

Лекция 1

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса высокого разрешения.

Содержание.

1. Введение	1
2. Магнитные моменты ядер и квантование уровней энергии в магнитном поле	3
3. Способы регистрации ЯМР	10
3.1. Метод «непрерывной развертки»	10
3.2. Импульсный метод	11

1. Введение.

Открытие ЯМР имеет весьма длинную и захватывающе интересную предысторию. Представления о том, что электрон и атомные ядра имеют собственные магнитные моменты, было введено в физику В. Паули (Нобелевская премия по физике 1945 года).



Отто Штерн (1888–1969)



Исидор Исаак Раби (1898–1988)

Отто Штерн вместе с Вальтером Герлахом экспериментально подтвердили это в опытах с атомными и молекулярными пучками. Отто Штерн был удостоен Нобелевской премии по физике 1943 года с формулировкой: *«за вклад в развитие метода молекулярных пучков, открытие и измерение магнитного момента протона»*. И. Раби активно и успешно развивал это направление. Он впервые наблюдал явление ЯМР в молекулярных пучках и получил Нобелевскую премию по физике в 1944 г. *«за резонансный метод записи магнитных свойств атомных ядер»*.

Нобелевская премия по физике в 1952 году была присуждена двум американцам Феликсу Блоху (Стенфордский университет) и Эдварду Перселлу (Гарвардский

университет) «за развитие новых методов для точных ядерных магнитных измерений и связанные с этим открытия». Работы этих авторов в самом авторитетном физическом журнале *Physical Review* появились одновременно (Е.М.Purcell, Н.Г.Torrey, R.V.Pound, *Phys.Rev.*, **1946**, 69, 37; F.Bloch, W.Hansen, M.E.Packard, *Phys.Rev.*, **1946**, 69, 127; F.Bloch, *Phys.Rev.*, **1946**, 70, 460.). Им удалось наблюдать явление ядерного магнитного резонанса (ЯМР) в конденсированной фазе. Заметим, что в 2007 г., когда мировая научная общественность отмечала столетие со дня рождения выдающегося российского физика Е.К. Завойского, первооткрывателя электронного магнитного резонанса, были опубликованы материалы его архивов. Их изучение показало, что в уже 1943 году, т.е., за два года до Блоха и Перселла, он также наблюдал сигналы ЯМР в конденсированной фазе, но не сумел добиться надежной воспроизводимости результатов и не опубликовал их.

В коротких лекциях нет возможности осветить все аспекты ЯМР, да и любого другого метода сколько-нибудь подробно. Рассматривайте приведенные здесь сведения как материал для первого знакомства с ЯМР. Однако я надеюсь, что этих сведений будет достаточно для того, чтобы на качественном уровне и без сложной математики понять основы метода и научиться решать относительно простые структурные задачи в органической химии.



Феликс Блох (1905–1983)



Эдвард Миллс Перселл (1912 – 1997)



Евгений Константинович Завойский (1907 -1976)

2. Магнитные моменты ядер и квантование уровней энергии в магнитном поле.

Кроме массового числа M и заряда Z , ядра атомов имеют еще одну важную характеристику – магнитный момент μ . Не имеют магнитных моментов ($\mu = 0$) только такие ядра, у которых M и Z - четные. В их состав входит четное число протонов и нейтронов (^{12}C , ^{16}O , ^{28}Si , ^{32}S , и другие). Эти ядра нельзя исследовать методом ЯМР. Все другие ядра (118 стабильных изотопов 104 известных химических элементов Периодической системы) имеют магнитные моменты, и для них можно наблюдать ЯМР. Эти магнитные ядра различаются по величине магнитных моментов и по значению ядерного спина I .

Простейшее ядро, обладающее магнитным моментом – это протон, ядро атома водорода ^1H . В рамках качественной модели его можно рассматривать как вращающуюся заряженную сферу с угловым моментом количества движения p . Тогда, согласно законам классической электродинамики, протон должен обладать магнитным моментом μ , который пропорционален p :

$$\mu = \gamma p = \gamma I \hbar = e \hbar / 4 \pi M c \quad (1.1)$$

(e – заряд, \hbar – постоянная Планка, M – масса, c – скорость света)

Коэффициент пропорциональности γ , который называют *гиромагнитной постоянной* или *гиромагнитным отношением* данного ядра, является его важной характеристикой, которую мы далее будем часто использовать.

Если подставить в уравнение 1.1 значения всех величин в единицах СИ и массу протона, то получим очень малую величину – $5,05 \times 10^{-27}$ Дж/Т, которую назвали «**ядерным магнетон**». В ядерных магнетонах принято измерять магнитные моменты всех ядер. Экспериментально определенное значение магнитного момента протона оказалось в 2,79 раза больше, чем вычисленное. Но, учитывая грубо качественный характер использованной модели, согласие с экспериментом «по порядку величины» можно считать вполне приемлемым.

Ядра, имеющие нечетную массу M (атомный номер Z может быть любым), имеют полуцелый спин $I = 1/2, 3/2, 5/2, 7/2, 9/2$. Среди них наиболее важны для ЯМР ядра со спином $I = 1/2$: ^1H , ^{19}F , ^{13}C , ^{31}P , ^{29}Si , ^{119}Sn , ^{195}Pt , ^{199}Hg и другие. В отличие от них, ядра со спином $I > 1/2$, такие как ^7Li , ^{11}B , ^{23}Na , ^{33}S ($I=3/2$), в рамках качественной модели можно представить себе как вытянутые или сплюснутые эллипсоиды вращения. Поэтому, в отличие от ядер со спином $1/2$, они имеют еще и электрический квадрупольный момент, который характеризует степень отклонения распределения электрического заряда в атомном ядре от сферически симметричного. Квадрупольный момент ядра имеет размерность площади и обычно выражается в см^2 . ИЮПАК рекомендует для него единицу «барн», равный 10^{-28} м^2 . Квадрупольные ядра можно также исследовать с помощью метода **ядерного квадрупольного резонанса (ЯКР)**.

