání, protože jeho absolutní hodnota je zkreslena velkou experimentální chybou.

Po fázové separaci se v obou vzorcích uvedených v tabulkách 3 a 4 vyskytuje volný ethanol, který není v kontaktu s PVME a jehož pohyblivost není ovlivněna, a vázaný ethanol, který je obsažen v globulárních strukturách a jehož pohyblivost je omezena. Hodnoty relaxačních dob před fázovou separací odpovídají volnému ethanolu a po fázové separaci jsou relaxační časy váženým průměrem relaxační doby volného a vázaného ethanolu. Tato situace je obdobná jako u protonových relaxací.

Dynamické chování systému určujeme především z relaxačních dob T_2 , protože jsou na vliv fázové separace více citlivé než relaxační doby T_1 .

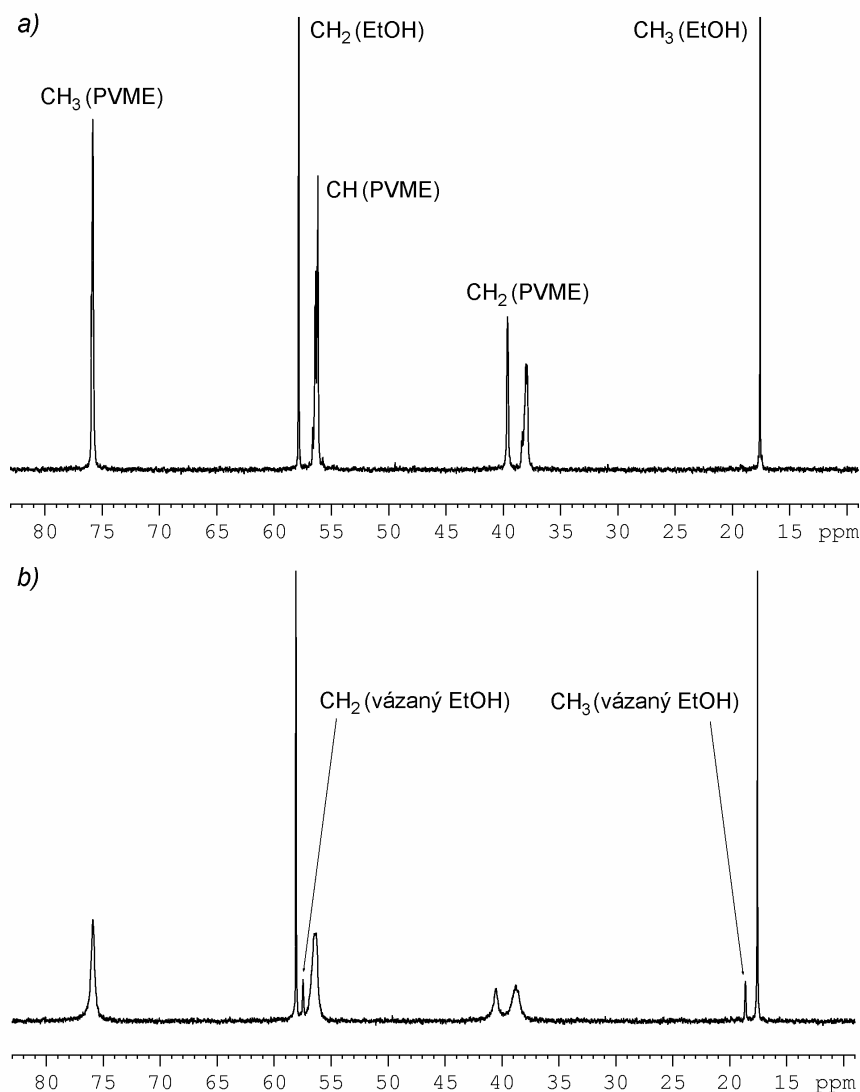
Ve vzorku s koncentracemi $c = 0,1$ váh.% a $c_{EtOH} = 10$ obj.% (viz tabulka 3) je po fázové separaci patrný nárůst relaxační doby T_2 způsobený zvýšením teploty. Molekulárně tato situace odpovídá tomu, že ethanol zřejmě nezůstává vázaný na globulární struktury. Ve vzorku s koncentracemi $c = 6$ váh.% a $c_{EtOH} = 10$ obj.% (viz tabulka 4) dochází k výraznému poklesu relaxační doby T_2 . Tento pokles dokládá přítomnost vázané složky ethanolu v globulární struktuře. Tato složka svou krátkou relaxační dobou zkracuje celkovou hodnotu relaxačního času T_2 . Je patrné, že relaxační chování ethanolu v systémech s nízkou koncentrací PVME kopíruje relaxační chování vody popsané v kapitole 6.1.5.

6.2.3 ^{13}C spektrum PVME – vyšší polymerní koncentrace

Na obrázku 16 je znázorněno ^{13}C spektrum vzorku s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.% při teplotách 310 K a 325 K. Tento vzorek, s vyšší polymerní koncentrací, obsahuje po fázové separaci ve spektru čáry vázaného ethanolu (viz obrázek 16b).

Na obrázku 16 je opět ve spektrech patrný úbytek intenzity všech signálů způsobený zvýšením teploty. Po fázové separaci se ve spektru objevují dva nové signály patřící vázanému ethanolu. Tato skutečnost umožňuje oddělené studium volného a vázaného ethanolu v systému. Vypovídá také o tom, že vázaný ethanol je v globulárních strukturách značně omezen v pohyblivosti, což potvrzuje přítomnost velmi kompaktních globulárních struktur. Obdobný efekt přítomnosti volného a vázaného rozpouštědla, který se projevuje ve spektru oddělenými signály, byl nalezen i v jiných molekulárních systémech, např. v komplexech mezi chloroformem a kryptofanem [40]. V této práci pak byla studována dynamika

takového systému. V dalších kapitolách se budeme zabývat studiem dynamiky volného a vázaného ethanolu.



Obr. 16: ^{13}C spektrum roztoku PVME/ D_2O /EtOH pro polymerní koncentraci $c = 20$ váh.% a koncentraci směsného rozpouštědla $c_{\text{EtOH}} = 10$ obj. %. (a) Spektrum při teplotě 310 K s přiřazením jednotlivých čar. (b) Spektrum při teplotě 325 K. Ve spektru jsou vyznačeny dvě čáry patřící vázanému ethanolu.

6.2.4 ^{13}C relaxace ethanolu – vyšší polymerní koncentrace

Pro nejvyšší polymerní koncentraci $c = 20$ váh.% výskyt vázaného ethanolu ve spektru poskytuje možnost měřit relaxační doby volného a vázaného ethanolu zvlášť a tím získat představu o jeho chování v systému.

Poměr integrální intenzity volného a vázaného ethanolu je 0,82:0,18 s relativní chybou 10%. Tento poměr je ve všech vzorcích s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a pro obě skupiny CH_2 i CH_3 stejný.

