

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Марийский государственный технический университет

ИЗУЧЕНИЕ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА

Лабораторный практикум

Йошкар-Ола
2010

УДК 539.143.43(07)

ББК 22.344

И 39

Рецензенты:

доктор химических наук, профессор МарГТУ **Ю. Б. Грунин;**

кандидат химических наук, доцент МарГТУ

Г. Ш. Гогелашвили.

*Печатается по решению
редакционно-издательского совета МарГТУ*

Изучение магнитно-резонансных методов анализа: лабораторный практикум / Л. Ю. Грунин, Е. А. Никольская, Д. Р. Сабирова, А. О. Смирнова. – Йошкар-Ола: Марийский государственный технический университет, 2010. – 60 с.

Изложены теоретические основы явления ядерного магнитного резонанса, метода ядерного магнитного резонанса высокого разрешения, двумерной спектроскопии, ядерного магнитного резонанса низкого разрешения. Даны характеристики ЯМР-анализатора низкого разрешения. Представлена методика выполнения лабораторных работ по изучению метода ядерной магнитной релаксации.

Лабораторный практикум предназначен для студентов строительных, технических и биомедицинских специальностей.

УДК 539.143.43(07)

ББК 22.344

И 39

© Марийский государственный
технический университет, 2011

Предисловие

Организация лабораторных работ для студентов, изучающих физику, химию, биофизику и дисциплины медико-биологического профиля, является важной задачей, особенно учитывая хорошую оснащенность кафедры физики современными ЯМР-анализаторами. Выполнение лабораторных работ может стать начальным этапом разработки новых методик анализа контрастирующих агентов томографии, новых методов контроля качества.

Тематика лабораторных работ охватывает вопросы, связанные с практической деятельностью будущего специалиста, и направлена на приобретение навыков применения метода ЯМР.

По каждой отдельной работе оформляется отчет, который предъявляется на проверку ведущему преподавателю. В отчете указываются название лабораторной работы, ее цель, задание, кратко излагается методика проведения работы, приводятся полученные результаты и основные выводы о проделанной работе.

Успешному выполнению лабораторных работ предшествует предварительная теоретическая подготовка студентов по материалам лекций и рекомендуемой литературе.

Данный лабораторный практикум предназначен для студентов специальностей 200402.65 Инженерное дело в медико-биологической практике, 270102.65 Промышленное и гражданское строительство, 280302.65 Комплексное использование и охрана водных ресурсов, 280101.65 Безопасность жизнедеятельности в техносфере и др.

Введение

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) — резонансное поглощение электромагнитной энергии веществом, содержащим ядра с ненулевым спиновым магнитным моментом во внешнем магнитном поле, обусловленное переориентацией магнитных моментов ядер. Под релаксацией понимают процесс перехода системы из неравновесного (возбужденного) состояния в равновесное. Этот переход происходит вследствие теплового движения структурных элементов, из которых состоит данная система.

Метод ЯМР по сравнению с другими методами изучения веществ имеет много преимуществ. Во-первых, он не разрушает изучаемый материал. Во-вторых, исследуемый образец нетрудно приготовить. В-третьих, на проведение эксперимента требуется незначительное время.

Ядерная магнитная релаксация является мощным методом физико-химического анализа. ЯМР - релаксационные измерения применяются в пищевой, фармацевтической, нефтедобывающей и нефтеперерабатывающей промышленности, в полимерной индустрии, медицине и в экологическом мониторинге. Большим спросом пользуются ЯМР - релаксационные измерения при разработке контрастирующих агентов для томографии, позволяя наиболее быстро и точно получать информацию о возможном усилении контраста изображения, не проводя непосредственных клинических испытаний.

Техника безопасности

при проведении лабораторных и практических работ
в лаборатории физико-химических методов анализа

1. Общие требования безопасности

1.1. К работе с электроизмерительными приборами, электроустановками, ЭВМ (под руководством преподавателя или ответственного за лабораторию) допускаются лица, прошедшие инструктаж по охране труда, медицинский осмотр и не имеющие противопоказаний по состоянию здоровья.

1.2. При работе в лаборатории студенты должны соблюдать правила поведения, расписания учебных занятий, установленные режимы труда и отдыха.

1.3. При работе с электроизмерительными приборами возможно воздействие на работающих следующих опасных факторов:

а) поражение электрическим током при прикосновении к оголенным проводам и при работе с приборами, находящимися под напряжением;

б) травмирование рук при использовании неисправного инструмента.

ПОМНИТЕ Электрический ток может вызвать ожоги, обморок, судороги, прекращение дыхания, даже смерть.

1.4. **ЗНАЙТЕ** К индивидуальным средствам защиты относятся:

- для глаз – защитные очки,
- для лица – маска, для рук – диэлектрические перчатки,
- для дыхательных путей – респиратор.

При выполнении лабораторных работ должны использоваться указатели напряжений и инструмент с изолированными ручками.

1.5. В лаборатории для выполнения лабораторных работ должна быть медицинская аптечка с набором необходимых медикаментов и перевязочных средств.

1.6. Студенты обязаны соблюдать правила пожарной безопасности, знать места расположения первичных средств пожаротушения.

1.7. При несчастном случае пострадавший или очевидец несчастного случая обязан немедленно сообщить преподавателю или заведующем лабораторией, который сообщает об этом администрации МарГТУ. При неисправности электроизмерительных приборов, инструмента прекратить работу и сообщить об этом преподавателю или зав. лабораторией.

1.8. В процессе работы соблюдать правила ношения спецодежды, пользование индивидуальными и коллективными средствами защиты, соблюдать правила личной гигиены, содержать в чистоте рабочее место.

1.9. Студенты, допустившие невыполнение или нарушение инструкции по охране труда привлекаются к дисциплинарной ответственности в соответствии с правилами внутреннего трудового распорядка МарГТУ и подвергаются внеочередной проверке знаний правил охраны труда.

2. Требования безопасности перед началом работы.

2.1. Получив разрешение на проведение лабораторных работ – **ПРОВЕРЬТЕ** состояние и исправность электроизмерительных приборов и инструмента, наличие и исправность защитного заземления.

2.2. Подготовить необходимое для работы материалы, приспособления и разложить на свои места, убрать с рабочего стола все лишнее.

2.3. Подготовить к работе средства индивидуальной защиты, убедиться в их исправности.

3. Требования безопасности во время работы

3.1. **ПОМНИТЕ:** электрический ток величиной 0,1 А и напряжение 42 В опасен для жизни человека.

3.2. Пребывание студентов в лаборатории разрешается только в присутствии преподавателя или ответственного за лабораторию.

3.3. Лабораторные работы студенты проводят только в присутствии преподавателя или ответственного за лабораторию.

3.4. Запрещается принимать электрические приборы и устройства, не соответствующие требованиям безопасности труда. Не применять оборудование, приборы и кабели с открытыми токоведущими частями.

3.5. Все электрические приборы должны иметь указатели напряжений, на которые они рассчитаны.

3.6. Все работы с едкими, огнеопасными химическими веществами проводят в вытяжном шкафу в присутствии лаборанта или преподавателя с использованием средств индивидуальной защиты.

4. Требования безопасности в аварийных ситуациях

4.1. При обнаружении неисправности в работе электроизмерительных приборов или лабораторной установки, находящихся (повышенном их нагревании, появления искрения и т.д.) немедленно отключить источник электропитания, вывести табличку о неисправности оборудования и сообщить об этом преподавателю или зав. лабораторией.

4.2. При коротком замыкании в электроизмерительных приборах и лабораторных установках и их загорании, немедленно отключать их от электросети, сообщить о пожаре в пожарную часть по телефону 9-01 и приступить к тушению очага возгорания углекислотным (порошковым) огнетушителем или песком.

4.3 При получении травмы сообщить преподавателю или заведующему лабораторией, которому оказать первую помощь пострадавшему, при необходимости отправить его в ближайшее лечебное учреждение, сообщить об этом администрации МарГТУ.

5. Требования безопасности по окончании работы

5.1. Отключить электроизмерительные приборы и лабораторные установки от электросети.

5.2. Привести в порядок рабочее место.

5.3. Заявить преподавателю или ответственному за лабораторию об окончании работы и получить разрешение на уход из лаборатории.

1 ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ЯМР

Квантово-физическое описание взаимодействий в ЯМР

Эффект магнитного резонанса имеет исключительно квантово-физическую природу, поэтому в основе количественного описания и применения ЯМР и ЭПР (электронный парамагнитный резонанс) лежит специфическая математика *операторов* и *состояний*. Без подобной математики невозможны количественные расчеты сигналов. Ядра, на которых наблюдается ядерный магнитный резонанс, взаимодействуют друг с другом и с внешними магнитными полями и данные взаимодействия несут в себе информацию о структуре и динамике биофизической системы.

Важно отметить, что магнитный резонанс возможно наблюдать только на ядрах, которые обладают спиновыми магнитными моментами. Наиболее часто используется ЯМР на ядрах водорода ^1H , фтора ^{19}F , довольно мало распространенных изотопов углерода ^{13}C , азота ^{15}N , кислорода ^{17}O , фосфора ^{31}P и некоторых других.

Все взаимодействия в квантово-физической системе ядер описываются при помощи операторов энергии – гамильтонианов. Только на основе построенного гамильтониана возможен дальнейший расчет параметров ЯМР сигналов и их связи с макроскопическими характеристиками образца. Однако, этот факт, как правило, не затрудняет понимание явления ЯМР, а наоборот, позволяет дать более систематичный взгляд на проблему.

В общем случае зависящий от времени оператор полной энергии $H(t)$ спиновой системы, находящейся в возмущающих магнитных полях, представляет собой сумму:

$$H(t) = H_z + H_{rf}(t) + H_J + H_D,$$

где H_Z – описывает взаимодействие с внешним постоянным полем, $H_{rf}(t)$ – с электромагнитным полем генератора спектрометра ЯМР, а $H_J + H_D$ несет информацию о взаимном влиянии ядер друг на друга.

Взаимодействия с магнитным полем постоянного магнита

На рис. 1 схематично показано воздействие внешних магнитных полей на образец во время ЯМР - эксперимента.

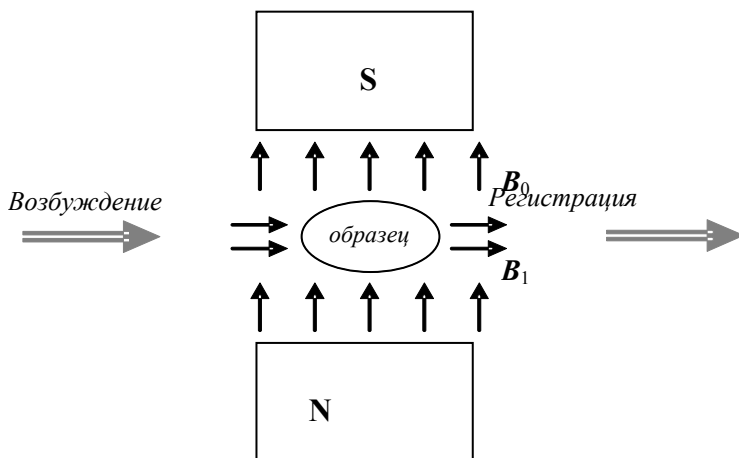


Рис. 1. Воздействие магнитных полей на образец в ЯМР - эксперименте

Спиновый магнитный момент $\vec{\mu}$ ядра определяется его механическим моментом $\vec{S}$ (спином) и гиромагнитным отношением γ :

$$\vec{\mu} = \gamma \cdot \vec{S},$$

а энергия W взаимодействия магнитного момента с внешним магнитным полем $\mathbf{B}_0$ рассчитывается по формуле

$$W = \vec{\mu} \cdot \mathbf{B}_0.$$

В формате квантово-механических операторов, таким образом, можно записать выражение для гамильтониана взаимодействия ядра и поля, предполагая, что вектор $\mathbf{B}_0$ направлен вдоль оси Z лабораторной системы координат:

$$H_Z = -\gamma \cdot I \mathbf{B}_0.$$

Здесь через I мы обозначили оператор спинового момента ядра.