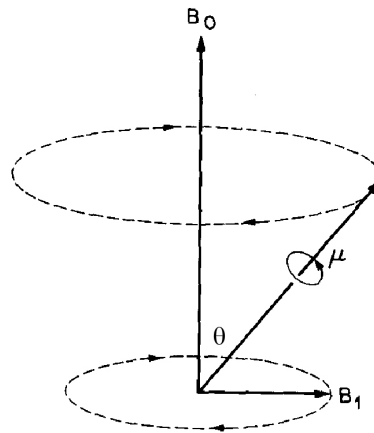
Ядра, имеющие нечетный атомный номер Z и четную массу M , имеют целый спин $I = 1, 2, 3, 5, 7$. К ним относятся тяжелый изотоп водорода дейтерий ^2H ($I = 1$), ^{10}B ($I = 3$) и многие другие. Эти ядра также имеют квадрупольные моменты.

Спин ядра – важная характеристика, он определяет число разрешенных ориентаций магнитного момента ядра в постоянном магнитном поле.

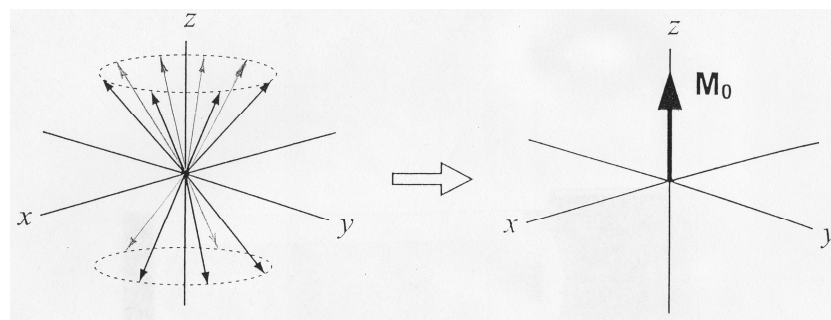
Рассмотрим классическую модель, описывающую поведение магнитного момента ядра μ со спином $I = 1/2$ в постоянном магнитном поле B_0 , как это сделал впервые Феликс Блох. Здесь и далее мы будем полагать, что поле B_0 направлено вдоль оси Z лабораторной системы координат (рис.1.2а). При наблюдении ЯМР мы будем использовать также радиочастотное поле B_1 , которое всегда перпендикулярно постоянному полю B_0 . На рис.2а это поле направлено по оси X лабораторной системы координат.

Как всякий магнитный диполь, в соответствии с общими законами электродинамики, μ начнет прецессировать вокруг направления магнитного поля B_0 , составляя с ним некоторый угол θ (схема на рис. 1.1). При этом возможны два устойчивых состояния. Более низкой энергией будет обладать такое состояние, когда проекция μ на

ось Z μ_z ориентирована параллельно вектору поля B_0 . Тогда говорят, что магнитный момент ядра «ориентирован по полю B_0 ». Более высокой энергией обладает состояние, когда μ_z антипараллельна вектору B_0 . О таком состоянии говорят, что магнитный момент ядра «направлен против поля B_0 ». Таким образом во внешнем магнитном поле B_0 происходит квантование – расщепление уровней энергии.



(a)



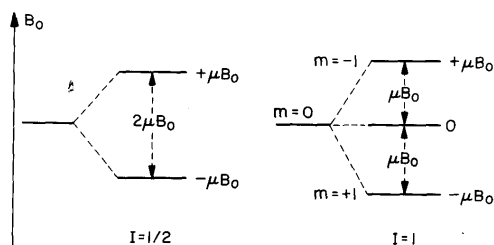
(б)

Рис. 1.1. Расположение полей B_0 и B_1 в лабораторной системе координат, прецессия вектора μ в магнитном поле B_0 и возникновение равновесной намагниченности

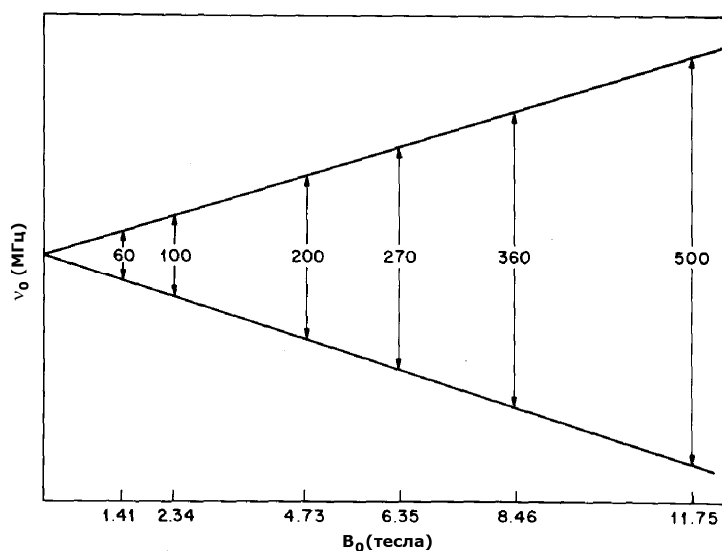
В общем случае для ядра со спином I возникает $2I+1$ дискретных подуровней. Для протона и всех других ядер со спином $1/2$ возникает 2 подуровня. Ядра дейтерия ^2H и ^{14}N имеют спин, равный 1. Для каждого из них таких уровней будет 3, а для ядра ^{11}B , спин которого равен $3/2$, таких уровней будет 4. На рис. 1.2 показаны диаграммы уровней энергии в постоянном магнитном поле с магнитной индукцией (плотность магнитного потока) B_0 для ядер со спинами $1/2$ и 1. Разность энергий между соседними уровнями определяется соотношением (2), и она линейно растет с увеличением B_0 :

