

NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE

NMR spektrometrie

PRINCIP NMR

◆ Jsou-li atomová jádra některých prvků v externím magnetickém poli vystavena vysokofrekvenčnímu elmag. záření, mohou absorbovat záření určitých ν . Je-li atom součástí molekuly, ν absorbovaného záření závisí na charakteru vazby v molekule:

- Jádra stejných atomů, které jsou vázány v molekule různým způsobem, absorbují záření různých frekvencí – **kvalitativní údaj**, lze určit jaké vazby jsou v molekule.
- Každé jádro atomu stejného druhu vázaného v molekule stejným způsobem přispívá k absorpci – **kvantitativní údaj**, dle intenzity absorbovaného záření lze stanovit počet atomů v určité vazbě či skupině.

David MILDE, 2006

PRINCIP NMR

- ◆ VF (radiofrekvenční) záření absorbují pouze atomy s nenulovým magnetickým momentem, která mají nenulový celkový jaderný spin I (= spinové kvantové číslo). Taková jádra jsou v atomech s lichým nukleonovým číslem.
- ◆ Z hlediska NMR lze jádra rozdělit na:
 - Jádra s nulovým spinovým kvantovým číslem – nemají jaderný magnetický moment a v NMR nejsou pozorovatelná.
 - Jádra s $I = 1/2$ - mají jaderný magnetický moment a jsou snadno měřitelná.
 - Jádra s $I > 1/2$ - mají vedle jaderného magnetického momentu i kvadrupólový moment a jsou obtížně měřitelná.
- ◆ 63 prvků má alespoň jeden NMR aktivní izotop.
- ◆ Zcela neaktivní v NMR jsou pouze: Ar, Tc, Ce a Pm.

David MILDE, 2006

PRINCIP NMR

Počet protonů	Počet neutronů	I	Příklady
sudý	sudý	0	$^{12}_6\text{C}$, $^{16}_8\text{O}$
lichý/sudý	sudý/lichý	$I = 1/2$ $I = 3/2$	^1_1H , $^{13}_6\text{C}$, $^{19}_9\text{F}$, $^{31}_{15}\text{P}$
lichý	lichý	$I = 1, 2, \dots$	^2_1H , $^{14}_7\text{N}$

- ◆ Jádra s $I \neq 0$ se chovají tak, jako by rotovala kolem své osy, protože jsou kladně nabitá, vzniká kolem nich magnetické pole. Rotující jádro si „představíme“ jako tyčový magnet s magnetickým momentem \underline{m} :

$$\underline{m} = \gamma I \frac{h}{2\pi}$$

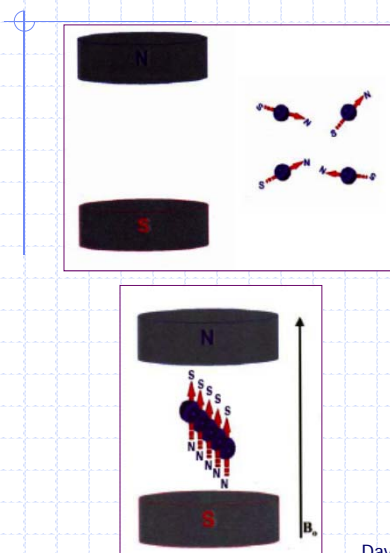
γ ... jaderný gyromagnetický poměr

I ... spinové kvantové číslo

h ... Planckova konstanta

David MILDE, 2006

Atomové jádro v magnetickém poli



- ◆ Jaderné spiny mimo magnetické pole nemají žádnou orientaci.
- ◆ V magnetickém poli se jaderné spiny orientují podle vektoru magnetické indukce.
- ◆ Jaderný spin je kvantován \Rightarrow jsou povoleny pouze některé orientace.
- ◆ Počet orientací = $2I + 1$