V následujících tabulkách 5 až 7 jsou relaxační časy T_1 , T_2 , NOE a vypočtený korelační čas τ_c (bude diskutováno níže) pro měřené vzorky s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.%. V tabulce 8 jsou relaxační doby T_1 , T_2 , NOE a korelační čas τ_c pro směsné rozpouštědlo bez polymeru $\text{D}_2\text{O}/\text{EtOH}$ s ethanolovou koncentrací $c_{\text{EtOH}} = 10$ obj.%. Tento vzorek slouží pro porovnání hodnot mezi roztokem s přítomností PVME a bez obsahu PVME. V tabulkách jsou hodnoty jednotlivých veličin a jejich relativních chyb pro konkrétní skupinu v ethanolu uvedeny v sestupném pořadí podle chemických posunů příslušných čar ve spektru.

$c = 20$ váh.% $c_{\text{EtOH}} = 5$ obj.%		volný CH_2	δ [%]	vázaný CH_2	δ [%]	vázaný CH_3	δ [%]	volný CH_3	δ [%]
$T = 310$ K	T_1 [s]	11,87	15					8,49	15
	T_2 [s]	8,72	30					6,31	30
	NOE	2,88	30					3,01	30
	τ_c [ps]	2,03	11					1,89	11
$T = 325$ K	T_1 [s]	17,61	15	3,40	20	5,82	20	12,43	15
	T_2 [s]	12,89	30	2,40	30	3,53	30	8,77	30
	NOE	2,46	30	2,08	30	3,04	30	3,09	30
	τ_c [ps]	1,37	11	7,22	14	2,81	14	1,29	11

Tabulka 5: Hodnoty ^{13}C relaxačních dob T_1 , T_2 , NOE a vypočteného korelačního času τ_c ethanolu při teplotě před fázovou separací (310 K) a po fázové separaci (325 K) pro vzorek s koncentracemi $c = 20$ váh.% a $c_{\text{EtOH}} = 5$ obj.%.

$c = 20$ váh.% $c_{\text{EtOH}} = 10$ obj.%		volný CH_2	δ [%]	vázaný CH_2	δ [%]	vázaný CH_3	δ [%]	volný CH_3	δ [%]
$T = 310$ K	T_1 [s]	9,77	10					7,46	10
	T_2 [s]	7,09	20					5,71	20
	NOE	2,77	30					2,83	30
	τ_c [ps]	2,46	7					2,15	7
$T = 325$ K	T_1 [s]	17,12	10	8,03	20	7,98	20	12,11	10
	T_2 [s]	11,57	20	1,07	25	2,97	25	8,14	20
	NOE	2,72	30	2,02	30	2,86	30	2,77	30
	τ_c [ps]	1,41	7	3,03	14	2,05	14	1,32	7

Tabulka 6: Hodnoty ^{13}C relaxačních dob T_1 , T_2 , NOE a vypočteného korelačního času τ_c ethanolu při teplotě před fázovou separací (310 K) a po fázové separaci (325 K) pro vzorek s koncentracemi $c = 20$ váh.% a $c_{\text{EtOH}} = 10$ obj.%.

$c = 20$ váh.% $c_{EtOH} = 20$ obj.%		volný CH ₂	δ [%]	vázaný CH ₂	δ [%]	vázaný CH ₃	δ [%]	volný CH ₃	δ [%]
$T = 310$ K	T_1 [s]	9,64	5					7,64	5
	T_2 [s]	7,16	10					6,10	10
	NOE	2,86	30					2,95	30
	τ_c [ps]	2,50	4					2,10	4
$T = 325$ K	T_1 [s]	17,32	5	6,66	15	6,91	15	12,13	5
	T_2 [s]	11,70	10	5,13	20	4,72	20	8,38	10
	NOE	2,74	30	2,64	30	2,81	30	2,97	30
	τ_c [ps]	1,39	4	3,65	11	2,35	11	1,32	4

Tabulka 7: Hodnoty ^{13}C relaxačních dob T_1 , T_2 , NOE a vypočteného korelačního času τ_c ethanolu při teplotě před fázovou separací (310 K) a po fázové separaci (325 K) pro vzorek s koncentracemi $c = 20$ váh.% a $c_{EtOH} = 20$ obj.%.

$c = 0$ váh.% $c_{EtOH} = 10$ obj.%		volný CH ₂	δ [%]	volný CH ₃	δ [%]
$T = 310$ K	T_1 [s]	14,11	5	9,40	5
	T_2 [s]	9,39	5	7,03	5
	NOE	2,71	30	2,87	30
	τ_c [ps]	1,71	4	1,71	4
$T = 325$ K	T_1 [s]	18,50	5	12,35	5
	T_2 [s]	9,55	5	9,14	5
	NOE	2,53	30	2,63	30
	τ_c [ps]	1,30	4	1,30	4

Tabulka 8: Hodnoty ^{13}C relaxačních dob T_1 , T_2 , NOE a vypočteného korelačního času τ_c ethanolu při teplotě 310 K a 325 K pro směsné rozpouštědlo $\text{D}_2\text{O}/\text{EtOH}$ o koncentraci $c_{EtOH} = 10$ obj.%.

V tabulkách 5 až 7 je patrný pokles relaxačních dob T_1 i T_2 pro obě čáry vázaného ethanolu v globulárních strukturách po fázové separaci. Rovněž dochází pro oba relaxační časy a pro obě skupiny v ethanolu k nárůstu relaxačních dob po fázové separaci u volného ethanolu. Tento jev potvrzuje ideu přítomnosti volného a vázaného ethanolu v roztocích po fázové separaci. U předchozích měření na vzorcích s nižší koncentrací PVME se čáry volného a vázaného ethanolu překrývaly a nebylo možné je oddělit, a tedy výsledná hodnota relaxační doby byla váženým průměrem relaxačních dob volného a vázaného ethanolu.

V tabulkách 5 až 8 jsou určeny hodnoty korelačních časů τ_c lokálních fluktuací pole, které pocházejí od rotace vektoru CH vazby vzhledem k vnějšímu poli \mathbf{B}_0 . Korelační čas je tedy mírou pohyblivosti jednotlivých skupin v ethanolu. Chemická výměna přítomná ve všech vzorcích daná vlastnostmi ethanolu zkracuje hodnoty relaxační doby T_2 . Hodnota *NOE*, jak je patrné u samotného směsného rozpouštědla, má nižší hodnotu (viz tabulka 8) než bychom čekali a tato hodnota tedy odpovídá chování volného ethanolu v roztoku bez PVME. V porovnání se vzorky z tabulek 5 až 7 lze říci, že si hodnoty *NOE* pro volný ethanol v rámci chyby odpovídají. Jedinou veličinou, která není nijak ovlivněna, je relaxační doba T_1 . Proto jsme korelační časy τ_c počítali z fitace do vztahu (2.16), kam jsme za redukované spektrální hustoty dosadili z (2.21). Chyby korelačních časů byly získány Monte Carlo simulací, kde se generují nové hodnoty T_1 , tak že jsou vybírány náhodně z normálního rozdělení se středem v experimentální hodnotě a se šířkou danou chybou příslušné experimentální hodnoty.

