

ZÁKLADY SPEKTROMETRIE NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÉ REZONANCE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



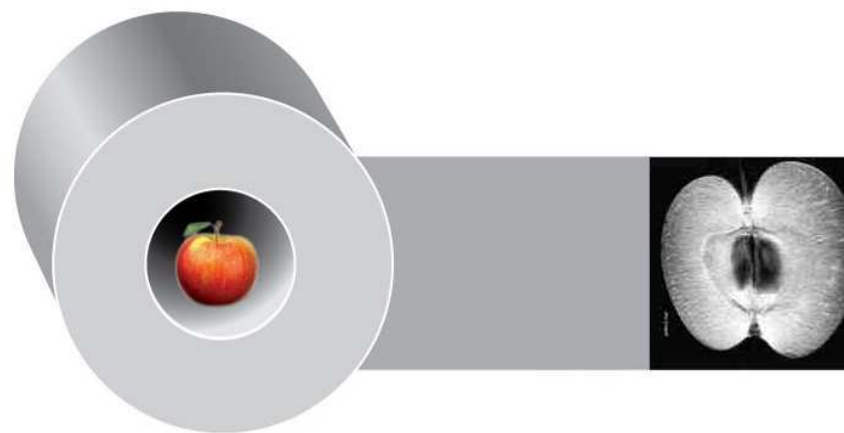
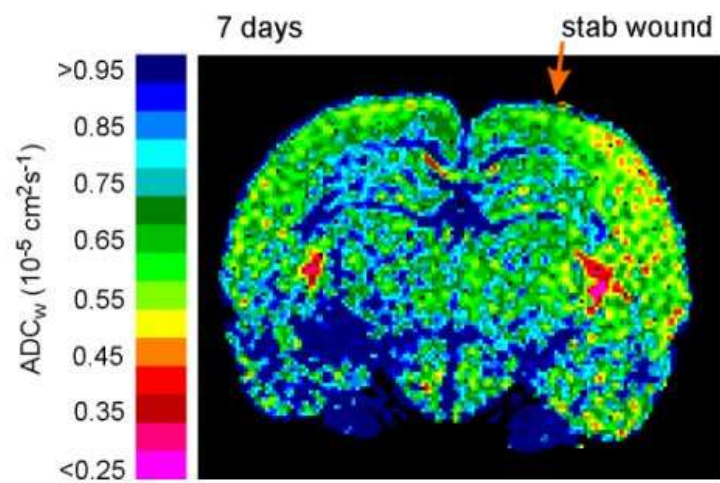
Univerzita
Pardubice

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

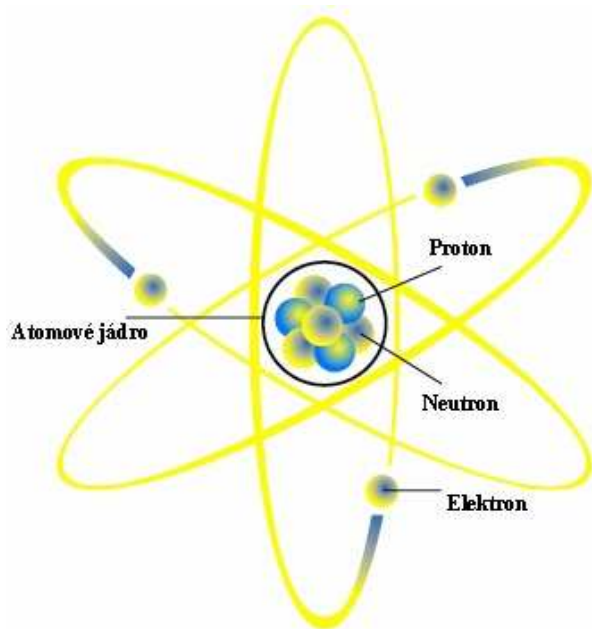
Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky

Co to je NMR?

- nedestruktivní spektroskopická metoda využívající magnetických vlastností atomových jader ke studiu struktury molekul
- metoda č.1 pro určování struktury molekul v organické a organometalické chemii
- studium struktury i velmi složitých molekul (proteiny, nukleové kyseliny)
- studium struktury ve všech třech skupenstvích a *in vivo* (v medicíně - magnetická tomografie)
- využití v potravinářství pro kontrolu kvality (tuky, voda)



Magnetické vlastnosti atomových jader



⇒ atomové jádro obsahuje protony a neutrony, dohromady nukleony

⇒ počet protonů - protonové číslo Z

⇒ počet neutronů - neutronové číslo N

⇒ $Z + N = A$... nukleonové číslo

⇒ další z „čísel“ je jaderné spinové kvantové číslo I ; nabývá hodnot $0, 1/2, 1, 3/2, \dots$

- pro NMR důležité vědět, že jádra s $I = 0$ jsou nemagnetická a tudíž je nelze detekovat pomocí NMR
- pro NMR nejčastější jádra s $I = 1/2$

Rozdělení jader

- jadra se sudým protonovým i neutronovým číslem (^{12}C , ^{16}O , ^{18}O , ^{32}S) $\Rightarrow I = 0 \Rightarrow$ nejsou detekovatelná NMR spektr.
- jadra s lichým protonovým i neutronovým číslem (^2H , ^{10}B , ^{14}N , ^{50}V) $\Rightarrow I = 1, 2, 3, \dots \Rightarrow$ jadra **detekovatelná NMR** sp.
- jadra se sudým protonovým a lichým neutronovým číslem nebo naopak (^{13}C , ^1H , ^{31}P , ^{17}O , ^{19}F , ^{15}N , ^{33}S) $\Rightarrow I = 1/2, 3/2, 5/2, \dots \Rightarrow$ jadra **detekovatelná NMR** spektrometrií
- zcela neaktivní prvky v NMR jsou Ar, Tc, Ce, Pm



- jak již bylo řečeno, pro NMR **ideální jadra s $I = 1/2$**
- jadra s vyšším I se nazývají jadra s kvadrupólovým efektem

