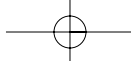


NMR

ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ ΣΤΗΝ

- Ιατρική
- Φαρμακευτική Χημεία
- Βιοχημεία
- Χημεία τροφίμων και ποτών



Copyright © 2005 Γιάννης Β. Παρισιάνος

Πρώτη έκδοση: Ιανουάριος 2006

Στοιχειοθεσία-σελιδοποίηση: Πάραλος, 210/ 3827314

Επιμέλεια: Σταύρος Ξηρουχάκης

Τυπογραφική διόρθωση: Σταύρος Ξηρουχάκης

Εκτύπωση: Αφοί Χριστοδούλου Ο.Ε.

Βιβλιοδεσία: Χαράλαμπος Μπιλάλης

ISBN 960-88751-5-3

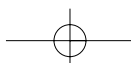
ΕΚΔΟΣΕΙΣ Γιάννης Β. Παρισιάνος

Μικράς Ασίας 76 - Γουδή 115 27 Αθήνα

Τηλ. & Fax: 210 74 82 996 • Κινητό: 6944 861 193

email: parisianos @jb-designs.gr -www.jb-designs.gr/parisianos

Απαγορεύεται η ολική ή τμηματική αντιγραφή αυτού του έργου με οποιαδήποτε μέθοδο χωρίς τη γραπτή έγκριση του εκδότη.



Θ. ΜΑΥΡΟΜΟΥΣΤΑΚΟΣ - Ι. ΜΑΤΣΟΥΚΑΣ

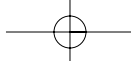
NMR

**ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑΣ
ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ
ΣΤΗΝ:**

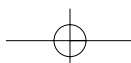
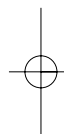
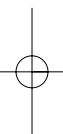
- Ιατρική
- Φαρμακευτική Χημεία
- Βιοχημεία
- Χημεία τροφίμων και ποτών



Εκδόσεις Γιάννης Β. Παρισιάνος



ΣΤΟΥΣ ΣΥΝΤΡΟΦΟΥΣ ΤΗΣ ΖΩΗΣ ΜΑΣ
ΠΟΥ
ΜΑΣ ΑΝΕΧΟΝΤΑΙ ΔΙΑ ΤΗΣ ΥΠΟΜΟΝΗΣ
ΠΡΟΤΡΕΠΟΥΝ ΜΕΤΑ ΥΠΟΜΟΝΗΣ
ΣΤΟ ΒΙΩΜΑ ΤΗΣ ΣΥΓΓΡΑΦΗΣ



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος	11
Αντί προλόγου	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1:	
Αρχές Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού και Οργανολογίας	13-40
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2:	
Χημική μετατόπιση	41-70
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3:	
Σύζευξη αυτοστροφών	71-106
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4:	
Συμμετρία και δυναμική στον Πυρηνικό Μαγνητικό Συντονισμό	107-144
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5:	
Φασματοσκοπία Άνθρακα -13	145-166
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6:	
Ετεροπυρηνική Φασματοσκοπία και Φασματοσκοπία δύο διαστάσεων	167-212
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7:	
Πυρηνικό φαινόμενο Overhauser (NUCLEAR OVERHAUSER EFFECT-NOE)	213-216
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8:	
Χρόνοι εφησυχασμού	217-234
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9:	
Υπολογιστική χημεία ως ανεκτίμητο εργαλείο στο σχεδιασμό Φαρμακευτικών μορίων	235-254
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10:	
Μελέτη ευνοϊκών διαμορφώσεων βιοδραστικών μορίων με συνδυασμό υπολογιστικής χημείας και Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού	255-278
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11:	
Διαμορφωτική ανάλυση Βιομορίων - Πεπτιδία	279-326
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 12:	
Διαμορφωτική ανάλυση Βιομορίων-Νουκλεϊνικά Οξέα	327-348

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 13:	
Διαμορφωτική ανάλυση Βιομορίων-Σάκχαρα	349-368
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 14:	
Λιπίδια Αιθερολιπίδια - Μελέτη ευνοϊκών διαμορφώσεων βιοδραστικών μορίων με συνδυασμό υπολογιστικής χημείας και Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού	369-384
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 15:	
Διαμορφωτική ανάλυση Φαρμακευτικών Μορίων-Στεροειδή	385-408
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 16:	
Διαμορφωτική ανάλυση Φαρμακευτικών Μορίων-Αλκαλοειδή	409-422
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 17:	
Διαμορφωτική ανάλυση Φαρμακευτικών Μορίων-Τερπενοειδή	423-436
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 18:	
Διαμορφωτική ανάλυση Φαρμακευτικών Μορίων- Φλαβονοειδή	437-448
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 19:	
Διαμορφωτική ανάλυση Φαρμακευτικών Μορίων-Κανναβινοειδή	449-470
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 20:	
Διαμορφωτική ανάλυση Φαρμακευτικών Μορίων - Παράγωγα Αδαμαντανίου	471-484
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 21:	
Εφαρμογές Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού στην Ιατρική και Βιοχημεία	485-518
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 22:	
Εφαρμογές Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού στον ποσοτικό προσδιορισμό, νοθεία και γεωγραφική προέλευση ποτών και τροφίμων	519-540
ΠΙΝΑΚΕΣ	541-556
ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ	557-566
ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ	567-584
ΓΛΩΣΣΑΡΙ	585-594
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	595-602

Καλύτερα νὰ ἔχῃς εἰς τὴν χώραν σου σχολεῖον ἑλληνικὸν παρὰ νὰ ἔχῃς
 βρύσας καὶ ποταμούς, διατὶ ἡ βρύσις ποτίζει τὸ σῶμα, τὸ δὲ σχολεῖον πο-
 τίζει τὴν ψυχὴν.

I. Μενοῦνου, **Κοσμᾶ τοῦ Αἰτωλοῦ Διδαχῆς**, σ. 142.

καὶ ταῦτα καλῶς γινώσκοντες σπουδάσητε σύμπαντες, καὶ προθυμηθῆτε ζή-
 λω ἐνθέω εἰς τὸ συστήσαι, καὶ ἀποκαταστήσαι κοινὰ σχολεῖα τῶν ἱερῶν
 γραμμάτων, καὶ φροντιστήρια τῶν Ἑλληνικῶν μαθημάτων κατὰ χώρας καὶ
 τόπους ἀρμοδίους, ὅσοι οὐκ εὐπορεῖτε ἐν τῇ πατρίδι ὑμῶν, καὶ οὐκ ἔχετε
 τοιοῦτον κλέος, ἵνα ἐπιδιδῶσι, καὶ προκόπτωσι τὰ τέκνα ὑμῶν, καὶ οἱ αὐ-
 τόχθονες καὶ οἱ ἐξ ἀλλοδαπῶν φοιτῶντες, καὶ βουλόμενοι μαθητεῦσαι, συ-
 νιστῶντες, καὶ διοριζόμενοι διδασκάλους ἐπιμελεῖς εἰς εὐπαιδευσίαν, καὶ μά-
 θησιν καὶ χρηστοθήριαν τῶν διδασκομένων μαθητῶν, συντρέχοντες, καὶ βο-
 ηθοῦντες ἰδίᾳ τε καὶ κοινῶς εἰς τὸ θεόδοτον τοῦτο χρῆμα τῆς παιδείας,
 ὄντες βέβαιοι, ὅτι ὅσοι μετὰ ζήλου θεαρέστον, καὶ φιλοτιμίας ἀγαθῆς ἐπι-
 στατοῦσι, καὶ συνεργοῦσι, καὶ βοηθοῦσιν, εἰς κατόρθωσιν τοιούτων θεαρέ-
 στων, καὶ κοινωφελῶν κατορθωμάτων, οἱ τοιοῦτοι ἔχουσιν ἀναμφιβόλως
 τὸν ἔπαινον παρὰ πάντων, ὡς καταξιώσαντες τὰς πατρίδας αὐτῶν τοιού-
 του ἀειμνήστου κλέους, καὶ τὸ μνημόσυνον αἰώνιον καὶ τὰς ἀντιμισθίας ἀ-
 πειροπλάσιους ἐν τε τῷ νῦν αἰῶνι, καὶ ἐν τῷ μέλλοντι παρὰ τοῦ μισθαπο-
 δότου Θεοῦ, καὶ ἀποκαθίστανται καὶ αὐτοὶ ἄξιοι μακαρισμοῦ, ὡς ἐρασταὶ
 αὐτῆς διὰ τὰς ἀτρύτους κόπους, καὶ τὰς δαπάνας, ἃς κατέβαλον ἐξ οἰκεί-
 ας βουλῆς, καὶ ἀγαθῆς προαιρέσεως πρὸς κτῆσιν, καὶ κατόρθωσιν, καὶ σύ-
 στασιν τοιούτων κοινῶν σχολείων.

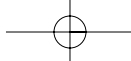
Ἐγκύκλιος Πατριαρχικῆ Γρηγορίου Ε' ἐν μηνί Σεπτεμβρίῳ Ἰνδικτιῶνος
 ΙΑ' ΑΩΖ'. Πρὸς ἅπαν τὸ πλήρωμα τῆς Ὁρθοδόξου Ἐκκλησίας, δι' ἧς γίνε-
 ται ἔπαινος τῶν ἐπιστημῶν καὶ μαθήσεων, ἐπι δὲ καὶ προτροπὴ πρὸς σύ-
 στασιν σχολείων συντελούντων εἰς διάδοσιν αὐτῶν.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού αποτελεί μία από τις σημαντικότερες μεθοδολογίες για την ταυτοποίηση, διαμορφωτική ανάλυση και μελέτη δυναμικών ιδιοτήτων καινοτόμων χημικών ενώσεων οι οποίες βρίσκουν εφαρμογές στην χημεία, βιοχημεία, ιατρική και φαρμακευτική. Για το λόγο αυτό αποτέλεσε ανάγκη από την επιστημονική κοινότητα η συγγραφή βιβλίου που να περιγράφει τόσο τη μέθοδο όσο και τις εφαρμογές της. Στο αίτημα αυτό ανταποκρίθηκαν οι Θ. Μαυρομούστακος και Ι. Ματσούκας –δύο συνάδελφοι που με μεγάλη επιτυχία έχουν αξιοποιήσει τη μεθοδολογία αυτή στον τομέα της Οργανικής και Φαρμακευτικής Χημείας– με τη συγγραφή της μονογραφίας που φέρει τον τίτλο «Αρχές και Εφαρμογές Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού».