V tabulce 8 pro směsné rozpouštědlo je korelační čas obou skupin v ethanolu při dané teplotě stejný, což vypovídá o tom, že dynamika obou skupin se neliší. Snížení korelačního času při teplotě 325 K oproti 310 K je způsobeno teplotním rozdílem. Obecně platí, že čím vyšší teplota, tím nižší hodnota korelačního času. Molekulárně to odpovídá rychlejším fluktuacím v lokálním poli a tedy rychlejším pohybů molekuly nebo částí v ní obsažených.

Hodnoty korelačních časů pro volný ethanol po fázové separaci (tabulky 5 až 7) odpovídají v rámci chyby hodnotám získaným na roztoku bez polymeru (tabulka 8) a to pro obě ethanolové skupiny CH_2 i CH_3 . To potvrzuje domněnku, že tyto molekuly již nejsou v interakci s polymerem.

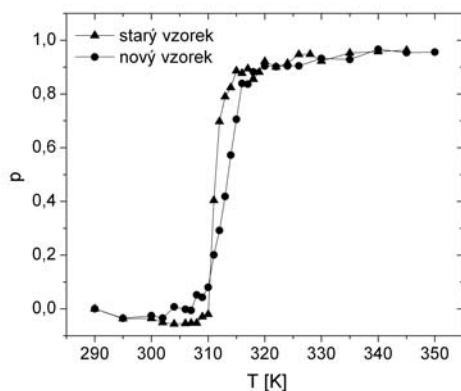
Hodnoty korelačních časů po fázové separaci pro vázaný ethanol (tabulky 5 až 7) jsou v rámci chyby větší než u volného ethanolu, pro obě skupiny CH_2 i CH_3 . Tomu odpovídají i hodnoty *NOE*, které jsou pro vázaný ethanol nižší. Lze tedy konstatovat, že omezení pohyblivosti vázaného ethanolu se projeví i zde.

Nižší hodnota korelačního času a také vyšší hodnota *NOE* pro skupinu CH_3 u vázaného ethanolu v porovnání se skupinou CH_2 je důsledkem větší pohyblivosti CH_3 skupiny. CH_3 skupina je tedy po fázové separaci méně pohyblivá než před ní, ale v porovnání s CH_2 skupinou není po fázové separaci tolik bráněna v pohybu.

O ethanolu ve vzorcích s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a různou ethanolovou koncentrací, lze říci, že dynamika ethanolu je ve všech vzorcích stejná neohledě na koncentraci ethanolu.

6.2.5 ^{13}C relaxace a chemická výměna

Tato podkapitola se věnuje zejména zpracování a interpretacím dat pro jediný vzorek. Tímto vzorkem je dříve připravený PVME/ D_2O /EtOH s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a ethanolovou koncentrací $c_{\text{EtOH}} = 10$ obj.%. Tento vzorek byl připraven o dva roky dříve než vzorek o stejných koncentracích uvedený v tabulce 1. Všechny předešlé výpočty a závěry se vztahovaly pouze k vzorkům uvedeným v tabulce 1. Jak se ukázalo, tento starší vzorek mění své dynamické chování a projevuje se u něj efekt stárnutí. Tento efekt ovšem není patrný ve spektru ani na průběhu teplotní závislosti p -faktoru, kde dochází pouze k nepatrnému zúžení šířky fázového přechodu pro starší vzorek, viz graf 7.



Graf 7: Porovnání teplotních závislostí p -faktoru polymerní skupiny CHOCH_3 pro vzorek u kterého se projevuje stárnutí (\blacktriangle) a pro vzorek nově připravený (\bullet). Oba vzorky byly připraveny s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a ethanolovou koncentrací $c_{\text{EtOH}} = 10$ obj.%.

Vzorek, u kterého se projevuje stárnutí, označíme pro přehlednost V_s . Na vzorku V_s budeme studovat chemickou výměnu, její vztah k relaxačním procesům a stanovíme mechanismus dynamických procesů ethanolu v roztoku.

V tabulce 9 jsou pro vzorek V_s uvedeny hodnoty relaxačních dob T_1 , T_2 a NOE před i po fázové separaci.

c = 20 váh.% c _{EIOH} = 10 obj.%		volný CH ₂	δ [%]	vázaný CH ₂	δ [%]	vázaný CH ₃	δ [%]	volný CH ₃	δ [%]
T = 310 K	T ₁ [s]	9,67	10					7,44	10
	T ₂ [s]	7,31	20					6,06	20
	NOE	2,90	30					3,02	30
T = 325 K	T ₁ [s]	10,70	10	8,69	20	9,25	20	9,81	10
	T ₂ [s]	3,04	20	2,42	25	1,41	25	1,46	20
	NOE	2,60	30	2,33	30	2,86	30	2,81	30

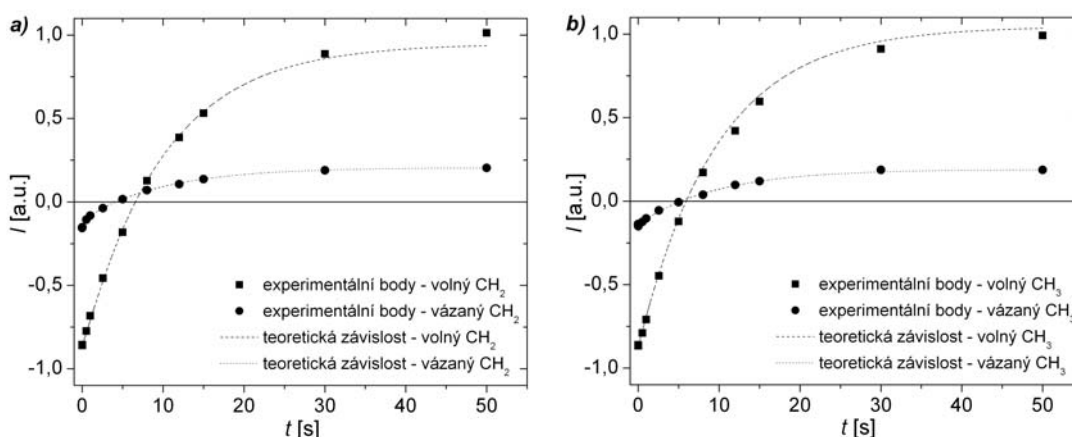
Tabulka 9: Hodnoty ¹³C relaxačních dob T_1 , T_2 a NOE při teplotě před fázovou separací (310 K) a po fázové separaci (325 K) pro vzorek V_S s koncentracemi $c = 20$ váh.% a $c_{EIOH} = 10$ obj.%.

