

NMR במצב מוצק קשה-למחצה

מאת רוי הופמן ויאיר עוזרי 18.10.2010

המדריך מותאם לשימוש שגרתי בספקטרומטר ה-500 מגהרץ.

אי אפשר למדוד ספקטורם במצב מוצק בספקטרומטרים אחרים ה-200 וה-400 מגהרץ.

המדריך מיועד לספקטרומטרים של המכון לכימיה באוניברסיטה העברית. ראה פרק 3 כדי להתאים למעבדות אחרות.

תוכן העניינים

3	1. הגדרת המושגים והסיכונים
3	2. איסוף שגרתי ל- ¹ H-CPMAS ו- ¹³ C-CPMAS
3	א. הכנת הדוגמה
11	ב. יצירת קובץ עבודה
14	ג. הכנסת הגלאי (פרוב, probe)
14	i. הוצאת גלאי קודם (של נוזלים: BBI או BBO)
15	ii. הכנסת גלאי ה-CP-MAS
20	iii. הכנסת גלאי ה-HR-MAS
22	iv. הגדרת הגלאי
23	ד. ביטול הנעילה
24	ה. הכנסת המבחינה
27	ו. הגדרת זווית הקסם
27	ז. סיבוב הדוגמה
28	ח. בדיקת טמפרטורה
31	ט. כיוון הגלאי
31	י. תיקון אחידות המגנט – Shimming
31	יא. איסוף
32	יב. עיבוד
32	יג. כיול היסט כימי
33	יד. אינטגרציה
33	טו. סימון סיגנלים
33	טז. הדפסה
33	יז. סיום העבודה והעברה למצב נוזל
34	יח. פירוק וניקוי הרוטור
37	3. שימוש המדריך במעבדות אחרות
37	4. כיול זווית הקסם
38	5. שיפור אחידות השדה - Shimming
39	6. מדידת רוחב הפולס
39	7. כיול הטמפרטורה
39	8. התאמת תחום הספקטרום וזמן האיסוף
39	9. התאמת פרמטרים באיסוף למיטוב (optimization) הרגישות
40	10. מדידת זמן רלקסציה אורכי – T_1
40	11. מדידה כמותית במצב מוצק בשיטת HPDEC

1. הגדרת המושגים והסיכנים

CP-MAS הוא ראשי תיבות של "הסיבוב בזווית הקסם עם הצלבת קיטוב". SELTICS הוא ראשי תיבות של "השמדת פסי צד על ידי הפסקה זמנית של היסט הכימי". TOSS הוא ראשי תיבות של "הפרה טוטלית של פסי צד סיבוב". HPDEC הוא ראשי תיבות של "הפרת צימוד בעצמה גבוהה". HR-MAS הוא ראשי תיבות של "סיבוב בזווית הקסם בהפרדה גבוהה". לאיסוף שגרתי הפעל לפי ההוראות האלה. השימוש בגלאי ה-CP-MAS מורכב וניתן אך ורק למי שקיבל אישור מיוחד.

בשל רגישות ומורכבות העבודה בגלאי עלול להיגרם נזק חמור לספקטרומטר ולגלאי שתיקונים עשוי לעלות הון רב, הן עלולות להיגרם בין היתר בשל חיבור לא נכון של הגלאי, חיבור לא נכון של קדמי המגבר, השארת חימום דולק בלי שדוגמה תסתובב, חימום או קירור מעבר למותר, שימוש במבחניה פגומה או שלא נקנתה מברוקר, הכנה לא טובה של הדוגמה, מהירות ותאוצת סיבוב מעל המותר, הפעלת כוח משדר מעל המותר, איסוף (AQ) ארוך מדי בניסוי CP-MAS וחזרה לאיסוף הבא מוקדם מדי.

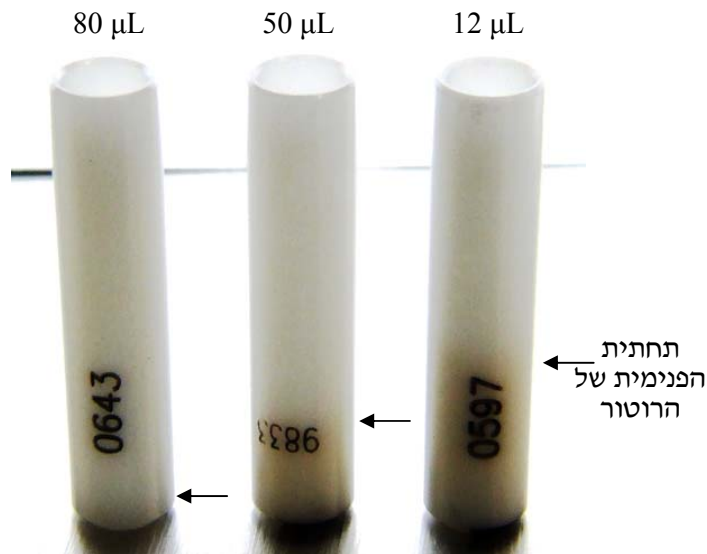
2. איסוף שגרתי של MAS בגלאי של CP-MAS

א. הכנת הדוגמה

המבחינות ואביזריהן יקרות ומאוד קטנות. יש להיזהר לא לאבד או לפגוע בהם.

המבחנה לסיבוב בזווית הקסם (MAS) קטנה ולבנה (תרשים 1) ונקראת רוטור. ישנה שלושה סוגים של רוטורים: רוטור מלא של 80 מיקרוליטר המיועד לחומרים מוצקים ושל 50 ו-12 מיקרוליטר לחומרים נוזליים יותר.

תרשים 1. רוטורים (מבחינות מיוחדות) ל-MAS



למידת פרוטון בשיטת CRAMPS יש להשתמש ברוטור מיוחד ל-CRAMPS (תרשים 2).

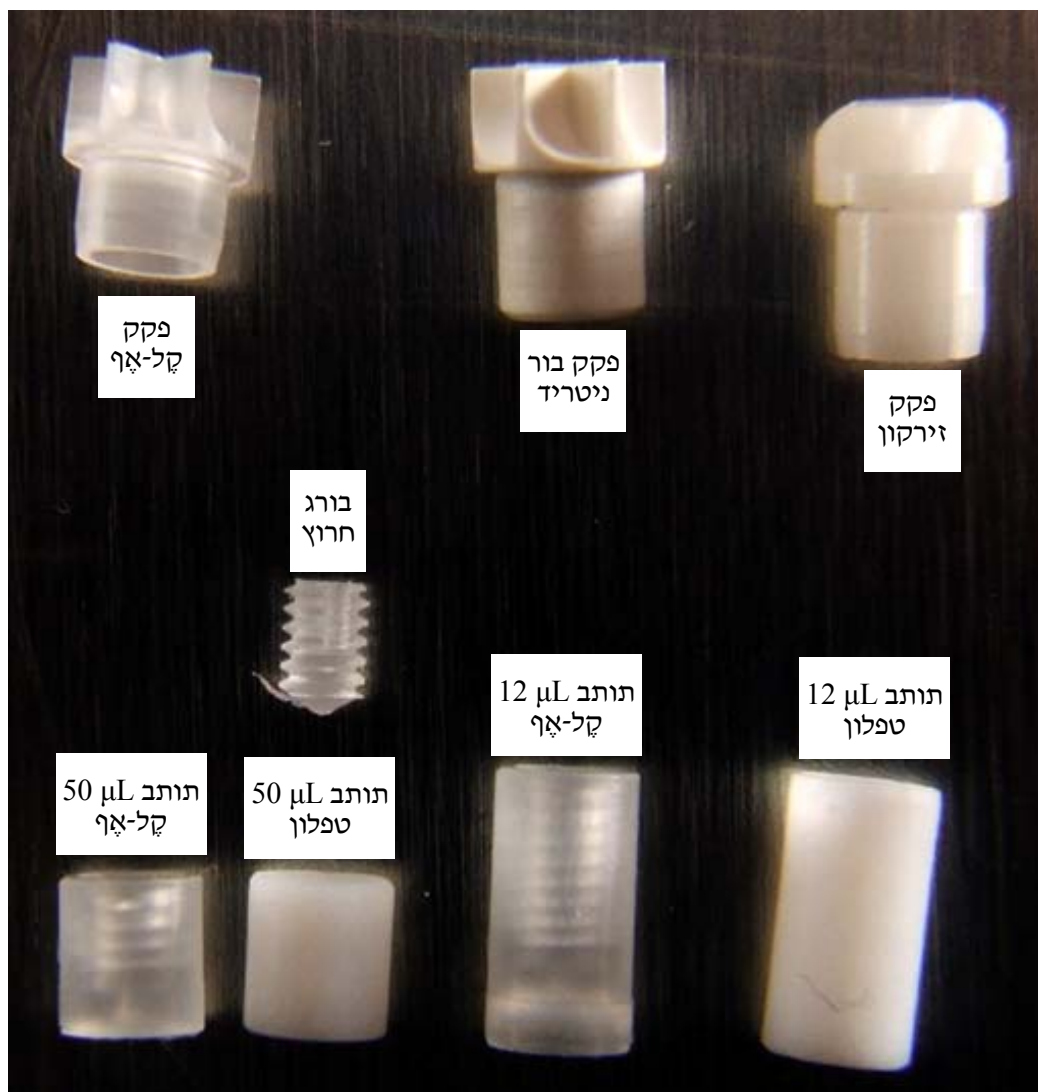
תרשים 2. רוטור ותותב ל-CRAMPS



לרוטורים של 50 ו-12 מיקרוליטר יש להשתמש בתותב (insert) המתאים (תרשים 3). התותבים מיוצרים משני חומרים, טפלון בצבע לבן וקל-אף שהוא שקוף.

בחר את חומר התותב לפי הסוספטיביליות (ערוך) של החומר. אם הדיאמגנטיות של החומר גבוהה כמו במים ובכלורופורם, השתמש בטפלון. אם הדיאמגנטיות נמוכה כמו באלכוהול, DMSO, ואצטון השתמש בקל-אף. התותבים מיועדים לחומרים רכים ונוזליים. אין להשתמש בתותב לחומר מוצק.

תרשים 3. פקקים ותותבים לרוטורים



קיימים שלושה סוגים של פקקים (תרשים 3): השקוף (קל-אף) למדידות בטמפרטורות לא רחוקות מטמפרטורת החדר (-20°C עד 50°C), והלבנים (בור ניטריד וזירקון) לטמפרטורות קיצוניות יותר מ- 80°C עד 120°C . פקק הבור ניטריד שביר מאוד וכמעט לא ניתן לשימוש. הזירקון מומלץ לשימוש בטמפרטורה קיצונית מפני שהוא יותר עמיד מבור ניטריד. אם אין מספיק חומר מוצק אין להשתמש במבחנות מצומצמות, אלה מומלץ לדלל אותו עם חומר אי-אורגני כמו סיליקה, אלומין או גבס. המבחנות המצומצמות מיועדות לחומר רך או נוזלי בלבד. חומר קשה יפגע בתותבים.

יש להשתמש בכפפות כדי למנוע זיהום הדוגמה מהליפידים (שומנים) בעור שנותנים סיגנלים חזקים בתנאי סיבוב סביב ציר הקסם.

לחומר מוצק אין להשתמש בתותב. יש לטחון את הדוגמה במכתש ועלי לאבקה דקה (תרשים 4). העמד את המבחינה במעמד שלה והכנס את האבקה בשלבים בעזרת מרית (spatula) קטנה (תרשים 5). דחס את האבקה אחרי כל שלב בעזרת הקצה הארוך של הכלי המיועד לכך (תרשים 6). מלא את הרוטור עד מקום הפקק. אם הדוגמה מוכנה כמו שצריך היא אמורה להסתובב עד 15 קילוהרץ.

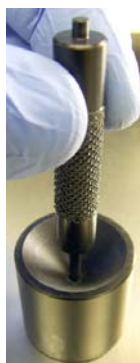
תרשים 4. טחינת הדוגמה במכתש ועלי



תרשים 5. הכנסת המבחינה למעמד והכנסת הדוגמה למבחינה



תרשים 6. דחיסת הדוגמה עם כלי. השתמש בקצה הארוך.



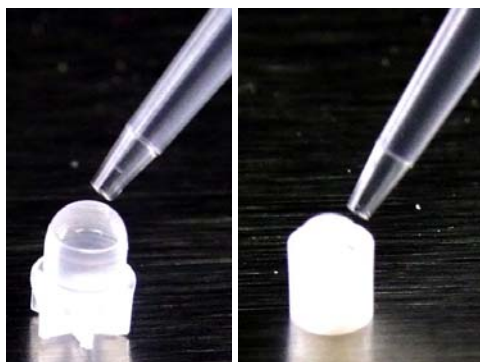
לחומרים נוזליים ותקרישים (ג'לים) שימוש בתותב מפחית את הסיכוי של בועות המקשות על ה-shimming. אם צפיפות הנוזל ידוע ניתן לשקול את הרוטור, התותב, הבורג והפקק לפני המילוי ואת הרוטור הסגור אחרי המילוי כדי לבדוק שהוא מלא ללא בועות אוויר. בדוגמאות רכות כמו רקמות התותב ממקם את הדוגמה בדיוק במקום.

חומרים נוזלים או להתיך אותם דורש רק חימום קל, יש להכניס אותו בעזרת פיפטה (פיפית) אוטומטית של 100 מיקרוליטר או במזרק (תרשים 7). אם משתמשים בתותב שים טיפה של הדוגמה בתחתית התותב ואם לא שים טיפה בתוך הפקק (תרשים 8).

