

מדידת ספקטרום NMR של פחמן וגרעינים אחרים (לא פרוטון)

מאת רוי הופמן 04.02.2009

המדריך מותאם לשימוש שיגרתו בספקטרומטר ה-400.

החלקים המיועדים לספקטרומטר ה-200 של מעבדת הסטודנטים נמצאים במסגרת.

החלקים המיועדים לספקטרומטר ה-500 מגרהרץ של מעבדת הסטודנטים נמצאים במסגרת מקווקות.
המדריך מיועד לספקטרומטרים של המכון לכימיה באוניברסיטה העברית. ראה פרק 3 כדי להשתמש בו במעבדות אחרות.

תוכן העניינים

3	1. קיצור הוראות למדידת ספקטרום תמ"ג של גרעינים שונים מפרוטון
3	2. איסוף שגרתי
3	א. ייצור קובץ לגרעין נוסף
5	ב. בחירת הגלאי וכיוונונו
10	ג. הכנת ספקטרום פרוטון
10	ד. איסוף ספקטרום של הגרעין
11	ה. כיוול היסט כימי
12	ו. אינטגרציה
12	ז. סימון סיגנלים
12	ח. הדפסה
12	3. שימוש המדריך במעבדות אחרות
14	4. היסטים כימיים של ממסים לצורך כויל
15	5. התאמת תחום הספקטרום וזמן האיסוף
15	6. התאמת פרמטרים באיסוף למיטוב (optimization) הרגישות
15	7. מדידת רוחב הפולס לצורך הפרת צימוד
16	8. מדידת זמן הרלקסציה האורכי - T_1
17	9. איסוף כמותי מדויק
17	10. שימוש בגלאי לא מועדף

1. קיצור הוראות למדידת ספקטרום תמ"ג של גרעינים שונים מפרוטון

(לפרטים המלאים נא להשתמש מדריך המלא)

מומלץ להתחיל כל ספקטרום תמ"ג של גרעין שונה מפרוטון במדידת ספקטרום תמ"ג של פרוטון, ספקטרום המימן משמש לתיקון ההומוגניות (shimming) של הדוגמה וכן לכיול תדר בספקטרום של הגרעין שאותו אנו רוצים למדוד.

	מדוד ספקטרום מימנים לפי ההוראות למדידת ספקטרום מימן
edc	פתח קובץ חדש לגרעין הנוסף, מומלץ שהוא יהיה באותו שם ובמספר שונה מהמספר של ספקטרום המימן
rpar	קריאת קובץ הפרמטרים למדידת ספקטרום הגרעין הנוסף תופיע טבלת קבצי פרמטרים, בחר את 2_Carbon בשביל פחמן ליתר העניינים הסתכל במדריך המלא
atma / wobbb	כיוון התדר- חייבים לעשות בהתחלת העבודה או אם מחליפים ממס, ב 400 צריך להשתמש ב wobbb ולכוון ידנית
rga	
zgefp	מדידה

2. איסוף שגרת

למדידת פחמן (<http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/hebrew/techniques/1d/row2/c.html>), זרחן (<http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/techniques/1d/row3/p.html>) וגרעינים אחרים (<http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/techniques/1d/multi.html>) למעט פלואור, יש להכין קובץ לספקטרום פרוטון כמו שמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" ולהכין קובץ נוסף לגרעין. למדידת פלואור אין חובה להכין קובץ לפרוטון אבל ספקטרום פרוטון יכול לשמש לכוונון מדויק של היסט הכימי של הפלואור. בכל אופן יש להכין את הספקטרומטר כמו באיסוף פרוטון.

א. ייצור קובץ לגרעין נוסף

כדי ליצור קובץ חדש יש להקליד edc ולהכניס את הפרמטרים (תרשים 1): שם הקובץ בשדה NAME, 1 (או יותר אם רוצים מספר ספקטרומים בשם אחד) בשדה EXPNO, 1 בשדה PROCNO, הספריה (c:\bruker\topspin1.3 או c:\bruker\topspin) בשדה DIR, שם המשתמש בשדה USER, שם הממס לפי בחירה בשדה solvent, קובץ פרמטרים לניסוי לפי בחירה (טבלה 1) בשדה Experiment ואת הכותרת בשדה TITLE. (ניתן לשנות את הכותרת מאוחר יותר בלחיצה על לשונית Title של חלון הספקטרום). יש ללחוץ OK או Enter לייצר את הקובץ. ניתן להעתיק קובץ קיים ב-edc עם בחירת Use current parameters בשדה Experiment.

טבלה 1. פרמטרים לניסיונות וגרעינים שונים

ניסוי	פרמטרים	תיאור הניסוי
פחמן רגיל	2_Carbon	פחמן עם הפרת צימוד מפרוטון
פחמן עם הרפת צימוד לסירוגין	2a_Carbon gated	פחמן עם צימוד לפרוטון (לגמרי לא כמותי)
פחמן כמותי עם הרפת צימוד לסירוגין בהיפוך	2b_Carbon quant	פחמן עם הפרת צימוד לפרוטון כמותי
פחמן ללא הפרת צימוד	2c_Carbon nodec	פחמן עם צימוד לפרוטון (לשימוש כשאינן פרוטונים מפצלים)
פחמן עם הפרת צימוד מפלואור	2d_Carbon fdec	פחמן עם הפרת צימוד מפלואור