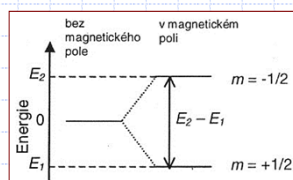
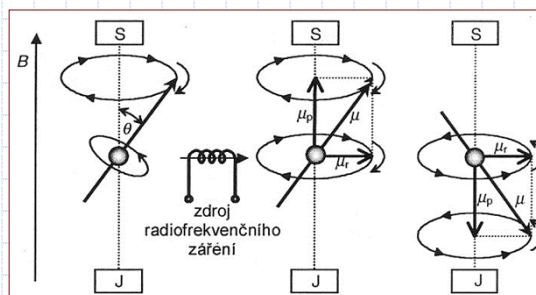
David MILDE, 2006

PRINCIP NMR

- ◆ Ve vnějším mag. poli osa jádra koná **precesní pohyb**, kdy vektor mag. momentu jádra μ opisuje plášť kužele s vrcholem v jádře a jeho mag. moment svírá se siločarami vnějšího pole úhel θ .

- ◆ Každá orientace magnetického momentu odpovídá různé E hladině.

- ◆ Celkem možných: $(2I + 1)$ E hladin.



Výběrové pravidlo pro NMR
 $\Delta m = \pm 1$

- ◆ Přejchod paralelní orientace v antiparalelní je možný, absorbuje-li jádro externě dodanou E – ze zdroje RF záření.

David MILDE, 2006

PRINCIP NMR

- ◆ *Paralelní orientace odpovídá nižšímu E stavu jádra, anti-paralelní orientace vyššímu E stavu.*

$$\Delta E = h \cdot \nu = \frac{m \cdot B_0}{I} = \gamma \cdot \frac{h}{2\pi} \cdot B_0$$

ν ... rezonanční frekvence
 B_0 ... indukce vnějšího mag. pole

- ◆ Rozdíl ΔE je přímo úměrný velikosti magnetické indukce B_0 .
- ◆ Vztah vyjadřuje **rezonanční podmínku** – frekvence, při které dochází k absorpci kvanta záření se nazývá **Larmorova**:

$$\nu = \gamma \cdot B / 2\pi$$

- ◆ ΔE je velmi malý. Za běžných podmínek je i v silném mag. poli jen nepatrně méně jader v nižším E stavu (Boltzmanův zákon $\Rightarrow N_2/N_1 \approx 1000000/1000010$). Při absorpci záření dochází po krátkém čase k vyrovnaní N_2 a N_1 – nastává stav nasycení, kdy již nedochází k absorpci.

David MILDE, 2006

RELAXAČNÍ PROCESY

- ◆ NMR závisí na B_0 ve 2 směrech:
 - Čím vyšší B_0 , tím bude větší ΔE a dosáhneme lepší rozlišení.
 - Čím vyšší B_0 , tím více jader bude v nižším E stavu a tím získáme větší absorpci a lepší citlivost.

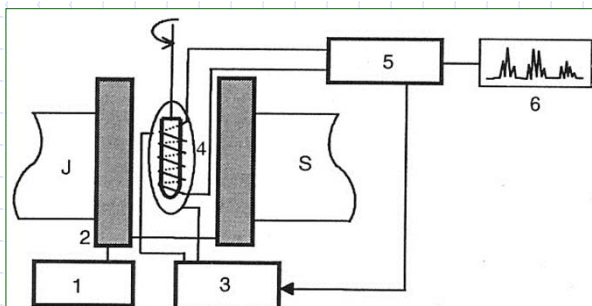
RELAXACE

jádra se zbavují absorbované E bez jejího vyzáření

- ◆ **Spin-mřížková (podélná):** dochází k přenosu tepelné E ze spinového systému do okolí (tzv. mřížky); čas $T_1 \approx 10^{-4}$ s.
- ◆ **Spin-spinová (příčná):** postupné předávání E dalším jádrům; jedno jádro snižuje E a další ji zvyšuje; uplatňuje se především u tuhých látek; čas T_2 .
- ◆ Pro málo viskózní kapaliny: $T_1 \approx T_2 \approx 10^{-1}$ až 10^2 s
- ◆ U tuhých látek $T_2 \ll T_1$ – signály jsou širší než u kapalin.

