

Mágneses magrezonancia-spektroszkópia

Egy- és kétdimenziós módszerek a kémiai szerkezetkutatásban

Metodikai útmutató

Szalontai Gábor

Veszprémi Egyetem

NMR Laboratórium

Verziószám: 2.0

2003. március

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	3
2. A MAGSPINEK ÉS KÖLCSÖNHATÁSAIK	3
3. KÖLCSÖNHATÁS A TÉREN ÁT: MAG OVERHAUSER HATÁS (NOE)	27
3.1 A HATÁS EREDETE	27
3.2 A MÉRT NOE-BŐL SZÁMOLHATÓ MAGTÁVOLSÁGOK ÉS MEGBÍZHATÓSÁGUK	30
3.3 A NOE KIMUTATÁSA ÉS MENNYISÉGI MÉRÉSE.....	34
3.4 GYAKORLATI TANÁCSOK:.....	40
4. A KÖTÉSEK ÁLTAL KÖZVETÍTETT SKALÁRIS SPIN-SPIN CSATOLÁSON ALAPULÓ ELJÁRÁSOK	46
4.1 ÉRZÉKENYSÉGNÖVEELÉS POLARIZÁCIÓ-ÁTVITELLEL ÉS SPEKTRUMSZERKESZTÉS (SPI, INEPT, DEPT).....	46
4.2 HOMONUKLEÁRIS KÉMIAI ELTOLÓDÁS KORRELÁCIÓK :	58
4.2.1 Kétdimenziós NMR :	58
4.2.2 A COSY kísérlet alkalmazásai:	62
4.2.3 COSY változatok:	70
4.2.4 Hagyományos vs. térgradiens-impulzust használó szekvenciák (gradiens spektroszkópia, PFG).....	74
4.2.5 Korrelációk híg magok között	81
4.3 HETERONUKLEÁRIS KÉMIAI ELTOLÓDÁS KORRELÁCIÓK:	85
4.3.1 Az X mag (^{13}C , ^{29}Si , ^{195}Pt , stb.) detektálásán alapuló eljárások.....	85
4.3.2 A bő mag (szinte kizárólag ^1H) detektálásán alapuló ún. inverz eljárások.....	98
4.4 A SPIN-ECHO KÖZVETLEN FELHASZNÁLÁSA (J-SPEKTROSKÓPIA)	105
4.4.1 Heteronukleáris J-modulált spin-echo	105
4.4.2 Heteronukleáris J-spektrum (HET2DJ)	111
4.4.3 Homonukleáris J-spektrum (HOM2DJ).....	113
5. A DINAMIKUS NMR JELENSÉG	117
6. GYAKORLATI NMR SPEKTROSKÓPIA	124
6.1 A KÉSZÜLÉK:	124
6.2 MÉRÉS ÉS ADATFELDOGOZÁS	124
6.3 MINTAELŐKÉSZÍTÉS	127
6.4 A SPEKTROMÉTER ELŐKÉSZÍTÉSE A MÉRÉSHEZ.....	128
6.5 KALIBRÁLÁSOK:	131
6.6 MÉRÉSEK SZÉLSŐSÉGES KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT	134
A HASZNÁLT JELÖLÉSEK ÉS RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE:	136
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS:	137
FELJEGYZÉSEK:	138

Egy- és kétdimenziós NMR eljárások a kémiai szerkezetkutatásban

1. Bevezetés

Az NMR technika utóbbi két évtizedbeli példátlan fejlődése tovább növelte azt a távolságot, ami a módszert használó szerves vagy szervetlen vegyész, analitikus vagy orvos NMR-es ismeretei és annak tényleges lehetőségei között mindig is megvolt.

Ezen jegyzet célja az NMR "fekete doboz" jellegének csökkentése, hogy ez által még hatékonyabb eszközzé váljon a felhasználó számára. Ezt szolgálja annak a néhány alapvető kölcsönhatásnak az ismertetése, amelyek napjaink mérési módszerei alapulnak, és amelyek ismeretében ezek érthetővé válnak. Érthetőség alatt itt nem ezen eljárások apró részleteinek megértését gondoljuk, hanem abban való eligazodást, hogy a kívánt, keresett adat (pl. egy csatolási állandó vagy két mag térközelségének igazolása), hogy kapható meg a legrövidebb úton és nem utolsósorban, mi az így kapott adat megbízhatósága, diagnosztikai értéke. Ennek megfelelően nem szándéka a jegyzetnek a különböző magok spektrumainak értékelését ismertetni, erre a célra számos kitűnő monográfia áll rendelkezésre.

A jegyzet feltételezi az alapvető fizikai-kémiai (Boltzmann eloszlás, kinetikai és egyensúlyi összefüggések) és NMR spektroszkópiai (mágneses momentum, Larmor precesszió, Bloch egyenletek, kémiai eltolódás, a skaláris spin-spin csatolás jelensége, Fourier-transzformáció, stb.) fogalmak ismeretét és épít ezekre, ugyanakkor elkerüli a pontos matematikai bizonyításokat, inkább a jelenségek fizikai alapjainak ismertetésére, minőségi leírására szorítkozik.

2. A magspinek és kölcsönhatásaik

Egy mágneses momentummal rendelkező mag jelentőségét NMR-es szempontból meghatározó tulajdonságok az alábbiak: a mag **spinkvantszáma (I)**, **giromágneses hányadosa (γ)** és **természetes előfordulásának aránya**. Néhány fontosabb mag adatait (a gerjesztési frekvenciákkal és "mérhetőségükkel" együtt) az túloldali táblázat tartalmazza.

Izotóp	Giromágneses hányados, $\gamma/10^7 \text{rad T}^{-1} \text{s}^{-1}$	Természetes előfordulás, %	Magspin kvantumszám, I	Mérhetőség (a ^{13}C -hez viszonyítva)*	Mágneses momentum, μ/μ_N	Larmor Frekvencia, MHz**
^1H	26,751	99,98	1/2	5680	2,792	300,0
^2H	4,106	0,015	1	$8.2 \cdot 10^{-3}$	1,212	46,05
^{31}P	10,82	100	1/2	377	1.958	121,4
^7Li	3,936	92,6	3/2	3,58	1,162	116,6
^{13}C	6,726	1,1	1/2	1	1,216	75,42
^{14}N	1.932	99,6	1	5,65	0,570	21,6
^{17}O	-3,626	0,37	5/2	$6,1 \cdot 10^{-2}$	-2,239	40,6
^{119}Sn	-9,97	8,58	1/2	25,2	-1.802	111,8

*A jel abszolút erőssége az $A\gamma^3 I(I+1)$ szorzattal arányos, ahol **A** a természetes előfordulás százaléka. **7.04 Tesla télerőnél (B_0).

Tekintettel arra, hogy az NMR alapvetően "érzékeny" módszer - nagyon kicsi az energiakülönbség az egyes energiaszintek között - a mérhetőség szempontjából meghatározó a jel szélessége (amennyiben elhanyagoljuk a természetes előfordulások különbségeit). Ez viszont a jelenlévő mágneses és elektromos dipólusok, kvadrupólusok kölcsönhatásainak, a relaxációs mechanizmusoknak valamint a Zeeman felhasadásokat meghatározó spinkvantumszámnak a függvénye.

A mágnesesen aktív magok mágneses dipólként viselkednek, amelyek egymással, távolságuktól és a külső statikus térrel, B_0 bezárt szögüktől függően, kölcsönhatásba lépnek.

A gyakorlatban ez rendkívül széles (5000 - 500000 Hz) jeleket eredményezhet erős dipólusok esetén. Szerencsére azonban oldatokban a molekulák hőmozgása nullára átlagolja ezeket a hatásokat, ami lehetővé teszi, hogy az olyan, lényegesen kisebb energiát képviselő, de a vegyész számára fontos jelenségek, mint a **kémiai eltolódás** és a **spin-spin skaláris csatolás** észlelhetővé váljanak a spektrumban. Ez az oka annak, hogy az NMR még napjainkban is elsősorban oldatfázisú mérési módszer, annak ellenére, hogy ma már kristályos, polimer vagy akár üvegszerű anyagokról is készíthetők nagyfelbontású felvételek. A "nagyfelbontású" jelző itt arra vonatkozik, hogy a szilárd fázisú spektrumokból is meghatározhatók a kémiai

eltolódások és skaláris csatolási állandók (bár ez utóbbiak nem mindig). A szilárdfázisú NMR technika¹ azonban nem képezi vizsgálódásunk tárgyát.

*Bár ez a két adat létfontosságú az oldatfázisú NMR felvételeken felnőtt vegyészek számára, de korántsem biztos, hogy pl. egy fizikus is hasonló fontosságot tulajdonít ezeknek.
(A "kémiai eltolódást" felfedező és elnevező Proctor és You enyhe lekicsinyléssel adták ezt a nevet annak a gyenge kölcsönhatásnak, amely "zavarta" őket a ^{59}Co giromágneses hányadosának négy tizedes pontossággal történő meghatározásában).*

Nem szabad azonban megfeledkezni a "láthatatlan" dipól-dipól kölcsönhatások egy igen áldásos hatásáról, nevezetesen arról, hogy jórészt, bár nem kizárólagosan, ezeknek köszönhető, hogy a gerjesztett magok képesek a felvett energiát a környezetüknek visszaadni (relaxálni).

Az $I=1/2$ -es magokat általában hosszú relaxációs idők (10^{-1} - 10^3 s) és ennek megfelelően éles jelek (általában néhány Hz-es sávszélesség) jellemzik. Ezek a hagyományos módon is jól mérhető magok (^1H , ^{19}F , ^{31}P), amelyek az alkalmazók számára évtizedeken keresztül az "NMR"-t jelentették.

Az, hogy a vegyészek számára fontos magok jó része ebbe a csoportba tartozik, pusztán a természet különös ajándéka.

A magok egy másik, lényegesen nagyobb csoportját képezik az $I>1/2$ -es (ún. kvadrupól) magok, ezekben a magon belüli töltéeloszlás nem egyenletes. A létrejövő elektromos kvadrupólusok aztán a mag körüli elektromos erőter *gradiensével* (már amennyiben ilyen van) kölcsönhatásba lépnek, ami rendszerint egy igen hatékony relaxációs csatornát nyit meg a mag számára. Ez aztán esetenként (de nem mindig) rendkívül széles (50-100 kHz) jeleket eredményez, amelyek nem, vagy csak igen nehezen mérhetők. Az energiát a kvadrupólusmomentummal való kölcsönhatás miatt felhasadt Zeeman-szintek közötti átmenetek által gerjesztett kis mágneses terek "viszik" el.

A kvadrupól átmenetek természetesen külső mágneses tér nélkül is léteznek, gerjeszthetők, stb, és **mágneses kvadrupól rezonancia (NQR)** néven önálló, saját jogú spektroszkópai módszert jelentenek, amely természetesen szintén nem képezi vizsgálódásunk tárgyát.

¹ Magyar nyelvű jegyzet: Szalontai G. NMR vizsgálatok szilárd fázisban. 2002 (CD-változat is).

Gerjesztés, relaxáció (T_1, T_2) és mérés (akvizíció) az impulzus NMR technikában

Ezek a folyamatok mindenféle spektroszkópai módszer meghatározó részei. Mielőtt azonban velük foglalkoznánk célszerű néhány alapfogalomra kitérni.

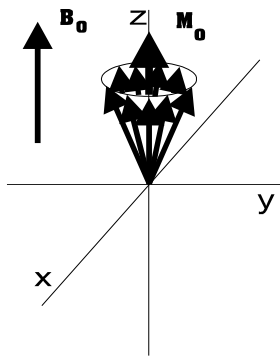
A mag: az atommagok, csakúgy mint az elektronok, saját mágneses momentummal és spinnel bírnak, azaz a magok kis elemi mágnesként is felfoghatók. Külső állandó mágneses tér, \mathbf{B}_0 hiányában azonban a minta eredő mágneszettsége, \mathbf{M}_0 nulla, hiszen a kis mágnesek a teljes rendezetlenség állapotában vannak. Amennyiben azonban a mintát mágneses térbe helyezzük a rendezetlenséget egy bizonyos rendezettség váltja fel, a mágnesek néhány jól meghatározott helyzetet vesznek fel a külső mágneses tér irányához képest a mágneses vagy azimut kvantumszám, m_l aktuális értékének megfelelően (Zeeman felhasadás). Ezen, egymástól egy adott energiával különböző szintek számát $(2I+1)$ a mag spinquantumszáma, betöltöttségüket pedig a Boltzmann eloszlás fogja meghatározni.

Mivel egyensúlyi állapotban az alsó szintek betöltöttsége valamivel (bár sajnos nagyon kevéssel) mindig nagyobb a felsőkénél, a minta eredő mágneszettsége többé nem nulla. Az elemi mágnesek a külső \mathbf{B}_0 tér irányához képest egy adott szöggel fognak forogni vagy más szóval precesszálni (giroszkóp hatás). A forgás sebessége az ismert Larmor frekvencia (ω_0), amely a magra jellemző ún. giromágneses hányadossal, γ és a külső térrel arányos:

$$\omega_0 = 2\pi\nu = -\gamma B_0$$

A Larmor frekvenciának előjele is van, ami a forgás irányát definiálja, a negatív előjel az óramutatóval megegyező forgást jelent.

Ha most a mintában jelenlévő nagyszámú azonos spint együtt vizsgáljuk, akkor azt látjuk, hogy viselkedésük jól modellezhető az alábbi képpel.

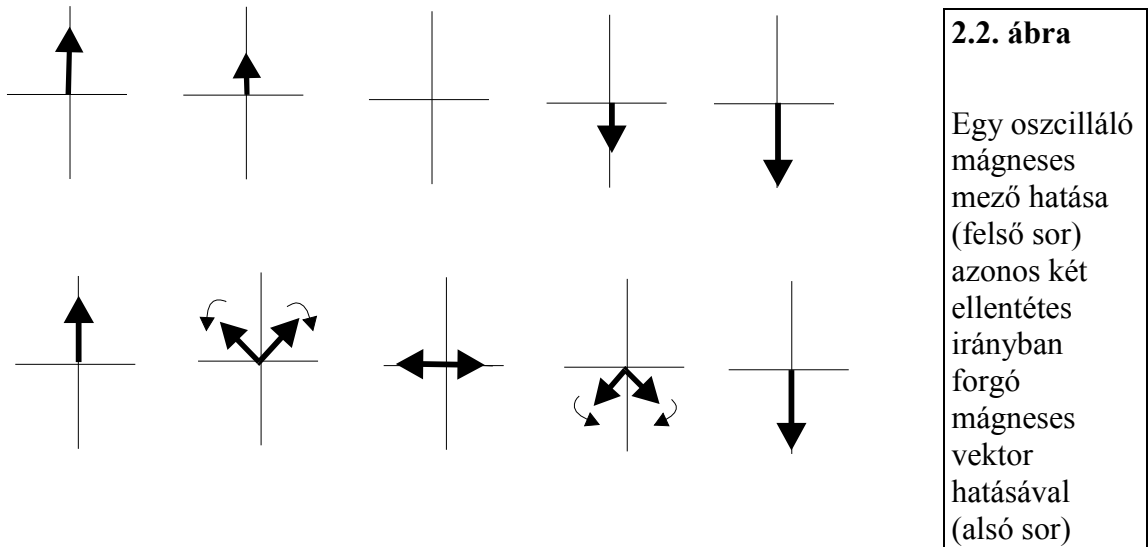


2.1. ábra A spinek azon többlete, amely a külső \mathbf{B}_0 térrel azonos irányban áll és \mathbf{M}_0 -t eredményezi

A spinek egy kúppalást mentén egyenletesen helyezkednek el, a kúp tengelyének iránya megegyezik a külső mágneses tér irányával. $I=1/2$ -es magok esetén csak kétféle beállítás lehetséges, ezen a két szint betöltöttsége a kis energiakülönbség miatt "gyakorlatilag" azonos. (Egy két spinből álló AX rendszerben az 1:1-es dublettek intenzitásában kísérletileg nem mutatható ki különbség). A minta mégis rendelkezik egy \mathbf{M}_0 makroszkópikus mágnesezettséggel, ami annak a csekély többletnek (minden millió spinből összesen néhány tucat) az eredménye, amennyivel több van az energetikailag kedvezőbb, a külső térrel megegyező irányú Zeeman szinten. A további tárgyalás során sem jelöljük a "külvilág" számára nem létező, egymást semlegesítő, ellentétes beállású spineket, de nem szabad elfeledkezni arról, hogy a spinek mikrovilágában egy "másik" spin mindig a Boltzmann eloszlásnak megfelelő betöltöttségű energiaszinteket jelent a vizsgált spin számára.

Az ábrából az is világos, hogy egyensúlyi helyzetben \mathbf{M}_0 -nak nincs az x - y síkba eső vetülete, a minta egy \mathbf{M}_0 nagyságú, z tengely irányú vektorként kezelhető.

A rádiófrekvenciás tér: váltakozó feszültséget kapcsolva a mérőfejben lévő tekercsre változó mágneses mező lép fel a mintában (a tekercs olyan geometriai elrendezésű, hogy az indukált tér, \mathbf{B}_1 iránya merőleges a jelenlévő állandó térre, \mathbf{B}_0 -ra). Az oszcilláló \mathbf{B}_1 rádiófrekvenciás tér (\mathbf{rf}) amplitúdója csak töredéke az állandó térének, frekvenciája a kiválasztott mag Larmor frekvenciájával azonos. A következő ábra annak igazolására szolgál, hogy két azonos amplitúdójú és frekvenciájú, de ellentétes irányban forgó vektor azonos hatású a változó mágneses térrel, ami segíthet a minta mágnesezettsége és a \mathbf{rf} tér, \mathbf{B}_1 közötti kölcsönhatás megértésében.



Álló és forgó koordináta rendszerek: miután a jegyzet magyarázatainak döntő része a jobb érthetőség kedvéért az ún. forgó koordináta rendszerből indul ki, célszerű ez utóbbinak lényegére is kitérni. Valójában ez csupán egy célszerűen választott szemléleti mód, amely a spinek nagyságrendekkel eltérő sebességű mozgásainak egyszerűbb megértését teszi lehetővé.

A falusi búcsúk közkedvelt körhintája sok vonatkozásban kitűnő mechanikus analógiája a spinek precessziójának. (Ugyanis a hintában ülők gyakran saját tengelyük körül is forognak a főkerék folyamatos forgása mellett.) A körhinta mellett állók az összes mozgást, beleértve az egyes személyek össze- majd szétkapcsolódását is észlelik. A hintában lévők számára a kép egyszerűbb, ők egy más idődimenzióban ülve elsősorban az előttük és mögöttük ülők hozzájuk képesti mozgását érzékelik (különösen, ha csinos az illető).

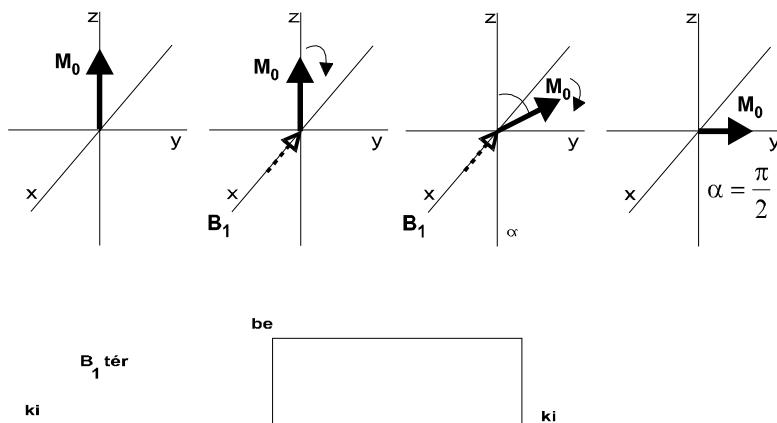
Pontosan ezt tesszük a forgó koordinátarendszer feltételezésével, beleülünk egy Larmor frekvenciával forgó körhintába, hogy a spinek számunkra fontosabb, de lényegesen lassúbb mozgását jobban követhessük.

Az impulzus hatása: a \mathbf{B}_1 rf tér hatását is a forgó rendszerben célszerű szemléltetni (2.3. ábra). Itt mindkét vektor, \mathbf{B}_0 és \mathbf{B}_1 sztatikus, és mivel ezek egymásra merőlegesek, a minta mágneszettségi vektora, \mathbf{M}_0 \mathbf{B}_1 körül fog az impulzus ideje alatt precesszálni az x - y síkban, mégpedig a \mathbf{B}_1 tér erőssége által meghatározott sebességgel. Az impulzus kalibrálható és ily módon könnyen meghatározható, hogy mennyi időre (mikroszekundumokról van szó!) van

szükség egy adott α szöggel való elforduláshoz. Általánosságban igaz, hogy az elfordítás szöge, α a gerjesztő tér erősségével és az impulzus időtartalmával, τ -val arányos.

$$\alpha = \gamma B_1 \tau$$

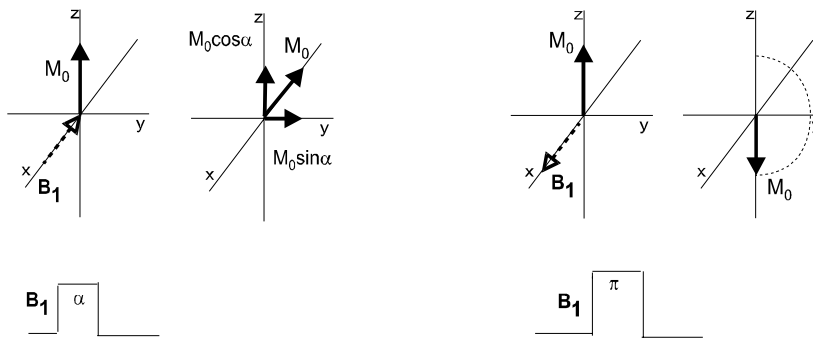
Az M_0 vektor tetszés szerinti irányba (x , $-x$, y , $-y$) és szöggel való elfordíthatósága az egyik előfeltétele az összes később ismertetendő impulzus-szekvenciának.



2.3. ábra

A rf impulzus hatása. Amíg B_1 tér be van kapcsolva addig M_0 körülötte forog. Ezért tetszőleges szöggel fordíthatjuk el B_1 egy adott ideig történő bekapcsolásával.

Egy kilencven fokos elfordítás után M_0 az y tengely mentén helyezkedik el, B_1 kikapcsolása helyreállítja B_0 egyeduralmát, a vektor egyenlőre az x - y síkban, de ismét B_0 körül kezd el precesszálni a B_0 tér által meghatározott Larmor frekvenciájával. Eközben változó feszültséget indukál az x - y síkban elhelyezett tekercsben vagy tekercsekben. Ezen jelek időbeli lecsengése a számukra fontos információkat tartalmazó NMR jel, a FID (Free Induction Decay). Természetesen nem szükséges az M_0 vektort mindig 90 fokkal elfordítani, bármilyen kis mértékű kimozdítása a z tengelyből már vetületet eredményez az x - y síkban és innen már az előbbi fejtegetés érvényes. Erről meggyőz minket a következő ábra.



2.4. ábra

Változó időtartamú B_1 tér változó méretű x - y vetületet eredményez.

A 180 fokos impulzus nem hagy mágnesezettséget az x - y síkban.

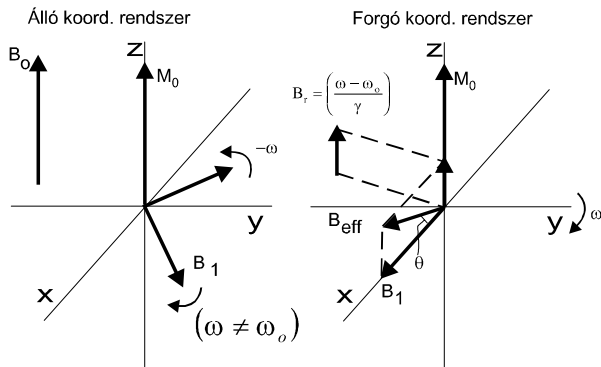
Energiaszintek és betöltöttségük változása az impulzus hatására: ha csak egy két energiaszinttel bíró rendszert vizsgálunk, az impulzus hatása igen egyszerű módon számolható. Amennyiben P_a és P_b a két szintnek (a és b vagy α és β) az egyensúlytól eltérő betöltöttsége, úgy $M_0 = M_z$ -nek egy θ szöggel való elfordítása az alábbi mértékben változtatja meg ezeket az értékeket:

$$P_a = \delta \cos \theta / 2 \quad P_b = -\delta \cos \theta / 2 \quad \text{ahol } \delta = \text{az alacsonyabb szint betöltöttség többlete}$$

Amiből azonnal látható, amit már eddig is sejtettünk, hogy egy kilencven fokos impulzus ($\cos \theta = 0$) a szintek kiegyenlítéséhez vezet, egy 180-os ($\cos \theta = -1$) pedig felcseréli (invertálja) az egyensúlyi értékeket azaz teljes egészében a felső szintre kerül a δ többlet. (Mint majd látni fogjuk az ún. polarizáció-átvitelen alapuló eljárások egész sora használja ki ezt a lehetőséget.)

"Off resonance" hatás, több jel együttes viselkedése: mindaddig hallgatólagosan feltételeztük, hogy mindössze egy jelünk van a spektrumban és azt is pontosan eltaláltuk a gerjesztő ("vivőnek" vagy "hordozónak" is nevezett) frekvenciával. A valóságban azonban ritkán vagyunk érdekeltek mindössze egy protont tartalmazó anyagok, pl. a kloroform proton spektrumában, általában különböző kémiai környezetű magok, esetleg több ezer Hz-cel eltérő jeleit kell egy időben, azonos mértékben gerjeszteni majd detektálni. Ehhez végtelenül erős és egyenes B_1 térre volna szükség, ami természetesen reménytelen, de fontos, hogy tisztában legyünk a rendelkezésünkre álló készülék képességeivel ebben a vonatkozásban is.

Az ideálistól eltérő, véges erősségű \mathbf{B}_1 tér hatása csökken a hordozó frekvenciától való távolság (offset) növekedésével, magyarul míg annak közelében egy adott erősségű tér adott ideig tartó impulzusa esetleg 90 fokkal képes elfordítani az \mathbf{M}_0 vektort, addig egy távolabbi jel esetében az elfordítás mértéke ennél kevesebb, pl. csak 87 fok.



2.5. ábra

Amennyiben több eltérő környezetű mag van jelen, ezek a hordozóhoz képest lassabban vagy gyorsabban fognak precessálni, az \mathbf{M}_0 vektor pedig nem \mathbf{B}_1 hanem \mathbf{B}_{eff} tér körül fog forogni, aminek nagysága a frekvenciakülönbség $(\omega - \omega_0)$ mértékétől függ.

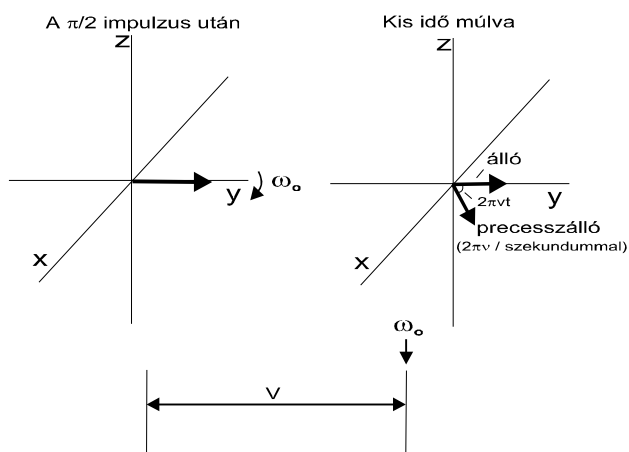
A távoli mag által érzékelt tényleges tér többé nem \mathbf{B}_1 hanem az annál kisebb, $\mathbf{B}_{\text{tény}}$ (\mathbf{B}_{eff}). \mathbf{M}_0 nem az x tengely körül hanem egy attól θ szöggel eltérő tengely körül fog precessálni. Az eltérés mértéke az alábbi egyenlet szerint függ a frekvenciakülönbségtől és a gerjesztő tér erősségétől.

$$\tan \theta = \frac{(\omega - \omega_0)}{\gamma \cdot B_1}$$

Megfordítva, ennek alapján könnyen kiszámíthatjuk, hogy milyen erős térre van szükség ahhoz, hogy pl. az x tengelytől való eltérés ne lépje túl az egy fokot. Egy 10 ppm széles proton spektrum esetében 200 MHz -en felvéve (1 ppm = 200 Hz) a maximális távolság hordozótól 1000 Hz (kvadratúr detektálás esetén, lásd lejjebb). Tangens $1^\circ = 0,017$ így a szükséges térerő kb. 60 kHz (esetenként a térerőt az általa gerjesztett frekvenciasávval fejezik ki). Ezt felhasználva az $\alpha = \gamma \mathbf{B}_1 \tau$ egyenlet segítségével megkapjuk a 90 fokos impulzushoz szükséges besugárzási időt (kb. $4 \mu\text{s}$).

Milyen gyakorlati következményei vannak az "off resonance" hatásnak a spektrumra? Ez a használni kívánt impulzus hosszától függ. Azoknál az impulzus-szekvenciáknál, amelyek csak <90 fokos impulzusokat használnak a távoli jelek intenzitás csökkenésével kell számolni. A kilencven fokos impulzusoknál is elsősorban a jel fázishibáján keresztül észleljük a B_1 tér csökkenését. A 180-fokos impulzuson alapuló szekvenciákban azonban lényeges zavarokhoz vezethet az ebből adódó hiba.

Vizsgáljuk meg ezek után az egyszerűség kedvéért két eltérő kémiai környezetű mag jelének viselkedését a forgó koordináta rendszerben. Legyen a kettőjük közötti frekvenciakülönbség ν .

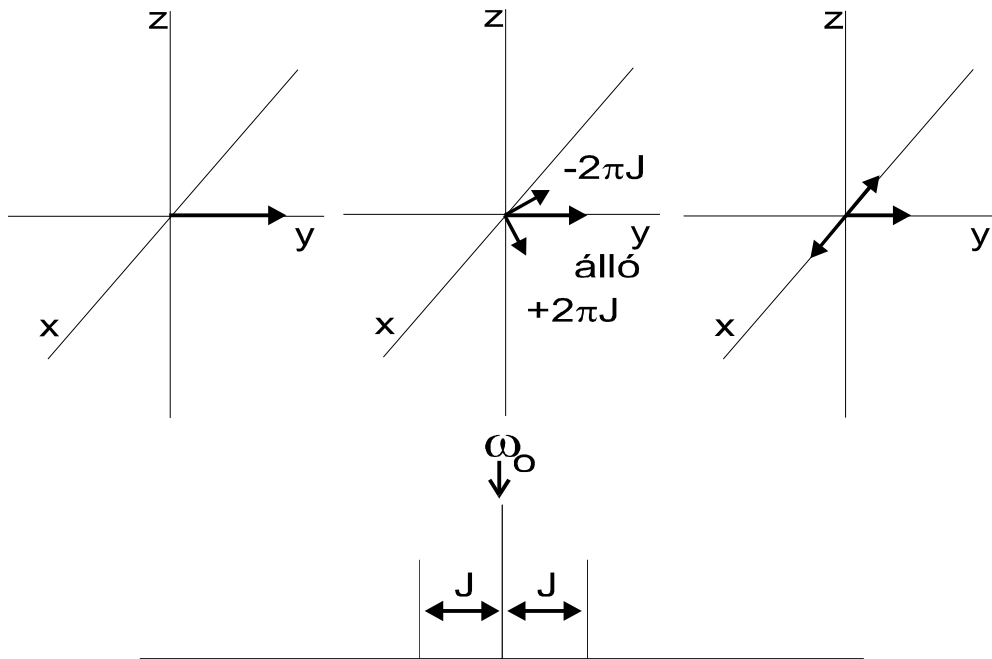


2.6. ábra

Két jel viselkedése a forgó koordináta rendszerben, ha az egyik jelre állítjuk a hordozó frekvenciát, a másik hozzá képest a kémiai eltolódás különbségük ν frekvenciájával fog mozogni (sietni vagy késni).

Amennyiben a hordozó frekvencia azonos az egyik jel rezonancia- frekvenciával (a korszerű készülékeken ez ténylegesen is kivitelezhető), akkor a Larmor frekvenciával forgó "forgó" rendszerben ez a jel állva marad és a másik fog hozzá képest $2\pi\nu$ szögsebességgel mozogni. A szög, amelyet megtesz t idő alatt $2\pi\nu t$ -vel egyenlő radiánban. Más szóval minden $1/\nu$ másodperc alatt megtesz egy teljes kört.

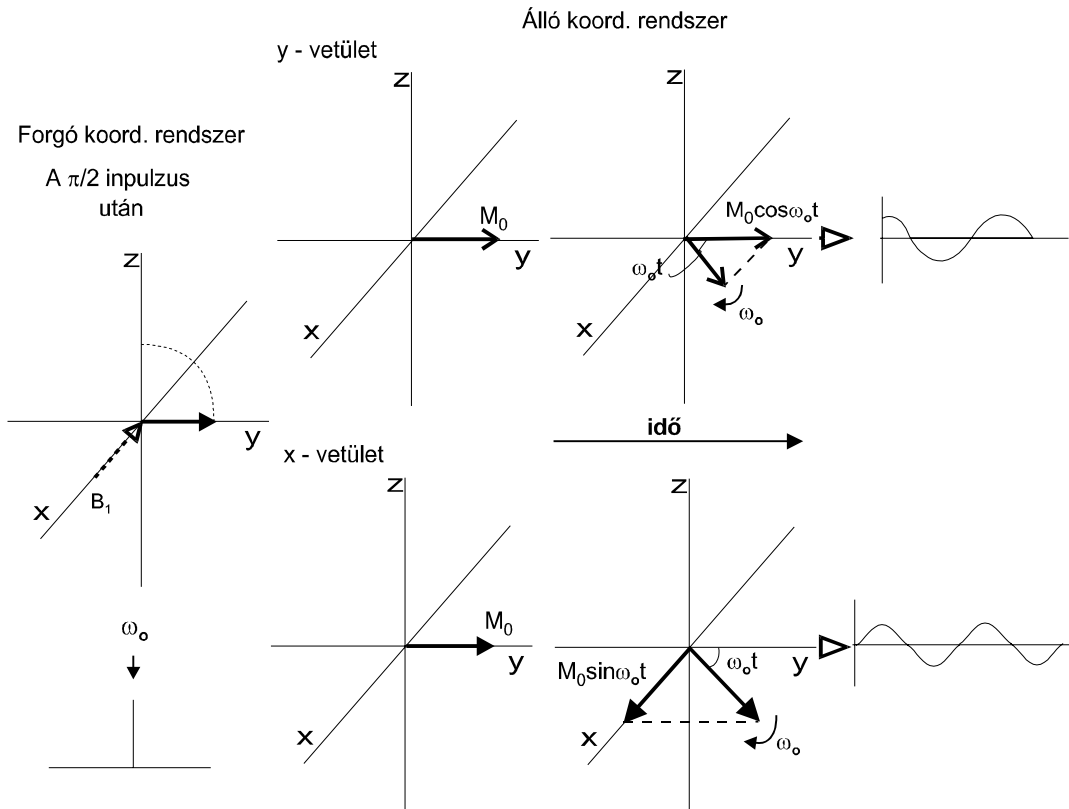
Hasonló a helyzet akkor is, ha a jeleket nem kémiai eltolódás különbség, hanem pl. skaláris csatolási állandó, J választja szét. A 2.7. ábra egy triplétt időbeli kifejlődését mutatja be.



2.7. ábra Itt a skaláris csatolási állandó, J által megszabott különbséggel mozognak a jelek a középső vonalhoz képest

Amennyiben itt a hordozó frekvenciát a triplétt középső vonalára állítjuk, a két szélső vonal ehhez képest fog $\pm 2\pi J$ radián/sec-mal mozogni. Erre még vissza fogunk térni a későbbiekben, ebben a pillanatban a legfontosabb tanulság az, hogy a gerjesztés után magára hagyott \mathbf{M}_0 vektor komponensei eltérő kémiai eltolódásuknak és esetleges skaláris csatolásaik következtében folyamatosan elvesztik a kezdeti fázisazonosságukat (koherenciájukat) és az x - y síkban "szétterülve" precesszálnak most már ismét \mathbf{B}_0 körül.

A jel mérése, fázisok és tengelyek, (kvadratur detektálás): Térjünk vissza most a legegyszerűbb rendszerhez (egy jel, $\omega = \omega_0$) és vizsgáljuk meg a jel érzékelésének folyamatát, de ezúttal az álló koordináta rendszerben.

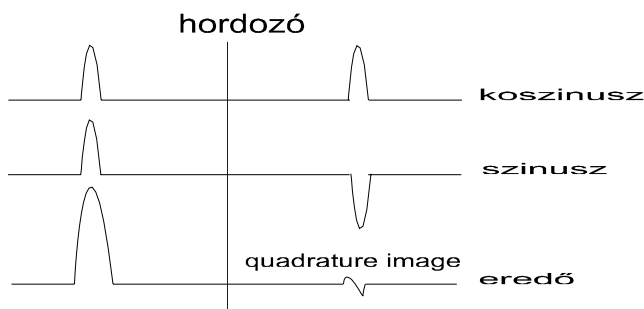


2.8. ábra A $(\pi/2)_x$ impulzus nyomán két, egymástól 90 fokkal eltérő fázisú rf jel képződik az x illetve az y tengely mentén (M az x-y síkban precesszál saját Larmor frekvenciájával)

Ha képesek volnánk az x tengely irányából ható B_1 tér által elfordított M_0 vektornak mind az x mind az y tengelyre eső vetületét külön-külön érzékelni, akkor az ábra tanulsága szerint ezek a jelek csak fázisukban különböznének, mégpedig éppen 90 fokkal. Ezt a két jelet gyakran hívják a mágneszettség abszorpciós és diszperziós komponenseinek, a valóságban nincs köztük ilyen folyamatokhoz. A Fourier transzformáció során az ún. valós és képzetes (imaginárius) részek transzformáltjai az abszorpciós és diszperziós jelek.

Hasonló jelenség játszódik le akkor is, ha megváltoztatjuk a gerjesztő tér irányát (ezúttal az y tengely), azzal különbséggel, hogy a szinusz és koszinusz komponensek felcserélődtek (2.9. ábra), tovább fordítva B_1 -et kilencven fokkal (-x tengely) visszaáll az eredeti helyzet, de most a jel fázisa 180 fokkal különbözik az akkortól (2.10. ábra).

A **fázisérzékeny** vagy ún. **kvadratúr detektálás**: az a technikai megoldás, amely lehetővé teszi a fentebb tárgyalt két komponens egyidejű érzékelését. Ezeket aztán külön tárolják és transzformálják. A szimmetrikus koszinusz függvény Fourier transzformációja a vivő frekvenciától azonos távolságra két azonos fázisú csúcsot eredményez, míg az aszimmetrikus szinusz komponens ugyanott, de eltérő fázisú jeleket szolgáltat.



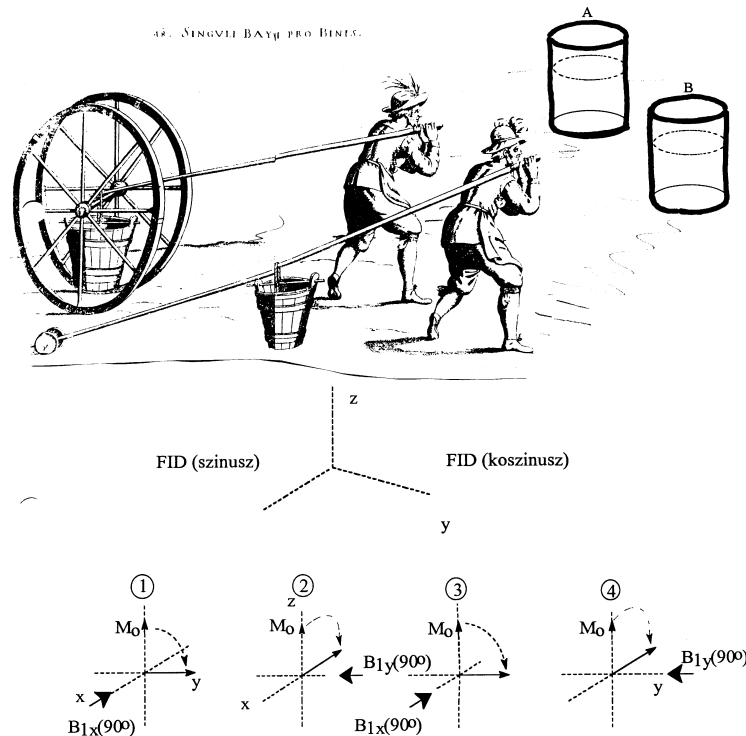
2.11. ábra

Az x és y vetületek komplex Fourier-transzformációja eredményezi a spektrumot, így módon lehetségessé válik a vivő frekvenciához képest azonos távolságra, de ellentétes irányba levő frekvenciák megkülönböztetése.

A két spektrum összevonása az azonos fázisú jelek intenzitásának megkettőződését az ellentétes fázisúak törlődését eredményezi. Mivel a valóságban a két komponens sohasem teljesen azonos intenzitású vagy fázisuk nem különbözik pontosan 180 fokkal, kivonásuk mindig egy kis maradék jelet (az angol kifejezés erre a "quadrature image") eredményez. Ez a kis "szörny" mindig a hordozófrekvenciának a jellel ellentétes oldalán, tükörképének helyén jelenik meg. A kvadratúr detektálás esetén a hordozó mindig a spektrum kellős közepén van, így a maximális frekvencia különbség (és ezzel az off-resonance hatás) csak fele a jel fázisát érzékelni képtelen detektorok esetén fellépő értéknek. Szerencsére a kivonási maradék jelekre is van orvosság, nevezetesen a **fázis léptetés** (phase cycling), erre az eljárásra azért is feltétlen ki kell térnünk, mert igen széleskörűen alkalmazzák a később ismertetendő kétdimenziós impulzus-szekvenciák is.

Fázis léptetés: miután a jel fentebb említett két komponensét, erősítés után két egymástól 90 fokkal eltérő fázisú referencia frekvenciával hasonlítják össze, várható, hogy a memóriában külön tárolt két komponens az elektronika tökéletlensége folytán nem lesz tökéletesen azonos. Kézenfekvő megoldás lenne a két mérőeszköz (a két csatorna) ciklusosan ismétlődő cseréje,

hiszen ez azonos jelátlaghoz vezetne mindkét oldalon, amelyek kivonása természetesen maradékmentes eredményt adna.

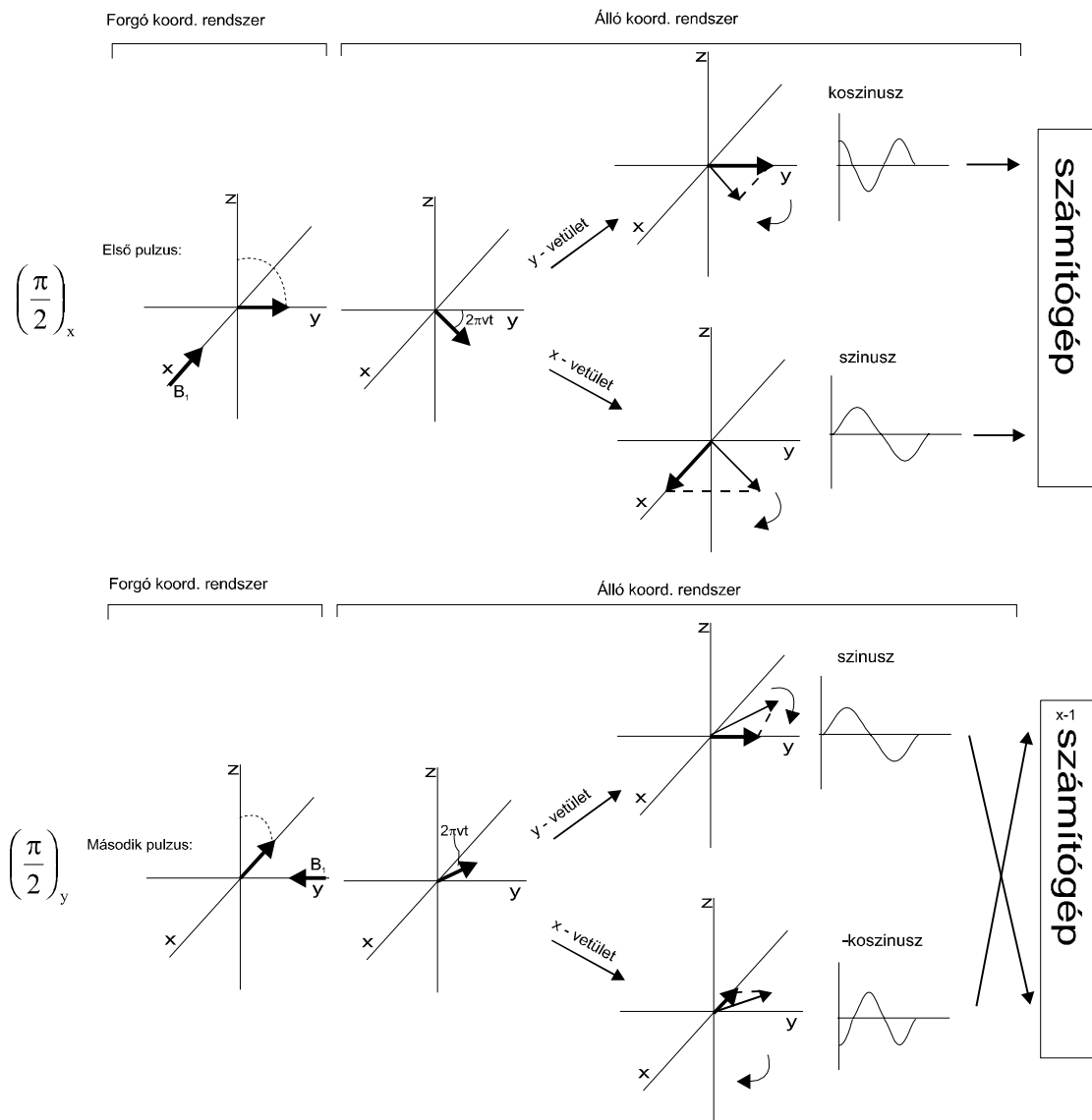


(Két kubikus némileg eltérő nagyságú talicskával dolgozva, feltehetően erősen eltérő nagyságú homokdombot épít fel estére, de ha pl. óránként kicseréltetjük a talicskákat, estére a két domb körülbelül azonos lesz.)

Természetesen az elektronika elemeit nem tudjuk cserélni, de a hordozófrekvencia fázisának 90 fokkal való oda-vissza léptetése (x, y) (2.12. ábra) és a tárolandó jelekhez rendelt memóriaterületek ezzel összhangban történő állandó cseréje ugyanezt a hatást éri el.

Azt is megfigyelték, hogy egy további 180 fokos fázisugrás jótékony hatással van a impulzustól független egyéb külső hatások által okozott maradékjelek méretére is. Így jött létre az általánosan alkalmazott négy lépésből álló fázisciklus (x,y,-x,-y, CYCLOPS).

Az említettnél lényegesen bonyolultabb "fázisprogramokat" is alkalmaznak a kétdimenziós szekvenciákban bizonyos jelek elnyomására, vagy éppen ellenkezőleg, egy adott fázisú mágnesezettség (koherencia) kiválasztására, de az alapelv mindenütt azonos.



2.12. ábra A fázisléptetés alapelve: az egymást követő gerjesztő terek fázisa változik (ez itt egy kétlépéses fázisciklus) és változik a memória cím is, ahol az eltérő fázisú B_1 terek által keltett FID-eket tároljuk.

Ez az oka annak, hogy akkor is minimum kettő, de inkább négy gerjesztést használunk egy spektrum felvételéhez, ha a szükséges jel/zaj viszony eléréséhez egyetlen impulzus is elég lenne.

Visszatérés az alapállapotba (relaxáció): a spektroszkópia legtöbb válfajában energiát közlünk a mintával, aminek egy részét az elnyeli, hogy azután mi történik az elnyelt energiával az általában nem érdekes, egyszerűen azért, mert általában nem zavarja vagy befolyásolja a mérés menetét. (Pl. az optikai spektroszkópiában a gerjesztett elektronátmenetek néhány tized pikoszekundum alatt visszatérnek az alapállapotba.)

Az NMR spektroszkópiában azonban, mivel az energiaszintek különbsége rendkívül kicsi, az egyensúlyi helyzetbe való visszatérés (idegen szóval relaxáció) percekig is eltarthat, ami komoly korlátokat jelent a mérés számára. Másrésztől azonban ez teszi lehetővé azokat a mikroszekundum skálán lejátszódó "spin-gimnasztikákat" amelyeken a legtöbb impulzus-szekvencia alapul, mert ez többnyire elhanyagolható időtartam a jel életidejéhez képest.

A vegyész számára több okból is érdekesek a relaxációs folyamatok és sebességük, a legkézenfekvőbb szempont, hogy a spektrumok hűen tükrözzék a mennyiségi viszonyokat. A relaxációs idők azonban összefüggenek a vizsgált molekula szerkezetével, oldatbeli és belső mozgásaival is. Egy további, számunkra most fontos ok, hogy a legtöbb többimpulzusos NMR kísérlet csak az érintett magok relaxációs ideinek ismeretében tervezhető, kivitelezhető optimális módon.

Ha egy diamágneses mintát statikus mágneses térbe helyezünk, az nem fog azonnal mágnesességet mutatni, csak egy adott idő eltelte után. Ennek az időnek a kiszámítása nem egyszerű és rendszerint csak bizonyos közelítésekkel lehetséges. Ezen a téren Bloch elméletében meglehetősen messze megy el, feltételezi, hogy az egyensúlyi állapotot egy exponenciális függvény által leírhatóan éri el a rendszer és ennek a függvénynek az időállandója a számunkra érdekes paraméter. Mindez csupán egy feltételezés, de szerencsére általában jól közelíti a valóságot oldatbeli vizsgálatok esetén.