ליתיום-6 ללא הפרת צימוד	12a_Lithium6	ליתיום-6
ליתיום-7 ללא הפרת צימוד	12_Lithium7	ליתיום-7
פחמן עם הפרת צימוד לפרוטון	14_Nitrogen15	חנקן-15
פלואור ללא הפרת צימוד	19_Fluorine19	פלואור
פלואור עם הפרת צימוד	19a_Fluorine19hdec	פלואור עם הפרת צימוד מפרוטון
צורן עם הפרת צימוד	20_Silicon29	צורן עם הפרת צימוד
זרחן עם הפרת צימוד של פרוטון	24_Phosphorus31	זרחן עם הפרת צימוד
זרחן עם צימוד לפרוטון אם קיים פרוטון	24a_Phosphoruscoup	זרחן ללא הפרת צימוד
זרחן עם הפרת צימוד לפרוטון כמותי	24b_Phosphorusquant	זרחן כמותי עם הפרת צימוד לסירוגין בהיפוך
אשלגן-39 ללא הפרת צימוד	25_Potassium39	אשלגן-39
טיטניום ללא הפרת צימוד	26_Titanium49	טיטניום
גרמניום ללא הפרת צימוד	30_Germanium73	גרמניום
רודיום עם הפרת צימוד	43_Rhodium103	רודיום עם הפרת צימוד
כספית עם הפרת צימוד מפרוטון	45_Mercury199	כספית רגיל
כספית עם צימוד לפרוטון	45_Mercurycoup	כספית ללא הפרת צימוד
עופרת ללא הפרת צימוד	46_Lead207	עופרת
ביסמות ללא הפרת צימוד	47_Bismuth209	ביסמות

תרשים 1. יצירת קובץ חדש עם edc

Prepare for a new experiment by creating a new data set and initializing its NMR parameters according to the selected experiment type.

NAME	filename
EXPNO	1
PROCNO	1
DIR	c:\bruker\topspin1.3(2.0)
USER	username
Solvent	CDCI3
Experiment	1_Proton
TITLE	Put title here

OK Cancel More Info... Help

ב. בחירת הגלאי וכיוונונו

לפחמן, זרחן וגרעינים אחרים למעט פלואור, מומלץ לבחור את הגלאי BBO בלבד ויש לכוון גם את ערוץ הפרוטון ואת ערוץ עבור הגרעין הנצפה, BB, בגלאי. את הגרעין הנוסף מכוונים בעזרת הגולשים (sliders) (תרשים 3). תחילה מכוונים את הגולשים למספרים בפנקס של הגלאי (טבלה 2). לא מומלץ אך ניתן להשתמש בגלאי ה-BBI (ראה פרק 10) והתוצאות תהיו עם רגישות פחותה.

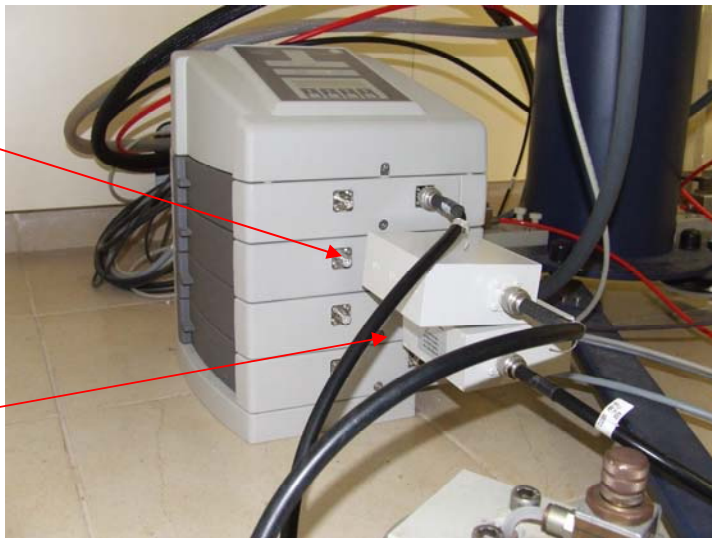
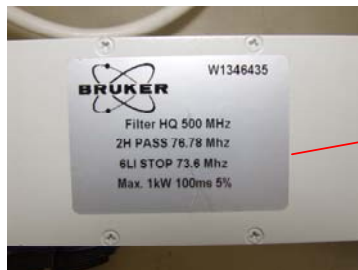
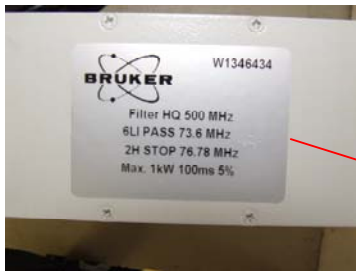
תחומי היסט הכימי של טיטניום וכספית רחבים מאוד ואי אפשר לערער את כל התחום בבת אחת. לכן יש העריך את תחום היסט הכימי של החומר שלך מהספרות או מאתר האינטרנט של המעבדה (<http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/techniques/1d/multi.html>) ולשנות את o1p להיסט כימי ב-ppm של מרכז התחום. אם הספקטרום לא יכסה את כל התחום האפשרי לחומר שלך תצטרך לחזור על הניסוי פעמים נוספות עם o1p אחר כדי לחסות את כל התחום.

למידות ליתיום-6 יש להכניס את המסגור המיועד (תרשים 2) לכך בערוץ BB ובספקטרומוטר ה-500 מגהרץ גם בערוץ הדוטרים (תרשים 3).

תרשים 2. מסנן עבור איסוף ליתיום-6 בספקטרומטר ה-400 מגהרץ.



תרשים 3. מסננים עבור איסוף ליתיום-6 בספקטרומטר ה-500 מגהרץ.



כאשר מודדים ביסמות-209 בספקטרומטר ה-500 מגהרץ יש להכניס מסננין בערוץ דוטריום (תרשים 4).

תרשים 4. מסנן עבור איסוף ביסמות-209 בספקטרומטר ה-500 מגהרץ.