David MILDE, 2006

NMR SPEKTROMETR

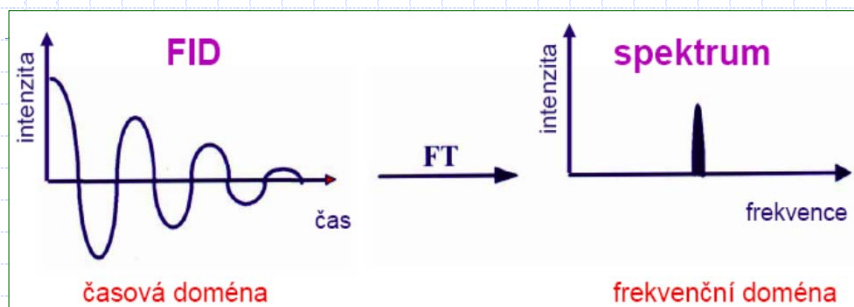


- 1 – zdroj magnetu
 - 2 – elektromagnet
 - 3 – zdroj RF vysílače
 - 4 – RF vysílač
 - 5 – zpracování signálu
 - 6 – spektrum
- Detektor: RF přijímač v podobě cívky
Frekvence magnetů: 300-600 MHz
Vzorek ve skleněné kyvetě, která rotuje

- ◆ **Moderní FT-NMR spektrometry:** během krátkého pulsu (μs) se vybudí všechny signály, které se v závislosti na čase ukládají do paměti (FID – free induction decay) a pak se pomocí Fourierovy transformace převedou na konvenční spektrum. Po uplynutí relaxační doby se puls opakuje.
- ◆ U klasických CW-NMR spektrometrů se spojitě mění intenzita magnetického pole B_0 .

David MILDE, 2006

FT-NMR



- ◆ Obsahuje-li vzorek více rezonancí, jsou všechny rezonance měřeny v tzv. časové doméně současně.
- ◆ Výhody FT-NMR:
 - opakují se měření a „FIDy“ se sčítají \Rightarrow zvýšení citlivosti,
 - možnost měřit jiná jádra než ^1H .

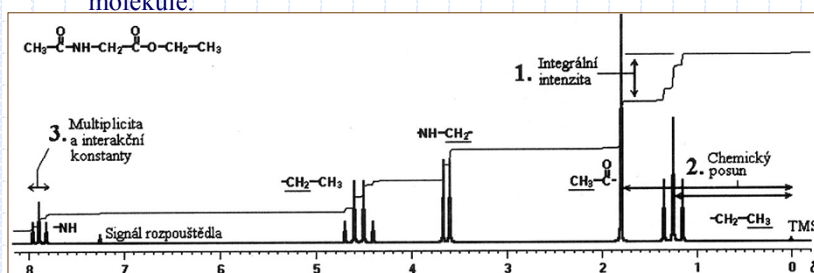
David MILDE, 2006

NMR SPEKTRUM

- ◆ 2 možnosti měření: na vzorek působí RF elmag. pole stejné frekvence a mění se hodnota B_0 ; konstantní magnetická indukce (B_0) a mění se frekvence elmag. pole.

◆ Údaje v NMR spektrech:

- chemický posun,
- spinová interakce – rozštěpení signálů do multipletové struktury a spinová interakční konstanta J
- integrální intenzity signálů – informuje o počtu ekvivalentních atomů v molekule.



NMR SPEKTRUM

- ◆ Při sledování absorpce záření se ve spektru na osu x vynášejí tzv. chemický posun δ v jednotkách ppm a na osu y intenzita signálu.

Chemický posun

$$\delta = \frac{\nu_{\text{vzorek}} - \nu_{\text{standard}}}{\nu_{\text{standard}}} \cdot 10^6 \text{ [ppm]}$$

- ➔ Parametr NMR spektroskopie
- ➔ Bezrozměrná veličina
- ➔ Veličina nezávislá na intenzitě vnějšího magnetického pole