Tehát Bloch szerint:

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1}$$

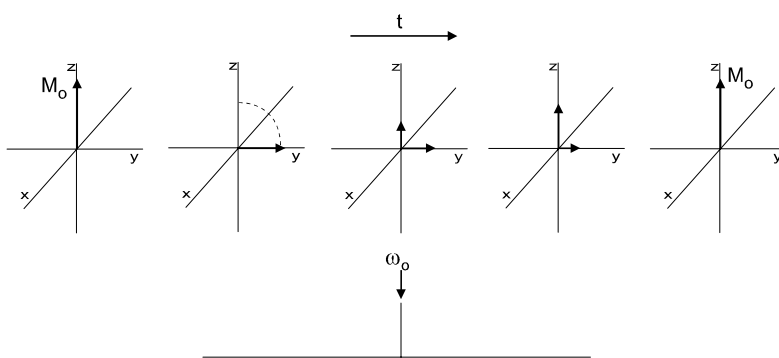
ahol M_0 az egyensúlyi érték,
amelyet T_1 időállandóval ér el
a rendszer,
 M_z a z tengellyel párhuzamos
aktuális érték

Ha a kezdeti mágnesezettség nulla:

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

Az egyenletben szereplő **T₁ időállandót** hívják **spin-rács** vagy **longitudionális** relaxációs időnek, az elnevezés félrevezető, mert az egyenlet alapján látható, hogy ennek az időnek kb. az ötszörösét kell várni, hogy az egyensúlyi érték 95 % át elérjük. (És végtelen ideig kellene várni a teljes egyensúly eléréséig).

Visszatérve a forgó koordináta rendszerhez, kiegészítve azt a relaxáció jelenségével azt látjuk, hogy az **x-y** síkból legalább **T₁** időállandóval fog eltűnni a mágnesezettség (de ennél lényegesen hamarabb is megszűnhet, mint azt majd látni fogjuk).



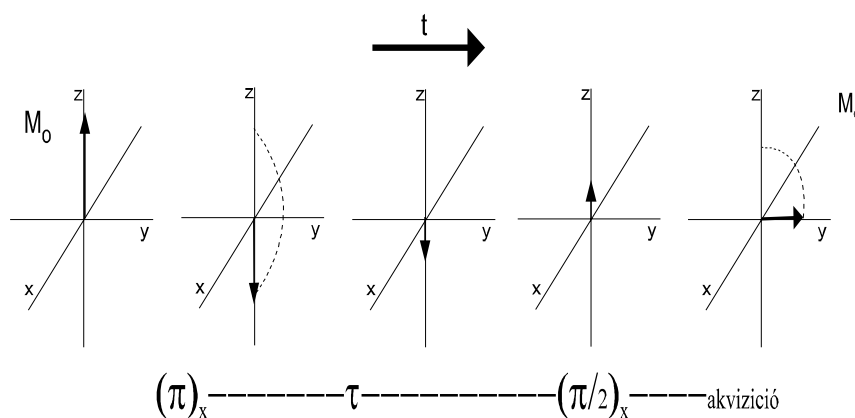
2.13. ábra
Az **x-y** síkban magára hagyott **M_{xy}** vektor időben változik, megjelenik egy **M_z** komponens is, amely végül eléri **M₀** értékét, ekkor **M_{xy}** már nulla.

Az NMR spektroszkópiát ($I=1/2$ -es spinű magok esetén) hosszú relaxációs idők és ennek megfelelően éles rezonanciavonalak (kis félértékszélességek) jellemzik. A különböző kémiai környezetű és ez által eltérő eltolódású magok eltérő sebességgel térhetnek vissza az egyensúlyi állapotba, ennek a ténynek számos gyakorlati alkalmazása is van, de ezekre nem fogunk részletesen kitérni.

Fontos azonban megismernünk a lassú relaxáció okát, mert ez számos jelenség (pl. a mag Overhauser hatás, NOE) jobb megértéhez vezet. A problémát a felvett energia leadása okozza, a magok energetikailag meglehetősen jól izoláltak a környezetüktől, kevés az olyan, a kérdéses mag Larmor frekvenciájához közel eső sebességgel fluktuáló helyi mágneses tér, amely a szükséges **gerjesztett emissziót** elősegíti. Ha megvizsgáljuk, hogy mely

kölcsönhatások eredményezhetnek ilyen mágneses teret, akkor azt látjuk, hogy oldatokban elsősorban a magok közötti dipól-dipól kölcsönhatás jöhet szóba. Ezt a kölcsönhatást viszont az oldatbeli molekuláris mozgásokat meghatározó paraméterek (az oldat viszkozitása, hőmérséklete, a vizsgált molekula mérete, alakja, stb.) befolyásolják. A relaxációs rezonanciafeltétel elérésének egyik módja tehát ezen "természetes" paraméterek változtatása a lehetőségek keretein belül. (Kis és közepes molekulák esetén a molekuláris mozgások által keltett mágneses terek frekvenciája általában nagy a Larmor frekvenciához képest, ezért pl. az oldószer viszkozitásának növelése (egy kloroform \Rightarrow dmsó csere) gyakran látványos hatásokat eredményez.) A másik, némileg költségesebb módszer a "mesterséges" Larmor frekvencia változtatása. Egy ideális NMR laborban (ilyen ugyebár nem létezik, de mint feltételezés megengedhető), ahol sorban állnak a különböző térerejű mágnesek a megoldás a mintának abba a mágnesbe helyezése, amelyben a mag rezonancia frekvenciája legközelebb van a természetes folyamatok által meghatározott fluktuáló mágneses tér frekvenciájához.

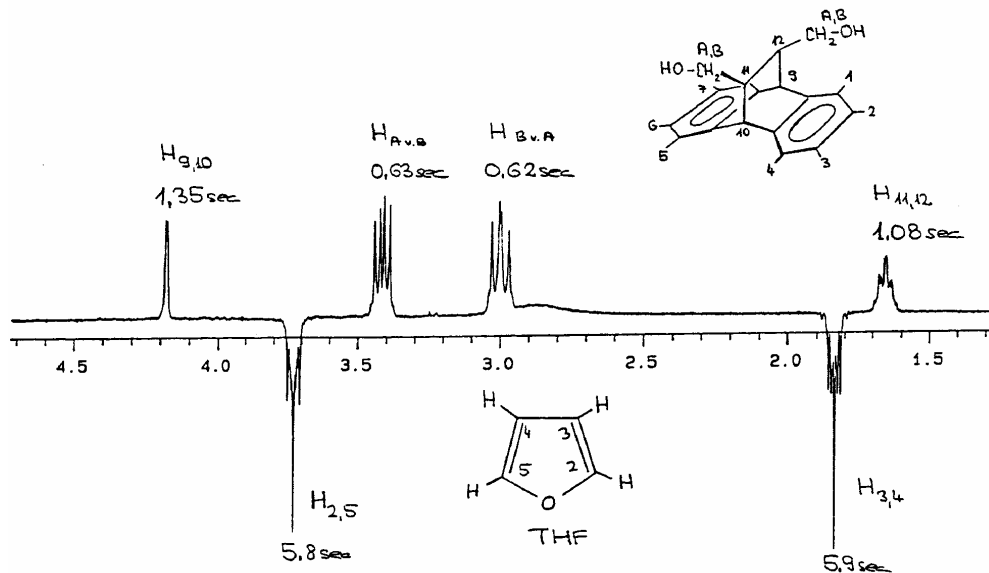
T₁ mérése: minden olyan szekvencia megfelel erre a célra, amelyben a jel intenzitása a relaxációs időtől függően változik. A legáltalánosabban alkalmazott az ún. "átfordítás-visszatérés (inversion-recovery)" nevű eljárás, amelynek működését a következő ábrásor szemlélteti.



2.14. ábra
A szekvencia egy 180 fokos impulzussal indul, amely átfordítja az M_0 vektort (felcseréli a szintek betöltöttségét). Ezt követi egy változó τ időtartam után egy "beolvasó" 90 fokos impulzus. τ függvényében változik M_z értéke.

Gyakorlati példaként az alábbi ábrán egy vegyület **T₁** mérésének azt a fázisát mutatom be, amely a **T₁** idő diagnosztikai alkalmazását is jól szemlélteti. A molekula zárványként tetrahidrofuránt (THF) tartalmaz szilárd állapotban, ez kiszabadulva a kristályrác

kötöttségéből a saját mérete által meghatározott gyors hőmozgása következtében sokkal lassabban relaxál (negatív fázisú jelek), mint a nagyobb molekula (pozitív fázisú jelek).



2.15. ábra Proton T_1 relaxáció meghatározás: a felvétel egy olyan τ értéknél készült, ahol a jelenlévő tetrahydrofuran (egy viszonylag kis molekula, gyors izotróp mozgással) atomjainak M_z vektorai még negatív fázisúak, míg a lényegesen lassabban forgó és ezért gyorsabban relaxáló 11,12-bisz(hidroxi-metil)-9,10-dihidro-9,10-etano-antracén molekulák protonjainak M_z vektorai már megközelítették az egyensúlyi értéküket.

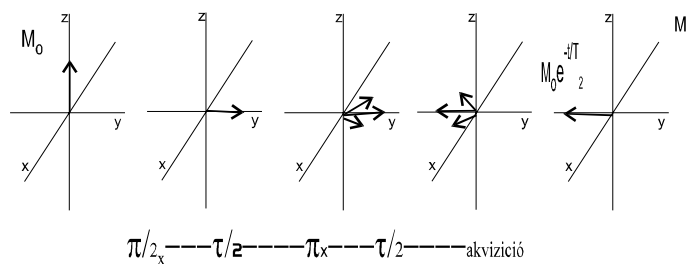
Relaxáció az x-y síkban (transzverzális vagy spin-spin relaxáció, T_2): a spektrumfelvétel szempontjából döntő, hogy ez a folyamat határozza meg a mért jel sávszélességét, $\Delta\nu_{1/2}$ az alábbi összefüggés alapján:

$$\Delta\nu_{1/2} = \frac{1}{\pi T_2^*} \quad \text{ahol } T_2^* \text{ az összes hatás együttes eredményét jelenti!}$$

Bármilyen folyamat, kölcsönhatás, amely hozzájárul az x-y síkbeli mágneszettség csökkenéséhez T_2 relaxációt (és ezzel jelszélesedést) okoz. (Ilyen kölcsönhatás hiányában $T_1 = T_2$!!, ami igen gyakori kis és közepes molekulák oldatfázisú vizsgálatánál).

Ezek a kölcsönhatások az alábbiak: (a) "természetes" **transzverzális (spin-spin) relaxáció**, T_2 (erről kapta a nevét az összefolyamat is), amely a spinek egymás közötti energiacserejét jelenti, ami a meglévő fáziskoherencia elvesztéséhez vezet. Ennél a vegyészek számára "értelmesebb" folyamat a (b) **kémiai csere**, $T_{2cs.}$, és a szomszédos kvadrupól magokkal, azok relaxációjával való csatolódás miatt fellépő (c) **skaláris relaxáció**, $T_{2skal.}$, amelyre elsősorban a fémorganikus kémiai alkalmazásokban találunk példákat. Végül, de nem utolsósorban megemlítendő az állandóan jelenlévő, a mágneses tér elkerülhetetlen inhomogenitásaiból adódó hozzájárulás, $T_{2inhom.}$ Ez utóbbi leválasztható a többi hatásról T_2 mérése során, ehhez azonban meg kell ismerkednünk a spin-visszhang jelenséggel (spin-echo), valójában nem a T_2 mérés fontossága, hanem az eljárásnak a később ismertetendő szekvenciákban játszott szerepe miatt.

A spin-visszhang (spin-echo) jelenség:



2.16. ábra

A spin-visszhang jel képződése:

$M_0 e^{-\tau/T_2}$ -vel arányosan fog csökkenni. (M_{xy} ilyen sebességgel tűnik el.)

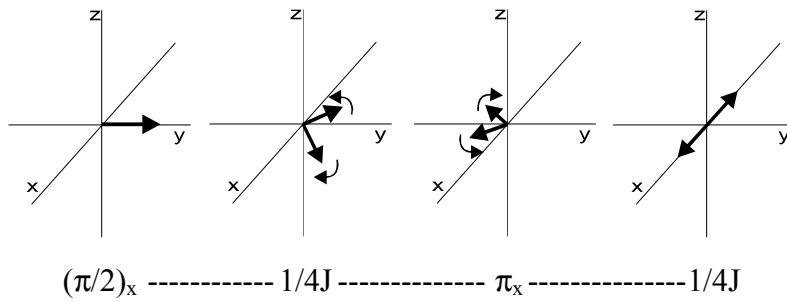
A szekvenciában egy 90-es és egy 180-as impulzus követi egymást τ időközzel, majd egy újabb τ várakozási idő után következik csak a jel mérése. Az első impulzus után az x - y síkban megkezdődik a vektorok szétterülése eltérő sebességüknek megfelelően. A lassúbbak lemaradnak a gyorsabbak előresietnek a hordozó frekvenciához képest. Ebben a pillanatban a 180-as impulzus átfordítja az x tengely körül az összes vektort, azonban ezzel a "lassúak" a hordozó elé, a "gyorsak" a hordozó mögé kerülnek. Feltételezve, hogy közben a sebességük nem változik, ismét τ idő eltelte után (amikor a detektálás elkezdődik) visszaáll az eredeti fáziskoherencia a vektorok között, igaz, hogy most a $-y$ tengely mentén, ami, mint arról már szó volt, negatív fázisú jelet eredményez.

Egy százméteres síkfutás videófelvételének le- majd visszajátszása sok vonatkozásban hasonlít a spinek viselkedésére . A startvonalon meglévő koherencia (jelerősség) elveszik mire a futók a célba érnek eltérő sebességük (kémiai eltolódás, J-csatolás, tér-inhomogenitás) miatt, ha most visszafelé is lejátszuk a felvételt, ugyanazon idő alatt természetesen mindenki visszer a startvonalra, hiszen a lassúbbak közelebből, a gyorsabbak távolabbról indulnak. Ha ezt a valóságban játszánánk el, ugyanezt tapasztalnánk, azzal a nem elhanyagolható különbséggel, hogy a futók lényegesen fáradtabbak lennének, amikor ismét a rajtvonalra érnének. Több ilyen ciklus után természetesen teljesen kimerülnének.

Az x -y mágnesszettség is ily módon "merül ki" a természetes T_2 relaxáció következtében, de a tekercsben 2τ -ként jelentkező visszhang jel több, rendkívül érdekes és hasznos tulajdonsággal rendelkezik. Nevezetesen a jel amplitúdója T_2 időállandóval exponenciálisan csökken (tehát belőle T_2 meghatározható), a kapott jel szélességét nem befolyásolják a mágneses tér inhomogenitásai (feltéve, hogy a 2τ idő alatt nem vándorolnak a spinek a minta kisebb térerejű részéről egy nagyobbba, ez a **spindiffúzió** jelensége), végül, de nem utolsósorban, az eltérő kémiai eltolódásokból adódó fáziseltérések is refókuszálódnak. (A refókuszáló π impulzus számára teljesen közömbös, hogy a mitől válik egy spin lassúvá vagy gyorsá.)

A homonukleáris skaláris spin-spin csatolás miatt felhasadt jelek azonban másként viselkednek. Vegyük ismét a legegyszerűbb rendszert (AX), ha az A mag két vonalát vizsgáljuk, akkor azt látjuk, hogy azok $+J/2$ illetve $-J/2$ sebességgel távolodnak a hordozó frekvenciától a τ időtartam alatt. Ez azért van, mert a vele csatoló X mag spinjei 1 : 1 arányban (lásd fentebb) foglalják el az X mag Zeeman szintjeit és ezzel, némileg módosítva az A mag körüli teret, hozzák létre a "lassú" és a "gyors" komponenseket.

A π impulzus hatására azonban felcserélődnek az X mag állapotai is ezért a "lassú" A komponens gyorsá, a "gyors" pedig lassúvá válik. Következmény: a két komponens nem refókuszálódik a -y tengely mentén, hanem a második τ idő után ellentétes fázissal az x és a - x tengely mentén helyezkednek el (ilyenkor nincs mérhető jel).



2.17. ábra
 Egy homonukleáris AX rendszer viselkedése a spin-visszhang szekvencia hatására. A dublett, eltérően a kémiai eltolódástól és az inhomogenitástól, nem járul hozzá a visszhanghoz 2τ idő múltán.

Ez azonban értelemszerűen csak a homonukleáris (pl. ^1H - ^1H) csatolásokra vonatkozik, hiszen a heteronukleáris csatolások (pl. $X=^{13}\text{C}$) esetén a proton π impulzus nem fogja a ^{13}C magok átmeneteit átfordítani, tehát a 2τ időpontban a szokásos visszhang jel alakul ki.

Impulzus-szekvenciák tucatjai (HMQC, HSQC, TANGO, BIRD, hogy csak néhány olyat említsünk, amelyekről még lesz szó a későbbiek folyamán) használják a spin-visszhang jelenséget, hiszen alkalmazásával megszüntethető a jel amplitúdójának függése a kémiai eltolódástól vagy a csatolástól.

Ajánlott irodalom az alapjelenségek és a spektrumértelmezés szabályainak megismeréséhez:

1. Sohár Pál: **Mágneses magrezonancia-spektroszkópia**, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1976

További ajánlott angol nyelvű irodalmak:

1. Andrew E. Derome : **Modern NMR Techniques for Chemistry Research**
Pergamon Press, Oxford, 1987
2. Ray Freeman : **Handbook of Nuclear Magnetic Resonance**
Longmann Scientific Techn., New York, 1986
3. R.Benn és H.Günther: **Moderne Pulsfolgen in der hochauflösenden
NMR- Spektroskopie**, Angew.Chem.,95, 381-411 (1983)
4. R.K.Harris: **Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy,**
A Physicochemical View, Pitman Books Lim., London, 1983
- 5.M.H.Levitt: **Spin-Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance**
Wiley, Chichester, 2001

3. Kölcsönhatás a téren át: **mag Overhauser hatás (NOE)**

Míg az ezután ismertetendő eljárások döntő többsége a magok közötti skaláris csatolások meglétéen alapul, addig ezt a jelenséget a magok (mágneses dipólok) közvetlen (direkt) dipoláris csatolása miatt fellépő ún. **kereszt-relaxációs** folyamatok okozzák. Mint már említettük a dipoláris csatolás közvetlenül nem észlelhető a folyadékállapotú (izotrópfázisú) minták spektrumaiban, a NOE értékek azonban adatokat szolgáltatnak nagyságára, és ezzel lehetőséget nyújtanak magtávolságok és molekuláris mozgások meghatározására bizonyos korlátok mellett.

A mag Overhauser hatás, **egy** vagy több NMR jel intenzitásának megváltozása egy másik jel besugárzásának hatására:

$$\eta_i(s) = (I - I_0)/I_0$$

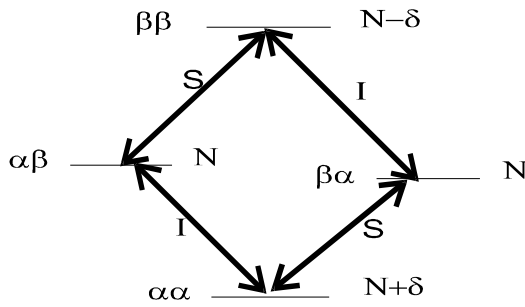
ahol **I**-vel az **i** mag megváltozott, **I₀**-val az egyensúlyi intenzitását jelöljük, **s** a besugárzott mag indexe

Amiből az is látható, hogy η értéke negatív is lehet, amennyiben a besugárzás hatására egy jel intenzitása csökken.

3.1 A hatás eredete

Tekintsünk két azonos 1/2-es spinű magot (**i** és **s**), amelyek ugyan egy molekulában vannak, de nincs közöttük skaláris csatolás és kémiai eltolódásuk eltérő. Egy ilyen rendszernek négy energia szintje (**$\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\alpha$, $\beta\beta$**) van, de a két **I** és a két **S** átmenet energiája azonos, tehát a spektrumban csak két szingulett jelenik meg.

Mondjuk, hogy a négy szinten jelenlévő összes mag száma 4N, amelyből N mag jutna minden egyes szintre, ha azok energiája azonos lenne.

**3.1. ábra**

Egy i,s magpár energiaszintjei és betöltöttségük egyensúlyi helyzetben, **I**-vel és **S**-sel a két-két azonos átmenetet jelöltük.

Egyensúly esetén, mint azt már tudjuk, nem ez a helyzet, hanem a Boltzmann eloszlásnak megfelelően egy kicsivel (mondjuk δ -val) kevesebb mag lesz fent ($\beta\beta$), mint középen ($\beta\alpha$ vagy $\alpha\beta$). Miután $\alpha\beta$ és $\beta\alpha$ energiakülönbsége minimális, nagyvonalúan N magot tételezünk fel ezen a két, gyakorlatilag azonos szinten. Ezekhez képest az alsó szinten ($\alpha\alpha$) viszont δ -val több mag van. Számunkra elsősorban a szintek betöltöttség különbsége az érdekes, mivel ez jelentkezik relaxációs hajtóerőként, és persze ez határozza meg az észlelt jel intenzitását is. Az ábra alapján belátható, hogy mind az **I** mind az **S** átmenetek esetén ez a különbség δ -val egyenlő. Ezek az ún. normál (egykvantummos $\Delta M=1$) átmenetek, amelyek a spektrumban észlelhető vonalakat szolgáltatják.

Van azonban még két lehetőség ($\alpha\beta \leftrightarrow \beta\alpha$ és $\alpha\alpha \leftrightarrow \beta\beta$ átmenetek) az ábrán, az egyiknél a kvantumszámváltozás nullával egyenlő, a másiknál kettővel, az ezeknek megfelelő vonalak nem észlelhetők a spektrumban², de ez nem azt jelenti, hogy ezek nem vesznek részt az egyensúlytól eltérő betöltöttségek kiegyenlítésében, azaz a relaxációban. Egyensúlyi betöltöttség-különbségük közelítőleg nulla ($\Delta M=0$) illetve 2δ ($\Delta M=2$).

Jelöljük az egyes átmenetekhez tartozó sebességi állandókat $\mathbf{W}_1^{\mathbf{I},\mathbf{S}}$, \mathbf{W}_2 illetve \mathbf{W}_0 -val, ha az utóbbi kettő értéke nulla, akkor pl. az **I** átmenetek relaxációját csak $\mathbf{W}_1^{\mathbf{I}}$ fogja meghatározni.

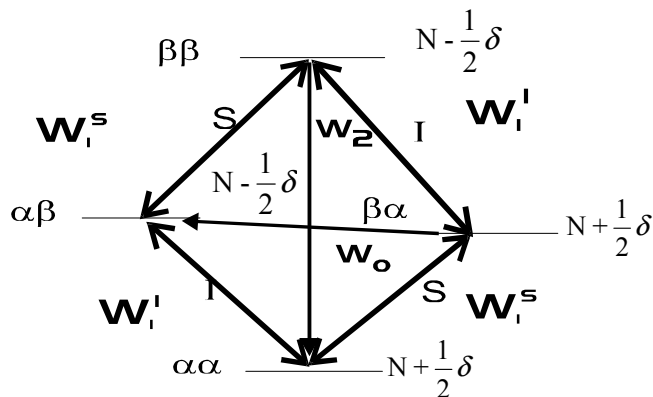
$$T_1^i = 1/2W_1^{\mathbf{I}}$$

ahol T_1^i az i mag spin-rács relaxációs ideje

Ha azonban W_0 és/vagy W_2 nem nulla, akkor az i mag relaxációját nemcsak az **I**, hanem az **S** átmenetek betöltöttsége is befolyásolni fogja.

² Antifázisú mágnesezettséget képeznek, lásd később.

A NOE kísérlet során telítjük a kiválasztott jel átmeneteit (megváltoztatjuk a Boltzmann eloszlást) és a többi mag jelét mérjük. Például az S átmenetek telítése az alábbi változásokat idézi elő.



3.2. ábra Nem egyensúlyi eloszlás

Az S átmenetek kiegyenlítődnek ($\alpha\alpha = \beta\alpha$ valamint $\alpha\beta = \beta\beta$), az I átmenetek különbsége változatlanul δ , ugyanakkor a zéró- és kettős-kvantum átmenetek különbsége

most δ . Ha a relaxációban csak az egykvantum átmenetek vesznek részt, az s mag telítése nem befolyásolja i mag jelének nagyságát.

Azonban, mint láttuk a zérókvantum átmenetnél egyensúly esetében nem volt különbség a két szint betöltöttsége között, most a rendszer, ha tudja, megpróbálja visszaállítani az eredeti állapotot. W_0 segítségével populációt visz át a $\beta\alpha$ állapotból az $\alpha\beta$ be. Ezzel azonban növeli az egyik felső I szint betöltöttségét és csökkenti a másik I alsó szintjét, aminek következtében csökkenni fog az i jel intenzitása. A folyamatnak ellene dolgozik W_1^I , mivel az eddig egyensúlyban lévő I átmenetek betöltöttségét változtatta meg a W_0 belépése. Ha W_0 az erősebb folyamat akkor negatív NOE-t tapasztalunk az i jelen. Teljesen hasonló logikával érthető meg a kétkvantumos relaxáció, W_2 hatása is, a végső eredményként azonban itt egy jelnövekedést, azaz ha W_2 erősebb W_1 -nél, pozitív NOE-t látunk. Az összes lehetséges folyamatot figyelembe véve az alábbi egyenlőség fogja a tapasztalt NOE nagyságát és előjelét meghatározni:

$$\eta_i(s) = \frac{W_2 - W_0}{2W_1^I + W_2 + W_0}$$

W_2 -t és W_0 -t nevezik összefoglaló néven **kereszt-relaxációs** folyamatoknak, ezek relatív nagysága dönti el, hogy az adott jelen kapunk-e NOE-t és milyen előjelűt. A tapasztalatok azt mutatják, hogy kis molekulák nem viszkózus oldataiban a NOE pozitív, nagy molekulák vagy erősen viszkózus oldatok esetén viszont negatív. Ebből következően közepes molekulák

közepesen viszkózus oldataiban, ahol \mathbf{W}_2 és \mathbf{W}_0 kiegyensúlyozhatják egymást, gyakran nincs mérhető NOE.

Mindeztidáig feltételeztük \mathbf{W}_0 és \mathbf{W}_2 létét és azt is láttuk, hogy hatékonyságukat, hasonlóan a \mathbf{W}_1 folyamatokhoz, a kérdéses frekvenciatartományba eső fluktuáló mágneses tér sűrűsége (gyakorisága) fogja meghatározni. A három folyamat frekvenciafüggése az alábbi:

$$W_1^I \approx \frac{3\tau_c}{r^6(1 + \omega_i^2\tau_c^2)}$$

$$W_0^I \approx \frac{2\tau_c}{r^6(1 + (\omega_i - \omega_s)^2\tau_c^2)}$$

$$W_2^I \approx \frac{12\tau_c}{r^6(1 + (\omega_i + \omega_s)^2\tau_c^2)}$$

Itt ω_i és ω_s a két mag Larmor frekvenciája, τ_c az adott oldatban és hőmérsékleten a molekula korrelációs ideje*, r pedig a két mag távolsága.

Látható, hogy míg \mathbf{W}_0 a két mag frekvenciakülönbségével, addig \mathbf{W}_2 azok összegével arányos fordítottn.

Ezek adott értékek, a korrelációs idő azonban bizonyos határok között változtatható illetve a vizsgált molekula mérete által meghatározott.

*Korrelációs idő alatt a molekula oldatbeli izotróp mozgását jellemző időt értjük, ennyit van a molekula "nyugalmi" állapotban két elmozdulás között.

3.2 A mért NOE-ből számolható magtávolságok és megbízhatóságuk

Maximális elméleti NOE értékek: Amennyiben figyelembe vesszük az egyes relaxációs folyamatok fenti függését a korrelációs időtől és a kölcsönható magok távolságától, arra a meglepő eredményre jutunk, hogy két izolált, csak homonukleráris dipól-dipól mechanizmussal relaxáló mag esetén $\eta_i(\mathbf{s})$ értéke **0.5** azaz független a magok távolságától (ez az érték homonukleáris NOE-ra vonatkozik és az ún. "extreme narrowing" feltétel (lásd később) teljesülése esetén).

Szerencsére a valóságban gyakorlatilag mindig jelen van némi intermolekuláris dipól relaxációs hatás is, vagy párosítatlan elektronok jelenlétének, vagy esetleg kvadrupól magoknak tulajdoníthatóan, így a helyzet nem ilyen tragikus, de nem árt emlékezni erre, ha két magános spinből álló rendszert vizsgálunk.

Heteronukleáris (X mag) esetben a maximális NOE értékét a $0.5(\gamma_S/\gamma_X)$ összefüggés alapján számíthatjuk. Nagy gyakorlati fontossága van a protonok telítése következtében fellépő jelnövekedésnek (amikor S=H) a ^{13}C , ^{15}N , ^{103}Rh stb., spektroszkópiákban, hiszen a felvételek általában szélessávú protonlecsatolással készülnek (ami az összes proton átmenet egyidejű telítését jelenti). Például a ^{13}C magok esetében a protonlecsatolás miatti növekedés mintegy 200 %, ami egy ingyenes, gyakran már el is felejtett "bónusz" a lecsatolás spektrum egyszerűsítő hatása mellett. Azonban jó ha ez eszünkbe jut akkor is, ha pl. mennyiségi értékelésre alkalmas ^{13}C vagy ^{31}P spektrumot akarunk készíteni, mivel az eltérő környezetű magok relaxációjához nem azonos mértékben járulnak hozzá a dipól-dipól kölcsönhatások, ami aztán eltérő NOE növekedéseket eredményez.

Különös figyelmet követelnek a negatív giromágneses hányadosú magok mint pl. a ^{15}N , ugyanis ezek jelein csökkenés majd átfordulás léphet fel, ami esetleg a jel elvesztését is eredményezheti.

Visszatérve a homonukleáris két-spin esetre, amint ezt már említettük, gyakorlatilag mindig jelen van valami egyéb relaxációs mechanizmus is, ami azt jelenti, hogy az észlelt NOE valóban a két spin távolságától is fog függeni az alábbi közelítő formula szerint

$$1/\eta_i(s) = (\rho^*/\tau_c)r^6$$

itt ρ^* az egyéb spineknek tulajdonított hozzájárulást jelenti, τ_c a korrelációs idő, r pedig a két mag távolsága

Ez az összefüggés ad lehetőséget különböző molekulákban észlelt NOE értékekből történő magtávolság számításra. Azonban mindez csak nagy körültekintéssel és az alábbiak feltétlen szem előtt tartásával lehetséges.

- A molekulák korrelációs időinek közelítőleg azonosnak kell lennie a két mintában, ami azonos oldószert, hőmérsékletet, molekulaméretet jelent. A molekulák belső mozgásainak is hasonlóknak kell lennie, ez utóbbi feltétel gyakorlatilag azt jelenti, hogy megbízható adatok csak merev molekulák esetén várhatók.

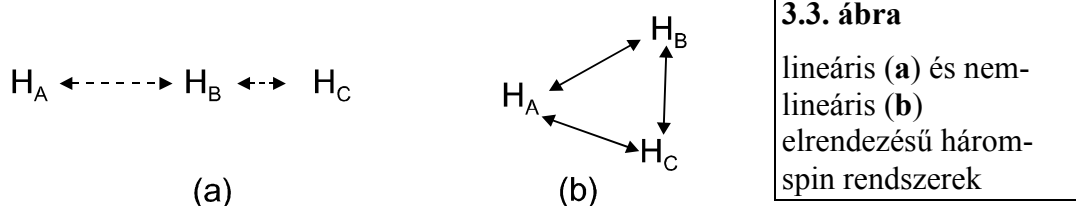
- Az ún. "extreme narrowing" (pl. "oldatfázisú minimális sávszélesség" vagy „teljes sávkcskenyedés” lehetne a javasolt magyar elnevezés, amely ugyan többet mond, mint az angol, de nem eleget) feltételének ($\omega^2\tau_c^2 \ll 1$) is teljesülnie kell, ez magyarul azt jelenti, hogy a molekula méretének egy bizonyos érték alatt kell maradnia. (Erre megoldást jelent természetesen a térerő csökkentése is). Maga az elnevezés egyébként arra utal, hogy az oldatbeli mozgások teljesen átlagolják a direkt dipól-dipól kölcsönhatásokat, így ezek nem okoznak sávszélesedéseket.

- Az egyéb dipoláris kölcsönhatások okozta relaxációs hozzájárulásnak, p^* -nak nem szabadna változnia a két molekulában, amit igen nehéz teljesíteni és feltehetően ezen feltétel teljesülésének hiánya okozza a legtöbb hibás NOE értelmezést.

- Ha p^* intermolekuláris eredetű, el kell kerülni mindent, ami ezt megváltoztatja a két összehasonlítható molekula esetén.

Több spin egy molekulán belül: feltehetően az a leggyakoribb eset, hogy egy molekulán belüli mag-mag távolságokat akarunk meghatározni. Az egyensúlyi NOE-kból a magok egymáshoz viszonyított távolságaira kapunk adatokat, amelyekből aztán egy ismert vagy pontosan becsülhető távolság alapján az abszolút értékek is számolhatók. Azonban itt is nagy óvatossággal célszerű eljárni az eredmények értékelésénél.

Első tétel: **NOE észlelése két mag között nem elegendő bizonyíték azok térközelségére.** Ezen állítás szemléltetésére szolgál a következő ábra.



A lineáris esetben H_A besugárzása NOE-t fog okozni H_B -én, H_C telítése azonban ennél is várhatóan nagyobb, hiszen a **B-C** távolság kisebb mint a **B-A** távolság. Ezekből a kísérletekből a helyes következtetésre juthatunk (**A-B** > **B-C**). Azonban H_B besugárzása esetén azonos mértékű növekedést fogunk tapasztalni az H_A és H_C jeleken, mert ezek

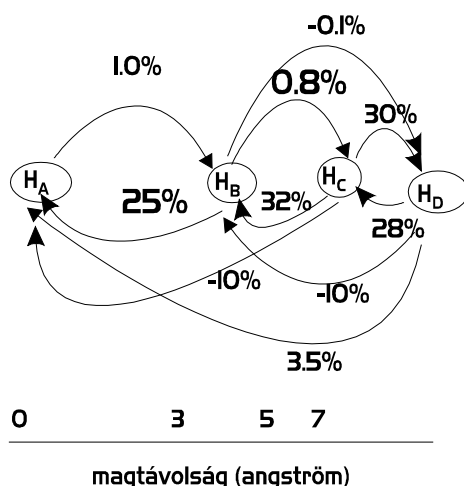
szempontjából H_B az egyedüli relaxációs forrás, így mindkét jel elérheti akár az elméleti 50 %-os NOE értéket. Ez a kísérlet tehát félrevezető a magtávolságokat illetően.

A kígyó tehát nem olyan hosszú a fejétől a farkáig, mint a farkától a fejéig, ezért mindkét irányban meg kell mérni.

Indirekt (negatív) NOE: az előző lineáris esetben (a) H_A nem lehet közvetlen hatással H_C -re, mégis H_B növekedése mellett gyakran H_C csökkenését tapasztaljuk. Ahogy az A mag telítése (az energiaszintek betöltöttségi különbségének csökkenése) a B jel növekedéséhez vezet, úgy a B mag jelének növekedése (az energiaszintek betöltöttségi különbségének növekedése) C jel csökkenését eredményezi. A jelenség leggyakrabban közel lineáris elrendezésű magok között észlelhető.

Bonyolultabb a helyzet a nem-lineáris esetben (3.3.b ábra), itt ugyanis A és C közötti direkt NOE már nem elhanyagolható, ugyanakkor létezhet egy indirekt NOE B közvetítésével. A két hatás egymás gyengíti, esetleg kiegyenlíti, ami második tételünkhöz vezet: NOE hiánya két mag között még nem elegendő bizonyíték a két mag "tértávoltságára".

A legfontosabb az, hogy a helyes értelmezéshez a magot érintő összes relaxációs csatornát figyelembe kell (kellene) venni. Az alábbi ábra egy négy-spin rendszeren mért NOE-kat mutat be.



3.4 ábra

Lineáris négy-spin rendszer, a megadott NOE értékek az **egyensúlyi** értékek, így távolságbecslésre csak nagy körültekintéssel és jelentős hibával alkalmazhatók. A számok százalékos növekedést illetve csökkenést jeleznek.

H_B besugárzásakor H_A -n észlelt nagy értéket (25 %) összehasonlítva a H_C -n kapott elenyészően kis növekedéssel (0.8 %) könnyen arra a következtetésre juthatnánk, hogy H_A

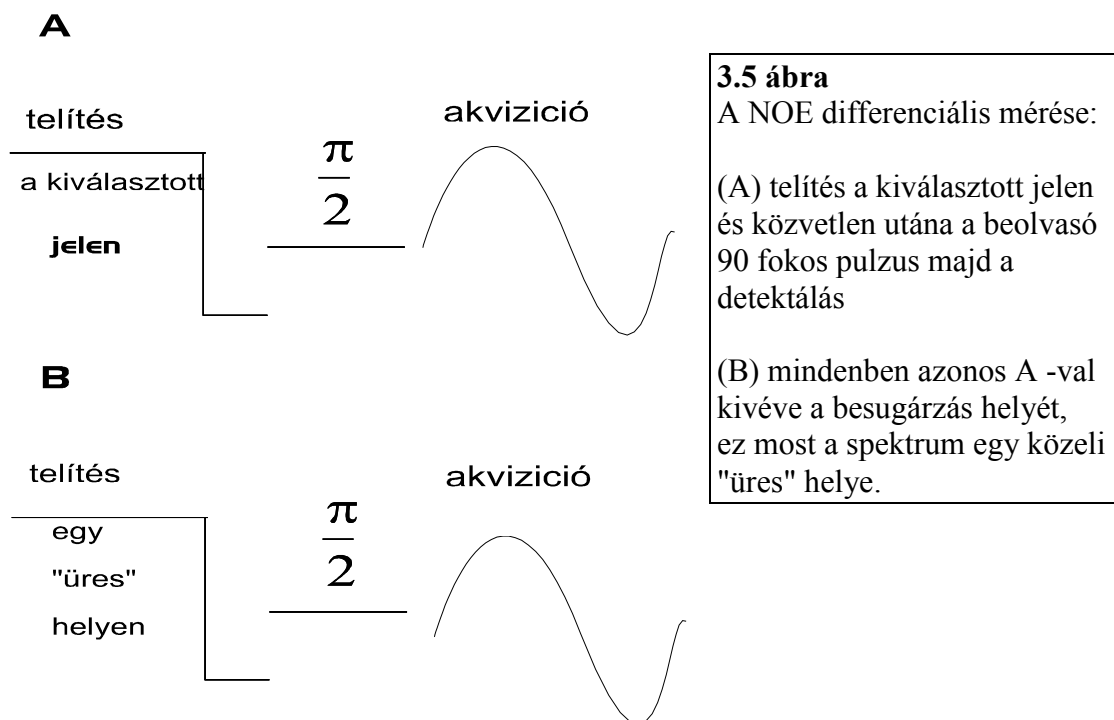
lényegesen közelebb van H_B -hez mint H_C . Ha azonban az összes eredményt megvizsgáljuk, ezt a hibát valószínűleg nem követjük el, ugyanis látható, hogy míg H_A -nak H_B az egyedüli relaxációs lehetősége, addig H_C döntően H_D -n keresztül veszíti el az energiáját.

Az ún. "NOE növekedés" mérése sokkal egyértelműbb összefüggést mutat az internukleáris távolságokkal, ugyanis a kezdeti szakaszban a növekedés szintje elsősorban a keresztrelaxációtól, s így az internukleáris távolságoktól függ. A fenti négy-spin rendszer példájánál maradva ez azt jelenti, hogy a H_A jel kezdeti növekedése lényegesen kisebb lesz mint H_C -é, annak ellenére, hogy a végső értékük közel azonos.

3. 3 A NOE kimutatása és mennyiségi mérése

Kényszer-egyensúlyi NOE (steady-state) érték: azért nevezem ezt kényszer-egyensúlynak mert itt a kiválasztott átmenet gyakorlatilag folyamatos besugárzása mellett mérjük a többi jel változását.

Látszólag egyszerű feladatunk van, egy kiválasztott jel telítése után a többi intenzitásváltozását kell mérnünk. Azonban a tapasztalt növekedések vagy csökkenések gyakran mindössze néhány tized százalékot érnek el, ilyen kis változások mérése a jelek egyszerű integrálásával nem oldhatók meg. A megoldás az ún. differencia NOE spektrumok készítése, ami két spektrum felvételét jelenti lehetőleg teljesen azonos feltételek mellett, az egyedüli különbség köztük, hogy az egyik esetben a besugárzott frekvencia pontosan a kiválasztott jelen áll, a másikban, pedig attól messze, a spektrum egy olyan helyén, ahol nincs jel. A két spektrumot egymásból kivonva kapjuk a differencia spektrumot, amelyben tizedszázaléknyi intenzitás eltérések is jól érzékelhetők.



Differencia spektrum= A - B

Mindazonáltal két közel azonos spektrum felvétele a legkényesebb műveletek közé tartozik. Mindent meg kell tenni a két spektrum közötti frekvenciacsúzás kiküszöbölésére. A mérés szempontjából döntő a helyes besugárzási idő megválasztása, mivel a NOE felépülés időállandója is T_1 , kb. három T_1 -nyi ideig célszerű a telítést végezni. De ha egy távoli proton miatt fellépő NOE-t akarunk mérni, akkor a besugárzási idő ennél is hosszabb lehet, geminális protonok közötti NOE esetében viszont elegendő kb. egy T_1 -nyi ideig végezni a besugárzást. (Mindez azt is jelenti, hogy ajánlatos a kísérletet egy T_1 meghatározással kezdeni.) A mérés során nem szükséges relaxációs szünetet iktatni az akvizíció vége és a következő gerjesztés közé, hiszen ez alatt elveszne a besugárzás következtében felépült nem-egyensúlyi eloszlás jelentős része a természetes (W_1) relaxáció következtében. Gyakorlatilag folyamatosan pumpáljuk a kiválasztott átmenetet, és az "új" egyensúlynak megfelelő betöltöttségeket időnként leolvassuk.

NOE növekedés mérése (tranziens NOE, **Truncated OE**) egy dimenzióban: miután ebben az esetben a jel felépülésének sebességét akarjuk megtudni, egy méréssorozatot kell végezni folyamatosan változtatva a várakozási időt a besugárzás vége és a jel érzékelése között.

$t_{\text{várakozás}}$

Π szelektív ----- $\rightarrow \Pi/2$ nem szelektív

akvizíció

3.6.1 ábra

A szelektív impulzus általában 20-30 Hz szélességben gerjeszt, a nem szelektív, viszont a teljes spektrumot (2000-5000 Hz).

Célszerű a kiválasztott jelet szelektíven gerjeszteni (átfordítani egy 180 fokos impulzussal), a szelektivitás növelése kulcskérdés ezeknél a kísérleteknél, de ugyanakkor a kiválasztott átmenet összes vonalának azonos mértékű telítése kívánatos az ún. SPI hatás (Selective Population Inversion, lásd 4.fejezet) elkerülése végett. Ebben a kísérletben a NOE folyamatosan növekszik egy darabig (kb. egy T_1 -ig), aztán csökken és a jellel együtt elenyésszik. A maximum idejét meg kell becsülnünk valahogy, az indirekt NOE-k felépülésére gyakran nincs elég idő. A növekedési görbe kezdeti szakaszának meredeksége a számunkra fontos érték, mert ez arányos a magok távolságával. Mivel itt az egymást követő pulzusok között meg kell várni az egyensúly beállítását (egy kb. $5T_1$ hosszúságú szünet beiktatásával), hogy a növekedést észlelhessük, a mérés meglehetősen időigényes.

NOE növekedés mérése (tisztán **transziens NOE**) két dimenzióban: **NOESY**

A kétdimenziós COSY szekvenciában (lásd később) a második impulzussal létrehozunk egy olyan mágnesezettséget, amely a továbbiakban semmi szerepet sem játszik, ez a z tengellyel párhuzamos koszinusz komponens, M_z (lásd a 4.2.1 ábrát). A t_1 idő függvényében ez is ugyanolyan amplitudó modulációt szenved, mint az x - y komponens és ugyanúgy hordozza a kémiai eltolódástól való függést, mint amaz. Ha semmi rendkívüli nem történik, M_z a T_1 relaxációs időnek megfelelően "igyekszik" vissza az egyensúlyi helyzetbe.

Van azonban két olyan kölcsönhatás is, amelyek megváltoztathatják egyes jelek induló intenzitását M_z -n belül, feltéve, hogy ezek a folyamatok a T_1 által megszabott időtartamon belül játszódhatnak le. Az egyik a magok közötti esetleges NOE hatás, ami mint tudjuk, valóban a T_1 időállandóval fejlődik ki, a másik az egyes magok közötti helycsere (kémiai csere), ezzel az alkalmazással a később fogunk foglalkozni (5. fejezet).

Az alkalmazott szekvencia,

$$\left(\frac{\pi}{2}\right) - t_1 - \left(\frac{\pi}{2}\right) - \tau_m - \left(\frac{\pi}{2}\right) - t_2 \text{ (akvizíció)}$$

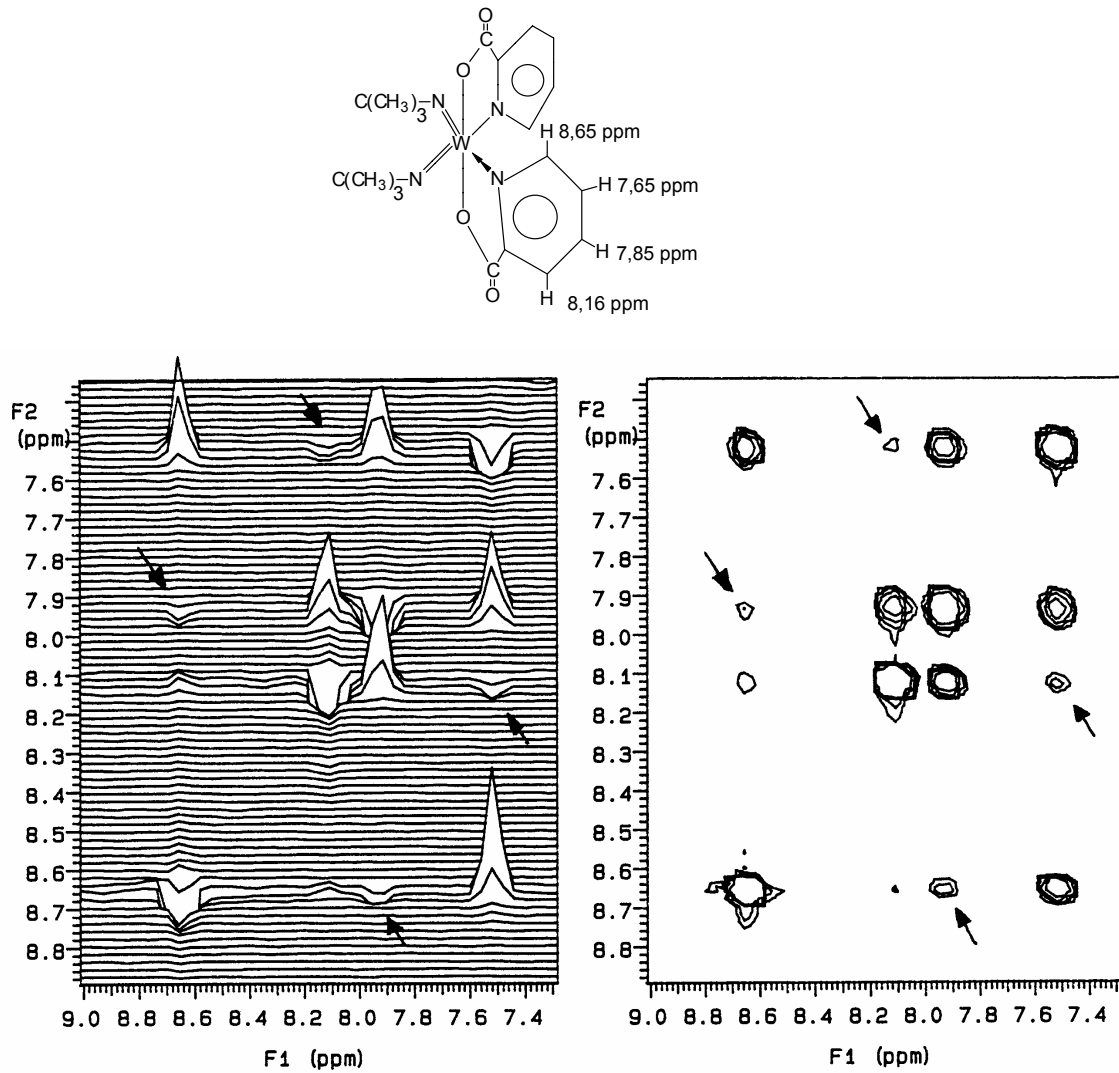
nagyon hasonlít a DQF-COSY esetében ismertetettel (lásd ott), az egyedüli különbség a utolsó impulzus elé beiktatott, τ_m (keveredési vagy "mixing" idő) szünet. A harmadik $\pi/2$ impulzus a τ_m alatti változásokat tartalmazó M_z vektort fordítja az x - y síkba és egyidejűleg kifordítja onnan a "COSY spektrumot".

A fentiekből következően keresztcsúcsok fognak megjelenni mind az egymással NOE kölcsönhatást mutató, mind az egymással kémiai cserében lévő magok jelei között. Előjelük (ha a pozitív NOE tartományban vagyunk) különbözni fog csere-keresztcsúcsokétól, amelyek a diagonális csúcsokkal megegyező fázist mutatnak. A szóbanforgó NOE-k az **1D** kísérleteknél is említett **felépülési** vagy tranziens NOE-k (ilyenkor nem telítjük a jeleket, mint az egyensúlyi NOE kísérletnél, hanem kicseréljük a populációkat).

Ebből az is következik, hogy nem mindig tudjuk egymástól elválasztani a két kölcsönhatást. Szerencsére gyakran különbözik egymástól a két folyamat sebessége és ez némi támpontot ad (lásd az 5. fejezetet). Mint említettem a NOE felépülés sebessége nem lehet gyorsabb mint $1/T_1$, ezért τ_m -et is célszerű ezzel egyenlővé tenni.

Az következő ábrán (3.6.2) egy oktaéderes wolfram komplex NOESY spektrumát mutatjuk be, amelyet 6 másodperces keveredési idővel vettünk fel, ami viszonylag hosszú idő, ha figyelembe vesszük, hogy az aromás protonok relaxációs idei 1,7 ($H_{2,5}$) és 3 ($H_{3,4}$) másodperc körül voltak.

