



INSTYTUT FIZYKI
UNIwersytet Jagielloński

Magdalena Bacior

Badanie granic dehydratacji porostów antarktycznych

Praca na stopień doktora nauk biofizycznych
wykonana w Zakładzie Radiospektroskopii Instytutu Fizyki UJ
pod kierunkiem dr hab. Huberta Harańczyka

Kraków 2010

Podziękowania

Serdecznie dziękuję mojemu Promotorowi dr hab. Hubertowi Harańczykowi za wszechstronną pomoc i ogrom poświęconego czasu, co umożliwiło powstanie niniejszej pracy.

Kieruję podziękowania do Prof. dr hab. Marii Olech za dostarczenie próbek porostów oraz udostępnienie materiałów naukowych.

Dziękuję Prof. dr hab. Kazimierzowi Łątce za opiekę naukową w trakcie studiów doktoranckich.

Składam też podziękowania dr hab. Monice Marzec za wykonanie pomiarów DSC oraz wnikliwe dyskusje naukowe.

Dziękuję Koleżankom i Kolegom z Zakładu Radiospektroskopii, a szczególnie: inż. Tomaszowi Malarzowi za niezawodną pomoc w obsłudze spektrometru, konstrukcję termopary i pomoc w trakcie skalowania spektrometru MRJ, mgr Piotrowi Nowakowi za wykonanie części pomiarów temperaturowych MRJ, dr Magdalenie Witek za koleżeńską współpracę oraz mgr Mai Masłowskiej z Instytutu Botaniki UJ za oznaczenie żywotności komórek porostowych.

Dziękuję moim Rodzicom za wszechstronne wsparcie podczas powstawania tej pracy, mojemu mężowi Arkadiuszowi oraz córce Dominice za cierpliwość i wyrozumiałość.

SPIS TREŚCI

| | |
|--|-----------|
| 0. Wstęp | 9 |
| 1. Porosty | 11 |
| 1.1. Definicja i budowa porostów | 11 |
| 1.2. Przystosowanie porostów do życia w ekstremalnych warunkach środowiska..... | 13 |
| 1.2.1. Zdolność do przetrwania niskich temperatur..... | 14 |
| 1.2.2. Pobieranie wody ze śniegu | 15 |
| 1.2.3. Zdolność do hydratacji i dehydratacji z fazy gazowej | 15 |
| 1.3. Własności badanych porostów | 16 |
| 1.3.1. Charakterystyka plechy <i>Umbilicaria aprina</i> Nyl. | 17 |
| 1.3.2. Charakterystyka plechy <i>Umbilicaria decussata</i> (Vill.) Zahlbr | 18 |
| 2. Własności wody..... | 19 |
| 2.1. Makroskopowe własności wody..... | 19 |
| 2.2. Wiązanie wodorowe | 20 |
| 2.3. Polimorfizm lodu..... | 21 |
| 2.3.1. Struktura lodu I („heksagonalnego”, Ih)..... | 21 |
| 2.3.2. Polimorfy lodu | 22 |
| 3. Elementy teorii Magnetycznej Relaksacji Jądrowej | 26 |
| 3.1. Klasyczny opis zjawiska magnetycznej relaksacji protonowej..... | 26 |
| 3.2. Teoria operatora gęstości..... | 30 |
| 3.3. Hamiltonian spinowy..... | 32 |
| 3.4. Czasy relaksacji w układzie laboratoryjnym w obecności oddziaływania dipolowego i skalarnego..... | 34 |
| 3.5. Sygnał swobodnej precesji (FID) | 35 |

| | |
|--|-----------|
| 3.5.1. Sygnał zaniku swobodnej precesji dla protonów ciała stałego | 36 |
| 3.5.1.1. Model funkcji Gaussa | 36 |
| 3.5.1.2. Model funkcji Abrugama | 37 |
| 3.5.2. Model funkcji eksponencjalnej dla składowej cieczowej sygnału..... | 38 |
| 4. Izoterma sorpcyjna | 39 |
| 4.1. Model Langmuira..... | 39 |
| 4.2. Izoterma sorpcyjna model BET | 39 |
| 4.3. Izoterma sorpcyjna model Denta | 42 |
| 5. Materiały i metody | 47 |
| 5.1. Preparatyka próbek..... | 47 |
| 5.1.1. Plecha powietrznie sucha..... | 48 |
| 5.1.2. Pomiary masy próbki..... | 48 |
| 5.1.2.1. Pomiary suchej masy..... | 48 |
| 5.1.3. Wyznaczanie poziomu uwodnienia..... | 49 |
| 5.1.4. Pomiary żywotności komórek porostowych..... | 49 |
| 5.2. Hydratacja próbek..... | 49 |
| 5.3. Kalorymetria DSC..... | 51 |
| 5.3.1. Budowa kalorymetru DSC..... | 51 |
| 5.4. Pomiary MRJ | 52 |
| 5.4.1. Spektrometr MRJ | 52 |
| 5.4.1.1. Regulator temperatury spektrometru MRJ..... | 54 |
| 5.4.1.2. Skalowanie pomiaru temperatury | 54 |
| 5.4.2. Program CracSpin | 55 |
| 5.4.3. Analiza porównawcza wyników dopasowań uzyskanych dla różnych programów..... | 57 |
| 5.4.3.1. Analiza składowej stałej..... | 57 |
| 5.4.3.2. Analiza składowych cieczowych | 58 |
| 5.4.3.2.1. Analiza porównawcza czasów T_{2L1}^* i T_{2L2}^* składowych cieczowych..... | 58 |
| 5.4.3.2.2. Analiza porównawcza amplitud L_1 i L_2 składowych cieczowych..... | 59 |
| 6. Pomiary hydratacji plech porostów z rodzaju Umbilicaria..... | 61 |
| 6.1. Kinetyka hydratacji | 61 |
| 6.2. Izoterma sorpcyjna..... | 64 |
| 6.3. Pomiary zależności hydratacyjnych zaniku swobodnej precesji dla protonów | 68 |
| 6.3.1. Zanik swobodnej precesji dla Umbilicaria..... | 68 |
| 6.3.2. Zależność hydratacyjna składowej stałociągowej funkcji Abrugama..... | 71 |

| | |
|--|------------|
| 6.3.3. Zależność hydratacyjna sygnału cieczowego..... | 74 |
| 6.3.4. Izoterma sorpcyjna dopasowana do danych MRJ dla protonów | 78 |
| 7. Pomiary temperaturowe plechy <i>U. aprina</i> metodą MRJ | 83 |
| 7.1. Składowa stałociałowa funkcji zaniku swobodnej precesji..... | 83 |
| 7.2. Porównanie wartości parametru a dla różnych uwodnień..... | 84 |
| 7.3. Analiza czasów relaksacji..... | 87 |
| 7.4. Analiza amplitudy sygnału cieczowego.. .. | 91 |
| 7.5. Analiza składowej cieczowej L_1 | 93 |
| 7.6. Analiza składowej cieczowej L_2 | 94 |
| 7.7. Analiza amplitud sygnału dla składowej L_1 i L_2 na jednostkę całkowitego sygnału cieczowego..... | 95 |
| 8. Pomiary temperaturowe plechy <i>U. aprina</i> metodą DSC..... | 99 |
| 8.1. Pomiary przejść fazowych w funkcji szybkości chłodzenia | 99 |
| 8.2. Pomiary przejść fazowych w funkcji uwodnienia plechy | 100 |
| 8.3. Zależność temperatury przejścia fazowego w funkcji uwodnienia próbki..... | 103 |
| 8.4. Zmiana entalpii w funkcji uwodnienia próbki..... | 104 |
| 8.5. Cykle wielokrotnego zamrażania i odmarzania próbki | 105 |
| 8.6. Pomiar celem wyznaczenia przejścia szklistego | 108 |
| 9. Dyskusja..... | 109 |
| 9.1. Pomiary kinetyki hydratacji | 109 |
| 9.2. Izoterma sorpcyjna..... | 110 |
| 9.3. Pomiary zaników swobodnej precesji dla protonów | 111 |
| 9.4. Izoterma sorpcyjna MRJ..... | 111 |
| 9.5. Obecność frakcji stałej rozpuszczalnej w wodzie | 112 |
| 9.6. Proces przemiany wody luźno związanej w plesze <i>U. aprina</i> w frakcję wody ściśle związanej | 112 |
| 9.7. Zamrażanie i topnienie wody związanej w plesze <i>U. aprina</i> | 113 |
| 10. Wnioski..... | 115 |
| Literatura | 117 |
| Spis rysunków | 125 |
| Spis tabel..... | 130 |

0. Wstęp

Porosty antarktyczne są organizmami ekstremofilnymi odpornymi na działanie skrajnie niskich temperatur oraz głębokiej dehydratacji. Potrafią one dehydratować poniżej progu dwuwymiarowej perkolacji wody związanej w powierzchniach plechy. Są zdolne do przeprowadzania fotosyntezy, gdy plecha zawiera krystality lodu. Potrafią hydratować z fazy gazowej do poziomu uwodnienia wystarczającego do rozpoczęcia fotosyntezy. Silna dehydratacja plechy jest jednym ze sposobów przetrwania niskich temperatur doświadczanych przez porosty antarktyczne w warunkach naturalnych, tak więc zarówno odporność na wysuszenie, jak i odporność na zamrażanie może mieć podobny mechanizm molekularny. Poznanie granic dehydratacji wymaga informacji o liczbie miejsc wiążących wodę na powierzchni plechy, kolejności i kinetyce ich nasycania, oraz o frakcjach wody ściśle i luźno związanej na kolejnych etapach procesu hydratacji [Harańczyk, 2003].

Celem niniejszej pracy było badanie odporności na dehydratację oraz na niską temperaturę dwóch gatunków porostów antarktycznych z rodzaju *Umbilicaria*, a mianowicie *U. aprina* oraz *U. decussata*. Badane plechy zebrano na terenie Oazy Schirmachera w Antarktydzie Kontynentalnej, jednakże z różnych siedlisk. Pierwszy z badanych gatunków zasiedlał ciek lodowcowy, zaś drugi nunatak.

Procesy wiązania wody oraz tworzenia krystalitów lodu badano, stosując kinetykę hydratacji, izotermę sorpcyjną, magnetyczną relaksację dla protonów wysokiej mocy impulsu, a także kalorymetrię DSC.

W pierwszym rozdziale pracy omówiono budowę porostów, ich mechanizmy przystosowawcze do życia w ekstremalnych warunkach środowiska, ze szczególnym uwzględnieniem badanych gatunków.

W drugim rozdziale opisano własności makroskopowe i cząsteczkowe wody. W trzecim rozdziale omówiono podstawy magnetycznej relaksacji jądrowej, a w rozdziale czwartym różne modele opisujące izotermę sorpcyjną.

Piąty rozdział zawiera opis preparatyki próbek, aparatury, programu Cracspin do analizy funkcji relaksacji oraz analizę porównawczą różnic w dopasowaniach wykonanych programem CracSpin i OriginPro7.0.

Szósty rozdział prezentuje wyniki pomiarów hydratacyjnych dla plechy *U. aprina* i *U. decussata* uzyskanych kinetyką hydratacji, izotermą sorpcyjną oraz magnetyczną relaksacją jądrową dla protonów.

W rozdziale siódmym przedstawiono zależności temperaturowe zaników swobodnej precesji dla plechy *U. aprina*. Rozdział ósmy prezentuje pomiary temperaturowe, jednak wykonane metodą DSC.

Ósmy rozdział zawiera dyskusję otrzymanych wyników.

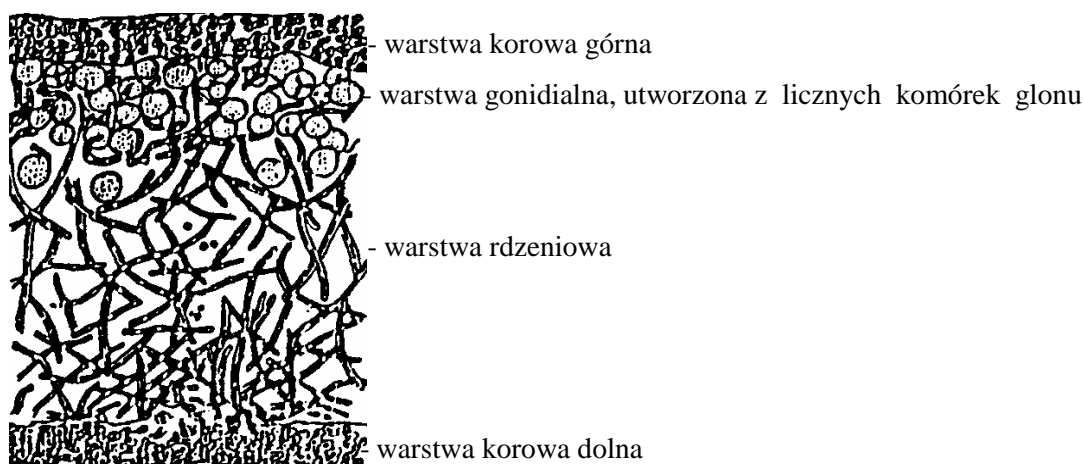
Praca zawiera również podsumowanie, spis cytowanej literatury, spis rysunków oraz spis tabel.

1. Porosty

1.1. Definicja i budowa porostów

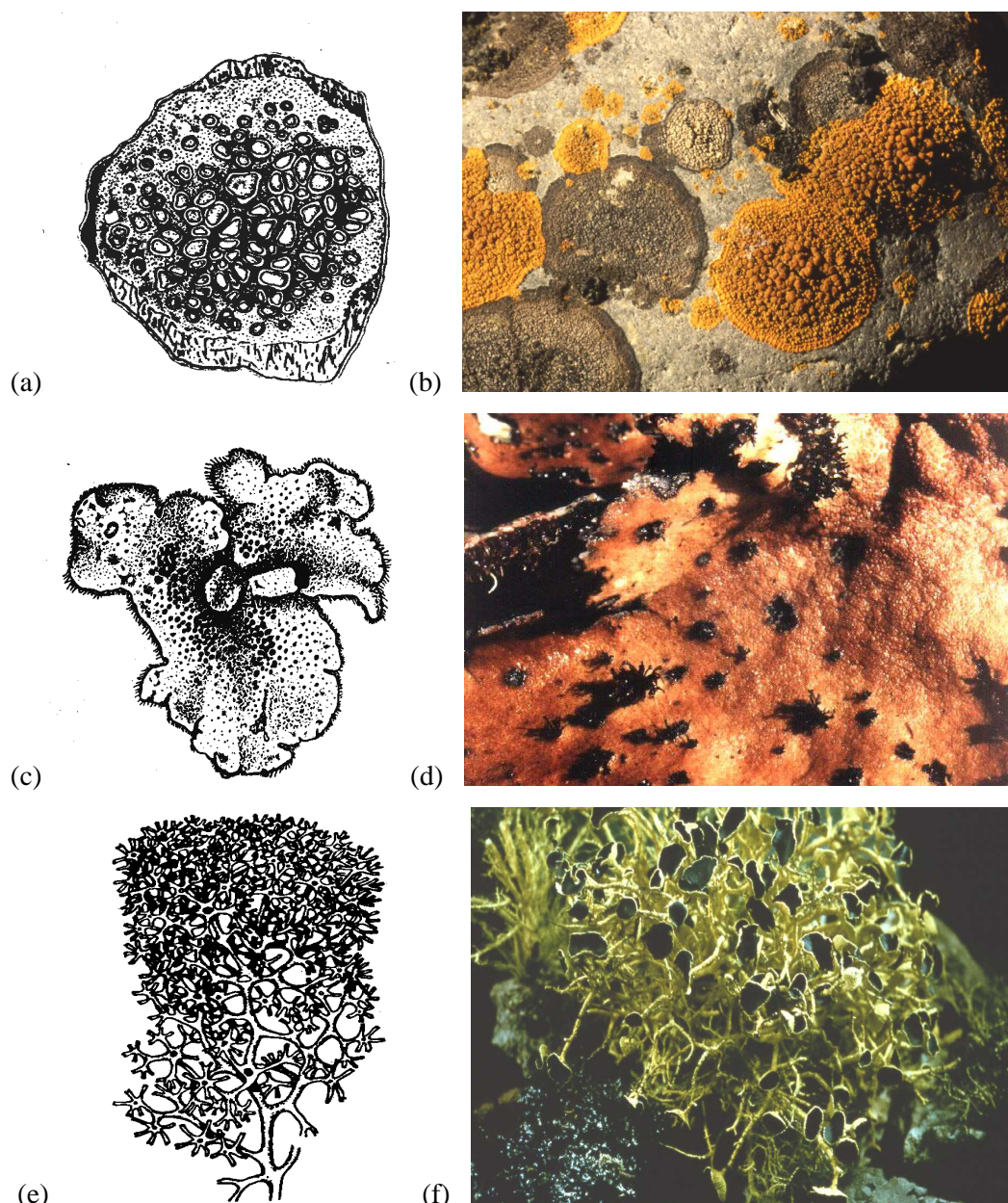
Porosty są grzybami zlichenizowanymi, powstają w wyniku połączenia komórek dwóch organizmów: heterotroficznego grzyba zwanego mykobiontem i zdolnego do przeprowadzenia fotosyntezy autotrofa zwanego fotobiontem. Autotrofem wchodzącym w skład porostu może być glon zielenica lub cyjanobakteria. Porosty są zaliczane do podkrólestwa grzybów (*Mycobionta*). Stanowią około 18% wszystkich gatunków grzybów [Szweykowska i Szweykowski, 2002; Lipnicki i Wójciak, 1995].

Ciało porostu tworzy plecha. Cechuje ją niewielkie zróżnicowanie pseudotkanek (brak łodygi, liści i korzenia). W przekroju poprzecznym plechy porostu można wyróżnić strzępki grzyba i komórki glonu (lub cyjanobakterii). W zależności od wzajemnego ułożenia obu komponentów, plechy porostów dzieli się na heteromeryczne, w których komórki glonów tworzą wyraźną warstwę (Rys.1.1.) oraz homeomeryczne, gdzie komórki glona nie tworzą wyraźnej warstwy, lecz rozmieszczone są równomiernie w całym przekroju plechy.



Rys. 1.1. Schemat plechy heteromerycznej porostu [Harańczyk, 2003].

Większość gatunków porostów posiada warstwę korową, o gęsto splecionych strzępkach grzyba, izolującą wewnątrz porostu od bezpośrednich wpływów środowiska zewnętrznego. Pod nią znajduje się tzw. warstwa gonidialna, zbudowana z komórek glonów, jeszcze głębiej warstwa rdzeniowa utworzona ze strzępek grzyba, a następnie dolna warstwa korowa lub warstwa chwytników, utworzona z leżących równolegle do siebie strzępek grzyba [Podbielkowski i in., 1982]. Porosty cechuje zróżnicowanie morfologiczne. Wyróżnia się trzy główne typy plech porostowych: skorupiaste, listkowate, krzaczkowate (Rys. 1.2).



Rys. 1.2. Główne typy morfologiczne plech porostowych: a) schemat plechy skorupiastej [Tobolewski, 1972]; b) *Caloplaca sublobulata* (pomarańczowa) i *Buellia latemarginata* (brązowa), fot. M. Olech; c) schemat plechy listkowatej [Tobolewski, 1972]; d) *Umbilicaria antarctica* (fot. H. Harańczyk); e) schemat plechy krzaczkowatej [Tobolewski, 1972]; f) *Usnea aurantiaco-atra* (fot. M. Olech).

Porosty o plesze skorupiastej (Rys.1.2.a i b) wrastają w zewnętrzne warstwy podłoża lub przytwierdzają się do niego dolną powierzchnią. W zależności od gatunku porostu powierzchnia plechy skorupiastej może być popękana, brodawkowata, gładka lub pomarszczona. Porosty listkowate (Rys.1.2.c i d) mają plechę grzbietobrzusznie spłaszczoną, o kształcie listków. Może ona być przyłączona do podłoża dolną warstwą korową lub przy pomocy uczepu. Porosty o plesze krzaczkowatej (Rys.1.2.e i f) utworzonej z rozgałęzionych odcinków plechy lub pojedynczych trzoneczków są przyłączone do podłoża tylko podstawą.

Relacja między komponentami porostowymi jest opisywana teorią symbiozy mutualistycznej albo antagonistycznej.

Koncepcja symbiozy mutualistycznej zakłada, że współżycie glonu i grzyba jest w równym stopniu korzystne dla obu symbiontów. Grzyb dostarcza wody z solami mineralnymi, buduje plechę i zapewnia schronienie, natomiast glon wytwarza cukier (końcowy produkt fotosyntezy). Sformułowana przez Quispela teoria mutualizmu częściowego mówi o tym, że we wspólnocie porostowej grzyb jest elementem panującym. Pobiera on z komórek glonu potrzebne substancje organiczne, oraz uniemożliwia glonowi wytworzenie organów rozmnażania płciowego i w ten sposób tłumi jego rozwój. Przeprowadzana przez glon fotosynteza jest pobudzana kwasem askorbinowym lub substancjami pokrewnymi wytwarzanymi przez komórki grzyba. Grzyb, który korzysta z substancji wyprodukowanych przez komórki glonu, żyje jak saprofit na martwych komórkach glonów lub jak pasożyt na żywych [Podbielkowski i in., 1982; Szweykowska i Szweykowski, 2002].

Koncepcja symbiozy antagonistycznej wyróżnia kilka wariantów: niewolnictwo (helotyzm) - kiedy grzyb zapewnia glonowi ograniczone warunki wegetacji aby skorzystać z wytwarzanych przez glon substancji organicznych; pasożytnictwo - kiedy grzyb wnika ssawkami do wnętrza komórek glonów i powoduje ich śmierć oraz endosaprofityzm, kiedy grzyb odżywia się kosztem martwych komórek glonów, których śmierć nie jest przypisywana grzybowi. Dla większości gatunków porostów najbliższa prawdy jest teoria Quispela [Podbielkowski i in., 1982; Bystrek 1997].

1.2. Przystosowanie porostów do życia w ekstremalnych warunkach środowiska

Porosty wykształciły szereg mechanizmów przystosowawczych, umożliwiających im życie w skrajnie trudnych warunkach środowiskowych. Są odporne na działanie niskich temperatur,

przejawiają aktywność fotosyntetyczną nawet wtedy, gdy ich plecha jest zamrożona, czy pokryta śniegiem, są zdolne przetrwać skrajne wysuszenie.

1.2.1. Zdolność do przetrwania niskich temperatur

Długotrwałe działanie niskich temperatur nie szkodzi plesze wielu gatunków porostów. Porosty antarktyczne *Xanthoria mawsoni* oraz *Rhizoplaca melanophthalma* znoszą spadki temperatury nawet do -196°C bez uszkodzeń plechy [Kappen, 1993]. Trwająca 3.5 lat inkubacja porostu *Alectoria ochroleuca* (Hoffm.) Massal. w temperaturze -60°C nie zmieniła odpowiedzi fotosyntetycznej na zmianę poziomu uwodnienia plechy, temperatury, intensywności światła, po rozmrożeniu, w porównaniu ze świeżo zebrany porostem [Larson, 1978]. Podczas długotrwałego działania niskich temperatur w strukturach żywych organizmów zachodzą liczne szkody wywołane zamarzaniem wody. Porosty przystosowały się do działania niskich temperatur poprzez stymulację pozakomórkowego zamarzania wody. Dzięki temu unikają śmiertelnego procesu wewnątrzkomórkowej formacji kryształitów lodu Ih. Tworzenie się kryształitów lodu (ang. *ice nucleation activity*) poza komórkami porostu występuje w temperaturze znacznie wyższej niż niskotemperaturowa granica jego aktywności fotosyntetycznej [Nash III i in., 1987; Burke i in., 1976; Kiefti Ahmadjian; 1989, Kieft i Rusceti, 1990]. Powolne ochładzanie porostu *Umbilicaria aprina* pochodzącego z Antarktyki Kontynentalnej powoduje nukleację kryształitów lodu w temperaturze -5.4°C . W trakcie trwania zewnątrzkomórkowego zamarzania wody w strukturze plechy porostu następuje dehydratacja żywych komórek grzyba uniemożliwiająca wzrost kryształitu lodu we wnętrzu komórek. W jej wyniku w korowych i rdzeniowych strzępkach grzyba porostowego tworzą się puste przestrzenie [Schroeder i Scheidegger, 1995]. Wydaje się, że w odporności na zamarzanie na poziomie molekularnym istotną rolę w ochronie przed zimnem odgrywają cukry i wieloalkohole [Kaurin i in., 1981].

W odróżnieniu od roślin naczyniowych wiele gatunków porostów jest zdolnych do przeprowadzenia fotosyntezy w temperaturach poniżej 0°C . W warunkach laboratoryjnych *Cladonia convoluta* i *Cladonia foliacea* wykazują zdolność do fotosyntezy nawet w temperaturach -22°C i -24°C , natomiast w warunkach naturalnych *Usnea sphacelata* z Antarktyki Kontynentalnej jest aktywna fotosyntetycznie w temperaturze -10°C [Kappen, 1989; Schroeter i in., 1994].

Gatunkiem porostu, w którym stwierdzono zachodzenie fotosyntezy w najniższych temperaturach jest *Umbilicaria aprina* (patrz rozdział 1.3.1.).

1.2.2. Pobieranie wody ze śniegu

Dla porostów zamieszkujących Antarktykę kontynentalną głównym źródłem wilgoci w temperaturze poniżej 0°C jest śnieg oraz lód. Dla niektórych gatunków porostów obecność pokrywy śnieżnej jest szkodliwa, inne przystosowały się do jej obecności [Kappen i in., 1990]. Śnieg ogranicza wpływ ekstremalnych temperatur na plechę oraz zapewnia wilgotne środowisko i przepuszcza ilość światła umożliwiającą przeprowadzenie procesu fotosyntezy [Kappen i Breuer, 1991]. Porosty antarktyczne podczas okresu aktywności fotosyntetycznej doświadczają temperatur rzadko przekraczających 8°C . Grubość pokrywy śnieżnej od 1 do 4 cm nie zatrzymuje aktywności fotosyntetycznej porostów [Kappen i in., 1991]. Pod warstwą śniegu o grubości 10 – 20 cm *Cetraria nivalis* uwadnia się do wartości $\Delta m/m_0 = 1.4 - 2.2$, a pod warstwą śniegu o grubości 1 – 5 cm do $\Delta m/m_0 = 1.7 - 2.05$. Tymczasem *Usnea sphacelata* uwadnia się do wartości $\Delta m/m_0 = 0.5 - 1.1$ i odpowiednio do $\Delta m/m_0 = 0.5 - 1.95$ [Kappen i in., 1995]. Pod warstwą śniegu o grubości 5 cm uwodnienie *Usnea antarctica* wynosi $\Delta m/m_0 = 0.77 - 1.65$ [Kappen i Breuer, 1991]. Proces uwadniania następuje w drodze sublimacji.

1.2.3. Zdolność do hydratacji i dehydratacji z fazy gazowej

Porosty są organizmami zdolnymi do uwodnienia z fazy gazowej i dehydratacji do fazy gazowej [Pugnaire i Valladares, 1999].

Dla kontrastu rośliny naczyniowe, zdolne są do podtrzymywania uwodnienia dzięki obecności korzenia, tkanek okrywających i przewodzących. Mogą zostać uwodnione i szybko aktywowane przez deszcz, rosę, mgłę, wilgotne powietrze lub śnieg.

Porost *Teloschistes lacunosus* przejawia aktywność fotosyntetyczną już przy poziomie uwodnienia równym $\Delta m/m_0 \approx 0.2$ [Del-Prado i Sancho, 2000], *Usnea aurantiaco-atra* przy $\Delta m/m_0 = 0.2 - 0.3$, natomiast *Usnea sphacelata (sulphurea)* przy $\Delta m/m_0 = 0.4$ [Kappen, 1985]. Wydajność fotosyntetyczna plechy porostów przy niskim poziomie uwodnienia zależy prawie liniowo od $\Delta m/m_0$. Jednakże dla silnie uwodnionej plechy porostu wydajność fotosyntetyczna obniża się [Nash III i in., 1990]. *Usnea sphacelata* oraz *Usnea aurantiaco-atra* wykazuje maksymalną wydajność fotosyntetyczną przy $\Delta m/m_0 = 0.7$ [Kappen, 1985b], zaś *Usnea antarctica* i *Usnea sphacelata* dla $\Delta m/m_0 = 0.85$ [Kappen i Breuer, 1991].

Dla plechy *Ramalina terebrata* Hook.f. & Taylor wydajność fotosyntetyczna jest mniejsza w plesze uwodnionej do $\Delta m/m_0 = 1.12$ niż w plesze o uwodnieniu mniejszym niż $\Delta m/m_0 = 0.92$, osiągając maksimum dla $\Delta m/m_0 = 0.87$ [Kappen i in., 1986]. Optimum fotosyntezy dla *Lasallia pustulata* jest przy $\Delta m/m_0 = 1.5$, a dla *Umbilicaria spadochroa* dla $\Delta m/m_0 = 0.9$ [Kappen i in., 1996]. Temperatura i maksimum wydajności fotosyntetycznej zmienia się wraz z temperaturą siedliska porostów. Przykładowo u śródziemnomorskiej populacji porostu *Umbilicaria nylanderiana* obserwowano wzrost maksimum fotosyntetycznego z $+3^{\circ}\text{C}$ dla populacji antarktycznej do $+15^{\circ}\text{C}$ [Sancho i in., 2000].

Procesy życiowe porostów zatrzymują się przy wilgotności względnej poniżej $p/p_0 = 70\%$ dla *Dendrographa minor* oraz przy $p/p_0 = 85\%$ dla *Pseudocyphellaria antraspis*. W warunkach naturalnych, podczas trwania okresu deszczowego ilość wody pobieranej z otoczenia może wynosić: od $\Delta m/m_0 = 0.15$ dla *Usnea antarctica* do $\Delta m/m_0 \approx 0.9$ dla *Mastodia tessellata*. Po ustaniu opadów ubytek wody z plechy jest niższy i wynosi: od $\Delta m/m_0 = 0.085$ dla *Umbilicaria decussata* do $\Delta m/m_0 = 0.388$ dla *Turgidosculum complicatulum* [Huiskes i in., 1997]. Porost z gatunku *Lasallia pustulata* hydratuje się do poziomu $\Delta m/m_0 = 4$ [Kappen i in., 1996]. Maksymalne uwodnienie porostu z gatunku *Cetraria nivalis* rośnie wraz ze wzrostem szerokości geograficznej od $\Delta m/m_0 = 2.9$ do $\Delta m/m_0 = 4$ [Schipperges i in., 1995].

Porosty przystosowały się do życia w suchym środowisku przez akumulację monosacharydów, takich jak: glukoza, fruktoza, mannitol, arabitol w komórkach mykobiontu [Hamada i in., 1994].

Dla wilgotności powietrza $p/p_0 = 9\%$, plecha porostu odwadnia się do poziomu $\Delta m/m_0 \approx 0.15$, a następnie wolniej do poziomu $\Delta m/m_0 \approx 0.07$ (gdzie m_0 to sucha masa porostu wyznaczona po wyprażeniu plechy w temperaturze 70°C) [Harańczyk, 2003].

Maksymalna zawartość wody w plesze nasączonej przez 30 min wodą destylowaną wahała się między 1.55 dla *Umbilicaria cinereorufescens* (Schaer.) Frey, a 3.1 dla *Umbilicaria plyrrhiza* (L. Ach.) [Valladares i in., 1998].

1.3. Własności badanych porostów

Badane porosty należą do kosmopolitycznego rodzaju *Umbilicaria*. Obejmuje on głównie duże, listkowate gatunki porostów z plechą przymocowaną do podłoża uczepem. Heteromeryczna plecha ma dwie warstwy korowe, dolną i górną oraz wyraźnie odgranicozoną

warstwę gonidialną, zawierającą jednokomórkowy glon *Trebouxia* z grupy zielenic. Porosty z rodzaju *Umbilicaria* występują głównie w górach, w regionach alpejskich i polarnych, na stabilnych i odpornych na warunki atmosferyczne skałach. Poszczególne gatunki rodzaju *Umbilicaria* są często trudne do rozróżnienia (np. gatunek *U. aprina* od *U. africana* [Sancho i in., 1992]).

W Antarktyce rodzaj *Umbilicaria* jest szeroko rozpowszechniony, a poszczególne gatunki można spotkać głównie na ocienionych, skierowanych na północ zboczach i otoczkach w zbiorowiskach porostów krzaczkowatych i mchów. Znacznie rzadziej występują na skałach skierowanych na południe, natomiast są całkowicie nieobecne na klifach i otoczkach wyeksponowanych na wiatr i sól morską, oraz na siedliskach obfitujących w azot, które są preferowane przez ornitokopofilne porosty rosnące blisko siedlisk fok i pingwinów [Krzewicka i Smykla, 2004].

1.3.1. Charakterystyka plechy *Umbilicaria aprina* Nyl.

Umbilicaria aprina występuje bipolarnie, można ją także spotkać w górach wschodniej Afryki [Schroeter i in. 1994; Krzewicka i Smykla, 2004]. Jest to porost szeroko rozpowszechniony w Antarktyce kontynentalnej. Rośnie w pobliżu strumieni wody pośniegowej oraz na powierzchniach skierowanych na północ otoczek [Sancho, i in., 1992; Schroeter i in. 1994]. Podczas lata oba te siedliska mają zróżnicowane warunki wilgotności. Otóż w miejscach, w których pojawia się stopiona woda, plecha porostu jest często wilgotna i aktywna metabolicznie przez wiele dni i tygodni. *U. aprina* porastająca odsłonięte powierzchnie kamieni jest nieaktywna przez dłuższy czas i jej aktywność metaboliczna jest uzależniona od opadów śniegu. Średnica plechy zwykle nie przekracza 2 cm, chociaż w korzystnych warunkach może osiągnąć 20 cm. Górna powierzchnia plechy jest biała, białawo-szara, bladobrazowa lub szarobrazowa. Dolna powierzchnia jest gładka, czasem siateczkowata, bledsza bliżej brzegu. Ma zabarwienie ciemne, ciemnoczarne lub czarne i posiada liczne chwytники. Plecha porostu jest jednolistna.

Powietrznie sucha plecha *U. aprina* rehydratuje ze śniegu w temperaturach poniżej 0°C [Schroeter i Scheidegger, 1995]. Pobieranie wody ze śniegu zachodzi za pośrednictwem fazy gazowej, z pary wodnej sublimującej ze śniegu [Harańczyk, 2003]. Powietrznie sucha plecha ($\Delta m/m_0 = 0.09$) pokryta śniegiem w ciemności po 16 godzinach uwadnia się do $\Delta m/m_0 = 0.25$ w -14°C , natomiast do $\Delta m/m_0 = 0.56$ w -4.5°C . Uwodnienie plechy ze śniegu, za pośrednictwem fazy gazowej zachodzi do

poziomu cztery razy niższego od uwodnienia plechy z fazy ciekłej (wtedy $\Delta m/m_0 > 2$). *U. aprina* zdolna jest przeprowadzać fotosyntezę w temperaturze -17°C , co jest najniższą wartością zarejestrowaną aktywności fotosyntetycznej u porostów w warunkach naturalnych [Schroeter i in., 1994]. Powyżej -3°C wydajność fotosyntetyczna plechy rośnie ze wzrostem temperatury i zawartości wody. Zawartość wody w plesze wynosząca około 100% suchej masy wydaje się być optymalna dla wydajności fotosyntezy. Przy spadku temperatury maksimum wydajności fotosyntetycznej spada w dwóch fazach: najpierw szybko między -1°C a -9°C do około 10% poziomu w $+1^{\circ}\text{C}$, a następnie wolniej do bardzo niskich poziomów w -17°C . Prawdopodobnie jest to efekt wzrostu odporności na dyfuzję CO_2 , w wyniku nukleacji krystalitów lodu w -5.4°C [Schroeter i Scheidegger, 1995].

1.3.2. Charakterystyka plechy *Umbilicaria decussata* (Vill.) Zahlbr.

Umbilicaria decussata jest rozpowszechniona w Antarktyce kontynentalnej oraz w Antarktyce morskiej, na Szetlandach Południowych. Plecha *U. decussata* ma kolor czarny i występuje na krzemianowych skałach w wolnych od śniegu, nadbrzeżnych obszarach Antarktyki. Nie jest to gatunek ornitokopfilny. Zwykle występuje w zacienionych siedliskach, takich jak na północ skierowane skały (głównie granity, granodioryty, kwarcyty, skały wulkaniczne i gabro) oraz w niszach i szczelinach, gdzie woda z topniejącego śniegu jest dostępna w lecie. Zbiorowiska porostów antarktycznych zdominowane przez porost *U. decussata* generalnie występują w nadbrzeżnych siedliskach, często w towarzystwie krzaczkowatego porostu *Usnea sphaceolata*, i skorupiastych gatunków, takich jak *Buellia frigida*, *Lecidea cancriformis*, *Acarospora gwynnii*, *Lecanora physciella* i *Rhizocarpon geographicum* [Sancho, i in., 1992; Bargagli, i in., 1999; Hovenden, 2000]. *U. decussata* ma plechę jednolistną, której górna powierzchnia jest blada, pomarszczona, biała lub popielatoszara z bledszym centrum. Dolna powierzchnia plechy jest gładka, czarna, o końcach brązowych lub szarych. [Krzewicka i Smykla, 2004]. Badania porostu *Umbilicaria decussata* pochodzącego z siedlisk wilgotnych ($\Delta m/m_0 \approx 2.0$) i suchych ($\Delta m/m_0 \approx 0.17$) wykazały, że plechy z wilgotnych siedlisk cechuje nieznacznie podwyższona temperatura zamarzania plechy: -13°C , w porównaniu do -16°C dla plech pochodzących z suchych siedlisk. Może to wskazywać na większą zawartość wody w plesze przy przedłużającym się uwodnieniu lub niższą koncentrację jonów, bądź innych substancji rozpuszczonych dla plech z siedlisk wilgotnych [Melick i Seppelt, 1994]. Dla *Umbilicaria decussata* maksimum wydajności fotosyntetycznej zachodzi dla $\Delta m/m_0 = 1.0$ [Kappen i Breuer, 1991].

2. Własności wody

2.1. Makroskopowe własności wody

Woda jest najpowszechniej spotykaną w przyrodzie cieczą, a jej własności mogą determinować zdolność organizmów żywych do przetrwania skrajnych warunków środowiskowych. Jest charakteryzowana przez liczne anomalie własności makroskopowych [Lehninger, 1979; Lenk, 1986; Stillinger, 1980; Weast, 1974-75], a mianowicie spadek objętości podczas topnienia (w 0°C , dla $p=p_{\text{atm}}$, $\rho_{\text{H}_2\text{O}} = 0.99987 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $\rho_l = 0.922 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$); maksimum gęstości ($\rho_{\text{H}_2\text{O}} = 1 \text{ g/cm}^2$ w $t = 3.98^{\circ}\text{C}$, dla $p = p_{\text{atm}}$); wysokie wartości temperatur topnienia (0°C), wrzenia (100°C), oraz temperatury krytycznej (374.1°C) dla substancji o tak małej masie cząsteczkowej, która nie jest jonowa ani metaliczna. Wodę cechują wysokie wartości ciepła topnienia ($6.03 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$), parowania ($40.71 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ w 20°C) oraz ciepła sublimacji ($46.93 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$). Ma ona wysokie wartości stałej dielektrycznej ($\epsilon = 80.37$ w 20°C) oraz dużą wartość napięcia powierzchniowego ($73.05 \cdot 10^{-5} \text{ N} \cdot \text{cm}^{-1}$ w 18°C).

Jedną z interesujących własności wody jest tworzenie polimorfów krystalicznych (15 faz krystalicznych i trzy fazy amorficzne). Do makroskopowych własności wody należy również anomalna wartość ciepła właściwego ($C_p = 75.42 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot ^{\circ}\text{C}^{-1}$ w stanie ciekłym, $37.71 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot ^{\circ}\text{C}^{-1}$ w stanie stałym oraz gazowym), a także duża ruchliwość jonów H^+ i OH^- ($u_+ = 3.62 \cdot 10^{-3}$ dla H^+ i $u_- = 1.98 \cdot 10^{-3} \frac{\text{cm}}{\text{v} \cdot \text{s}}$ dla OH^- w 25°C [Eigen, De Maeyer, 1958]).

Ponadto woda jest uniwersalnym rozpuszczalnikiem oraz niezwykle korozyjnym medium.

2.2. Wiązanie wodorowe

Molekuła wody jest zbudowana z atomu tlenu i dwóch atomów wodoru. Kąt pomiędzy wiązaniami H-O-H wynosi $\Theta = 104.45^\circ$. Wiązania w cząsteczce są utworzone przez hybrydyzowany orbital sp^3 atomu tlenu i orbitale $1s$ atomów wodoru.

Molekuła wody może być zarówno donorem do dwóch jak i akceptorem protonów z dwóch wiązań wodorowych. Donorem wiązania wodorowego jest atom wodoru związany z atomem elektroujemnym (zwykle z fluorem, tlenem lub azotem), natomiast akceptorem wiązania wodorowego jest inny elektroujemny atom, (jak fluor, tlen, czy azot) niezależnie od tego czy jest powiązany z atomem wodoru, czy nie jest. Chmura elektronowa od jądra wodoru jest przyciągana przez atom elektroujemny (np. tlen w molekułe wody) i atom wodoru zyskuje ładunek dodatni. Kiedy duża gęstość ładunku dodatniego przyciąga samotną parę elektronów innego heteroatomu (który nie jest wodorem ani węglem) powstaje wiązanie wodorowe, a heteroatom staje się akceptorem wiązania wodorowego.

Wiązanie wodorowe bywa opisywane jako oddziaływanie elektrostatyczne dipolowe, chociaż ma ono także pewne cechy wiązania kowalencyjnego jak kierunkowość, siła, ograniczona liczba partnerów tworzących je, odległości między atomami mniejsze niż suma promieni van der Waalsowskich [Latimer i Rodebush, 1920; Harańczyk, 2009]. Jest ono silnie kierunkowe, wiązanie chemiczne zawierające wodór dąży do tego, aby dokładnie celować na jądro atomu akceptującego. Energia wiązania wodorowego (~ 21 kJ/mol) jest pośrednia między słabymi oddziaływaniami van der Waalsa (~ 1.3 kJ/mol) oraz silnymi wiązaniami kowalencyjnymi (~ 420 kJ/mol) [Harańczyk, 2003].

Teoretyczne analizy [Coulson, 1957] doprowadziły do przedstawienia następujących warunków tworzenia wiązań wodorowych X-H...Y:

(a) wiązanie X-H powinno być częściowo jonowe, atom X powinien być silnie elektroujemny, prowadząc do $\bar{X} \dots H^+$, orbital $1s$ wodoru nie zostaje całkowicie wykorzystany do utworzenia wiązania kowalencyjnego X-H i jest dostępny do pokrycia orbitalu wolnej pary elektronów z Y

(b) atom Y powinien mieć samotną parę elektronów w asymetrycznym orbitalu

(c) dla najsilniejszego oddziaływania tzn. dla maksymalnej energii wiązania, wiązanie X-H oraz oś orbitalu swobodnej pary elektronów powinny być kolinearne

Obecnie uważa się, że do wiązania wodorowego wnoszą wkład następujące człony [Rao, 1972]: „człon elektrostatyczny” opisujący oddziaływanie bez istotnej deformacji chmur elektronowych oraz wymiany elektronowej; „człon delokalizacyjny” związany dalekozasięgową, ciągłą dystorsją chmur elektronowych; „człon dyspersyjny” opisujący krótko-

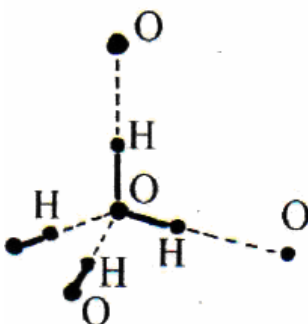
zasięgowy, skoordynowany ruch elektronów oraz „człon odpychający” związany z zakazem Pauliego.

Wartości energii wiązania wodorowego mieszczą się w zakresie między -13 kJ/mol, a -33 kJ/mol. Dokładna wartość sugerowana przez Suresha i Naika wynosi $H = -23.7$ kJ/mol [Suresh, Naik 2000]. Czas życia wiązania wodorowego wyznaczony z rozpraszania światła wyniósł około ~ 0.3 ps dla 396 K i około ~ 1 ps dla 252 K [Chen & Teixeira, 1985]. Jednakże symulacje molekularne dostarczają wartości dwa razy krótszych [Starr i in., 1999].

2.3. Polimorfizm lodu

2.3.1. Struktura lodu I („heksagonalnego”, Ih)

Wyróżnia się piętnaście faz krystalicznych wody oraz dwie fazy amorficzne w zakresie między 0 a 128 GPa oraz 0 a 400 K [Harańczyk, 2009]. Lód Ih powstaje, gdy woda zamarza pod ciśnieniem atmosferycznym. W lodzie heksagonalnym każdy atom tlenu umiejscowiony jest w centrum tetraedru, podczas gdy cztery najbliższe, sąsiadujące mu atomy tlenu znajdują się w wierzchołkach tetraedru. Odległości pomiędzy sąsiadującymi tlenami wynoszą 2.76 Å.

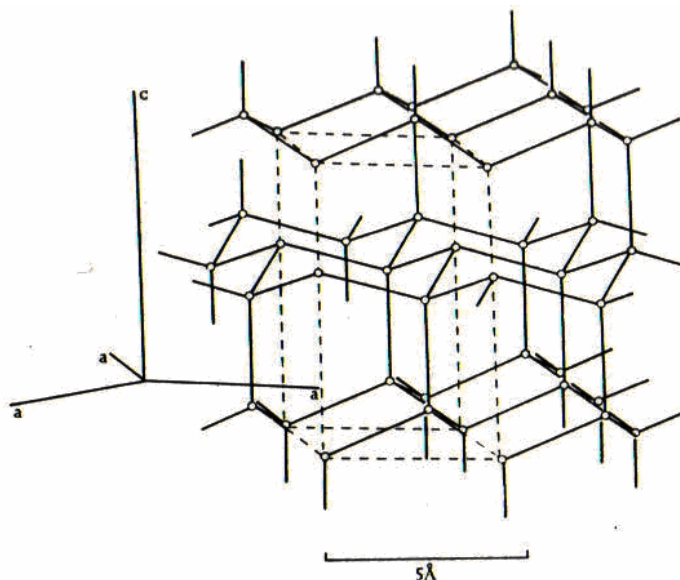


Rys. 2.1. Struktura lodu I. Każda molekula wody jest związana wiązaniem wodorowym do czterech najbliższych sąsiadów [Rys. H. Harańczyk].

