

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ
ÚSTAV RADIOELEKTRONIKY

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF RADIO ELECTRONICS

MĚŘENÍ RELAXACÍ VYBRANÝCH VZORKŮ POMOCÍ
TECHNIKY NMR

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

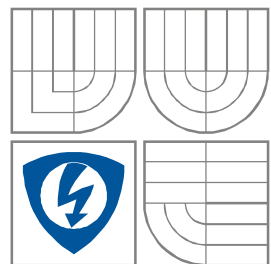
TOMÁŠ KOVALČÍK

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A
KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLOGIÍ
ÚSTAV TEORETICKÉ A EXPERIMENTÁLNÍ
ELEKTROTECHNIKY

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND
COMMUNICATION

DEPARTMENT OF THEORETICAL AND EXPERIMENTAL
ELECTRICAL ENGINEERING

MĚŘENÍ RELAXACÍ VYBRANÝCH VZORKŮ POMOCÍ TECHNIKY NMR

MEASUREMENT OF SELECTED SAMPLES RELAXATIONS BY USE OF
NMR

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S PROJECT

AUTOR PRÁCE TOMÁŠ KOVALČÍK
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc.
SUPERVISOR

BRNO, 2008

LICENČNÍ SMLOUVA POSKYTOVANÁ K VÝKONU PRÁVA UŽÍT ŠKOLNÍ DÍLO

uzavřená mezi smluvními stranami:

1. Pan/paní

Jméno a příjmení: Tomáš Kovalčík
Bytem: Tajovského 2609/21 Poprad, Slovensko
Narozen/a (datum a místo): 26. srpna 1985 v Poprade

(dále jen „autor“)

a

2. Vysoké učení technické v Brně

Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií
se sídlem Údolní 53, Brno, 602 00
jejímž jménem jedná na základě písemného pověření děkanem fakulty:
prof. Dr. Ing. Zbyněk Raida, předseda rady oboru Elektronika a sdělovací technika
(dále jen „nabyvatel“)

Čl. 1

Specifikace školního díla

1. Předmětem této smlouvy je vysokoškolská kvalifikační práce (VŠKP):

- disertační práce
 - diplomová práce
 - bakalářská práce
 - jiná práce, jejíž druh je specifikován jako
- (dále jen VŠKP nebo dílo)

Název VŠKP: Měření difúzních koeficientů technikami magnetické resonance

Vedoucí/ školitel VŠKP: prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc.

Ústav: Ústav teoretické a experimentální elektrotechniky

Datum obhajoby VŠKP: _____

VŠKP odevzdal autor nabyvateli*:

- v tištěné formě – počet exemplářů: 2
- v elektronické formě – počet exemplářů: 2

2. Autor prohlašuje, že vytvořil samostatnou vlastní tvůrčí činností dílo shora popsané a specifikované. Autor dále prohlašuje, že při zpracovávání díla se sám nedostal do rozporu s autorským zákonem a předpisy souvisejícími a že je dílo dílem původním.

3. Dílo je chráněno jako dílo dle autorského zákona v platném znění.

4. Autor potvrzuje, že listinná a elektronická verze díla je identická.

* hodící se zaškrtněte

Článek 2

Udělení licenčního oprávnění

1. Autor touto smlouvou poskytuje nabyvateli oprávnění (licenci) k výkonu práva uvedené dílo nevýdělečně užít, archivovat a zpřístupnit ke studijním, výukovým a výzkumným účelům včetně pořizování výpisů, opisů a rozmnoženin.
2. Licence je poskytována celosvětově, pro celou dobu trvání autorských a majetkových práv k dílu.
3. Autor souhlasí se zveřejněním díla v databázi přístupné v mezinárodní síti
 - ihned po uzavření této smlouvy
 - 1 rok po uzavření této smlouvy
 - 3 roky po uzavření této smlouvy
 - 5 let po uzavření této smlouvy
 - 10let po uzavření této smlouvy(z důvodu utajení v něm obsažených informací)
4. Nevýdělečné zveřejňování díla nabyvatelem v souladu s ustanovením § 47b zákona č. 111/ 1998 Sb., v platném znění, nevyžaduje licenci a nabyvatel je k němu povinen a oprávněn ze zákona.

Článek 3

Závěrečná ustanovení

1. Smlouva je sepsána ve třech vyhotoveních s platností originálu, přičemž po jednom vyhotovení obdrží autor a nabyvatel, další vyhotovení je vloženo do VŠKP.
2. Vztahy mezi smluvními stranami vzniklé a neupravené touto smlouvou se řídí autorským zákonem, občanským zákoníkem, vysokoškolským zákonem, zákonem o archivnictví, v platném znění a popř. dalšími právními předpisy.
3. Licenční smlouva byla uzavřena na základě svobodné a pravé vůle smluvních stran, s plným porozuměním jejímu textu i důsledkům, nikoliv v tísní a za nápadně nevýhodných podmínek.
4. Licenční smlouva nabývá platnosti a účinnosti dnem jejího podpisu oběma smluvními stranami.

V Brně dne: 6. června 2008

.....
Nabyvatel

.....
Autor

Abstrakt

Práce se zabývá nukleární magnetickou rezonancí a principy měření relaxačních a difúzních konstant. Magnetická rezonance je jev, kdy se látce v magnetickém poli o indukci B_0 dodá energie v podobě RF impulzu s Larmorovou frekvencí a tím se částice vybudí do vyšších energetických hladin.

Pro měření relaxačního času T_2 stačí změřit FID po 90° RF impulzu a ze spektrální čáry získáme T_2^* . Dále můžeme pro měření příčného relaxačního času použít metodu Spin echo, která využívá 90° RF impulz a sled 180° RF impulzů. Z naměřených hodnot získáme přímo relaxační čas T_2 (nehomogenity se vyruší).

Pro měření podélného relaxačního času T_1 jsou v práci popsány klasické metody: Saturation recovery využívající 90° RF impulzy a Inversion recovery využívající opakovaný sled RF impulzů ($180^\circ - \tau - 90^\circ$). Dále jsou pro měření T_1 uvedeny metody využívající sledu RF impulzů s různě velkými sklápěcími úhly. Tyto metody byly původně vyvinuty pro měření relaxačních časů polarizovaných plynů.

Klíčová slova: Magnetická rezonance; Relaxační čas; Difúze; RF impulz; NMR.

Abstract

The work deals with nuclear magnetic resonance and principles of relaxation measurement and diffusion constants. Magnetic resonance is phenomenon, when energy in the form of RF pulse with Larmor frequency is added to this material in the magnetic field B_0 , the elements will be excited to a higher energy level.

When you measure FID up to 90° RF pulse, from the absorption line, you will acquire T_2^* . Further we can, for measurement of the transverse relaxation time T_2 , use the Spin echo method, that makes use of the 90° RF pulse and the series of 180° RF pulses. From measured values, the T_2 relaxation time is directly acquired (inhomogeneity will prevent existence).

Keywords: Magnetic resonance; Relaxation time; Diffusion; RF pulse; NMR.

KOVALČÍK, T. *Měření relaxací vybraných vzorků pomocí techniky NMR*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2008. XY s. Vedoucí bakalářské práce prof. Ing. Karel Bartušek, DrSc.

Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma Měření relaxací vybraných vzorků pomocí techniky NMR jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení § 152 trestního zákona č. 140/1961 Sb.

V Brně dne 6. června 2008

.....
podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu diplomové práce prof. Ing. Karlu Bartuškoví, DrSc. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé bakalářské práce.

V Brně dne 6. června 2008

.....
podpis autora

Obsah

Přehled použitých symbolů a zkratk	- 7 -
Úvod	- 9 -
1 Základní pojmy	- 10 -
2 Relaxační mechanizmy	- 11 -
2.1 Spin – mřížková interakce.....	- 11 -
2.2 Spin – spinová interakce	- 12 -
2.2.1 Spinové echo	- 13 -
3 Základní měřicí techniky NMR	- 15 -
3.1 Měření relaxačního času T_1	- 15 -
3.1.1 Metoda spin - locking.....	- 15 -
3.1.2 IR metoda buzení (Inversion Recovery pulse sequence)	- 16 -
3.1.3 SR/STE metoda buzení (Saturation Recovery pulse sequence).....	- 17 -
3.2 Měření relaxačního času T_2	- 18 -
3.2.1 Základní metoda.....	- 18 -
3.2.2 SE metoda buzení (Spin Echo pulse sequence)	- 19 -
3.2.3 Gradientní metoda buzení – GE (Gradient Echo pulse sequence).....	- 20 -
4 Praktická část	- 22 -
4.1 Charakteristika vybraných vzorků	- 22 -
4.2 Složení kultivačního média.	- 23 -
4.3 Měřicí přístroj.....	- 25 -
4.4 Metodika MRI měření tkáňových kultur.....	- 26 -
4.4.1 Měření relaxačního času T_2	- 27 -
4.4.2 Úprava a vyhodnocování naměřených dat	- 27 -
4.4.3 Vstupní parametry měření.....	- 29 -
4.4.4 Tabulky naměřených a vypočtených hodnod.....	- 29 -
4.4.5 Porovnání relaxačních časů T_2 v grafech	- 37 -
5 Závěr	- 41 -
Literatura	- 42 -
Přílohy	- 43 -

Seznam obrázků

Obr. 2. 1 Relaxace T_1 – doba, kdy vychýlené jádro v transverzální rovině (x,y) se vrací postupně do osy z (Převzato z [2])	- 11 -
Obr. 2. 2 Příklad relaxační křivky T_1 (Převzato z [2]).....	- 12 -
Obr. 2. 3 Příklad relaxační křivky T_2	- 13 -
Obr. 2. 4 Pulzní sekvence	- 14 -
Obr. 3. 5 Vektorová analýza vzniku spinového echa (Převzato z [1]).....	- 14 -
Obr. 3. 1 Metoda spin – locking a) chování jader v magnetickém poli po aplikaci RF impulzu B_1 , b) průběh sekvence.....	- 15 -
Obr. 3. 2 IR metoda buzení a) chování jader v magnetickém poli po aplikaci pulsů, b) průběh pulzní sekvence c) výslední průběh IR metody po aplikaci několik měření s dobou T_1 mezi 180° a 90° pulsem.....	- 17 -
Obr. 3. 3 SR sekvence a) chování jader v magnetickém poli po aplikaci pulsů, b) pulzní sekvence, kde n – je počet opakování n – počet opakování, pro zrušení transverzální složky magnetizace	- 18 -
Obr. 3. 4 Určení T_2^* ze spektrální čáry	- 19 -
Obr. 3. 5 SE metoda buzení a) chování jader v magnetickém poli po aplikaci pulsů, b) průběh pulzní sekvence c) výslední průběh SE metody po aplikaci několik měření s dobou τ_i mezi 90° a 180° impulzem	- 20 -
Obr. 3. 6 GE metoda buzení (Převzato z [2]).....	- 21 -
Obr. 4. 1 Shluk RSE smrku	- 22 -
Obr. 4. 2 RSE pod světelným mikroskopem.....	- 22 -
Obr. 4. 3 RSE pod fluorescentním mikroskopem.....	- 22 -
Obr. 4. 4 Obrázek RSE a vody při měření T_2 . a) substrát o koncentraci $1000 \mu\text{M Pb}$. b) substrát o koncentraci $50 \mu\text{M Pb}$. c1)c2)c3) vzorek RSE kultivován na substrátu a). d1)d2)d3) vzorek RSE kultivován na substrátu b). e) voda	- 23 -
Obr. 4. 5 Fotografie MR tomografu ($B_0 = 4,7 \text{ T}$).....	- 25 -
Obr. 4. 6 Schéma NMR přístroje.....	- 25 -
Obr. 4. 7 Zjednodušený řez supravodivým magnetem, (Převzato z [6]).....	- 26 -
Obr. 4. 8 Označení homogenních oblastí RSE, substrátu a vody. Pro samotné měření použijeme funkci Calculate and display ROI statistics, výsledek obr. 4.9.	- 28 -
Obr. 4. 9 Měření dat pomocí funkce Calculate and display ROI statistics.	- 28 -
Obr. 4. 10 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 s koncentrací 0 v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu vody.	- 37 -
Obr. 4. 11 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 zinku v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu vody.	- 38 -
Obr. 4. 12 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 olova v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu vody.....	- 38 -
Obr. 4. 13 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 s koncentrací 0 v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu substrátu.....	- 39 -
Obr. 4. 14 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 zinku v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu substrátu.	- 39 -
Obr. 4. 15 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 olova v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu substrátu.	- 40 -

Seznam tabulek

Tab 1. 0 a 250 Zn.....	- 30 -
Tab 2. 0 a 500 Zn.....	- 31 -
Tab 3. 1000 Pb a 50 Pb.....	- 32 -
Tab 4. 1000 Zn a 250 Pb.....	- 33 -
Tab 5. 500 Pb a 50 Zn.....	- 34 -

Přehled použitých symbolů a zkratk

B_0 – statické magnetické pole

B_1 – vysokofrekvenční magnetické pole

^{13}C – uhlík (carboneum)

E – energie

FID – signál volné precese

GE – metoda Gradient Echo

^1H – vodík (hydrogenium)

I – spinové kvantové číslo

IR – metoda Inversion Recovery

J – interakční konstanta měřeného jádra

m – kvantové číslo

MR – magnetická rezonance

M_{xy} – magnetizace v transverzální rovině

M_z – magnetizace v směru osy z

M_0 – makroskopická magnetizace, magnetizace všech protonů

NMR – nukleární magnetická rezonance

Pb – olovo (plumbum)

RF – radiofrekvenční signál

RSE – raní somatické embrya

S – spin jádra

SE – metoda Spin Echo

SR – metoda Saturation Recovery

t – doba měření

T_E – doba spinového echa

T_I – inverzní doba

T_1, T_{12} – spin – mřížková relaxace

T_{1p} – relaxační doba v rotující souřadnicové soustavě

T_1^S – relaxační čas jádra

T_2, T_2^* – spin – spinová relaxace

T_3 – relaxační doba způsobena nehomogenitou pole

ÚPT AV ČR – ústav přístrojové techniky akademie věd České republiky

(x,y) – transversální rovina

Zn – zinek (zincum)

γ – gyromagnetický poměr

μ – magnetický moment

ω_0 – Larmorova frekvence

τ – doba aplikace dalšího RF pulsu

Δf – pološířka spektrální čáry

Úvod

Nukleární magnetické rezonance (NMR) je jednou z nejdůležitějších spektroskopických technik používaných v chemickém, biochemickém, biologickém a medicínském výzkumu. Dosvědčuje to skutečnost, že za její rozvoj bylo již uděleno šest Nobelových cen. Přestože v dnešní době většina studií a aplikací směřuje do biomolekulární oblasti, zůstává multinukleární NMR spektroskopie jedním ze základních pracovních nástrojů výzkumníků v oborech anorganické a organické syntetické chemie, fyzikální a materiálové chemie. Umožňuje jim identifikovat nově připravené sloučeniny, charakterizovat jejich chemickou reaktivitu a studovat jejich dynamické chování.

Tato práce se v teoretické části zabývá popisem metody nukleární magnetické rezonance a stanovením relaxačních dob až po názorné zobrazení měřících metod, které jsou založené na aplikaci pulzní sekvence při snímání chování jader, které jsou vloženy do vnějšího magnetického pole. Praktická část je věnována měření relaxačního času T_2 u vzorku raných somatických embryí smrku ztepilého (*Picea abies*) a zpracování získaných dat.