Στα πρώτα οκτώ από τα συνολικά είκοσι δύο κεφάλαια, παραθέτονται οι βασικές αρχές της Φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού σε υγρή κατάσταση. Ακολουθούν δύο κεφάλαια τα οποία τονίζουν το ρόλο της Υπολογιστικής Χημείας στο Σχεδιασμό Φαρμακευτικών Ουσιών καθώς και το συνδυασμό Υπολογιστικής Χημείας και Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού για τη μελέτη των ευνοϊκών διαμορφώσεων βιοδραστικών μορίων. Στα επόμενα δέκα κεφάλαια, περιγράφεται η διαμορφωτική ανάλυση βιομορίων και φαρμακευτικών ουσιών, όπως πεπτιδίων, νουκλεϊνικών οξέων, σακχάρων, στεροειδών, φλαβονοειδών κ.ά. Στα τελευταία δύο κεφάλαια αναπτύσσονται εφαρμογές του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού στην Ιατρική και Βιοχημεία, καθώς και στην Χημεία Τροφίμων και Ποτών με την ανίχνευση και τον Ποσοτικό Προσδιορισμό της νοθείας. Η μονογραφία περιέχει εκτενή βιβλιογραφία και χρήσιμο γλωσσάρι, και συμπληρώνεται με επαναληπτικές ασκήσεις για την εφαρμογή και εμπέδωση των γνώσεων που αποκτήθηκαν.

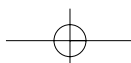
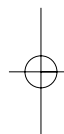
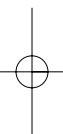
Η παρούσα μονογραφία έχει συγγραφεί με σαφήνεια και απλότητα. Σίγουρα θα αποτελέσει απαραίτητο βοήθημα όχι μόνο για προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές, αλλά και για πανεπιστημιακούς δασκάλους και ερευνητές, χημικούς, βιολόγους και ιατρούς, που θα θελήσουν να ενημερω-



θούν ή και να χρησιμοποιήσουν τις παρεχόμενες γνώσεις στην διδασκαλία ή την έρευνα.

Είμαι βέβαιος ότι η μονογραφία αυτή θα τύχει θερμής υποδοχής και αναγνωρίσεως από το σύνολο του ακαδημαϊκού χώρου.

Κωνσταντίνος Σέκερης
Ομότιμος Καθηγητής Ιατρικής Σχολής
Πανεπιστημίου Αθηνών



ΑΝΤΙ ΠΡΟΛΟΓΟΥ

Ο στόχος του βιβλίου αυτού είναι να αποτελέσει βοήθημα στους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές, που θέλουν να εμβαθύνουν στις αρχές και εφαρμογές του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού σε υγρή φάση. Κατ' αρχήν γίνεται συστηματική ανάλυση των αρχών του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού και ακολουθούν κεφάλαια που αφορούν:

- (α) την εύρεση διαμόρφωσης βιοδραστικών μορίων,
- (β) τις αλληλεπιδράσεις φαρμακευτικών μορίων με τους υποδοχείς,
- (γ) τη χρήση του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού ως διαγνωστικής μεθόδου για τη διαφοροποίηση καλοήθων από κακοήθη νεοπλασμάτα,
- (δ) την έρευνα μεταβολισμού ουσιών, σημαντικών για την ομαλή λειτουργία της υγείας του ανθρώπου και
- (ε) την ανίχνευση νοθείας οίνων και τροφίμων,

Με τον τρόπο αυτό καλύψαμε σημαντικούς τομείς προσφοράς της μεθόδου του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού. Επίσης κρίναμε σκόπιμο να ενσωματώσουμε και ένα κεφάλαιο, που αναφέρεται στην Υπολογιστική Χημεία, γιατί συμπληρώνει το κεφάλαιο με τις διαμορφώσεις βιοδραστικών μορίων.

Ελπίζουμε ότι το βιβλίο αυτό θα βρει ανταπόκριση από τους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές της Ελλάδας, καθώς και από τους καθηγητές που διδάσκουν Πυρηνικό Μαγνητικό Συντονισμό. Οι κριτικές τους για να επιτευχθεί περαιτέρω βελτίωση των κειμένων, όπως και η εισαγωγή κάποιων άλλων κεφαλαίων που παραλείψαμε είναι ευπρόσδεκτες.

Είμαστε πεπεισμένοι ότι ο ικανός αριθμός ερωτήσεων, παραδειγμάτων και ασκήσεων βοηθά τόσο τους Καθηγητές όσο και τους φοιτητές στην κατανόηση πολλών πτυχών της φασματοσκοπίας Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού.

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε ιδιαίτερα τους Καθηγητές Ι. Γερο-

θανάση και Χ. Τσουγκράκη για τις εύστοχες παρατηρήσεις τους, οι οποίες συντέιναν στην αρτιότερη μορφή των κειμένων.

Ευχαριστούμε τον Καθηγητή De-Ping Yang, ο οποίος μας παραχώρησε τα Σχήματα 1.3.6 και 1.3.7 για τη συγγραφή του βιβλίου.

Επίσης, για την ενεργή συνεισφορά τους στη διεκπεραίωση του βιβλίου, θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τους: Δρ. Νικόλαο Μπενέτη, Δρ. Ευθυμία Θεοδωροπούλου, Δρ. Γεώργιο Μπόννα, Δρ. Μαρία Ζερβού, Δρ. Ελισάβετ Ματσούκα, Δρ. Απόστολο Παπαδόπουλο, Δρ. Παναγιώτη Ζουμπουλάκη, Δρ. Ιωάννα Κυρίκου, τον ιατρό Χρυσόστομο Δημητρίου και τον μεταπτυχιακό φοιτητή Κ. Ποταμίτη. Ακόμα, τον πολύ αγαπητό Σταύρο Ψαρουδάκη για την ευγενή προσφορά του στη μελέτη και διόρθωση των ατελειών των κειμένων.

Εκφράζουμε εγκάρδια τις ευχαριστίες μας στον κ. Γ. Ζουμπουλάκη ο οποίος με ιδιαίτερη προθυμία προσφέρθηκε να φιλοτεχνήσει το εξώφυλλο του βιβλίου.

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε τον Δρ Κωνσταντίνο Παπακωνσταντίνου, ο οποίος επιμελήθηκε το καλλιτεχνικό τμήμα και συνέτεινε στην προσθήκη επιστημονικού υλικού για την αρτιότερη παρουσίαση του περιεχομένου.

Ευχαριστούμε τους κ.κ. Μιχαήλ Ευσταθίου και Μιχαήλ Μαυρομούστακο καθώς και την κ. Έλενα Μαυρομούστακου για τη συντακτική τους επιμέλεια.

Τέλος ευχαριστούμε το πρόγραμμα «Ελλάδα-Αυστραλία-Διακρατική Συνεργασία της Γενικής Γραμματείας Έρευνας και Τεχνολογίας στα πλαίσια του οποίου πραγματοποιήθηκε η έκδοση αυτή.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΑΡΧΕΣ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

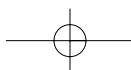
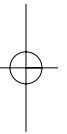
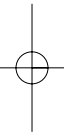
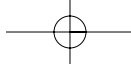


Purcell Edward Mills
(1912-1997)



Bloch Felix
(1905-1983)

Το έτος 1952 οι φυσικοί E. Purcell (Harvard, USA) και F. Bloch (Stanford, USA) τιμήθηκαν με το βραβείο Νόμπελ για την ανακάλυψη του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού.



1.1 Εισαγωγή

Η μέθοδος του *Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού (Nuclear Magnetic Resonance-NMR)* ανακαλύφθηκε ταυτόχρονα από τις ερευνητικές ομάδες του Bloch στο Stanford και του Purcell στο MIT των ΗΠΑ το 1945. Για την επιτυχία τους, οι δύο υπεύθυνοι των ερευνητικών ομάδων επιβραβεύθηκαν με βραβείο Νόμπελ.

Οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται στον Πυρηνικό Μαγνητικό Συντονισμό είναι:

(α) **Χημική μετατόπιση σε κλίμακα δ (ppm)**. Με τη χημική μετατόπιση λαμβάνονται πληροφορίες για το χημικό περιβάλλον μιας ουσίας ή σύμπλοκου συστήματος. Είναι, δηλαδή, διαγνωστική παράμετρος για την ταυτότητα των συστημάτων που μελετώνται. Σε σύζευξη με άλλες διαγνωστικές παραμέτρους μπορεί να ληφθούν επιπρόσθετες πληροφορίες για την κινητικότητα και τη δυναμική των μοριακών τμημάτων του συστήματος που μελετάται.

(β) **Χρόνοι αποκατάστασης ή εφησυχασμού (T_1 , T_2)**. Με τη χρήση των χρόνων εφησυχασμού λαμβάνομεν πληροφορίες για τις φυσικές ιδιότητες μιας ουσίας ή συμπλόκου συστήματος (π.χ. συντελεστής διάχυσης).

(γ) **Σταθερά σύζευξης (J-coupling)**. Οι σταθερές σύζευξης είναι χρήσιμες για την εύρεση ευνοϊκών διαμορφώσεων των μορίων.

(δ) **Συζεύξεις γεινιαζόντων πυρήνων στο χώρο (NOE-Nuclear Overhauser Effect)**. Οι συζεύξεις NOE βοηθούν επίσης στην εύρεση ευνοϊκών διαμορφώσεων, γιατί δίνουν πληροφορίες για τη χωρική εγγύτητα των διαφόρων πυρήνων.

(ε) **Βαθμιδωτό πεδίο**. Με τη χρήση βαθμιδωτού πεδίου μπορούν να ληφθούν πληροφορίες για τη θέση ενός μορίου. Ως παράδειγμα αναφέρεται η μαγνητική τομογραφία που χρησιμοποιεί βαθμιδωτό πεδίο για τον εντοπισμό όγκων κ.λπ.