При внесении атомов в магнитное поле $\mathbf{B}_0$ происходят изменения в движении электронов, которые, согласно правилу Ленца, стремятся создать индукционный ток, а индукционный ток, в свою очередь, – магнитное поле, направленное противоположно $\mathbf{B}_0$.

Таким образом, создается экранирующее магнитное поле $\mathbf{B}_{loc}$, и результирующее магнитное поле на ядре будет определяться как

$$\mathbf{B}_0^{res} = \mathbf{B}_0 - \mathbf{B}_{loc}.$$

Как следует из закона электромагнитной индукции, $\mathbf{B}_{loc}$ пропорционально $\mathbf{B}_0$. Обозначив через σ постоянную экранирования – коэффициент пропорциональности в выражении $\mathbf{B}_{loc} = \sigma \mathbf{B}_0$, получим значение результирующего магнитного поля $\mathbf{B}_0^{res}$ на ядре

$$\mathbf{B}_0^{res} = \mathbf{B}_0 (1 - \sigma),$$

и, далее, с учетом теоремы Лармора ($\omega_0 = \gamma \mathbf{B}_0$) частотный сдвиг $\Delta\omega$ линии спектра от частоты невозмущенного резонанса ω_0 :

$$\Delta\omega = \sigma\omega_0.$$

Сдвиг спектральных линий, вызванный эффектом электронного экранирования, продемонстрирован на рис. 2.

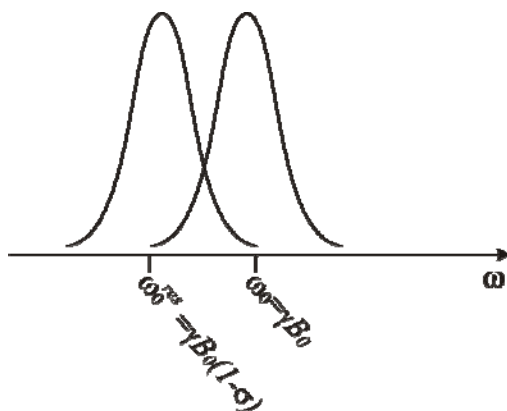


Рис. 2. Влияние электронного экранирования на положение линии магнитного резонанса ядра

Важно заметить, что ядра атомов, находящихся в эквивалентном химическом положении (например, протоны водорода в группе $-\text{CH}_3$), испытывают одинаковый экранирующий эффект.

На практике для парамагнитных атомов водорода σ составляет значение до $10..20 \times 10^{-6}$.

Для парамагнитных атомов ^{13}C σ будет достигать нескольких десятков, а иногда и сотен.

Величина σ , выраженная в миллионных долях, называется химическим сдвигом δ :

$$\delta = \sigma \cdot 10^6 \text{ м.д. (ppm)}.$$

Таким образом, для системы ядерных спинов мы можем записать гамильтониан **Зеемановского взаимодействия и электронного экранирования**, которое, в свою очередь, обуславливает химический сдвиг:

$$H_Z = -\sum_j \gamma I_j (1 - \sigma) \mathbf{B}_0, \quad (1)$$

где $\mathbf{B}_0$ – вектор внешнего постоянного магнитного поля, I_j – оператор j -го спина, σ – константа электронного экранирования.

Величина химического сдвига возрастает с увеличением плотности электронного экранирования. Так, например, циркуляционные токи в бензольном кольце сдвигают резонанс протонов на 7..9 м.д. Ядра ^1H , принадлежащие алифатическим группам, занимают диапазон 1..3 м.д., а положение в спектре протонов полярных гидроксильных групп во многом определяется природой растворителя. На рис. 3 показаны диапазоны химических сдвигов в ЯМР спектрах ^1H , при помощи которых уже возможно отождествлять химические соединения.

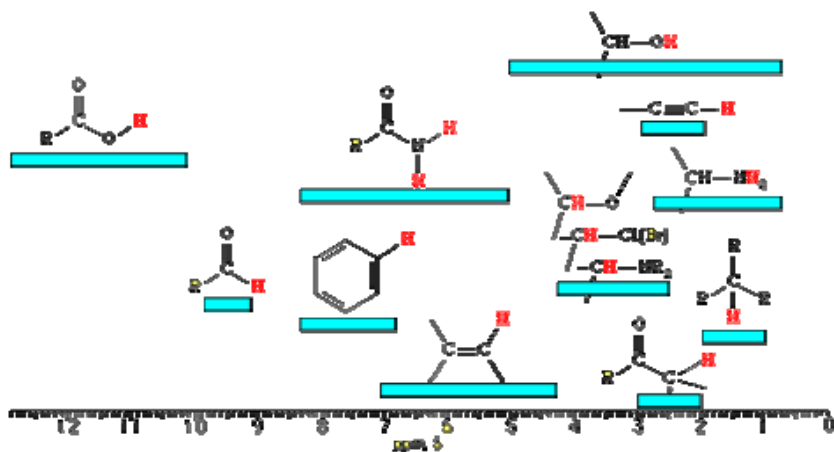


Рис. 3. Диапазоны химических сдвигов протонов в различных функциональных группах

Для наблюдения явления ядерного магнитного резонанса необходимо вывести спиновую систему образца из состояния термодинамического равновесия. В современных импульсных ЯМР-экспериментах это делается при помощи подачи радиочастотных сигналов на катушку индуктивности, в которую помещается образец. Таким образом, резонирующие ядра оказываются в двух искусственно создаваемых полях – постоянном B_0 и импульсном переменном $B_1(t)$ (рис. 1).

По аналогии с (1), нестационарное *воздействие возбуждающих импульсных последовательностей* можно представить в следующем виде

$$H_{rf}(t) = -\sum_j \gamma I_j \mathbf{B}_1(t). \quad (2)$$

Гамильтониан $H_{rf}(t)$ отвечает за поворот вектора макроскопической намагниченности образца в лабораторной системе координат на угол θ (рис. 4), а в системе спинов ядер он изменяет населенности энергетических уровней Зеемановского расщепления, вызванного гамильтонианом H_Z .

Угол поворота θ вектора ядерной намагниченности $\mathbf{M}$ образца связан с временем τ действия переменного поля $\mathbf{B}_1$ следующим выражением:

$$\theta = \gamma \mathbf{B}_1 \tau.$$

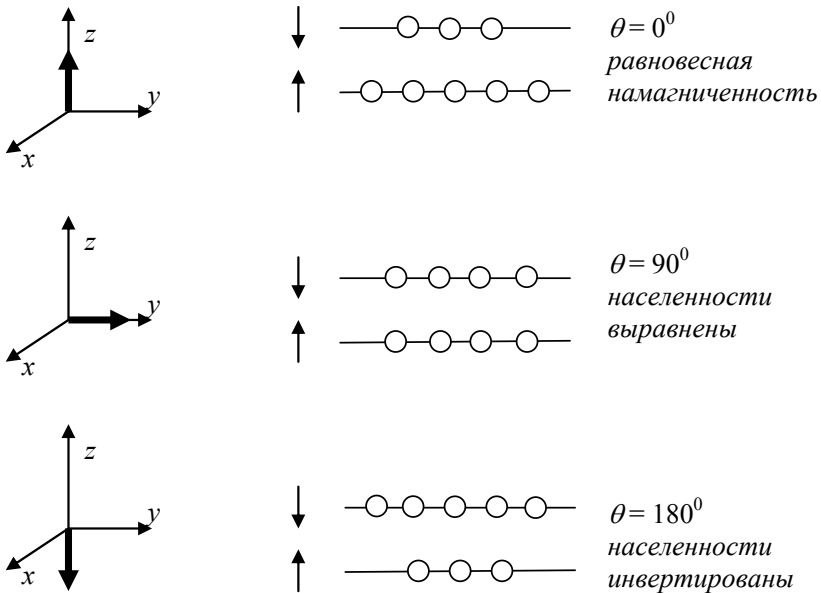


Рис. 4. Влияние радиочастотного возбуждающего поля $\mathbf{B}_1(t)$

Взаимное влияние ядерных спинов

Выделив в системе отдельный спин, рассмотрим влияние соседних ядер, которые также обладают магнитным дипольным моментом. Это влияние может появляться как непосредственное взаимодействие магнитных диполей (гамильтониан H_D), либо косвенным способом – через электронные облака (гамильтониан H_J). Опишем более подробно каждое из этих взаимодействий.

Прямое спин-спиновое (диполь-дипольное) магнитное взаимодействие эффективно проявляется только при ограниченной подвижности спинов, так как в случае поступательного и вращательного броуновского движения оно усредняется за короткий отрезок времени, значительно меньший, чем период регистрации сигнала. Исходя из известного выражения для поля магнитного диполя, создаваемого на расстоянии r и под углом θ к его оси, выражение для гамильтониана прямых спин-спиновых взаимодействий системы спинов принимает вид:

$$H_D = \frac{1}{2} \sum_{i < j} \frac{\mu_0 \gamma^2 \hbar}{4\pi r_{ij}} (1 - 3 \cos^2 \theta_{ij}) (3I_{iz} I_{jz} - \mathbf{I}_i \mathbf{I}_j) \quad (3)$$

Здесь θ_{ij} – угол между вектором, соединяющим спины i и j , и направлением $\mathbf{B}_0$, r_{ij} – расстояние между ними. Дипольный гамильтониан используется для расчетов времен ядерной магнитной релаксации T_1 и T_2 , играющих важную роль в методиках изучения динамики биофизических систем.

Косвенное взаимодействие ядерных спинов через электронные облака друг друга (J – coupling, сверхтонкое взаимодействие, скалярное расщепление) происходит по следующему механизму. Соседний спин j возмущает движение электронов вокруг рассматриваемого ядра i , и в зависимости от ориентации j вдоль или против поля $\mathbf{B}_0$ создается расщепление

основной спектральной линии. В общем случае сверхтонкое взаимодействие, зависящее от ориентации магнитных моментов анизотропно, описывается тензором J_{ij} . Формально гамильтониан H_J записывается в следующем виде:

$$H_J = 2\pi \sum_{i < j} I_i J_{ij} I_j. \quad (4)$$

Фактически, наличие не нулевого вклада H_J в спектре ЯМР дает расщепление линии на две, три или более компонент, в зависимости от числа возможных ориентаций соседних спинов. Скалярное расщепление происходит только в результате взаимодействия спинов, имеющих разные по конфигурации электронные облака, то есть находящихся в неэквивалентных химических положениях, а, следовательно, обладающих различными химическими сдвигами.

Величина константы J косвенного спин-спинового расщепления зависит от расстояния между спинами, участвующими во взаимодействии. Вместе с измерениями химических сдвигов это делает возможным прямое проведение исследований химической структуры, отождествляя типы радикалов, измеряя расстояния и углы. Например, на рис. 5 представлена экспериментальная зависимость величины скалярного расщепления от угла между связями Н – С – Н (предполагается, атомы водорода химически неэквивалентны).

Оператор плотности. Для количественного описания квантовофизического явления ЯМР необходимо знать состояние спиновой системы – ее матрицу плотности $\rho(t)$ и всевозможные взаимодействия, характеризующиеся гамильтонианом $H(t)$, которые приводят к изменениям в функции состояния.