תרשים 7. הכנסת דוגמה נוזלית בעזרת פיפטה



תרשים 8. הוספת טיפה של נוזל בתחתית התותב או בתוך הפקק



חומרים ביולוגיים כמו קרומי תא או חלבונים, השתמש ברוטור של 12 מיקרוליטר והוסף 5 עד 10% D_2O . העבר את הגלולית (pellet) לתחתית התא. ניתן להכניס את הרוטור בתוך מבחינת אפנדורף ולהשתמש בסרכזות (צנטריפוגה) מסוג swing-out כמו בתרשים 9. הוסף קצת של הנוזל העודף מהסרכזות. אם משתמשים בתותב שים טיפה של הנוזל העודף מהסרכזות בתחתית התותב ואם לא שים טיפה בתוך הפקק.

תרשים 9. הכנסת הרוטור למבחנת אפנדורף, המבחינה בסרכזות, יש לסגור את הסרכזות בזמן השימוש



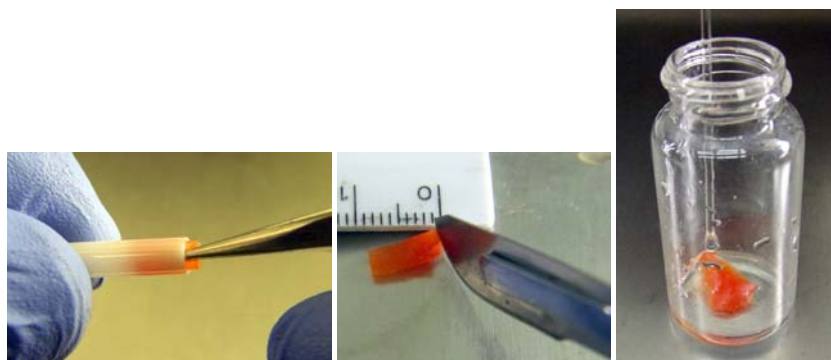
לתקרישים וגבישים נוזליים צמיגים הכנס את החומר בעזרת מזרק ו/או מרית. ניתן להשתמש בסרכזות להוריד את החומר למטה ולהוציא בועות.

לפולימרים, שרפים (resins) ודוגמאות תופחות אחרות, בדוק את מקדם התפיחה השייך לממס (ערך טיפוסי הוא 5). חשב את כמות הדוגמה המוצקה שנדרש כדי למלאות את הרוטור (12 או 50 מיקרוליטר) אחרי התפיחה. הכנס את המוצק לרוטור ותוסף קצת יותר ממס ממה שנדרש. ערבב עם סיכה. אם משתמשים בתותב שים טיפה של הממס בתחתית התותב ואם לא שים טיפה בתוך הפקק.

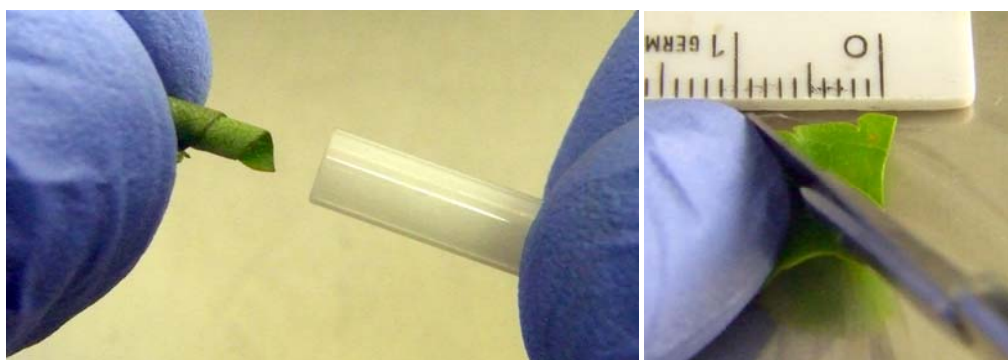
לאוכל ולרקמות, יש לשטוף ב- D_2O (תרשים 10). חתוך את הדוגמה בעזרת סכין מנתחים לגודל הנדרש (תרשימים 9 ו-10): ספרה בקוטר 2.84 מ"מ ל-12 מיקרוליטר וגליל בקוטר 2.95 מ"מ

ואורך 7.3 מ"מ ל-50 מיקרוליטר. דוגמאות שטוחות כמו עלים ניתן לחתוך לגודל ולגלגל (תרשים 11). מלא את הרוטור ב-D₂O. שים טיפה של D₂O גם בתחתית התותב.

תרשים 10. הכנת דוגמה ביולוגית (לדוגמה פלפל אדום): שטיפה ב-D₂O, חיתוך לגודל המתאים והכנסה למבחינה.

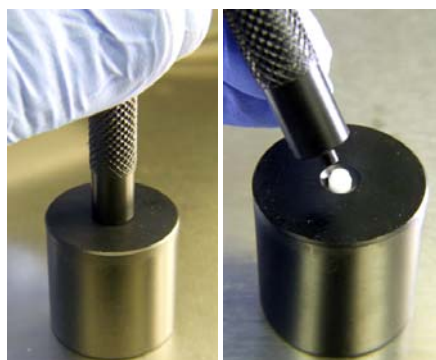


תרשים 11. הכנת דוגמה ביולוגית שטוחה (לדוגמה עלה): חיתוך לגודל המתאים, גילגול והכנסה למבחינה.

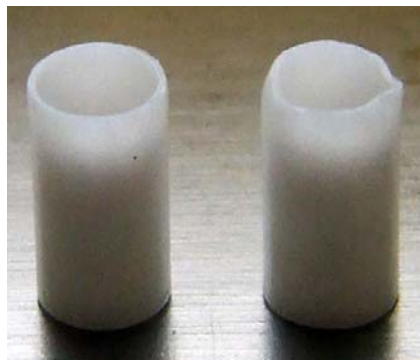


אם משתמשים בתותב הכנס אותו עם ההברגה למעלה. דחוף אותו פנימה עם הקצה הקצר 3) מ"מ) של כלי הדחיסה (תרשים 12). הכנסה עמוקה מדי עלולה להרוס את התותב (תרשים 13). הכנס את הבורג החרוץ בעזרת המברג המתאים (תרשימים 14-16). שימוש בזכוכית מגדלת (תרשים 17) עם תאורה יעזור. סובב את הבורג עד שתרגיש התנגדות. נקה את פתח הרוטור (תרשים 18) משאריות החומר בעזרת ממחטה (Kimwipe).

תרשים 12. הכנסה ומיקום התותב. יש להשתמש הקצה הקצר של הכלי.



תרשים 13. תותב שלם בצד שמאל ותותב הרוס על ידי הכנסה עמוקה מדי בצד ימין



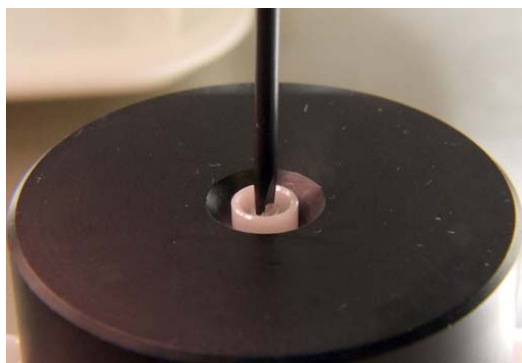
תקשים 14. המברג להכנסת הבורג החרוץ מסוג אחר (לסוג השני יש להשתמש במברג שטוח קטן מאוד)



תרשים 15. שני סוגים של בורג החרוץ עם מברגיהם



תרשים 16. הכנסת הבורג החרוץ מומלץ להשתמש בזכוכית מגדלת



תרשים 17. שימוש הזכוכית מגדלת.



תרשים 18. ניקוי פתח הרוטור משאריות החומר



וודא שהפקק לא פגום (תרשים 19) לפני הכנסתו. אי אחידות של החומר או פקק פגום יכול להרוס את הרוטור (תרשים 20) ואת הגלאי. הכנס את הפקק (תרשים 21) עד הסוף. חשוב לבדוק שהפקק לא פגום ושהפקק לא יהיה משוחרר וניתן ללחוץ על הפקק עם כלי רך כלשהו (תרשים 22).

תרשים 19. פקק שנשבר משימוש לא נכון של הכלי להוצאת פקקים



תרשים 20. רוטור שלם ליד שרידי רוטור שהתפוצץ



תרשים 21. הכנסת הפקק



תרשים 22. סגירה סופית של הפקק בעזרת כלי רך



ב. יצירת קובץ עבודה

כדי ליצור קובץ חדש יש להקליד edc (תרשים 23) ולהכניס את הפרמטרים (כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 3, ב') :

בשדה NAME שם הניסוי, ניתן לשמור יותר מספקטרום אחד באותו הקובץ, כל ספקטרום יקבל מספר אחר, בשדה EXPNO מספר הספקטרום, מומלץ להתחיל מ-1

שדה PROCNO בדרך כלל 1 (מספר גבוה יותר נועד לעיבוד שונה של אותו ספקטרום), בשדה DIR שם הספרייה (C:\Bruker\TOPSPIN) בשדה USER שם המשתמש, סוג ממס כאשר מדובר במוצקים הוא none, ניתן לקרוא קובץ פרמטרים לניסוי על ידי בחירה בשדה Experiment (מקביל ל-rpar) ואת הכותרת בשדה TITLE. (ניתן לשנות את הכותרת מאוחר יותר בלחיצה על לשונית Title של חלון הספקטרום). יש ללחוץ OK או Enter על מנת ליצור את הקובץ. ניתן להעתיק קובץ קיים ב-edc עם בחירת Use current parameters בשדה Experiment.

תרשים 23. יצירת קובץ חדש עם edc

לגלאי ה-CP-MAS יש ניסיונות מיוחדים עם קבצי הפרמטרים שלהם לפי טבלה 1. לגלאי ה-HR-MAS יש להשתמש בפרמטרים לפי טבלה 2 הדומים לאלה של ניסיונות במצב נוזלי.

בניסוי CP-MAS רגיל ניתן לראות סיגנל רק אם יש פרוטונים הקשורים ישירות או דרך כמה קשרים כימיים אל הפחמנים. קובץ הפרמטרים בשביל הניסוי המתאים למדידת ספקטרום פחמנים בתחום רחב מכ-110 ppm הוא בדרך כלל CPSELTICS מאחר שהוא מאפשר סיבוב מהר עד 15 קילוהרץ. ניתן אבל פחות מומלץ להשתמש ב-TOSS. יש לדעת שב-TOSS מהירות הסיבוב מוגבלת ל-6500 הרץ. אם התחום צר אז בוחרים בניסוי CP-MAS רגיל ואז ניתן ומומלץ לסובב עד מהירות של 15 קילוהרץ. החיסרון בסיבוב מהיר הוא שהדוגמה מתחממת.

אם אין פרוטונים קרובים לפחמנים או אם רוצים הפרדה טובה יותר מ-5 הרץ חייבים להשתמש בניסוי ששמו HPDEC אלא שאז מפסידים כשני סדרי גודל ברגישות ביחס לניסוי CP-MAS.

יש להכין קובץ נוסף לספקטרום HR-MAS (בגלאי CP-MAS) לצורך כיוול אך אם מעוניינים בספקטרום HR-MAS גלאי ה-HR-MAS עדיף.

טבלה 1. ניסיונות לגלאי CP-MAS

ניסוי	פרמטרים	תיאור הניסוי
פרוטון במצב MAS	1d_HMAS	פרוטון
פרוטון CRAMPS	1f_H1CRAMPS	פרוטון
^{15}N CP-MAS	14a_N15CPMAS	חנקן-15 עם סיבוב בזווית הקסם והצלבת קיטוב
^{15}N CPSELTICS	14b_N15CPSELTICS	חנקן-15 עם סיבוב בזווית הקסם והצלבת קיטוב

צורן עם סיבוב בזווית הקסם והצלבת קיטוב	20a_Si29CPMAS	^{29}Si CP-MAS
צורן עם סיבוב בזווית הקסם והפרת צימוד לפרוטון	20b_Si29HPDEC	צורן עם הפרת צימוד חזק
זרחן עם סיבוב בזווית הקסם והצלבת קיטוב	24c-P31CPSELTICS	^{31}P CPSELTICS
פחמן עם סיבוב בזווית הקסם והצלבת קיטוב	2e_CarbonCPMAS	^{13}C CP-MAS
פחמן עם סיבוב בזווית הקסם והצלבת קיטוב והפרת פסי צד סיבוב	2f_CarbonCPSELTICS	^{13}C CPSELTICS
פחמן עם הפרת צימוד לפרוטון	2g_CarbonHPDEC	פחמן עם הפרת צימוד חזק
פחמן עם סיבוב בזווית הקסם והצלבת קיטוב והפרה טוטלית של פסי צד סיבוב	2h_CarbonTOSSa	TOSS
פחמן עם סיבוב בזווית הקסם והצלבת קיטוב והפרת פסי צד סיבוב עם סינון עבור רלקסציה קצרה	2j-C13CPT1	^{13}C CPT ₁
פחמן עם סיבוב בזווית הקסם והצלבת קיטוב והפרת פסי צד סיבוב עם סינון עבור רלקסציה ארוכה	2k-C13CPT1rho	^{13}C CPT _{1\rho}
ברום-79 עם סיבוב בזווית הקסם	32a_Br79MAS	^{79}Br MAS
רובידיום-79 עם סיבוב בזווית הקסם	33a_Rb87MAS	^{87}Rb MAS
רובידיום-79 בתחום מצומצם עם סיבוב בזווית הקסם	33b_Rb87MASselective	^{87}Rb MAS בתחום מצומצם
רובידיום-79 עם סיבוב בזווית הקסם לצורך הפרדה גבוהה	33c_Rb87STMAS	^{87}Rb ST-MAS
רובידיום-79 עם סיבוב בזווית הקסם לצורך הפרדה גבוהה	33d_Rb87MQMAS	^{87}Rb MQ-MAS
התאמה בין פרוטון לפחמן	5o_C13CPHETCOR	^{13}C CPHETCOR
התאמה בין פרוטון לצורן	5p_Si29CPHETCOR	^{29}Si CPHETCOR