Ilyen keveredési idő mellett már lehetőség van indirekt NOE-k felépülésére is. Ezek előjele (fázisa), ha a pozitív NOE tartományban vagyunk, különbözni fog a csere-keresztcsúcsokétól, amelyek a diagonális csúcsokkal megegyező fázist mutatnak.

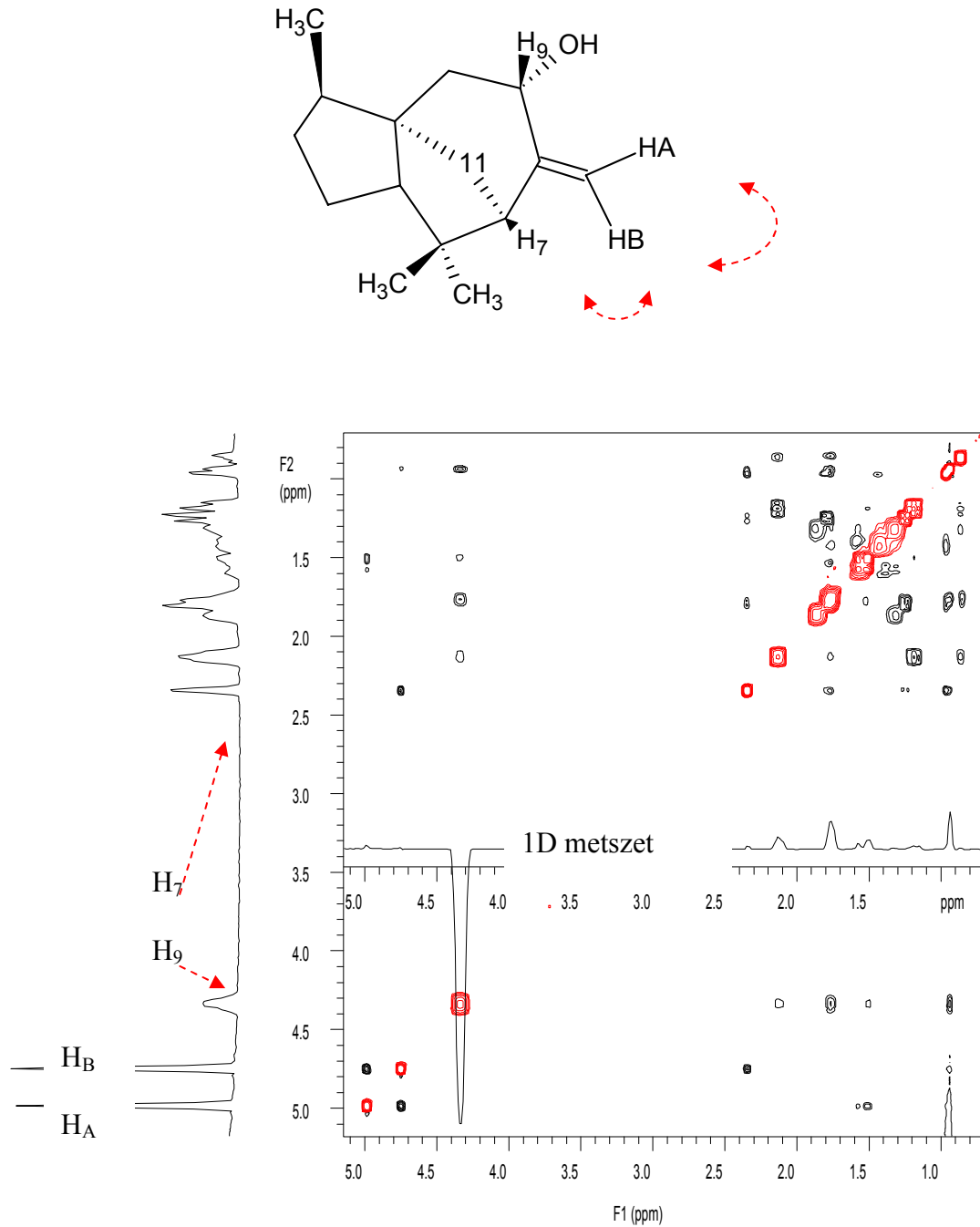


3.6.2 ábra A wolfram komplex NOESY spektruma, nyíllal jelöltük a feltehetően indirekt NOE -nak tulajdonítható negatív fázisú keresztcsúcsokat.
 Felvételi körülmények: spektrális ablak = 3000 Hz, $\text{at}_1 = 0,17$ sec, gerjesztések száma = 16, a t_1 FID -ek száma = $2 \cdot 250$, f_2 adatpontok száma = 1024, f_1 adatpontok száma = 512, súlyzófüggvény az f_1 dimenzióban = Gauss (0,079 sec), súlyzófüggvény az f_2 dimenzióban = Gauss (0,038 sec), relaxációs szünet = 2 sec, keveredési idő = 6 sec, hőmérséklet = 26 °C, felvételi idő = 18,3 óra

Rövidebb, két másodperces keveredési idő esetén spektrumban még nem jelentek meg azok (az ábrán nyíllal jelölt) indirekt NOE csúcsok, amelyek a merev aromás rendszerben fellépő *három-spin* hatásra utalnak.

További példaként egy merev polciklusos molekula (cedrenol) spektrumát mutatjuk be a következő ábrán.

(+)-8(15)-Cedren-9-ol



3.6.3 ábra. NOESY spektrum. Felvételi körülmények: spektrális ablak = 1640 Hz, $at_1 = 0,17$ sec, gerjesztések száma = 16, a t_1 FID -ek száma=256, f_2 adatpontok száma =1024, f_1 adatpontok száma=512, súlyzófüggvény az f_1 dimenzióban =Gauss (0,059 sec), súlyzófüggvény az f_2 dimenzióban =Gauss (0,072 sec), relaxációs szünet = 8 sec, keveredési idő = 2 sec, hőmérséklet = 26 °C, felvételi idő = 223 óra

Heteronukleáris NOE:

Egy heteromág pl. egy ^{13}C és egy hozzá kötött proton közötti NOE-nek nincs különösebb jelentősége (a már említett érzékenységnövekedéstől eltekintve), de annál inkább lehet, pl. egy kvaterner szén illetve a besugárzott proton relatív helyzetének meghatározásában. Protonált szénatomok esetén a szén relaxációját szinte teljes egészében a hozzákapcsolt proton határozza meg. A kiválasztott protont hordozó szén energiaszintjeinek perturbálása elkerülhető, ha a proton impulzus szelektivitása megfelelő, azaz ha nem gerjesztjük a fő proton jelről minimum 60 Hz-re lévő ^{13}C szatelliteket. (Szatellitnek nevezik pl. a ^{13}C - ^1H vagy ^{119}Sn - ^{31}P magpárok vonalait (AX spinrendszerek), de sok más pár is elképzelhető, ahol egy nagyobb természetes előfordulású maghoz egy kisebb előfordulású kapcsolódik). A kísérlet érzékenysége igen rossz, különösen, ha végeredményként egy proton-lecsatolt spektrumot akarunk látni, mert ilyenkor meg kell várni a szélessávú proton-lecsatolás miatt felépülő NOE teljes elhalását a gerjesztések között.

3.4 Gyakorlati tanácsok:

Van néhány olyan fontos körülmény, amire érdemes figyelni még akkor is, ha nem magunk végezzük a mérést.

- Feltétlen távolítsuk el a mintában jelenlévő paramágneses szennyezőket (ez elsősorban O_2 -t jelent, de fémorganikus vegyületekben figyelni kell az esetleges paramágneses ionok jelenlétére is, pl. Ni^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , stb.), mert ezek jelentősen növelik p^* értékét és ezáltal csökkentik esetleg törlik a mérhető NOE -t.

- p^* további csökkentése és az ún. "extreme narrowing" feltétel teljesítése érdekében ajánlatos híg oldatokat vizsgálni, és minél kevésbé viszkózus, magas izotóptisztaságú deuterált oldószert használni. (A deutérium ugyanis gyengébb dipólus mint a hidrogén, ezért hamarabb elérhető a szokásosan feltételezett "extreme" állapot.)

- Célszerű a felvételt némileg megemelt, szabályozott hőmérsékleten készíteni, ha ily módon csökkenthető a minta hőmérsékletének csúszkálása a felvétel alatt.

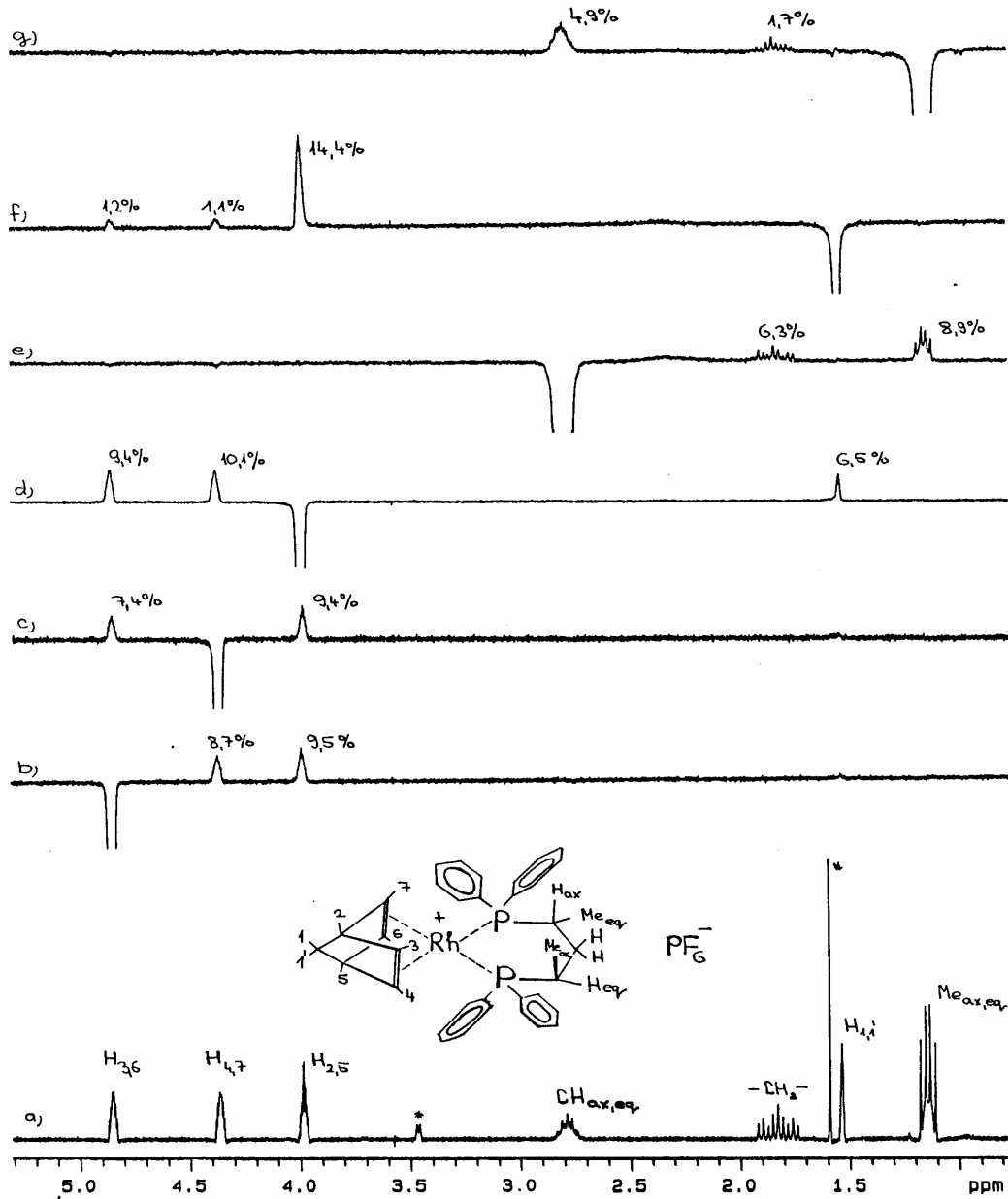
- Ha a laboratórium nappal „zajos” (elektromos vagy rezgési hatásokról van szó), a zajok csökkentése érdekében ajánlatos ezeket a felvételeket éjszakára vagy a hétvégére programozni.

Összegzés: NOE mérés **I** (interesting, *minket érdeklő*) és **S** (saturated, *telítendő* v. *besugárzott*) magok között

- A NOE az I mag intenzitásának változása, ami az S mag telítése vagy inverziója következtében lép fel.
- Az ún. „steady-state” (kényszer-egyensúlyi) NOE-kat folyamatos S mag besugárzás mellett kapjuk és százalékban fejezzük ki. Csak relatív magtávolságokra ad információt.
- NOE csak dipolárisan csatolt magok között lép fel. Ez a relaxációs mechanizmus r_{IS}^{-3} -mal arányos és a molekuláris mozgások modulálják.
- A mért értékek helyes értelmezéséhez az összes kölcsönható magot figyelembe kell venni. A kényszer-egyensúlyi NOE-k általában nem szimmetrikusak. Minden mag elsősorban a hozzá legközelebb eső maggal relaxál, a jelfelépülés (tranzien NOE) első, lineáris szakasza pedig mindenképpen ezen magok távolságától fog elsősorban függeni. Ennek megfelelően távoli magok közötti NOE-k nagyon lassan épülnek fel.
- A NOE növekmények v. csökkenések továbbíthatóak más dipolárisan csatolt magokra. Lásd indirekt NOE-kat. Pozitív és negatív hatások gyengítik, esetleg törlik egymást.
- Ha a direkt NOE negatív (nagy molekulák) akkor az indirekt is az, ez **spin-diffúzió**-hoz vezethet, ami végzetes a kényszer-egyensúlyi NOE-k szempontjából (elvesztik információ tartalmukat). Ebben az esetben tranzien NOE –t célszerű mérni.
- A fentiek alapján világos, hogy a steady-state NOE-k esetén a változások abszolút értékének nem szabad túl nagy jelentőséget tulajdonítani. A helyes közelítés a különböző magokon mért hatások együttes, minőségi értelmezése.

3.5. Alkalmazási példák:

Az első vegyület egy ionos ródium (I) komplex, amely ligandumként egy norbornadién molekulát és egy királis biszfoszfint köt magához. A differenciális NOE vizsgálat (egyensúlyi NOE) célja egyrészt a feltételezett hozzárendelések megerősítése, másrészt az oldatbeli térszerkezet igazolása, különös tekintettel az **1D** spektrumban tapasztalt **C₂** szimmetriára. Hasonló molekulák kristályaiban a Rh atom és a koordinált atomok közelítőleg egy síkban helyezkednek el a röntgendiffrakciós mérések alapján.



3.7 ábra Egyensúlyi NOE értékek meghatározása differenciális módszerrel (a) besugárzás nélküli proton spektrum (300 MHz, CDCl_3) (b) (c) (d) (e) (f) (g) differenciális NOE spektrumok, a besugárzások helyét az "átfordult" jelek jelzik. Az impulzusok közötti szünet 0,1 s, a telítési idő 12 másodperc volt, a protonok T_1 relaxációs ideje 0,4 és 1,1 másodperc között változott. Az alkalmazott tranziensek (gerjesztések) száma 200-300 volt. A mérés 24 C fokon történt, szabályozás mellett. *szennyezők!

Balról jobbra haladva egymás után telítettük a jeleket és mértük a többiek intenzitás változásait. A várakozásnak megfelelően csak pozitív NOE-kat tapasztaltunk (a kétkvantumos folyamat, W_2 a meghatározó), ezek mértéke 1 és 15 % között mozgott. A norbornadién olefines és $H_{2,5}$ -nek feltételezett protonpárjainak besugárzása kölcsönösen 7 -10 % növekedést eredményezett a szomszédokon, ettől csak a 4 ppm-nél található jel tért el, mivel ennek telítése (3.7/d ábra) 5 % -nyi növekedést okozott az 1,5 ppm -nél lévő megszélesedett szingulett jelen ($H_{1,1'}$) is, igazolva ezzel a megadott előzetes hozzárendelést.

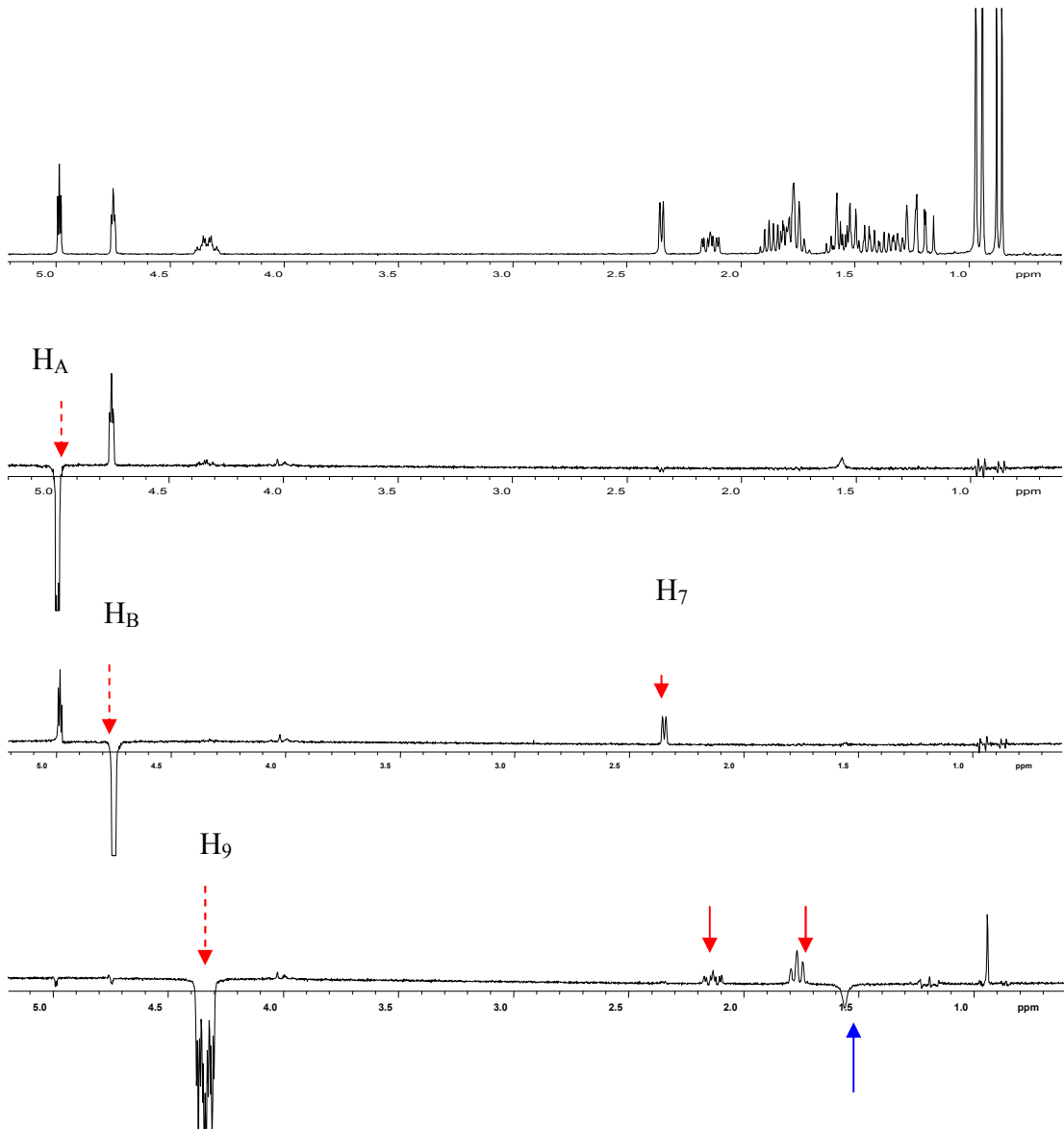
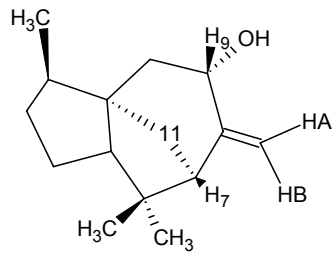
Az a tény, hogy az olefines protonok igen hasonló növekedést okoznak egymáson egy olyan C_2 szimmetria tengelyt tételez fel, ahol $H_3=H_6$ és $H_4=H_7$ mert a másik esetben, ahol a $H_3=H_4$ és a $H_6=H_7$ azonosságok állnak fenn, lényegesen kisebb növekedést várnánk annak alapján, hogy a hasonló távolságra lévő $H_{1,1'}$ protonokon gyakorlatilag nem okoz NOE-t az olefines protonok telítése.

(Molekuláris mechanika számítások alapján a H_3-H_4 protonok távolsága 2,35 Å, a H_3-H_7 protonoké 4,35 Å, a $H_3-H_{1'}$ távolság, pedig 4,1 angström).

Figyelemreméltó, hogy bár $H_{1,1'}$ nem mutat mérhető növekedést $H_{3,6}$ vagy $H_{4,7}$ besugárzásakor, saját telítésekor jól mérhető növekedést okoz azok jelein (3.7/f ábra).

A biszfoszfin ligandumon belül a várt hatások jelentkeznek, ezeket azonban óvatosan kell kezelni, mert a molekula ezen része dinamikus egyensúlyban van (máskülönben eltérő jeleket kapnánk pl. az *axiális-ekvatoriális* metil csoportokra), így a NOE-k is egy átlagállapotot képviselnek.

Második példa: a cedrenol kényszer-egyensúlyi NOE spektrumai. A molekulásúly alapján (< 250) pozitív NOE-kat várunk ebben a kísérletben is. A tapasztalt növekedések az 2-7% tartományba esnek, kivéve a geminális helyzetű H_A és H_B protonokat, ahol ennél lényegesen nagyobbak. A teljes mérési idő itt is tetemes, de sokkal rövidebb, mint a már bemutatott NOESY kísérlet esetében. Hat frekvencián besugározva kb. 10 óra.

(+)-8(15)-Cedren-9-ol

3.8 ábra. Cedrenol NOE differencia spektrumok. Felül besugárzás nélkül, alatta a jelzett helyeken besugárzott spektrumok. Besugárzási (telítési) idő 10 másodperc, relaxációs szünet 0,1 másodperc. 300 MHz, 293 K.

Javasolt irodalom:

1. J.H.Noggle and R.E.Schirmer: **The Nuclear Overhauser Effect - Chemical Applications**, Academic Press, 1972, New York
2. J.K.M.Sanders and B.K.Hunter: **Modern NMR Spectroscopy: A guide for chemists** Oxford University Press, New York, 1972 (Chp. **Connections through Space**)
3. Andrew E. Derome: **Modern NMR Techniques for Chemistry Research**, Pergamon Press, 1987, London (Chp. 5.)
4. D.Neuhaus és M.P.Williamson: **The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis**, VCH Publishing Inc., New-York, 1989.
5. **Heteronukleáris NOE**: Kövér K.E., Batta. Gy. : **Progr. Nucl. Magn. Reson.**, 19, 223 (1987).
6. T.D.Claridge: **High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry**, Pergamon, 1999, Oxford

4. A kötések által közvetített **skaláris spin-spin csatoláson** alapuló eljárások

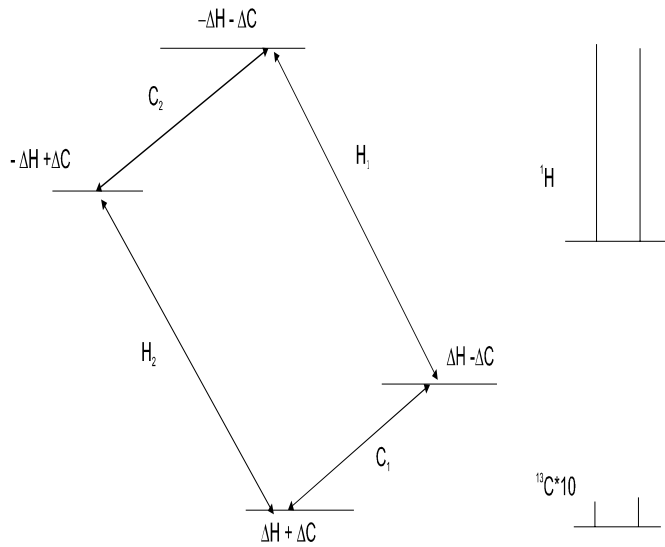
4.1 Érzékenységnövelés polarizációátvitellel és spektrumszerkesztés (SPI, INEPT, DEPT)

Bár az NMR technika fejlődése az utóbbi évtizedben korábban elképzelhetetlennek tartott érzékenységnövekedéshez vezetett, az érzékenység még mindig komoly probléma, csak ma már nem úgy merül fel a kérdés, hogy tudunk-e 0,5 mg anyagból proton spektrumot vagy egy ^1H , ^1H korrelációs térképet készíteni (mert ezt tudunk), hanem úgy, hogy lehet-e ennyi anyagból egy ^{13}C , ^1H korrelációs spektrumot felvenni (mert ma már ez is lehetséges belátható időn belül (lásd 4.3.2 pont **inverz detekció**)).

Amennyiben sikerülne az ^1H (vagy más jól mérhető mag) érzékenységét valahogy a kevésbé érzékeny magokra (^{13}C , ^{15}N , ^{103}Rh , stb.) "átültetni", úgy lényegesen javulna a helyzet. Azok az eljárások, amelyek ezt képesek végrehajtani az ún. polarizáció-átvitelen³ alapulnak. Az impulzus-szekvenciák tengerében általában a PT (Polarisation Transfer) végződésűek tartoznak ebbe a csoportba, de vigyázat az APT (Attached Proton Test) esetében nincs mágneszettség-átvitel. Egy másik igen kellemes tulajdonsága ezeknek a szekvenciáknak, hogy lehetővé teszik a heteromagok osztályozását aszerint, hogy hány "donor" mag kapcsolódik hozzájuk. Miután gyakorlati jelentősége elsősorban az ^1H , ^{13}C kettősnek van, így ez általában a ^{13}C jelek CH, CH₂ és CH₃ jellegének meghatározását jelenti.

A jelenség, amelyen mindezen eljárások alapulnak már régóta ismert SPI (**S**elective **P**opulation **I**nversion) néven. Megértéséhez az egymással kölcsönható spinek energiaszintjeiről és azok betöltöttségéről kell elmélkednünk, hasonlóan a NOE hatás ismertetésénél leírtakhoz, azzal a lényeges különbséggel, hogy itt ezeket a szinteket a skaláris spin-spin csatolás köti össze. Az érthetőség kedvéért ismét a legegyszerűbb spinrendszer (**AX**, **A**= ^1H , **X**= ^{13}C) példáján keresztül ismertetjük a folyamatot.

³ magyarul mágneszettség-átvitel



4.1.1. ábra

Energiaszintek és betöltöttségük egy AX spinrendszerben: a közös alsó szinten van a legtöbb mag ($\Delta^*H + \Delta C$), feljebb menve egy proton-átmeneten már csak $\Delta C - \Delta H$ magot találunk, míg a szén-átmenet esetén ez a szám $\Delta H - \Delta C$. Ennek megfelelően a legfelső szint betöltöttsége a legkisebb ($-\Delta H - \Delta C$).

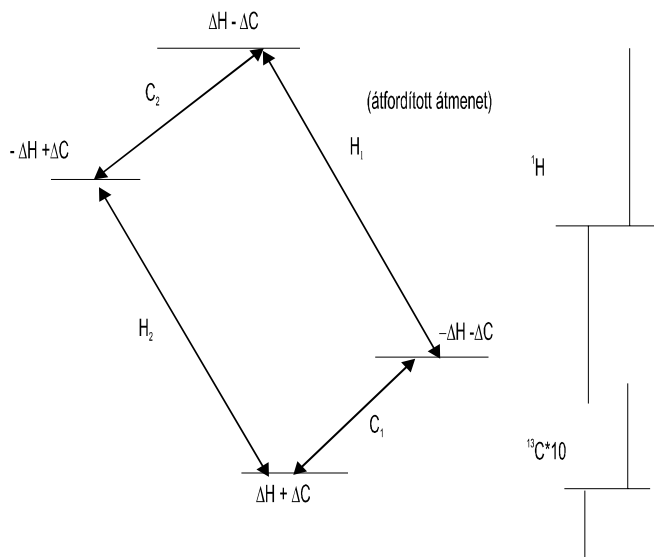
Mivel az összes átmenet betöltöttségi különbsége ΔH illetve ΔC , a spektrumban azonos intenzitású jelpárok jelennek meg.

* Δ itt az alsó és felső szintek betöltöttségkülönbségének a fele!

Miután a proton Larmor frekvenciája négyszerese a szénének ($\gamma_H/\gamma_C=4$), a proton-átmenetek energia különbsége is négyszerese az utóbbiának. Ebből következik, hogy a Boltzmann eloszlás értelmében az alsó proton szintek betöltöttsége is négyszerese az alsó szén szintek betöltöttségének ($\Delta H=4\Delta C$). Ha mindezeket a spektrumban érzékelhető jelerősségre fordítjuk le, akkor azt látjuk, hogy mivel a négyszer több proton mindegyike négyszer nagyobb mágneses momentummal rendelkezik, ezen mágnesezettségnek az x-y síkba való fordítása 16-szor nagyobb összmágnesezettséget produkál, mint a szén spineké. Továbbá, mivel a proton vektor négyszer gyorsabban precesszál mint a szén, a tekercsben keltett proton jel végül is 64-szer erősebb lesz mint a szén jel. (A 2. fejezet elején már említettük minden magyarázat nélkül, hogy a jelerősség a giromágneses hányados harmadik hatványával arányos). **A legtöbb, amit remélhetünk a mágnesezettség-átvitel kísérletektől, hogy egy γ -nyit csökkentjük a hátrányt**, de ez is igen jelentős lehet (pl. egy $^1H/^{103}Rh$ páros esetén ez több mint 31-szeres jelnövekedést jelent).

A kísérlet során mindössze annyit kell tennünk, hogy az egyik proton átmenetet (tehát a dublett egyik vonalát) egy szelektív impulzussal átfordítjuk, azaz felcseréljük a két szint betöltöttségét. Ha most ismét megvizsgáljuk az AX rendszerünket a betöltöttségi különbségek

szempontjából, azt látjuk, hogy a proton-átmenetknél a különbség nem változott, bár a gerjesztett (átfordított) átmenetnél előjelet váltott.



4.1.2. ábra
AX rendszer:
 energiaszintek és betöltöttségük az egyik proton-átmenet szelektív átfordítása után. Míg a megfelelő proton-átmenet azonos intenzitású de "negatív" jelet ad, addig az egyik szénátmenet az egyensúlyi jelhez képest **-3** -as a másik **+5** -ös intenzitású lesz.

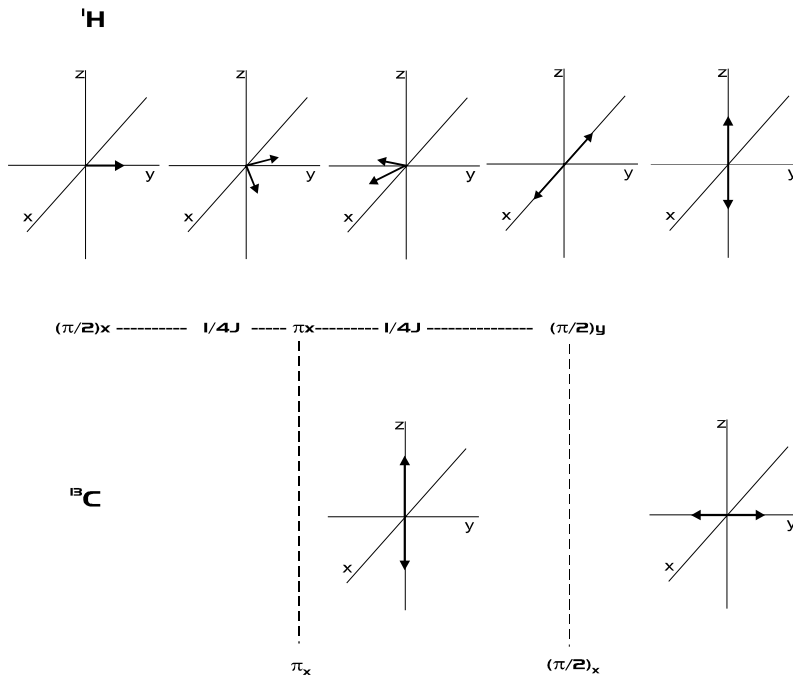
Ezzel szemben a C_1 átmenetnél, ahol korábban $2\Delta C$ volt a különbség most értéke $2\Delta H + 2\Delta C$ -re változott, a C_2 esetében pedig $-2\Delta H + 2\Delta C$ -re. Ide behelyettesítve a $\Delta H = 4\Delta C$ összefüggést azt kapjuk, hogy egy beolvasó $\pi/2$ impulzus után az egyik szén vonal intenzitása $+5$ (hiszen az eredeti $2\Delta C$ különbséghez még négyszer $2\Delta C$ adódik hozzá), a másiké pedig -3 lesz (mivel itt a négyszer $2\Delta C$ levonódik) az eredeti $+1, +1$ -es dublettel összehasonlítva.

(Ilyen jelpárok lépnek fel a NOE kísérleteknél is, ha egy multipliett vonalait nem azonos mértékben telítjük, SPI hatás 3. fejezet).

A kísérletnek ebben a formájában két komoly hiányossága van, egyrészt szelektív impulzusokkal kellene végigtapogatni az egész proton spektrumot és a ^{13}C csatolási oldalsávokat (szatelliteket) egymás után átfordítani, másrészt mivel a jelek fázisa 180 fokkal különbözik nem tudjuk a szokásos proton-lecsatolt szénspektrumot előállítani, mert a jelek egymást részben kioltják és visszaáll az eredeti jelintenzitás a lecsatoló tér hatására.

INEPT (Insensitive Nuclei Enhancement by Polarisation Transfer): Az említett szelektivitási probléma kiküszöbölhető, ha képesek vagyunk az összes proton-átmenetet egyidejűleg átfordítani. Ehhez egy olyan szekvenciára van szükségünk, amelyik a proton-átmenet párokat ellentétes fázisba állítja (mint az előbb ismertetett SPI kísérletben), ráadásul ezt egy nem-

szelektív impulzussal hajtja végre (a protonok kémiai eltolódásától függetlenül). A már ismertett spin-echo (spin-visszhang) eljárással megoldható ez a feladat is.

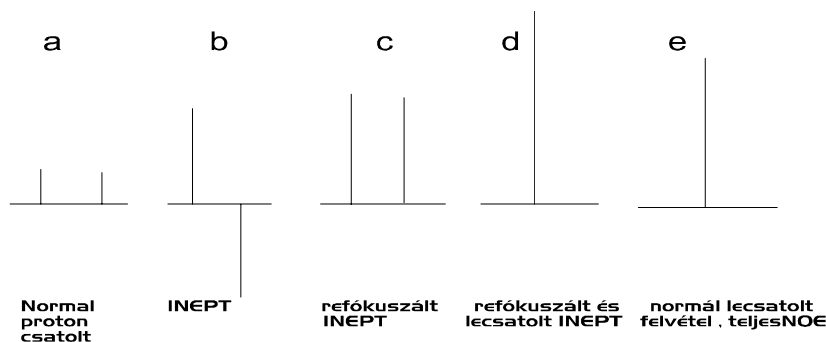


4.1.3. ábra INEPT

A 180_x -as impulzus után a két vektor nem refókuszálódik, mert az egyidejű π_x impulzus a szén magokon "homonukleáris" teszi a rendszert, újabb $\tau=1/4J$ idő múlva létrejön a proton-átmenetek antifázisú mágnesszettsége az x , $-x$ tengelyek mentén, amit a végső $\pi/2_y$ proton impulzus állít be a kívánt $(z, -z)$ irányba. Az előzőleg fejreállított szénátmeneteket a "beolvasó" $\pi/2_x$ szén impulzus fordítja vissza az $-y, y$ tengelyre.

A spektrumban az SPI kísérletnél megismert **+5, -3** intenzitásarányú dubletteket kapjuk minden ^{13}C - ^1H spinpárra. Amennyiben ragaszkodunk a megszokott egy-egy arányú dublettekhez a "természetes" polarizációt megszüntethetjük pl. az utolsó proton impulzus és a referencia-frekvencia fázisának léptetésével. A végső eredmény mindig árulkodó, ha az antifázisú jelek intenzitása azonos, akkor a beépített fázisléptetés gondoskodik az eredendő mágnesszettség megszüntetéséről. Ezzel azonban még nincs vége a módosításoknak, ahhoz, hogy proton-lecsatolt spektrumot készíthessünk el kell érniük, hogy a két komponens ismét azonos fázisba kerüljön. Ez is megoldható egy Δ szünet beiktatásával az utolsó impulzus és az akvizíció megkezdése közé. Δ értékét természetesen a **J(CH)** csatolási állandótól függően kell megválasztani, **1/2J** a megfelelő érték dublettek esetén, **0.3/J** a javasolt érték, ha a spektrum tripleteket és kvartetteket is tartalmaz. A jel mérése csak akkor kezdődik meg, amikor a multipliett komponensek ismét azonos fázisban vannak, s így nincs akadálya a proton lecsatoló

tér bekapcsolásának. Az egyes fázisoknak megfelelő relatív intenzitásokat mutatja be az alábbi ábra.



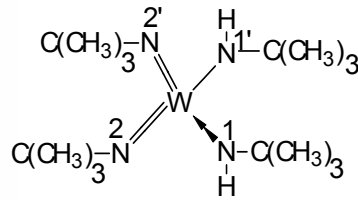
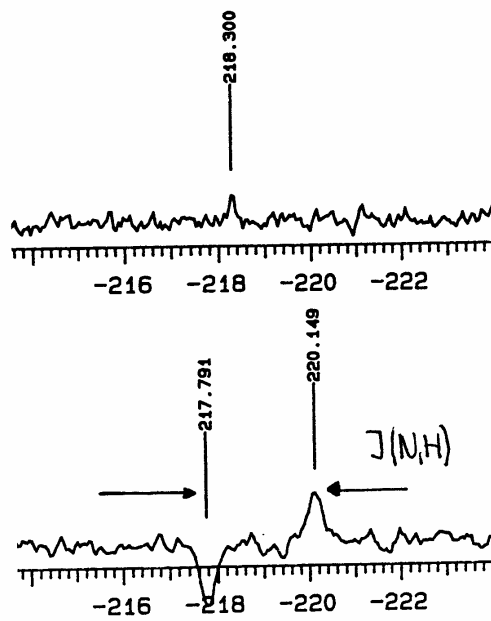
4.1.4. ábra
AX spinrendszer
 (a) normál ^1H -
 csatolt spektrum,
 nincs NOE, (b)
 INEPT,
 (c) refókuszált
 INEPT, (d)
 refókuszált, ^1H -
 lecsatolt INEPT,
 (e) szokásos
 proton-lecsatolt
 spektrum teljes
 NOE -val.

Az INEPT spektrumokban észlelt jelerősségeket összehasonlítva a már említett heteronukleáris NOE okozta jelnövekedéssel, lényeges eltérést találunk közöttük.

$$\text{INEPT: } I = I_0 \left| \frac{\gamma_S}{\gamma_I} \right| \quad \text{NOE: } I = I_0 \left(1 + \frac{\gamma_S}{\gamma_I} \right)$$

Mint látható az INEPT spektrumban a jel intenzitása a két magra jellemző γ állandók hányadosának abszolút értékétől függ. Nem kell számolnunk a jel csökkenésével vagy elvesztésével a negatív giromágneses hányadosú magok esetében sem, szemben a NOE okozta változással, ahol ez előfordulhat eltérő előjelű γ értékek esetében.

Vannak olyan magok, pl. ^{15}N , ^{103}Rh vagy ^{29}Si , amelyeknél az INEPT jelenti szinte az egyedüli felvételi technikát, ha mérhető csatolást adnak legalább egy protonhoz. Kis csatolások esetében a hosszabb evolúciós idő miatt fontos a lassú proton relaxáció.



4.1.5. ábra
 $^1\text{H} \rightarrow ^{15}\text{N}$
 polarizáció-
 átvitel
 (N-1 nitrogén),
 (a) normál
 felvétel 12 óra
 alatt, a
 protonlecsatolás
 csak az
 akvizíció alatt
 volt
 bekapcsolva, a
 negatív NOE
 felépülésének
 elkerülésére,
 (b) proton-
 csatolt INEPT
 felvétel 3 óra
 25 perc alatt.

A polarizáció-átvitelnek van még egy rendkívül hasznos sajátossága, ami nem azonnal szembeötlő, de hatása a jel mérhetőségére esetenként sokkal lényegesebb, mint maga a polarizáció-átvitel. Miután általában egy magas γ értékű mag (pl. proton vagy foszfor) mágnesezettségét "pumpáljuk át" egy kisebb γ értékű magra (pl. szénre, nitrogénre, stb. -re), a relaxáció szempontjából is az előbbi (pl. a proton) T_1 értéke lesz a meghatározó. Mint tudjuk, ez általában lényegesen rövidebb, mint a szén vagy különösen a nitrogén-15 relaxációja, nem is beszélve pl. a Rh-ról vagy más alacsony γ értékű magról, amelyeknél a T_1 érték hihetetlenül hosszú is lehet (néha több száz másodperc). Az így nyert előny (azonos idő alatt a két résztvevő mag T_1 ideinek arányában több gerjesztést végezhetünk) igen jelentős lehet az említett alacsony Larmor frekvenciájú magokra (az angol irodalom "low γ nuclei" összefoglaló néven emlegeti ezeket), ezekre nehezebben teljesül a relaxáció rezonanciafeltétele.

Más a helyzet pl. a ^{13}C esetében, egyrészt itt nem olyan lényeges a különbség a protonlecsatolt és az INEPT spektrumban észlelt jelintenzitások között, másrészt a protonált szénmagok relaxációja sem hosszabb lényegesen a protonokénál, ezért a gyorsabb protonrelaxáció kihasználása sem mindig jelent lényeges előnyt.

A fentiek miatt a napi gyakorlatban általában egy másik ok miatt veszünk fel polarizáció-átvitel mellett ^{13}C spektrumokat, nevezetesen azért a lehetőségért, amit az ún. spektrum szerkesztés nyújt. Az említett refókuszáló Δ idejű szünet változtatásával megoldható a CH, CH₂ és CH₃ szénatomok egyértelmű azonosítása anélkül, hogy egy részlegesen vagy teljesen csatolt spektrumot is felvennénk.

Az alábbi összefüggés segítségével kiszámolható a ^{13}C - ^1H csatolási állandó, J és a szénhez kötött protonok számának, n függvényében az ideális Δ érték:

$$\Delta = \frac{1}{\pi J} \sin^{-1} \frac{1}{\sqrt{n}}$$

A gyakorlatban ez általában három spektrum felvételét jelenti, mégpedig $\Delta=1/4J$ (az összes protonált szén megjelenik pozitív fázisú jelként), $\Delta=1/2J$ (csak a CH-k jelennek meg) és $\Delta=3/4J$ (a CH-k és a CH₃-ak pozitív, míg a CH₂-k negatív fázisú jelet adnak) értékekkel, amelyek megfelelő összevonása eredményezi a hozzárendeléseket.

Természetesen a polarizáció-átvitelen alapuló szekvenciák eredményeként, csak azon magok jelennek meg a spektrumban, amelyekre polarizációátvitel történt, magyarul pl. az egykötéses $J(\text{CH})$ csatolási állandóra optimalizált spektrumokban nem fognak megjelenni a kvaterner szénatomok jelei. Ugyanakkor gyakran igen fontos volna a kvaterner szénatomok egyértelmű hozzárendeléséhez azt is tudni, hogy mely protonokkal mutatnak 2-3 kötéses csatolásokat. Ezt a feladatot oly módon lehet megoldani, hogy a kiválasztott protonjeleket szelektíven átfordítjuk és megvizsgáljuk, hogy a szénspektrumban mely magok vonalai jelennek meg.

Két- háromkötéses csatolási állandók használata távolható kapcsolatok felderítésében (szelektív INEPT (INEPTLR))

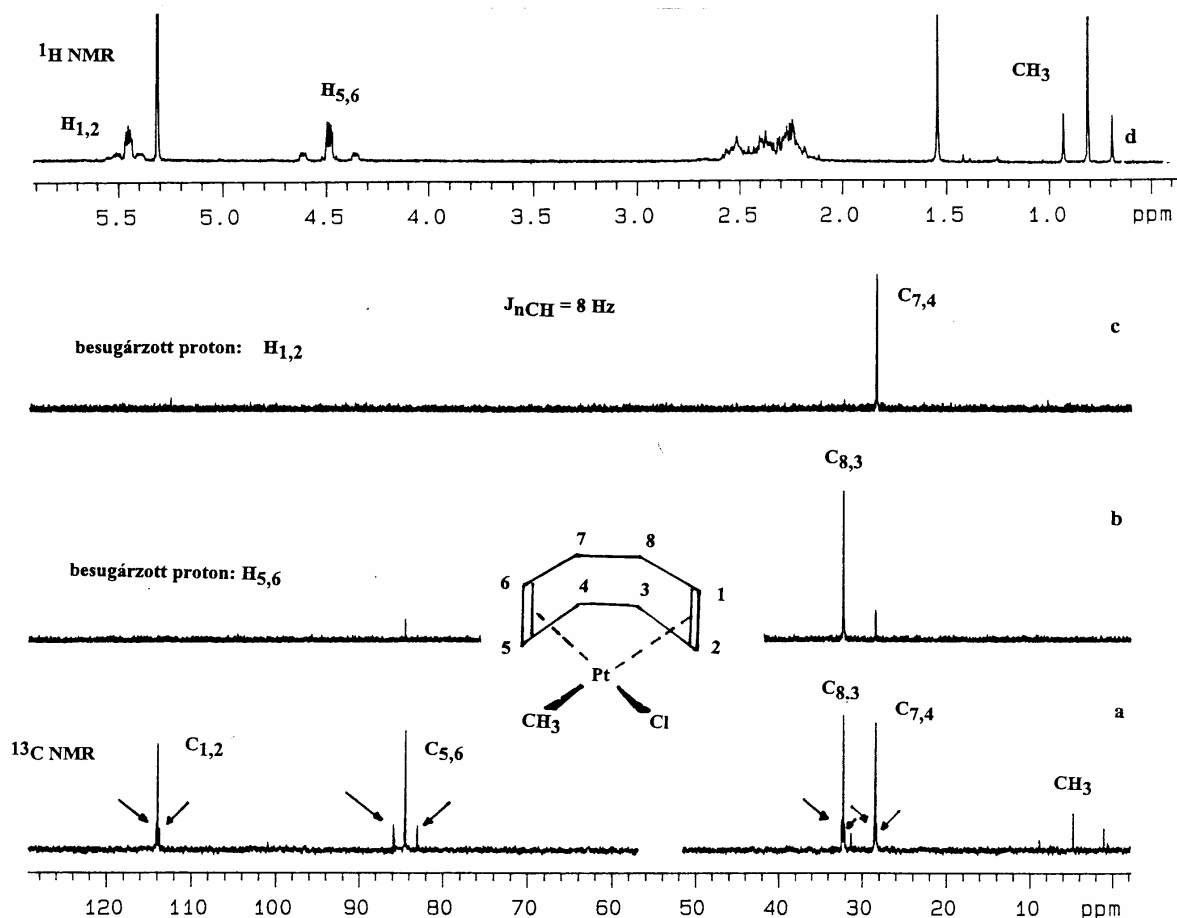
A gyakorlatban pl. ez egy olyan INEPT szekvencia alkalmazásával oldható meg, amelyben minden egyes nem szelektív ("kemény") proton impulzust egy szelektív ("puha") impulzussal helyettesítünk. Ezek a szelektív impulzusok csak 20-30 Hz szélességben gerjesztik a kiválasztott helyen a spektrumot, meghatározható az az impulzusidő is, amely a jel átmeneteinek 180 fokos átfordítását eredményezi.

A kísérlet szempontjából az egyik fontos paraméter a spin-echo szakasz hossza (lásd 4.1.3. ábrát), ami alatt kialakul a fáziskülönbség a multipliett komponensei között, ez itt is $1/2J$, csak most a megfelelő két vagy háromkötéses csatolási állandót kell ide helyettesíteni. A másik a Δ szünet nagysága, ami alatt refókuszálódnak a jelek az akvizíció előtt. A besugárzandó proton jelek frekvenciáját a proton spektrumból kell meghatároznunk. Ha a proton spektrumban a vonalak átfednek, akkor természetesen a szén spektrumban több vonal fog megjelenni, mivel a besugárzott tartomány általában sokkal kisebb mint a ^{13}C - ^1H szatelitek távolsága, az egykötéses korrelációk nem jelennek meg a spektrumban. Előfordul azonban, hogy a besugárzás helye közelében van egy másik szatellit egyik vonala is, ami szintén "irracionális" vonalbőséghez vezethet.

A bemutatott példa (4.1.6 ábra) egy Pt-ciklooktadién-metil-klór komplexre vonatkozik. A ^{13}C spektrum telítetlen szeneinek hozzárendelése a jelentősen eltérő ^{195}Pt - ^{13}C csatolásokon alapszik, de a telítetlen szénatomok esetében ez nem ad elegendő támpontot. Szelektíven besugározva a $\text{H}_{1,2}$ és $\text{H}_{5,6}$ protonokat az egyes rész-spektrumokban (**c** és **b**) csak az ezekkel a protonokkal kb. 8 Hz-es csatolást (erre az értékre volt optimalizálva a polarizációátvitel, tehát $1/2J = 1/2 * 8 \text{ Hz} = 0.0625 \text{ s}$) adó szénatomok jelennek meg.

Miután a kétkötéses csatolások értéke ennél általában kisebb (2-4 Hz), a megjelenő sávok minden bizonnyal háromkötéses kapcsolatokat jeleznek, ennek alapján megadható a $\text{C}_{7,4}$ és $\text{C}_{8,3}$ párok hozzárendelése is.

A kísérlet sikere természetesen attól függ, hogy találunk-e szelektíven besugározható protonokat az ^1H spektrumban.



4.1.6. ábra [Pt-COD-CH₃-Cl] komplex, INEPTLR spektrumok

$nJ_{CH}=8 \text{ Hz}$ -re optimalizálva a polarizáció-átvitel, (a) ¹³C NMR spektrum (a nyíllal jelölt vonalak az egykötésű ¹⁹⁵Pt szatellitiek) (b) INEPTLR: a H_{5,6} protonjel szelektíven átfordítva (c) INEPTLR a H_{1,2} protonjel szelektíven átfordítva (d) ¹H NMR spektrum.