Z tabulky 9 vyplývá, že volný a vázaný ethanol mají po fázové separaci srovnatelné relaxační doby T_1 i T_2 , na rozdíl od hodnot nově připraveného vzorku, viz tabulka 6. Tato skutečnost svědčí o přítomnosti chemické výměny mezi volným a vázaným ethanolem, která přibližuje hodnoty obou relaxačních dob volného a vázaného ethanolu k sobě. Oba stavy mají ve spektru svojí vlastní čáru, viz obrázek 16b. Jak již bylo diskutováno v sekci 2.1.9 bod (i), platí následující: vzhledem k tomu, že rozdíl rezonančních frekvencí čáry volného a vázané ethanolu je pro CH₂ skupinu $\Delta\nu = 78$ Hz a pro CH₃ skupinu $\Delta\nu = 132$ Hz a ve spektru jsou obě čáry příslušné jednotlivým skupinám odlišené, jedná se o pomalou chemickou výměnu vzhledem hodnotám chemických posunů. Rychlost této výměny k_{ex} musí být $k_{ex} \ll 78$ Hz, čemuž bude předběžným odhadem odpovídat korelační čas chemické výměny $\tau_{ex} \sim 1$ s. Tento předběžný odhad se zakládá na skutečnosti, že k přesnému výpočtu rychlosti této chemické výměny bylo použito relaxačních dob a aby chemická výměna ovlivnila hodnoty relaxačních časů, musí být hodnota τ_{ex} řádově srovnatelná s T_1 a T_2 .

Pro určení rychlosti chemické výměny k_{ex} jsme použili McConnellovy rovnice (2.31) v upravené formě (2.32) pro chování podélné magnetizace za přítomnosti chemické výměny. V rovnicích (2.32) byly fitovány parametry T_{1A} , T_{1B} , $k_{A \rightarrow B}$ a $k_{B \rightarrow A}$. Hodnoty T_{1A} , T_{1B} odpovídají podélným relaxačním dobám ethanolu bez přítomnosti chemické výměny, $k_{A \rightarrow B}$, $k_{B \rightarrow A}$ jsou rychlostní konstanty přechodu ze stavu, kdy je ethanol vázaný, do stavu, kdy je volný, a naopak. Rychlost chemické výměny byla pak určena podle vztahu (2.25). Pro určení chemické výměny

není v tomto případě vhodné používat rovnice popisující chování příčné magnetizace za přítomnosti chemické výměny, protože relaxační doba T_2 je ovlivněna ještě rychlou výměnou, která bude diskutována níže. Vliv této rychlé výměny se na relaxační době T_1 neprojevuje, viz sekce 2.1.10, proto používáme relaxaci podélné složky magnetizace k vyhodnocení rychlosti pomalé chemické výměny k_{ex} .

V grafu 8 je znázorněn časový průběh nárůstu podélné magnetizace pro vzorek V_S při experimentu inversion recovery, které slouží k měření relaxační doby T_1 . Jsou zde vyneseny experimentální body i nafitované křivky podle McConnellových rovnic (2.32). V grafu 8a můžeme vidět průběh nárůstu magnetizace pro ethanolovou skupinu CH_2 a to pro volnou i vázanou složku, stejné závislosti jsou vyneseny pro skupinu CH_3 v grafu 8b. V grafu 8a i 8b jsou maximální integrační intenzity normované na hodnotu 1.



Graf 8: Nárůst podélné magnetizace při experimentu inversion recovery pro měření relaxačních dob T_1 . Oba grafy obsahují experimentální body a fitované průběhy relaxačních křivek z McConnellových rovnic (2.32) s chemickou výměnou pro vzorek V_S s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.%, při teplotě 325 K. (a) Experimentální body a fitace pro ethanolovou skupinu CH_2 . (b) Experimentální body a fitace pro ethanolovou skupinu CH_3 .

V tabulce 10 jsou uvedeny výsledné hodnoty parametrů T_{1A} , T_{1B} , $k_{A \rightarrow B}$ a $k_{B \rightarrow A}$ obdržných z fitace, určené hodnoty populací jednotlivých stavů p_A a p_B (volného a vázaného ethanolu) a výsledná hodnota rychlosti chemické výměny k_{ex} pro obě ethanolové skupiny CH_2 i CH_3 .

V_S	$c = 20$ váh.% $c_{EtOH} = 10$ obj.%	volný CH ₂ (A)	δ [%]	vázaný CH ₂ (B)	δ [%]	vázaný CH ₃ (B)	δ [%]	volný CH ₃ (A)	δ [%]
p (populace)		0,82	5	0,18	10	0,15	10	0,85	5
T_1 [s]		21,42	24	2,55	33	4,64	31	13,72	16
τ_c [ps]		1,14	17	9,85	26	3,57	24	1,17	13
k [s ⁻¹]		$k_{A \rightarrow B}$		$k_{B \rightarrow A}$		$k_{B \rightarrow A}$		$k_{A \rightarrow B}$	
		0,22	21	1,02	25	1,92	18	0,35	24
k_{ex} [s ⁻¹]		CH ₂ skupina		δ [%]		CH ₃ skupina		δ [%]	
		1,25		31		2,29		33	

Tabulka 10: Hodnoty pro vzorek V_S s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.%. V tabulce jsou uvedeny hodnoty populací volného a vázaného ethanolu (pro obě ethanolové skupiny) a hodnoty fitovaných parametrů T_{1A} , T_{1B} , $k_{A \rightarrow B}$ a $k_{B \rightarrow A}$ a z nich určená hodnota rychlosti chemické výměny k_{ex} pro obě ethanolové skupiny. Z hodnot T_{1A} a T_{1B} jsou určeny korelační časy τ_c .

Chyby uvedené v tabulce 10 u populací jednotlivých pásů ethanolu jsou odhadnuty. Chyby u fitovaných veličin byly určovány metodou Monte Carlo.

Fitace hodnot pro každou ethanolovou skupinu probíhala zvlášť a v tabulce 10 byly určeny rychlosti chemické výměny pro každou skupinu ethanolu ve vzorku V_S . Dále byly z fitu určeny hodnoty relaxačních dob T_{1A} a T_{1B} bez přítomnosti chemické výměny, které pro volný ethanol odpovídají relaxačním dobám ethanolu ve vodě při teplotě 325 K, viz tabulka 8. Je také patrný výrazný pokles relaxační doby u vázaného ethanolu, což je ve shodě s představou dynamického chování volného a vázaného ethanolu. Korelační časy byly určeny z podélných relaxačních dob nezatížených chemickou výměnou a jsou u volného ethanolu kratší než u vázaného, což vypovídá o větší pohyblivosti volného ethanolu. Pro vázaný ethanol je patrné, že skupina CH₃ je více pohyblivá než CH₂ skupina. Toto tvrzení je plně ve shodě s předchozími výsledky uhlíkových relaxací. Hodnoty chemické výměny pro obě ethanolové skupiny jsou v rámci experimentální chyby stejné a můžeme říci, že celková rychlost chemické výměny ethanolu v roztoku PVME/D₂O/EtOH s koncentracemi $c = 20$ váh.% a $c_{EtOH} = 10$ obj.%, který byl připraven dříve, je:

$$k_{ex} = (1,77 \pm 0,59) \text{ s}^{-1}.$$

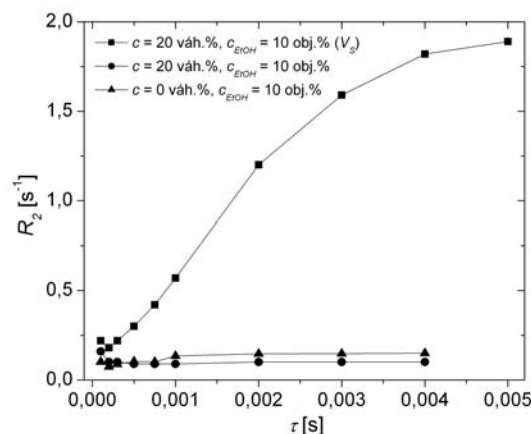
Relativní chyba celkové rychlosti chemické výměny je 33 %. Rychlost této výměny je na hranici detekovatelnosti z dat získaných z měření podélných relaxač-

ních dob. Chemická výměna s řádově nižší hodnotou, než kterou jsme získali v případě vzorku V_S se již neprojeví na nárůstu podélné magnetizace. Rychlost takové výměny již není srovnatelná s relaxačními rychlostmi, ale je mnohem menší a pro její určení by bylo nutné použít jiný způsob měření např. EXSY experiment popsaný v kapitole 2.1.9 bod (ii).

Obdobná fitace a určení rychlosti chemické výměny proběhlo u všech vzorků, které mají ve spektru oddělené čáry volného a vázaného ethanolu, tedy vzorky s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% uvedené v tabulce 1, ale naitovaná rychlost chemické výměny byla natolik nízká, že vzhledem k experimentální chybě ji nelze považovat za skutečnou hodnotu. Můžeme konstatovat, že ve vzorcích s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% (viz tabulka 1) chemická výměna vůbec přítomna není nebo její hodnota je natolik na tolik nízká, že ji v rámci experimentální chyby nelze určit, pak by se její hodnota musela pohybovat pod $k_{ex} < 0,1 \text{ s}^{-1}$.

Ve vzorku, jak již bylo zmíněno, se vyskytuje i rychlá chemická výměna vzhledem k relaxačním rychlostem, což je parné porovnáním příčných relaxačních dob volného a vázaného ethanolu při teplotě 325 K pro vzorek V_S (viz tabulka 9) a pro nově připravený vzorek se stejnými koncentracemi (viz tabulka 6). V případě vzorku V_S , rychlá chemická výměna ethanolu přibližuje relaxační časy T_2 k sobě. Není ji tedy dobře možné detekovat z relaxačních experimentů inversion recovery a obyčejného CPMG. Proto se přidržíme postupu popsaného v sekci 2.1.10 pro určení rychlé chemické výměny vycházející z měřené experimentu CPMG s proměnným echočasem [9]. Podrobným rozborem mechanismu této chemické výměny se budeme zabývat dále.

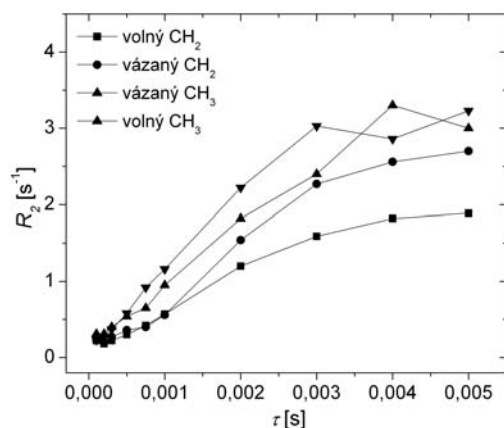
U všech vzorků s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.%, včetně vzorku V_S , byla měřena závislost relaxačních dob T_2 na polovině echočasu τ (viz 5.4.6). Tato závislost byla měřena i pro čisté rozpouštědlo $D_2O/EtOH$ s ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.%. V grafu 9 je znázorněn průběh závislosti příčných relaxačních rychlostí pro tři vzorky: vzorek V_S ($c = 20$ váh.%, $c_{EtOH} = 10$ obj.%), nově připravený vzorek s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.% a čisté rozpouštědlo s ethanolovou $c_{EtOH} = 10$ obj.% koncentrací. V grafu jsou vyneseny příčné relaxační doby pásů ethanolové skupiny CH_2 (pro vzorky s obsahem PVME se jedná o čáru volného ethanolu) při teplotě 325 K.



Graf 9: Hodnoty příčných relaxačních rychlostí R_2 v závislosti na polovině echočasu získané ze CPMG experimentu při teplotě 325 K. V grafu jsou závislosti pro ethanolovou skupinu CH_2 (u vzorků s polymerem se jedná o čáru volného ethanolu) pro tři vzorky: vzorek V_S ($c = 20$ váh.%, $c_{EtOH} = 10$ obj.%), který vykazuje stárnutí, vzorek s koncentracemi $c = 20$ váh.% a $c_{EtOH} = 10$ obj.% ze série v tabulce 1 a pro směsné rozpouštědlo s ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.%.

Pouze v jediném případě, pro vzorek V_S , byl naměřen očekávaný průběh, tedy nárůst relaxační rychlosti R_2 s rostoucím echočasem. U ostatních vzorků je nárůst nepatrný a v rámci experimentální chyby nelze určit hodnotu rychlosti této rychlé chemické výměny $k_{ex(f)}$. Nárůst relaxační rychlosti s prodlužujícím se echočasem, lze interpretovat tak, že pro velmi krátký echočas působí chemická výměna na systém krátký okamžik a nedojde tak k ovlivnění relaxační doby. Toto tvrzení platí pouze pro rychlost výměny v řádu (milisekund)⁻¹ až (mikrosekund)⁻¹. Abychom obdrželi příčné relaxační doby čar ethanolu, které nejsou ovlivněny chemickou výměnou, musíme fitovat do experimentálních dat (graf 9) teoretickou závislost (2.29). Z fitace obdržíme rychlost chemické výměny $k_{ex(f)}$.

Nyní se zaměříme na mechanismus rychlé chemické výměny. Jedná se o rychlou výměnu vzhledem k relaxačním časům, čemuž by ve spektru měla odpovídat jedna čára. Dalším aspektem, který rozkrývá podstatu mechanismu výměny, je přítomnost srovnatelného nárůstu relaxační rychlosti R_2 pro všechny čáry ethanolu (volná i vázaná skupina CH_2 a CH_3) ve vzorku V_S , viz graf 10.



Graf 10: Hodnoty příčných relaxačních rychlostí R_2 v závislosti na polovině echočasu získané ze CPMG experimentu při teplotě 325 K pro vzorek V_S ($c = 20$ váh.%, $c_{EtOH} = 10$ obj.%). V grafu jsou závislosti pro volnou i vázanou ethanolovou skupinu CH_2 a CH_3 .