טבלה 2. ניסיונות לגלאי HR-MAS

ניסוי	פרמטרים	תיאור הניסוי
^1H	1e_H1HR	פרוטון
^{13}C	2i_C13HR	פחמן עם הפרת צימוד
COSY	3a_COSYHR	התאמה בין פרוטונים דרך קשרים
HMQC	5n_HMQCHR	התאמה בין פרוטון ופחמן דרך קשר אחד
HMBC	6q_HMBCHR	התאמה בין פרוטון ופחמן דרך מספר קשרים

התאמה בין פרוטונים דרך קשרים רבים	7a_TOCSY	TOCSY
דיפוזיה (פעפוע) עצמית	11b_diffusionHR	SD-NMR

ג. הכנסת הגלאי (פרוב, probe)

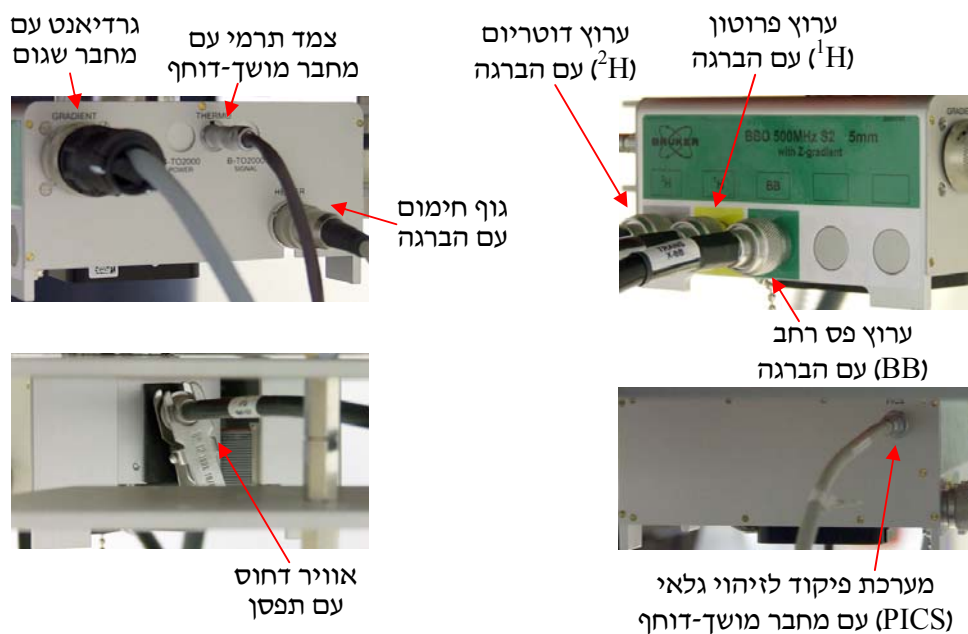
הגלאים יקרים ושכירים מאוד. יש לעבוד בעדינות רבה ולקבל אישור מיוחד לפני שתנסו להוציא או להכניס גלאי.

י. הוצאת גלאי קודם (של נוזלים: BBI או BBO)

נתק את שלושת הערוצים של תדר רדיו: BB, ^1H ו- ^2D ואת גוף החימום בהברגה. שחרר את תפסן אוויר הדחוס והוצא את הכבל של הגרדיאנטים בסיבוב ומשיכה.

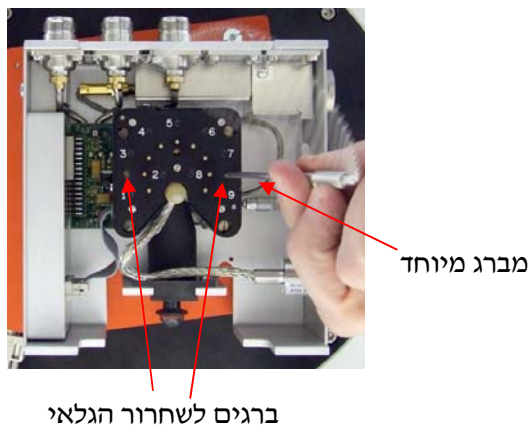
משוך החוצה את הכבל של מד הטמפרטורה (צמד תרמי-thermocouple) ואת הכבל של ה-PICS (מערכת פיקוד לזיהוי גלאי) (תרשים 24).

תרשים 24. החיבורים לגלאי ה-BBO מכיוונים שונים לדחוס של ה-BBI



החזק ביד אחת בגלאי וביד השנייה שחרר בעזרת המברג המיוחד שתלוי מהגלאי את שני הברגים (בין המספרים 1 ו-3 והמספרים 7 ו-9) התופסים אותו (תרשים 25).

תרשים 25. הגלאי מלמטה עם המברג שלו



הוצא את הגלאי מהמגנט (בעדינות!) הלבש את המכסה כנגד אבק (תרשים 26) עליו והכנס אותו לקופסא שלו.

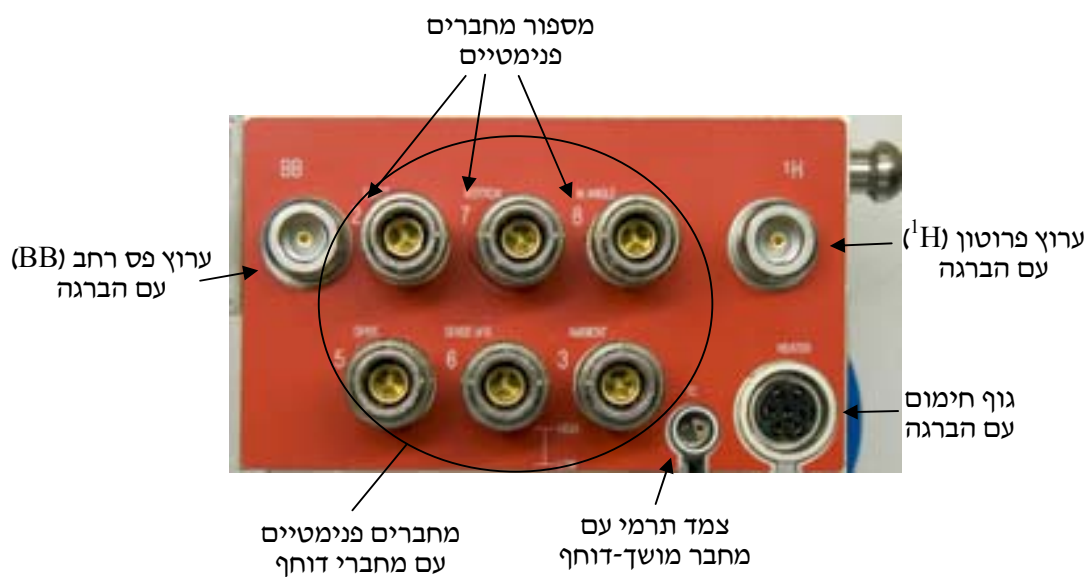
תרשים 26. מכסה גלאי נגד אבק



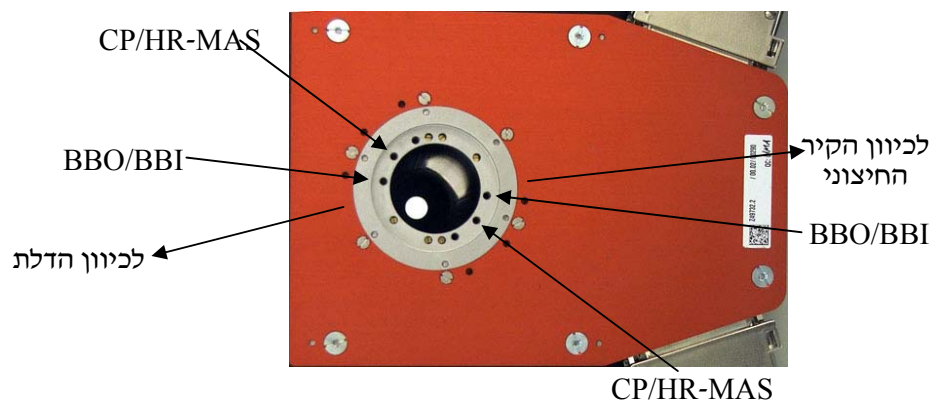
ii. הכנסת גלאי ה-CP-MAS

הגלאי ל-CP-MAS נראה כמו בתרשים 27. הכנס אותו למגנט וחבר אותו עם שני הברגים בעזרת המברג המיוחד (תרשימים 28 ו-29). אין להבריג את הברגים חזק או חלש מדי.

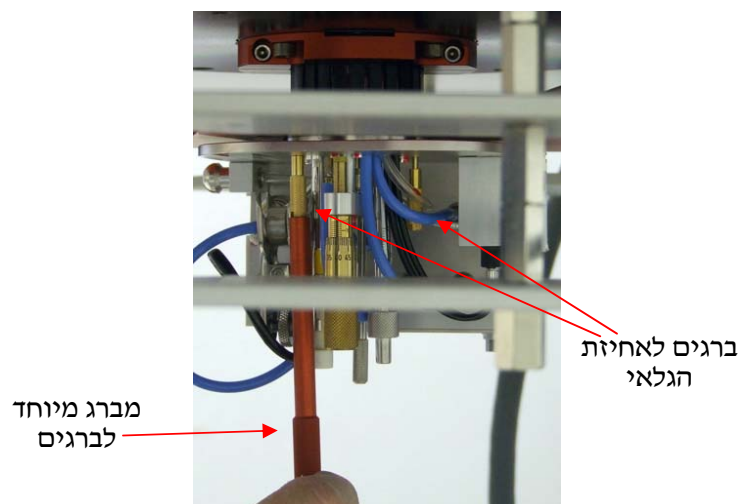
תרשים 27. החיבורים העיקריים של גלאי ה-CPMAS



תרשים 28. מקום ההברגה של גלאים



תרשים 29. הברגת הגלאי ה-CPMAS



הוציא את כל שבעת פקקי האבק שלו (תרשים 30), אחד מראש הגלאי ושהה ממחברים הפנימיים.

תרשים 30. פקקי האבק של גלאי ה-CPMAS



חבר את ששת החיבורים הפנימיים בדחיפה (תרשים 31) לפי מספרם (תרשים 26): 2, 3, 5, 6, 7, 8. טבלה 3 נותן את פירוש החיבורים הפנימיים. את החיבורים של תדר רדיו ^1H -ו-BB, את גוף החימום ואת גלאי הסיבוב מחברים עם הברגה. הכנס את מערכת הפיקוד לזיהוי גלאי (PICS) שנכנס מלמטה ואת הצמד התרמי בדחיפה. חבר את אוויר הדחוס עם הטפסן. הגלאי לא משתמש בנעילה לכן אין לחבר את כבל הדוטרים.

טבלה 3. משמעות החיבורים הפנימיים

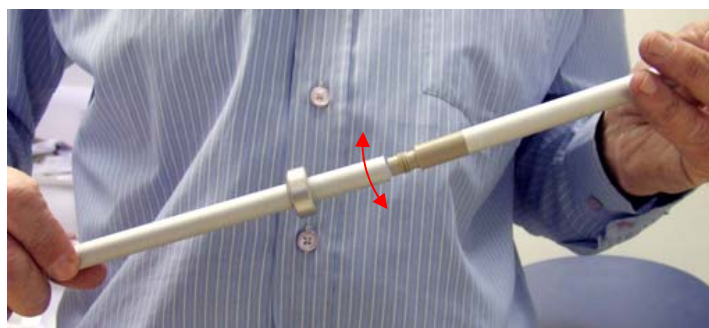
מספר	סימן	פירוש
2	EJECT	פלוט
3	AMBIENT	אופף
5	DRIVE	הנע
6	SENSE OF B.	חיישן תכווין
7	VERTICAL	אנכי
8	M. ANGLE	זווית הקסם

תרשים 31. החיבורים לגלאי ה-CPMAS מכיוונים שונים

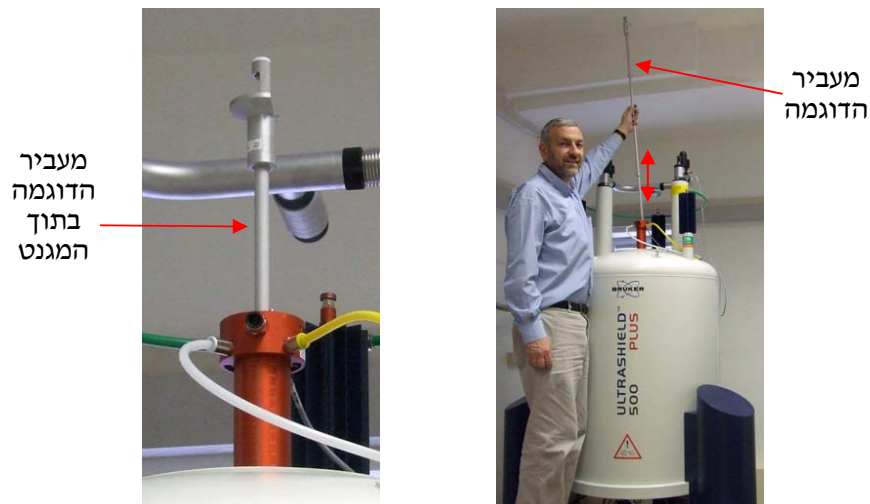


חבר את שני החלקים של מעביר הדוגמה (תרשים 32) הכנס אותו למגנט מלמעלה (תרשים 33).