$$\Delta E = \mu B_0 I \quad (1.2).$$

В случае протона самой низкой энергией обладает состояние, при котором вектор магнитного момента ядра параллелен вектору магнитного поля. Однако существуют ядра, с отрицательным магнитным моментом, т.е. такие, для которых более выгодна ориентация магнитного момента «против поля» (см. табл. 1.1).



(a)



(б)

Рис.1.2. (а) Диаграмма уровней энергии для ядер со спинами $I=1/2$ и $I=1$ в поле B_0 .

(б) Зависимость разности энергий уровней для протона от напряженности поля.

Очевидно, что если в системе существует несколько дискретных состояний с различными энергиями, то между ними возможны переходы. В ЯМР разрешены переходы, при которых магнитное квантовое число m_I , которое может принимать значения от $-I$ до $+I$, изменяется на ± 1 . Если воздействовать на такую систему радиочастотным полем B_1 (это поле всегда локализуется в плоскости xy) с энергией кванта $h\nu_0 = \Delta E$, то произойдет поглощение этого кванта. В результате система перейдет из нижнего состояния на более высокое, и это поглощение может быть зарегистрировано. **Регистрация таких переходов и составляет основу спектроскопии ЯМР.**

Таблица 1.1. Характеристики некоторых важных магнитных ядер.

Изотоп	Магнитный момент μ в ядерных магнетонах	Спин I	Природное содержание %	Частота ν_0 в поле 2,34 Т (МГц)	Относительная интенсивность сигнала ЯМР ^{*)}	Квадрупольный момент (барн)
^1H	2,7928	1/2	99,989	100	$5,87 \times 10^3$	
^2H	0,8574	1	0,0155	15,3506	$5,52 \times 10^{-3}$	0,286
^3H	2,9789	1/2	-	106,664	-	
^7Li	3,2564	3/2	92,41	14,717	$1,59 \times 10^3$	-4,01
^{11}B	2,6886	3/2	80,1	32,0897	$7,77 \times 10^2$	4,06
^{13}C	0,7024	1/2	1,07	25,1504	1	
^{14}N	0,4037	1	99,632	7,2285	5,90	2,044
^{15}N	-0,2831	1/2	0,368	10,1398	$2,25 \times 10^{-3}$	
^{17}O	-1,8937	5/2	0,038	13,5613	$6,05 \times 10^{-2}$	-2,56
^{19}F	2,6266	1/2	100	94,057	$4,89 \times 10^3$	
^{23}Na	2,2176	3/2	100	26,4683	$5,45 \times 10^2$	10,4
^{29}Si	-0,5552	1/2	4,68	19,8826	2,16	
^{31}P	1,1316	1/2	100	40,5178	$3,91 \times 10^3$	
^{33}S	0,6438	3/2	0,76	7,6842	$1,01 \times 10^{-1}$	-6,78
^{35}Cl	0,8218	3/2	75,78	9,8093	2,10	-8,17
^{37}Cl	0,6841	3/2	24,22	8,1652	3,87	-6,44
^{75}As	1,4394	3/2	100	17,1804	$1,49 \times 10^2$	31,4
^{77}Se	0,5350	1/2	7,6	19,1587	3,15	
^{119}Sn	-1,0473	1/2	8,59	37,4986	2,66	
^{195}Pt	0,6095	1/2	33,83	21,8243	$2,07 \times 10^1$	
^{199}Hg	0,5058	1/2	13,18	18,1136	5,89	
^{207}Pb	0,5822	1/2	22,1	20,8458	$1,18 \times 10^1$	

*) Относительная интенсивность для сигнала ^{13}C на природном содержании принята равной 1.

В таблице 1.1 представлены свойства ряда магнитных ядер, наиболее важных для химических исследований. Отметим, что ядерный магнитный момент протона в 658 раз меньше, чем магнитный момент электрона.

Большое значение имеет *«природное содержание изотопа»*. Оно определяет интенсивность сигнала в спектре. Например, при наблюдении ЯМР на ядрах ^{13}C такой изотоп будет содержать только каждая сотая молекула, а вероятность появления двух ядер ^{13}C в одной молекуле, при прочих равных условиях, будет еще в 100 раз меньше.

Соотношение (1.3) позволяет определить резонансную частоту каждого ядра ν_0 . Поскольку магнитные моменты ядер очень малы, эти частоты соответствуют диапазону метровых радиоволн для достижимых в настоящее время значений B_0 . Во многих случаях вместо значений частоты ν_0 , выражаемой в герцах, при математических операциях удобнее использовать круговую частоту ω_0 , которая выражается в радианах/сек.

$$\begin{aligned}\nu_0 &= \mu B_0 / h = \gamma B_0 / 2\pi \\ \omega_0 &= \gamma B_0\end{aligned}\quad (1.3).$$

Энергия квантов энергии $h\nu_0$ на несколько порядков меньше энергии теплового движения kT . Например, в поле 1,42 Т для протона энергия такого кванта составляет 0,005 кал/моль, а энергия теплового движения при температуре 298 К составляет 600 кал/моль. Из соотношения (1.3) также ясно, что решающее значение имеет плотность магнитного потока B_0 – чем она выше, тем выше частота ν_0 и интенсивность сигнала (см. табл. 1.2).