אין אפשרות להפר פלואור מפחמן וגרעינים אחרים (למעט פרוטון בספקטרומטר ה-400 מגהרץ – ראה המדריך "מדידת פרוטון" פרק 17) בספקטרומטרים ה-400 וה-200 מגהרץ.

בספקטרומטר ה-500 מגהרץ ניתן להפר צימוד מפלואור במקום מפרוטון. השתמש בפרמטרים 2d_Carbonfdec. חבר את מסנן העברת פס נמוך ביציאה BB של קדמי המגבר ואת קבל הפרוטון וחסימת דוטריום ליציאת פלואור של קדמי המגבר (תרשים 5). וודא שקבל הפלואור מחובר לכניסה פלואור של קדמי המגבר מאחור (מדריך "NMR במצב מוצק" תרשים 17). הרץ ספקטרום פלואור ורשום את התדר במגהרץ של הסיגנל. בקובץ פחמן הכנס את התדר לפרמטר SFO2. בסיום העבודה יש להחזיר את החיבורים למצב הרגיל (תרשים 8).


תרשים 5. החיבורים ביציאה מקדם-המגבר של ספקטרומטר ה-500 מגהרץ עבור איסוף פחמן עם הפרת צימוד מפלואור



גם בספקטרומטר ה-500 מגהרץ מומלץ להשתמש בגלאי ה-BBO אך אם משתמשים בגלאי ה-BBI יש לפעול לפי פרק 10. מדידת פלואור ניתן לעשות רק בגלאי ה-BBO.

כאשר משתמשים בהפרת צימוד בטמפרטורה קרוב לזוה של החדר יש להגדיל את זרימת האוויר ל-535 ליטר לשעה ולשנות את הפרמטרים (integral time, proportional band, derivative time) של יחידת הטמפרטורה לפי קווים המקווקווים במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" תרשים 49. ייתכן שבכל זאת הדוגמה תתחמם ותאלץ להעלות את הטמפרטורה עד חמש מעלות או לחרב את הקירור.


בספקטרומטר ה-500 מגהרץ מכוונים את הגלאי בפקודת atma (למעט לגרעינים עם תדר נמוך מאשלגן-39) כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 3, ז. הפקודה עושה כיוונון על שני הגרעינים באופן אוטומטי כאשר מפרים צימוד.

לגרעינים עם תדר נמוך מאשלגן-39 (^{73}Ge ו- ^{103}Rh) יש לקרוא את הפרמטרים של אשלגן-39 ולתת פקודת atmm. שנה את התדר לזה של הגרעין בלחיצה על  והכנס את התדר המתאים לגרעין (ל- ^{73}Ge הוא 17.449). הכנס את הפרמטרים של הכוונון מטבלה 2. עשה כוונון עדין ידני עם החצים (<<< >>>) ובסוף Exit **ללא שמירה**. עכשיו הספקטרומטר מכוונן וניתן לעבור לקובץ של הגרעין. אם בטעות שמרת את הכוונון, קלקלת את הכוונון לאשלגן-39. עליך לחזור על atmm להזין את הפרמטרים של אשלגן-39 מתוך טבלה 2, לצאת עם שמירה ואחר כך לחזור על פעולת atmm לגרעין שלך ללא שמירה.

טבלה 2. של כוונון גלאי ה-BBO בספקטרומטר ה-400 וה-500

500 Match	500 Tune	400 Match	400 Tune	גרעין
		945	7814	^6Li

		997	7996	${}^7\text{Li}$
		993	7956	${}^{13}\text{C}$
		826	7545	${}^{15}\text{N}$
		977	7915	${}^{29}\text{Si}$
		997	7997	${}^{31}\text{P}$
65	622	438	4865	${}^{39}\text{K}$
		576	5886	${}^{49}\text{Ti}$
44	461	093	2014	${}^{73}\text{Ge}$
31	382			${}^{103}\text{Rh}$
		967	7884	${}^{199}\text{Hg}$
		923	7986	${}^{207}\text{Pb}$
		960	7835	${}^{209}\text{Bi}$

בספקטרוטרים 200 ו-400 מגהרץ מזיזים את הגלשנים (תרשים 6) בעזרת הכלי המיועד לזה הנמצאים מתחת לגלאי לערך השייך לגרעין לפי טבלה 2. אחר כך משתמשים ב-wobb כדי לכוונן עדין. לניסיונות עם הפרת צימוד, כדי לעבור לכוונן פרוטון יש ללחוץ על  בראשית חלון ה-wobb או על כפתור ה-CHANNEL SELECTOR שנמצא מעל קדמי-המגבר.

תרשים 6. גלשני כיוון מתחת לגלאי לזרחה, פחמן וכו'



בספקטרומטר ה-200 משתמשים בגלאי ה-Dual למדידת פחמן ולהשתמש בברגים של ערוץ הפחמן לכוון אותו. לזרחה וגרעינים אחרים יש להשתמש ב-BBO, להריץ ספקטרום פרוטון עם 20 p1 ולכוון את הגרעין בעזרת הגולשים.

לא ניתן למדוד פלואור בספקטרומטר ה-200. עקב חוסר התעניינות לא הותקנו טיטניום וכספית בספקטרומטר ה-200 מגהרץ.

לפלוואר (ללא הפרת צימוד) יש להשתמש בגלאי ה-BBI בלבד בספקטרומטר ה-400 מגהרץ. אם יש צורך בספקטרום פרוטון יש למדוד אותו תחילה ואחר כך לחבר את קדם-מגבר X לערוץ ^1H של הגלאי. אחרי שסיימת במדידת פלוואר יש להחזיר את החיבורים בין קדם-מגבר X לערוץ X של הגלאי ובין קדם-מגבר ^1H לערוץ ^1H של הגלאי. יש לכוון את ערוץ ה- ^1H בגלאי לפלוואר בעזרת הברגים. אם לא אספת ספקטרום פרוטון יש לבצע את כל ההכנות לאיסוף על ספקטרום הפלוואר.