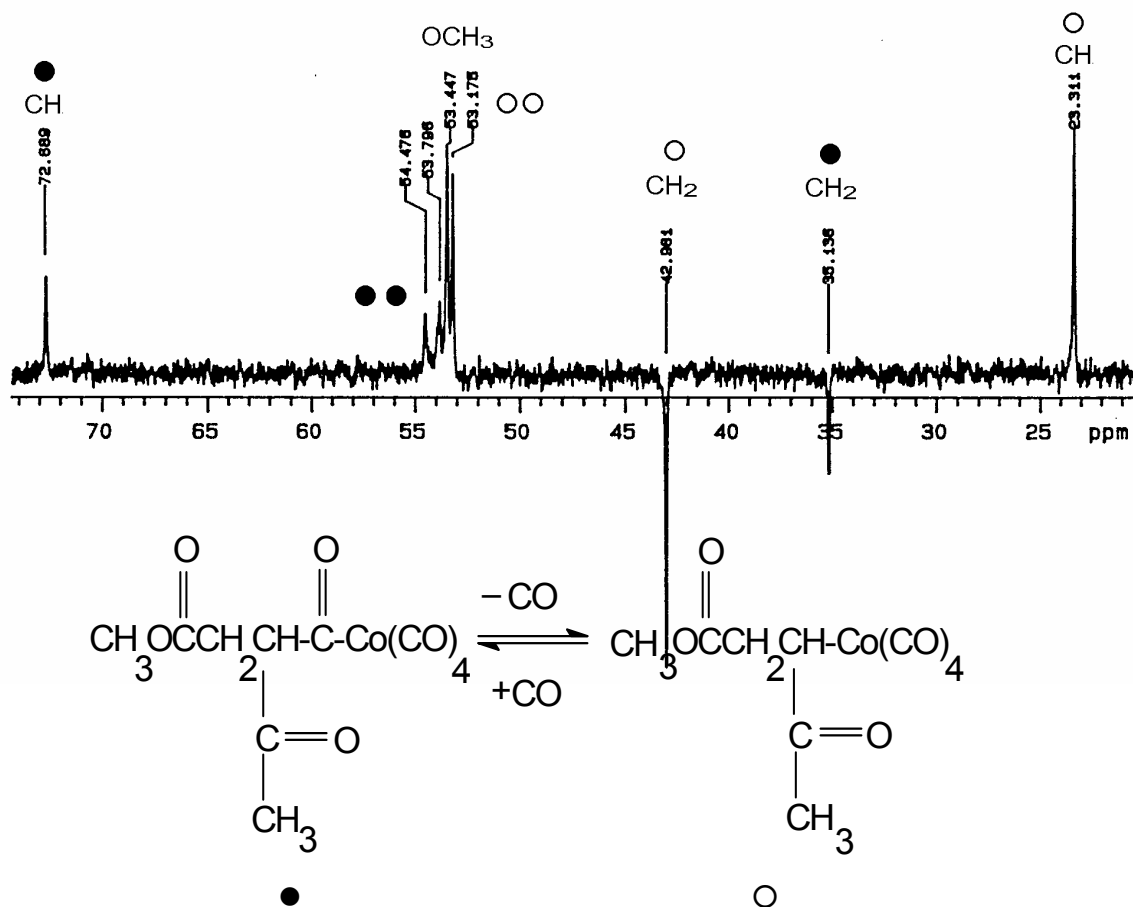
DEPT (pl. **D**istortionless **E**nhancement by **P**olarisation **T**ransfer): itt a torzulásmentes jelző arra vonatkozik, hogy ennél a szekvenciánál az akvizíció megkezdésekor a multipliett vonalai azonos fázisban vannak (tehát nincs szükség a Δ periódusra) és a csatolt spektrum multipliettjei is a hagyományos proton-csatolt spektrumnak felelnek meg.

A szekvencia működése nem magyarázható meg az eddig használt forgó koordináta rendszerbeli vektormodell segítségével. A teljes megértéshez szükséges volna a heteronukleáris több-kvantum koherencia jelenségével tisztában lenni, ami viszont az eddig

gondosan elkerült kvantummechanikai közelítés nélkül nem lehetséges. Ezt most sem tesszük meg, megelégszünk az eljárásnak a felhasználó számára fontos sajátosságainak megemlítésével.

Spektrumszerkesztés: a DEPT leglényegesebb előnye az INEPT szekvenciával szemben, hogy sokkal kevésbé érzékeny J értékének pontos beállítására, mivel a végső proton impulzus (amelyet a szerkesztésre használunk) független J -tól. Van azonban három olyan időállandó is a szekvenciában, amelyet a megadandó $J(\text{CH})$ csatolási állandóból számol a program. Mivel ezek a csatolások 120-210 Hz között változhatnak célszerű ellenőrizni, hogy a szekvenciában beállított érték megfelel-e az általunk várt szerkezetben feltételezhető csatolásoknak. Mindezek mellett is előfordulhat, ha **erősen eltérő csatolások vannak jelen**, hogy a spektrum "gyanúsán" kis intenzitású vagy éppen a várakozással ellentétes fázisú jeleket is tartalmaz, ilyenkor feltétlen célszerű egy némileg megváltoztatott J értékkel megismételni a felvételt, annak ellenőrzésére, hogy a jel változása megfelel-e feltételezett multiplicitásának. Egyébként a szerkesztés az INEPT szekvenciánál leírt módon három spektrum felvételével oldható meg. Gyakori megoldás azonban, hogy csak egy spektrumot veszünk fel, amelynél a Δ értékét úgy határozzuk meg ($\Delta=3/4J$), hogy a CH/CH_3 és a CH_2 jelek 180 fokkal eltérő fázisúak legyenek, így módon egyszerűen megkülönböztethetőek egy spektrum alapján is. (lásd 4.1.7 ábrát).

Bár az eddigi példák mindegyike 1/2-es spinű magok közötti polarizáció-átvitelre vonatkoztak a DEPT kísérlet kvadrupól magokkal is működik, feltéve, hogy azok nem relaxálnak olyan gyorsan, hogy a jel elhaljon a szekvencia alatt. Az alkalmazott evolúciós szünetek viszont a csatolási állandó reciprokának függvényei, tehát minél nagyobb a csatolás, annál nagyobb az esélyünk a kísérlet sikerére.



4. 1.7. ábra DEPT kísérlet: acil● - alkil(O)kobalt egyensúly vizsgálata (alkil tartomány) $^1\text{H} \text{---} ^{13}\text{C}$ polarizációátvitel, paraméterek: akvizíciós idő 0,5 másodperc, relaxációs idő 2 másodperc, $J(\text{CH}) = 145 \text{ Hz}$, mintamennyiség 20 mg, mérési idő 35 perc, hőmérséklet $-20 \text{ }^\circ\text{C}$, térerő 7.04 T.

Ebben az esetben még kémiai csere⁴ is bonyolítja a helyzetet, de a spektrum ennek ellenére egyértelmű.

A teljesség kedvéért megjegyzendő, hogy a "fordított" DEPT (amikor egy kis γ -jú magról viszünk át polarizációt egy nagyobb γ -júra) is működik, sőt nagyon hasznos és elterjedt alkalmazásai is vannak, pl. óriásmolekulák vizsgálatánál, ahol egy kiválasztott (gyakran ^{13}C dúsított) szénről visznek át polarizációt szelektíven arra a protonra, amelyik hozzá van kötve. Ez elvezet minket az ún. inverz detekciós kétdimenziós eljárásokhoz (lásd a 4.3 pontot).

⁴ lásd az 5. fejezetet.

Ajánlott további irodalom:

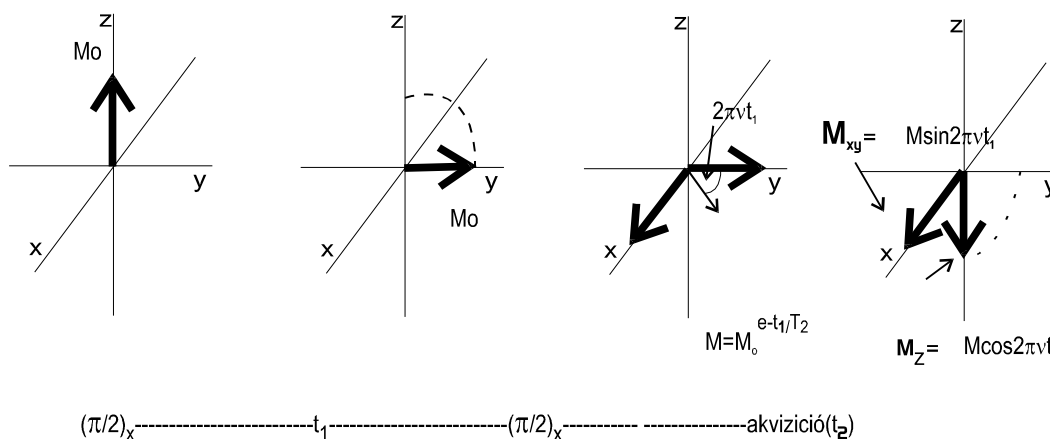
1. R.Benn und H.Günther, **Angew.Chem.**, 95, 381 (1983)
2. **INEPT**: G.A.Morris and R.Freeman, **J.Am.Chem.Soc.**, 101, 160 (1979)
3. **DEPT**: D.M.Doddrell, D.T.Pegg, W.Brooks, M.R.Bendall,
J.Am.Chem.Soc., 103, 727 (1981)
4. **INEPTLR**: Ad Bax, **J.Magn.Reson.**, 57, 314 (1984)

4.2 Homonukleáris kémiai eltolódás korrelációk :

Kis molekulák proton NMR spektrumaiból rendszerint közvetlenül meghatározhatók az egymással skaláris spin-spin kölcsönhatásban lévő magok, a csatolási állandók értéke alapján. A kétséges kapcsolatok pedig általában igazolhatók egyes jelek szelektív telítésével⁵. Nem ez a helyzet azonban nagyobb molekulák több és gyakran átfedő jeleket tartalmazó spektrumai esetén. Ilyen esetekben, egyrészt a szelektív besugárzás nem mindig lehetséges az átfedések miatt, másrészt, ha meg is oldható, túlságosan időigényes. Ahogy a vegyészek figyelme fokozatosan az egyre nagyobb molekulák felé fordult, úgy nőtt az igény egy olyan hatékony eljárás iránt, amely lehetővé teszi az egymással csatoló jelek egyértelmű és gyors azonosítását. Ezt tette lehetővé a Jeener által 1981-ben javasolt szekvencia (4.2.1. ábra), amely aztán a kétdimenziós eljárások alapjául szolgált.

Mivel az eddig ismertetett eljárások mindegyike "egydimenziós", **1D** volt, a most ismertetendő homo- és heteronukleáris kémiai eltolódás-korrelációkkal pedig áttérünk a kétdimenziós technikákra célszerű megismekednünk az alapelvekkel is.

4.2.1 Kétdimenziós NMR : Tekintsük példaként a legegyszerűbb spektrumot, egyetlen vonalat, és vizsgáljuk meg az alábbi ábrán látható szekvencia hatását.



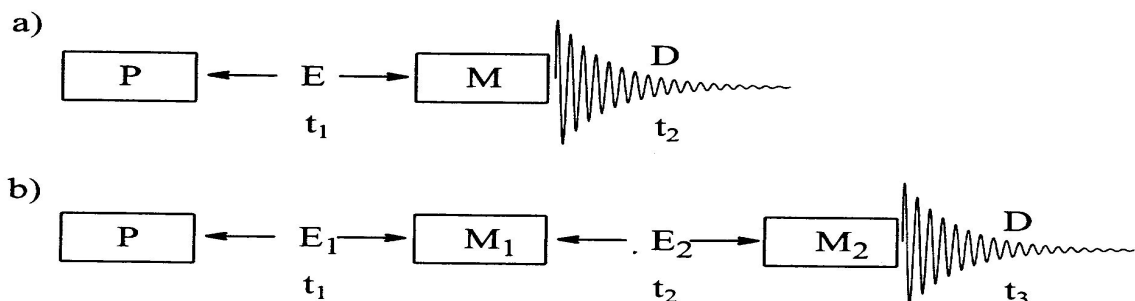
4.2.1. ábra Egy NMR jel erőssége és fázisa periódusosan változik, ha változtatjuk a két 90 fokos impulzus között eltelt t_1 időtartamot. Az álló koordináta rendszerben vagyunk, t_1 idő alatt a jel $2\pi\nu t_1$ szöggel fordul el az y tengelytől, s így van egy x és egy y tengelyre eső vetülete. A második 90 fokos impulzus csak az előbbit hagyja az x - y síkban, ennek nagysága $M_{xy} = M \sin 2\pi\nu t_1$.

⁵ A két szint betöltöttségének kiegyenlítése.

Az első $(\pi/2)_x^6$ impulzus az y tengelyre fordítja az M vektort, t_1 idő múlva lesz egy x és egy y tengely menti vetülete M -nek. Az előbbi $M\sin 2\pi\nu t_1$, az utóbbi $M\cos 2\pi\nu t_1$ nagyságú, a második $(\pi/2)_x$ impulzus az x tengely menti komponenst változatlanul hagyja, míg az y tengelyre esőt a z tengelyre fordítja át. Ezzel ez "láthatatlanná" válik az érzékelő tekercs számára, az érzékelt jel nagysága $M\sin 2\pi\nu t_1$ lesz. Az így nyert spektrum teljesen "normális" azzal az eltéréssel, hogy a jel nagysága szinuszosan változik t_1 függvényében.

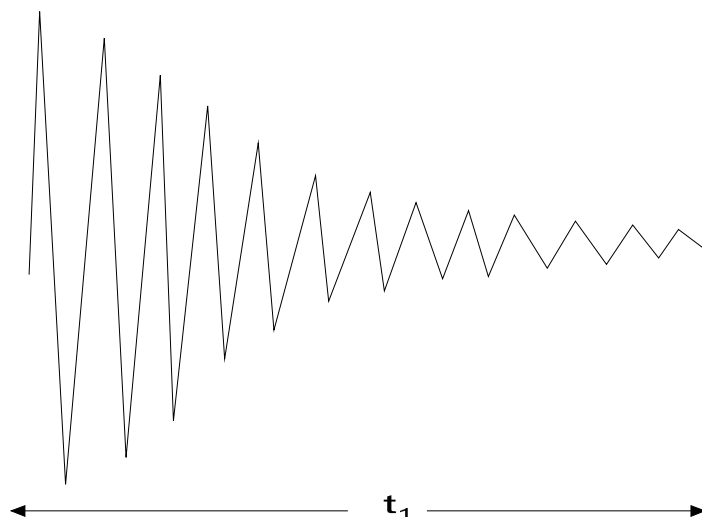
Ha valóban nekiállunk és t_1 értékét folyamatosan változtatva több száz vagy esetleg több ezer spektrumot veszünk fel és a kapott jelintenzitásokat az idő függvényében ábrázoljuk a 4.2.3 ábrán látható képet kapjuk. Ez nem más, mint egy "mesterséges" FID, amelynek Fourier-transzformációja ugyanúgy a kérdéses jel spektrumát adja, mint a "valós" időben mért FID-é. Természetesen ez a spektrum minden pontjának Fourier-transzformációját jelenti a t_1 időváltozó szerint is, ily módon egy kétdimenziós adathalmazhoz jutunk, amely mind t_1 -nek mind t_2 -nek függvénye. t_2 jelenti a valós akvizíciós időt, amely azért kapta a kettes sorszámot, mert a második idő a szekvencia eseményeinek sorában. A létrejövő kétdimenziós spektrum esetünkben természetesen semmi új információt sem tartalmaz az 1D spektrumhoz képest, mert a t_1 idő alatt is csak a kémiai eltolódás szerinti precesszió volt az egyedüli moduláló hatás.

Egy kétdimenziós spektrum csak akkor tartalmaz többlet információt, ha a t_1 idő alatt valamilyen kölcsönhatás, pl. skaláris csatolás, kémiai csere vagy NOE modulálja a jelet (nagyságát vagy fázisát) mert az így "felvett" FID-ek t_1 szerinti Fourier-transzformációjával előállított spektrumok "emlékeznek" erre a modulációra is. A háromdimenziós eljárás hasonló alapokon épül fel, csak eggyel több időváltozót és keveredési szakaszt tartalmaz,



4.2.2 ábra A két- (a) és háromdimenziós (b) NMR kísérletek általános sémái. P= előkészítő szakasz, E= kifejlődési szakasz, M_{1,2}=keveredési szakaszok és D=adatrögzítés, t₁,t₂ és t₃ = időváltozók

⁶ Az rf impulzus fázisa.



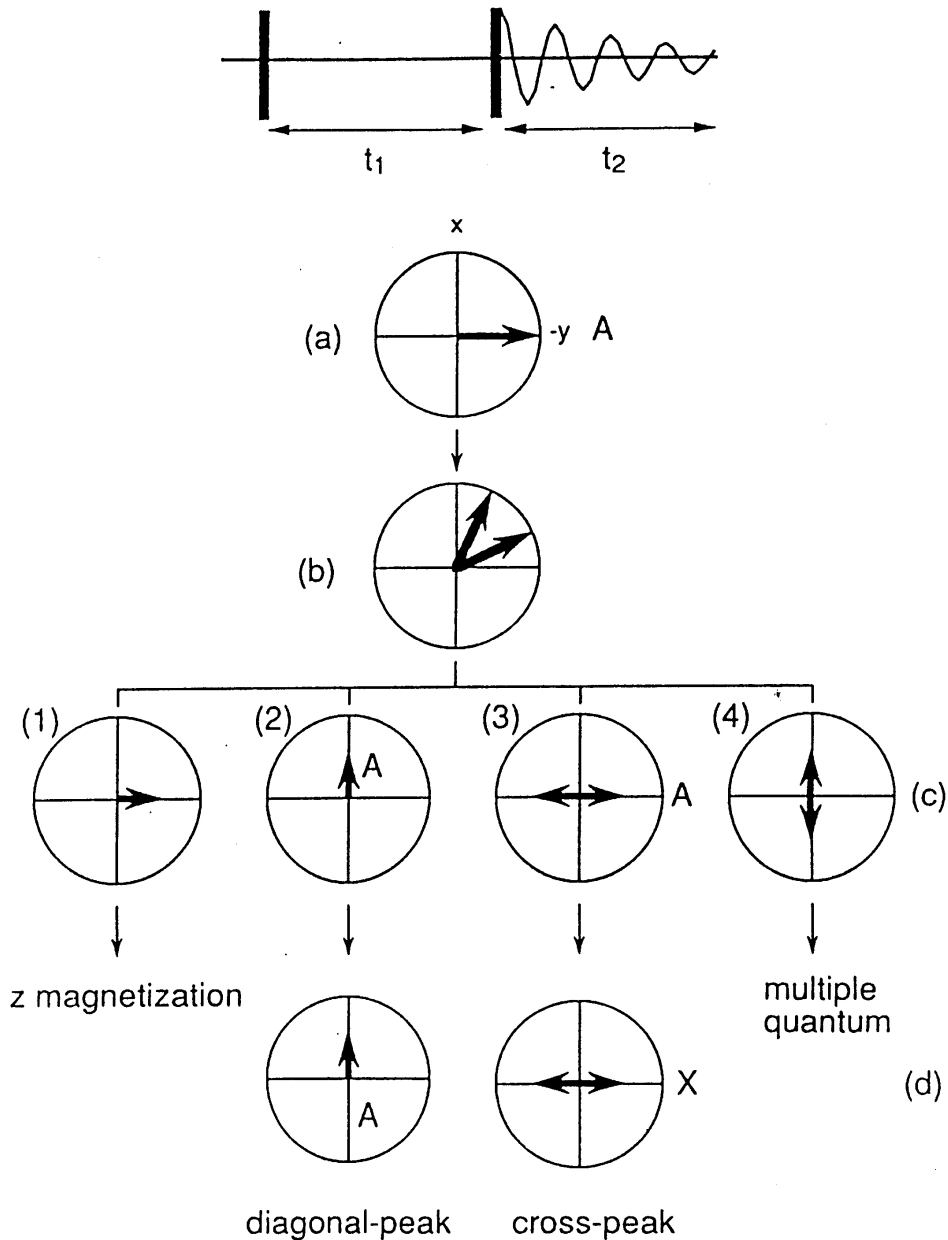
4.2.3 ábra

Az ábrán látható "mesterséges" FID minden tekintetben megfelel egy "igazinak" (amely az akvizíciós idő alatt jön létre). Ez is az érzékelt jel amplitúdójának változását írja le, de most t_1 függvényében. t_1 -et lépésenként növeljük, így a szokásos diszkrét mintavételezésnek megfelelően történik a jelek tárolása is, azzal a különbséggel, hogy itt minden pontnak egy valós (t_2) FID felel meg.

Az f_1 frekvencia-dimenzió kiválasztásánál pontosan ugyanolyan szabályok szerint kell eljárunk, mint az **1D** kísérlet esetében.

Jeener azt ismerte fel, hogy amennyiben a fenti szekvenciát egymással skaláris csatolásban lévő magokra alkalmazzuk, úgy a második impulzus hatására a meglévő mágnesezettségnek egy újraelosztása megy végbe a skaláris csatolás által összekapcsolt átmenetek között. AX spinrendszer esetén (4.2.4 ábra) és csak az A átmenetet tekintve kvantummechanika számítások alapján a következőket találjuk: az első 90° -os impulzust követő t_1 idő után az M_{xy} mágnesezettség négy komponensre bontható fel, van két komponens (1 és 2), amelyekben a két vektor (a dublett két átmenete) fázisban van, és van kettő olyan (3 és 4), amelyekben a két vektor antifázisú. A második impulzus hatására az 1-es komponensből z -irányú mágnesezettség lesz, a 4-esből pedig több-kvantum koherencia jön létre (tudjuk, hogy **mindkettő láthatatlan**⁷, nem adnak mérhető jelet). Mint az ábrán is látjuk a 2-es komponens nem változik, ez lesz a diagonálison maradó jel, a 3-as viszont a koherencia-átvitelt szenved (abban vesz részt) és a számunkra fontos keresztcsúcsokért lesz felelős.

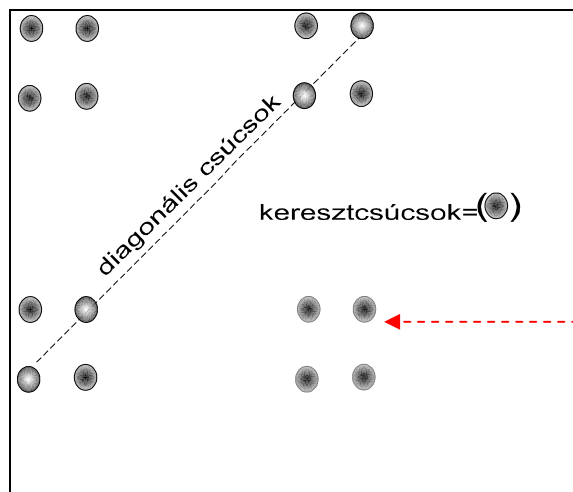
⁷ Állandó antifázisú forgó jelpárként foghatóak fel.



4.2.4 ábra. COSY 90°-90° szekvencia (CORrelation Spectroscopy). A első impulzus után a t_1 idő alatt létrejövő koherenciák és fázisviszonyaik. A spektrumot a második impulzus után létrejövő, a diagonális és a keresztcsúcsokért felelős mágnesezettségek alkotják. Az információhordozó keresztcsúcsok intenzitásának növelése a cél.

A jelenség alapja tehát a polarizáció-átvitel, amelyet részletesen tárgyaltunk heteromagok közötti esetekben (SPI, INEPT, DEPT), azonos magoknál azonban a folyamat nem értelmezhető ilyen egyszerűen. A második $\pi/2$ impulzus hatására az A_1 átmeneten meglévő mágnesezettség (lásd a 4.2.7. ábrát a fázisérzékeny COSY kísérletnél) egy része meg fog jelenni a másik három átmeneten is, módosítva (modulálva) azon átmenetek amplitúdóját. Ez azt jelenti, hogy a t_2 alatt detektált spektrumban lesznek olyan vonalak, amelyek nagysága a

t_1 alatt megjelenő jelek frekvenciájától (ez most ugyanaz a kémiai eltolódás, mint a t_2 jeleké) függően változni fog, azaz a kétdimenziós spektrumban **keresztcsúcsok** fognak megjelenni azon átmenetek között, amelyek egymással spin-spin csatolásban vannak.



4.2.5 ábra

Egy idealizált homonukleáris **AX** spinrendszer COSY spektruma. Az átfogó mentén megjelenő csúcsok (diagonal peaks) az át nem vitt polarizációból adódnak. (Az átfogón egy tökéletes **1D** spektrum látható). A **keresztcsúcsok** (off diagonal peaks) vagy az egy multipletten belüli vagy multiplettek közötti egymással csatolt átmenetek között lépnek fel. Minkét dimenzió (f_1, f_2) kémiai eltolódás.

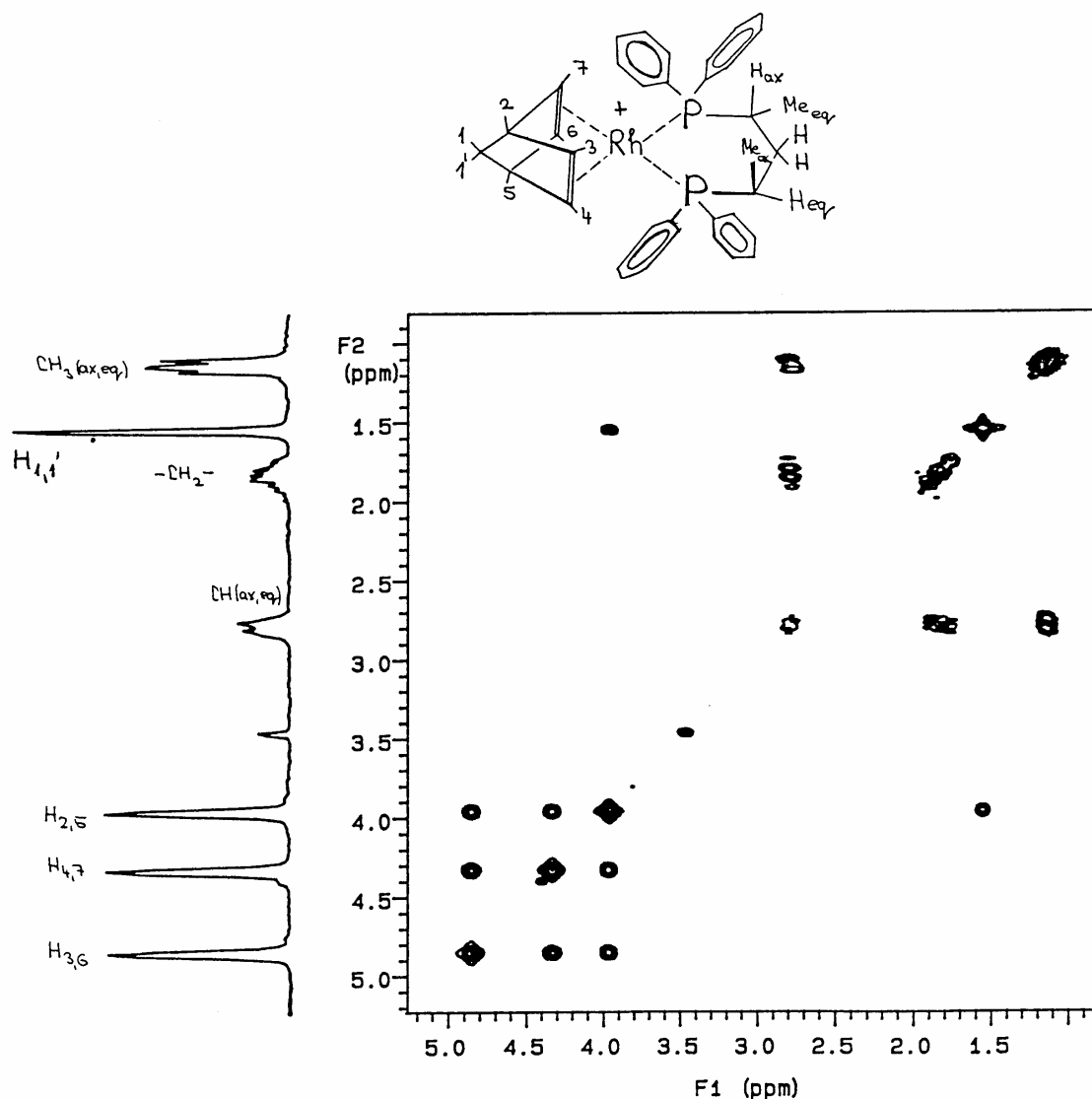
A fenti, erősen idealizált, kísérlet az alapja mindazoknak a szekvenciáknak és azok számtalan változatának, amelyeket COSY (**C**ORRELATION **S**PECTROSCOPY) összefoglaló néven szoktak emlegetni és amelyek rendkívüli fontosságúak a kémiai szerkezetkutatásban, hiszen segítségükkel igen zsúfolt spektrumokban is azonosíthatók az egy spinrendszerhez tartozó magok.

4.2.2 A COSY kísérlet alkalmazásai: annak hangsúlyozásával, hogy a korrelációk bármilyen csatolt azonos magpárra hasonló módon nyerhetők (pl. P...P, F...F, stb.) a bemutatandó példa (a 3. fejezetből ismert Rh komplex) a leggyakoribb esetre, a proton-proton korrelációra vonatkozik. Ennek segítségével ismertetjük a COSY spektrumok két alapvető változatát, nevezetesen az **abszolút érték** és a **fázis érzékeny formát**.

Mielőtt ezt megtennénk, vizsgáljuk meg részletesebben a 4.2.6. ábrán lévő spektrumot illetve proton-proton korrelációs térképet (ez egyben példa az abszolútérték spektrumra). Ezeket a térképeket a könnyebb érthetőség kedvéért általában szint-diagram ("contour map")

formájában adják meg, bár létezik egy látványosabb perspektivikus forma ("stacked plot") is, de az nem eléggé áttekinthető. A vegyület már ismert, a hozzárendelések (az aromás protonok kivételével) az f_2 vetületen megtalálhatók. Mindenképpen célszerű az **1D** spektrum előzetes elkészítése és a lehetséges vagy feltételezhető hozzárendelések elvégzése. Esetünkben az **1D** spektrum alapján megállapítható volt, hogy a feltételezett szerkezetnek megfelelő protonok jelen vannak a várt kémiai eltolódás tartományban, de nem lehetséges pl. a kétprotonos jelek hozzárendelése vagy a $H_{1,1'}$ jel egyértelmű kijelölése sem a várhatóan kis csatolási állandók miatt.

Minden **2D** spektrum értelmezésekor a legfontosabb egy olyan biztos kiindulási pontot találni, ahonnan elindulva a keresztcsúcsok alapján a többi jel hozzárendelhető. Két ilyen jel is van az **1D** spektrumban, az egyik a metilprotonoké (1,13 ppm), amelyet helye alapján mással nem keverhetünk össze, ez csak egy keresztcsúcsot mutat, mégpedig a 2.8 ppm nél lévő kétprotonos jellel (amelyet a helye alapján a biszfoszfin metin csoportjaihoz rendelnénk, bár megjegyzendő, hogy fémorganikus vegyületek esetében óvatosan kell bánni a szokványos szerves vegyületek alapján nyert tapasztalatok alkalmazásával). Kétségeinket azonban eloszlatja az a tény, hogy ez a jel viszont keresztcsúcsot mutat az 1,8 ppm -nél lévő multiplettel is, így egyértelmű, hogy ez utóbbi rendelhető a metilénprotonokhoz. A másik biztos pont lehet a 4,85 ppm-nél lévő multiplett, amely a feltételezett szerkezet alapján minden bizonnyal a másik ligandum, a norbornadién telítetlen szénatomjaihoz kötött protonpárok valamelyike. Ez keresztcsúcsot mutat mind a 4,36 mind a 4,0 ppm -nél jelentkező kétprotonos jelekkel, de mivel az utóbbi nemcsak az előbbi kettővel, hanem az 1,5 ppm-nél lévő kissé széles szingulettel is korrelációt mutat, nyilvánvalóan a 4 ppm-nél lévő jel rendelhető a $H_{2,5}$, az 1,5 ppm-nél lévő pedig a $H_{1,1'}$ protonokhoz. Az olefinos protonok párosítása továbbra is bizonytalan és az is marad, amíg nem tudunk pl. a fenilcsoportok egyes protonjai és ezek között térbeli korrelációt kimutatni. A két spinrendszer között nincs kapcsolat, ami nem is várható (a legközelebbi protonokat is öt kötés választja el egymástól és a ligandumok esetében a cserefolyamatok lehetőségével is számolni kell). A csatolási állandók nagyságáról nem tudunk semmit, bár annyi érzékelhető a spektrum alapján, hogy a nagyobb csatolások erősebb keresztcsúcsokat eredményeznek.



4.2.6 ábra Rh(I)-norbornadién-biszfoszfin komplex, abszolútérték ^1H - ^1H COSY spektrum kloroformban 20 °C-on felvéve, mérési idő 50 perc, memóriagény 0,5 MByte. **f₂ dimenzió:** proton kémiai eltolódás, $\text{sw}_2=3000$ Hz, akvizíciós idő=0.211 s, adatpontok száma:1024, súlyzófüggvény: sine-bell 0,106 sec, Fourier-transzformált pontok száma: 1024, **f₁ dimenzió:** proton kémiai eltolódás, $\text{sw}_1=3000$ Hz, akvizíciós idő = $1/\text{sw} * \text{ni} = 0,085$ s, adatpontok száma, ni: 256, felbontás 11,7 Hz, súlyzófüggvény: sine-bell 0,053 sec, Fourier-transzformált pontok száma: 1024, oldalt: az **f₂** vetület, egydimenziós spektrum az **at₂** által meghatározott felbontással.

*Megjegyzendő, hogy az **1D** spektrum vonalainak egymás utáni szelektív telítésével ugyanezen információk és a keresett csatolási állandók birtokába jutottunk volna, bár kétségtelen lényegesen hosszabb idő alatt, több fáradtsággal és mintegy tízszeres mennyiségű papír felhasználásával (amit aztán évtizedekig tárolni szokás). Ezzel szemben egy ilyen felbontású COSY spektrum 2-5 mg anyagból kb. 10-20 perc alatt készíthető és egyetlen A4-es papíron elfér⁸.*

Visszatérve az abszolútérték és a fázisérzékeny spektrumok általános kérdéseire, azt szeretném hangsúlyozni, hogy a két forma eltérő információtartalmú, a köztük való választás mindig a feladat jellegétől függ.

Amennyiben egymással átfedő spinrendszerek azonosítása szükséges (tehát elsősorban nem a csatolási állandók nagyságára, hanem csak meglétére vagyunk kíváncsiak) akkor az abszolút érték spektrumot célszerű felvenni, mert ez rövidebb idő alatt és kevesebb számítógépmemória igényvel (eddig nem említettük a kérdés ilyen vetületét, de a **2D** spektrumok esetén ez is fontos szemponttá válhat) oldja meg a feladatot.

Abszolútérték COSY: míg egy szokványos **1D** spektrumban általában az összes jel azonos fázisú vagy legalábbis azonos fázisúvá tehető, addig a polarizáció-átvitellel készült spektrumokban, mint láttuk a heteronukleáris esetben, antifázisú jelek jönnek létre egy multipletten belül. Mint általában mindennek, ennek is megvan az előnye is, meg a hátránya is. A jelek fázisérzékenysége egyszerűen megszüntethető az ún. "magnitude" spektrum kiszámolásával az alábbi képlet szerint az akvizíció során tárolt imaginárius (imag) és valós (real) FID-ekből.

$$M(\text{agnitude}) = \sqrt{\text{Real}^2 + \text{Imag}^2}$$

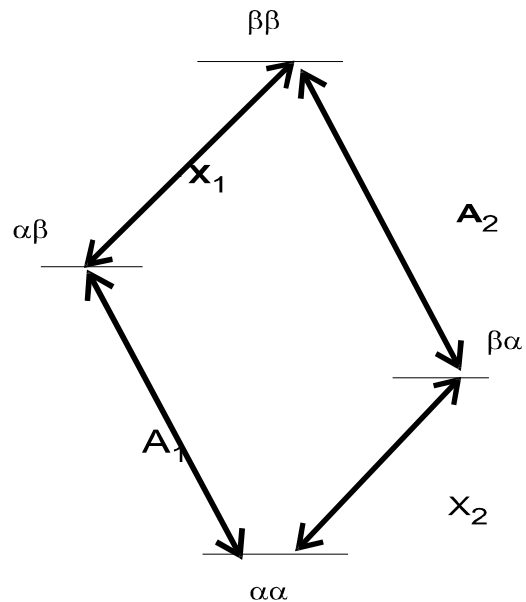
A kapott jelek **fázisfüggetlenek** lesznek, azzal a kis szépséghibával, hogy nagyon szélesek az alapvonal közelében (azaz nem a szokásos Lorentz eloszlást követő a formájuk). Ez a kétdimenziós színtvonalterképen (lásd a 4.2.4. ábrát) a metszetek csillagalakú kiszélesedésében jelentkezik, ez különösen a diagonálison lévő csúcsokra jellemző, mert ezek általában nagyobb intenzitásúak. A sávokat azonban karcsúsítani lehet megfelelő

⁸ A papírfogyasztással kapcsolatos korábbi (1994) megjegyzés kicsit veszített éléből a mágneses adathordozók gyors elterjedésével (2003. február 10).

súlyzófüggvények alkalmazásával pontosan úgy, mint az **1D** spektrumok esetében, az abszolútérték spektrumok esetében az ún. sine-bell függvények használata a szokásos, mivel ezek éppen a nem kívánatos szélesedéseket csökkentik.

Fázisérzékeny COSY: mint már említettük a polarizáció-átvitel bizonyos átmenetek (jelek) fázisának (de nem az összesnek) megváltozását vonja maga után. A dolog részleteinek ismertetése nélkül csak azokra a szabályokra térnénk ki, amelyek a fázisérzékeny spektrumok jeleinek

4.2.7 ábra Egy **AX** spinrendszer energiaszintjei és átmenetei :
(**A₁**,**A₂** párhuzamos, **A₁**,**X₁** összekötött, **A₁**,**X₁** progresszív, **A₁****X₂** regresszív)



értelmezéséhez fontosak. Az egy multipletten belüli átmeneteket (pl. **A₁** és **A₂**) párhuzamos átmeneteknek, a többieket **összekötött** átmeneteknek nevezzük. Ez utóbbiakon belül beszélünk *progresszíven* (**A₁**, **X₁**) és *regresszíven* (**A₁**, **X₂**) összekötött átmenetekről.

Az a mágnesezettség, amely az eredeti helyén maradt vagy párhuzamos átmenetek között mozgott megtartja az eredeti fázisát. Ezzel szemben a *progresszíven* összekötött átmenetek közötti polarizáció-átvitel a jel fázisának -90 fokos, *regresszív* átmenetek közötti pedig +90 fokos változását idézi elő. Ez azt jelenti, hogy egy fázisérzékeny spektrumban a diagonálison és annak közelében lévő jelek (miután ezek a "nem-átvitt" mágnesezettségből és a multipletteken belüli párhuzamos átmenetekből adódnak) fázisa 90 fokkal el fog térni a keresztcsúcsok fázisától (mivel ezek viszont az összekötött átmenetek közötti átvitelből származnak). Magyarán, nem lehetséges az egész spektrumot azonos fázisúvá állítani, vagy a diagonálison lévő jelek lesznek diszperziósak és a keresztcsúcsok abszorpciósak vagy fordítva a keresztcsúcsok diszperziósak és a diagonális csúcsok abszorpciósak. Általában az előbbi megoldást választjuk, mivel számunkra a keresztcsúcsok az információhordozók. Ami a keresztcsúcsokon belüli multiplettek vonalait illeti, azok 180 fokkal fognak egymástól különbözni, ha progresszíven illetve regresszíven összekötött átmenetekből származnak (mert az egyik +90 a másik -90 fokkal tér el a diszperziós diagonális jelektől). A jelek eltérő fázisa

egyrészt hasznos információ tartalommal bír (lásd később), másrészt zavaró is lehet mert az átfedő pozitív és negatív csúcsok törölhetik egymást. Példavegyületünk fázisérzékeny COSY spektrumát a 4.2.8. ábrán mutatjuk be. A kinagyított részen jól látható, hogy a keresztes csúcsoknak most finomszerkezete van, amelyből a magok közötti csatolási állandók értéke is meghatározható.

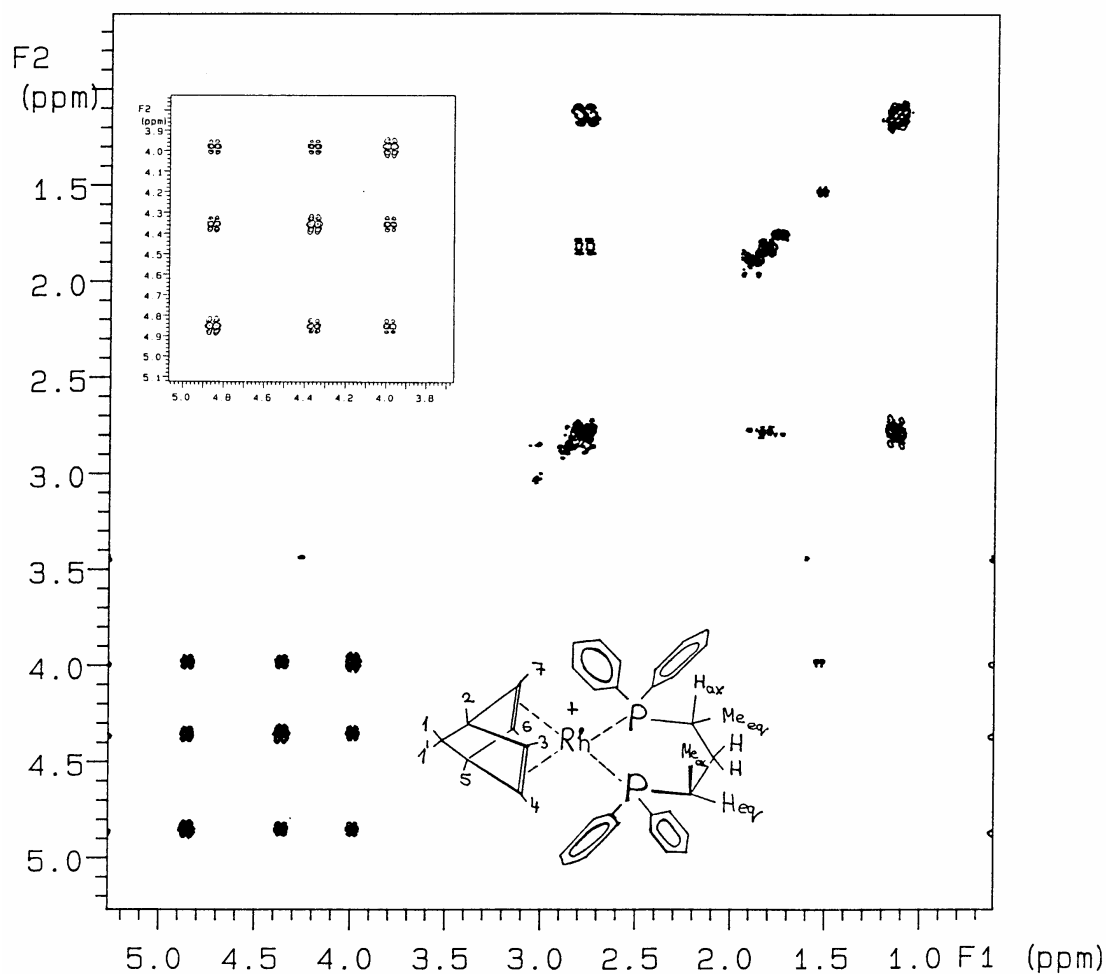
A COSY kísérlet fontosabb részletei: csak néhány kérdésre térünk ki, amelyek azonban alapvetően befolyásolhatják a kapott eredményt.

A spin-rács relaxáció, T_1 figyelembevétele: mindeddig elhanyagoltuk a T_1 folyamat hatását a spektrumra, azonban ezzel komolyan számolni kell, mert a t_1 idő alatt az első impulzus hatására az x - y síkba fordított M_0 vektorból a természetes relaxáció következtében létrejön egy z irányú komponens is. A második impulzus ezt az xy síkba fordítja és ezzel láthatóvá teszi a mérőtekerés számára. Mivel ez a komponens nem precesszált t_1 alatt nem modulálódott ν_1 szerint, ezért a $\nu_1 = 0$ frekvenciánál (az f_1 dimenzió közepén ν_2 -vel párhuzamosan) létrejön egy spektrum, amely az igazinak hű mása, persze gyengébb intenzitású, hiszen általában igaz, hogy $t_1 \ll T_1$.

A már említett fázisléptetés segítségével megszabadulhatunk ezektől az "axiálisnak" nevezett csúcsoktól, minden második "második" impulzus fázisának 180 fokkal történő elfordítása, vagy érthetőbben a második impulzus fázisának állandó, 180 fokkal történő léptetése a nem kívánatos z komponens törléséhez vezet.

Kvadratúr detektálás a t_1 dimenzióban: a kvadratúr detektálás előnyei, nevezetesen a hordozótól jobbra és balra eső jelek megkülönböztethetősége, a felére csökkentett spektrális ablak (a hordozó mindig a spektrum közepén van) és az ezzel arányosan csökkent "off resonance" hatás, a t_1 dimenzióban is jól jönne, azonban természetesen itt nincs lehetőség az ehhez szükséges két vetület egyidejű detektálására.

A probléma azonban megoldható, például két spektrum egymás utáni felvételével oly módon, hogy a második spektrumot a második impulzus -90 fokos fáziscsúsztatásával vesszük fel. Ez fogja a t_1 dimenzió imaginárius részét képezni. A dolog gyakorlati megvalósítása egy 16 lépésből álló fázisciklust igényel, ami lényegesen megnöveli az időigényt, amely már egyébként is tetemes a két spektrum felvétele miatt.



4.2.8 ábra (a) A Rh(I) komplex fázisérzékeny kétkvantumszűrésű* COSY spektruma kloroformban 20 °C-on felvéve. Mérési idő 1 óra 23 perc, memóriaigény 0,5 MByte. $at_2=0,36$ s, $at_1=ni*1/sw=0,09$ s, inkrementumok száma, $ni=2*128$, $sw_2=sw_1=1397$ Hz, súlyzófüggvény (1)=gauss 0,084 s, súlyzófüggvény (2)=gauss 0,169 s, Fourier pontok száma=1024 mindkét dimenzióban, felbontás 2,77 Hz f_2 -ben és 11,1 Hz f_1 -ben, **(b)** az olefines proton tartomány kinagyítása, * lásd később!

Digitális felbontás és akvizíciós idők: alapvetően a kísérlet célja szabja meg a szükséges értékeket. Leggyakrabban a lehető legrövidebb idő alatt, a lehető legkisebb csatolási állandók által létrehozott keresztcsúcsokat is látni kívánjuk, a kérdés az, hogy meddig mehetünk el az akvizíciós idők és a relaxációs szünet csökkentésében anélkül, hogy ez lényeges információ vagy érzékenységvesztéssel járjon. Ebből a szempontból az alábbi paraméterek értékei a meghatározók.

Akvizíciós idő, at_2 a valós FID-en: javasolt értéke kb. T_2^{*9} -vel azonos, kivéve ha nagyon kis csatolásokat akarunk érzékelni.

Akvizíciós idő, at_1 a mesterséges FID-en: nagysága a döntő az egész kísérlet idő és memóriaigényét illetően. Értékét az egy adatpont méréséhez szükséges idő (sampling time) és a t_1 dimenzióban végzett kísérletek számának (number of increments¹⁰, **ni**, de más néven is szerepelhet a készülékgyártóktól függően) szorzata adja meg.

Az adatpontok száma: $N=2 \cdot \text{spektrális ablak} \cdot \text{akvizíciós idő}$, végül a digitális felbontás: a spektrális ablak kétszeresének és az adatpontok számának hányadosa.

Nézzünk egy példát a COSY kísérlet idejére vonatkozóan. A szokásos 10 ppm-es tartomány 3000 Hz-nek felel meg egy 300 MHz-es mágnes esetén, A Nyquist feltétel szerint a mintavételezési idő (kvadratúr detektálás esetén) $1/3000 = 0,33$ ms. Ha 1 Hz-es felbontást akarnánk elérni az f_1 dimenzióban, akkor 1 másodpercig kellene mérnünk a jelet, ez $1000/0,33 = 3033$ f_2 spektrum felvételét jelentené egymás után. Négy gerjesztéssel, 1 Hz -es felbontással ($at_2=1$ s) és 2 másodperces relaxációs szünettel számolva egy spektrum felvételi ideje kb. 12 másodperc, ennek alapján a teljes COSY kísérlethez több mint tíz óra kellene. Ez rettenetesen sok, ötödörösztnyi idő alatt el lehet végezni olyan számú szelektív lecsatolási kísérletet, amelyek a kívánt adatokat szolgáltatnák. Valójában azonban egyrészt egy keresztcsúcs detektálásához bőven elegendő 10 Hz körüli felbontás is az f_1 dimenzióban, másrészt általában a vizsgált tartomány lényegesen kisebb, mint 10 ppm ezért többnyire már 20-30 perc alatt készíthető egy megfelelő COSY spektrum és ez már lényegesebb kevesebb, mint a közel azonos eredményt szolgáltató 1D spektrumokhoz szükséges idő.

Csatolási állandók meghatározása: amennyiben legalább az egyik dimenzióban (ez általában a valós FID-en alapuló f_2) elegendő a digitális felbontás, úgy a keresett csatolási állandók egyszerűen leolvashatók. A fázisérzékeny spektrumok ellentétes fázisú multipllettjeiből a sáv félérték-szélességnél kisebb csatolások is kiolvashatók, bár az ellentétes fázisú jelek részleges kioltódása miatt a pontosság nem mindig megfelelő.