В таблице 1.2 представлены значения резонансных частот для ядер ^1H в разных магнитных полях. Земля тоже представляет собой гигантский магнит, в паутине силовых линий которого мы живем. Напряженность магнитного поля Земли очень мала, но и в нем можно наблюдать явление ЯМР. Это и используется в приборах для геофизических исследований (протонные магнетометры), а также в приборах для обнаружения нефтеносных пластов (ядерный магнитный каротаж) и водоносных пластов (ЯМР-гидроскопы).

На сегодняшний день максимально достигнутая магнитная индукция в сверхпроводящих соленоидах, используемых для наблюдения сигналов ЯМР (о них мы расскажем позже), составляет 23,4 Т, что соответствует резонансной частоте для протона 1 ГГц.

Из таблицы 1.1 видно, что резонансные частоты разных ядер различаются очень сильно. Это дает уникальную возможность наблюдать спектры на каждом из этих ядер в отдельности. *Диапазоны резонансных частот разных ядер не перекрываются!*

Мне известно лишь одно исключение из этого правила. Магнитные моменты ядер ^{201}Tl и ^{203}Tl (оба они имеют спин 1/2) очень близки, и при больших развертках спектра, сигналы обоих этих изотопов могут появляться в одном спектре.

Таблица 1.2. Резонансные частоты для ^1H в разных магнитных полях B_0 .

B_0 (Т)	ν_0 (^1H)
Магнитное поле Земли на полюсе $6,5 \times 10^{-5}$ на экваторе $3,5 \times 10^{-5}$	2,7 кГц 1,5 кГц
2,34	100 МГц
7,02	300 МГц
14,04	600 МГц
17,55	750 МГц
21,06	900 МГц
23,4	1 ГГц

Очень малые разности энергий разрешенных энергетических уровней ядер в магнитном поле приводят к еще одному важному следствию. В макроскопическом образце, содержащем P магнитных ядер данного вида, магнитные моменты этих ядер распределятся по разрешенным уровням в соответствии с уравнением Больцмана. Для двухуровневой системы ($I=1/2$) отношение заселенностей N_1 и N_2 ($N_1 + N_2 = P$) дается уравнением (1.4):

$$N_1/N_2 = e^{-\Delta E/kT} \approx \exp(-\gamma h B_0 / 2\pi kT) \approx 1 - (-\gamma h B_0 / 2\pi kT) \quad (1.4).$$

Возьмем, например, в качестве образца ампулу с 1 г воды и поместим ее в поле 11,75 Т (резонансная частота для протонов 500 МГц). Образец содержит $6,7 \times 10^{22}$ протонов. Все они распределятся по двум уровням. На нижнем уровне находится больше ядер, но этот избыток очень мал – он составляет всего $2,49 \times 10^{18}$ протонов, т.е. меньше 0,04%! Если на верхнем уровне находится 1 миллион ядер, то на нижнем их будет всего на 47 ядер больше! Все же в образце возникает очень малая равновесная макроскопическая намагниченность M_0 , которая направлена вдоль поля B_0 . Если используется поле B_1 с малой амплитудой, то поглощение энергии прекратится сразу же после того, как заселенности уровней выровняются ($\Delta N = 0$). Поэтому очень важное значение имеют процессы «релаксации», которые позволяют магнитным ядрам вернуться на нижний уровень. Эти процессы мы рассмотрим в следующей лекции. Очевидно, что

интенсивность сигнала поглощения будет тем выше, чем больше разность заселенностей ΔN , которая, в свою очередь, определяется величиной B_0 . Теоретически показано, что интенсивность сигнала A при постоянном поле B_0 пропорциональна $(I+1)\mu^3 B_0^2 / T^2$.

3. Способы регистрации ЯМР.

3.1. Метод «непрерывной развертки».

Существуют две возможности провести эксперимент по наблюдению ЯМР. На рис.1.3 показана блок-схема спектрометра ЯМР, работающего в режиме «непрерывной развертки». Этот метод был применен в работе Ф. Блоха. Главная часть прибора – магнит, создающий высокооднородное постоянное поле B_0 . В его зазоре находится радиочастотная катушка, внутри которой расположена ампула с образцом. Катушка соединена с генератором радиочастотного поля B_1 и приемником, основу которого составляет радиочастотный мост, выделяющий сигнал поглощения. После усиления этот сигнал регистрируется самописцем.

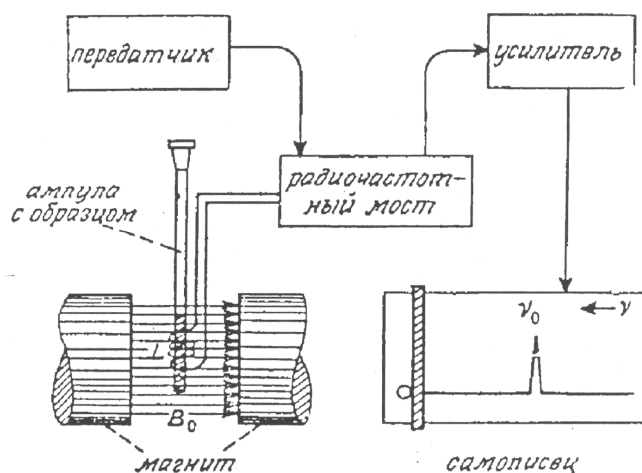


Рис.1.3. Блок-схема простейшего спектрометра ЯМР для наблюдения спектров в режиме непрерывной развертки.