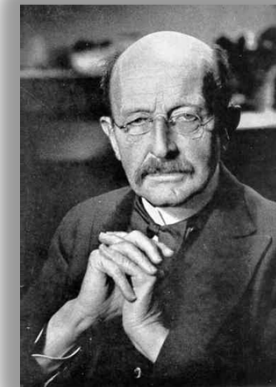
Magnetický moment jádra

- jádro, které má nenulové spinové číslo I vykazuje **magnetický moment** (chová se jako mikroskopický magnet)
- magnetický moment je vektorová veličina, daná vztahem

$$\mu = \frac{\gamma \cdot h \cdot I}{2\pi},$$

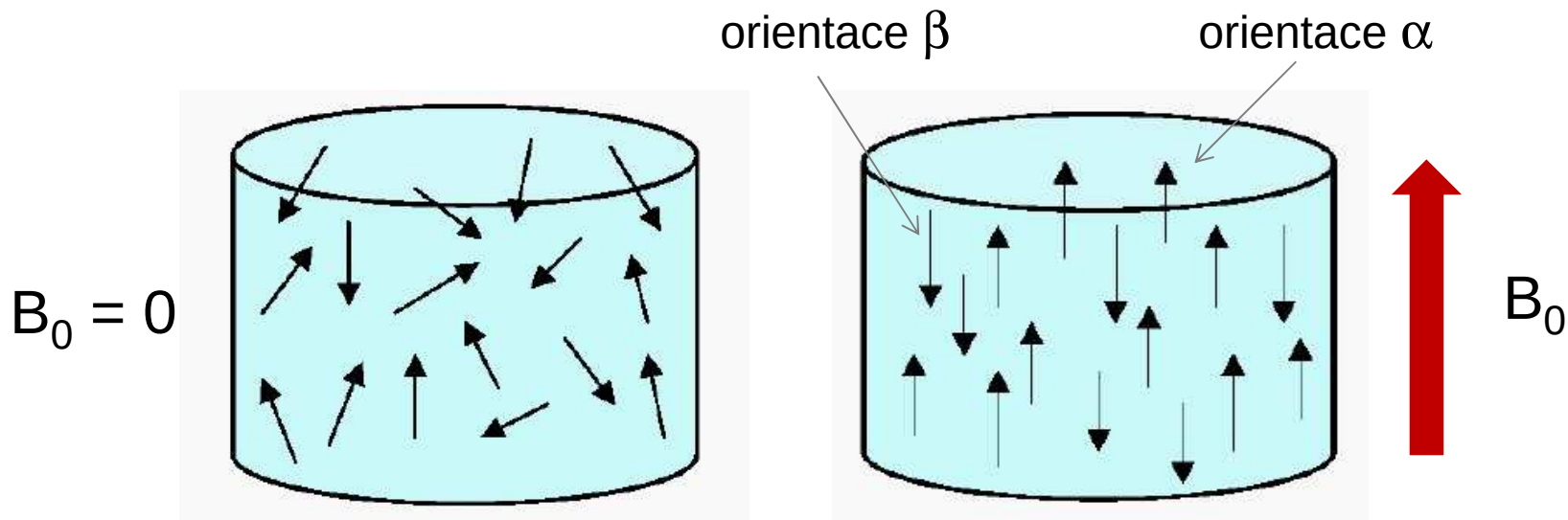
kde γ je gyromagnetický poměr (charakteristický pro dané jádro)
 h je Planckova konstanta ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J.s)
 I je spinové kvantové číslo

Max Karl Ernst Ludwig Planck (1858 – 1947)
Nobelova cena za fyziku 1918



Chování jádra v magnetickém poli

- bez přítomnosti vnějšího magnetického pole (indukce $B_0 = 0$) může vektor μ zaujímat libovolnou orientaci v prostoru; mezi jadernými spiny neexistuje energetický rozdíl, jsou tzv. degenerované
- vloží-li se jádro do magnetického pole ($B_0 \neq 0$), tak vektor μ zaujímá jen určitý počet orientací, které se liší energií
- počet orientací udává vztah $2I + 1$ (čili pro jádro s $I = 1/2$ zaujme vektor μ dvě orientace $\Rightarrow \alpha$ (ve směru vektoru B_0) a β (proti směru vektoru B_0))

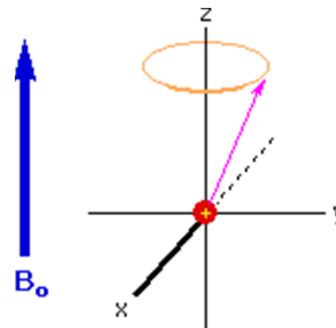


Precesní pohyb jádra v magnetickém poli

- vektor μ po zaujetí orientace α nebo β začne v magnetickém poli vykonávat tzv. **precesní pohyb** okolo směru vnějšího magnetického pole (podobně jako gyroskop)
- frekvence tohoto pohybu je tzv. **Larmorova frekvence jádra ν** (charakteristická pro dané jádro)