Η χρήση των αναφερθέντων παραμέτρων στη τεχνική του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού οδηγεί σε πολλές εφαρμογές στη Φυσική, Χημεία, Βιοχημεία, Βιοφυσική, Μοριακή Βιολογία και την τελευταία δεκαετία στην Ιατρική. Αναφέρουμε ενδεικτικά μόνο μερικές εφαρμογές της μεθόδου για να δείξουμε το εύρος της συνεισφοράς της:

- α) ταυτοποίηση και διαμόρφωση ανοργάνων συμπλόκων καθώς και οργανικών ουσιών,
- β) μελέτη ζεολίθων, κυκλοδεξτρινών, πολυμερών, υάλων και κεραμικών,
- γ) μελέτη αλληλεπίδρασης φαρμακευτικών και άλλων βιολογικά δραστηκών ουσιών με το κέντρο δράσης τους,
- δ) μελέτη ποτών και τροφίμων και πιθανής νοθείας σ' αυτά (π.χ. οίνος και έλαια)
- ε) μελέτη βιοχημικών μηχανισμών και
(στ) ανάπτυξη μοριακών προτύπων για το σχεδιασμό και τη σύνθεση φαρμακευτικών μορίων με βελτιωμένες βιολογικές δράσεις.

1.2 Φασματογραφία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού

Ο Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός είναι μία μορφή φασματοσκοπίας απορρόφησης όπου το δείγμα, ευρισκόμενο με τις προσανατολιζόμενες ιδιοπεριστροφές (σπιν (spin) ή αυτοπεριστροφές) του μέσα σε μαγνητικό πεδίο, απορροφά η-λεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε συχνότητες, που το χαρακτηρίζουν. Η απορρόφηση εξαρτάται από τον παρατηρούμενο πυρήνα. Ένα φάσμα NMR αποτελείται από μία πληθώρα κορυφών, οι οποίες συντονίζονται σε διάφορες συχνότητες.

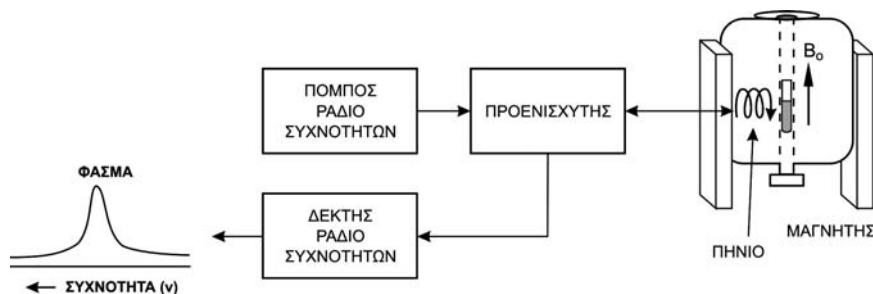
Κατ' αρχήν θα επιχειρήσουμε μία σύντομη περιγραφή των τμημάτων, που απαρτίζουν το φασματογράφο Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού και τον τρόπο λειτουργίας τους. Η περιγραφή θα γίνει με ανάλυση των τριών λέξεων ακρωνυμίων, που εκφράζουν τη μέθοδο αυτή. Σε επόμενη παράγραφο θα εξετάσουμε ορισμένα τμήματά του αναλυτικότερα.

Πυρηνικός: Η μέθοδος αρχίζει με τη λέξη *Πυρηνικός* γιατί βασίζεται στην ανίχνευση Πυρήνων με σπιν. Αυτοί έχουν ατομικό ή μαζικό αριθμό περιττό. Έτσι πυρήνες, όπως $^1\text{H}_1$, $^{13}\text{C}_6$, $^{15}\text{N}_7$, και $^{27}\text{Al}_{13}$, μπορούν να μελετηθούν με τη μέθοδο αυτή. Πυρήνες με ζυγό ατομικό και μαζικό αριθμό, όπως $^{12}\text{C}_6$, $^{16}\text{O}_8$, και $^{56}\text{Fe}_{28}$, δεν ανιχνεύονται με τη μέθοδο του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού γιατί στερούνται αυτοστροφορμής.

Μαγνητικός: Η λήψη των φασμάτων γίνεται εντός μαγνητικού πεδίου. Αυτό δικαιολογεί και τη χρήση της δεύτερης λέξης *Μαγνητικός*. Ο φασματογράφος αποτελείται, λοιπόν, από ένα μαγνήτη με μορφή σωληνοειδούς που περιέχει υπεραγώγιμο υλικό. Η ένταση του πεδίου προσδιορίζει και τη διακριτικότητα των φασμάτων, που λαμβάνονται. Όσο μεγαλύτερη είναι η ένταση, τόσο αυξάνεται η διακριτικότητα. Η μαγνήτιση των υπεραγώγιμων υλικών είναι μόνιμη και επιτυγχάνεται με τη διατήρησή τους σε περιβάλλον υγρού ηλίου (4 K) και υγρού αζώτου (195 K). Κάποια πηνία που υπάρχουν μέσα στο μαγνήτη έχουν ως σκοπό να διατηρήσουν την ομογενοποίηση του πεδίου. Η ομοιογένεια και η σταθερότητα του πεδίου αποτελούν βασικούς παράγοντες για την επιτυχή λήψη φάσματος. Αυτή εξετάζεται με την εκπομπή και λήψη μιας δεδομένης συχνότητας αναφοράς (δευτερίου).

Συντονισμός: Στο κέντρο του συστήματος, που περιγράφηκε, τοποθετείται ο αισθητήρας (probe). Αυτός περιλαμβάνει τον απαραίτητο εξοπλισμό (συντονιζόμενα κυκλώματα) για την εκπομπή υψίσυχνων παλμών προς το δείγμα, ώστε να διεγερθούν οι παρατηρούμενοι πυρήνες και να γίνει λήψη της κυματομορφής αποδιέγερσης. Θα πρέπει να αναφερθεί ότι η παλμοσειρά περιλαμβάνει το πιθανό εύρος συχνοτήτων, που απαιτείται για τη διέγερση όλων των πυρήνων του παρατηρούμενου χημικού στοιχείου. Αυτός ο συντονισμός όλων των πυρήνων εξηγεί και την τελευταία λέξη του ακρωνύμιου της μεθόδου.

Η αποδιέγερση των πυρήνων επάγει στο πηνίο παρατήρησης, ένα ρεύμα το οποίο ενισχύεται και καταλήγει στο δέκτη, όπου και αποδιαμορφώνεται. Στη συνέχεια, αφού δειγματοληφθεί και ψηφιοποιηθεί, υπόκειται σε μετασχηματισμό κατά Fourier. Με τη μαθηματική αυτή επεξεργασία λαμβάνεται στο πεδίο συχνοτήτων το φασματικό περιεχόμενο του συστήματος που εξετάζεται. Τέλος, γίνεται βελτίωση του ληφθέντος φάσματος (διόρθωση φάσης, διόρθωση της βασικής γραμμής του φάσματος κλπ). Η ολοκλήρωση των κορυφών δίνει πληροφορίες για τον αριθμό των πρωτονίων της εξεταζόμενης ένωσης σε φάσματα πρωτονίων. Περιληπτικά η όλη αυτή διεργασία απεικονίζεται στο σχετικό Σχ. 1.2.1.



Σχήμα 1.2.1. Περιληπτική Περιγραφή Λήψης Φάσματος Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού.

Η παρασκευή των δειγμάτων γίνεται με διάλυση τους σε δευτεριωμένο διαλύτη. Τα διαλυμένα δείγματα μεταφέρονται σε σωληνίσκο κατάλληλης διαμέτρου (π.χ. 5 mm ή 10 mm) και τελικά στον αισθητήρα, όπου συνήθως περιστρέφονται με χρήση ξηρού αέρα.

Ας δούμε αναλυτικότερα πως επιτυγχάνεται η λήψη ενός τέτοιου φάσματος.

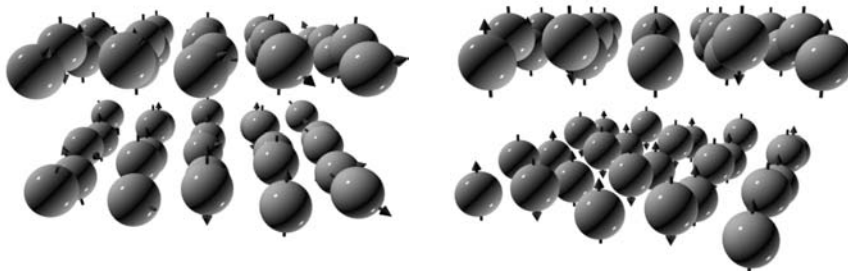
1.3 Θεωρία μεθόδου λήψης φάσματος με χρήση ενός παλμού

Οι πυρήνες όλων των στοιχείων μεταφέρουν φορτίο. Όταν οι ιδιοπεριστροφές των πρωτονίων και νετρονίων δεν είναι συζευγμένες, τότε το ολικό σπιν του φορτισμένου πυρήνα δημιουργεί ένα μαγνητικό δίπολο κατά μήκος του άξονα περιστροφής. Το μέγεθος του δημιουργουμένου διπόλου αποτελεί θεμελιώδη πυρηνική ιδιότητα που καλείται πυρηνική μαγνητική ροπή (μ). Η συμμετρία του φορτίου κατανομής σε ένα πυρήνα είναι συνάρτηση της εσωτερικής του δομής και εάν είναι σφαιρική (π.χ. συμμετρία του τροχιακού του υδρογόνου 1s) αντιστοιχεί σε πυρηνικό κβαντικό αριθμό στροφορμής $l=1/2$. Παράδειγμα τέτοιων πυρήνων αποτελούν οι ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P κ.λπ. Πυρήνες με μη σφαιρική κατανομή φορτίου (3d τροχιακό) έχουν μεγαλύτερους αριθμούς l

($I > 1/2$). Τέτοια παραδείγματα αποτελούν οι πυρήνες ^{10}B και ^{14}N . Η μελέτη των πυρήνων αυτών ξεφεύγει τους στόχους αυτού του βιβλίου.