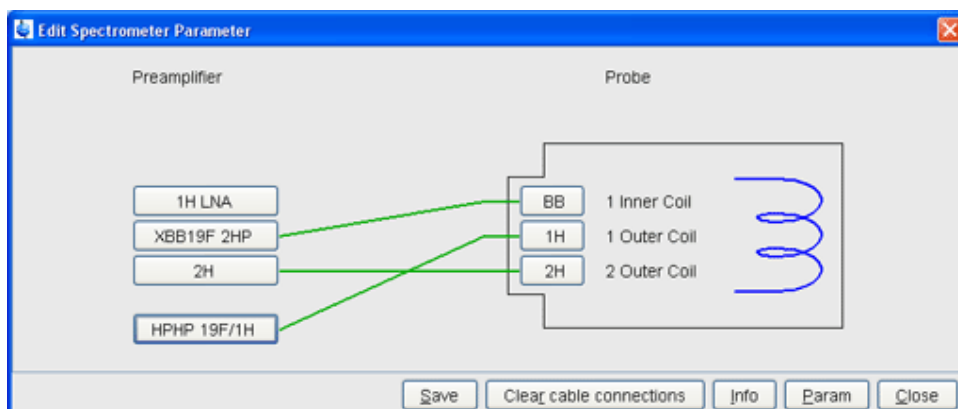
לפלוואר עם הפרת צימוד מפרוטון יש להשתמש בגלאי [04] 5 mm Dual 19F/1H Z3752/0007 (ראה המדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 5). יש לכוון את הפרוטונים בעזרת הפקודה wobb מרובץ של פרוטונים ואת הפלוואר מקובץ איסוף הפלוואר מאחר שלא ניתן לכוון את ערוץ הפרוטון מקובץ של פלוואר. לצורך הכיוון יש להשתמש בברגים ("מדידת ספקטרום NMR פרוטון" תרשים 62).

בספקטרומטר ה-500 מגהרץ יש להשתמש בגלאי ה-BBO ולהעביר את הכבל מהערוץ של פרוטונים בקדם המגבר של פרוטון (העליון) לקדם מגבר של הפלוואר (התחתון). וודה שמאחורה הכבל של הפלוואר מחובר לערוץ התחתון (תרשים 8). הרץ את ספקטרום הפלוואר ובסיום העבודה להחזיר את הקבל לקדם המגבר של פרוטון. לא ניתן להפר את הצימוד של פרוטון בספקטרומטר ה-500 מגהרץ.

בספקטרומטר ה-500 מגהרץ אם משתמשים בגלאי ה-BBO יש להתאים את רוחב הפולס בהקלדת p1 11 (בגלאי BBI רוחב הפולס היא 8.5).

אחרי שתלחץ על Exit יופיע חלון נוסף. החיבורים צריכים להופיע כמו בתרשים 7. לחץ על Save.

תרשים 7. חלון החיבורים לגלאי BBO בספקטרומטר ה-500 מגהרץ לצורך מדידה והפרת צימוד מפלוואר



תרשים 8. החיבורים ביציאה מקדום-המגבר של ספקטרומטר ה-500 מגהרץ במצב רגיל (בימין) ומצב של מדידת פלואור (שמאל)



ג. הכנת ספקטרום פרוטון

יש לאסוף את ספקטרום הפרוטון לפי ההוראות במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון". לפלואור איסוף ספקטרום הפרוטון הוא רשות.

ד. איסוף ספקטרום של הגרעין

למעט לפלואור, יש ללחוץ על AUTO SHIM בלוח הבקרה לפני האיסוף ובסוף האיסוף בטל את ה-AUTO SHIM. למעט לפלואור (שאליד להקליד zgfp) בגלל חוסר רגישות נהוג להשתמש בפונקציית חלון להגברת רגישות (ראה במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 11) ויש להקליד zgefz.

ניתן להקליד tz במהלך האיסוף להמתין כמה שניות ולהקליד efp (לפלואור fp) כדי לראות איך מתפתח הספקטרום. כאשר יש מספיק סיגנל ניתן להפסיק את האיסוף בהקלדת halt. בסוף האיסוף מבוצע התמרת פוריה (תרשים 9) שהופך את סיגנל הנאסף לספקטרום <http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/hebrew/techniques/1d/1d.html>.

תרשים 9. התמרת פוריה



יש לתקן את הפאזה ואת קו הבסיס כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרקים 3-3"א, י"ג.


אם אין מספיק רגישות, ניתן להגדיל את מספר האיסופים על ידי שינוי הפרמטר ns.

בדרך כלל תחום הספקטרום וזמן האיסוף מתאים. לפעמים ייתכן שה-fid קטוע ונראה צלול בספקטרום או שהסיגנלים רחבים ומבזבזים את הזמן באיסוף רעש או שיש סיגנלים מחוץ לתחום. כאשר יש חשש לזה יש להתאים את תחום הספקטרום ואחר כך להתאים את אורך האיסוף – ראה פרק 5.

בשלב העיבוד ניתן לשפר את הרגישות או את ההפרדה (חדות, רזולוציה) של הספקטרום אבל לא את שתייהן בבת אחת בעזרת פונקצית חלון (אפודיזציה) – ראה המדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 11. אם עדיין חסר רגישות יש להתאים פרמטרים נוספים – ראה פרק 6.

ה. כיוול היסט כימי

בגרעינים שהם לא פרוטון קיימת שני אפשרויות לכיוול: ביחס לסיגנל של אותו גרעין או ביחס לסיגנל של הפרוטון.