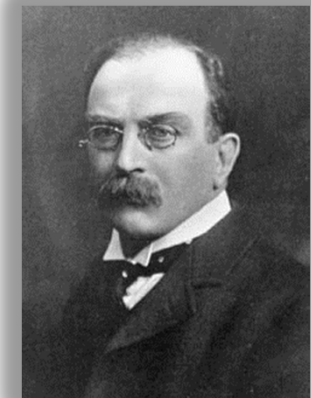


$$\nu = \frac{\gamma \cdot B_0}{2\pi},$$



kde γ je gyromagnetický poměr

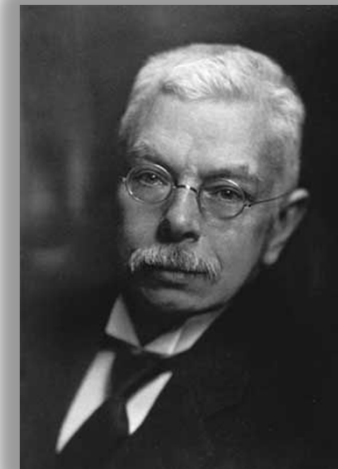
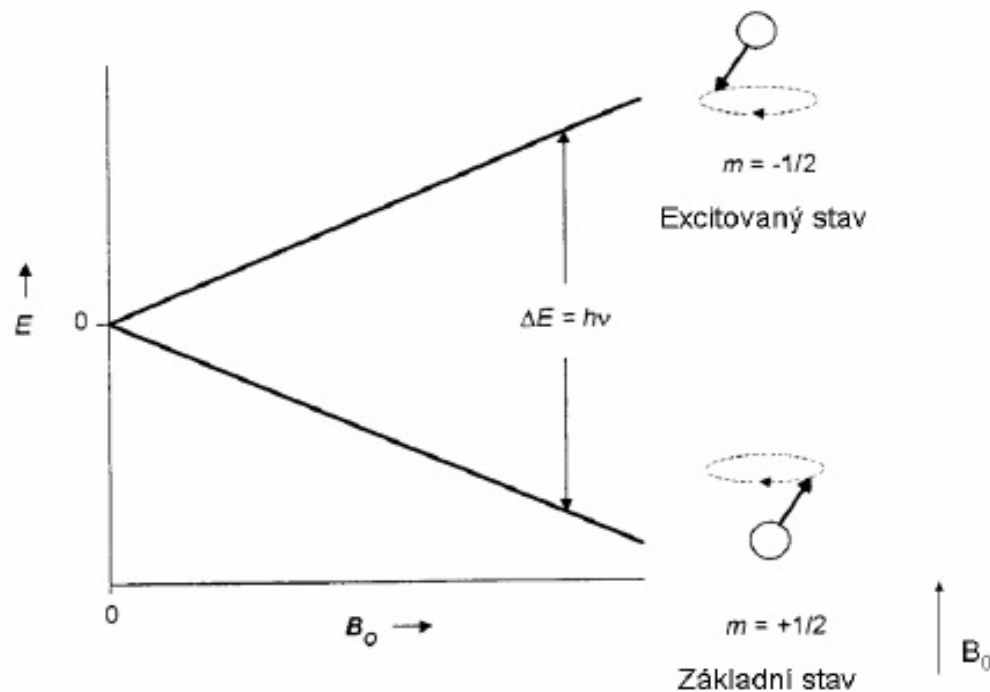
B_0 je indukce (velikost) magnetického pole [T]



Sir Joseph Larmor (1857-1942)

Zeemanův jev

- je důležité ale vědět, že se **obě orientace** (α , β) **liši energeticky** (Zeemanův jev)



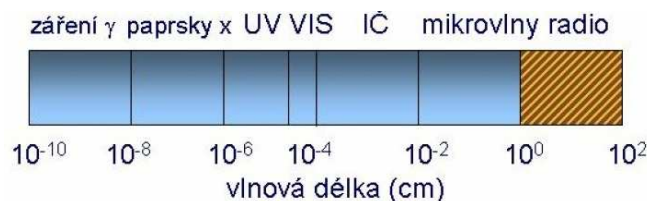
Pieter Zeeman (1865-1943)
Nobelova cena za fyziku 1902

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

kde ν je Larmorova frekvence jádra

Princip NMR spektrometrie

- dochází k absorpci záření o vhodné energii, která dostačuje k excitaci ze základního stavu α do excitovaného stavu β
- vzorek musí být v silném magnetickém poli
- frekvence při níž jádro absorbuje je Larmorova frekvence (frekvence použitého záření mu dosahovat stejné hodnoty)
- a protože je Larmorova frekvence v desítkách až stovkách MHz, tak NMR spektrometrie pracuje v oblasti radiových vln, kde je vlnová délka řádově v metrech



a tedy



NMR spektrometr

je



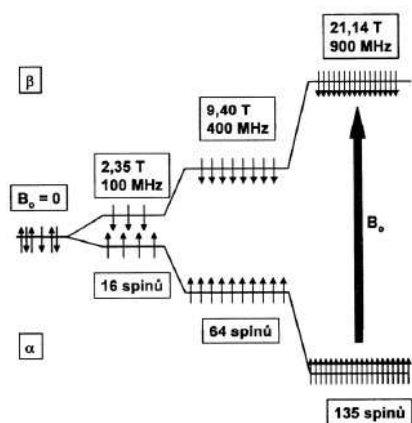
rádio

ale hodně drahé
(až \$ 4 500 000)



Citlivost NMR spektrometrie

- **záleží na populačním rozdílu mezi základním a excitovaným stavem (čím větší, tím je metoda citlivější)**
- populační rozdíl ale závisí na energetickém rozdílu mezi stavy
- u NMR je velmi malý energetický rozdíl (např. $0,04 \text{ J.mol}^{-1}$ pro 2,35 T) $\Rightarrow$ velmi malý rozdíl v populacích (z 2 000 016 jader je 1 000 016 v α a 1 000 000 v β) $\Rightarrow$ **velmi nízká citlivost metody**
- citlivost závisí na velikosti B_0 (ale čím větší tím dražší přístroj), dále na teplotě a také na gyromagnetickém poměru γ (při stejné B_0 má ^1H $\gamma = 267,512 \cdot 10^6 \text{ rad.T}^{-1}.\text{s}^{-1}$ a ^{13}C $\gamma = 67,264 \cdot 10^6 \text{ rad.T}^{-1}.\text{s}^{-1}$ $\Rightarrow$ čili je **^1H NMR spektrometrie citlivější než ^{13}C NMR spektrometrie**)