Описание эволюции квантовомеханической системы во время эксперимента строится на базе оператора (матрицы) плотности

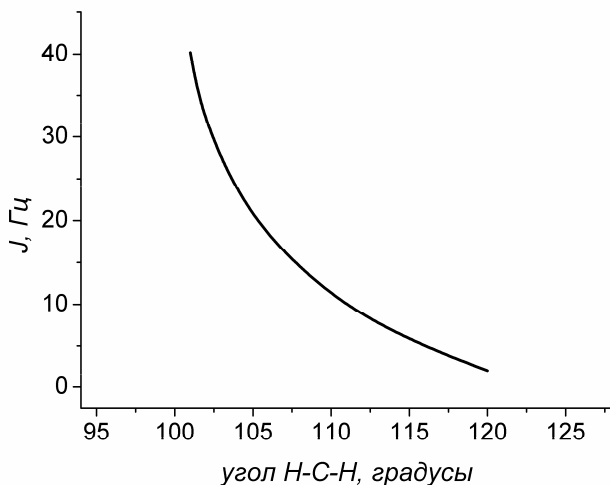


Рис. 5. Зависимость константы спин-спинового взаимодействия от угла между химическими связями, соединяющими спины

$\rho(t)$ при помощи дифференциального уравнения Лиувилля – фон Неймана:

$$\frac{d}{dt}\rho(t) = -\frac{i}{\hbar}[H(t), \rho(t)], \quad (5)$$

где квадратные скобки означают математическую операцию коммутирования.

При этом оператор плотности строится из функций состояния квантовой системы $|\psi_k(t)\rangle$ (волновых функций) по простому правилу:

$$\rho(t) = \sum_k \sum_l |\psi^k(t)\rangle \langle \psi^l(t)|, \quad (6)$$

а набор функций состояния, в свою очередь, определяется вероятностями существования в момент времени t всех возможных незапрещенных наборов ориентаций спинов.

Напомним, что кет- $|\psi_k(t)\rangle$ и бра- $\langle \psi_k(t)|$ – векторы одной и той же функции состояния, являются комплексно сопряженными

и взаимно транспонированными. Например, для системы, состоящей из двух спинов с величиной $1/2$, возможны четыре собственных состояния:

$$|\psi_1(t)\rangle = |\uparrow\uparrow\rangle, |\psi_2(t)\rangle = |\uparrow\downarrow\rangle, |\psi_3(t)\rangle = |\downarrow\uparrow\rangle, |\psi_4(t)\rangle = |\downarrow\downarrow\rangle. \quad (6a)$$

Оператор плотности по выражению (6) будет состоять из четырех слагаемых, соответствующих квадратам волновых функций, вероятностям нахождения системы в этих состояниях, и всевозможных когерентных суперпозиций $|\psi_k(t)\rangle\langle\psi_l(t)|$ ($k \neq l$), означающих переходы между базовыми состояниями.

Удобным бывает представление оператора плотности $\rho(t)$ в виде матрицы:

$$\rho(t) = \begin{pmatrix} \Psi_1\Psi_1^* & \Psi_1\Psi_2^* & \Psi_1\Psi_3^* & \Psi_1\Psi_4^* \\ \Psi_2\Psi_1^* & \Psi_2\Psi_2^* & \Psi_2\Psi_3^* & \Psi_2\Psi_4^* \\ \Psi_3\Psi_1^* & \Psi_3\Psi_2^* & \Psi_3\Psi_3^* & \Psi_3\Psi_4^* \\ \Psi_4\Psi_1^* & \Psi_4\Psi_2^* & \Psi_4\Psi_3^* & \Psi_4\Psi_4^* \end{pmatrix}. \quad (6б)$$

Если переход соответствует “перевороту” сразу нескольких спинов в одном и том же направлении, то он считается многоквантовым (в нашем случае $|\uparrow\uparrow\rangle \rightarrow |\downarrow\downarrow\rangle$ и $|\downarrow\downarrow\rangle \rightarrow |\uparrow\uparrow\rangle$ – двухквантовые переходы).

На основании приведенных формул строится вся теория ЯМР.

2 ЯМР ВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

В практике спектроскопии ЯМР высокого разрешения (High Resolution NMR) стационарная часть H_0 полного гамильтониана $H(t)$ рассматривается в виде

$$H_0 = H_z + H_J, \quad (7)$$

причем H_J полагается изотропным.

Таким образом, изучаются переходы, обусловленные только зеемановским и косвенным спин-спиновым взаимодействием, позволяя получать информацию о химических сдвигах δ и константах сверхтонкой структуры J .

Базовую информацию несет величина химического сдвига.

Экспериментальная реализация ЯМР высокого разрешения

Снятие спектров ЯМР в настоящее время осуществляется исключительно во временной области с последующим преобразованием Фурье в частотный спектр. Общая идеология эксперимента может быть представлена в следующем виде (см. рис. 6): производится возбуждение спиновой системы образца при помощи импульсной последовательности, которая вызывает переходы в энергетических уровнях. По окончании действия импульсов в присутствии внешнего магнитного поля B_0 , происходит релаксация, наблюдаемая поперечная составляющая которой записывается в массив данных, как правило, в комплексном виде. Впоследствии эти данные подвергаются серии математических преобразований – аподизации, заполнению нулями и преобразованию Фурье. Аподизация необходима для исключения «эффекта пульсаций» в конечном спектре, а добавление нулей, искусственно увеличивающее время наблюдений, делает возможным разделение близко расположенных спектральных линий.

Величина постоянного магнитного поля современных ЯМР спектрометров выбирается как можно более высокой (до 25 Тесла и более), для увеличения разрешения по химическим сдвигам в сложных молекулах. Для построения таких мощных электромагнитов используется провод из сверхпроводящего материала, что требует охлаждения до криогенных температур. В

последнее время охлаждению подвергается также и радиочастотная катушка датчика ЯМР с целью уменьшения влияния ее резистивного шума. Это делает возможным физико-химический анализ веществ со сверхслабыми концентрациями.

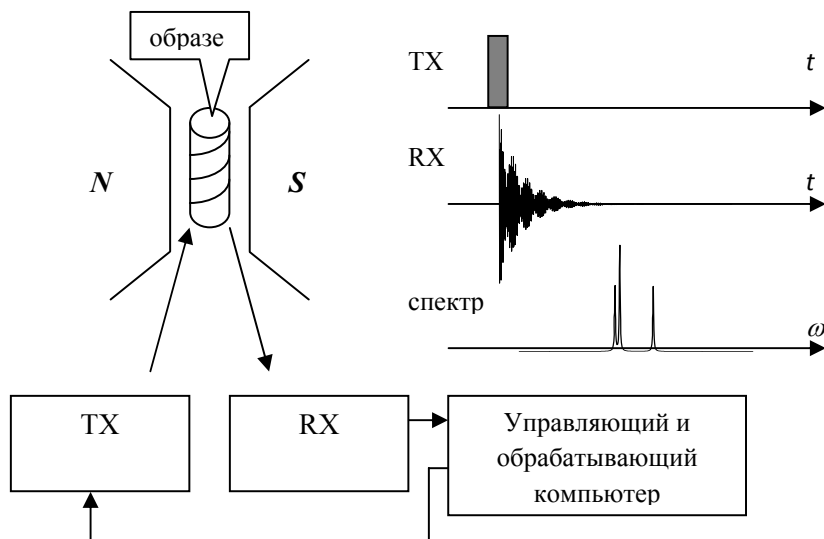


Рис. 6. Экспериментальная реализация ЯМР высокого разрешения

Понятие о спектроскопии ЯМР

Вообще говоря, результаты экспериментов в частотной $s(\omega)$ и временной $a(t)$ областях являются Фурье-образами друг друга, если рассматривать возбуждающие сигналы передатчика как δ -импульсы. Это условие, очевидно, выполняется, если длительность 90° радиочастотного импульса будет меньше обратной величины ширины ЯМР-спектра образца. При этом условии мы вправе записать пару преобразований Фурье:

$$s(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} a(t) \cdot e^{-i\omega t} dt,$$

$$a(t) = \int_{-\infty}^{\infty} s(\omega) \cdot e^{i\omega t} d\omega.$$

Важно отметить, что ширина спектральной $\Delta\omega$ линии связана с временем спин-спиновой релаксации T_2 . Например, для лоренцевой линии справедливо соотношение

$$\Delta\omega = \frac{2}{T_2}.$$

Фурье-спектроскопия ЯМР в настоящее время является доминирующим методом ядерного магнитного резонанса. Основное направление ее применения – спектроскопия ЯМР высокого разрешения. Основы методики проведения эксперимента следующие. Поскольку аналого-цифровая обработка непосредственно на частоте ларморовской прецессии f_0 не реальна, то весь спектр ЯМР смещается в низкочастотную область при помощи опорной частоты f_t генератора передатчика и фазочувствительного детектора. Центральная частота спектра теперь становится равной не f_0 , а Ω

$$\Omega = f_t - f_0,$$

и скорости работы современного АЦП (исходя из требований теоремы отсчетов) становится вполне достаточно для уверенной дискретизации сигнала спада свободной индукции.

У Фурье-спектроскопии ЯМР есть три специфические особенности. Первая заключается в том, что для точной передачи информации, заключающейся в сигнале, необходимо делать выборки АЦП с частотой, превышающей ширину спектра исследуемого сигнала как минимум в два раза (*теорема Котельникова* в отечественной литературе, либо *теорема отсчетов Найквиста* в зарубежной). Вторая особенность – реальный эксперимент всегда содержит неинформативный пик на нулевой частоте. Третья, ограничивающая применение Фурье-спектроскопии ЯМР для анализа широких спектров твердых

образцов, – необходимость в расстройке Ω , превышающей ширину полезного спектра образца для исключения влияния наложения пиков положительных и отрицательных частот. Так, для сухой целлюлозы ширина спектра ЯМР заключается в пределах 100-250 килогерц. Это значит, что отстройка Ω , согласно указанным канонам, должна составлять не менее 500 кГц. Следовательно, спектр 90° импульса передатчика должен иметь подобную полуширину, что требует его длительности не более микросекунды. В реальных же установках минимальная длительность 90° импульса не бывает меньше 2-2,5 микросекунд.

Одномерный спектроскопический эксперимент

Самым простым и наиболее распространенным до сих пор остается эксперимент, в котором возбуждение спинов образца (большей частью в жидком состоянии) производится одним радиочастотным импульсом. Как правило, длительность и амплитуда этого импульса подбираются из условия поворота макроскопического вектора ядерной намагниченности M на угол $\pi/2$, что позволяет получать максимальное отношение сигнала к шуму. Одномерный импульсный эксперимент дает информацию о химических сдвигах и константах косвенного спин-спинового взаимодействия, на основании которых возможно идентифицировать химическую структуру.

На рис. 7. показан ^1H ЯМР спектр этилового спирта. Протоны водорода, принадлежащие различным функциональным группам, дают линии с разными химическими сдвигами (действие гамильтониана H_Z). При этом каждая линия, содержащая более, чем один протон, расщепляется на мультиплеты, благодаря косвенному спин-спиновому взаимодействию с гамильтонианом H_J .

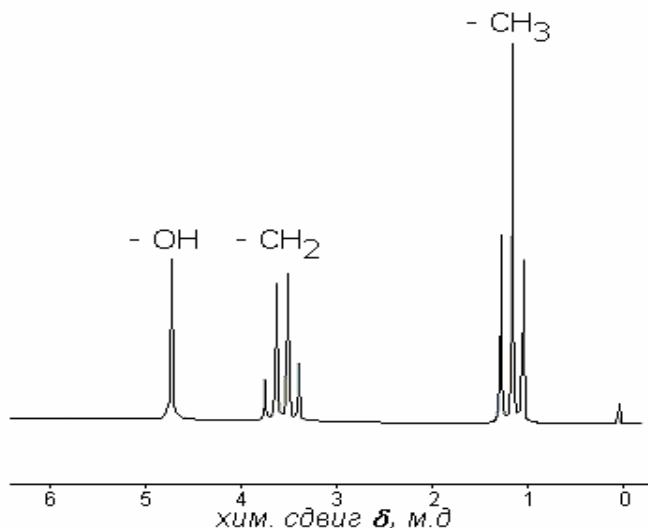


Рис. 7. Одномерный ^1H ЯМР спектр этанола

В твердых телах из-за малой скорости движений спинов усреднение гамильтониана прямых спин-спиновых (диполь-дипольных) взаимодействий (3) становится малоэффективным, благодаря чему дипольная ширина линий превышает диапазон химических сдвигов. Для исключения данного эффекта образец вращают с частотой в несколько кГц под углом 54.76° к полю $\mathbf{B}_0$, который называется «магическим» и находится из условия $(1 - 3\cos^2\theta) = 0$, чтобы свести к минимуму гамильтониан H_D [4].