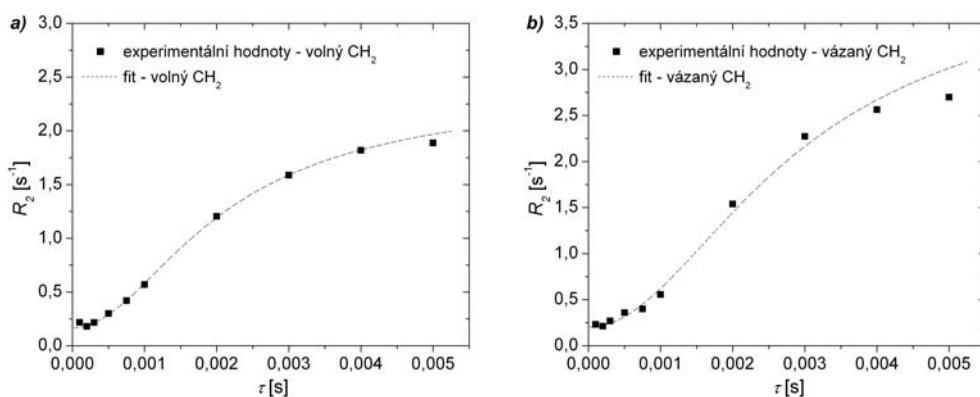
Jelikož každá čára ethanolu ve vzorku V_S vykazuje nárůst hodnoty R_2 a výměna je natolik rychlá, že ve spektru musí být jediná úzká čára, jedná se patrně o výměnu molekul ethanolu mezi jednotlivými ethanolovými „klastry“ [41]. V práci [41] byla měřena teplotní závislost chemického posunu hydroxylového protonu v čistém ethanolu v teplotním rozsahu 190–350 K. Dále byl měřen deuteriový kvadrupolární relaxační čas ethanolu v témže teplotním rozsahu. Mezi těmito veličinami byla experimentálně zjištěna lineární závislost. Z *ab initio* výpočtů v programu Gaussian 98 byly určeny tenzory chemického stínění lineárních i cyklických klastrů, které obsahovaly dva až šest molekul ethanolu. Byla určena izotropní hodnota chemického stínění jednotlivých klastrů a pomocí *ab initio* výpočtů porovnána s izotropním chemickým stíněním TMS. Odtud byl přiřazen ke každému typu klastru jeho chemický posun. Z měření závislosti chemických posunů na teplotě lze pak přiřadit výskyt daného klastru k určité teplotě. Byla též zkoumána stabilita jednotlivých klastrů a v teplotním intervalu, ve kterém provádíme měření na PVME, byla zjištěna jako nejpravděpodobnější struktura cyklický pentamer ethanolu. Další pravděpodobnou strukturou je cyklický hexamer a tetramer.

Nyní musíme rozlišovat ethanol vázaný v globulárních strukturách a ethanol vázaný v klastru. Máme tedy více typů ethanolu: ethanol vázaný

v globulární struktúře a současně vázaný v jednom z klastrů a ethanol, který je volný (není v kontaktu s polymerem) a současně vázaný v jednom z klastrů.

Hodnota příčné relaxační doby každé čáry ethanolu ve spektru je ovlivněna chemickou výměnou molekul ethanolu mezi klastry různých velikostí. O této výměně lze říci, že probíhá v rámci směsného rozpouštědla nehledě na přítomnost polymeru, ale efektem stárnutí vzorku V_S s obsahem PVME může dojít ke změně v dynamice rychlé výměny. Tato změna se projevuje snížením rychlosti výměny na hodnotu měřitelnou CPMG experimentem s proměnným echočasem.

V systému jsou přítomny dvě chemické výměny a díky jejich odlišné rychlosti je možné je oddělit. Nyní se zaměříme na určení rychlosti chemické výměny $k_{ex(f)}$ pro vzorek V_S . V grafu 11 jsou vyneseny experimentální hodnoty a fit podle rovnice (2.29).



Graf 11: Hodnoty příčných relaxačních rychlostí R_2 v závislosti na echočase získané z CPMG experimentu při teplotě 325 K pro vzorek V_S ($c = 20$ váh.%, $c_{EtOH} = 10$ obj.%). Čárkovaně je v grafu vyznačen fit podle rovnice (2.29) pro určení rychlosti chemické výměny. (a) Experimentální hodnoty a fit pro volnou (bez kontaktu s PVME) ethanolovou skupinu CH_2 . (b) Experimentální hodnoty a fit pro vázanou (v globulární struktúře) ethanolovou skupinu CH_2 .

Stanovení rychlosti chemické výměny z fitace experimentálních dat do rovnice (2.29) je ovšem velmi hrubým odhadem této rychlosti, protože neznáme hodnoty populací jednotlivých stavů a ani rozdíl chemických posunů ethanolu v jednotlivých stavech. Stavem v tomto případě nazýváme situaci, kdy je ethanol vázán v nějakém typu klastru. Každá čára ethanolu ve spektru vznikla zúžením několika čar (nebo pásů), které náležejí ethanolu v jednotlivých stavech (typech klastru). Zúžení čar je dané rychlostí výměny. Není tedy možné určit populace

jednotlivých stavů a rozdíl chemických posunů. Při fitaci jsme tedy postupovali tak, že byl fitován celý faktor $p_{A(f)}p_{B(f)}(\Delta\omega_{(f)})^2$ v rovnici (2.29). Obdobně hodnoty R_2^{DD} pro jednotlivé čáry ethanolu jsou váženým průměrem příčných relaxačních rychlostí ethanolu v jednotlivých klastrech. V tabulce 11 jsou uvedeny výsledky fitace pro jednotlivé čáry ethanolu.

V_S	$c = 20$ váh.% $c_{EtOH} = 10$ obj.%	volný CH ₂	δ [%]	vázaný CH ₂	δ [%]	vázaný CH ₃	δ [%]	volný CH ₃	δ [%]
$p_{A(f)}p_{B(f)}(\Delta\omega_{(f)})^2$		1938	50	2477	50	2522	50	4017	50
R_2^{DD} [s ⁻¹]		0,16	30	0,20	30	0,34	30	0,23	30
T_2^{DD} [s]		6,10	46	4,98	43	2,94	43	4,32	44
$k_{ex(f)}$ [s ⁻¹]		835	50	577	50	712	50	1107	50

Tabulka 11: Výsledky fitace rychlé chemické výměny ve vzorku V_S s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.%.

Chyby fitovaných veličin byly určeny odhadem podle citlivosti při fixaci jedné z veličin a její následné změně. V tabulce 11 jsou z hodnot R_2^{DD} určeny příčné relaxační časy bez chemické výměny T_2^{DD} . Tyto hodnoty jsou, stejně jako relaxační rychlosti, váženým průměrem relaxačních dob ethanolu v jednotlivých klastrech. Fitace celého faktoru $p_{A(f)}p_{B(f)}(\Delta\omega_{(f)})^2$ jako jednoho parametru nám umožnila s velmi omezenými informacemi určit řádový odhad rychlosti chemické výměny. Můžeme tedy konstatovat, že ve vzorku V_S s koncentracemi $c = 20$ váh.% a $c_{EtOH} = 10$ obj.%, který byl připraven dříve a projevuje se u něj efekt stárnutí, je rychlost chemické výměny mezi ethanolovými klastry řádově:

$$k_{ex(f)} = 800 \text{ s}^{-1}$$

s relativní chybou 50 %.