לכיוול לסיגנל של אותו גרעין הקלד cal. או לחץ על . הביא את הסמן (קו אדום אנכי) לפסגת סיגנל הכיוול ולחץ בעכבר לחיצה שמאלית. הקלד את היסט הכימי ולחץ OK כדי לשמור (או Cancel כדי לבטל).

הכנס את ההיסט הכימי: לפחמן בטמפרטורת החדר, 0 TMS, 76.982 CDCl₃, 39.99 DMSO-d₆, ו-47.14 CD₃OD. הסטים אחרים נמצאים בטבלה פרק 4.

יש להיזהר לא להתבלבל בבליעות אחרות שעלויות לחפוף את הממס. לממס ו-TMS יש בליעות חדות מיוחד.

השיטה השנית שנחשבה מדויקת יותר היא לכייל את ספקטרום הפרוטונים, לרשום את הערך שמקבלים בהקלדת sf ומכפילים אותו במספר (Ξ, אות יווני קסי) הייחודי לגרעין (טבלה 3). ראה

<http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/hebrew/whatisnmr/chemshift.html>

טבלה 3. של יחסי התדר בין פרוטון וגרעינים אחרים.

גרעין	Ξ
⁶ Li	0.14716086
⁷ Li	0.38863797
¹³ C	0.25145020
¹³ C* ב-D ₂ O	0.25144953
¹⁵ N [†]	0.10136767
¹⁵ N*‡ ב-D ₂ O	0.10132912
¹⁹ F	0.94094011
²⁹ Si	0.19867187
³¹ P	0.40480742
³¹ P* ב-D ₂ O	0.40480864
³⁹ K	0.04666373
⁴⁷ Ti	0.05637534
⁴⁹ Ti	0.05639037
⁷³ Ge	0.03488315
¹⁰³ Rh	0.03186447
¹⁹⁹ Hg	0.17910822
²⁰⁷ Pb	0.20920599
²⁰⁹ Bi	0.16069288

Ξ^{DSS*} ביחס לפרוטון של DSS ב-D₂O. תקן חילופי נהוג בעיקר אצל ביוכימאים לפי IUBMB. †לא נהוג להשתמש ב- Ξ זה למרות המלצתו מ-IUPAC. ‡נהוג גם אצל כימאים להשתמש ב- Ξ^{DSS} . זה, אומנם ביחס ל-TMS ב-CDCl₃ הוא 0.101329113.

ו. אינטגרציה

עוצמת הפיקים בספקטרום פחמן רגיל כל כך מעוותת על ידי הפרת צימוד וחוסר שלימות הרלקסציה שהאינטגרציה חסרה משמעות. בזרחן מקרים רבים אין קשר יחיד בין זרחן ופרוטון ועיוות האינטגרלים פחותה אבל בכל זאת אינו מדויק כל כך. בפלואור ניתן לקבל אינטגרציה כמו בפרוטון לדיוק של כ-10%± כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 3 ט"ו. ניתן לדייק יותר ולקבל אינטגרציה כמותית לפחמן כמפורט בפרק 9.

ז. סימון סיגנלים

לצורך הדפסה סימון הסיגנלים יהיה אוטומטי. לסימון ידני ראה במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 16.

ח. הדפסה

הדפסה כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" אלה שלגרעינים חוץ מפלואור משתמשים ב-LAYOUT של +/1D_X.xwp.

3. שימוש המדריך במעבדות אחרות

כדי להכין פרמטרים לאיסוף, קרא את הפרמטרים C13CPD32 (rpar C13CPD32 all) שנה הפרמטרים הרשומים מתה ושמור בשם 2_Carbon (wpar 2_Carbon all). אחר כך היכנס לספרייה של הפרמטרים החדש והפעל readonly על הקבצים שבה.

PL1	מינימום המותר: -6, -3, 0 או 2
P1	ורך פולס 90° במיקרו-שניות
PL12	מנכה של מפר הצימוד
PL13	מנכה של מפר הצימוד
CY	12.5
NS	1024
DS	4
TD	128k
SI	256k

שנה את pulprog ל-zggd30 ושמור את הפרמטרים בשם 2a_Carbon gated.

שנה את pulprog ל-zgig, d1 ל-60, ns ל-64, ds ל-1 ו-LAYOUT ל-1D_H.xwp. שמור את הפרמטרים בשם 2b_Carbon quant.

קרא את הפרמטרים 2_Carbon הקלד edasp ושנה את NUC2 ל-off ושנה את pulprog ל-zg30 ושמור את הפרמטרים בשם 2c_Carbon nodec.

קרא את הפרמטרים ל-P31CPD ושנה את הפרמטרים:

PL1	מינימום המותר: -6, -3, 0 או 3
P1	ורך פולס 90° במיקרו-שניות
PL12	מנכה של מפר הצימוד
PL13	מנכה של מפר הצימוד
CY	12.5

LAYOUT /1D_X.xwp

שמור את הפרמטרים ב-24_Phosphorus.

שנה את pulprog ל-zgig, d1 ל-60 ו-ns ל-64, ds ל-1 ו-LAYOUT ל-1D_H.xwp. שמור את הפרמטרים בשם 24b_Phosphorusquant.

קרא את הפרמטרים ל-P31 ושנה את הפרמטרים:

PL1 מינימום המותר: -6, -3, 0 או 3

P1 ורך פולס 90° במיקרו-שניות

CY 12.5

LAYOUT /1D_X.xwp

שמור את הפרמטרים ב-24a_Phosphoruscoup.