При включении генератора его частота медленно изменяется в ту или иную сторону по линейному закону. Такой эксперимент называют экспериментом «с частотной разверткой». В тот момент, когда достигается равенство $\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi$, т.е. выполняется условие резонанса (1.3), самописец фиксирует сигнал поглощения. При дальнейшем изменении частоты в том же направлении условие резонанса нарушается, и самописец снова регистрирует нулевую линию.

Таким образом, *спектр ЯМР представляет собой график в координатах «интенсивность сигнала поглощения – частота радиочастотного поля B_1 ».*

Эксперименты с непрерывной разверткой можно осуществить, оставив частоту генератора постоянной, но при этом меняя напряженность поля. Очевидно, что результат будет тот же самый, поскольку резонансная частота и напряженность поля связаны линейно (уравнение 1.3). При такой «развертке поля» увеличению резонансной частоты соответствует уменьшение напряженности поля. В стандартных экспериментах принято записывать спектры так, чтобы напряженность поля увеличивалась при движении каретки самописца слева направо. Это соответствует уменьшению частоты в том же направлении. Поэтому часто в литературе можно встретить такое выражение: **«сигнал расположен в области слабого (или сильного) поля»**. Оно означает, что сигнал, о котором идет речь, находится слева (справа) от сигнала эталонного соединения, от которого проводят отсчет.

3.2. Импульсный метод.

Хотя импульсный метод наблюдения ЯМР был использован уже в первой работе Э. Перселла, создателем современной импульсной методики является профессор Ричард Эрнст. Он получил Нобелевскую премию по химии в 1991 году *«За вклад в развитие методологии спектроскопии ЯМР»*. Честь представлять нового лауреата на церемонии вручения премии была предоставлена члену Шведской Королевской академии наук профессору Стуре Форсену, тоже очень известному специалисту в области ЯМР. Отрывок из речи профессора Форсена на этой церемонии я привожу здесь потому, что он очень образно характеризует смысл сделанного Ричардом Эрнстом.

«Нобелевский лауреат этого года с самого начала своей научной карьеры был лидером в разработке одного особого направления. Он ввел преобразование Фурье и импульсные методики в спектроскопию ЯМР, тем самым в десятки и даже сотни раз улучшив чувствительность ЯМР. Я уверен, что при этих словах большинство из Вас покачает головой: «преобразование Фурье и импульсные методики, что это такое?» Позвольте мне пояснить это на примере. Допустим, Вы хотите определить, насколько хорошо настроено фортепиано. Традиционный «старомодный» способ это сделать, прекрасно известен. Нужно последовательно нажимать клавишу за клавишей и записывать звуковые частоты. Точно так же записываются сигналы ЯМР от нашего образца. Сейчас современный рояль обычно имеет 88 клавиш, и потребуется некоторое время, скажем, минут десять, т.е. 600 секунд, чтобы все их пройти одну за другой. Но существует и гораздо более быстрый способ получить тот же результат: широко расставьте руки и ударьте ими по всем клавишам одновременно, вот так [звук от удара по всем клавишам инструмента]. Вы только что выполнили импульсный эксперимент. Получившийся отзвук не слишком приятен, но не забывайте, что в нем присутствуют

все ноты. Но как же извлечь из этой какофонии звучание каждой струны? Это можно сделать с помощью метода математического анализа, который называется, как Вы уже наверное догадались, преобразованием Фурье. Современный быстродействующий компьютер выполнит его менее чем за секунду, и на выходе компьютера Вы получите отдельные звуки [звучит быстрый пассаж]. Этот новый способ – способ «ФП-проверки» настройки фортепиано - потребовал не больше шести секунд вместо шестисот. Значительный выигрыш во времени! Но стоит ли так спешить, даже если новый метод позволит вам настроить 100 роялей за то время, которое требуется для настройки всего одного «старомодным» способом? Стоит, потому что экономию во времени можно использовать на другие цели – для повышения чувствительности.

Продолжая нашу аналогию, представим себе, что «сигналы» от струн нашего фортепиано еле-еле пробиваются сквозь общий шум в комнате. Но теперь мы можем улучшить регистрацию этих слабых сигналов, если будем нажимать одновременно все клавиши через каждые 6 секунд, каждый раз суммируя результаты, и повторим эту операцию сто раз. Соотношение сигнал/шум, как выражаются на своем жаргоне ученые, при этом увеличится в десять раз».



Р. Эрнст (р. 1933 г) осуществляет один из первых импульсных экспериментов ЯМР в 1956 году.



