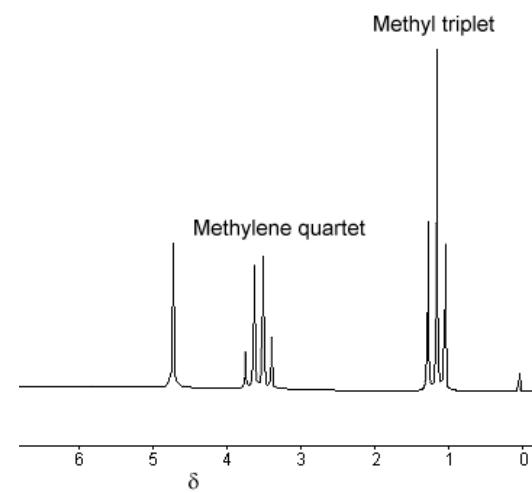
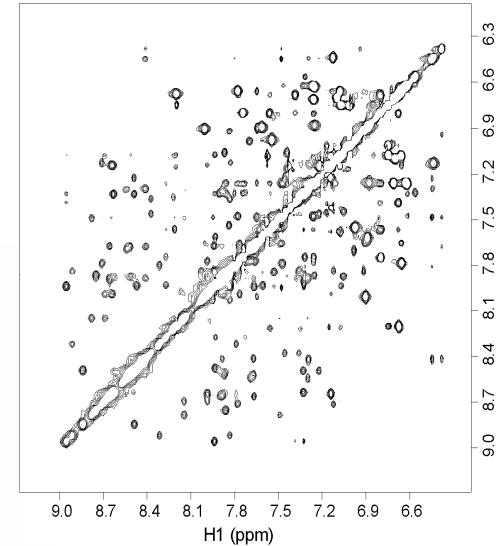
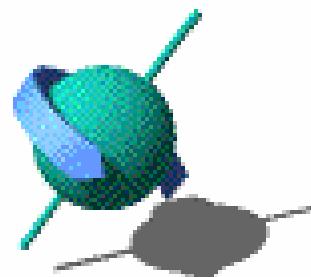


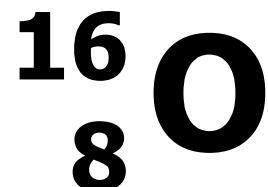
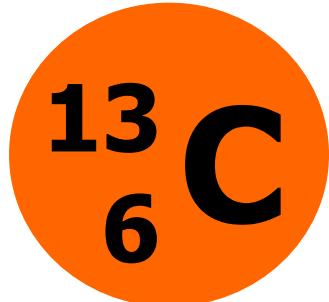
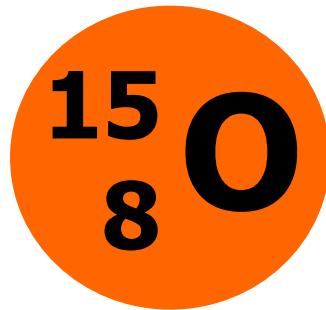
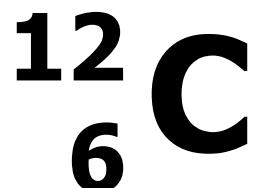
# NMR spektroskopie



# NMR spektroskopie

- Nukleární Magnetická Resonance - spektroskopická metoda založená na měření absorpce elektromagnetického záření (**rádiové frekvence** asi od 4 do 900 MHz). Na rozdíl od UV, VIS a IR absorpce jsou do tohoto procesu zahrnuty **jádra** atomů ne vnější elektrony.
- je způsobena **spinovou rezonancí jader** v silném magnetickém poli
- aplikovat pouze na atomy, jejichž jádro má **spinový moment** (pouze atomy jejichž jádra mají **lichý počet** protonů nebo neutronů)

# Která jádra jsou NMR aktivní?



# NMR spektroskopie

- ❑ Absorbované záření způsobuje přechody mezi energetickými stavů vzniklými rozštěpením jednoduchých stavů s nenulovým spinem v magnetickém poli.
- ❑ Jelikož **lokální magnetické pole** (a tím i velikost rozštěpení) je ovlivněno **okolím atomu**, lze tak studovat vlastnosti okolí sondujícího atomu.
- ❑ Metoda vhodná zvláště pro **studium struktury uspořádání molekul**.

# Historie NMR



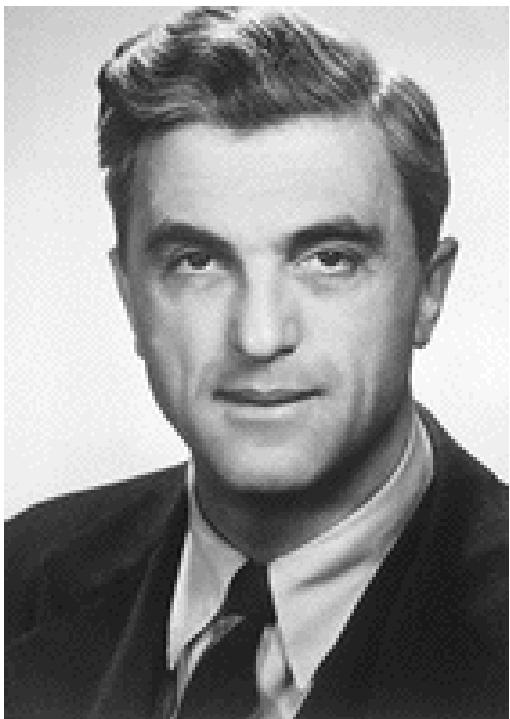
- Teorii NMR předložil W. Pauli v roce 1924. Navrhнул, že vystavení atomových jader (s **jaderným spinem** a **magnetickým momentem**) silnému magnetickému poli by mělo vést k rozštěpení jejich energetických hladin.

# NMR

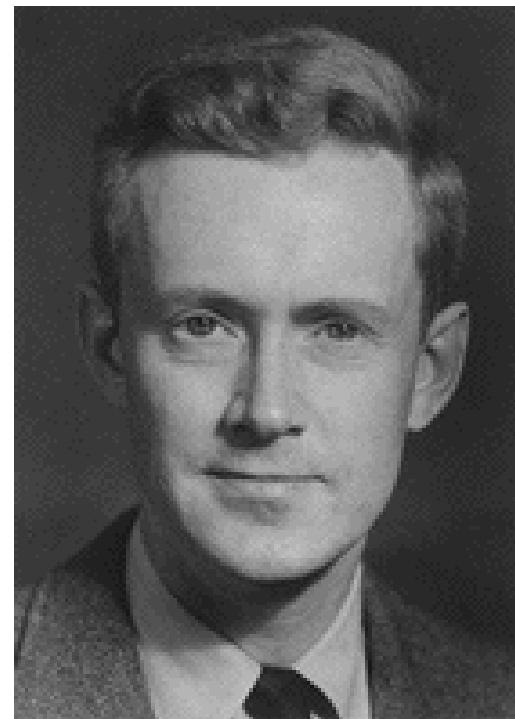


- Avšak až roku 1946 Bloch (Stanford) a Purcell (Harvard) dokázali, že jádra atomů absorbují záření rádiových vln v silně magnetickém poli jako důsledek rozštěpení energetických hladin, což bylo způsobeno magnetickým polem. Tito fyzici dostali za tento objev Nobelovu Cenu.

# NMR



**Felix Bloch**  
**(1905-1983)**



**Edward M. Purcell**  
**(1912-1997)**

# Atomové jádro

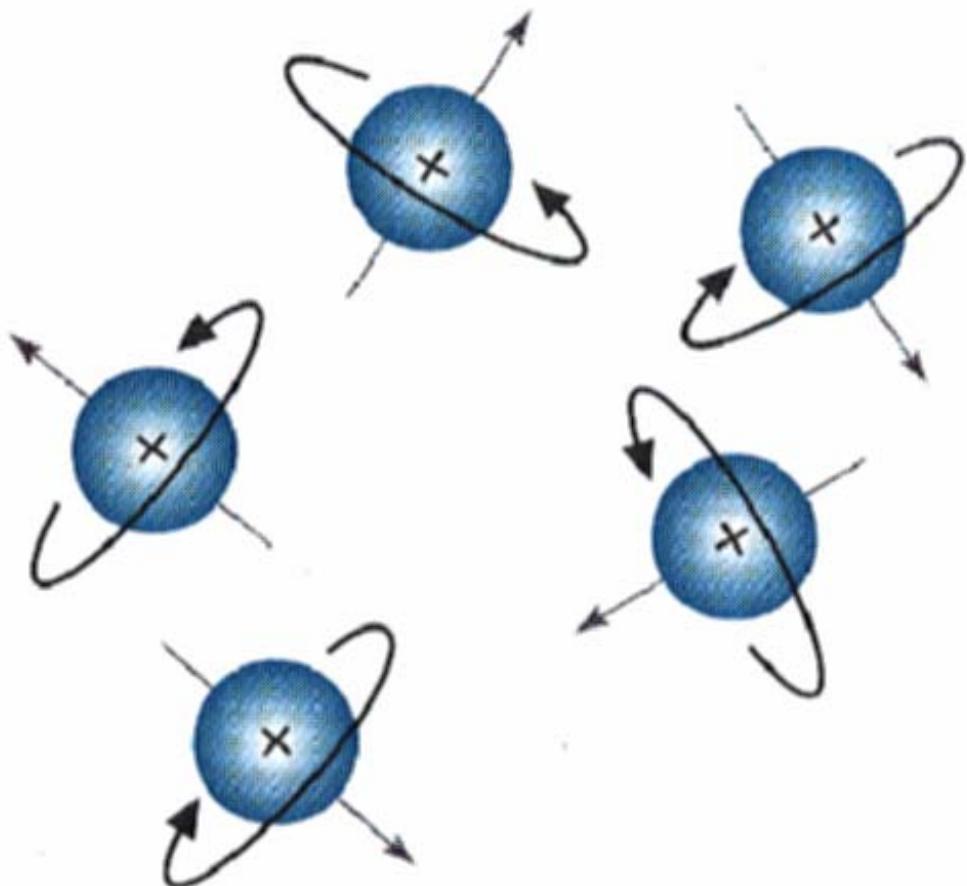
- Jádra mají vnitřní moment hybnosti  $\mathbf{p}$  zvaný jaderný spin.  
Maximum pozorovatelné složky tohoto momentu hybnosti je **kvantováno**.
- $m = I, I-1, \dots, -I$  ( $m$  je mag. kv. číslo)
- pro  $I = 1/2$ , dva stavy  $m = 1/2, -1/2$
- magnetický moment  $\mu$
- $g$  gyromagnetický poměr

$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \frac{h}{2\pi} \mathbf{I}$$