Każda cząsteczka wody wiąże się wiązaniem wodorowym z czterema najbliższymi sąsiadami. Wymiary molekuł wody w lodzie Ih niewiele różnią się od tych w izolowanych molekułach: odległość O-H wynosi 1.01 Å, kąt H-O-H jest podobny jak w izolowanej molekułce, gdzie wynosi 104.5° [Eisenberg i in., 1969]. Przestrzenna struktura kryształitów lodu Ih jest formowana z pofałdowanych, „materacowych” warstw prostopadłych do osi c, utworzonych z heksagonalnych pierścieni w krzesłowej formie cykloheksanu.

Komórka elementarna lodu Ih zbudowana z czterech atomów tlenu ma symetrię $P6_3/mmc$. Rozmieszczenie atomów tlenu jest izomorficzne z formą wurcytu i siarczku cynku

oraz atomami krzemu w strukturze tridymitu dwutlenku krzemu [Bragg, 1922]. W strukturze lodu Ih występują puste kanały biegnące równoległe i prostopadle do osi c. Ich obecnością tłumaczy się pływanie lodu Ih w trakcie jego topnienia [Eisenberg i in., 1969].



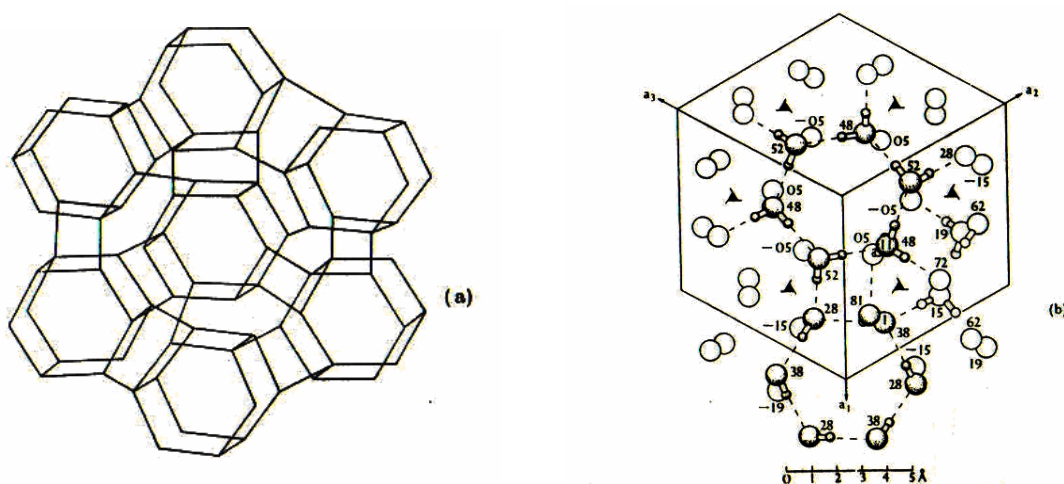
Rys. 2.2. Rozmieszczenia atomów tlenu w lodzie I. Cztery molekuły przypadają na jednostkę elementarną, co zostało zaznaczone przerywaną linią. [Owston, 1958].

2.3.2. Polimorfy lodu

Przy podwyższonym ciśnieniu powstają lody od II do XV. Lód VIII jest niskotemperaturową modyfikacją lodu VII, lód IX niskotemperaturową modyfikacją lodu III, a lód X niskotemperaturową modyfikacją lodu VI. Większość polimorfów wysokociśnieniowych może występować metastabilnie w temperaturze ciekłego azotu i pod ciśnieniem atmosferycznym.

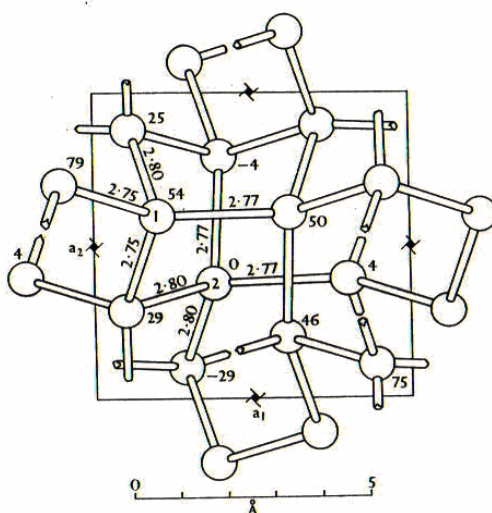
W fazach lodu tworzonych przy umiarkowanie podwyższonym ciśnieniu (lód II, III, IV, V, IX i XI) molekula wody nadal jest połączona wiązaniem wodorowym do najbliższych czterech sąsiadów, lecz powstałe struktury są mniej regularne niż w lodzie Ih. Odległość najbliższych związanych wiązaniem wodorowym sąsiadów wynosi $(2.8 \pm 0.1) \text{ \AA}$ tak jak w lodzie Ih, natomiast odległość najbliższych nie związanych wiązaniem wodorowym sąsiadów jest krótsza $(3.2 \pm 3.5) \text{ \AA}$, w porównaniu do 4.5 \AA w lodzie Ih. Upakowanie przestrzenne molekuł w wysokociśnieniowych fazach lodu, rośnie nie ze względu na skracanie się wiązań wodorowych, ale ze względu na ich odkształcenie [Eisenberg i Kauzman, 1969]. Komórka lodu II jest romboedryczna i zawiera 12 molekuł wody. Struktura lodu utworzona jest z

pierścieni heksagonalnych tworzących kanały, pozostałych po kolumnach lodu Ih, lecz ściślej połączonych. Kolumny heksagonalnych pierścieni są przesunięte w górę lub w dół, równoległe do osi c . Ze względów sterycznych pierścienie heksagonalne w każdej kolumnie są skręcone względem siebie o 15° oraz znacząco spłaszczone (pierścień zawierający tlen I). Pierścień zawierający tlen I jest bardziej powyginany niż w lodzie Ih. Tylko dwa kąty O-O-O są kątami donorowymi i wiązania wodorowe są zgięte średnio o kąt $\Theta=8^{\circ}$. Występuje uporządkowanie wodorów. Lód II charakteryzuje stosunkowo duża gęstość ($\rho=1.17$ g/ml) w porównaniu z gęstością lodu Ih ($\rho_{Ih}=0.92$ g/ml). W lodzie II występują dwa typy molekuł: o kącie H-O-H równym 103.2° oraz 107.6° [Kamb, 1964].



Rys. 2.3 (a) Topologia wiązania wodorowego w lodzie II. Każda linia reprezentuje wiązanie O-H...O, a połączenie czterech linii przedstawia molekułę wody. Długości wiązań wodorowych i kąty nie są przerysowane w takiej skali jak na rys. (b). Na rysunku widoczne jest siedem heksagonalnych kolumn podobnych do tych w lodzie I [Levine, 1966]. (b) Struktura lodu II. Dla tej struktury może zostać wybrana albo romboedryczna albo heksagonalna komórka elementarna. Tutaj narysowano romboedryczną jednostkę elementarną, a widok przedstawiono wzdłuż osi heksagonalnej c . Wysokość atomów tlenu powyżej płaszczyzny heksagonalnej (0001) jest rzędu setnych części osi c ($c=6.25\text{Å}$). Wiązania wodorowe są przedstawione jako linie przerywane [Kamb, 1964].

W strukturze lodu III można wyróżnić dwa typy atomów tlenu: atomy O_1 leżące na helisach połączonych wiązaniem wodorowym oraz atomy O_2 łączące te helisy. Każdy atom O_2 tworzy wiązania wodorowe z atomami O_1 w czterech oddzielnych helisach. Komórka elementarna lodu III jest tetragonalna i zawiera 12 molekuł wody [Kamb & Datta, 1960].



Rys. 2.4. Struktura lodu III oglądana wzdłuż osi c . Atomy tlenu reprezentują sfery, a wiązania $O-H\cdots O$ pręty; atomy wodoru nie są przedstawione. Numery przyległe do atomów tlenu oznaczają ich współrzędne z -owe w setnych częściach długości osi c . Liczby wzdłuż wiązań oznaczają ich długość w Å [Eisenberg i Kauzmann, 1969].

Lód IX jest niskotemperaturową modyfikacją lodu III powstałą przy ochłodzeniu go do temperatury -100°C [Whalley & Davidson, 1965]. Lód V posiada jednoskośną komórkę elementarną o 28 molekułach wody. Jego struktura jest uformowana przez dwa rodzaje zygzakowatych łańcuchów molekuł połączonych wiązaniem wodorowym, przebiegających równoległe do osi a kryształu (jeden z nich jest utworzony na przemian z tlenów O_2 i O_3 , natomiast drugi całkowicie z tlenów O_4). Łańcuchy $O_2 - O_3$ są powiązane parami do łańcuchów O_4 , natomiast łańcuchy $O_2 - O_3$ są powiązane ze sobą atomami O_1 . Uważa się, że w lodzie V atomy wodoru są nieuporządkowane [Kamb i in., 1967].

Lód IV jest metastabilną fazą lodu V. Nic nie wiadomo o jego strukturze [Bridgman, 1935].

Najgęstszymi znanymi formami lodu są lody VI, VII, VIII i X, utworzone z dwóch wzajemnie przenikających się sieci, nie powiązanych ze sobą. Lód VI ma tetragonalną komórkę elementarną zawierającą 10 molekuł. Podobnie jak w innych polimorfach lodu każda molekula jest związana wodorowo do czterech najbliższych sąsiadów. Molekuły formują łańcuchy biegnące równoległe do osi c . Łańcuchy powiązane są wodorowo, poziomo do czterech sąsiednich łańcuchów i tworzą kompletną sieć. Najbliższe sąsiady są oddalone o około 2.81Å . Kąty $O - O - O$ znacząco różnią się od 109.5° , niektóre mają 128° , natomiast inne 76° . Każda molekula wody ma 8 nie związanych wiązaniem wodorowym najbliższych sąsiadów w odległości 3.51Å . Lód X jest niskotemperaturową fazą lodu VI o uporządkowanych wodorach [Kamb, 1965].

Lody VII i VIII cechuje struktura krystaliczna kubiczna, przestrzennie centrowana. Lody różnią się uporządkowaniem wodorów [Bridgman, 1937; Weir i in. 1965]. Struktura

lodów może być postrzegana jako dwie struktury lodu Ic, gdzie każdy atom tlenu ma osiem sąsiadów w odległości 2.86\AA , ale wiązaniem wodorowym jest połączony tylko z czterema z nich. W lodzie VIII protony wykazują uporządkowanie. Gęstość lodu VIII (1.66 g/cm^3 dla $25\cdot 10^6\text{ hPa}$) nie jest podwojoną gęstością lodu Ic, co związane jest z odpychaniem pomiędzy każdą molekułą wody i jej czterema nie związanymi wodorowo najbliższymi sąsiadami [Whalley & Davidson, 1965; Kamb, 1965].

Lód kubiczny, Ic, może zostać uformowany przez ogrzanie lodu szklistego, przez kondensację pary wodnej na powierzchni, w temperaturze od -120°C do -140°C lub przez ogrzanie fazy lodu wysokociśnieniowego i przeniesienie jej do niższego ciśnienia („quenching”) [Bertie i in., 1963, 1964; Blackman i Lisgarten, 1958]. Przy dalszym ogrzaniu lód Ic nieodwracalnie transformuje do lodu Ih z małą zmianą entropii [Dowell, 1960]. Struktura lodu Ic badana rentgenograficznie oraz dyfrakcją elektronów jest identyczna do rozmieszczenia węgla w diamencie. Tak jak w lodzie Ih odległość między najbliższymi sąsiadami wynosi 2.75\AA , a tleny uporządkowane są w pofałdowane warstwy z heksagonalnymi pierścieniami o konformacji krzesłowej. Inaczej jak w lodzie Ih, tleny kolejnej pofałdowanej warstwy tworzą heksagonalne pierścienie konformacji krzesłowej [Brill, 1962]. Atomy wodoru w lodzie Ic są nieuporządkowane, a odległość O-H w lodzie Ic (0.97\AA) jest tylko nieznacznie różna od odległości O-D (1.01\AA) w lodzie Ih [Honjo & Shimaoka, 1957].

Lód XI jest analogiem lodu Ih o uporządkowanych protonach.

Lód XII powstaje pod ciśnieniem $0.2\text{--}0.6\text{ GPa}$. W strukturze lodu znajduje się mieszanina pięciocząłowych lub sześciocząłowych pierścieni molekuł wody. Gęstość lodu XII jest zbliżona do gęstości lodu IV [Lobban, Finney, Kuhs, 1998].

Podsumowując, trzeba zauważyć, że we wszystkich polimorfach lodu molekuły wody pozostają nietknięte (kąty H-O-H oraz odległości O-H nie są znacząco zmienione w porównaniu z izolowanymi molekułami wody); są związane wodorowo do najbliższych czterech sąsiadów, oraz występuje bliska tetraedrycznej konformacja czterech najbliższych sąsiadów.

W bardzo wysokociśnieniowych polimorfach lodu stwierdza się obecność bliskich, niezwiązanych wodorowo sąsiadów (w odległości mniejszej niż 4.5\AA), równowagowe kąty wiązań wodorowych różnią się od 180° o więcej niż kilka stopni (w Ih oraz Ic tylko o około 7°), równowagowe odległości O-O najbliższych sąsiadów różnią się znacznie od 2.76\AA [Harańczyk, 2003].

3. Elementy teorii Magnetycznej Relaksacji Jądrowej

3.1. Klasyczny opis zjawiska magnetycznej relaksacji protonowej

Za wyjątkiem parzysto-parzystych, jądra atomowe mają niezerowy kręt własny \vec{K} zwanym spinem jądrowym. Odpowiada mu jądrowy moment magnetyczny $\vec{\mu}$

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{K}, \quad (3.1)$$

a współczynnikiem proporcjonalności jest γ , jądrowy współczynnik giromagnetyczny. Jest on zdefiniowany wzorem

$$\gamma = g_n \frac{e}{2m_p}, \quad (3.2)$$

gdzie g_n jest czynnikiem Landego dla jądra, e ładunkiem protonu, a m_p masą protonu.

Jądro atomowe o momencie magnetycznym $\vec{\mu}$ umieszczone w zewnętrznym, stałym polu magnetycznym o indukcji \vec{B}_0 , ma energią równą [Hennel, 1966; Hennel i Klinowski, 2000]:

$$E = -\vec{\mu} \cdot \vec{B}_0. \quad (3.3)$$

Magnetyczny rezonans jądrowy polega na pochłanianiu przez jądra atomowe kwantów promieniowania elektromagnetycznego o częstości $\omega = \gamma B_0$, z czym związane jest przejście pomiędzy poziomami zeemanowskimi w polu magnetycznym \vec{B}_0 .

Dla makroskopowej próbki, umieszczonej w zewnętrznym polu magnetycznym o indukcji \vec{B}_0 , definiuje się magnetyzację jądrową \vec{M} równą sumie momentów magnetycznych na jednostkę objętości próbki:

$$\vec{M} = \frac{\sum_{i=1}^n \vec{\mu}_i}{V} \quad (3.4)$$

W stanie równowagi termodynamicznej wektor magnetyzacji \vec{M}_0 w zewnętrznym polu magnetycznym o indukcji \vec{B}_0 ustawia się zgodnie z kierunkiem tego pola: $\vec{M}_0 \parallel \vec{B}_0$.

Wypadkowa indukcja magnetyczna we wnętrzu namagnesowanej próbki wynosi:

$$\vec{B} = \vec{B}_0 + \mu_0 \vec{M} \quad (3.5)$$

Między wektorem magnetyzacji \vec{M} , a wektorem wypadkowego krętu \vec{K} jąder na jednostkę objętości zachodzi zależność:

$$\vec{M} = \gamma \vec{K} \quad (3.6)$$

Na wektor magnetyzacji \vec{M} umieszczony w polu \vec{B}_0 działa moment siły \vec{T}

$$\vec{T} = \vec{M} \times \vec{B}_0 \quad (3.7)$$

Z zasady zachowania momentu pędu mamy:

$$\frac{d}{dt} \vec{K} = \vec{T} \quad (3.8)$$

Łącząc zależności (3.6-3.8) otrzymujemy równanie różniczkowe, opisujące ruch wektora magnetyzacji:

$$\frac{d}{dt} \vec{M} = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_0. \quad (3.9)$$

Równanie (3.9) można również przedstawić w wirującym układzie odniesienia X', Y', Z' , rotującym ze stałą prędkością kątową $\vec{\omega}$. Prędkość \vec{v} dowolnego punktu P w układzie laboratoryjnym X, Y, Z wiąże się z prędkością \vec{v}_a w układzie wirującym transformacją:

$$\vec{v} = \vec{v}_a + \vec{\omega} \times \vec{r}. \quad (3.10)$$

Stosując równanie (3.9) oraz (3.10) do wektora \vec{M} otrzymujemy:

$$\vec{v} \equiv \gamma \vec{M} \times \vec{B}_0 \quad \text{oraz} \quad \vec{v}_a \equiv \left(\frac{d\vec{M}}{dt} \right)'. \quad (3.11)$$

Łącząc zależności (3.10) i (3.11) otrzymujemy:

$$\gamma \vec{M} \times \vec{B}_0 = \left(\frac{d\vec{M}}{dt} \right)' + \vec{\omega} \times \vec{M}, \quad (3.12)$$

a następnie

$$\left(\frac{d\vec{M}}{dt}\right)' = \gamma\vec{M} \times \left(\vec{B}_0 + \frac{\vec{\omega}}{\gamma}\right), \quad (3.13)$$

gdzie $\vec{B}_{eff} = \vec{B}_0 + \frac{\vec{\omega}}{\gamma}$ jest efektywną indukcją pola magnetycznego obserwowaną w wirującym układzie odniesienia. Równanie (3.13) opisuje prędkość wektora \vec{M} w układzie odniesienia wirującym z prędkością kątową $\vec{\omega} = -\gamma\vec{B}_0$ wokół kierunku pola \vec{B}_0 . W tym układzie wektor \vec{M} jest nieruchomy. W laboratoryjnym układzie odniesienia XYZ wektor magnetyzacji precesuje wokół kierunku pola magnetycznego \vec{B}_0 , a w przypadku równowagi ustawia się równoległe do pola: $\vec{M} \parallel \vec{B}_0$.

Jeśli próbka makroskopowa zostanie umieszczona w stałym polu magnetycznym o indukcji \vec{B}_0 oraz w polu o indukcji \vec{B}_1 wirującym z prędkością kątową $\vec{\omega}_e$, to w układzie odniesienia wirującym (X' , Y' , $Z'=Z$) z taką samą prędkością kątową $\vec{\omega}_e$ wokół osi Z pole o indukcji \vec{B}_1 będzie nieruchome, zaś efektywne pole \vec{B}_{eff} „widziane” w układzie wirującym wyniesie:

$$\vec{B}_{eff} = \vec{B}_0 + \frac{\vec{\omega}_e}{\gamma} + \vec{B}_1. \quad (3.14)$$

W warunkach rezonansu:

$$\vec{\omega}_e = -\gamma\vec{B}_0, \quad (3.15)$$

więc wypadkowym polem „widzianym” w układzie wirującym jest $\vec{B}_{eff} = \vec{B}_1$, a precesja magnetyzacji nastąpi wokół wektora \vec{B}_1 . Wypadkowa wartość wirującej magnetyzacji jądrowej \vec{M} wyniesie 0, co oznacza pochłanianie energii przez układ spinów jądrowych, czyli zjawisko magnetycznego rezonansu jądrowego.

Wirujące pole \vec{B}_1 generowane jest przez cewkę umieszczoną w płaszczyźnie XY w następujący sposób. Jeśli przyjąć, że oś cewki jest równoległa do osi X układu odniesienia, to pole oscylujące wytwarzane przez cewkę może być przedstawione tak:

$$\vec{B}_{osc} = \vec{i} 2B_1 \cos(\omega_e t), \quad (3.16)$$

gdzie \vec{i} jest wektorem jednostkowym na osi X , $2B_1$ jest amplitudą, $\omega_e = 2\pi\nu_e$ jest częstością kołową zmiennego prądu elektrycznego płynącego przez cewkę. Oscylujące pole można rozłożyć na dwa wektory o długości B_1 , wirujące w przeciwnych kierunkach:

$$\vec{B}_{osc} = \vec{i}[B_1 \exp(i\omega_e t) + B_1 \exp(-i\omega_e t)]. \quad (3.17)$$

Dla częstości oscylacji spełniającej równanie:

$$2\pi\nu = |\gamma|B_0, \quad (3.18)$$

prędkość kątowna jednego z wirujących wektorów jest równa częstości precesji Larmora i zachodzi zjawisko magnetycznego rezonansu jądrowego [Hennel i Klinowski, 2000]. Drugi wektor składowy wirujący w przeciwnym kierunku nie ma wpływu na układ spinowy, gdyż:

$$\vec{B}_{eff} = 2\vec{B}_0 + \vec{B}_1, \quad (3.19)$$

czyli wypadkowe pole w układzie antylarmorowskim jest niemal równoległe do osi z , więc nie wywołuje obrazu magnetyzacji jądrowej.

W opisie ruchu wektora magnetyzacji oprócz precesji należy również uwzględnić relaksację. Relaksacja podłużna jest związana z powrotem składowej podłużnej wektora magnetyzacji M_z do stanu równowagi termodynamicznej. Proces relaksacji podłużnej jest związany z oddaniem energii przez układ spinów do otoczenia. Otoczenie termodynamiczne układu spinów nazywa się często „siecią”, a proces relaksacji podłużnej określa się mianem relaksacji spinowo-sięciowej.

Relaksacja poprzeczna jest związana z zanikiem składowej poprzecznej wektora magnetyzacji M_{\perp} . Na zmianę tej składowej magnetyzacji wpływają przejścia kwantowe. Energia przejść jest przekazywana między spinami tego samego rodzaju, przy czym ogólna wartość energii spinów nie zmienia się. Dlatego też proces relaksacji poprzecznej określa się mianem relaksacji spinowo-spinowej [Hausser i Kalbitzer, 1993].

W układzie współrzędnych wirującym z częstością ω zmiany wektora magnetyzacji w czasie można przedstawić równaniami Blocha [Ernst i in., 1987]:

$$\frac{\partial \vec{M}}{\partial t} = \gamma \vec{M} \times \vec{B}_{eff} - \frac{(M_z - M_0)}{T_1} \vec{k}' - \frac{(M_x \vec{i}' + M_y \vec{j}')}{T_2} \quad (3.20)$$

W tym układzie równania Blocha w postaci macierzowej opisuje zależność [Slichter, 1990]:

$$\frac{d\vec{M}}{dt} + \hat{A}\vec{M} = \vec{C} \quad (3.21)$$

$$\hat{A} = \begin{pmatrix} \frac{1}{T_2} & -\Delta\omega & 0 \\ \Delta\omega & \frac{1}{T_2} & -\omega_1 \\ 0 & \omega_1 & \frac{1}{T_1} \end{pmatrix}, \quad \vec{C} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ \frac{M_0}{T_1} \end{pmatrix}, \quad \vec{M} = \begin{pmatrix} M_x \\ M_y \\ M_z \end{pmatrix}, \quad (3.22)$$

gdzie $\Delta\omega = \omega_0 - \omega$, $\omega_0 = \gamma\mathcal{B}_0$, $\omega_1 = \gamma\mathcal{B}_1$.

W układzie wirującym z częstością Larmorowską efektywne pole w układzie wirującym wynosi \vec{B}_1 . Metody impulsowe MRJ polegają na podaniu krótkich impulsów pola \vec{B}_1 , w czasie trwania których można pominąć procesy relaksacji. W trakcie trwania impulsu wektor magnetyzacji obraca się (nutacja) o kąt $\theta = \gamma\mathcal{B}_1 t_w$, gdzie t_w oznacza czas trwania impulsu. Podczas trwania impulsu wektor magnetyzacji obraca się o kąt azymutalny $\phi = \gamma\mathcal{B}_0 t_w$ ($\phi \gg \theta$). Na ogół stosuje się impulsy $\theta = \frac{\pi}{2}$ oraz $\theta = \pi$.

3.2. Teoria operatora gęstości

Zjawisko magnetycznej relaksacji jądrowej można opisać przy użyciu formalizmu operatora gęstości. Do opisu procesów statystycznych zachodzących w makroskopowej próbce, będącej układem spinów wprowadza się statystyczny operator gęstości $\hat{\rho}$ [Abragam, 1961, Blicharski, 1972a]. Proces relaksacji opisuje się stosując formalizm półklasyczny, w którym zmienne spinowe traktuje się kwantowo, a zmienne przestrzenne klasycznie. Takie podejście było dyskutowane przez Blocha, Wangsnessa, Redfielda i Hubbarda i jest zwane teorią BWRH [Hubbard, 1961; Redfield, 1957; Wangsness i Bloch, 1953]. Układ spinów jest opisany przez zredukowany operator gęstości $\hat{\sigma}(t)$, który jest śladem operatora $\hat{\rho}(t)$ po zmiennych sieciowych f :

$$\hat{\sigma}(t) = Tr_f(\hat{\rho}(t)) \quad (3.23)$$

Zredukowany operator gęstości $\hat{\sigma}$ spełnia równanie Liouville'a-von Neumanna (LN):

$$\frac{d\hat{\sigma}(t)}{dt} = -i[\hat{H}, \hat{\sigma}(t)], \quad (3.24)$$

przy warunku normalizacji:

$$Tr\hat{\sigma} = 1 \quad (3.25)$$

Zredukowany operator gęstości $\hat{\sigma}(t)$ pozwala wyznaczyć wartość oczekiwaną dowolnego operatora spinowego $\langle \hat{Q} \rangle$ z zależności:

$$\langle \hat{Q} \rangle (t) = Tr(\hat{Q}\hat{\sigma}(t)) \quad (3.26)$$

Rozważmy warunki, kiedy \hat{H} jest Hamiltonianem spinowym opisanym zależnością:

$$\hat{H} = \hat{H}_0 + \hat{H}' \quad (3.27)$$

gdzie \hat{H}_0 jest częścią statyczną, niezależną od czasu, natomiast \hat{H}' jest małym zaburzeniem zależnym od czasu. Dla statycznego oddziaływania Zeemanowskiego, kiedy $H_0 = -\omega_0 I_z$, przejście do reprezentacji oddziaływania odpowiada transformacji do układu wirującego z częstością rezonansową $\omega_0 = \gamma B_0$ wokół osi z :

$$\tilde{X} = e^{iH_0 t} X e^{-iH_0 t} \quad (3.28)$$

Po przejściu do reprezentacji oddziaływania prawa strona równania (3.24) ulega redukcji o kilka rzędów wielkości i można ograniczyć się do dwóch kolejnych iteracji. Przy założeniu krótkich czasów korelacji i braku korelacji między operatorem gęstości i zaburzenia otrzymujemy:

$$\frac{d\tilde{\sigma}}{dt} = -(A(\tilde{\sigma}) - A(\tilde{\sigma}_0)) = -\hat{\Gamma} \cdot (\tilde{\sigma} - \tilde{\sigma}_0) \quad (3.29)$$

oraz

$$\frac{d\sigma}{dt} = -i[H_0, \sigma] - \hat{\Gamma} \cdot (\sigma - \sigma_0) \quad (3.30)$$

gdzie,

$$A(\sigma) = \hat{\Gamma} \cdot \sigma = \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{+\infty} \langle [\tilde{H}'(t), [\tilde{H}'(t+\tau), \sigma]] \rangle d\tau, \quad (3.31)$$

a σ_0 jest wartością operatora σ w stanie równowagi termodynamicznej:

$$\sigma_0 = \frac{e^{-\frac{H_0}{kT}}}{\text{Tr} e^{-\frac{H_0}{kT}}} \quad (3.32)$$

Czasy relaksacji T_Q dla wartości oczekiwanych $\langle Q \rangle$ dowolnego operatora spinowego \hat{Q} można wyliczyć z zależności [Blicharski i in., 1994]:

$$\frac{1}{T_Q} = \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} \text{Tr}\{[\hat{Q}, \tilde{H}(t)][\hat{Q}, \tilde{H}(t+\tau)]^+\} d\tau}{2\text{Tr}(\hat{Q} \cdot \hat{Q}^+)}, \quad (3.33)$$

Wartości oczekiwane $\langle Q \rangle$ spełniają zależność Blocha:

$$\frac{d\langle Q \rangle}{dt} = -\frac{\langle Q \rangle - \langle Q_0 \rangle}{T_Q} \quad (3.34)$$

Dla $\hat{Q} = I_z$ oraz $\hat{Q} = (I_+ + I_-)/2$, gdzie $I_{\pm} = I_x \pm iI_y$ dla składowych magnetyzacji: $M_z = \gamma \hbar \langle I_z \rangle$ i $M_x = \gamma \hbar \langle I_x \rangle$ otrzymujemy wzory na czasy relaksacji T_1 i T_2 .

Przechodząc do operatorowej przestrzeni Liouville'a o wymiarze n^2 (n jest wymiarem przestrzeni Hilberta), zredukowany operator gęstości $\hat{\sigma}(t)$ można przedstawić jako liniową kombinację tensorów kulistych (rozwiniecie Fano) [Rose, 1957; Wigner, 1959]:

$$\sigma(t) = \sum_{j=1}^{n^2} c_j(t) T_j, \quad (3.35)$$

gdzie $T_j = T_{LM}(\vec{I}_1, \dots, \vec{I}_N)$ są spinowymi tensorami kulistymi, które spełniają warunek ortonormalności. Tensory kuliste zbudowane ze składowych dowolnego wektora \vec{a} uzyskujemy w procesie polaryzacji [Edmonds, 1957] sferycznych harmonik :

$$T_{LM}(\vec{a}_1, \dots, \vec{a}_l) = \mathfrak{N}_L \prod_{k=1}^L (\vec{a}_k \cdot \nabla) \{r^L C_{LM}(\theta, \varphi)\} \quad (3.36)$$

gdzie \mathfrak{N}_L oznacza czynnik normalizacyjny, a $C_{LM}(\theta, \varphi)$ to funkcje Racah'a. W przestrzeni Liouville'a wartości oczekiwane tensora T_j mamy w postaci:

$$\langle T_j \rangle(t) = \langle T_j | \sigma(t) \rangle = \text{Tr}(T_j^+ \sigma(t)) = c_j(t) \quad (3.37)$$

Z równań (3.30) oraz (3.35-3.37) otrzymujemy, że:

$$\frac{d\langle T_j \rangle}{dt} = -\sum_k A_{jk} \langle T_k \rangle - \sum_k R_{jk} (\langle T_k \rangle - \langle T_k \rangle_{eq}), \quad (3.38)$$

gdzie macierz dynamiki spinowej A_{jk} i macierz relaksacji R_{jk} są postaci [Abragam, 1961]:

$$A_{jk} = i \text{Tr} \{ T_j^+ [T_k, \tilde{H}_0] \} \quad (3.39)$$

$$R_{jk} = \frac{1}{T_{jk}} = \frac{1}{2} \int_{-\infty}^{+\infty} \text{Tr} \{ [T_{ji}, \tilde{H}(t)] [T_k, \tilde{H}(t+\tau)]^+ \} d\tau \quad (3.40)$$

3.3. Hamiltonian spinowy

Dla układu spinów \vec{I}_i Hamiltonian spinowy jest sumą Hamiltonianu zeemanowskiego H_z oddziaływania ze stałym polem B_0 i Hamiltonianu oddziaływania z polami lokalnymi H_l . Hamiltonian H_l jest opisany zależnością:

$$H_l = \langle H_l \rangle + H'(t) \quad (3.41)$$

gdzie $\langle H_l \rangle$ jest średnią wartością Hamiltonianu, a $H'(t)$ oznacza zależne od czasu odchylenia (fluktuacje). Część statyczną Hamiltonianu oddziaływania z polami lokalnymi razem z Hamiltonianem zeemanowskim zapisujemy jako:

$$H_0 = H_z + \langle H_I \rangle, \quad (3.42)$$

natomiast $H'(t)$ jest małym zaburzeniem zależnym od czasu. W przybliżeniu silnych pól magnetycznych tylko sekularna część H_I komutująca z H_z odgrywa istotną rolę. Badany układ może być wówczas przedstawiony w bazie funkcji własnych Hamiltonianu zeemanowskiego H_z .

Najistotniejszą rolę w procesie relaksacji w układach biologicznych i w wodzie odgrywa oddziaływanie dipolowe dla jąder o spinie $I = \frac{1}{2}$ oraz oddziaływanie kwadrupolowe dla jąder o spinie $I \geq 1$. Hamiltonian dipolowy HD oddziaływania dwóch dowolnych spinów I_i oraz I_j przedstawia zależność:

$$H_D = \sum_{i>j} d_{ij} [\vec{I}_i \cdot \vec{I}_j - 3(\vec{I}_i \cdot \vec{n}_{ij})(\vec{I}_j \cdot \vec{n}_{ij})], \quad (3.43)$$

gdzie $d_{ij} = \frac{\mu_0 \gamma_i \gamma_j \hbar}{4\pi r_{ij}^3}$ jest stałą oddziaływania dipolowego, $n_{ij} = \frac{\vec{r}_{ij}}{r_{ij}}$ jest wektorem o kierunku wektora \vec{r}_{ij} łączącego spiny i z j , natomiast γ_i oraz γ_j są czynnikami giromagnetycznymi spinów I_i oraz I_j . W obecności ruchów molekularnych składowe wektora \vec{r}_{ij} są przypadkowymi funkcjami czasu i można je wyrazić w sferycznym układzie współrzędnych przez przypadkowo zmienne w czasie kąty $\theta_{jk}(t)$ i $\varphi_{jk}(t)$. Fluktuującą część Hamiltonianu dipolowego można przedstawić następująco [Blicharski, 1972a; Blicharski, Wolak, 1991]:

$$H'_D = \sum_{i<j} \sum_{M=-2}^2 T_{2M}^{ij} X_{2M}^{ij}(t), \quad (3.44a)$$

gdzie: $T_{2M}^{ij} = T_{2M}(\vec{I}_i, \vec{I}_j)$, $X_{2M}^{ij} = F_{2M}^{ij}(t) - \langle F_{2M}^{ij} \rangle$, $F_{2M}^{ij}(t) = d_{ij} \mathfrak{N}_2^{-1} \sqrt{\frac{4\pi}{5}} Y_{2M}(\theta_{ij}(t), \varphi_{ij}(t))$. (3.44b,c,d)

Jeśli spiny I_i oraz I_j są różne lub nierównoważne chemicznie dużą rolę odgrywa pośrednie oddziaływanie skalarnie przez powłokę elektronową między tymi spinami [Abragam, 1961]:

$$H_{sk} = \sum_{i<j} A_{ij} \vec{I}_i \cdot \vec{I}_j \quad (3.45)$$

W obecności szybkiej wymiany chemicznej stała sprzężenia A_{ij} staje się funkcją czasu i przyjmuje jedną z dwóch wartości: 0 lub A_{ij} . W takiej sytuacji oddziaływanie można rozłożyć na część statyczną i fluktuującą $H'_{sk}(t)$, która jest wyrażona zależnością:

$$H'_{sk} = \sum_{i<j} T_{00}^{ij} X_{00}^{ij}(t), \quad (3.46)$$

$$\text{gdzie } T_{00}^{ij} = \sum_{M_1 M_2} C_{1M_1 1M_2}^{00} T_{1M_1}^i T_{1M_2}^j, \quad X_{00}^{ij}(t) = (A_{ij}(t) - \langle A_{ij} \rangle) \mathbf{N}_0^{-1}, \quad (3.47a,b)$$

natomiast $C_{1M_1 1M_2}^{00}$ jest współczynnikiem Clebscha.

3.4. Czasy relaksacji w układzie laboratoryjnym w obecności oddziaływania dipolowego i skalarnego

Rozważmy układ złożony ze spinów rezonansowych I o częstości $\omega_I = \gamma_I B_0$ oraz nierezonansowych S o częstości $\omega_S = \gamma_S B_0$ ($\omega_I \neq \omega_S$). Zredukowana gęstość spektralna z czasem korelacji τ_L ($L=2$) lub τ_{LM} ($L=2, M=0,1$) określonym ogólnie jako τ_c jest przedstawiona wzorem [Blicharski, 1972b]:

$$j_{LM}(\omega) = \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} \langle X_{LM}^{ij}(t) X_{LM}^{ij*}(t+\tau) \rangle e^{i\omega\tau} d\tau}{\langle |X_{LM}^{ij}|^2 \rangle} = \frac{2\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2} \quad (3.48)$$

przy założeniu spełnienia przez funkcje korelacji $\langle X_{LM}^{ij}(t) X_{LM}^{ij*}(t+\tau) \rangle$ zależności:

$$\langle X_{LM}^{ij}(t) X_{LM}^{ij*}(t+\tau) \rangle = \langle |X_{LM}^{ij}| \rangle e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}}. \quad (3.49)$$

Korzystając z wzoru (3.40), znając wartości zredukowanych gęstości spektralnych funkcji korelacji otrzymujemy wzory na szybkości relaksacji w przypadku oddziaływań dipolowych spinów I między sobą oraz oddziaływań spinów I ze spinami S [Blicharski i Jasiński, 1992; Blicharski i Wolak, 1992]:

$$\left(\frac{1}{T_1} \right)_{I-I} = \frac{2\Delta M_2^H}{3} \left(\frac{\tau_2}{1 + \omega_I^2 \tau_2^2} + \frac{4\tau_2}{1 + 4\omega_I^2 \tau_2^2} \right), \quad (3.50)$$

$$\left(\frac{1}{T_2} \right)_{I-I} = \frac{\Delta M_2^H}{3} \left(3\tau_2 + \frac{\tau_2}{1 + \omega_I^2 \tau_2^2} + \frac{4\tau_2}{1 + 4\omega_I^2 \tau_2^2} \right) \quad (3.51)$$

$$\left(\frac{1}{T_1} \right)_{I-S} = \frac{\Delta M_2^{IS}}{2} \left(\frac{3\tau_{20}}{1 + \omega_I^2 \tau_{20}^2} + \frac{\tau_{21}}{1 + (\omega_I - \omega_S)^2 \tau_{21}^2} + \frac{6\tau_{21}}{1 + (\omega_I - \omega_S)^2 \tau_{21}^2} \right) \quad (3.52)$$

$$\left(\frac{1}{T_2} \right)_{I-S} = \frac{\Delta M_2^{IS}}{4} \left(4\tau_{20} + \frac{3\tau_{20}}{1 + \omega_I^2 \tau_{20}^2} + \frac{\tau_{21}}{1 + (\omega_I - \omega_S)^2 \tau_{21}^2} + \frac{6\tau_{22}}{1 + (\omega_I + \omega_S)^2 \tau_{22}^2} + \frac{6\tau_{21}}{1 + \omega_S^2 \tau_{21}^2} \right) \quad (3.53)$$

$$\text{gdzie: } \Delta M_2^{II} \cong \frac{3}{5} I(I+1) N_I^{-1} \sum_{i,j=1}^{N_I} d_{ij}^2 \text{ oraz } \Delta M_2^{IS} \cong \frac{4}{15} S(S+1) N_I^{-1} \sum_{i,s=1}^{N_I} d_{is}^2 \quad (3.54a,b)$$

W przypadku oddziaływań skalarnych między spinami I i S korzystając z wzoru (3.40) można wyznaczyć szybkości relaksacji:

$$\left(\frac{1}{T_1} \right)_{sk} = 2\Delta M_2^{sk} \left(\frac{\tau_{e2}}{1 + (\omega_1 - \omega_s)^2 \tau_{e2}^2} \right), \quad (3.55)$$

$$\left(\frac{1}{T_2} \right)_{sk} = \Delta M_2^{sk} \left(\tau_{e1} + \frac{\tau_{e2}}{1 + (\omega_1 - \omega_s)^2 \tau_{e2}^2} \right) \quad (3.56)$$

gdzie τ_{e1} i τ_{e2} to czasy korelacji, natomiast ΔM_2^{sk} są przyczynkami do drugich momentów linii rezonansowej w postaci:

$$\Delta M_2^{sk} \cong \frac{S(S+1)}{3} N_I^{-1} \sum_{i,s=1}^{N_I} A_{is} \quad (3.57)$$

3.5. Sygnał swobodnej precesji (FID)

Jeśli do próbki znajdującej się w zewnętrznym, stałym polu magnetycznym \vec{B}_0 przyłożymy impuls $\pi/2$, to wypadkowy wektor magnetyzacji zostanie obrócony o kąt 90° wokół osi prostopadłej do kierunku zewnętrznego pola magnetycznego \vec{B}_0 . Po wyłączeniu impulsu składowa poprzeczna magnetyzacji $\vec{M} = \vec{M}_\perp = M_x \vec{i} + M_y \vec{j}$ będzie precesować wokół kierunku zewnętrznego pola \vec{B}_0 i wyindukuje w cewce nadawczo-odbiorczej spektrometru umieszczonej w płaszczyźnie xy , zmienną siłę elektromotoryczną. Zarejestrowany sygnał nazywa się sygnałem zaniku swobodnej precesji (FID = free induction decay) [Fukushima, Roeder, 1981]. Amplituda sygnału zanika w wyniku procesu relaksacji poprzecznej oraz niejednorodności zewnętrznego pola magnetycznego \vec{B}_0 [Fukushima, Roeder, 1981; Slichter, 1990], zgodnie z czasem relaksacji T_2^* , opisanym zależnością [Timur, 1969]:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{\gamma \Delta B_0}{2} \quad (3.58)$$

gdzie γ jest czynnikiem giromagnetycznym jądra, a ΔB_0 jest miarą niejednorodności statycznego pola magnetycznego w obszarze próbki. Zanik swobodnej precesji jest transformatą Fouriera widma MRJ. Ogólnie Fourierowską transformację widma MRJ można przedstawić [Fukushima i Roeder, 1981]:

$$A(t) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{+\infty} A(\omega) e^{i\omega t} d\omega \quad (3.59)$$

$$A(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} A(t) e^{-i\omega t} dt \quad (3.60)$$

W próbkach suchych układów biologicznych sygnał zaniku swobodnej precesji od protonów jest sumą składowych pochodzących od frakcji stałej i ciekłej:

$$FID(t) = F_G + F_l, \quad (3.61)$$

gdzie F_G jest składową od frakcji stałej, natomiast F_l od frakcji ciekłej.

3.5.1. Sygnał zaniku swobodnej precesji dla protonów ciała stałego

Składową stałą sygnału zaniku swobodnej precesji można przedstawić jako rozwinięcie w szereg momentów [Abragam, 1961]:

$$F(t) = \sum_{n=0}^{\infty} M_{2n} \frac{(-1)^n t^{2n}}{(2n)!} = 1 - \frac{M_2 t^2}{2!} + \frac{M_4 t^4}{4!} - \frac{M_6 t^6}{6!} + \dots, \quad (3.62)$$

gdzie M_{2n} oznacza kolejne, parzyste momenty linii rezonansowej, natomiast nieparzyste momenty są równe zero.

3.5.1.1. Model funkcji Gaussa

W ciele stałym jądra rezonansowe znajdują się pod wpływem przyłożonego pola \vec{B}_0 oraz lokalnego pola magnetycznego, pochodzącego jąder sąsiadujących. Pole lokalne jest nieco inne w miejscu każdego jądra rezonansowego, w zależności od otoczenia jądra. Rozkład pól lokalnych jest przypadkowy i opisuje go funkcja Gaussa [Fukushima i Roeder, 1981]:

$$f(\omega) \propto \exp\left(-\frac{\omega^2}{2\sigma^2}\right) \quad (3.63)$$

Transformatą Fouriera funkcji Gaussa jest funkcja Gaussa:

$$F(t) \propto \exp\left(-\frac{\sigma^2 t^2}{2}\right) \quad (3.64)$$

Dlatego też w sygnale $FID(t)$ część pochodząca od ciała stałego ma również kształt gaussowski, który można rozwinąć w szereg momentów:

$$F_{Gauss}(t) = \exp\left[-\left(\frac{t}{T_{2G}}\right)^2\right] = \exp\left(-\frac{M_2 t^2}{2}\right) = \exp\left(-\frac{a^2 t^2}{2}\right) = \sum_{n=0}^{\infty} a^{2n} \frac{(-1)^n t^{2n}}{n! 2^n}, \quad (3.65)$$

gdzie wartość drugiego momentu można przedstawić następująco:

$$M_2 = a^2 = \frac{2}{T_{2G}}, \quad (3.66)$$

natomiast T_{2G} oznacza efektywny czas relaksacji poprzecznej zwykle oznaczany T_2^* .

Wiedząc, że:

$$(2n)!! = 2^n n!(2n-1)!! \quad (3.67)$$

otrzymujemy zależność:

$$M_{2n}^G = a^{2n} (2n-1)!! \quad (3.68)$$

Korzystając z równań (3.66) oraz (3.68) otrzymujemy zależność:

$$\frac{M_{2n}}{(M_2)^n} = (2n-1)!!, \quad (3.69)$$

która wynosi:

$$\frac{M_4}{(M_2)^2} = 3 \quad \text{oraz} \quad \frac{M_6}{(M_2)^3} = 15 \quad (3.70a,b)$$

Związki (3.70a,b) można wykorzystywać do testowania charakteru zależności składowej stałej sygnału zaniku swobodnej precesji. Model funkcji Gaussa był pomyślnie wykorzystany do analizy protonów plechy porostów [Harańczyk i in., 2000; 2008], dentyny [Harańczyk i in. 1995] i ziarna pszenicy [Harańczyk i in. 1996].