מפני שהפלוואור בספקטרומטר ה-400 לא בוצע דרך גלאי מסוג QNP יש להשתמש בגלאי BBI ולכוון לפלוואור. מאותו סיבה צריכים לשנות את תוכנית הפולסים. פתח תוכנית zgflqn ושמור בשם zgflqnroy. החלף את השורה עם פקודת ה-QNP לשתי שורות:

```
setnmr2|2
```

```
setnmr2|3
```

העתיק את תוכנית הפולסים t1ir1d ל-t1ir1dfl ובה הוסיף את שתי השורות לעיל לפני שורת ze. העתיק את מוכנית הפולסים t1ir1d ל-t1ir1dpg ובה הוסיף לפקודה d1 את cpd:f2 pl12 ל-go=2 את cpd:f2 pl13 ולפני שורת exit את f2.do.

קרא את הפרמטרים F19 ושנה את הפרמטרים האלה:

PL1 למינימום המותר: -6, -3 או 0

P1 אורך פולס 90° במיקרו-שניות

CY 12.5

NS 1

DS 0

PULPROG zgflqnroy

LAYOUT +1D_H.xwp

יש להכין גם פרמטרים להדפסה

העתק את הקובץ 1D_X.xwp ל-1D_Xold.xwp ובטל את ה-readonly של 1D_X.xwp. הכנס ל-ploteditor ושנה את התצוגה להתאים לצרכים שלך, כפי שמפורט בספר Topspin plotting של ברוקר, ושמור. הפעל שוב את ה-readonly על 1D_X.xwp. תעשה אותו דבר עבור 1D_H.xwp.

הכן ארבע תוכניות מקרו (macros) כלהלן:

zgft =

```
zg
```

```
ft
```

zgfx =

zg

fp

zgef =

zg

ef

zgfx =

zg

efp

4. היסטטים כימיים של ממסים לצורך כויל

ראה <http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/hebrew/whatisnmr/chemshift.html>

טבלה 4. של היסטטים כימיים בפרוטון של ממס או סטנדארט אחר ביחס תיקני (3, טבלה 3) לסיגנל הפרוטון של-TMS פנימי ב-298 K (25.15°C).

שם הממס או חומר	נוסחת הממס או חומר	גרעין	היסטטים כימיים/ppm
ליתיום כלוריד ב-D ₂ O (1M)	LiCl	⁶ Li	0.13
ליתיום כלוריד ב-D ₂ O (1M)	LiCl	⁷ Li	0.1
אצטון-d ₆	(CD ₃) ₂ CO	¹³ C	205.19, 28.92
אצטוניטריל-d ₃	CD ₃ CN	¹³ C	117.29, 0.30
בנזין-d ₆	C ₆ D ₆	¹³ C	127.67
DMF-d ₇	(CD ₃) ₂ NCHO	¹³ C	162.08, 34.60, 29.49
DMSO-d ₆	(CD ₃) ₂ SO	¹³ C	39.99
DSS ב-D ₂ O	(CH ₃) ₃ Si(CH ₂) ₂ SO ₃ Na	¹³ C	***0.00
דיכלורומתן-d ₂	CD ₂ Cl ₂	¹³ C	53.37
חומצה אצטית-d ₄	CD ₃ COOD	¹³ C	177.70, 19.62
חומצה טריפלוואורואצטית-d	CF ₃ COOD	¹³ C	163.8, 115.7
חומצה פורמית-d ₂	DCOOD	¹³ C	166.00
כלורופורם-d	CDCl ₃	¹³ C	76.982
מתנול-d ₄	CD ₃ OD	¹³ C	47.14
ניטרובנזן-d ₅	C ₆ D ₅ NO ₂	¹³ C	,134.771, 129.429, 123.428, 148.503
טולואן-d ₈	C ₇ D ₈	¹³ C	,127.55, 124.71, 20.01, 137.07, 128.45
THF-d ₈	C ₄ D ₈ O	¹³ C	66.33, 25.25

0.00	¹⁵ N	NH ₃	אמוניה
-77.47	¹⁹ F	CF ₃ COOD	חומצה טריפלאורואצטית-d
-62.79	¹⁹ F	CF ₃ C ₆ H ₅	טריפלאורואורוטולואן ב-CDCl ₃
0.00	²⁹ Si	C ₄ H ₁₂ Si	טטרמתילסילן ב-CDCl ₃
-0.26	²⁹ Si	C ₄ H ₁₂ Si	טטרמתילסילן טהור
*0.00	³¹ P	H ₃ PO ₄	חומצה זרחנת 85%
**0.00	³¹ P	(CH ₃ O) ₃ PO	טרימתיל פוספט
1.73	³⁹ K	KBr	אשלגן ברומיד 1M ב-D ₂ O
4.7	⁴⁷ Ti	TiCl ₄	טיטניום טטרהכלוריד
4.5	⁴⁹ Ti	TiCl ₄	טיטניום טטרהכלוריד
29.44	⁷³ Ge	GeCl ₄	גרמניום טטרהכלוריד
-0.7	¹⁹⁹ Hg	(CH ₃) ₂ Hg	דימתיל כספית
*-2960.8	²⁰⁷ Pb	Pb(NO ₃) ₂	עופרת חנקנט ב-D ₂ O
*-12.5	²⁰⁹ Bi	Bi(NO ₃) ₃	ביסמות חנקת ב-HNO ₃

*היסט הכימי של הסיגנל משתנה הרבה עם טמפרטורה ולכן לא מדויק לכיול היסט כימי.
 סטנדרט חילופי לחומצה זרחנת. בתמיסה דלילה ב-D₂O היסט הכימי שלו ביחס ל- Ξ של חומצה זרחנית הוא 3.03. *סטנדרט חילופי ל-TMS. בתמיסה דלילה ב-D₂O היסט הכימי שלו ביחס ל- Ξ של TMS הוא -2.64.