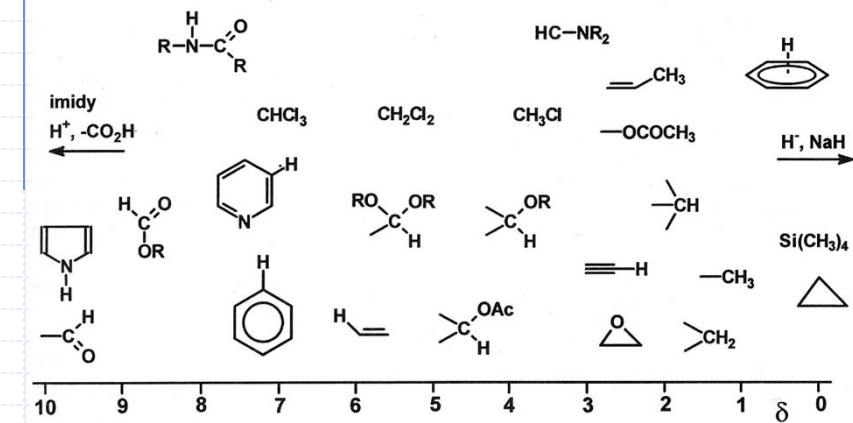
➔ Chemický posun je relativní veličina \Rightarrow hodnota je vztažena ke standardu

STANDARDY : ^1H , ^{13}C , ^{29}Si $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ (TMS)
 $\delta = 0$ ^{31}P H_3PO_4

^{119}Sn $(\text{CH}_3)_4\text{Sn}$
 ^{15}N CH_3NO_2

- ◆ Standard pro ^1H a ^{13}C je tetramethylsilan (TMS), který má 12 ekvivalentních H a 4 ekvivalentní C; δ pro TMS se volí 0.
 - δ pro ^1H bývá do 15 a pro ^{13}C do 250 ppm.

Chemické posuny protonů



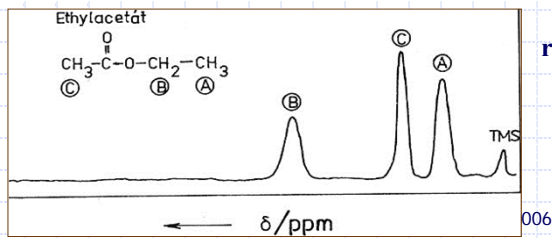
David MILDE, 2006

Stínění

- ❖ Jádru stejného nuklidu umístěné v různých strukturách molekuly se projeví různými signály. Jádra v molekule jsou ovlivňována (stíněna) e^- okolních atomů. Obíhající e^- vytvářejí slabé mag. pole, které je namířeno proti vnějšímu poli (B_0).

$$B_{\text{eff}} = B_0(1 - \sigma), \text{ kde } \sigma - \text{stínící konstanta } (10^{-6} - 10^{-4})$$

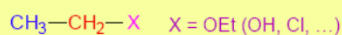
- ◆ Pohyb nabitých e^- v orbitalech indukuje slabé magnetické pole, které zeslabuje ($\sigma > 0$) nebo zesiluje ($\sigma < 0$) vnější magnetické pole B_0 .