Для более полного подавления дипольных взаимодействий во время регистрации сигнала прикладывается специальная импульсная последовательность, средний гамильтониан возмущений от которой полностью компенсирует остаточную часть H_D .

Двумерный ЯМР эксперимент

Двумерная и многомерная ЯМР спектроскопия на сегодняшний день является, возможно, самым информативным методом физико-химического анализа.

Общую структуру двумерного ЯМР эксперимента можно представить в следующем виде (рис. 8). В период приготовления (preparation) под действием гамильтониана $H^{(p)}$ происходит возбуждение спиновой системы – ее переход из равновесного в неравновесное состояние. Это может быть однократный $\pi/2$ импульс, вызывающий переходы между соседними зеемановскими подуровнями, в таком случае эволюция (evolution) будет заключаться в спин-спиновой и спин-решеточной релаксации, либо более сложная импульсная последовательность, инициирующая переходы более высоких порядков (когерентностей) или перенос намагниченности между ядрами разного сорта.

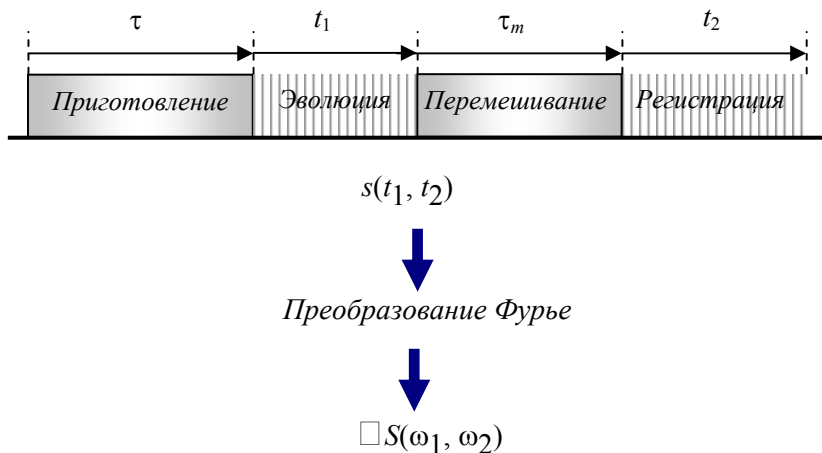


Рис. 8. Обобщенная схема реализации двумерного ЯМР эксперимента

Во время эволюции спиновая система развивается свободно без внешних нестационарных энергетических воздействий. Этот период варьируется – его длительность t_1 является одной из переменных двумерного эксперимента.

В результате следующего импульсного воздействия – перемешивания (mixing) происходит преобразование неравновесного состояния спиновой системы, сложившегося к моменту t_1 в наблюдаемый сигнал – в когерентность порядка -1, финальное развитие которой в течение времени t_2 измеряется в период регистрации. При этом должны быть «отфильтрованы» все нежелательные для данного эксперимента переходы.

Результат измерений представляет собой двумерную матрицу комплексного сигнала в зависимости от значений переменных t_1 и t_2 , которая после преобразования Фурье дает двумерный спектр с двумя частотными осями (ω_1 , ω_2) (рис. 9). Как правило, в большинстве двумерных ЯМР экспериментов вдоль главной диагонали получается изображение одномерного спектра (пики А и В), а их комбинации Х на пересечении частот (ω_1A , ω_2B) и (ω_1B , ω_2A) могут отражать интенсивности химического обмена, корреляцию в движениях и т.п.

В настоящее время существует огромное разнообразие двумерных ЯМР экспериментов, однако возможно выделить два принципиально различных подхода, основанных либо на разделении косвенных (скалярных) спин-спиновых взаимодействий (это в основном корреляционная спектроскопия), либо диполь-дипольных при помощи обменной спектроскопии.

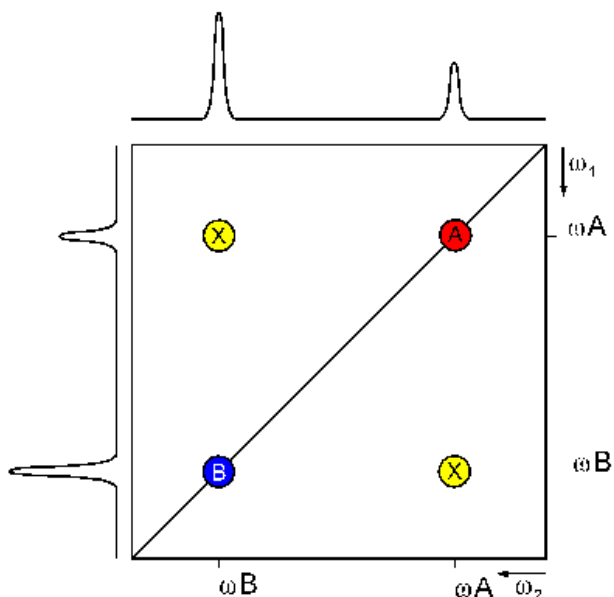


Рис. 9. Двумерный ЯМР спектр $S(\omega_1, \omega_2)$

Корреляционная спектроскопия (COSY)

Корреляционная спектроскопия (COSY – Correlation Spectroscopy) используется для анализа сложных химических соединений, когда одномерный ЯМР спектр образца содержит множество перекрывающихся линий. Импульсная последовательность гомоядерного корреляционного эксперимента показана на рис. 10.

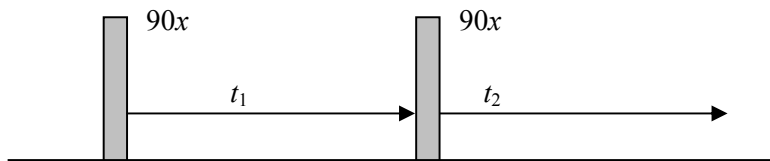


Рис. 10. Импульсная последовательность гомоядерного эксперимента COSY

Первый (подготовительный) импульс переводит равновесную продольную намагниченность в поперечную, далее (в период эволюции t_1) происходят процессы спин-спиновой и спин-решеточной релаксации. Вторым импульсом вновь переводится часть восстановившейся продольной намагниченности в наблюдаемую поперечную, которая регистрируется в течение времени t_2 .

Для простоты рассмотрим систему, содержащую два однотипных, химически неэквивалентных спина А и Х. Схематически 1D спектр такой системы приведен на рис. 11а – он состоит из четырех линий.

Если константы косвенного спин-спинового взаимодействия J имеют незначительную величину, а отдельные переходы – конечное время релаксации, то в результирующем спектре может получиться только два уширенных пика (рис. 11б).

Двумерный корреляционный спектр, однако, позволит разрешить сливающиеся линии, переведя их в положительные и отрицательные корреляционные кросс-пики (рис. 12). Главная диагональ двумерного спектра COSY будет представлять собой аналог одномерного спектра (рис. 11б), по бокам от которой появятся дополнительные пики, представляющие собой результат коррелированной эволюции компонентов оператора плотности, соответствующих всем возможным переходам в 1D спектре.

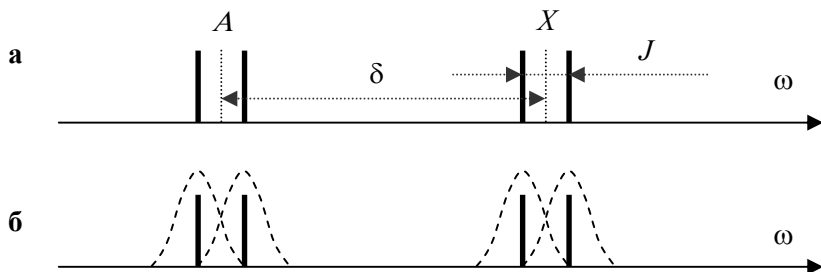


Рис. 11. Одномерный спектр двухспиновой системы АХ. **а** – схематическое изображение, **б** – вид спектра с учетом конечной ширины линии

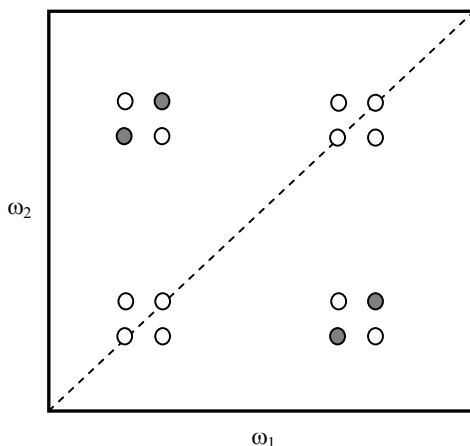


Рис. 12. Спектр COSY двухспиновой системы AX. Вдоль главной диагонали – обычный одномерный спектр. Недиагональные кросс-пики получают либо положительными либо отрицательными, благодаря специальному приему – циклированию фазы заполнения возбуждающих радиочастотных импульсов

На рис. 13 изображен двумерный спектр COSY. Наибольшая коррелированность движений наблюдается для групп (3) и (4). Тепловые движения групп $\text{CH}_2(2)$ и $\text{CH}_2(4)$ практически независимы, так как отсутствуют соответствующие корреляционные пики в двумерном спектре.

Обменная спектроскопия

Если во время эволюции спиновой системы изучаемого образца происходит химический обмен между атомами, ядра которых участвуют в магнитном резонансе, либо осуществляется обмен намагниченностями (поляризациями) за счет ядерного эффекта Оверхаузера, то данные процессы возможно регистрировать и изучать при помощи методов обменной спектроскопии ЯМР. Скорость, эффективность обмена отражают структурные и динамические особенности исследуемых систем, поэтому обменная спектроскопия относится к наиболее информативным средствам физико-химического анализа.

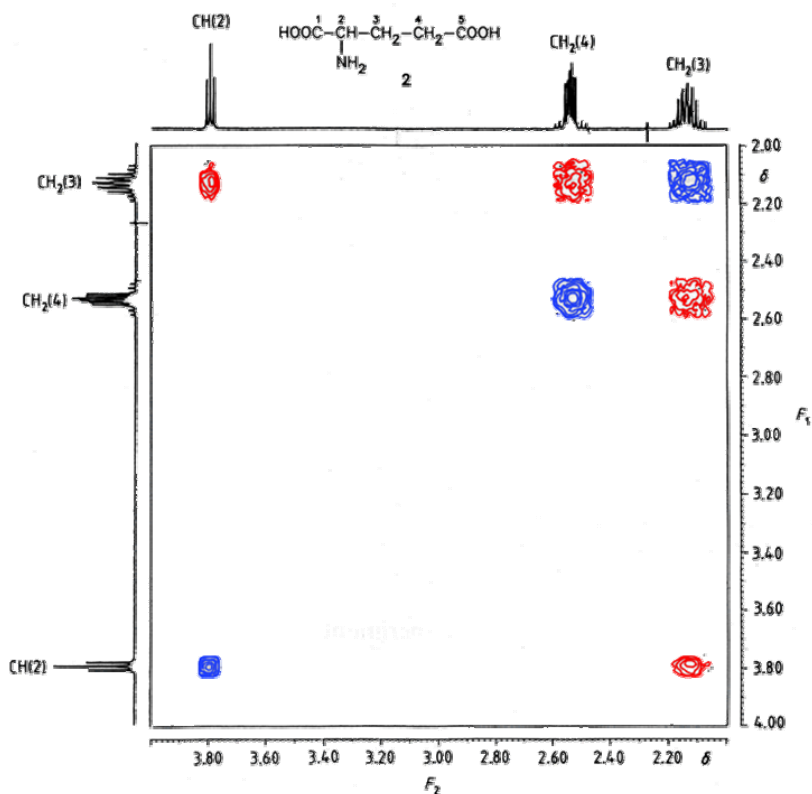


Рис. 13. Двумерный спектр COSY. Вверху рисунка показана химическая формула соединения, цифрами обозначены резонирующие протоны и соответствующие им пики в одномерном спектре.

