

atline-NMR – neue Perspektiven für die chemische Analyse

Dr.-Ing. Clemens Minnich, Dr. Sonja Hardy

S-PACT GmbH

Einführung

Die magnetische Kernresonanz-Spektroskopie (NMR) ist sehr häufig die Methode der Wahl für den Analysechemiker:

- Werden Protonen detektiert ($^1\text{H-NMR}$), kommt eine **praktisch unbegrenzte Anzahl von Analyten** in Frage.
- Sie weist eine **unerreicht hohe Spezifität** auf, z.B. für die Unterscheidung von Regioisomeren.
- Die Kalibrierung könnte einfacher nicht sein – ein **gemeinsamer Kalibrierfaktor für alle Analyte** einer Mischung.

Ihr Einsatz ist bisher jedoch weitgehend beschränkt auf Strukturaufklärung, Identifizierung von Materialien oder offline-Reaktionsverfolgung mit Probenahme. Dank neuester Entwicklungen bei Materialien und Geometrien starker Permanentmagnete – sogenannter Halbach-Magnete – sind die wesentlichen Hindernisse für einen breiteren Einsatz der Technologie ausgeräumt, so dass neue Applikationen möglich werden.

NMR-Tischgeräte

Seit kurzem sind mehrere kompakte NMR-Tischgeräte auf dem Markt. Das Spinsolve™ zeigt dabei die höchste Empfindlichkeit und ermöglicht daher die kürzesten Messzeiten (Abbildung 1).



Abb. 1: Das Spinsolve™ NMR-Spektrometer.

Das Gerät enthält einen 1 Tesla Halbach-Permanentmagneten, was zu einer Protonen-Resonanzfrequenz von 43 MHz führt. Die Probenröhrchen (Standard 5 mm-Glasröhrchen) werden durch eine Öffnung in der Oberseite des Gerätes in den Magneten eingeführt. Dank der guten Homogenität des Magnetfeldes ist ein Rotieren der Probe (Spinning) nicht erforderlich.

Während in klassischen hochauflösenden NMR-Geräten deuterierte Lösungsmittel mit internen Standards zum Fixieren der Spektrachse („lock“) eingesetzt werden – z.B. Tetramethylsilan in *d*-Chloroform – verwendet Spinsolve™ einen externen Lock und arbeitet daher in gewöhnlichen nicht-deuterierten Lösungen.

Quantifizierung von NMR-Spektren

Die gängigste NMR-Messung ist die Analyse von $^1\text{H-Kernen}$ („Protonen“). Das hohe natürliche Vorkommen des $^1\text{H-Isotops}$ und seine vergleichsweise gute magnetische Suszeptibilität erlauben es, hohe Empfindlichkeit und geringe Nachweisgrenzen zu erreichen.

In $^1\text{H-NMR-Spektren}$ hängt die Signalintensität linear mit der Anzahl der Wasserstoffkerne zusammen, unabhängig von der chemischen Umgebung. Daher muss nur ein einziger quantitativer Zusammenhang bestimmt werden:

$$\text{Signalintensität} \sim \text{Anzahl der H-Atome}$$

Die scharfen Signale und eindeutigen Signalmuster in $^1\text{H-NMR-Spektren}$ können häufig univariat durch eine Peakintegration ausgewertet werden. Im Falle komplexerer Spektren mit Signalüberlagerungen müssen jedoch andere Methoden eingesetzt werden.

Hard Modeling für NMR-Spektren

Der Einsatz von **Indirect Hard Modeling (IHM)** zur Auswertung von NMR-Spektren ist vergleichbar mit der Anwendung bei Schwingungsspektren. Pseudo-Voigt-Peaks mit hohem Lorentz-Anteil eignen sich gut zur Annäherung der NMR-Signale. Auf diese

Weise sind die Vorteile des spektralen Hard Models auf die NMR-Spektroskopie übertragbar:

- Physikalisch motivierte Gemischmodellierung
- Sinnvolle Separation überlagernder Signale
- Flexibilität durch Parametrierung
- Kompensation von Nichtlinearitäten

Diese Vorteile werden vor allem interessant, wenn starke Wechselwirkungen komplexe Peakmuster in Mischungsspektren hervorrufen.

Anwendung: Zuckermischungen

Zucker kommen in verschiedenen Isomeren mit sehr ähnlichen Mustern funktioneller Gruppen vor, was die Unterscheidung mit Schwingungsspektroskopie (Infrarot, Raman) sehr schwierig macht. In $^1\text{H-NMR-Spektren}$ ist die Unterscheidung z.B. von Glucose, Fructose und Xylose hingegen möglich (Abbildung 2):

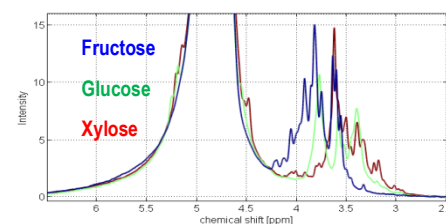


Abb. 2: $^1\text{H-NMR-Spektren}$ von Glucose, Fructose und Xylose, 1 mol-% in H_2O (Wassersignal bis 1.25% Intensität abgebildet).

Die gezeigten Spektren wurden mit 1 min Messzeit aufgenommen (4 Scans à 15 Sekunden). Die Spektren wurden phasen- und basislinienkorrigiert und einer Apodisierung unterworfen.

