ПОЛУЧЕНИЕ СПЕКТРОВ ПМР

Для получения спектра ПМР достаточно высокого разрешения используются в основном жидкие маловязкие образцы. Вещество помещают в виде раствора в тонкую (диаметром 5 мм) цилиндрическую ампулу длиной ~ 150 мм. Ампула заполняется на 40—50 мм, для чего требуется около 0,5 мл раствора. Концентрация этого раствора обычно составляет 0,2 моль/л, или 5—20 %, т. е. для приготовления пробы требуется 5—10 мг вещества. Применяемый растворитель в идеальном случае не должен содержать собственных протонов (ССЦ и дейтерированные растворители: D2O, CDC13, C6D6, CD3COCD3 и т. д.). В ампулу вводится также небольшое количество (~1%) ТМС в качестве внутреннего эталона.

Ампула с образцом помещается в мощное постоянное магнитное поле; напряженность поля в зависимости от рабочей частоты составляет 14—117,4 кГс (килогаусс). К однородности этого поля предъявляются очень высокие требования, так как ею в основном определяется качество получаемых спектров. Ампула в приборе вращается, чтобы исключить возможность проявления неоднородности образца. Очень важно отсутствие в образце нерастворимых частиц, которые могут вызвать местное изменение поля.

В перпендикулярном направлении к основному прикладывается вращающееся магнитное поле, имеющее постоянную частоту (например, 100 или 300 МГц или более), и накладывается дополнительное вращающееся поле изменяющейся частоты (например, 0—6000 Гц для рабочей частоты 300 МГц). Поглощение энергии при данной частоте регистрируется специальным датчиком. Спектр представляет собой зависимость интенсивности поглощения энергии от величины δ, отражающей изменение частоты вращающегося поля. Обычно спектр выглядит как набор узких резонансных сигналов, соответствующих отдельным типам протонов. Для определения интенсивности (точнее, площади) сигналов современные приборы снабжены устройством для электронного интегрирования спектров.

Таким образом, спектр ПМР позволяет определить количество различающихся типов протонов и число протонов каждого данного типа.

Наблюдать протонные спектры на резонансных частотах выше 100 МГц можно только с использованием сверхпроводящих магнитов. Такой магнит имеет следующее устройство: Соленоид, намотанный из сплавов ниобия, погружен в емкость с жидким гелием, которая находится внутри высококачественного криостата (большой цилиндр справа на рис. 1.3). Криостат имеет внешнюю охлаждающую рубашку для охлаждения «радиационного экрана», заполненную жидким азотом. Продуманная конструкция и тщательное изготовление криостата обеспечивают низкий расход жидкого гелия. Его добавляют в криостат каждые 1-5 мес в зависимости от модели конструкции. Внутри отверстия магнита помещен набор градиентных катушек для устранения градиентов поля («шиммы»), а внутри их находится датчик ЯМР (рис. 1.5). Датчик - самая ответственная часть всей системы. Он обеспечивает передачу импульсов к образцу и регистрацию сигналов ЯМР. В спектрометре, MSL-300, датчики вставляются снизу с основания криостата в активную область магнита. При необходимости датчик можно заменить на другой. Образцы для измерений готовятся в обычных цилиндрических ампулах для ЯМР. Образец опускается через верхнее отверстие в зазор криостата и попадает в верхнюю часть датчика. Образец вращается вокруг вертикальной оси с помощью воздушной турбинки. Шиммирующие катушки для настройки однородности поля, датчик и образец находятся при комнатной температуре, хотя совсем рядом с ними поддерживается температура жидкого гелия 4 К.

Пульт спектрометра содержит генератор радиочастотных импульсов и приемник для регистрации сигналов ЯМР. Оба этих блока похожи на обычные радиоустройства. В современных спектрометрах предусматриваются возможности для получения самых разных импульсных последовательностей с различной продолжительностью и фазой, т.е. для осуществления «импульсного программирования». Все функции спектрометра находятся под контролем компьютера, который также используется для обработки данных и представления результатов. Электрические сигналы ЯМР превращаются в цифровые данные для ввода в компьютер с помощью аналого-цифрового преобразователя. Именно он часто является узким местом, ограничивающим класс экспериментов, которые мы можем выполнять.

Все современные ЯМР-спектрометры высокого разрешения работают по принципу импульсного ЯМР. Это означает, что вместо метода непрерывной развертки при котором для увеличения разрешения требуется существенное увеличение времени эксперимента, по данному методу образец облучается коротким и мощным радиочастотным импульсом, а затем фиксируется затухающий отклик, который называют fid – или ССИ – спад свободной индукции.

Затем мы можем повторить эксперимент для улучшения отношения сигнал/шум. При увеличении количества повторений в н раз соотношение улучшается в корень из н раз. После выполнения достаточного числа повторений мы получаем в свое распоряжение данные, содержащие информацию обо всех частотах в спектре ЯМР, однако в непривычной для нас форме. Это временное представление спектра. Для перехода к привычной форме или к частотному представлению спектра необходимо провести Фурье-преобразование. ФИД фиксируется время порядка 1с. У нас 1.35с.

Время накопления AQ = 1.35 определяет разрешение спектра. А частота с которой выбираются точки в ФИДе при его оцифровке определяют ширину спектра. До преобразования с ФИДом можно сделать необходимые операции, например экспоненциальное умножение для улучшения соотношения сигнал-шум.





Еще одно преимущество импульсной ЯМР-спектроскопии заключается в том, что мы можем давать не один импульс, а целые последовательности импульсов через заданные интервалы. Такие эксперименты дают интересные результаты. В частности, на этом принципе основано получение двумерных спектров.

Шимовые катушки служат для настройки однородности магнитного поля в спектрометре. В принципе шиммы нужно настраивать по ФИДу – стараться получить как можно более длинный фид след. Можно взять больше AQ. И добиться лучшего разрешения. Именно поэтому настройку шиммов часто называют настройкой разрешения. Однако на практике шиммы настраивают по сигналу дейтерия в растворителе. Амплитуда сигнала лока зависит от нескольких факторов и в том числе от однородности поля. Поэтому ее можно использовать в качестве критерия при шиммировании. Изменением тока, проходящего через соответствующие катушки добиваются максимальной амплитуды сигнала лока. При первоначальной настройке настраиваются все шиммы. Затем, при переходе от образца к образцу только Z и Z2.

На магнитное экранирование протона влияет множество факторов, в связи с чем зависимость между положением ядра в молекуле и соответствующим химическим сдвигом носит эмпирический характер. Основным из таких факторов является электронная плотность вокруг данного протона. Чем выше эта плотность, тем больше ее влияние на внешнее поле и, следовательно, тем в более сильном поле проявится резонансный сигнал. Влияние этого фактора соответствует тому, что протон, обладающий более кислыми свойствами (с меньшей плотностью электронной оболочки) резонирует в более слабом поле. На электронную плотность вблизи ядра существенно влияет индукционный эффект заместителя и присутствие соседних непредельных группировок, так как в последнем случае благодаря эффекту сопряжения электроны связи С—Н смещаются на соседнюю связь С—С. Таким образом, по величине химического сдвига может быть определено положение протона в органической молекуле. Однако сигналы от протонов, незначительно отличающиеся по химическому сдвигу, могут перекрываться полностью или частично. Так, незначительно различающиеся по положению метиленовые группы в ациклических цепях или циклических системах часто сливаются в один широкий сложный сигнал.