תרשים 32. חיבור מעביר הדוגמה



תרשים 33. הכנסת מעביר הדוגמה לתוך המגנט



הוציא את הכבל של הפלואור (שמסומן ^{19}F QNP ACCESSORY) והעבר את הכבל של פרוטון (שמסומן ^1H QNP ACCESSORY) מקדם המגבר העליון לקדם המגבר התחתון (תרשים 34). הכנס את המסנן העברת פס נמוך (LP) ליציאה של ערוץ פס הרחב (BB) השני מלמעלה של קדמי המגבר וחבר את העברת פס פרוטון ליציאה התחתונה. העבר את הכבל של פרוטון (^1H) מהיציאה העליונה של קדמי המגבר למסנן המחובר ליציאה התחתונה כך שהיציאות של קדמי המגבר יראו כמו תרשים 35. למדידת פרוטון בשיטת CRAMPS יש להוציא את המסנן בערוץ הפרוטון אך עלך לזכור להחזירו לניסיונות אחרים.

תרשים 34. חזית אחורית של קדמי המגבר

המצב למצב מוצק



המצב הרגיל לנוזלים.
יש לשנותו לעבודה
במצב מוצק.



תרשים 35. חזית קדמית של קדמי המגבר

המצב למצב מוצק



המצב הרגיל לנוזלים.
יש לשנותו לעבודה
במצב מוצק.



iii. הכנסת הגלאי HR-MAS

הגלאי ל-HR-MAS נראה כמו בתרשים 36. הוציא את שבע פקקי האבק שלו (תרשימים 29 ו-37), מראש הגלאי. הכנס אותו למגנט וחבר אותו עם שני הברגים בעזרת המברג המיוחד (תרשים 53). אין להבריג את הברגים חזק או חלש מדי.

תרשים 36: גלאי ה-HR-MAS

מקדימה



מאחורה

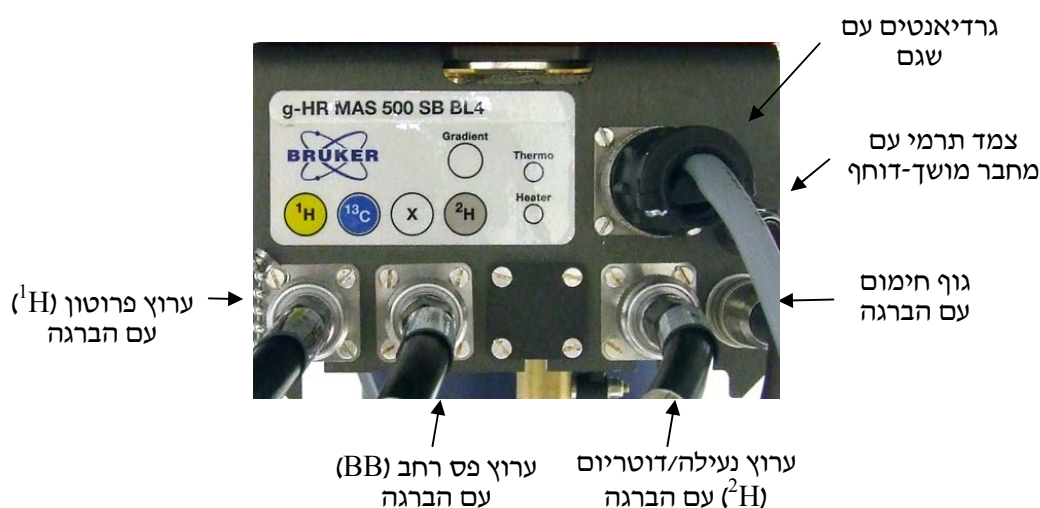


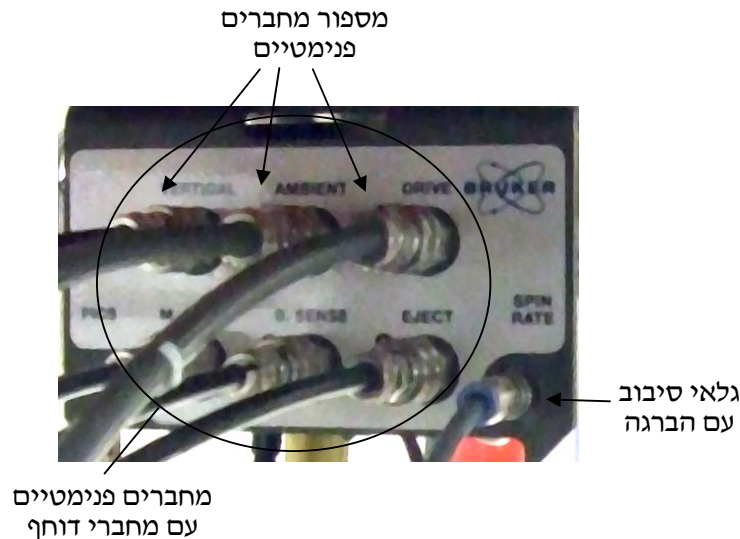
תרשים 37. פקק האבק של גלאי ה-HR-MAS



חבר את ששת החיבורים הפנימיים בדחיפה (תרשים 38) לפי מספרם (תרשים 36): 2, 3, 5, 6, 7, 8. טבלה 3 נותן את פירוש החיבורים הפנימיים. את החיבורים של תדר רדיו ^1H BB ו- ^2H , את גוף החימום ואת גלאי הסיבוב מחברים עם הברגה. את הגרדיאנטים יש לחבר עם שגם (תרשים 38). אין לחבר את אוויר הדחוס או את ה-PICS.

תרשים 38. החיבורים לגלאי ה-HR-MAS



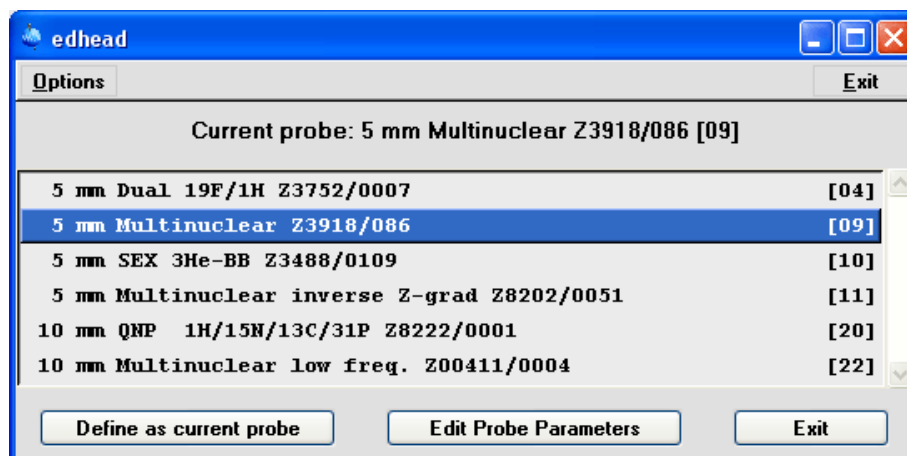


חבר את שני החלקים של מעביר הדוגמה (תרשים 32) הכנס אותו למגנט מלמעלה (תרשים 33). החיבורים לקדמי המגבר הם כמו אלה של מצב נוזלי לכן אין לשנות אותם ואין לעשות edasp setpreamp אלה אם כן הגלאי הקודם היה CP-MAS או שהיה ניסוי מיוחד קודם כמו פלואור.

iv. הגדרת הגלאי

יש להגדיר לתוכנה את הגלאי (פרוב, probe) הנמצא במגנט בפקודה edhead (תרשים 38). בחר את הגלאי [35] 4 mm MAS BB-1H/19F K3167/0117 CP-MAS או [36] 4 mm HR-MAS 13C-H Z-GRD B3081/0452 HR-MAS. (שים לב שזו לא השורה המסומנת בתרשים 38) ואז בחר את האפשרות Define as current probe. אחר בחירת הגלאי לוחצים על Exit או Return.

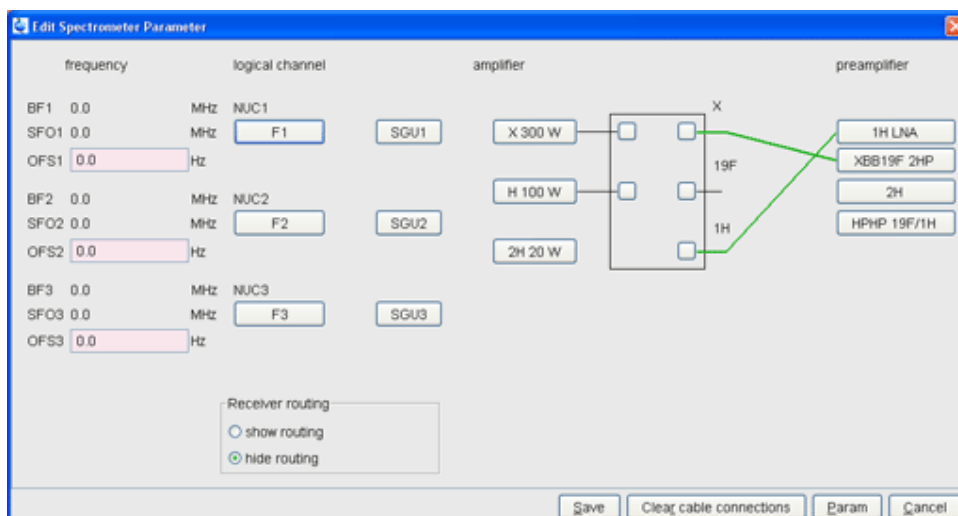
תרשים 38. חלון edhead להגדרת הגלאי



קרא את הפרמטרים של ה-shimming לגלאי המתאים על ידי כתיבת הפקודה rsh mas ל-CP-MAS או rsh hrmas ל-HR-MAS.

לגלאי CP-MAS שנה את ניתוב קדמי המגבר על ידי פקודת edasp setpreamp. יופיע החלון כמו בתרשים 39. לחץ על 1H ו-1H LNA והקו הירוק ביניהם יעלם. לחץ על 1H ו-1H HPHP כדי לחבר אותם. לחץ על SAVE לשמור ולסגור את החלון.

תרשים 39. חלון של איסוף רגיל שנוצר בפקודה edasp setpreamp



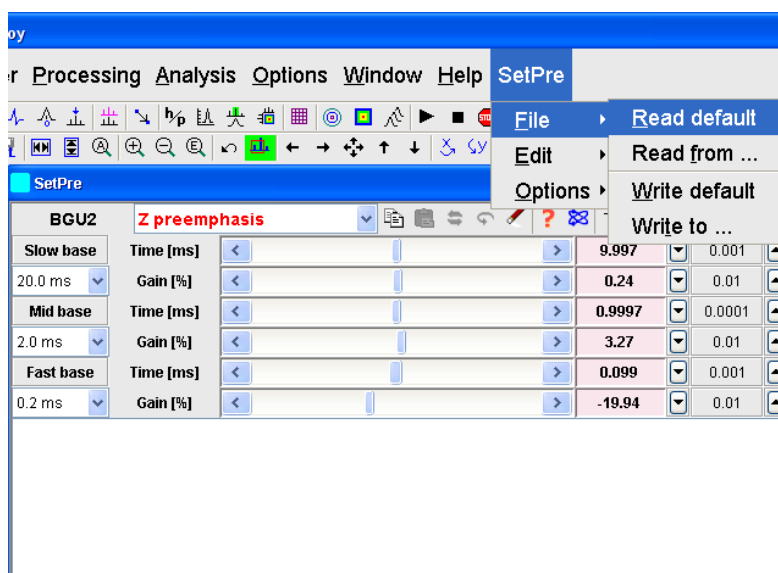
לגלאי HR-MAS צריכים להגדיר את קדם-ההדגשה (preemphasis) של הגרדיאנטים (מפלי שדה) אם רוצים להריץ ניסוי עם גרדיאנטים וכן כיוול עוצמת הגרדיאנטים אם רוצים למדוד דיפוזיה (פעפוע). מקלידים setpre יופיע חלון חדש ובתפריט שהחלון הראשי יופיע אפשרות נוסף SetPre (תרשים 40). השתמש באפשרות setpre כדלקן.

SetPre > File > Read default

Store

סגור את חלון ה-SetPre

תרשים 40. חלון קדם-ההדגשה (setpre)



ד. ביטול נעילה

מכיון שאין נעילה בגלאי ה-CPMAS (אין ממס דוטריום) אין לנעול ויש ללחוץ על כפתור ה-SWEEP כדי לכבות אותו.

ב-HR-MAS ניתן לנעול כרגיל (ראה המדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 3, ו').