**Různě stíněná jádra prvku
rezonují při různých frekvencích!**

$$v_{res} = \frac{\gamma \cdot B_0}{2\pi} (1 - \sigma)$$

Spin-spinová interakce



Protony ve skupině CH_3

celkový spin

$-3/2$ ↓↓↓
 $-1/2$ ↑↓ ↓↓ ↓↓ ↓↑
 $+1/2$ ↑↑ ↓↓ ↓↓ ↑↑
 $+3/2$ ↑↑↑

čtyři energeticky rozdílná uspořádání

Protony ve skupině CH_2

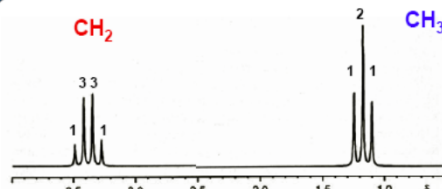
celkový spin

-1 ↓↓
 0 ↑↓ ↓↑
 $+1$ ↑↑

tři energeticky rozdílná uspořádání

rozštěpení
multipletu

$$2 \cdot n \cdot I + 1$$



relativní intenzity

1
 1 1
 1 2 1
 1 3 3 1
 1 4 6 4 1

Pascalův trojúhelník

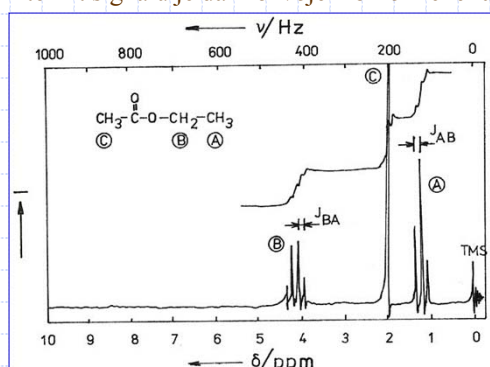
Spin-spinové interakce

- ◆ Vzájemné ovlivňování jaderných spinů atomů v molekule přes jejich chemickou vazbu. Je způsobena interakcí jádra s jádry sousedních atomů aktivních v NMR.
- ◆ Pravidla multipletového štěpení signálů spinovými interakcemi:

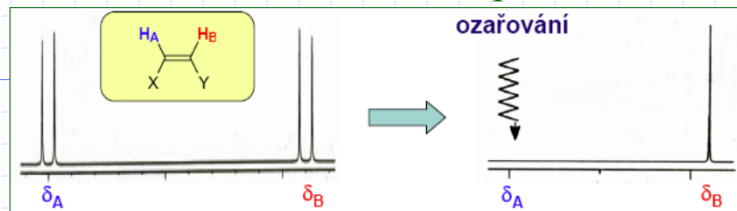
- Počet dílčích signálů závisí na počtu interagujících jader:

$$\text{Multiplicita} = 2nI + 1$$

- Poměr intenzit signálů je dán rozvojem binomické řady: $(a+1)^n$



DECOUPLING – odstranění spinové interakce

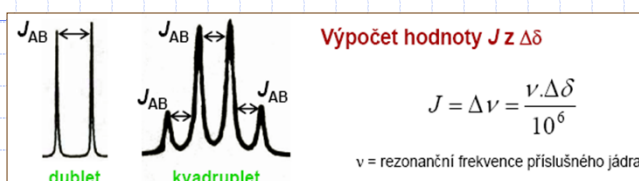


- ◆ **SELEKTIVNÍ (homonukleární) DECOUPLING:** ozařování spinu A během měření \Rightarrow orientace spinu A vůči vnějšímu mag. poli se rychle mění a signál spinu A zmizí a dublet spinu B splyne v singlet.
- ◆ **PLOŠNÝ (heteronukleární) DECOUPLING:** ozařuje se jiné jádro než se měří – nejčastěji ^1H při měření ^{13}C \Rightarrow zjednodušení interpretace spekter.
- ◆ **Nukleární Overhauserův efekt (NOE)** vylepšuje poměr S/N a zlepšuje citlivost.
 - Ozařování jádra H rezonanční frekvencí umožňuje detekovat signál jiného jádra s vyšší intenzitou.
 - Příčinou NOE je vzájemná interakce jader přes prostor, jež nevede ke štěpení signálů.

David MILDE, 2006

^1H NMR SPEKTRUM

INTERAKČNÍ KONSTANTA J



- ◆ Velikost rozštěpení v Hz.
- ◆ Je mírou interakce mezi jadernými spiny a její velikost nezávisí na síle vnějšího magnetického pole. S rostoucím počtem vazeb mezi interagujícími jádry její velikost klesá.

INTENZITA SIGNÁLŮ

- ◆ Udává se relativně vůči ostatním signálům a pak je přímo úměrná počtu absorbujících jader.
- ◆ Plocha každého signálu je úměrná počtu chemicky ekvivalentních jader v molekule.
 - **Př.: diethylether má 6 ekvivalentních H v CH_3 a 4 ekvivalentní H v CH_2 .**

David MILDE, 2006

^{13}C NMR spektrometrie

- ◆ Umožňuje přímé „zkoumání“ uhlíkového skeletu molekuly.
- ◆ Analogicky s ^1H NMR počet signálů poskytuje informaci o počtu různě vázaných uhlíků v molekule.
- ◆ Přírozené zastoupení ^{13}C je výrazně nižší než u ^1H (jen 1,1 %) a ^{13}C poskytuje slabší signál \Rightarrow je třeba měřením výrazně zlepšit poměr S/N, což umožnilo až zavedení FT-NMR.
- ◆ Chemický posun ^{13}C je ovlivňován zejména:
 - elektronegativitou skupiny navázané na daný C,
 - hybridizací C (sp^3 , sp^2 , ...).
- ◆ ^{13}C NMR spektra: obvykle oddělené píky příslušející jednotlivým uhlíkům.