Závěrem lze říci, že rychlá výměna je vlastností ethanolu a již zmiňované zkrácení příčné relaxační doby T_2 v porovnání s podélnou relaxační dobou T_1 bylo zjištěno u všech měřených vzorků, včetně čistého EtOH/D₂O bez PVME (viz

tabulky 3–9). Klastry ethanolu se tvoří ve všech vzorcích, ale rychlá výměna má takové parametry, že už není měřitelná. Dochází pravděpodobně k tomu, že rychlost výměny je ve všech vzorcích řádově stejná, ale mění se populace jednotlivých typů klastrů a rozdíl jejich chemických posunů. Tento efekt výrazně ovlivní tvar závislosti R_2 na echočase (viz graf 9).

Můžeme vyslovit hypotézu, která by na molekulární úrovni vysvětlovala neobvyklé chování vzorku s koncentracemi $c = 20$ váh.% a $c_{EtOH} = 10$ obj.%, který jeví známky stárnutí: Ve vzorku V_S mohlo časem dojít k fyzikálním interakcím mezi jednotlivými řetězci PVME, které vedly ke vzniku dodatečných fyzikálních uzlů. V těchto místech je pak větší hustota polymerních řetězců a v roztoku se tak objevují lokální heterogenity. Tyto heterogenity nejsou patrné makroskopicky a jejich vliv se neprojevuje ve spektru ani v teplotním průběhu fázové separace (p -faktoru). Tyto změny fyzikální struktury se projevují odlišným dynamickým chováním, kterým je přítomnost pomalé chemické výměny po fázové separaci mezi volným ethanolom mimo globulární strukturu a vázaným ethanolom, v interakci s globulární strukturou. Dalším projevem časového stárnutí je také přítomnost rychlé chemické výměny ethanolu mezi ethanolovými klastry, která je měřitelná, protože došlo ke změně v obsazení populací jednotlivých typů klastrů.

7 Závěr

Z NMR experimentů, které byly provedeny na vzorcích polyvinylmethyletheru (PVME) ve směsném rozpouštědle $D_2O/EtOH$ pro široký interval polymer-ní i ethanolové koncentrace, mohou být vyvozeny následující závěry:

- Z měření teplotních závislostí separované frakce PVME (p -faktoru) jsme určili tvar fázového přechodu klubko–globule a můžeme konstatovat, že s rostoucí polymerní koncentrací se počátek fázového přechodu PVME posouvá k nižším teplotám, fázový přechod má strmější charakter a procento celkově separovaného PVME po fázovém přechodu se zvyšuje.
- Určili jsme, opět měřením p -faktoru, jak ovlivňuje tvar fázového přechodu ethanolová koncentrace a lze říci, že s rostoucí ethanolovou koncentrací začíná k fázové separaci docházet při vyšších teplotách, šířka přechodu se zvětšuje a hodnota frakce celkově separovaného PVME klesá.
- Užitím relaxačních experimentů bylo určeno dynamické chování molekul rozpouštědla během fázové separace. Měřeními 1H a ^{13}C spin-spinové relaxační doby vody resp. ethanolu po fázové separaci PVME jsme prokázali existenci dvou typů molekul rozpouštědla: volná voda (nebo ethanol) vyloučená z globulárních struktur a voda (ethanol) vázaná v globulárních strukturách, která je v interakci s PVME a tedy výrazně omezena v pohyblivosti.
- Dynamické chování molekul rozpouštědla je značně závislé na koncentraci PVME v roztoku. Pro vysokou 20 váh.% koncentraci PVME v roztoku byla ve spektru pozorována čára odpovídající ethanolu vázanému v globulárních strukturách. Tento jev umožnil oddělené studium dynamiky volného a vázaného rozpouštědla. Určením hodnot korelačních časů volného a vázaného ethanolu před a po fázové separaci byla potvrzena omezená pohyblivost vázaného ethanolu, což bylo zjištěno u obou skupin CH_2 i CH_3 . Methylová skupina CH_3 není v porovnání s CH_2 skupinou tolik bráněna v pohybu.

- Podrobná relaxační měření na vzorku s polymerní koncentrací $c = 20$ váh.% a ethanolovou koncentrací $c_{EtOH} = 10$ obj.%, který byl připraven dříve a jehož stáří bylo dva roky, odhalila přítomnost dvou typů chemické výměny: Pomalou výměnu mezi volným a vázaným ethanolem a rychlou výměnu mezi ethanolovými klastry. Byla určena rychlost obou výměn. Toto neobvyklé chování způsobené stárnutím vzorku je zřejmě způsobeno vznikem malých heterogenit, které jsou pak trvale přítomny ve struktuře PVME a výrazně ovlivňují dynamické chování systému, avšak ve spektru se neprojevují.

8 Literatura

- [1] Bloch, F.: “Nuclear Induction”, *Phys. Rev.* **70**, 460-474 (1946).
- [2] Günter, H.: *NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry*, John Wiley and Sons, Chichester (1995).
- [3] Levitt, M. H.: *Spin Dynamics: Basic of Nuclear Magnetic Resonance*, John Wiley and Sons, Chichester (2001).
- [4] Canet, D.: *Nuclear Magnetic Resonance: Concepts and Methods*, John Wiley and Sons, Chichester (1996).
- [5] Carr, H. Y.; Purcell E. M.: “Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments”, *Phys. Rev.* **94**, 630-638 (1954).
- [6] Meiboom, S.; Gill, D.: “Modified Spin–Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times”, *Rev. sci. Instrum.* **29**, 688-691 (1958).
- [7] Lipari, G.; Szabo, A.: “Model–Free Approach to the Interpretation of Nuclear Magnetic Resonance Relaxation in Macromolecules. 1. Theory and Range of Validity“, *J. Am. Chem. Soc.* **104**, 4546-4559 (1982).
- [8] Hore, P. J.: *Nuclear Magnetic Resonance*, Oxford University Press, Oxford (1995).
- [9] Luz, Z.; Meiboom, S.: “Nuclear Magnetic Resonance Study of the Protolysis of Trimethylammonium Ion in Aqueous Solution–Order of the Reaction with Respect to Solvent“, *J. Chem. Phys.* **39**, 366-370 (1963).
- [10] McConnell, H. M.: “Reaction Rates by Nuclear Magnetic Resonance“, *J. Chem. Phys.* **28**, 430-431 (1957).
- [11] Baguet, E.; Roby, C.: “Off–Resonance Irradiation Effect in Steady–State NMR Saturation Transfer“, *J. Magn. Reson.* **128**, 149-160 (1997).
- [12] Kingsley, P. B.; Monahan W. G.: “Effect of Off–Resonance Irradiation, Cross–Relaxation, and Chemical Exchange on Steady–State Magnetization and Effective Spin–Lattice Relaxation Times“, *J. Magn. Reson.* **143**, 360-375 (2000).

- [13] McQuarrie, D. A.; Simon, J. D.: *Physical Chemistry: A Molecular Approach*, University Science Books, Sausalito, California (1997).
- [14] Tiktopulo, E. I.; Uversky, V. N.; Lushchik, V. B.; Klenin, S. I.; Bychkova, V. E.; Ptitsyn, O. B.: “Domain’ Coil–Globule Transition in Homopolymers“, *Macromolecules* **28**, 7519-7520 (1995).
- [15] Moerkerke, R.; Meeussen, F.; Koningsveld, R.; Berghmans, H.; Moedelaers, W.; Schacht, E.; Dušek, K.; Šolc, K.: “Phase Transitions in Swollen Networks. 3. Swelling Behavior of Radiation Cross–Linked Poly(vinyl methyl ether) in Water“, *Macromolecules*, **31**, 2223-2229 (1998).
- [16] Graziano, G.: “On the Temperature–Induce Coil to Globule Transition of Poly–N–isopropylacrylamide in Dilute Aqueous Solutions“, *Int. J. Biol. Macromol.* **27**, 89-97 (2000).
- [17] Flory, P. J.: *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell University Press, Ithaca (1953).
- [18] Ptitsyn, O. B.; Kron, A. K.; Eizner, Y. Y.: “The Models of the Denaturation of Globular Proteins. I. Theory of Globula–coil Transitions in Macromolecules“, *J. Polym. Sci. Part C* **16**, 3509-3517 (1968).
- [19] Lifshitz, I. M.; Grosberg, A. Yu.; Khokhlov, A. R.: “Some Problems of the Statistical Physics of Polymer Chains with Volume Interaction“, *Rev. Mod. Phys.* **50**, 683-713 (1978).
- [20] Grosberg, A. Yu.; Khokhlov, A. R.: *Giant Molecules: Here, There, and Everywhere...*, Academic Press, San Diego, USA (1997).
- [21] Tanaka, T.: “Collapse of Gels and the Critical Endpoint“, *Phys. Rev. Lett.* **40**, 820-823 (1978).
- [22] Ilavský, M.: “Effect of Electrostatic Interaction on Phase Transition in the Swollen Polymeric Network“, *Polymer*, **22**, 1687-1691 (1981).
- [23] Shibayama, M.; Tanaka, T.: “Volume Phase–Transition and Related Phenomena of Polymer Gels“, *Adv. Polym. Sci.*, **110**, 1-62 (1993).
- [24] Khokhlov, A.; Starodubtsev, S.; Vasilevskaya, V. V.: “Conformational Transitions in Polymer Gels – Theory and Experiment“, *Adv. Polym. Sci.*, **110**, 123-175 (1993).
- [25] Dušek, K., Ed.: “Responsive Gels: Volume Transition I and II“, *Adv. Polym. Sci.*, **109** a **110**, Springer–Verlag (1993).

- [26] Ilavský, M.: “Phase–Transition in Swollen Gels. 2. Effect of Charge Concentration on the Collapse and Mechanical-Behavior of Polyacrylamide Networks”, *Macromolecules*, **15**, 782-788 (1982).
- [27] De Rossi, D.; Kajiwara, K.; Osada, Y.; Yamadin, A.: *Polymer Gels Fundamentals and Biomedical Applications*, Plenum Press, New York (1991).
- [28] Vidakovic, P.; Rondelez, F.: “Temperature–Dependence of the Hydrodynamic Radius of Flexible Coils in Solutions. 2. Transition from the Theta to the Collapsed State”, *Macromolecules*, **17**, 418-425 (1984).
- [29] Maeda, H.: “Interaction of Water with Poly(vinyl methyl ether) in Aqueous Solution”, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, **32**, 91-97 (1994).
- [30] Yang, Y.; Zeng, F.; Xie, X.; Tong, Z.; Liu, X.: “Phase Separation and Network Formation in Poly(vinyl methyl ether)/Water Solutions”, *Polym. J.*, **33**, 399-403 (2001).
- [31] Maeda, H.: “Dielectric and Calorimetric Behaviors of Poly(vinyl methyl ether)-Water Systems Including Unusual Relaxation Processes at Subzero Temperatures”, *Macromolecules*, **28**, 5156-5159 (1995).
- [32] Meeussen, F.; Bauwens, Y.; Moerkerke, R.; Nies, E.; Berghmans, H.: “Molecular Complex Formation in the System Poly(vinyl methyl ether)/Water”, *Polymer*, **41**, 3737-3743 (2000).
- [33] Horne, R. A.; Almeida, J. P.; Day, A. F.; Yu, N-T.: “Macromolekule Hydration and the Effect of Solutes on the Cloud Point of Aqueous Solutions of Polyvinyl Methyl Ether: A Possible Model for Protein Denaturation and Temperature Control in Homeothermic Animals”, *J. Colloid Interface Sci.*, **35**, 77-84 (1971).
- [34] Hanyková, L.; Spěváček, J.; Ilavský, M.: “¹H NMR Study of Thermotropic Phase Transition of Linear and Crosslinked Poly(vinyl methyl ether) in D₂O”, *Polymer*, **42**, 8607-8612 (2001).
- [35] Spěváček, J.; Hanyková, L.; Starovoytova, L.: “¹H NMR Relaxation Study of Thermotropic Phase Transition in Poly(vinyl methyl ether)/D₂O Solutions”, *Macromolecules*, v tisku.
- [36] Spěváček, J.; Hanyková, L.; Ilavský, M.: “Phase Separation in Poly(*N,N*-diethylacrylamide)/D₂O Solutions and Physical Gels as Studied by ¹H NMR Spectroscopy”, *Macromol. Chem. Phys.*, **202**, 1122-1129 (2001).

- [37] Spěvák, J.; Schneider, B.: “Aggregation of stereoregular poly(methyl methacrylates)”, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **27**, 81-150 (1987).
- [38] Bovey, F. A.; Anderson, E. W.; Douglass, D. C.; Manson, J. A.: “Polymer NMR Spectroscopy – The Use of ^1H - ^1H Spin Decoupling in the Elucidation of Polymer Structure”, *J. Chem. Phys.* **39**, 1199-1202 (1963).
- [39] Sun, P.; Li, B.; Wang, Y.; Ma, J.; Ding, D.; He, B.: “ ^1H NMR Studies of Poly(*N*-isopropylacrylamide) Gels Near the Phase Transition”, *Eur. Polym. J.*, **39**, 1045-1050 (2003).
- [40] Lang, J.; Dechter, J. J.; Effemey, M.; Kowalewski, J.: “Dynamics of an Inclusion of Chloroform and Cryptophane-E: Evidence for a Strongly Anisotropic van der Waals Bond.”, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 7852-7858 (2001).
- [41] Ferris, T. D.; Farrar, T. C.: “The Temperature Dependence of the Hydroxyl Deuterium Quadrupole Coupling Parameter and the Rotational Correlation Time of the OD Internuclear Vector in Neat Ethanol- d_1 .”, *Molec. Phys.*, **100**, 303-309 (2002).