Πριν από την εισαγωγή του δείγματος στο μαγνητικό πεδίο B_0 , οι πυρήνες έχουν όλους τους πιθανούς προσανατολισμούς και το προς μελέτη σύστημα δεν έχει μαγνήτιση (magnetization). Η εισαγωγή του δείγματος μέσα στο μαγνητικό πεδίο B_0 προσανατολίζει όλους τους πυρήνες σε σχέση με την ένταση B_0 (Σχ. 1.3.1). Το μαγνητικό δίπολο του πρωτονίου λόγω κβαντικών περιορισμών ($I=1/2$) μπορεί να πάρει δύο προσανατολισμούς ($I_z=1/2$ ή $I_z=-1/2$) σε σχέση με την ένταση του εφαρμοσμένου μαγνητικού πεδίου B_0 . Συγκεκριμένα το πρωτόνιο είτε θα ευθυγραμμισθεί με την ένταση B_0 , (χαμηλότερη ενεργειακή κατάσταση) είτε θα αντιπεθεί προς την ένταση (υψηλότερη ενεργειακή κατάσταση).

Μιλώντας με όρους της κβαντομηχανικής, η πυρηνική μαγνητική ροπή του πυρήνα μπορεί να προσανατολισθεί με την εφαρμογή εξω-



Σχήμα 1.3.1. Προσανατολισμοί των σπιν πρωτονίων με την απουσία και την παρουσία μαγνητικού πεδίου. Με απουσία (αριστερά) μαγνητικού πεδίου τα σπιν των πρωτονίων προσανατολίζονται προς όλες τις πιθανές διευθύνσεις. Με παρουσία (δεξιά) μαγνητικού πεδίου προσανατολίζονται (κατά μέσο όρο) παράλληλα ή αντιπαράλληλα προς το πεδίο.

τερικού μαγνητικού πεδίου έντασης B_0 σε $2I+1$ τρόπους είτε με επαύξηση (re-enforcing) ή με αντίθεση (opposition) στο B_0 . Ο ενεργειακός προτιμώμενος προσανατολισμός, που είναι παράλληλος προς το μαγνητικό πεδίο ($I_z=1/2$) συμβολίζεται με το γράμμα α , ενώ ο αντιπαράλληλος προσανατολισμός ($I_z=-1/2$) με το γράμμα β . Ο άξονας περιστροφής του πυρήνα δεν μπορεί να προσανατολίζεται ακριβώς παράλληλα ή αντιπαράλληλα με διεύθυνση το μαγνητικό πεδίο B_0 αλλά πρέπει να κάνει γυροσκοπική πορεία (precess) γύρω από το πεδίο κατά μία γωνία με γωνιακή ταχύτητα που δίνεται από τη σχέση:

$$\omega = \gamma \cdot B_0 \quad (1.3.1)$$

Η φυσική σταθερά γ για κάθε πυρήνα καλείται *γυρομαγνητικός λόγος* και συσχετίζεται με τη μαγνητική ροπή μ και το I σύμφωνα με την εξίσωση:

$$\gamma = \frac{2\pi \cdot \mu}{hI} \quad (1.3.2)$$

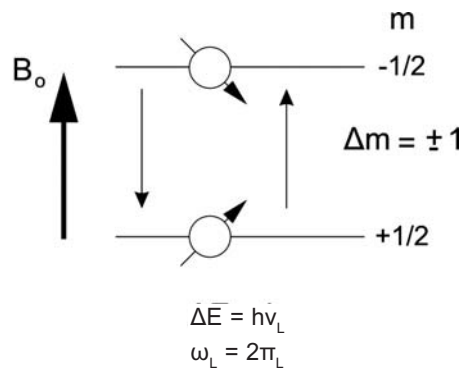
όπου h =σταθερά Planck.

Ο προσανατολισμός υπακούει στη στατιστική Boltzmann κατά την οποία υπάρχει περίσσειμα πυρήνων στη βασική κατάσταση με προσανατολισμό παράλληλο προς την ένταση B_0 . Μεταβάσεις μεταξύ των δύο καταστάσεων συμβαίνουν με την απορρόφηση ή εκπομπή κβαντικής ενέργειας ισοδύναμης με την ενεργειακή διαφορά των δύο καταστάσεων (συχνότητα Larmor). Στην περίπτωση αυτή ο πυρήνας και η ακτινοβολία της πηγής συντονίζονται (Σχ. 1.3.2). Απ' εδώ προέρχεται ο όρος Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός (Nuclear Magnetic Resonance).



Larmor Joseph
(1857-1942)

Η συχνότητα Larmor είναι ένας όρος που απαντάται στην ορολογία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού και αναφέρεται στην συχνότητα κατά την οποία επιτυγχάνεται συντονισμός.



Σχήμα 1.3.2. Μεταβάσεις μεταξύ δύο καταστάσεων που συμβαίνουν με την απορρόφηση ή εκπομπή κβαντικής ενέργειας ισοδύναμης με την ενεργειακή διαφορά των δύο καταστάσεων (συχνότητα Larmor).

Κατά το συντονισμό ισχύει η παρακάτω εξίσωση η οποία συσχετίζει τη συχνότητα Larmor (ν_L) με την ένταση του εξωτερικού πεδίου B_0 .

$$\nu_L = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot B_0 \quad (1.3.3)$$

Για τα πρωτόνια $\gamma=26,75 \cdot 10^7 \text{ T}^{-1}\text{s}^{-1}$ και $B_0=2\text{T}$, $\Delta E=6 \cdot 10^{-26} \text{ J}$. Οι σχετικοί πληθυσμοί των υψηλότερων (n^2) και χαμηλότερων (n^1) ενεργειακών επιπέδων στη θερμοκρασία δωματίου δίνονται όπως έχει ήδη αναφερθεί, από το νόμο κατανομής του Boltzmann (εξίσωση 1.3.4).

Ο νόμος αυτός αποδεικνύει ότι η πιθανότητα της παρατήρησης της $n^1(\alpha)$ ως προς τη $n^2(\beta)$ είναι λίγο μεγαλύτερη. Σε αυτή τη διαφορά βασίζεται η φασματοσκοπία NMR. Αύξηση του B_0 σημαίνει αύξηση της ΔE και σύμφωνα με το νόμο του Boltzmann θα αυξηθεί και η πληθυσμιακή διαφορά στις δύο κβαντικές καταστάσεις. Έτσι επεξηγείται γιατί μεγαλύτερες εντάσεις πεδίων βοηθούν στην αύξηση ευαισθησίας του πειράματος NMR.

$$\frac{n^2}{n^1} = e \cdot \frac{-\Delta E}{kT} \cdot 0,9999 \quad (1.3.4)$$

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 1.3.1

Δίνεται ότι

$$\frac{\gamma_H}{\gamma_C} = 4$$

Αν το στατικό μαγνητικό πεδίο B_0 που εφαρμόζεται κατά την περιστροφή του δείγματος, είναι 7,4 T να υπολογίσετε κατά προσέγγιση τη συχνότητα με την οποία θα συντονίζονται τα πρωτόνια. Σε ποια συχνότητα θα συντονίζονται οι άνθρακες;

$$(\gamma_H = 2,675 \cdot 10^8 \text{ rad s}^{-1} \cdot \text{T}^{-1}).$$

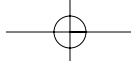
Λύση: Με εφαρμογή του τύπου

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot B_0$$

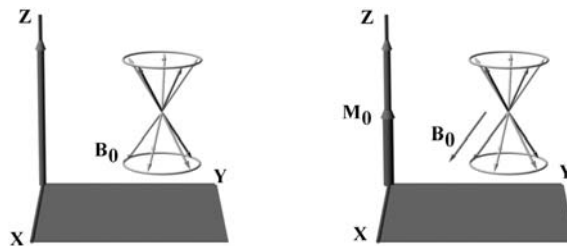
βρίσκεται ότι $\nu_0 = 315,2 \text{ MHz}$. Οι άνθρακες θα συντονίζονται στη συχνότητα των $315,2/4 = 78,8 \text{ MHz}$, αφού ο γυρομαγνητικός λόγος του άνθρακα είναι τέσσερις φορές μικρότερος από αυτό του πρωτονίου.

Μαγνήτιση: Ας ορίσουμε με ακρίβεια τον όρο *μαγνήτιση*, τον οποίο αναφέραμε προηγουμένως. Ο ολικός προσανατολισμός των σπιν ονομάζεται μαγνήτιση και είναι ένα άνυσμα M , που συμπίπτει με τον άξονα και την ένταση B_0 , αφού οι μαγνητίσεις στο επίπεδο $X\psi$ σε κατάσταση ισορροπίας αλληλοεξουδετερώνονται (Σχ. 1.3.3).

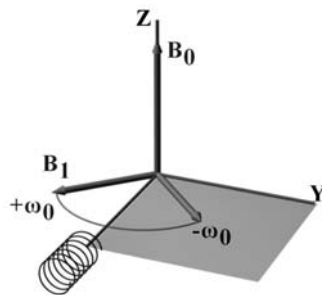
Εργαστηριακό Πλαίσιο Αναφοράς (stationary or laboratory frame): Το πηνίο ραδιοσυχνοτήτων συμβατικά τίθεται στον άξονα των X σε ένα εργαστηριακό πλαίσιο αναφοράς, όπως είναι αυτό που παρουσιάζεται στο Σχ. 1.3.3. Σε επόμενα παραδείγματα το Εργαστηριακό Πλαίσιο Αναφοράς θα τεθεί στον άξονα Y , για να δειχθεί η συμβατικότητα του άξονα που τίθεται το πηνίο. Το ηλεκτρομαγνητικό πεδίο που δημιουργείται από παλμικές ραδιοσυχνότητες ταλαντώνεται γύρω από τον άξονα των



Χ με δύο συχνότητες $\pm\omega_0$. Μόνο η συχνότητα ω_0 (B_1) επιδρά στις πυρηνικές ιδιοπεριστροφές (Σχ. 1.3.4).

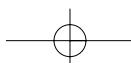


Σχήμα 1.3.3. Συνολική μαγνήτιση στους άξονες Z και επίπεδο XY σε κατάσταση ισορροπίας με το περιβάλλον.

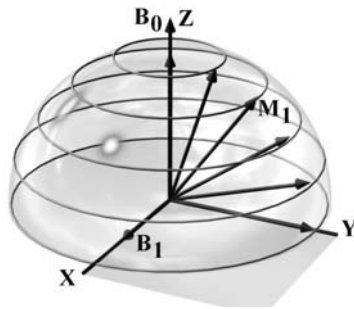


Σχήμα 1.3.4. Παλμικές ραδιοσυχνότητες στο εργαστηριακό πλαίσιο αναφοράς.