1 Základní pojmy

Nukleární magnetická rezonance je jev, při kterém dochází k rezonančnímu chování atomových jader s nenulovým spinovým kvantovým číslem I , a tedy nenulovým magnetickým momentem μ , v magnetickém poli. Základní interakcí, která je zodpovědná za jev NMR je Zeemanova interakce, jejíž hamiltonián H je popsán rovnicí 1[1].

$$H = -\mu B_0, \quad (1)$$

B_0 je magnetická indukce externího magnetického pole.

Mezi nejčastěji studovaná jádra patří ^1H a ^{13}C , která mají $I = 1/2$ a jejich magnetické kvantové číslo může proto nabývat dvou hodnot, $m = 1/2$ (stav α) a $m = -1/2$ (stav β). V externím magnetickém poli s indukcí B_0 dojde mezi těmito stavy k vytvoření energetického rozdílu daného vztahem (2). Nižší hladina odpovídá situaci, kdy je z -složka magnetického momentu jádra orientována ve směru vnějšího magnetického pole. Vyšší hladina odpovídá stavu, kdy je orientována proti směru vnějšího pole.

$$\Delta E = \gamma h / 2\pi, \quad (2)$$

γ je gyromagnetická konstanta charakterizující dané jádro a h je Planckova konstanta. Při klasickém popisu můžeme soubor spinů popsat vektorem celkové magnetizace \mathbf{M} , který je dán vektorovým součtem magnetických momentů jednotlivých spinů. V rovnováze bude celková magnetizace \mathbf{M} ve směru vnějšího magnetického pole B_0 . Toto pole konvenčně označuje kladný směr osy z . Přejechy mezi energetickými hladinami lze indukovat střídavým polem kolmým k ose z o vhodné frekvenci splňující rezonanční podmínku:

$$\omega_0 = -\gamma B_0, \quad (3)$$

kde ω_0 je kruhová rychlost Larmorovy precese, zvaná Larmorova frekvence, která je pro běžně používaná pole B_0 v radiové oblasti.

2 Relaxační mechanizmy

Přechod mezi stavy z různými kvantovými čísly m nemusí být vyvolán jen vnějším rotujícím magnetickým polem s indukcí B_1 . Výměna energie bez přítomnosti RF signálu se děje i mezi protony v jádrech atomu a obklopujícím prostředím.

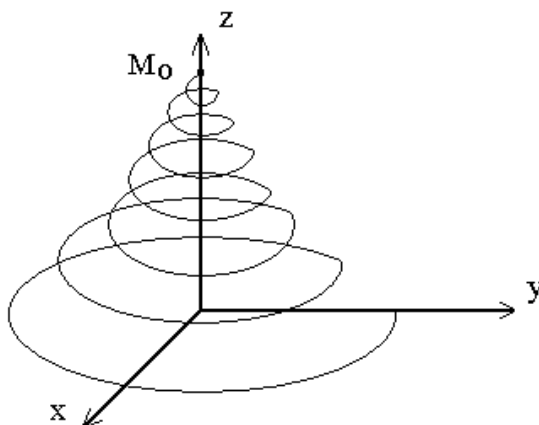
Stav termodynamické rovnováhy je charakterizován dvěma základními vlastnostmi:

- nevyskytuje se komponenta vektoru magnetizace v transverzální rovině ($M_{xy} = 0$),
- velikost vektoru magnetizace v podélném směru $M_z = M_0$.

Pro dosažení termodynamické rovnováhy jsou charakteristické dva typy interakcí: **spin – mřížková** (spin – lattice relaxation) a **spin – spinová** (spin – spin relaxation). Kvantitativní hodnocení těchto relaxací (ztrát energie) se provádí pomocí relaxačních časů T_1 a T_2 .

2.1 Spin – mřížková interakce

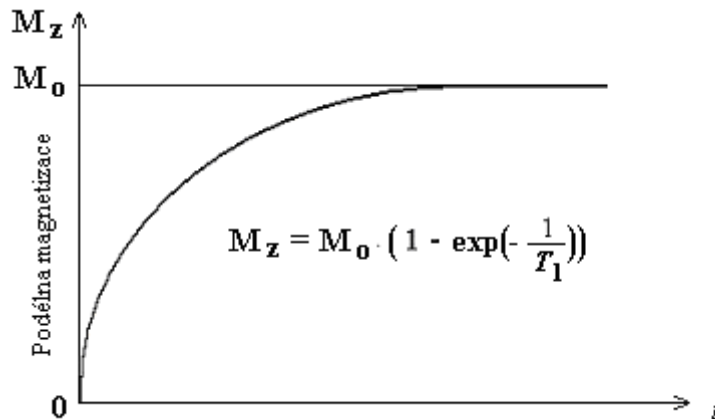
Vybuzené protony postupně přeskakují z vyšší na nižší energetickou hladinu, a tím i výsledný, původně do osy y sklopený vektor magnetického momentu se vrací do osy z , do směru siločar vnějšího magnetického pole. Veškerá protony odevzdaná energie se vyzáří do jejich bezprostředního okolí, do atomové mřížky.



Obr. 2.1 Relaxace T_1 – doba, kdy vychýlené jádro v transverzální rovině (x,y) se vrací postupně do osy z (Převzato z [2])

T_1 relaxační křivka: reprezentuje průběh návratu vektoru magnetizace M_z do směru osy z po aplikaci 90° RF impulzu[3].

$$M_z = M_0 \left(1 - \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right) \right), \quad (M_0 - M_z) = M_0 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_1}\right). \quad (4)$$



Obr. 2. 2 Příklad relaxační křivky T_1 (Převzato z [2])

Vyzáření energie protonem proběhne nejnadhěji a nejeftektivněji, pokud magnetické dipóly v jeho okolí, tedy v mřížce, rotují s frekvencí blízkou frekvenci Larmorově.

Druhým parametrem, který ovlivňuje hodnotu konstanty T_1 , je intenzita vnějšího magnetického pole. Čím silnější je vnější magnetické pole, tím více energie potřebuje proton k přeskoku na vyšší energetickou hladinu, a tím větší je i množství vyzáření energie při následné relaxaci. Proto s růstem intenzity vnějšího magnetického pole dochází k růstu hodnoty konstanty T_1 . Relaxační konstanta je silně závislá na teplotě.

2.2 Spin – spinová interakce

Relaxační čas T_2 je podstatně kratší než T_1 - relaxace. Při relaxaci T_2 dochází k postupné ztrátě fázové koherence elementárních dipólů, která vznikla během aplikace 90° RF impulsu. Při úplné koherenci nabývá M_{xy} maximální hodnoty. Při ztrátě fázové koherence dochází k **příčné relaxaci**, které rychlost poklesu M_{xy} je dána relaxačním časem T_2 .

Ztráta fázové koherence vzniká zejména:

- přirozenou relaxací tj. statickým nebo pomalu se měnícím vnitřním nehomogenním polem, které budí jednotlivá jádra ve svém okolí,
- důsledkem nehomogenity statického vnějšího magnetického pole B_0 .

Nehomogenita vnitřního pole vzniká působením okolních jader, jednak jejich polem a jednak výměnou spinů mezi jádry v molekule [3].

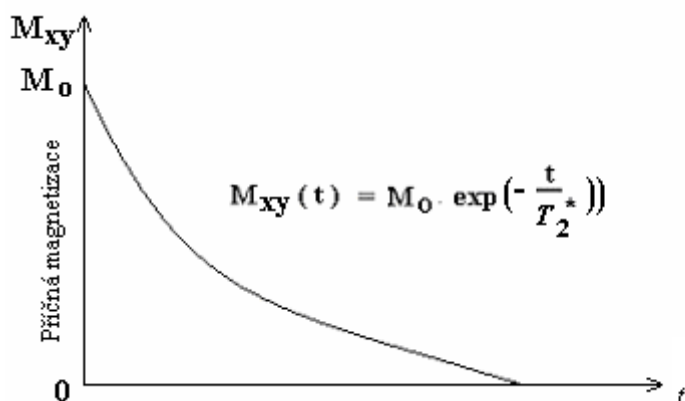
$$M_{xy}(t) = M_0 \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_2}\right). \quad (5)$$

Vnitřní a vnější nehomogenita je hodnocena efektivní relaxační dobou T_2^*

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_3}, \quad (6)$$

kde T_3 - je relaxační doba způsobena nehomogenitou pole B_0 .

T_2 relaxační křivka reprezentuje průběh vektoru magnetizace v rovině (x,y) . Znázorňuje exponenciální pokles magnetizace M_{xy} po aplikaci 90° RF impulsu, se strmostí danou velikostí relaxace T_2 .



Obr. 2. 3 Příklad relaxační křivky T_2

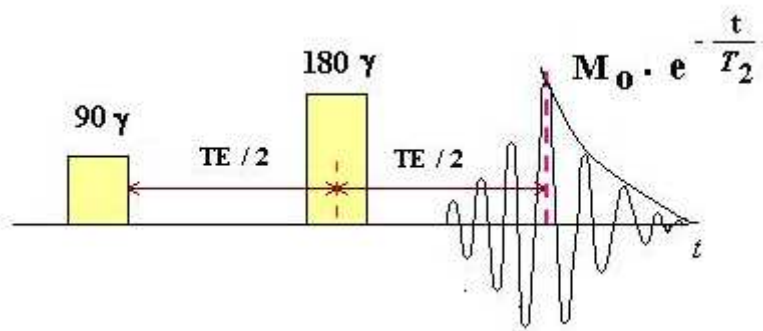
Malé molekuly (např. voda) fluktuují s vysokou frekvencí, mění se rychle a náhodně jejich lokální magnetické pole, vzájemně se ruší a ze statistického hlediska jsou podstatně neměnné. To má za následek relativně dlouhé setrvání protonů ve fázi, a tím i velkou hodnotu konstanty $T_2 \Rightarrow$ dlouhá doba relaxace T_2 .

Čím větší je molekula, tím má menší pohyblivost. To vede k statisticky nezanedbatelným hodnotám fluktuace magnetického pole v okolí rotujících protonů a k následnému rychlému rozfázování. To má za následek nízké hodnoty T_2 a tím a i kratší dobu relaxace T_2 .

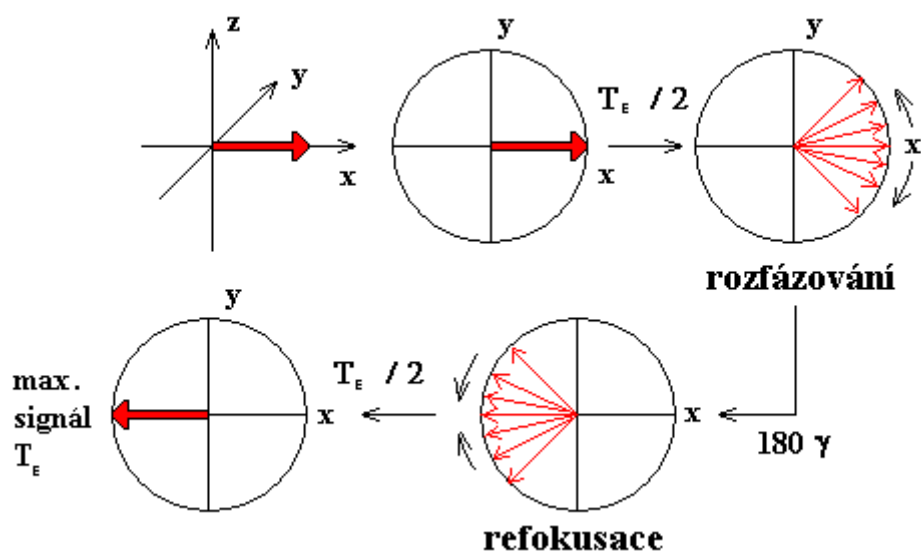
2.2.1 Spinové echo

Spinovým echem nazýváme obnovení stavu koherence spinů nezávislé na chemickém posunu. Když je délka vývojové periody relativně dlouhá, potom je nutné uvažovat účinek relaxace. Protože spinové echo nezávisí od chemického posunu, nezávisí ani od homogenity B_0 , která chemický posun spinově ovlivňuje. Vliv nehomogenity B_0 se v průběhu pulzní sekvence kompenzuje. Velikost amplitudy spinového echa je pak ovlivněna jenom přirozenou spin – spinovou relaxací T_2 .

Na obr.2.4 je znázorněn časový průběh pulzní sekvence spinového echa. Používají se zde dva excitační RF impulzy jejichž doby trvání jsou řádově několik milisekund. První z nich, 90° RF impulz, excituje spinový systém měřeného vzorku a sklápí vektor magnetizace \mathbf{M}_0 , jehož původní směr je shodný s vektorem magnetické indukce \mathbf{B}_0 základního pole, o 90° do transverzální roviny (x,y). Sklápění vektoru magnetizace do roviny kolmé ke směru základního magnetického pole je vytvořeno z důvodu toho, že vybuzené jádra mají velmi malou intenzitu přijatého signálu oproti intenzitě základního magnetického pole a jinak by se tak malá intenzita nedala zaznamenat. Excitační impulz má ještě další důležitou vlastnost a sice vlivem energie jím dodané se všechny spiny jader v měřeném vzorku rotující s různou fází sfázují. Tento stav je velmi důležitý, protože jen takto zfázovaná jádra dávají maximální signál v přijímací cílce jak je znázorněno na obr.2.5.



Obr. 2. 4 Pulzní sekvence



Obr. 3. 5 Vektorová analýza vzniku spinového echa (Převzato z [1])

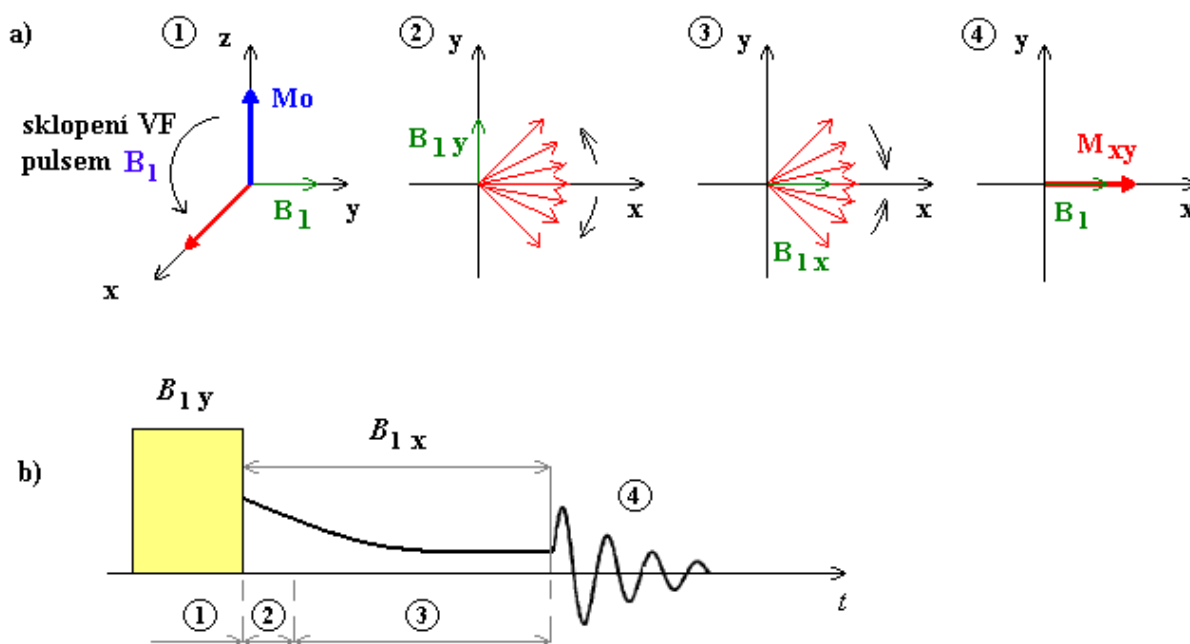
3 Základní měřicí techniky NMR

Pro získání obrazových dat se nevyužívá k excitaci měřeného objemu pouze jeden RF impulz, ale využívají se periodicky se opakující pulzy tvořené jednotlivými RF impulzy. Od složení impulzu a jeho časování lze získat signály váhované požadovaným parametrem (počet protonových jader, T_1 , T_2 , difúze). K tomu slouží řada metod buzení, které jsou podrobněji rozebrány v následujících kapitolách.