Erstellung des Hard Models

Da die Zucker in wässriger Lösung vermessen wurden und ihre Signale stark mit dem Wasserspektrum überlagern, muss das H₂O-Signal bei der Erstellung der Hard Models berücksichtigt werden. Ins Hard Model der Mischung sind die Wechselwirkungen in binären und ternären Zuckergemischen einzubeziehen. Im Falle der Glucose führt das zu starken Änderungen der relativen Intensitäten (Abbildung 3).

Um ein repräsentatives Glucose-Modell zu erhalten, wird ein Complementary Hard Model aus dem Spektrum einer wässrigen Glucose-Xylose-Mischung mit Hilfe der Modelle für Wasser und Xylose gewonnen.

Wird das Hard Model der Mischung auf einen Kalibrierdatensatz verschiedener binärer und ternärer Mischungen bis insgesamt 1.1 mol/L Zuckergehalt angewendet, erhält man spektrale Fits mit mittleren spektralen Residuen von unter 2 % des Spektrums (Abbildung 4).

Kalibrierung und Quantifizierung

Die Kalibrierung einer Einzelkomponente – hier Glucose – gelingt so gut, dass sich der mittlere Modellfehler (RMSECV) im Bereich von nur 5 mmol/L bewegt (Abbildung 5).

Wird das Gemischmodell kalibriert, das alle drei Zucker enthält, so erhält man bei Verwendung eines kleinen Kalibrierdatensatzes von 25 Spektren bereits Kreuzvalidierungsfehler im Bereich von nur 20 mmol/L, wie es sich in etwa auch aus der Qualität des spektralen Fits erwarten lässt (s.o.). Dies ist ein vielversprechender Ausgangspunkt für die detaillierte Analyse derartiger Zuckermischungen, wie sie beispielsweise bei der Verarbeitung von biogenem Material zu erwarten sind.

Ausblick

Hochauflösende NMR-Tischgeräte mit Permanentmagneten haben gegenüber voluminösen klassischen Hochfeld-Spektrometern klare Vorteile. Die einfache Bedienung und Probenvorbereitung erlauben die schnelle und zuverlässige Aufnahme wertvoller quantitativ nutzbarer Messdaten. Dank dieser Eigenschaften können Durchflussmessungen an unvorbehandelten Strömen einfach umgesetzt werden, wodurch sich die Technik für die automatisierte Echtzeitmessung zur Reaktions- und Prozesskontrolle eignet.

Wir danken für die Unterstützung durch Dr.-Ing. J. Viell (AVT.PT, RWTH Aachen University)

Magnetische Kernresonanz-Spektroskopie (NMR)

Die NMR-Spektroskopie gehört zu den am besten etablierten Analysemethoden in der organischen Chemie. Strukturaufklärung wird typischerweise mit hochauflösenden Spektrometern durchgeführt, die bei Resonanzfrequenzen von 300 – 800 MHz arbeiten. Allerdings benötigen ihre supraleitenden Magnete Kühlung mit flüssigem Helium, was den Einsatz als Tischgerät verhindert. Aktuelle NMR-Tischgeräte arbeiten bei Resonanzfrequenzen im Bereich von 30 – 80 MHz und verwenden dazu Permanentmagnete der neuesten Generation, die sich durch die hervorragende Homogenität ihres Magnetfeldes auszeichnen. Daher sind nun kompakte, robuste und schnell arbeitende Geräte für den Routineeinsatz auf der Laborbank oder den atline-Einsatz verfügbar.

Mehr Infos auch unter: www.magritek.com

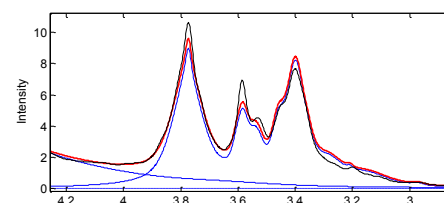


Abb. 2: Glucose-Spektrum in Lösung (schwarz) und aus einer Zuckermischung in H₂O gewonnenes Hard Model (rot).

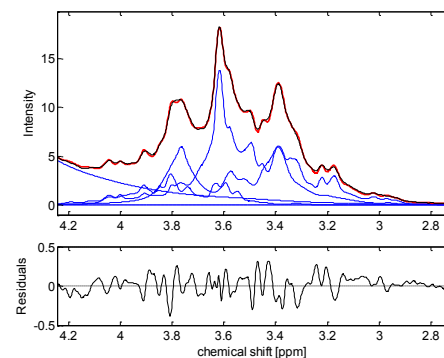


Abb. 3: Modell-Fit (rot) an eine ternäre Zuckerlösung und enthaltene Modellkomponenten (blau).

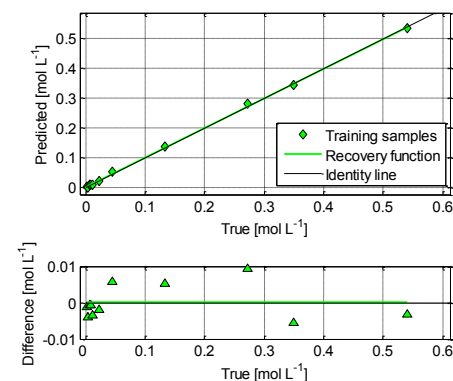


Abb. 4: Vorhersagegerade für wässrige Glucoselösungen.