На рис.14 показана одна из распространенных импульсных последовательностей (2D-EXSY) для наблюдения обмена намагниченностями между спинами. В данном классе экспериментов рассматривается только обмен между Z -компонентами спиновых магнитных моментов, считается, что обмен не происходит, когда намагниченность находится в плоскости, перпендикулярной внешнему полю B_0 . Поэтому для распространения поляризации, неравновесность которой создается первым радиочастотным импульсом и интервалом τ_1

эволюции, следующим за ним, подается второй импульс, переводящий поперечную намагниченность, промодулированную разностью ларморовых частот отдельных переходов и спин-спиновой релаксацией, в продольную. Таким образом, обмен происходит во время t_1 . Третий 90° импульс поворачивает проэволюционировавшую в результате спиновой диффузии и химического обмена Z -намагниченность в наблюдаемую поперечную.

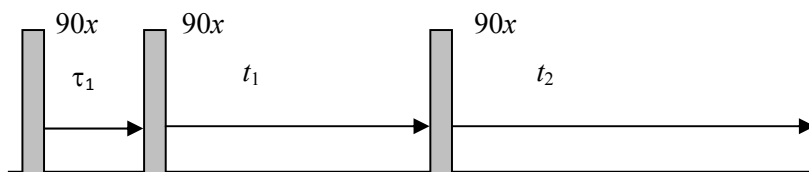


Рис. 14. Одна из импульсных последовательностей, применяемая для изучения обменных процессов

Двумерное Фурье-преобразование матрицы сигнала $s(t_1, t_2)$ дает $2D$ — спектр, главная диагональ которого, как обычно, является одномерным спектром, а кросс-пики отражают эффективность обмена между отдельными спектральными переходами (рис. 15). Одним из популярных приложений обменной спектроскопии является повышение чувствительности эксперимента за счет передачи намагниченности от распространенных ядер (например, протонов ^1H) к редким, таким как ^{13}C (INEPT — Intensive Nuclei Enhanced by Polarisation Transfer). Благодаря подобным импульсным последовательностям стало возможным изучать структуру больших органических молекул при помощи снятия углеродных спектров ЯМР.

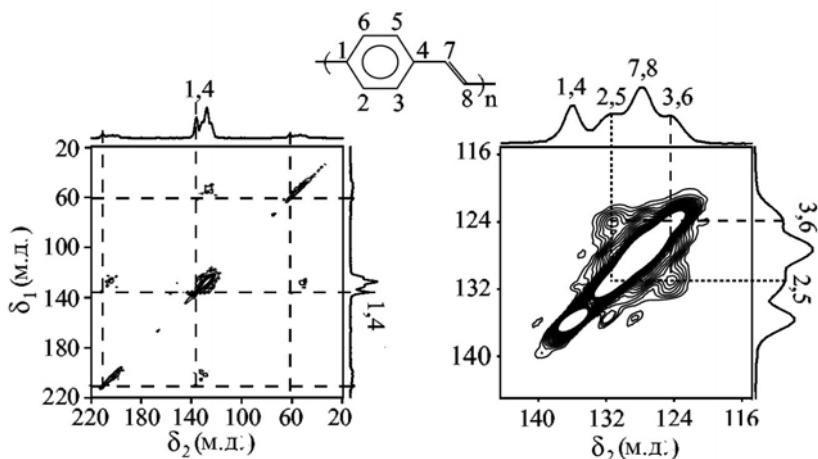


Рис 15. Обменный спектр ^{13}C 2D-EXSY. В показанном справа увеличенном фрагменте хорошо заметен обмен намагниченностями между ядрами углерода 2,5 и 3,6. Обмен между ядрами атомов 1,4 и 7,8 более слабый, а между 1,4 и 2,5,3,6 практически отсутствует.

3 ЯМР НИЗКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

ЯМР низкого разрешения (Low Resolution NMR) или ЯМР-релаксация не дает информации о химических сдвигах, однако, как и ЯМР высокого разрешения, также является информативным методом изучения структуры и динамики молекулярных систем.

Основными параметрами, измеряемыми в ЯМР - эксперименте низкого разрешения, являются времена релаксации T_1 и T_2 , а также амплитуды отдельных компонент релаксационных сигналов при исследовании многофазных систем.

Помимо поглощения энергии внешнего радиочастотного поля, существует обратный процесс, с помощью которого ядра из возбуждающего состояния возвращаются в основное. Этот термодинамический процесс называется спин-решеточной

релаксацией и заключается в переносе энергии от магнитной спиновой системы к ее окружению, или так называемой «решетке». Под «решеткой» понимают все немагнитные степени свободы вещества. В жидкостях и твердых телах в результате процесса спин-решеточной релаксации теряемая или приобретаемая энергия проявляется в изменении поступательной или вращательной энергии окружающих молекул. Эффективность этого взаимодействия характеризуется постоянной T_1 – временем спин-решеточной релаксации. Для большинства жидкостей T_1 составляет 0,1 – 4 с.

Ядро может передать энергию соседним ядрам того же рода в результате обмена спиновым магнитным моментом. Установление термодинамического равновесия в спиновой системе называется спин-спиновой релаксацией и характеризуется временем спин-спиновой релаксации T_2 .

Назначение, характеристики, устройство и принцип работы прибора ЯМР-анализатора низкого разрешения «Спин Трэк»

Прибор ЯМР-анализатора низкого разрешения «Спин Трэк» (Spin Track) (рис. 16) предназначен для освоения основных методов исследования структуры веществ и их физико-химического состава.



Рис. 16. Портативный ЯМР-анализатор низкого разрешения «Спин Трэк»

Основные технические характеристики ЯМР-анализатора:

- частота анализатора 20 МГц;
- диаметр пробирки 10 мм;
- «время звона» 10 мкс.

ЯМР-анализатор «Спин Трэк» состоит из отдельных функциональных блоков (датчик, предусилитель, дуплексер, передатчик, формирователь импульсных последовательностей, АЦП, трансивер). В зависимости от типа магнитной системы «Спин Трэк» может использоваться как релаксометр или как спектрометр.

Прибор разработан и изготовлен компанией «Резонансные системы» и широко используется в научных и исследовательских целях за рубежом.

Исходя из технологии проведения эксперименты по ЯМР можно разделить на частотные и временные. В любом случае базисным элементом установки служит магнит, создающий поле H_0 (или B_0) (рис. 17).

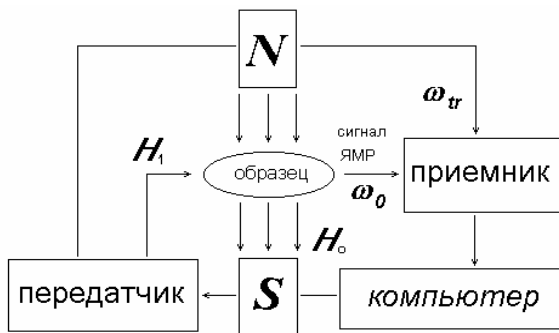


Рис. 17. Базовая структурная схема ЯМР-спектрометра

Эксперименты в частотной области проводятся по следующей, традиционной для спектроскопических методов схеме. Образец помещается в поле H_0 зазора основного магнита. Датчиком является резонансная электромагнитная система, передающая образцу возбуждающее переменное

электромагнитное поле H_1 сигнала передатчика и преобразующая отклик ЯМР исследуемого вещества в электрический сигнал, регистрируемый приемником. На наконечниках основного магнита имеются дополнительные катушки, при помощи которых создается развертка магнитного поля $H_0 \pm \Delta H_0$. Таким образом, если частота передатчика остается равной ω_0 , то за время развертки поля узкополосный приемник регистрирует спектр ЯМР изучаемого образца. В зависимости от модификации эксперимента прохождение через резонанс может быть быстрым либо медленным. Основным результатом экспериментов в частотной области является форма линии поглощения ЯМР. В настоящее время непосредственные эксперименты с частотной разверткой практически не используются.

Эксперименты во временной области представляют собою исследование ядерных магнитных релаксационных процессов после воздействия на образец возбуждающей импульсной последовательности.

Выходная мощность передатчика в импульсе должна быть достаточно высокой, а импульс должен быть коротким, чтобы обеспечить перекрытие частотного диапазона спектра ЯМР исследуемого вещества. Так, при $f_0 = \omega_0/2\pi = 42$ МГц (поле $H_0 = 10000$ э) ширина спектра протонного магнитного резонанса (ЯМР ^1H) для жидкостей не превосходит единиц кГц, в то время как для твердофазных образцов она может достигать до 100 – 200 кГц. Соответствующие требования накладываются и на приемник, который должен обладать полосой пропускания, соизмеримой с шириной спектра исследуемого процесса, и коротким временем восстановления чувствительности после возбуждающего импульса передатчика (“временем звона”).

Времена спин-спиновой релаксации измеряются либо из анализа спада свободной индукции (ССИ, Free Induction Decay –

FID) после действия одиночного 90-градусного (90^0) импульса, либо по кривой спада максимумов эхо-сигналов импульсной последовательности Карра-Парселла-Мейбума-Гилла (КПМГ, CPMG).

Возбуждающий импульс для получения ССИ может быть выбран, исходя из условия поворота ядерной намагниченности на любой произвольный угол θ , однако, наибольшее отношение сигнала к шуму наблюдается для $\theta = 90^0$.

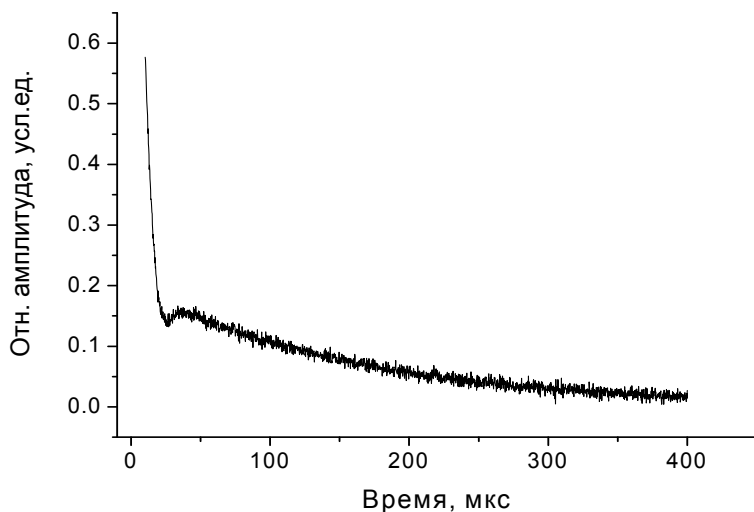


Рис. 18. Спад свободной индукции ^1H ЯМР образца, содержащего твердую и подвижную фазы (увлажненная целлюлоза)

При измерении ССИ в относительно однородном магнитном поле первые 10-60 микросекунд после момента восстановления чувствительности приемника возможно наблюдать релаксацию твердой фазы образца (рис. 18), где ограничена подвижность протонов (время корреляции $\tau_c > 10^{-7}$ с). Это так называемая короткая компонента ССИ, которая чаще всего описывается функцией Гаусса с характеристическим временем релаксации $T_{2к}$:

$$a_k(t) = a_{0к} \cdot \exp(-t^2 / T_{2к}^2),$$

либо с учетом твердотельных осцилляций:

$$a_k(t) = a_{0k} \cdot \exp(-t^2 / T_{2k}^2) \cdot \frac{\sin bt}{bt}.$$

Множитель $\sin bt/bt$ часто рассматривается как показатель упорядоченности внутренней структуры. Параметр a_{0k} – экстраполированная на нулевое время амплитуда, линейно зависящая от количества атомов водорода малоподвижной фазы. Если образец содержит более подвижные протоны ($\tau_c < 10^{-8}$ с), то в сигнале ССИ появляется “длинная” компонента с относительной амплитудой, пропорциональной содержанию этих протонов (рис. 18).