# Rozdělení atomových jader

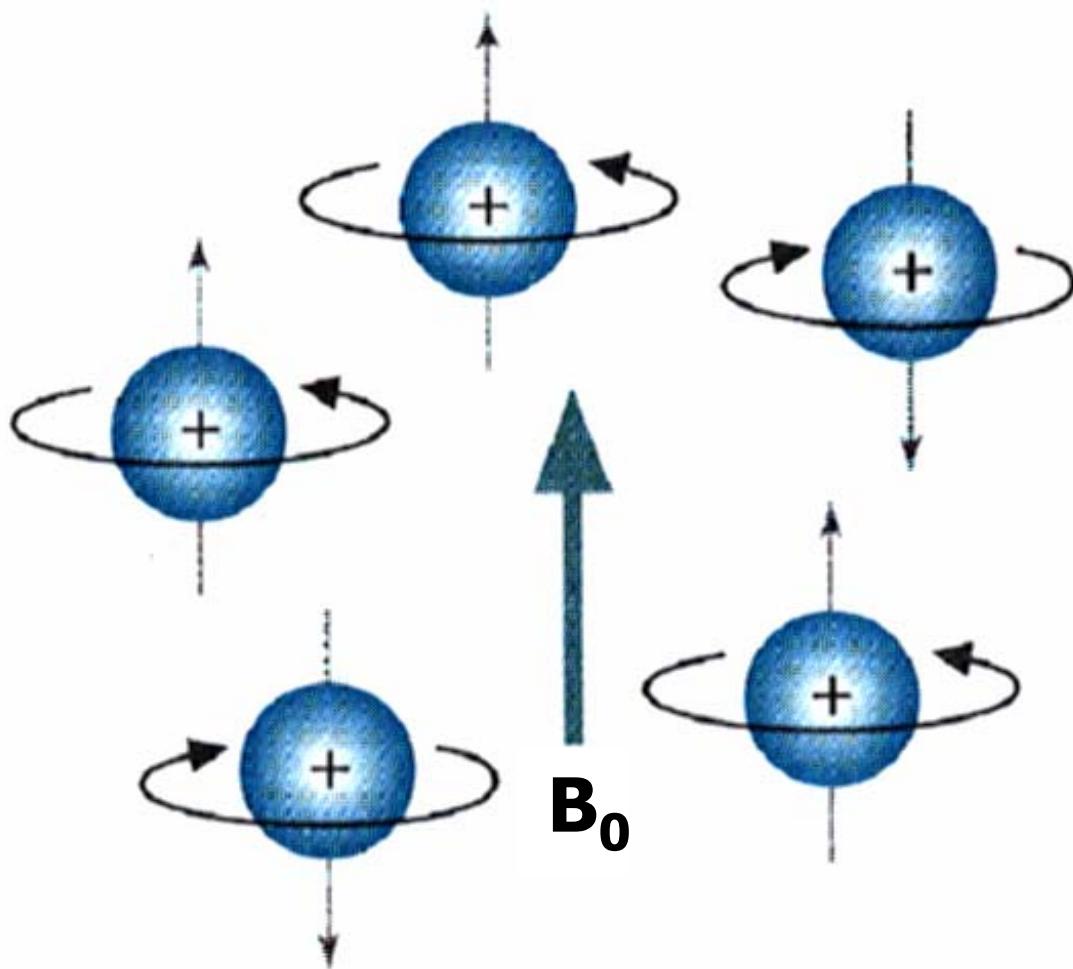
- **sudý počet protonů a neutronů** - kvantové číslo jaderného spinu **I=0**, nemají jaderný magnetický moment, **nejsou** v NMR pozorovatelná ( $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ )
- **nepárový počet protonů a neutronů** - **celočíselný spin**, vedle jaderného magnetického momentu mají i kvadrupólový moment, **obtížně** měřitelná v NMR ( $^{14}\text{N}$ )
- **liché hmotnostní nukleonové číslo** - **poločíselný spin**, mají jaderný magnetický moment, **snadno** měřitelná v NMR ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{31}\text{P}$ )

# Atomové jádro



Protony se svým lokálním náhodně orientovaným magnetickým polem, směr je naznačen rovnou šipkou

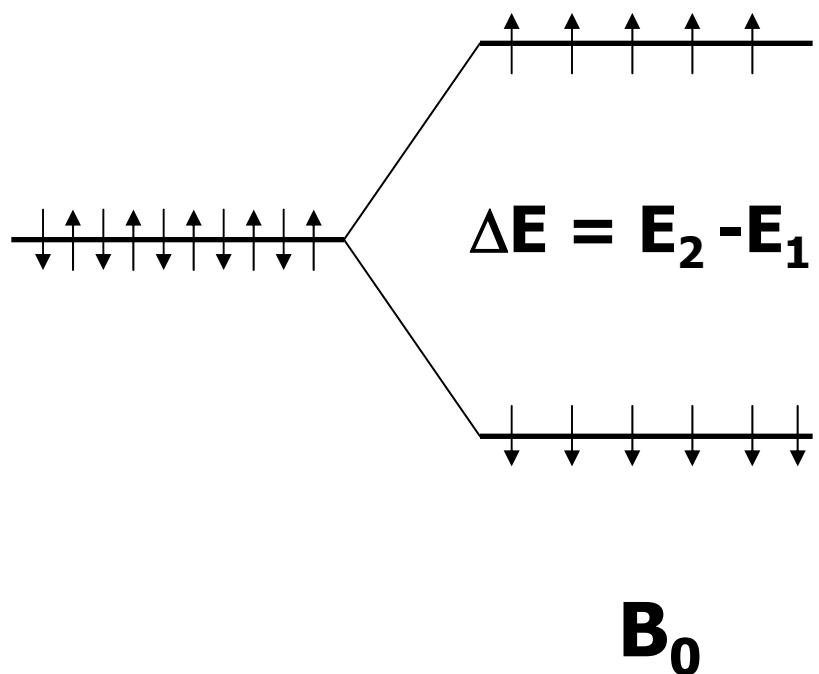
# Atomové jádro



Protony ve vnějším magnetickém poli  $B_0$  (magnetická indukce, jednotka 1T = tesla)

Podobně jako spin elektronu, zaujímá i spin jádra ve vnějším magnetickém poli **polohy**, které se liší energií.

# Jádra v mag. poli



Populace stavů

$N_2$

$N_1$

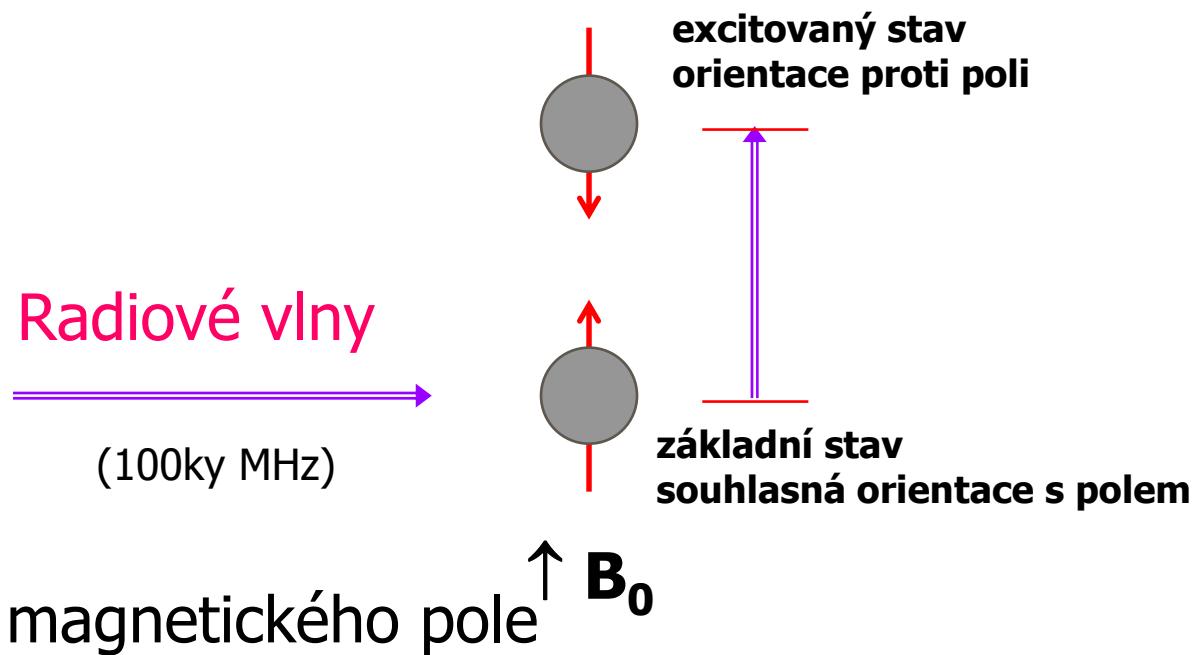
$$\frac{N_1}{N_2} = e^{\Delta E / k_B T}$$

Poměr populací stavů  
je dán Boltzmannovým  
rozdělením,  $\Delta E$  bývá  
malé

# Absorpce radiových frekvencí

## ☐ Co se děje v NMR experimentu?

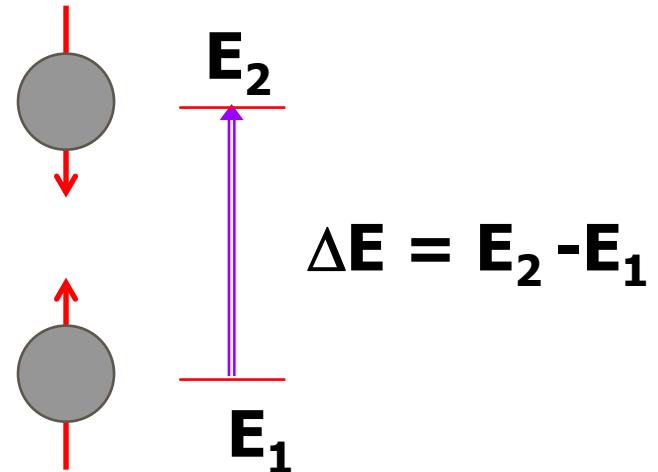
- jádra, na něž působí silné a stálé magnetické pole, jsou excitována radiovými vlnami