5. התאמת תחום הספקטרום וזמן האיסוף

תחום הפחמנים בספקטרום ברירת המחדל הוא בין 20 ppm ו-230 ppm. במקרים נדירים מופיע סיגנלים מחוץ לתחום הזה. ייתכן סיגנלים עד כ-260 ppm קרבונילים. ייתכן סיגנלים בהיסט כימי נמוך עד כ-40 ppm בתרכובות אורגניות-מתכמיות. סיגנלים של חומרים פרמגנטיים יכולים להופיע במרחק של עשרות או מאות ppm מהתחום הרגיל. ניתן להגדיר תחום רחב או מצומצם יותר וכן למתאים זמן האיסוף כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 10.

6. התאמת פרמטרים באיסוף למיטוב (optimization) הרגישות

אם הרגישות נמוכה מדי למרות מספר איסופים - ns גבוה ניתן לשפר קצת את הרגישות. מדוד את רוחב הפולס (ראה פרק 7) ואת הרלקסציה (T₁) (ראה פרק 8) של סיגנלים בחומר ותנאים דומים). הקלד pulprog zg שנה את p1 שזווית הפולס היא 68° כך ש- $p1 = 0.189 \times p_{360} + 0.65$ ושנה את d1 ל-T₁-aq או 1.44d7-aq.

בספקטרומטר ה-500 $p1 = 0.189 \times p_{360} + 0.13$

לדוגמה, אם d7 = 4 s אז T₁ = 5.76 s. אם aq = 3.972 s אז

$$d1 = (1.44 \times 4 - 3.972) s = (5.76 - 3.972) s \approx 1.79 s$$

אם $p_{360} = 20$ אז $p1 = 0.189 \times 20 + 0.65 = 4.43$


7. מדידת רוחב הפולס לצורך הפרת צימוד

כדי לשפר את הרגישות ולמדידות רלקסציה יש לכייל את רוחב הפולסים. את רוחב הפולס של הגרעין הנצפה (פחמן, פלואור, זרחן, וכיו') מודדים את רוחב הפולס כמפורט במדריך "מדידת

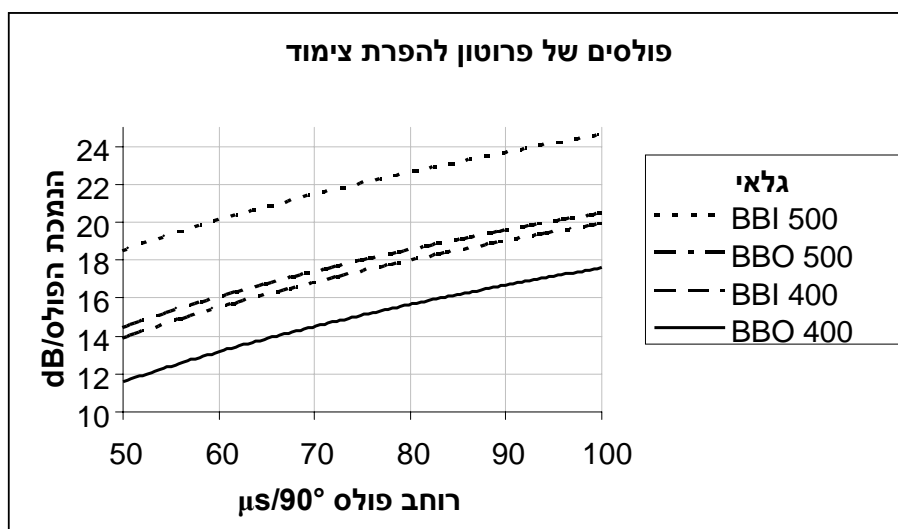
ספקטרום NMR פרוטון" פרק 6 אלה שלפחמן וזרחן עם הפרת צימוד תוכנת הפולסים הוא zgpg ולפלאור אין צורך לשנות את תוכנת הפולסים.

יש לכייל גם את הפולס של גרעין מפר הצימוד (פרוטון). בדרך כלל קובעים את רוחב הפולס של הפרת הצימוד ל-100 מיקרושניות (80 מיקרושניות בספקטרומטר ה-500 מגהרץ) ומשנים את ההנמכה כדי שהפולס יהיה בעל זווית 90° . אם תחום הפרוטונים רחב מ-12 ppm או הצימוד לפרוטון גדול מ-200 הרץ, לדוגמה צימוד חד-קשרי בין מימן לזרחן, יש להקטין את רוחב הפולס עד ל-80, 65 או 50 מיקרושניות בשינוי הפרמטר pcpd2 לפי הצורך. רוחב הפולס במיקרושניות צריך להיות פחות מ-500 לחלק לרוחב הספקטרום של פרוטון בקילוהרץ אם משתמשים בתוכנת פולסים רגיל של הפרת צימוד שהיא waltz16. אם ספקטרום הפרוטון רחב מ-10 קילוהרץ יש להשתמש בתוכנת פולסים garp להפרת צימוד: הקלד garp cpdprg2. עם garp רוחב פולס ההפרה במיקרושניות יכול להיות עד ל-1333 לחלק לרוחב הספקטרום של פרוטון בקילוהרץ. טיב הפרת הצימוד של garp קצת פחות משה של waltz16 לכן אל תשתמש ב-garp ללא צורך.

ניתן לקבוע את הנמכת ורוחב הפולס לפי תרשים 10 או למדוד את רוחב הפולס. כדי למדוד אותו,

פתח קובץ חדש לפרוטון והרץ ספקטרום ראשוני. לחץ על  ובחר סיגנל לצורך כיול הפולס. שנה את pulprog ל-zg ול-p1 את p1 לארבע כפול pcpd2. שנה את p11 קרוב לערך הצפוי והרץ ספקטרום ראשוני. אם הסיגנל חיובי הגדל את p11 ואם הוא שלילי הקטן את p11 עד שמקבים עוצמה קרוב לאפס.