Eltűnő keresztcsúcsok: míg keresztcsúcs megjelenése két mag jele között elegendő bizonyíték arra, hogy köztük skaláris spin spin csatolás van, a keresztcsúcs hiánya önmagában még nem jelenti a csatolás hiányát is. Először is gyakran csak arról van szó, hogy a csúcs kisebb a

⁹ Az inhomogenitásból adódó taggal növelt T_2 érték.

választott szintkülönbéletnél. Ennek több oka is lehet, természetesen a csatolás nagysága a legfontosabb, ez befolyásolja egyrészt a fázisérzékeny spektrumokban a jelek kioltását, másrészt az átvitt mágnesezettség is ezzel arányos az alábbi kifejezés szerint,

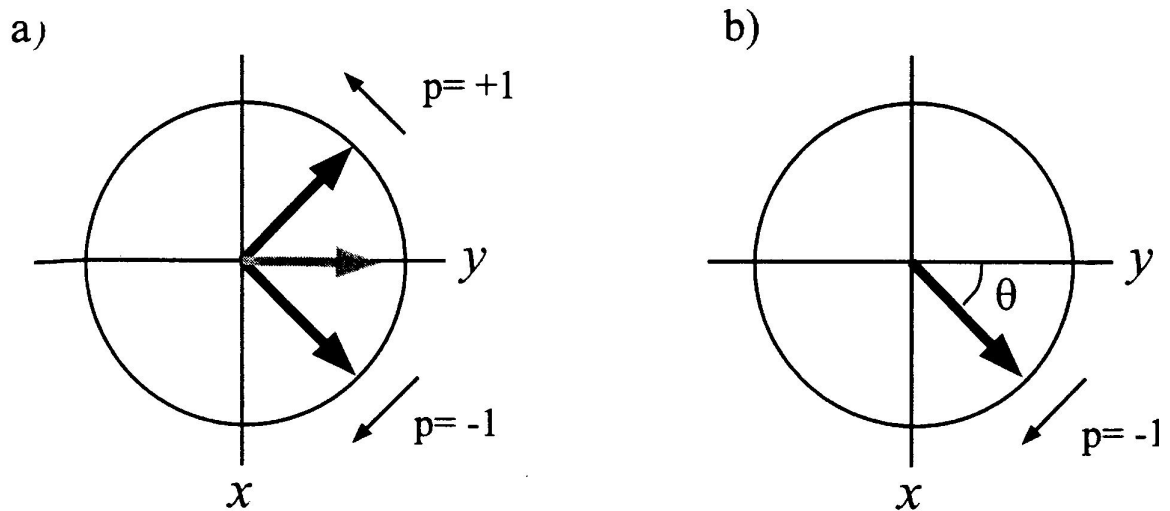
$$\text{az átvitt mágnesezettség (polarizáció) intenzitása} \sim e^{\frac{-t_1}{T_2}} \sin \pi J t_1$$

Nagyon kis csatolások esetén tehát a jelerősséget jelentősen gyengíti a T_2 relaxáció. A választott súlyzófüggvény is gyakran oka bizonyos keresztcsúcsok eltűnésének, ha azok szélessége erősen eltér, különösen az abszolútérték spektrumok esetén, Ugyanis egy szélesebb jel intenzitáscsökkenése lényegesen nagyobb lehet, mint egy élesé. (Ezért az OH és NH sávok a leggyakoribb áldozatai a túlzott karcúsításnak). Az eltérő T_1 relaxáció is okozhat ilyen problémákat, de ez lényegesen kevésbé gyakori.

A zaj és csökkentése (szimmetrizálás): a szokásos elektromos zaj mellett megjelenik egy más természetű zaj is, az ún. t_1 zaj (azért kapta ezt a nevet, mert az f_1 dimenzióban jelentkezik, különösen az erős diagonális csúcsok mentén). A hosszabb idő alatt felépülő, a mágnes stabilitását befolyásoló tényezők, pl. hőmérséklet eltolódás, rezgések, stb., eredményezik. A szimmetrizálás (ez egy tisztán szoftver trükk, amellyel a diagonálisra szimmetrikus keresztcsúcsok kivételével a többi zaj kitörölhető illetve átlagolható) a leggyakrabban alkalmazott gyógyszer a t_1 zaj ellen, azonban automatikus alkalmazása nem javallott, mert az erős t_1 zajjal terhelt diagonális csúcsok között könnyen "mesterséges" keresztcsúcsokat hoz létre.

4.2.3 COSY változatok: az alapkísérletnek ma már számos változata ismert, ezekre csak rendkívül röviden térünk ki.

COSY 90°-45°: a második impulzus hosszának csökkentése vagy növelése megváltoztatja a keresztcsúcsok és a diagonálison vagy annak közelében lévő csúcsok relatív nagyságát. Amennyiben az impulzus hossza 45 fokos eltérésnek felel meg (innen az elnevezés) a direkt (progresszíven) összekötött és az indirekt (regresszíven) összekötött átmenetek intenzitásainak aránya kb. hat lesz. Csökken a multiplettek belüli polarizáció-átvitel és ezáltal csökken az észlelt keresztcsúcsok száma is, továbbá lehetővé válik a csatolási állandók relatív előjelének meghatározása is. Hátránya a COSY 90°-90°-hez képest kisebb érzékenysége és az a tény, hogy nem alkalmazható fázisérzékeny módban, mivel ezek a jelek nem tiszta amplitúdó-modulációt érzékelnek.



4.2.9 ábra. Az amplitúdó- és fázis-modulációk összehasonlítása: az amplitúdó moduláció (a) a t_1 idő alatt két egymással szemben forgó vektort igényel ($p = \pm 1$ koherenciák) fázismoduláció (b) jön létre, ha csak egy vektor ($p = 1$ vagy -1) forog miközben a szög változik.

Kis csatolási állandók által keltett keresztcsúcsok észlelése: késleltetett (delayed) COSY. Elvileg a vonalszélességnél lényegesen kisebb csatolások is adnak keresztcsúcsokat, bár jóval kisebb erősségűeket (0,1-0,5 Hz-es csatolási állandóknak megfelelő 4-5 kötéses korrelációk is megjelennek, ezek az **1D** spektrumban már nem észlelhetők). Mint láttuk a csúcsok eltűnésének okainál, az egyik tényező, amit figyelembe kell venni a polarizáció-átvitel és a T_2 relaxáció egymással versengő természete, a keresztcsúcs nagysága a $t_{opt} = 1/\pi J \cdot \tan(\pi J T_2)^{-1}$ időpontban a legnagyobb, kis csatolásokra (ahol $J T_2 \ll 1$) ez az idő kb. T_2 nek felel meg. Figyelembe véve az alkalmazandó súlyzófüggvények természetét is, ez minimálisan $2T_2$ -nyi akvizíciós időt követel meg mindkét dimenzióban. Ami viszont általában túlságosan megnövelné a felvétel idejét és memóriaigényét, ezért egy rögzített Δ szünetet iktatnak be mindkét akvizíciós időbe, ez ugyan nem csökkenti lényegesen a felvételhez szükséges időt, de a szükséges adatpontok számát sem növeli. Δ szokásos értéke az átlagos proton T_2 relaxációs időket (0,2 - 0,6s) figyelembe véve 0,1 - 0,5 másodperc között van.

Továbbított koherencia-átvitel (Relayed Coherence Transfer, RCT): néha szükséges volna az egymással nem, de egy közös partnerrel csatoló magok közötti kapcsolat igazolása, megteremtése, ezeken keresztül például lehetségessé válna bonyolult aromás rendszerek vagy egy hosszú lineáris lánc atomjainak azonosítása is.

Az RCT-nek rövidített kísérletben a második impulzus által a többi csatoló magra átvitt polarizációt (pl. egy AMX spinrendszer esetén (ahol $J_{AX}=0$ Hz) az A-ról az M-re átvitt) egy harmadik $\pi/2$ impulzus továbbviszi azokra a magokra (esetünkben X -re), amelyek ezekkel vannak skaláris csatolásban. Ehhez egy, a csatolási állandók értékétől függő, rögzített idő beiktatása is szükséges a második impulzus után. A szekvencia tehát az alábbi:

$$\left(\frac{\pi}{2}\right) - t_1 - \left(\frac{\pi}{2}\right) - \tau - \pi - \tau - \left(\frac{\pi}{2}\right) - t_2$$

(A τ szakasz felénél alkalmazott π impulzus a kémiai eltolódás hatását küszöböli ki a 2τ időszak alatt.)

Az A magról az M magon keresztül az X -re továbbított mágneszettség az alábbi kifejezéssel arányos,

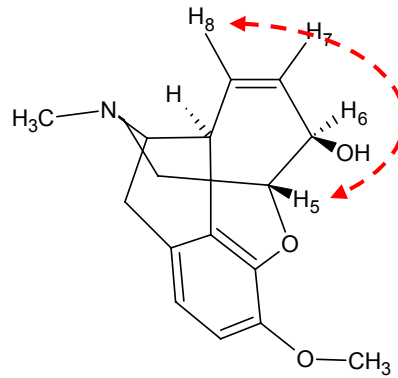
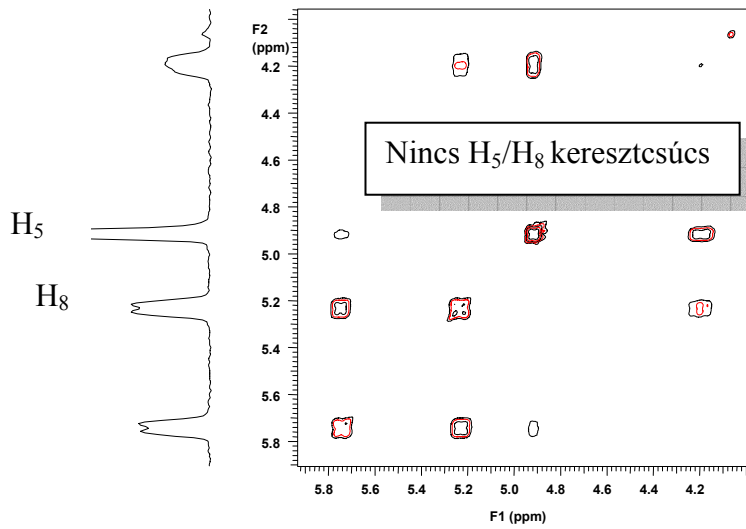
$$\sin 2\pi J_{AM}\tau \sin 2\pi J_{MX}\tau \text{ ahol } J_{AM} \text{ és } J_{MX} \text{ a megfelelő csatolási állandók.}$$

Amiből kiszámítható, hogy pl. egy szokásos vicinális csatolás (kb. 7 Hz) esetén a legkedvezőbb τ érték 70 ezredmásodperc körül van. A szinuszos moduláció azt jelenti, hogy az átvitel periódusosan nullává is válik.

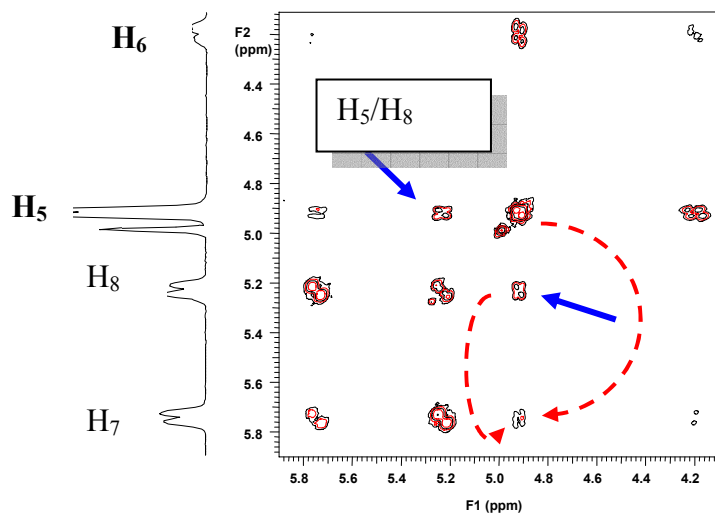
Miután a kísérlet némi előzetes ismereteket igényel a feltételezett spinrendszerrel és csatolási állandókkal kapcsolatban, célszerű egy normál COSY kísérlet kiegészítőjeként alkalmazni.

A bemutatott példa (4.2.10 ábra) a kodein. A telítetlen gyűrű π -rendszere hatékonyan továbbítja a skaláris csatolásokat, ezért a H₅ és H₇ protonok közötti négykötéses csatolás jól látható keresztcsúcsot ad (4.2.10a ábra), de az ötkötéses csatolás a H₅ és H₈ protonok között csak az egyszerűen továbbított polarizációjú COSY felvételen látszik (4.2.10b ábra).

(a)



(b)



4.2.10 ábra (a) kodein szokványos abszolútérték COSY spektruma (részlet), CDCl₃-ban felvéve, **sw=sw1=2054 Hz**, **at₂=0,3s** **at₁=0,084s**, impulzusszünet = 3s, **fn = fn1= 1k**, **ni=512**, **nt=8**, (b) kodein továbbított (relayed) abszolútérték COSY, **tau(τ)= 40 msec**, n=1 (egyszeres továbbítás), a többi paraméter azonos.

Több-kvantum szűrésű fázisérzékeny COSY: ha elegendő idő és memória áll rendelkezésünkre, akkor feltétlen ezt a szekvenciát használjuk, mert a spektrum lényeges egyszerűsödését eredményezi. Lehetőségünk van a második impulzus után létrejött "láthatatlan" két-, három-, stb., - kvantumos koherenciákat "láthatóvá" tenni, azaz visszafordítani az **x-y** síkba az alábbi szekvencia segítségével.

$$\left(\frac{\pi}{2}\right)_{\phi} - t_1 - \left(\frac{\pi}{2}\right)_{\phi} \left(\frac{\pi}{2}\right)_x - t_2$$

A második 90 fokos impulzus után közvetlenül alkalmazott harmadik impulzus végzi el ezt a feladatot. Lehetséges továbbá, egy fázisléptetési ciklus beiktatásával, kiválasztani pl. kétkvantumos vagy a háromkvantumos átmeneteket eltérő fáziscúszásuk alapján. Ezt a eljárást hívják több-kvantum szűrésnek. A gyakorlatban ez azt jelenti, hogy pl. egy kétkvantumszűrésnek (DQF) alávetett spektrumban nem fognak megjelenni az egykvantumos átmeneteknek megfelelő vonalak (a szingulették). (Valójában semmi szükség ezekre, hiszen az összes COSY felvétel célja az egymással csatoló magok hálózatának felderítése.) Ennek megfelelően egy három-kvantumszűrésű kísérletből a kétkvantumos átmenetek vonalai (az AB és AX rendszerek) fognak hiányozni. Nem nehéz belátni ezek után az eljárás gyakorlati hasznát. De ez még nem minden, eltérően a "sima" fázisérzékeny COSY-tól, itt lehetséges az összes csúcs abszorpciós fázisba állítása (lásd a 4.2.8. ábra kinagyított részét, ahol mind a diagonális mind a keresztcsúcsok abszorpciósak).

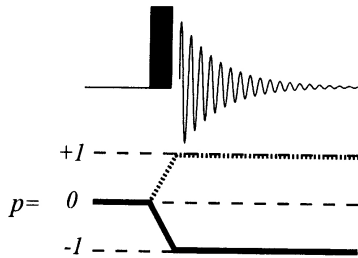
Ami a DQF mérés érzékenységét illeti, ez elméletileg ugyan csak fele "simáéna", azonban a valóságban gyakran jobb is annál, ugyanis az intenzív szingulett vonalak kiesésével kiesik a **t₁** zaj fő forrása is, ezáltal alacsonyabb szintküszöb esetén is "tisztább" spektrumot kapunk.

4.2.4 Hagyományos vs. *térgradiens-impulzust* használó szekvenciák (gradiens spektroszkópia, PFG)

Az utóbbi tíz év legfontosabbnak ítélt fejlesztési eredménye a térgradiens-impulzust alkalmazó eljárások elterjedése a nagyfelbontású NMR spektroszkópiában is. Alapjainak megértéséhez azonban szükséges néhány fogalom tisztázása.

A koherencia és a koherencia-átvitel jelenségei: egy impulzus csak egykvantumos koherenciákat képes gerjeszteni ($p = +/- 1$). Ezek közül csak az egyiket használjuk a kvadratúr detektálás során. Koherencia-szint diagrammok segítségével (lásd 4.2.11 ábrát) követhetőek

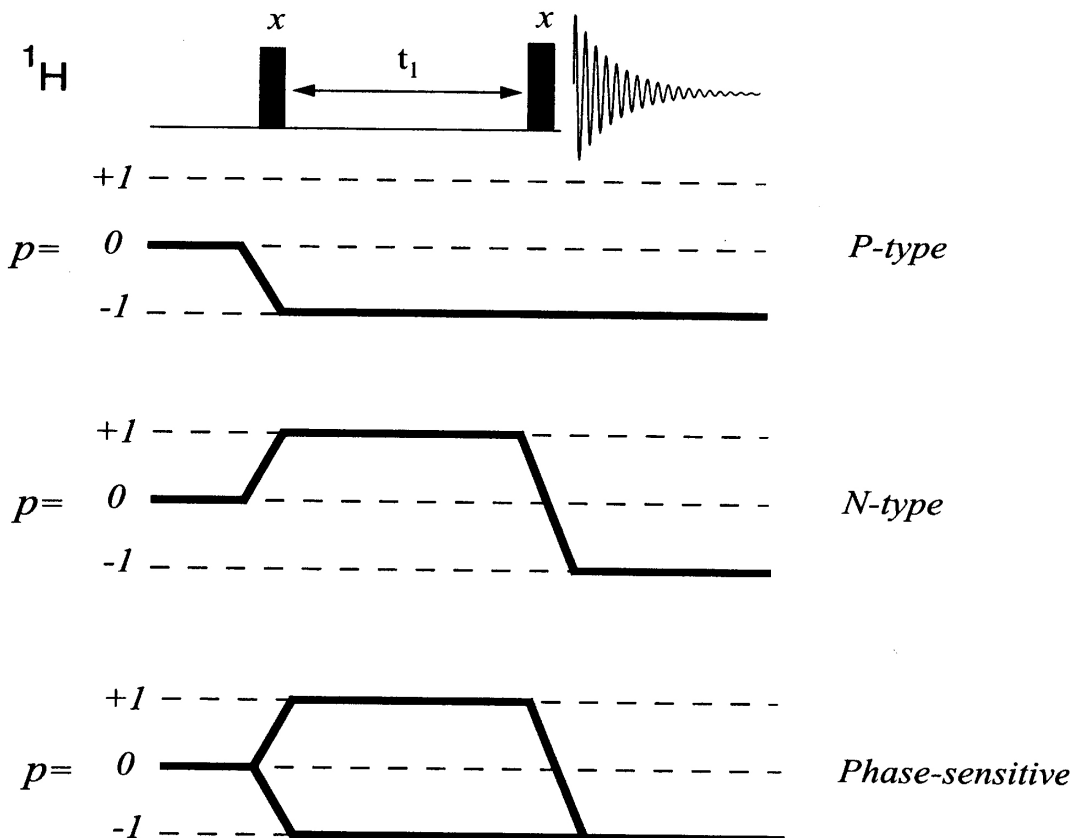
az impulzusok által létrehozott mágnesszettségek (csak rf impulzusokkal tudunk a koherencia kvantumszintjén változtatni), amelyek közül vagy fázisléptetéssel vagy **térgradiens-** impulzusokkal tudjuk a számunkra fontos mágnesszettséget kiválasztani, a többieket elnyomni.



4.2.11 ábra

Egydimenziós kísérlet, koherencia-szint diagram. A kvadratúr detekció során rendszerint a **-1**-es **p** szintet (állapotot) választják ki a mérés céljaira. A szaggatott vonallal jelzett mágnesszettséget nem használják.

Az abszolútérték (P vagy N) és a fázisérzékeny COSY kísérletek koherencia-szint változásait mutatjuk be a következő ábrán.



4.2.12 ábra Egy kétdimenziós kísérlet (abszolútérték és fázisérzékeny COSY változatok) koherencia-szint diagramjai.

A kvadratúr detekció során rendszerint a -1 -es kvantumállapotot választják ki a mérés céljaira, de ez nem szükségszerű. A különbség a P és az N típusú kísérletek között csak az egykvantumos koherenciák relatív forgási irányában van a t_1 és t_2 időtartamok alatt. Mivel t_2 alatt mindenképpen a -1 –es szinten lévő mágnesezettséget mérjük, a t_1 alatti -1 választása eredményezi a P (pozitív) típusú jelet, a $+1$ –es pedig az N (negatív) típusút.

Ezzel szemben a fázisérzékeny változat esetében mindkét komponensre szükség van, ugyanis csak akkor kapunk tiszta fázisú jeleket t_2 alatt, ha a jelek t_1 alatt amplitudó-modulációt szenvednek (lásd fent).

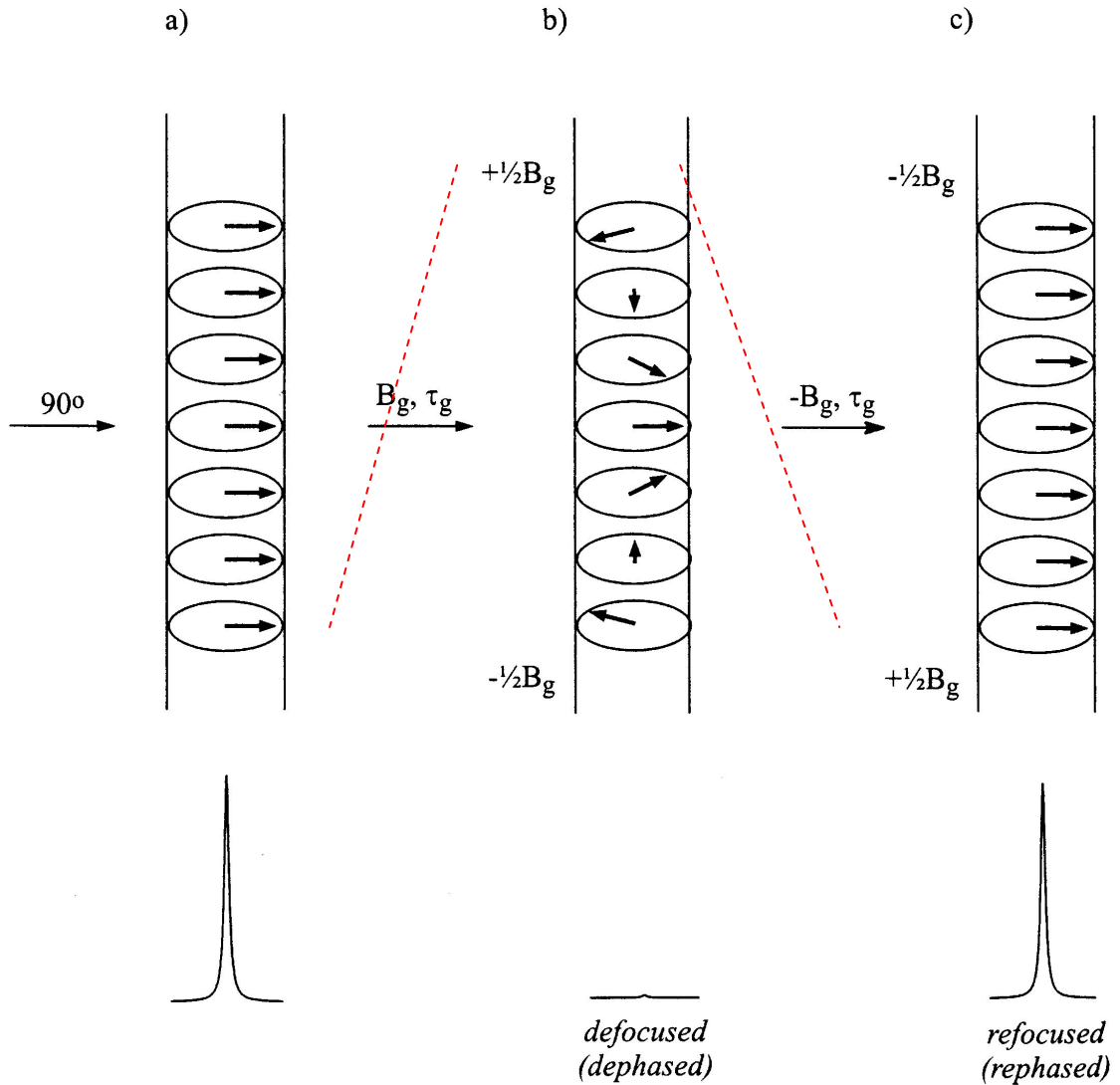
Az adatfeldolgozás folyamán azonban csak az egyikre lesz szükség, a megfelelő mágnesezettség kiválasztásában segítenek a **térgradiens-impulzust** használó eljárások.

Térgradiens-spektroszkópia vagy **gradiens-spektroszkópia, PFG**

Ezek az eljárások mentesek a fázisciklusok hátrányaitól (a szekvencia sokszori, esetleg felesleges ismétlése, a differencia spektroszkópia összes ismert problémája, stb.), mert a mérés során csak a kívánt mágnesezettséget detektálják.

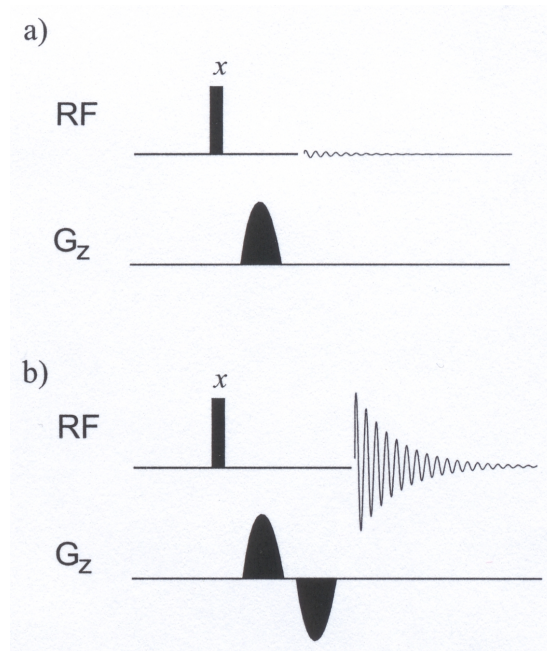
Eddigi ismereteink szerint a mérés előtt célszerű minden tér-inhomogenitástól megszabadulni, hogy az összes mag azonos teret érzékeljen, most viszont éppen ennek ellenkezőjét tesszük. Egy lineáris z irányú térgradienssel (impulzusszerűen állítva elő) elérhetjük azt, hogy minden mag a z tengely szerinti helyzetének megfelelően eltérő teret érzékeljen. A rezonancia frekvencia tehát többé nem csak a külső tér erősségétől, hanem az adott mag helyzetétől is fog függni. Amennyiben nemcsak z hanem x és y irányú gradienseket is alkalmazunk egyidőben, a rezonancia feltétel csak a tér egyetlen, a gradiensek által kijelölt pontján, fog teljesülni. Ily módon kiválaszható a minta tetszőleges szelete. Ezen az eljáráson alapulnak azt orvosi képalkotási módszerek (**Magnetic Resonance Imaging**).

Egy z gradiens létezése esetén a jelenség az alábbi (túloldali) leegyszerűsített ábra segítségével illusztrálható.



4.2.13 ábra. A **térgradiens-impulzusok** hatása: (a) homogén tér esetén minden spin azonos Larmor frekvenciával bír (b) egy lineáris térgradiens alkalmazása után a magok különböző frekvenciájúak lesznek, és ezért megszűnik a koherencia, ami a jel megszűnését is jelenti (c) egy második, az elsővel azonos, de ellentétes irányú térgradiens-impulzus után visszaáll az eredeti állapot, ismét van detektálható jel. B_g a térgradiens-impulzus erőssége, τ_g pedig az időtartama.

Ezek a jelenségek az alábbi (túloldali) ábrán látható impulzus-szekvenciák segítségével idézhetők elő.



4.2.14 ábra. A **térgradiens-impulzusok** hatása: (a) egyetlen **z** gradiens jelenléte esetén nincs mérhető jel (b) egy második, az elsővel azonos, de ellentétes irányú térgradiens-impulzus után ismét van detektálható jel.

Szelektív refókuszálás: a fenti kísérlet természetesen akkor válik igazán érdekessé, ha képesek leszünk tetszés szerint kiválasztott rendű koherenciákat „életre kelteni”, míg másokat, a mérés szempontjából érdekteleneket, veszni hagyunk.

Erre lehetőséget teremt az a tény, hogy az egyes koherenciák szétterülésének (defókuszálódásának) sebessége arányos a koherencia rendűségével, **p**-vel azaz

$$\phi_{(z)} = p\gamma B_{g(z)}\tau_g$$

Emiatt a két-kvantum koherenciák kétszeres sebességgel defókuszálódnak (tűnnek el a jelek) az egykvantumokhoz képest, ugyanakkor a zéró-kvantum koherenciákat nem érinti a térgradiens-impulzus, hiszen **p=0**. Ha a kérdéses mágneszettség különböző magoktól származik, akkor az egyenletben figyelembe kell venni ezt minden magra vonatkozóan.

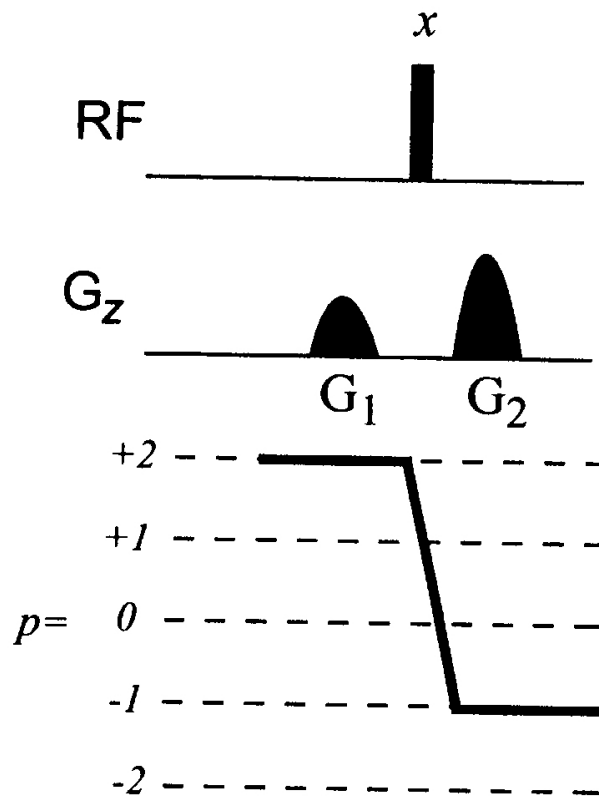
$$\phi_{(z)} = \sum p_I \gamma_I * B_{g(z)}\tau_g$$

Ennek a tulajdonságnak a kihasználásával lehetővé válik bizonyos előéletű (pl. két-kvantum) koherenciák szelektív refókuszálása, míg mások (pl. az egykvantumok) elvesztése, ha a paramétereket (B_g és τ_g) megfelelően választjuk meg. Az alapelv egyszerű, pontosan annyit

kell a fázison visszacsavarni, amennyit a különböző rendű kvantumállapotokban az előléte során összeszedett. Homonukleáris esetben elegendő a koherencia szintet és a használt gradiensek erősségének arányát figyelembe venni. Heteronukleáris esetben a giromágneses hányadosokkal is számolni kell.

$$\sum \phi_i = \sum \gamma B_{gi} \tau_i = 0$$

A feltétel teljesítése a második gradiens erősségének (a gyakorlatban általában ezt változtatják) vagy tartamának állításával érhető el.

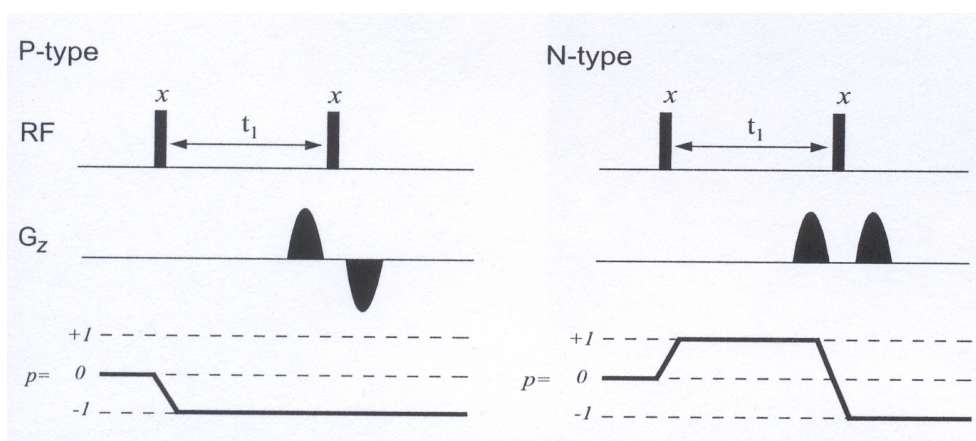


4.2.15 ábra. A jelkiválasztás bemutatása: két z gradiensek van 1:2 arányban, ezek tehát csak az ábrán mutatott kétkvantumosból az impulzus által egykvantumossá visszaalakított koherenciát fogják „feléleszteni”, az összes többit nem.

Gradiens-segített vagy egyszerűbben **gradiens COSY**, **gCOSY** (abszolútérték és fázisérzékeny változatok) kísérletek

Tegyük fel, hogy az N-típusú jelet szeretnénk használni egy abszolútérték COSY spektrumhoz. A kiválasztáshoz szükséges fáziskódolást közvetlenül a második impulzus előtt kiadott z gradiens-impulzus adja, a dekódolást pedig az impulzust követő azonos z gradiens végzi. A mellékelt koherencia-szint diagramból látható, hogy itt $+1$ és -1 rendű koherenciák szerepelnek, ebből adódik (az előjelváltás miatt), hogy a két gradiensnek nemcsak nagysága, hanem az előjele is azonos lesz.

Ezzel szemben, ha a P típusú jelet akarjuk kiválasztani, akkor a várakozásnak megfelelően a két gradiens előjele ellentétes (lásd az ábrát) hiszen mindkét koherencia rendűsége -1 .



4.2.16 ábra. Gradiens-segített abszolútérték COSY kísérletek. A P és N típusú jelek kiválasztásához szükséges gradiens kombinációk és koherencia-szint diagrammok.

Fázisérzékeny COSY: mint tudjuk ebben az esetben mindkét jelre (P,N) szükségünk van (lenne), ezt azonban kizárja a gradiens alkalmazása, hiszen egyszerre csak az egyiket lehet így kiválasztani, ha a gradiens a t_1 perióduson belül van.

Több megoldás is létezik azonban, az egyik leggyakrabban alkalmazott az ún. echo-antiecho eljárás, amely a két adathalmaz (P és N) váltakozó felvételéből és utólagos feldolgozásából áll.

Ezen túlmenően is van még egy megoldandó feladat, nevezetesen a gradiens ideje alatt pl. az eltérő kémiai eltolódások miatt fellépő fáziscúszások kiküszöbölése. (A mikroszekundum skálán mozgó kemény impulzusok alatt sem a kémiai eltolódás miatti jel evolúciót, sem a

relaxációs hatásokat nem szoktuk figyelembe venni, az ezredmásodpercekig tartó gradiens impulzusok alatt azonban ezek már jelentősek lehetnek). A megoldás itt is egy spin-echo alkalmazása, amelyen belül helyezzük el a gradienst, így a kémiai eltolódások okozta fáziscsúszás nem jelentkezik.

Összegzés

A PFG eljárások lehetséges céljai:

- egy kívánt mágnesezettség kiválasztása,
- oldószerjelek elnyomása,
- nem kívánt mágnesezettségektől való megszabadulás.

A PFG eljárások előnyei:

- csak a kiválasztott jel detektálása, digitalizása, Fourier-transzformálása, stb.,
- időnyereség, nincs szükség hosszú fázisciklusokra (2D kísérletek),
- kiváló jel-elnyomási képesség (pl. inverz detekciós kísérletek, INADEQUATE)
- könnyű használat, nem kritikus a pontos kalibrálás.

4.2.5 Korrelációk híg magok között

Az eddig ismertetett eljárások természetesen alkalmazhatók más "bő" spinekre is. A ^{31}P - ^{31}P vagy ^{19}F - ^{19}F korrelációkra található a legtöbb példa az irodalomban. Más a helyzet a "híg" magokkal (^{13}C , ^{29}Si , ^{15}N , stb.), ezeknél ugyanis alacsony természetes előfordulásuk miatt nagyon kis számú aktív magpár jön létre a molekulákban, ezért a kétkvantumos "csatolt" spektrumot nem észleljük a 2-3 nagyságrenddel erősebb "egykvantumos" spektrum mellett, nem is beszélve a háromkvantumos spektrumról.

Egy, Ray Freeman által kidolgozott szekvencia, azonban lehetővé tette ^{13}C - ^{13}C csatolási állandók és ezen keresztül aztán szén-szén kémiai eltolódás korrelációk meghatározását is. Ezáltal lehetővé vált egy molekula szénvázának egyértelmű meghatározása (feltéve, hogy elegendően tömény oldatot tudunk készíteni).

^{13}C - ^{13}C kémiai eltolódás korreláció (**INADEQUATE, Incredible Natural Abundance Double QUAntum Transfer Experiment, nem gradiens-segített változat):**

Míg a korábban ismertetett két-kvantum szűrésű (DQF) COSY kísérletben jelen vannak a egykvantumú átmenetek jelei is, csak a szűrés hatékonyságától függően csökkentett intenzitással, addig az alábbi szekvenciában csak a kétkvantumos átmenetek jelei fejlődnek ki a t_1 időszak alatt. τ értékét kell úgy megválasztani, hogy maximális kétkvantumos mágnesezettséget kapjunk a második impulzus idejére.

$$\left(\frac{\pi}{2}\right) - \tau - \pi - \tau - \left(\frac{\pi}{2}\right) - t_1 - \left(\frac{\pi}{2}\right) - t_2$$

(A π impulzus a 2τ időszak közepén a mágnesezettséget a 2τ időpontban függetlenné teszi a kémiai eltolódásoktól.)

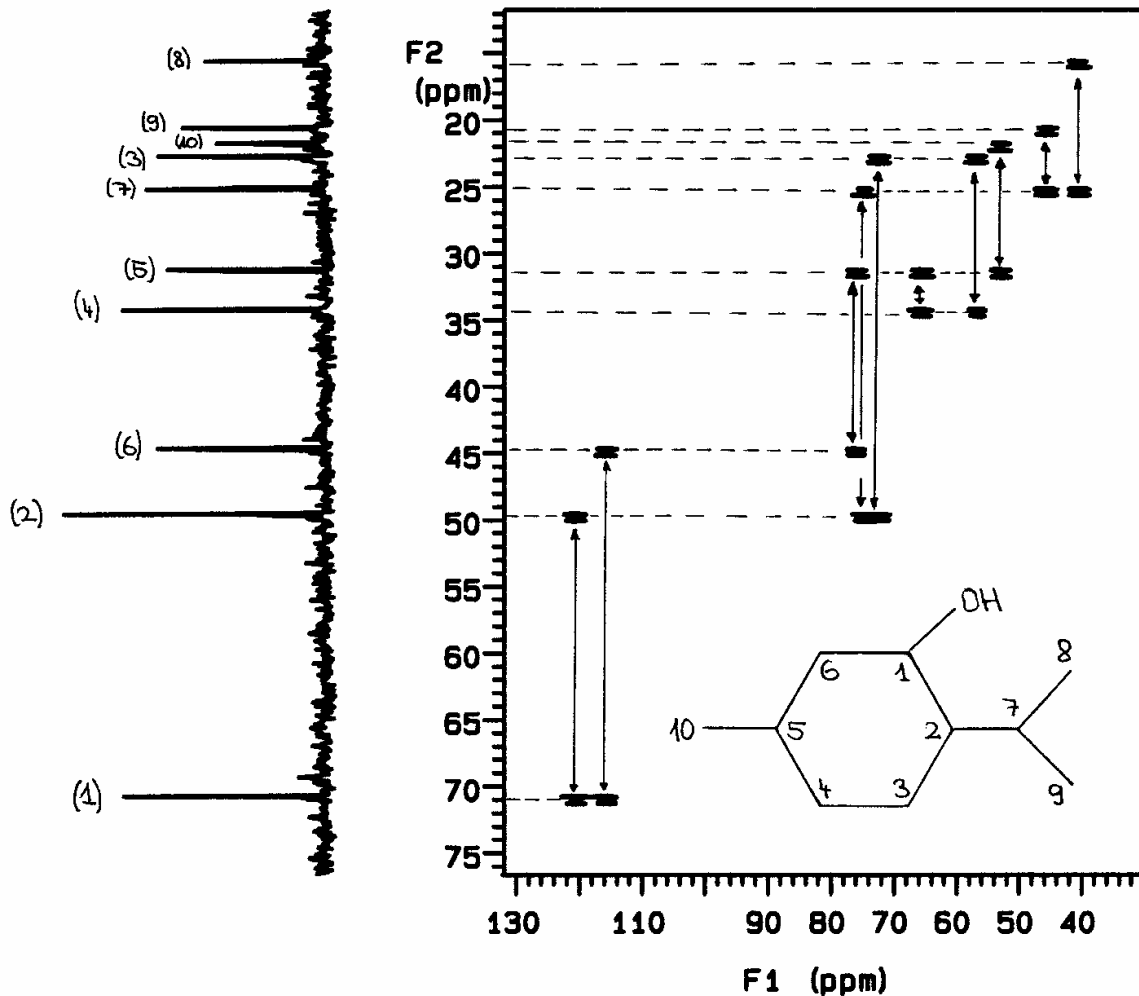
A t_1 alatt kifejlődő két-kvantum frekvenciák a két csatoló mag kémiai eltolódásának összegét jelentik. Ezért az f_1 dimenzió kétszerese az f_2 -nek. A magános (egy másik ^{13}C -vel nem csatoló) ^{13}C magok erős jeleit megszünteti a kétkvantumszűrés és csak azon molekulák jelei jelennek meg, amelyek két ^{13}C magot tartalmaznak egymás melletti helyzetben (az összes jelenlévő molekulának csak 0,011 %-a ilyen). Ezek a kétszínrendszerek kivétel nélkül **AB** vagy **AX** rendszert alkotnak, amelyek könnyen értelmezhetők.

A fentiek után nem meglepő, hogy a mérés érzékenysége rendkívül kicsi, tömény oldatokból is csak egy hosszú hétvége alatt lehet jó spektrumot készíteni. A bemutatott példa egy közismert vegyületre, a mentolra vonatkozik. Az egykötéses szén-szén csatolások nagysága a szén hibridizációs állapotától függően jelentősen változik (10-170 Hz), amit figyelembe kell venni a kísérlet tervezésekor.

Az eredmény azonban igazolja a fáradozást, hiszen ha rendelkezünk egy molekula szénvázával, vagy annak darabjaival akkor a teljes szerkezet megadása már lényegesen

egyszerűbb. A jelenlévő heteromagok (oxigén vagy nitrogén) természetesen megszakítják a folyamatosságot.

Az egyes szénatomtól, C1 elindulva (itt is szükséges egy biztos kiindulópont) az egész szénváz felderíthető, C1-nek két szomszédja van C2 és C6. Ezek viszont C7-tel és C3-mal, illetve C5 -tel adnak további korrelációkat, és így tovább.



4.2.17 ábra. A mentol szén-szén korrelációs spektruma (INADEQUATE), kb. 50 százalékos oldat, 24 °C-on felvéve, mérési idő 19 óra.

Paraméterek: $sw = 5794$ Hz, $sw1 = 11589$ Hz $at_2 = 0,177$ sec, $J_{cc} = 40$ Hz, egy spektrum 64 tranzien, 64 spektrum összesen, fázisérzékeny változat, relaxációs szünet 8 másodperc, f_2 súlyzófüggvény Gauss 0,082s, f_1 súlyzófüggvény Gauss 0,003s.

Homonukleráris korrelációk közé tartozik még két nagyon fontos eljárás, az egyik a térbeli korrelációk felderítése két dimenzióban (NOESY) (erről már volt szó a NOE kísérleteknél, lásd 3. fejezet), a másik az NMR időskálán lassú cserefolyamatok észlelése (**EXSY**, **EXchange SpectroscopY**, ezekről pedig az 5. fejezetben lesz szó):

A témához ajánlott irodalom:

1. W.E.Hull, **Experimental Aspects of Two-Dimensional NMR** in Croasman, Carlson (eds) Methods in Stereochemical Analysis, Vol.9. 1987. p.67.
2. H.Kessler, M.Gehrke und C.Griesinger, **Angew.Chem.** 100, 507-554 (1988)
3. A.E.Derome, **Modern NMR Techniques for Chemistry Research**, 1987, Pergamon Press, London
4. T.D.Claridge: **High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry**, Pergamon, 1999, Oxford (4.2.9, 4.2.11-16. ábrák:)
5. **INADEQUATE**: A.Bax, R.Freeman és S.P.Kempcell, **J.Am.Chem.Soc.**,102, 4849 (1980)

4.3 Heteronukleáris kémiai eltolódás korrelációk:

Az eddig ismertetett módszerekkel felvértézve már sok mindenre képesek vagyunk ugyan, de egyvalami még nagyon hiányzik a fegyvertárból, ez pedig az a lehetőség, hogy az összetartozó ^{13}C - ^1H , ^{31}P - ^1H , stb., magpárokat egyértelműen azonosítsuk. Sokszor előfordul ugyanis, hogy pl. egy zsúfolt szén spektrumban az egymástól alig különböző, azonos mértékben protonált jelek egyértelmű hozzárendelése reménytelen, de mivel a csatolt proton(ok) jól elkülönült jele(ke)t adnak, a proton hozzárendelések ismeretében a feladat megoldható lenne.

Hasonlóan a homonukleáris korrelációkhoz, az alkalmazott impulzus-szekvenciák a magokat összekötő **spin-spin skaláris** csatolásokon alapulnak. Természetesen a hagyományos szerves kémiában a ^{13}C - ^1H magpárnak van a legnagyobb jelentősége, de bármilyen más csatoló magpárra is érvényesek az elmondottak. Elvileg, és ma már gyakorlatilag is, lehetséges választani a kétféle detektálási lehetőség között, vagy a "híg" magot (^{13}C) detektáljuk \mathbf{f}_2 -ben, és a "bő" mag kémiai eltolódása jelentkezik a nem-detektált \mathbf{f}_1 dimenzióban vagy fordítva, a bő magot detektáljuk az \mathbf{f}_2 dimenzióban és a híg mag jelentkezik \mathbf{f}_1 -ben (lásd **inverz** detektálás 4.3.2 pont). Lényegesen rosszabb érzékenysége ellenére "történelmi okokból" ma még az előbbi az elterjedtebb, ezért mi is ezzel foglalkozunk először.

A homonukleáris technikák időigényeinek ismeretében nem nehéz megbecsülni, hogy mennyi idő kellene az \mathbf{f}_1 dimenzióban szükséges néhány száz ^{13}C spektrum felvételéhez, ha a minta nem túl tömény és ha csak a természetes "egyensúlyi" ^{13}C polarizációra számíthatnánk.

Szerencsére a 4.1 fejezetben ismertetett polarizáció-átvitel javít a helyzeten, de még így is 10-12 órás felvételi időkkel kell számolni közepes töménységű minták esetében.

4.3.1 Az X mag (^{13}C , ^{29}Si , ^{195}Pt , stb.) detektálásán alapuló eljárások

Közvetlen (egyköteses) korrelációk (HETeronuclear CORrelation): Ha a 4.1.3 ábrán bemutatott INEPT szekvenciából elhagyjuk a spin-echo részt (ami azt a célt szolgálta, hogy a protonok kémiai eltolódása ne befolyásolja a detektált ^{13}C mágnesezettséget) és azt a \mathbf{t}_1

időváltozóval helyettesítjük (amely idő alatt a kémiai eltolódás, a homo- és heteronukleáris csatolások valamint az inhomogenitások modulálják a jeleket), akkor meg is kapjuk egy olyan kétdimenziós kísérlet alapvázát, amely az \mathbf{f}_1 dimenzióban a proton kémiai eltolódásokat és a $\mathbf{J}(\text{CH})$ csatolásokat, az \mathbf{f}_2 -ben pedig a protonált szénatomok proton-csatolt spektrumát tartalmazza (hiszen csak ezekre történt polarizáció-átvitel).

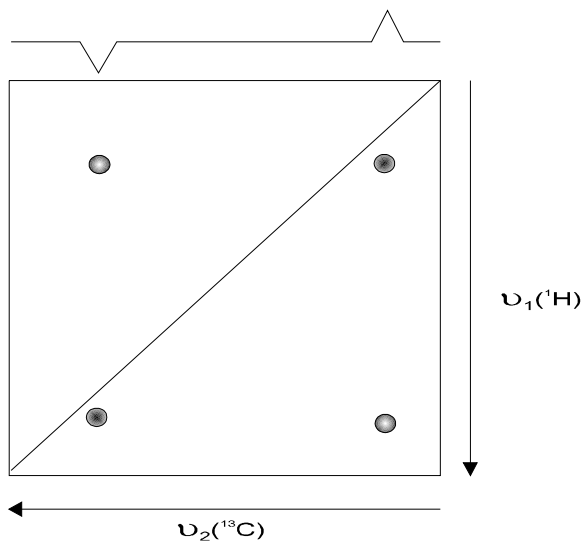
$${}^1\text{H:} \quad \left(\frac{\pi}{2}\right)_x \text{ --- } t_1 \text{ --- } \left(\frac{\pi}{2}\right)_y$$

$${}^{13}\text{C:} \quad \left(\frac{\pi}{2}\right)_x \text{ --- akvizíció --- } (t_2)$$

Ebben a formájában tehát a szekvencia mindkét dimenzióban csatolt spektrumot szolgáltat (4.3.1 ábra), ami érthetően nem lenne túl népszerű a vegyészek között, hiszen nagyobb molekulák esetén a spektrum a sok vonal miatt már nem áttekinthető és az érzékenység is lényegesen rosszabb, mint a proton-lecsatolt spektrum esetében.

Megvannak azonban a szükséges trükkök, amelyekkel elérhető, hogy a spektrum mindkét dimenzióban lecsatolt legyen, azaz egy \mathbf{AX} magpár mind a szén, mind proton dimenzióban szingulettként jelentkezzen, ezzel arányosan fog nőni az érzékenység is (a NOE felépüléshez azonban nem elegendő pusztán az akvizíciós idő alatti besugárzás).