3.5.1.2. Model funkcji Abragama

Abragam [Abragam, 1961] zauważył, że rozwinięcie zaniku swobodnej precesji w szereg momentów M_n (zależność 3.62) niesie silne podobieństwo do funkcji, która jest iloczynem funkcji sincus oraz funkcji Gaussa:

$$F_s(t) = \exp\left(-\frac{1}{2} a^2 t^2\right) \frac{\sin bt}{bt}, \quad (3.71)$$

którą można rozwinąć w szereg:

$$F_s(t) = 1 - (a^2 + \frac{1}{3} b^2) \frac{t^2}{2!} + (3a^4 + 2a^2 b^2 + \frac{1}{5} b^4) \frac{t^4}{4!} - \dots \quad (3.72)$$

Dla drugiego i czwartego momentu zachodzi:

$$M_2 = a^2 + \frac{1}{3} b^2 \quad (3.73)$$

$$M_4 = 3a^4 + 2a^2b^2 + \frac{1}{5}b^4. \quad (3.74)$$

Funkcja Abragama (równanie 3.71) często lepiej dopasowuje sygnał zaniku swobodnej precesji dla protonów w wielu układach o małej ruchliwości, w układach krystalicznych i znajdujących się w fazie szklistej [Van den Dries i in., 1998].

3.5.2. Model funkcji eksponencjalnej dla składowej cieczowej sygnału

W cieczech, dla szybkich ruchów molekularnych lokalne pola magnetyczne są uśrednione i linia rezonansowa ma kształt funkcji Lorentza. Transformatą Fouriera funkcji Lorentza jest funkcja eksponencjalna. Dlatego składowa sygnału FID, pochodząca od cieczy ma również kształt eksponencjalny, który można opisać zależnością:

$$F_l(t) = \sum_{n=1}^N L_j \exp\left(-\frac{t}{T_{2,Ln}^*}\right), \quad (3.75)$$

gdzie N oznacza całkowitą liczbę różnych składowych cieczowych, L_j ich amplitudy, natomiast $T_{2,Ln}^*$ ich czasy relaksacji.

4. Izoterma sorpcyjna

Izoterma sorpcyjna jest zależnością masy substancji zaadsorbowanej na powierzchni badanego układu od wilgotności względnej otoczenia $h = p/p_0$ (ciśnienie względem ciśnienia pary nasyconej), w stałej temperaturze. Dla badanych układów sorbentem była powierzchnia porostu, a sorbatem woda.

4.1. Model Langmuira

Mechanizm wiązania molekuł do powierzchni po raz pierwszy ilościowo opisał Langmuir (1918), który analizował jednowarstwową sorpcję molekuł do powierzchni adsorbenta. Równanie izotermy sorpcyjnej Langmuir'a poprawnie opisuje wiązanie wody do powierzchni suchego układu biologicznego dla niskich poziomów wilgotności ($h \leq 0.1$).

$$\frac{y}{y_m} = \frac{b_1 h}{1 + b_1 h}, \quad (4.1)$$

lub jeśli liczbę molekuł wody przypadającą na miejsce wiążące (y/y_m) wyrazić w jednostkach względnego przyrostu masy $\Delta m/m_0$:

$$\frac{\Delta m}{m_0} = \frac{\Delta M}{m_0} \frac{b_1 h}{1 + b_1 h}, \quad (4.2)$$

gdzie $\Delta M/m_0$ jest masą wody nasycającej pierwotne miejsca wiążące [Langmuir, 1918].

4.2. Izoterma sorpcyjna model BET

Brunauer, Emmett i Teller rozszerzyli teorię dla sorpcji wielowarstwowej. Analizowali przyłączanie się do adsorbenta pierwszej oraz kolejnych warstw molekuł, zakładając że

kolejne warstwy wypełniane są sekwencyjne [Brunauer i in., 1938]. Model BET poprawnie opisuje dane doświadczalne przy poziomie wilgotności $h \leq 0.4$.

Liczba miejsc wiążących, do której związane jest n molekuł wody oznaczona została s_n . Ponieważ w równowadze s_0 musi pozostać stała liczba molekuł związanych do powierzchni jest równa liczbie molekuł, które opuściły pierwszą warstwę:

$$a_1 p s_0 = z_1 s_1 e^{-E_1/RT} \quad (4.3)$$

gdzie p oznacza ciśnienie, E_1 jest ciepłem adsorpcji pierwszej warstwy, a_1 i z_1 są stałe. Jest to zasadniczo równanie Langmuira dla jednocząsteczkowej adsorpcji i włącza założenie, że a_1 , z_1 i E_1 są niezależne od liczby zaadsorbowanych molekuł w pierwszej warstwie.

W równowadze s_1 musi także pozostać stała, a więc może zmienić się czterema różnymi sposobami: przez kondensację na pierwszej warstwie, przez parowanie z pierwszej warstwy, przez parowanie z drugiej warstwy i przez kondensację na powierzchni. W ten sposób otrzymujemy:

$$a_2 p s_1 + z_1 s_1 e^{-E_1/RT} = z_2 s_2 e^{-E_2/RT} + a_1 p s_0 \quad (4.4)$$

gdzie stałe a_2 , z_2 i E_2 są podobnie zdefiniowane do a_1 , z_1 i E_1 . Z (4.3) i (4.4) mamy:

$$a_2 p s_1 = z_2 s_2 e^{-E_2/RT} \quad (4.5)$$

Szybkość kondensacji na szczycie pierwszej warstwy jest równa szybkości parowania z drugiej warstwy. Dla następnych warstw otrzymujemy:

$$\begin{aligned} a_3 p s_2 &= z_3 s_3 e^{-E_3/RT} \\ &\vdots \\ a_i p s_{i-1} &= z_i s_i e^{-E_i/RT} \end{aligned} \quad (4.6)$$

Całkowita powierzchnia układu jest dana zależnością:

$$A = \sum_{i=0}^{\infty} s_i \quad (4.7)$$

Całkowita objętość adsorbenta na powierzchni wynosi:

$$v = v_0 \sum_{i=0}^{\infty} i s_i, \quad (4.8)$$

gdzie v_0 jest objętością gazu zaadsorbowaną na jeden centymetr kwadratowy adsorbującej powierzchni, gdy pokrywa ją jednocząsteczkowa warstwa. Łącząc powyższe zależności otrzymujemy:

$$\frac{v}{A v_0} = \frac{v}{v_m} = \frac{\sum_{i=0}^{\infty} i s_i}{\sum_{i=0}^{\infty} s_i}, \quad (4.9)$$

gdzie v_m jest objętością gazu zaadsorbowanego, kiedy powierzchnia adsorbenta jest pokryta jednocząsteczkową warstwą.

Sumowanie pokazane w powyższym równaniu może zostać przeprowadzone, gdy przyjmiemy upraszczające założenie, że:

$$E_2 = E_3 = \dots E_i = E_L, \quad (4.10)$$

gdzie E_L jest ciepłem skroplenia i

$$\frac{z_2}{a_2} = \frac{z_3}{a_3} = \dots \frac{z_i}{a_i} = g, \quad (4.11)$$

gdzie g jest właściwą stałą, natomiast $s_1, s_2, s_3, \dots, s_i$ można wyrazić w jednostkach s_0 :

$$s_1 = ys_0, \text{ gdzie } y = (a_1 / z_1) p^{E_1 / RT} \quad (4.12)$$

$$s_2 = hs_1, \text{ gdzie } h = (p / g) e^{E_L / RT} \quad (4.13)$$

$$s_3 = hs_2 = h^2 s_1 \quad (4.14)$$

$$s_i = hs_{i-1} = h^{i-1} s_1 = yh^{i-1} s_0 = ch^i s_0, \quad (4.15)$$

$$\text{gdzie } b_1 = \frac{y}{h} = \frac{a_1 g}{z_1} e^{(E_1 - E_L) / RT}. \quad (4.16)$$

Z równania (4.9) otrzymujemy:

$$\frac{v}{v_m} = \frac{b_1 s_0 \sum_{i=1}^{\infty} ih^i}{s_0 \{1 + b_1 \sum_{i=1}^{\infty} h^i\}}. \quad (4.17)$$

Sumowanie znajdujące się w mianowniku można przedstawić następująco:

$$\sum_{i=1}^{\infty} h^i = \frac{h}{(1-h)} \quad (4.18)$$

Natomiast sumę z licznika można wyrazić:

$$\sum_{i=1}^{\infty} ih^i = h \frac{d}{dh} \sum_{i=1}^{\infty} h^i = \frac{h}{(1-h)^2}, \quad (4.19)$$

Łącząc powyższe zależności otrzymujemy:

$$\frac{v}{v_m} = \frac{b_1 h}{(1-h)(1-h+b_1 h)} \quad (4.20)$$

Dla adsorpcji do powierzchni, przy ciśnieniu nasycenia gazu p_0 na powierzchni może powstać nieskończona liczba warstw. Do zajścia zależności $v = \infty$, kiedy $p = p_0$, h musi być równe jedności. Z równania (4.13) otrzymujemy:

$$(p_0 / g) e^{E_L / RT} = 1, \quad (4.21)$$

gdzie $h = p / p_0$.

Podstawiając do równania (4.17) otrzymujemy równanie izotermy:

$$v = \frac{v_m b_1 p}{(p_0 - p)\{1 + (b_1 - 1)(p/p_0)\}} \quad (4.22)$$

Równanie (4.22) daje izotermę o kształcie S. Dla $p \ll p_0$ równanie (4.22) redukuje się do zależności:

$$v = \left(\frac{v_m b_1}{p_0} p \right) / \left(1 + \frac{b_1}{p_0} p \right), \quad (4.23)$$

która jest szczególną postacią równania Langmuira.

4.3. Izoterma sorpcyjna model Denta

Model izoterm sorpcyjnej zaproponowany przez Denta w 1977 roku wyróżnia dwa rodzaje miejsc wiążących wodę: miejsca pierwotnie wiążące wodę, oraz miejsca wtórnie wiążące do wcześniej związanych molekuł wody. Dent wyróżnił N miejsc wiążących na powierzchni adsorbenta, z których S_0 jest pustych, S_1 ma zaadsorbowaną jedną molekułę, S_2 dwie itd. Jego model nie rozróżniał molekuł zaadsorbowanych w drugiej i kolejnych warstwach [Dent, 1977].

Jeżeli rozważymy N miejsc wiążących na powierzchni adsorbenta i założymy stan równowagi, w którym taka sama liczba molekuł wody jest przyłączana i odłączana od adsorbenta, to liczba poszczególnych rodzajów miejsc wiążących w stosunku do ich całkowitej liczby $\frac{S_0}{N}$, $\frac{S_1}{N}$, $\frac{S_2}{N}$... jest stała w czasie, a więc możemy zapisać:

$$\begin{aligned} \frac{1}{N} \frac{dS_0}{dt} &= C_0 \frac{S_1}{N} - ap \frac{S_0}{N} = 0 \\ \frac{1}{N} \frac{dS_1}{dt} &= C \frac{S_2}{N} - ap \frac{S_1}{N} - C_0 \frac{S_1}{N} + ap \frac{S_0}{N} = 0, \\ \frac{1}{N} \frac{dS_2}{dt} &= C \frac{S_3}{N} - ap \frac{S_2}{N} - C \frac{S_2}{N} + ap \frac{S_1}{N} = 0 \end{aligned} \quad (4.24)$$

gdzie a jest współczynnikiem przyłączania molekuł, takim samym dla wszystkich warstw, C_0 jest współczynnikiem odłączania molekuł z pierwotnych miejsc wiążących, C jest współczynnikiem odłączania molekuł dla wszystkich kolejnych warstw.

Z równania (4.24) otrzymujemy:

$$\begin{aligned}\frac{S_1}{N} &= \frac{a}{C_0} p \frac{S_0}{N} \\ \frac{S_2}{N} &= \frac{a}{C} \frac{a}{C_0} p^2 \frac{S_0}{N} \\ \frac{S_3}{N} &= \left(\frac{a}{c}\right)^2 \frac{a}{C_0} p^3 \frac{S_0}{N}\end{aligned}\quad (4.25)$$

lub ogólnie:

$$\frac{S_i}{N} = \left(\frac{a}{C}\right)^{i-1} \frac{a}{C_0} p^i \frac{S_0}{N} \quad (4.26)$$

Skoro mamy S_0 pustych miejsc wiążących, S_1 miejsc wiążących z jedną molekułą, S_2 miejsc wiążących z dwoma przyłączonymi molekułami itd., średnią liczbę molekuł możemy zapisać:

$$\bar{S} = \sum_{i=0}^{\infty} i \frac{S_i}{N} = \frac{a}{C_0} p \frac{S_0}{N} \left[1 + 2 \left(\frac{a}{C}\right) p + 3 \left(\frac{a}{C}\right)^2 p^2 + 4 \left(\frac{a}{C}\right)^3 p^3 + \dots \right] \quad (4.27)$$

Korzystając ze wzoru na sumę ciągu geometrycznego mamy:

$$\bar{S} = \left(\frac{a}{C_0}\right) p \left(\frac{S_0}{N}\right) \frac{1}{\left[1 - \left(\frac{a}{C}\right) p\right]^2} \quad (4.28)$$

Zależność:

$$\sum_{i=0}^{\infty} \frac{S_i}{N} = 1 \quad (4.29)$$

możemy rozpisać w następujący sposób:

$$1 = \frac{S_0}{N} + \frac{a}{C_0} p \left(\frac{S_0}{N}\right) \left[1 + \left(\frac{a}{C}\right) p + \left\{ \left(\frac{a}{C}\right) p \right\}^2 + \dots \right] \quad (4.30)$$

Po zastosowaniu wzoru na sumę ciągu geometrycznego otrzymujemy:

$$\frac{S_0}{N} = \frac{1 - \left(\frac{a}{C}\right)^p}{1 + \left(\frac{a}{C_0}\right)^p - \left(\frac{a}{C}\right)^p} \quad (4.31)$$

Po podstawieniu (4.31) do (4.28) uzyskujemy zależność:

$$\bar{S} = \frac{\left(\frac{a}{C_0}\right)^p}{\left[1 - \left(\frac{a}{C}\right)^p\right] \left[1 + \left(\frac{a}{C_0}\right)^p - \left(\frac{a}{C}\right)^p\right]} \quad (4.32)$$

Liczba molekuł przypadająca średnio na jedno miejsce wiążące $\frac{y}{y_m}$ dana jest równaniem:

$$\frac{y}{y_m} = \frac{ch}{(1 - kh)(1 + ch - kh)} \quad (4.33)$$

gdzie: $h = \frac{p}{p_0}$ oznacza wilgotność względną, $b_1 = \frac{a}{C_0} p_0$, $b = \frac{a}{C} p_0$ [Dent, 1977].

Izotermę sorpcyjną Denta, wyrażoną powyższym równaniem można także przedstawić w postaci:

$$\frac{\Delta m}{m_0} = \frac{\Delta M}{m_0} \frac{b_1 h}{(1 - bh)(1 + b_1 h - bh)}, \quad (4.34)$$

gdzie: liczba molekuł wody przypadająca na jedno miejsce wiążące (y / y_m) została wyrażona w jednostkach względnego przyrostu masy $\Delta m / m_0$, $\Delta M / m_0$ jest masą wody wysycającej

pierwotne miejsca wiążące, wyrażoną w jednostkach suchej masy, $b = \frac{S_{n+1}}{S_n} \Big|_{h=1}$ oznacza iloraz

liczby miejsc wiążących do których jest przyłączonych $n+1$ molekuł do liczby miejsc wiążących do których jest przyłączonych n molekuł dla wilgotności $h=1$, natomiast

$\frac{1}{b_1} = \frac{S_0}{S_1} \Big|_{h=1}$ jest liczbą pustych miejsc wiążących dla wilgotności $h=1$ na jednostkę liczby

miejsc wiążących z przyłączoną jedną molekułą wody. Różnica między modelami Denta i

BET polega na tym, że model BET bierze jako ustaloną wartość stosunku liczby miejsc wiążących pokrytych przez n molekuł wody do liczby miejsc wiążących pokrytych przez $n-1$ molekuł wody, $b=1$ (co jest w pewnej mierze sztucznym założeniem), podczas gdy dla modelu Denta ten stosunek może zmieniać się pomiędzy 0 a 1 (częściowo symulując tworzenie klastrów).

Dla parametru $b=0$ otrzymamy pokrycie jednowarstwowe i model Langmuira:

$$\frac{\Delta m}{m_0} = \frac{\Delta M}{m_0} \frac{b_1 h}{1 + b_1 h} \quad (4.35)$$

natomiast gdy parametr $b=1$ otrzymujemy model BET:

$$\frac{\Delta m}{m_0} = \frac{\Delta M}{m_0} \frac{b_1 h}{(1-h)(1+b_1 h-h)} \quad (4.36)$$

Powyższe równanie można przekształcić do postaci parabolicznej postaci:

$$\frac{h}{\Delta m / m_0} = A + B \cdot h - C \cdot h^2, \quad (4.37)$$

Dzięki stałym A , B i C można wyznaczyć parametry $\frac{\Delta M}{m_0}$, b_1 , b z zależności:

$$\frac{\Delta M}{m_0} = \frac{1}{Ab_1}. \quad (4.38)$$

$$b_1 = \frac{B}{A} + 2b. \quad (4.39)$$

$$b = \frac{\sqrt{B^2 + 4AC} - B}{2A}. \quad (4.40)$$

5. Materiały i metody

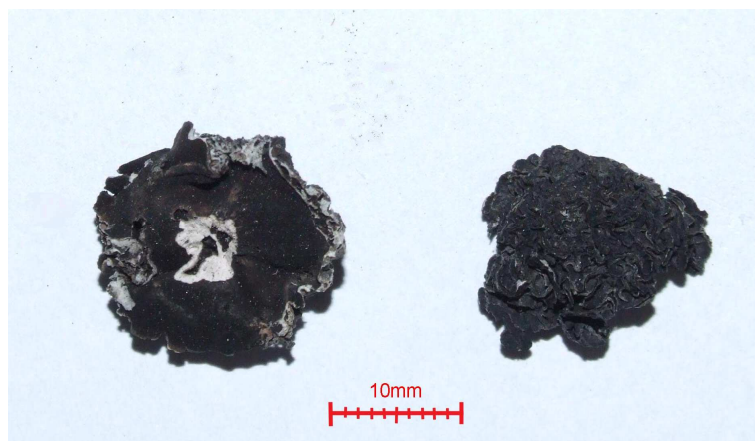
5.1. Preparatyka próbek

Badane plechy próbek *Umbilicaria aprina* (Rys. 5.1) pochodziły z cieków lodowcowych w Oazie Schirmachera (Queen Maud Land), położonej w Antarktyce Kontynentalnej. Zostały one zebrane przez Prof. dr hab. Marię Olech z Instytutu Botaniki Uniwersytetu Jagiellońskiego, 2 lutego 2004 roku, na wysokości 107 m n.p.m.



Rys. 5.1. Fragment plechy porostu *Umbilicaria aprina*, pochodzącej ze zbioru prof. dr hab. Marii Olech z cieków lodowcowych, Oaza Schirmachera [Fot. M. Bacior].

Plecha listkowatego porostu *Umbilicaria decussata* pochodziła z nunataku (Oaza Schirmachera, Queen Maud Land, Antarktyka Kontynentalna), z wysokości 405 m n.p.m. Została zebrana 11 lutego 2004, w czasie lata antarktycznego (Rys.5.2.).



Rys. 5.2. Fragment plechy porostu *Umbilicaria decussata*, ze zbioru prof. dr hab. Marii Olech, z nunataku, Oaza Schirmachera [Fot. M. Bacior].

5.1.1. Plecha powietrznie sucha

Powietrznie suche plechy *U. aprina* i *U. decussata* były przechowywane w temperaturze pokojowej i wilgotności laboratoryjnej ($p/p_0 \approx 40\%$). Ich uwodnienie wynosiło odpowiednio $\Delta m/m_0 = 0.096 \pm 0.010$, i $\Delta m/m_0 = 0.085 \pm 0.005$, gdzie m_0 jest suchą masą próbki, a Δm jest masą zawartej wody.

5.1.2. Pomiary masy próbki

Pomiary grawimetryczne przeprowadzano przy użyciu wag laboratoryjnych: WA36 i Sartorius, pozwalających wyznaczyć masę próbek z dokładnością do 0.01 mg oraz WPS 600/C (o dokładności 0.01 g). Najpierw próbki były ważone na wadze WPS 600/C, a następnie dla udokładnienia pomiaru na WA 36 lub na wadze Sartorius. Średnia różnica między wskazaniem wag pięciomiejscowych wyniosła 0.06 mg. Pomiary wykonywano w temperaturze pokojowej.

Próbki dla pomiarów kalorymetrycznych ważono przed włożeniem do kalorymetru i bezpośrednio po wyjęciu z niego. Średnią arytmetyczną brano jako wartość masy próbki.

5.1.2.1. Pomiary suchej masy

W trakcie pomiarów hydratacyjnych suchą masę, m_0 , plech porostów wyznaczano przez wyprażenie w temperaturze 70°C , w czasie 72 h (*U. aprina*) i 245 h (*U. decussata*). Próbki po pomiarach kalorymetrycznych wyprażano w kapsułach pomiarowych (przez 317 h). Wyższe temperatury wyprażania mogły spowodować rozkład niektórych organicznych składników plechy [Gaff, 1977].

5.1.3. Wyznaczanie poziomu uwodnienia

Wartości suchych mas próbek posłużyły do wyznaczenia uwodnień badanych próbek, zgodnie z zależnością: $\Delta m/m_0 = (m_p - m_0)/m_0$, gdzie m_p – jest masą próbki, a m_0 – jest suchą masą. Dla pomiarów kalorymetrycznych uwodnienia wyznaczono także korzystając z odpowiednich tras hydratacyjnych (dokładny opis kinetyki hydratacji w rozdziale 6), znając funkcję opisującą hydratację i dehydratację (patrz pogrubione wartości $\Delta m/m_0$ na wykresach 8.1-8.21) oraz czas hydratacji.

5.1.4. Pomiary żywotności komórek porostowych

Pomiary żywotności komórek porostowych zostały przeprowadzone w Instytucie Botaniki UJ. Metoda polegała na wybarwieniu przekrojów porostów alkoholowym roztworem błękitu metylenowego, w wyniku czego wybarwiły się martwe komórki, obserwowane pod mikroskopem świetlnym. Wybarwiają się tylko komórki glonu. Są one bardziej delikatne niż mykobiont i pierwsze obumierają. Mykobiont nie wybarwia się.

Przeprowadzone badania wykazały, że powietrznie sucha próbka plechy *U. aprina* nie poddawana badaniom, a jedynie przechowywana w warunkach laboratoryjnych miała $(75 \pm 5)\%$ komórek żywych.

Następnie zbadano żywotność próbki *U. aprina* ochładzanej z szybkością $20^\circ\text{C}/\text{min}$ z temperatury pokojowej do temperatury -70°C i ogrzewanej z tą samą szybkością do temperatury $+50^\circ\text{C}$. Po przeprowadzeniu pomiaru próbka była przechowywana w kapsule kalorymetrycznej przez około 3 tygodnie. Wyznaczona żywotność próbki była nadal wysoka, choć nieco niższa niż plechy kontrolnej i wyniosła $(66 \pm 5)\%$.

Kolejna próbka, której żywotność wyznaczono była ochładzana z szybkością $20^\circ\text{C}/\text{min}$ do -150°C , podgrzewana do 25°C , następnie ochładzana z szybkością $20^\circ\text{C}/\text{min}$ do temperatury -70°C i ogrzewana z szybkością $20^\circ\text{C}/\text{min}$ wreszcie ochładzana do -70°C i ogrzewana do 25°C z szybkością $5^\circ\text{C}/\text{min}$. Po przechowywaniu w kapsule kalorymetrycznej przez około 3 tygodnie żywotność wyniosła $(68 \pm 5)\%$ [Masłowska – prywatna dyskusja; Le Blanc & Rao, 1972; Pustelniak, 1991].

5.2. Hydratacja próbek

Przed przeprowadzeniem tras hydratacyjnych plecha *U. aprina* była inkubowana przez 164 h w środowisku nad żelem krzemionkowym ($p/p_0 = 0\%$) i w wyniku dehydratacji osiągnęła

poziom uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.048 \pm 0.004$. Plechę *U. decussata* inkubowano przez 1100 h w identycznych warunkach, osiągając poziom uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.007 \pm 0.001$.

Trasy hydratacyjne zostały przeprowadzone z fazy gazowej, w temperaturze pokojowej, w środowiskach o stabilizowanej wilgotności: nad kwasem fosforowym, przesyconymi roztworami soli oraz nad powierzchnią wody destylowanej (Tab. 5-1).

Tabela 5-1. Wartości wilgotności względnych atmosfery nad powierzchnią kwasu fosforowego, przesyconych roztworów soli oraz nad wodą.

| substancja | $h = p/p_0$ [%] | substancja | $h = p/p_0$ [%] |
|--|-----------------|---|-----------------|
| H ₃ PO ₄ | 9 | Na ₂ S ₂ O ₃ | 76 |
| CaCl ₂ | 32 | K ₂ CrO ₃ | 88 |
| K ₂ CO ₃ | 44 | Na ₂ SO ₄ | 93 |
| Na ₂ Cr ₂ O ₇ | 52 | K ₂ SO ₄ | 97 |
| NH ₄ NO ₃ | 63 | H ₂ O | 100 |

Powietrznie suche plechy porostów użyte w pomiarach zostały rozdrobnione na mniejsze fragmenty, a następnie uwodnione do odpowiedniej wilgotności.

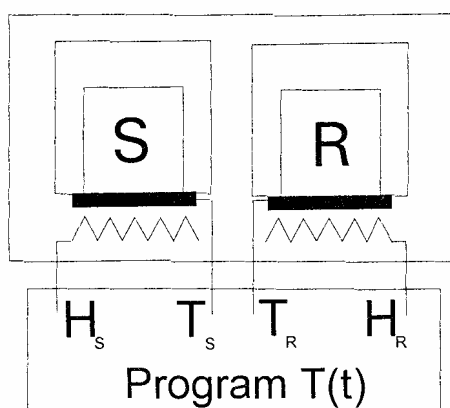
Pomiary hydratacyjne MRJ dla temperatury pokojowej zostały przeprowadzone na dwunastu próbkach dla plechy *U. aprina* i piętnastu dla *U. decussata*. Każda z próbek pokrywała część zakresu hydratacji.

Pomiary temperaturowe MRJ wykonano dla plechy *U. aprina* uwadnianej z fazy gazowej. Sygnały zaniku swobodnej precesji dla protonów zarejestrowano dla czterech próbek o poziomach uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.125$ (próbka hydratowana przez 4.5h), $\Delta m/m_0 = 0.17$ (22.5h), $\Delta m/m_0 = 0.21$ (37h) oraz $\Delta m/m_0 = 0.33$ (hydratacja przez 55.5h). Pomiary wykonano w zakresie temperatury: od 25⁰C do -52⁰C dla $\Delta m/m_0 = 0.125$, oraz od 25⁰C do -61⁰C dla wyższych uwodnień. W serii pomiarowej było 19 pomiarów dla próbki o uwodnieniu $\Delta m/m_0 = 0.125$, 22 pomiary dla próbek o $\Delta m/m_0 = 0.17$ i 0.21 oraz 25 pomiarów dla próbki $\Delta m/m_0 = 0.33$.

5.3. Kalorymetria DSC

5.3.1. Budowa kalorymetru DSC

Kalorymetr DSC (ang. *Differential Scanning Calorimetry*) składa się z dwóch identycznych podukładów kalorymetrycznych (Rys. 5.3): pojemnika ze szczelnym naczynkiem aluminiowym wypełnionym próbką (S) oraz identycznego pojemnika zawierającego identyczne naczynko aluminiowe (próbka referencyjna lub odnośnik R). Oba podukłady kalorymetryczne są wyposażone w platynowy termometr oporowy (T) i grzejnik (H).



Rys. 5.3. Schemat kalorymetru DSC [Wróbel, Marzec, 2006].

Oba pojemniki są ogrzewane identycznymi grzałkami, zachowując te same temperatury przy stałym zadanym ich wzroście. Ze względu na różną pojemność cieplną próbki i odnośnika, różna jest moc cieplna dostarczana do obu grzejników. Różnica tych mocy w funkcji temperatury nazwana jest krzywą DSC. Ponieważ odnośnik nie ma przejść fazowych w okolicy temperatury przejścia fazowego próbki, silna zmiana mocy grzałki dla próbki jest miarą ciepła utajonego przejścia. Wynikiem pomiaru kalorymetrycznego jest krzywa grzania lub chłodzenia. Obie krzywe mogą zostać użyte do wyliczenia temperatur przejścia, jego entalpii, lub entropii. Entalpię przejścia, ΔH , można wyrazić równaniem:

$$\Delta H = k \cdot A_p, \quad (5.1)$$

gdzie k jest stałą, a A_p jest powierzchnią pod pikiem. Kalorymetryczną stałą k wyznacza się, analizując próbkę o znanych entalpiach przejścia.

Maksymalna niepewność pomiaru temperatury wyniosła do około $\pm 0.5\%$. Oszacowany błąd wartości entalpii wyniósł od $\pm 1.5\%$ do $\pm 2\%$ [Mikułko A., 2006].

Masa próbek porostów użytych w pomiarach wyniosła od 4 mg do 14 mg.

5.4. Pomiary MRJ

5.4.1. Spektrometr MRJ

Pomiary relaksacyjne MRJ dla protonów wykonano spektrometrem impulsowym WNS HB65 firmy Waterloo NMR Spectrometers, Waterloo, Ontario, Kanada (Rys. 5.4). Spektrometr pracował przy częstotliwości 30 MHz (pole elektromagnesu: 0.7 T), przy mocy impulsu około 400 W. Czas trwania impulsu wynosił $\pi/2 = 1.4 \div 1.5 \mu\text{s}$, zapewniając obserwację sygnału od wszystkich protonów plechy. Czas repetycji był równy 2.003s. Zwiększenie czasu repetycji do 5 s nie zwiększyło amplitudy sygnału, co oznacza, że czas T_1 był wystarczająco krótki. Czas martwy odbiornika wynosił ok. $10 \mu\text{s}$. Każdy pomiar w temperaturze pokojowej był uśrednieniem z 2000 akwizycji, natomiast dla zależności temperaturowych był uśrednieniem z 1000 akwizycji.

Impuls MRJ projektowany jest programem TEX dostarczonym przez producenta Waterloo NMR Spectrometers. Otrzymana liczba trafia do programatora impulsów, gdzie wytwarzany jest sygnał schodkowy o wysokości 5V i zaprogramowanej długości.

Sygnał zostaje wypełniony funkcją sinusoidalną o częstości larmorowskiej (mnożenie elektroniczne) otrzymaną w następujący sposób. Sygnał sinusoidalny ($\nu = 10$ MHz) otrzymywany z generatora w module K1 jest doprowadzany do powielaczy częstotliwości, z których uzyskiwany jest sygnał o częstotliwości $\nu = 80$ MHz, który zostaje doprowadzony do modułu K2. W module K2 sygnał zostaje rozdzielony do czterech mieszaczy, w których jest modulowany amplitudowo impulsami prostokątnymi, które wytwarzane są w programatorze impulsów. Impulsy wysokiej częstości uformowane w module K3 mieszane są z sygnałem o częstotliwości 110 MHz, który pochodzi z modułu K5. Po przejściu przez filtr dolnoprzepustowy dają one sygnał 30 MHz.

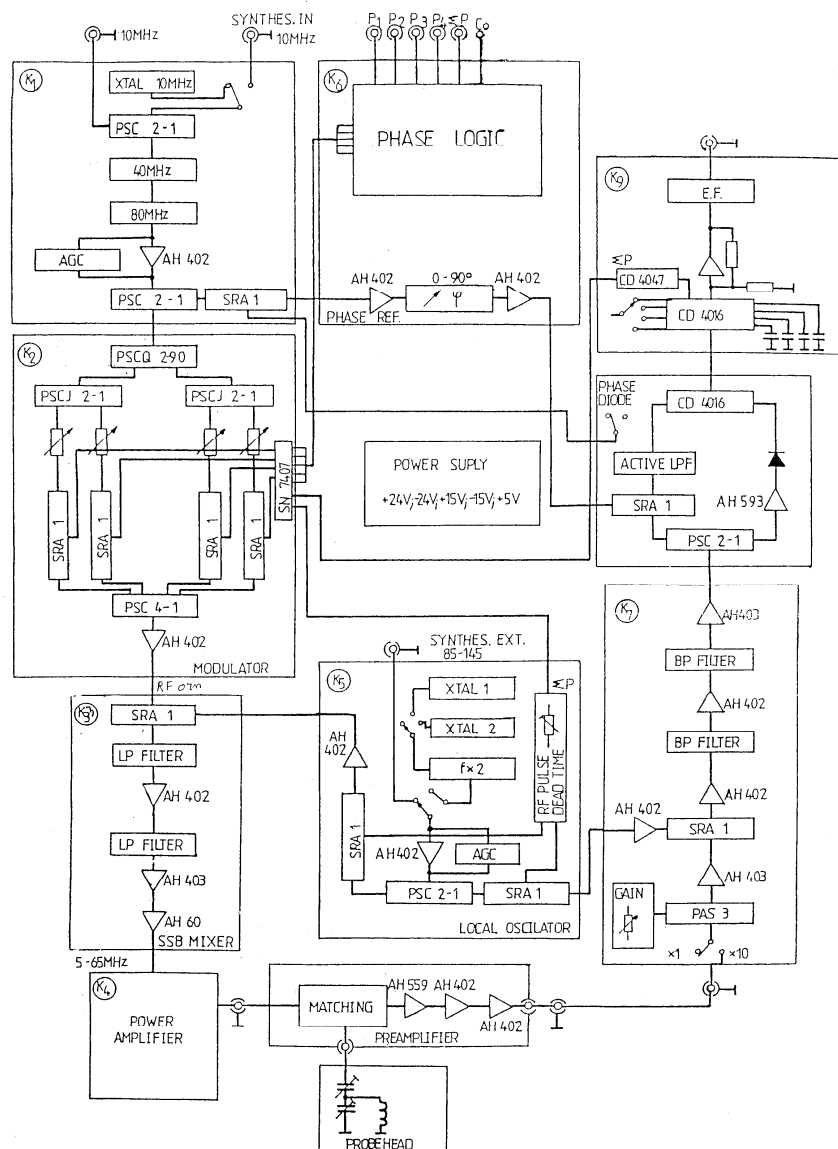
Następnie sygnał zostaje wzmocniony we wzmacniaczu mocy K4. Po dopasowaniu impedancji sygnał trafia do głowicy pomiarowej.

Należąca do toru nadawczego jak i odbiorczego głowica pomiarowa (blok Probehead) stanowi układ LC, w którego cewce umieszcza się badaną próbkę. Istnieje możliwość dostrojenia obwodu do częstotliwości rezonansowej za pomocą kondensatora o zmiennej pojemności. Głowica jest umieszczona między nabiegunnikami elektromagnesu wytwarzającego pole B_0 .

Po wzmocnieniu w przedwzmacniaczu sygnał siły elektromotorycznej indukowanej przez magnetyzację jądrową wirującą z częstością larmorowską, z głowicy pomiarowej trafia do modułu K7. Sygnał jest tu mieszany z sygnałem o częstotliwości 110 MHz i tak powstały

sygnał o częstotliwości 80 MHz jest wyodrębniany filtrem pasmowoprzepustowym. Za pomocą bloku GAIN ustala się wielkość wzmacnienia sygnału, co jest istotne przy obróbce numerycznej wyników. W module K8 następuje demodulacja synchroniczna lub diodowa, natomiast w module K9 będącym filtrem dolnoprzepustowym, następuje przygotowanie sygnału do wyjścia.

Otrzymany sygnał zostaje odfiltrowany od częstości Larmora (dzielenie elektroniczne), a uzyskany sygnał będący jego obwiednią nosi nazwę zaniku swobodnej precesji (FID) i podawany jest bezpośrednio na oscyloskop oraz zbierany przez kartę cyfrowego oscyloskopu Compuscope 2000 komputera PC 80386.



Rys. 5.4. Schemat blokowy spektrometru WNS HB65.

5.4.1.1. Regulator temperatury spektrometru MRJ

Regulację i stabilizację temperatury przeprowadzono przy użyciu regulatora firmy UNIPAN, typ 650, składającego się z mostka oporowego, wzmacniacza pomiarowego, układu korekcyjnego PID i tyrystorowego wzmacniacza mocy.

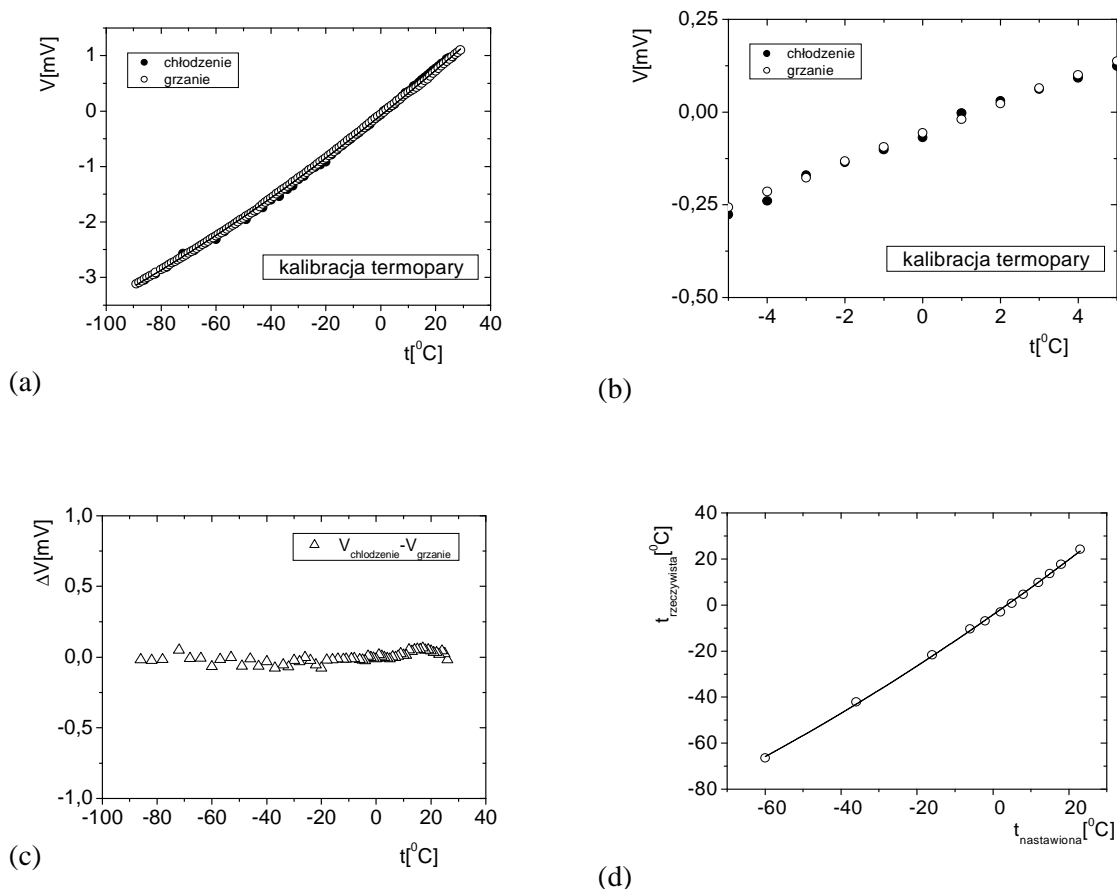
5.4.1.2. Skalowanie pomiaru temperatury

Pomiar temperatury wyskalowano termoparą miedź-konstantan. Jako fantom próbki MRJ wykorzystano mieszaninę stałych węglowodorów (gumka do mazania). Termoparę wykalibrowano, umieszczając jedno z jej złączy mieszaninie wody z lodem. Drugie złącze umieszczono bardzo blisko termometru w fantomie próbki wykonanym z silikonu uniwersalnego, a następnie zanurzono w ciekłym azocie, gdzie układ wolno się ochładzał. W trakcie procesu odczytywano temperaturę i napięcie na miliwoltomierzu (dokładność 0.001mV). Wykonano dwa cykle temperaturowe w zakresie temperatur od 29°C do -89°C: przy ochładzaniu i ogrzewaniu złącza (Rys.5.5.a i b). Maksymalne różnice pomiędzy wartościami napięcia odczytanymi przy chłodzeniu oraz grzaniu dla konkretnych wartości temperatur wyniosły około 0.075 mV (1.9%; Rys.5.5.c).

Do punktów kalibracyjnych dopasowano funkcję postaci: $V=a+b\cdot t+c\cdot t^2$ (Rys.5.5.a), opisującą przebieg grzania dla parametrów: $a = -(0.078\pm 0.002) \text{ mV}$; $b = (0.0396\pm 0.0001) \text{ mV}\cdot\text{C}^{-1}$; $c = (9.0\pm 0.3)\cdot 10^{-5} \text{ mV}\cdot\text{C}^{-2}$. Termometr zanurzony w mieszaninie wody z lodem pokazywał wartość -0.3°C, a miliwoltomierz $V=0.007\text{mV}$, dlatego też wyniki zostały skorygowane odpowiednio o +0.3°C oraz -0.007mV.

Kolejnym krokiem było wyskalowanie nastawy stabilizatora temperatury uprzednio wykalibrowaną termoparą. Dla każdej, kolejnej wartości temperatury, odczytywano wartości napięcia (po około 15 min).

Do punktów doświadczalnych dopasowano funkcję paraboliczną postaci: $t_r = a+b\cdot t_n+c\cdot t_n^2$ (Rys. 5.5.d), gdzie $a = -(4.225\pm 0.278) \text{ }^\circ\text{C}$; $b = (1.155\pm 0.017)$; $c = (2.1\pm 0.4)\cdot 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$, która lepiej opisuje dane doświadczalne niż zależność liniowa. Krzywą tą wykorzystano w pomiarach temperaturowych MRJ do skalowania temperatur. Dla zakresu temperatur wykorzystanego w pomiarach różnica wyniosła do kilku stopni (nie więcej niż 7°C w stosunku do wartości nastawy).



Rys. 5.5. Kalibracja termopary; a) Zależność napięcia termopary od temperatury, ● = grzanie; ○ = chłodzenie. Do punktów doświadczalnych dla grzania dopasowano krzywą postaci $V=a+b*t+c*t^2$; b) Zależność napięcia termopary od temperatury - zakres w pobliżu 0°C; c) Różnice pomiędzy wartościami napięcia odczytanymi przy grzaniu i chłodzeniu dla konkretnych wartości temperatur; d) Ostateczny wykres kalibracyjny.

5.4.2. Program CracSpin

Jednowymiarowa procedura programu CracSpin służy do dopasowania funkcji zaniku swobodnej precesji, gdzie składowa od ciała stałego jest funkcją Gaussa (dopuszcza dwie różne funkcje Gaussa), a składowa cieczowa jest eksponentą (procedura dopuszcza siedem eksponent). Umożliwia również dopasowanie rozciągniętej eksponenty (ang. *stretched exponential*). Powstał on w Zakładzie Radiospektroskopii IF UJ [Węglarz i Harańczyk, 2000]. W mikroheterogennych układach biologicznych, występują odrębne podukłady spinowe relaksujące z różnym czasem relaksacji. Odrębne grupy spinów tworzą matrycę stałą układu, a inne, ruchome grupy molekularne, pule wody ściśle i luźno związanej.

Grupy te są rozróżnialne dzięki różnym czasom relaksacji lub/i odmiennym amplitudom.

Dopasowanie zachodzi przez minimalizację funkcji:

$$S(\vec{a}) = \sum_{k=1}^{N_{\text{data}}} \frac{(R(t_k, \vec{a}) - M_k)^2}{\sigma_k^2} \quad (5.2)$$

gdzie \vec{a} jest wektorem parametrów, $R(t_k, \vec{a})$ jest wartością dofitowanej funkcji relaksacji, a σ_k jest odchyleniem standardowym zmierzonej wartości M_k . Procedura dopasowująca, wykorzystuje algorytm Marquardta i zmienia wartość parametru \vec{a} , aż $S(\vec{a})$ osiągnie minimum. Użytkownik może ustalić kilka parametrów i wybrać odpowiedni zakres danych punktowych do analizy, co jest istotne w przypadku danych częściowo zniekształconych przez czas martwy spektrometru lub przez niejednorodności pola magnetycznego B_0 .

Dwa istotne czynniki wpływają na jakość danych: stosunek sygnału do szumu (S/N) oraz wybór czasów próbkowania. Wartość S/N wzrasta ze wzrostem liczby akwizycji, jednak zwiększa to całkowity czas eksperymentu. Rozkład punktów próbkowania wzdłuż zaniku może znacząco zmienić jakość analizy numerycznej. Wartości czasów próbkowania t są zwykle zebrane w dwie lub trzy grupy o różnych odstępach. Pierwsza pokrywa składową o krótkim czasie zdominowaną przez zanik składowej stałej (funkcja Gaussa).

Testem jakości dopasowania są wartości χ_N^2 , określonej jako iloraz minimum sumy kwadratów przez liczbę stopni swobody. Wartości χ_N^2 bliższe jedności świadczą o lepszym dopasowaniu, wartości χ_N^2 znacznie wyższe od jedności świadczą, o kiepskim dopasowaniu. Kolejne parametry dodawane do modelu zmniejszają wartość χ_N^2 aż do momentu gdy dopasowana funkcja staje się przeparametryzowana. Wtedy zwiększanie liczby parametrów może spowodować wzrost wartości χ_N^2 , oraz wartości oszacowanych błędów dopasowanych parametrów. Na przykład analiza wartości χ_N^2 dla modelu złożonego z funkcji Gaussa i czterech eksponent pokazała, że wyliczone wartości χ_N^2 są wyższe niż dla modelu z trzema eksponentami, z wyjątkiem nielicznych przypadków gdzie χ_N^2 jest nieco niższe (0.3% dla $S/N = 16$), co było świadectwem przeparametryzowania.

Dla jakości dopasowania istotną rolę odgrywa również właściwe ustalenie wartości niezerowej składowej stałej sygnału zaniku swobodnej precesji. Jest ona efektem aparaturowym i przy odpowiedniej konfiguracji eksperymentalnej może zostać wyeliminowana. Różnice wartości parametrów dla dopasowanej linii bazowej oraz ustalonej

linii bazowej są widoczne dla składowej z dłuższym czasem T_2^* (2.5ms) i mniejszą amplitudą, jednak nie dla składowej Gaussa z krótszym czasem T_2^* [Węglarz i Harańczyk, 2000].

Wykluczenie niepoprawnych modeli opisujących dane doświadczalne ułatwia również funkcja rezydualna:

$$r_k(t) = R(t_k, \vec{a}_{\min}) - M_k \quad (5.3)$$

Jeśli wybrana funkcja dobrze opisuje dane, funkcja rezydualna $r_k(t)$ przypadkowo oscyluje wokół zera. Systematyczne odchylenie świadczy o konieczności zastosowania innego modelu (np. z większą liczbą parametrów).

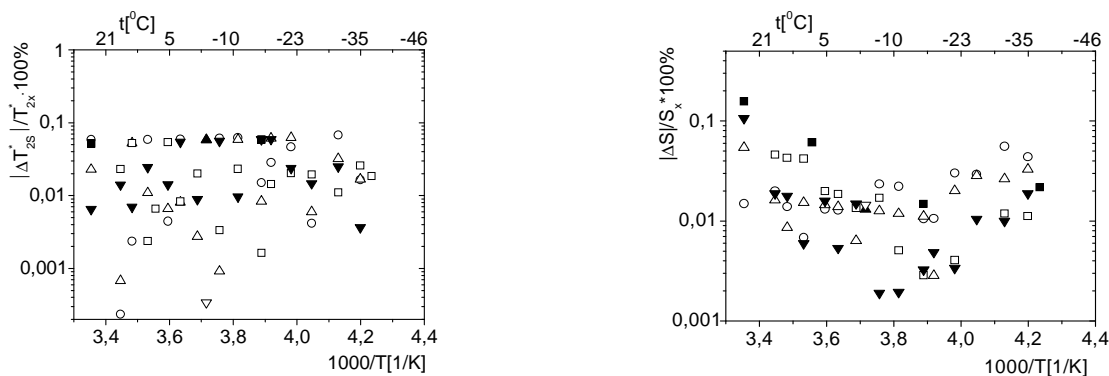
5.4.3. Analiza porównawcza wyników dopasowań uzyskanych dla różnych programów

Analizowano wartości parametrów dopasowanych dla modeli złożonych ze składowej od ciała stałego opisanej funkcją Gaussa i dwóch eksponent (równanie 6.2.a), celem sprawdzenia różnicy między parametrami tych samych funkcji dopasowanych w programie Cracspin i OriginPro 7.0. Wykonano analizę porównawczą wartości czasów relaksacji poprzecznej składowej sygnału frakcji stałej T_{2S}^* , czasów relaksacji T_{2L1}^* , T_{2L2}^* składowych ciekłych oraz amplitudy składowej stałej S i amplitudy składowych ciekłych L_1 i L_2 . Porównanie wartości wyznaczonych różnymi programami przeprowadzono w zakresie od temperatury pokojowej do -35°C .

5.4.3.1. Analiza składowej stałej

W całym zakresie analizowanych temperatur różnica między wartościami czasu T_{2S}^* składowej sygnału frakcji stałej (patrz rozdz. 3.5.1.1.) otrzymanymi w programie CracSpin i OriginPro 7.0 jest bardzo niewielka i wynosi do $0.01 \mu\text{s}$, co daje wartość różnicy tych parametrów na jednostkę większej z wielkości mniejszą niż 0.1 % (Rys. 5.6.a).

Podobnie jak dla wartości czasów relaksacji, różnica między wartościami amplitudy S składowej sygnału frakcji stałej, otrzymanymi w programie CracSpin i OriginPro 7.0 jest bardzo niewielka. Wartość różnicy tych parametrów na jednostkę większej z wielkości jest mniejsza niż 0.15 % (Rys. 5.6.b).



(a)

(b)

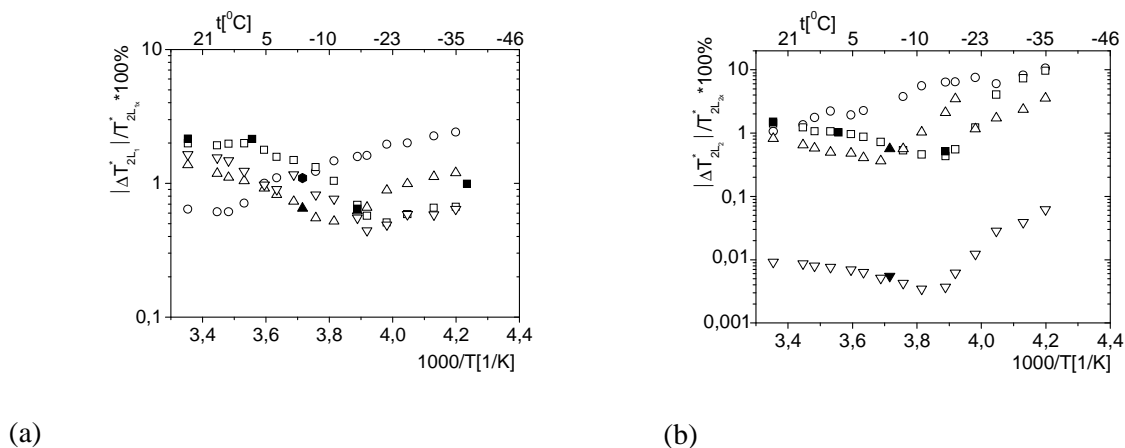
Rys. 5.6. Zależności różnicy między wartościami czasów relaksacji (a) oraz amplitudy (b) protonów matrycy stałej sygnału FID wyznaczonej programem CracSpin i OriginPro 7.0 na jednostkę większej wartości w funkcji temperatury dla próbek o różnym uwodnieniu: $\Delta m/m_0 = 0.12$ (\circ = chłodzenie), $\Delta m/m_0 = 0.17$ (\triangle = chłodzenie; \blacktriangle = grzanie), $\Delta m/m_0 = 0.21$ (\square = chłodzenie; \blacksquare = grzanie), $\Delta m/m_0 = 0.33$ (\blacktriangledown = chłodzenie; \triangledown = grzanie).

5.4.3.2. Analiza składowych cieczowych

5.4.3.2.1. Analiza porównawcza czasów T_{2L1}^* i T_{2L2}^* składowych cieczowych

W analizowanym zakresie temperatur, różnica między wartościami czasu relaksacji krótszej składowej cieczowej, T_{2L1}^* , (patrz rozdział 3.5.2.) otrzymanymi w programie CracSpin i OriginPro 7.0 była niewielka i wyniosła do $1 \mu s$, co daje wartość różnicy tych parametrów na jednostkę większej z wartości mniejszą niż 3% (Rys.5.7.a).

W przypadku czasu T_{2L2}^* dłuższej składowej cieczowej różnica między wartościami otrzymanymi w programach wyniosła do $64 \mu s$, co daje względną wartość różnicy parametrów do 12% (Rys.5.7.b).



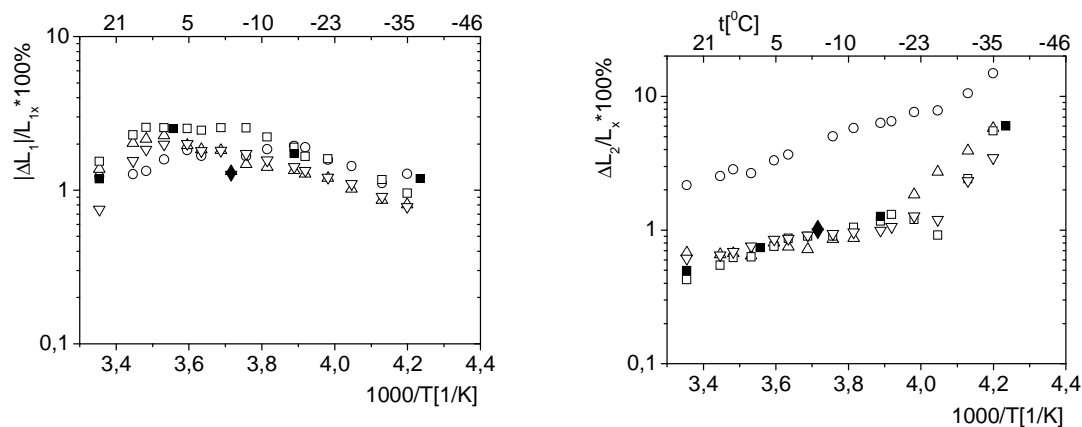
Rys. 5.7. Zależności różnicy między wartościami czasów relaksacji składowej cieczowej T_{2L1}^* (a) oraz T_{2L2}^* (b) sygnału FID wyznaczonej programem Cracspin i OriginPro 7.0 na jednostkę większej wartości od temperatury dla próbek o różnym uwodnieniu: $\Delta m/m_0 = 0.12$ (\circ = chłodzenie), $\Delta m/m_0 = 0.17$ (Δ = chłodzenie; \blacktriangle = grzanie), $\Delta m/m_0 = 0.21$ (\square = chłodzenie; \blacksquare = grzanie), $\Delta m/m_0 = 0.33$ (\blacktriangledown = grzanie; \triangledown = chłodzenie).

Dla próbki o najwyższym poziomie uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.33$ błąd wyznaczenia czasu relaksacji dla składowej wolnej jest o dwa rzędy wielkości mniejszy niż dla innych próbek. Dla wysokiego poziomu uwodnienia składowa sygnału od wody luźno związanej majoryzuje całość sygnału cieczowego, co jest tego przyczyną.

5.4.3.2.2. Analiza porównawcza amplitud L_1 i L_2 składowych cieczowych

Wartość różnicy między parametrami na jednostkę większej z wartości dla frakcji L_1 była mniejsza niż 3% (5.8.a) dla próbek w całym zakresie badanych uwodnień.

W przypadku składowej L_2 różnica między wartościami otrzymanymi w programach na jednostkę większej z wartości wyniosła do 6%, dla próbek uwodnionych w zakresie od $\Delta m/m_0 = 0.17$ do $\Delta m/m_0 = 0.33$. Dla próbki o najmniejszym stopniu uwodnienia (do wartości $\Delta m/m_0 = 0.12$) różnica wyniosła 15% (5.8.b).



(a)

(b)

Rys. 5.8. Zależności różnicy między wartościami składowej cieczowej L_1 (a) oraz L_2 (b) sygnału FID wyznaczonej programem Cracspin i OriginPro 7.0 na jednostkę większej wartości od temperatury. Zależności dla próbek uwodnionych odpowiednio do wartości: a) - $\Delta m/m_0=0.12$ (\circ = chłodzenie); b) - $\Delta m/m_0=0.17$ (\triangle = chłodzenie; \blacktriangle = grzanie); c) - $\Delta m/m_0=0.21$ (\square = chłodzenie; \blacksquare = grzanie); d) - $\Delta m/m_0=0.33$ (∇ = grzanie; \blacktriangledown = chłodzenie).

Trzykrotnie większy błąd w wyznaczeniu amplitudy frakcji wody luźno związanej dla próbki o najmniejszym uwodnieniu wziął się z niewielkiego udziału tej składowej w porównaniu z frakcją wody ściśle związanej do plechy.

6. Pomiary hydratacji plech porostów z rodzaju *Umbilicaria*

Pomiary hydratacyjne plech porostów przeprowadzono metodą kinetyki hydratacji, analizą izotermy sorpcyjnej oraz magnetyczną relaksacją jądrową dla protonów.

6.1. Kinetyka hydratacji

Trasy hydratacyjne plechy *Umbilicaria aprina* przeprowadzone z fazy gazowej dla względnej wilgotności, p/p_0 , w zakresie pomiędzy 9% a 76%, zostały dopasowane funkcją jednoeksponencjalną (Rys. 6.1.)

$$\Delta m / m_0 = A_0^h + A_1^h \cdot (1 - \exp(-t / t_1^h)), \quad (6.1.a)$$

gdzie $\Delta m / m_0$ jest względnym przyrostem masy, A_0^h jest poziomem hydratacji dla $p/p_0 = 0\%$, A_1^h jest nasyceniowym poziomem hydratacji dla szybkiej składowej (patrz niżej), t_1^h jest odpowiednią stałą czasową hydratacji, a $A_0^h + A_1^h$ jest całkowitym poziomem hydratacji dla nasycenia.

Dla względnej wilgotności wyższej niż 76% pojawiła się wolniejsza składowa hydratacyjna, i trasy hydratacyjne zostały dopasowane funkcją dwueksponencjalną (Rys. 6.1):

$$\Delta m / m_0 = A^h + A_1^h \cdot (1 - \exp(-t / t_1^h)) + A_2^h \cdot (1 - \exp(-t / t_2^h)), \quad (6.1.b)$$

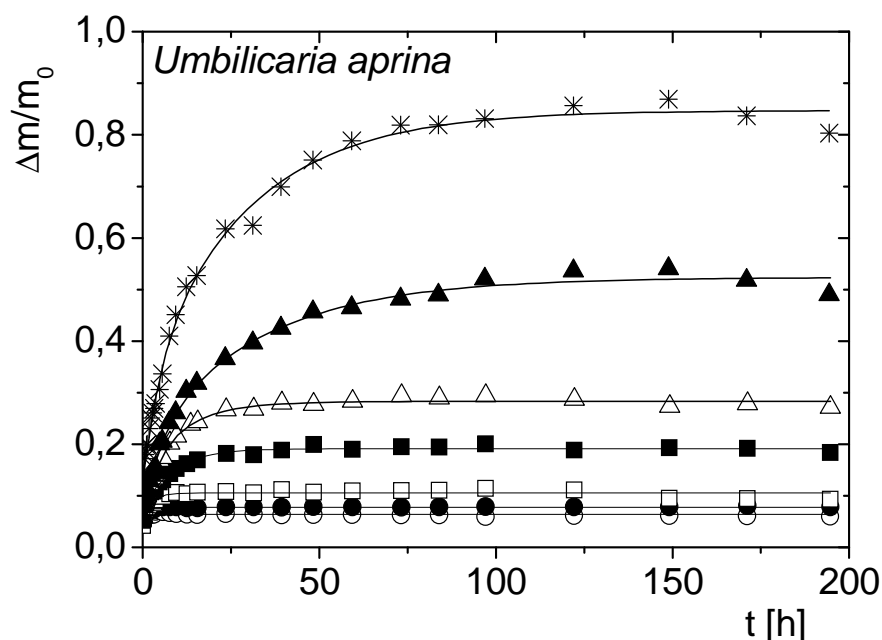
gdzie A_0^h jest poziomem hydratacji dla $p/p_0 = 0\%$, A_1^h i A_2^h są poziomami hydratacji nasyceniowej dla szybkiej i wolnej składowej, t_1^h i t_2^h są czasami hydratacji dla obu tych składowych, odpowiednio.

Kinetyka hydratacji plechy *U. decussata* opisana została funkcją jednoeksponencjalną (równanie 6.1.c) w całym zakresie badanych wilgotności względnych. Nie da się wyróżnić frakcji wody ściśle związanej i wody luźno związanej, natomiast obserwuje się proces uśredniony.

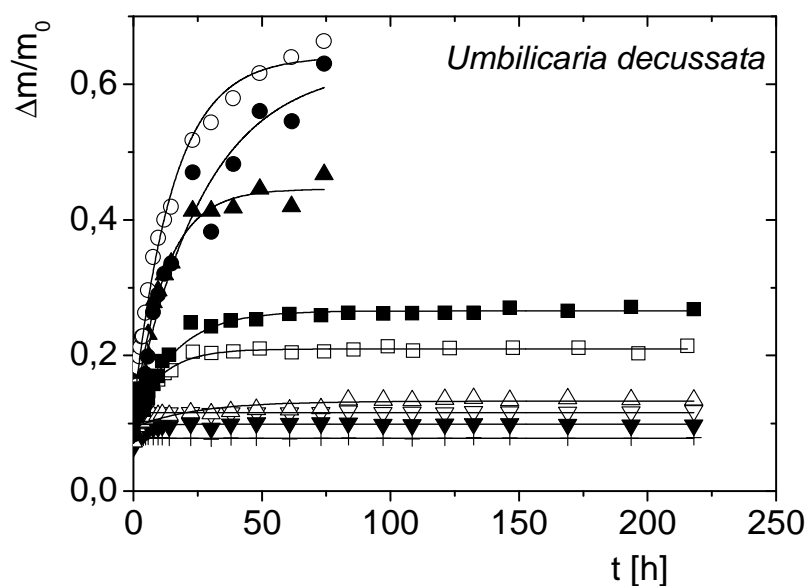
$$\Delta m / m_0 = A_0^h + A^h (1 - \exp(-t / t^h)), \quad (6.1.c)$$

gdzie $\Delta m / m_0$ jest względnym przyrostem masy, A_0^h jest poziomem hydratacji dla $p/p_0 = 0\%$, A^h jest nasyceniowym poziomem hydratacji, t^h jest stałą czasową hydratacji.

Próbki uwadniane w eksykatorach o wilgotnościach względnych 93%, 97% i 100% spleśniały po około 83.5h hydratacji (Rys. 6.2). Analiza mykologiczna pokazała, że porosty antarktyczne atakowane są przez grzyby kosmopolityczne.



Rys. 6.1. Kinetyka hydratacji z fazy gazowej plechy *Umbilicaria aprina* dla różnych wartości wilgotności względnych p/p_0 , wyrażona jako względny przyrost masy wyrażony na jednostkę suchej masy $\Delta m / m_0$. Wilgotności próbek (p/p_0): $\circ = 9\%$, $\bullet = 32\%$, $\square = 52\%$, $\blacksquare = 76\%$, $\triangle = 88\%$, $\blacktriangle = 93\%$, $*$ = 100% [Harańczyk, Bacior, Olech, 2008].



Rys. 6.2. Kinetyka hydratacji z fazy gazowej plechy *Umbilicaria decussata* dla różnych wartości wilgotności względnych p/p_0 , wyrażona jako względny przyrost masy wyrażony na jednostkę suchej masy $\Delta m/m_0$. Wilgotności próbek (p/p_0): + = 32%, ∇ = 44%; \blacktriangledown = 52%, \triangle = 63%; \square = 76%, \blacksquare = 88%, \blacktriangle = 93%, \circ = 97%; \bullet = 100%.

Tab. 6-1. Porównanie parametrów kinetyki hydratacji dla badanych gatunków porostów.

| | A_0^h | A_1^h | t_1^h [h] | t_2^h [h] |
|---------------------|-------------------|-------------------|---------------|----------------|
| <i>U. aprina</i> | 0.054 ± 0.011 | 0.051 ± 0.038 | 4.7 ± 2.6 | 31.0 ± 1.9 |
| <i>U. decussata</i> | 0.112 ± 0.009 | - | - | 27.3 ± 4.3 |

Składowa szybko wiążąca o krótszym czasie hydratacji mocniej wiąże się do powierzchni plechy i można ją nazwać wodą ściśle związaną. Składowa o dłuższym czasie hydratacji jest słabiej związana i można ją nazwać wodą luźno związaną. Dla plechy *U. aprina* wartość uwodnienia w $p/p_0=0\%$, A_0^h , uśredniona z wszystkich tras hydratacyjnych, wyniosła 0.054 ± 0.011 , a dla plechy *U. decussata* wartość ta była większa i wyniosła 0.112 ± 0.009 . Porównując z innymi porostami antarktycznymi, na przykład dla krzaczkowatej plechy *Usnea antarctica* Du Rietz obecność frakcji wody najściślej związanej była niższa i wyniosła $A_0^h = 0.040 \pm 0.011$, [Harańczyk i in., 2006] natomiast dla *U. antarctica* była wyższa i wyniosła $A_0^h = 0.101 \pm 0.018$ [Harańczyk, 2003]. Różnice w wartości parametru A_0^h mogą świadczyć o zróżnicowaniu gęstości miejsc wiążących wodę na powierzchniach różnych gatunków porostów.

Amplituda ściśle związanej frakcji wody dla plechy *U. aprina* wyniosła $A_1^h = 0.051 \pm 0.038$. W plesze krzaczkowej *Usnea antarctica* zaobserwowana wartość amplitudy ściśle związanej frakcji była większa i wyniosła $A_1^h = 0.087 \pm 0.028$ [Harańczyk i in. 2006].

W plesze *U. decussata* amplituda ściśle związanej frakcji wody wyniosła $A^h = 0.112 \pm 0.009$. Prawdopodobnie jest to suma składowych od wody najściślej związanej i od frakcji wody ściśle związanej.

Stała czasowa hydratacji porostu *U. aprina* dla frakcji wody A_1^h wyniosła $t_1^h = (4.7 \pm 2.6)$ h, a dla plechy *Usnea antarctica* stała ta była mniejsza i wyniosła $t_1^h = (3.5 \pm 1.0)$ [Harańczyk i in. 2006].

W plesze *U. decussata* zaobserwowano stałą czasową hydratacji o wartości $t^h = (27.3 \pm 4.3)$ h. Dla listkowej *U. antarctica* wartość ta była większa: $t^h = (55.9 \pm 4.8)$ h.

Dla plechy *U. aprina*, dla tras hydratacyjnych zmierzonych dla wyższych wartości względnej wilgotności ($p/p_0 > 76\%$), pojawiła się również frakcja wody luźno związanej, scharakteryzowana czasem hydratacji $t_2^h = (31.0 \pm 1.9)$ h i poziomem nasycenia A_2^h rosnącym stopniowo ze wzrostem wilgotności.

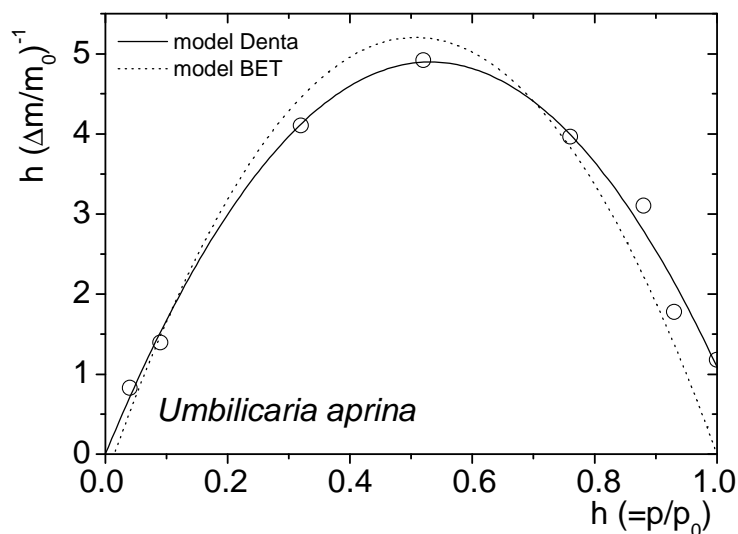
Analizując przebadane dotychczas gatunki porostów można zauważyć, że dwueksponencjalna postać kinetyki hydratacji jest charakterystyczna dla krzaczkowej plechy, podczas gdy dla porostów o plesze listkowej, zasiedlających łagodniejszy klimat, np. dla plechy *Umbilicaria antarctica* Frey & I.M. Lamb z Antarktyki morskiej, obserwuje się kinetykę jednoeksponencjalną [Harańczyk 2003]. Dla plechy *U. decussata* zaobserwowano kinetykę jednoeksponencjalną, a dla plechy *U. aprina* kinetykę dwueksponencjalną.

Całkowity poziom hydratacji nasyceniowej, został wyznaczony z zależności:

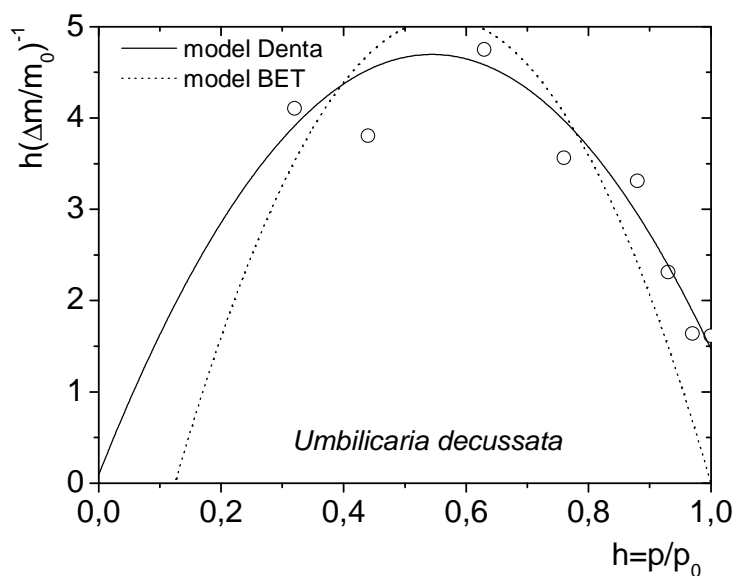
$$C^h = A_0^h + A_1^h + A_2^h, \text{ i użyty do konstrukcji izotermy sorpcyjnej.}$$

6.2. Izoterma sorpcyjna

Izotermy sorpcyjne zmierzone dla plech porostów z rodzaju *Umbilicaria* wyrażono w postaci parabolicznej (wzór 4.31). Dla modelu BET paraboliczna forma izotermy sorpcyjnej dla wilgotności $h=1$ przechodzi przez zero. Odstępstwo od tej wartości jest miarą stosowalności modelu Denta (wykres 6.3 i 6.4). Na tej podstawie uznano, że model Denta znacznie lepiej opisuje izotermę sorpcyjną dla *U. aprina* i *U. decussata* niż model BET.



Rys. 6.3. Paraboliczna forma izotermy sorpcyjnej Denta i BET (\circ = punkty zmierzone, linia ciągła = dofitowany model Denta, linia kropkowana = model BET) [Harańczyk, Bacior, Olech, 2008].



Rys. 6.4. Paraboliczna forma izotermy sorpcyjnej Denta i BET (\circ = dane eksperymentalne, linia ciągła = dofitowany model Denta, linia kropkowana = model BET).

Fracja wody wysycającej pierwotne miejsca wiążące dla plechy *U. aprina* wyniosła $\Delta M/m_0 = 0.054$, a dla plechy *U. decussata* nieco więcej: $\Delta M/m_0 = 0.059$. Uzyskane wartości są niższe niż dla przebadanych gatunków porostów krzaczkowatych: np. dla *Himantornia lugubris* $\Delta M/m_0 = 0.071$, dla *Usnea aurantiaco-atra* $\Delta M/m_0 = 0.063$, a dla *Usnea antarctica* $\Delta M/m_0 = 0.068$. Dla plechy listkowej *U. antarctica* z Antarktydy morskiej frakcja wody

wysycającej pierwotne miejsca wiążące była większa i wyniosła $\Delta M/m_0 = 0.073$ [Harańczyk 2003; Harańczyk i in., 2006].

Dla *U. aprina* parametr b , wskazujący na stosowalność modelu Denta wyniósł 0.941, a dla plechy *U. decussata* był nieco niższy i wyniósł 0.914. Uzyskano wartości wyższe niż dla innych przebadanych gatunków porostów, np. dla *Cladonia mitis* $b = 0.871$, dla *Umbilicaria antarctica* $b = 0.871$, a dla *Usnea aurantiaco-atra* $b = 0.873$, jednak nadal znacząco niższe niż $b = 1$, jak dla modelu BET.

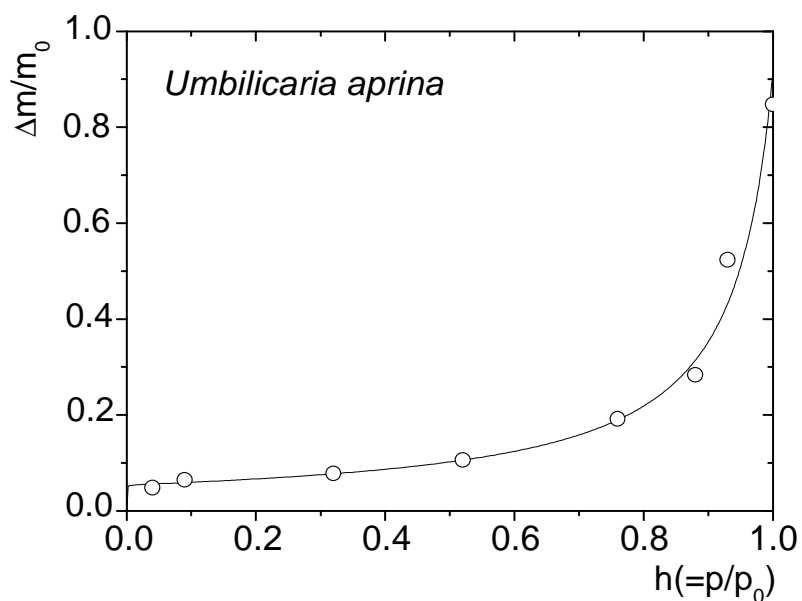
Wyrażony w procentach wkład od pustych miejsc wiążących dla wilgotności względnej $h = 1$ wyniósł $1/b_1 = 0.02\%$ dla *U. aprina*, a dla plechy *U. decussata* otrzymano wyższą wartość: $1/b_1 = 0.53\%$. Dla listkowatej plechy *U. antarctica* wkład od pustych miejsc wiążących był bliższy wartości dla *U. aprina* i wyniósł $1/b_1 = 0.09\%$ [Harańczyk 2003]. Być może to podobieństwo jest związane z podobnymi siedliskami porostów (łagodniejsze warunki cieku lodowcowego zasiedlanego przez *U. aprina* i Antarktydy morskiej zasiedlanej przez *U. antarctica* w porównaniu z surowszymi warunkami nunataku porastanego przez *U. decussata*).

Wkład od pustych miejsc wiążących przy $h = 1$, wyliczony wg modelu Denta, dla *U. aprina* wyniósł $S_0/N \approx 9.9 \cdot 10^{-6}$, gdzie N jest całkowitą liczbą pierwotnych miejsc wiążących. Dla *U. decussata* liczba pustych miejsc wiążących był większa: $S_0/N \approx 4.6 \cdot 10^{-4}$.

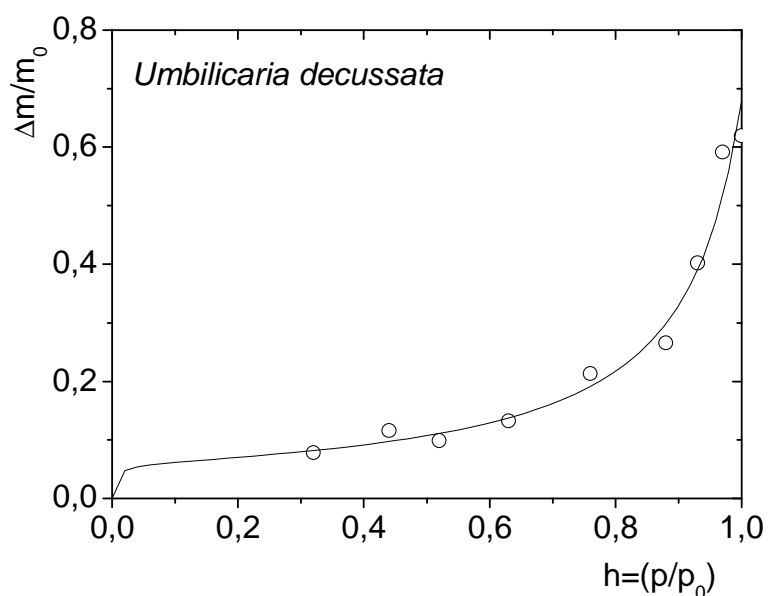
Tab. 6-2. Porównanie parametrów izotermy sorpcyjnej dla badanych gatunków porostów.

| | $\Delta M/m_0$ | b | $1/b_1 [\%]$ | S_0/N |
|---------------------|----------------|-------|--------------|---------------------|
| <i>U. aprina</i> | 0.054 | 0.941 | 0.02 | $9.9 \cdot 10^{-6}$ |
| <i>U. decussata</i> | 0.059 | 0.914 | 0.53 | $4.6 \cdot 10^{-4}$ |

W porównaniu z plechą *U. decussata* i innymi badanymi wcześniej gatunkami porostów, plecha *U. aprina* ujawniła podwyższoną hydrofilowość powierzchni (wyższa wartość b_1) oraz nieznacznie mniejsze zagęszczenie pierwotnych miejsc wiążących.



Rys. 6.5. Izoterma sorpcyjna dla plechy *Umbilicaria aprina*. Wartości $h(=p/p_0)$ oznaczają wilgotność względną, a wartości względnego przyrostu masy, $\Delta m/m_0$ są wartościami nasyceniowymi C^h wyznaczonymi z kinetyki hydratacji (równanie 6.1.a i b); \circ = punkty zmierzone, linia ciągła = dopasowany model Denta.



Rys. 6.6. Izoterma sorpcyjna dla plechy *Umbilicaria decussata*. Wartości $h(=p/p_0)$ oznaczają wilgotność względną, a wartości względnego przyrostu masy, $\Delta m/m_0$ są wartościami nasyceniowymi C^h wyznaczonymi z kinetyki hydratacji (równanie 6.1.c); \circ = punkty zmierzone, linia ciągła = dopasowany model Denta.

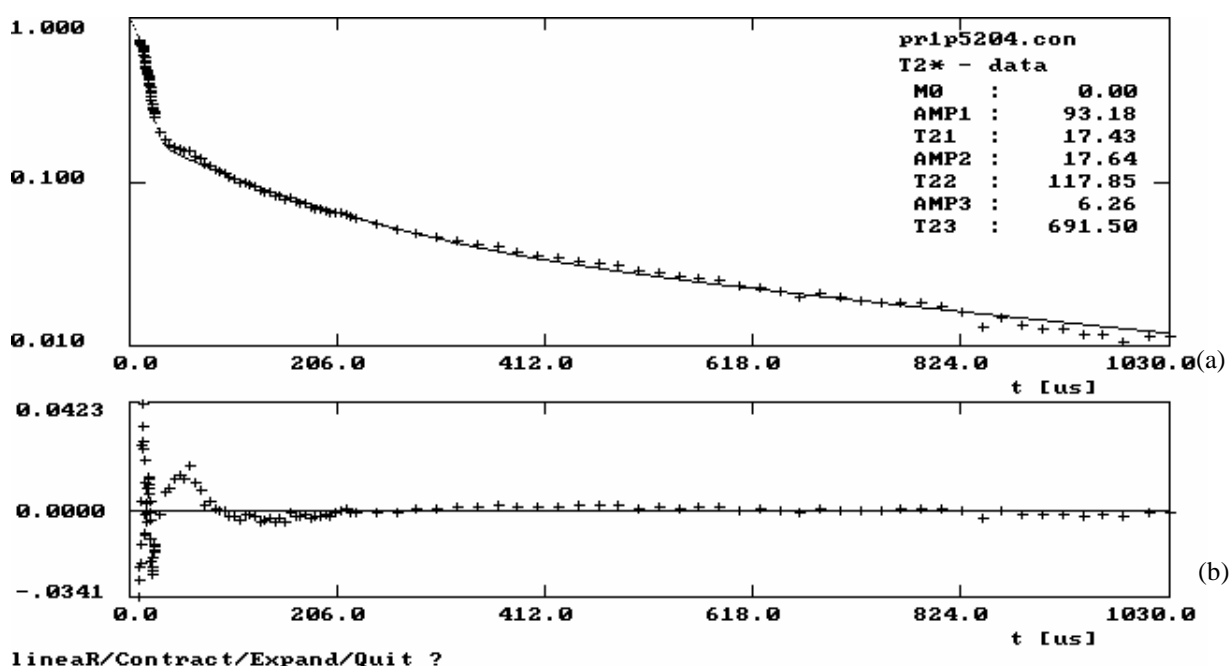
6.3. Pomiary zależności hydratacyjnych zaniku swobodnej precesji dla protonów

6.3.1. Zanik swobodnej precesji dla Umbilicaria

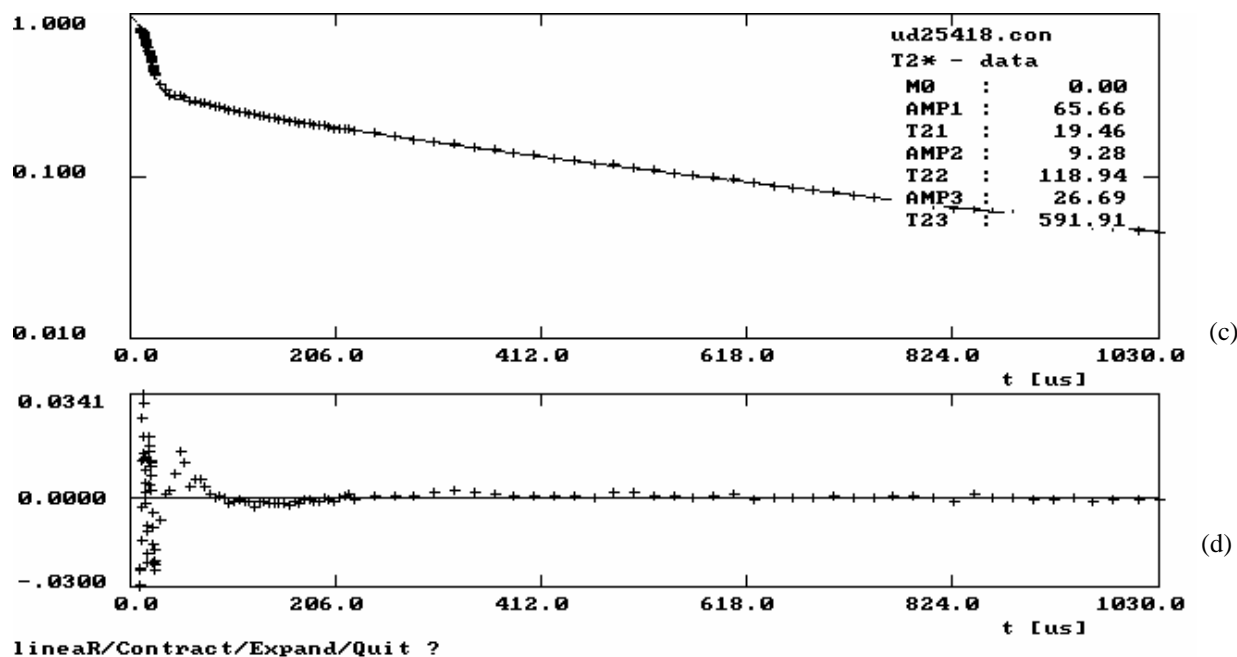
Sygnal zaniku swobodnej precesji dla protonów plechy *U. aprina* dla niższych uwodnień w sposób zadawalający był dopasowany superpozycją funkcji Gaussa, z amplitudą S pochodzącą od protonów matrycy stałej plechy i funkcji eksponencjalnej od frakcji wody ściśle związanej, o amplitudzie L_1 . Dla wyższych poziomów uwodnienia obserwowano dwie składowe eksponencjalne, L_1 i L_2 od wody ściśle i luźno związanej na powierzchni plechy (Rys. 6.7a, b):

$$FID(t) = S \cdot \exp\left[-\left(\frac{t}{T_{21}^*}\right)^2\right] + L_1 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_1}^*}\right) + L_2 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_2}^*}\right), \quad (6.2.a)$$

gdzie T_{2S}^* jest czasem relaksacji spinowo-spinowej dla składowej stałej, $T_{2L_1}^*$, $T_{2L_2}^*$ są czasami relaksacji dla składowych cieczowych L_1 i L_2 , odpowiednio.



Rys. 6.7.a,b.



Rys. 6.7. Sygnał zaniku swobodnej precesji dla protonów plechy *U. aprina* (a,b) zarejestrowany przy częstotliwości 30 MHz; długość impulsu $\pi/2 = 1.4 \mu\text{s}$. Względny przyrost masy próbki wyniósł $\Delta m/m_0 = 0.097$; sygnał FID dla plechy *U. decussata* (c,d) zarejestrowany przy częstotliwości 30 MHz; długość impulsu $\pi/2 = 1.5 \mu\text{s}$. Względny przyrost masy próbki wyniósł $\Delta m/m_0 = 0.184$. Linia stała reprezentuje dopasowanie metodą najmniejszych kwadratów zgodnie z zależnością 6.2.a do danych doświadczalnych ($Amp1=S$, $Amp2=L1$, oraz $Amp3=L2$); (b). Funkcja rezydualna *U. aprina* sygnału FID nie przekracza 4.23%; (d). Funkcja rezydualna *U. decussata* nie przekracza 3.41%.

Sygnał zaniku swobodnej precesji dla protonów plechy *U. decussata* w całym zakresie uwodnień był dopasowany superpozycją funkcji Gaussa z amplitudą S pochodzącą od protonów matrycy stałej plechy oraz z dwoma składowymi eksponencjalnymi, L_1 i L_2 pochodzącymi od wody ściśle i luźno związanej na powierzchni plechy (Rys.6.7.c,d). Dla niektórych zbiorów danych z zakresu uwodnień od $\Delta m/m_0 = 0.18$ do $\Delta m/m_0 = 0.31$ nie udało się dopasować szybciej zanikającej składowej eksponencjalnej i dlatego dla tych danych pomiarowych wzięto model będący superpozycją funkcji Gaussa oraz jednej eksponenty.

Sygnał stały dla plechy porostu jest zwykle zbliżony do funkcji Gaussa [Harańczyk i in., 2000], podobnie było dla badanych gatunków porostów. Nie jest to jednakże regułą, bo dla wielu układów lepszym przybliżeniem jest funkcja Abragama (równanie 6.2.b, 6.2.c).

Na Rys. 6.7.b i d przedstawiających funkcje rezydualne wyliczone dla zależności (6.2.a) widoczna jest falka (ang. *beat pattern*). Lepszym modelem opisującym frakcję stałą sygnału FID o takim kształcie jest iloczyn funkcji Gaussa i funkcji sincus (tzw. funkcja Abragama) [Abragam, 1961; Derbyshire i in., 2004; rozdz. 3.5.1.2.].

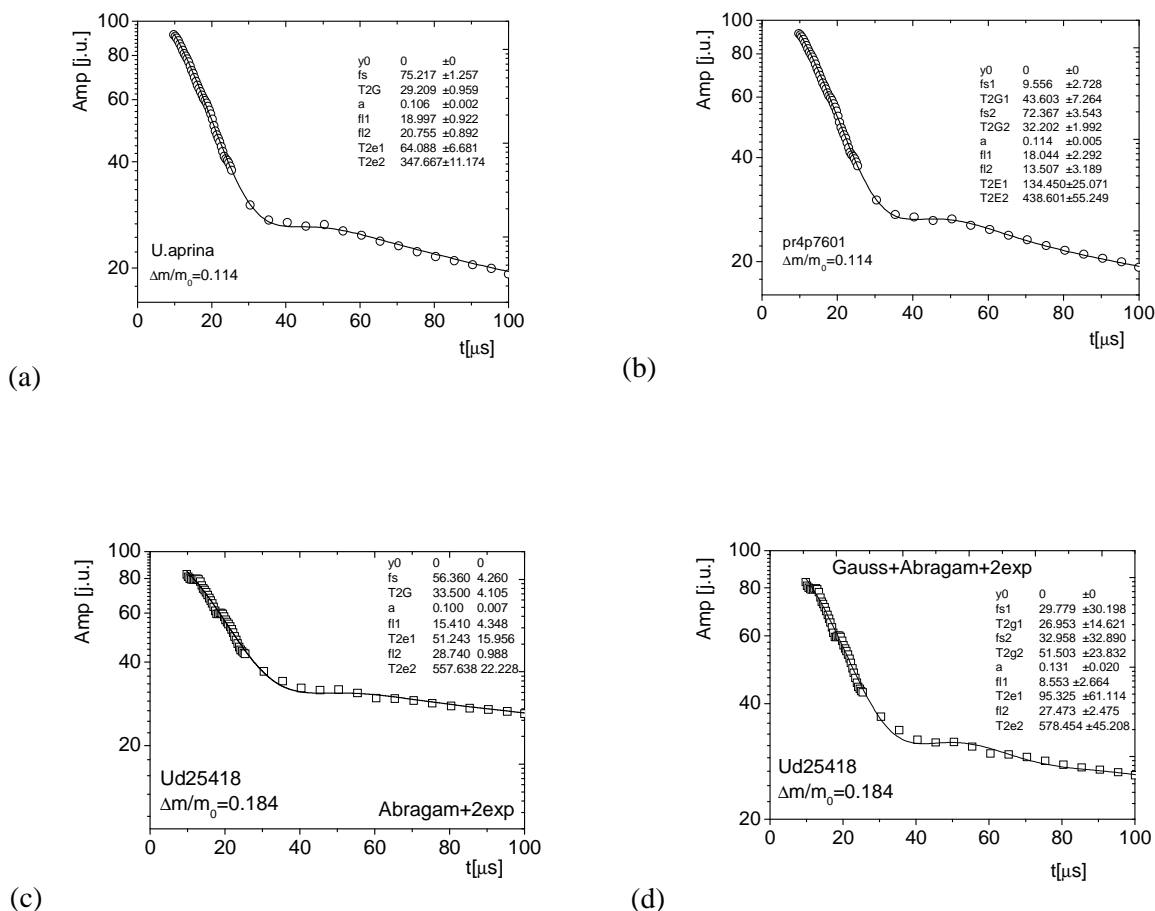
Stosowalność funkcji Abragama do opisu sygnału frakcji stałej plechy *U. aprina* była analizowana przy użyciu modelu funkcji Abragama z jedną lub dwiema eksponentami (składowe cieczowe sygnału):

$$FID(t) = S \cdot \exp\left(-\left(\frac{t}{T_{21}^*}\right)^2\right) \frac{\sin(at)}{at} + L_1 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_1}^*}\right) + L_2 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_2}^*}\right) \quad (6.2.b)$$

lub przy użyciu superpozycji funkcji Gaussa oraz funkcji Abragama z jedną lub dwiema eksponentami:

$$FID(t) = S_1 \cdot \exp\left(-\left(\frac{t}{T_{2S_1}^*}\right)^2\right) + S_2 \cdot \exp\left(-\left(\frac{t}{T_{2S_2}^*}\right)^2\right) \frac{\sin(at)}{at} + L_1 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_1}^*}\right) + L_2 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_2}^*}\right) \quad (6.2.c).$$

Często zdarza się, że sygnał stały, który dobrze opisuje funkcja Abragama, może świadczyć o obecności frakcji szklanych w suchych, amorficznych układach. Jak to zostało przewidziane dla układów cukier-woda przez fenomenologiczne równanie Gordona-Taylora [Gordon & Taylor, 1952; Crowe, 2002], temperatura przejścia szklanego, T_g , dla układów cukier-woda spada bardzo szybko z zawartością wody. Wartość poziomu uwodnienia, dla którego funkcja Abragama jest zadowalająco dopasowana do sygnału stałego w plechce *U. aprina*, sięga znacznie wyższych poziomów niż poziom uwodnienia, w którym dla cukrów występuje przejście szklane T_g , w temperaturze pokojowej, lub wyższej. Składowa stała sygnału FID jest dokładniej opisana przy użyciu superpozycji funkcji Gaussa i funkcji Abragama, niż przez funkcję Gaussa, jednakże oba modele upraszczają bardzo skomplikowaną postać sygnału stałego. Przybliżenie Abragama wnosi dodatkowo szerokość połówkową linii MRJ. Co więcej, pomiary kalorymetryczne podjęte dla plechy *U. aprina* nie ujawniły przejść szklanych aż do temperatury $+50^{\circ}\text{C}$ (rozdz.8.6.). Sugeruje to, że model sygnału FID dla plechy *U. aprina* będący superpozycją funkcji Gaussa i Abragama wnosi rozsądne przybliżenie tegoż sygnału, ale nie jest markerem rzeczywistej obecności frakcji szklanej. Wyniki dopasowań przedstawiono na Rys. 6.8.a,b,c i d:



Rys. 6.8. Przykładowy sygnał zaniku swobodnej precesji dla próbki porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.114$ (a,b) i *U. decussata* (c,d) uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.184$. Pomiar wykonano w temperaturze pokojowej, przedstawiono wycinek czasu do $100\mu s$ dla lepszej wizualizacji. Linia ciągła (Rys. a,c) reprezentuje fit równania (6.2.b); linia ciągła (Rys. b,d) reprezentuje fit równania (6.2.c).

6.3.2. Zależność hydratacyjna składowej stałociągowej funkcji Abragama

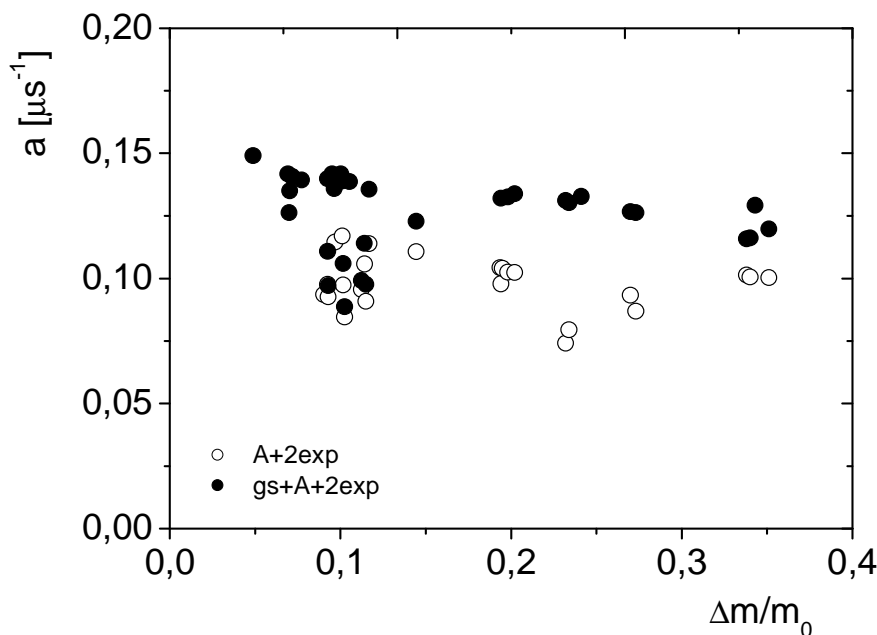
Wraz z rosnącym uwodnieniem próbki udział składowej stałociągowej w zaniku swobodnej precesji dla plechy spada. Stwarza to rosnące z poziomem hydratacji trudności w dopasowaniu bardziej zaawansowanych modeli uwzględniających funkcję Abragama.

Dla plechy *U. aprina*, dla poziomów uwodnienia poniżej $\Delta m/m_0 \approx 0.09$ składowa stałociągowa sygnału zaniku swobodnej precesji była dopasowywana jedynie superpozycją funkcji Gaussa i Abragama (wzór 6.2.c). Zastosowanie wyłącznie funkcji Abragama (wzór 6.2.b) dawało niefizyczne wartości dopasowanych parametrów. Dla wyższych poziomów uwodnienia udawało się dopasować oba powyższe modele dla składowej stałociągowej. W tych przypadkach, gdzie oba modele stosują się do określonego zbioru danych, zarówno T_{2L}^* ,

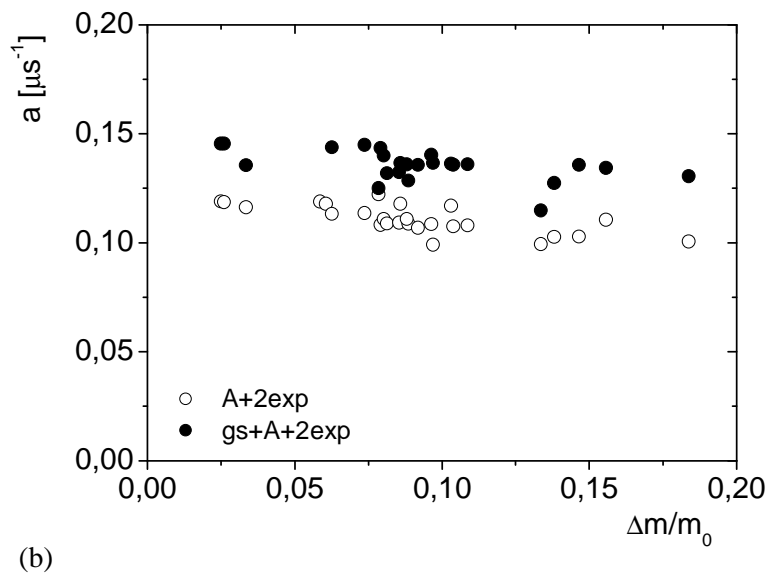
jak również $T_{2L_2}^*$ nie różniły się znacznie między sobą, natomiast wartości czasu relaksacji $T_{2S_1}^*$ dla składowej Gaussa, dla danych dopasowanych kombinacją funkcji Gaussa i Abragama, zgodnie z równaniem (6.2.c) były bliskie takim wartościom, jak w przypadku gdy sygnał stały był dopasowany jedynie funkcją Gaussa. Wkład od obu stałych składowych S_1 i S_2 zmieniał się przypadkowo w szerokim zakresie wartości wraz ze wzrostem poziomu uwodnienia.

Dla plechy *U. decussata* dla poziomów uwodnienia nie przekraczających wartości $\Delta m/m_0 \approx 0.184$ oba modele (wzór 6.2.b oraz 6.2.c) można było dopasować do danych doświadczalnych. Dla wyższych poziomów uwodnienia w ogóle nie dało się dopasować funkcji Abragama. W przypadku, gdy udawało się dopasować oba modele (funkcję Abragama oraz superpozycję funkcji Gaussa i Abragama), dawały one zbliżone wartości parametrów dla składowych cieczowych. Wartość $T_{2S_1}^*$ dla składowej Gaussa dla danych dopasowanych kombinacją funkcji Abragama (równanie 6.2.b) oraz funkcji Gaussa i Abragama, zgodnie z równaniem (6.2.c) nie różniła się znacznie od przypadku gdy sygnał stały był dopasowany jedynie funkcją Gaussa.

Zarówno dla plechy *U. aprina*, jak i dla plechy *U. decussata* „falka” pojawiająca się w kształcie linii dawała średnią wartość parametru $a \approx 0.12 \mu\text{s}^{-1}$ (co odpowiada szerokości połówkowej stałej linii MRJ ($\Delta\omega = 2a$) ≈ 38 kHz; Rys. 6.9.a i b).



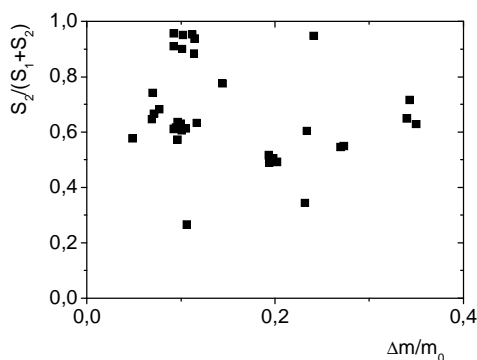
Rys. 6.9.a



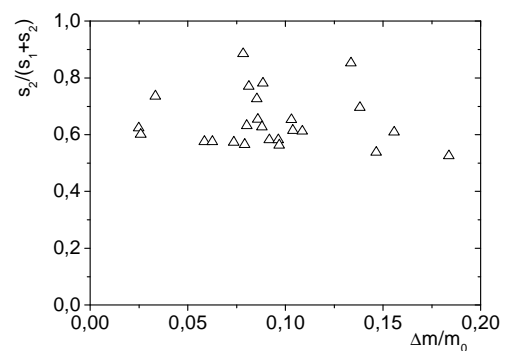
Rys.6.9. Zależność hydratacyjna parametru a dla plechy *U. aprina* (a) oraz dla plechy *U. decussata* (b); \circ = superpozycja funkcji Abragama i dwóch eksponent; \bullet = superpozycja funkcji Gaussa, funkcji Abragama i dwóch eksponent.

Iloraz amplitudy składowej funkcji Abragama przez sumę amplitud funkcji Gaussa i Abragama dla modelu (6.2.c) wykazuje rozrzut w pełnym zakresie testowanych poziomów uwodnienia (Rys.6.10.a i b). Zachowanie takie sugeruje, że linia pochodząca od ciała stałego ma bardziej złożoną postać, będąc przypuszczalnie sumą kilku funkcji Gaussa oraz Abragama.

Sumaryczna wartość amplitud składowych funkcji Gaussa i funkcji Abragama, dopasowanych do sygnału stałego, jak również samej funkcji Abragama dopasowanej do sygnału stałego dają zbliżone wartości, takie jak dla dopasowania funkcji Gaussa.



(a)



(b)

Rys. 6.10. Iloraz amplitudy składowej funkcji Abragama przez sumę amplitud funkcji Gaussa i Abragama dla modelu (6.2.c); \blacksquare = wyniki dla plechy *U. aprina*, \triangle = wyniki dla *U. decussata*.

Wzrost składowej cieczowej wywołany rosnącym uwodnieniem plechy był przyczyną znaczących trudności w dopasowaniu funkcji Abragama lub superpozycji funkcji Gaussowskiej i funkcji Abragama w całym zakresie badanych uwodnień. Ponieważ jednak wartości dopasowanych istotnych parametrów nie różniły się bardzo znacznie od dopasowania składowej stałej sygnału funkcją Gaussowską stwierdzono, że dla pomiarów zależności hydratacyjnych funkcja Gaussa jest zadowalającym modelem opisującym składową ciałostalową.

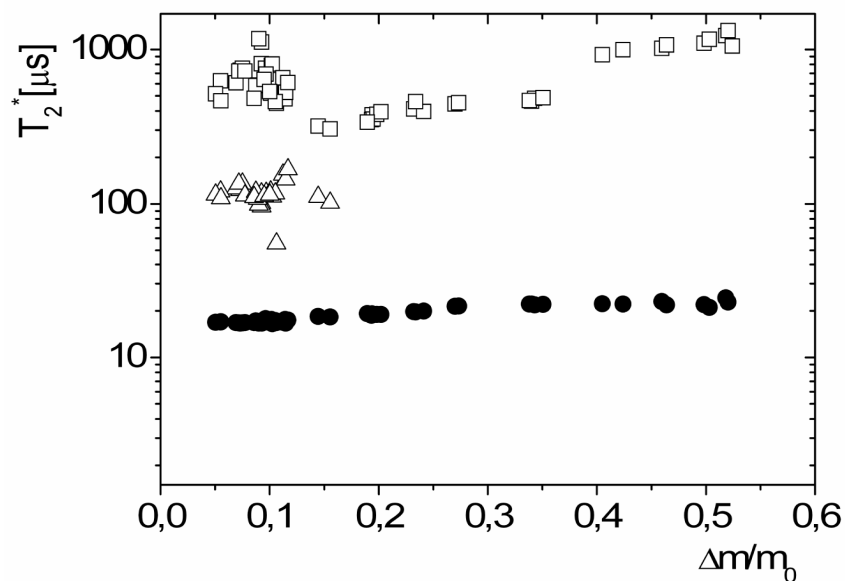
Dla plech badanych gatunków porostów czas relaksacji T_{2S}^* dla składowej funkcji Gaussa nie zmienia się silnie ze wzrostem uwodnienia plechy (Rys. 6.11.a i b), sugerując, że matryca plechy ciała stałego nie jest w widoczny sposób modyfikowana procesem hydratacji. Dlatego też amplituda sygnału stałego, S , została użyta jako jednostka do skalowania składowych cieczowych amplitud.

Czas relaksacji spinowo-spinowej dla składowej stałej, dla plechy *U. aprina* wyniósł $T_{2S}^* \approx 19 \mu s$, a dla plechy *U. decussata* $T_{2S}^* \approx 18 \mu s$. Były to wartości bliskie wartościom otrzymanym dla innych gatunków porostów (np. dla plechy *Usnea antarctica* $T_{2S}^* \approx 18 \mu s$), oraz dla innych stałych tkanek, takich jak: dentyna, szkliwo zęba, muszla małży, kora i łyko drewna [Harańczyk i in. 1998], co sugeruje podobny rozkład lokalnych pól magnetycznych [Pintar, 1991].

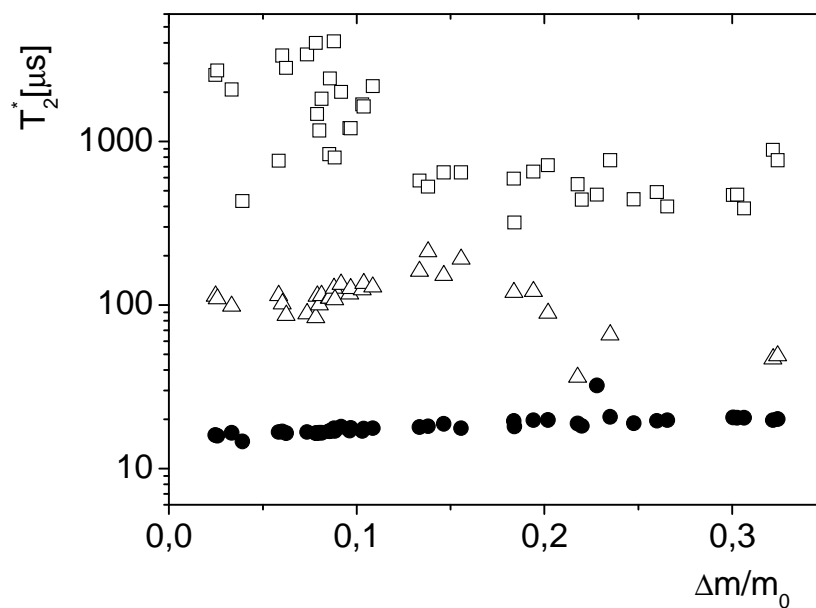
6.3.3. Zależność hydratacyjna sygnału cieczowego

Zaobserwowane frakcje wody są rozróżniane przez ich odmienną ruchliwość, a zatem także przez związanie i/lub bliskość do powierzchni plechy. Oznacza to, że zarówno wewnątrzkomórkowa, jak również zewnątrzkomórkowa woda daje wkład do obu tych frakcji wody. Wartość $T_{2L_1}^* \approx 100 \mu s$ dla składowej L_1 , zarówno dla plechy *U. aprina* jak i *U. decussata* jest charakterystyczna dla ściśle związanej wody w plechach porostów, jak również w wielu innych układach biologicznych [Harańczyk i in. 1998].

Dla plechy *U. aprina* czas relaksacji $T_{2L_2}^* \approx 550 \mu s$, pochodził od wody luźno związanej z plechą porostu, a dla wyższych poziomów hydratacji także od wody swobodnej (Rys. 6.7.a,b oraz 6.11.a). Sygnał L_2 , dla plechy *U. decussata* miał czas relaksacji $T_{2L_2}^* \approx 1300 \mu s$, (Rys. 6.7.c,d oraz 6.11.b).



(a)



(b)

Rys. 6.11. Zależność hydratacyjna czasów relaksacji sygnału FID dla protonów plechy; (a) *U. aprina*, [Harańczyk, Bacior, Olech, 2008] (b) *U. decussata*, dane uzyskane programem Cracspin; ● = składowa stała sygnału (funkcja Gaussa, S); Δ = frakcja ściśle związanej wody, L_1 ; □ = frakcja luźno związanej wody, L_2 .

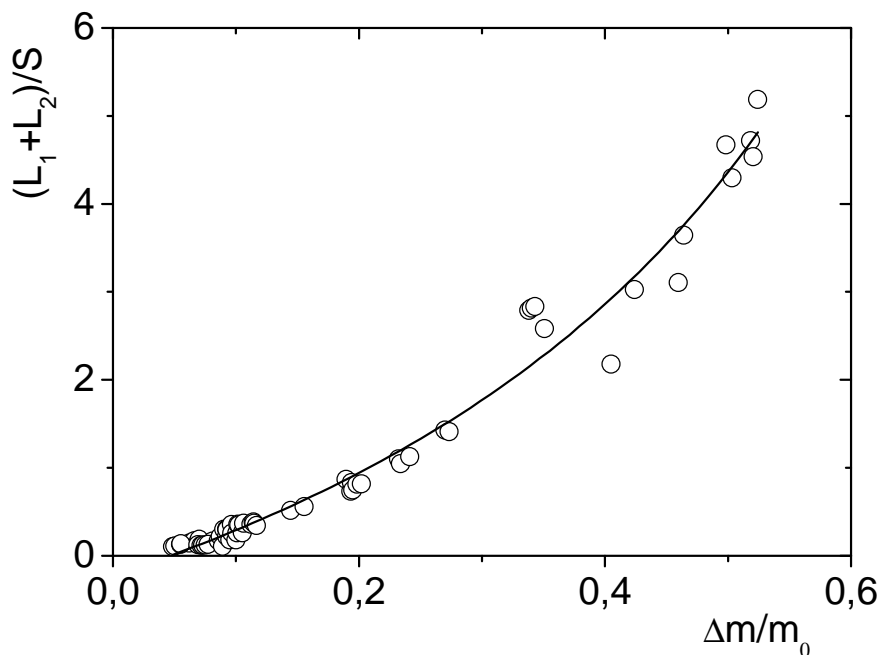
Zależność hydratacyjna całkowitego sygnału cieczowego dla plechy *U. aprina*, wyrażonego w jednostkach sygnału stałego, $(L_1 + L_2)/S$ przedstawiona na Rys. 6.12.a jest opisana funkcją wymierną postaci:

$$\frac{L_1 + L_2}{S} (\Delta m / m_0) = \frac{[(-0.23 \pm 0.06) + (4.97 \pm 0.44) \cdot \Delta m / m_0]}{[1 + (-0.97 \pm 0.08) \cdot \Delta m / m_0]} \quad (6.3)$$

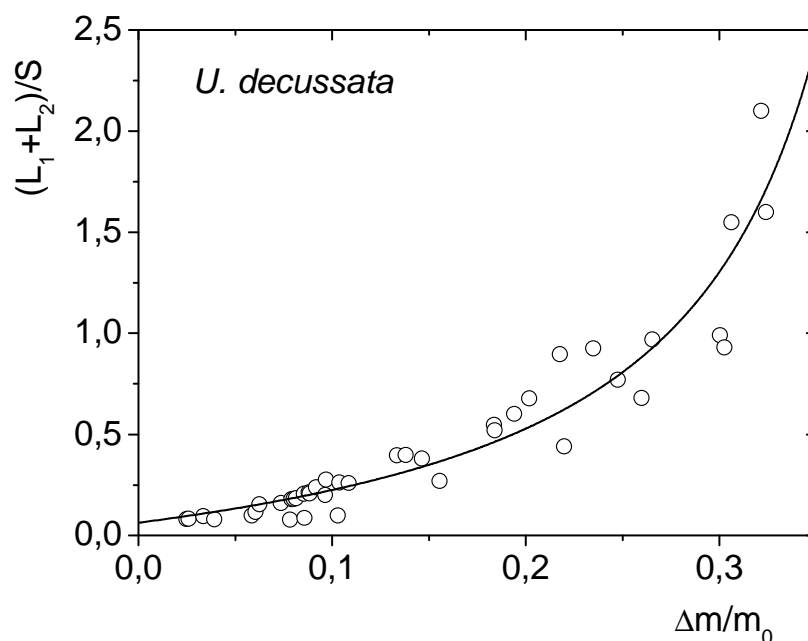
Natomiast dla plechy *U. decussata* (Rys. 6.12.b) jest opisana funkcją:

$$\frac{L_1 + L_2}{S} (\Delta m / m_0) = \frac{[(-0.06 \pm 0.04) + (1.09 \pm 0.34) \cdot \Delta m / m_0]}{[1 + (-2.33 \pm 0.15) \cdot \Delta m / m_0]} \quad (6.4)$$

Wymierna postać powyższych zależności świadczy o obecności w plechach badanych gatunków frakcji stałej rozpuszczalnej w wodzie [Harańczyk *et al.* 1996]. Jeśli rozpuszczalna frakcja stała, w całości zostaje rozpuszczona, zależność hydratacyjna sygnału cieczowego na jednostkę sygnału stałego staje się liniowa [Harańczyk *et al.*, 1999], co nie zostało zaobserwowane dla badanych gatunków porostów. Oznacza to jej znaczną zawartość w badanych plechach porostów.



Rys.6.12.a.



(b)

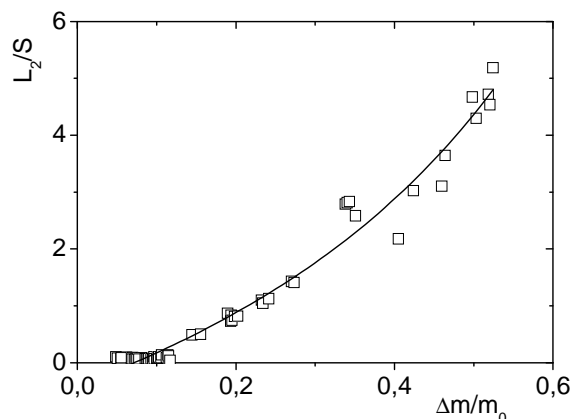
Rys. 6.12. Całkowity sygnał ciekowy wyrażony w jednostkach ciała stałego w funkcji uwodnienia; \circ = dane doświadczalne dla superpozycji funkcji Gaussa oraz dwóch eksponent; (a) wyniki dla *U. aprina* (do punktów doświadczalnych dopasowano funkcję postaci (6.3)); (b) wyniki dla *U. decussata* (dopasowana funkcja jest postaci (6.4)).

Zależność hydratacyjna frakcji wody luźno związanej, L_2/S , jest przedstawiona na Rys. 6.13.a i b. Luźno związana frakcja wody, L_2/S , jest pod wpływem stałej frakcji rozpuszczalnej w wodzie, ponieważ jej zależność hydratacyjna jest opisana funkcją wymierną. Zależność hydratacyjna L_2/S dla plechy *U. aprina* jest opisana zależnością:

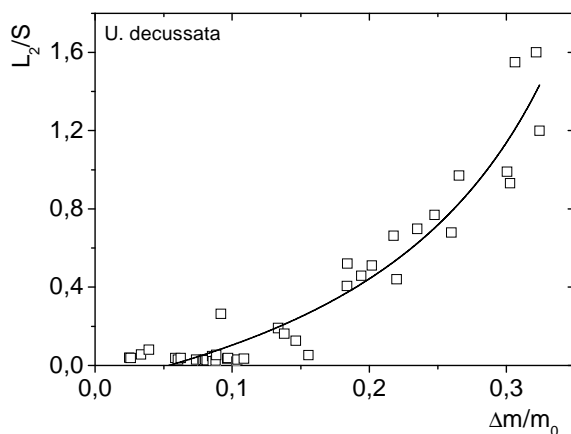
$$\frac{L_2}{S}(\Delta m / m_0) = \frac{[(-0.40 \pm 0.07) + (5.63 \pm 0.48) \cdot \Delta m / m_0]}{[1 + (-0.89 \pm 0.09) \cdot \Delta m / m_0]} \quad (6.5)$$

Natomiast dla plechy *U. decussata* funkcją:

$$\frac{L_2}{S}(\Delta m / m_0) = \frac{[(-0.10 \pm 0.04) + (1.79 \pm 0.33) \cdot \Delta m / m_0]}{[1 + (-2.04 \pm 0.19) \cdot \Delta m / m_0]} \quad (6.6)$$



(a)



(b)

Rys. 6.13. Sygnał cieczonego składowej L_2/S wyrażony na jednostkę sygnału stałego w funkcji uwodnienia. Wykres (a): zależność dla *U. aprina*, do punktów doświadczalnych dopasowano funkcję (6.5); wykres (b) zależność dla *U. decussata*, do punktów doświadczalnych dopasowano zależność (6.6).

6.3.4 Izoterma sorpcyjna dopasowana do danych MRJ dla protonów

Parametry uzyskane dla dopasowania izotermy grawimetrycznej modelem Denta można wykorzystać do wyznaczenia izotermy sorpcyjnej MRJ na podstawie danych relaksacyjnych jako $(L_1 + L_2)/S$ (h). Dopasowana została stała A mówiąca o obecności wody zapuławkowanej w pleśze *U. aprina* i *U. decussata* oraz współczynnik proporcjonalności k skalujący sygnał MRJ:

$$\frac{L_1 + L_2}{S}(h) = A + k \cdot \frac{\Delta M}{m_0} \cdot \frac{b_1 h}{(1 - bh)(1 + b_1 h - bh)} \quad (6.7)$$

Współczynnik proporcjonalności, k , zależy od ilorazu gęstości protonowej w środowisku wodnym do gęstości protonowej w matrycy stałej plechy oraz od stosunku ekranowania w fazie cieczerwowej do ekranowania w ciele stałym, co związane jest z obecnością jonów paramagnetycznych w układzie.

Dla plechy *U. aprina* linia kropkowana na Rys. 6.14.a została wyznaczona z równania 6.7, z parametrami $k = 7.14 \pm 0.28$ oraz $A = 0$.

Dla plechy *U. decussata* otrzymano: $k = 2.97 \pm 0.11$ oraz $A = 0$ (linia kropkowana na Rys. 6.14.b).

Jeśli jony paramagnetyczne, obecne w matrycy stałej w różny sposób oddziałują z wodą ściśle związaną oraz z wodą luźno związaną, izoterma sorpcyjna może zostać przybliżona zależnością:

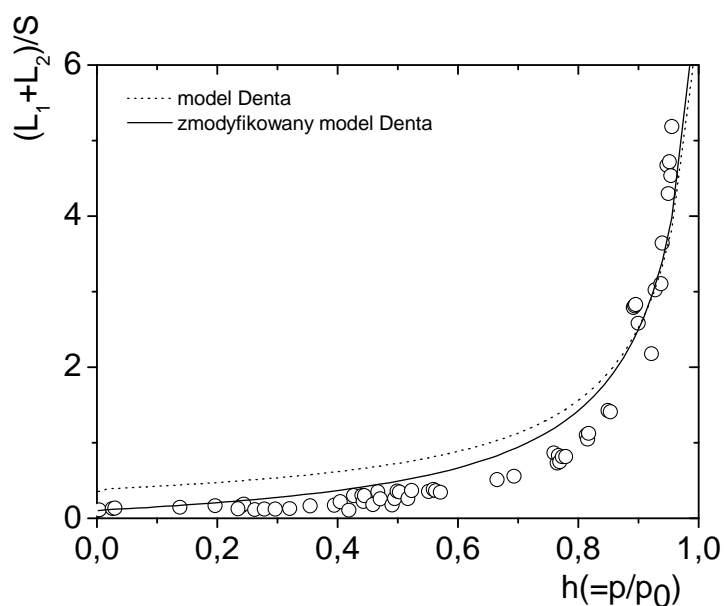
$$\frac{L_1 + L_2}{S}(h) = A + \frac{\Delta M}{m_0} \frac{b_1 h}{1 + (b_1 - b)h} \left[k_1 + k_2 \frac{bh}{1 - bh} \right], \quad (6.8)$$

gdzie k_1 jest stałą wzmocnienia sygnału od wody ściśle związanej, a k_2 stałą wzmocnienia od luźno związanej frakcji wody.

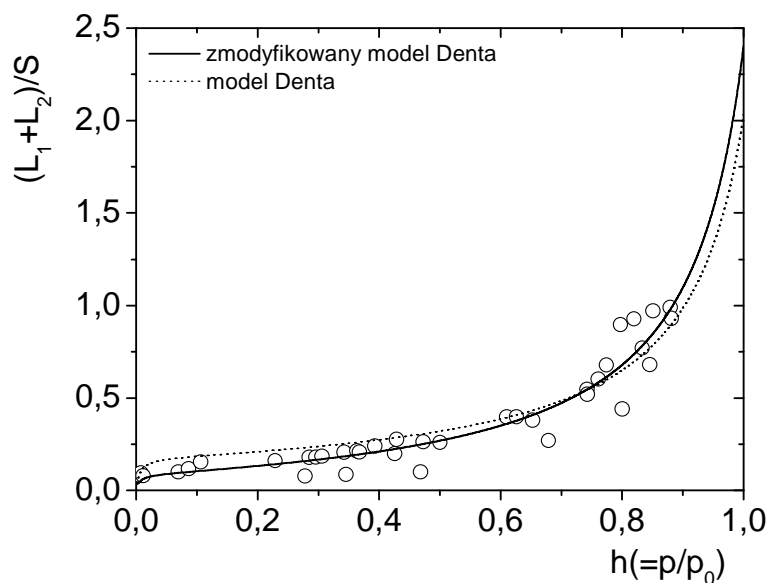
Dla *U. aprina* linia ciągła na wykresie 6.14.a została wyznaczona z zależności (6.8), z parametrami wynoszącymi: $k_1 = 2.0 \pm 1.3$, $k_2 = 8.0 \pm 3.4$ oraz dla $A = 0$. Model z dwoma parametrami k znacznie lepiej opisuje punkty doświadczalne niż model z jednym k .

Dla *U. decussata* (Rys. 6.14.b) dopasowano parametry wynoszące odpowiednio: $k_1 = 1.47 \pm 0.38$; $k_2 = 3.70 \pm 0.20$, oraz $A = 0$. W przeciwieństwie do *U. aprina* model z dwoma parametrami k niewiele lepiej pasuje do punktów doświadczalnych niż model z jednym k , co sugeruje nieco inny rozkład przestrzenny jonów paramagnetycznych w plesze.

Fakt, że dla obu badanych gatunków porostów $A = 0$ sugeruje, że w porach matrycy stałej badanych gatunków porostów nie ma frakcji wody zapuławkowanej, jak to było obserwowane w liofilizowanych błonach fotosyntetycznych [Harańczyk *i in.*, 2006a].



(a)



(b)

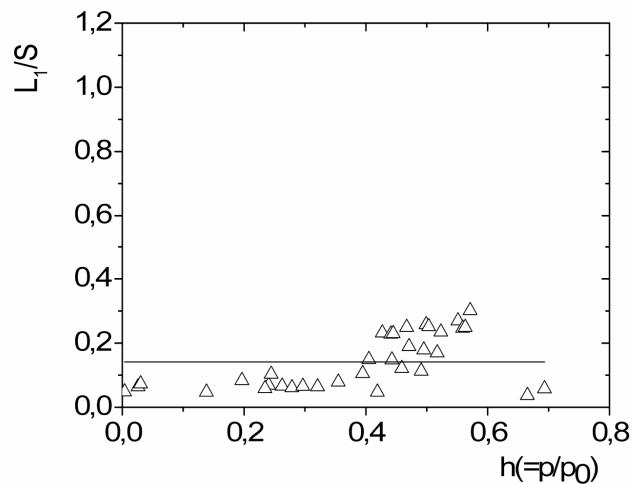
Rys. 6.14. Izoterma sorpcyjna, model Denta, dla danych relaksacyjnych, linia ciągła – model Denta z jednym współczynnikiem k (równanie 6.7); linia kropkowana – model Denta z dwoma współczynnikami k (równanie 6.8). Wykres (a) przedstawia wyniki dla plechy *U. aprina*, wykres (b) wyniki dla *U. decussata*.

Fracja wody ściśle związanej wysyca się ze wzrostem poziomu uwodnienia (Rys. 6.15.a i b.). Oznacza to, że frakcja L_1 wiąże się do plechy jako pierwsza [Harańczyk 2003].

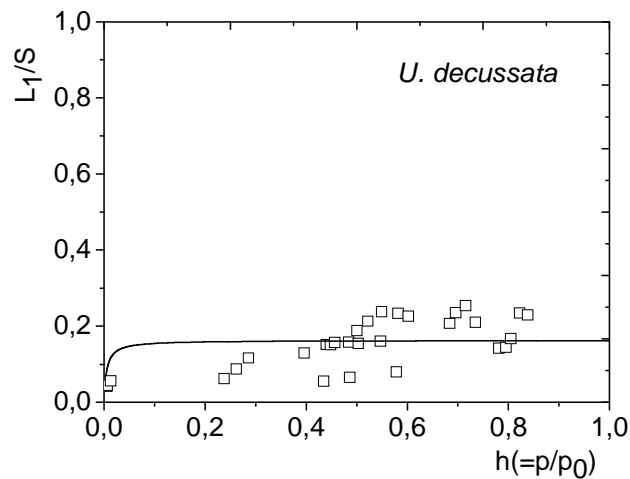
Zależność ta jest dobrze opisana izotermą sorpcyjną dla wody wysycającej pierwotne miejsca wiążące w modelu Denta [Dent, 1977]. Funkcja dopasowana do danych hydratacyjnych MRJ była postaci:

$$\frac{L_1}{S}(h) = k \cdot \frac{\Delta M}{m_0} \cdot \frac{b_1 h}{1 + (b_1 - b)h} + A \quad (6.9)$$

Linia ciągła na Rys. 6.15.a i b została wyznaczona z równania (6.9) z parametrami $k = 2.6 \pm 0.2$ oraz $A = 0$ dla plechy *U. aprina* i $k = 2.7 \pm 0.2$ oraz $A = 0$ dla plechy *U. decussata*.



(a)



(b)

Rys. 6.15. Składowa cieczowa L_1/S w funkcji wilgotności względnej p/p_0 ; (a) wyniki dla plechy *U. aprina* [Harańczyk, Bacior, Olech, 2008] oraz dla plechy *U. decussata* (b).

7. Pomiary temperaturowe plechy *U. aprina* metodą MRJ

Sygnaly zaniku swobodnej precesji dla protonów (rozd. 3.5) w funkcji temperatury zmierzono dla plechy *U. aprina* uwadnianej z fazy gazowej. Miara uwodnienia porostu były wartości $\Delta m/m_0$. Pomiary temperaturowe przeprowadzono dla czterech próbek o poziomach uwodnienia $\Delta m/m_0$ w zakresie od 0.125 do 0.33. Zakres temperatur wyniósł: od 25⁰C do -52⁰C dla $\Delta m/m_0 = 0.125$, oraz od 25⁰C do -61⁰C dla wyższych uwodnień.

7.1. Składowa stałociałowa funkcji zaniku swobodnej precesji

W badanym zakresie uwodnień funkcja zaniku swobodnej precesji złożona była z sygnału pochodzącego od frakcji stałej oraz sygnału cieczowego, który można było przybliżyć jedną eksponentą lub sumą dwóch eksponent.

Składową stałą przybliżano za pomocą funkcji Gaussa. Wtedy sygnał zaniku swobodnej precesji dany jest zależnością:

$$FID(t) = M_0 + S \cdot \exp\left(-\left(\frac{t}{T_{2S}^*}\right)^2\right) + L_1 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_1}^*}\right) + L_2 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_2}^*}\right), \quad (7.1)$$

gdzie S jest amplitudą składowej gaussowskiej, L_1 i L_2 są amplitudami składowych eksponencjalnych, T_{2S}^* jest czasem zaniku składowej gaussowskiej do 1/e amplitudy początkowej, $T_{2L_1}^*$ i $T_{2L_2}^*$ są czasami relaksacji dla składowych eksponencjalnych, M_0 jest

składową stałą siły elektromotorycznej, lub za pomocą funkcji Abragama, a wtedy zanik swobodnej precesji wyraża się:

$$FID(t) = M_0 + S \cdot \exp\left(-\left(\frac{t}{T_{21}^*}\right)^2\right) \frac{\sin(at)}{at} + L_1 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_1}^*}\right) + L_2 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_{2L_2}^*}\right), \quad (7.2)$$

gdzie S jest amplitudą składowej funkcji Abragama, zaś a jej parametrem charakterystycznym.

Dla uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.12$ dla temperatur od pokojowej do -43°C dane dobrze opisuje model dwueksponencjalny (równanie 7.2), rozróżniający frakcje wody o różnej ruchliwości. Począwszy od temperatury -47°C składowa zanikająca wolniej przestała być wyodrębniana, dopasowywano więc jedną składową cieczową.

Analiza zaników swobodnej precesji dla plechy *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.17$ pokazała, że w zakresie temperatur między 25°C a -47°C lepiej dopasowany jest model dwueksponencjalny. Poniżej -52°C wolno zanikająca eksponenta przestaje być dopasowywana.

Zaniki swobodnej precesji dla uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.21$ dla temperatur do -57°C są opisane modelem dwueksponencjalnym. Dla niższych temperatur dopasowano model z jedną eksponentą.

Analiza próbki o największym uwodnieniu pokazała, że w zakresie temperatur do -43°C występują dwie składowe cieczowe (dwie eksponenty), dla niższych temperatur znowu była jedna eksponenta.

Gdy składowa stała sygnału zaniku swobodnej precesji była dopasowana funkcją Abragama, obecność dwóch frakcji wody związanej (dwie składowe eksponencjalne) stwierdza się w tym samym zakresie temperatur jak dla dopasowań, w których do opisu składowej stałościowej zastosowano funkcję Gaussa.

7.2. Porównanie wartości parametru a dla różnych uwodnień

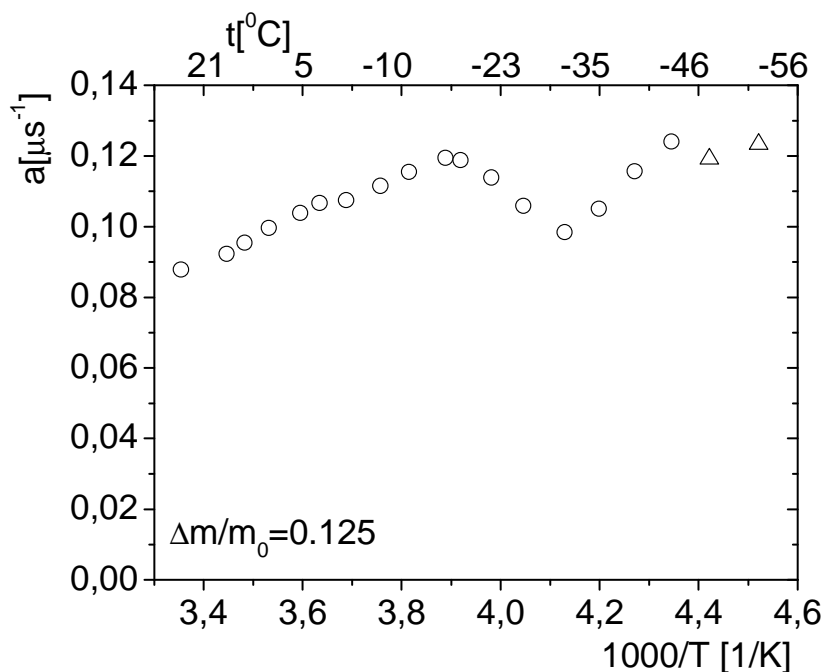
Parametrem charakteryzującym funkcję Abragama dopasowywaną do składowej stałościowej jest a (patrz równanie 3.66). Zależność parametru a od temperatury dla różnych wartości uwodnienia próbki przedstawia Rys. 7.1.

Dla próbki o uwodnieniu $\Delta m/m_0 = 0.12$ od temperatury pokojowej do -43°C w szerokim zakresie badanych temperatur wartość parametru a zmienia się słabo ze spadkiem temperatury i mieści się w zakresie od $0.09\mu\text{s}^{-1}$ do $0.12\mu\text{s}^{-1}$, co odpowiada szerokości połówkowej linii NMR ($\Delta\omega = 2\text{ a}$) $\approx 29 - 38\text{ kHz}$ (Rys. 7.1.a). Zależność parametru a w

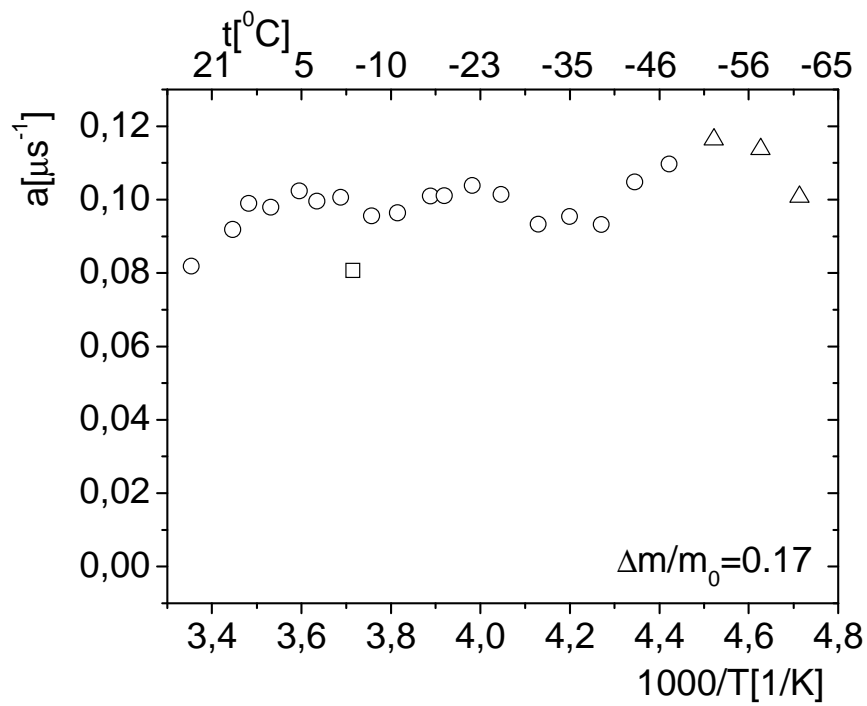
funkcji temperatury dla plechy uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.17$ jest przedstawiona na Rys. 7.1.b. Między temperaturą pokojową a -47°C , wartość parametru a nieznacznie się zmienia ze spadkiem temperatury i obejmuje zakres między $a = 0.08 - 0.12 \mu\text{s}^{-1}$, przy szerokości połówkowej linii NMR ($\Delta\omega = 2 a$) równej $25.5 - 38 \text{ kHz}$. Podobny zakres wartości parametru a (Rys. 7.1.c) uzyskano dla próbki o uwodnieniu $\Delta m/m_0 = 0.21$. Dla plechy o najwyższym uwodnieniu zależność parametru a w funkcji temperatury przedstawia Rys. 7.1.d. Dla wybranej funkcji, w zakresie badanych temperatur parametr a mieści się między $a=0.08 - 0.11 \mu\text{s}^{-1}$, (szerokość połówkowa linii NMR ($\Delta\omega = 2 a$) wynosi w przybliżeniu $25.5 - 35 \text{ kHz}$). Zbliżona wartość parametru a dla wszystkich badanych próbek oznacza, że szerokość linii pochodzącej od składowej stałociałowej plechy porostu nie zmienia się znacząco w całym zakresie badanych uwodnień.

W przeciwieństwie do pomiarów hydratacyjnych, dla całego zakresu badanych uwodnień udało się dopasować funkcję Abragama do opisu zaników swobodnej precesji. Powodem był fakt, że w pomiarach zależności temperaturowych nie mierzono plech o skrajnie wysokich poziomach hydratacji.

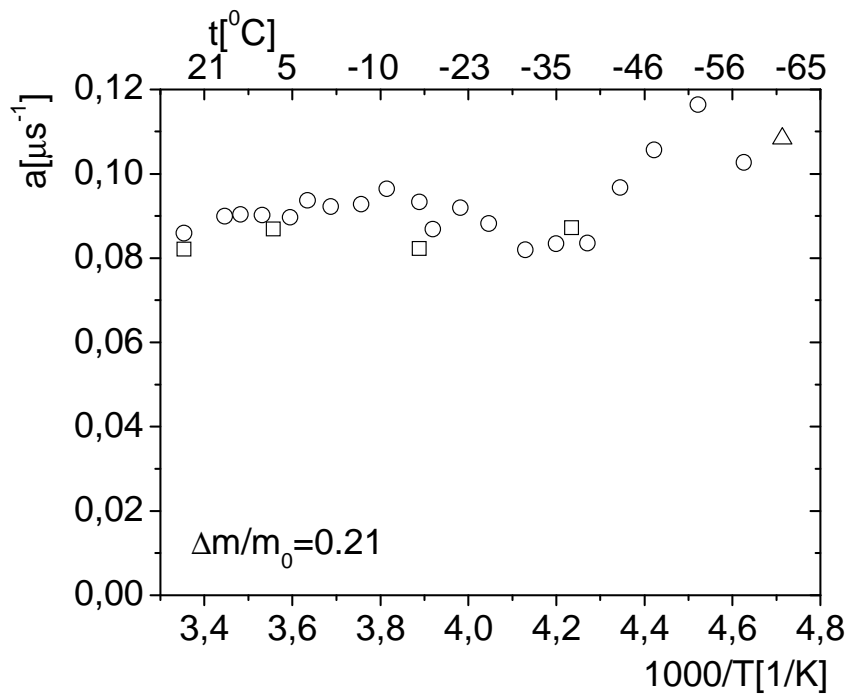
Do punktów doświadczalnych nie dopasowywano superpozycji funkcji Gaussa i Abragama, gdyż sama funkcja Abragama dawała dobre dopasowania.



Rys.7.1.a.

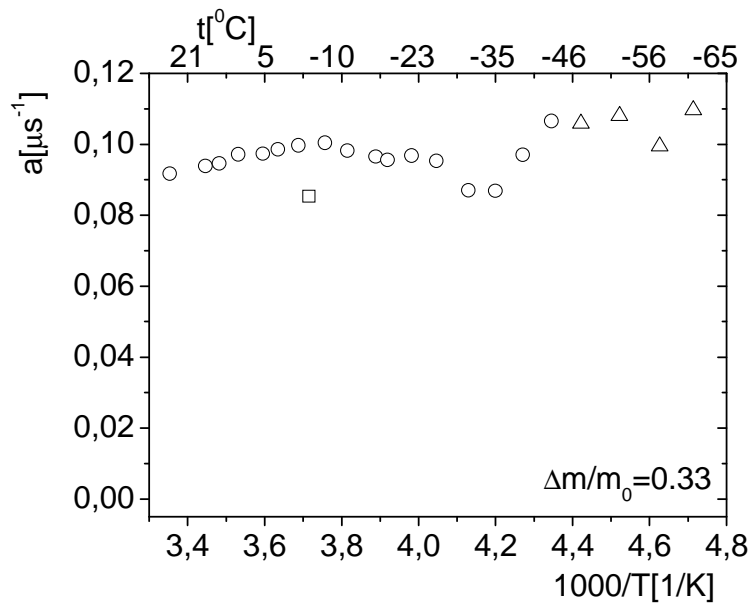


(b)



(c)

Rys.7.1. b,c.



(d)

Rys.7.1. Zależność temperaturowa parametru a dla funkcji Arragama dopasowanej do składowej stałej sygnału, ○ - model z dwiema eksponentami (chłodzenie), □ - model z dwiema eksponentami (grzanie), △ - model z jedną eksponentą (chłodzenie); (a) $\Delta m/m_0 = 0.12$ dla składowej cieczerwowej przybliżonej dwiema eksponentami w zakresie temperatur między 25°C a -43°C oraz jedną eksponentą dla niższych temperatur; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$, składowa cieczerwowa przybliżona była dwiema eksponentami w temperaturach od 25°C do -47°C oraz jedną eksponentą w niższych temperaturach, (c) $\Delta m/m_0 = 0.21$ dla składowej cieczerwowej przybliżonej dwiema eksponentami między 25°C a -57°C oraz jedną eksponentą dla -61°C ; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$, składowa cieczerwowa przybliżona była dwiema eksponentami w zakresie temperatur między 25°C a -43°C oraz jedną eksponentą dla niższych temperatur.

7.3. Analiza czasów relaksacji

Na Rys. 7.2.a przedstawiono zależność czasów relaksacji od temperatury dla plechy uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.12$. W zakresie od temperatury -31°C do -43°C przedstawiono dopasowania jednej lub dwóch składowych cieczerwowych, a dla niższych temperatur tylko jednej składowej. Czas relaksacji matrycy stałej T_{2S}^* zmienia się niewiele w całym zakresie analizowanych temperatur. Niezależnie czy dopasowuje się jedną, czy też dwie eksponenty wartości czasów relaksacji dla składowej stałej są zbliżone. Czas relaksacji dla składowej cieczerwowej o mniejszej ruchliwości, T_{2L1}^* , waha się w zakresie od 80 do 50 μs wraz ze spadkiem temperatury. Poniżej temperatury -35°C nie ma pewności czy składowa L_1 nadal opisuje unieruchomioną frakcję wody, czy też kształt linii dla sygnału ciało-stałego jest bardziej złożony, więc składowa stała sygnału zaniku swobodnej precesji jest opisywana bardziej złożoną funkcją niż funkcja Arragama. Czas relaksacji dla bardziej mobilnej składowej cieczerwowej T_{2L2}^* mieści się w zakresie od 300 do 750 μs.

Dla próbki o uwodnieniu $\Delta m/m_0 = 0.17$ czasy relaksacji w funkcji temperatury zestawiono na Rys.7.2.b. Dla zakresu temperatur od 25°C do -47°C składowa cieczowa przybliżona była dwiema eksponentami, a między -31°C , a -61°C jedną eksponentą. Obserwowano nieznaczny spadek wartości czasu relaksacji T_{2S}^* począwszy od wartości $25 \mu\text{s}$ w temperaturze pokojowej do wartości $18 \mu\text{s}$ w -61°C . Wartości czasów relaksacji, T_{2S}^* , dla obu zastosowanych modeli (z jedną lub dwoma eksponentami) są zbliżone. Czasy relaksacji dla składowej T_{2L1}^* , podobnie jak dla próbki o niższej hydratacji nieznacznie spadały. Ruchliwa składowa cieczowa, T_{2L2}^* , osiąga wartości między 350 a $600 \mu\text{s}$. Nie zaobserwowano zjawiska histerezy podczas ogrzewania próbki.

Czasy relaksacji w funkcji temperatury dla uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.21$ przedstawia Rys. 7.2.c. Dla temperatur pomiędzy pokojową a -47°C składowa cieczowa przybliżona była dwoma eksponentami, a w temperaturach między -31°C a -61°C jedną eksponentą. Niewielki spadek wartości czasu relaksacji T_{2S}^* obserwowano dla wartości z zakresu między $27 \mu\text{s}$ w temperaturze pokojowej do wartości $19 \mu\text{s}$ w -61°C . Analiza czasu relaksacji T_{2L1}^* pokazała niewielkie zmiany w badanym zakresie temperatur, jednakże mogą one wynikać ze względów numerycznych. Wartość składowej cieczowej T_{2L2}^* spadała ze spadkiem temperatury od wartości 800 do $200 \mu\text{s}$, a następnie zanikała. Nie obserwowano histerezy przy podgrzewaniu próbki.

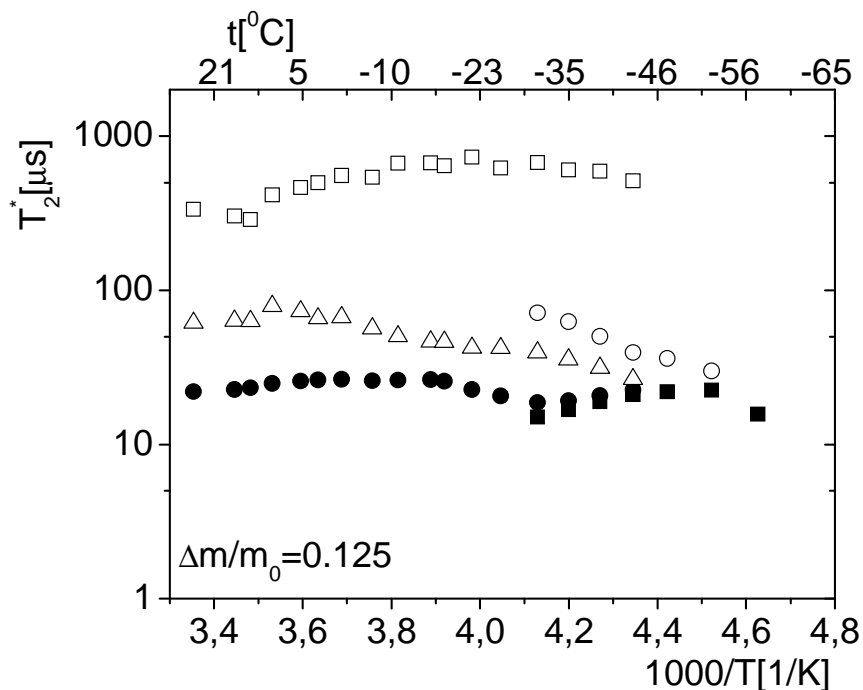
Rys.7.2.d przedstawia czasy relaksacji w funkcji temperatury dla próbki o największym uwodnieniu. W zakresie temperatur od pokojowej do -11°C składowa od wody o mniejszej ruchliwości, L_1 , nie została wyodrębniona z sygnału zaniku swobodnej precesji, z uwagi na zbyt mały udział w porównaniu z zawartością wody luźno związanej. W zakresie temperatur od -16°C do -43°C obie składowe od wody związanej były obserwowane, natomiast w temperaturze -47°C sygnał od wody luźno związanej zanika (patrz następny rozdział). Podczas podgrzewania próbki nie zaobserwowano histerezy.

W całym zakresie badanych temperatur w sygnale zaniku swobodnej precesji stwierdzono obecność składowej stałociałowej pochodzącej od matrycy stałej plechy porostu, sygnału od wody ściśle związanej w plesze, opisaną składową eksponencjalną oraz sygnału od wolno zanikającej składowej eksponencjalnej.

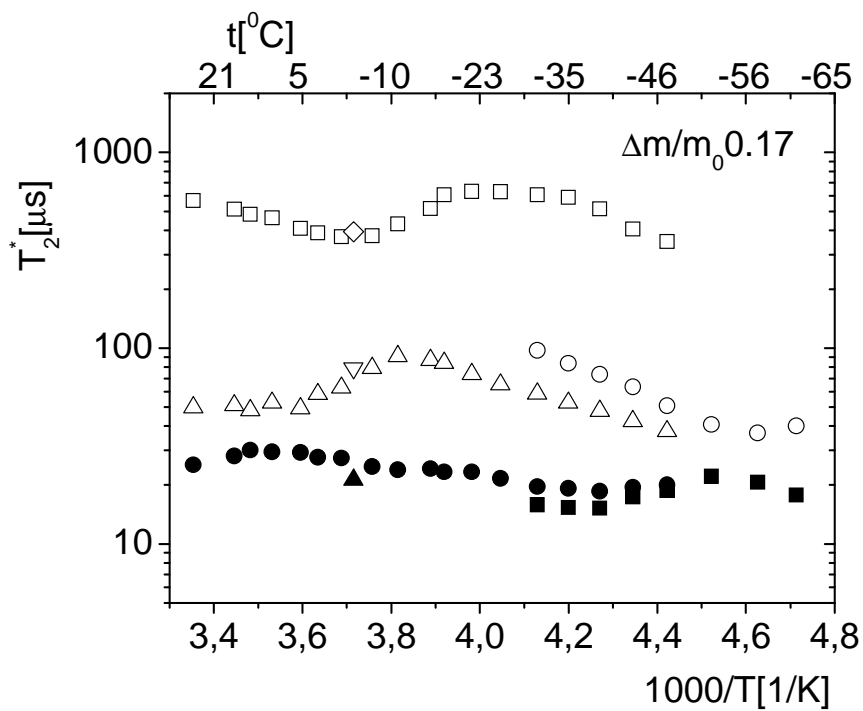
Sygnał od ciała stałego nie zmienia się znacząco do -40°C , więc można go wykorzystać do skalowania sygnału cieczowego.

Sygnał od wody luźno związanej zanika w temperaturze około -40°C . Nawet obecność składowej ściśle związanej poniżej -43°C nie jest pewna, ponieważ sygnał od niej może odzwierciedlać bardziej złożony kształt składowej pochodzącej od matrycy stałej, a woda

ściśle związana daje wkład do sygnału stałociąłowego, ponieważ wraz ze spadkiem temperatury nastąpiło niekooperatywne unieruchamianie jej molekuł.

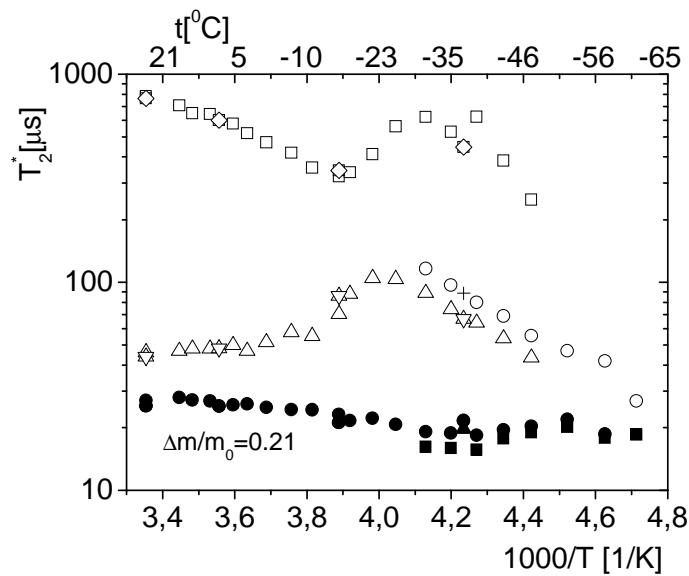


(a)

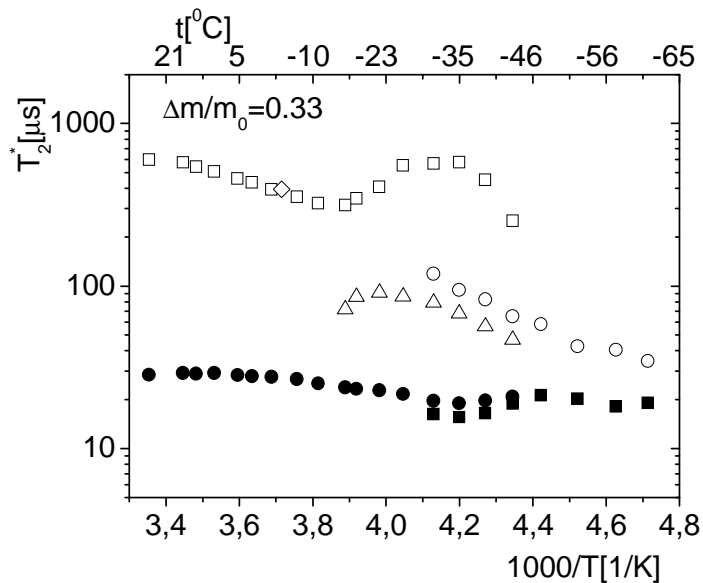


(b)

Rys.7.2.a,b.



(c)



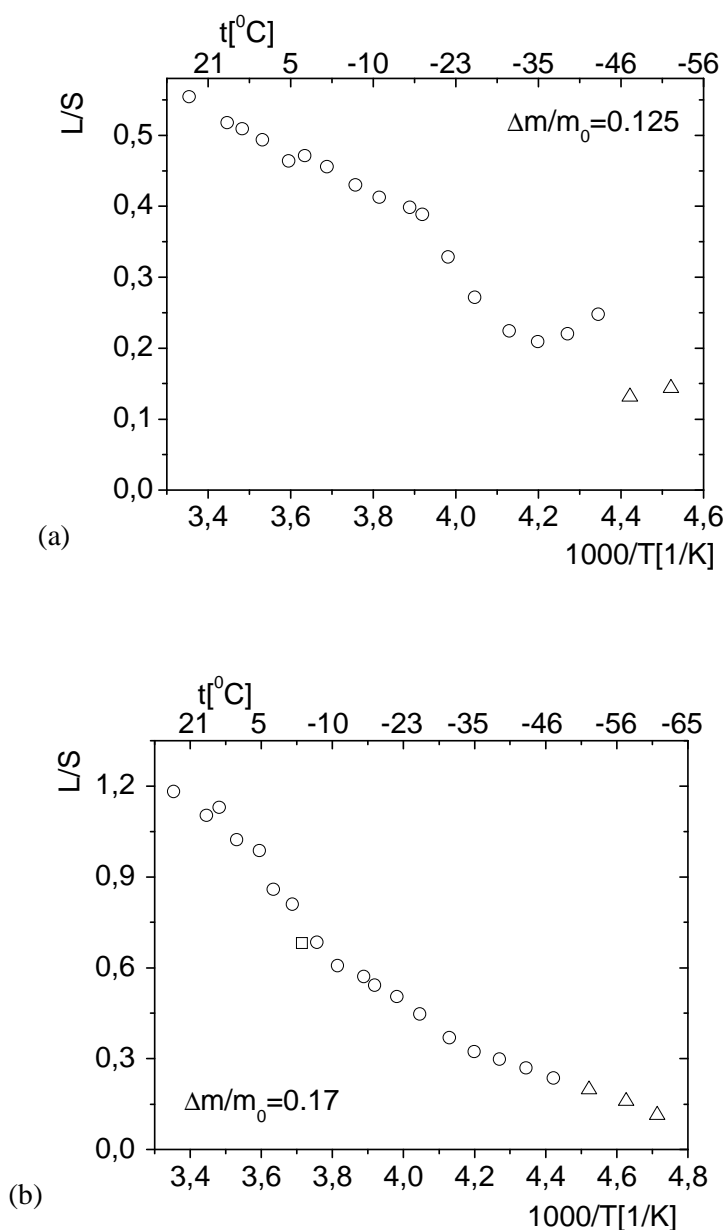
(d)

Rys. 7.2. Zależności czasów relaksacji składowej stałej i dwóch składowych ciekowych od temperatury, ● - składowa stała, model z dwiema eksponentami, chłodzenie, ■ - składowa stała, model z jedną eksponentą, chłodzenie, ▼ - składowa stała, model z dwiema eksponentami, grzanie, ▲ - składowa stała, model z jedną eksponentą, grzanie, △ - składowa L_1 , chłodzenie, ○ - uśredniona składowa ciekowa (L_1), chłodzenie, ▽ - składowa ciekowa L_1 , grzanie, + - uśredniona składowa ciekowa (L_1), grzanie; □ - składowa L_2 , chłodzenie, ◇ - składowa L_2 , grzanie; (a) $\Delta m/m_0 = 0.125$, składowa ciekowa przybliżona była dwoma eksponentami od 25°C do -43°C oraz jedną eksponentą w temperaturach od -31°C do -52°C ; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$, składowa ciekowa przybliżona dwoma eksponentami w temperaturach od 25°C do -47°C oraz jedną eksponentą w zakresie między -31°C a -61°C ; (c) $\Delta m/m_0 = 0.21$; składowa ciekowa przybliżona dwoma eksponentami od 25°C do -47°C oraz jedną eksponentą od -31°C do -61°C ; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$, składowa ciekowa przybliżona eksponentą między 25°C a -11°C ; dwoma eksponentami między -16°C a -43°C oraz jedną eksponentą między -31°C a -61°C .

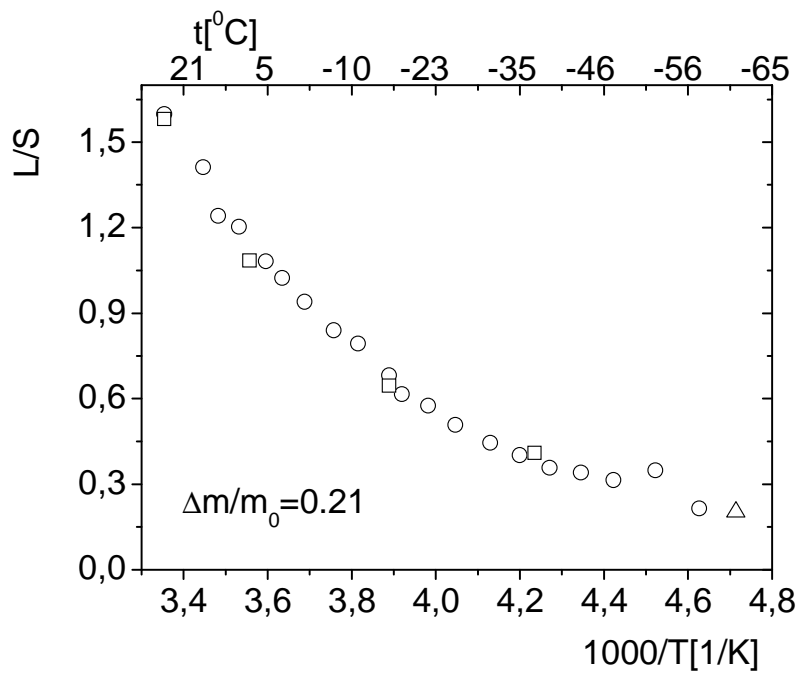
7.4. Analiza amplitudy sygnału cieczowego

Amplituda całkowitego sygnału cieczowego na jednostkę sygnału stałego w funkcji temperatury dla próbek uwodnionych od wartości $\Delta m/m_0 = 0.12$ do $\Delta m/m_0 = 0.33$ została przedstawiona na Rys.7.3.

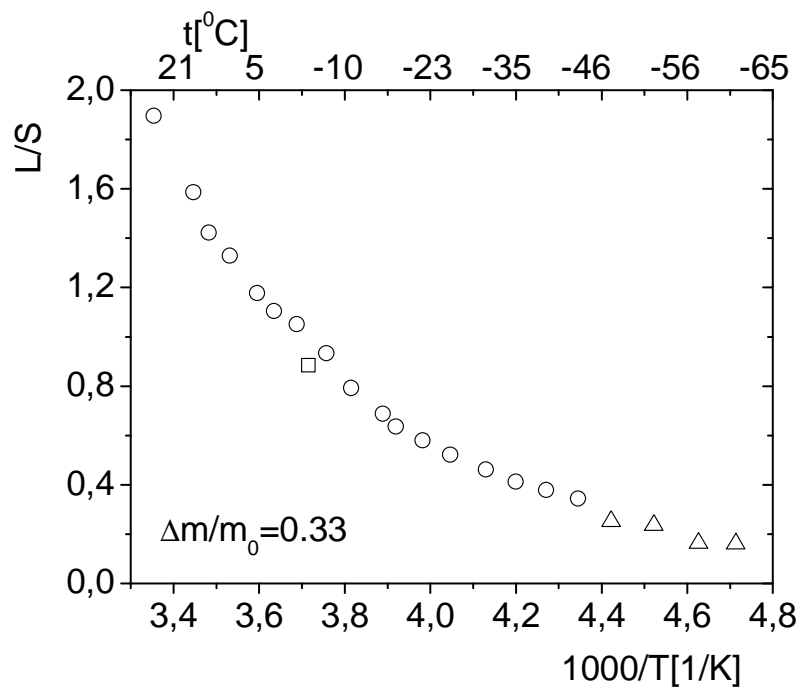
Wraz ze spadkiem temperatury obserwowano ciągłe obniżanie się wartości amplitudy całkowitego sygnału cieczowego na jednostkę sygnału stałego. Nie zaobserwowano skokowych zmian, które oznaczałyby kooperatywne zamarzanie wody związanej. Oznacza to stopniowe (niekooperatywne) unieruchamianie się frakcji wody związanej w plesze porostu *U. aprina*.



Rys.7.3.a,b



(c)

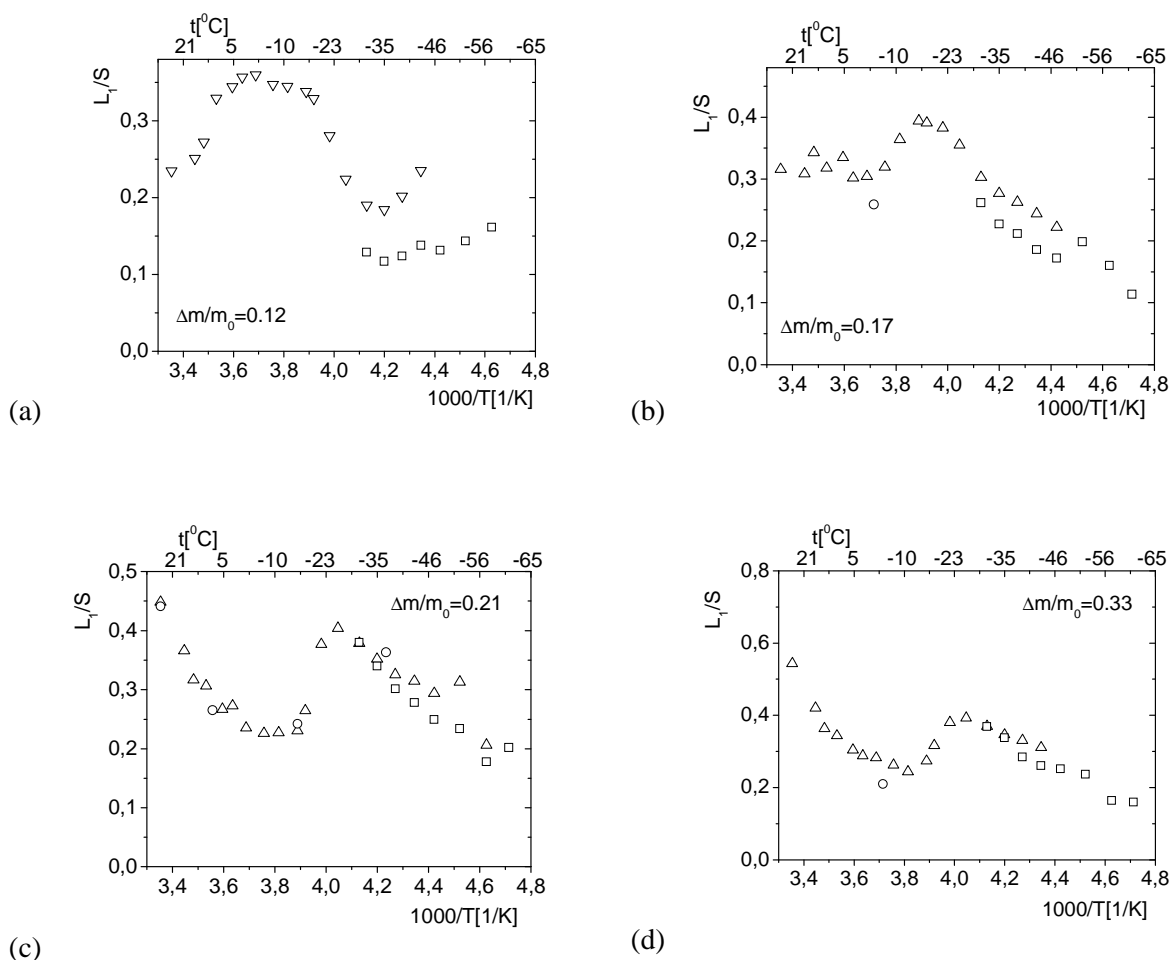


(d)

Rys. 7.3. Całkowity sygnał ciekawy $U. aprina$ wyrażony w jednostkach ciała stałego w funkcji temperatury, \circ - składowa ciekawa, chłodzenie, \square - składowa ciekawa, grzanie, \triangle - uśredniona składowa ciekawa (L_I), chłodzenie; (a) $\Delta m/m_0 = 0.12$; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$; $\Delta m/m_0 = 0.21$; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$.

7.5. Analiza składowej cieczonej L_1

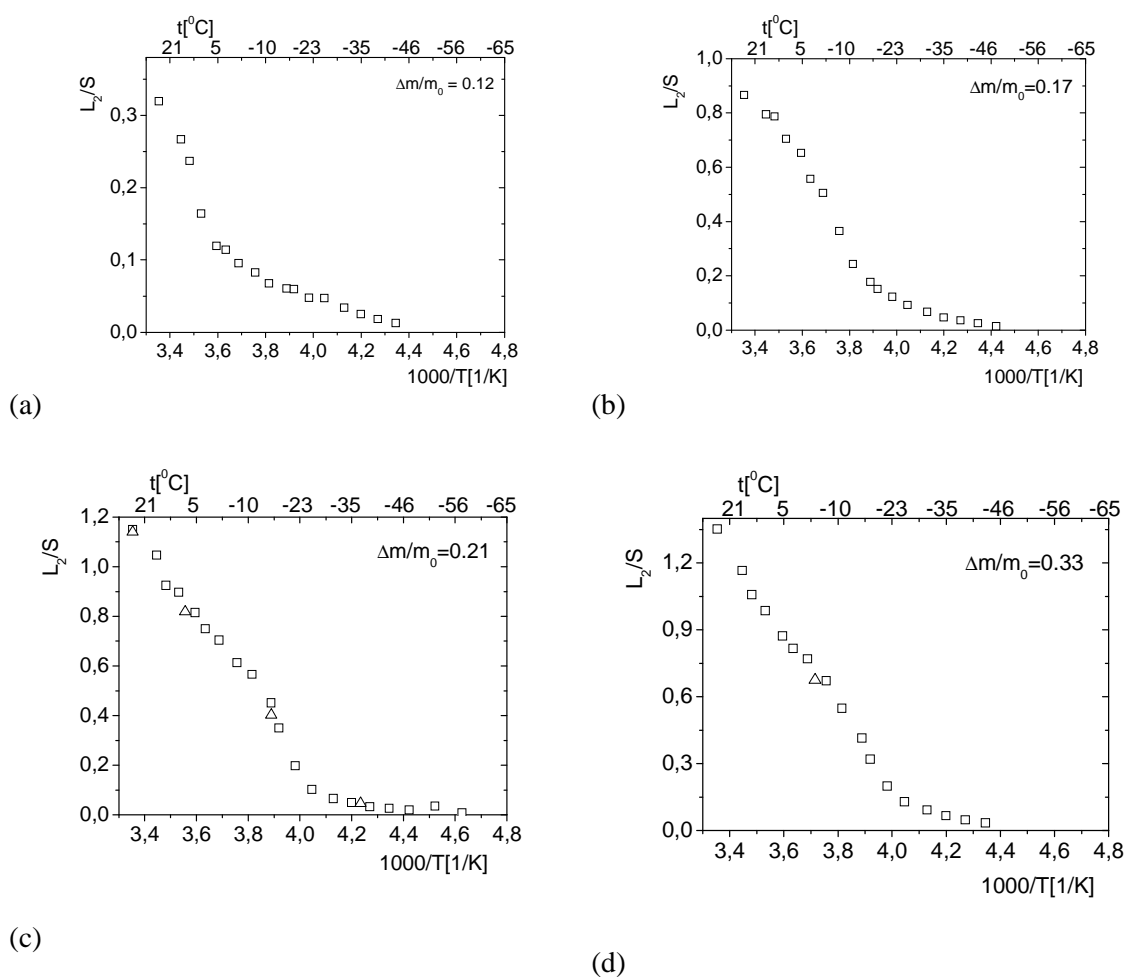
Dla całego zakresu badanych uwodnień plech *U. aprina* amplituda składowej wody ściśle związanej, L_1/S , wyrażona w jednostkach składowej stałej S (Rys.7.4) waha się w zakresie od 0.2 do 0.4. Zbliżone wartości L_1/S uzyskano w pomiarach zależności hydratacyjnych zaników swobodnej precesji dla plechy *U. aprina* (patrz rozdz. 6.3.4., Rys. 6.15.a). Potwierdza to, że szybko zanikająca składowa eksponencjalna zaniku swobodnej precesji plechy *U. aprina* pochodzi od wody ściśle związanej w plesze. Wahania tej wielkości mogły zostać wywołane względami numerycznymi.



Rys. 7.4. Amplituda składowej cieczonej L_1 wyrażona w jednostkach amplitudy składowej stałej S w funkcji temperatury, Δ - składowa L_1 , chłodzenie; \circ - składowa L_1 , grzanie; \square - uśredniona składowa cieczonej, (L_1), chłodzenie; (a) $\Delta m/m_0 = 0.12$, składowa cieczonej przybliżona była dwiema eksponentami od 25°C do -43°C oraz jedną eksponentą od -31°C do -52°C ; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$, składowa cieczonej opisana była dwiema eksponentami od 25°C do -47°C oraz jedną eksponentą od -31°C do -61°C ; (c) $\Delta m/m_0 = 0.21$, składowa cieczonej przybliżona była dwiema eksponentami między 25°C a -57°C oraz jedną eksponentą dla między -31°C a -61°C ; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$, składowa cieczonej była opisana dwiema eksponentami między 25°C a -43°C oraz jedną eksponentą między -31°C a -61°C .

7.6. Analiza składowej cieczonej L_2

Amplituda wolno zanikającej składowej cieczonej L_2 na jednostkę sygnału stałego S (Rys. 7.5), spada wraz z obniżaną temperaturą. Spadek ten jest znacznie szybszy niż obniżanie się sumarycznej składowej pochodzącej od wody związanej (patrz rozdział 7.4.). Nie wykluczone, że frakcja wody luźno związanej pozostaje w sposób szczątkowy w pleśle do temperatury -43°C , dla uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.12$ i dla $\Delta m/m_0 = 0.33$; do temperatury -47°C dla $\Delta m/m_0 = 0.17$ oraz do -43°C dla $\Delta m/m_0 = 0.21$. Dla niższych wartości temperatur obserwowano jedynie frakcję wody ściśle związanej. Nie zaobserwowano histerezy podczas ogrzewania próbki.



Rys. 7.5. Amplituda składowej cieczonej L_2 wyrażona w jednostkach składowej stałej S w funkcji uwodnienia, \square - składowa L_2 , chłodzenie, \triangle - składowa L_2 , grzanie; (a) $\Delta m/m_0 = 0.12$; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$; (c) $\Delta m/m_0 = 0.21$; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$.

7.7. Analiza amplitud sygnału dla składowej L_1 i L_2 na jednostkę całkowitego sygnału cieczowego

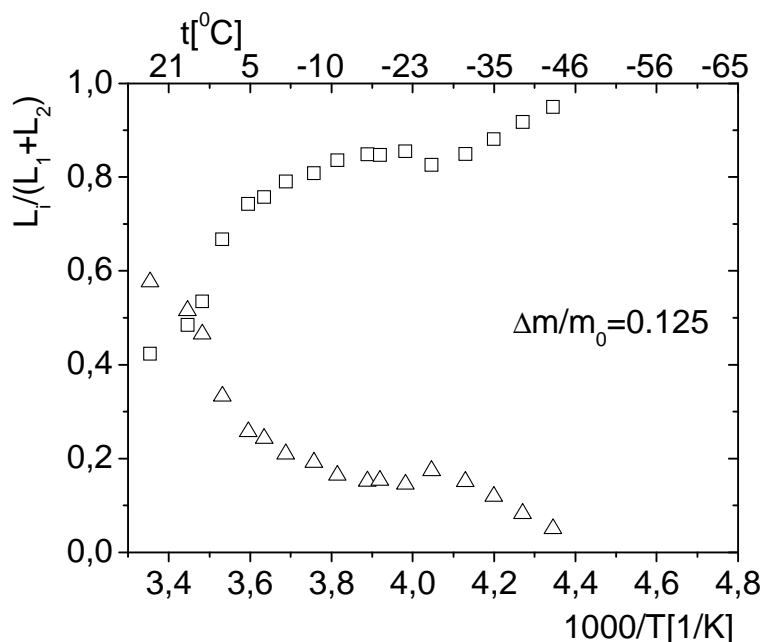
Rys. 7.6.a,b,c,d przedstawia amplitudę sygnału dla składowej L_1 i L_2 na jednostkę całkowitego sygnału cieczowego dla uwodnień między $\Delta m/m_0 = 0.12$, a $\Delta m/m_0 = 0.33$.

Dla badanych plech porostu *U. aprina* w temperaturze około 12°C zaczyna się wzrost amplitudy sygnału od wody ściśle związanej na koszt sygnału od wody luźno związanej, L_2 . Podobne zjawisko zaobserwowano w poroście krzaczkowatym *Cladonia mitis* [Harańczyk i in., 2003b].

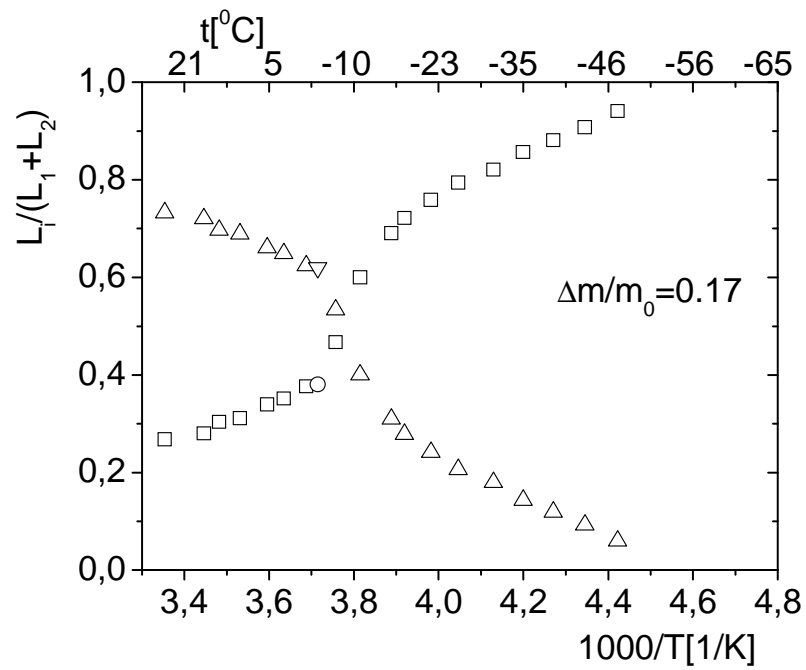
Dla *U. aprina* wartość temperatury w której zaczyna się przemiana zależy od poziomu uwodnienia plechy. Wartość temperatury w połowie przemiany wynosi 12°C dla $\Delta m/m_0 = 0.12$, -3°C dla $\Delta m/m_0 = 0.17$, oraz -15°C dla próbek o uwodnieniach 0.21 i 0.33.

Warto zauważyć, że po każdej zmianie temperatury czekano na jej stabilizację około 10-15 minut. Wraz ze spadkiem temperatury było dość czasu, by plecha *U. aprina* zareagowała na obniżenie temperatury przemianami fizjologicznymi (patrz rozdz. 9).

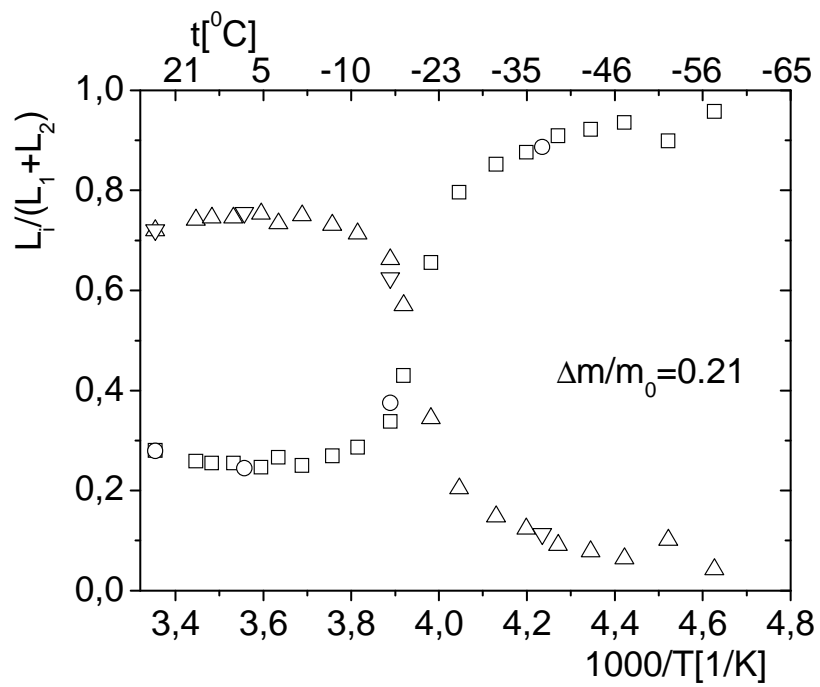
Przedstawione w tym rozdziale wyniki są pierwszą obserwacją zjawiska przemiany frakcji wody luźno związanej do frakcji wody ściśle związanej w poroście o plesze listkowatej.



Rys. 7.6.a

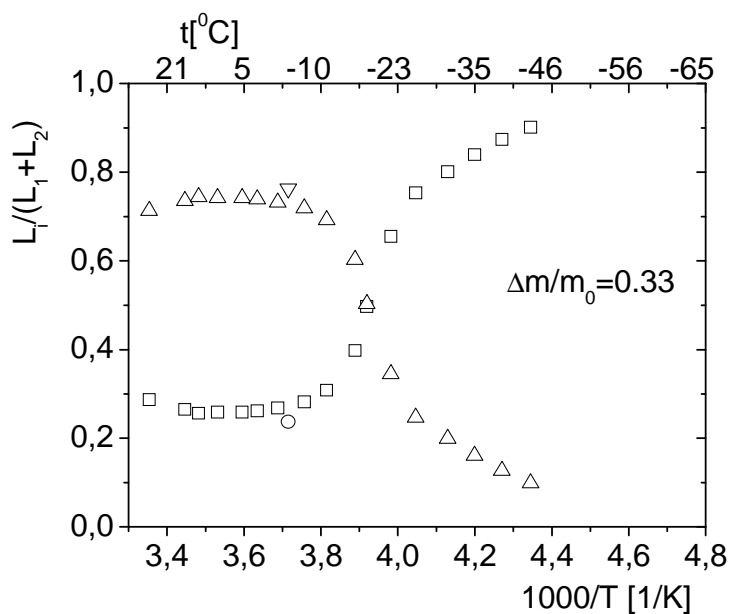


(b)



(c)

Rys. 7.6.b,c.



(d)

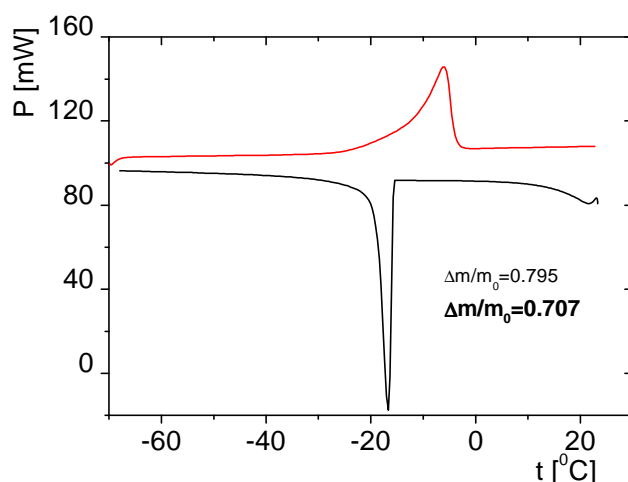
Rys. 7.6. Zależności amplitud poszczególnych składowych ciekowych wyrażonych w jednostkach amplitudy sumarycznej frakcji ciekowej od temperatury; Δ - składowa L_2 w jednostkach całkowitego sygnału ciekowego, $L_2/(L_1+L_2)$, dla chłodzenia; $\square = L_1/(L_1+L_2)$, chłodzenie; $\nabla = L_2/(L_1+L_2)$, grzanie; \circ - składowa L_1 w jednostkach całkowitego sygnału ciekowego, $L_1/(L_1+L_2)$, grzanie; (a) $\Delta m/m_0=0.125$; (b) $\Delta m/m_0=0.17$; (c) $\Delta m/m_0=0.21$; (d) $\Delta m/m_0=0.33$.

8. Pomiary temperaturowe plechy *U. aprina* metodą DSC

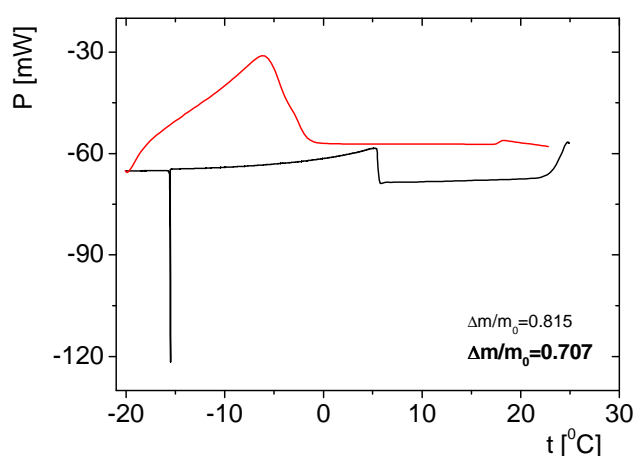
Pomiary kalorymetryczne zostały przeprowadzone, *in vivo*, na plesze *U. aprina* o żywotności komórek między 65% a 75%. Dla uwodnień plechy od $\Delta m/m_0 = 0.26$ zaobserwowano przejście fazowe będące zamrażaniem wody związanej w plesze, natomiast dla plech uwodnionych od 0.09 zaobserwowano topnienie wody.

8.1. Pomiary przejść fazowych w funkcji szybkości chłodzenia

Przeprowadzone z różną szybkością chłodzenia pomiary przejść fazowych dla plechy *U. aprina* pokazały, że temperatury onsetu dla dwóch próbek o zbliżonych wartościach uwodnienia ($\Delta m/m_0 = 0.80$ i $\Delta m/m_0 = 0.82$) dla których szybkość zmian temperatury wynosiła odpowiednio $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ i $0.1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ były zbliżone i wyniosły odpowiednio -15.68°C i -15.52°C [Rys. 8.1. i 8.2.]. Oznacza to, że nawet tak drastyczna zmiana szybkości chłodzenia nie wywołała istotnych zmian natury zachodzącego procesu.



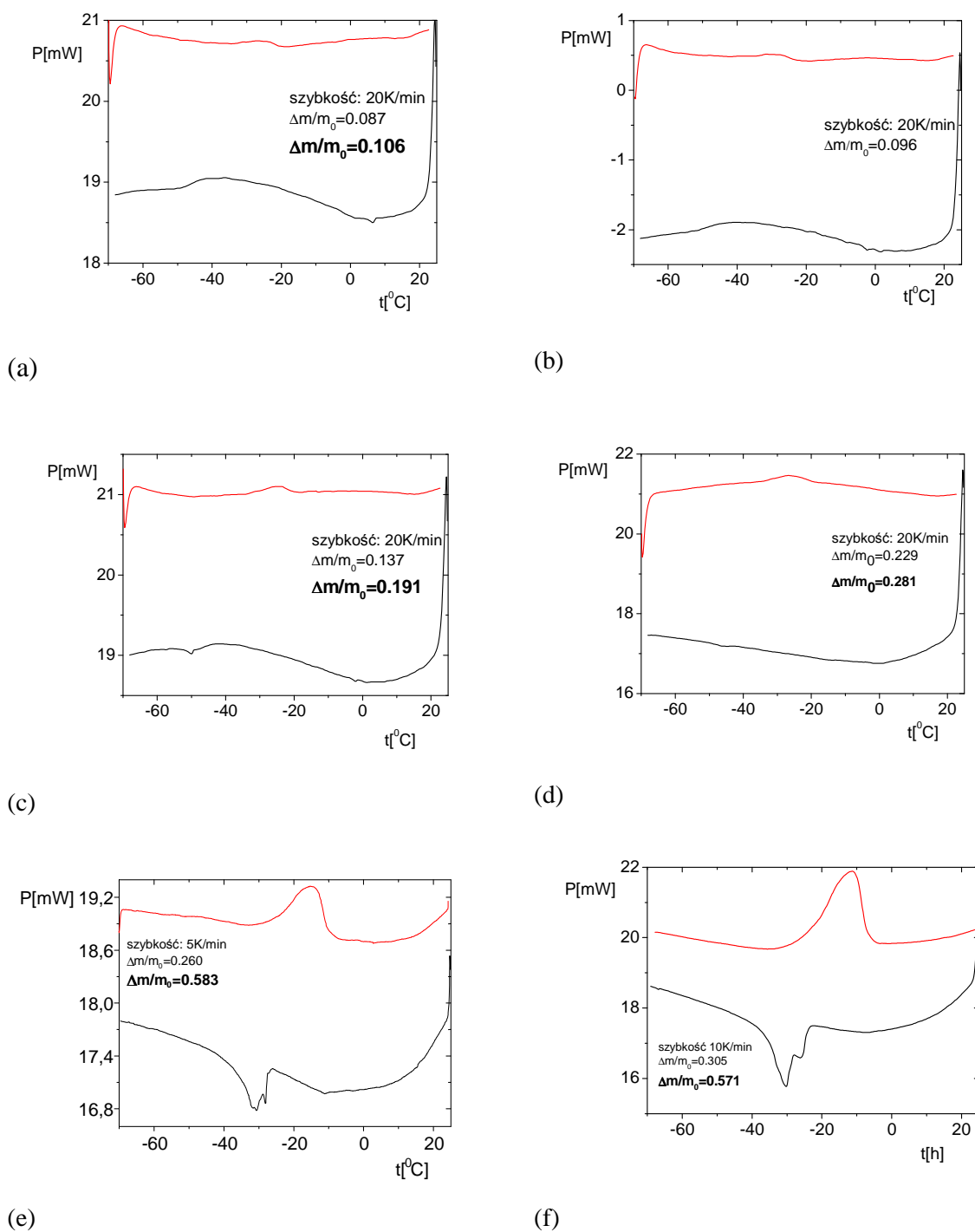
Rys. 8.1. Zamarzanie i topnienie wody związanej w plesze porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.795$. Ciągła linia czarna – chłodzenie, linia czerwona – grzanie. Szybkości grzania i chłodzenia wyniosły $20^\circ\text{C}/\text{min}$.



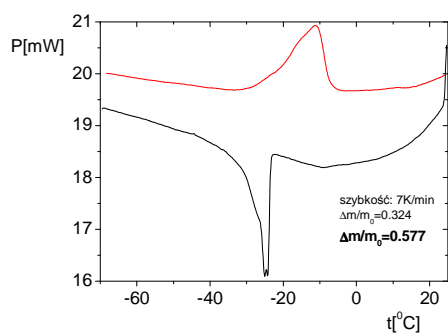
Rys. 8.2. Zamarzanie i topnienie wody związanej w plesze porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.815$. Szybkości grzania i chłodzenia wyniosły $0.1^\circ\text{C}/\text{min}$.

8.2. Pomiary przejść fazowych w funkcji uwodnienia plechy

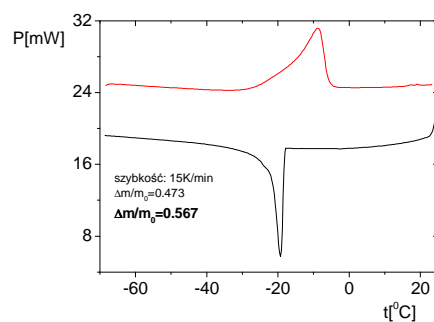
Pomiary przejść fazowych próbek plechy o różnym stopniu uwodnienia, zostały przedstawione na Rys. 8.3. Pomiar dla każdej hydratacji wykonywano na odrębnej próbce. Dla próbek uwodnionych w zakresie od $\Delta m/m_0 = 0.09$ do $\Delta m/m_0 = 0.23$ (Rys. 8.3 a-d) pojawia się mały pik jedynie dla grzania, rozmarzanie wody związanej. Począwszy od uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.26$ do uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.70$, obserwowano dwa piki dla grzania i chłodzenia (8.4.e - 8.4.k).



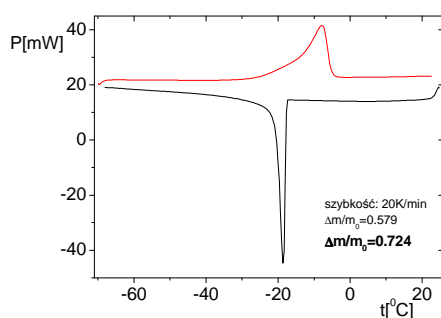
Rys. 8.3. a-f.



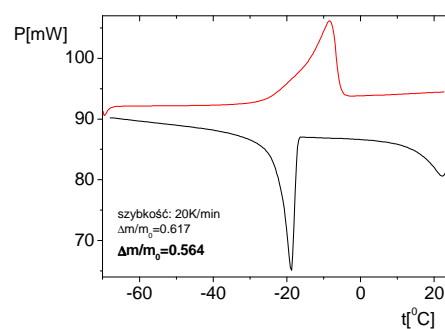
(g)



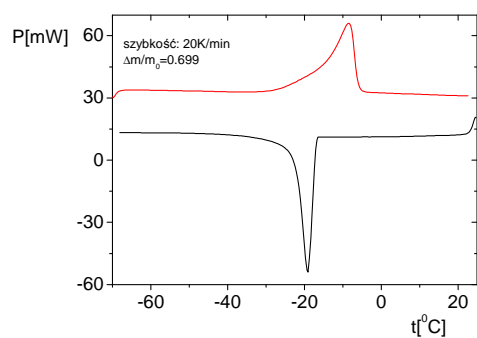
(h)



(i)



(j)



(k)

Rys. 8.3. Zamarzanie i topnienie wody związanej w pleśze porostu *U. aprina*, czarna linia ciągła – chłodzenie, czerwona – ponowne ogrzewanie; uwodnienie plech i szybkości grzania (chłodzenia) wyniosły odpowiednio: (a) $\Delta m/m_0 = 0.087$, $20^\circ\text{C}/\text{min}$; (b) $\Delta m/m_0 = 0.096$, $20^\circ\text{C}/\text{min}$; (c) $\Delta m/m_0 = 0.137$, $20^\circ\text{C}/\text{min}$; (d) $\Delta m/m_0 = 0.229$, $20^\circ\text{C}/\text{min}$; (e) $\Delta m/m_0 = 0.26$, $20^\circ\text{C}/\text{min}$; (f) $\Delta m/m_0 = 0.305$, $10^\circ\text{C}/\text{min}$; (g) $m/m_0 = 0.324$, $7^\circ\text{C}/\text{min}$; (h) $\Delta m/m_0 = 0.473$, $15^\circ\text{C}/\text{min}$; (i) $\Delta m/m_0 = 0.579$, $20^\circ\text{C}/\text{min}$; (j) $\Delta m/m_0 = 0.617$, $20^\circ\text{C}/\text{min}$; (k) $\Delta m/m_0 = 0.795$, $20^\circ\text{C}/\text{min}$.

8.3. Zależność temperatury przejścia fazowego w funkcji uwodnienia próbki

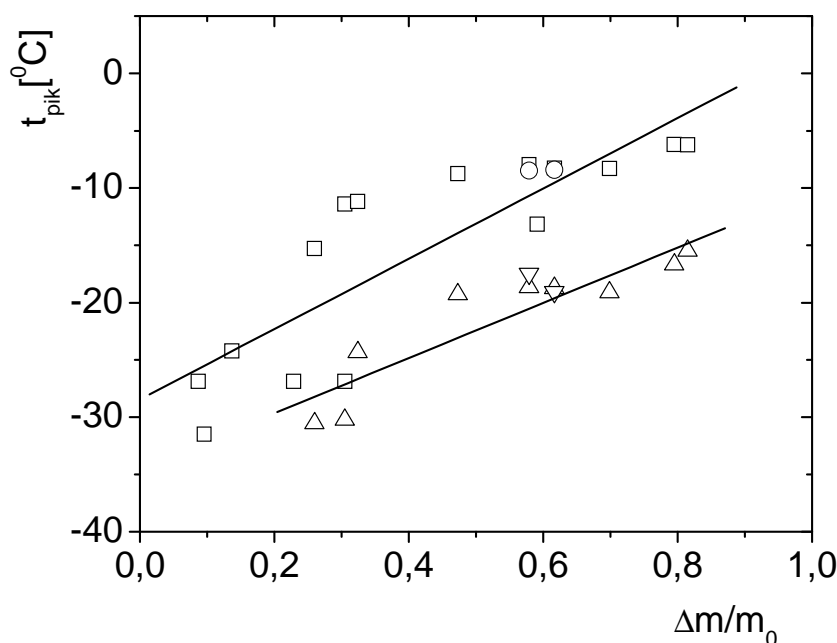
Zależność temperatury przejścia fazowego w funkcji uwodnienia próbki podczas ogrzewania i ochładzania została przedstawiona na Rys. 8.4. Ze wzrostem uwodnienia plechy porostu stwierdza się wzrost temperatury przejścia fazowego. Dla grzania proces może być opisany zależnością fenomenologiczną:

$$t_{pik} [^{\circ}C] = (30.7 \pm 5.4) \cdot \Delta m/m_0 - (28.5 \pm 2.6), \quad (8.1)$$

natomiast dla chłodzenia zależnością :

$$t_{pik} [^{\circ}C] = (24.1 \pm 4.2) \cdot \Delta m/m_0 - (34.5 \pm 2.4). \quad (8.2)$$

Można to wytłumaczyć w ten sposób, że podczas uwadniania próbki zwiększa się objętość kawern zawierających wodę w plesze porostu. Zwiększa się tym samym liczba heterogennych jąder nukleacji i większa jest szansa na zajście procesu tworzenia krystalitów lodu [Harańczyk, prywatna dyskusja].



Rys. 8.4. Zależność temperatury przejścia fazowego w funkcji uwodnienia próbki; \square = wartości temperatur przejścia fazowego dla pierwszego cyklu pomiarowego (grzanie), \circ = wartości temperatur, będących średnią arytmetyczną odpowiednio dla trzech i dwóch cykli pomiarowych (grzanie); \triangle = wartości temperatur przejścia fazowego dla pierwszego cyklu pomiarowego (chłodzenie), ∇ = wartości temperatur, będących średnią arytmetyczną odpowiednio dla trzech i dwóch cykli pomiarowych (chłodzenie).

Temperatury dla topnienia były wyższe o około 10°C . Podczas ochładzania próbki woda związana w plesze porostu przechodzi do stanu metastabilnego i ulega przechłodzeniu. Być może opóźnione zamarzanie wody w komórkach plechy porostu chroni organizm przed obecnością w plesze śmiertelnych krystalitów lodu, opóźniając ich powstanie podczas obniżania się temperatury.

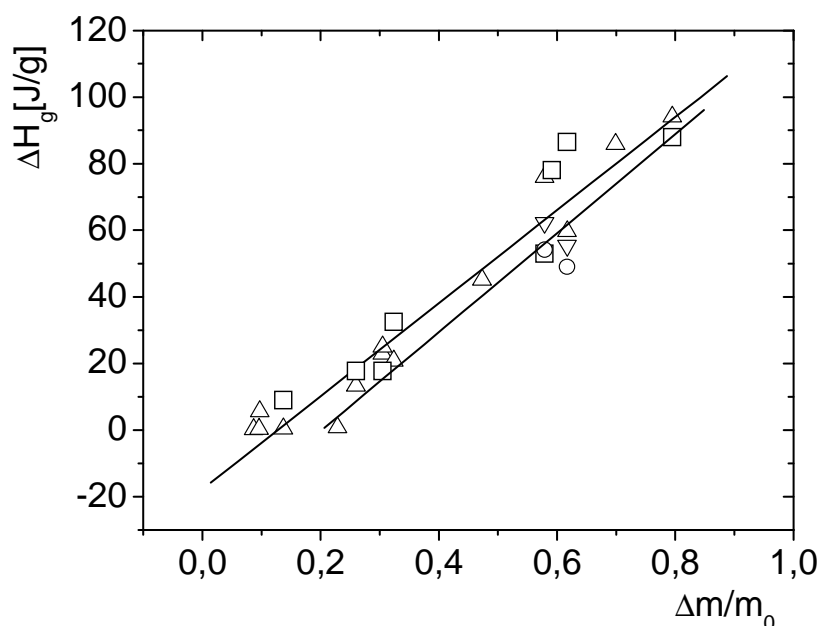
8.4. Zmiana entalpii w funkcji uwodnienia próbki

Zależności zmiany entalpii przejścia fazowego w funkcji uwodnienia próbki dla procesu ogrzewania i ochładzania zostały zestawione na Rys. 8.5.a,b. Zmiana entalpii rośnie liniowo ze wzrostem uwodnienia próbki. Dla chłodzenia (zamarzanie) opisana jest zależnością fenomenologiczną:

$$\Delta H_{ch} [\text{J/g}] = (148.53 \pm 13.4) \cdot \Delta m/m_0 - (30.0 \pm 7.2) \quad (8.3)$$

natomiast dla grzania (topnienie) opisana jest zależnością:

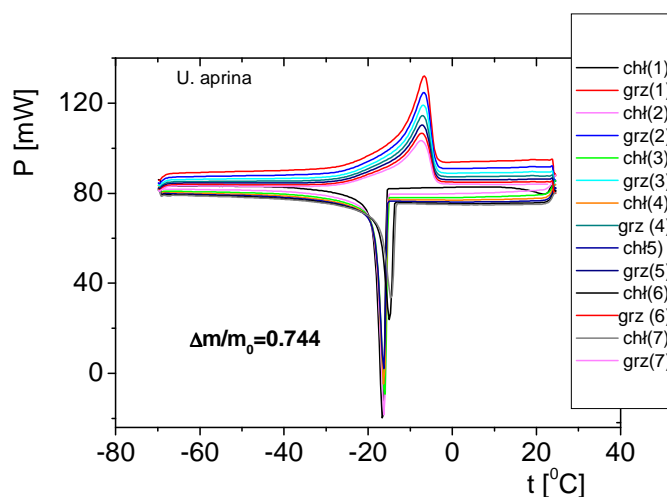
$$\Delta H_g [\text{J/g}] = (139.72 \pm 3.8) \cdot \Delta m/m_0 - (17.77 \pm 3.79). \quad (8.4)$$



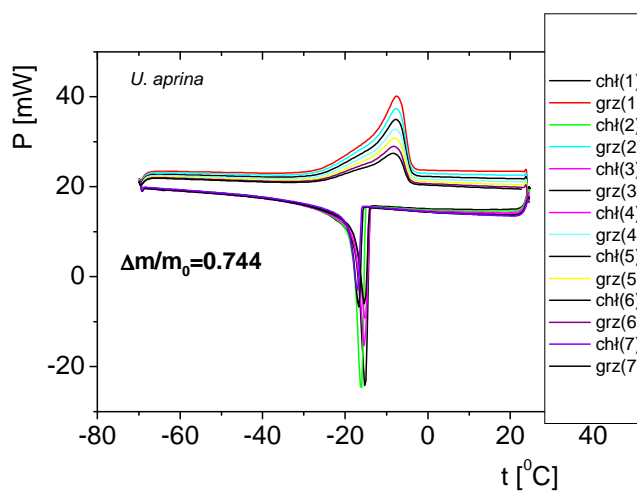
Rys. 8.5. Zmiany entalpii przejścia fazowego w funkcji uwodnienia próbki; (a) chłodzenie, □ = zmiany entalpii dla pierwszego cyklu pomiarowego, ○ = zmiany entalpii, będące średnią arytmetyczną dla próbek, w której mierzono więcej cykli zamarzania i topnienia, odpowiednio dla trzech i dwóch cykli pomiarowych; (b) grzanie, Δ = zmiany entalpii dla pierwszego cyklu pomiarowego, ▽ = zmiany entalpii, będące średnią arytmetyczną odpowiednio dla trzech i dwóch cykli pomiarowych.

8.5. Cykle wielokrotnego zamarzania i odmarzania próbki

W celu obserwacji zmiany temperatury przejścia fazowego w funkcji kolejnych cykli pomiarowych przeprowadzono procedurę wielokrotnego zamrażania i odmarzania próbki (Rys. 8.6. a,b,c). W trakcie pomiaru próbka stopniowo traciła wilgoć w środowisku kalorymetru. Masa próbki przed włożeniem do kalorymetru wyniosła: $m_{0_{porostu}} = 9.07mg$, natomiast po wyjściu z kalorymetru masa wyniosła: $m_{k_{porostu}} = 5.68mg$. Przeprowadzony pomiar był złożeniem 21 cykli pomiarowych, przy czym jeden cykl pomiarowy składał się z chłodzenia i grzania. Przesunięcia kolejnych pików w czasie zajścia procesu *freeze-thawing* mogą być związane z modyfikacją plechy porostu spowodowaną narastającymi krystalitami lodu.

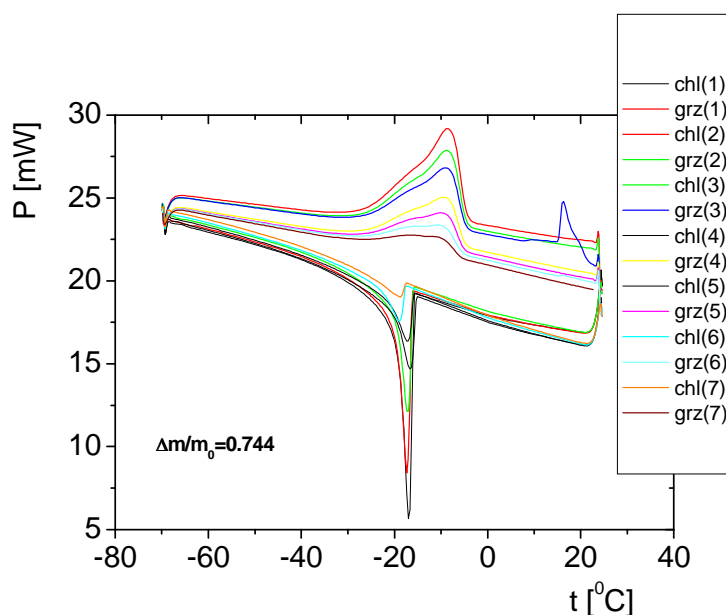


(a)



(b)

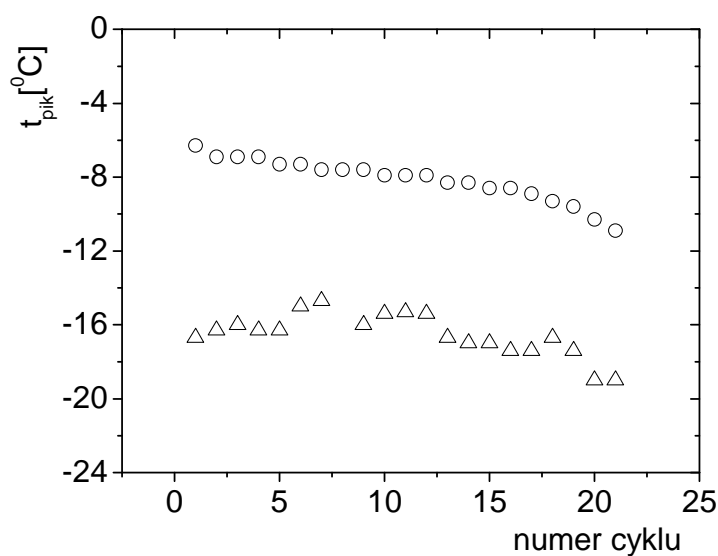
Rys. 8.6a,b.



(c)

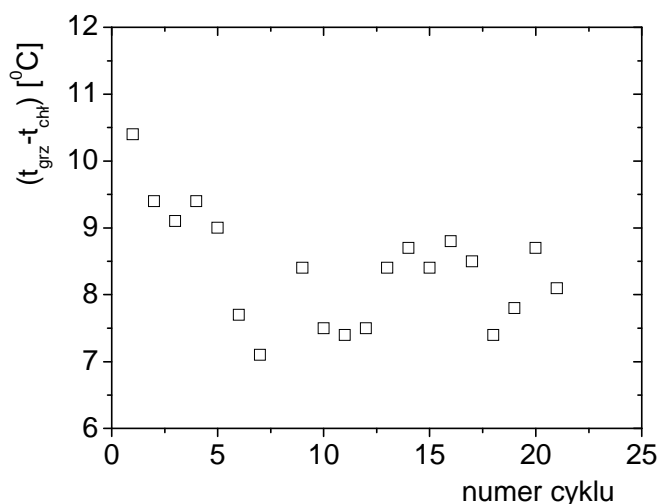
Rys. 8.6. Zamarzanie i topnienie wody związanej w plesze porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.744$. Szybkości grzania i chłodzenia wyniosły $20^\circ\text{C}/\text{min}$.

Zależność temperatury przejścia fazowego w funkcji numeru cyklu dla chłodzenia i ogrzewania przedstawia Rys. 8.7. Wraz ze wzrostem liczby cykli temperatura rozmarzania wody związanej w plesze *U. aprina* nieznacznie się obniża. W przeciwieństwie do topnienia wydaje się, że temperatura zamarzania wody w plesze *U. aprina* nie zmienia się znacząco wraz ze wzrostem liczby cykli.



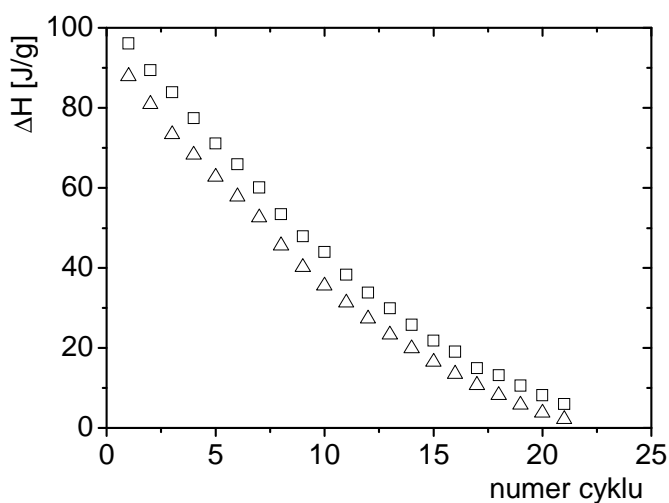
Rys. 8.7. Pomiar wielokrotny próbki uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.744$. Zależność temperatury przejścia fazowego w funkcji numeru cyklu, \circ - grzanie; \triangle - chłodzenie.

. Różnicę temperatur przejścia fazowego dla grzania i chłodzenia dla danego cyklu przedstawia Rys. 8.8. Ze wzrostem numeru cyklu różnica temperatur maleje, aż do cyklu nr 5, następnie nie zmienia się dla dalszych kolejnych zamrożeń i rozmarznięć. Sugeruje to, że zmiany strukturalne wywołane cyklami *freeze-thawing* następują w ciągu pierwszych cykli.



Rys. 8.8. Różnica temperatur przejścia fazowego dla grzania i chłodzenia, dla danego cyklu.

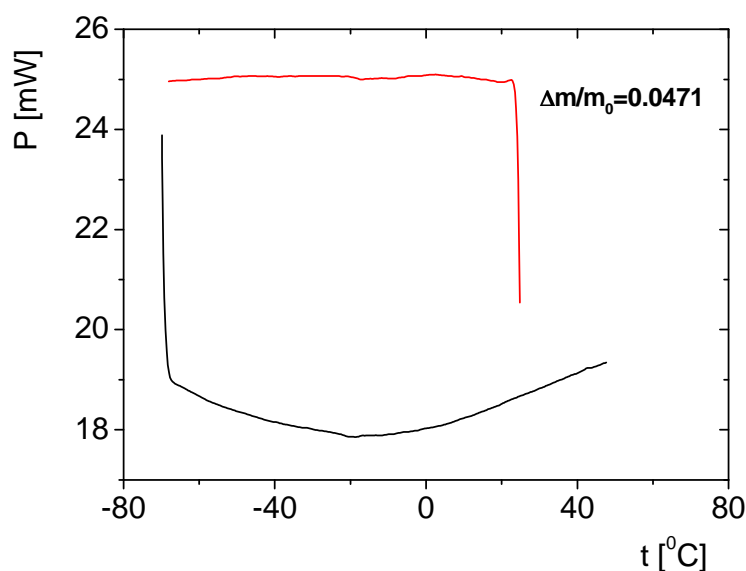
Zależność zmiany entalpii przejścia fazowego w funkcji numeru cyklu pomiarowego dla ogrzewania i ochładzania została przedstawiona na Rys. 8.9. Ze wzrostem numeru cyklu widoczny jest spadek wartości entalpii co jest prawdopodobnie związane z utratą uwodnienia próbki.



Rys. 8.9. Zależność zmiany entalpii przejścia fazowego w funkcji numeru cyklu. Pomiar wielokrotny próbki uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.744$, \square - grzanie, \triangle - chłodzenie.

8.6. Pomiar celem wyznaczenia przejścia szklistego

W celu wykrycia przejścia szklistego w pleśze porostu *U. aprina* silnie zdehydratowaną do wartości uwodnienia $\Delta m/m_0 = 0.05$ próbkę poddano procesowi chłodzenia z szybkością $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ od temperatury pokojowej do temperatury -70°C , a następnie procesowi ogrzewania z tą samą szybkością do wartości $+50^{\circ}\text{C}$. Nie udało się zaobserwować zmian charakterystycznych dla przejścia szklistego (Rys. 8.10).



Rys. 8.10. Zamarzanie i topnienie wody związanej w pleśze porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0=0.047$. Szybkości grzania i chłodzenia wyniosły $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$, linia czerwona – chłodzenie, linia czarna – grzanie.

9. Dyskusja

9.1. Pomiary kinetyki hydratacji

Wstępne fazy uwodnienia suchych układów biologicznych były analizowane dla ziaren pszenicy, DNA, liofilizatów błon fotosyntetycznych, skrobi ziemniaczanej, czy porostów antarktycznych. W przypadku ziarna pszenicy [Harańczyk, 2003], liofilizatów błon fotosyntetycznych pszenicy [Harańczyk, i in. 2008], liofilizatów DGDG [Harańczyk i in., 2009] proces hydratacji był opisany przy pomocy funkcji jednoeksponencjalnej. Analiza wstępnych faz uwadniania liofilizatu DNA spermy łososia pokazała proces jednoeksponencjalny dla względnej wartości uwodnienia z zakresu od 9% do 32%. Między 44% a 63%, był to proces dwueksponencjalny, a dla $p/p_0 \geq 76\%$ proces opisany funkcją trójeksponencjalną. Dla wilgotności względnej $p/p_0 = 100\%$, po 244 h zaobserwowano proces pęcznienia, polegający na tym, że po tym czasie rozpoczął się nowy proces hydratacji opisany dodatkową eksponentą [Harańczyk i in., 2010]. Dla skrobi ziemniaczanej analiza wstępnych faz uwadniania pokazała proces dwueksponencjalny dla uwodnień z zakresu między $p/p_0 = 52\%$ do $p/p_0 = 100\%$ [Witek, 2006].

Plechy porostów listkowatych z siedlisk o łagodnych warunkach klimatycznych cechuje jednoeksponencjalna kinetyka hydratacji (jak to było obserwowane u listkowatej plechy *U. antarctica* z Antarktydy morskiej [Harańczyk, 2003]). Dwueksponencjalne funkcje kinetyki hydratacji są charakterystyczne dla porostów o plesze krzaczkowej (jak np. *Leptogium puberulum*, czy *Usnea antarctica* [Harańczyk i in., 2009b; Harańczyk i in., 2006b]).

Analiza kinetyki hydratacji porostu *U. aprina* przeprowadzonej z fazy gazowej pozwoliła wyróżnić trzy pule wody związanej w plesze porostu: frakcję wody najściślej

związanej (i) usuwanej dopiero podczas wyznaczania suchej masy, frakcję wody ściśle związanej (ii) oraz frakcję wody luźno związanej (iii), rosnącej proporcjonalnie do uwodnienia. Frakcja wody luźno związanej pojawia się dla tras hydratacyjnych od wartości $p/p_0=88\%$ (poniżej tego poziomu wilgotności proces jest jednoeksponencjalny, a powyżej dwueksponencjalny). W pleche porostu *U. decussata* zaobserwowano dwie pule wody związanej: frakcję wody ściśle związanej (i) oraz frakcję wody luźno związanej (ii) i do danych doświadczalnych dopasowano funkcję jednoeksponencjalną.

Plecha porostu listkowatego *U. decussata* pokazała podobną kinetykę hydratacji, jak inne porosty listkowate. W przeciwieństwie do tego, *U. aprina* ujawniła wieloeksponencjalny proces hydratacji, charakterystyczny dla gatunków krzaczkowatych. Przyczyna tej różnicy, może być związana z siedliskiem występowania *U. aprina* (ciek lodowcowy), oraz z budową jej plechy (jest to plecha podnosząca się), która osiąga większe rozmiary niż plecha *U. decussata*. W przeciwieństwie do *U. aprina*, *U. decussata* została zebrana z nunataku, gdzie jest mocno wystawiona na działanie warunków zewnętrznych.

9.2. Izoterma sorpcyjna

W przypadku wielu analizowanych, suchych układów biologicznych izoterma sorpcyjna ma postać sigmoidy i może być z powodzeniem opisana modelem Denta. Dla liofilizatu DNA masa wody nasycającej pierwotne miejsca wiążące wyniosła, $\Delta M / m_0 = 0.114$, a wkład od pustych miejsc wiążących dla $h=1$ wyniósł $1/b_1 = 2.95\%$ [Harańczyk, 2010]. W przypadku skrobi natywnej masa wody nasycającej pierwotne miejsca wiążące wyniosła $\Delta M / m_0 = 0.086$, a dla skrobi modyfikowanej miedzią $\Delta M / m_0 = 0.096$ z wkładem od pustych miejsc wiążących równym odpowiednio $1/b_1 = 0.1\%$ i $1/b_1 = 0.64\%$ [Witek, 2006], co sugeruje większą hydrofilowość skrobi w porównaniu z materiałem DNA.

Izoterma sorpcyjna dla *U. aprina* i *U. decussata* była opisana modelem Denta. Masa wody nasycającej pierwotne miejsca wiążące wyniosła $\Delta M / m_0 = 0.054$ dla plechy *U. aprina* i można ją utożsamić z frakcją wody najściślej związanej (i) wyodrębnionej kinetyką hydratacji. Dla plechy *U. decussata* masa wody nasycającej pierwotne miejsca wiążące była nieco większa i wyniosła $\Delta M / m_0 = 0.059$. Jest to wartość nieco niższa niż amplituda frakcji wody ściśle związanej (i) uzyskanej z kinetyki hydratacji, co sugerowałoby, że frakcja wody A_0 zawiera w sobie pulę wody najściślej związanej (nasycającej pierwotne miejsca wiążące) oraz pulę wody ściśle związanej. Wydaje się więc, że wyodrębnione modelem Denta

pierwotne miejsca wiążące mają dwojaką naturę. Część z nich znacznie mocniej wiąże molekuly wody, niż pozostałe miejsca wiążące.

Powierzchnie plech: *U. aprina* zasiedlającej ciek lodowcowy w Oazie Schirmachera (liczba nieobsadzonych pierwotnych miejsc wiążących dla $h=1$ wynosi $1/b_1 = 0.02\%$) oraz *U. decussata* z nunataku w Oazie Schirmachera, z parametrem $1/b_1 = 0.53\%$ wykazały podwyższoną hydrofilowość, podobnie jak inne porosty listkowate (np. dla plechy *U. antarctica* $1/b_1 = 0.09\%$) w porównaniu ze znacznie mniej hydrofilową plechą porostów krzaczkowatych, gdzie parametr $1/b_1$ jest znacznie większy np. dla *Himantormia lugubris* $1/b_1 = 1.11\%$, dla *Usnea aurantiaco-atra* $1/b_1 = 1.46\%$, dla *Caloplaca regalis* 1.93% , zaś dla *Usnea antarctica* 2.59% [Harańczyk 2003; 2006b].

9.3. Kształt sygnału swobodnej precesji dla protonów

Pomiary zaników swobodnej precesji dla protonów plechy *U. aprina* pokazały obecność frakcji wody ściśle i luźno związanej (do uwodnienia $\Delta m/m_0 \approx 0.15$), a powyżej tego uwodnienia obserwowano sygnał od składowej wody luźno związanej. Dla plechy *U. decussata* w całym zakresie badanych uwodnień obserwowano jedną składową od wody luźno związanej. Czas relaksacji spinowo-spinowej dla składowej stałej wyniósł $T_{2S}^* \approx 19\mu s$ dla plechy *U. aprina* oraz $T_{2S}^* \approx 18\mu s$ dla plechy *U. decussata* i był bliski wartościom otrzymanym dla innych suchych układów biologicznych takich jak: muszla małża [Harańczyk i in. 1993], dentyna [Funduk i in. 1986], szkliwo zęba [Funduk, 1984] oraz drewno [Hartley i in. 1994].

Składowa stała może być przybliżona funkcją Gaussa lub bardziej dokładnie funkcją Abragama. Przybliżenie funkcji Abragama nie zawsze da się zastosować, z uwagi na zbyt mały wkład składowej stałej do sygnału, dla próbki bardzo wysoko uwodnionej. Jeśli uda się dopasować funkcję Abragama, uzyskuje się informację o połówkowej szerokości linii, która jest charakterystyczna dla suchych układów biologicznych. Dla plechy *U. aprina* oraz *U. decussata* „falka” występująca w kształcie linii dawała średnią wartość parametru $a \approx 0.12 \mu s^{-1}$ (co odpowiada szerokości połówkowej stałej linii MRJ ($\Delta\omega = 2a$) równej 38 kHz).

9.4. Izoterma sorpcyjna MRJ

Pomysł izotermy sorpcyjnej MRJ wprowadzono w pomiarach liofilizatów błon fotosyntetycznych pszenicy [Harańczyk, 2008]. Pozwoliła ona stwierdzić obecność

frakcji wody „zapałkowanej” zarówno w przypadku błon dojrzałych, jak i rozwijających się. Frakcji wody „zapałkowanej” nie stwierdzono w DNA, ani w porostach antarktycznych.

W plechach *U. aprina* i *U. decussata* izoterma sorpcyjna MRJ wykazała brak frakcji wody zapałkowanej oraz obecność dwóch różnych współczynników wzmocnienia sygnału k , co może świadczyć o obecności jonów paramagnetycznych w różny sposób sąsiadujących z molekułami wody z frakcji ściśle oraz luźno związanej. Wpływ jonów paramagnetycznych na sygnał może być także wzmocniony przez migrację fotosyntetycznego manganu do zewnętrznych powierzchni błon fotosyntetycznych fotobiontu [Robinson i in., 1980; 1981; Wydrzyński i in., 1978].

9.5. Obecność frakcji stałej rozpuszczalnej w wodzie

W pomiarach MRJ plech *U. aprina* i *U. decussata* zależność hydratacyjna całkowitego sygnału cieczowego, wyrażonego w jednostkach sygnału stałego, jest opisana funkcją wymierną co sugeruje obecność w plechach frakcji stałej rozpuszczającej się w miarę uwadniania próbki. Mogą to być cukry. Obecność monosacharydów takich jak: glukoza, fruktoza, arabitol i mannitol była obserwowana w plesze *Ramalina subbreviscula* Asah., oraz *Ramalina sublitoralis* Asah.. Ich obecność może być cechą przystosowawczą do wzrostu w suchych warunkach środowiska [Hamada i in., 1994].

9.6. Proces przemiany wody luźno związanej w plesze *U. aprina* w frakcję wody ściśle związanej

Zwykle utożsamia się wodę luźno związaną z zamarzającą, a ściśle związaną z niezamarzającą. Jednak dla *U. aprina* wydaje się, że jest nieco inaczej.

W plesze *U. aprina*, w trakcie powolnego obniżania temperatury od wartości 25°C do -61°C można zaobserwować stopniową przemianę frakcji wody luźno związanej do frakcji wody ściśle związanej. Podobne zjawisko było obserwowane w plesze krzaczkowatego porostu *Cladonia mitis*, gdzie wraz ze spadkiem temperatury nastąpił transfer z puli wody luźno związanej do puli wody ściśle związanej [Harańczyk i in., 2003b]. Wydaje się, że w badanych próbkach występują dwa efekty, a mianowicie w wyższych temperaturach mamy proces wydzielania cukrów, natomiast w niższych niekooperatywne unieruchamianie molekuł wody.

9.7. Zamarzanie i topnienie wody związanej w plesze *U. aprina*

Wprawdzie zarówno temperatura zamarzania, jak i topnienia zależy od stopnia uwodnienia, jednak dla danego uwodnienia stwierdza się różnice między tymi temperaturami, wynoszącą około 10⁰C. Podobnie jak w przypadku większości innych układów biologicznych zamarzanie zachodzi zawsze w niższej temperaturze.

Uzyskane wartości temperatury zamarzania są o około 10⁰C niższe niż temperatura zamarzania uzyskana przez B. Schroetera i Ch. Scheideggera przy powolnym ochładzaniu plechy *U. aprina*, gdzie nukleacja krystalitów lodu nastąpiła w temperaturze -5.4⁰C [Schroeter, B. i Scheidegger, Ch. 1995]. Tak duża różnica w temperaturze powstawania krystalitów lodu może mieć kilka przyczyn. Być może jest to związane z różnym siedliskiem występowania plechy. Plecha badana w niniejszej pracy pochodzi z cieklu lodowcowego w Oazie Schirmachera (Queen Maud Land), podczas gdy plecha badana przez B. Schroetera i Ch. Scheideggera pochodzi z Botany Bay w rejonie Granite Harbour, z południowej części Victoria Land, również z Antarktyki kontynentalnej. Mogło to być spowodowane zmianami plechy zasiedlającej różne środowisko. Różnica w temperaturze przejścia fazowego może też sugerować, że porost stracił zdolność wymuszonego tworzenia krystalitów lodu lub też wykształcił jeszcze inną strategię obrony przed zimmem.

Podwyższona temperatura topnienia jest także być może pewną strategią obronną. Powstałe w przestrzeniach pozakomórkowych [Schroeter, B. i Scheidegger, Ch. 1995] krystality lodu występują w plesze do wyższej wartości temperatury (-8⁰C). Przy poprawie warunków klimatycznych (początek lata antarktycznego) porost będzie dysponował już pewną ilością wody, co będzie jego przewagą przy podjęciu aktywności fotosyntetycznej.

Podobny mechanizm był obserwowany u larwy chrząszcza (*Dendroides canadensis*), odpornej na zamarzanie, u której zaobserwowano przechłodzenie wody w temperaturach między -8⁰C i -12⁰C, przy czym temperatura śmiertelna wyniosła około -28⁰C [Horwath, K.L, Duman, J.G., 1984].

Strategia unikania zamarzania jest powszechnie znana u owadów, w komórkach których stwierdzono obecność alkoholi wielowodorotlenowych takich jak: glicerol, sorbitol, mannitol. W zimie stwierdzono również podwyższony poziom cukrów takich jak: trehaloza, glukoza i fruktoza [Duman, 1991; Miller, 1980]. W komórkach zimującego kornika (*Ips acuminatus*) zanotowano obecność glikolu etylenowego [Gehrken, 1984]. Także specjalny rodzaj białka (tzw. *antifreeze protein*, AFP) może obniżać temperaturę zamarzania tkanki, nie wpływając równocześnie na temperaturę topnienia wody i roztworów wodnych, powodując

powstanie w ten sposób termicznej histerezy. Czynniki AFP były zidentyfikowane u ponad 30 gatunków owadów [Block, 1995].

Nie udało się zaobserwować przejścia szklistego w plesze *U. aprina*. Podobnie, powstawanie szkieł molekularnych nie zostało potwierdzone w innych komórkach porostowych. Występuje ono jednakże w innych układach cukier-woda, ziarnach, czy roślinach rezurekcyjnych [Crowe, 2002].

Wydaje się więc, że kompartmenty układu, w których tworzy się faza szklista są zbyt małe, więc jej udział był poniżej zdolności rozdzielczej kalorymetru.

10. Wnioski

1. Kinetyka hydratacji pozwoliła w *U. aprina* wyróżnić trzy frakcje wody związanej, różniące się siłą wiązania do powierzchni plechy. Są to mianowicie (i) frakcja wody najściślej związanej o udziale $A_0^h = 0.054 \pm 0.011$, w jednostkach suchej masy, oraz czasie hydratacji krótszym niż 10 minut; (ii) frakcja wody ściśle związanej o zawartości $A_1^h = 0.051 \pm 0.038$ oraz czasie hydratacji $t_1^h = (4.7 \pm 2.6)$ h, wreszcie (iii) frakcja wody luźno związanej o czasie hydratacji $t_2^h = (27.3 \pm 4.3)$ h oraz masie rosnącej proporcjonalnie do wilgotności względnej fazy gazowej.

Frakcja wody najściślej związanej została wyodrębniona izotermą sorpcyjną $\Delta M/m_0 = 0.054$ jako pula wody nasycająca pierwotne miejsca wiążące do powierzchni plechy.

2. W plesze *U. decussata* zarówno (i) woda najściślej związana, jak i (ii) woda ściśle związana wiążą się z czasem hydratacji krótszym od 10 min. Masa wody nasycającej obie te frakcje wynosi 0.112 ± 0.009 . Frakcja wody najściślej związanej (i) wyróżniona jest izotermą sorpcyjną, jako pula wody nasycająca pierwotne miejsca wiążące $\Delta M/m_0 = 0.059$. Oznacza to znacznie mocniejsze wiązanie z plechą frakcji wody ściśle związanej (ii) w porównaniu do *U. aprina*. Po nasyceniu puli (i) oraz (ii) wody związanej wiąże się (iii) frakcja wody luźno związanej (z czasem hydratacji $t_2^h = (27.3 \pm 4.3)$ h).

3. Zanik swobodnej precesji dla plechy *U. aprina* oraz *U. decussata* pozwala wyodrębnić składową sygnału pochodzącą od plechy porostu, którą można dokładnie opisać funkcją Abrahama dla temperatur powyżej -40°C . Pozwala to oszacować szerokość połówkową linii MRJ jako $\Delta\omega \approx 38\text{kHz}$. Jest to wartość charakterystyczna dla suchych układów

biologicznych, wynikająca z rozkładu lokalnych pól magnetycznych dla grup chemicznych tworzących biomolekuły.

Oprócz składowej pochodzącej od protonów stałych, w zależności od poziomu hydratacji, można wyodrębnić składową pochodzącą od wody ściśle związanej ($T_2^* \approx 80\mu s$) oraz od wody luźno związanej w plesze porostu.

4. Zależność hydratacyjna sumarycznej składowej cieczowej sygnału swobodnej precesji dla protonów plech *U. aprina* oraz *U. decussata* opisana jest funkcją wymierną. Wskazuje to, na obecność w plesze frakcji stałej rozpuszczalnej w wodzie. Udział monitorowanej frakcji jest tak znaczny, że nie stwierdzono jej całkowitego rozpuszczenia, aż do poziomu hydratacji plechy równego $\Delta m/m_0 = 0.5$ (*U. aprina*) oraz $\Delta m/m_0 = 0.35$ (*U. decussata*). Frakcję tą można powiązać z węglowodanami plechy porostu.

5. Izoterma sorpcyjna zastosowana do zależności hydratacyjnych zaników swobodnej precesji dla protonów plechy *U. aprina* i *U. decussata* nie pokazała obecności frakcji wody luźno związanej (wody swobodnej), zapułpkowanej w porach drastycznie odwodnionej plechy. W odróżnieniu od liofilizowanych błon fotosyntetycznych, struktury błonalne plechy badanych porostów nie tworzą izolowanych kawern w których pułpkowana jest woda.

6. Wraz z obniżaniem temperatury obserwuje się w plesze *U. aprina* przemianę frakcji wody luźno związanej (zamarzającej) we frakcję wody ściśle związanej (niezamarzającej). Badany porost utracił zdolność do stymulowanego zamarzania wody związanej w przestrzeniach pozakomórkowych i zaobserwowana przemiana chroniła go przed śmiertelnym zamarzaniem wody związanej w przestrzeniach wewnątrzkomórkowych plechy. Zjawisko to zostało po raz pierwszy zaobserwowane w porostach o plesze listkowatej, a dotychczas było obserwowane wyłącznie w porostach o plesze krzaczkowatej.

7. Temperatura zamarzania oraz temperatura topnienia wody związanej w plesze porostu obniża się wraz ze spadkiem poziomu uwodnienia plechy. Oznacza to, że za zamarzanie wody odpowiada tu proces nukleacji heterogennej. Temperatura zamarzania wody związanej jest o około 10^0C niższa od temperatury topnienia.

8. Wielokrotny proces zamarzania i rozmarzania wody związanej w plesze porostu (*freeze-thawing*) pokazuje zmiany zachodzące do cyklu nr 5, a dla następnych cykli odpowiedź plechy (różnica pomiędzy temperaturą krzepnięcia i temperaturą topnienia) pozostaje stała, świadcząc o przystosowaniu się organizmu do długiej serii zmian pogodowych.

9. Wszystkie raportowane zjawiska zostały wykryte w poroście, *in vivo*, przy żywotności komórek fotobiontu przekraczającej $(66 \pm 5)\%$.

LITERATURA

1. ABRAGAM, A., The principles of nuclear magnetism. Oxford, Clarendon Press (1961).
2. BARGAGLI, R., SANCHEZ-HERNANDEZ, J.C., MONACI, F.1999. Baseline concentrations of elements in the Antarctic macrolichen *Umbilicaria decussata*. *Chemosphere*, Vol. **38**, No. 3, pp. 475-487.
3. BERTIE, J.E., CALVERT, L.D., WHALLEY, E. 1963. Transformations of Ice II, Ice III, and Ice V at Atmospheric Pressure. *Journal of Chemical Physics*, **38**, 840-847.
4. BERTIE, J.E., CALVERT, L.D., WHALLEY, E. 1964. Transformations of ice VI and ice VII at atmospheric pressure. *Canadian Journal of Chemistry*, **42**, 1373-8.
5. BLACKMAN, M., LISGARTEN, N.D. 1958. Electron diffraction investigations into the cubic and other structural forms of ice. *Advances in Physics*, **7**, 189-198.
6. LE BLANC, F., D. N., Rao. 1972. Effects of Sulphur Dioxide on Lichen and Moss Transplants. *Ecology* **54**, 612-617
7. BLICHARSKI, J.S. 1972. Efekty interferencyjne w magnetycznym rezonansie jądrowym. IFJ, Raport Nr 792/PL, Kraków.
8. BLICHARSKI J.S., JASIŃSKI, G. 1992. Nuclear spin relaxation in periodically perturbed systems. III The relaxation in presence of double rotation. *Acta Physica Polonica*, A82(6), 993-997.
9. BLICHARSKI, J.S., JASIŃSKI, G., KLOSE, G. 1994. Nuclear pin relaxation In periodically perturbed systems iv. The relaxation in the presence of double rotation and pulse sequence. *Acta Physica Polonica*, A86, 1001-1005.
10. BLICHARSKI, J.S., WOLAK, A. 1992. Nuclear spin relaxation In periodically perturbed systems. II Like and unlike spins. *Acta Physica Polonica*, **A82**(3), 511-515.
11. BLOCK, W., HONG-CHANG, L., WORLAND, R. 1995. *CryoLetters*, **16**, 73.
12. BRAGG, W.H. 1922. The crystal structure of ice. *Proceedings of the Physical Society of London*, **34**, 98-103.
13. BRIDGMAN, P.W. 1935. The Pressure-Volume-Temperature relations of the Liquid, and the Phase Diagram of Heavy Water. *Journal of Chemical Physics*, **3**, 597-605.