# Blochova teorie

- pro jádra s  $I=1/2$

$$\Delta E = \gamma \frac{h}{2\pi} \mathbf{B}_0$$



$\gamma$  gyromagnetická konstanta     $\uparrow \mathbf{B}_0$

$$\gamma / 2\pi \quad {}^1_1 \mathbf{H} = 42.577 \text{ MHz.T}^{-1}$$

$${}^{13}_6 \mathbf{C} = 10.705 \text{ MHz.T}^{-1}$$

# Larmorova frekvence

- absorpce nastává za **rezonanční** podmínky

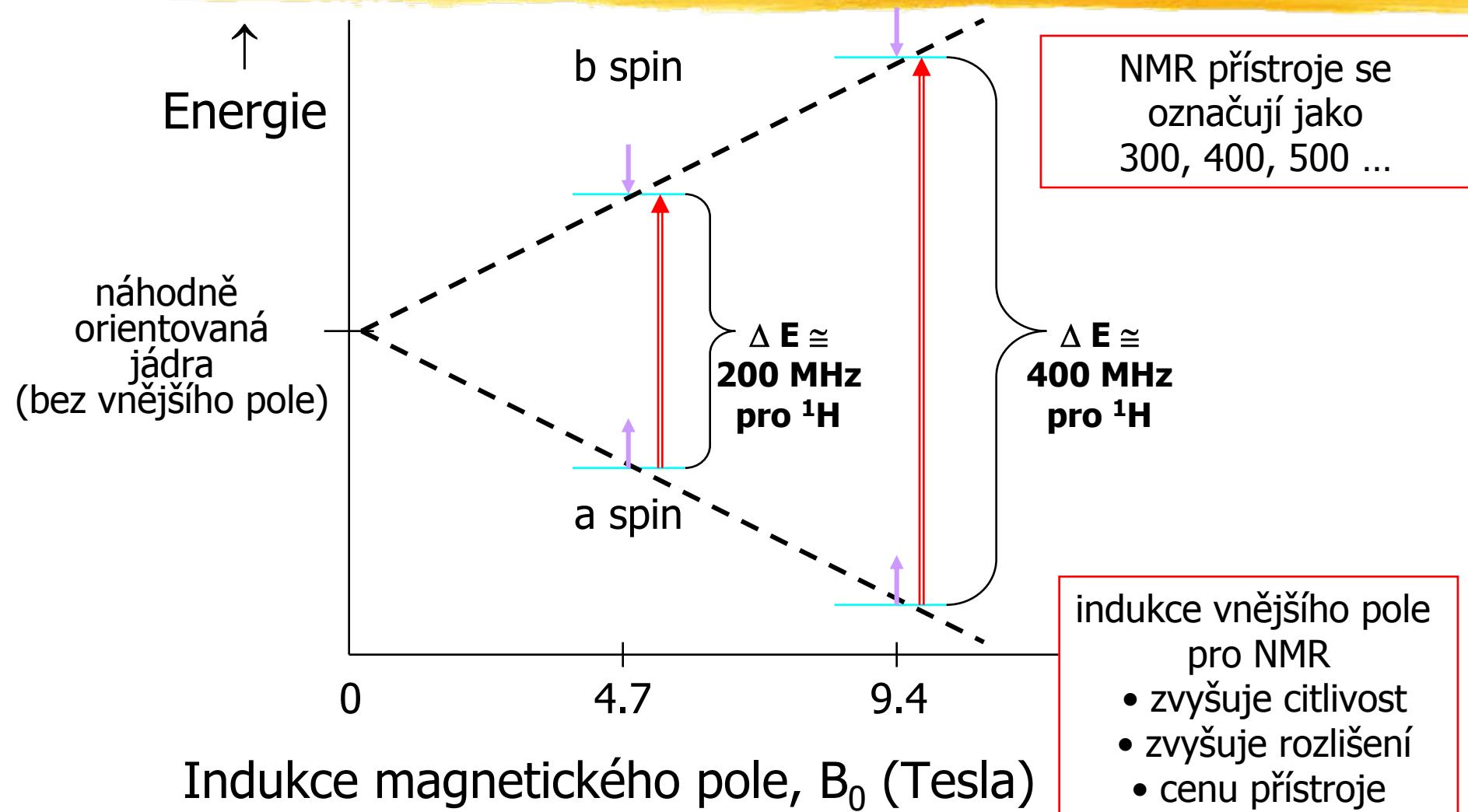
$$\Delta E = \gamma \frac{h}{2\pi} \mathbf{B}_o = h\nu$$

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} \mathbf{B}_o$$

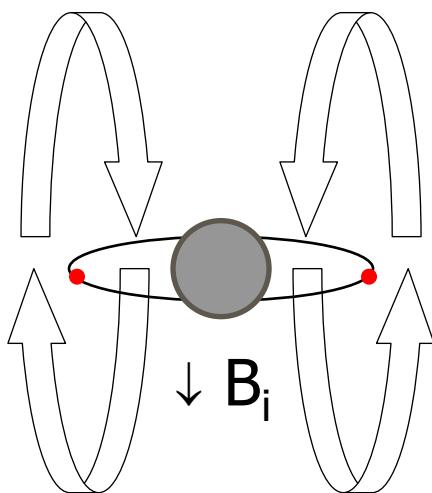
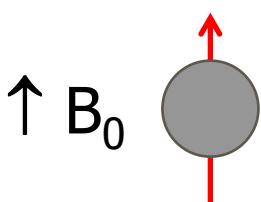
$$\nu(^1_1\text{H}) = \mathbf{42.58 \text{ MHz}}; \mathbf{B}_o = \mathbf{1 \text{ T}}$$

$$\nu(^1_1\text{H}) = \mathbf{200 \text{ MHz}}; \mathbf{B}_o = \mathbf{4.7 \text{ T}}$$

# Intenzita vnějšího pole

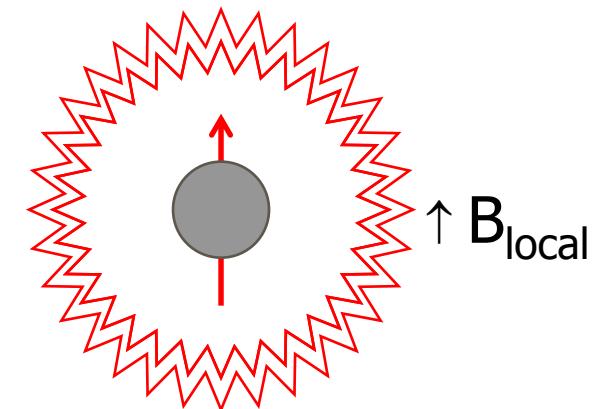


# Stínění jader elektrony



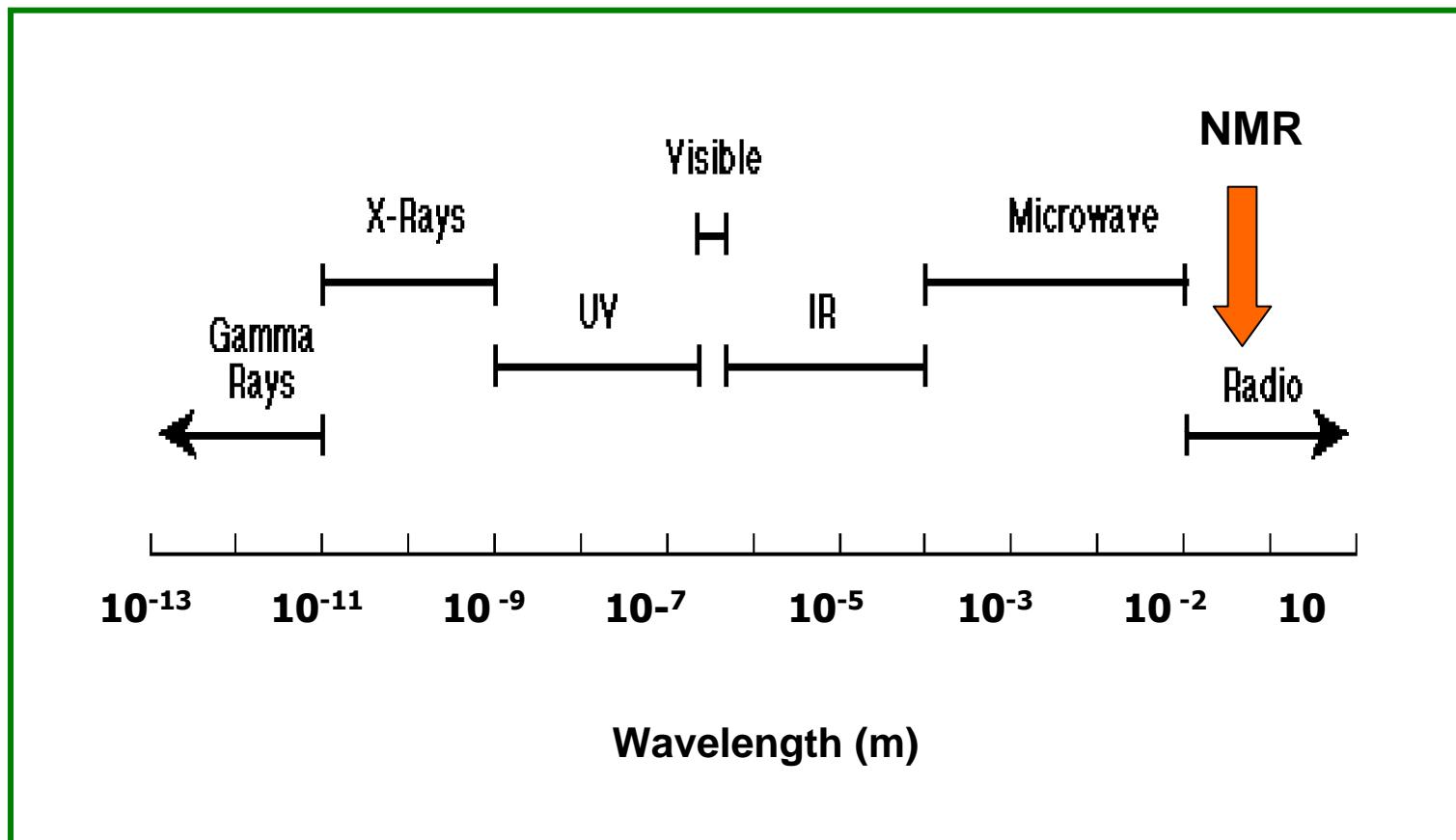
holé jádro ( $H^+$ )  
bezezbytku cítí vliv  
vnějšího pole ( $B_0$ )

elektrony vytváří  
indukované pole ( $B_i$ )  
orientované proti  $B_0$



elektronová hustota částečně  
**odstíňuje** jádro před  
 $B_0$  takže to cítí  $B_{\text{local}}$

# energetická pozice NMR



# Chemický posun

- jádra, která nemají stejné chemické okolí se liší rozložením elektronů a tím i **intenzitou stínění jádra**
- intenzita stínění  $\approx$  vnějšímu mag. poli  $B_0$  a je charakterizována **stínící konstantou  $\sigma$**
- rezonanční frekvence jádra je při různých vnějších polích posunuta o určitý zlomek tohoto pole
- **nejvíce stíněná jádra** - nejvíce vpravo, posunuty k vyššímu poli