3.1 Měření relaxačního času T_1

3.1.1 Metoda spin - locking

Metoda spin - locking se využívá k měření dynamických procesů v roztocích malých molekul. Při měření relaxačních časů v transverzální rovině (x,y) dochází k předčasnému zániku transverzální magnetizace M_{xy} vlivem nehomogenity statického magnetického pole. Metoda spin - locking odstraňuje tento efekt a spočívá v měření relaxačních časů v rotující souřadnicové soustavě .



Obr. 3.1 Metoda spin - locking a) chování jader v magnetickém poli po aplikaci RF impulzu B_1 , b) průběh sekvence[1]

Silným vysokofrekvenčním pulzem B_1 s frekvencí rovnou rezonanční frekvenci pozorovaného jádra dojde k otočení rovnovážné magnetizace vybudované v směru osy z do transverzální roviny (x,y). Okamžitě po RF impulzu se změní fáze vysílače a pole B_1 se opět zapne se sníženou amplitudou. Jednotlivé složky magnetizace mají v rotující souřadnicové soustavě trochu odlišné frekvence, ale i po nepatrném odchýlení těchto složek od směru B_1 , dochází k precesi okolo směru B_1 a tím vlivem nehomogenity pole B_0 nedochází k rozfázování jader v rovině (x,y). Magnetizace M_{xy} takto relaxuje v přítomnosti

magnetického pole B_1 , které je v rotující souřadnicové soustavě statické. Mechanizmy způsobující relaxaci v rotující soustavě odpovídají mechanismům spin – mřížkové relaxace (T_1) ve velmi slabém magnetickém poli B_1 . Výhodou je, že se měří podstatně silnější signál odpovídající rozdílu populací energetických hladin v poli B_0 . Tento způsob relaxace se označuje jako spin - mřížková relaxace v rotující soustavě a je charakterizována relaxačním časem T_{1p} .

Pro výsledný signál platí vztah [5]:

$$(T_{IP}^{SC})^{-1} = \frac{4\pi^2 J^2}{3} \cdot S(S+1) \cdot \frac{T_1^S}{1 + \omega_1^2 (T_1^S)^2}, \quad (7)$$

kde J – je interakční konstanta měřeného jádra s rychle relaxujícím kvadropólovým jádrem,

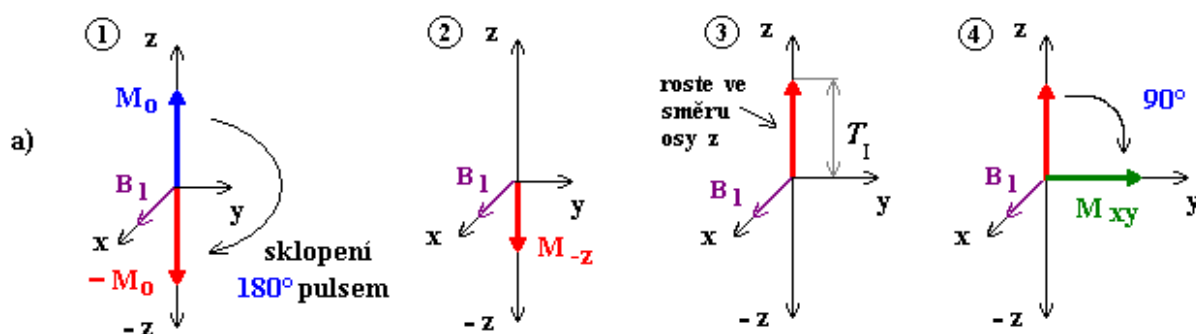
S – je spin jádra,

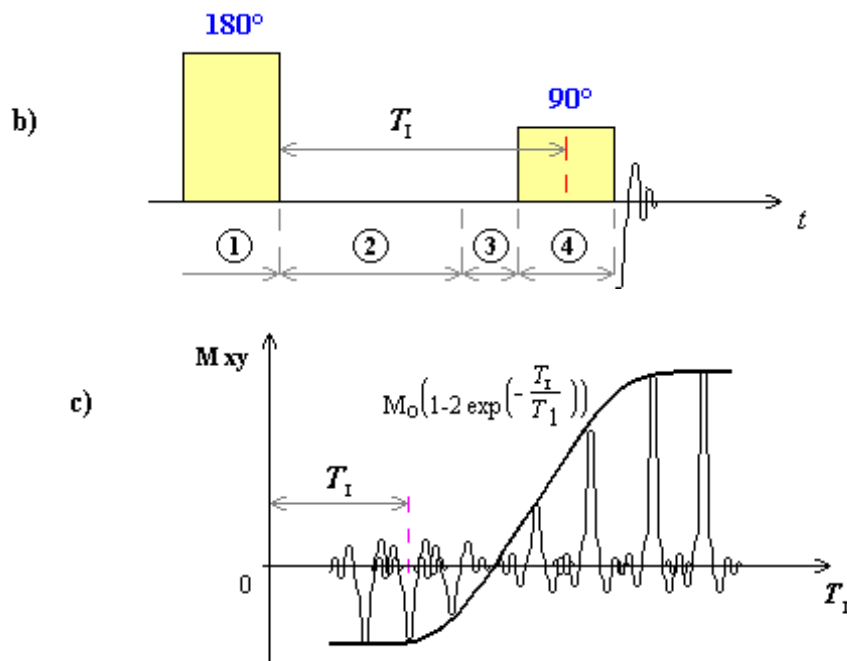
T_1^S – je relaxační čas jádra.

Rovnice platí za předpokladu, že rezonanční frekvence měřeného a kvadropólového jádra se podstatně liší.

3.1.2 IR metoda buzení (Inversion Recovery pulse sequence)

Metoda Inverzi Recovery [3] spočívá v aplikaci RF impulzů tvořených kombinací (180° a 90°). 180° RF impulzem je provedena inverze vektoru magnetizace do opačného směru osy z ($M_z = -M_0$). V důsledku relaxace T_1 dochází k postupnému návratu jader do rovnovážného stavu. Ve vhodně zvoleném okamžiku (inverzní doba T_I) je aplikován 90° RF impulz „čtecí“, který překlápí vektor magnetizace \mathbf{M}_z do roviny (x,y) , kde je jeho velikost změřena přijímací cívkou.





Obr. 3.2 IR metoda buzení a) chování jader v magnetickém poli po aplikaci pulsů, b) průběh pulzní sekvence c) výslední průběh IR metody po aplikaci několik měření s dobou T_1 mezi 180° a 90° pulsem

V pulzní sekvenci IR metody (viz. obr.3.2 b) je pod čísly 1, 2, 3 a 4 znázorněno chování jader (viz. obr.3.2 a) v průběhu doby měření T_1 .

Celková relaxace je tvořena dvěma složkami[4]:

$$M_z = M_0 \left(1 - 2 \cdot e^{-\frac{t}{T_1}} \right) \quad (8)$$

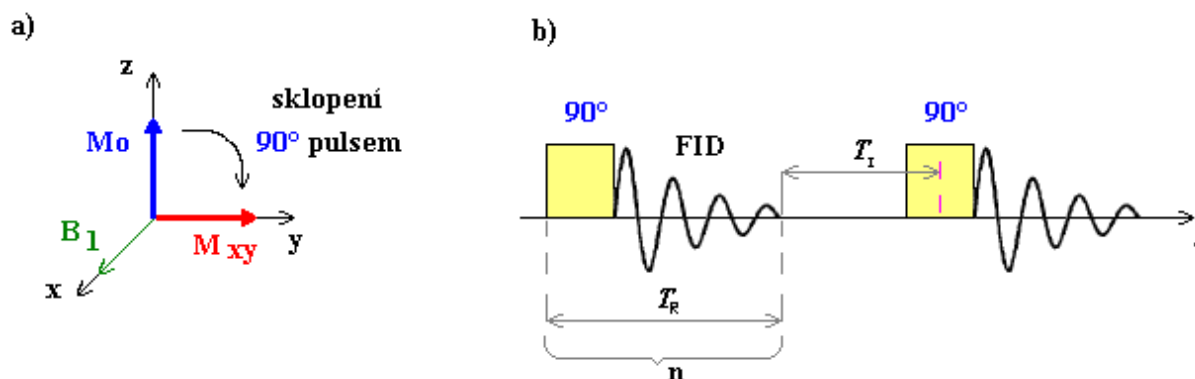
3.1.3 SR/STE metoda buzení (Saturation Recovery pulse sequence)

SR/STE metoda [3] je vhodná pro měření relaxací T_1 . Principem metody je rozfázování vektorů magnetizace sérií opakujících se 90° RF impulzů, následná relaxace po dobu T_1 a otočení složky M_z 90° RF impulzem do transverzální roviny a snímání signálu FID. V ustáleném stavu je v B_0 vektor magnetizace \mathbf{M} ve směru osy $z \Rightarrow M_z$. Jeho velikost M_0 je určena počtem rezonujících jader v měřeném objemu. Hned po ukončení série 90° RF budících impulzů lze snímat FID signál. Časový interval, po kterém následuje další 90° RF impulz, je označován jako repetiční doba T_R .

Při proměnném čase T_1 se bude amplituda signálu FID zvyšovat podle funkce:

$$M_z(T_1) = M_0 \left(1 - \exp\left(-\frac{T_1}{T_1}\right) \right) \quad (9)$$

Aproximací amplitud signálů FID podle tohoto vztahu je možné stanovit relaxační čas T_1 .



Obr. 3.3 SR sekvence a) chování jader v magnetickém poli po aplikaci pulsů, b) pulzní sekvence, kde n – je počet opakování n – počet opakování, pro zrušení transverzální složky magnetizace

Amplituda signálu FID po sérii excitačních impulzů závisí současně na relaxačním čase T_2^* podle vztahu[3]:

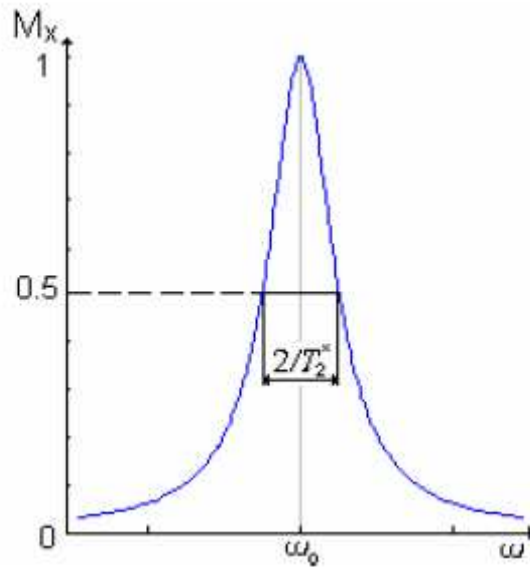
$$S \propto M_0 \cdot \exp\left(1 - \frac{T_I}{T_1}\right) \cdot \exp\left(-\frac{T_R}{T_2^*}\right). \quad (10)$$

Pro přesné měření je nutné, aby transverzální magnetizace klesla na nulu. Musí platit podmínka $T_2^* \ll T_1$.

3.2 Měření relaxačního času T_2

3.2.1 Základní metoda

Nejjednodušší způsob jak určit T_2 relaxaci je založen na aplikaci 90° RF impulzu a měření signálu FID. Po Fourierově transformaci získáme spektrální čáru (viz obr. 3.4). Šířka spektrální čáry v polovině výšky a vzdálenost mezi inflexními body disperzní čáry jsou určeny velikostí relaxační doby T_2^* (v případě homogenního pole $\Delta B \rightarrow 0$ bude $T_2^* = T_2$).



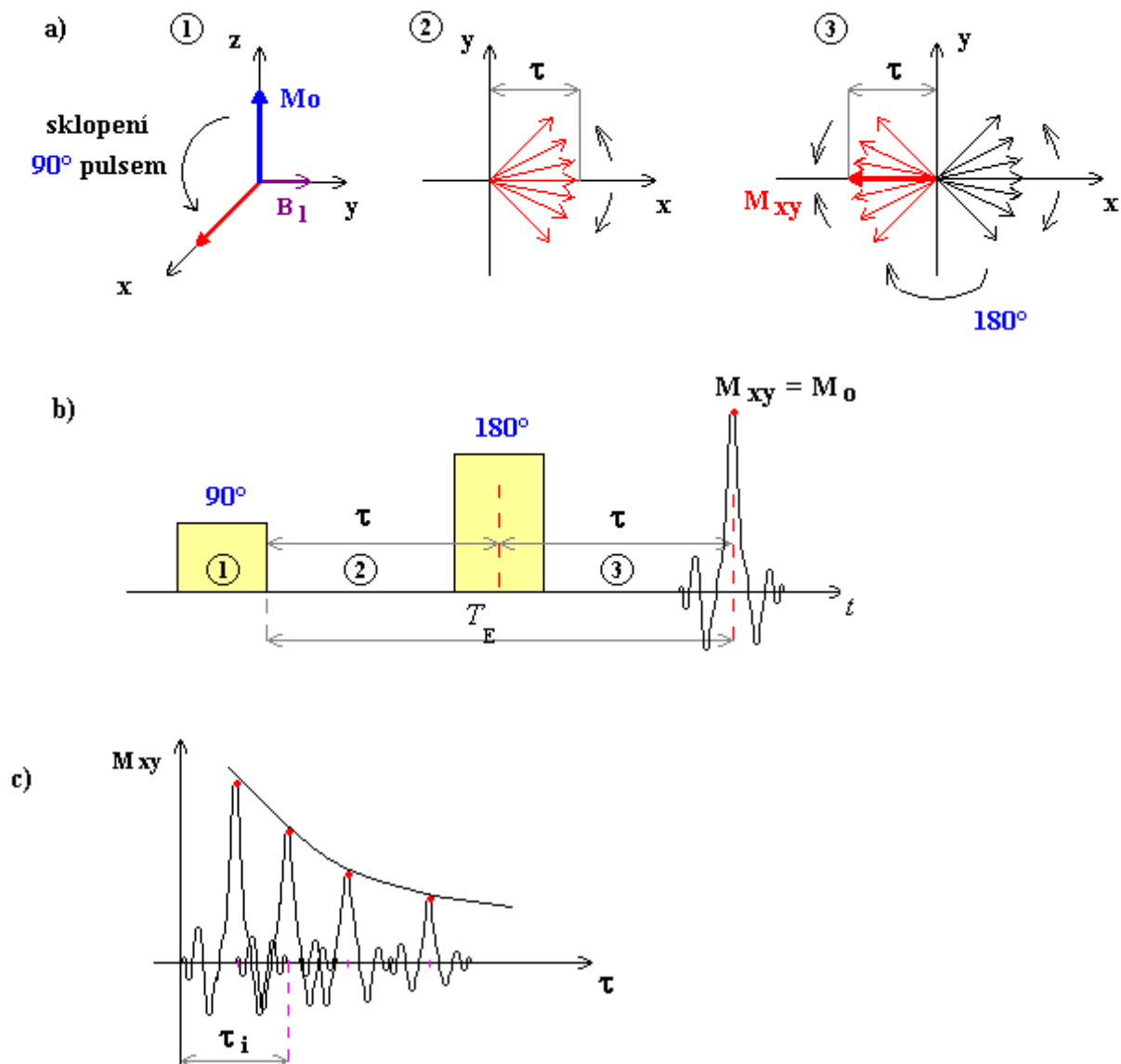
Obr. 3. 4 Určení T_2^* ze spektrální čáry

$$\Delta\omega = \frac{2}{T_2^*} \Rightarrow T_2^* = \frac{1}{\Delta f \cdot \pi}. \quad (11)$$

3.2.2 SE metoda buzení (Spin Echo pulse sequence)

Metoda SE buzení využívá sledu dvou RF impulzů tvořených impulzy (90° a 180°). Po ukončení 90° RF impulzu je podélná magnetizace překllopena do transverzální roviny (x,y) a generuje FID signál. Vlivem T_2^* relaxace se postupně narušuje fázová koherence elementárních dipólů v důsledku nehomogenit magnetického pole B_0 , případně přídavného gradientního pole u zobrazovacích metod (příčná relaxace). Po aplikaci 180° RF impulzu (refokuzující impulz) dojde k otočení elementárních dipólů v čase $t = T_E/2$ o 180° kolem osy x , a v čase dochází k jejich opětovnému zfázování.