Ραδιοπαλμός: Η διέγερση όλων των μαγνητικών πυρήνων επιτυγχάνεται συγχρόνως με χρήση ραδιοπαλμών. Το δείγμα ακτινοβολείται περιοδικά (ON και OFF) με συχνότητες της περιοχής $\nu_0 \pm 1/t$. Με κατάλληλη επιλογή του χρόνου είναι δυνατό να επιτευχθεί διέγερση όλων των πυρήνων ταυτόχρονα. Τότε η αρχική μαγνήτιση M_0 διαταράσσεται και λαμβάνεται διαφορετική μαγνήτιση M , που σχηματίζει μια γωνία με τον άξονα z και η οποία μεταπίπτει ανάλογα με το χρόνο γύρω από το B_1 με γωνιακή ταχύτητα ω_1 . Ταυτόχρονα μεταπίπτει γύρω από το B_0 . Αυτή



η χρονικά εξαρτώμενη μαγνήτιση ονομάζεται M_t . Ακόμη και απλά πειράματα είναι δύσκολο να περιγραφούν στο εργαστηριακό πλαίσιο αναφοράς (Σχ. 1.3.5.).



Σχήμα 1.3.5. Η επίδραση ενός παλμού ραδιοσυχνότητας στο εργαστηριακό πλαίσιο αναφοράς.

Περιστρεφόμενο Πλαίσιο Αναφοράς (rotating frame): Προς απλοποίηση του συστήματος αυτού έχει εισαχθεί το περιστρεφόμενο πλαίσιο αναφοράς, στο οποίο οι άξονες X και Y περιστρέφονται με γωνιακή ταχύτητα ω_0 . Στο περιστρεφόμενο πλαίσιο αναφοράς η επίδραση του B_0 εξαλείφεται και όποιο διάνυσμα μεταπίπτει με γωνιακή ταχύτητα ω_0 , όπως το B_1 , παριστάνεται ως στάσιμο.

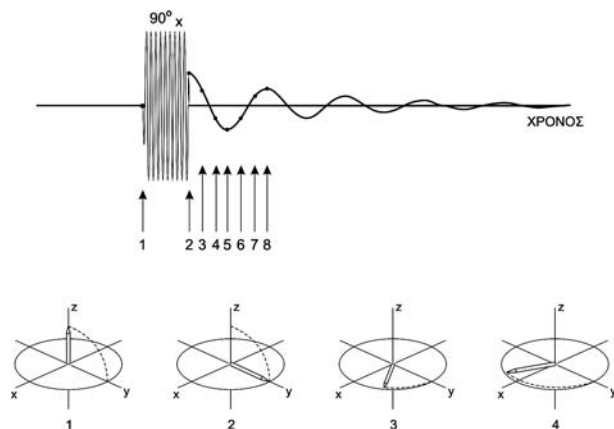
Ο αναπροσανατολισμός της μαγνήτισης M , που διαφέρει από πυρήνα σε πυρήνα ανάλογα με το χημικό και μαγνητικό περιβάλλον, διαρκεί τόσο όσο και η ακτινοβόληση του δείγματος και είναι της τάξης των λίγων μικροδευτερολέπτων (μs). Η γωνία περιστροφής (flip angle) είναι ανάλογη του B_1 και του χρόνου που διαρκεί (t).

$$\varphi = \gamma \cdot B_1 \cdot t \quad (1.3.5)$$

Η επίδραση ενός παλμού 90° παρουσιάζεται στο Σχ. 1.3.6.

Η εφαρμογή παλμού 90° έχει ως αποτέλεσμα να αποκλίνει η μαγνήτιση M_0 κατά μήκος του άξονα Y όπου τοποθετείται το πηνίο ο φασματογράφος ανιχνεύει το σήμα. Επομένως, στροφή της M_0 κατά 90° παράγει το μέγιστο σήμα.

Ελευθέτως Φθίνουσα Επαγωγή (Free Induction Decay-FID): Όταν διακοπεί η ακτινοβολήση, οι πυρήνες επανέρχονται στην αρχική τους κατάσταση και η εγκάρσια μαγνήτιση αποσβένεται ή φθίνει χρονικά με κάθε πυρήνα του μορίου να έχει το δικό του χρόνο απόσβεσης.



Σχήμα 1.3.6. Η επίδραση ενός παλμού 90°_x και η παραγωγή ελεύθερης φθίνουσας επαγωγής.

Η συνάρτηση της φθίνουσας εγκάρσιας μαγνήτισης του πυρήνα με το χρόνο καλείται *ελευθέτως φθίνουσα επαγωγή* και έχει τη μορφή μιας φθίνουσας ταλάντωσης. Αυτή η φθίνουσα συνάρτηση περιέχει το φάσμα του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, σε συνάρτηση με το χρόνο. Η ταλάντωση είναι το σήμα της απορρόφησης του πυρήνα, και φθίνει εκθετικά με το χρόνο. Η ταχύτητα απόσβεσης σχετίζεται επίσης με το εύρος της απορρόφησης. Όσο πιο γρήγορα γίνεται η απόσβεση τόσο πιο μεγάλο είναι το εύρος των φασματικών γραμμών στον άξονα των συχνοτήτων. Αντίστοιχα όσο πιο αργά γίνεται η απόσβεση, τόσο πιο μικρό είναι το εύρος, δηλαδή πιο οξεία η κορυφή με βελτίωση της διακριτικής ικανότητας. Επομένως η FID περιέχει δύο πληροφορίες: τις συχνότητες των φασματικών κορυφών και τα εύρη τους (Σχ. 1.3.7).

Μετασχηματισμός κατά Fourier. Με μια μαθηματική διαδικασία γνωστή ως «μετασχηματισμός κατά Fourier» μετασχηματίζεται το φάσμα

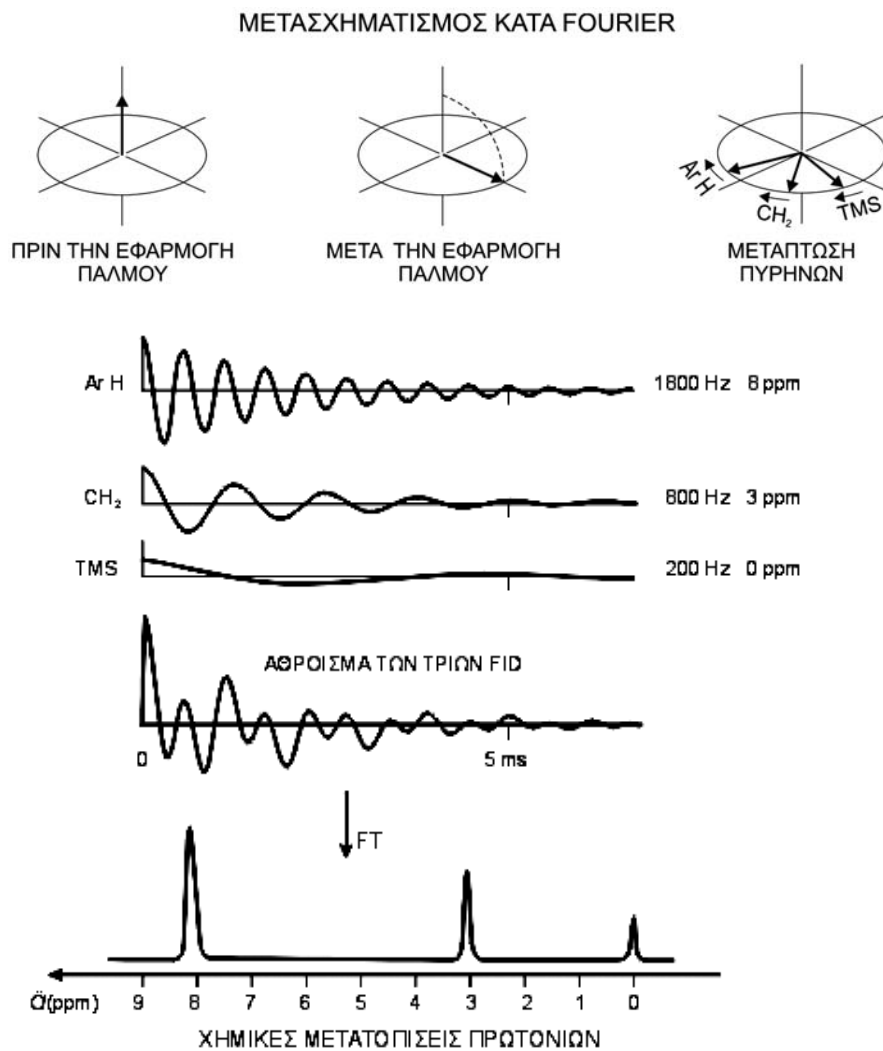
συνάρτησης χρόνου σε φάσμα συνάρτησης συχνότητας, που είναι το φάσμα λήψης του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού. Κάθε πυρήνας συντονίζεται σε διαφορετική συχνότητα λόγω διαφορετικής προάσπισης (chemical shielding), επειδή το ηλεκτρονιακό του περιβάλλον στο μαγνητικό πεδίο διαφέρει από κάθε άλλο πυρήνα. Ο μετασχηματισμός κατά Fourier παρουσιάζεται στο Σχ. 1.3.7. Έτσι, μια ένωση που έχει τρία είδη πρωτονίων με διαφορετικό ηλεκτρονιακό περιβάλλον γύρω τους θα δώσει FID στην οποία θα περιέχεται αυτή η πληροφορία των τριών συνιστωσών της. Κατά το μετασχηματισμό κατά Fourier θα ληφθούν τρεις κορυφές, που αντιστοιχούν στις συχνότητες συντονισμού ($\Delta\nu$) των τριών διαφορετικών ειδών πρωτονίων.