# Chemický posun

$$\mathbf{B}_{\text{eff}} = \mathbf{B}_o(1 - \sigma)$$

$\sigma$  stínící konstanta ovlivňuje rezonanční frekvenci jádra  
= **chemický posun**

$$\nu_i = \frac{\gamma}{2\pi} \mathbf{B}_o(1 - \sigma_i)$$

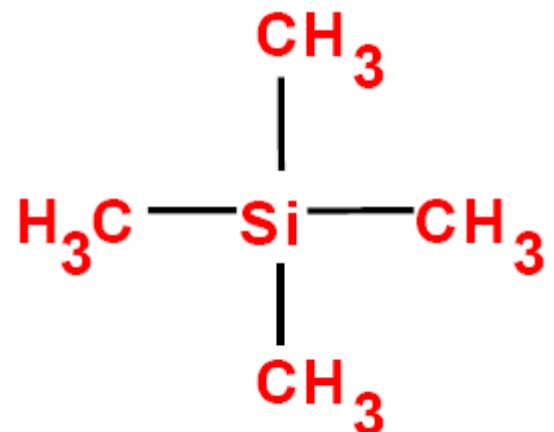
# Chemický posun

- rezonanční frekvence jsou jen nepatrně posunuty, pro posun se používají jednotky **ppm** (miliontiny vnějšího pole)
- počátek stupnice se volí podle standardu - **tetramethylsilanu (TMS)**

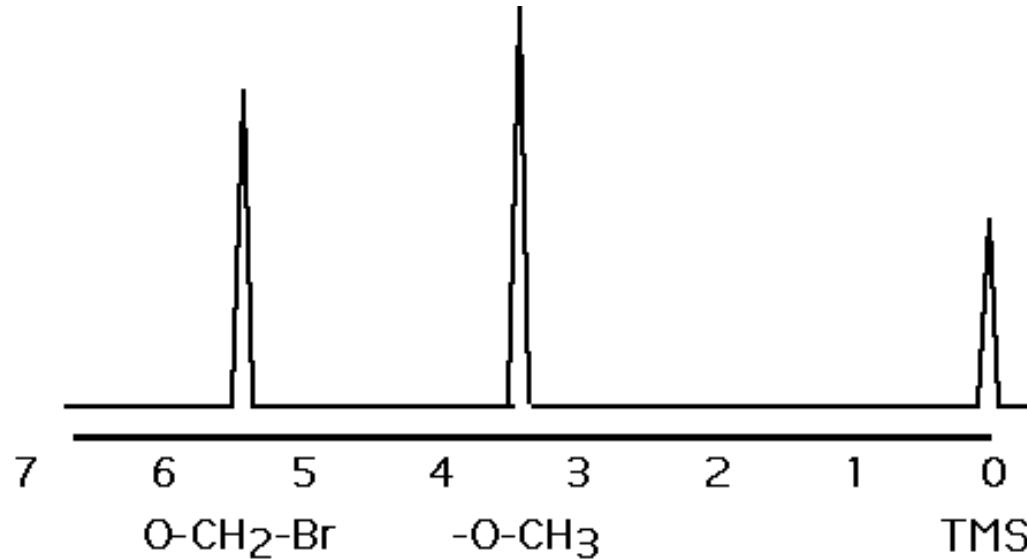
$$\delta (\text{ppm}) = \frac{\nu}{\nu_o} \times 10^6$$

# Standard - TMS

- jediná  $^1\text{H}$  linie (ostrá a intenzivní) snadno  
nalezitelná mezi ostatními
- singletový signál nejvíce vpravo
- přidává se přímo k měřené látce
- po skončení měření ho lze mírným zahřátím ze  
vzorku odstranit