Количество фаз с разной подвижностью в исследуемом материале может быть и более двух, что может проявиться в сигнале ССИ. Следует отметить, однако, что процесс многопараметрической аппроксимации в таком случае оказывается малоэффективным, так как времена релаксации и относительные амплитуды в случае более двух экспоненциальных спадов определяются неоднозначно, поскольку появляется множество локальных минимумов в целевой функции, оптимизируемой по методу наименьших квадратов.

Математическая обработка массива точек ССИ, который получается в результате эксперимента, может проводиться по различным методикам. Предпочтение чаще всего отдается способу с последовательным вычитанием наиболее длинных экспонент.

Если время спин-спиновой релаксации длинной компоненты $T_{2д}$ становится сравнимым с величиной $\gamma \Delta B_0$, где ΔB_0 – модуль неоднородности поля постоянного магнита, то значение измеренного времени $T_{2д}^*$ начинает заметно отличаться от истинного $T_{2д}$:

$$\frac{1}{T_{2д}^*} = \frac{1}{T_{2д}} + \gamma \cdot \Delta B_0.$$

Естественно, зная значение неоднородности магнитного поля, можно осуществлять соответствующую коррекцию получаемых данных. Однако необходимо учесть, что из-за присутствия градиента поля может потеряться ценная информация, заключенная в компонентах затухания, времена релаксации которых сравнимы или превышают величину $1/\gamma\Delta B_0$. Для короткой компоненты ССИ обычно указанным влиянием неоднородности можно пренебречь.

Учитывая присутствие неоднородности поля постоянного магнита, измерение достаточно длинных времен спин-спиновой релаксации можно проводить при помощи анализа эхо-процессов в исследуемом веществе. Так, импульсная последовательность Карра-Парселла (или модифицированная Мейбума-Гилла) представляет собой серию из одного 90° и n 180° импульсов и создает n спиновых эхо (рис. 19).

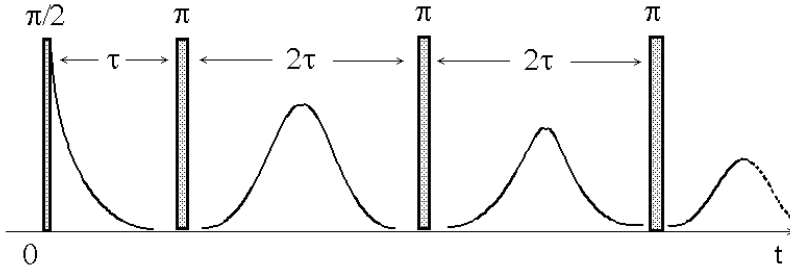


Рис.19. Эксперимент с импульсной серией Карра-Парселла

Форма спада огибающей серии эхо-сигналов с увеличением количества импульсов в пачке с хорошим приближением становится независимой от градиента $g = \partial B_0 / \partial x$:

$$a(2n\tau) = a_0 \exp(-2n\tau / T_{2д}) \exp(-\frac{2}{3} D \gamma^2 g^2 n \tau^3),$$

поэтому для измерения длинных времен T_{2d} необходимо использовать эхо - методики.

Численная обработка спадов КПМГ производится либо по методу наименьших квадратов, как и для ССИ, либо построением кривой распределения времен релаксации.

В общем случае спад КПМГ не экспоненциален (рис. 20) благодаря наличию градиентов магнитного поля, распределению времен корреляции движения протонов, неидеальности радиочастотных импульсов передатчика ЯМР-анализатора.

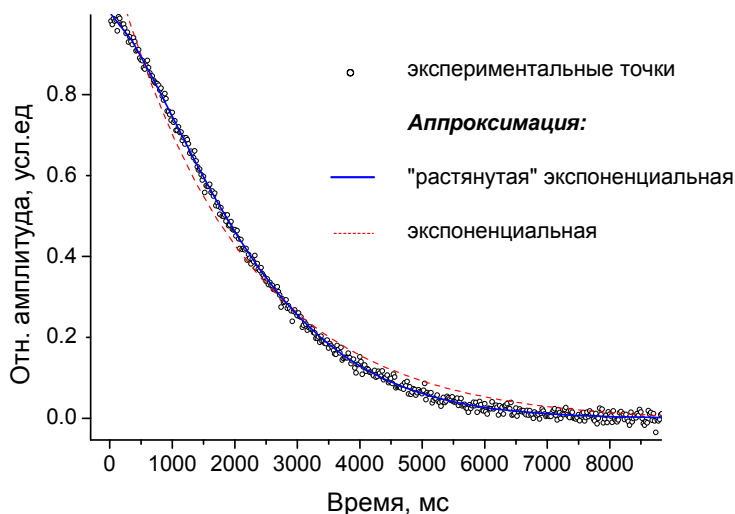


Рис. 20. Аппроксимация экспериментального спада КПМГ с помощью экспоненциальной и «растянутой» экспоненциальной функций

Время спин-решеточной релаксации T_1 несет очень важную информацию как о молекулярной, так и о надмолекулярной структуре исследуемых веществ. Среди всего разнообразия существующих методик измерения T_1 наиболее популярными остаются методы, использующие импульсные последовательности типа $180^\circ - \tau - 90^\circ$ и $90^\circ - \tau - 90^\circ$.

Сразу после действия инвертирующего 180° импульса (рис. 21) вектор ядерной макроскопической намагниченности $\mathbf{M}$ повернется против поля $\mathbf{B}_0$, направление которого на рис. 8 совпадает с направлением оси Z . Благодаря тепловому движению внутри спиновой системы устанавливается термодинамическое равновесие между системой спинов и «решеткой» с характеристическим временем T_1 . Под действием продольной релаксации вектор намагниченности принимает значения, лежащие между $-M_0$ и M_0 , проходит в какой-то момент времени через нулевое значение и стремится к равновесному исходному значению M_0 . Если через промежуток времени τ после приложения 180° импульса воздействовать на систему возбуждающим 90° импульсом, то текущее значение вектора намагниченности $M_z(\tau)$ повернется в экваториальную плоскость XY . Максимальная амплитуда сигнала ССИ, наблюдаемого после приложения 90° импульса, будет пропорциональна значению намагниченности $M_z(\tau)$ в момент времени τ после 180° импульса.

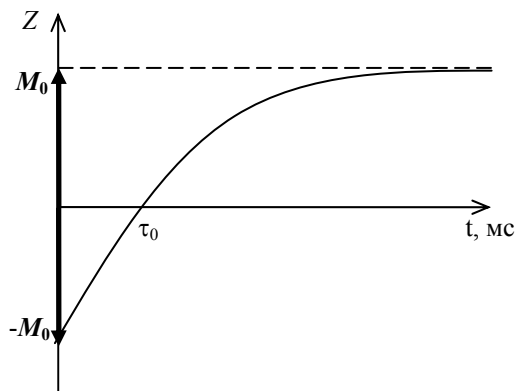


Рис. 21. Измерение T_1 с помощью импульсной последовательности $180^\circ - \tau - 90^\circ$

Меняя значение τ между импульсами и записывая значения амплитуд ССИ после 90° импульса, можно получить кривую восстановления продольной намагниченности $M_z(t)$, которая

описывается следующей функцией и позволяет определить время T_1 :

$$M_z(t) = M_{0z}(1 - 2 \cdot \exp(-t / T_1)).$$

Время спин-решеточной релаксации можно также определить с помощью импульсной последовательности $90^\circ - \tau - 90^\circ$ при условии, что для данного вещества $T_1 \gg T_2$. Первый импульс переводит вектор намагниченности $\mathbf{M}$ в экваториальную плоскость, и составляющая намагниченности M_z вдоль направления постоянного магнитного поля $\mathbf{B}_0$ становится равной нулю. После окончания действия первого импульса за счет релаксационных процессов продольная намагниченность возрастает по закону (рис. 22):

$$M_z(t) = M_{0z}(1 - \exp(-t / T_1)).$$

Появляющуюся за время τ продольную намагниченность переводят вторым 90° импульсом в плоскость XY , при этом в приемном контуре возникает сигнал свободной индукции, амплитуда которого пропорциональна восстановленной за время τ намагниченности.

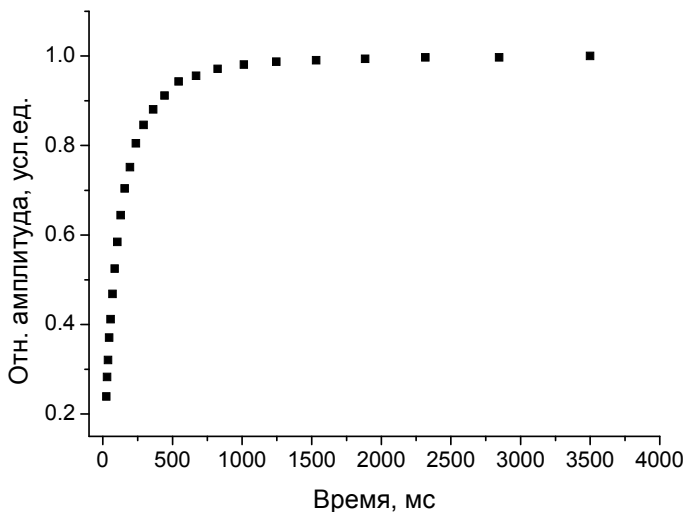


Рис. 22. Кривая восстановления продольной намагниченности

Заключение

Ядерный магнитный резонанс – это физическое явление, которое используется во множестве областей человеческой деятельности от фундаментальных исследований до индустриальных приложений. Существует три обширных направления ЯМР – спектроскопия, релаксация и томография. Выше мы рассмотрели первые два из них, а в последующих лабораторных работах произведем закрепление знаний о базовых принципах магнитного резонанса на профессиональном приборе ЯМР низкого разрешения Spin Track.

4 ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

4.1 Изучение зависимости амплитуды ЯМР-сигнала глицерина от длительности РЧ импульса

Цель работы: изучение основ ЯМР-релаксации; экспериментальное определение длительностей 90^0 и 180^0 импульсов.

Приборы и оборудования: компьютер, стационарный ЯМР-анализатор низкого разрешения «Спин Трек», пробирка с глицерином.

В данной работе следует изменять длительность одиночного возбуждающего радиочастотного (РЧ) импульса. Для каждого значения длительности импульса снимать зависимость амплитуды ССИ, пропорциональной ядерной макроскопической намагниченности образца. Поскольку 90^0 импульс поворачивает намагниченность в плоскость ХУ, амплитуда ССИ после приложения такого импульса должна быть максимальна. После воздействия на спиновую систему 180^0 импульса, суммарная намагниченность оказывается направленной вдоль оси - Z. Таким образом, значение 180^0 импульса должно соответствовать амплитуде сигнала с нулевым значением – в идеальном случае. За длительность 180^0 импульса принимается значение, соответствующее первому минимуму на графике.

Ход работы

1. Ознакомиться с теоретической частью работы.
2. Включить прибор и подготовить к работе измерительную аппаратуру, установленную на рабочем столе.
3. Поместить пробирку с глицерином в прибор и запустить программу Relax.
4. Нажать кнопку , настроив прибор на резонанс.

5. Кнопкой  настроить параметры (усиление, время запуска, количество накоплений) по усмотрению преподавателя.

6. Клавишей F9 запустить FID.app.

7. Меняя длительность одиночного возбуждающего РЧ импульса, снять зависимость амплитуды ССИ, пропорциональной ядерной макроскопической намагниченности образца, от длительности импульса.

8. С помощью программы Origin построить график зависимости амплитуды ЯМР-сигнала глицерина от длительности РЧ импульса.

- а) занести в таблицу полученные данные;
- б) правой кнопкой мыши выделить столбец B(Y) → plot → line+symbol.

9. По полученному графику сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. Назовите преимущества метода ЯМР-релаксации.
2. Дайте определение ЯМР-релаксации. Вследствие чего она происходит?
3. Что понимается под длительностью РЧ импульса?
4. От чего зависит угол поворота θ ядерной макроскопической намагниченности?
5. По какому принципу определяется длительность 90° импульса, 180° импульса?