Р. Эрнст на встрече с участниками семинара по ЯМР в лаборатории ЯМР МГУ в 1991 г (фото автора)

Мне кажется, что Стуре Форсен очень образно объяснил смысл импульсной методики. Представим себе, что в нашем инструменте, будь то фортепиано или спектрометр ЯМР, звучит только одна струна. Ее сигнал, после удара по клавише, на экране осциллографа будет выглядеть как затухающее по экспоненциальному закону гармоническое колебание (рис. 1.4а). Если звучат две струны, то за счет интерференции звуковых волн появятся биения (рис. 1.4б). А в общем случае, когда звучит несколько струн, возникает интерферограмма, которая может иметь еще более сложный вид (рис.1.4в). Современный компьютер, осуществляя преобразование Фурье, превращает интерферограмму, т.е. график в координатах «амплитуда сигнала – время» $S(t)$, в частотный спектр, т.е. в график в координатах «амплитуда – частота» $S(\omega)$. Можно осуществить и обратное преобразование. Мы не будем здесь вдаваться в математические детали. Я приведу лишь формулы, связывающие вид интерферограммы $S(t)$ с частотным спектром $S(\omega)$ в общем виде. Обращаю ваше внимание на то, что в этих формулах вместо обычной частоты ν используется круговая частота ω .

$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t) e^{-i\omega t} dt$$

$$S(t) = 1/2 \pi \int_{-\infty}^{\infty} S(\omega) e^{i\omega t} d\omega \quad (1.5).$$

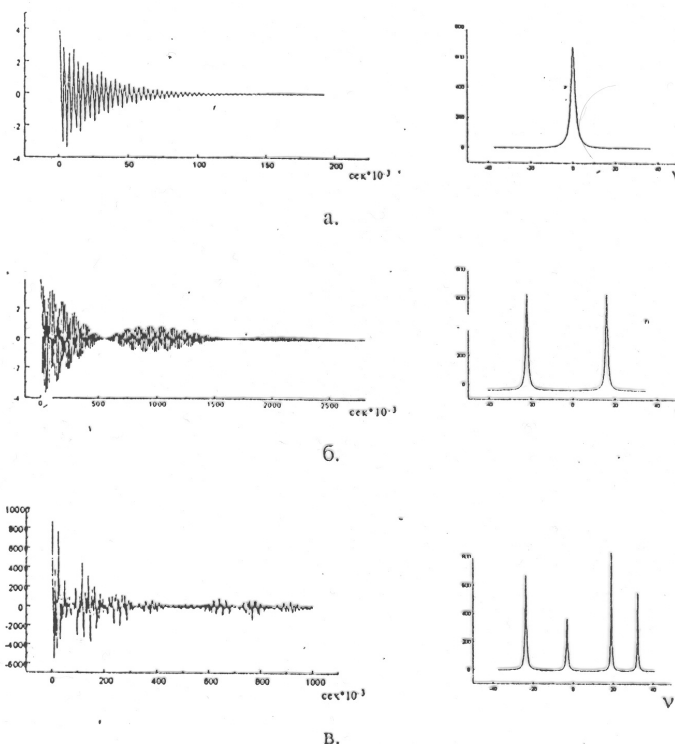


Рис.1.4. Интерферограммы и соответствующие им спектры после преобразования Фурье:

(а) 1 резонансная линия; (б) 2 резонансные линии; (в) 4 резонансные линии.

Блок-схема импульсного спектрометра ЯМР представлена на рис. 1.5. И здесь сердце прибора – магнит с радиочастотным контуром и образцом в его зазоре. В этом случае в контур подается мощный (50 ватт или больше) короткий радиочастотный импульс длительностью $\tau = 10\text{-}50$ мкс с частотой, близкой к ν_0 . Он возбуждает все частоты в диапазоне $\nu_0 \pm 1/\tau$.

Мощность и длительность импульса чаще всего выбирают так, чтобы заселенности нижнего и верхнего уровней выровнялись. Такой импульс называют 90-градусным или $\pi/2$ -импульсом. Стремясь вернуться в состояние теплового равновесия, ядерные спины начинают рассеивать полученную ими избыточную энергию в виде радиоизлучения. Его и регистрирует катушка нашего датчика в виде интерферограммы – суперпозиции затухающих гармонических колебаний. В ЯМР такие интерферограммы называют *сигналом спада свободной индукции (ССИ)*. Этот сигнал с помощью АЦП (аналого-цифрового преобразователя) переводят в цифровую форму и записывают в память компьютера. Достаточно после этого произвести Фурье-преобразование, и мы получим обычный спектр. В качестве примера реального эксперимента на рис. 1.6а показана ЯМР-интерферограмма, а на рис. 1.6б – соответствующий ей частотный спектр.

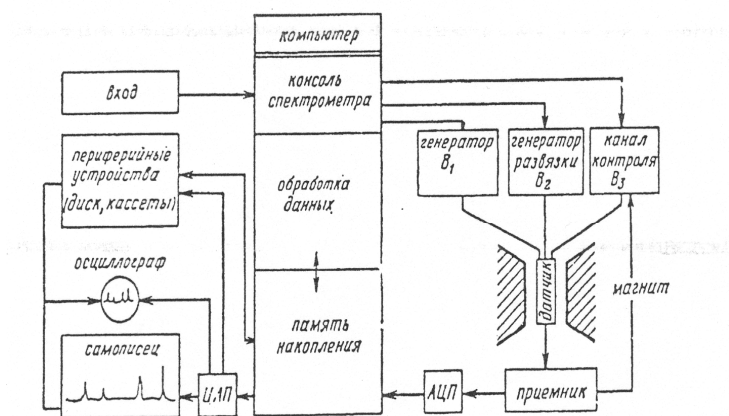
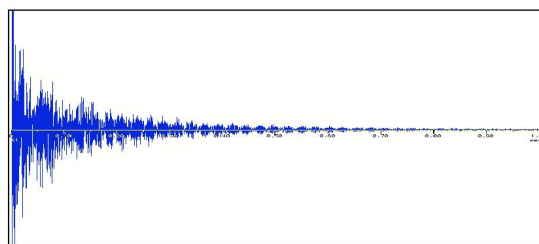
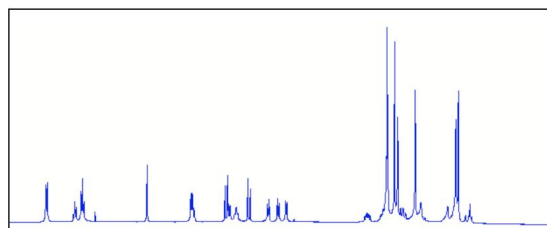