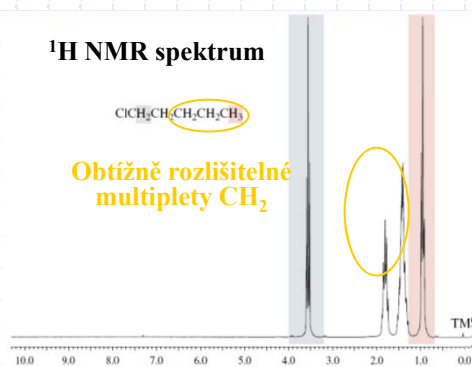
David MILDE, 2010

NMR spektra 1-chlorpentanu

^1H NMR spektrum



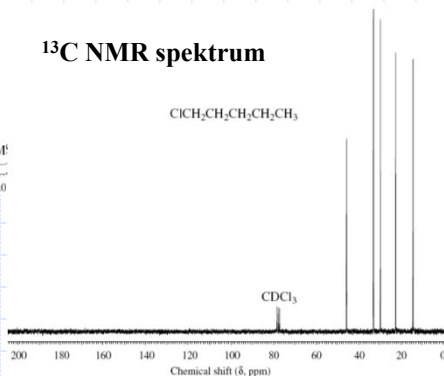
Obtížně rozlišitelné multiplety CH_2



^{13}C NMR spektrum



CDCl_3



David MILDE, 2010

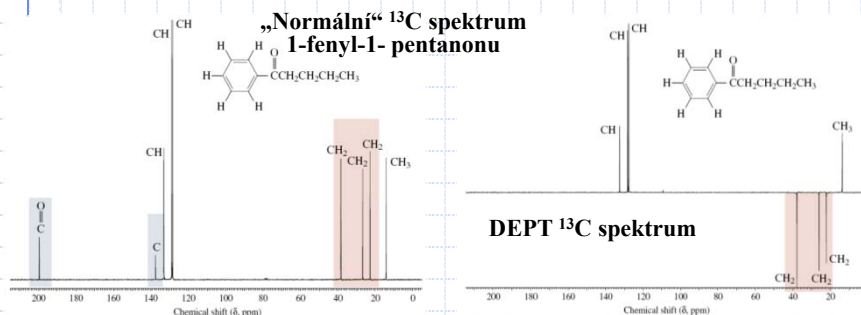
^{13}C NMR SPEKTRUM

- ◆ Podle chemických posunů lze určit typ vazby C a chemické okolí.
- ◆ Štěpení signálů díky spin-spinové interakci se ve spektrech neuplatňuje \Rightarrow všechny píky jsou singlety.
- ◆ Principiálně dochází ke štěpení při ^{13}C – ^{13}C a ^{13}C – ^1H couplingu, ale:
 - Vzhledem k nízkému přírodnímu zastoupení ^{13}C je nepravděpodobné, že jedna molekula by obsahovala více než jeden ^{13}C .
 - Štěpení díky ^{13}C – ^1H couplingu je příliš složité, takže se v práci používá tzv. širokopásmový decoupling, který jakékoliv štěpení potlačí.
- ◆ Integrace ploch signálu píků se nepoužívá, protože zjištěné poměry nejsou jednoznačné. FT-NMR měření zkrsluje intenzitu, zejména pro C bez C-H vazby.