ה. הכנסת המבחנה

וודא שיחידת ה-MAS (תרשים 41) דלוקה. מומלץ להעביר אותו למצב שבו היא מציגה במסך המגע שלה את מהירות הסיבוב (תרשים 42). אם מופיע המספר הגדול אפס (או מספר אחר אם יש דוגמה מסתובבת בפנים) הצג מוכן. אם הוא מראה סמל של ברוקר לחץ עליו ויפיע שמונה כפתורים. לחץ על כפתור Auto בצד ימין למטה כדי להגיע לצג הנדרש.

תרשים 41. יחידת ה-MAS



תרשים 42. העברת יחידת ה-MAS למצב שמראה את מהירות הסיבוב



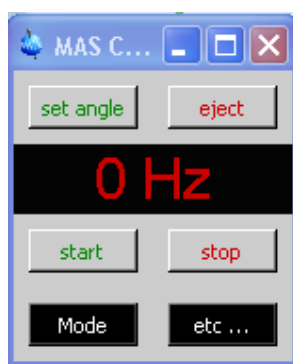
פתח את חלון הפיקוד ל-MAS בהקלדת mascontrol או לפי תפריט
 .Spectrometer>Accessories>MAS Pneumatic Unit>Interactive Control [mascontrol]
 יופיע חלון עם כותרת Select probe. בחר SB4. יופיע חלון קטן במקומו (תרשים 43).

תרשים 43. חלון פיקוד סיבוב בזווית הקסם – MAS Control

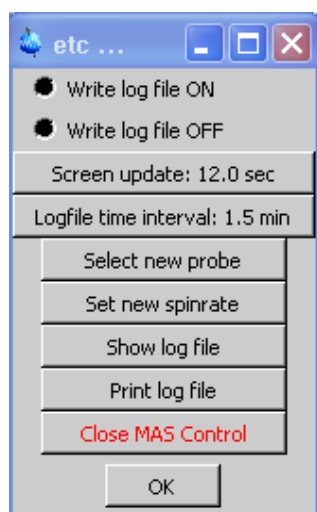


לחץ על Mode החלון יורחב וייראו עוד כפתורים (תרשים 44) לחלון ועל etc ... לפתוח חלון פיקוד נוסף (תרשים 45).

תרשים 44. חלון מורכב לפיקוד סיבוב בזווית הקסם – MAS Control



תרשים 45. חלון נוסף לפיקוד סיבוב בזווית הקסם – etc ...

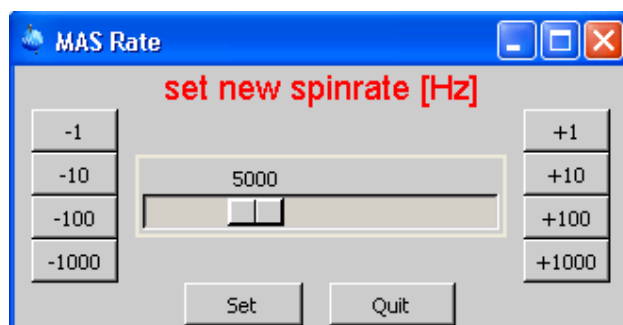


וודא שאין דוגמה בגלאי ושהסליל במצב אנכי (תרשימים 48 ו-49).

אם יש דוגמה בפנים הקלד edte וכבה את החימום

הפסק את סיבוב הדוגמה, אם מהירות הסיבוב מעל חמשה קילוהרץ יש להוריד את המהירות בהדרגה. לחץ על Set new spinrate בחלון etc ... יופיע חלון של MAS Rate (תרשים 46). הוריד את מהירות הסיבוב בשלבים של שני קילוהרץ ולחץ על Set. חזור על הפעולה עד שהמהירות יורדת מתחת לחמישה קילוהרץ ואחר כך לחץ על stop בחלון MAS Control.

תרשים 46. חלון הגדרת מהירות סיבוב חדש – set new spinrate



גם אם הדוגמה לא סובבה וודא שראש מעביר הדוגמה סגור (תרשים 47) ולחץ על eject בחלון MAS Control. הדוגמה תדחף החוצה על ידי לחץ האוויר הדחוס אל ראש מעביר הדוגמה גש מייד אל המגנט (זרימת האוויר נמשכת שניות ספורות!) סובב את המכסה והוצא את הדוגמה (המבחנה בדרך כלל נופלת אל הצלחת שבראש מעביר הדוגמה, זה הזמן להזהיר שאם המכסה לא סגור המבחנה תעופף בחדר ואין לדעת להיכן תגיע ואיפה לחפשה). בדוק מתחת למגנט לפי תרשימים 48 ו-49 אם הסליל במצב אנכי.

כאשר תפסק זרימת האוויר הכנס את המבחנה כשהפקק למעלה אל הפתח בראש מעביר הדוגמה (תרשים 50) ושחרר אותה כדי שהיא תיפול לתוך המגנט. סגור את מכסה מעביר הדוגמה.

תרשים 47. סגירת המכסה כי שהדוגמה לא תעוף בעת הוצאת הדוגמה



תרשים 48. המיקרומטר לכיוון זווית הקסם בגלאי ה-CP-MAS

הסליל בזווית
הקסם



הסליל אנכי וניתן
להכניס דוגמה אם
אין דוגמה בפנים



תרשים 49. המיקרומטר לכיוון זווית הקסם בגלאי ה-HR-MAS

הסליל בזווית
הקסם



הסליל אנכי
וניתן להכניס
דוגמה אם אין
דוגמה בפנים



תרשים 50. הכנסת הדוגמה למגנט



ו. הגדרת זווית הקסם

לפני שעוברים לזווית הקסם, בדוק שזווית הקסם מכוונת מאחר שלא תקבלו סיגנל טוב (אם בכלל) אם היא לא מכוונת היטב. במיקרומטר של ה-CP-MAS (בתרשים 48), כל שנתה גסה מחולקת ל-50 שנתות דקות. המספר הנכון הוא 15 גסות ו-36 דקות. במיקרומטר של ה-HR-MAS (בתרשים 49), כל שנתה גסה מחולקת ל-10 שנתות דקות. המספר הנכון הוא 2 גסות ו-7.9 דקות. אם הזווית נכונה אל תיגע בה.

אם ברצונך לכייל את זווית הקסם במדידת ספקטרום ראה פרק 4. הניסוי STMAS דורש כיול זווית הקסם לכל דוגמה.

העבר את הגלאי לזווית הקסם בלחיצה על `set angle` בחלון `MAS Control`. המתן כמה שניות ווודא שהגלאי עבר נכון לזווית הקסם לפי תרשימים 48 ו-49.

ז. סיבוב הדוגמה

אם הדוגמה לא מסתובבת כמו שצריך, הפסק את הסיבוב, הוצא את הדוגמה, בדוק שהרוטור והפקק נקיים מבחוץ, שהרוטור והפקק שלמים והוציא והכנס את החומר שוב. אם מתעקשים לסובב דוגמה פגומה אתה עלול לשבור את הגלאי. סיבוב במהירות מסכן את הגלאי והדוגמה אך חייבים לסובב במהירות כדי לקבל ספקטרום טוב.

לנוזלים ונוזלים למחצה מהירות סיבוב לא צריכה להיות מעל 4000 הרץ. לגלאי ה-CP-MAS לפחמן, חנקן, פרוטון, ST-MAS ו-MQ-MAS יש לסובב בין 12500 ו-15000 הרץ. לזרחן, צורן וגרעינים אחרים ניתן לסובב במהירות של בין 4000 ו-5000 הרץ. לחומרים מוצקים ממש סיבוב מהיר יותר עדיף. לחץ על `Set new spinrate` בחלון ... etc בחר מהירות סיבוב עד 5000 הרץ ולחץ `start` בחלון `MAS Control`. אחרי שהסיבוב מתייצב, אם ברצונך לסובב מהר יותר הגדל את

מהירות הסיבוב עד למקסימום של 15000 הרץ. אסור לסובב את הדוגמה מהר יותר ועדיף שהמהירות תהיה פחות מזה. לניסוי TOSS, המהירות המרבית היא 6500 הרץ. אם הדוגמה לא מסתובבת באופן יציב הוציא אותה בדוק את הפקק ואת הרוטור עבור פגמים והכן אותה מחדש (רוב הסיכויים שהיא לא מולאה עד הסוף או לא טחונה או נדחסה היטב).

ח. בדיקת טמפרטורה

אי אפשר לשלוט על הטמפרטורה אם אין מבחנה מסתובבת במגנט. יש להדליק את גוף החימום אך ורק אחרי שהדוגמה מתחילה להסתובב. הגדרת הטמפרטורה כמו של במצב נוזל (המדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 7) אלה שנדרש פרמטרים אחרים. הפרמטרים לגלאי ה-CP-MAS הם:

Proportion band: 58

Integral time: 36

Derivative time: 6

ולגלאי ה-HR-MAS הם:

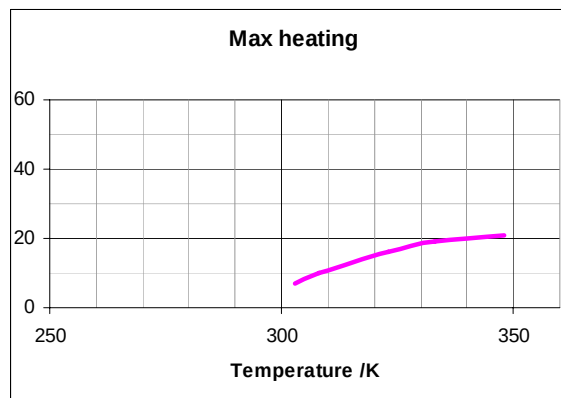
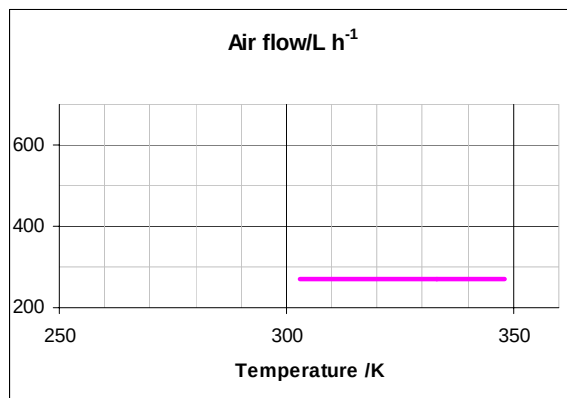
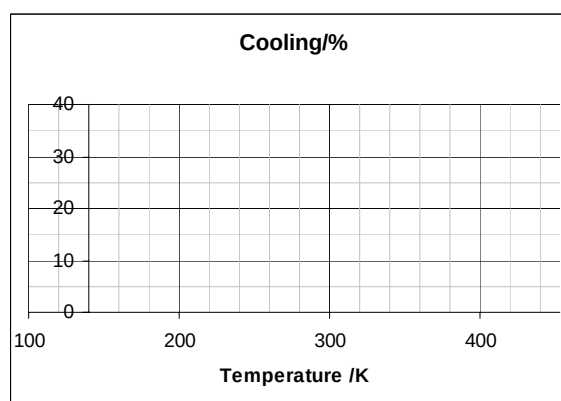
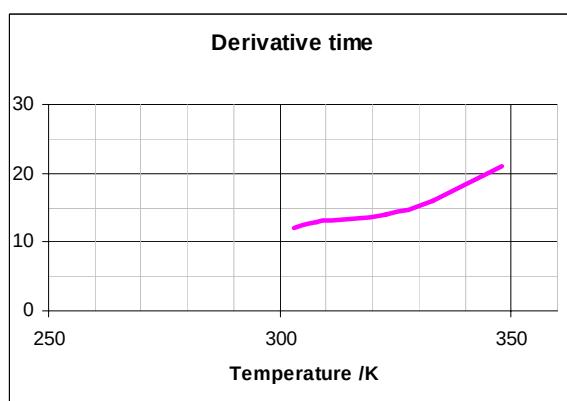
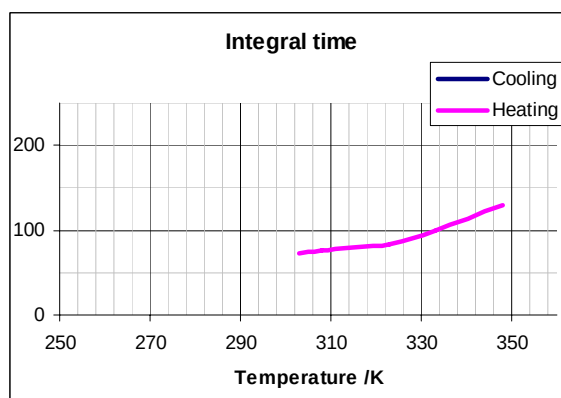
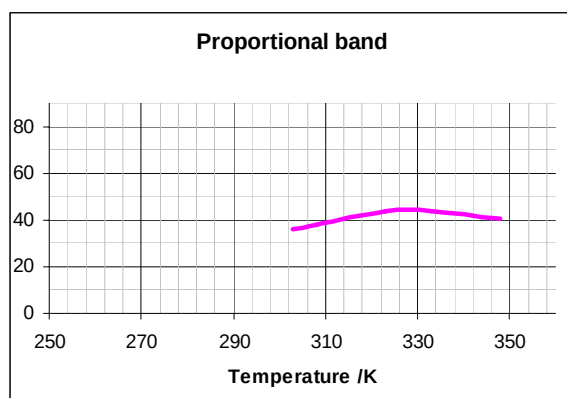
Proportion band: 36