Ahhoz, hogy az \mathbf{f}_2 dimenzióban proton-lecsatolt szén spektrumot kapjunk el kell érniünk, hogy a CH dublett antifázisú jelei (lásd az INEPT szekvenciánál a végeredményt, 4.1.3 ábra) ismét azonos fázisba kerüljenek, hogy a lecsatoló proton tér bekapcsolásakor azonos frekvenciájúvá váló jelek ne oltsák ki egymást.



4.3.1. ábra

AX spinrendszer (^{13}C - ^1H) **f_1 dimenzió (v_1):**

proton kémiai eltolódás
(csak a ^{13}C atomokhoz kötött
protonok jelei láthatók)

 f_2 dimenzió (v_2):

^{13}C kémiai eltolódás
(proton-csatolt antifázisú
dublett)

A megoldás is azonos az INEPT kísérletnél ismertetettel, egy Δ_2 idejű szünet alatt az antifázisú jelek ismét fáziskohereciába kerülnek (Δ_2 itt is felhasználható spektrumszerkesztésre, azonban ez nem gyakori, értékét általában $0,3/J$ -re állítják be, amely az összes protonált szénre elfogadható jelintenzitást ad), így semmi akadálya többé a szélessávú proton-lecsatolásnak.

A másik feladat az f_1 dimenzióban lecsatolni a protonokról a szeneket. Ez nem is olyan egyszerű az első pillanatban, hiszen a legtöbb NMR spektrométer nincs felszerelve szélessávú X-mag lecsatolási lehetőséggel. De ha fel is lenne, akkor is azt a kölcsönhatást (a $J(\text{CH})$ csatolások miatt fellépő amplitudómodulációt) szüntetnénk meg a lecsatolással, ami nélkül nincs értelme az f_1 dimenziónak. Meg kell tehát várnunk, hogy a kijelölt t_1 idő mindig elteljen és ezáltal a soronkövetkező frekvenciájú (kémiai eltolódású) proton kerüljön "helyzetbe", de ezt teljes X-mag lecsatolás mellett, ezt követi egy Δ_1 periódus, amely alatt viszont nincs lecsatolás és ezért pontosan az INEPT-nél leírtakkal megegyezően, létrejön a t_2 -ben detektált ^{13}C jelek amplitudómodulációja a meglévő J_{CH} csatolás miatt, amit az $^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$ polarizáció-átvitel követ.

Az ebben a trükk, hogy csak a t_1 alatt létrejövő moduláció jelenik meg az f_1 dimenzióban, ez pedig csak a proton kémiai eltolódás, ha az X-magot erre az időre lecsatoljuk.

Δ_1 -időtartamát is az INEPT szekvenciának megfelelően $1/4J$ -re állítjuk be. Az így kialakult szekvencia abszolútérték és fázisérzékeny variációit mutatjuk be az alábbiakban.

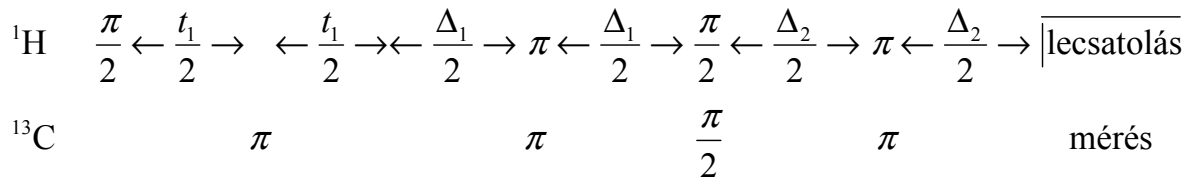
Az **abszolútérték** spektrum (ez a legáltalánosabban használt változat) esetén egyszerűbb az eset, itt a Δ_1 és Δ_2 periódusok nincsenek felbontva.

$$\begin{array}{ccccccc}
 {}^1\text{H} & \frac{\pi}{2} \leftarrow & t_1 & \rightarrow \leftarrow & \Delta_1 & \rightarrow & \frac{\pi}{2} \leftarrow \Delta_2 \rightarrow \overline{\text{lecsatolás}} \\
 {}^{13}\text{C} & & \overline{\text{lecsatolás}} & & \frac{\pi}{2} & & \text{mérés}
 \end{array}$$

A **fázisérzékeny** változatban mind a Δ_1 , mind a Δ_2 szakaszt két részre bontjuk és középre, mindkét csatornában egy π impulzust helyezünk el, hogy spin-echo-t képezzünk a periódus végére és ezáltal megszüntessük a kémiai eltolódás miatt fellépő fáziseltolódásokat. (A ${}^{13}\text{C}$ sorban alkalmazott π impulzus itt is "homonukleáris" teszi a rendszert, aminek következtében Δ_1 végén létrejön az antifázisú mágnesezettség, pontosan úgy, ahogy azt az INEPT esetében láttuk).

$$\begin{array}{ccccccccccc}
 {}^1\text{H} & \frac{\pi}{2} \leftarrow & t_1 & \rightarrow \leftarrow & \frac{\Delta_1}{2} & \rightarrow & \pi \leftarrow & \frac{\Delta_1}{2} & \rightarrow & \frac{\pi}{2} \leftarrow & \frac{\Delta_2}{2} & \rightarrow & \pi \leftarrow & \frac{\Delta_2}{2} & \rightarrow & \overline{\text{lecsatolás}} \\
 {}^{13}\text{C} & & \overline{\text{lecsatolás}} & & & & \pi & & & \frac{\pi}{2} & & & \pi & & & \text{mérés}
 \end{array}$$

Mindeddig feltételeztük a szélessávú X-spin lecsatolási lehetőség meglétét, ami, mint említettem, általában nem adott a legtöbb készüléken, legalább is jelenleg, bár ez a helyzet gyorsan változik. Van azonban egy másik lehetőség, egy szoftver megoldás, amely minden esetben rendelkezésre áll, nevezetesen egy egyszerű ${}^{13}\text{C}(\text{X})$ π impulzus alkalmazása a t_1 periódus közepén, ez ugyanis feleúton visszafordítja a csatolás miatt szétterülő multipllett vonalakat és t_1 végén visszaáll az eredeti állapot, azaz a csatolás nem fog moduláló tényezőként jelentkezni az f_1 dimenzióban.



(Ez az ún. Freeman-Morris szekvencia, figyelem: a t_1 időszak közepén nincs a szén π impulzus "felett" ${}^1\text{H} \pi$ impulzus, tehát nem a szokásos spin-echo-ról van szó).

A kísérlet kivitelezésének részletei: az alkalmazott fázisciklusnak itt is két alapvető feladata van, a longitudinális, T_1 relaxáció miatt fellépő axiális csúcsok eltüntetése vagy legalább lényeges csökkentése és a kvadratúr detektálás támogatása az f_1 dimenzióban. Ehhez általában elégséges egy négylépéses kör is, de vannak ennél hosszabb ciklusok is.

Akvizíciós idők a két dimenzióban, relaxációs szünet: ami ez utóbbit illeti, hasonlóan az eddigiekhez, a proton spin-rács relaxációs idők, T_1 a mértékadóak, mivel a protonokról viszünk át mágnesezettséget a szénatomokra. Közepes méretű molekulák esetében általában elegendő 2-3 másodperces szünetet iktatni az impulzusok közé, de sosem árt, legalább közelítőleg ellenőrizni a protonok T_1 idejét.

Ami a felbontásokat illeti, az f_2 dimenzióban elegendő kb. T_2^{*11} -ra állítani az akvizíciós időt (at_2) (csak emlékeztetőül: ezzel az időállandóval tűnik el a jel az x - y síkból, értéke a $v_{1/2} = 1/\pi T_2^*$ összefüggés alapján a ${}^{13}\text{C}$ spektrumban tapasztalt jel szélességből számolható), bár nem ez az idő a meghatározó a kísérlet teljes időigénye szempontjából. Az f_1 dimenzióban viszont szerencsére elegendő egészen rövid akvizíciós időt használni két okból is. Egyrészt miután általában elegendő a proton jelek "durva" azonosítása is (hiszen az ${}^1\text{D}$ proton spektrumban rendelkezésünkre áll a pontos érték), kielégítő egy 10 Hz körüli felbontás, ami 100 ms-os at_1 -nek felel meg, másrészt a mindkét dimenzióban lecsatolt spektrum jelei azonos fázisúak, tehát a COSY-tól eltérően nem kell az eltérő fázisú jelek miatt esetleg fellépő jelkioltásokkal számolni.

¹¹ Ez itt a tényleges tranverzális relaxációs időállandót időt jelöli, amely magában foglalja az inhomogentásokból adódó hozzájárulást is.

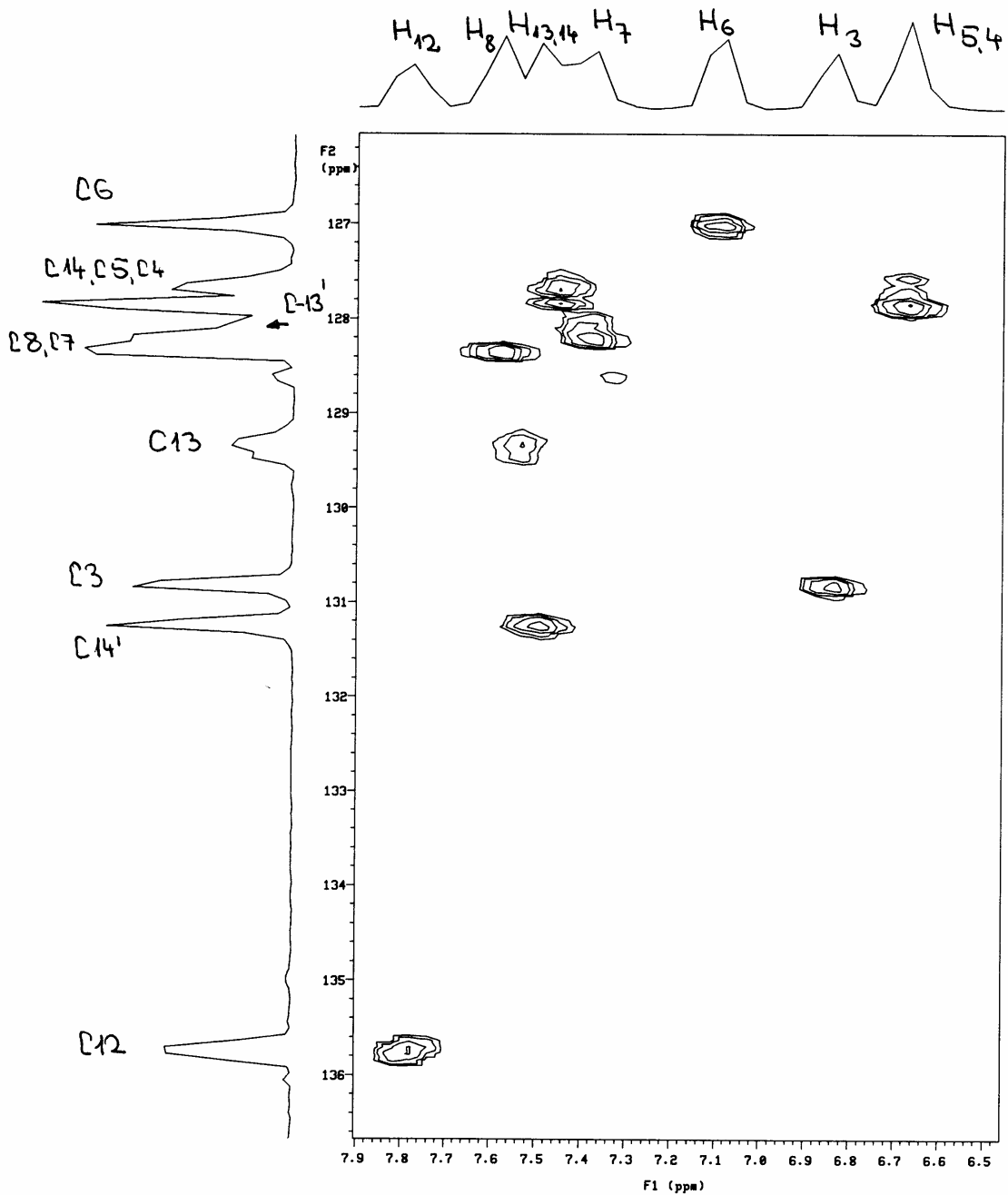
A 4.3.2. ábrán a [Pt-(S)-BINAP-Cl₂] komplex CD₂Cl₂-ben felvett ¹³C-¹H korrelációs spektrumát (HETCOR) mutatjuk be. A felvételt kb. 25 mg/ml töménységű oldatból készítettük.

A gyenge **f₁** és **f₂** felbontás ellenére (összehasonlításként a 4.3.3. ábrán bemutatjuk az egydimenziós proton és szén spektrumokat is) az egymással csatolódó párok hozzárendelése elvégezhető. A mérés időigénye azonban tetemes, 256 gerjesztés mellett kb. 12 óra felvételi idő volt szükséges.

A molekulának oldott állapotban van egy **C₂** szimmetria tengelye, ezért a naftil gyűrűk atomjai párosával azonosak, de két eltérő fenil pár létezik (ezeket felülvonással különböztettük meg). A foszfor atomoktól 1-3 kötésre lévő szénatomok virtuális csatolást mutatnak (egy AXX' spinrendszer A részei), miután a két azonos kémiai eltolódású foszfor között jelentős csatolás van. Ilyenek például a **C₁₂,C₁₁,C₂** stb., szénatomok (lásd a 4.3.3.a ábrát) és némileg szokatlan módon **C₁₀** is, ami mérhető négykötéses csatolásra utal **C₁₀** és a foszforatom között. Ez a jelenség egyben megkönnyíti a jelek hozzárendelését is.

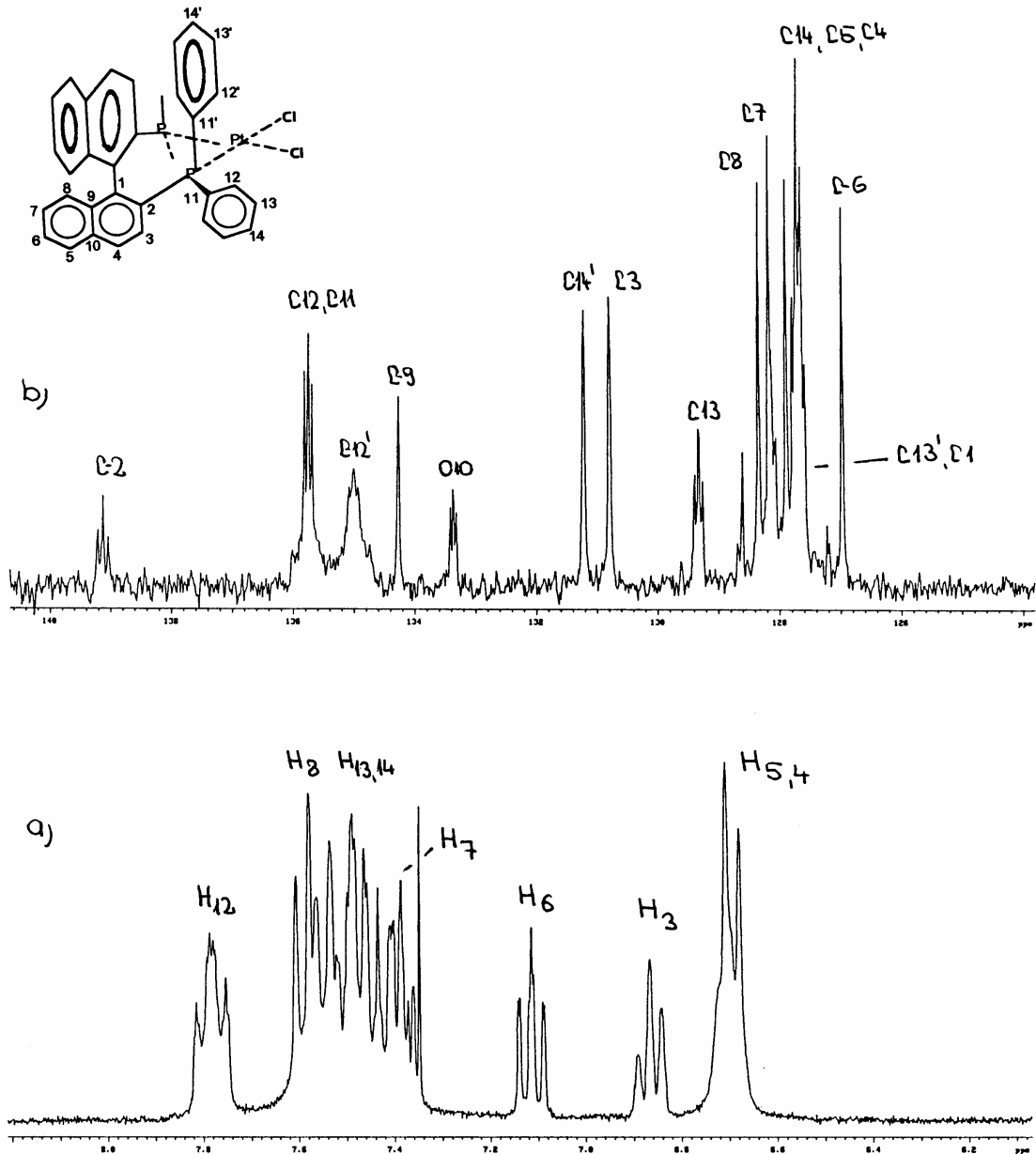
Mint látható a heterokorrelációs spektrumok értékelése elég egyértelmű, a legtöbb esetben keresztcsúcsok csak a közvetlenül összekötött magpárok között jelennek meg. Van azonban egy kivétel, ahol ez nem igaz, ez pedig a nem elsőrendűen csatolt protonok esete, ilyenkor indirekt keresztcsúcsok jelenhetnek meg nem közvetlenül összekötött magok között is. Például egy **H₁-C₁-C₂-H₂** rendszerben **H₁** nemcsak **C₁**-vel, hanem **C₂**-vel is adhat korrelációt, ha **H₁** és **H₂** csatolása nem elsőrendű. Természetesen itt nem a ¹²C atomokhoz kötött protonok között kell másodrendű csatolásnak lennie, hanem a megfelelő ¹³C szatellit-spektrum vonalai között.

Szerencsére a szükséges ¹³C-¹H csatolási állandók általában jól becsülhetők, szén mag egy adott hibridizációs állapotában viszonylag szűk tartományban változnak. Nem árt azonban jobban utánanézni a várható értéknek, ha a szénatomhoz egy vagy több erősen elektronegatív szubsztituens (O, N vagy halogének) kapcsolódik. Ha a molekulában erősen eltérő ¹³C-¹H csatolási állandók vannak, akkor gyakran célszerű legalább két felvételt készíteni az eltérő csatolási állandóknak megfelelően beállított **Δ₁**, **Δ₂** szünetekkel.



4.3.2 ábra A [Pt(S)-BINAP-Cl₂] komplex ^{13}C - ^1H kémiai eltolódás korreláció spektruma (HETCOR): csatolási állandó 160 Hz, oldószer = CD₂Cl₂, hőmérséklet 20 °C, töménység=25mg/ml. Felvételi körülmények: **f₂** dimenzió: **at₂** = 0,2 sec, **sw** = 2640 Hz, az ismétlések száma = 256, súlyzás, sine-bell = 0,097 sec, **f₁** dimenzió: **at₁**=0,08 sec, **sw₁**= 778 Hz, **ni** = 64, teljes felvételi idő = 12 óra, súlyzófüggvény, sine-bell = 0,041sec, kiíratási mód: abszolútérték mindkét dimenzióban.

A 2D mérést mindenképpen célszerűen megelőzi az 1D spektrumok felvétele (lásd alább), amelyek paramétereit fel lehet használni a 2D spektrumhoz is.



4.3.3. ábra A [Pt(S)-BINAP-Cl₂] komplex egydimenziós ¹H (300 MHz) (a) és ¹³C (75 MHz) (b) spektrumai CD₂Cl₂-ben, 20 °C-n felvéve. (A kvaterner szének hozzárendelése INEPTLR spektrumokon alapul.)

Az alapkísérlet változatai:

Szélessávú homonukleáris lecsatolás az f_1 -dimenzióban: mivel a heteronukleáris korrelációkban az f_1 dimenzió felbontása általában alacsony, nincs gyakorlati jelentősége a jelenlévő proton-proton csatolásoknak. Bizonyos módosításokkal azonban megszüntethetőek ezek a homonukleáris kölcsönhatások, ha valami okból az f_1 dimenzióban is jó felbontást akarunk elérni.

A változtatás lényege: egy olyan proton π impulzusra van szükség, amely átfordítja a ^{12}C -hez kötött protonokat, de változatlanul hagyja a ^{13}C -hez kötötteket, tehát a szén szatelliteket. (Már láttuk a szelektív INEPT kísérletnél, hogy ez egy kiválasztott jelre megoldható a gerjesztő pulzus erősségének és ezzel az általa gerjesztett tartománynak a csökkentésével, de most az összes jelenlévő protont akarjuk egyidejűleg átfordítani). Egy ^{13}C mag-hoz kötött proton rendszerint egy vagy több olyan protonnal csatol, amely(ek) valamelyik szomszédos ^{12}C -hez van(nak) kötve. Kivételt képeznek a metilén csoportok, hiszen itt mindkét proton ugyanazon a ^{13}C maghoz van kötve, ebből adódóan a geminális csatolások nem tűntethetők el az f_1 dimenzióból.

A spin-echo tulajdonságainál már említettük, hogy a homonukleáris csatolások nem refokuszálódnak, mert a π impulzus a csatoló spíneket is átfordítja, ha azonban sikerülne a ^{12}C -hez kötött protonok szelektív átfordítása, úgy az $^1\text{H}(^{13}\text{C}) \leftrightarrow ^1\text{H}(^{12}\text{C})$ közötti homonukleáris csatolások mégiscsak echo-t képeznének, azaz nem modulálnák a jelet t_1 alatt, tehát nem is jelennének meg az f_1 dimenzióban.

Az $^1\text{H}(^{12}\text{C})$ jelek szelektív átfordítása az alábbi szekvenciával oldható meg:

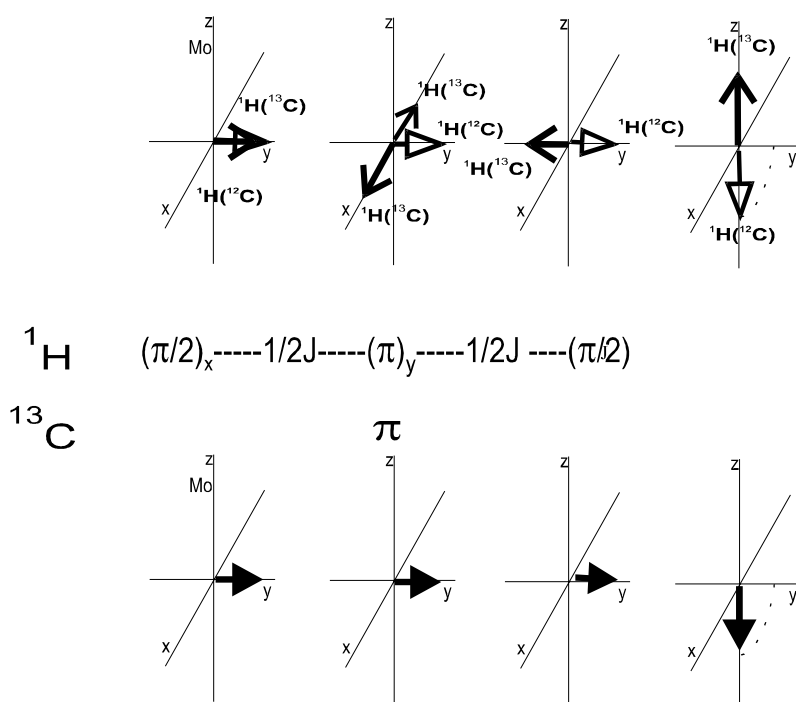
$$^1\text{H}: \quad \left(\frac{\pi}{2}\right)_x \text{ --- } \frac{1}{2J_{CH}} \text{ --- } \pi_y \text{ --- } \frac{1}{2J_{CH}} \text{ --- } \left(\frac{\pi}{2}\right)_x$$

$$^{13}\text{C}: \quad \pi$$

A fenti impulzussor a BIRD (**B**ilinear **R**otation Operator) nevet kapta és ma már igen széleskörűen alkalmazzák (érdemes átgondolni a működését, mert az inverz detekciós eljárásokkal kapcsolatban rövidesen visszatérünk hozzá).

Amennyiben egy ilyen BIRD-öt helyezünk az eredeti szekvenciába a t_1 -et felező ^{13}C π impulzus helyére (lásd 52. oldalt), akkor a homonukleáris csatolások nem fognak megjelenni az f_1 dimenzióban. (a BIRD működését bemutató vektordiagram a 4.3.4. ábrán látható.)

A kísérlet akkor lesz igazán sikeres, ha a heteronukleáris és a homonukleáris csatolások lényegesen különböznek (egy ötszörös eltérés kívánatos), továbbá, ha a molekulán belüli J_{CH} értékek nem nagyon szórnak, végül, ha a proton T_2 relaxációk nem túlságosan rövidek, hogy a beiktatott további $1/J_{\text{CH}}$ időtartalmú szünet ne vezessen lényeges jelcsökkenéshez.



4.3.4. ábra A BIRD szekvencia vektordiagramja: az x - y síkba fordított protonok közül a ^{13}C magokhoz kötöttek, $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ a csatolási állandónak megfelelő frekvenciakülönbséggel mozognak, míg a ^{12}C -hez kötöttek, $^1\text{H}(^{12}\text{C})$ fázisa nem változik. Az előbbieket az együttes szén és proton impulzusok hatására refokuszálódznak, az utóbbiak változatlanul a helyükön maradnak. A beolvasó proton $\pi/2$ impulzus a $+z$ tengelyre helyezi a csatolt magokat és a $-z$ -re a nem csatoltakat.

Távoli (két- és háromkötéses) korrelációk (COLOC, FLOCK):

Hasonlóan az egydimenziós verzióhoz (INEPTLR) léteznek a fenti kísérlet kétdimenziós "long range" változatai is, természetesen a cél is hasonló, két- és háromkötéses csatolások segítségével azonosítani a protonátlatlan szénatomok jeleit. Ehhez óhatatlanul a kérdéses csatolási állandók legalább közelítő ismerete szükséges, ha ezzel sem rendelkezünk, akkor több kísérletet célszerű végezni különböző értékeket feltételezve.

Elvileg az ismertett egykötéses szekvenciák ilyen célra is alkalmazhatók, de ez nem igazán célravezető több okból sem. Nyilvánvalóan a beépített Δ_1 és Δ_2 szüneteket a kiválasztott csatolási állandónak megfelelően kell beállítani, mivel azonban ezek sokkal kisebbek (2-10 Hz), mint az egykötéses állandók, az ezeknek megfelelő hosszú szünetek alatt fellépő T_2 relaxáció a jelek jelentős csökkenését eredményezi. Továbbá a többkötéses keresztcsúcsok erősségét modulálja a jelenlévő egykötéses korrelációnak megfelelő mágnesezettség, ami esetenként a keresztcsúcs elvesztéséhez is vezet. Ezért alakultak ki a Freeman-Morris szekvenciának olyan változatai, amelyek valamilyen módon, pl. a Δ_2 periódus közepére beépített BIRD "szubrutinnal" és/vagy ún. aluláteresztő ("low-pass") J-szűrő beiktatásával kiszűrik az egykötéses korrelációkat.

Amennyiben azonban Δ_1 értéke túllépi az akvizíciós idő felét (szokásos 100 ms körüli t_1 -et feltételezve, ez a 20 Hz alatti csatolások detektálásánál már fennáll), célszerűbb valamelyik rögzített evolúciós idejű változat alkalmazása. Ezek közül legismertebbek az ún. COLOC szekvencia és variációi, de az utóbbi időben egyre több közlemény jelenik meg a FLOCK szekvencia alkalmazásáról is.

A COLOC esetében oly módon érik el a teljes ciklusidő csökkenését (hogy ezáltal megátolják a jel elhalását Δ_1 alatt), hogy a t_1 változót a távolható csatolási állandó által meghatározott Δ_1 szakaszon belülre helyezik és így egy mozgó π impulzust kapnak az adott rögzített evolúciós szakaszon belül.

$$\begin{array}{l}
 \mathbf{1H:} \quad \frac{\pi}{2} - \frac{t_1}{2} - \pi - \frac{t_1}{2} - (\Delta_1 - t_1) - \frac{\pi}{2} - \Delta_2 - \text{lecsatolás} \\
 \quad \quad \quad (\dots\dots\dots\Delta_1\dots\dots)
 \end{array}$$

$$\mathbf{13C:} \quad \quad \quad \pi \quad \quad \quad \pi/2 \quad \quad \text{mérés } (t_2)$$

A távolható csatolás miatt fellépő antifázisú mágnesezettség Δ_1 végére jön létre, az egymás alatt lévő proton és szén π impulzusok miatt a kémiai eltolódás refókuszálódik t_1 végére, majd újra szétterül a fennmaradó $\Delta_1 - t_1$ idő alatt. Ebből következően az f_1 dimenzióban nincs szén lecsatolás. Ugyanakkor a szekvencia hasznos mellékhatása, hogy az f_1 dimenzióban proton lecsatolt proton spektrumot kapunk, azaz csak a proton kémiai eltolódások jelennek meg, a homonukleáris csatolások nem.

A spektrumban megtalálhatók a nagyobb (egykötéses) csatolási állandóknak tulajdonítható korrelációk is, ha a választott Δ_1 értékek egészszámú többszörösei a nagyobb csatolási állandónak megfelelő értéknek.

Amennyiben ez nem kívánatos, a már említett J-szűrő¹² alkalmazásával ezek a korrelációk eltüntethetők.

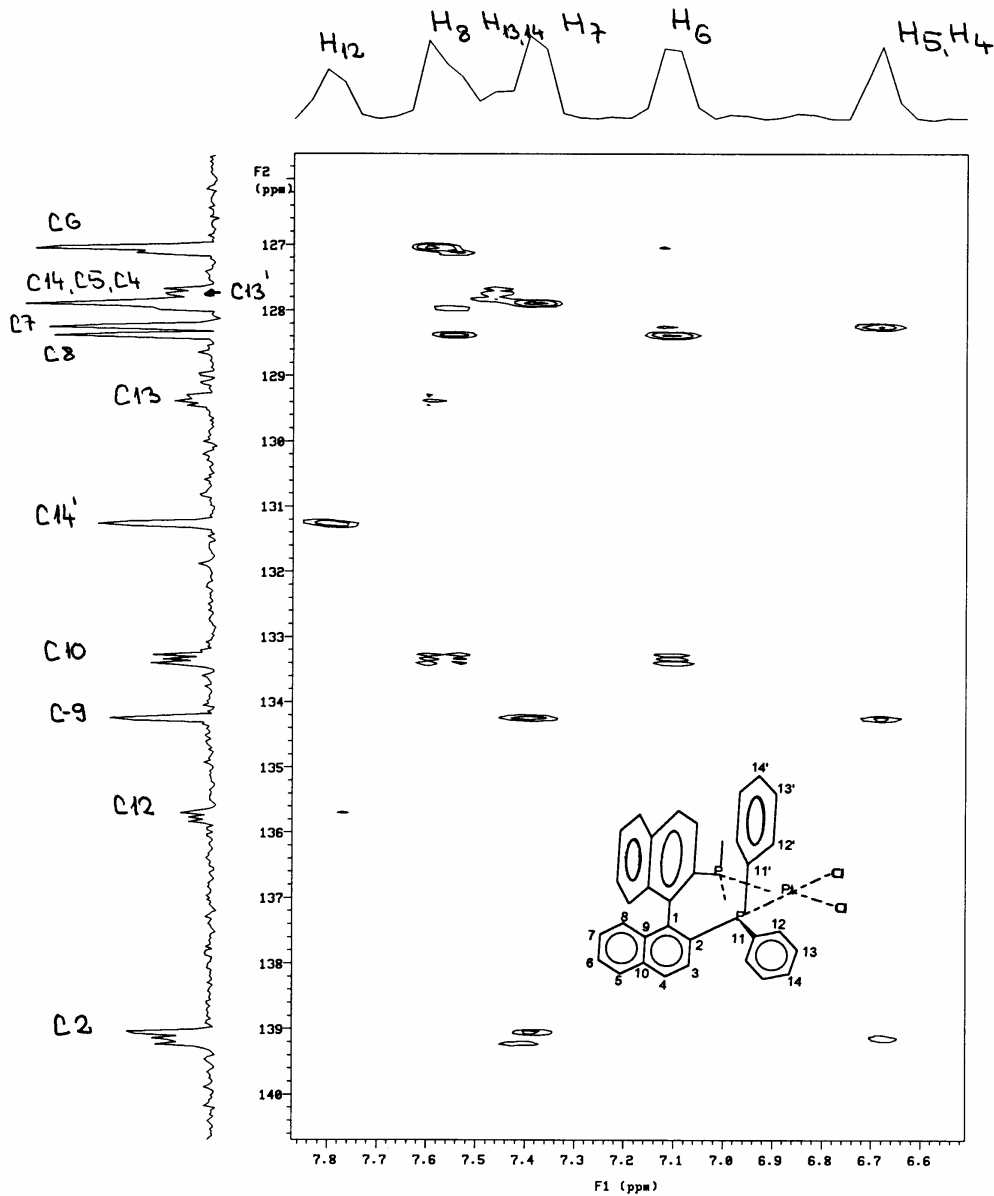
FLOCK: a távoli, két- háromkötéses (long range) korrelációk manapság legnépszerűbb változata, nevét a szekvenciában sűrűn feltűnő "madarakról" (BIRD) kapta, amelyek segítségével az egykötéses korrelációk kiszűrhetők a spektrumból.

A bemutatott példa (4.3.5 ábra) a már ismertetett [Pt-(S)-BINAP-Cl₂] planáris komplex FLOCK spektruma. A Δ_1 és Δ_2 szüneteket a háromkötéses CH csatolásra általánosan elfogadott 7 Hz-es középértéknek (ez tulajdonképpen a szabad forgás esetén feltételezhető érték) megfelelően állítottuk be.

A felvétel alapján egyértelmű a **C₂**, **C₉** és **C₁₀** kvaterner szénatomok hozzárendelése, ugyanakkor az átfedések és az f_2 dimenzió gyenge felbontása miatt **C₁** helyzete továbbra is bizonytalan. Természetesen megjelennek a protonált szénatomok háromkötéses korrelációi is,

¹² Részletes leírást található a 6-os számú javasolt irodalomban.

valamint gyenge jelet adhatnak a kétkötéses kapcsolatok is, ha a csatolási állandó eléri a 3-5 Hz-es értéket.



4.3.5 ábra A $[\text{Pt}-(\text{S})\text{-BINAP-Cl}_2]$ komplex $J_{\text{távolható}} = 8 \text{ Hz}$ -re optimalizált FLOCK spektruma, CD_2Cl_2 -ben 12,2 óra alatt felvéve.
 Paraméterek: f_2 (^{13}C , detektált) dimenzió: akvizíciós idő = 0,3 s, relaxációs szünet, 1 s, gerjesztések száma = 512, súlyzás, sine-bell = 0,147 sec. f_1 (^1H , nem detektált) dimenzió: akvizíciós idő = 0,1 s, 64 spektrum, súlyzás, sine-bell = 0,05 sec

Továbbított koherencia-átvitel (H -H- C, H-C-H, stb., átvitelek):

Ezek is **RCT** (lásd 68. oldal) kísérletek, de itt nem csak protonok (tehát bő magok) közötti koherenciaátvitelről van szó, hanem többnyire vagy egy heteromagra (**H-H-C**) vagy azon keresztül (**H-C-H**) történik az átvitel, általában azzal a céllal, hogy a vizsgált molekula vázát felderítsük. Kétségtelen előnye az INADEQUATE kísérlettel szemben a nagyobb érzékenység, ugyanakkor a két spektrum információtartalma nem teljesen azonos.

4.3.2 A bő mag (szinte kizárólag ^1H) detektálásán alapuló ún. **inverz** eljárások

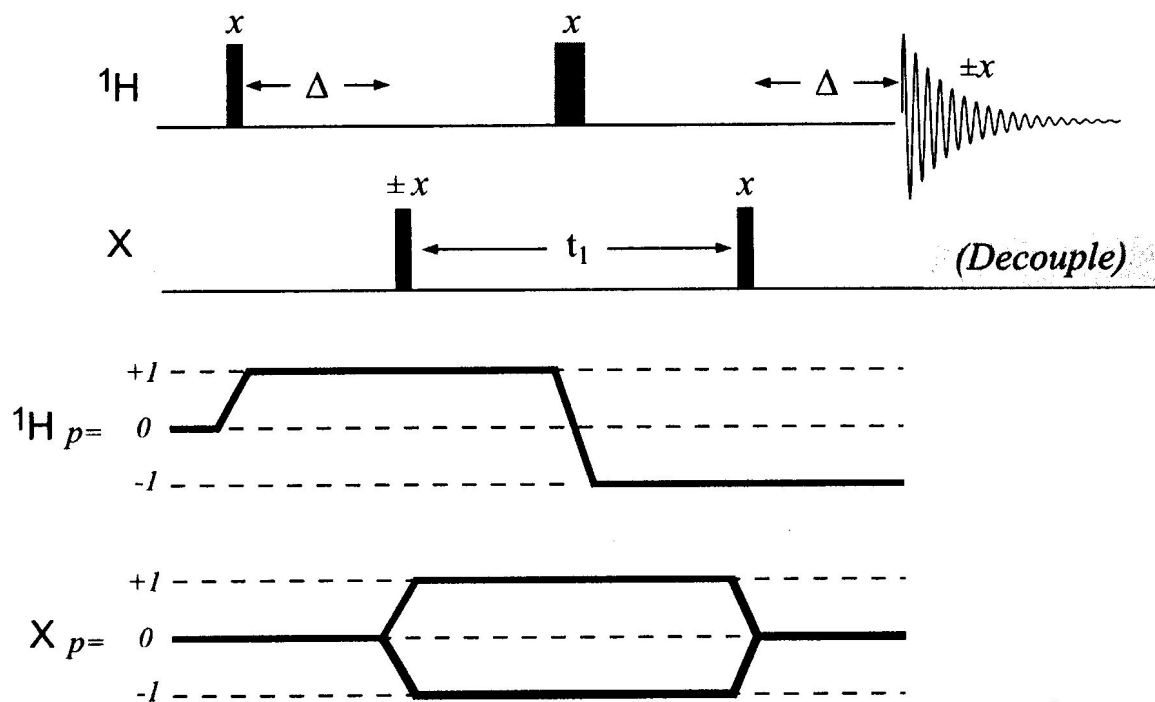
Összehasonlításul érdemes áttekinteni a heteronukleáris korrelációk esetén a hagyományos (X-mag) és az inverz (^1H) detektálással elérhető érzékenység növekedéseket és az egyes változatokhoz tartozó koherencia diagrammokat.

		<i>P</i>	<i>E</i>	<i>M</i>	<i>D</i>	<i>Relative Sensitivity</i>			
						$^1\text{H}\text{-}^{31}\text{P}$	$^1\text{H}\text{-}^{13}\text{C}$	$^1\text{H}\text{-}^{15}\text{N}$	
a)	H	t_1					1	1	1
	X	t_2							
b)	H	t_1					2.5	4	10
	X	t_2					<i>traditional</i>		
c)	H	t_2					4	8	30
	X	t_1							
d)	H	t_2					10	32	300
	X	t_1					<i>inverse</i> <i>(modern)</i>		

4.3.6 ábra. Heteronukleáris korrelációk koherencia diagramjai és elméleti érzékenységei. (a) és (b) hagyományos eljárások (az X-magot detektálják), (c) és (d) inverz eljárások (proton detektálás történik). P, E, M és D a kétdimenziós eljárások már ismertett szakaszai.

A proton detektáláson alapuló eljárások előnyei a számok alapján meggyőzőek, azonban ezek az eljárások, bár a hagyományos mérőfejekben is végrehajthatóak, lényegében csak erre a célra kialakított mérőfejekben közelítik meg a fenti elméleti számokat. Jelenleg a leginkább elterjedt impulzus-szekvenciák az **HMQC** és az **HSQC** eljárások. Mindkettő a **d** verzió szerint működik, amely esetében a legnagyobb nehézséget, a mérés szempontjából szükségtelen és zavaró ^1H - ^{12}C vagy ^1H - ^{14}N jelpárok óriási intenzitása okozza. Ennek kiszűrésére ma már elsősorban a korábban ismertetett térgradiens-impulzus eljárást alkalmazzák. Miután a szerves és biológiai alkalmazások két legalapvetőbb eljárásáról van szó, érdemes velük közelebbről is megismerkedni.

HMQC (Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation): a kísérlet hasonlóan a már ismertett módszerekhez egy kétdimenziós térképet szolgáltat, amelyen a skalárisan csatolódo proton és szén magokat keresztcsúcsok kötik össze. Maga a szekvencia alapváltozatában elég egyszerű, mindössze négy impulzusból áll.

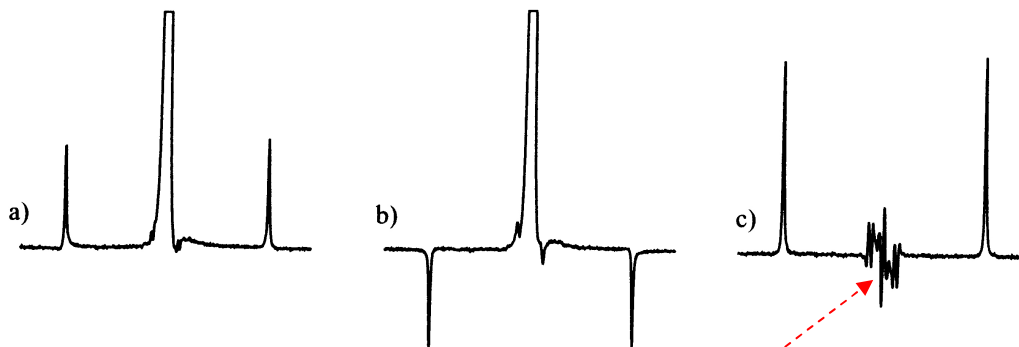


4.3.7 ábra. Az HMQC szekvencia általános sémája és koherencia diagramjai. A Δ időszakot $1/2J_{\text{CH}}$ -nak megfelelően kell beállítani, hogy a dublett két komponense a kívánt antifázisú helyzetet vegye fel. 151 Hz-es csatolással számolva ez kb. 3,3 ezredmásodperc.

A Δ periódus alatt létrejövő antifázisú ^1H mágneszettséget az első szén impulzus viszi át a csatoló szén partnerre (több-kvantum koherenciák, két ($p= +1 +1=2$) és zérókvantumok ($p=+1 -1=0$), jönnek létre), a t_1 időszak alatt mind a proton, mind a szén eltolódások modulálják ezeket a koherenciákat, **de az aktív J_{CH} csatolások nem**. Miután ezek közül csak a szén eltolódásokra van szükségünk az f_1 dimenzióban, a proton csatornába helyezett $X \pi$ impulzus segítségével megszabadulunk az ^1H eltolódások moduláló hatásától. Ezután a második szén impulzus visszafordítja a több-kvantum koherenciákat érzékelhető egy-kvantum mágneszettségekké, amelyek azonban ismét antifázisúak, ezért egy második Δ szünetre is szükség van, hogy a széles-sávú proton-lecsatolást alkalmazni lehessen.

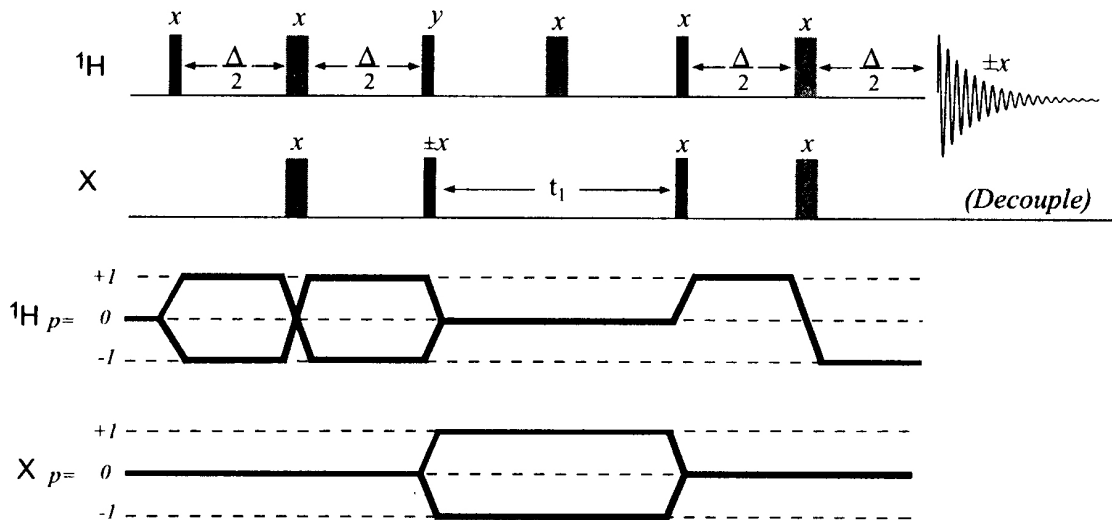
Előforduló problémák:

- Nemcsak egykötéses korrelációk jelennek meg, ha a tényleges csatolás lényegesen eltér a feltételezettől (pl. alkének esetében).
- Az f_1 dimenzióban megjelennek a proton-proton csatolások, mert ezek a Δ periódusok és t_1 alatt nem refókuszálódnak (**a passzív J_{HH} csatolások modulálják a jelet t_1 alatt**), ami jelszélesedéshez vezet.
- Ha az ^1H - ^{12}C vagy ^1H - ^{14}N jelpárok kiszűrése nem tökéletes (lásd az alábbi ábrát), az jelentős zajszínhez vezet.



4.3.8 ábra. A nem kívánt mágneszettségek kiszűrése az HMQC szekvenciában fázisléptetés segítségével (az első szén impulzus fázisát 90 fokkal lépdeltetve kapjuk **a-t** és **b-t**, majd ezeket egymásból kivonva **c-t**). A kivonási maradék azonban jelentős lehet.

HSQC (Heteronuclear Single-Quantum Correlation): mint azt a neve is sugallja, a leglényegesebb különbség az **HMQC**-hoz képest, hogy ebben az esetben a t_1 periódus alatt csak egy-kvantumos ^{13}C koherenciák vannak jelen, az H-X csatolások refókuszálódnak a periódus végére, tehát csak a szén (X) kémiai eltolódás marad mind moduláló hatás és természetesen csak ez jelenik meg f_1 -ben. A polarizáció-átvitelt a protonokról a szén-13 magokra és vissza két INEPT szekvencia valósítja meg.

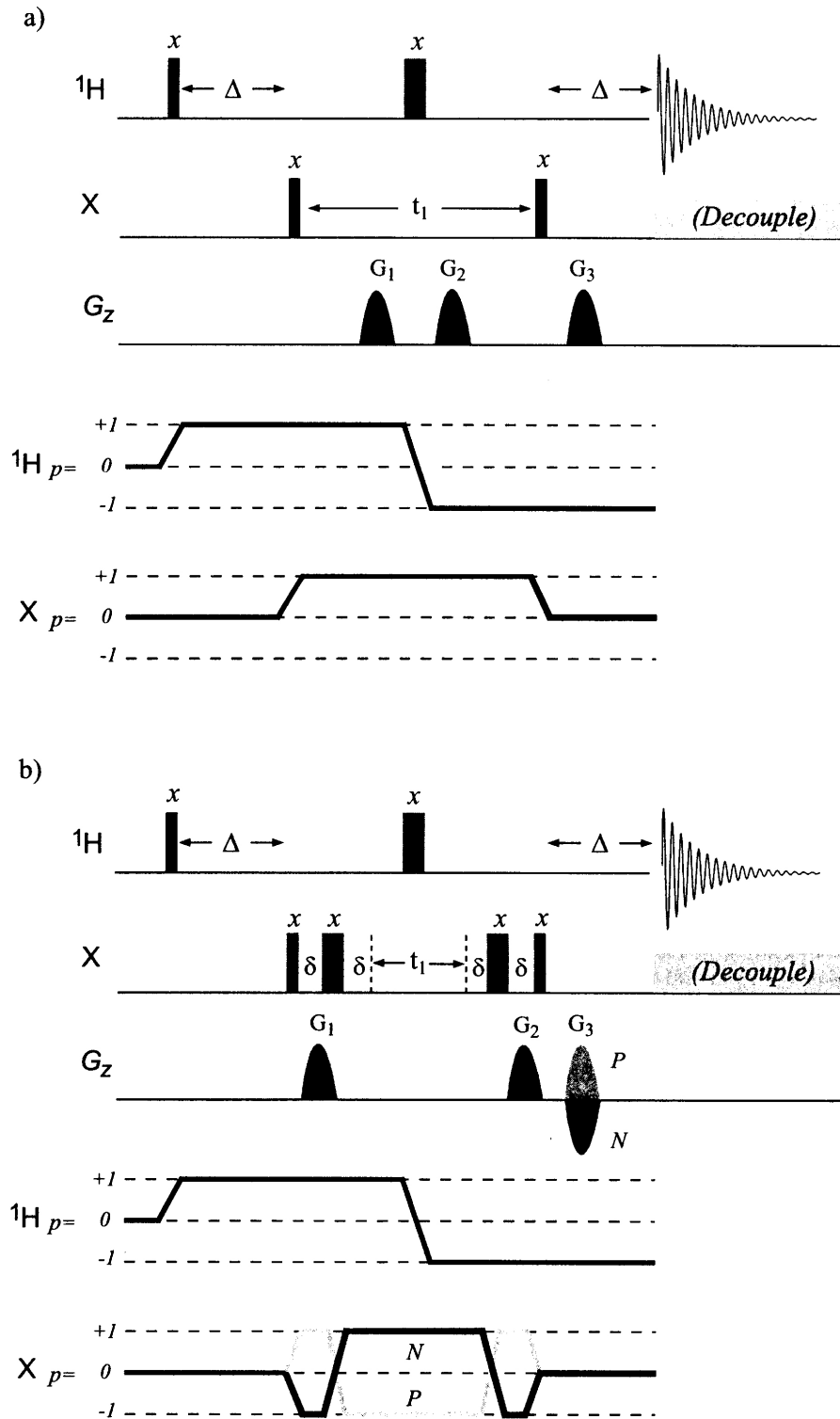


4.3.9 ábra. A HSQC szekvencia és a folyamat koherencia digramja. Két INEPT „betét” szolgál a mágnesezettség át (oda és vissza) -vitelére.