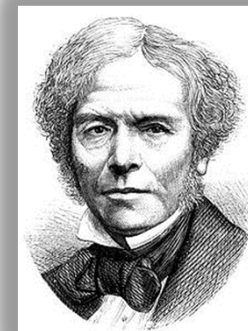
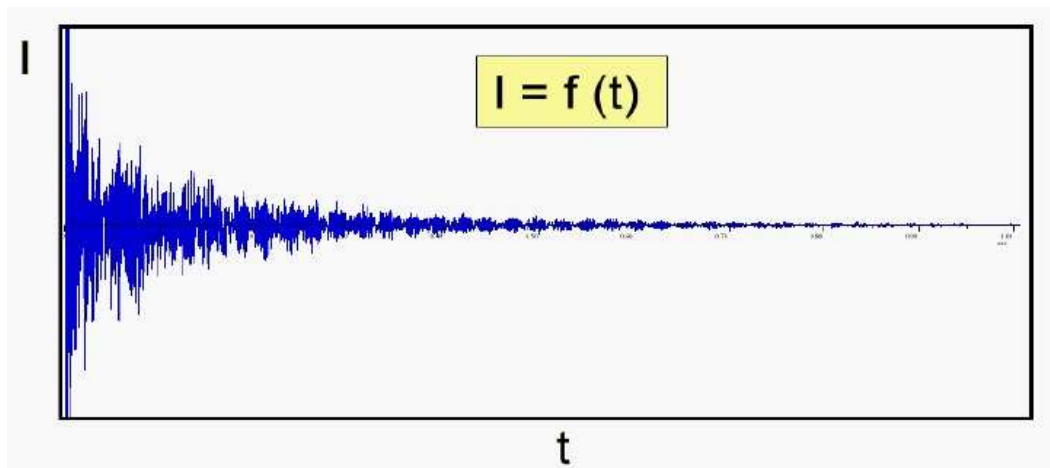


Buzení NMR spektra

- **metoda spojité vlny** – postupná excitace jednotlivých jader spojitou změnou frekvence vysílače a nebo velikostí magnetického pole; zdoluhavý způsob vhodný pro velmi citlivá jádra, dnes nepoužívaný
- **metoda pulzní s Fourierovou transformací (FT-NMR)** – k excitaci se použije velmi silný elektromagnetický pulz, který vybudí všechny spiny najednou; velmi citlivé a málo časově náročné
pracuje se při konstantní frekvenci vysílače a indukci magnetického pole; rozsah excitovaných spinů (spektrální šířka) je dán délkou pulzu $\Rightarrow$ čím je pulz kratší, tím větší rozsah frekvencí je excitován
rozlišují se **tvrdé (hard) pulzy** (krátké, μs , velká spektrální šířka, málo selektivní)
měkké (soft) pulzy („dlouhé“, ms, selektivní excitace určité frekvence)

Buzení NMR spektra pulzní metodou

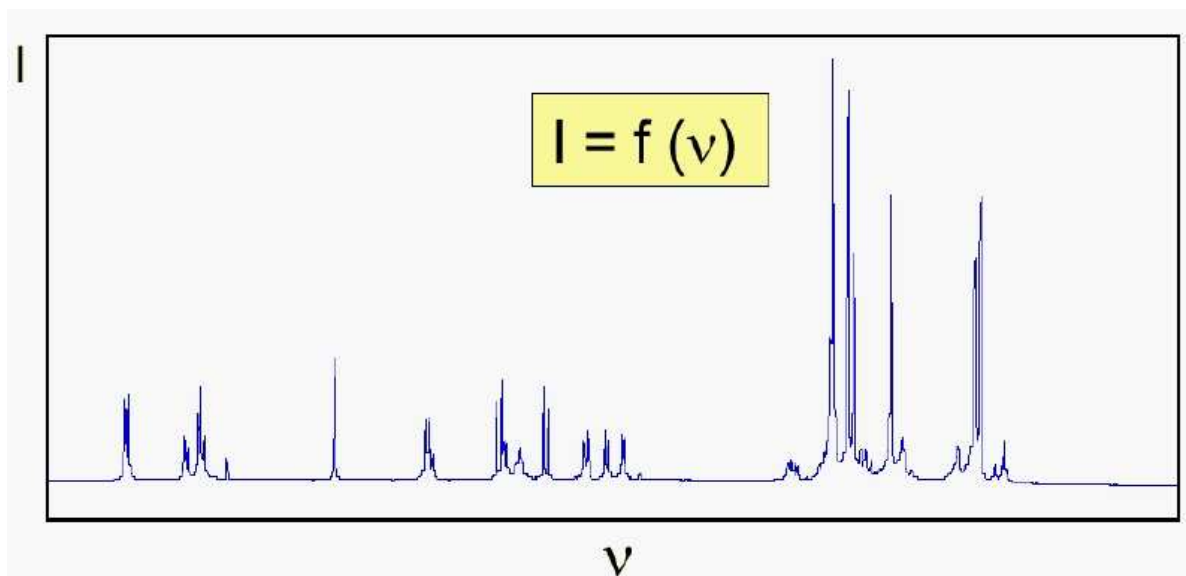
- když jádro absorbuje energii, tak dojde k excitaci spinů ze základního do excitovaného stavu
- tento stav ale není udržitelný dlouhou dobu a dochází k návratu spinů do základního stavu - **relaxace**
- tento návrat poté indukuje v cívce přijímače elektrický proud dle Faradayova zákona elektromagnetické indukce – tento proud ale časem klesá – výsledkem je tedy **časová závislost velikosti indukovaného proudu** – tzv. pokles volné indukce **Free Induction Decay (FID)** - ! neplést s FID – flame ionization detector – plamenový ionizační detektor v plynové chromatografii !