Integral time: 73

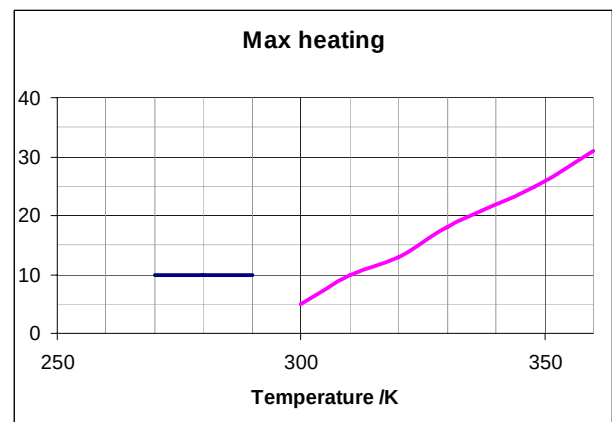
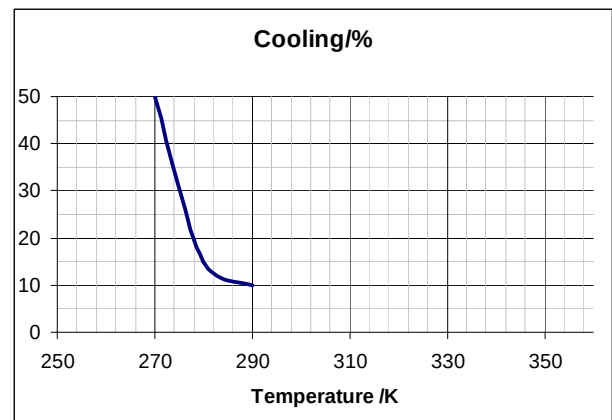
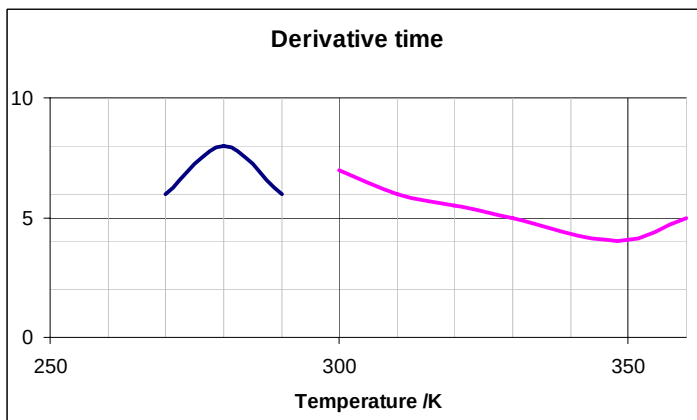
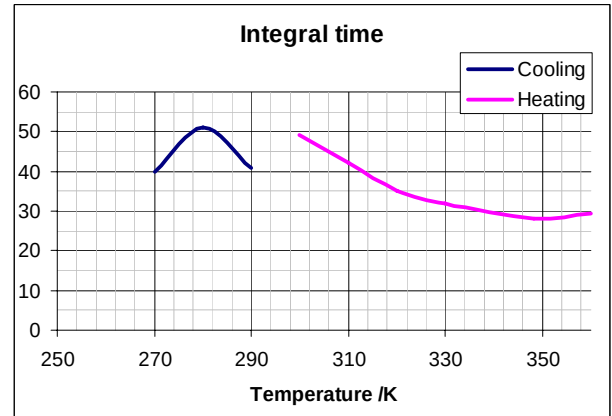
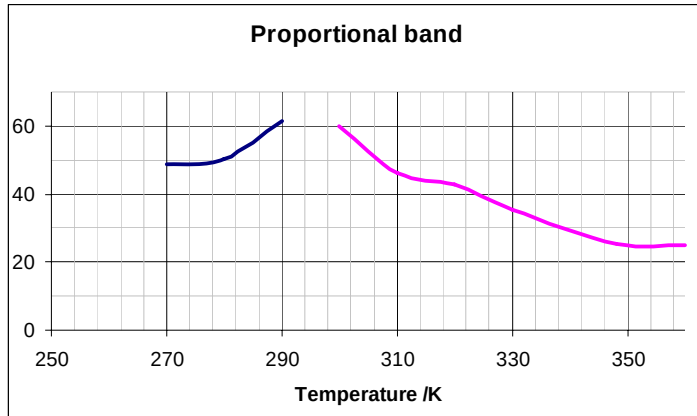
Derivative time: 12

בטמפרטורות רחוקות מטמפרטורת החדר יש לשנות מהערכים לעיל לפי תרשים 51.

תרשים 51. פרמטרים לבקרת טמפרטורה בגלאי ה-HR-MAS



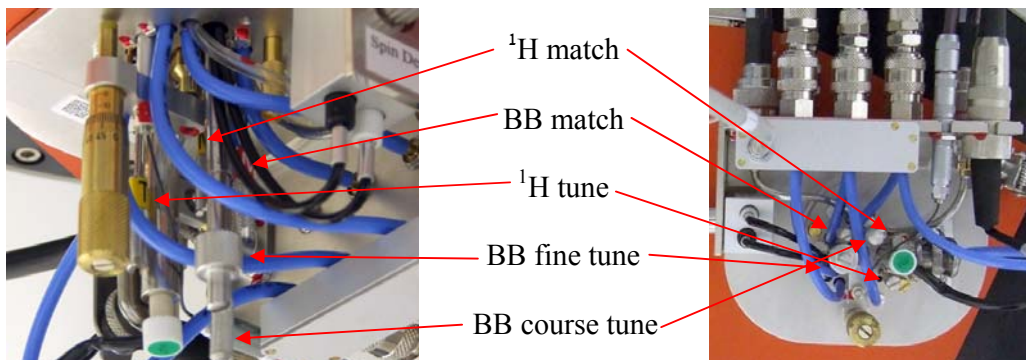
תרשים 51א. פרמטרים לבקרת טמפרטורה בגלאי ה-CP-MAS



ט. כוונון הגלאי

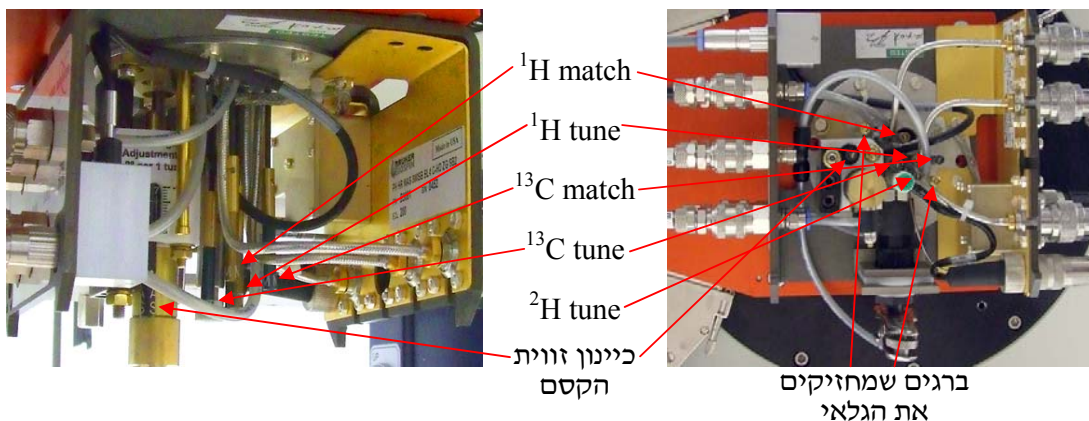
בכל פעם שמחליפים דוגמה יש לכוונן את הגלאי. הכוונון דומה לזה שנעשה בספקטרומטר ה-400 מגהרץ (המדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 3. ז'). יש לכוונן את ערוץ הגרעין הנצפה לדוגמה, פחמן ואחר כך את ערוץ הפרוטון. בגלאי ה-CP-MAS לגרעין הנצפה יש בורג match (עם סימן M) באדום, בורג כסוף ל-tune עדין וגלשן ל-tune גס. tune הגס צריך להיות למעלה לגרעינים בתדרים מעל 90 מגהרץ כמו צורן, פחמן וזרחן ולמטה לגרעינים בתדרים נמוכים כמו חנקן-15. לפרוטון יש ברגים tune ו-match צהובים (תרשים 52). מקום ה-tune הוא למטה 1 לחנקן-15, למעלה 5 לצורן, 8 לפחמן ו-13 לזרחן.

תרשים 52. בורגי וגלשן הכיוון של גלאי ה-CP-MAS



גלאי ה-HR-MAS יש tune ו-match לפרוטון בצבע חום ופחמן בצבע כחול. קיים גם tune לדוטרים בצבע אפור (תרשים 53). אין צורך לכוונן את הדוטרים אלה אם כן יש קושי לנעול.

תרשים 53. בורגי הכוונון של גלאי ה-HR-MAS



י. תיקון אחידות המגנט - Shimming

אם לא קראת קובץ של shims קודם וזה הדוגמה הראשונה שלך על הגלאי קרא את ה-shims עכשיו בפקודת rsh mas לגלאי ה-CP-MAS או rsh hrmas לגלאי ה-HR-MAS. ל-CP-MAS זה בדרך כלל מספיק אך אם ברצונך לשפר את ה-shimming ראה פרק 5.

בגלאי ה-HR-MAS יש לתקן את ה-shimming של Y ו-YZ ובעת הצורך גם YZ².

יא. איסוף

האיסוף בגלאי HR-MAS דומה לגלאי רגיל למצב נוזל (ראה המדריכים "מדידת ספקטרום NMR פרוטון", "מדידת ספקטרום NMR של פחמן וגרעינים אחרים (לא פרוטון)", "מדידת ספקטרום 2D NMR" ו-"מדידת דיפוזיה בטכניקות SDNMR").

במידת דיפוזיה בגלאי ה-HR-MAS יש להגביל את p30 למילישניה אחת וחובה להשתמש בכפולה של 16 פולסים (ns) לכל שורה.

מאחר שאין נעילת תדר-שדה בגלאי ה-CP-MAS, התדר יכול להיות שונה ממה שהוגדר בקובץ הפרמטרים וצריך להכניס פרמטרים לתדרים הנכונים. הרץ ספקטרום HR-MAS ובדוק את

התדר של מרכז הסינגל. לחץ על  ורשום את התדר. עבור לקובץ של הפחמים והכנס את התדר לפרמטר sfo2. הכפיל את התדר פי 0.25147157 והכנס לפרמטר sfo1. ניתן לשפר קצת את הרגישות אם מדייקים יותר ומחשבים את sfo1 לפי משוואה 1 כאשר δ_{ppm} הוא היסט הכימי ב-ppm של מרכזי הספקטרומים של פרוטון ($^1H\delta_{ppm}$) ושל פחמן ($^{13}C\delta_{ppm}$).

$$\text{משוואה 1: } sfo1 = 0.25145020[sfo2(1+10^{-6}C\delta_{ppm})/(1+10^{-6}H\delta_{ppm})]$$

הפרמטרים בבירורות המחולל לפולסים בדרך כלל מספיק טובים במיוחד ל-CP-MAS ונגזרותיו (TOSS ו-SELTICS). בכל זאת אם ברצונך לכוון את הפולסים, פרק 6 מסביר איך לעשות זאת.

הפרמטרים לאיסוף של HP-DEC מתאימים לחומרים עם תזוזה יחסית חופשית במצב מוצק כמו אדמנטן. לחומרים מסוגים אחרים יש להגדיל את הפרמטר d1 לבין 100 ו-500 שניות.

יש לכוון את רגישות הדגימה (adc) בהקלדת rga.

הקלד zgefz לאיסוף את הספקטרום.

ניתן לעשות tr ו-efz תוך כדי האיסוף כדי לראות איך הספקטרום מתפתח (ראה המדריך "מידת ספקטרום NMR של פחמן וגרעינים אחרים (לא פרוטון)" ברק 1, ד').

יב. עיבוד

לניסוי פרוטון CRAMPS בלבד יש להקליד 5.63 dw 1s ואחר כך fp.

יש לתקן את הפאזה ואת קו הבסיס כמפורט במדריך "מידת 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 המדריך "מידת ספקטרום NMR של פחמן וגרעינים אחרים (לא פרוטון)" פרק 4.

בשלב העיבוד ניתן לשפר את הרגישות או את ההפרדה (חדות, רזולוציה) של הספקטרום אבל לא את שניהם בבת אחת בעזרת פונקצית חלון (אפודיזציה) – ראה המדריך "מידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 11. אם עדיין חסרה רגישות יש להתאים פרמטרים נוספים – ראה המדריך "מידת ספקטרום NMR של פחמן וגרעינים אחרים (לא פרוטון)" פרק 5.

יג. כיול היסט כימי

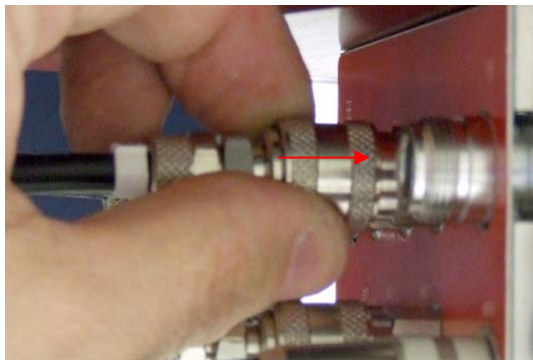
הכיול ל-HR-MAS כרגיל (ראה המדריך "מידת ספקטרום NMR פרוטון פרק 3, י"ד). ל-CP-MAS ניתן לכוון את היסט הכימי ביחס לדוגמה אחרת (טבלה 4). מחליפים את הדוגמה לדוגמה תקנית ומודדים את הספקטרום. אם לדוגמה התקנית יש היסט כימי ידוע בפרוטון אז מודדים את ה-HR-MAS ואם בפחמן אז מודדים את ה-CP-MAS או HPDEC. כאשר הכיול כנגד פרוטון יש להכפיל את התדר ב-0.25145020 כדי לקבל את התדר התקנית של פחמן.