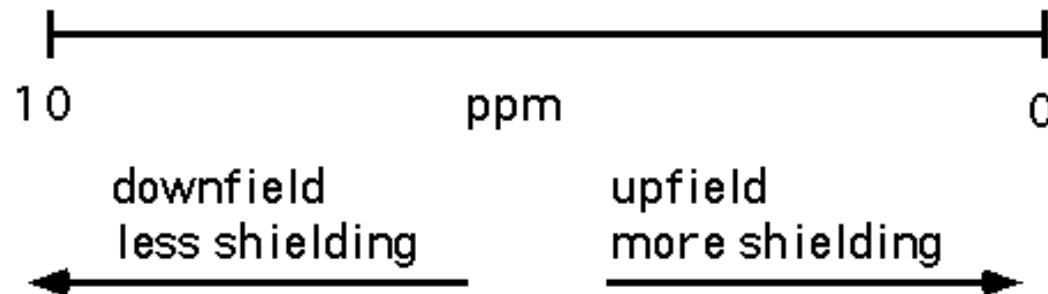


# Chemický posun

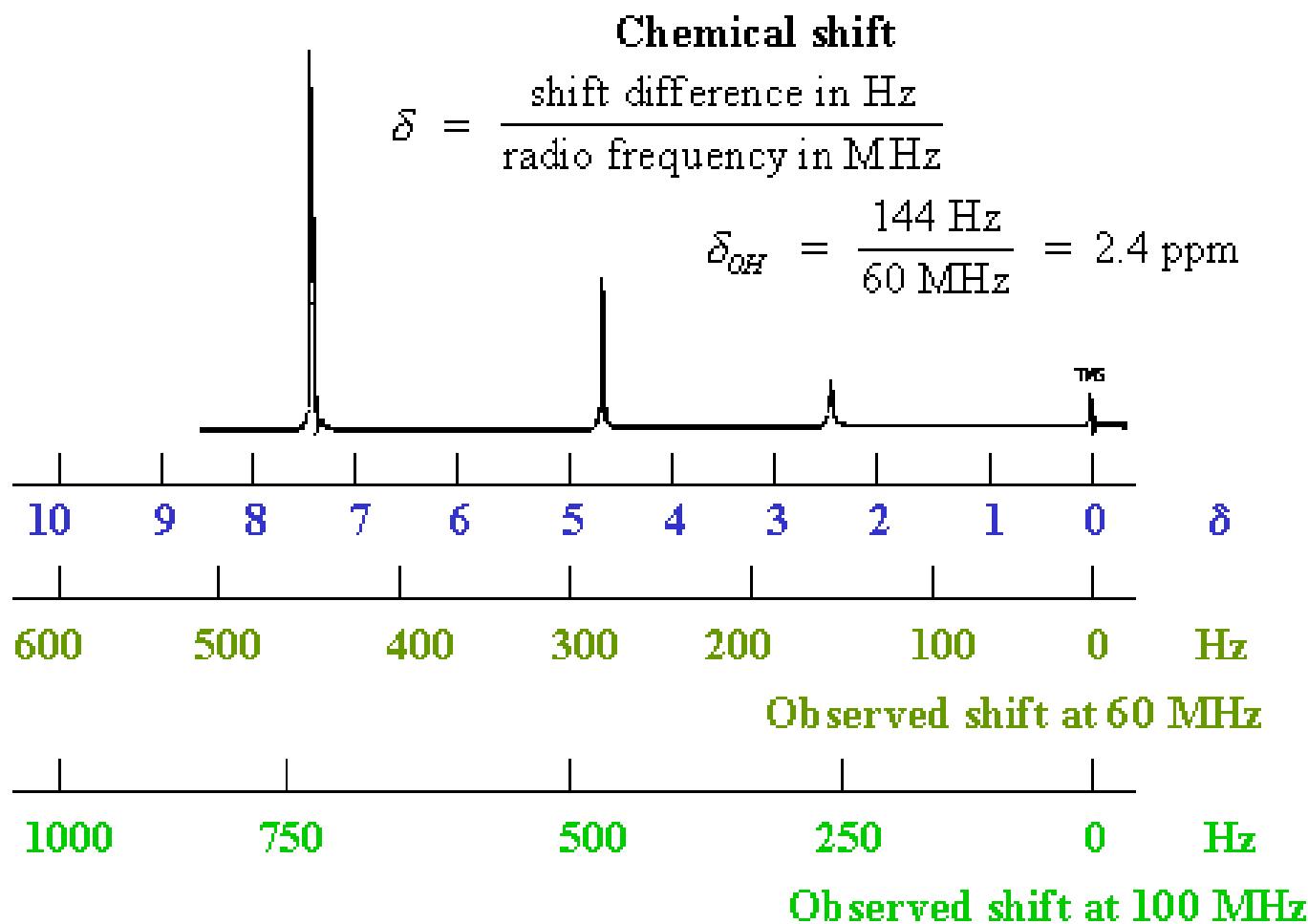


řídké elektronové okolí

husté elektronové okolí

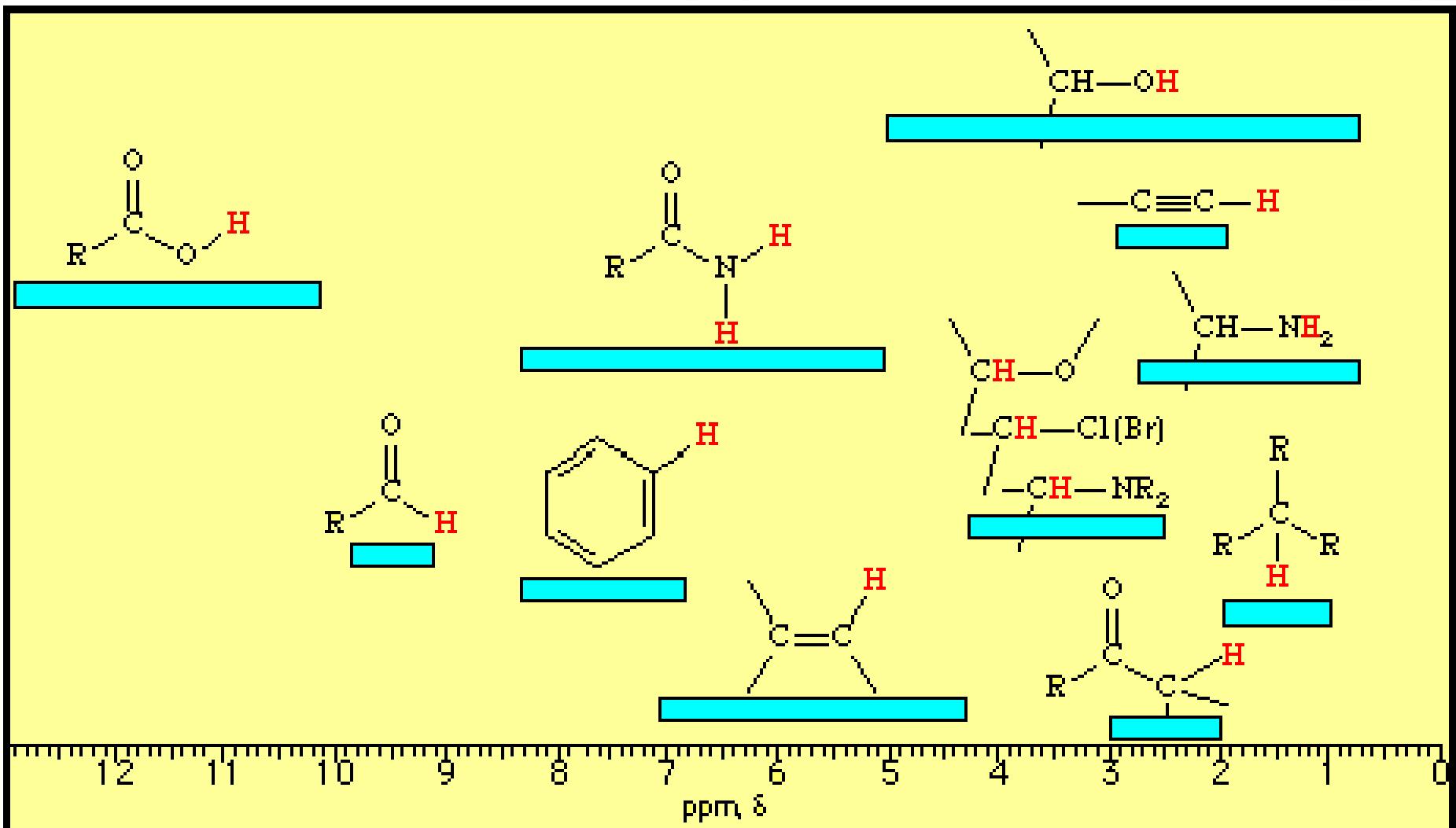


# Chemický posun



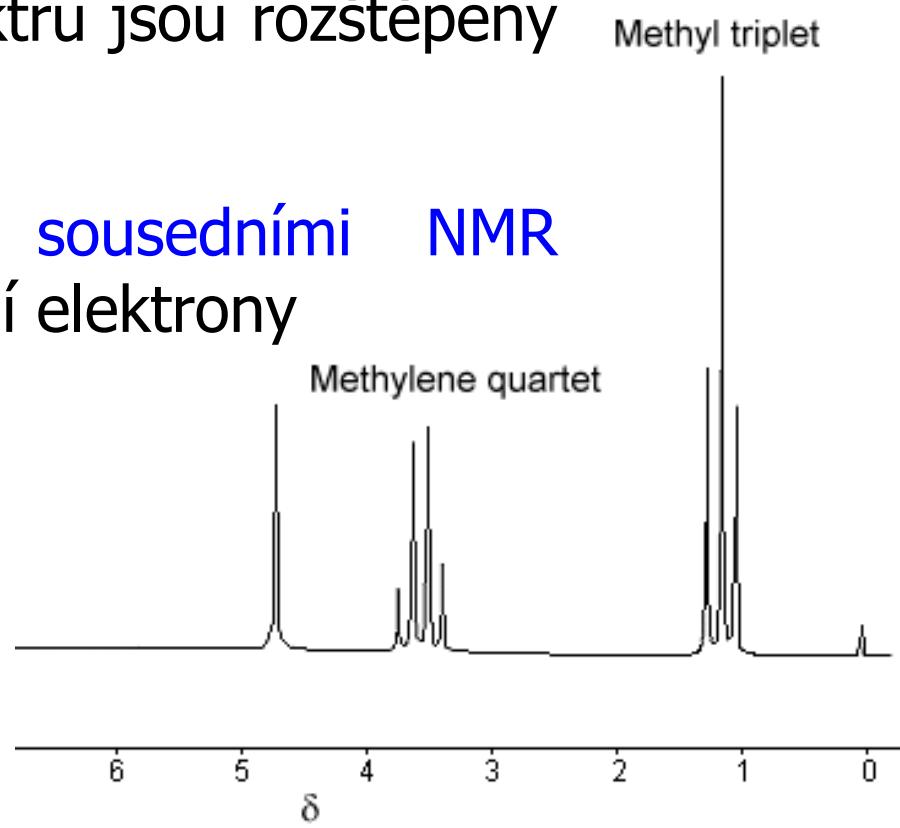
# $^1\text{H-NMR}$

## Příklady chemických posunů

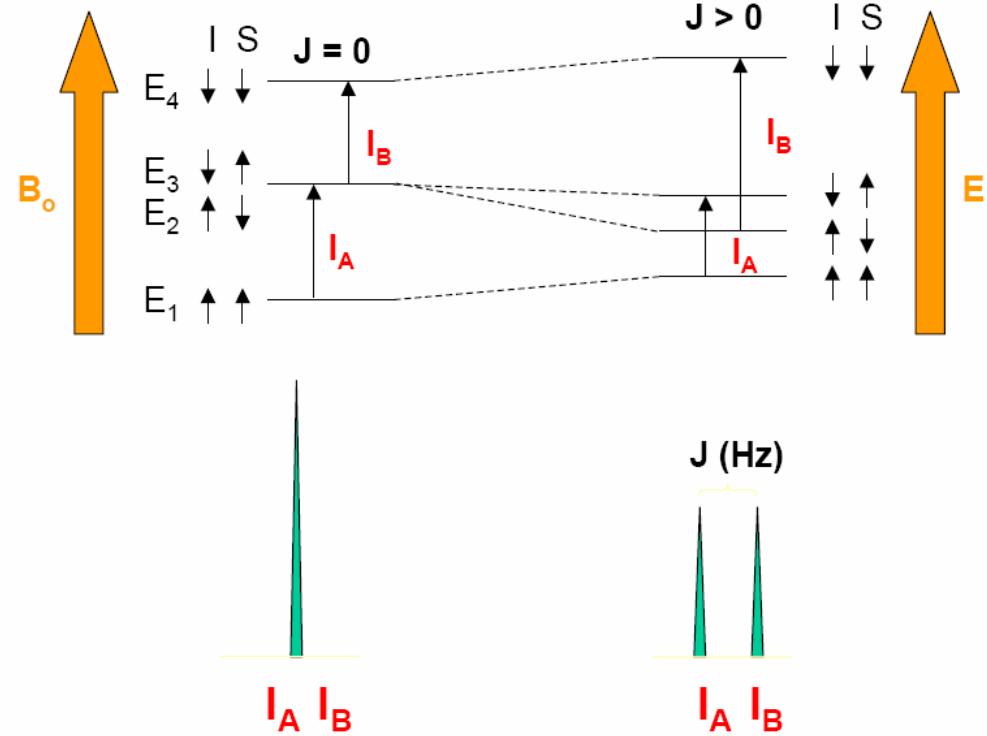
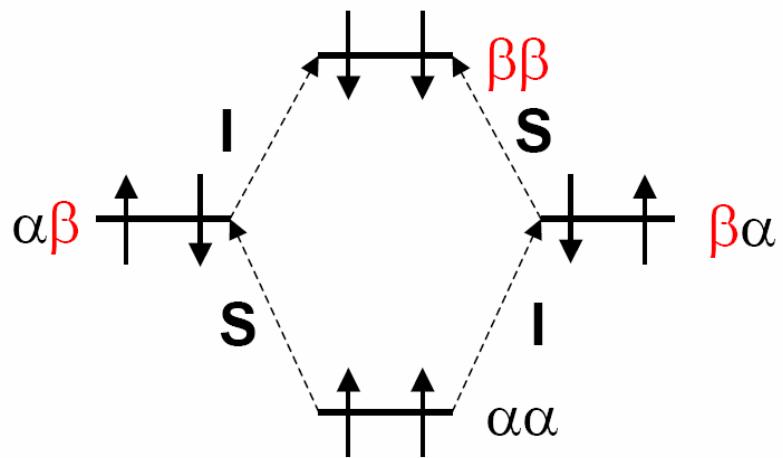


# Multiplicita signálů

- mluvíme o hyperjemné struktuře spektra
- některé signály v NMR spektru jsou rozštěpeny
  - spin-spinové štěpení
- způsobeno interakcí se sousedními NMR aktivními jádry přes valenční elektrony



# Multiplicità

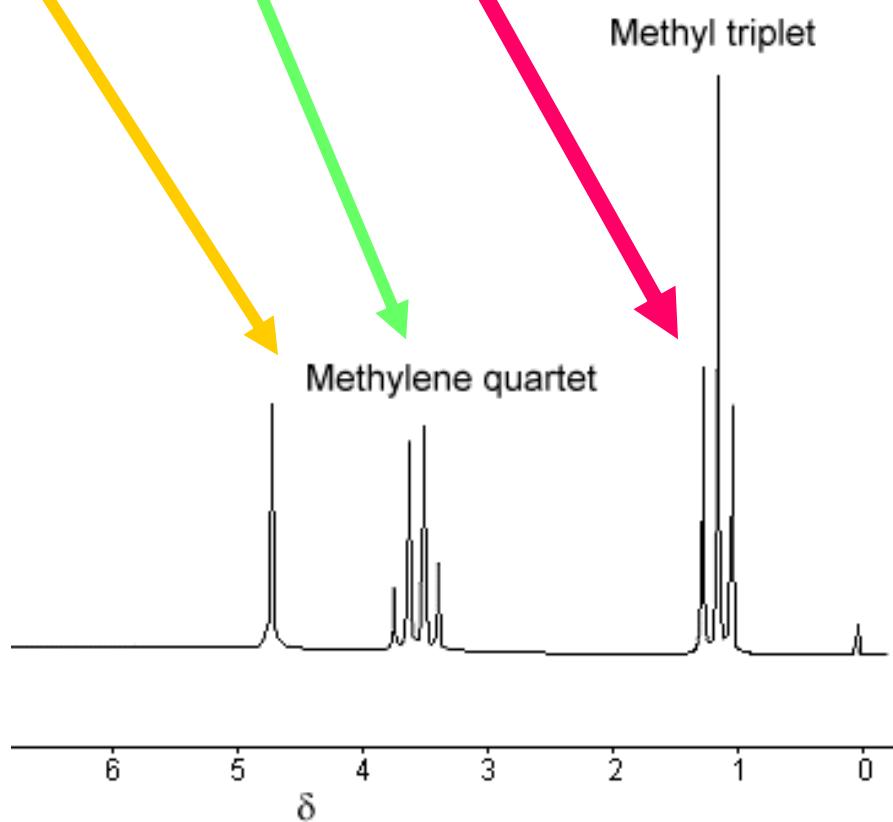


# Multiplicita signálů

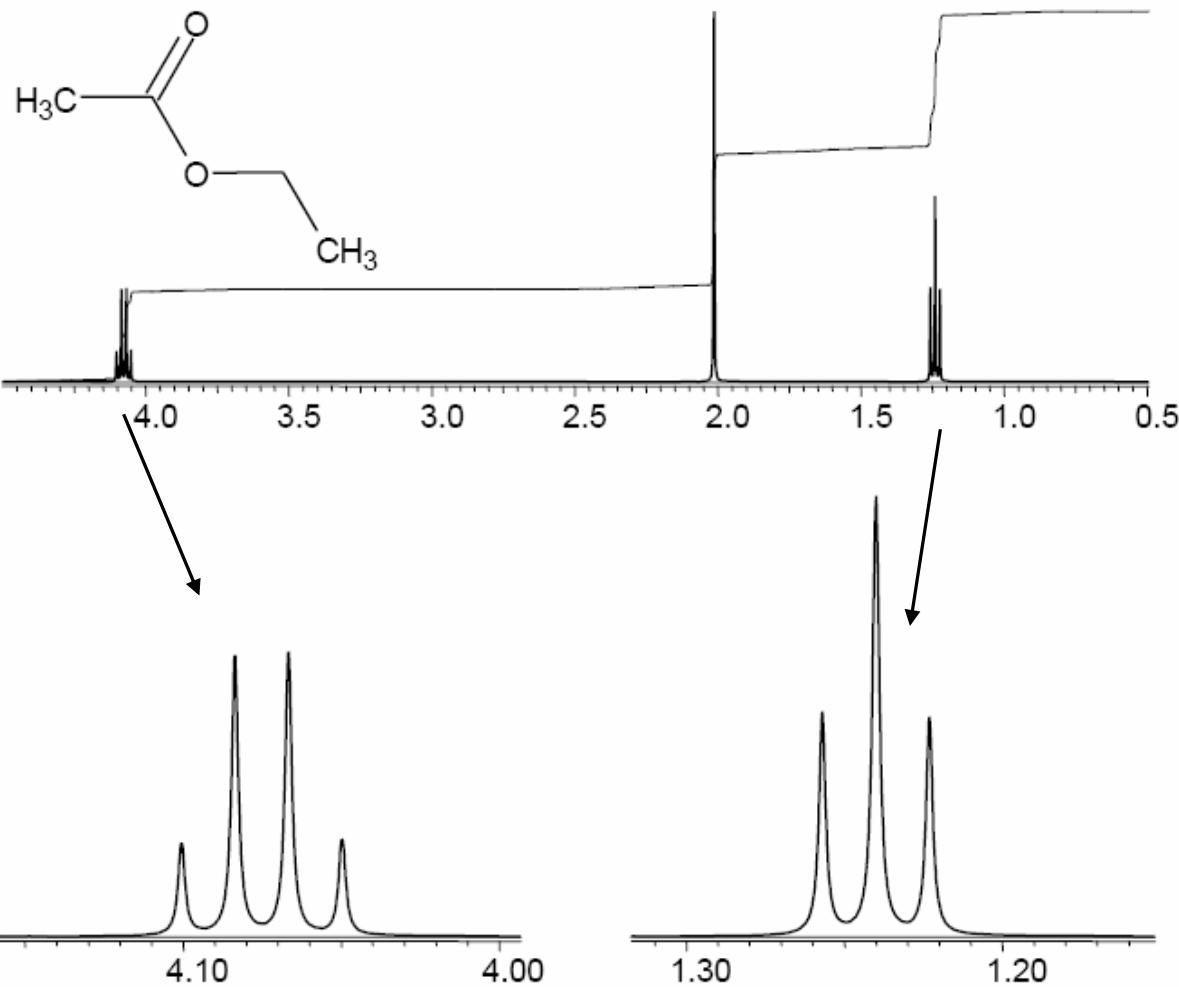
Pravidlo N+1

	sousedé	štěpení
$\text{CH}_3$	2	3
$\text{CH}_2$	3/1	4/2
OH	2	'3'