Az eredmény lényegében azonos, csak a homonukleáris ^1H - ^1H csatolások hiánya miatt lényegesen jobb felbontást kapunk az f_1 dimenzióban. Hátránya, hogy több impulzust használ és emiatt fontos azok pontos kalibrálása.

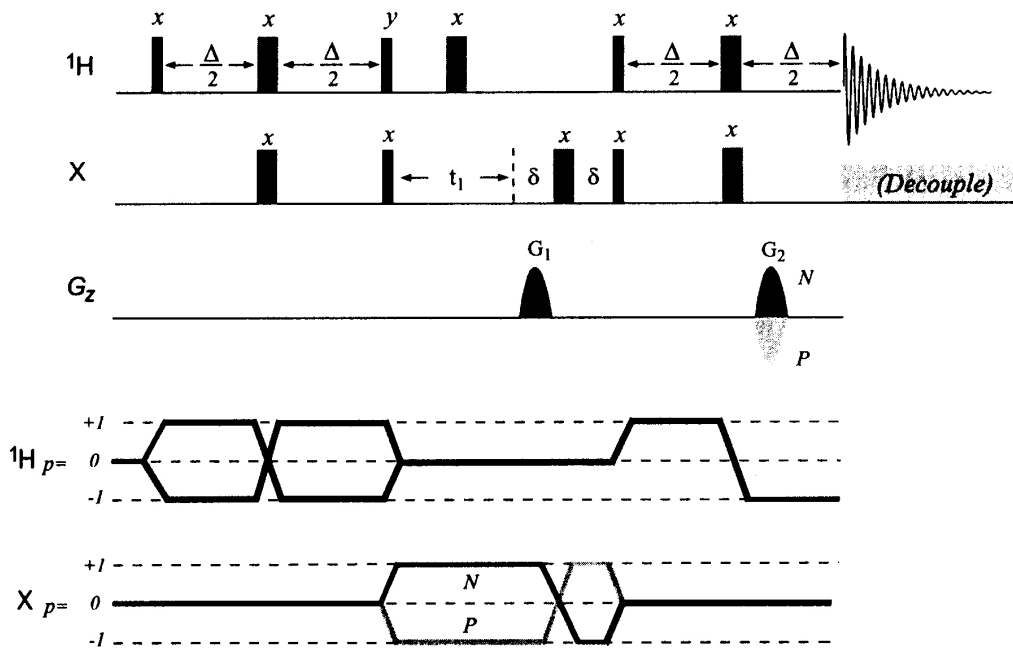
A zavaró ^1H - ^{12}C vagy ^1H - ^{14}N jelpárok kiszűrése itt is ugyanolyan fontosságú, mint az HMQC kísérlet esetében. Az alábbiakban két eljárásra (PFG és BIRD) hívjuk fel a figyelmet a részletek ismertetése nélkül (illetve elegendő emlékeztetni rájuk, hiszen már volt róluk szó (lásd 4.3.1) ennek a kérdésnek a megoldására, ezek mind az HMQC mind az HSQC szekvenciák esetében alkalmazhatóak.

Térgradiens-impulzusok alkalmazása a szűrésre, HMQC (erre a célra kialakított mérőfejet igényel):



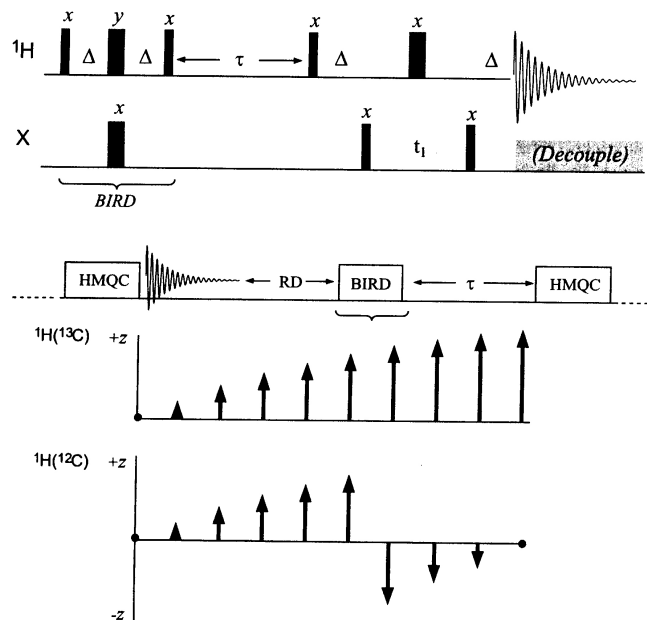
4.3.10 ábra. Térgradiens-impulzussal feljavított HMQC szekvenciák (a) abszolútérték (b) fázisérzékeny változat.

Térgradiens-impulzusok alkalmazása a szűrésre, HSQC.



4.3.11 ábra. Térgradiens-impulzussal feljavított HSQC szekvencia, fázisérzékeny változat. Az N és P típusú jelek kiválasztása az utolsó z-gradiens előjelének változtatásával oldható meg.

BIRD „betéttel” kiegészített (szűrt) változatok (ha nem áll rendelkezésünkre a PFG technika):



4.3.12 ábra. Az HMQC szekvencia „BIRD-dösített” változata. A τ paraméter megfelelő megválasztásával elérhető, hogy az ^1H - ^{12}C mágnesezettségnek ne legyen longitudinális (z) komponense, amikor a tényleges HMQC szekvencia indul.

A jel-elnyomás sikere a kérdéses paraméterek megfelelő beállításán múlik, célszerű a molekula legrövidebb T_1 értékéből kiindulni és az ismétlési időt ($t_2 + RD + \tau$) kb. $1,3 T_1$ –el egyenlővé tenni. τ kb. $0,5T_1$ –re állítandó, a proton akvizíciós idő, t_2 pedig a kívánt felbontás függvénye. Miután, mint látható, mindennek az alapja T_1 időállandó megfelelő megbecslése, célszerű próbaméréseket végezni, pl. a mért FID minimalizálása (akkor van a legközelebb nullához a ^1H - ^{12}C mágnesezettség z komponense) mellett.

A BIRD-HMQC szekvencia nagyon hatékony kisebb molekulák esetén, ugyanakkor nem alkalmas nagyon nagy molekulák vizsgálatára, mert az átfordított protonok által keltett negatív NOE csökkenti a mérendő jelek intenzitásait.

Ajánlott irodalom:

1. Andrew E. Derome: **Modern NMR Techniques for Chemistry Reserach**,

Pergamon Press, London, 1987, chp. 7.

2. ^{13}C - ^1H HETCOR: A.A.Maudsley, L.Müller, R.R.Ernst,

J.Magn.Reson. 28, 463 (1977)

3. COLOC: H.Kessler, C.Griesinger, J.Zarbock, H.R.Loosli,

J.Magn.Res., 57, 331 (1984)

4. BIRD szekvencia: J.R.Garbow, D.P.Weitekamp and A.Pines,

Chem.Phys.Lett., 93, 504 (1982)

5. Többkötéses korrelációk:

(a) G.E.Martin and A.S.Zektzer, **Magn.Reson. in Chem.**, 26, 631 (1988)

(b) FLOCK: W.F.Reynolds, St.McLean, M.Perpick-Dumont és R.G.Enriquez,

Magn.Reson.in Chem., 27, 162 (1989)

6. HMQS, HSQC és PFG–eljárások: T.D.Claridge: **High-Resolution NMR Techniques in**

Organic Chemistry, Pergamon, 1999, Oxford

4.4 A spin-echo közvetlen felhasználása (J-spektroszkópia)

Az eddigiek során már több esetben foglalkoztunk a spin-echo jelenségével, számos impulzus-szekvencia tartalmazott egy vagy több spin-echo-t, elsősorban az evolúciós periódus (t_1) alatti kémiai eltolódás függés megszüntetésére, de más célból is. Az alábbiakban néhány olyan alkalmazásról lesz szó, amelyekben a spin-echo-k képezik a szekvencia alapját, összefoglaló néven gyakran J-spektroszkópiának is nevezik ezeket az eljárásokat. A 2D spektroszkópia korai időszakában (10-15 évvel ezelőtt) ezek az érdeklődés középpontjában voltak, azóta ez a helyzet némileg változott, de még mindig számos olyan feladat van, amelyek megoldásában igen előnyösen alkalmazhatók.

4.4.1 Heteronukleáris J-modulált spin-echo

4.4.1.1. Normál spin-echo: az eddigiek alapján már sok mindent tudunk a spin-echo-k tulajdonságairól és felhasználási lehetőségeiről, így remélhetőleg nem okoz nehézséget az alábbi egyszerű szekvenciák működésének megértése sem.

$$^{13}\text{C}: \quad \left(\frac{\pi}{2}\right)_x \quad -\tau \quad -\pi_y \quad -\tau \quad -\text{mérés}$$

$$^1\text{H}: \quad \pi \quad \text{lecsatolás}$$

Itt is a szokásos választási lehetőség előtt állunk, amennyiben a ^{13}C π_y impulzussal egyidőben a proton π impulzust is alkalmazzuk, úgy a heteronukleáris csatolások (J_{CH}) nem fognak refókuszálódni a τ periódus végére. A τ idő megfelelő megválasztása spektrumszerkesztési lehetőséget nyújt.

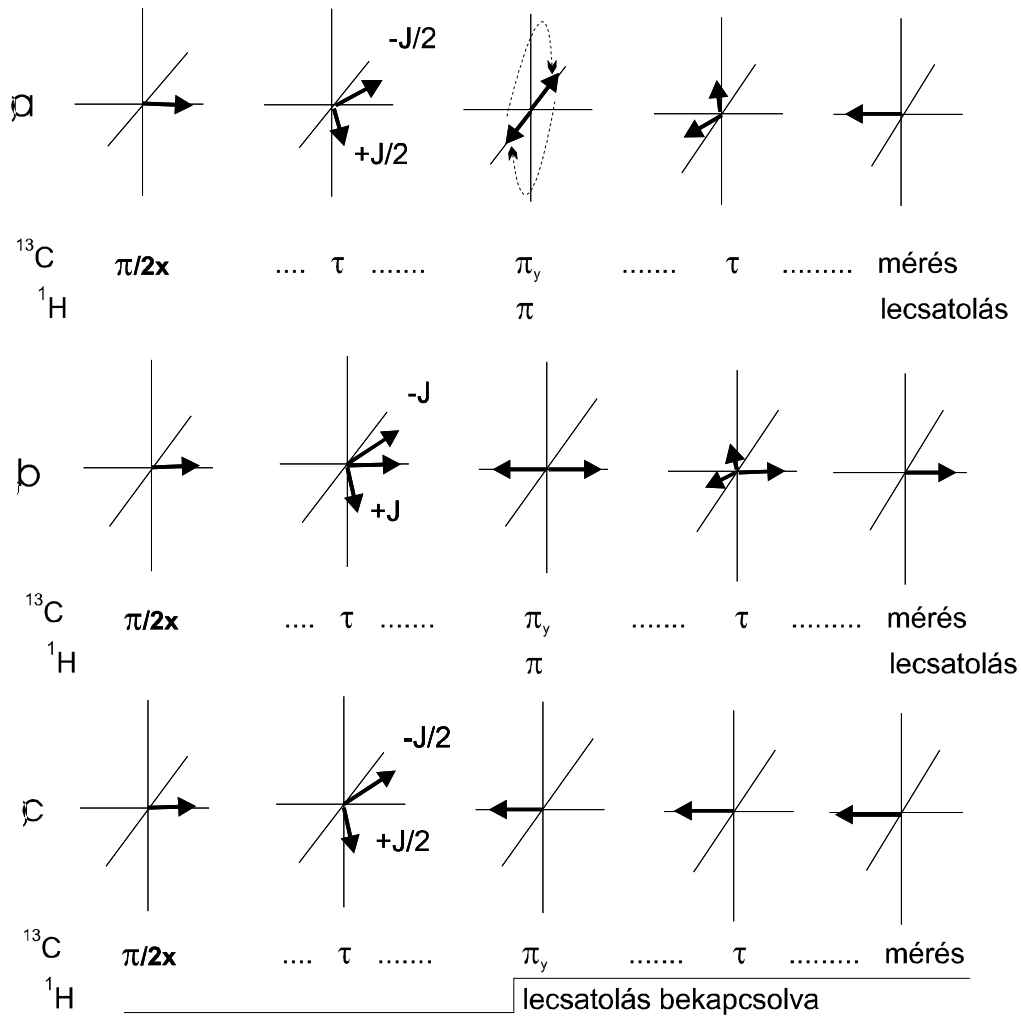
AX spinrendszer esetén a τ időszak első felében a dublett vonalai J_{AX} frekvenciakülönbséggel fognak egymástól távolodni, a második félszakasz végére azonban echo-t képeznek, mivel a π_y impulzussal egyidőben a másik csatornában alkalmazott π impulzus felcseréli a csatoló mag α, β állapotait is. (4.4.1.1a ábra). Az echo jel fázisa azonban fordított lesz, mivel a mágnesezettség a -y tengely mentén helyezkedik el τ végén.

\mathbf{AX}_2 spindrendszer esetén az \mathbf{A} jel triplett, ennek középső vonalára helyezve a vivő frekvenciát, a triplett másik két vonala ehhez képest fog mozogni (a szokásos forgó koordináta rendszerben), de most +/- \mathbf{J} -vel. Ezért félidőben antifázisú mágnesezettség jön létre, a τ idő végére pedig visszaáll a kiindulási helyzet (4.4.1.1b ábra). Mint látható τ idő eltelte után az \mathbf{AX} és \mathbf{AX}_2 jelek fázisa 180 fokkal fog különbözni, könnyen belátható, hogy egy \mathbf{X} rendszer (pl. egy kvaterner szén) jele az \mathbf{AX}_2 -vel, egy \mathbf{AX}_3 -é az \mathbf{AX} -ével lesz azonos fázisban.

Érdekes módon a τ időszak közepén a π_y impulzussal egyidőben bekapcsolt lecsatoló tér (4.4.1.1c ábra) azonos eredményt szolgáltat, mivel befagyasztja a multipliett vonalait abban az állapotban, ahogy a bekapcsolás időpontjában vannak.

A kísérlet **APT** (**A**ttached **P**roton **T**est) néven ismeretes az irodalomban. A hasonló célú proton-csatolt technikával vagy az "off-resonance" eljárással összehasonlítva lényegesen felülmúlja azokat, mind a felbontás mind az érzékenység tekintetében (hiszen itt proton lecsatolt felvételt kapunk).

Valójában mindig ezt a szekvenciát kellene alkalmazni, ha elég tömény a minta, hiszen minden szénről azonnal kiderül, hogy hány proton van hozzákötve, de lecsatolt spektrumot kapunk, tehát annyi információ van benn, mint egy normál 1D és egy DEPT spektrumban együttesen.



4.4.1.1 ábra. Spin-echo kifejlődése egy AX (a) és egy AX_2 (b) spinrendszer esetében, (mivel a szétterülés frekvenciája kétszeres az utóbbiban, a τ időszak végén létrejövő echo fázisa 180 fokkal eltér az AX echo-étól) valamint (c) egy alternatív megoldás (kapuzott lecsatolás) a J -modulációra (szintén az AX rendszer esetén) .

4.4.1.2. Spin-echo különbség spektrumok: a jelek fázisának fentebb bemutatott függése a heteronukleáris csatolási állandótól és a τ időtől egy igen érdekes szerkesztési "lehetőséget" nyújt a ^{12}C izotóphoz kötött protonoknak a ^{13}C -hez kötöttektől való megkülönböztetésére. A spin-echo különbség kísérletnek több előnyös tulajdonsága van, szelektíven kiválasztja a ^{13}C -hez kötött protonokat, ugyanakkor megtartja a teljes proton érzékenységet (eltekintve attól a jel csökkenéstől, amit a spin-echo alatti T_2^* relaxáció okoz). Kétségtelen ugyanakkor, hogy a

szóbajöhető másik megoldás, a fordított polarizáció-átvitel, jobb elnyomását adja a ^{12}C -hez kötött protonoknak, bár az alapérzékenysége kisebb.

A spin-echo esetében a kísérletnek azt a fordított változatát alkalmazzuk, amikor a proton a **detektált** mag és a szén a **lecsatolt** (mint már említettük ez a hardver lehetőség még nem általános a készülékeken, de a szélessávú heteromag lecsatolás megoldható szoftveres úton is az ún. összetett ("composite") impulzusok alkalmazásával). A különbségképzéshez két spektrumot (A és B) kell felvennünk az alábbi módon:

A:

^1H : $\left(\frac{\pi}{2}\right)_x \text{ --}\tau\text{ --}\pi_y \text{ --}\tau\text{ --mérés}$

^{13}C :

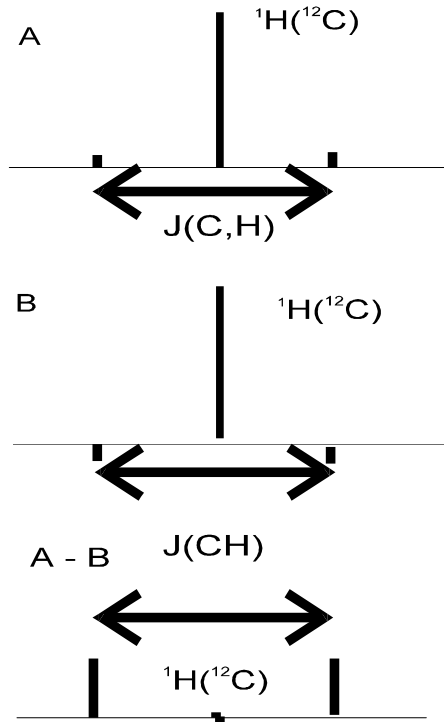
B:

^1H : $\left(\frac{\pi}{2}\right)_x \text{ --}\tau\text{ --}\pi_y \text{ --}\tau\text{ --mérés}$

^{13}C : lecsatolás

Az első szekvencia egy szokásos proton spektrumot fog szolgáltatni (4.4.1.2A ábra), hiszen a proton-szén csatolások is refókuszálódnak a kémia eltolódással és a proton-proton csatolásokkal együtt, mert a szén csatornában nincs π impulzus vagy azzal egyenértékű szén lecsatoló tér.

A másodikban azonban a ^{13}C magokhoz kötött protonok jelei nem refókuszálódnak a szélessávú szén lecsatoló tér félidőben történt bekapcsolása miatt, ezért ezek 180 fokos fáziseltéréssel, tehát átfordulva jelennek meg a spektrumban (4.4.1.2B ábra).



4.4.1.2 ábra

Differenciális spin-echo kísérlet

(a) normál AX rendszer $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ dublett és az $^1\text{H}(^{12}\text{C})$ szingulett jel

(b) a kapuzott lecsatolás megállítja a modulációt, ezért a csatolt pár fázisa ellentétes lesz az $^1\text{H}(^{12}\text{C})$ jelével

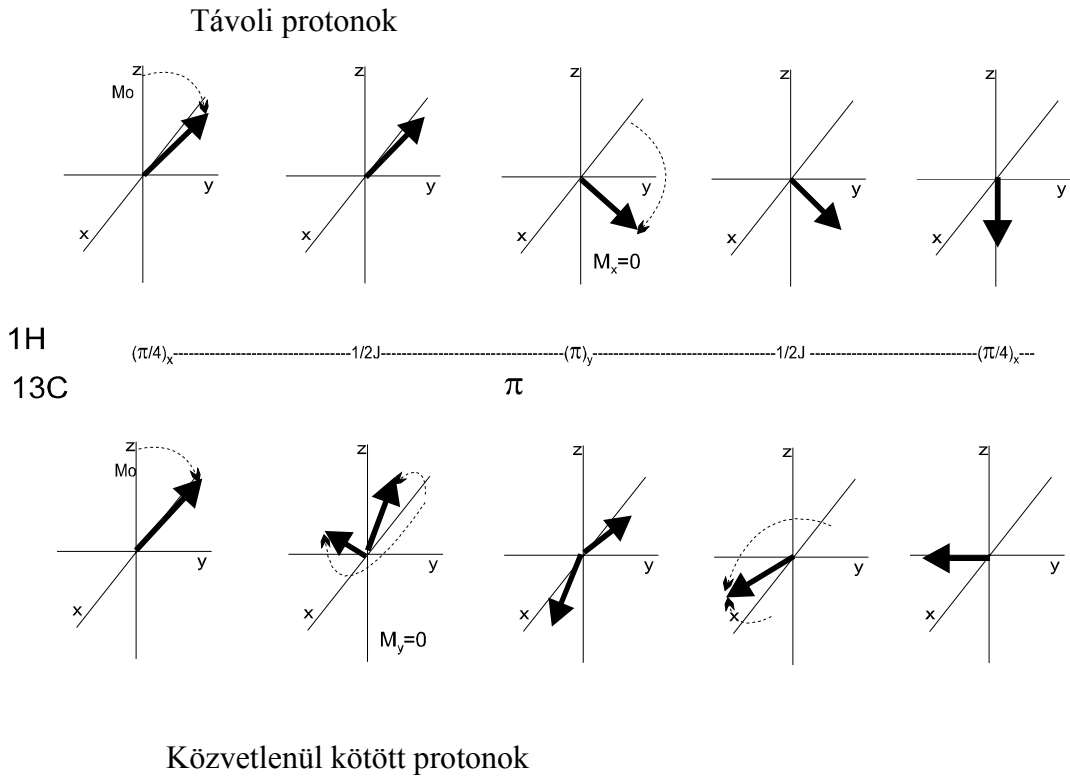
(c) a két spektrum különbsége A - B

A két spektrumot egymásból kivonva az azonos fázisú jelek törlik, az eltérőek erősítik egymást, az eredmény elvileg egy olyan spektrum, amely csak a ^{13}C magokhoz kötött protonok jeleit tartalmazza. A gyakorlatban nem igen várhatunk többet, mint a nem kívánatos $^1\text{H}(^{12}\text{C})$ csúcs intenzitásának néhány százszoros csökkenését, a kivonási maradék jel még mindig elég jelentős lehet, különösen, ha a ^{13}C izotópok csak természetes bőségben vannak jelen. Az elnyomás minőségét azonban jelentősen javíthatjuk, ha a kezdő $\pi/2$ impulzust egy ún. TANGO szekvenciával (amely maga is egy spin-echo) helyettesítjük. Ennek az a kellemes tulajdonsága van, hogy $\pi/2$ impulzusként hat az $^1\text{H}(^{13}\text{C})$ protonokra, de π impulzusként a többire, ezáltal az utóbbiak nem adnak vetületet az x-y síkban.

$$^1\text{H}: \left(\frac{\pi}{4}\right)_x \text{---}\tau\text{---}\pi_y\text{---}\tau\text{---}\left(\frac{\pi}{4}\right)_x$$

$$^{13}\text{C}: \pi$$

A eljárás működése az alábbi ábra alapján érthető meg.



4.4.1.3 ábra.

A TANGO szekvencia vektordiagramja. A szekvencia a távoli protonokra (${}^nJ_{C\dots H} = 2-10$ Hz) gyakorlatilag π impulzusként hat (ezek alig térülnek szét a viszonylag rövid τ idő és a kis csatolási állandó miatt, felső ábrásor), egy ${}^{13}\text{C}$ maghoz közvetlenül kötöttekre ($J_{\text{CH}} = 130-200$ Hz) pedig $\pi/2$ -ként hat (alsó ábrásor).

4.4.2 Heteronukleáris J-spektrum (HET2DJ)

Ha az ismertetett J-modulált spin-echo szekvenciában a τ értéket a $t_1/2$ változóval helyettesítjük, akkor a kétdimenziós **heteronukleáris J-spektrumhoz** jutunk.

$${}^{13}\text{C}: \quad \left(\frac{\pi}{2}\right)_x - \left(\frac{t_1}{2}\right) - \pi_y - \left(\frac{t_1}{2}\right) - \text{mérés}$$

$${}^1\text{H}: \quad \pi \quad \text{lecsatolás}$$

A t_1 időszak alatt a jel amplitúdója a **J** csatolási állandótól függően modulálódik, ezért az f_1 dimenzióban csak a multipliett szerkezete fog megjelenni, míg az f_2 -ben csak a kémiai eltolódások, mivel a mérés proton lecsatolás mellett történik. Amennyiben azonban a spinrendszer nem tisztán elsőrendű és ezért nem szimmetrikus, a nyert kép bonyolultabb lesz. Ha a proton π impulzus helyett a lecsatoló teret kapcsoljuk be félidőben (lásd 4.4.1.1c ábrát), a vonalak szétválása a csatolási állandó felének fog megfelelni, mivel csak fele idő alatt fejlődtek ki, de a teljes t_1 idő eltelik az akvizíció előtt.

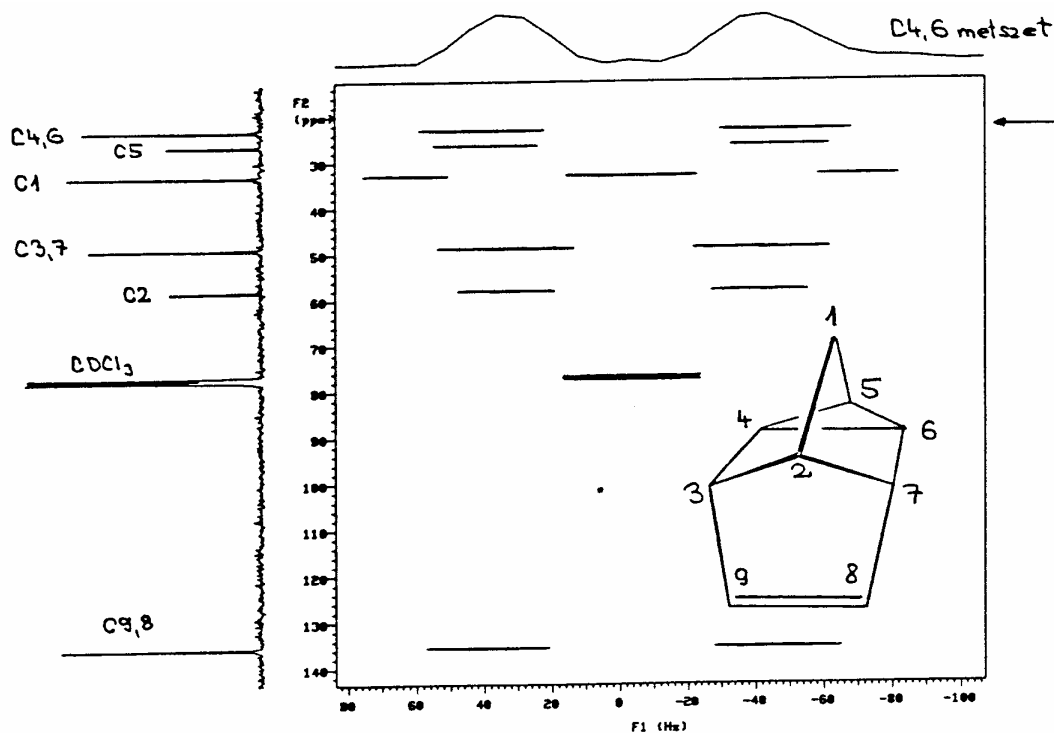
Két, némileg eltérő okból is használhatjuk a J-spektrumot, az egyik, amikor az erősen átfedő vonalak miatt az **1D** spektrumból nem kaphatók meg a pontos heteronukleáris csatolási állandók, ilyenkor jó felbontásra törekszünk az f_1 dimenzióban. A másik esetben nem a csatolási állandók pontos nagyságára, hanem csak a jelek multiplicitásának gyors meghatározására van szükség, ehhez lényegesen gyengébb f_1 felbontás is elegendő.

A **nagy f_1 felbontású** változatban az a ritka lehetőség adódik, hogy a multipliett vonalainak természetes vonalszélességét látjuk (**T₂** és nem **T₂***), hiszen a spin-echo refókuszálja a mágnes inhomogenitásból adódó hozzájárulásokat. Ehhez azonban finom digitális felbontás kívánatos az f_1 dimenzióban, és mivel **T₂** értéke elérheti a 10 másodpercet is, a méréshez meglehetősen sok t_1 adatpont felvétele szükséges. Mindezt figyelembevéve, valamint azt a tényt, hogy a szekvencia ismétlési idejét a **¹³C** relaxációs idők határozzák meg, nem meglepő, hogy a kísérlet érzékenysége elég alacsony. A jó f_1 felbontású spektrumhoz tehát

sok idő és memória szükséges, így csak akkor éri meg a "fáradtságot", ha más módon nem jutunk a keresett csatolási állandó értékekhez.

Amennyiben csak a 2-3 kötöses csatolási állandókra vagyunk kíváncsiak, a π impulzusnak egy BIRD-el való helyettesítésével ez is megoldható. Ez ugyanis átfordítja (invertálja) az egykötöses csatolás multipliettjeit, amelyek ennek következtében refókuszálódnak a t_1 időszak végére. A távolható csatolások ezzel szemben változatlanul modulálják a jelet t_1 alatt, s így megjelennek az f_1 dimenzióban. Ebben az esetben lényegesen csökken a szükséges f_1 tartomány is, ami jobb felbontást tesz lehetővé azonos idő alatt.

Az **alacsony f_1 felbontású** változat esetében a fő cél a szénhez kapcsolt protonok számának meghatározása. Erre példa a deltaciklén alábbi het2dj spektruma.



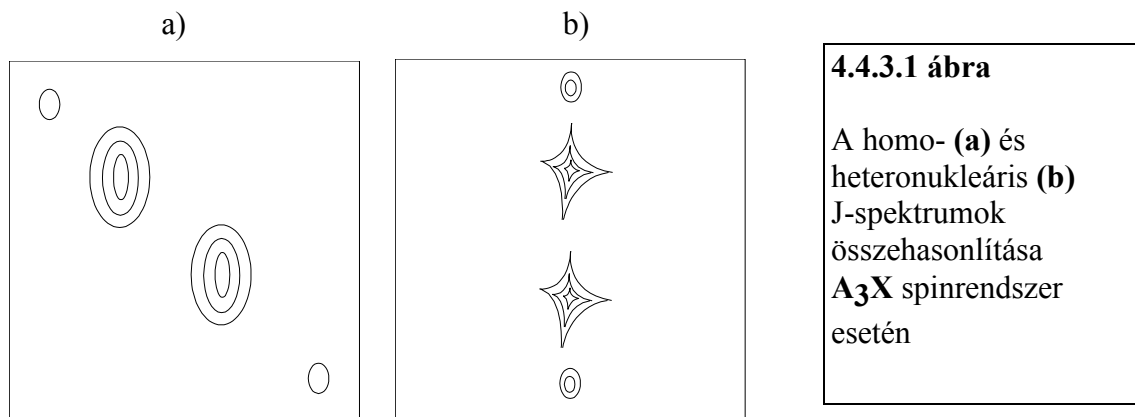
4.4.2.1 ábra A deltaciklén HET2DJ spektruma CDCl_3 -ban $20\text{ }^\circ\text{C}$ -on felvéve.

Körülmények: **f_2 dimenzió:** szén kémiai eltolódás, $t_2=0,5$ sec, tranziensszám=36, súlyzás = sine-bell (0,045 sec), spektrális ablak=11101 Hz. **f_1 dimenzió:** szén-proton csatolás, $t_1=0,06$ sec, spektrumszám=32, súlyzás = sine-bell (0,032 sec), spektrális ablak=500 Hz.

Mivel a szénjelek multiplicitásának meghatározására többféle lehetőségünk is van a választás csak akkor esik a heteronukleáris J-spektrumra, ha rövidebb idő alatt jó érzékenységgel dolgozik. Ehhez meg kell határoznunk azt a minimális számú t_1 inkrementumot¹³, amely még nem vezet a multipléttszerkezet elvesztéséhez.

4.4.3 Homonukleáris J-spektrum (HOM2DJ)

Amennyiben a spin-echo szekvenciát nem heteronukleárisan hanem homonukleárisan csatolt rendszerre alkalmazzuk, a jelenlévő homonukleáris csatolások befolyásolják t_1 alatt a jelet, hiszen ezek a csatolások nem refokuszálódnak t_1 végén. Ennek következtében meg fognak jelenni az f_1 dimenzióban egy 2D kísérlet esetén, de megjelennek az f_2 -ben is, hiszen nem tudunk az akvizíció alatt homo-lecsatolást alkalmazni. Mindez úgy jelentkezik a 2D spektrumban, hogy a csúcsok egy 45 fokos egyenes mentén helyezkednek el. A 4.4.3.1 ábrán a heteronukleáris és a homonukleáris kísérlet eredményét hasonlítjuk össze.



Ez egyrészt nem olyan lényeges hátrány, másrészt az adatok utólagos kozmetikázásával el is tüntethető (lásd alább "tilting").

Az eljárást azokban az esetekben célszerű alkalmazni, amikor az egymást átfedő multiplettek nem azonosíthatóak (pl. szteroidok 1H spektrumaiban) és/vagy ha a heteronukleáris csatolásokat meg akarjuk különböztetni a homonukleárisoktól. (Vagy egyszerűen csak igazolni akarjuk, hogy heteronukleáris csatolások is jelen vannak). Ugyanis a heteronukleáris csatolás miatt fellépő felhasadások úgy jelentkezik az f_2 dimenzióban, mint egy másik

¹³ t_1 növekedésének lépései.

"izomer" forma, amelyet a heteronukleáris csatolás választ el a párjától. Ezzel szemben az f_1 dimenzióban csak a homonukleáris csatolások jelennek meg. Erre a jelenségre jó példa a már ismert Rh-biszfoszfín komplex homonukleáris J-spektruma (lásd a 4.2.4 ábrát is, amely az 1D spektrumot is tartalmazza). A vegyületben jól mérhető $P...H$ csatolások várhatóak a biszfoszfín ligandumon belül, ugyanakkor a norbornadién protonok és a P atomok és vagy a Rh közötti csatolások sem kizártak. Mindezenekre vonatkozóan egyértelmű információval szolgál a **hom2dj** felvétel.

A spektrum az f_1 dimenzió utólagos 45 fokos elfordításával készült, aminek következtében az f_2 vetület (proton kémiai eltolódás) csak szinguletteket tartalmaz, ugyanis a multiplett vonalai ily módon egymás mögé sorakoznak fel. (Kivéve a másodrendűen csatolt protonok jeleit, ahol további csúcsok is megjelennek a csatoló magok között félúton, de a példavegyületben nem voltak ilyen csatolások). Ezt az eljárást nevezik az angol irodalomban "tilting"-nek. Az eredmény azonos azzal, amit nem is olyan régen (a 65. oldalon) lehetetlennek nyilvánítottunk, az f_2 vetület egy látszólag **szélessávuán proton-lecsatolt proton spektrum**. Mivel fázisérzékeny változat esetében a "tilting" bizonyos jelek törlődéséhez vezetne, az abszolút érték spektrumot jelenítjük meg, ami a szokásos felbontás növelő súlyzófüggvények (sine-bell) alkalmazását is magával vonja.

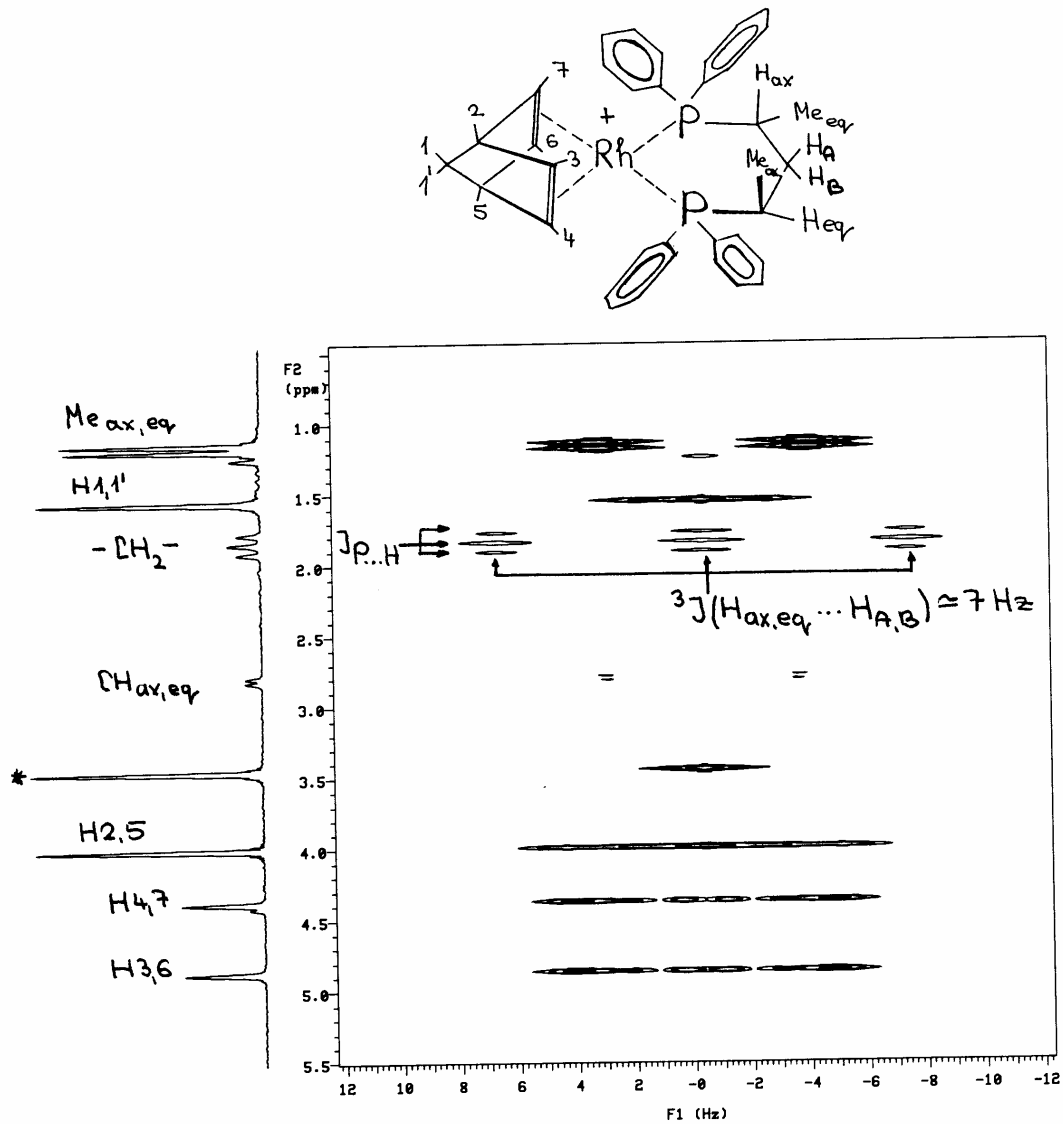
A bemutatott példa (4.4.3.2 ábra) egyben a **hom2dj** spektrumok másik, már említett, igen hasznos sajátosságát, nevezetesen a heteronukleáris csatolások jelenlétének egyértelmű igazolását is szemlélteti. Az f_2 vetületből közvetlenül leolvashatók a BDPP keláton belüli $P...H$ csatolási állandók, amelyek különben azonos nagyságrendűek a vicinális proton-proton csatolásokkal, így megkülönböztetésük nem lehetséges egy egyszerű **1D** spektrum alapján. ($^3J(P..Me)=13$ Hz, $^3J(PCCH_{ax,eq})=19$ Hz, és $^2J(PCH)=9$ Hz).

Például ahhoz, hogy a metin proton csatolását a foszforhoz egyértelműen azonosítani tudjuk egyidejűleg kellene a metil és metilén protonokat szelektíven telíteni.

A norbornadién protonok nem mutatnak mérhető felhasadást a foszforral vagy a Rh -mal történő csatolás miatt. Ugyanakkor az f_2 vetületben nincsenek virtuális¹⁴ csatolásra utaló felhasadások sem.

¹⁴ AXX' spinrendszerek.

Mivel a proton spektrum gyakorlatilag elsőrendű, csak a kémiai eltolódásoknál találhatóak vonalak az f_2 dimenzióban.



4.4.3.2 ábra A $[\text{Rh}(\text{S})\text{BDPP},\text{NBD}]^+$ komplex homonukleáris J-spektruma (HOM2DJ). Felvételi körülmények: f_2 dimenzió = ^1H kémiai eltolódás, spektrális ablak=2300 Hz, 4 tranziens, $at_2=3$ sec, súlyzófüggvény=sine-bell(0,111 sec). f_1 dimenzió = proton - proton csatolások, ablak = 50 Hz, t_1 inkrementumok száma = 64, $at_1=1,2$ sec, súlyzófüggvény=sine-bell (0,64 sec), teljes felvételi idő, 25 perc, CDCl_3 -ban, 20°C -on.

Ajánlott irodalom:

1. Andrew E. Derome: **Modern NMR Techniques for Chemistry Research**, Pergamon Press, Oxford, 1987. Chp. 10.
2. **Spin-echo**: R.Freeman, T.H.Mareci and G.Morris, **J.Mag.Res.**, 42, 341 (1981)
3. **TANGO** szekvencia: S.C.Wimperis and R.Freeman, **J.Mag.Res.**, 58, 348 (1984)

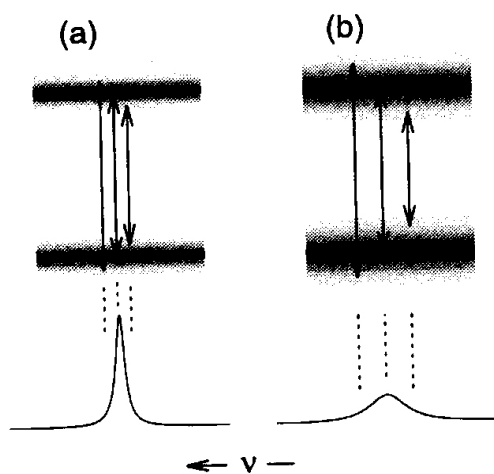
5. A dinamikus NMR jelenség

A NOE méréseknek és a csere-spektroszkópiának közös vonása, hogy mindkettőben a longitudinális mágnesezettség változik, ezt mind 1D, mind 2D módszerekkel lehet követni. Ezért van az, hogy mind a tranziens NOE mérésre alkalmazott 1D szekvenciák, mind a NOESY eljárás alkalmasak sebességi állandók, k [s^{-1}] meghatározására is.

A NOESY és EXchange SpectroscopY elnevezések pontosan ugyanazt az eljárást takarják, amelyet már korábban (3.3 fejezet) ismertettünk, ezért ennek részleteire nem térünk ki. Foglalkozni érdemes azonban a két jelenség eltérő vonásaival, mert ezek ismerete szükséges a megfelelő paraméterek beállításához.

A legalapvetőbb különbség, mint már említettük, hogy míg a NOE effektusok időskáláját a T_1 relaxációs idők szabják meg, addig a cserefolyamatok sebessége jóval szélesebb tartományban változhat. Az NMR időskála nem is képes a teljes tartományt átfogni. A folyamatnak olyan sebességűnek kell lenni, hogy az NMR időskálán lassú legyen, azaz elkülönült jeleket eredményezzen. Ugyanakkor nem lehet detektálni túlságosan lassú változásokat sem (valaminek történni kell a T_1 időállandó által kiszabott időparcellán belül). A cseresebességi állandónak a relaxációs időállandó reciprokával kell kb. összemérhetőnek lenni ($k \geq 1/T_1$). A gyakorlatban ez 10^2 és 10^{-2} közötti k értékek mérését teszi lehetővé. Az egyes állapotok élettartama, τ a cseresebességi állandó, k [s^{-1}] reciprokával egyenlő.

$$\tau = 1/k$$



5.1 ábra. A spin-állapotok véges időtartamának hatása az NMR jelek félérték-szélességére.

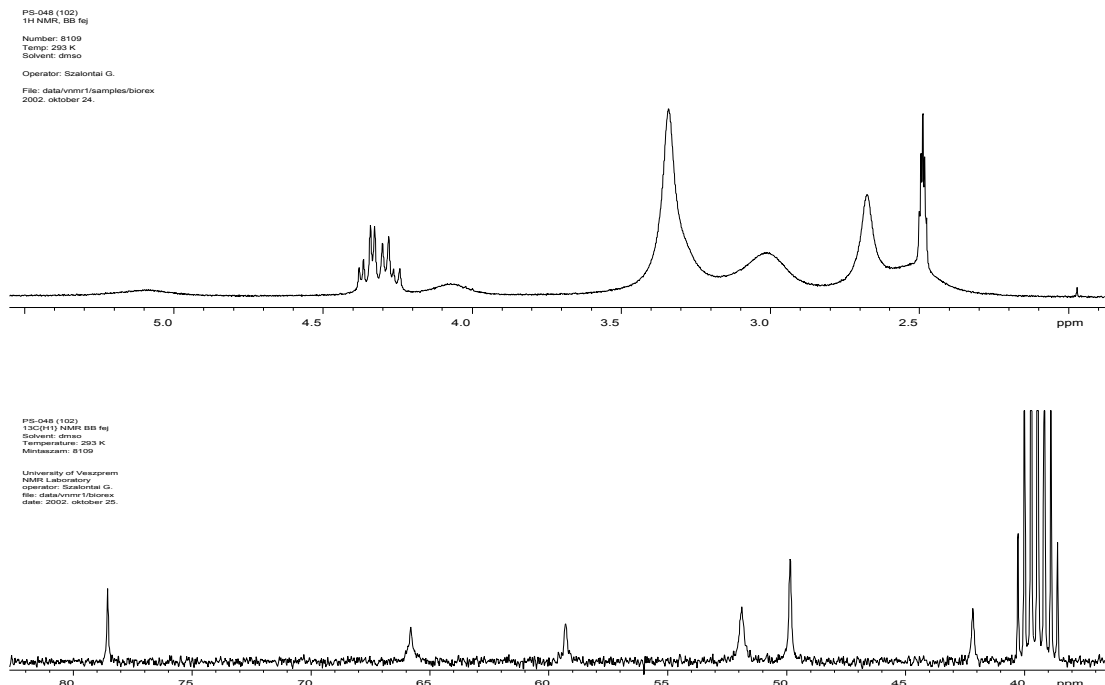
(a) csere nélküli állapot, csak T_2 által meghatározott

(b) csere által megszélesített jelek (egy véges időtartamú állapot energiája nem határozható meg pontosan)

A csere lehetséges hatásai az NMR spektrum vonalaira: három alapeset különböztethető meg az állapotok élettartama, τ és a köztük lévő kémiai eltolódáskülönbség, $\Delta\nu = \nu_A - \nu_B$ aránya alapján.

- (a) **lassú** csere: sávfélérték-növekedés, $\Delta\nu$ lép fel,
 $\tau \gg 1/(\nu_A - \nu_B)$ $\Delta\nu = k/\pi = 1/\pi\tau$
- (b) **közepes** csere: sávösszeolvadás és sávfélérték-növekedés következik be,
 $\tau \approx 1/(\nu_A - \nu_B)$ $k = \pi(\delta\nu)/\sqrt{2} \approx 2,2\delta\nu$
 (a teljes összeolvadás (**koaleszcencia**) közelében)
- (b) **gyors** csere: sávösszeolvadás, de már félérték-növekedés nélkül!
 $\tau \ll 1/(\nu_A - \nu_B)$ $\Delta\nu = \pi(\delta\nu)^2/2k = \tau(\delta\nu)^2/2$
 ahol $\delta\nu = \nu_A - \nu_B$

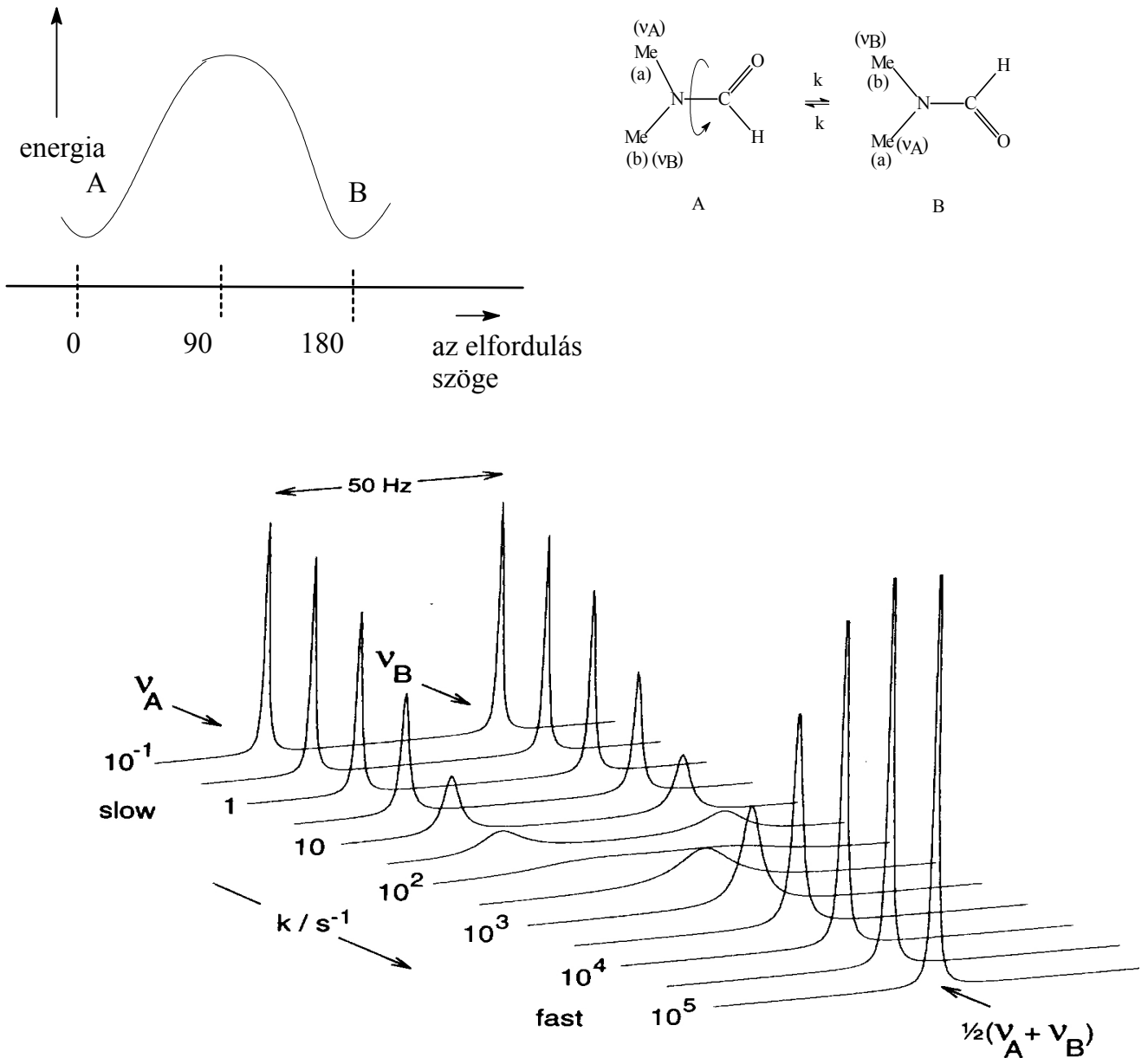
Miután a kémiai eltolódáskülönbség erősen függ a vizsgált magtól, az egyes magok "időablakai" is eltérnek. Ez a jelenség gyakran kedvezően használható ki a spektrumértelmezésben is. Például ugyanazon folyamatot vizsgálva az ^1H spektrumok gyakran mutatnak a **közepes** cserére jellemző sajátosságokat (igen széles, elmosódó jelek), a megfelelő szén spektrumok viszont azonos hőmérsékleten felvéve gyakran esnek már a **lassú** csere tartományába, ahol könnyebben értelmezhetőek a jelek.