Proces je kompletní v čase $T_E = 2\tau$, kdy dojde k opačnému zfázování jader a vzniku spinového echa. V přijímací cívce se indikuje signál označován jako **spinové echo** – SE. Časový interval mezi středem spinového echa a budícím 90° RF impulzem označujeme **T_E -doba spinového echa**



Obr. 3.5 SE metoda buzení **a)** chování jader v magnetickém poli po aplikaci pulsů, **b)** průběh pulzní sekvence **c)** výsledný průběh SE metody po aplikaci několik měření s dobou τ_i mezi 90° a 180° impulzem

Velikost signálu S je dána vztahem [3]:

$$S \propto M_0 \cdot \left(1 - \exp\left(-\frac{T_R}{T_1}\right) \right) \cdot \exp\left(-\frac{T_E}{T_2}\right). \quad (11)$$

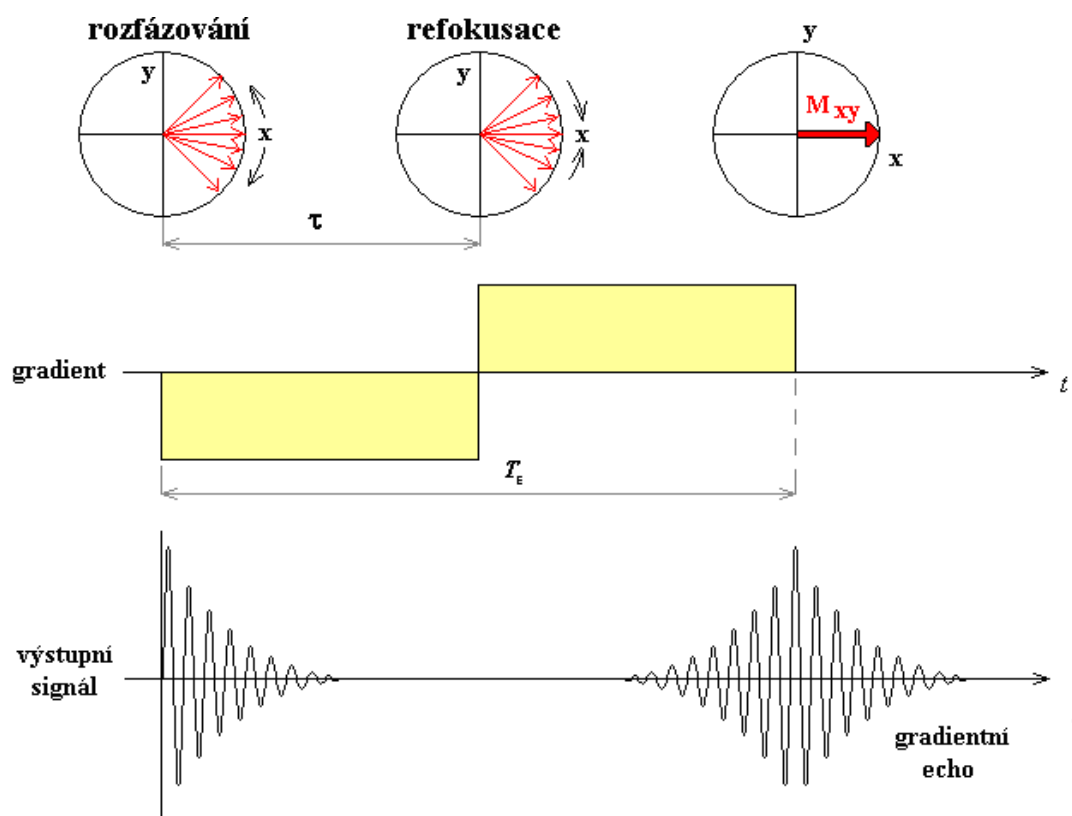
Pro měření relaxačního času T_2 je nutné omezit vliv relaxačního času T_1 . Z toho důvodu je nutné dodržet podmínku $T_2 \ll T_1$.

3.2.3 Gradientní metoda buzení – GE (Gradient Echo pulse sequence)

V metodě gradientního echa se využívá ke tvorbě echo signálu místo refokusačního 180° RF impulzu gradientní magnetické pole, které je superponováno na lokální magnetické

pole. Tato změna vede k odpovídajícímu zvýšení nebo snížení Larmorovy frekvence ve směru působení gradientu. Ve FID signálu se tato skutečnost projeví rychlým rozfázováním transverzální magnetizace. Jestliže je následně v předem definovaném čase aplikována stejná velikost gradientu, ale v opačné polaritě, dochází k opětovnému zřazování elementárních magnetických dipólů a generaci **gradientního echa**. Maximální velikost gradientního echa nastane v okamžiku, kdy integrál inverzního gradientu je identický s integrálem prvního gradientu.

Základní výhoda GE techniky spočívá ve významné redukci skenovací doby. K zvýraznění této pozitivní vlastnosti se většinou používá buzení RF impulzem s menším sklápěcím úhlem ϕ , které dovoluje práci s velmi krátkými hodnotami T_R .



Obr. 3. 6 GE metoda buzení (Převzato z [2])

Velikost signálu S je dána vztahem [3]:

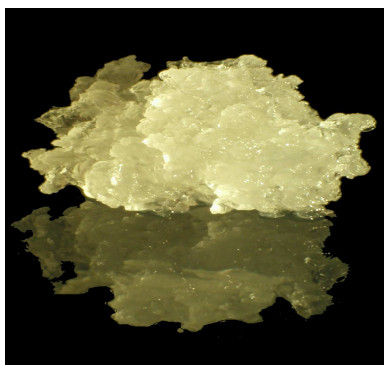
$$S \propto M_0 \cdot \exp\left(-\frac{T_E}{T_2^*}\right) \cdot \left(1 - \exp\left(-\frac{T_R}{T_1}\right)\right) \cdot \left[\frac{\sin \phi}{\left(1 - \cos \phi \exp\left(-\frac{T_R}{T_1}\right)\right)}\right]. \quad (12)$$

4 Praktická část

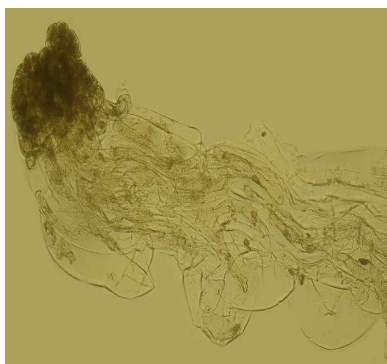
Cíl: Experimentálně na MR tomografu v ÚPT proměřit relaxace u vybraných vzorků.

4.1 Charakteristika vybraných vzorků

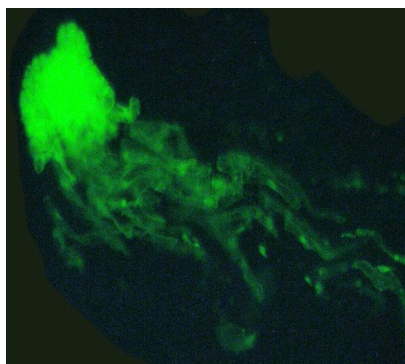
Vybrané vzorky jsou rané somatická embrya (RSE) smrku ztepilého (*Picea abies*), klon 2/32. Tato embrya jsou kultivována ve sterilních plastových Petriho miskách o průměru 50 mm. Na každou misku připadly vždy tři shluky RSE.



Obr 4.1 Shluk RSE smrku

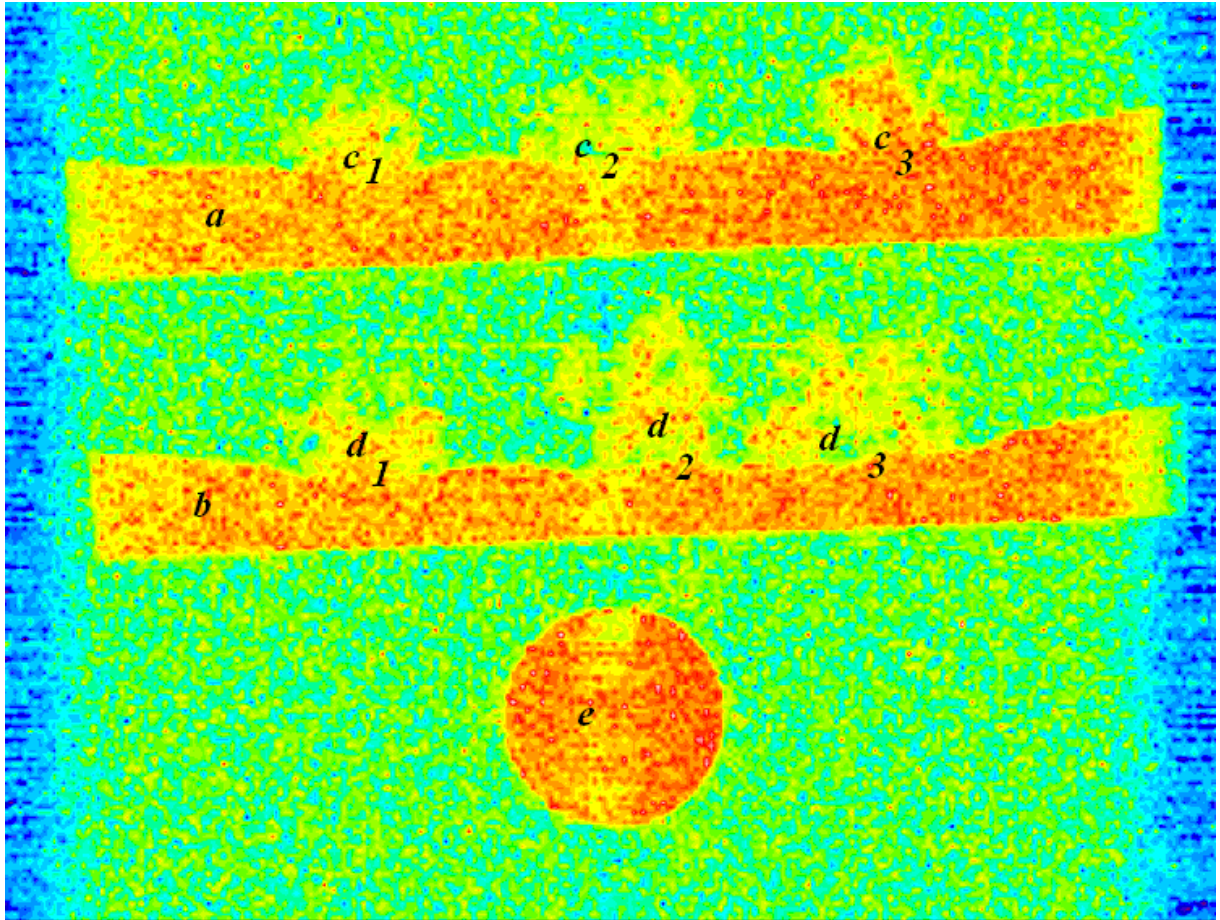


Obr 4.2 RSE pod světelným mikroskopem



Obr. 4.3 RSE pod fluorescentním mikroskopem

V Petriho miskách je kultivační médium, cca 30 ml. Nazývá se LP/2. Jedná se o základní médium pro kultivaci RSE smrku. V tomto pokusu je substrát modifikován těžkým kovem olovem a zinkem v různých koncentracích.



Obr 4.4 Obraz RSE a vody při měření T_2 . **a)** substrát o koncentraci $1000 \mu\text{M Pb}$. **b)** substrát o koncentraci $50 \mu\text{M Pb}$. **c₁),c₂),c₃)** vzorek RSE kultivován na substrátu a). **d₁)d₂)d₃)** vzorek RSE kultivován na substrátu b). **e)** voda

4.2 Složení kultivačního média.

Kontrolní substrát o koncentraci 0 M při měření v kombinaci s 250 a 500 $\mu\text{M Zn}$:

- **makro prvky** 12,5 ml
- **mikro prvky** 0,125 ml
- **železo** 0,625 ml
- **gelrit** 0,875 g jde o směs která medium ztužuje, něco jako agar
- **cukr** 5 g
- **vitaminy** (termolabilní součást media, přidává se až po autoklávování – sterilizace roztoku media teplem)
- **sterilní destilovanou vodou pH na 5,7-5,8** doplnění do požadovaného objemu

Substrát o koncentraci 50 μM Pb využitý při měření v kombinaci s 1000 μM Pb:

- stejný obsah jako při **0 koncentraci**
- 0,25 ml **Pb(NO₃)₂**
- 0,25 ml **EDTA** (ethylendiamintetraoctová kyselina, jde o chelát a vyvazuje ionty kovů a tím aktivuje řadu enzymů)

Substrát o koncentraci 250 μM Pb využitý při měření v kombinaci s 1000 μM Zn:

- stejný obsah jako při **0 koncentraci**
- 1,25 ml **Pb(NO₃)₂**
- stejné množství **EDTA** (1,25ml)

Substrát o koncentraci 500 μM Pb využitý při měření v kombinaci s 50 μM Zn:

- stejný obsah jako při **0 koncentraci**
- 2,5 ml **Pb(NO₃)₂**
- stejné množství **EDTA** (2,5ml)

Substrát o koncentraci 1000 μM Pb využitý při měření v kombinaci s 50 μM Pb:

- stejný obsah jako při **0 koncentraci**
- 5,0 ml **Pb(NO₃)₂**
- stejné množství **EDTA**(5,0 ml)

Substrát o koncentraci 50 μM Zn využitý při měření v kombinaci s 500 μM Pb:

- stejný obsah jako při **0 koncentraci**
- 0,25 ml **Zn(NO₃)₂**
- stejné množství **EDTA** (0,25 ml)

Substrát o koncentraci 250 μM Zn využitý při měření v kombinaci s 0:

- stejný obsah jako při **0 koncentraci**
- 1,25 ml **Zn(NO₃)₂**
- stejné množství **EDTA** (1,25 ml)

Substrát o koncentraci 500 μM Zn využitý při měření v kombinaci s 0:

- stejný obsah jako při **0 koncentraci**
- 2,5 ml **Zn(NO₃)₂**
- stejné množství **EDTA** (2,5 ml)

Substrát o koncentraci 1000 μM Zn využitý při měření v kombinaci s 250 μM Pb:

- stejný obsah jako při **0 koncentraci**
- 5,0 ml **Zn(NO₃)₂**
- stejné množství **EDTA** (5,0 ml)

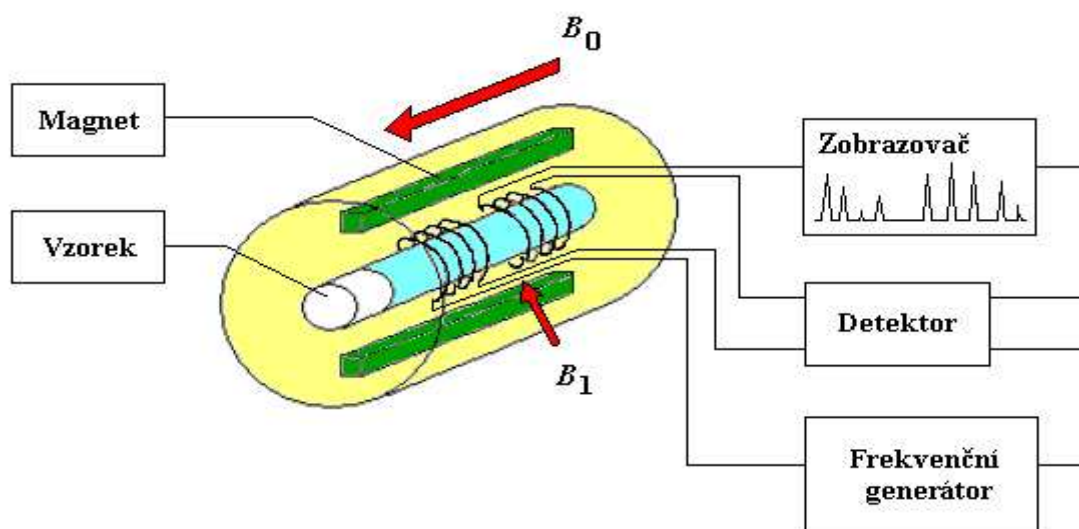
4.3 Měřicí přístroj

Měření probíhalo na MR tomografu 200 MHz v prostorách ÚPT AV ČR, Brno. Základní magnetické pole bylo $B_0 = 4,7$ T. Na obr. 4.5 jsou uvedeny fotografie řídicí elektroniky a MR tomografu. Na obr. 4.6 je znázorněno schéma MR tomografu na obr. 4.7. řez supravodivým magnetem.

Získaná data jak v časové tak i ve frekvenční oblasti byla dále zpracovávána v programových prostředích Matlab a Marevisi.



Obr. 4.5 Fotografie MR tomografu ($B_0 = 4,7$ T)



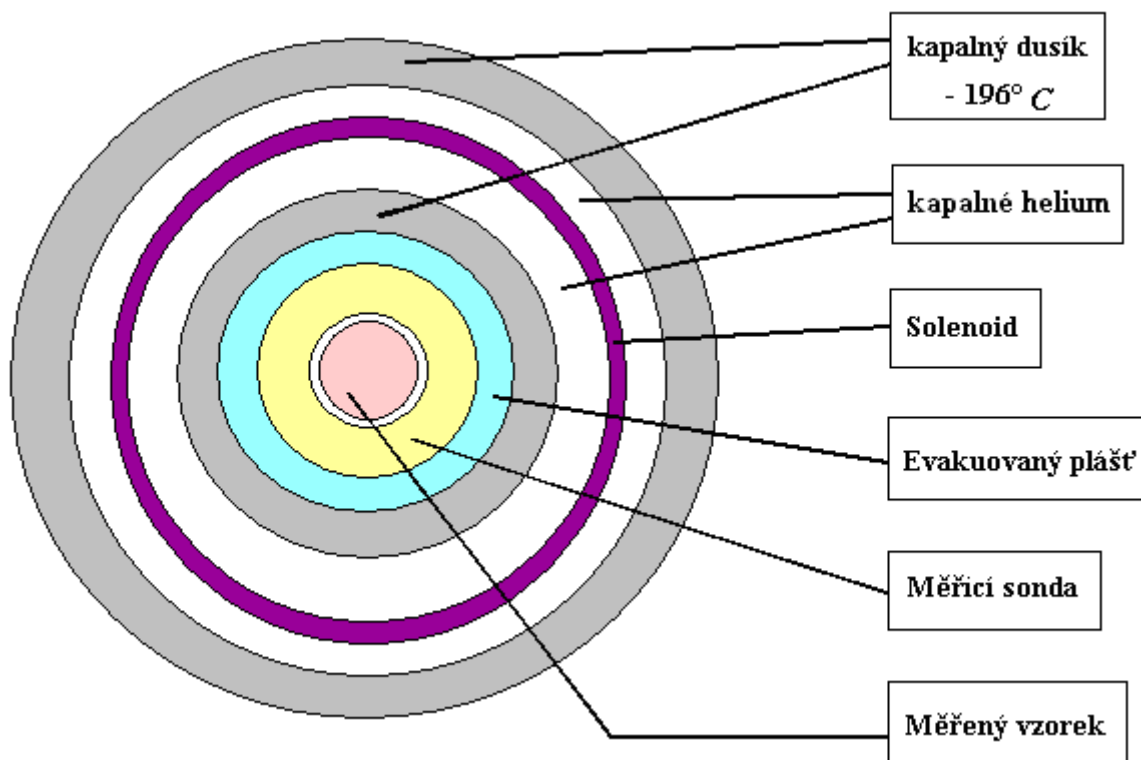
Obr. 4.6 Schéma NMR přístroje

Magnet: většinou supravodivý, pro speciální účely se používají permanentní magnety, nebo elektromagnety.

Frekvenční generátor: zdroj radiofrekvenčního záření, generuje střídavý proud s kmitočtem ω_0 , který indukuje RF pole B_1 .

Detektor: detekuje odezvu souboru měřených jader, čte nosnou frekvenci ω_0 (převod systému do rotující soustavy souřadnic).

Zobrazovač: osciloskop, počítač, zapisovač.



Obr. 4.7 Zjednodušený řez supravodivým magnetem, (Převzato z [6])

4.4 Metodika MRI měření tkáňových kultur

Techniku MRI je možné použít pro stanovení množství vody v biologických tkáních nebo při sledování růstu tkáňových kultur. K tomu účelu umístíme do pracovního prostoru tomografu měřenou tkáň, zvolíme si vhodný směr roviny řezu a měříme MR obraz v této rovině. Obraz je váhovaný spinovou hustotou a je možné z něj stanovit relativní počet protonových jader ve zvoleném řezu a tím stanovit množství vody a její rozložení ve vzorku.

Pro tento účel je vhodná technika spinového-echa, protože eliminuje na rozdíl od techniky gradientního-echa vliv nehomogenity základního magnetického pole a obrazy mívají lepší poměr signál-šum. S poměrem signál-šum také souvisí zvolená šířka řezu a velikost měřeného obrazu. S menší tloušťkou řezu se snižuje počet jader vytvářejících signál a poměr signál-šum klesá. Minimální tloušťka řezu je však pro zobrazení tkáňových kultur výhodná. Optimální tloušťka řezu je 2 mm. Pro větší velikost obrazu bude menší citlivost tomografického systému. Velikost obrazu volíme s ohledem na velikost shluků tkáňových kultur a na velikost pracovní sondy. Pro zvýšení poměru signál-šum je možné měření několikrát opakovat a výsledky průměrovat. Měření se však časově značně prodlužuje. Vzhledem k relaxačním časům vody ($T_1 \approx 2$ s, $T_2 \approx 80$ ms) není možné měření rychle opakovat. Opakovací čas je vhodné volit rovný spin-mřížkovému relaxačnímu času $T_R \approx T_1$. Je nutné zdůraznit, že pro obraz 256x256 pixelů je doba měření rovna $256 \times T_R$.

Pro kontrolu nestability parametrů tomografu při dlouhodobém měření byla v blízkosti měřených vzorků umístěna malá baňka naplněná deionizovanou vodou a měřené velikosti intenzity obrazu byly normovány k velikosti intenzity vody v baňce. Protože nehomogenita v magnetického pole sondy způsobuje změny intenzity v obraze, byly intenzity řezů shluků tkáňových kultur normovány na velikost intenzity obrazu v kultivačním médiu přímo pod shlukem. Tento typ zpracování umožňuje měřit až šest shluků v jednom obraze a zkrátit dobu měření.

4.4.1 Měření relaxačního času T_2

Jednou se základních měřících metod měření relaxačního času T_2 je SE metoda buzení (Spin Echo pulse sequence). Princip metody je popsán v kapitole 3.2.2.. Velikost signálu S je dána vztahem (11) a pro $M_{x,y}$ platí[7]:

$$M(x, y) = M_0(x, y) \exp\left(\frac{-T_E}{T_2}\right). \quad (12)$$

Při měření pomocí SE používáme dvě sekvence měření pro různé časy echa T_E . Vztah (12) přejde do tvaru:

$$M_1(x, y) = M_0(x, y) \exp\left(\frac{-T_{E1}}{T_2}\right), \quad (13)$$

$$M_2(x, y) = M_0(x, y) \exp\left(\frac{-T_{E2}}{T_2}\right) \quad (14)$$

Po úpravách přejde vztah (13) a (14) do tvaru:

$$\frac{M_1(x, y)}{M_2(x, y)} = \exp\left(\frac{-(T_{E1} - T_{E2})}{T_2}\right). \quad (15)$$

Po logaritmování a úpravě logaritmu dostáváme:

$$\ln[M_1(x, y)] - \ln[M_2(x, y)] = -\frac{T_{E1} - T_{E2}}{T_2}. \quad (16)$$

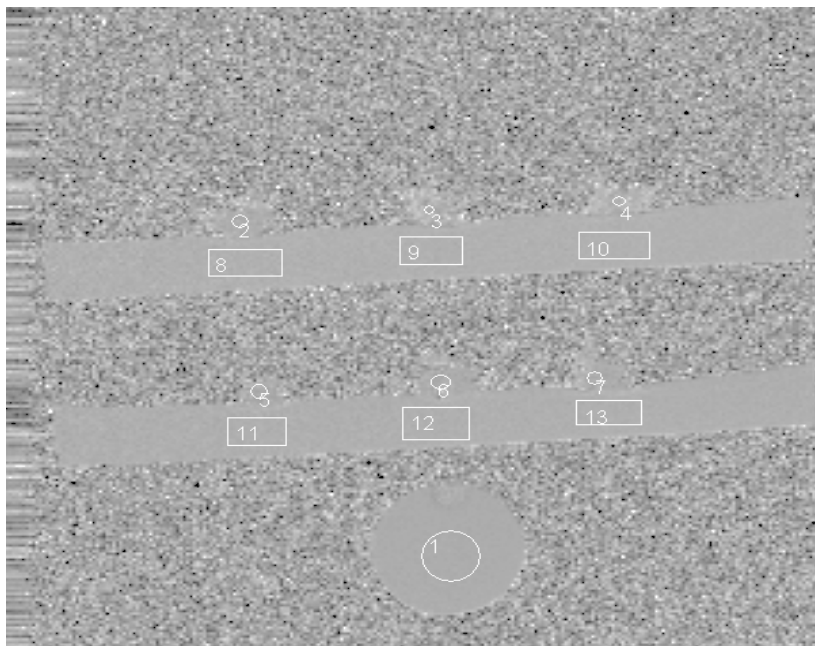
A konečně pro T_2 platí:

$$T_2 = \frac{T_{E1} - T_{E2}}{\{\ln[M_1(x, y)] - \ln[M_2(x, y)]\}}. \quad (17)$$

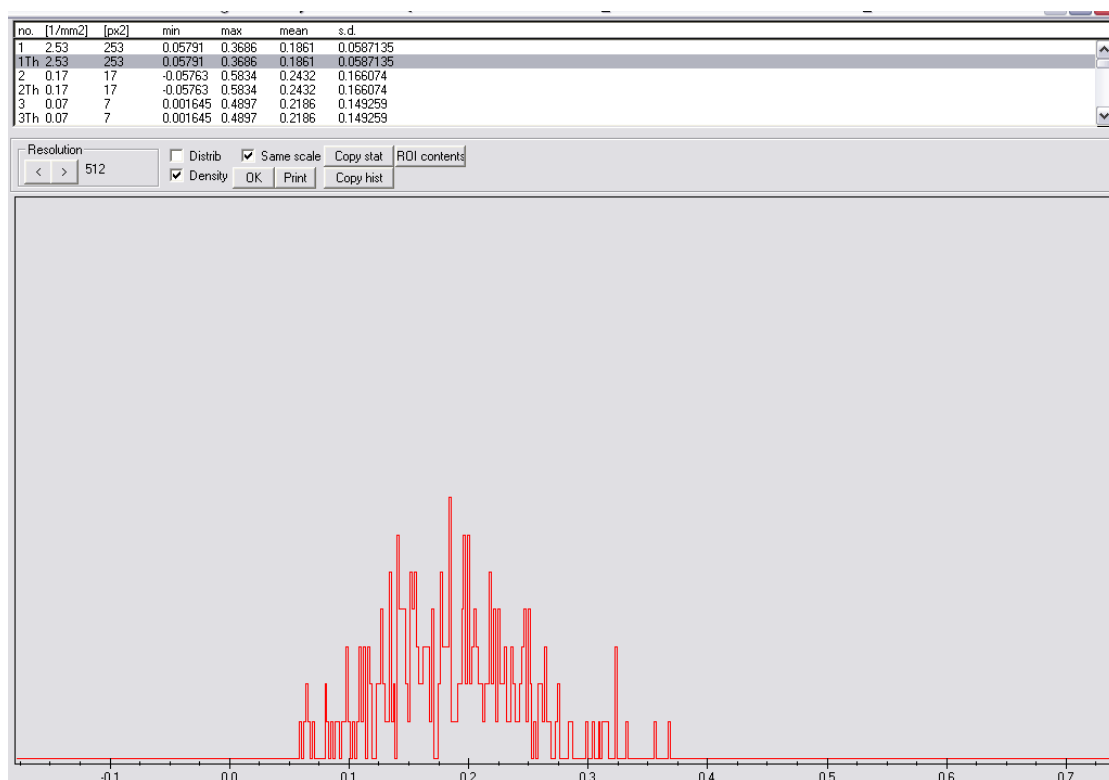
4.4.2 Úprava a vyhodnocování naměřených dat

Výstupní hodnoty z tomografu ÚPT AV ČR v Brně jsou ve formátu *.MRD. Abychom mohly s daty dále pracovat a vyhodnocovat je musíme je převést na formát podporovaný programem Matlab tj. : *.MAT. Pro převod formátu se hodí program Marevisi (Magnetic Resonance Vision). V tomhle programu můžeme rovněž provést Fourierovu transformaci a následně data upravit v programu Matlab. Pro úpravu použijeme m-file *logobrnuuly.m* {P1}, kde načítané data, s různými časy T_E , nejprve převedeme z časové oblasti do diskretní oblasti(obraz), pomocí již zmiňované Fourierovy transformace, a pak je „prahujeme“, abychom odstranili šum. V dalším kroku obrazy logaritmuje a odečítáme od sebe. Pomocí této úpravy jsme dostali jmenovatel vzorce (17). Výstupní obraz z m-file souboru

logobrnuly.m {P1} opět otevřeme v programu Marevisi a změříme střední hodnotu vybraných oblastí jak ukazuje obrázek 4.8 .