rychlá výměna, pozoruje se singlet



# Štěpení



# Relativní intenzity v multipletu



1 singlet

1 1 doublet

1 2 1 triplet

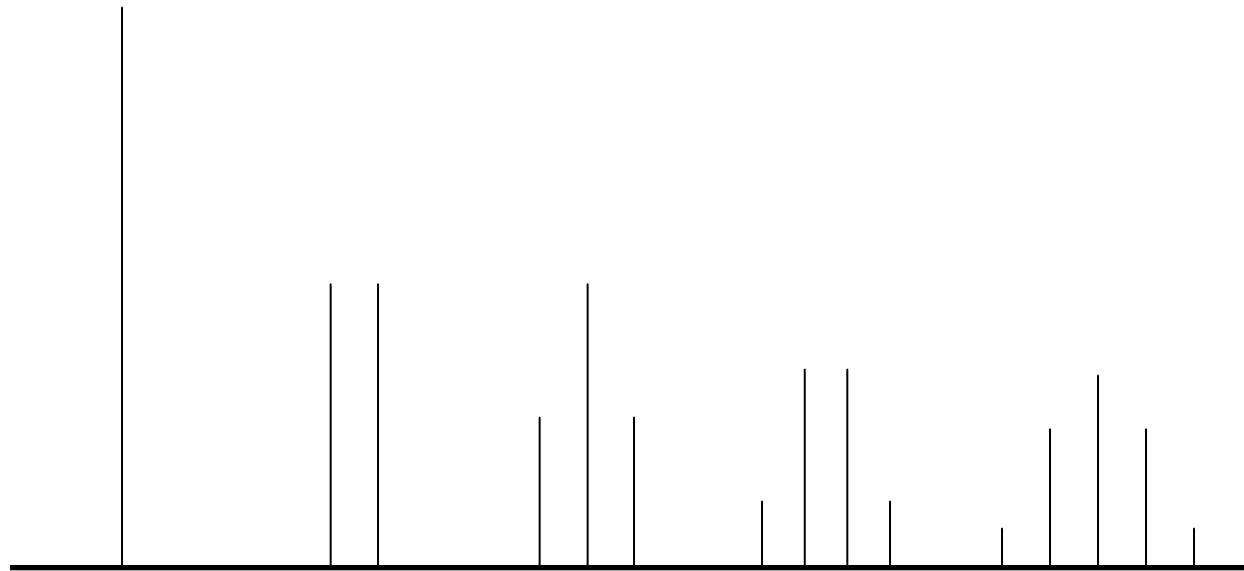
1 3 3 1 quartet

1 4 6 4 1 pentet

1 5 10 10 5 1 sextet

1 6 15 20 15 6 1 septet

# Multiplicita signálů

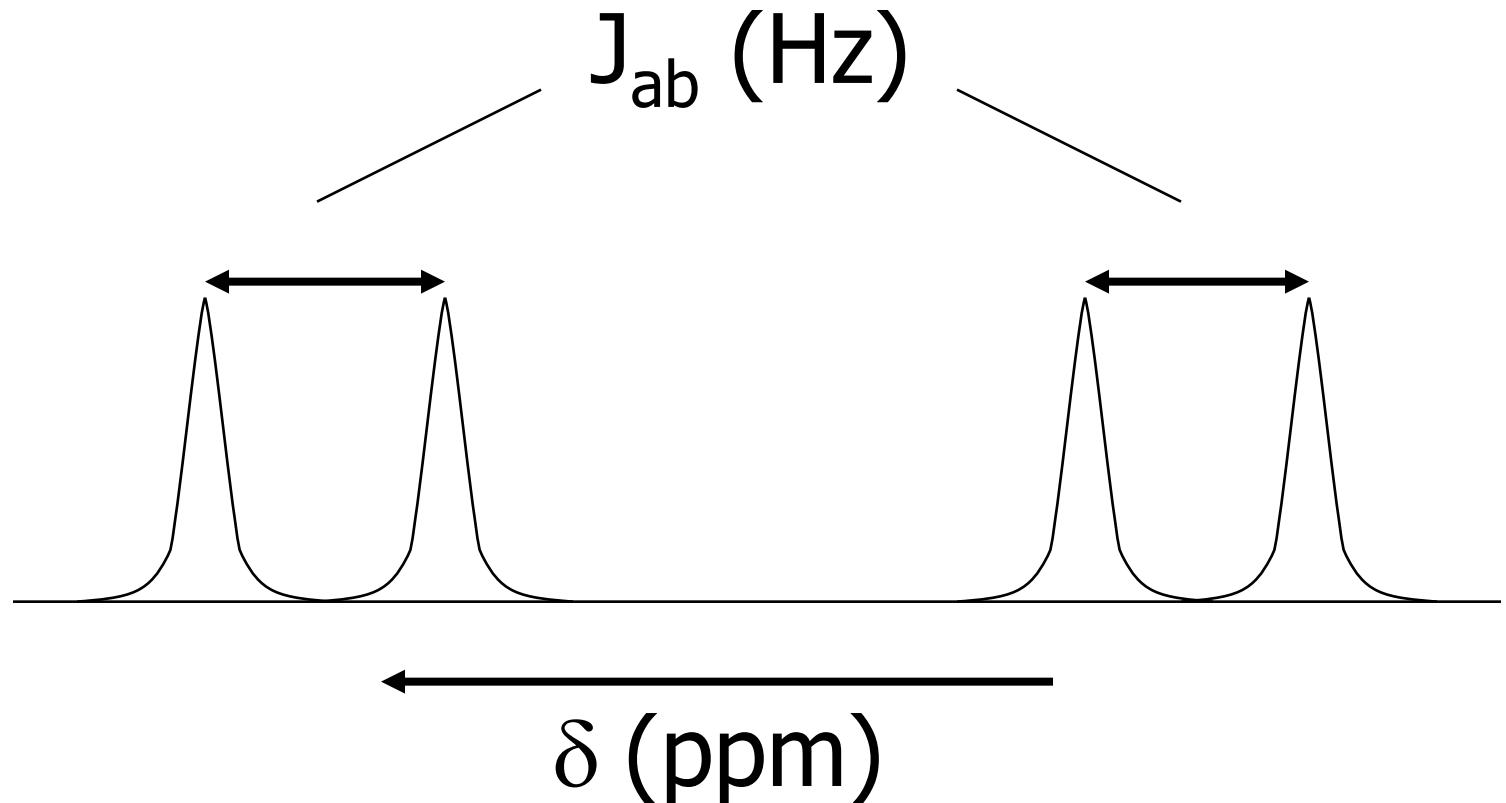


singlet    doublet    triplet    quartet    pentet

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

# Interakční (coupling) konstanta

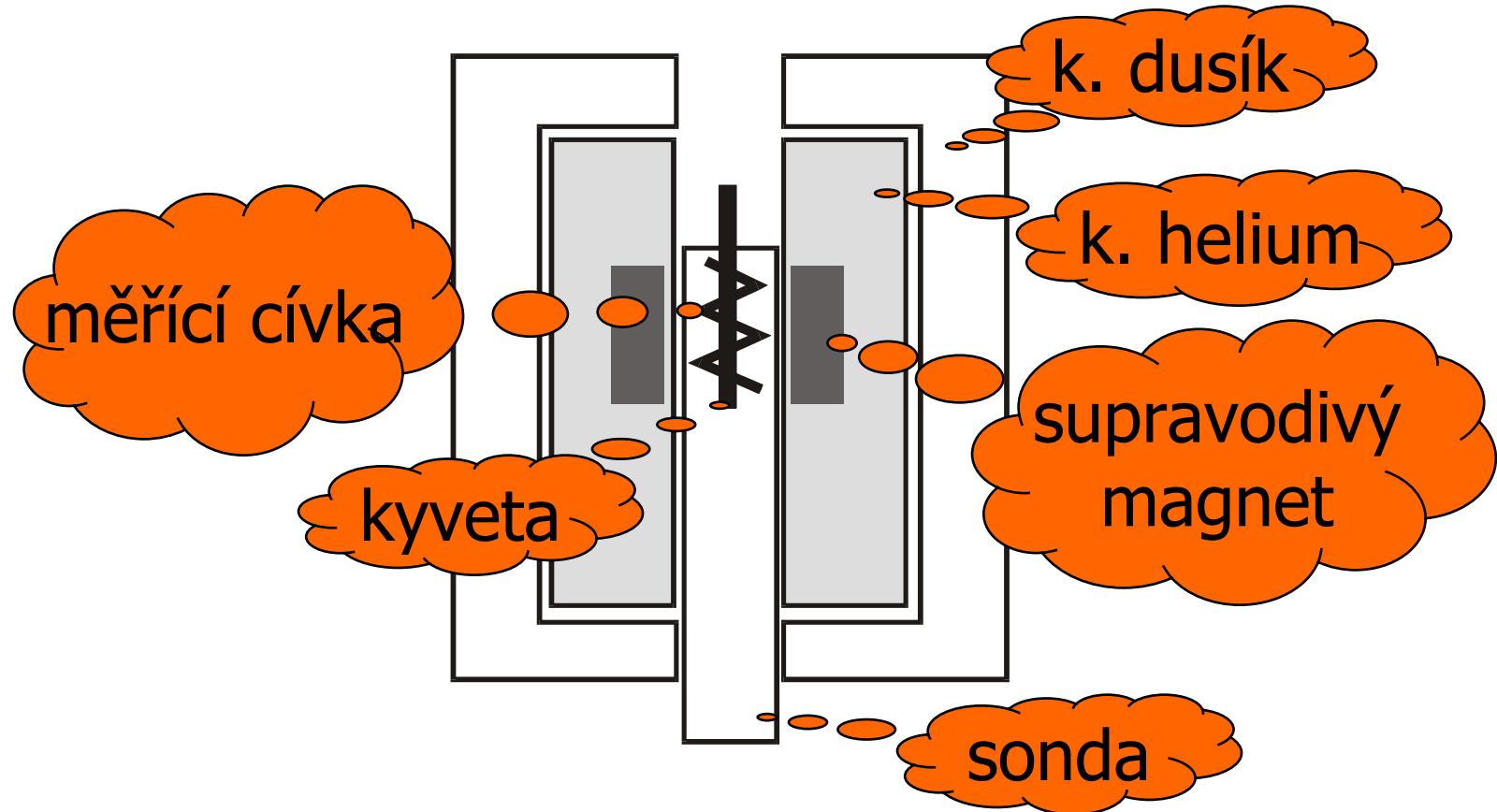
- vzdálenost rozštěpených signálů
- nezávisí na indukci vnějšího mag. pole



# Struktura z NMR

- **chemický posun**  $\delta$  - chemické okolí jádra
- **multiplicity** a **interakční konstanty J** - počet sousedních mag. aktivních jader a geom. uspořádání
- **integrální intenzity signálů** - počet ekvivalentních atomů v molekule
- korelační signály atp.

# NMR intrumentace



Vzorek obsahující magneticky aktivní jádra vložíme do magnetického pole a do blízkosti vzorku umístíme cívku, kterou protéká střídavý proud o frekvenci v oblasti MHz. Potom měníme spojité intenzitu magnetického pole  $B_0$  nebo frekvenci proudu v cívce. Při splnění rezonanční podmínky dojde k absorpci radiofrekvenčního záření.

# 400 MHz NMR Spektrometr



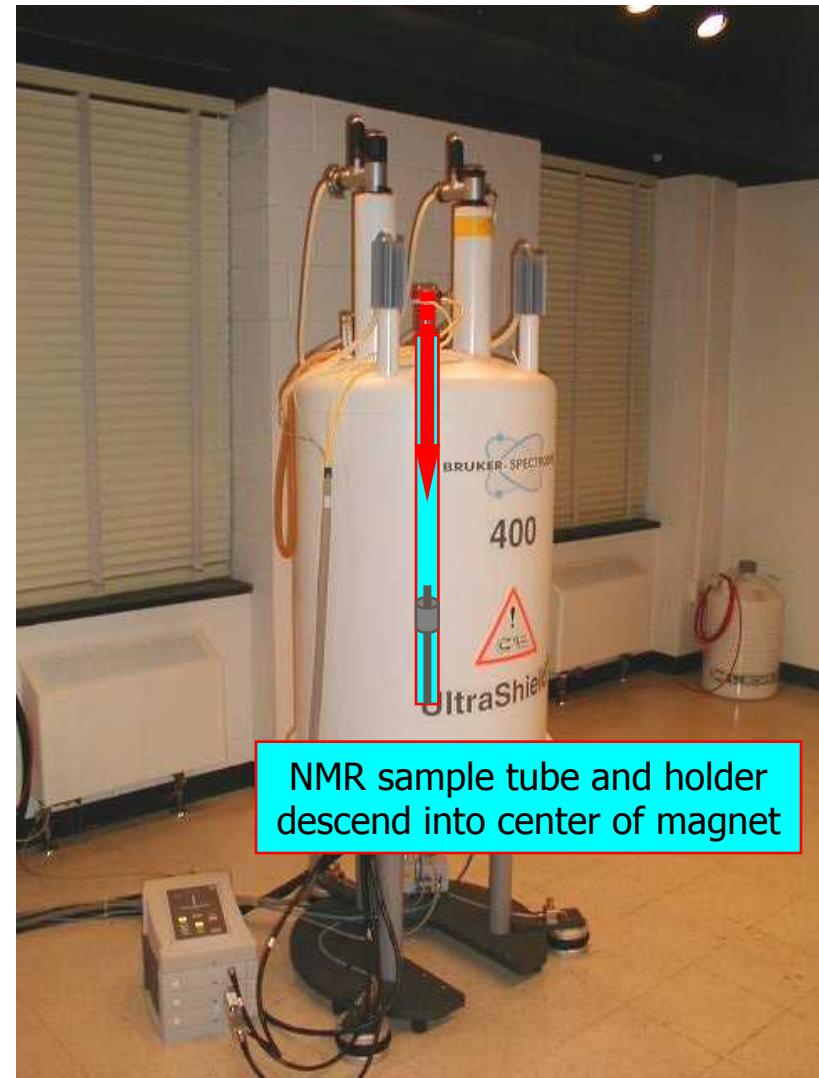
počítač

elektronika

supra-  
vodivý  
magnet

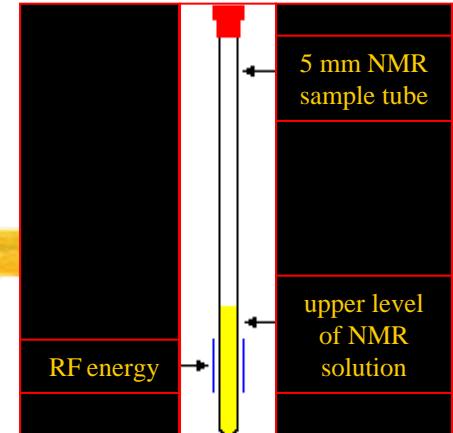
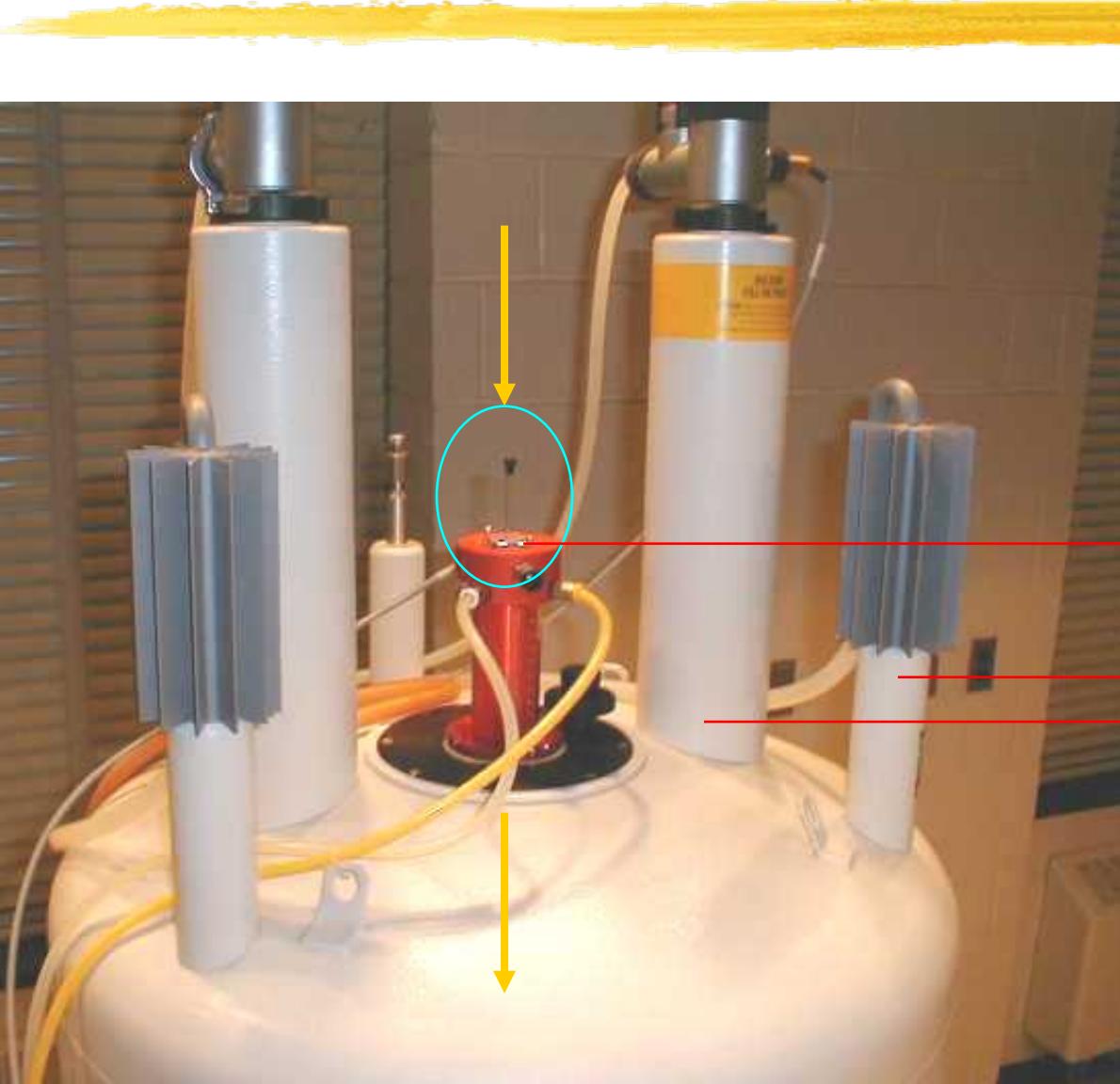
# 400 MHz supravodivý magnet