תרשים 10. הנמכה ורוחב פולסים עבור הפרת צימוד של פרוטון בספקטרומטרים ה-400 וה-500 מגהרץ



חזור לספקטרום של הגרעין (פחמן, זרחן, וכי) ושנה את p12 ו-p13 לערך הנמדד עבור p11.

8. מדידת זמן הרלקסציה האורכי - T_1

מדידת זמן רלקסציה מפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 13 ומדידה מדויקת יותר במדריך "מדידת רלקסציה (תפוגה)" אל שתוכנית הפולסים לשיטת היפוך התאוששות לפחמן, זרחן וכי עם הפרת צימוד היא t1ir1dpg (במקום t1ir1d) ולפלאור היא t1ir1dfl. התוכנית ל-DESPOET לפחמן, זרחן וכי עם הפרת צימוד היא zgpg ולפלאור zgflqroy. יש להחזיר את תוכנית הפולסים לקדמותו אחרי המדידה לפי טבלה 5.

טבלה 5. תוכניות פולסים לניסיונות שונות כולל מדידת T₁

תוכנית פולסים למדידת רוחב פולס ו-DESPOT	תוכנית פולסים למדידת T ₁ בשיטת היפוך התאוששות	תוכנית פולסים רגילה	פרמטרים
zg	tlirld	zg	12_Lithium6
zg	tlirld	zg	12a_Lithium7
zpgp	tlirldpg	zpgp30	2_Carbon
zggd	tlirldpg	zggd30	2a_Carbonated
zpgp	tlirldpg	zgig	2b_Carbonquant
zg	tlirld	zg30	2c_Carbonnodec
zgig	tlirldig	zgig	14_Nitrogen15
zgflqnroy_zg	tlirldfl_tlirld	zgflqnroy_zg30	19_Fluorine19
zgfhighqn	tlirldfl	zgfhighqn	19a_Fluorin19hdec
zgig	tlirldig	zgig	20_Silicon29
zpgp	tlirldpg	zpgp30	24_Phosphorus31
zg	tlirld	zg30	24a_Phosphoruscoup
zpgp	tlirldpg	zgig	24b_Phosphorusquant
zg	tlirld	zg	26_Titanium49
zg	tlirld	zg	30_Germanium73
zgig	tlirldig	zgig	43_Rhodium103
zpgp	tlirldpg	zpgp30	45_Mercury199
zg	tlirld	zg30	45a_Mercury199hcoup
zg	tlirld	zg	46_Lead207
zg	tlirld	zg	47_Bismuth209

9. איסוף כמותי מדויק

ניתן לקבל אינטגרציה מדויקת באוטו שיטה של איסוף כמותי לפרוטון (כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 15) אלה שמדידת רוחב הפולס נעשה לפי פרק 7 לעיל ומדידת רלקסציה לפי פרק 8 לעיל וכאשר יש הפרת צימוד הפרמטר d1 חייב להיות לפחות T1 כפול חמש ולהשתמש בפרמטרים לאיסוף כמותית: 2b_Carbonquant או 24b_Phosphorusquant.

10. שימוש בגלאי לא מועדף

ניתן להשתמש בגלאי BBI לאיסוף פחמן, זרחן, וכ"ו אבל מקבלים רגישות פחותה המזהה של הגלאי BBO. כדי למדוד ב-BBI צריכים לשנות את הפרמטרים של הפולסים לפי טבלה 6 או למדוד אותם לפי פרק 7. לצורך השוואה, טבלה 6 כולל גם את הפרמטרים ל-BBO. לכיוונון ראשוני של הגלאי ה-BBI בספקטרומטר ה-400 יש להשתמש בטבלה 7.

טבלה 6. רוחב והנמכה של פולסים לתמי"ג רב גרעיני

500 מגהרץ		400 מגהרץ	
BBI	BBO	BBI	BBO

PL	P _{90°}	PL	P _{90°}	PL	P _{90°}	PL	P _{90°}	גרעין
22.7	80	18.0	80	20.5	100	17.6	100	הפרת צימוד
						-6	11.8	⁶ Li
				-6	17.4	-6	5.8	⁷ Li
-3	12.4	2	10	-6	15.7	-6	9.2	¹³ C
-4	20.0	0	13.5	-6	27.0	-6	11.0	¹⁵ N
-3	12.0	2	8.4	-6	20.7	-6	8.9	²⁹ Si
-4	11.0	3	11.7	-6	17.0	-6	5.7	³¹ P
-4	27.9	0	16.1	-6	63.6	-6	33.4	³⁹ K
-4	24.8	3	18.4	-6	51.2	-6	21.0	^{47/49} Ti
		0	19.7			-6	41.9	⁷³ Ge
		0	20.5					¹⁰³ Rh
-3	11.9	3	10.1	-6	22.5	-6	8.8	¹⁹⁹ Hg
-3	11.2	3	9.4			-6	11.2	²⁰⁷ Pb
								²⁰⁹ Bi

טבלה 7. של כוונון גלאי ה-BBI בספקטרומטרים ה-400 וה-500 מגהרץ

500 Match	500 Tune	400 Match	400 Tune	גרעין
		877	7832	⁶ Li
		994	8992	⁷ Li
		994	7994	¹³ C
		836	7633	¹⁵ N
		931	7936	²⁹ Si
		995	8994	³¹ P
57	517	455	5276	³⁹ K
		622	6354	^{47/49} Ti
05	129			⁷³ Ge
		965	7935	¹⁹⁹ Hg
		944	7947	²⁰⁷ Pb
		883	7845	²⁰⁹ Bi