Ο μετασχηματισμός κατά Fourier περιγράφεται από την εξίσωση 1.3.6. το T_k αντιπροσωπεύει το k σημείο της FID και το F_j αντιπροσωπεύει το j σημείο του φάσματος συχνοτήτων. Το κάθε F_j σημείο (το j λαμβάνει τιμές από 0 μέχρι $n-1$) απαιτεί το άθροισμα όλων των n σημείων στην FID και ο υπολογισμός απαιτεί n^2 πολλαπλασιασμούς και προσθήκες. Ο αλγόριθμος, ο οποίος αναπτύχθηκε από τους Cooley και Tukey, απλοποίησε τη χρονοβόρα διαδικασία υπολογισμών, ώστε με χρήση μικροϋπολογιστών να επιτυγχάνεται η λήψη φάσματος συχνοτήτων σε μερικά δευτερόλεπτα (Fast Fourier Transformation).

$$F_j = \sum_{k=0}^{n-1} T_k \cdot e^{-\frac{2\pi \cdot j \cdot k}{n}} \quad \cdot j = 0, 1, \dots, n-1 \quad (1.3.6)$$

Η κλίμακα του φάσματος δείχνει τις διάφορες χημικές μετατοπίσεις των πρωτονίων ή γενικά του παρατηρούμενου πυρήνα. Αυτή εκφράζεται σε μονάδες δ ppm (parts per million) σε σχέση με τη θέση που συνήθως εμφανίζεται η κορυφή απορρόφησης των πρωτονίων του τετραμεθυλοσιλανίου (TMS), στην οποία αυθαίρετα προσδίδεται η τιμή $\delta=0$ ppm (ω_{TMS}).

Η χημική μετατόπιση δ είναι αδιάστατο μέγεθος και είναι ανεξάρτητο του οργάνου που χρησιμοποιείται. Ορίζεται δε ως το πηλίκο της συ-



Σχήμα 1.3.7. Παραγόμενη ελευθέρως φθίνουσα επαγωγή και μετασχηματισμός της κατά Fourier.



Cooley W. James
(1926-)



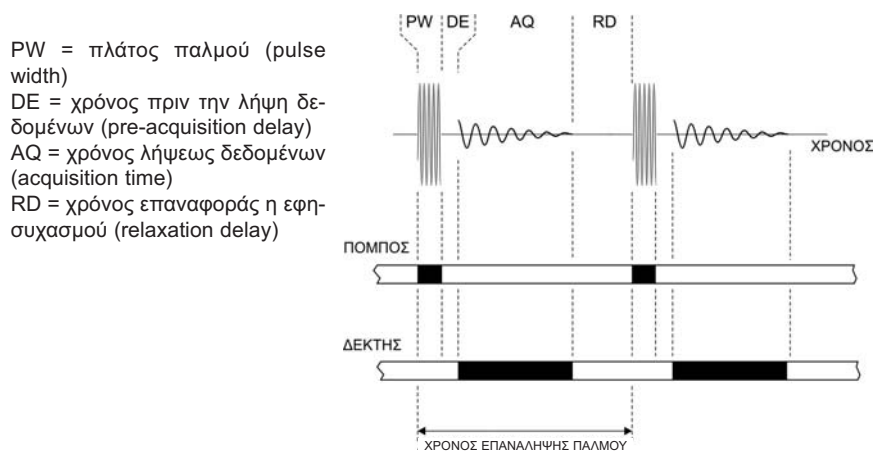
Tukey W. John
(1915-)

χνότητας σε Hz του συγκεκριμένου πρωτονίου προς τη συχνότητα σε Hz του φασματογράφου NMR πολλαπλασιαζόμενο επί 10^6 (εξίσωση 1.3.7).

$$\delta = \frac{\omega_{\text{tms}} - \omega_1}{\gamma_1 \cdot B_0} \cdot 10^6 \quad (1.3.7)$$

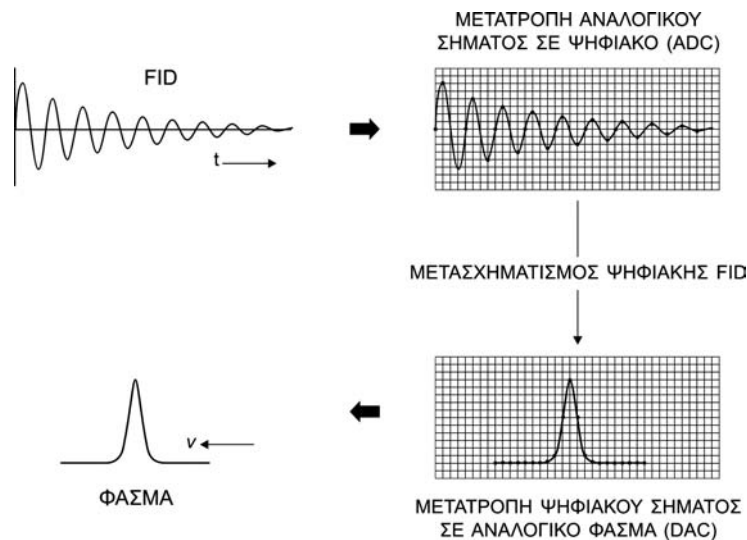
1.4 Στοιχεία Οργανολογίας

Στο απλούστερο πείραμα η λήψη φάσματος οποιουδήποτε πυρήνα ενεργού με τη μέθοδο του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού εφαρμόζεται ένας παλμός (συνήθως 90°) διάρκειας μερικών μικροδευτερολέπτων, για να διεγερθούν οι πυρήνες που βρίσκονται στην κατάσταση ισοροπίας. Η επίδραση του παλμού στοχεύει στην μεταφορά της μαγνήτισης M από τον άξονα Z στο επίπεδο XY . Τα χρονικά διαστήματα καθώς και οι καταστάσεις πομπού και δέκτη που χρησιμοποιούνται στο πείραμα παρουσιάζονται στο Σχ. 1.4.1. Στο πείραμα αυτό ο πομπός είναι σε λειτουργία μόνο για λίγα μικροδευτερόλεπτα. Στο χρονικό αυτό διάστημα διαγείρονται οι πυρήνες από τη ραδιοσυχνότητα του πομπού. Μόλις διακοπεί η λειτουργία του πομπού τίθεται σε λειτουργία ο δέκτης, ο οποίος, συνήθως, για ένα χρονικό διάστημα λίγων δευτερολέπτων, συλλέγει την απόσβεση της εγκάρσιας μαγνήτισης. Το πείραμα επαναλαμβάνεται μερικές φορές για να ενισχυθεί το σήμα, αφήνοντας κάποιο χρονικό διάστημα για την επαναδιέγερση του δείγματος.



Σχήμα 1.4.1. Χρόνοι που χρησιμοποιούνται σε ένα πείραμα ενός παλμού. Κατάσταση του πομπού και δέκτη ραδιοσυχνοτήτων. Η μαυρισμένη περιοχή του πομπού ή δέκτη δείχνει ότι αυτή τη χρονική στιγμή είναι σε λειτουργία (ON), ενώ η μη μαυρισμένη περιοχή ότι τίθεται εκτός λειτουργίας (OFF).

Η ροή των δεδομένων από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή όπου γίνεται η επεξεργασία της FID δείχνεται στο Σχ. 1.4.2.



Σχήμα 1.4.2. Επεξεργασία FID από τον ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Αναλυτικότερα οι πιο σπουδαίοι παράμετροι, που χρησιμοποιούνται στο πείραμα ενός παλμού και οι συσχετισμοί τους καθώς και αντιπροσωπευτικά παραδείγματα, παρατίθενται πιο κάτω.

DW = χρόνος δειγματοληψίας (dwell time). Χρόνος μεταξύ δύο σημείων λήψης.	156 μ s
SI = μέγεθος (size) Αριθμός των δεδομένων λήψης.	8192 ή 8 K
AQ = DW.SI (=156x10 ⁻⁶ ·8129)	
AQ = χρόνος λήψης δεδομένων (acquisition time)	1.2779 s
SR = DW ⁻¹ [(156x10 ⁻⁶) ⁻¹]	
SR = ρυθμός δειγματοληψίας (spectral rate) Αριθμός των δεδομένων λήψης/sec	6410 σημεία/sec
SW = SR/2 (=6410/2)	
SW = φασματικό εύρος (spectrum width)	3205 Hz

Ο χρόνος δειγματοληψίας είναι σημαντικός και πρέπει να πληρεί την προϋπόθεση:

$$DW = \frac{1}{2 \cdot SW}$$

γιατί, σύμφωνα με το θεώρημα του Nyquist, για να προσδιορισθεί η συχνότητα κάθε συστατικού χρειάζεται δειγματοληψία δύο σημείων σε μία περίοδο. Επομένως, ο χρόνος δειγματοληψίας θα προσδιορίσει και τη διακριτικότητα (digital resolution = DR = 1/DW) των λαμβανομένων σημάτων, η οποία και θα πρέπει να είναι επαρκής ώστε να ισχύει το θεώρημα

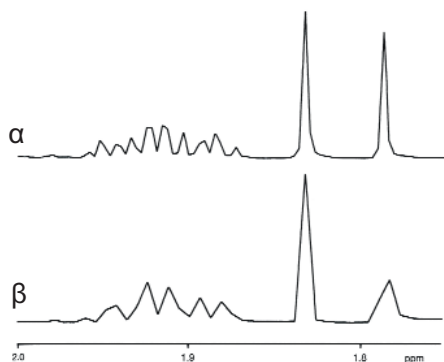


Nyquist Harry
(1889-1976)

Nyquist. Η διακριτικότητα (R =resolution) ορίζεται ως το αντίστροφο του χρόνου λήψης ($R=1/AQ$).

Παράδειγμα 1.4.1:

Παρακάτω δίνεται μία περιοχή φάσματος ^1H NMR της καμφοράς. Ποια από τα δύο φάσματα παρουσιάζει τη μεγαλύτερη διακριτικότητα;



Σχήμα 1.4.3. Περιοχή φάσματος ^1H NMR καμφοράς.

Λύση: Το φάσμα α παρουσιάζει μεγαλύτερη διακριτικότητα, γιατί οι κορυφές που το απαρτίζουν παρουσιάζουν μικρότερο εύρος. Στην πολλαπλή κορυφή η διαφορά είναι ευκρινέστερη. Στο φάσμα β οι διαπλατυσμένες κορυφές του οδηγούν στην συγχώνευση των κορυφών, που το απαρτίζουν.