- síla magnetického pole 9.4 Tesla (94,000 gauss)
- 400 MHz je použitá frekvence pro detekci protonů v tomto poli



NMR sample tube and holder descend into center of magnet

# Umístění NMR vzorku



NMR vzorek  
je umístěn  
navrchu  
sondy

tekutý dusík  
 $-196^{\circ}\text{C}$  (77.4 K)

kapalné helium  
 $-269^{\circ}\text{C}$  (4.2 K)

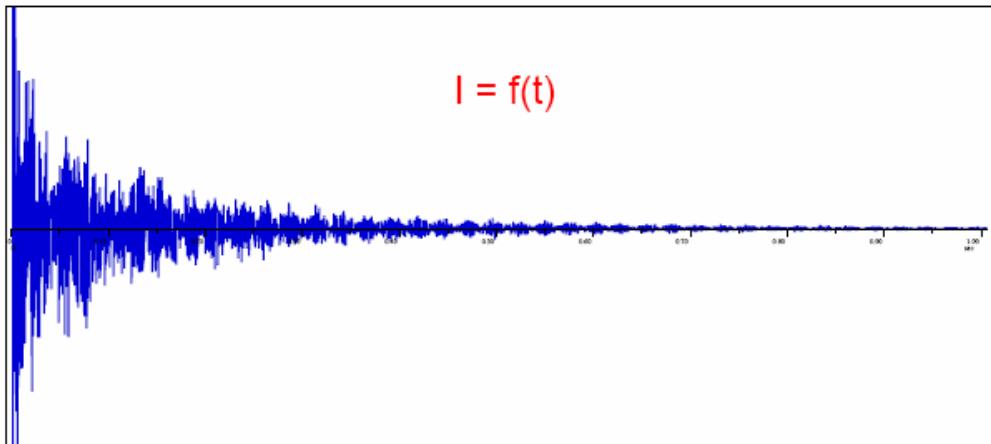
supravodivé magnety  
vyžadují neustálé  
chlazení

# Magnetické pole

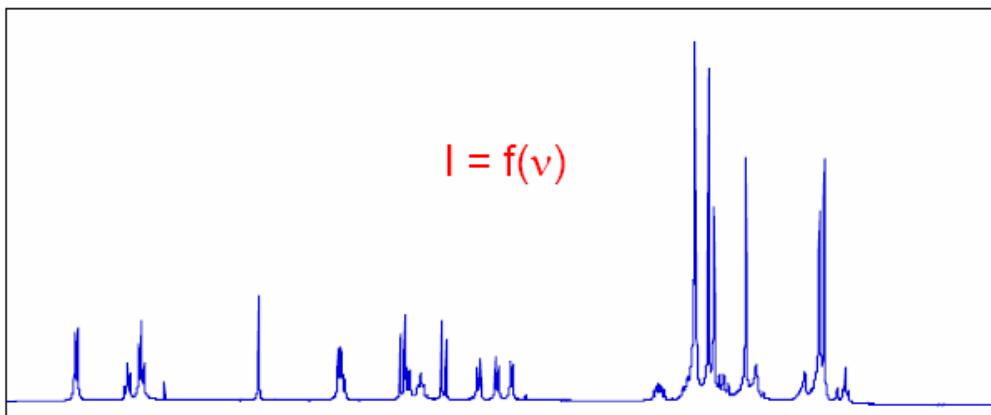


- vytváří supravodivé cívky (několik tisíc závitů, protéká proud 100 A)
- indukce 4 - 18 T
- homogenita pole se upravuje spec. sadou různě orientovaných cívek
- část nehomogenit možno eliminovat rotací kyvety

# FT-NMR



Po zpracování Fourierovou transformací dostaneme:



Všechna jádra excitována velmi krátkým radiofrekvenčním pulsem ( $\mu\text{s}$ ). Návrat jader do rovnovážného stavu možno sledovat jako FID (free induction decay, volné doznívání indukce).

# FID



- tvar exponenciálně tlumené periodické funkce představující součet sinusoid s frekvencemi příslušejícími jednotlivým signálům
- představuje závislost intenzity proudu indukovaného ve snímací cívce na čase
- informace o fázovém posunu každé frekvence vůči fázi excitační frekvence
- Fourierovou transformací se FID převede na normální spektrum (závislost intenzity na frekvenci)

# NMR techniky



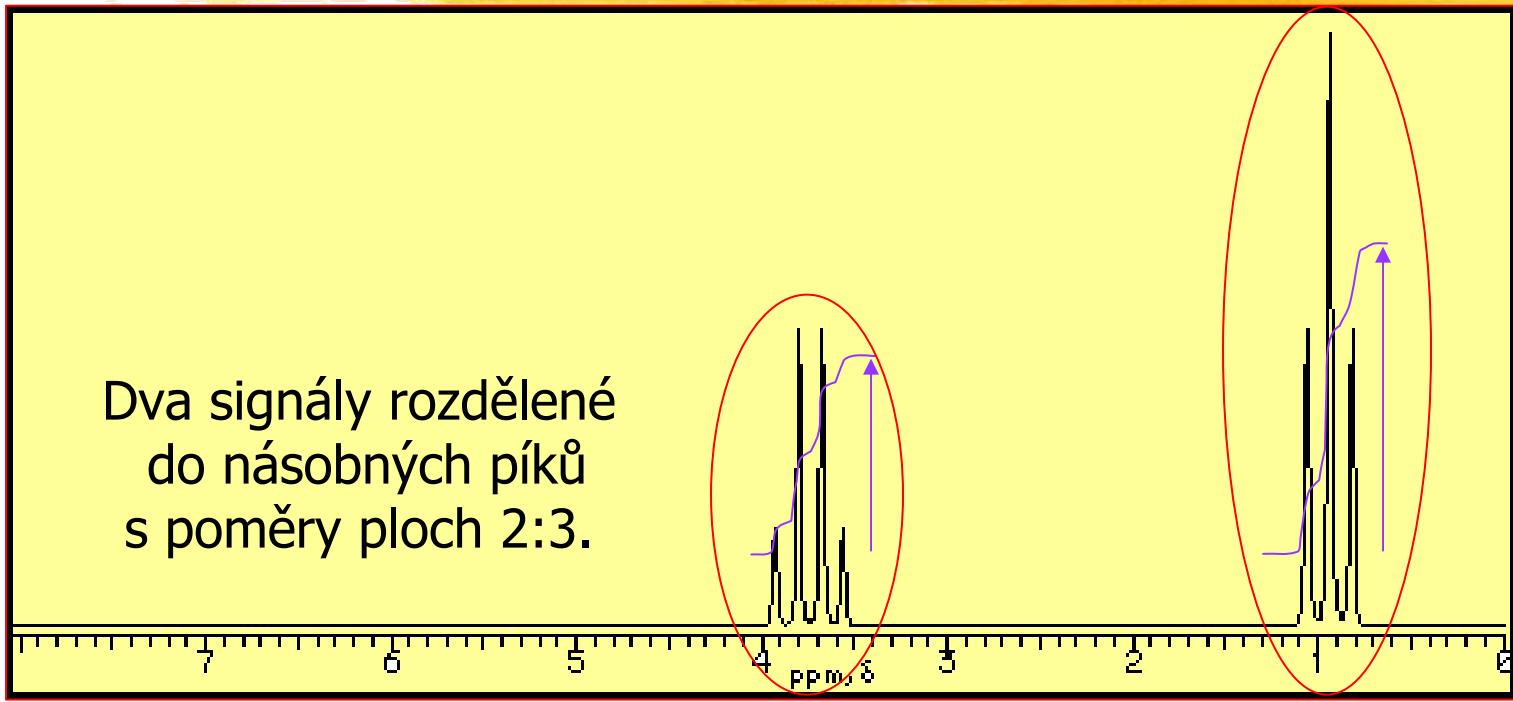
- protonové spektrum  $^1\text{H}$  NMR
- uhlíkové spektrum  $^{13}\text{C}$  NMR
- další jednodimenzionální techniky
- dvoudimenzionální techniky (COSY,  
NOESY ...)

# Protonové spektrum $^1\text{H}$ NMR



- nejčastěji měřené
- stačí méně než 1 mg vzorku
- spektrum obsahuje
  - intenzity signálů
  - chemické posuny protonů
  - interakce mezi nimi

# **$^1\text{H}$ - NMR Spektrum**



$^1\text{H-NMR}$  Data: 3 součásti

“kvartet”

“triplet”

1. **Chemický posun** - každý neekvivalentní vodík dává jedinečný signál na ose x.
2. **Spin-spin interakce** - sousedící NMR aktivní jádra štepí každý signál.
3. **Integrace** - plochy píků jsou úměrné počtu ekviv. jader poskytujících signál.

# Uhlíkové spektrum $^{13}\text{C}$ NMR

- potřeba 5 - 10 mg vzorku
- doba měření: řádově desítky minut
- měří se s ozářením protonů
- spektrum poskytuje informace o chemických posunech uhlíkových atomů
- druhé nejběžnější spektrum

# Využití NMR spektroskopie



- sledování průběhu reakcí
- ověřování struktury produktů
- studium tkání a orgánů v lidském těle (tomografie)
  - Za MRI (magnetic resonance imaging) byla udělena Nobelova cena R. Ernstovi roku 1991
- určování struktury sloučenin
- kvantitativní analýza