Michael Faraday (1791-1867)

Fourierova transformace

- z časové závislosti indukovaného proudu (FID) nelze nic vyhodnotit
- proto se, obdobně jako u Infračervené spektrometrie, převede časová závislost signálu na frekvenční aplikací matematické metody známé již 200 let – Fourierovou transformací
- získá se NMR spektrum, ze kterého lze již získat důležité a cenné informace



Jean Baptiste Joseph Fourier (1768 – 1830)



Chemický posun

- každý signál ve spektru je charakterizován svou pozicí vyjádřenou ve frekvenčních jednotkách
- používá se relativní stupnice a posun každého signálu se vztahuje k signálu referenčnímu (standardu)
- chemický posun se označuje δ a je dán vztahem

$$\delta = \frac{\nu_i - \nu_{STD}}{\nu_0},$$

kde ν_i je rezonanční frekvence signálu [Hz]

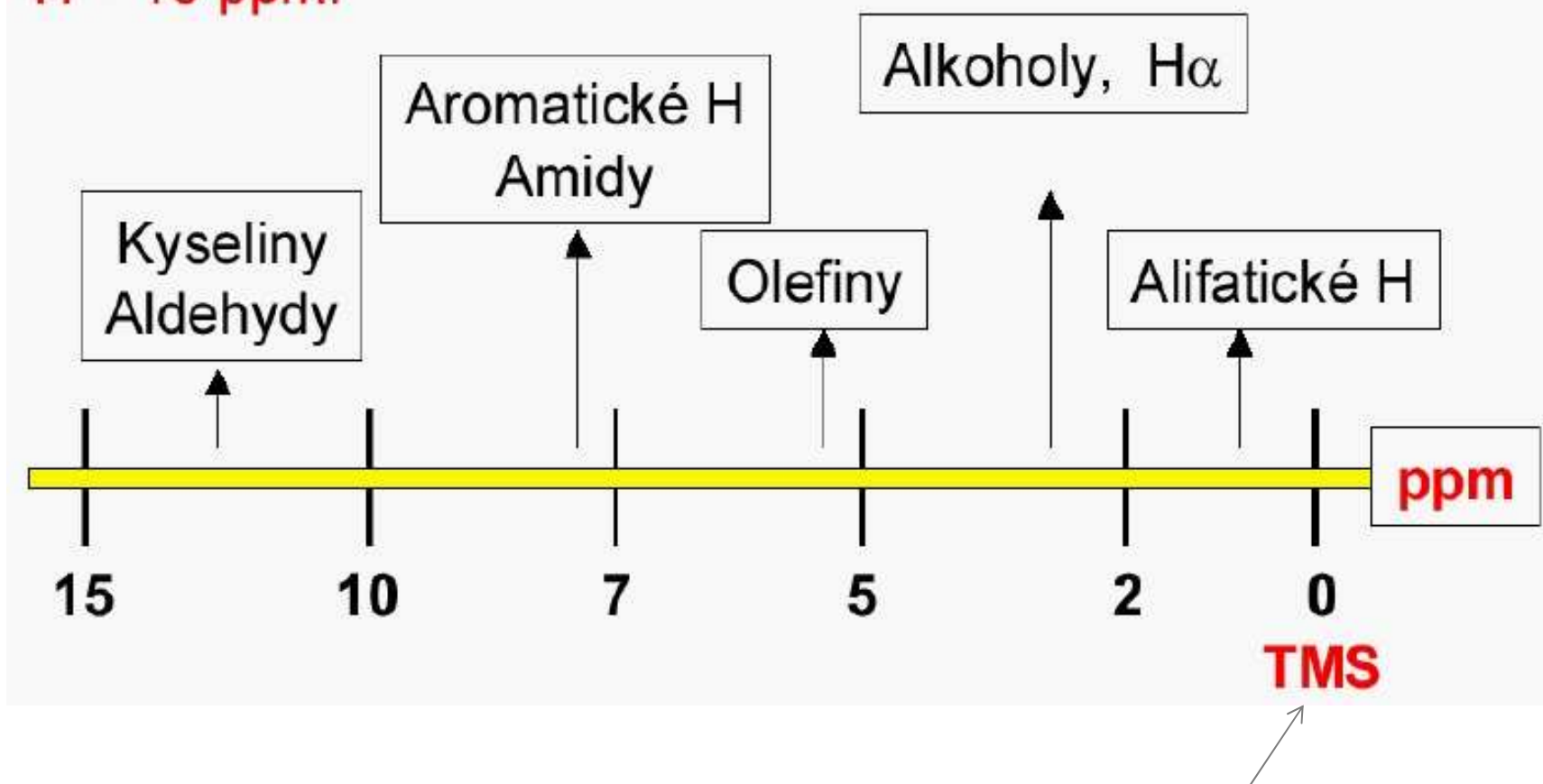
ν_{STD} je rezonanční frekvence standardu [Hz]

ν_0 je pracovní frekvence spektrometru [MHz]

- je to tedy bezrozměrná veličina a udává se jako **ppm** (parts per milion) – frekvence jako počet miliontin pracovní frekvence spektrometru
- **každé chemicky neekvivalentní jádro má svoji hodnotu chemického posunu**
- chemický posun je nezávislý na velikosti vnějšího magnetického pole