טבלה 4. היסטים כימיים לכיול ספקטרום במצב מוצק ביחס לפרוטון של TMS דליל ב- $CDCl_3$ ב-298 K (25.15°C).

שם החומר	נוסחת החומר	גרעין	היסטים כימיים/ppm
מים	H ₂ O	¹ H	4.72

עם סיום העבודה בגלאי הוציא את מעביר הדוגמה (תרשים 32) פרק אותו לשנים בהברגה (תרשים 31) והחזיר אותו לקופסא. הוצא את הקשרים לגלאי. נתק את ששת החיבורים הפנימיים בדחיפת השרוול (תרשים 55). את החיבורים של תדר רדיו ^1H -ו-BB, את גוף החימום ואת גלאי הסיבוב מפרקים על ידי שחרור ההברגה (תרשימים 30 ו-37). בגלאי ה-CP-MAS הוצא את מערכת הפיקוד לזיהוי גלאי (PICS) שנכנס מלמטה ובגלאי ה-HR-MAS את הדוטרים בהברגה. הוציא את מד הטמפרטורה (הצמד התרמי) על ידי משיכתם (לא למשוך את הכבל אלא את החיבור עצמו). בגלאי ה-CP-MAS שחרר את צינור האוויר הדחוס על ידי שחרור הטפסן.

תרשים 55. שחרור מחברים הפנימיים בדחיפת השרוול



הוציא את הגלאי בשחרור שני הברגים שבתרשים 28 ל-CP-MAS ו-53 ל-HR-MAS, החזיר אותו לקופסא והלבש עליו את הפקק(ים) נגד אבק (תרשימים 29 ו-36).

הוציא את הגלאי למצב נוזל (BBO או BBI) והסר את המכסה נגד אבק (תרשים 25). הכנס אותו למגנט והברג אותו עם שני הברגים לפי תרשימים 24 ו-27.

חבר את שלושת הערוצים של תדר רדיו: BB, ^1H -ו- ^2D ואת גוף החימום בהברגה. חבר את תפסן אוויר הדחוס. הכנס את הגרדיאנט בדחיפה וסיבוב. דחוף את הצמד התרמי (thermocouple) ואת חיבור ה-PICS (מערכת פיקוד לזיהוי גלאי) (תרשים 23).

אם עבדת ב-CP-MAS העבר את הכבל של פרוטון (שמסומן ^1H QNP ACCESSORY) מקדם המגבר התחתון לקדם המגבר העליון וחבר את הכבל של הפלואור (שמסומן ^{19}F QNP ACCESSORY) לקדם המגבר התחתון (תרשים 33). הוציא את המסנן העברת פס נמוך (LP) מהציאה של ערוץ פס הרחב (BB) השני מלמעלה) של קדמי המגבר והוציא את העברת פס פרוטון מהציאה התחתונה. העבר את הכבל של הפרוטון (^1H) מהציאה התחתונה של קדמי המגבר למסנן המחובר ליציאה העליונה כך שהציאות של קדמי המגבר יראו כמו תרשים 34.

שנה את ניתוב קדמי המגבר בפקודת edasp setpreamp. יופיע החלון כמו בתרשים 39. לחץ על 1H ו-HP 19F/1H והקו הירוק ביניהם יעלם. לחץ על 1H ו-1H LNA כדי לחבר אותם. לחץ על SAVE לשמור ולסגור את החלון.

יח. פירוק וניקוי הרוטור

בשלב הפירוק והשטיפה יש להיזהר מאוד לא לאבד את החלקים.

הוצא את הפקק. בפקק קל-אף כדאי להוציא אותו על ידי קירור הרוטור כדי להפחית את הסיכוי לפגום אותו. אם נזהרים לא לקבל כוויית קור ולפתוח את הברז הנכון, ניתן להשתמש באָנר (vent) של בלון חנקן נוזלי (תרשים 56). כאשר הרוטור קר ניתן להוציא את הפקק בקלות עם היד. לפקקים של בור ניטריד וזירקון השתמש בכלי המיועד להוצאת הפקק. צריכים להכניס את הסכין של הכלי בחריץ בין ראש הרוטור והפקק (תרשים 57). שימוש לא נכון עלול להרוס את הפקק (תרשים 18).

תרשים 56. הוצאות פקק קל-אף בעזרת קירור

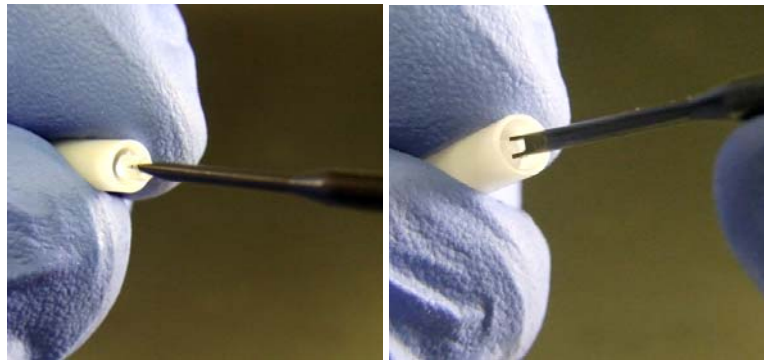


תרשים 57. הוצאת הפקק בעזרת הכלי המיוחד

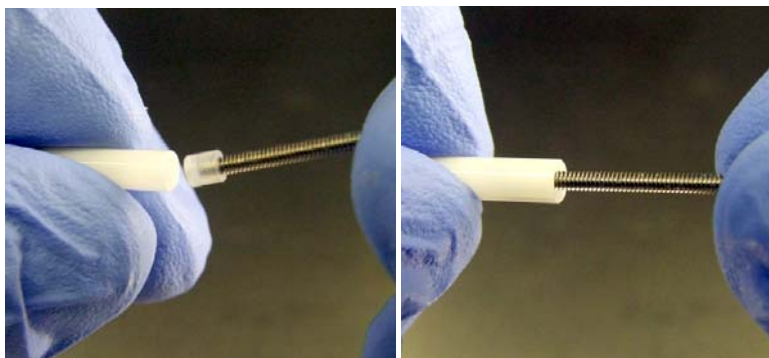


הוצא את התותב אם יש. הכנס את במברג המיוחד (מומלץ להשתמש בזכוכית מגדלת – תרשים 16) והוצא את בורג החרוץ בהברגה החוצה (תרשים 58). הכנס את בורג המתכת המיוחד (אל תשתמש בבורג אחר מפני שהבורג לא בתקן רגיל ובורג רגיל יהרוס את התותב) עד שמרגישים התנגדות ומשוך את התותב החוצה (תרשים 59).

תרשים 58. הוצאת הבורג החרוץ בעזרת המברג המיוחד



תרשים 59. משיכת התותב החוצה בעזרת הבורג

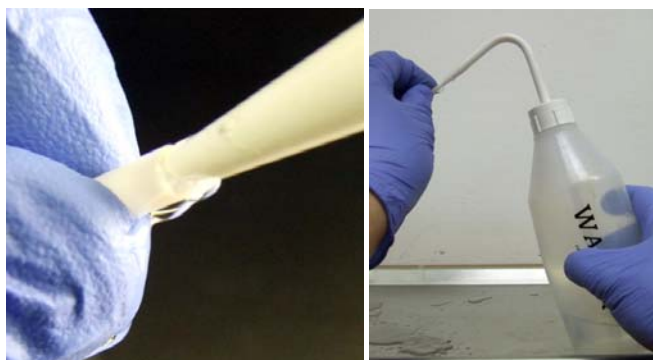


אם החומר מוצק או חצי מוצק הוצא אותו מהרוטור בעזרת מרית (תרשים 60). שטוף את הרוטור, הפקק, התותב, בורג החרוץ והכלים במים מזוקקים באצטון ואם צריך בממס אחר (תרשים 61). הכנס את כל החלקים באצטון לאמבט קול על-שמעי (ultrasound bath) והפעל למשך שלוש דקות (תרשים 62). יבש את החלקים בממחטות מסוג Kimwipe (תרשים 63) ואחר כך בתנור ב- 65°C (ולא יותר אחרת תהרוס את התותבים ואת הפקקים) למשך 20 דקות (תרשים 64).

תרשים 60. הוצאת חומר מוצק מהרוטור בעזרת מרית



תרשים 61. שטיפת הרוטור



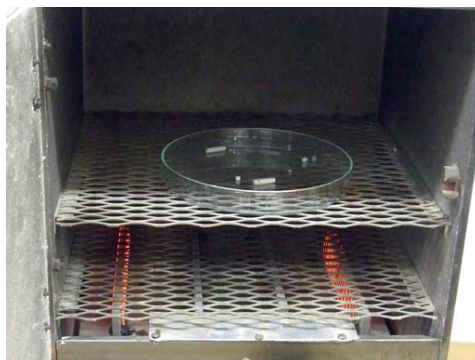
תרשים 62. הפעלת אמבט קול אל-שמעי לניקוי החלקים באצטון



תרשים 63. ייבוש החלקים בממחטה מסוג Kimwipe



תרשים 64. הכנסת החלקים לתנור



3. שימוש המדריך במעבדות אחרות

הכין פרמטרים מתאימים לספקטרומטר שלך ושמור אותם לפי טבלה 1 ו-2.

4. כיול זווית הקסם

הכנס דוגמה של אשלגן ברומייד (KBr) וסובב בחמישה קילוהרץ.

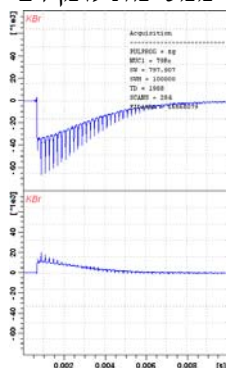
קרא את הפרמטרים 32a_MASBromine79 והקלד gs. בתוך החלון לחץ על  כדי לראות את ה-fid ברור יותר. כוון את התדר (sf01) כדי שהסיגנל העיקרי מופיע באמצע הספקטרום ולדעיכה פשוטה ללא סינוסים (תרשים 65). כוון את הזווית בעזרת המיקרומטר (תרשימים 48 ו-49) כדי שהפעילות ממשיכות לזמן המרבי וכתוצאה מכך הספקטרום יהיה הכי חד.

בגלאי ה-CPMAS ניתן להשתמש באדמנטיין (adamantane) בניסוי פחמן HPDEC לכיול עדין ולבדיקת אחידות השדה. רוחב תקין של הקו הוא בין 1.4 ל-2 הרץ.

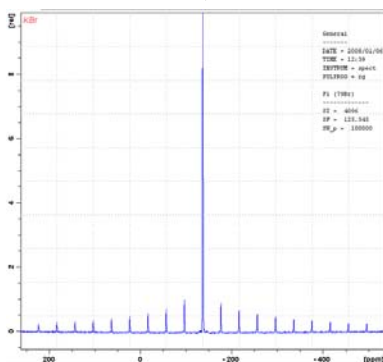
לניסוי STMAS כיוול זה לא מספיק. יש להריץ ניסוי STMAS קצר, להפסיק את הסיבוב להוציא ולהכניס את הדוגמה לשנות את הזווית לעבור לזווית הקסם ולחזור חלילה עד שמוצאים את הזווית הנכונה. נידרש דיוק של כחצי שניה קטנה.

תרשים 65. הופעת ה-fid והספקטרום

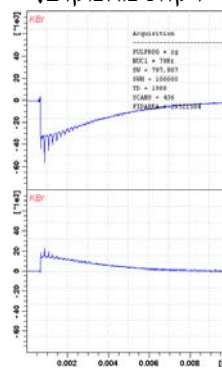
ה-fid כאשר הזווית נכונה והפעילות ממשיכות לזמן רב



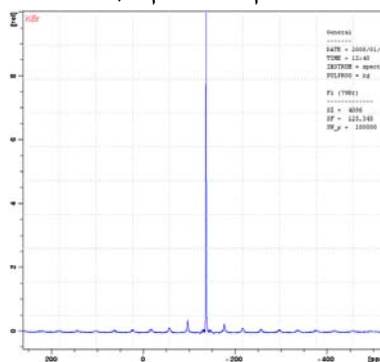
הספקטרום כאשר הזווית נכונה והקווים צרים



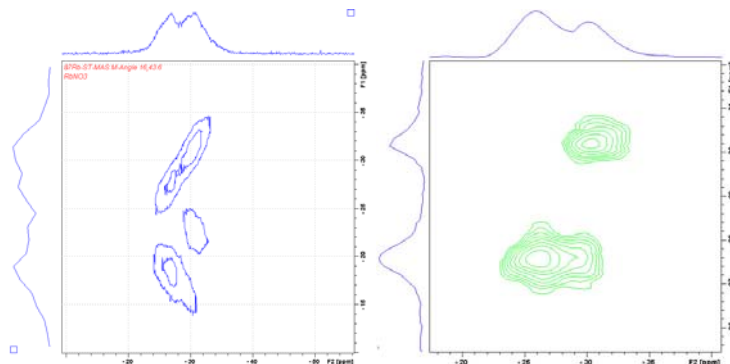
ה-fid כאשר הזווית לא נכונה (כ-25 שניות דקות מהמקום)



הספקטרום כאשר הזווית לא נכונה (כ-25 שניות דקות מהמקום)



תרשים 66. ספקטרום STMAS בצד ימין בזווית נכונה ובצד שמאל הזווית צריך תיקון



5. שיפור אחידות השדה – Shimming

מאחר שהסיגלים רחבים במצב מוצק, קובץ ה-shimming מספיק טוב בדרך כלל ואין צורך לעשות יותר מלהקליד rsh mas. אם ברצונך בכל זאת לכייל את האחידות. הכנס דוגמה של מים, סובב אותו לקילוהרץ עד חמש קילוהרץ והכין קובץ ל-HR-MAS אם הפרמטרים 1d_HRMAS. השתמש ב-gs כמפורט במדריך "מידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 9, ג' כדי לשפר את

האחידות. כייל את ה-XZ shims, Y, Z, X ועם צריך את XZ^2 . מאחר שהסיבוב סביב ציר זווית הקסם, X ו-XZ נחשבים כ-shims עם סיבוב. בסיום הכיול רוחב הקו של סיגל המים אמור להיות פחות מ-20 הרץ ושל פחמן HPDEC של אדמנטיין פחות מ-2 הרץ.