Рис.1.5. Блок-схема импульсного спектрометра ЯМР

Импульсная методика открыла перед исследователями новые возможности. Например, с ее помощью легко осуществить накопление сигнала, о чем сказал в своей речи профессор Форсен. Оно совершенно необходимо при регистрации спектров ядер с низким природным содержанием или с малыми магнитными моментами. Таких ядер большинство, и их сигналы часто столь слабы, что теряются в шумах. Накопление спектров «сильных ядер», например, спектров ^1H -ЯМР, необходимо при исследовании очень разбавленных растворов многокомпонентных смесей веществ.



(а)



(б)

Рис. 1.6. Интерферограмма реального спектра ^1H -ЯМР (а) и соответствующий ей частотный спектр (б), полученный после преобразования Фурье.

При накоплении импульсный эксперимент многократно повторяют. После каждого импульса сигнал через АЦП записывают в память компьютера, суммируя с сигналом от предыдущего импульса. Амплитуда регулярного сигнала при этом растет пропорционально числу накоплений N . А амплитуда шума меняется случайным образом,

и при многократных записях она растет только как \sqrt{N} . В результате отношение сигнал/шум в спектре увеличивается пропорционально \sqrt{N} . Например, чтобы увеличить отношение сигнал/шум в 10 раз, достаточно суммировать сигнал от 100 импульсов и после этого провести его Фурье-преобразование.

Накопление проводят с небольшими задержками между импульсами (от долей секунды до нескольких секунд), поэтому весь эксперимент с 100-кратным накоплением занимает несколько минут. При этом можно получить отличный спектр, располагая всего несколькими микрограммами вещества, что исключительно важно для многих применений. В качестве примера на рис. 1.7 показаны спектры ^1H -ЯМР очень разбавленного раствора 7-этокси-4-метилкумарина, записанные на приборе с рабочей частотой 60 МГц, которые Р. Эрнст приводит в своей Нобелевской лекции. Верхний спектр записан в режиме непрерывной развертки. Его регистрация заняла 500 секунд. А нижний спектр того же образца записан в импульсном режиме. За то же время было суммировано 100 импульсов, после чего сигнал был подвергнут Фурье-преобразованию. Это был один из первых импульсных экспериментов, при котором использовалось накопление. Конечно, современный химик скажет, что и на нижнем спектре соотношение сигнал/шум еще недостаточно хорошее, но разница между двумя экспериментами совершенно очевидна. Современные эксперименты с накоплением часто занимают десятки, а иногда даже сотни часов, а число суммируемых импульсов при этом достигает миллионов!

При выполнении импульсных экспериментов с накоплением весьма важно учитывать следующее обстоятельство. После прохождения первого импульса система ядерных спинов должна снова вернуться в состояние термического равновесия за счет релаксации. Именно поэтому *между импульсами и вводится специальная задержка, которая должна быть не короче, чем шесть времен релаксации T_1* . Механизмы релаксации мы рассмотрим в следующей лекции.

Импульсная методика регистрации спектров ЯМР дает исследователям и много других возможностей. Например, до выполнения Фурье-преобразования можно проводить математическую обработку интерферограммы $S(t)$ разными методами. Вот характерный пример. Посмотрим на рис. 1.8а, где представлена типичная ЯМР-интерферограмма. Амплитуда регулярного сигнала в начальной части интерферограммы значительно больше, чем амплитуда шума, а на «хвосте» интерферограммы преобладает вклад шума. Если мы сразу проведем Фурье-преобразование этой интерферограммы, то получим спектр, показанный на рис. 1.8б.

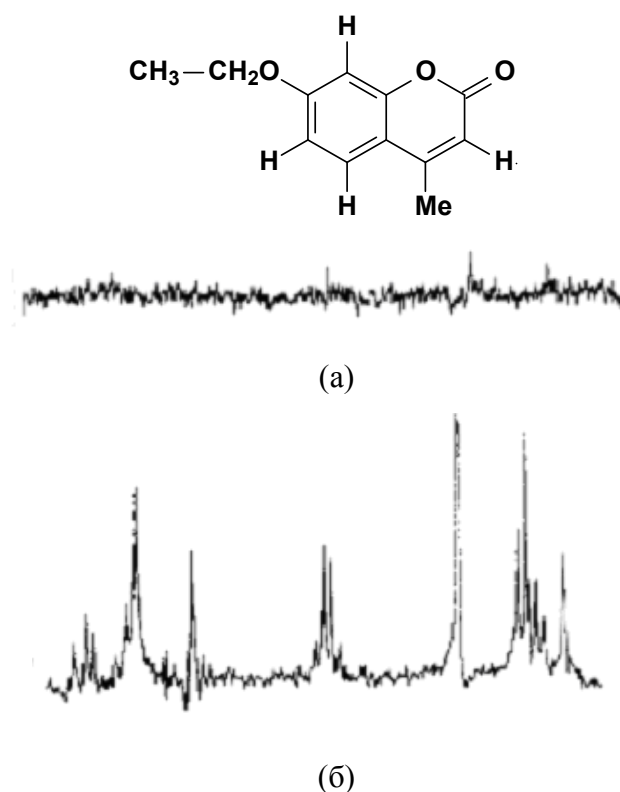
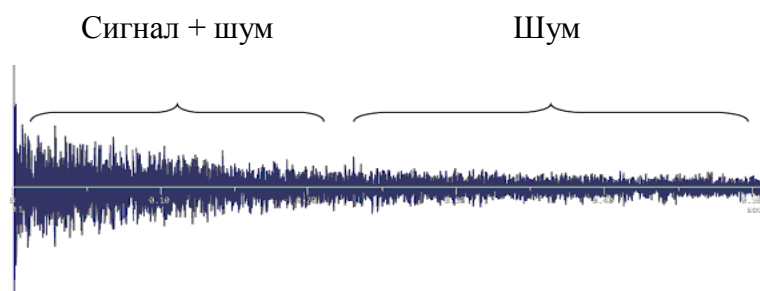