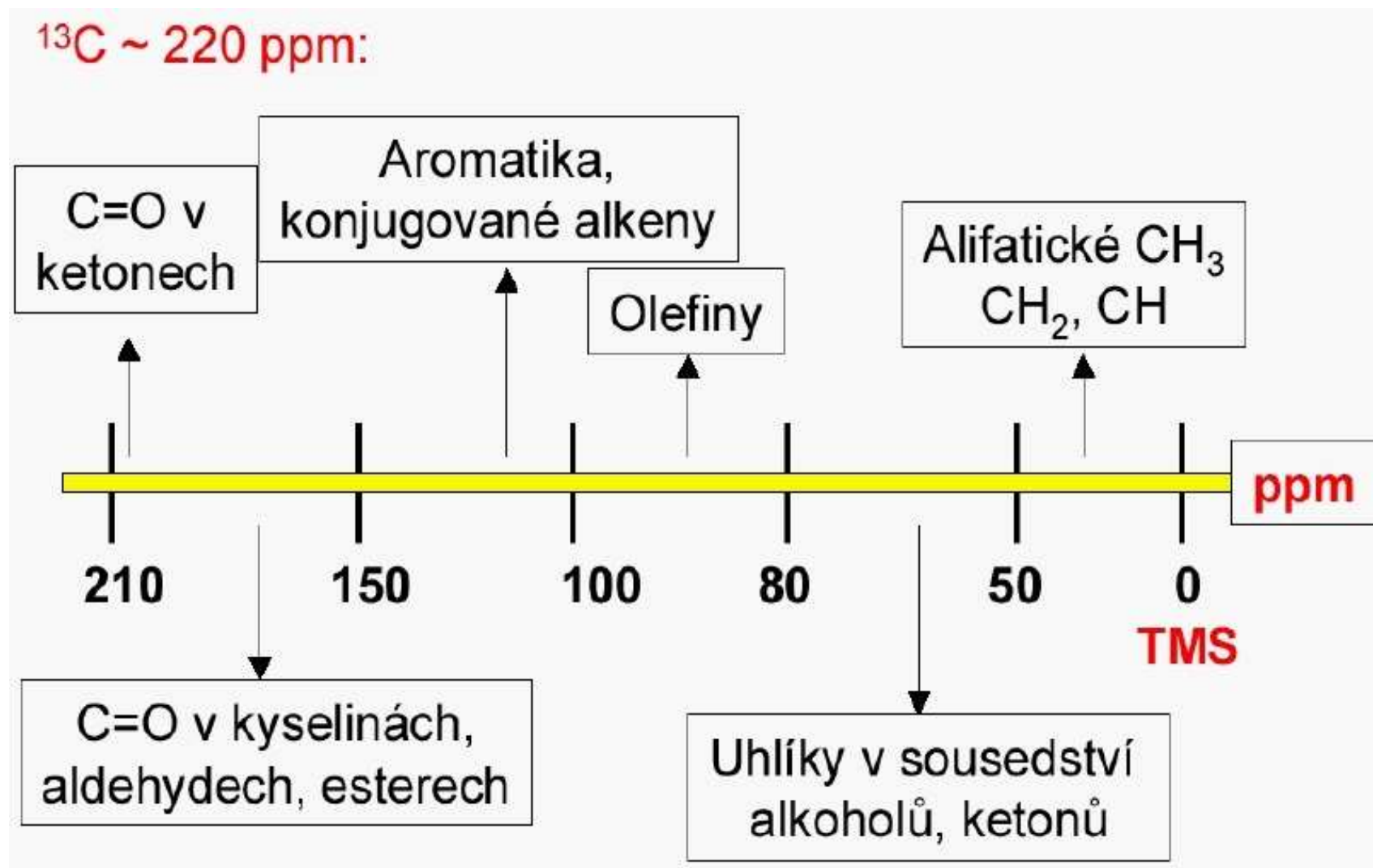
Chemické posuny v ^1H NMR spektrometrii

$^1\text{H} \sim 15 \text{ ppm}$:



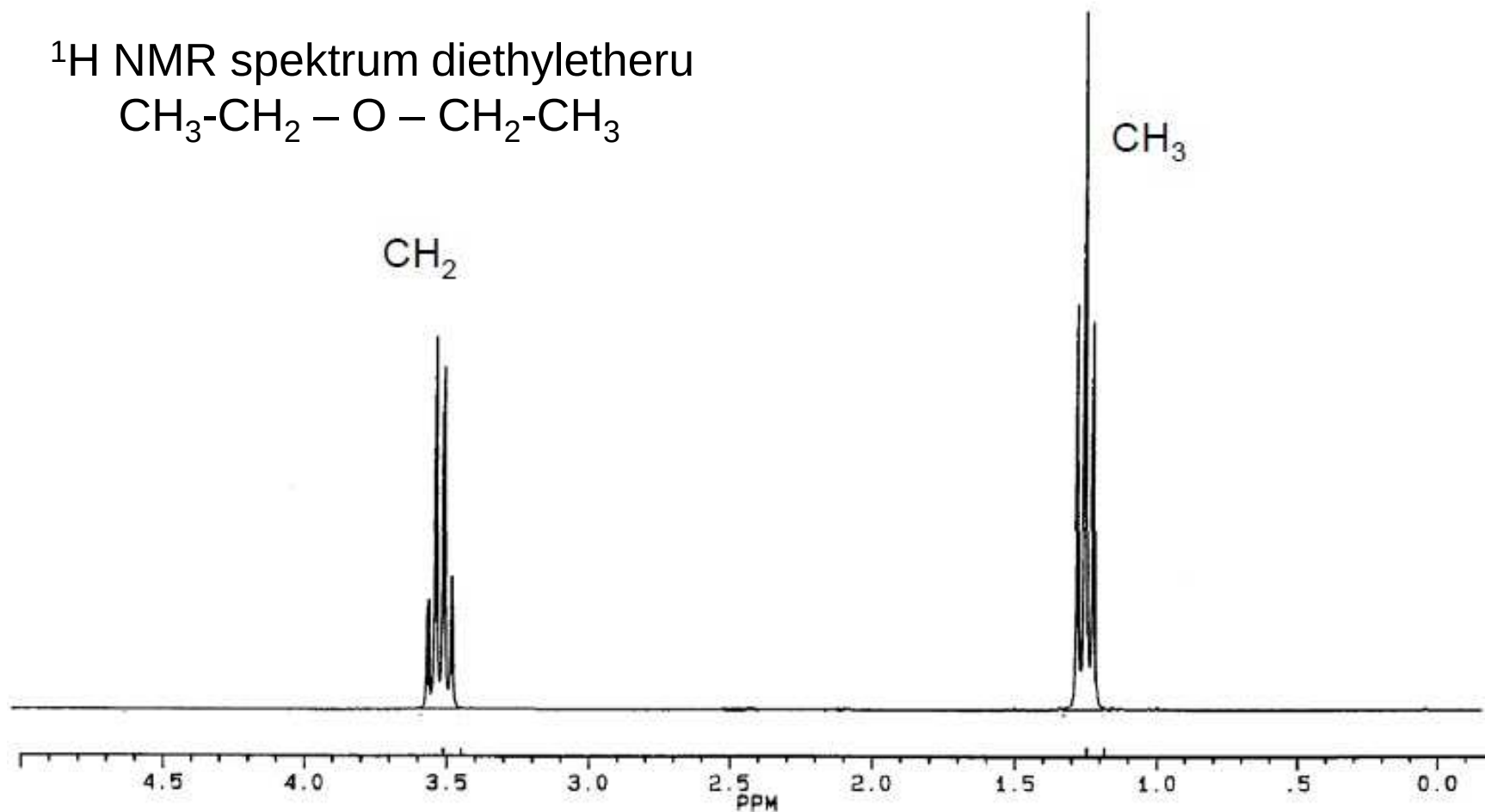
tetramethylsilan – standard pro ^1H a ^{13}C NMR spektrometrii, dobře rozpustný, inertní a poskytuje vždy jen jeden signál