6. מדידת רוחב הפולס

ל-CPMAS צריכים למדוד רק את אורך הפולסים של הפרוטון. קרה את הפרמטרים 1d_HRMAS, אסוף ספקטרום HRMAS ותקן את הפאזה. אם אין סיגל טוב בפרוטון יש להחליף דוגמה למשהו יותר טוב כמו אדמנטיין או מים.

שנה את p1 לרוחב פולס קרוב ל-360°: כ-13 ואסוף ספקטרום.

אם הספקטרום חיובי הקטן את p1 ואילו אם הספקטרום שלילי הגדל את p1 ואוסף שוב עד שמוצאים ערך של p1 שנותן ספקטרום קרוב לאפס.

ל-CP-MAS ערך p1 שנותן זווית פולס של ϕ° הוא

$$(p_{360^\circ} - 0.16) \times \phi / 360 + 0.16 \text{ ול-HR-MAS } (p_{360^\circ} - 0.73) \times \phi / 360 + 0.73$$

ל-CP-MAS לרוחב פולס רגיל של 90°: $p1 = p_{360^\circ} / 4 + 0.55$ ול-HR-MAS $p1 = p_{360^\circ} / 4 + 0.12$

ל-HR-MAS ערך p1 שנותן זווית פולס של ϕ° הוא

$$(p_{360^\circ} - 0.16) \times \phi / 360 + 0.16 \text{ ול-HR-MAS } (p_{360^\circ} - 0.73) \times \phi / 360 + 0.3$$

ל-CP-MAS לרוחב פולס רגיל של 90°: $p1 = p_{360^\circ} / 4 + 0.22$ ול-HR-MAS $p1 = p_{360^\circ} / 4 + 0.12$

לניסוי HPDEC ו-TOSS צריכים למדוד את הפולס של פחמן. בקובץ של CP-MAS הקלד pulprog cp90.av. השתמש בפולס קצר ותקן את הפאזה. כאשר מגדילים את הפולס הסיגל יגיע לאפס בזווית של 90° ושילי בזוויות גדולות יותר.

בניסיונות CP-MAS מסוגיהם (TOSS ו-SELTICS) ניתן לשנות את זמן המגע (P15) בהצלבת הקיטוב. ברירת המחדל לפחמן הוא 2 מילישניות. אם אין קשר ישיר בין פחמן ופרוטון ייתכן שזמן ארוך יותר ייתן סיגל חזק יותר אבל אסור לשנות אותו לערך גדול מ-10 מילישניות שמא תשרוף את הגלאי.

7. כיול הטמפרטורה

כיול הטמפרטורה נעשה בספקטרום HRMAS של מתנול או אתילן גליקול במהירות סיבוב של זהה לזו של הדוגמה הנמדדת. מלבד זאת הכיול נעשה כמו במצב נוזל (ראה במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 8)

8. התאמת תחום הספקטרום וזמן האיסוף

התחום כפי שמוגדר בספקטרום ברירת המחדל בדרך כלל מכסה את תחום ההיסט הכימי הנדרש. במקרים נדירים ישנם סיגלים המופיעים מחוץ לתחום הזה. במקרה כזה ניתן לפעול לפי המדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 10 אבל ל-CP-MAS ולנגזרותיו (TOSS ו-CPSELTICS) אסור ש-AQ יהיה יותר מ-150 מילישניות ואסור ש-D1 יהיה פחות מ-2. אם זה קורה הקטן את TD. אם AQ + P2 יותר מ-50 מילישניות יש לשנות את תוכנית הפולסים בהקלדת pulprog cpselticsroy.av. במידה ורוצים הפרדה טובה מחמש הרץ יש להתייעץ עם צוות המעבדה.

לניסוי התאמה בין גרעינית, CPHETCOR, יש לשנות את הפרמטר IN_F במיקרושניות להתאים ל-IN0 בשניות, כלאומר IN0 = 1000000 IN_F.

9. התאמת פרמטרים באיסוף למיטוב (optimization) הרגישות

אם הרגישות נמוכה ניתן למטב (optimize) אותה כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 12. אך לניסוי CP-MAS ונגזרותיו (TOSS ו-CPSELTICS) זמן הרלקסציה (ההרפיה) החשובה היא של פרוטון ולא של פחמן בגלל הצלבת הקיטוב ואסור ש-P15 יהיה יותר

מ-10 מילישניות, ש-P15 + AQ יהיה יותר מ-50 מילישניות או ש-D1 יהיה פחות מפי 50 P15 + AQ.

סיגנלים שונים מתנהגים בצורה שונה. הגובה ואינטגרל של כל סיגנל מתנהג בצורה

$$I = I_0[1 - \exp(-k_1 P15)] \exp(-k_2 P15)$$

שאינו כלול בפוקציות התאמה של TOPSPIN. כאשר יש חפיפה, מקרה נפוץ מאוד, הפונקציה היא סך כל הסיגנלים החופפים. אם ברצונך לפענח את הפונקציה יש להריץ 8 עד 32 ספקטומים שבכל אחד בהם P15 מזמן קצר עד לזמן הקצר בין 10 מילישניות או זמן שבו הפיק יורד לשביעית מעוצמתו המרבית. קיימת שלושה אפשרויות מדידה:

1. למדוד את גובה כל פיק בכל ספקטרום. יש ללחוץ על  עד שמקבלים ערכים מוחלטים בציר עד שמקבלים ערכים מוחלטים בציר y כאשר הסקאלה תופיע ללא יחידות או ביחידות דומות ל-[10^3] או [10^6]. ודא שתכונות הסמן מופיעות במסך - לחץ ימנית על הספקטרום, בתפריט שיופיע בחר Spectra Display Properties..., בחר Cursor information ולחץ על OK. לכל סיגנל בכל ספקטרום הזז את הסמן אליו ורשום את גובה הסיגנל שמופיע בשדה Value על החלון.
2. למדוד את האינטגרלים, בצע אינטגרציה בספקטרום הראשון כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 3ט"ו ורשום את ערכי האינטגרלים. בספקטרום אחרים, לפני ששומרים את האינטגרלים שצריכים להיות באותו תחומים של הספקטרום הראשון, לחץ ימנית על אחד האינטגרלים ובתפריט שיופיע בחר Use Lastscale For Calibration ורק אחר כך רשום את האינטגרלים.
3. למדוד לפי התאמה לפיקים כמפורט בפרק 11.

הכנס את הנתונים לתוכנה אחרת כדי להוציא את הפרמטרים k_1 ו- k_2 לכל סיגנל.

10. מדידת זמן הרלקסציה האורכי - T_1

לפחמנים ב-HRMAS ולפרוטונים בשני הגלמים יש למדוד את זמני הרלקסציה כמו במצב נוזלי – ראה במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 13 לפרטים ובמדריך "מדידת רלקסציה (תפוגה)". את זמן הרלקסציה לפחמן ולצורן כדי למדוד בשיטת הרוויה התאוששות. השתמש בפרמטרים 9d_RelMAS13CT1 לפחמן ו-9e_RelMAS29SiT1 לצורן.

פתח את רשימת השהיות (vd) בהקלדה edlist vd ebair2. הכן רשימה של שהיות. עדיף להשתמש ב-32 שהיות אך ניתן לצמצם ל-8 כדי לחסוך זמן. ניתן לשנות את מספר השורות בהקלדת 1 td ולהכניס את מספר השורות. יש לוודא שהפרמטר 1 si אינו פחות מ-1 td. על שהייה האחרונה להיות לפחות חמש כפול זמן הרלקסציה ומומלץ שהאחרות תהיו פרוסות באופן שווא בין זמן קצר מאוד ועד כפול זמן הרלקסציה. לדוגמה אם זמן הרלקסציה הוא 3 שניות ומספר השורות הוא שמונה, מומלץ שרשימת השהיות תהיה: 0.001, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 15. שמור את הקובץ בשם אחר ושנה את הפרמטר vdlst לשם הקובץ.

בעיבוד (לפי המדריך "מדידת רלקסציה (תפוגה)") בחר satrec ב-Function Type במסגרת Fitting Function. לחילופין ניתן להשתמש בפרמטרים של HPDEC ושיטת DESPOT. ראה במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 13 לפרטים.

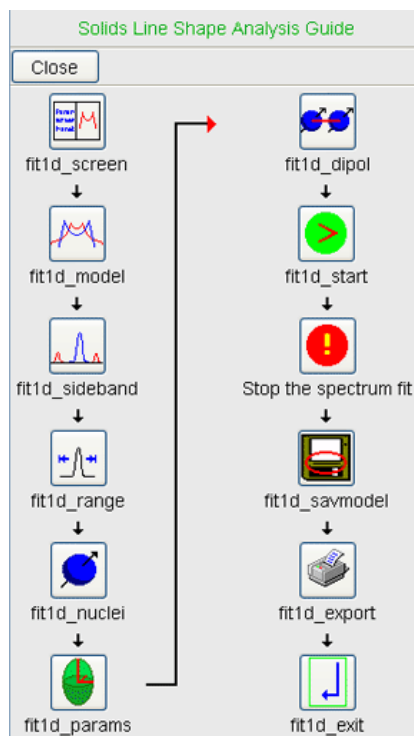
11. מדידה כמותית במצב מוצק בשיטת HPDEC

ניתן למדוד ספקטרום כמותי של פחמן בחומרים קשים למחצה ופרוטונים בשילוב HRMAS כמפורט במדריך "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 15.

למדידה כמותית במצב מוצק של גרעינים אחרים יש להשתמש בשיטת ה-HPDEC. ייצור קובץ HPDEC. מדוד את זמן הרלקציה (T_1 – ראה פרק 10) המרבית והכנס את ערכו כפול חמש לפרמטר d1. אסוף את ה-HPDEC.

ניתן לבצע אינטגרציה על הספקטרום אך מכיוון שחפיפה נפוצה מאוד בספקטרום מסוג זה שיהיה חפיפה ולכן יש להשתמש בהתאמה לפיקים. בחר Analysis -> Line Shape Fitting -> [solaguide] Solids (CSA etc) או הקלד solaguide. יופיע מדריך (תרשים 67).

תרשים 67. מדריך ה-solaguide



בחר את ה-fit1d_screen ויופיע תפריט. בלשונית Spectrum שנה את ה-Model ל-Gauss/Lorentz. במסגרת Parameters בחר את MASR. הרחב את חלון הספקטרום לאזור ההתאמה ולחץ על הכפתור DefReg. אזור ההתאמה יהיה מוגדר ב-F1P (Fitting) ו-F2P (Fitting).

ניתן לקרוא דגם שנשמר קודם בלחיצה ב- או בלשונית Main בכפתור Open ואז לבחור קובץ קיים.

כנס ללשונית Nucleus כדי להגדיר את הסיגנלים. לכל סיגנל הוסף אותו בלחיצה על הכפתור Add או הכפתור . יופיע הפרמטרים לסיגנל. שנה את $\delta(iso)$ להיסט הכימי ואת LB לרוחב לפי הניחוש הראשוני. שנה את גובה הסיגנל בגרירת , את מיקומו בגרירת ואת רוחבו בגרירת .

למחוק סיגנל לחץ על Delete או .

ניתן לעבור בין הסיגנלים בלחיצה על התת-לשוניות Nuc1, Nuc2, וכו'.

כאשר אתה קרוב להתאמה לחץ על . ניתן להפסיק את ההתאמה באמצע בלחיצה על . בסוף יופיע דיווח ובסוף הדיווח Iy הוא גובה הסיגנלים, $\delta(iso)$ הוא היסט הכימי של הסיגנלים, LB הוא רוחב הסיגנלים ו- $xG/(1-x)L$ הוא היחס הגאומטרי של הסיגנל. אינטגרל הסיגנל הוא

$$.ILB\pi\left[\frac{x}{\sqrt{\pi\ln(2)}}+\frac{1-x}{2}\right]$$

לחץ  או לשונית Main את הכפתור Save לשמור את הדגם. יש להזין שם קובץ.
לחץ על  לצאת מחלון ההתאמה.