1.5 Μαγνήτες

Χαρακτηριστικά Μαγνήτη: Τρία είναι τα πιο σπουδαία χαρακτηριστικά του μαγνήτη. (α) Η ισχύς (β) η σταθερότητα και (γ) η ομογενοποίηση του μαγνητικού πεδίου που παράγει.

Ισχύς: Η συχνότητα συντονισμού, όπως είδαμε στην περίπτωση ομοειδών πυρήνων, είναι συνάρτηση του σταθερού μαγνητικού πεδίου που παράγει ο στατικός μαγνήτης (B_0). Αλλά, και οι μη ομοειδείς πυρή-

νες, που συντονίζονται σε διαφορετικές συχνότητες ν_1 και ν_2 , έχουν διαφορά συντονισμού ανάλογη της ισχύος B_0 του μαγνητικού πεδίου.

$$\Delta\nu = \frac{\gamma_1 \cdot B_0 - \gamma_2 \cdot B_0}{2\pi} = \frac{(\gamma_1 - \gamma_2) \cdot B_0}{2\pi} \quad (1.4.1)$$

Επομένως, είναι πλεονέκτημα να χρησιμοποιείται όσο το δυνατό ισχυρότερος μαγνήτης για να επιτευχθεί η μέγιστη διακριτικότητα μεταξύ των σημάτων NMR. Αυτό επιτυγχάνεται, όπως προαναφέραμε, γιατί το ισχυρότερο πεδίο προκαλεί μεγαλύτερες ενεργειακές διαφορές μεταξύ των ιδιοκαταστάσεων των σπιν και επομένως μεγαλύτερους πληθυσμούς στις χαμηλότερες ενεργειακές καταστάσεις σχετικά με τις υψηλότερες. Η αύξηση της έντασης του NMR σήματος είναι περίπου ανάλογη του B_0^2 .

Είδη μαγνητών: Από τα τρία είδη μαγνητών που υπάρχουν (μόνιμοι, ηλεκτρομαγνήτες, υπεραγώγιμοι) σήμερα –λόγω των πλεονεκτημάτων τους– χρησιμοποιούνται μόνο οι υπεραγώγιμοι μαγνήτες.

Οι συχνότερα χρησιμοποιούμενοι υπεραγώγιμοι μαγνήτες είναι σχεδιασμένοι να παράγουν μαγνητικό πεδίο της τάξης των 6-18 T και αντιστοιχούν σε ραδιοσυχνότητες ^1H 250-750 MHz (συχνότητες στις οποίες συντονίζονται οι πυρήνες πρωτονίου).

Δομή μαγνητών: Το κυλινδρικό σωληνοειδές του μαγνήτη διαμέσου του οποίου περνά συνεχές ρεύμα είναι κατασκευασμένο από κράμα Nb-Sn. Αυτό γίνεται υπεραγώγιμο στους 4K, όταν κρυοστατείται με υγρό ήλιο (He). Το ήλιο βρίσκεται σε ένα δοχείο dewar, όπου περιβάλλεται από άλλο δοχείο dewar το οποίο περιέχει υγρό άζωτο (σ.ζ. 77 K), για να ελαττώνονται οι απώλειες του. Η φόρτιση του μαγνήτη γίνεται με χρήση πηγής υψηλής τάσης, που παρέχει συνεχές ρεύμα. Τα δύο άκρα του σωληνοειδούς βραχυκυκλώνονται με απομάκρυνση της πηγής συνεχούς ρεύματος. Επειδή δε το κύκλωμα του σωληνοειδούς δεν έχει αντίσταση, το ισχυρό ρεύμα συνεχίζει να διατρέχει το σωληνοειδές θεωρητικά επ' άπειρον επ' όσον κρυοστατείται με ήλιο.

Το ισχυρό και σταθερό πεδίο σταθεροποιείται περαιτέρω μέσω ανά-

δρομου ηλεκτρονικού μηχανισμού γνωστού ως κλειδώματος (locking). Το κλείδωμα γίνεται με ουσίες οι οποίες περιέχουν πυρήνες οι οποίοι συντονίζονται σε διαφορετική συχνότητα με αυτή του παρατηρουμένου. Αυτές χρησιμοποιούνται ως διαλύτες (CDCl_3 , CD_3COCD_3 κ.λπ.) στο δείγμα (εσωτερικό κλείδωμα-internal lock) ή μπορούν να μην είναι σε επαφή με το δείγμα (εξωτερικό κλείδωμα-external lock). Στα περισσότερα πειράματα χρησιμοποιείται κυρίως το εσωτερικό κλείδωμα. Ανεξάρτητα από το είδος του κλειδώματος οι παρατηρούμενες συχνότητες συντονισμού συγκρίνονται με τη ραδιοσυχνότητα κάποιου ταλαντωτή (αναφοράς). Αν υπάρχει διαφορά μεταξύ της συχνότητας κλειδώματος και της συχνότητας αναφοράς, προκαλείται συνεχές ρεύμα μικρής έντασης το οποίο περνά διαμέσου ενός δεύτερου πηνίου (γνωστού ως Z° βαθμίδα, το οποίο βρίσκεται μέσα στο σωληνοειδές). Το αποτέλεσμα είναι η παραγωγή ενός πεδίου, το οποίο προσανατολίζεται παράλληλα προς το B_0 (μικρή αύξηση του πεδίου B_0) ή αντίθετα από το B_0 (πρόκληση μικρής ελάττωσης του πεδίου B_0) μέχρι η συχνότητα του κλειδώματος να ταυτισθεί με τη συχνότητα αναφοράς. Η σημασία του ομογενοῦς πεδίου μπορεί να κατανοηθεί από το παρακάτω παράδειγμα.

Παράδειγμα 1.5.1

Ποια θα είναι η διαφορά στη συχνότητα συντονισμού εάν το μαγνητικό πεδίο του φασματογράφου, του οποίου η συχνότητα συντονισμού για τον πυρήνα ^1H είναι 500 MHz και το σταθερό μαγνητικό πεδίο έχει ένταση 11,74 T, μεταβληθεί κατά +0,00001 T;

Λύση: Η διαφορά στη συχνότητα συντονισμού που θα προκύψει για τον πυρήνα πρωτονίου βρίσκεται με χρήση αναλογιών

$$\frac{0,00001 \text{ T}}{11,74 \text{ T}} = \frac{\Delta\nu}{500 \text{ MHz}}$$

Το $\Delta\nu$ υπολογίζεται να είναι ίσο με 0,000430 MHz=430 Hz. Αυτή η διαφορά συχνότητας είναι εξαιρετικά μεγάλη για πειράματα, τα οποία διεξάγονται με δείγματα διαλυμένα σε οργανικούς διαλύτες.

Αύξηση ακρίβειας. Από το προηγούμενο παράδειγμα προτείνεται ότι για να επιτευχθεί η επιθυμητή ακρίβεια ± 1 Hz (π.χ. σε συχνότητα 250 MHz) το πεδίο που θα χρησιμοποιηθεί θα πρέπει να είναι ομογενές στην κλίμακα του $2,35 \cdot 10^{-8}$ T. Δύο επιπρόσθετες τεχνικές είναι αναγκαίες, για να επιτευχθεί τέτοια ακρίβεια.

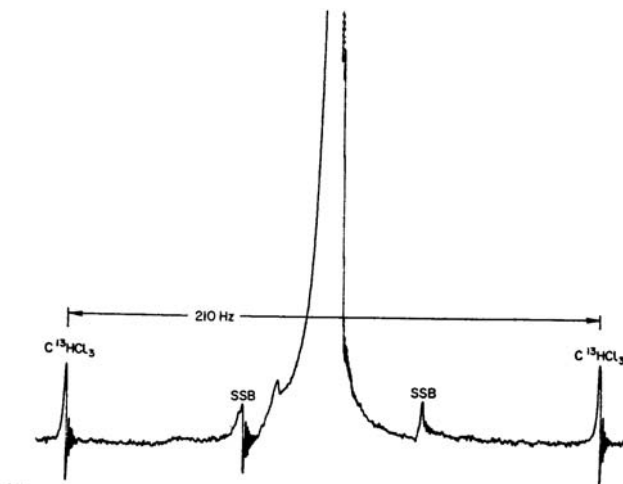
Στην πρώτη, το δείγμα τοποθετείται στον αισθητήρα σε μία περιοχή η οποία κρυστατείται με υγρό ήλιο και η οποία θερμοστατείται ξεχωριστά. Ο σωληνίσκος, όπου βρίσκεται το δείγμα, περιστρέφεται γύρω από τον άξονα του (για υγρά συνήθως με συχνότητα 100 Hz) με χρήση ρεύματος αέρα, ο οποίος περιστρέφει τη μικρή πλαστική τουρμπίνα, που προσαρτάται στην κορυφή του σωληνίσκου. Η περιστροφή αυτή βοηθά να απαληφθεί όποια ανομοιογένεια εναπομένει, λόγω του πεδίου στο εξεταζόμενο δείγμα.

Η δεύτερη τεχνική αφορά τη μεταβολή του μαγνητικού πεδίου με χρήση μικρών ρευμάτων διαμέσου πολύπλοκων σειρών από πηνία ομογενοποίησης (shim coils) τα οποία εντοπίζονται γύρω από τον αισθητήρα. Η διεργασία αυτή καλείται *ομογενοποίηση του πεδίου* (shimming or tuning) και βελτιστοποιεί περαιτέρω την ποιότητα του λαμβανόμενου φάσματος. Τα κομβία στους διάφορους άξονες ομογενοποίησης είναι επισημασμένα σε ένα φασματογράφο ως z^2 , z^3 , x , y , xz , yz , x , y , x^2-y^2 κ.λπ. Τώρα, με την πρόοδο των μικροεπεξεργασιών η διαδικασία αυτή μπορεί να γίνεται και αυτόματα.