Chemické posuny v ^{13}C NMR spektrometrii



Příklad NMR spektra

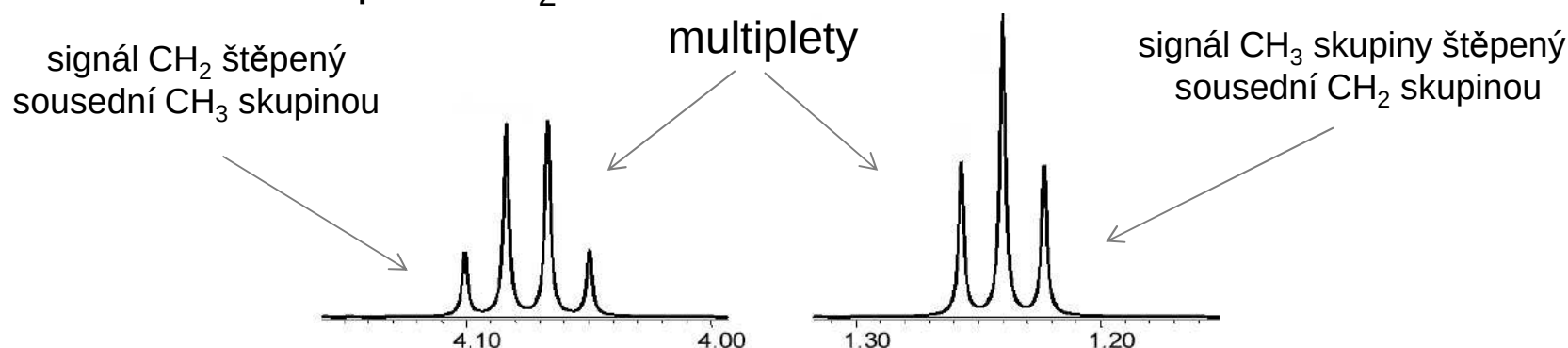
^1H NMR spektrum diethyletheru
 $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-O-CH}_2\text{-CH}_3$



dva signály, protože jsou v molekule 2 chemicky neekvivalentní jádra ^1H – jeden vodík v CH_3 skupině a jeden v CH_2 skupině, ale proč jsou signály štěpeny?

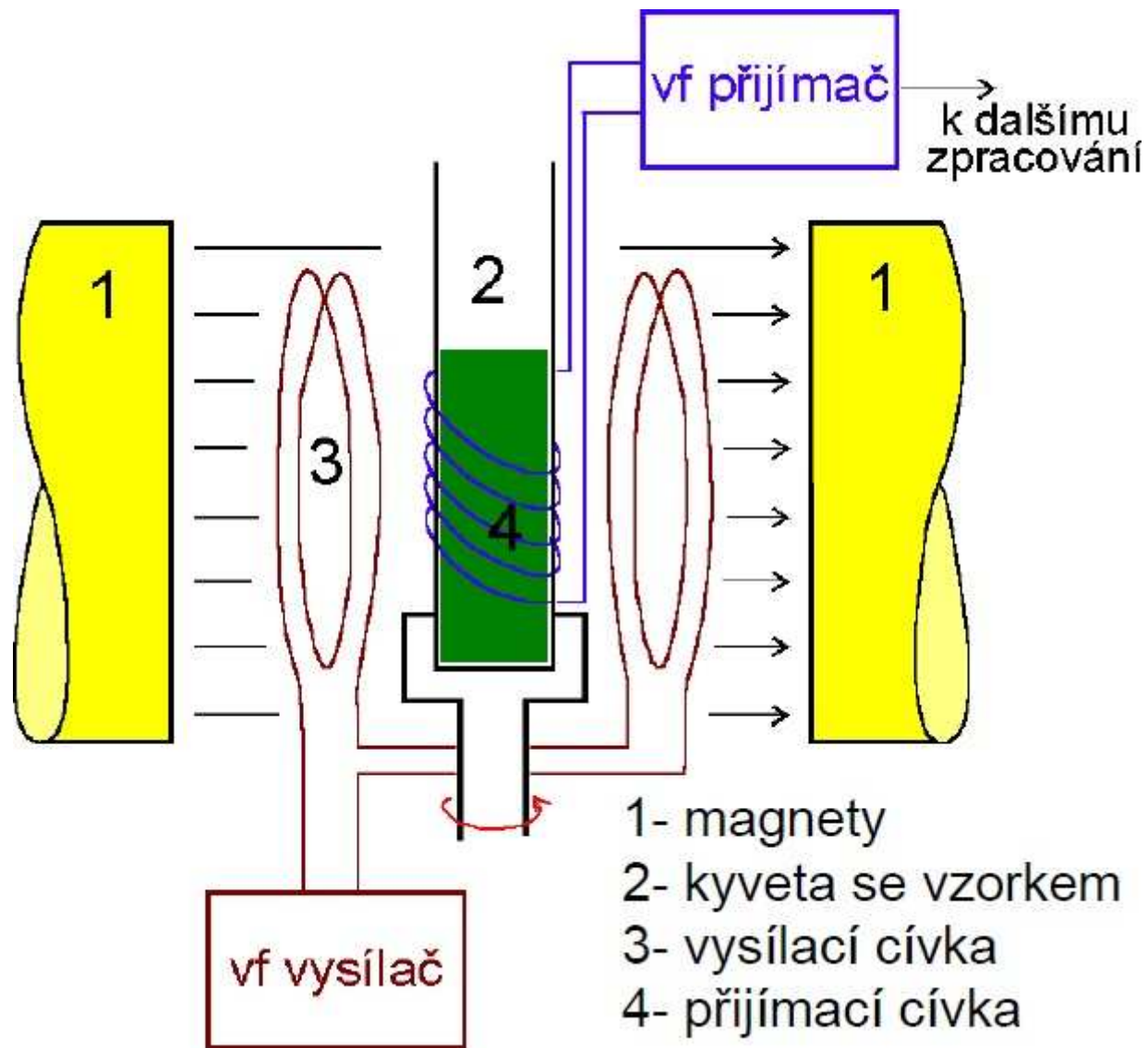
Štěpení signálů

- každé jádro ^1H ve skupině CH_2 „vidí“ 4 možné stavy atomů ^1H v sousední skupině CH_3
- každé jádro ^1H ve skupině CH_3 „vidí“ 3 možné stavy atomů ^1H v sousední skupině CH_2