4.2 Изучение спектра радиочастотного импульса

Цель работы: изучить принцип преобразования Фурье; исследовать зависимость амплитуды ЯМР-сигнала от частоты РЧ импульса.

Приборы и оборудования: компьютер, стационарный ЯМР-анализатор низкого разрешения «Спин Трек», пробирка с глицерином.

В данной работе, возбуждая узкополосный ЯМР сигнал фиксированной частоты жидкого глицерина, зависящей от магнитного поля предлагается сдвигать центральную частоту возбуждающего радиоимпульса так, чтобы получилось “сканирование” его спектра, имеющего форму $\sin(x)/x$ с шириной распределения, определяемой длительностью импульса.

Ход работы

1. Включить прибор и подготовить к работе измерительную аппаратуру, установленную на рабочем столе.
2. Поместить пробирку с глицерином в прибор и запустить программу Relax.
3. Нажать кнопку , настроив прибор на резонанс.
4. Кнопкой  настроить параметры (усиление, время запуска, количество накоплений, длительность 90^0 импульса) по усмотрению преподавателя.
5. Клавишей F9 запустить FID.app.
6. Меняя частоту возбуждающего 90^0 импульса при фиксированном значении его длительности, снимать амплитуду релаксационного сигнала глицерина для каждого значения частоты импульса.
7. С помощью программы Origin построить график зависимости амплитуды ЯМР - сигнала от сдвига по частоте.
8. Полученный график сравнить с теоретическим видом спектра прямоугольного импульса.
9. По полученному графику сделать выводы.

Контрольные вопросы

1. В чем заключается принцип преобразования Фурье?

2. Как связаны спектр импульса и его длительность?
3. Как определить частотный диапазон возбуждаемых частот ЯМР?
4. Как связан вид спектра РЧ импульса с его формой?

4.3 Освоение методов ССИ (спада свободной индукции), спинового эха (эхо Хана), Карра-Парселла-Мейбума-Гилла (CPMG)

Цель работы: применение методов ССИ, спинового эха, CPMG для определения времени спин-спиновой релаксации.

Приборы и оборудования: компьютер, стационарный ЯМР-анализатор низкого разрешения «Спин Трек», пробирка с глицерином.

Работа заключается в освоении методов ССИ (спада свободной индукции), спинового эха (эхо Хана), Карра-Парселла-Мейбума-Гилла (CPMG). На рис. 18 изображена импульсная последовательность CPMG. Для получения ССИ необходимо приложить одиночный 90^0 импульс. После этого получается релаксационный спад. Последовательность для спинового эха состоит из одного 90^0 и одного 180^0 импульсов. В результате применения CPMG получается сигнал, представляющий собой зависимость амплитуды сигналов эха от времени между импульсами. Проводя аппроксимацию полученного спада с помощью экспоненциальной функции, определить время спин-спиновой релаксации T_2 .

Ход работы

1. Включить прибор и подготовить к работе измерительную аппаратуру, установленную на рабочем столе.

2. Поместить пробирку с глицерином в прибор и запустить программу Relax.

3. Нажать кнопку , настроив прибор на резонанс.

4. Кнопкой  настроить параметры (усиление, время запуска, количество накоплений, длительности 90^0 и 180^0 импульсов) по усмотрению преподавателя.

5. Для получения ССИ необходим один 90^0 импульс. Написать приложение (*.app) для измерения T_2 с помощью импульсной последовательности ССИ. Получить релаксационный спад.

6. Последовательность для спинового эха состоит из одного 90^0 и одного 180^0 импульсов. Написать приложение (*.app) для измерения T_2 с помощью импульсной последовательности спинового эха. Получить эхо-сигнал.

7. В результате применения CPMG получить сигнал, представляющий собой зависимость амплитуды сигналов эха от времени. Написать приложение (*.app) для измерения T_2 с помощью импульсной последовательности CPMG. Получить спад поперечной намагниченности. Сохранить data-файл.

8. Провести аппроксимацию полученного спада с помощью экспоненциальной функции $A(t)=A_0 \exp(-t/T_2)$, определить время спин-спиновой релаксации T_2 .

Контрольные вопросы

1. Приведите основные параметры, измеряемые в ЯМР эксперименте.

2. Перечислите методы для определения времени спин-спиновой и спин-решеточной релаксации.

3. Объясните суть уравнения Блоха. Как происходит рефокусировка макроскопической ядерной намагниченности?

4. Что показывает время T_1 и T_2 ?

4.4 Изучение влияния концентрации парамагнитных ионов в воде на времена спин-спиновой и спин-решеточной релаксации

Цель работы: изучить влияние концентрации парамагнитных ионов в воде на времена спин-спиновой релаксации T_2 и спин-решеточной релаксации T_1 . Исследовать зависимость времени T_2 и T_1 от концентрации раствора.

Приборы и оборудования: компьютер, стационарный ЯМР-анализатор низкого разрешения «Спин Трек», шесть образцов с разной концентрацией медного купороса.

В работе исследуется зависимость времен спин-спиновой T_2 и спин-решеточной T_1 релаксации от концентрации парамагнитных ионов в воде. Парамагнитные ионы являются эффективными центрами оттока энергии спинового резервуара и повышение их концентрации ведет к увеличению скорости релаксации. Для измерения времен спин-спиновой релаксации применяется импульсная последовательность CPMG. Для измерения T_1 используется импульсная последовательность $90^\circ - \tau - 90^\circ$. Образцы с различным содержанием парамагнитных ионов готовятся по методике, представленной ниже. Для каждого образца измеряется время T_2 , затем строится график зависимости времени спин-спиновой релаксации от концентрации парамагнитных ионов в воде.

Методика приготовления образцов

1. Приготовьте насыщенный раствор медного купороса CuSO_4 . Для этого в стакан налейте 100 мл дистиллированной воды и нагрейте ее на водяной бане до 50–60 °С. В нагретую воду при постоянном перемешивании добавляйте медный купорос до тех пор, пока новая порция не перестанет растворяться.

2. В мерную колбу на 20 мл налейте около 10 мл дистиллированной воды, с помощью шприца или пипетки

добавьте 1 каплю насыщенного раствора медного купороса. Долейте в колбу дистиллированную воду до отметки 20 мл. Хорошо перемешайте.

3. Для приготовления каждого следующего образца увеличивайте количество насыщенного раствора медного купороса на 1 каплю. Приготовьте всего 6 образцов.

Ход работы

1. Включить прибор и подготовить к работе измерительную аппаратуру, установленную на рабочем столе.

2. Поместить образец в прибор и запустить программу Relax.

3. Нажать кнопку , настроив прибор на резонанс.

Измерение времени спин-спиновой релаксации T_2

4. Кнопкой  настроить параметры (усиление, время запуска, количество накоплений, длительности 90° и 180° импульсов, количество эха, время эха) по усмотрению преподавателя.

5. Клавишей F9 запустить импульсную последовательность CPMG (CPMG.app).

6. Измерить время спин-спиновой релаксации T_2 .

Для этого:

- сохранить все данные эксперимента в формате *.dat;
- с помощью программы Origin открыть сохраненный файл: file→open→*.dat;
- удалить точки во время первых 10 мкс;
- выделить столбец D(Y). Нажать правой кнопкой мыши plot→line+symbol;
- проанализировать график и найти время T_2 : analysis→fit exponential decay→first order.

7. Пункты 1-6 проделать с каждым образцом.

8. Построить график зависимости времени спин-спиновой релаксации T_2 от концентрации раствора.

Измерение времени спин-решеточной релаксации T_1

9. Кнопкой  настроить параметры (усиление, время запуска, количество накоплений, длительность 90° импульса, время наблюдения, начальный шаг, количество точек) по усмотрению преподавателя.

10. Открыть приложение T1_90_90.app. Клавишей F9 запустить измерение.

11. Снять кривую восстановления продольной намагниченности. Определить время спин-решеточной релаксации T_1 .

Для этого:

- сохранить экспериментальные данные в формате *.xls;
- с помощью программы Origin загрузить сохраненную таблицу с данными: file→open→*.xls;
- выделить столбец D(Y). Нажать правой кнопкой мыши plot→line+symbol;
- проанализировать график и найти время T_1 : analysis→fit exponential decay→first order.

12. Пункты 10-11 проделать с каждым образцом.

13. Построить график зависимости времени спин-решеточной релаксации T_1 от концентрации раствора.

14. Сделать выводы по полученным графикам зависимости времен спин-спиновой и спин-решеточной релаксации от концентрации раствора.

Контрольные вопросы

1. От чего зависят времена ЯМР релаксации T_2 и T_1 ?
2. Почему при повышении концентрации ионов T_2 уменьшается T_1 ?

3. Какие требования предъявляются к контрастирующим агентам для ЯМР-томографии?
4. В чем заключается смысл применения контрастирующих агентов в ЯМР-томографии?
5. Как можно "подавить" сигнал от воды в ЯМР-томографии?

4.5 Построение калибровочного графика для определения неизвестной концентрации раствора этилового спирта при помощи амплитудных измерений ЯМР-сигнала

Цель работы: изучить и объяснить зависимость амплитудных параметров ЯМР-релаксации водного раствора этанола от его концентрации.

Приборы и оборудования: компьютер, стационарный ЯМР-анализатор низкого разрешения «Спин Трек», дистиллированная вода, этиловый спирт.

Суть работы заключается в использовании различия протонных плотностей двух разных реагентов в общем растворе. Учитывая то, что на один грамм спирта и воды приходится разное количество резонирующих ядер ^1H , можно провести титрование и при нескольких известных концентрациях построить калибровочную кривую, по которой определять химический состав смеси с неизвестными пропорциями спирта и воды.

Методика приготовления образцов

Для приготовления образцов с разной концентрацией этанола (0, 20, 40, 60, 70, 94 %) используются этиловый спирт ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) и дистиллированная вода (H_2O).

Определить исходную концентрацию чистого спирта

1. В мерную колбу вставить воронку, налить 50 мл этилового спирта и взвесить. По известной формуле

$$\rho = \frac{m}{V} \quad (5.1)$$

рассчитать плотность этанола.

2. По табл. 1 определить концентрацию спирта (при $t = 25$ °C).

Таблица 1

**Значения плотностей этилового спирта
в зависимости от его концентрации и температуры**

Концентрация спирта, %	Температура, °C		
	20	25	40
92	0,81257	0,80816	0,79497
96	0,80138	0,79700	0,78388
100	0,78934	0,78501	0,77203

Часто случается, что плотность не отвечает значениям, приведенным в табл. 1, а находится между табличными данными. В этом случае процентную концентрацию определяют интерполяцией.

Рассчитать соотношения долей этилового спирта и воды для приготовления растворов с различными концентрациями спирта:

3. Принять массу раствора равной 25 г. Для определения значения массы чистого спирта, необходимого для изготовления растворов этанола с концентрациями 20, 40, 60, 70, 80 %, воспользоваться формулой

$$m_{\text{чист.спирта}} = \frac{m_{\text{раствора}} \cdot \omega}{100\%}, \quad (5.2)$$

где ω – заданная концентрация раствора этилового спирта, %.

Пользуясь формулой (5.2), определить массу чистого спирта для концентраций $\omega = 20, 40, 60, 70, 80$ %. Заполнить табл. 2.

Например, для массы раствора равной 25 г, масса чистого спирта, необходимого для создания раствора спирта с концентрацией 20 % ($\omega = 20$), равна $m_{\text{чист. спирта}} = 5$ г, а $m_{\text{H}_2\text{O}} = 20$ г.