1.6 Κορυφές Περιστροφής (Spinning SideBands-SSB)

Στο πιο κάτω φάσμα (Σχ. 1.6.1) παρατηρούνται δύο μικρές κορυφές, οι οποίες συντονίζονται συμμετρικά γύρω από την κύρια κορυφή. Οι κορυφές αυτές μπορεί να οφείλονται στην περιστροφή του δείγματος (Side Spinning Bands -SSB) ή να είναι δορυφορικές (satellites), να οφείλονται δηλαδή σε ετεροπυρηνικές συζεύξεις. Η διάκριση τους γίνεται εύκολα. Οι κορυφές, που οφείλονται στην περιστροφή του δείγματος κατανέμονται συμμετρικά γύρω από την κεντρική και απέχουν απόσταση ίση με τη συχνότητα περιστροφής. Αλλαγή του ρυθμού περιστροφής έχει ως συνέπεια να κατανέμονται σε διαφορετική απόσταση. Ο τρόπος αυτός είναι και ο πιο άμεσος για να προσδιορισθεί η ταχύτητα περιστροφής του δείγματος. Ένας τρόπος για να εξαλειφθούν οι κορυ-

φές λόγω περιστροφής, είναι το δείγμα να μην υφίσταται περιστροφή. Αυτό όμως έχει ως συνέπεια το πλάτεμα των κορυφών, λόγω της μικρής ανομοιογένειας του μαγνητικού πεδίου.



Σχήμα 1.6.1. Κορυφές περιστροφής (SSB) και δορυφορικές κορυφές σε πείραμα Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού. Η σύζευξη $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ είναι 210 Hz.

1.7 Η αναλογία σήματος προς θόρυβο (S/N-signal to noise ratio)

Το φάσμα λόγω των ηλεκτρονικών ατελειών περιέχει θόρυβο. Ο θόρυβος είναι πιο έντονος στα φάσματα πυρήνων με μικρή αφθονία και ευαισθησία. Για παράδειγμα, το πρόβλημα αυτό είναι πολύ εντονότερο στα φάσματα άνθρακα-13, όπου ο πυρήνας έχει ισοτοπική αναλογία 1,1% και σχετική ευαισθησία $1,59 \times 10^{-2}$. Συνεπώς, αν συγκρίνουμε τους πυρήνες άνθρακα και πρωτονίου το σήμα άνθρακα είναι 2×10^{-4} φορές μικρότερο από αυτό του πρωτονίου. Μερική επίλυση του προβλήματος αυτού επιτυγχάνεται κυρίως με χρήση πολλών σαρώσεων. Το σήμα προς θόρυβο βελτιώνεται κατά $n^{1/2}$, όπου n είναι ο αριθμός των σαρώσεων (Central Limit Theorem). Με την αύξηση των σαρώσεων αυξάνεται και ο χρόνος λήψης.

Παράδειγμα 1.7.1.

Σε ένα φάσμα NMR λαμβάνεται S/N 1,9 σε 10 min. Πόσος χρόνος απαιτείται, για να ληφθεί φάσμα με S/N 190;

Λύση: Με χρήση αναλογιών ο χρόνος που απαιτείται είναι:

$$t=190/1,9 \cdot 10 \text{ min}= 1000 \text{ min}=16 \text{ h } 40 \text{ min.}$$

Το συμπέρασμα είναι ότι ο φασματογράφος δεν πρέπει να «κοιμηθεί» το βράδυ!

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΑΣΚΗΣΕΙΣ

Ερωτήσεις

1. Ποιες παράμετροι χρησιμοποιούνται στον Πυρηνικό Μαγνητικό Συντονισμό, για να εξαχθούν πληροφορίες για το περιβάλλον, την κινητικότητα και τη δυναμική των μελετούμενων πυρήνων;
2. Από τι αποτελείται ένας φασματογράφος NMR;
3. Γιατί το πρωτόνιο θεωρείται ένας μικρός ηλεκτρομαγνήτης;
4. Ποιος κβαντικός αριθμός είναι σπουδαίος στην φασματοσκοπία NMR;
5. Αναφέρατε μερικά κοινά άτομα που έχουν (α) $I=1/2$ (β) $I=1$ και (γ) $I=0$.
6. Ποια ενεργειακή πηγή προκαλεί απορρόφηση ενέργειας στους ε-νεργούς πυρήνες της φασματοσκοπίας NMR;
7. Να περιγράψετε τις αρχές λειτουργίας του φασματογράφου NMR.
8. Γιατί οι διάφοροι πυρήνες απαιτούν διαφορετική ένταση μαγνητικού πεδίου για το συντονισμό τους;
9. Ποια είναι η χρησιμότητα της κλίμακας ppm;
10. Γιατί χρησιμοποιείται εσωτερικό πρότυπο στη φασματοσκοπία NMR;
11. Τι καλείται μαγνήτιση;
12. Τι καλείται ραδιοπαλμός και ποιες ιδιότητες έχει;
13. Ποια μαγνητικά πεδία υπάρχουν κατά τη διεξαγωγή πειράματος NMR;
14. Τι καλείται ελευθέρως φθίνουσα επαγωγή και πώς δημιουργείται;
15. Γιατί κατά την πειραματική διεργασία εφαρμόζεται κλείδωμα του πεδίου με διάφορους δευτεριωμένους διαλύτες;
16. Ποια είναι η χρησιμότητα της ομογενοποίησης του πεδίου;
17. Τι καλούνται κορυφές περιστροφής και πώς διακρίνονται από τις δορυφορικές κορυφές;
18. Πώς επιλύεται μερικώς το πρόβλημα θορύβου κατά την πειραματική διεργασία;

Να απαντήσετε με Σ αν είναι ορθές ή Λ αν είναι λανθασμένες οι προτάσεις που ακολουθούν.

1. Η πρόσφατη εγκατάσταση στο Scripps των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής του μαγνήτη «Γορίλλα» 900 MHz μπορεί να στοχεύει στη δυνατότητα μελέτης βιομορίων.

World's most powerful NMR spectrometer delivered to Scripps Research Institute

The world's most powerful, high-resolution nuclear magnet resonance spectrometer provides researchers with the ability to determine structures of high molecular weight proteins and nucleic acids with much greater sensitivity and resolution. (John K. Borchardt.)



2. Ο μετασχηματισμός κατά Fourier είναι αργή διαδικασία και δεν γίνεται αυτόματα.

3. Η δειγματοληψία πρέπει να γίνεται με επαρκή σημεία, ώστε στο λαμβανόμενο φάσμα να έχει επαρκή διακριτικότητα.

4. Τα πειράματα μίας διάστασης NMR λαμβάνονται με χρήση πολλών σαρώσεων, για να επιτευχθεί ικανοποιητικός λόγος σήματος/θόρυβο.

5. Η διαφορά συντονισμού των πρωτονίων μίας ένωσης είναι της τάξεως των GHz.

6. Οι πυρήνες $^{12}\text{C}_6$ και $^{32}\text{S}_{16}$ δεν είναι ενεργοί στη φασματοσκοπία NMR.

7. Ο διαλύτης για το κλείδωμα του πεδίου δεν πρέπει να περιέχει δευ-τέριο.

8. Η κλίμακα, που χρησιμοποιείται στο φάσμα και στην οποία αυθαίρετα το TMS ορίζεται να έχει τιμή $\delta=0,0$ ppm, εκφράζεται σε ppm.

9. Ο χρόνος λήψης μεταξύ δύο σημείων σε ένα πείραμα NMR είναι της τάξεως των δευτερολέπτων.

10. Η ομογενοποίηση του πεδίου συντελεί στην λήψη καλύτερης ποιότητας φασμάτων.

Να αντιστοιχήσετε:

AQ	SR/2
SR	DW·SI
SW	DW ⁻¹

Ασκήσεις

1. Σε μαγνητικό πεδίο έντασης 2,349 T η συχνότητα συντονισμού του ^{15}N είναι 10,13 MHz. Ποια είναι η συχνότητα συντονισμού του ^{15}N σε μαγνήτη έντασης 11,745 T;

2. Σε πόσα λεπτά θα επαναληφθεί ένα πείραμα ^1H NMR στο οποίο χρησιμοποιήθηκαν οι παράμετροι $AQ=2\text{s}$, $DE=30\ \mu\text{s}$, $PW=5\mu\text{s}$ και $RD=1\text{s}$;

3. Ο γυρομαγνητικός λόγος του ^2H είναι περίπου 6,5 φορές μικρότερος από αυτόν του πρωτονίου. Σε μαγνήτη, όπου το φάσμα ^1H μπορεί να παρατηρηθεί στα 400 MHz, σε ποια συχνότητα αναμένετε να παρατηρηθεί το φάσμα ^2H NMR;

4. Ποια είναι η διαφορά σε Hz δύο πυρήνων υδρογόνου, οι οποίοι σε φασματογράφο 600 MHz συντονίζονται στα 4 και 8 ppm;

5. Για τη λήψη ενός φάσματος ^1H NMR χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι χρόνοι: $PW=5\mu\text{s}$, $DE=30\ \mu\text{s}$, $AQ=3\text{s}$ και $RD=3\text{s}$. Επίσης για να αυξηθεί ο λόγος S/N χρησιμοποιήθηκαν 32 σαρώσεις. Ποιος ήταν ο πειραματικός χρόνος;

6. Πόσες φορές ο πομπός και ο δέκτης είναι ανοικτοί (ON), σε ένα πείραμα μίας διάστασης στο οποίο χρησιμοποιούνται 64 σαρώσεις;

7. Έστω ότι λαμβάνετε φάσμα ^1H NMR ουσίας που συνθέσατε. Οι παρατηρούμενες κορυφές έχουν πλάτος μεγαλύτερο του αναμενόμενου. Πού μπορεί να οφείλεται αυτό;

8. Ποιος είναι ο χρόνος λήψης των πειραματικών δεδομένων αν χρησιμοποιείται $SR=6420$ σημεία ανά λεπτό και $SI=4\text{k}$;

9. Εάν σε ένα πείραμα ο χρόνος λήψης που χρησιμοποιήθηκε ήταν 4,1 S, πόσα Hz ήταν η διακριτικότητα; Εάν στο πείραμα αυτό χρειάζομασαν διακριτικότητα μικρότερη από 0,24 Hz σε ποιες ενέργειες θα προβαίνατε, για να το πετύχετε;

10. Σύμφωνα με το θεώρημα του Nyquist πρέπει να ισχύει:

$$DW = \frac{1}{2 \cdot SW}$$

Πόσο φασματικό εύρος θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί σε ένα πείραμα, στο οποίο ο ρυθμός δειγματοληψίας είναι 6410 σημεία ανά δευτερόλεπτο;