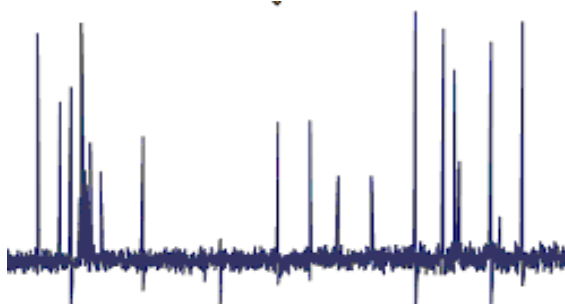
Рис. 1.7. Спектры ^1H -ЯМР очень разбавленного раствора 7-этоксид-4-метилкумарина (60 МГц): (а) Спектр, записанный в режиме непрерывной развертки. (б) Спектр, записанный в импульсном режиме после суммирования 100 импульсов. Время эксперимента в обоих случаях было одинаковым - 500 сек.

Мы видим, насколько высока шумовая дорожка в нем, и соотношение сигнал/шум весьма посредственное. Давайте теперь перед преобразованием Фурье умножим интерферограмму на плавно спадающую функцию (это экспонента), приведенную на рис. 1.9в. Тогда интерферограмма примет вид, показанный на рис. 1.8г. За счет этой операции мы обрезаем «хвост» и тем самым уменьшили вклад шума. Теперь после Фурье-преобразования спектр будет выглядеть значительно лучше (рис. 1.8д). Не правда ли, эффект весьма впечатляющий. Соотношение сигнал/шум в спектре существенно возросло.

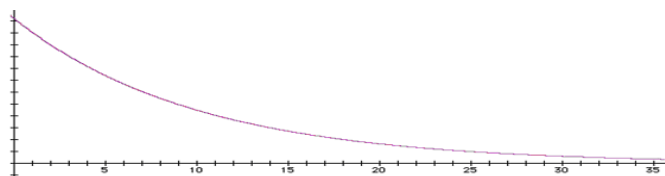
Конечно, этот выигрыш мы получили не бесплатно, ибо известно, что «бесплатный сыр бывает только в мышеловках». Ведь «обрезание хвоста» в ССИ эквивалентно сокращению времени релаксации T_2 , а это, как мы узнаем немного позже (см. раздел 5), приводит к уширению линий. Да, в спектре на рис. 1. 8д линии стали значительно более широкими – мы проиграли в разрешении. Это лишь один из приемов обработки интерферограмм, который используется очень часто.



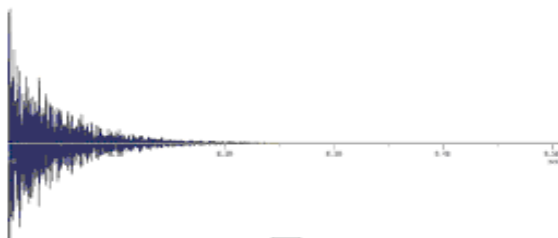
(а)



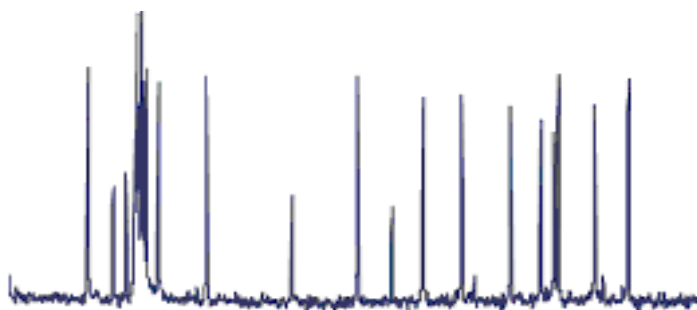
(б)



(в)



(г)



(д)

Рис. 1.8. Эффект домножения ССИ на спадающую экспоненту в спектре ЯМР.

Объяснение дано в тексте.

Самые интересные принципиально новые возможности импульсного ЯМР связаны с тем, что на систему ядерных спинов воздействуют не одиночным импульсом, а сложными импульсными последовательностями. При этом можно получать многомерные спектры ЯМР, которые оказались особенно эффективными при изучении структуры сложных биомолекул – пептидов, белков и нуклеиновых кислот. Нобелевская премия по химии 2002 г. *«За развитие методов спектроскопии ядерного магнитного резонанса для исследования трехмерной структуры биологических макромолекул в растворе»* была присуждена профессору Курту Вютриху.



К. Вютрих (р.1938)

С многомерными спектрами ЯМР мы познакомимся во второй части этого курса.