Таблица 2

Рассчитанные значения масс чистого спирта, раствора спирта, воды, необходимые для приготовления образцов

Концентрация спирта, %	20	40	60	70	80
$m_{\text{чист. спирта}}, \text{ г}$	5				
$m_{\text{р-ра спирта}}, \text{ г}$	5,2150				
$m_{\text{воды}}, \text{ г}$	1,9875				

По определению процентной концентрации, если исходная концентрация этилового спирта равна 95,878 %, то в 100 г раствора содержится 95,878 г чистого спирта. Найдем, сколько граммов 95,878 % раствора спирта необходимо для получения образца с концентрацией 20 %. Для этого решаем пропорцию

$$\frac{x}{100} = \frac{5}{95,878} \Rightarrow x = 5,2150 \text{ г}$$

Аналогичным образом найти массу раствора спирта ($m_{\text{р-ра спирта}}$), необходимую для приготовления образцов концентраций 40, 60, 70, 80 %. Заполнить табл. 2.

Для определения массы воды $m_{\text{воды}}$ в образцах необходимо из массы всего раствора (25 г) вычесть массу раствора спирта.

Например, для образца с концентрацией 20 % масса воды вычисляется как $25 \text{ г} - 5,2150 \text{ г} = 19,785 \text{ г}$.

Аналогично рассчитать массу воды для приготовления растворов с концентрацией спирта 40, 60, 70, 80 %. Заполнить табл. 2.

Определив массы 95,878 % раствора спирта и воды, необходимых для создания различных концентраций, приготовить образцы, используя электронные весы.

Для проведения измерений необходимо распределить растворы по пробиркам, заполнив их при этом примерно до одинакового уровня (1 см раствора по высоте).

Ход работы

1. Включить прибор и подготовить к работе измерительную аппаратуру, установленную на рабочем столе.
2. Поместить пробирку с раствором, концентрация которого 20 % в прибор и запустить программу Relax.
3. Нажать кнопку , настроив прибор на резонанс.
4. Кнопкой  настроить параметры по усмотрению преподавателя.
5. Клавишей F9 запустить FID.app.
6. Измерить сигнал ССИ.

Для этого:

- сохранить все данные эксперимента в формате *.dat;
 - с помощью программы Origin открыть сохраненный файл: file→open→*.dat;
 - удалить точки во время первых 10 мкс;
 - выделить столбец D(Y) и усреднить точки амплитуды в диапазоне от 15 до 25 мкс: выделить строки от 15 до 25 мкс по времени → нажать правую кнопку мыши и выбрать команду Statistics on column. Записать полученное значение усредненной амплитуды.
7. Измерить массу образца на электронных весах, затем найти отношение амплитуды к ней.
 8. Пункты 1-7 проделать для остальных образцов.
 9. По полученным результатам построить график зависимости отношения $\frac{A}{m}$ (амплитуда к массе) от концентрации раствора.

10. Определить по градуировочному графику неизвестную концентрацию X %.

Контрольные вопросы

1. Какой вид имеет зависимость $\frac{A}{t}$ от концентрации раствора?

Почему?

2. Что такое “протонная плотность”?
3. Какова погрешность метода измерения содержания этанола в воде при помощи амплитудных ЯМР-измерений, от чего она зависит?
4. Как может влиять время между отдельными сканами на результат эксперимента?

4.6 Изучение зависимости времени спин-решеточной релаксации от концентрации этилового спирта в водном растворе

Цель работы: изучить и объяснить зависимость времени спин-решеточной ЯМР-релаксации водного раствора этанола от его концентрации.

В данной работе анализируется спин-решеточная релаксация смеси воды и этанола – веществ, имеющих принципиально разные значения T_1 . Анализируя зависимость скорости спин-решеточной релаксации от массовых долей компонентов раствора необходимо сделать вывод о характере обмена в смеси.

Приборы и оборудования: компьютер, стационарный ЯМР-анализатор низкого разрешения «Спин Трек», образцы с разной концентрацией этилового спирта.

Ход работы

1. Включить прибор и подготовить к работе измерительную аппаратуру, установленную на рабочем столе.

2. Поместить пробирку с раствором, концентрация которого 20 % в прибор и запустить программу Relax.

3. Нажать кнопку , настроив прибор на резонанс.

4. Кнопкой  настроить параметры (усиление, время запуска, количество накоплений, длительность 90° импульса, время наблюдения, начальный шаг, количество точек) по усмотрению преподавателя.

5. Открыть приложение T1_90_90.app. Клавишей F9 запустить измерение.

6. Снять кривую восстановления продольной намагниченности. Определить время спин-решеточной релаксации T_1 .

Для этого:

- сохранить экспериментальные данные в формате *.xls;
- с помощью программы Origin загрузить сохраненную таблицу с данными: file→open→*.xls;
- выделить столбец D(Y). Нажать правой кнопкой мыши plot→line+symbol;
- проанализировать график и найти время T_1 : analysis→fit exponential decay→first order.

7. Пункты 5-6 проделать с каждым образцом.

8. Построить график зависимости времени спин-решеточной релаксации T_1 от концентрации раствора этанола.

9. Сделать выводы по полученному графику.

Контрольные вопросы

1. Чем определяется время спин-решеточной релаксации T_1 в жидкостях?

2. Дайте определение Зеемановского резервуара.

3. Сформулируйте методику определения концентрации этанола в водном растворе при помощи измерения времени T_1 .

4. Что такое быстрый и медленный обмен с точки зрения ЯМР релаксации?

5. Как может влиять длительность радиочастотных импульсов на необходимое для измерений время?

4.7 Определение протонной плотности протонсодержащих образцов. Изготовление эталонного образца.

Цель работы: приготовить эталонный образец резины с известной протонной плотностью; по соотношениям амплитуд сигналов ССИ эталона и экспериментального протонсодержащего образца определить протонную плотность различных экспериментальных образцов.

Приборы и оборудования: компьютер, стационарный ЯМР-анализатор низкого разрешения «Спин Трек», дистиллированная вода, шприц, образец резины.

ЯМР-релаксометр может использоваться как прецизионный измеритель объемной или массовой концентрации ядер изотопов водорода ^1H . Точные значения протонных плотностей могут быть очень полезны при количественном химическом анализе. Для приведения данных в единую шкалу необходимо создать "эталонный образец", который должен быть стабильным с точки зрения воспроизводимости и повторяемости эксперимента, то есть иметь по возможности низкое значение времени спин-решеточной релаксации и обладать постоянной массой (не испаряться, как это может оказаться при использовании воды).

Ход работы

1. Измерить массу пустой пробирки с пробкой.

2. В пробирку диаметром 10 мм налить дистиллированную воду из шприца на высоту ≈ 1 см. По шкале шприца определить объем воды в пробирке V_{H_2O} .

3. Измерить массу пробирки с дистиллированной водой m_{H_2O} .

4. Определить число молекул воды по формуле

$$N_{H_2O} = \frac{m_{H_2O}}{m_0} = \frac{m_{H_2O} \cdot N_A}{M},$$

где m_0 – масса одной молекулы воды, M – молярная масса воды, N_A – число Авогадро ($N_A = 6,02 \cdot 10^{23}$ моль $^{-1}$).

Тогда количество протонов 1H в образце

$$N_{H(H_2O)} = 2N_{H_2O}.$$

5. Поместить пробирку с водой в ЯМР-анализатор и запустить программу Relax.

6. Нажать кнопку , настроив прибор на резонанс.

7. Кнопкой  настроить параметры (усиление, время запуска, количество накоплений, длительность 90° импульса, время наблюдения, начальный шаг, количество точек) по усмотрению преподавателя.

8. Открыть приложение FID.app. Клавишей F9 запустить измерение.

9. Измерить сигналы ССИ для образцов воды и резины.

Для этого:

- сохранить все данные эксперимента в формате *.dat;
- с помощью программы Origin открыть сохраненный файл: file→open→*.dat;
- удалить точки во время первых 10 мкс;
- определить максимальные амплитуды ССИ для образцов воды A_{H_2O} и резины A_{rubber} .

10. По соотношению

$$\frac{N_{H(H_2O)}}{N_{H(rubber)}} = \frac{A_{H_2O}}{A_{rubber}}$$

определить количество протонов в образце резины $N_{H(rubber)}$.

11. Измерить амплитуды ССИ для предложенных экспериментальных образцов A_{sample} и определить количество протонов в образцах $N_{H(sample)}$, используя соотношение

$$\frac{N_{H(rubber)}}{N_{H(sample)}} = \frac{A_{rubber}}{A_{sample}}.$$

Контрольные вопросы

1. Какую информацию дает измерение протонной плотности?
2. От чего зависит точность измерения протонной плотности методом ЯМР?
3. На ядрах каких изотопов возможно наблюдение магнитного резонанса?
4. Почему рекомендуется использовать резину в качестве эталонного образца?

Список литературы

1. Слоним, И.Я. Ядерный магнитный резонанс в полимерах / И.Я. Слоним, А.Н. Любимов. – М.: Химия, 1966. – 340 с.
2. Чижик, В.И. Ядерная магнитная релаксация: учебное пособие / В.И. Чижик. – 3-е изд. – СПб: Изд-во С.-Петербург. ун-та, 2004. – 338 с.
3. Хеберлен, У. ЯМР высокого разрешения в твердых телах / У. Хеберлен, М. Меринг. – М.: Мир, 1980. – 504 с.
4. Эрнст, Р. ЯМР в одном и двух измерениях: пер. с англ. / Р. Эрнст, Дж. Боденхаузен, А. Вокаун. – М.: Мир, 1990. – 711 с.
5. Сликтер, Ч. Основы теории магнитного резонанса с примерами из физики твердого тела: пер. с англ. / Ч. Сликтер. – М.: Мир, 1967. – 324 с.
6. Рот, Г.-К. Радиоспектроскопия полимеров: пер. с нем. / Г.-К. Рот, Ф. Келлер, Х. Шнайдер. – М.: Мир, 1987. – 381 с.
7. Федотов, В.Д. Структура и динамика полимеров. Исследования методом ЯМР / В.Д. Федотов, Х. Шнайдер. – М.: Наука, 1992. – 208 с.
8. Казицина Л.А. Куплетская Н.Б. Применение УФ-, ИК-, ЯМР- и масс-спектропии в органической химии / Л.А. Казицина, Н.Б. Куплетская – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Изд-во Московского университета, 1979. – 240 с.

Содержание

Предисловие.....	3
Введение.....	4
Техника безопасности.....	5
1 Теоретические основы ЯМР.....	9
2 ЯМР высокого разрешения.....	18
3 ЯМР низкого разрешения.....	31
Заключение.....	Ошибка! Закладка не определена.
4 Лабораторные работы.....	Ошибка! Закладка не определена.
4.1 Изучение зависимости амплитуды ЯМР-сигнала глицерина от длительности РЧ импульса.....	43
4.2 Изучение спектра радиочастотного импульса.....	44
4.3 Освоение методов ССИ (спада свободной индукции), спинового эха (эхо Хана), Карра-Парселла-Мейбума-Гилла (CPMG).....	46
4.4 Изучение влияния концентрации парамагнитных ионов в воде на времена спин-спиновой и спин-решеточной релаксации.....	48
4.5 Построение калибровочного графика для определения неизвестной концентрации раствора этилового спирта при помощи амплитудных измерений ЯМР-сигнала.....	50
4.6 Изучение зависимости времени спин-решеточной релаксации от концентрации этилового спирта в водном растворе.....	55
4.7 Определение протонной плотности протонсодержащих образцов. Изготовление эталонного образца.....	57
Список литературы.....	59

Учебное издание

ГРУНИН Леонид Юрьевич,
НИКОЛЬСКАЯ Екатерина Александровна,
САБИРОВА Диана Рафаиловна
СМИРНОВА Анастасия Олеговна

Изучение магнитно-резонансных методов анализа

Лабораторный практикум

Компьютерная набор и верстка: *Л.Ю. Грунин,*
Е.А. Никольская,
Д.Р. Сабирова,
А.О. Смирнова

Подписано в печать Формат 60×84/16

Бумага офсетная. Печать офсетная.

Усл. печ. л. . Уч.-изд.л.

Тираж _____ экз. Заказ № . С- .

Марийский государственный технический университет
424000 Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3

Редакционно-издательский центр
Марийского государственного технического университета
424006 Йошкар-Ола, ул. Панфилова, 17