14. BRIDGMAN, P.W. 1937. The phase Diagram of Water to 45000 kg/cm². *Journal of Chemical Physics*, **5**, 964-966.
15. BRILL, R. 1962. The structure of ice. *Angewandte Chemie International Edition*, **1**, 563-567.
16. BRUNAUER, S., EMMETT, P.H., TELLER, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. *Journal of the American Chemical Society*, **60**, 309-319.
17. BURKE, M.J., GUSTA, L.V., QUAMME, H.A., WEISER, C.J., LI, P.H. 1976. Freezing and injury in plants. *Annual Review of Plant Physiology*, **27**, 507-528.
18. BYSTREK, J. 1997. Podstawy lichenologii, Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej. Lublin.
19. CHEN, S.-H., TEIXEIRA, J. 1985. Structure and dynamics of Low Temperature Water Studied by Scattering Techniques. *Advances in Chemical Physics*, **64**, 1-41.
20. COULSON, C.A. 1957. The hydrogen bond – a review of the present position. *Research, London*, **10**, 149.
21. CROWE, L. M. 2002. Lessons from nature: the role of sugars in anhydrobiosis. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **A131**, 505-513.
22. DEL-PRADO R., SANCHO, L.G. 2000. Water relations and photosynthetic performance of fruticose lichens from the semiarid Southeast of Spain. *Flora*, **195**, 51–60.
23. DENT, R.W. 1977. A multilayer theory for gas sorption. Part I: Sorption of a single gas. *Textile Research Journal*, **47**, 145-152.
24. DERBYSHIRE, W., VAN DEN BOSCH, M., VAN DUSSCHOTEN, D., MacNAUGHTAN, W., FARHAT, I. A., HEMMINGA, M. A., MITCHELL, J.R. 2004. Fitting of the beat pattern observed in NMR free-induction decay signals of concentrated carbohydrate-water solutions. *Journal of Magnetic Resonance*, **168**, 278-283.
25. DOWELL, L.G., RINFERT, A.P. 1960. Low temperature forms of ice as studied by X-ray diffraction. *Nature*, **188**: 1144-49.
26. DRIES VAN DEN, I.J., DUSSCHOTEN VAN, D., HEMMINGA, M.A. 1998. Mobility in Maltose-Water Glasses Studied with ¹H NMR. *Journal of Physical Chemistry B*, **102**, 10483-10489.
27. DUMAN, J.G., WU, D. W., XU, L., TURSMAN, D., OLSEN, T. M. 1991. Adaptation of insects to subzero temperature. *The Quarterly Review of Biology*, **66**, 387-410.
28. EDMONDS, A.R. 1957. Angular momentum in Quantum Mechanics. Princeton university Press.
29. EIGEN, M., DE MAEYER, L. 1958. Self-Dissociation and Protonic Charge Transport in Water and Ice. *Proceedings of the Royal Society A* **21**, **247**: 505-533.
30. EISENBERG, D., KAUZMANN, W. 1969. The structure and properties of water. Clarendon Press, Oxford.
31. ERNST, R.R., BODENHAUSEN, G., WOKAUN, A. 1987. Principles of nuclear magnetic resonance in one and two dimensions, Oxford, Clarendon Press.
32. FUKUSHIMA, E., ROEDER, S.B.W. 1981. Experimental pulse NMR. Addison-Wesley Publishing Company Inc., Massachusetts.

33. FUNDUK, N., KYDON, D.W., SCHREINER, L.J., PEEMOELLER, H., MILJKOVIĆ, PINTAR, M. M. 1984. Composition and Relaxation of the Proton Magnetization of Human Enamel and its Contribution to the Tooth NMR Image. *Magnetic Resonance in Medicine*, **1**, 66-75.
34. FUNDUK, N., LAHAJNAR, G., MILJKOVIĆ, L., SKOČAJIĆ, KYDON, D.W., SCHREINER, L.J., PINTAR, M. M. 1986. A Comparative NMR Study of Proton Groups in Dentine of 20 and 50 Years Old Donors. *Zobozdravstveni Vestnik*, **41**, suppl. 1, 139-160.
35. GAFF, D.F. 1977. Desiccation tolerant vascular plants of Southern Africa. *Oecologia* (Berl.), **31**, 95-109.
36. GEHRKEN, U. 1984. Winter survival of an adult bark beetle *Ips acuminatus* Gyll. *Journal of Insect Physiology*, **30**, 421-429.
37. GORDON, M., TAYLOR, J.S. 1952. Ideal copolymers and the second order transitions of synthetic rubbers 1. Non - crystalline copolymers. *Journal of Applied Chemistry* **2**: 493-500.
38. HAMADA, N., OKAZAKI, K., SHINOZAKI, M. 1994. Accumulation of monosaccharides in lichen mycobionts cultured under osmotic conditions. *The Bryologist*, **97**, 176-179.
39. HARAŃCZYK, H. 2003. On water in extremely dry biological systems. Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków, 276 pp.
40. HARAŃCZYK, H. 2009. Strategie przetrwania u organizmów ekstremofilnych. Wykład kierunkowy, Instytut Fizyki, UJ.
41. HARAŃCZYK, H., BACIOR, M., JAMRÓZ, J., JEMIOŁA-RZEMIŃSKA, M., STRZAŁKA, K. 2009a. Rehydration of Digalactosyldiacylglycerol Model Membrane Lyophilizates Observed by NMR and Sorption Isotherm. *Acta Physica Polonica A*, **115**, 521-525.
42. HARAŃCZYK, H., BACIOR, M., JASTRZĘBSKA, P., OLECH, M.A. 2009b. Deep Dehydration of Antarctic Lichen *Leptogium puberulum* Hue Observed by NMR and Sorption Isotherm. *Acta Physica Polonica A*, **115**, 516-520.
43. HARAŃCZYK, H., BACIOR, M., OLECH, M.A. 2008. Deep dehydration of *Umbilicaria aprina halli* observed by proton NMR and sorption isotherm. *Antarctic Science* **20**(6), 527-535 (2008).
44. HARAŃCZYK, H., GAŹDZIŃSKI, S., OLECH, M.A. 1998. The initial stages of lichen hydration as observed by proton magnetic relaxation. *New Phytologist*, **138**, 191-202.
45. HARAŃCZYK, H., GAŹDZIŃSKI, S., OLECH, M.A. 2000a. Freezing protection mechanism in *Cladonia mitis* as observed by proton magnetic relaxation. *New Aspects in Cryptogamic Research, Contribution in Honour of Ludger Kappen. Bibliotheca Lichenologica*, **75**, 265-274.
46. HARAŃCZYK, H., GAŹDZIŃSKI, S., OLECH, M.A. 2000b. Low temperature effect on the thallus of *Cladonia mitis* as observed by proton spin-lattice relaxation. *Molecular Physics Reports*, **29**, 135-138.
47. HARAŃCZYK, H., GRANDJEAN, M., OLECH, M.A. 2003a. Freezing of water bound in lichen thallus as observed by ¹H NMR. I. Freezing of loosely bound water in *Cladonia mitis* at different hydration levels. *Colloids & Surfaces, B: Biointerfaces*, **28**, 239-249.

48. H. HARAŃCZYK, J. GRANDJEAN, M. OLECH, M. MICHALIK 2003b. Freezing of water bound in lichen thallus as observed by ^1H NMR. II. Freezing protection mechanisms in a Cosmopolitan lichen *Cladonia mitis* and in Antarctic lichen species at different hydration levels. *Colloids & Surfaces, B: Biointerfaces*, **28**, 251-260.
49. HARAŃCZYK, H., NIZIOŁ, J., FALNIOWSKI, A. 1993. *The proton NMR investigations of water bound in shell of mussel (Mytilus edulis)*. W: Mat. XXVI Ogólnopolskiego Seminarium MRJ, Kraków 1-2 grudnia 1993, IFJ Raport Nr 1658/PL, pp. 179-185.
50. HARAŃCZYK, H., GŁĄB, H., RÓG, T. 1995. Human dentine degradation as observed by nuclear magnetic relaxation. W: *Mat. XXVII Ogólnopolskiego Seminarium MRJ, Kraków 1-2 grudnia 1994*, IFJ Raport Nr 1695/PL, pp. 425-428.
51. HARAŃCZYK, H., LEJA, A., JEMIOŁA-RZEMIŃSKA, M., STRZAŁKA, K. 2009. Maturation Process of Photosynthetic Membranes Observed by Proton Magnetic Relaxation and Sorption Isotherm. *Acta Physica Polonica A*, **115**, 526-532.
52. HARAŃCZYK, H., LEJA, A., STRZAŁKA, K. 2006a. The effect of water accessible paramagnetic ions on subcellular structures formed in developing wheat photosynthetic membranes as observed by NMR and by sorption isotherm. *Acta Physica Polonica*, **A109**, 389-398.
53. HARAŃCZYK, H., PIETRZYK, A., LEJA, A., OLECH, M. 2006b. Bound water structure on the surfaces of *Usnea antarctica* as observed by NMR and sorption isotherm. *Acta Physica Polonica*. **A109**, 411-416.
54. HARAŃCZYK, H., STRZAŁKA, K., JASIŃSKI, G., MOSNA-BOJARSKA, K. 1996. The initial stages of wheat (*Triticum aestivum* L.) seed imbibition as observed by proton nuclear magnetic relaxation. *Colloids and Surfaces* **A115**, 47-54.
55. HARAŃCZYK, H., WĘGLARZ, W.P., SOJKA, S. 1999. The investigation of hydration processes in horse chestnut (*Aesculus Hippocastanu*, L.) and pine (*Pinus silvestri*, L.) bark and bast using proton magnetic relaxation. *Holzforschung*, **53**, 299-310.
56. HARTLEY, I.D., KAMKE, F.A., PEEMOELLER, H. 1994. Absolute moisture content determination of aspen wood below the Fiber Saturation Point using pulsed NMR. *Holzforschung*, **48**, 474-479.
57. HAUSER, K.H., KALBITZER, H.R. 1993. NMR w biologii i medycynie: badania strukturalne, spektroskopia in vivo, Poznań: Wydawnictwo Naukowe UAM.
58. HENNEL J.W., 1966. O procesie magnetycznej relaksacji protonów w niektórych cieczach. Raport, Kraków, IFJ.
59. HENNEL J.W., KLINOWSKI J., 2000. Podstawy magnetycznego rezonansu jądrowego. Wydawnictwo Naukowe UAM.
60. HONJO, G., SHIMAOKA, K. 1957. Determination of hydrogen position in cubic ice by electron diffraction. *Acta crystallographica*, **10**, 710-711.
61. HORWATH, K.L., DUMAN, J.G. 1984. Yearly variations in the overwintering mechanism of the cold hardly beetle *Dendroides Canadensis*. *Physiol. Zool.*, **57**, 40-45.
62. HOVENDEN, M. J. 2000. Seasonal Trends in Nitrogen Status of Antarctic Lichens. *Annals of Botany*, **86**: 717-721.
63. HUBBARD, P. S., 1961. Quantum-mechanical and semiclassical forms of the density operator theory of relaxation. *Review of Modern Physics*, **33**, 249-264.

64. HUISKES, A.H.L., GREMMEN, N.J.M., FRANCKE, J.W. 1997. Morphological effects on the water balance of Antarctic foliose and fruticose lichens. *Antarctic Science*, **9**, 36-42.
65. KAMB, B. 1964. Ice II: A proton ordered form of ice. *Acta crystallographica*, **17**, 1437-1449.
66. KAMB, B. 1965. Structure of ice VI. *Science*, **150**, 205-209.
67. KAMB, B., DATTA, S.K. 1960. Crystal Structures of the High- Pressure Forms of Ice: Ice III. *Nature*, **187**, 140-141.
68. KAMB, A., PRAKASH, A., KNOBLER, C. 1967. Structure of ice V. *Acta crystallographica*, **22**, 706-715.
69. KAPPEN L. 1985. Water relations and net photosynthesis of *Usnea*. A comparison between *Usnea fasciata* (Maritime Antarctic) and *Usnea sulphurea* (Continental Antarctic). In: BROWN, D.H., eds. *Lichen Physiology and Cell Biology*. New York and London: Plenum Press, 41-56.
70. KAPPEN L. 1989. Field measurements of carbon dioxide exchange of the Antarctic lichen *Usnea sphacelata* in the frozen state. *Antarctic Science*, **1**, 31-34.
71. KAPPEN L. 1993. Plant activity under snow and ice, with particular reference to lichens. *Arctic*, **46**, 297-302.
72. L. KAPPEN, M. BÖLTER, A. KÜHN 1986. Field measurements of net photosynthesis of lichens in the Antarctic. *Polar Biology*, **5**, 255-258.
73. KAPPEN, L. & BREUER, M. 1991. Ecological and physiological investigations in continental Antarctic cryptogams. II. Moisture relations and photosynthesis of lichens near Casey Station, Wilkes Land. *Antarctic Science*, **3**, 273-278.
74. KAPPEN, L., BREUER, M., BÖLTER, M. 1991. Ecological an physiological investigations in continental Antarctic cryptogams. 3. Photosynthetic production of *Usnea sphacelata*: diurnal courses, models and the effect of photoinhibition. *Polar Biology* **11**: 393-401.
75. KAPPEN, L., SCHROETER, B., HESTMARK G., WINKLER, J.B. 1996a. Field measurements of photosynthesis of Umbilicarius lichens in winter. *Botanica Acta*, **109**, 292-298.
76. KAPPEN, L., SCHROETER, B., SANCHO, L.G.. 1990. Carbon dioxide exchange of Antarctic crustose lichens in situ measured with a CO₂/H₂O porometer. *Oecologia*, **82**, 311-316.
77. KAPPEN L., SCHRÖTER B., SCHEIDEGGER C., SOMMERKORN M., HESTMARK, G. 1996. Cold resistance and metabolic activity of lichens below 0°C. *Advances in Space Research*, **18**, 119-128.
78. KAPPEN L., SOMMERKORN M., SCHROETER B. 1995. Carbon Acquisition and Water Relations of Lichens in Polar Regions—Potentials and Limitations. *Lichenologist*, **27**, 531-545.
79. KAURIN, A., JUTILLA, O., HANSEN, J. 1981. Seasonal changes in frost hardiness in cloudberry (*Rubus chamaemorus*) in relation to carbohydrate content with special reference to sucrose. *Physiologia Plantarum*, **52**, 310-314.
80. T.L. KIEFT, 1988. Ice nucleation activity in lichens. *Applied and Environmental Microbiology*, **54**, 1678-1681.

81. T.L. KIEFT, V. AHMADJIAN 1989. Biological ice nucleation activity in lichen mycobionts and photobionts. *Lichenologist*, **21**, 355-362.
82. T.L., KIEFT, T. RUSCETTI 1990. Characterization of biological ice nuclei from a lichen. *Journal of Bacteriology*, **172**, 3519-3523.
83. KLUZA, M. 1999. Badanie dynamiki molekularnej i hydratacji celulozy metodami magnetycznego rezonansu jądrowego. Praca doktorska, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
84. KRZEWICKA, B., SMYKLA, J., 2004. The lichen genus *Umbilicaria* from the neighbourhood of Admiralty Bay (King George Island, maritime Antarctic), with a proposed new key to all Antarctic taxa. *Polar Biology*, **28**: 15-25.
85. LANGMUIR, I. 1918. The adsorption of gases on plane surface of glass, mica and platinum. *Journal of American Chemical Society*, **40**, 1361-1403.
86. LATIMER, W.M., RODEBUSH, W.H. 1920. Polarity and Ionization from the Standpoint of the Lewis Theory of Valence. *Journal of the American Chemical Society*, **42**, 1419-1433.
87. LARSON, D.W. 1978. Patterns of lichen photosynthesis and respiration following prolonged frozen storage. *Canadian Journal of Botany*, **56**, 2119-2123.
88. LENINGER, A.L. 1979. Biochemia. PWRiL, Warszawa.
89. LENK, R. 1986. Fluctuations, diffusion and spin relaxation. Elsevier, Amsterdam, 1986.
90. LIPNICKI, L., WÓJCIAK, H., 1995. Porosty, klucz-atlas. WSiP, Warszawa.
91. LIPPINCOTT, E.R. 1955. Derivation of an internuclear potential function from a quantum mechanical model. *Journal of Chemical Physics*, **23**(3), 603.
92. LOBBAN, C., FINNEY, J.L., KUHS, W.F. 1998. The structure of a new phase of ice. *Nature* **391**, 268-270
93. MELICK, D.R. SEPPELT R.D. 1994. The effect of hydration on carbohydrate levels, pigment content and freezing point of *Umbilicaria decussata* at a continental Antarctic locality. *Cryptogramic Botany*, **4**, 212-271.
94. MIKUŁKO, A., 2006. Collective and molecular modes in antiferroelectric phases studied by complementary methods. Praca doktorska, Instytut Fizyki, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
95. MILLER, L.K., WERNER, R. 1980. Supercooling to -600C: an extreme example of freezing avoidance in northern willow gall insects. *Cryobiology*, **17**, 621-622.
96. NASH III, T.H., KAPPEN, L., LOESCH, R., LARSON, D.W., MATTHES-SEARS, U. 1987a. Cold resistance of lichens with Trentepohlia - or Trebouxia- photobionts from the North American West Coast. *Flora*, **179**, 241-251.
97. NASH III, T.H., REINER, A., DEMMIG-ADAMS, B., KILIAN, E., KAISER, W.M., LANGE, O.L. 1990. The effect of atmospheric desiccation and osmotic water stress on photosynthesis and dark respiration of lichens. *New Phytologist*, **116**, 269-276.
98. NOWAK, P. 2009. Mechanizmy odporności na zamarzanie porostu *Cetraria aculeata* badane magnetyczną relaksacją jądrową dla protonów. Praca magisterska, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
99. OWSTON, P.G. 1958. The structure of ice-I, as determined by x-ray and neutron diffraction analysis. *Advances in Physics* **7**, 171-188.

100. PINTAR, M.M. 1991. Some considerations of the round table subject. *Magnetic Resonance Imaging*, **9**, 753-754.
101. PODBIELKOWSKI, Z., REYMENT-GROCHOWSKA, I., SKIRGIEŁŁO A. 1982. Rośliny zarodnikowe. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
102. PUGNAIRE, F., VALLADARES, F., 1999. *Handbook of Functional Plant Ecology*. New York.
103. PUSTELNIAK, L. 1991. Application of the Transplantation Method in Studies on the Influence of the Urban Environment upon the Viability of *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl. Thalli. *Zeszyty Naukowe UJ. Prace Botaniczne*, **22**, 193-201.
104. RAO, C.N.R. 1972. Theory of hydrogen bonding in water. In: *Water, a comprehensive treatise, vol. 1: The physics and physical chemistry of water*. Plenum Press, New York-London, pp. 93-114.
105. REDFIELD, A.G., 1957. On the theory of relaxation processes. *IBM Journal*, **1**, 19-31.
106. H.H. ROBINSON, R.R. SHARP, C.F. YOCUM 1980. Effect of manganese on the nuclear magnetic relaxivity of water protons in chloroplast membranes. *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **93**, 755-761.
107. H.H. ROBINSON, R.R. SHARP, C.F. YOCUM 1981. Topology of NH_2OH -induced Mn (II) release from chloroplast thylakoid membranes. *Biochimica and Biophysica Acta*, **636**, 144-152.
108. ROSE, M.E. 1957. Elementary theory of angular momentum. New York, Wiley.
109. SANCHO, L.G., KAPPEN, L., SCHROETER, B. 1992. The lichen genus *Umbilicaria* on Livingston Island, South Shetland Islands, Antarctica. *Antarctic Science*, **4** (2): 189-196.
110. SCHIPPERGES, B., KAPPEN, L., SENESSON, M. 1995. Intraspecific Variations of Morphology and Physiology of Temperate to Arctic Populations of *Cetraria Nivalis*. *The Lichenologist*, **27**, 517-529.
111. L.G. SANCHO, F. VALLADARES, B. SCHROETER, L. KAPPEN 2000. Ecophysiology of Antarctic versus temperate populations of a bipolar lichen: The key role of the photosynthetic partner. In: *Antarctic Ecosystems: Models for wider ecological understanding*. Davison, W., Howard-Williams, C. Broady, P. (eds.). The Caxton Press, Christchurch, p.190-194.
112. SCHROETER, B., GREEN, T.G.A., KAPPEN, L., SEPPELT, R.D. 1994. Carbon dioxide exchange at subzero temperatures. Field measurements on *Umbilicaria aprina* in Antarctica. *Cryptogramic Botany*, **4**, 233-241.
113. SCHROETER, B., SCHEIDEGGER, CH. 1995. Water relations in lichens at subzero temperatures: structural changes and carbon dioxide exchange in the lichen *Umbilicaria aprina* from continental Antarctica. *New Phytologist*, **131**, 273-285.
114. SLICHTER, A.P. 1990. Principles of Magnetic Resonance. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
115. STARR, F.W., NIELSEN, J.K., STANLEY, H.E. 1999. Fast and slow dynamics of hydrogen bonds in liquid water. *Physical Review Letters*, **82**, 2294-7.
116. STILLINGER, F.H. 1980. Water revisited. *Science* **209**, 451.
117. SURESH, S.J., NAIK, V.M. 2000. Hydrogen bond thermodynamic properties of water from dielectric constant data. *Journal of Chemical Physics*, **113**, 9727-9732.

118. SZWEYKOWSKA, A., SZWEYKOWSKI, J. 2002. Botanika- Systematyka, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
119. TIMUR, A. 1969. Pulsed nuclear magnetic resonance studies of porosity, movable fluid permeability of sandstones. *Journal of Petroleum Technology*, **21**, 775-786.
120. TOBOLEWSKI, Z. 1972. Porosty- klucz do oznaczania najpospolitszych gatunków Krajowych. Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa.
121. VALLADARES, F., SANCHO, L.G., ASCASO, C. 1997. Water storage in the lichen family *Umbilicariaceae*. *Botanica Acta*, **111**: 99-107.
122. WAGNESS, R.K. 1953. The dynamical theory of nuclear induction. *Physics Review*, **89**, 728-739.
123. WALTHER, K.L., WOKAUN, A., BAILER, A. 1990. *Molecular Physics*, 71, 769.
124. WEAST, R.C. 1974-75. Handbook of Chemistry and Physics. CRC Press Inc., 55-ed.
125. WEIR, C., BLOCK, S., PIERMARINI, G. 1965. Single crystal X-ray diffraction at high pressures. *Journal of research of the National Bureau of Standards* **69C**, 275-81.
126. WĘGLARZ, W. 1994. Badanie ciekłych kryształów liotropowych i tkanek roślinnych o niskim stopniu uwodnienia metodami magnetycznego rezonansu jądrowego. Praca doktorska, Instytut Fizyki Jądrowej, Kraków.
127. WĘGLARZ, W., HARAŃCZYK, H. 2000. Two-dimensional analysis of the nuclear relaxation function in the time domain: the program CracSpin. *Journal of Physics D: Applied Physics*, **33**, 1909-1920.
128. WHALLEY, E., DAVIDSON, D.W. 1965, *Journal of Chemical Physics*, **43**, 2148-2149.
129. WIGNER, A.P. 1959. Group theory. New York, Academic Press.
130. WITEK, M. 2006. Badanie magnetycznej relaksacji jądrowej w amorficznych układach biologicznych. Praca doktorska, Uniwersytet Jagielloński, Kraków.
131. WRÓBEL, S., MARZEC, M. 2006. Różnicowa kalorymetria skaningowa (w *Komplementarne metody badań przemian fazowych*, redakcja MIKULI, E., MIGDAŁ-MIKULI, A., Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego).
132. WYDRZYŃSKI, T.J., S.B. MARKS, P.G. SCHMIDT, GOVINDJEE, H.S. GUTOWSKY 1978. Nuclear magnetic relaxation by the manganese in aqueous suspensions of chloroplasts. *Biochemistry*, **17**, 2155-2162.

SPIS RYSUNKÓW

| | |
|---|----|
| Rys. 1.1. Schemat plechy heteromerycznej porostu [Harańczyk, 2003]..... | 11 |
| Rys. 1.2. Główne typy morfologiczne plech porostowych: a) schemat plechy skorupiastej [Tobolewski, 1972]; b) <i>Caloplaca sublobulata</i> (pomarańczowa) i <i>Buellia latemarginata</i> (brązowa), fot. M. Olech; c) schemat plechy listkowatej [Tobolewski, 1972]; d) <i>Umbilicaria antarctica</i> (fot. H. Harańczyk); e) schemat plechy krzaczkowej [Tobolewski, 1972]; e) <i>Usnea aurantiaco-atra</i> (fot. M. Olech)..... | 12 |
| Rys. 2.1. Struktura lodu I. Każda molekula wody jest związana wiązaniem wodorowym do czterech najbliższych sąsiadów. [Rys. H. Harańczyk]..... | 21 |
| Rys. 2.2. Rozmieszczenia atomów tlenu w lodzie I. Cztery molekuly przypadają na jednostkę elementarną, co zostało zaznaczone przerywaną linią. [Owston, 1958]..... | 22 |
| Rys. 2.3 (a) Topologia wiązania wodorowego w lodzie II. Każda linia reprezentuje wiązanie O-H...O, a połączenie czterech linii przedstawia molekulę wody. Długości wiązań wodorowych i kąty nie są przerysowane w takiej skali jak na rys. (b). Na rysunku widoczne jest siedem heksagonalnych kolumn podobnych do tych w lodzie I [Levine, 1966]. (b) Struktura lodu II. Dla tej struktury może zostać wybrana albo romboedryczna albo heksagonalna komórka elementarna. Tutaj narysowano romboedryczną jednostkę elementarną, a widok przedstawiono wzdłuż osi heksagonalnej c. Wysokość atomów tlenu powyżej płaszczyzny heksagonalnej (0001) jest rzędu setnych części osi c ($c=6.25\text{Å}$). Wiązania wodorowe są przedstawione jako linie przerywane [Kamb, 1964]..... | 23 |
| Rys. 2.4. Struktura lodu III oglądana wzdłuż osi c. Atomy tlenu reprezentują sfery, a wiązania O-H...O pręty; atomy wodoru nie są przedstawione. Numery przyległe do atomów tlenu oznaczają ich współrzędne z-owe w setnych częściach długości osi c. Liczby wzdłuż wiązań oznaczają ich długość w Å [Eisenberg i Kauzmann, 1969]..... | 24 |
| Rys. 5.1. Fragment plechy porostu <i>Umbilicaria aprina</i> , pochodzącej ze zbioru prof. dr hab. Marii Olech z cieku lodowcowego, Oaza Schirmachera [Fot. M. Bacior]..... | 47 |
| Rys. 5.2. Fragment plechy porostu <i>Umbilicaria decussata</i> , ze zbioru prof. dr hab. Marii Olech, z nunataku, Oaza Schirmachera [Fot. M. Bacior]..... | 48 |
| Rys. 5.3. Schemat kalorymetru DSC [Wróbel, Marzec, 2006]..... | 51 |

- Rys. 5.4. Schemat blokowy spektrometru WNS HB65. 53
- Rys. 5.5. Kalibracja termopary; a) Zależność napięcia termopary od temperatury, ● = grzanie; ○ = chłodzenie. Do punktów doświadczalnych dla grzania dopasowano krzywą postaci $V=a+b*t+c*t^2$; b) Zależność napięcia termopary od temperatury - zakres w pobliżu 0°C; c) Różnice pomiędzy wartościami napięcia odczytanymi przy grzaniu i chłodzeniu dla konkretnych wartości temperatur; d) Ostateczny wykres kalibracyjny. 55
- Rys. 5.6. Zależności różnicy między wartościami czasów relaksacji (a) oraz amplitudy (b) protonów matrycy stałej sygnału FID wyznaczonej programem CracSpin i OriginPro 7.0 na jednostkę większej wartości w funkcji temperatury dla próbek o różnym uwodnieniu: $\Delta m/m_0 = 0.12$ (○ = chłodzenie), $\Delta m/m_0 = 0.17$ (△ = chłodzenie; ▲ = grzanie), $\Delta m/m_0 = 0.21$ (□ = chłodzenie; ■ = grzanie), $\Delta m/m_0 = 0.33$ (▼ = grzanie; ▽ = chłodzenie). 58
- Rys. 5.7. Zależności różnicy między wartościami czasów relaksacji składowej cieczowej T_{2L1}^* (a) oraz T_{2L1}^* (b) sygnału FID wyznaczonej programem CracSpin i OriginPro 7.0 na jednostkę większej wartości od temperatury dla próbek o różnym uwodnieniu: $\Delta m/m_0 = 0.12$ (○ = chłodzenie), $\Delta m/m_0 = 0.17$ (△ = chłodzenie; ▲ = grzanie), $\Delta m/m_0 = 0.21$ (□ = chłodzenie; ■ = grzanie), $\Delta m/m_0 = 0.33$ (▼ = chłodzenie; ▽ = grzanie). 59
- Rys. 5.8. Zależności różnicy między wartościami składowej cieczowej L_1 (a) oraz L_2 (b) sygnału FID wyznaczonej programem Cracspin i OriginPro 7.0 na jednostkę większej wartości od temperatury. Zależności dla próbek uwodnionych odpowiednio do wartości: a) - $\Delta m/m_0=0.12$ (○ = chłodzenie); b) - $\Delta m/m_0=0.17$ (△ = chłodzenie; ▲ = grzanie); c) - $\Delta m/m_0=0.21$ (□ = chłodzenie; ■ = grzanie); d) - $\Delta m/m_0=0.33$ (▽ = grzanie; ▼ = chłodzenie). 60
- Rys. 6.1. Kinetyka hydratacji z fazy gazowej plechy *Umbilicaria aprina* dla różnych wartości wilgotności względnych p/p_0 , wyrażona jako względny przyrost masy wyrażony na jednostkę suchej masy $\Delta m/m_0$. Wilgotności próbek (p/p_0): ○ = 9%, ● = 32%, □ = 52%, ■ = 76%, △ = 88%, ▲ = 93%, * = 100% [Harańczyk, Bacior, Olech, 2008]. 62
- Rys. 6.2. Kinetyka hydratacji z fazy gazowej plechy *Umbilicaria decussata* dla różnych wartości wilgotności względnych p/p_0 , wyrażona jako względny przyrost masy wyrażony na jednostkę suchej masy $\Delta m/m_0$. Wilgotności próbek (p/p_0): + = 32%, ▽ = 44%; ▼ = 52%, △ = 63%; □ = 76%, ■ = 88%, ▲ = 93%, ○ = 97%; ● = 100%. 63
- Rys. 6.3. Paraboliczna forma izotermy sorpcyjnej Denta i BET (○ = punkty zmierzone, linia ciągła = dofitowany model Denta, linia kropkowana = model BET) [Harańczyk, Bacior, Olech, 2008]. 65
- Rys. 6.4. Paraboliczna forma izotermy sorpcyjnej Denta i BET (○ = dane eksperymentalne, linia ciągła = dofitowany model Denta, linia kropkowana = model BET). 65
- Rys. 6.5. Izoterma sorpcyjna dla plechy *Umbilicaria aprina*. Wartości $h(=p/p_0)$ oznaczają wilgotność względną, a wartości względnego przyrostu masy, $\Delta m/m_0$ są wartościami nasyceniowymi C^h wyznaczonymi z kinetyki hydratacji (równanie 6.1.a i b); ○ = punkty zmierzone, linia ciągła = dopasowany model Denta. 67
- Rys. 6.6. Izoterma sorpcyjna dla plechy *Umbilicaria decussata*. Wartości $h(=p/p_0)$ oznaczają wilgotność względną, a wartości względnego przyrostu masy, $\Delta m/m_0$ są wartościami nasyceniowymi C^h wyznaczonymi z kinetyki hydratacji (równanie 6.1.c); ○ = punkty zmierzone, linia ciągła = dopasowany model Denta. 67
- Rys. 6.7. Sygnał zaniku swobodnej precesji dla protonów plechy *U. aprina* (a,b) zarejestrowany przy częstotliwości 30 MHz; długość impulsu $\pi/2 = 1.4 \mu s$. Względny przyrost masy próbki wyniósł $\Delta m/m_0 = 0.097$; sygnał FID dla plechy *U. decussata* (c,d) zarejestrowany przy częstotliwości 30 MHz; długość impulsu $\pi/2 = 1.5 \mu s$. Względny przyrost masy próbki wyniósł $\Delta m/m_0 = 0.184$. Linia stała reprezentuje dopasowanie metodą

- najmniejszych kwadratów zgodnie z zależnością 6.2.a do danych doświadczalnych ($Amp1=S$, $Amp2=L1$, oraz $Amp3=L2$); (b) Funkcja rezydualna *U. aprina* sygnału FID nie przekracza 4.23%; (d) Funkcja rezydualna *U. decussata* nie przekracza 3.41%.....69
- Rys. 6.8. Przykładowy sygnał zaniku swobodnej precesji dla próbki porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.114$ (a,b) i *U. decussata* (c,d) uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.184$. Pomiar wykonano w temperaturze pokojowej, przedstawiono wycinek czasu do $100\mu s$ dla lepszej wizualizacji. Linia ciągła (Rys. a,c) reprezentuje fit równania (6.2.b); linia ciągła (Rys. b,d) reprezentuje fit równania (6.2.c).....71
- Rys.6.9. Zależność hydratacyjna parametru *a* dla plechy *U. aprina* (a) oraz dla plechy *U. decussata* (b); \circ = superpozycja funkcji Abragama i dwóch eksponent; \bullet = superpozycja funkcji Gaussa, funkcji Abragama i dwóch eksponent.....73
- Rys. 6.10. Iloraz amplitudy składowej funkcji Abragama przez sumę amplitud funkcji Gaussa i Abragama dla modelu (6.2.c); \blacksquare = wyniki dla plechy *U. aprina*, \triangle = wyniki dla *U. decussata*.....73
- Rys. 6.11. Zależność hydratacyjna czasów relaksacji sygnału FID dla protonów plechy; (a) *U. aprina*, [Harańczyk, Bacior, Olech, 2008] (b) *U. decussata*, dane uzyskane programem Cracspin; \bullet = składowa stała sygnału (funkcja Gaussa, *S*); \triangle = frakcja ściśle związanej wody, L_1 ; \square = frakcja luźno związanej wody, L_2 75
- Rys. 6.12. Całkowity sygnał cieczowy wyrażony w jednostkach ciała stałego w funkcji uwodnienia; \circ = dane doświadczalne dla superpozycji funkcji Gaussa oraz dwóch eksponent; (a) wyniki dla *U. aprina* (do punktów doświadczalnych dopasowano funkcję postaci (6.3)); (b) wyniki dla *U. decussata* (dopasowana funkcja jest postaci (6.4)).....77
- Rys. 6.13. Sygnał cieczowy składowej L_2/S wyrażony na jednostkę sygnału stałego w funkcji uwodnienia. Wykres (a): zależność dla *U. aprina*, Do punktów doświadczalnych dopasowano funkcję (6.5); wykres (b) zależność dla *U. decussata*, do punktów doświadczalnych dopasowano zależność (6.6).....78
- Rys. 6.14. Izoterma sorpcyjna, model Denta, dla danych relaksacyjnych, linia ciągła – model Denta z jednym współczynnikiem *k* (równanie 6.7); linia kropkowana – model Denta z dwoma współczynnikami *k* (równanie 6.8). Wykres (a) przedstawia wyniki dla plechy *U. aprina*, wykres (b) wyniki dla *U. decussata*.....80
- Rys. 6.15. Składowa cieczowa L_1/S w funkcji wilgotności względnej p/p_0 ; (a) wyniki dla plechy *U. aprina* [Harańczyk, Bacior, Olech, 2008] oraz dla plechy *U. decussata* (b).....81
- Rys.7.1. Zależność temperaturowa parametru *a* dla funkcji Abragama dopasowanej do składowej stałej sygnału, \circ - model z dwiema eksponentami (chłodzenie), \square - model z dwiema eksponentami (grzanie), \triangle - model z jedną eksponentą (chłodzenie) ; (a) $\Delta m/m_0 = 0.12$ dla składowej cieczowej przybliżonej dwiema eksponentami w zakresie temperatur między $25^{\circ}C$ a $-43^{\circ}C$ oraz jedną eksponentą dla niższych temperatur; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$, składowa cieczowa przybliżona była dwiema eksponentami w temperaturach od $25^{\circ}C$ do $-47^{\circ}C$ oraz jedną eksponentą w niższych temperaturach, (c) $\Delta m/m_0 = 0.21$ dla składowej cieczowej przybliżonej dwiema eksponentami między $25^{\circ}C$ a $-57^{\circ}C$ oraz jedną eksponentą dla $-61^{\circ}C$; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$, składowa cieczowa przybliżona była dwiema eksponentami w zakresie temperatur między $25^{\circ}C$ a $-43^{\circ}C$ oraz jedną eksponentą dla niższych temperatur.87
- Rys. 7.2. Zależności czasów relaksacji składowej stałej i dwóch składowych cieczowych od temperatury, \bullet - składowa stała, model z dwiema eksponentami, chłodzenie, \blacksquare - składowa stała, model z jedną eksponentą, chłodzenie, \blacktriangledown - składowa stała, model z dwiema eksponentami, grzanie, \blacktriangle - składowa stała, model z jedną eksponentą, grzanie, \triangle - składowa L_1 , chłodzenie, \circ - uśredniona składowa cieczowa (L_1), chłodzenie, ∇ - składowa cieczowa L_1 , grzanie, $+$ - uśredniona składowa cieczowa (L_1), grzanie ; \square - składowa L_2 , chłodzenie, \diamond - składowa L_2 , grzanie; (a) $\Delta m/m_0 = 0.125$, składowa cieczowa przybliżona była dwoma

eksponentami od 25⁰C do -43⁰C oraz jedną eksponentą w temperaturach od -31⁰C do -52⁰C; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$, składowa cieczowa przybliżona dwoma eksponentami w temperaturach od 25⁰C do -47⁰C oraz jedną eksponentą w zakresie między -31⁰C a -61⁰C; (c) $\Delta m/m_0 = 0.21$; składowa cieczowa przybliżona dwoma eksponentami od 25⁰C do -47⁰C oraz jedną eksponentą od -31⁰C do -61⁰C; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$, składowa cieczowa przybliżona eksponentą między 25⁰C a -11⁰C; dwoma eksponentami między -16⁰C a -43⁰C oraz jedną eksponentą między -31⁰C a -61⁰C.....90

Rys. 7.3. Całkowity sygnał cieczowy *U. aprina* wyrażony w jednostkach ciała stałego w funkcji temperatury, ○ - składowa cieczowa, chłodzenie, □ - składowa cieczowa, grzanie, Δ - uśredniona składowa cieczowa (L_1), chłodzenie; (a) $\Delta m/m_0 = 0.12$; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$; (c) $\Delta m/m_0 = 0.21$; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$ 92

Rys. 7.4. Amplituda składowej cieczowej L_1 wyrażona w jednostkach amplitudy składowej stałej *S* w funkcji temperatury, Δ - składowa L_1 , chłodzenie, ○ - składowa L_1 , grzanie, □ - uśredniona składowa cieczowa, (L_1), chłodzenie; (a) $\Delta m/m_0 = 0.12$, składowa cieczowa przybliżona była dwiema eksponentami od 25⁰C do -43⁰C oraz jedną eksponentą od -31⁰C do -52⁰C; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$, składowa cieczowa opisana była dwiema eksponentami od 25⁰C do -47⁰C oraz jedną eksponentą od -31⁰C do -61⁰C; (c) $\Delta m/m_0 = 0.21$, składowa cieczowa przybliżona była dwiema eksponentami między 25⁰C a -57⁰C oraz jedną eksponentą dla między -31⁰C a -61⁰C; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$, składowa cieczowa była opisana dwiema eksponentami między 25⁰C a -43⁰C oraz jedną eksponentą między -31⁰C a -61⁰C..... 93

Rys. 7.5. Amplituda składowej cieczowej L_2 wyrażona w jednostkach składowej stałej *S* w funkcji uwodnienia, □ - składowa L_2 , chłodzenie, Δ - składowa L_2 , grzanie; (a) $\Delta m/m_0 = 0.12$; (b) $\Delta m/m_0 = 0.17$; (c) $\Delta m/m_0 = 0.21$; (d) $\Delta m/m_0 = 0.33$94

Rys. 7.6. Zależności amplitud poszczególnych składowych cieczowych wyrażonych w jednostkach amplitudy sumarycznej frakcji cieczowej od temperatury; Δ - składowa L_2 w jednostkach całkowitego sygnału cieczowego, $L_2/(L_1+L_2)$, dla chłodzenia; □ = $L_1/(L_1+L_2)$, chłodzenie; ▽ = $L_2/(L_1+L_2)$, grzanie; ○ - składowa L_1 w jednostkach całkowitego sygnału cieczowego, $L_1/(L_1+L_2)$, grzanie; (a) $\Delta m/m_0=0.125$; (b) $\Delta m/m_0=0.17$; (c) $\Delta m/m_0=0.21$; (d) $\Delta m/m_0=0.33$ 97

Rys. 8.1. Zamarzanie i topnienie wody związanej w pleśze porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0=0.795$. Ciągła linia czarna – chłodzenie, linia czerwona – grzanie. Szybkości grzania i chłodzenia wyniosły 20⁰C/min.....100

Rys. 8.2. Zamarzanie i topnienie wody związanej w pleśze porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0=0.815$. Szybkości grzania i chłodzenia wyniosły 0.1⁰C/min.....100

Rys. 8.3. Zamarzanie i topnienie wody związanej w pleśze porostu *U. aprina*, czarna linia ciągła – chłodzenie, czerwona – ponowne ogrzewanie; uwodnienie plech i szybkości grzania (chłodzenia) wyniosły odpowiednio: (a) $\Delta m/m_0 = 0.087$, 20⁰C/min; (b) $\Delta m/m_0 = 0.096$, 20⁰C/min ; (c) $\Delta m/m_0 = 0.137$, 20⁰C/min (d) $\Delta m/m_0 = 0.229$, 20⁰C/min; (e) $\Delta m/m_0 = 0.26$, 20⁰C/min; (f) $\Delta m/m_0 = 0.305$, 10⁰C/min; (g) $m/m_0 = 0.324$, 7⁰C/min; (h) $\Delta m/m_0 = 0.473$, 15⁰C/min, (i) $\Delta m/m_0 = 0.579$, 20⁰C/min; (j) $\Delta m/m_0 = 0.617$, 20⁰C/min; (k) $\Delta m/m_0 = 0.795$, 20⁰C/min. 102

Rys. 8.4. Zależność temperatury przejścia fazowego w funkcji uwodnienia próbki; □ = wartości temperatur przejścia fazowego dla pierwszego cyklu pomiarowego (grzanie), ○ = wartości temperatur, będących średnią arytmetyczną odpowiednio dla trzech i dwóch cykli pomiarowych (grzanie); Δ = wartości temperatur przejścia fazowego dla pierwszego cyklu

- pomiarowego (chłodzenie), ∇ = wartości temperatur, będących średnią arytmetyczną odpowiednio dla trzech i dwóch cykli pomiarowych (chłodzenie)..... 103
- Rys. 8.5. Zmiany entalpii przejścia fazowego w funkcji uwodnienia próbki; (a) chłodzenie, \square = zmiany entalpii dla pierwszego cyklu pomiarowego, \circ = zmiany entalpii, będące średnią arytmetyczną dla próbki, w której mierzono więcej cykli zamrażania i topnienia, odpowiednio dla trzech i dwóch cykli pomiarowych; (b) grzanie, Δ = zmiany entalpii dla pierwszego cyklu pomiarowego, ∇ = zmiany entalpii, będące średnią arytmetyczną odpowiednio dla trzech i dwóch cykli pomiarowych..... 104
- Rys. 8.6. Zamrażanie i topnienie wody związanej w plesze porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0=0.744$. Szybkości grzania i chłodzenia wyniosły $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 106
- Rys. 8.7. Pomiar wielokrotny próbki uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0 = 0.744$. Zależność temperatury przejścia fazowego w funkcji numeru cyklu, \circ - grzanie; Δ - chłodzenie..... 106
- Rys. 8.8. Różnica temperatur przejścia fazowego dla grzania i chłodzenia dla danego cyklu.....108
- Rys. 8.9. Zależność zmiany entalpii przejścia fazowego w funkcji numeru cyklu. Pomiar wielokrotny próbki uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0=0.744$, \square - grzanie, Δ - chłodzenie.....107
- Rys. 8.10. Zamrażanie i topnienie wody związanej w plesze porostu *U. aprina* uwodnionej do wartości $\Delta m/m_0=0.047$. Szybkości grzania i chłodzenia wyniosły $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$, linia czerwona – chłodzenie, linia czarna – grzanie.....108

SPIS TABEL

| | |
|--|----|
| Tabela 5-1. Wartości wilgotności względnych atmosfery nad powierzchnią kwasu fosforowego, przesyconych roztworów soli oraz nad wodą..... | 50 |
| Tab. 6-1. Porównanie parametrów kinetyki hydratacji dla badanych gatunków porostów..... | 63 |
| Tab. 6-2. Porównanie parametrów izotermi sorpcyjnej dla badanych gatunków porostów... | 66 |