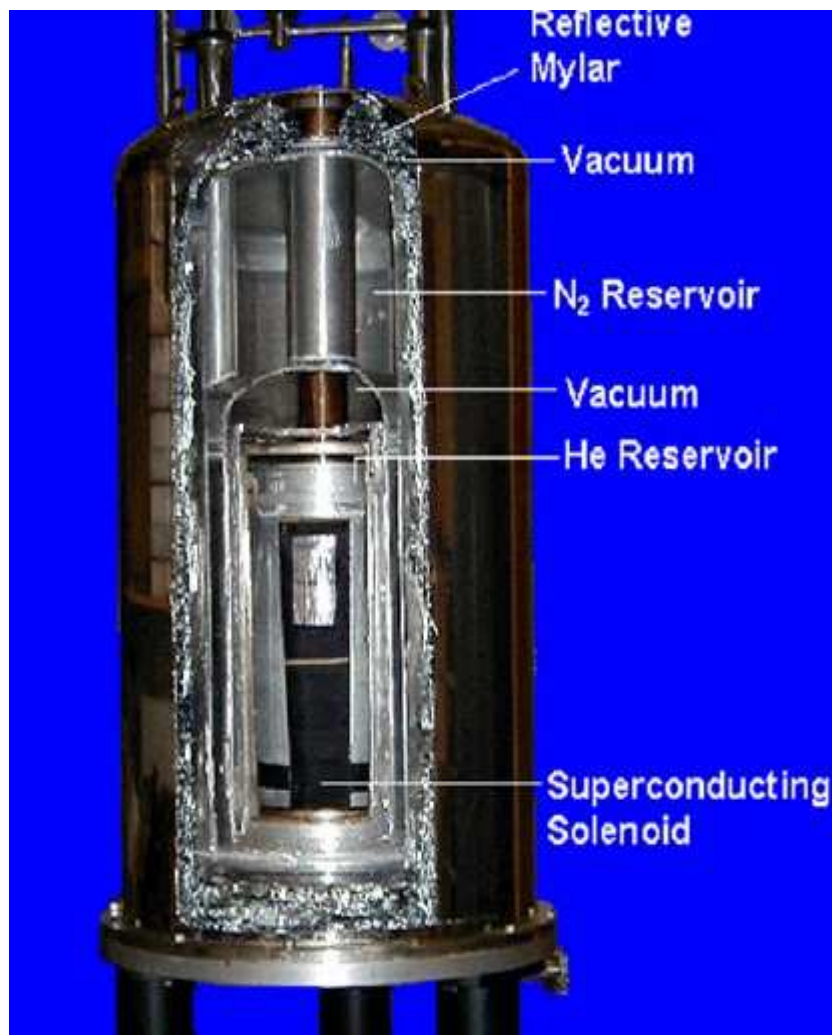
- **ekvivalentní jádra** (např. 3 vodíky ve skupině CH_3) **se navzájem neštěpí** – netvoří multiplety
- **multiplicita pásů m** je dána počtem magneticky ekvivalentních jader na sousední skupině – n se spinovým číslem l
- pro ^1H , kde $l = 1/2$ platí vztah **$m = n + 1$** (obecně $m = 2.n.l + 1$)
- tedy signál CH_3 je štěpen na $m = 2 + 1 = 3$... triplet
signál CH_2 je štěpen na $m = 3 + 1 = 4$... kvadruplet

Schéma NMR spektrometru



Magnety

- magnet – supravodivý solenoid



Solenoid – válcová cívka s namotaným drátem ze supravodivé slitiny (Nb-Sn). Po nabití funguje několik let, ale nesmí dojít k jeho ohřátí. Proto se chladí na nízkou teplotu kapalným He (4 K), které je chlazeno kapalným N₂ (77 K). Dusík nutno vyměňovat každý týden, He po několika měsících.



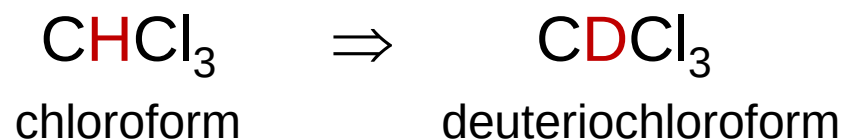
Kyvety a rozpouštědla

- kyvety mají různé průměry, nejčastěji 5 mm
- kyveta v přístroji rotuje pro zprůměrování nehomogenit magnetického pole



rozpouštědla:

v ^1H NMR spektrometrii nesmí mít rozpouštědlo vodík, protože mohou signály rozpouštědla interferovat se signály vzorku, proto se nahrazuje vodík deuteriem a používají se deuterovaná rozpouštědla



v ^{13}C NMR spektrometrii jsou zbytkové signály rozpouštědla vždy přítomny, ale protože je menší pravděpodobnost překryvu signálů, tak to není takový problém

Závěr



DĚKUJI ZA POZORNOST

- literatura
- Šimůnek P., *Nukleární magnetická rezonance*, přednášky, Univerzita Pardubice, Pardubice, 2008.
- Matějka P., *Spektrometrie NMR*, přednášky, VŠCHT Praha, Praha, 2005.
- <http://www.isibrno.cz/nmr/stav6.html> (staženo 19.08.2010).