David MILDE, 2010

Multipulzní ^{13}C NMR spektra

- ◆ Moderní multipulzní techniky umožňují získat informaci o počtu C-H vazeb pro každý uhlík. Informace se nezískává díky multiplicitě, ale díky rozdílné intenzitě ^{13}C spekter modulovaných podle velikosti interakce ^{13}C – ^1H . Př. technik:
 - APT (Attached Proton Test)
 - DEPT (Distortionless Enhancement of Polarization Transfer)



David MILDE, 2010

Analytické využití

- ◆ Nejčastěji se NMR spektrometrie užívá k určení struktury organických sloučenin.
 - Pro neznáme sloučeniny se používají knihovny spekter k určení základní struktury a/nebo tabulky chemických posunů.
- ◆ Další použití: studium konformací, chemických dějů a rovnováh; je možné provádět i kvantitativní analýzu - výška píků souvisí s koncentrací.
- ◆ K určování struktury neznámé (organické) látky se využívají zejména: ^1H NMR, ^{13}C NMR, MS a IR. Obvykle nestačí použít jen jednu metodu.
- ◆ Používaná rozpouštědla (v ^1H NMR): nemají mít protony – CDCl_3 , CCl_4 , CS_2 , D_2O . Analyzují se asi 20 % roztoky.
- ◆ Více než 200 jader má magnetický moment a principiálně je lze studovat pomocí NMR:
 - V organické chemii a biochemii se uplatňují zejména ^{31}P , ^{15}N a ^{19}F .
 - V anorganické chemii se uplatňují ^{11}B , ^{29}Si a další.

David MILDE, 2006

Magnetic Resonance Imaging (MRI)

- ◆ MRI = aplikace NMR umožňují prozkoumat vnitřní orgány pomocí méně škodlivého rf záření ve srovnání s rentgenovým.
- ◆ MRI detekuje protony \Rightarrow citlivá na vodu či tuky. Místa s různým výskytem ^1H jsou různě ztmavlá/barevná.
- ◆ Pulzní rf excitace pevných „objektů“ je pomocí FT převedena na 3D snímky.
- ◆ Neinvazivní vyšetřovací metoda.

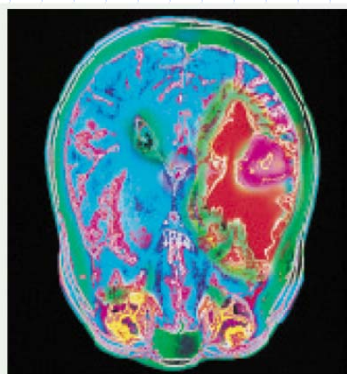


FIGURE 13.24 A magnetic resonance image of a section of a brain that has a tumor in the left hemisphere. The image has been computer-enhanced to show the tumor and the surrounding liquid in different shades of red, fatty tissues in green, the normal part of the brain in blue, and the eyeballs in yellow. (Photograph courtesy of Simon

David MILDE, 2010

ELEKTRONOVÁ PARAMEGNETICKÁ REZONANCE (EPR)

Elektronová spinová rezonance (ESR)

PRINCIP

- ◆ Měří se přechody mezi různými energetickými stavy e^- ve vnějším vloženém magnetickém poli (analogie s NMR, kde se měří přechody stavů jader).
- ◆ U molekul se spárovanými e^- , kde celkový spin je 0 ($+1/2$ a $-1/2$) a celkový magnetický moment = 0 přechody a EPR spektra nepozorujeme.
- ◆ Podmínkou vzniku EPR spekter je přítomnost nepárového e^- v molekule, lze měřit:
 - radikály a radikalkationty,
 - molekuly v excitovaném tripletovém stavu (paralelní spiny na vazebném i protivazebném orbitalu).
- ◆ Ve spektrech pozorujeme spin-orbitální a spin-spinové interakce.

David MILDE, 2006

Instrumentace a aplikace

- ◆ Používá se obdobná technika jako u NMR. Pracuje se s konstantní frekvencí zdroje, jímž je pro používanou mikrovlnou oblast tzv. klystron (vakuová trubice), používané frekvence 9-35 GHz. Měří se s proměnnou magnetickou indukcí 1-2 T.
- ◆ K detekci mikrovlnného záření, odraženého vzorkem při rezonanci slouží vhodný krystal.
- ◆ Životnost radikálů se zvyšuje prací při nízkých teplotách (v kapalném N₂).
- ◆ Aplikace: určování struktury radikálů při polymeračních reakcích, studium pohybu radikálů v biologických systémech, atd.

David MILDE, 2006