Obr. 4.8 Označení homogenních oblastí RSE, substrátu a vody. Pro samotné měření použijeme funkci Calculate and display ROI statistics, výsledek obr. 4.9.



Obr. 4.9 Měření dat pomocí funkce Calculate and display ROI statistics.

Ze zobrazených hodnot vybíráme hodnoty v sloupci mean, střední hodnota.

Ze všech relevantních hodnot vody vypočteme průměrnou hodnotu jmenovatele vzorce(17), která se použije pro normování dalších hodnot.

$$M_{T(\text{střed})} = \frac{\sum_i^k M_{T_i}}{k}. \quad (18)$$

Podle tohoto vztahu (18) normujeme všechny změřené hodnoty

$$M_{i(\text{norm})} = \frac{M_{T(\text{střed})} \cdot M_i}{M_T}. \quad (19)$$

Předpokládáme, že hodnoty měření vody se měnit nebudou, a proto nám tahle úprava hodnot omezí systematickou chybu měření. Podobnou úvahou upravíme výstupní data, ale místo průměrné hodnoty vody uvažujeme průměrnou hodnotu substrátu, která je pro jeden substrát stejná.

Pro výpočet T_2 použijeme vzorec (17) a výsledný relaxační čas určíme jako průměrnou hodnotu všech T_2 daného vzorku měřeného v daném dni.

4.4.3 Vstupní parametry měření

Vzorky v Petriho miskách byly umístěny doprostřed pracovního prostoru tak, aby bylo možné udělat řez tloušťky 2 mm všemi směry, byla zvolena pulzní sekvence spinového-echa s echo časy $T_{E1} = 11$ ms a $T_{E2} = 30$ ms. RF výkon a zesílení trasy tomografu byly po celou dobu měření konstantní.

Snímané obrazy váhované spinovou hustotou byly zpracovány pro zvýraznění kontrastu T_2 podle vztahu (17) a z obrazů byly odečteny hodnoty relaxačních časů ve vybraných místech podle obr. 4.8.

4.4.4 Tabulky naměřených a vypočtených hodnot

V tabulkách 1 až 5 jsou uvedeny naměřené i vypočtené hodnoty. Data zobrazená černou barvou jsou hodnoty jmenovatele podle vztahu (17). Zaznamenávání dat bylo prováděno podle obr.4.8. První sloupec v tabulkách vyjadřuje hodnoty koncentrací substrátu, na kterém RSE byly kultivovány. Následující sloupce představují měření v jednotlivých dnech. Střední hodnota vody (zobrazená tučně a italicou) byla stanovena podle vztahu (18) a byla použita na normování naměřených hodnot podle vztahu (19). Normované hodnoty na střední hodnotu vody (červená barva) byly průměrovány (18) a v tabulkách jsou zobrazeny zelenou barvou. Tyhle hodnoty jsme dále použili k vypočtení relaxačního času T_2 podle vztahu (17), kde $T_{E1} = 11$ ms a $T_{E2} = 30$ ms (žlutá barva). Obdobným způsobem jsme určili normované hodnoty na střední hodnotu substrátu (modrá barva), průměrové hodnoty (zelená barva) a následně vypočítali relaxační čas T_2 podle vztahu (17).

Tabulka naměřených hodnot pro koncentrace 0 a 250 Zinku.

Den měření		21.1.08	21.1.08	22.1.08	22.1.08	23.1.08	23.1.08	25.1.08	25.1.08	28.1.08	28.1.08	30.1.08	30.1.08	1.2.08	1.2.08	4.2.08	4.2.08
Vzorek		Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek
	Voda	0,141		0,199		0,193		0,184		0,206		0,197		0,212		0,200	
0	1	0,326	0,254	0,362	0,301	0,371	0,271	0,36	0,205	0,396	0,229	0,376	0,203	0,578	0,230	0,355	0,178
	2	0,316	0,509	0,347	0,272	0,342	0,243	0,348	0,242	0,386	0,224	0,380	0,212	0,701	0,261	0,377	0,203
	3	0,346		0,36	0,258	0,369	0,238	0,37	0,269	0,386	0,259	0,39	0,269	0,618	0,307	0,448	0,242
250Zn	1	0,277		0,311	0,216	0,287	0,224	0,309	0,250	0,342	0,405	0,357	0,194	0,400	0,200	0,424	0,125
	2	0,224		0,3	0,289	0,312	0,247	0,307	0,246	0,334	0,2	0,320	0,195	0,386	0,181	0,438	0,204
	3	0,266		0,308	0,332	0,313	0,277	0,314	0,233	0,361	0,117	0,360	0,205	0,414	0,200	0,320	0,19
Voda střed:	0,219																
Normování na střední hodnotu vody:																	
0	1	0,506	0,394	0,398	0,331	0,421	0,307	0,428	0,244	0,421	0,243	0,417	0,225	0,596	0,237	0,388	0,195
	2	0,490	0,790	0,381	0,300	0,388	0,276	0,414	0,289	0,410	0,243	0,421	0,235	0,723	0,269	0,412	0,222
	3	0,537	0	0,396	0,284	0,418	0,270	0,440	0,321	0,410	0,275	0,432	0,298	0,637	0,316	0,490	0,265
	střed	0,511	0,395	0,392	0,305	0,409	0,285	0,427	0,285	0,413	0,254	0,423	0,253	0,652	0,274	0,430	0,227
	T ₂	37,14	48,09	48,44	62,17	46,42	66,65	44,42	66,67	45,90	74,76	44,81	75,01	29,13	69,17	44,11	83,65
250 Zn	1	0,430	0	0,342	0,238	0,325	0,254	0,367	0,297	0,363	0,430	0,396	0,216	0,413	0,206	0,464	0,136
	2	0,347	0	0,330	0,318	0,354	0,281	0,365	0,293	0,355	0,212	0,355	0,216	0,397	0,187	0,480	0,223
	3	0,413	0	0,339	0,365	0,355	0,314	0,373	0,277	0,383	0,124	0,400	0,227	0,427	0,206	0,350	0,208
	střed	0,397	0	0,337	0,307	0,34	0,283	0,369	0,289	0,367	0,255	0,384	0,220	0,412	0,199	0,431	0,189
	T ₂	47,84	#DIV/0!	56,35	61,75	55,07	67,009	51,49	65,57	51,69	74,25	49,44	86,30	46,03	95,04	44	100,6
Normování další na střední hodnotu substrátu pod kulturami:																	
0	1		0,398		0,326		0,299		0,244		0,239		0,228		0,259		0,216
	2		0,824		0,308		0,291		0,298		0,245		0,236		0,243		0,231
	3		0		0,281		0,264		0,311		0,277		0,292		0,324		0,233
	střed		0,407		0,305		0,285		0,284		0,254		0,252		0,275		0,227
	T ₂		46,62		62,17		66,62		66,69		74,72		75,14		68,90		83,85
250Zn	1		0		0,272		0,269		0,298		0,435		0,209		0,206		0,127
	2		0		0,378		0,274		0,296		0,220		0,234		0,194		0,2
	3		0		0,423		0,305		0,274		0,119		0,218		0,199		0,255
	střed		0		0,358		0,283		0,289		0,258		0,220		0,199		0,194
	T ₂		#DIV/0!		53,02		67,10		65,55		73,60		86,11		95,07		97,84

Tab 1. 0 a 250 Zn

Tabulka naměřených hodnot pro koncentrace 0 a 500 Zinku.

Den měření		21.1.08	21.1.08	22.1.08	22.1.08	23.1.08	23.1.08	25.1.08	25.1.08	28.1.08	28.1.08	30.1.08	30.1.08	1.2.08	1.2.08	4.2.08	4.2.08
Vzorek		Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek
	Voda	0,218		0,206		0,221		0,211		0,219		0,211		0,214		0,219	
0	1	0,427	0,280	0,420	0,276	0,369	0,277	0,391	0,212	0,430	0,243	0,467	0,133	0,556	0,153	0,624	0,185
	2	0,439	0,299	0,445	0,284	0,423	0,175	0,331	0,284	0,472	0,216	0,555	0,273	0,696	0,203	0,648	0,147
	3	0,391	0,287	0,353	0,277	0,508	0,352	0,485	0,152	0,458	0,169	0,417	0,164	0,626	0,165	0,593	0,13
500Zn	1	0,276	0,353	0,275	0,353	0,276	0,352	0,307	0,132	0,341	0,205	0,334	0,143	0,353	0,138	0,364	0,131
	2	0,297	0,377	0,287	0,377	0,279	0,236	0,300	0,163	0,344	0,144	0,333	0,172	0,360	0,135	0,350	0,132
	3	0,287	0,365	0,275	0,357	0,294	0,186	0,292	0,235	0,337	0,121	0,331	0,107	0,375	0,101	0,372	0,121
voda střed:	0,215																
Normování na střední hodnotu vody:																	
0	1	0,421	0,276	0,438	0,287	0,359	0,269	0,398	0,216	0,422	0,238	0,476	0,136	0,558	0,154	0,613	0,182
	2	0,432	0,294	0,464	0,296	0,411	0,170	0,337	0,289	0,463	0,238	0,565	0,278	0,699	0,204	0,636	0,145
	3	0,385	0,283	0,368	0,289	0,494	0,342	0,494	0,155	0,449	0,165	0,424	0,167	0,629	0,166	0,582	0,128
	střed	0,413	0,284	0,423	0,291	0,421	0,261	0,410	0,220	0,445	0,214	0,489	0,194	0,629	0,175	0,610	0,152
	T ₂	45,96	66,69	44,84	65,26	45,04	72,77	46,30	86,18	42,66	88,68	38,85	97,90	30,19	108,8	31,11	125,4
500Zn	1	0,273	0,348	0,287	0,368	0,268	0,342	0,313	0,135	0,335	0,201	0,340	0,146	0,355	0,138	0,358	0,129
	2	0,293	0,372	0,299	0,393	0,271	0,229	0,306	0,166	0,337	0,141	0,339	0,175	0,361	0,136	0,344	0,129
	3	0,283	0,360	0,287	0,372	0,286	0,181	0,297	0,240	0,330	0,119	0,337	0,109	0,376	0,101	0,365	0,119
	střed	0,283	0,360	0,291	0,378	0,275	0,251	0,306	0,180	0,334	0,154	0,339	0,143	0,364	0,125	0,356	0,126
	T ₂	67,09	52,69	65,23	50,23	68,95	75,68	62,07	105,11	56,80	123,38	56,01	132,08	52,13	152	53,34	151,3
Normování další na střední hodnotu substrátu pod kulturami:																	
0	1		0,271		0,278		0,317		0,222		0,251		0,139		0,173		0,181
	2		0,281		0,270		0,174		0,352		0,229		0,240		0,184		0,139
	3		0,303		0,332		0,292		0,128		0,164		0,192		0,166		0,134
	střed		0,285		0,293		0,261		0,234		0,214		0,191		0,174		0,151
	T ₂		66,56		64,68		72,69		81,00		88,44		99,42		109,1		125,5
500Zn	1		0,361		0,373		0,351		0,131		0,201		0,145		0,142		0,128
	2		0,359		0,382		0,232		0,166		0,140		0,175		0,137		0,134
	3		0,360		0,378		0,174		0,247		0,120		0,110		0,098		0,116
	střed		0,360		0,378		0,252		0,181		0,153		0,143		0,126		0,126
	T ₂		52,69		50,24		75,14		104,52		123,47		132,13		151,4		151,1

Tab 2. 0 a 500 Zn

Tabulka naměřených hodnot pro koncentrace 1000 Olova a 50 Olova .

Den měření		21.1.08	21.1.08	22.1.08	22.1.08	23.1.08	23.1.08	25.1.08	25.1.08	28.1.08	28.1.08	30.1.08	30.1.08	1.2.08	1.2.08	4.2.08	4.2.08
Vzorek		Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek
	Voda	0,191		0,209		0,210		0,193		0,230		0,224		0,215		0,199	
1000Pb	1	0,256	0,402	0,391	0,471	0,294	0,336	0,281	0,206	0,344	0,267	0,356	0,197	0,348	0,246	0,402	0,262
	2	0,231	0,326	0,400	0,281	0,294	0,319	0,280	0,385	0,345	0,279	0,345	0,389	0,348	0,235	0,379	0,134
	3	0,237	0,328	0,370	0,210	0,288	0,221	0,301	0,208	0,353	0,289	0,333	0,252	0,335	0,214	0,412	0,233
50Pb	1	0,307	0,337	0,325	0,306	0,349	0,286	0,363	0,182	0,360	0,234	0,376	0,206	0,395	0,271	0,427	0,207
	2	0,288	0,384	0,329	0,386	0,359	0,218	0,330	0,175	0,355	0,254	0,358	0,211	0,354	0,214	0,476	0,192
	3	0,278	0,353	0,357	0,407	0,354	0,199	0,333	0,213	0,394	0,228	0,404	0,287	0,414	0,229	0,579	0,364
Voda střed:	0,209																
Normování na střední hodnotu vody:																	
1000Pb	1	0,280	0,439	0,390	0,470	0,292	0,334	0,304	0,223	0,312	0,243	0,332	0,183	0,338	0,240	0,423	0,276
	2	0,252	0,357	0,399	0,280	0,292	0,317	0,303	0,417	0,313	0,243	0,321	0,363	0,338	0,228	0,398	0,141
	3	0,259	0,359	0,369	0,210	0,286	0,220	0,326	0,226	0,320	0,262	0,310	0,235	0,326	0,208	0,433	0,245
	Střed	0,26	0,385	0,386	0,320	0,290	0,290	0,311	0,289	0,315	0,249	0,321	0,260	0,334	0,226	0,418	0,221
	T ₂	71,96	49,29	49,12	59,23	65,46	65,39	60,94	65,70	60,21	76,12	59,05	72,89	56,73	84,06	45,40	85,95
50Pb	1	0,335	0,368	0,325	0,305	0,346	0,284	0,393	0,197	0,327	0,212	0,351	0,192	0,385	0,264	0,449	0,218
	2	0,315	0,419	0,329	0,385	0,356	0,216	0,358	0,19	0,322	0,230	0,334	0,197	0,345	0,209	0,500	0,202
	3	0,304	0,386	0,356	0,407	0,351	0,198	0,361	0,231	0,357	0,207	0,377	0,268	0,403	0,223	0,609	0,382
	střed	0,318	0,391	0,337	0,366	0,351	0,233	0,370	0,206	0,335	0,216	0,354	0,219	0,378	0,232	0,519	0,267
	T ₂	59,63	48,50	56,37	51,90	54,02	81,50	51,23	92,03	56,59	87,58	53,65	86,58	50,24	81,81	36,54	70,96
Normování další na střední hodnotu substrátu pod kulturami:																	
1000Pb	1		0,414		0,466		0,331		0,228		0,245		0,177		0,237		0,273
	2		0,373		0,271		0,315		0,427		0,244		0,363		0,226		0,148
	3		0,366		0,220		0,223		0,216		0,258		0,243		0,214		0,236
Střed			0,384		0,319		0,290		0,291		0,249		0,261		0,225		0,219
	T ₂		49,41		59,49		65,50		65,29		76,15		72,69		84,11		86,54
50Pb	1		0,349		0,316		0,289		0,186		0,218		0,194		0,259		0,252
	2		0,423		0,394		0,213		0,196		0,240		0,209		0,228		0,209
	3		0,404		0,384		0,198		0,237		0,194		0,252		0,208		0,326
Střed			0,392		0,365		0,233		0,207		0,217		0,218		0,232		0,263
	T ₂		48,37		52,01		81,37		91,77		87,26		86,96		81,72		72,25

Tab 3. 1000 Pb a 50 Pb

Tabulka naměřených hodnot pro koncentrace 1000 Zinku a 250 Olova .

Den měření		21.1.08	21.1.08	22.1.08	22.1.08	23.1.08	23.1.08	25.1.08	25.1.08	28.1.08	28.1.08	30.1.08	30.1.08	1.2.08	1.2.08	4.2.08	4.2.08
Vzorek		Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek
	Voda	0,191		0,211		0,212		0,200		0,208		0,204		0,221		0,214	
1000Zn	1	0,064		0,107	0,2158	0,092	0,168	0,108	0,157	0,141	0,118	0,145	0,201	0,145	0,105	0,236	0,167
	2			0,127	0,1899	0,098	0,183	0,101	0,141	0,141	0,141	0,128	0,157	0,151	0,278	0,155	0,155
	3			0,095	0,1283	0,089	0,167	0,092	0,216	0,129	0,237	0,13	0,124	0,142	0,148	0,242	0,167
250Pb	1	0,317		0,364	0,2485	0,324	0,258	0,341	0,248	0,354	0,152	0,375	0,156	0,361	0,151	0,372	0,123
	2			0,321	0,2677	0,312	0,319	0,298	0,165	0,329	0,143	0,346	0,149	0,346	0,151	0,467	0,150
	3			0,337	0,2004	0,327	0,259	0,296	0,240	0,32	0,170	0,335	0,15	0,317	0,158	0,382	0,148
voda střed:	0,208																
Normování na střední hodnotu vody:																	
1000Zn	1	0,070	0	0,105	0,2122	0,090	0,164	0,113	0,163	0,141	0,118	0,148	0,205	0,136	0,099	0,229	0,162
	2	0	0	0,125	0,1868	0,097	0,179	0,105	0,147	0,140	0,118	0,130	0,159	0,142	0,261	0,150	0,151
	3	0	0	0,094	0,1262	0,088	0,164	0,095	0,224	0,128	0,236	0,132	0,126	0,133	0,139	0,235	0,163
	střed	0,023	0	0,108	0,1751	0,091	0,169	0,104	0,178	0,137	0,157	0,136	0,163	0,137	0,166	0,205	0,159
	T_2	810,31	#DIV/0!	175,01	108,54	206,92	112,02	181,04	106,42	138,71	120,62	138,71	115,99	138,23	114,0	92,45	119,4
250Pb	1	0,344	0	0,358	0,2444	0,317	0,253	0,354	0,258	0,353	0,151	0,381	0,158	0,338	0,142	0,362	0,120
	2	0	0	0,316	0,2633	0,306	0,313	0,309	0,172	0,327	0,142	0,351	0,152	0,325	0,141	0,454	0,146
	3	0	0	0,332	0,1971	0,321	0,25	0,308	0,25	0,318	0,169	0,341	0,152	0,298	0,148	0,371	0,144
	střed	0,114	0	0,335	0,2349	0,315	0,274	0,324	0,227	0,333	0,154	0,358	0,154	0,320	0,144	0,396	0,137
	T_2	165,3	#DIV/0!	56,62	80,873	60,29	69,32	58,57	83,66	57,00	122,86	53,03	122,94	59,22	131,54	47,97	138,52
Normování další na střední hodnotu substrátu pod kulturami:																	
1000Zn	1		0		0,2179		0,167		0,151		0,114		0,189		0,100		0,145
	2		#DIV/0!		0,1612		0,170		0,146		0,114		0,167		0,251		0,206
	3		#DIV/0!		0,1454		0,171		0,246		0,251		0,131		0,143		0,142
Střed			#DIV/0!		0,1749		0,169		0,181		0,160		0,162		0,165		0,164
	T_2		#DIV/0!		108,66		112,02		104,8		118,6		116,72		115,05		115,37
250Pb	1		0		0,229		0,251		0,236		0,143		0,149		0,13		0,131
	2		#DIV/0!		0,2794		0,322		0,180		0,144		0,155		0,14		0,127
	3		#DIV/0!		0,1991		0,250		0,262		0,177		0,160		0,160		0,154
Střed			#DIV/0!		0,2358		0,274		0,226		0,155		0,154		0,145		0,137
	T_2		#DIV/0!		80,574		69,15		83,81		122,46		122,77		131,03		137,87

Tab 4. 1000 Zn a 250 Pb

Tabulka naměřených hodnot pro koncentrace 500 Olova a 50 Zinku .

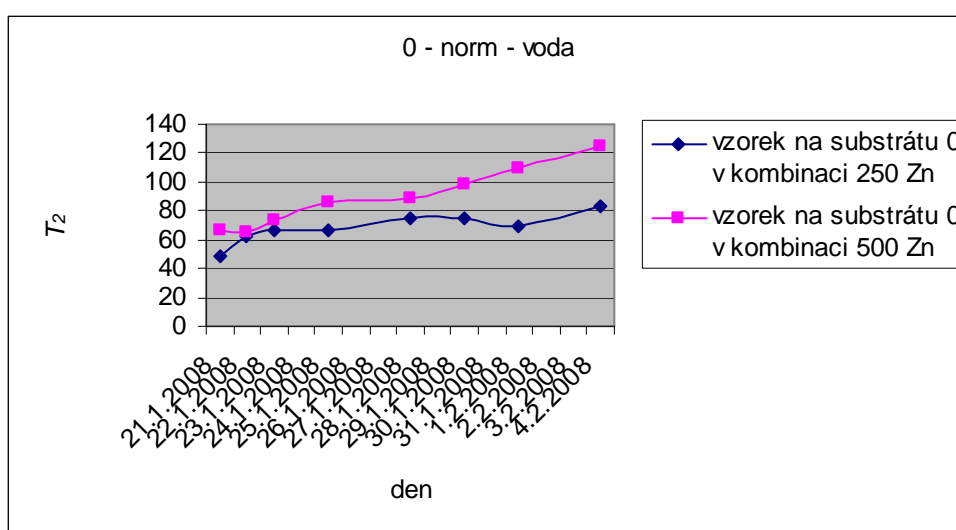
Den měření		21.1.08	21.1.08	22.1.08	22.1.08	23.1.08	23.1.08	25.1.08	25.1.08	28.1.08	28.1.08	30.1.08	30.1.08	1.2.08	1.2.08	4.2.08	4.2.08
Vzorek		Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek	Substrát	Vzorek
	Voda	0,131		0,178		0,136		0,169		0,197		0,196		0,186			
500Pb	1	0,240	0,232	0,316	0,292	0,301	0,188	0,297	0,252	0,344	0,328	0,367	0,225	0,346	0,203	Nerelevantní	
	2	0,253	0,203	0,297	0,342	0,308	0,238	0,316	0,188	0,341	0,292	0,353	0,236	0,354	0,233	Nerelevantní	
	3	0,277	0,262	0,330	0,195	0,329	0,161	0,321	0,275	0,370	0,188	0,369	0,230	0,373	0,189	Nerelevantní	
50Zn	1	0,256	0,313	0,308	0,283	0,281	0,202	0,338	0,233	0,370	0,292	0,381	0,220	0,37	0,205	nerelevantní	
	2	0,258	0,258	0,342	0,411	0,229	0,229	0,316	0,250	0,349	0,256	0,374	0,264	0,361	0,225	nerelevantní	
	3	0,254	0,282	0,323	0,354	0,254	0,244	0,319	0,237	0,346	0,180	0,363	0,260	0,369	0,211	nerelevantní	
voda stred:	0,1709																
Normování na střední hodnotu vody:																	
500Pb	1	0,312	0,301	0,302	0,279	0,377	0,236	0,299	0,254	0,297	0,283	0,320	0,196	0,317	0,186	#DIV/0!	#DIV/0!
	2	0,328	0,264	0,284	0,327	0,385	0,298	0,319	0,190	0,294	0,283	0,308	0,206	0,325	0,214	#DIV/0!	#DIV/0!
	3	0,360	0,186	0,315	0,187	0,412	0,202	0,324	0,277	0,320	0,162	0,321	0,201	0,342	0,173	#DIV/0!	#DIV/0!
	střed	0,334	0,250	0,300	0,264	0,391	0,245	0,314	0,240	0,304	0,243	0,316	0,201	0,328	0,191	#DIV/0!	#DIV/0!
	T ₂	56,88	75,77	63,14	71,77	48,48	77,36	60,42	78,97	62,43	78,12	59,98	94,35	57,80	99,19	#DIV/0!	#DIV/0!
50Zn	1	0,333	0,406	0,294	0,271	0,352	0,253	0,341	0,235	0,320	0,253	0,332	0,192	0,343	0,188	#DIV/0!	#DIV/0!
	2	0,336	0,335	0,327	0,393	0,287	0,286	0,319	0,253	0,302	0,221	0,326	0,230	0,331	0,206	#DIV/0!	#DIV/0!
	3	0,330	0,367	0,308	0,339	0,319	0,306	0,321	0,239	0,299	0,156	0,317	0,227	0,339	0,194	#DIV/0!	#DIV/0!
	střed	0,333	0,369	0,310	0,334	0,319	0,282	0,327	0,242	0,307	0,210	0,325	0,216	0,338	0,196	#DIV/0!	#DIV/0!
	T ₂	57,01	51,39	61,24	56,81	59,41	67,36	58,01	78,24	61,85	90,37	58,36	87,65	56,17	96,65	#DIV/0!	#DIV/0!
Normování další na střední hodnotu substrátu pod kulturami:																	
500Pb	1		0,322		0,278		0,245		0,266		0,289		0,194		0,192		#DIV/0!
	2		0,268		0,346		0,303		0,187		0,292		0,212		0,216		#DIV/0!
	3		0,172		0,178		0,192		0,269		0,154		0,198		0,166		#DIV/0!
Střed			0,254		0,267		0,246		0,241		0,245		0,201		0,192		#DIV/0!
	T ₂		74,65		70,99		76,97		78,84		77,35		94,29		98,97		#DIV/0!
50Zn	1		0,407		0,285		0,229		0,226		0,242		0,188		0,185		#DIV/0!
	2		0,332		0,372		0,318		0,259		0,225		0,229		0,210		#DIV/0!
	3		0,370		0,340		0,306		0,244		0,160		0,233		0,193		#DIV/0!
Střed			0,369		0,332		0,285		0,243		0,209		0,217		0,196		#DIV/0!
	T ₂		51,38		57,07		66,64		78,11		90,73		87,52		96,57		#DIV/0!

Tab 5. 500 Pb a 50 Zn

4.4.5 Porovnání relaxačních časů T_2 v grafech

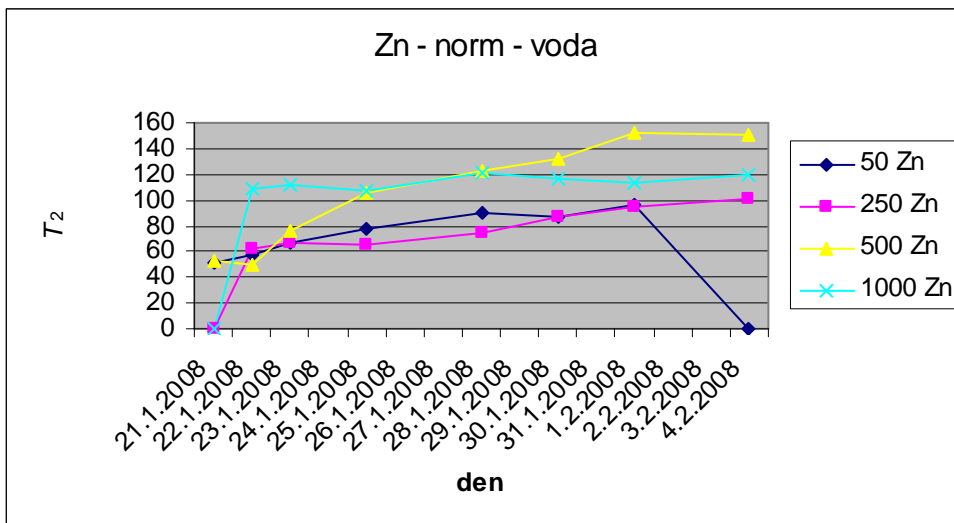
Z vypočtených hodnot jsme vynesly závislosti relaxačního času T_2 na datu měření. Z grafu můžeme číst, že se hodnota relaxace u smrkových kultur liší v závislosti na tom, čím je tvořen substrát, na kterém vzorky rostly. Hodnoty koncentrace substrátu ovlivňuje růst RSE.

Na obr. 4.10 je uvedená závislost T_2 raného somatického embrya kultivovaného na substrátu s koncentrací 0. Daná charakteristika je normována na střední hodnotu vody. Z grafu je patrné, že relaxační čas T_2 roste v závislosti na čase.



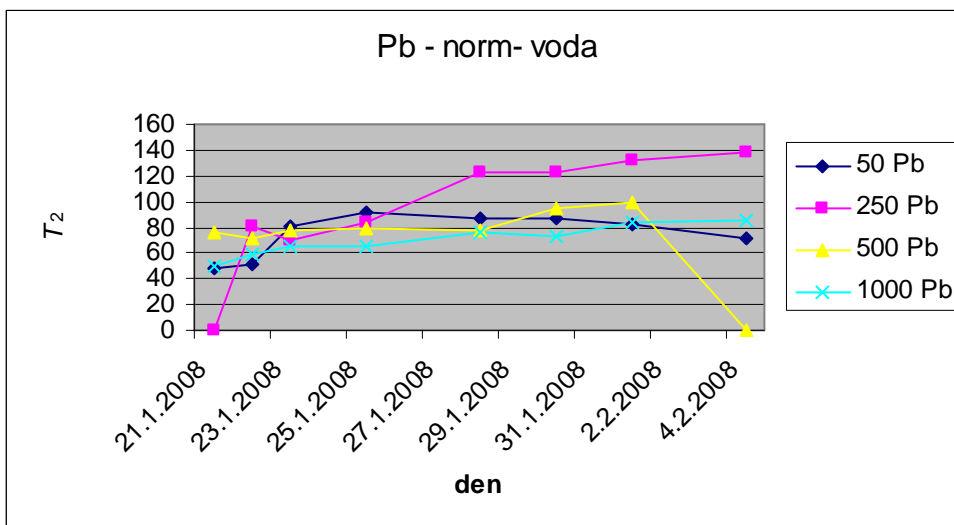
Obr. 4.10 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 s koncentrací 0 v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu vody.

Na obr. 4.11 je znázorněná závislost T_2 RSE na substrátu s různými koncentracemi zinku. Daná charakteristika je normována na střední hodnotu vody. Z grafu je patrné, že relaxační čas T_2 roste v závislosti na čase.



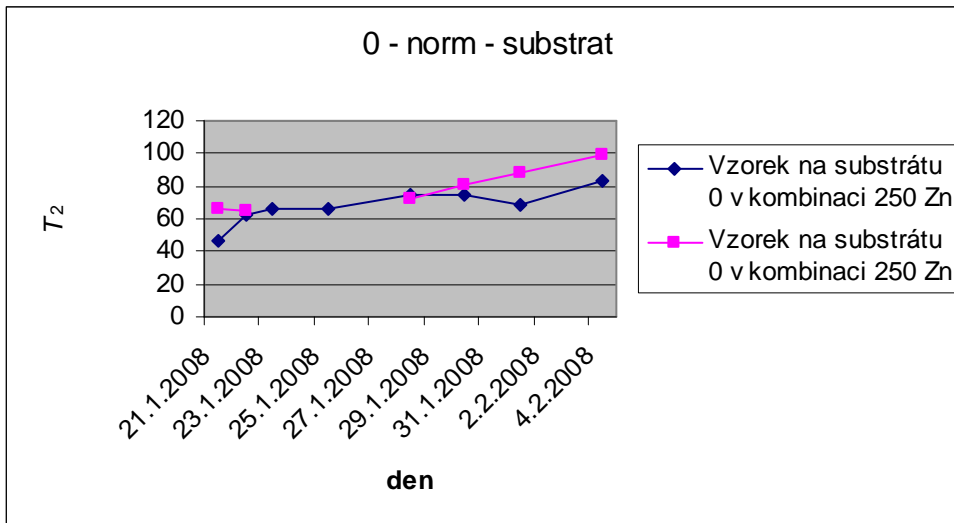
Obr. 4.11 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 zinku v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu vody.

Na obr. 4.12 je zobrazena závislost relaxačního času T_2 vzorku kultivovaného na substrátu s různými koncentracemi olova. Daná charakteristika je normována na střední hodnotu vody. Z grafu je patrné, že relaxační čas T_2 roste v závislosti na čase.



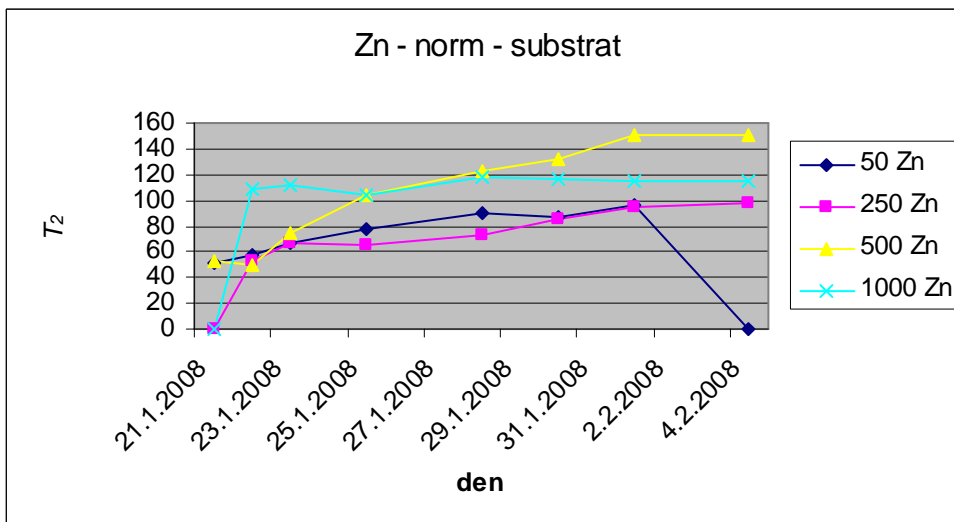
Obr. 4.12 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 olova v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu vody.

Na obr. 4.13 je uvedena závislost T_2 raného somatického embrya kultivovaného na substrátu s koncentrací 0. Daná charakteristika je normována na střední hodnotu substrátu. Z grafu je patrné, že relaxační čas T_2 roste v závislosti na čase.



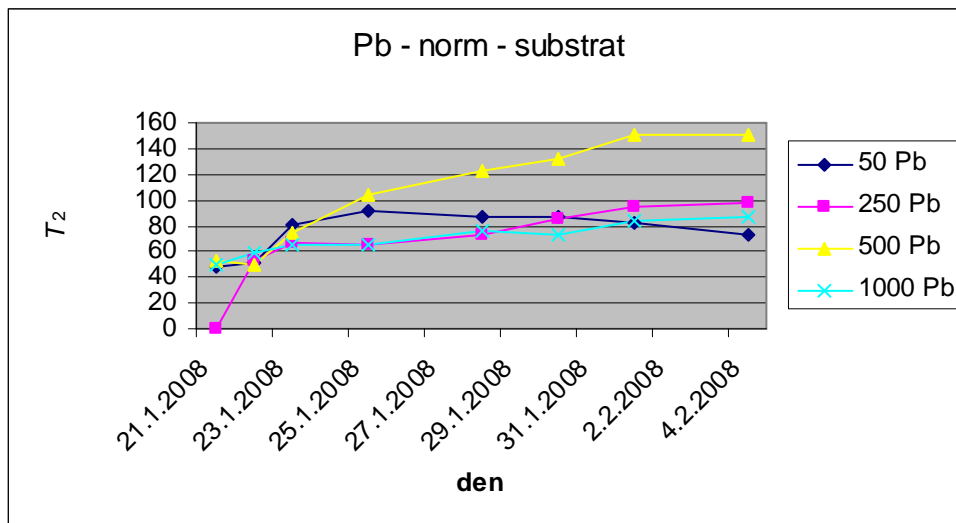
Obr. 4.13 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 s koncentrací 0 v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu substrátu.

Na obr. 4.14 je znázorněná závislost T_2 RSE na substrátu s různými koncentracemi zinku. Daná charakteristika je normována na střední hodnotu substrátu. Z grafu je patrné, že relaxační čas T_2 roste v závislosti na čase.



Obr. 4.14 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 zinku v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu substrátu.

Na obr. 4.15 je zobrazena závislost relaxačního času T_2 vzorku kultivovaného na substrátu s různými koncentracemi olova. Daná charakteristika je normována na střední hodnotu substrátu. Z grafu je patrné, že relaxační čas T_2 roste v závislosti na čase.



Obr. 4.15 Porovnání závislosti relaxačních časů T_2 olova v závislosti na dni. Normováno na střední hodnotu substrátu.

Měření umožnilo určení obsahu vody ve tkáňové kultuře pomocí nukleární magnetické resonance potvrdit hypotézu o zvýšení obsahu vody ve tkáňové kultuře při kontaminaci těžkým kovem. V našem případě se jednalo o olovo a zinek. Obsah vody v RSE se zvětšuje s koncentrací iontů v kultivačním mediu po 14 denní dobu pozorování.

5 Závěr

Cílem této práce bylo prohloubit poznatky o měření raných somatických embryí smrku ztepilého pomocí nukleární magnetické rezonance. V první části jsem popsal techniky měření relaxačních konstant T_1 a T_2 . Metoda NMR vyvolává řadu smíšených pocitů a to hlavně kvůli slovíčku „nukleární“. Představíme si řízený a neřízený uvolňování obrovské energie při rozpadu atomového jádra podle známého vztahu $E = m.c^2$. Opak je pravdou. NMR překvapivě pracuje s energiemi, které jsou tak nepatrné, že je mnohdy nedokážeme odlišit od elektronického šumu způsobeného tepelným pohybem. Pomocí NMR experimentů jsme schopni velmi přesně popisovat strukturu a vnitřní pohyblivost širokého spektra látek a systémů (od roztoků, velice měkkých a pohyblivých gelů, přes syntetické polymery až po organické a anorganické krystaly a velice tvrdé rigidní skla).

V druhé části bakalářské práci jsem změřil a vyhodnotil relaxační část T_2 . Z každého získaného obrazu jsme se snažil změřit celou sadu dat (13 hodnot). V případech koncentrace 0 a 250 Zn ze dne 21.1.2008, 1000 Zn a 250 Pb ze dne 21.1.2008 měření kvůli příliš malým rozměrům vzorků nebylo vyhodnoceno. Měření s koncentrací 500 Pb a 50 Zn ze dne 4.2.2008 bylo irelevantní. Data jsme zpracovávali pomocí programů Matlab a Marevisi a následně je pomocí normování upravili. Normování jsem provedl nejprve na střední hodnotu vody a následně na střední hodnotu substrátu, na kterém se vzorek kultivoval.

Měření umožnilo určení vlivu těžkých kovů (olovo a zinek) na obsah vody ve shlucích raných somatických embryí. Problémem v prováděném měření byla neustálá výměna a přenášení shluků, což vytvořilo systematické chyby měření. Při dalších pokusech by se měl klást důraz na minimalizaci chyb, které mohou způsobovat nepřesnosti v měření.

Literatura

- [1] HRABAL, R. Vznik NMR signálu a jeho další osud. NMR – lekce 2, Přednášky na Vysoké škole chemicko – technologické v Praze, [cit. 2006-01-20]. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/nmr/predmet/predmet.html>
- [2] DRASTICH, A. Tomografické zobrazovací systémy. Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2004. 208 stran.
- [3] HRABAL, R. Základní pojmy NMR spektroskopie. NMR – lekce 1, Přednášky na Vysoké škole chemicko – technologické v Praze, [cit. 2006-01-20]. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/nmr/predmet/predmet.html>
- [4] Seminář Moderní problémy NMR spektroskopie. Základy interpretace spekter NMR. Pec pod Sněžkou, 2003, [cit. 2006-05-02]. Dostupné z WWW: http://physics.mff.cuni.cz/kfnt/czech/menu/oddeleni/lang/pec/04/prezentace/stepankova_zaklady
- [5] MLYNÁRIK, V. Štúdium pomalých dynamických procesov pomocou NMR relaxačných časov. Bratislava: Fakultná nemocnica s poliklinikou akad. L. Dédera, 2001. 43 stran.
- [6] HRABAL, R. Vybrané kapitoly z praktické NMR spektroskopie. NMR – lekce 5, Přednášky na Vysoké škole chemicko – technologické v Praze, [cit. 2006-01-20]. Dostupné z WWW: <http://www.vscht.cz/nmr/predmet/predmet.html>
- [7] BARTUŠEK, K. Organizace embryí ve shlucích raných somatických embryí smrku ztepilého. Chemické listy (IF = 0.348). 2005. 99(13). p. 377 - 377. ISSN 0009-2770.
- [8] HSU, J.J., LOWE, I. J. Spin-lattice relaxation and a fast T1-map acquisition method in MRI with transient-state magnetization. Journal of Magnetic Resonance, 2004, č. 169, s. 270-278
- [9] PATYAL, B. R., GAO, J.H., Williams, R. F., ROBY, J., SAAM, B., ROCKWELL, B. A., THOMAS R. J., STOLARSKI, D. J., FOX, P. T. Longitudinal Relaxation and Diffusion Measurements Using Magnetic Resonance Signals from Laser – Hyperpolarized ^{129}Xe nuclei. Journal of Magnetic Resonance, 1997, č. 126, s. 58-65
- [10] RYCHNOVSKÝ, J., BARTUŠEK, K. Experimentální ověření vlastností pěnového skla jako izolace pracovní komory pro ^{129}Xe MR tomografii. Elektrorevue [online]. 8. 12. 2004, Dostupné na WWW: <http://www.elektrorevue.cz/clanky/04062/index.html>
- [11] BARTUŠEK, K. Processing of MR images weighted by relaxation time T2 to increase their contrast resolution. Measurement Science and Technology. 2006. 17(4). p. 727 -730. ISSN0957-0233.

Přílohy

{P1} Program logobrnuly.m

```
clear

% Načtení hodnot potřebných k výpočtům
if ~exist('DATA','var'),
    [filename,pathname] = uigetfile('*.*mat', 'Otevreni ks-datoveho souboru');
    fname1=[pathname,filename];
    if ~isempty(fname1),
        clear DIM SIZE DIR_NAME FOV DOMAIN HZ_PPM
        load(fname1);
        [ps,pr]=size(DATA);
        DATA1=DATA(1:2:ps,1:2:pr)+j*DATA(1:2:ps,2:2:pr);
        end
    end
clear DATA
if ~exist('DATA','var'),
    [filename,pathname] = uigetfile('*.*mat', 'Otevreni ks-datoveho souboru');
    fname2=[pathname,filename];
    if ~isempty(fname2),
        clear DIM SIZE DIR_NAME FOV DOMAIN HZ_PPM
        load(fname2);
        [ps,pr]=size(DATA);
        DATA2 =DATA(1:2:ps,1:2:pr)+j*DATA(1:2:ps,2:2:pr);
        end
    end
end

% Provedení Fourierove transformace
data1=fftshift(iff2(DATA1));
data2=fftshift(iff2(DATA2));
maxdata=max(max(abs(data1)));

% Prahování
% a = 0.03 * maxdata;
a = 0.1 * maxdata;
for i = 1:256
    for k = 1:256
        if abs(data1(i,k))<a
```

```

        ll(i,k)= 0.000001;
    else
        ll(i,k) = data1(i,k);
    end
end
end
data1 = abs(ll);
for i = 1:256
    for k = 1:256
        if abs(data2(i,k))<a
            ll(i,k)= 0.000001;
        else
            ll(i,k) = data2(i,k);
        end
    end
end
end
data2 = abs(ll);
% Výpočet logaritmů obrazů a následné odečítání
ldata1 = log((abs(data1)));
ldata2 = log((abs(data2)));
ldata = ldata1 - ldata2;
% Uložení dat ve formátu *.mat
DIM= 2;
SIZE = [256 256];
DIR_NAME = ['ph-enc ' ; 'readout'];
FOV = [1 1];
DOMAIN = [3 3];
HZ_PPM = [200.1025 200.1025];
%tfname = input("Target MAT-file name: ','s');
%ffname=[pathname,tfname];
%if ~isempty(tfname),
    % Save in Matlab 4 format for Marevisi to understand
    %save(tfname,'DIM','SIZE','DIR_NAME','FOV','DOMAIN','HZ_PPM','DATA','-V4');
    % save(ffname,'DIM','SIZE','DIR_NAME','FOV','DOMAIN','HZ_PPM','DATA','-V4');
%end
DATA = ldata;
tfname = input("Target MAT-file name: ','s');
ffname=[pathname,tfname];
save(ffname,'DIM','SIZE','DIR_NAME','FOV','DOMAIN','HZ_PPM','DATA','-V4');

```