5.2 ábra. Ugyanazon cserefolyamat tükröződése az ^1H (fenn) és ^{13}C (lenn) NMR spektrumokban. Míg a szénspektrum egyértelműen a lassú csere tartományában van, az ^1H spektrum legtöbb jele koaleszcenciát mutat. $T=293\text{K}$ mindkét esetben.

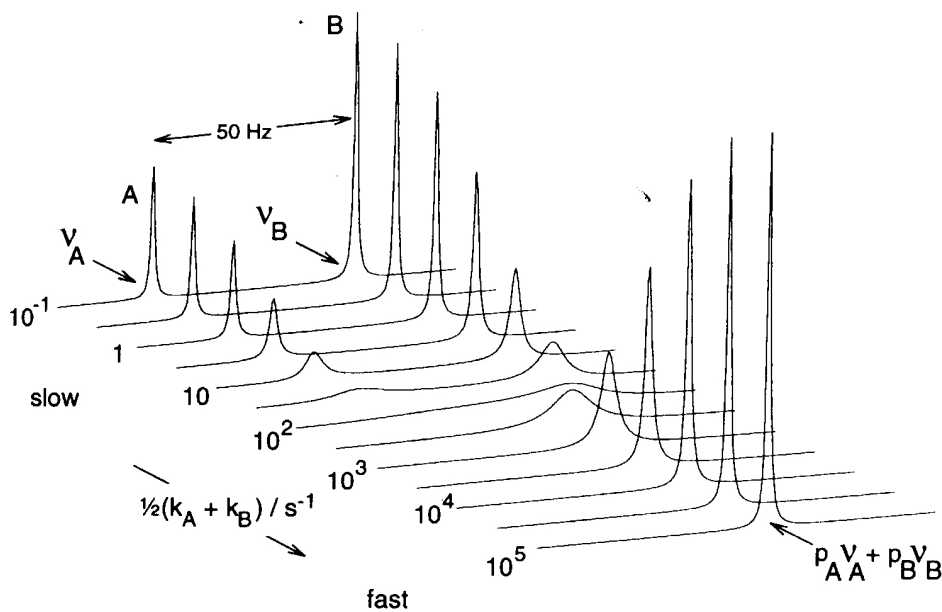
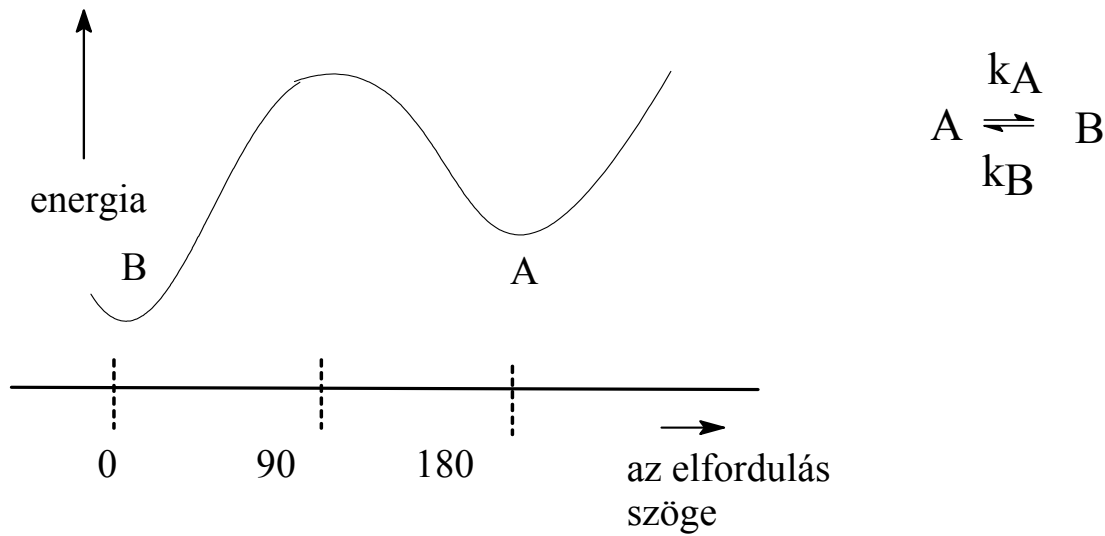
Természetesen hasonló függést mutathatnak a jelek a külső tér, B_0 nagyságától is.

Csere két azonos energiájú állapot, A és B között (iskolapélda: N,N-dimetilformamid)



5.3 ábra. Csere két azonos energiájú állapot között. Az összeolvadt jelek helye az eredeti frekvenciák (ν_A és ν_B) számtani átlagánál lesz. A két jel félérték-szélessége azonos mértékben változik. A csere-sebességi állandó, k értéke hőmérsékletfüggő spektrumok felvételével meghatározható (sávalakanalízis).

Csere két eltérő energiájú állapot, A és B között:

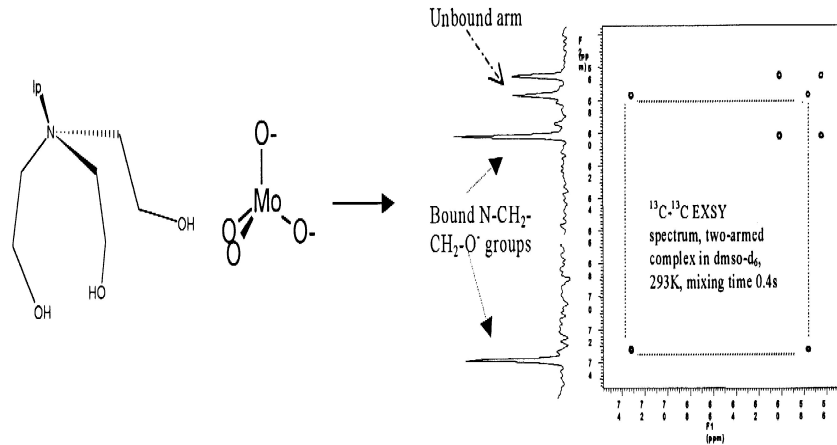


5.4 ábra. Az összeolvadt sávok helye az eredeti frekvenciáknak (ν_A és ν_B) a két állapot betöltöttségével (p_A és p_B) súlyozott számtani átlagánál lesz. A két jel szélessége nem azonos mértékben változik eltérő élettartamuk miatt! A cseresebességi állandók, k_A és k_B értékei hőmérsékletfüggő spektrumok felvételével meghatározhatóak. Egyensúlyban $p_A k_A = p_B k_B$.

Az EXSY kísérlet alkalmazásai: mint említettük a szekvencia azonos a NOESY esetében ismertetettel,

$$\left(\frac{\pi}{2}\right) - t_1 - \left(\frac{\pi}{2}\right) - \tau_m - \left(\frac{\pi}{2}\right) - t_2 \text{ (akvizíció)}$$

a legfontosabb paraméter az utolsó impulzus elé beiktatott τ_m (keveredési vagy "mixing" idő) szünet. A harmadik $\pi/2$ impulzus a τ_m alatti változásokat tartalmazó M_z vektort fordítja az x - y síkba, ez szolgáltatja mérendő jelet. A sikeres kísérlet feltétele τ_m helyes megválasztása. Pusztán minőségi célú vizsgálatok esetén a maximális keresztcsúcs intenzitás eléréséhez $\tau_m = 1/k$ lenne célszerű, ehhez persze meg kell becsülnünk k értékét, ami nem kézenfekvő. Ha viszont k értékének pontos meghatározása a cél, két lehetőségünk van.



5.5 ábra. Trietanolamin és a molibdát anion egyensúlyi reakcióinak vizsgálata $\text{dms}\text{-d}_6$ -ban. ^{13}C - ^{13}C korrelációk kimutatása, keveredési idő 0,4 másodperc.

Az egyik egy sorozat EXSY spektrum felvétele változó τ_m értékek mellett. Az értékelés során a csere-keresztcsúcsok intenzitás-növekedésének lineáris szakaszának meredekségéből határozzuk meg k -t. Hátránya a nagy időszükséglet.

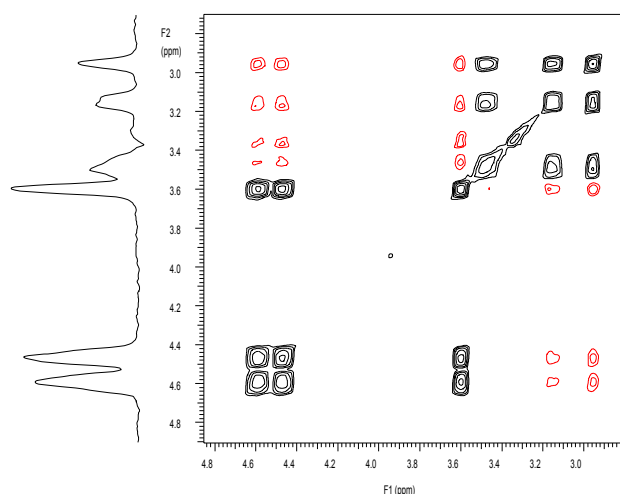
A másik megoldás csak egy EXSY spektrum felvételén alapul, itt a diagonális és keresztcsúcsok intenzitás-arányaiból számolja ki a sebességi állandót két-oldalú csere esetében. Világos, hogy csak akkor szolgáltathat jó eredményt, ha helyesen becsültük meg τ_m értékét. Több cserepartner esetén számítógépes szimuláció szükséges az összes k érték pontos meghatározásához.

A hőmérsékletfüggő mérések általában -100 és $+200$ fok közötti tartományban végezhetők el biztonságosan és persze a használt oldószer és a minta oldhatósági viszonyainak gondos mérlegelésével.

Gyakran nem érhető el hogy a "közepes" tartományból a cserét a "lassú" tartományba toljuk el, ekkor is megvan az a lehetőségünk, hogy a mért sávszélesedésekből számoljunk k értékeket (számítógépes sávalak- analízis).

Ha nem tudunk a “gyors” csere tartományából kijönni, gyakorlatilag tehetetlenek vagyunk, a folyamatok sebessége nem befolyásolja még a jel félérték-szélességeket sem, tehát meg sem határozható.

A nem túlságosan lassú, de már jelszélesség változást nem okozó folyamatok azonban detektálhatóak a kérdéses jelek **szелеktív átfordításával** és a teljes spektrum változó τ idővel későbbi felvételével¹⁵.



5.6 ábra. Ugyanazon minta ^1H - ^1H EXSY (NOESY) spektruma: a piros színű keresztcsúcsok NOE korrelációkat jeleznek, a feketék pedig a cserélődő környezeteket jelölik ki. Az eltérő színek 180 fokos fáziskülönbségű jeleket jelölnek, ezek alapján a pozitív NOE tartományban megkülönböztethetőek egymástól a NOE és a csere keresztcsúcsok.

¹⁵ Longitudinális mágnesezettség-átviteli kísérletek, lásd J.J.Delpuech könyvét.

Felhasznált és ajánlott angol nyelvű irodalom:

J.P.Hore, **Nuclear Magnetic Resonance**, Oxford Science Publications, Oxford, 1995.

R.K.Harris, **Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, A Physicochemical View**, Pitman Books Lim., London, 1983

M.H.Levitt, **Spin-Dynamics: Basics of Nuclear Magnetic Resonance**, Wiley, Chichester, 2001

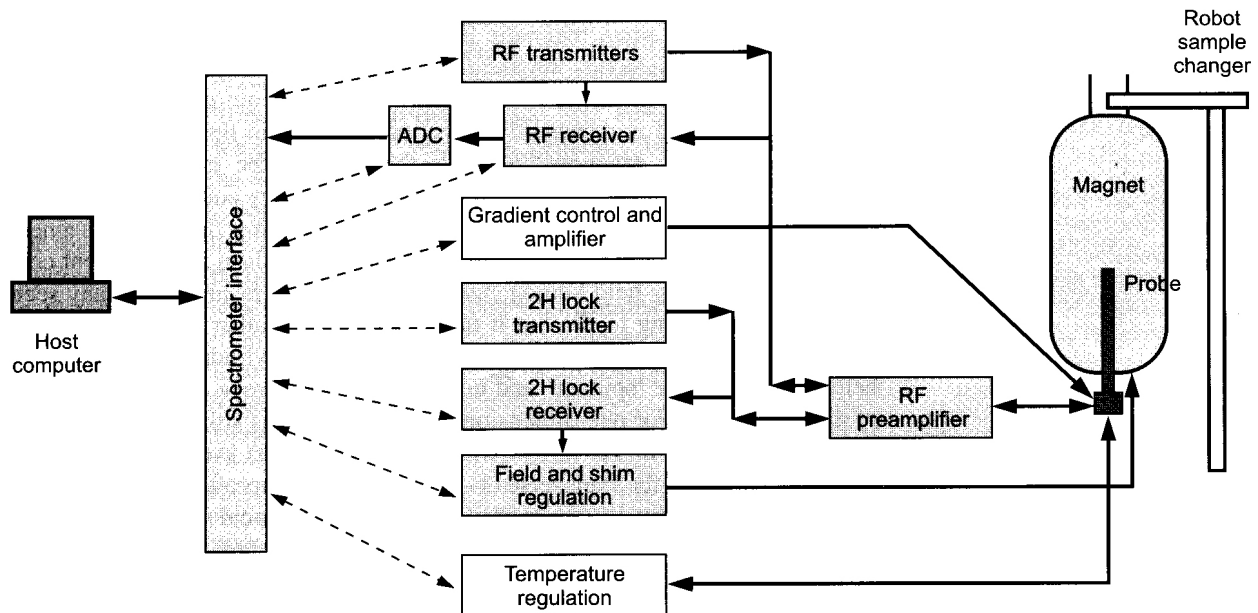
M.Jackmann, F.A.Cotton (eds), **Dynamic Magnetic Resonance Spectroscopy**, AP, London, 1975.

J.J.Delpuech (ed). **Dynamic of Solution and Fluid mixtures**. Wiley & Sons, Chichester, 1995.

6. Gyakorlati NMR spektroszkópia

Rohamosan nő azon vegyész, vegyészmérnök, anyagszervező és biológus kollégák, diákok és doktoranduszok száma, akik nemcsak a kész spektrumokat értékelik, hanem készítik is azokat. Ez a fejezet tehát elsősorban azokhoz szól, akik maguk is gyakori használói egy korszerű NMR spektrométernek vagy azzá szeretnének válni. Az NMR sajnos nagyon drága technika, ezért a műszeridő jó kihasználása mindenütt alapvető érdek.

6.1 A készülék: napjainkban szinte kizárólag, Fourier-transzformációs, impulzus-üzemű, térgradiensekkel felszerelt, szupravezetős mágnesű, nagytérerejű (4-21 T) műszereket alkalmaznak. Egy ilyen készülék működési vázlatát mutatja az alábbi ábra.

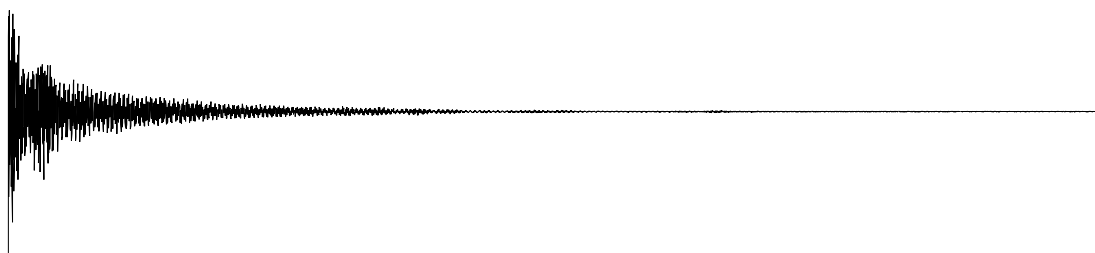


6.1 ábra. Impulzusüzemű Fourier transzformációs NMR spektrométer, működési vázlat. Receiver= jelfogó, transzmitter=jeladó, preamplifier = előerősítő, probe= mérőfej.

6.2 Mérés és adatfeldolgozás

Impulzus üzemód: általában nagyteljesítményű, de igen rövid ideig tartó, monokromatikus sugárzást alkalmaz. A Heisenberg féle bizonytalansági elv alapján polikróm sugárzást fogunk észlelni, amelynek tartománya (a gerjeszhető spektrális ablak szélessége) az impulzus hosszával fordítottan arányos ($\Delta\nu = 1/\Delta t$). Szelektív besugárzás érhető el, ha Δt -t és a

teljesítményt csökkentjük. A forgó mágnesezettség, M_0 analóg feszültségjeleket gerjeszt a tekercsben (ez az ún. F.I.D. **F**ree **I**nduction **D**ecay).



Az analóg jeleket először digitális jellé kell alakítani, amit az analóg-digitális átalakítók (ADC) végeznek el.

Dinamikus tartomány: fontos tulajdonsága ezen átalakítóknak az a tartomány amelyen belül közelítőleg lineárisan erősítik a legkisebb és a legnagyobb jelet is, ez a használt szóhosszal (8-16 bit) jellemezhető.

Az analóg jel mintavételezése: ha lehet, még fontosabb tulajdonságuk a mintavételezési sebesség, hiszen ez szabja meg, hogy milyen széles ablakot lehet nyitni a méréshez (100 000-250 000 Hz). Ha a kiválasztott tartományon kívül is vannak jelek, ezek “befordulnak” az ablakon belülré, rossz eltolódási értéket és rossz (nem korrigálható) fázist mutatva. Ennek elkerülésére mindig szem előtt kell tartani az ún. Nyquist féle mintavételezési kritériumot, amely szerint a mintavételezés sebessége, DW (**D**well Time) és spektrális ablak, SW szélessége között az alábbi összefüggés álljon fenn.

$$DW=1/2SW^{16}$$

Néhány olyan mag esetében, amelyből kevés van egy molekulában és meglehetősen nagy kémiai eltolódástartománnyal bírnak (^{31}P , ^{19}F , vagy a ^{195}Pt), ezek az átfordult jelek gyakran okoznak fejtörést a kezdő spektruskópusoknak, különösen, ha külső referenciát alkalmaznak. A spektrális ablak vagy a hordozó frekvencia (az ablak közepe kvadratur detektálás esetén) léptetésével azonban azonosíthatóak illetve “helyretehetőek” ezek a jelek.

Zajszűrés: analóg vagy, mostanában már digitális megoldású lehet. Cél a kiválasztott mérési tartományba kívülről beszűrődő zajok (az elektromos zaj frekvenciája bármilyen lehet) kiszűrése. A megoldás sáváteresztő (bandpass) szűrők alkalmazása az analóg-digitális átalakító előtt. A legtöbb szoftver automatikusan hozzáállítja a szűrőszélességet a kiválasztott spektrális ablakhoz.

¹⁶ Bruker elnevezések. Azonos paraméterre vonatkozó rövidítések eltérhetnek a gyártó cégtől függően.

Fázisállítás: általában két paraméter elégséges (1D felvételek esetén), ezek egyike frekvenciafüggetlen korrekciós tényező (akkor jön létre, ha a mért jel fázisa eltér a referencijel fázisától) és egy másik, frekvenciafüggő, amely lineárisan változik a kérdéses jelnek a hordozótól való távolsággal (a nagyobb frekvenciájú jelek nagyobb távolságot tesznek meg a detektálás megkezdéséig). A fázisérzékeny detektálással¹⁷részletesebben foglalkozunk a 2. fejezetben.

Utólagos adatkezelések (súlyzás, szűrések, lineáris predikció): a legtöbb ilyen manipuláció az idő tartományban történik, mert a Fourier transzformáció nem változtat az időtartományban (a FID-en) végzett beavatkozásokon.

Súlyzófüggvények alkalmazása: két okunk lehet erre, vagy a felbontást akarjuk javítani (természetesen a jel/zaj viszony rovására), vagy fordítva a jel/zaj viszonyt a felbontás rovására. A gyakorlatban ez a FID minden egyes pontjának megszorzását jelenti egy másik amplitúdó-ido függvénnyel. Az egyes szoftverekben a legkülönböztetebbet súlyzófüggvények állnak rendelkezésre és továbbiak is teremthetők tetszés szerint. Nagyon lényeges viszont, hogy az abszolútérték (pl. szinusz görbe) és a fázisérzékeny (pl. Gauss görbe) spektrumok eltérő tulajdonságú súlyzásokat igényelnek.

Utólagos adatfeltöltés (zero-filling): ez az eljárás a mérési idő utólagos, mesterséges meghosszabbítását jelenti (nullákat írunk a mért FID utolsó pontja mögé), ami mérhető felbontásnövekedést okoz.

Lineáris predikció: itt viszont a mért FID egy szakaszából következtetünk a kijelölt szakasz előtti vagy utáni részre, ezzel megszüntethetőek az első néhány adatpont torzulásaiból adódó alapvonal hullámzások, és felbontás javítás érhető el, ha ilymódon nem nullákkal, hanem számolt (a mért pontok alapján megjósolt) értékekkel növeljük meg a FID-et.

Alapvonaljavítások, integrálás: az egyes jelterületek pontos ismerete mind a minőségi mind a mennyiségi értékelésben döntő fontosságú. Pontos integrálokat csak jó (sima) alapvonalú spektrumokból lehet nyerni (ez nem mindig érhető el a teljes spektrumra, esetenként célszerű kisebb széthúzott részleteket külön integrálni), ilyenkor a jó digitális felbontás alapkövetelmény. A mennyiségi értékelésben természetesen nagyon fontos az egyes magok eltérő relaxációs ideinek figyelembevétele is. Míg a proton spektrumok esetében általában nem okoz nagyobb hibát ennek elhanyagolása, a szén vagy foszfor spektrumokban a relaxációs szint különbségek igen jelentősek lehetnek.

¹⁷ Lásd még D.Traficante vonatkozó közleményeit a további irodalomban.

Felhasználói szoftverek: minden műszergyártó gyártó cég törekszik arra, hogy az összes lehetséges felhasználó igényét kielégítse, ezért a kutatási célú készülékek is rendelkeznek olyan programcsomagokkal, amelyek célja a gyakorlatlan felhasználók kiszolgálása. Ugyanakkor általában lehetőséget teremtenek arra is, hogy a gyakorlott felhasználók könnyen módosíthassák a gyári eljárásokat, illetve újakat tudjanak létrehozni.

A felhasználók körének rohamos kiterjedésével növekszik a szabad hozzáférésű adatfeldolgozó programok (pl. MestreC) használata személyi számítógépeken is, illetve azok hálózatán keresztül. Ily módon gyakran azok is “mérésközelpbe” jutnak, akik be sem teszik a lábukat az NMR laboratóriumba, mert ebben a rendszerben a nyers mérési adatokat bocsátják rendelkezésre és a további adatfeldolgozást mindenki maga végzi. Ehhez viszont elengedhetetlenek bizonyos technikai és méréselméleti ismeretek, ami korábban nem volt így.

6.3 Mintaelőkészítés

Oldatválasztás: a legfőbb kritérium természetesen az, hogy a kívánt mennyiség maradék nélkül feloldódjon. A következő szempont az a hőmérséklet tartomány, ahol a méréseket végezni kívánjuk. Mind a nagyon alacsony, mind a nagyon magas tartomány problémát jelenthet az oldószerek fagyási és forrási hőmérséklete miatt. Nincsen olyan oldószer, amely alkalmas volna a teljes tartományban (-100 és +200 °C között), ezért általában eltérő oldószereket alkalmazunk (0-90 °C: metanol, diklórmétán, 10-170 °C: dmsó, toluol). Figyelemmel kell ilyenkor lenni a oldhatóságok hőmérsékletfüggésére is. Az oldószer viszkozitása szintén nagyon fontos, lényeges különbségek vannak, pl. a kloroformban és dmsó felvett szén spektrumok vonalintenzitásaiban az eltérő molekuláris mozgások okozta relaxációs idő különbségek miatt. A legtöbb oldószer tartalmaz valamilyen szennyezést, ami különösen alacsony töménység esetében lehet kellemetlen. A dmsó jelentős víztartalma az egyik legnagyobb gond, de még a nagyon “felvizesedett” dmsó-k is kiválóan használhatók szén vagy foszfor felvételekhez. Feltéve persze, hogy a vizsgálandó minta nem kényes a víztartalomra. Ugyanakkor a dmsó-ban felvett proton spektrumok gyakran informatívabbak a kloroformos felvételeknél, pl. a mozgékony protonok csatolásai gyakran láthatóvá válnak még számottevő víztartalom esetén is. Mint az közismert leggyakrabban deuterált oldószereket alkalmazunk és a deutérium jel szolgáltatja a frekvencia/tér stabilizáláshoz szükséges jelet. Emiatt nem árt, ha ez a jel erős és éles, különösen, ha alacsony hőmérsékleten vagy tömény mintán mérünk.

A legtöbb NMR felvétel kloroformban vagy dmsó-ban illetve ezek keverékében készül. Természetesen a biológiai alkalmazások esetén elsősorban vizes oldatokkal dolgoznak, ami, fontossága miatt, a nagy oldószerjelek elnyomására szolgáló eljárások (pl. szelektív telítés, gradiens-spektroszkópia, stb.) tucatjainak kifejlesztéséhez vezetett.

Végezetül feltétlenül megemlítendő, hogy eltérő oldószerekben némileg (néha nagyon) eltérő spektrumokat kapunk, ez gyakran nagy segítséget jelent az értelmezésben, ezért bármi kétség esetén érdemes legalább két, lehetőleg erősen eltérő oldószerben (pl. CDCl_3 és D_6D_6) készíteni felvételeket.

Referencia vegyületek¹⁸: minden magnak megvan az elfogadott javasolt referencia vegyülete, némelyiknek több is, ha nem egységes az irodalom. Napjainkban azonban többnyire nem tesszük bele a referencia anyagot a mintacsőbe, hanem külön mérjük meg a referencia vegyület spektrumát és utána azonos paraméterek mellett vesszük fel a minta spektrumát. Ez természetesen némileg a pontosság rovására megy, de a az előnyök (egyszerűség, a minta visszanyerhetősége) kiegyenlítik ezt a hátrányt. Ahol ez lehetséges (pl. ^1H , ^{13}C) ott az oldószerjeleket használjuk referenciaként.

Oldattérfogat: 5 mm-es csőátmérő esetén kb. 0,5 (Bruker) és 0.7 (Varian) ml az ajánlott térfogat, célszerű pontosan azonos térfogatú mintákat készíteni, így kevesebb homogenitásállítási problémánk lesz.

Szűrés, gázmentesítés, paramágneses szennyezők: a minta lehetőleg ne tartalmazzon semmilyen szilárd szennyezést, általában is, de NOE kísérletek esetén különösen, javasolt a lehetséges paramágneses szennyezők (pl. az oldott oxigén) eltávolítása.

6.4 A spektrométer előkészítése a méréshez

Mérőfej választás: az egyik leglényegesebb kérdés a feladathoz leginkább megfelelő mérőfej kiválasztása. Szempontok: a mérendő mag(ok) frekvenciája, érzékenysége, ennek függvényében a rendelkezésre álló minta mennyisége, oldhatósága és a mérés hőmérséklete. Ma már nagyon sokféle mérőfej van, vannak olyanok, amelyek csak egy (két) frekvencia mérésére alkalmasok, de ezekre nézve igen jó az érzékenységük. A legelterjedtebbek a kétcsatornás ún. szélessávúan hangolható fejek, amelyek a rögzített (nem vagy csak alig hangolható csatorna) proton frekvencián kívül, nagyon széles frekvencia tartományban

¹⁸ Lásd pl. R.K.Harris közleményét SOLID STATE NMR, 22, 458 (2002).

hangolhatóak a másik csatornán. A modernebb készülékeken már olyan fejeket találunk, amelyek két vagy három azonos csatornával rendelkeznek, tehát tetszés szerint választható ki bármely mag besugárzásra vagy lecsatolásra. Végül egyre gyakrabban alkalmaznak olyan fejeket, amelyeken 3-4 mag (pl. ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P) kiválasztása és hangolása automatikusan (kézi hangolás nélkül) végezhető el, ezzel nagymértékben növelhető a készülékek kihasználtsága.

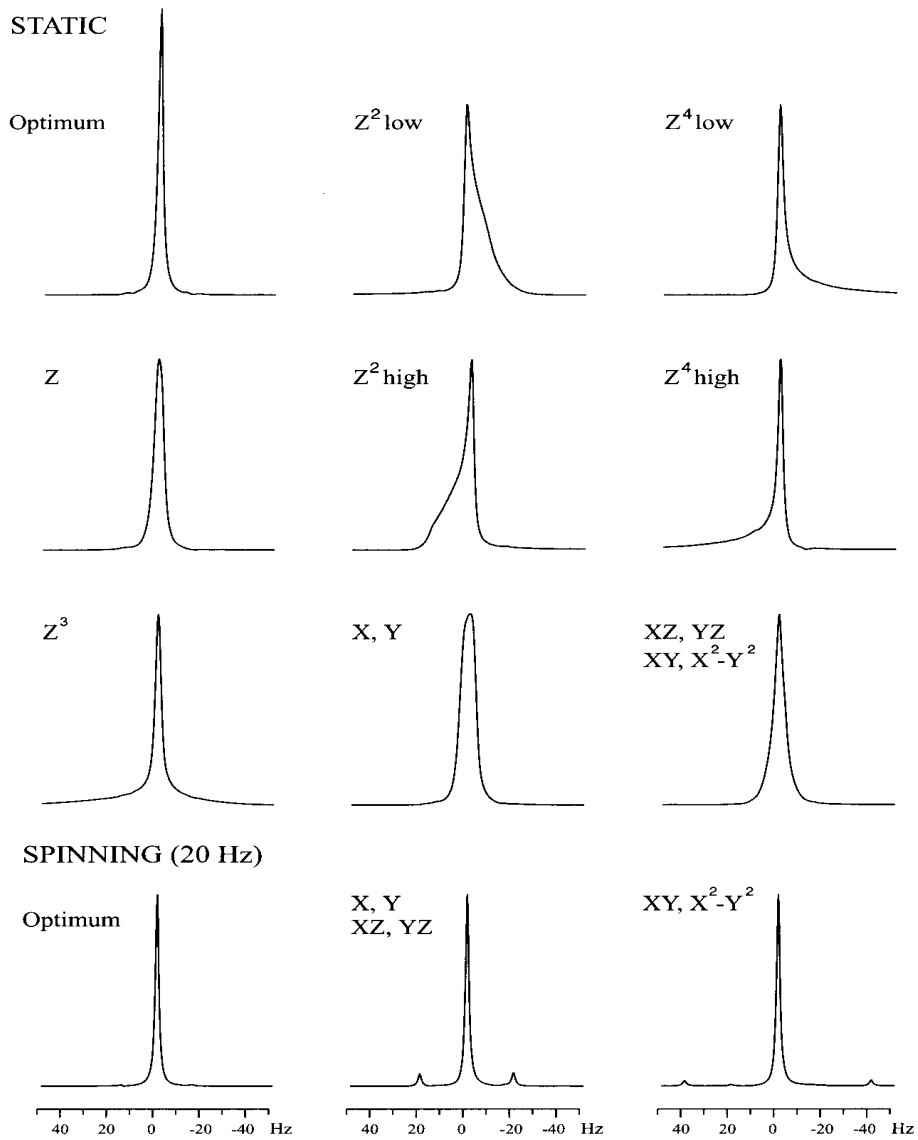
Hangolás: minden új mag kiválasztása után szükséges a tekercset erre a frekvenciára hangolni (kézzel vagy automatikusan), hogy az erősítő által kiadott teljesítményt a tekercs teljes egészében át tudja venni és továbbadni a mintának. Egy rosszul hangolt mérőfejen sokkal hosszabbak az impulzushosszak, így nem alkalmas, pl. 2D mérések végzésére.

Tér/frekvencia stabilizálás (lock): teljesen elterjedt a deutérium "lock" használata, ami azt jelenti, hogy ez a frekvencia is állandóan (de impulzusszerűen) besugárzásra kerül. A minimális töménység pl. CDCl_3 esetében kb. 20%, hogy még jól látható (a homogenitás állításhoz használható) jelet kapjunk.

Térhomogenizálás (homogenitás állítás, gradiens simmelés): a tér sohasem tökéletesen homogén, de mindent meg kell tenni, hogy ezt megközelítsük. Szerencsére az alkalmazott eljárás az ún. "shimmelés" nagyobb részt tudomány és csak kisebb részt mágia. Valójában kis tekercsekben állítunk áramerősséget és ezzel a tér inhomogenitásait egyenlítőgetjük ki. Ez eljárás nem triviális, mert az egyes gradiensek egymásra is hatnak, tehát általában csak többszöri ismétlés után lehet eljutni a jó (elfogadható) eredményhez. Álló (x, y és ezek magasabbrendű kombinációi) és forgó gradienseket (z^1, z^2, z^3, z^4 , stb.) különböztetik meg. A elmélet elég jól leírt, és számos útmutató is rendelkezésre áll, ezért a beavatkozások hatása előre kigondolható. A méréshez általában az oldószer deutérium jelét használjuk, a lock jel erőssége is annak félértékszélességével arányos. A rutin alkalmazásonál ez teljesen megfelelő, de igazán finom állításra ez nem alkalmas, ilyen célra a mért FID sávalakját szokták használni (hosszabb FID keskenyebb jel, vagy megfordítva, éles jel, hosszú FID). A nagyobb térerejű készülékek egyre több és magasabb rendű beépített térgradienst alkalmaznak (18 vagy 27 shim) és az eljárást már jószerivel teljesen automatizálták. Néhány jellegzetes jelalakot a 6.2 ábrán mutatunk be, ezek alapján megállapítható, hogy elsősorban mely gradiensek helytelen értékei felelősek a torzulásokért.

Oversampling (túlgyűjtés): a dinamikus tartomány javítható, ha a szükségesnél gyorsabb mintavételezésre kényszerítjük a rendszert, pl. a spektrális ablak lényeges kitágításával. Ilymódon csökkenthető a digitalizálási zaj, ami a kerekítésekkel adódik. A szélesebb ablak

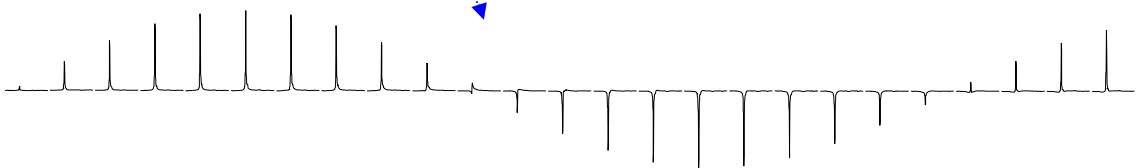
visszatranszformálható, digitálisan szűrhető és csak az eredeti szélességet kell ismét transzformálni.



6.2 ábra. A különböző álló (static) és forgó (spinning) gradiensek hatása az észlelt sávalakra. Az álló (z) gradiensek állítása általában elégséges egy már jól behangolt mágnes napi korrekciójára. A forgási oldalsávokat az x,y gradiensek okozzák, ezek korrekciója természetesen csak álló minta esetén lehetséges, hiszen a forgás ezeket átlagolja. Miután az egyes gradiensek (sajnos) nem függetlenek egymástól, a homogenitás állítás rendszerint az egyes lépések többszöri megismétlését jelenti.

6.5 Kalibrálások:

rf impulzusok: minden mérés előtt legalább közelítő pontossággal tudnunk kell, hogy milyen szöggel fogjuk a M_0 vektort elfordítani. Ehhez időnként, 1-3 havonta, kalibrálni kell a kérdéses mag gerjesztő impulzusát. Az eljárás maga egyszerű, de megvannak a saját trükkjei is (on-resonance állapot, hosszú relaxációs szünetek, a legalacsonyabb de, még elég nagy rf teljesítmény), egy adott rf adó térerősség mellett változtatjuk az impulzus hosszát. A számunkra érdekes **90-es impulzushosszat** célszerű a 180-as értékből (ahol nincs jel) visszaszámolni.



rf térerők: igyekezni kell a lehetőleg kis teljesítménnyel terhelni a mérőfejet, de ennek határt szab a szükséges gerjesztési tartomány, a gyakorlatban emiatt a gerjesztő impulzusok teljesítménye általában az erősítő maximális teljesítménye közelében van. A 90° -os impulzushossz, **PW90** ismeretében a gerjesztő rf tér teljesítménye, γB_1 számolható: **$\gamma B_1 = 1/4PW90$** .

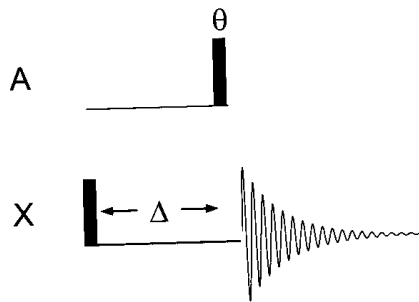
Ha kisebb teljesítményekre van szükség gyakran alkalmaznak teljesítmény-osztókat (attenuátorokat) az erősítő kimenetén. Az attenuálás mértékét decibel-ben, **dB** szokás kifejezni, ami valójában a két kimenő teljesítmény, P_1 és P_2 hányadosának tízes alapú logaritmusából számítandó.

$$dB = 10 \log_{10} \left(\frac{P_1}{P_2} \right) \quad \text{vagy} \quad dB = 20 \log_{10} \left(\frac{PW_1}{PW_2} \right) \quad \text{ha impulzushosszakkal akarjuk kifejezni.}$$

Tehát ez egy relatív érték az eredeti kimenő teljesítményhez képest, ha pl. kétszeres impulzushosszt akarunk elérni, ami fele akkora teljesítmény igényel, a teljesítményt 6 dB-el kell csökkenteni!

Lecsatoló (indirekt) impulzusok: ezen nevek alatt a nem detektált magokra vonatkozó impulzusokat értjük. Általában kétféle üzemmódban alkalmazzuk őket, ún. “kemény” és “puha” impulzusként, ami természetesen kétféle teljesítményt jelent, tehát az alkalmazandó indirekt kalibrációs eljárásokat is ezen a két teljesítmény szinten kell végrehajtani. Az egyik általános elterjedt módszer az alábbi egyszerű szekvencián alapul.

Mindössze egy AX spinrendszerre van szükségünk (pl. CHCl_3), ahol az X magok detektáljuk (már ismert impulzushosszal) és az A mag impulzusszögét változtatjuk. Ha a Δ szünet $1/2J_{AX}$ értékű és a szög kilencven fokos az A impulzus tisztán több-kvantumos X-mágnessézettséget gerjeszt, amely, mint tudjuk, nem ad mérhető jelet. Ezt a jelnélküli állapotot kell megkeresni.



6.3 ábra.

Indirekt (nem mért) magok (A) impulzusainak kalibrálására szolgáló szekvencia. Θ változó hosszúságú impulzus az A magon.

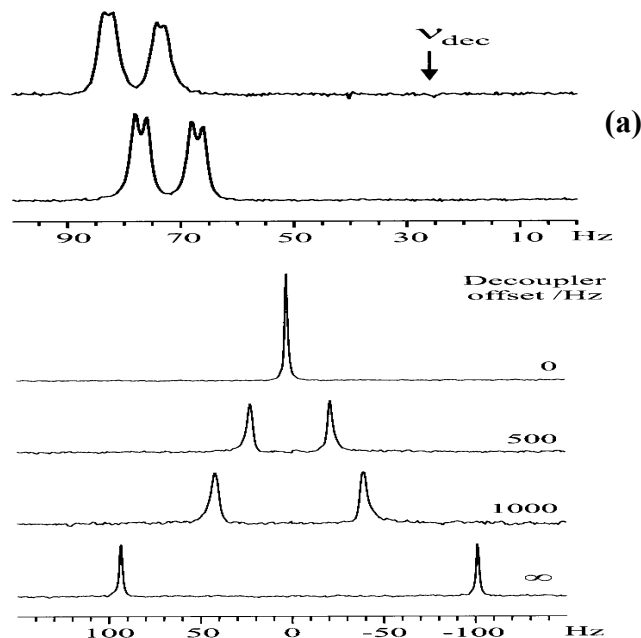
X = a mért mag.

Δ az antifázisú állapot kifejlődéséhez szükséges idő ($1/2J_{AX}$)

Homonukleáris lecsatoló tér, B_2 : viszonylag kis teljesítményekről van szó, mérésére a Block-Siegert eltolódási effektust szokták kihasználni, ami a frekvencia változását okozza a kiválasztott jelhez közeli besugárzás esetén.

$$\gamma B_2 = ((\nu_{BS} - \nu_0) * 2(\nu_0 - \nu_{lecsat}))^{1/2} \quad \text{feltéve ha } (\nu_0 - \nu_{lecsat} \gg \gamma B_2)$$

itt ν_{BS} a mag frekvenciája B_2 besugárzó tér esetén, (ν_0 pedig a besugárzás nélküli érték, ν_{lecsat} a lecsatoló tér frekvenciája).



6.4 ábra. Homo- és heteronukleáris lecsatoló terek kalibrálására szolgáló eljárások, (a) a Block-Siegert hatás kimérése (b) a heteronukleáris lecsatolás nyomonkövetése a lecsatoló (decoupler) tér, B_2 frekvenciájának (offset) léptetésével.

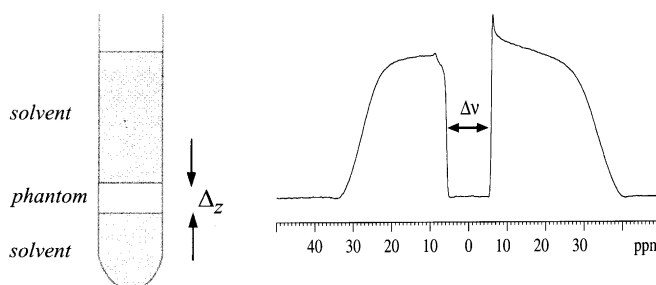
Heteronukleáris lecsatoló terek: szélessávú vagy szelektív lecsatolások esetén szükségünk van a lecsatoló tér erősségére is (ez ugyanis jelentős hőterhelést okoz a mérőfejben). Tekintsünk ismét egy AX spinrendszert, ahol folyamatos A spin lecsatolás van, ennek a lecsatoló térnek a frekvenciáját, közelítjük A-hoz, a különbség ν_{off} .

$$\gamma B_2 = \left[\left(\frac{J \nu_{\text{off}}}{J_r} \right)^2 + \frac{(J_r^2 - J^2)}{4} - \nu_{\text{off}}^2 \right]^{1/2} \quad \text{ahol } J \text{ és } J_r \text{ a tényleges és a maradék csatolások.}$$

Ha a lecsatoló tér sokkal nagyobb mint ν_{off} , akkor használható egy leegyszerűsített formula is, $\gamma B_2 = \sim J \nu_{\text{off}} / J_r$, aminek alapján γB_2 könnyen számítható (6.4 ábra). A lehető legkisebb hőterhelés érdekében számos kis teljesítményű ún. összetett impulzus alkalmazásán alapuló eljárást dolgoztak ki (WALTZ-16, MLEV-16, DPISI-2).

PF gradiensek, gradiens térerők: ellentétben az eddig tárgyalt “kemény” impulzusokon alapuló eljárásokkal, a korszerű gradiens-segített eljárásokban elsősorban a gradiensek reprodukálhatósága és pontos arányaik betartása a fontos, nem pedig abszolút erősségük pontos ismerete. Feltéve persze, hogy az erősség elegendő az adott kísérlethez. Mindazonáltal természetesen szükséges a gradiens-erősség kalibrálása is. A legegyszerűbb megoldás egy kép (image) készítése egy olyan mintáról, ahol a minta egy részéről (a közepéről) egy Δ_z magasságú (2-4 mm) korong segítségével kiszorítottuk a “jelet”. A mérés elvégezhető a szokásos 1D szekvenciával is, de gyakran használnak egy gradiens-echo szekvenciát erre a célra, ahol a második gradiens az elsővel azonos erősségű, de kétszeres időtartamú. Az eredmény egy olyan frekvencia-profil, amelyben egy bevágás található, a bevágás szélessége adja meg $\Delta \nu$ értékét. A z gradiens erőssége, G_z az alábbi képlettel számolható.

$$G_z = 2\pi \Delta \nu / \gamma \Delta_z \text{ [G cm}^{-1}\text{]}$$



6.5 ábra. A gradiens spin-echo szekvenciával gyűjtött gradiens-profil. Világos, hogy a z irányban erősebben megdöntött tér, arányosan nagyobb részt produkál a frekvencia ablakban.

Minden gradiens után a mágneses térnek egy kis időre van szüksége a gradiens “kiheverésére”, ez az idő 10 -100 mikroszekundum között van, ez alatt nem célszerű bármit is (mérést) végezni.

Mintahőmérséklet: a legtöbb spektrométer fel van szerelve hőmérsékletszabályozó egységgel. Ezek a mintacső körül áramló gáz hőmérsékletét mérik, következésképpen nem pontosak és a minta tényleges hőmérséklete csak 5-10 perc múlva közelíti meg a leolvasott értéket. Léteznek olyan anyagok, amelyekben a kémiai eltolódás erős hőmérsékletfüggése lehetővé teszi a pontosabb kalibrálást, pl. ilyen célra használják a metanolt az ^1H spektrumok esetében.

6.6 Mérések szélsőséges körülmények között (nagy nyomáson és/vagy hőmérsékleten):

Ezek a mérések általában külön erre a célra kifejlesztett mérőfejeket igényelnek. Több száz bar túlnyomás mellett is lehet dolgozni és akár nagynyomású homogénkatalitikus kísérleteket végezni pl. erre a célra kialakított zaffire csövekben.

Ajánlott további irodalom:

Térhomogenizálás: Chmurny and Hoult, **Concepts in Magnetic Resonance**, 1990, 2, 131-149.

Hangolás: Traficante, **Concepts in Magnetic Resonance**, 1989, 1, 73-92.

J.P.Hore, **Nuclear Magnetic Resonance**, Oxford Science Publications, Oxford, 1995.

T.D.Claridge: **High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry**,
Pergamon, 1999, Oxford (6.1-5 ábrák)

Nagynyomású NMR eljárások:

Frey, Helm, Merbach and Roulet, **Advanced Applications of NMR to Organometallic Chemistry**, Wiley & Sons, Chichester, 1996 p.193-222.

A használt jelölések és rövidítések jegyzéke:

χ	mágneses szuszceptibilitás
B_1	a gerjesztéshez használt rádiófrekvenciás mágneses tér
B_0	a spektrométer állandó mágneses tere
CP	Cross Polarization (polarizációátvitel)
CRAMPS	Combined Rotation and Multiple Pulse Spectroscopy
CS	kémiai eltolódás [ppm]
CSA	kémiai árnyékolási anizotrópia
D, D'	dipoláris csatolás, tér stb.
$\Delta\chi$	a mágneses szuszceptibilitás anizotrópiája
$\Delta\sigma$	az anizotrópia nagysága
FID	Free Induction Decay (szabadon lecsengő jel)
gN	Lande tényező
γ_X	az X mag giromágneses állandója
H	Hamilton operátor, energia egységekben
h,h	Planck állandó, $6.626 \cdot 10^{-34}$ Js, $/2\pi$
I, I_z	a magpolarizáció és annak Z irányú (B_0) vetülete
MAS	Magic Angle Spinning (forgatás a mágikus szöggel)
M_0	a minta egyensúlyi összmágnesezettsége
μ_0 és μ	mágneses dipól momentum, a vákum permeabilitása
MP	Multiple Pulse többpulzusos kísérlet a homonukleáris dipoláris kölcsönhatások elnyomására
nJ	skaláris csatolási állandó [Hz]
q	elektromos térgradiens a mag körül
Q	mag kvadrupól momentum [$\cdot 10^{-28}$ m ²]
r_{IS}	I és S mag távolsága
σ	árnyékolási tényező
$\sigma_{xx}, \sigma_{yy}, \sigma_{zz}$	az árnyékolási tenzor komponensei
τ_C (tau)	molekuláris rotációs korrelációs idő
T_1, T_2	spin-rács, spin-spin relaxációs idők
$T_{1\rho}$	spin rács relaxációs idő a spin lock tér ideje alatt
T_c	Koaleszcencia hőmérséklet
Tesla	a mágneses indukció egysége, 10^4 gauss
T_L	a rács spinhőmérséklete
WAHUHA	a legáltalánosabb MP impulzus-szekvencia
ω_0	Larmor frekvencia rad s ⁻¹ egységben

Köszönetnyilvánítás:

A jegyzetben szereplő példavegyületek egy része a Veszprémi Egyetem Szerves Kémia Tanszékén készült, köszönetemet fejezem ki azoknak a kollégáknak, **Ungváry Ferencnek**, **Bakos Józsefnek**, **Kollár Lászlónak**, **Kis Gábornak**, és **Takács Jánosnak**, akik ezeket a vegyületeket rendelkezésemre bocsátották.

Veszprém, 2003 március 12.

Feljegyzések: