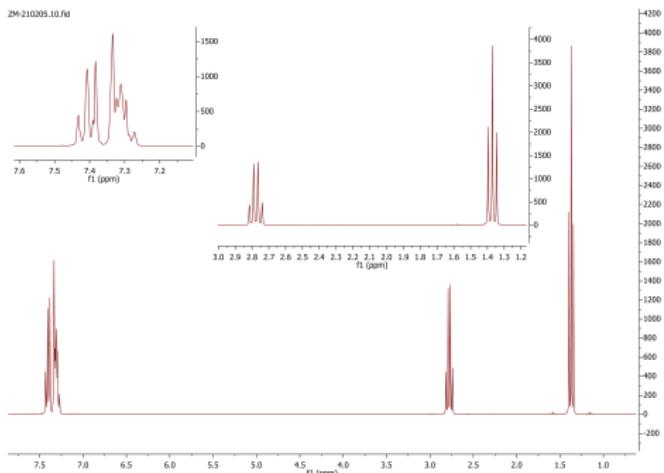


Nukleární Magnetická Rezonance

NMR

Nukleární Magnetická Rezonance



Zdeněk Moravec, hugo@chemi.muni.cz

Nukleární Magnetická Rezonance

Princip

- ▶ NMR – Nukleární Magnetická Resonance
- ▶ Sledujeme absorpci radiofrekvenčního záření vzorkem, který je umístěn v silném magnetickém poli.
- ▶ Vzorek je nejčastěji kapalný, ale lze měřit i pevné látky a plyny.
- ▶ Jde o důležitou metodu v chemické a strukturní analýze.
- ▶ Vyžaduje silné magnetické pole, proto se nejčastěji využívá supravodivých magnetů.



NMR spektrometr 500 MHz.¹

¹Zdroj: Steff-X/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

Stručná historie

- ▶ **1943** Nobelova cena za objev magnetického momentu protonu - Otto Stern.
- ▶ **1944** Nobelova cena za rezonanční metodu pro zjištění magnetických vlastností atomových jader - Isidor Isaac Rabi.
- ▶ **1945** První ^1H NMR spektrum vody.
- ▶ **1952** Nobelova cena za rozvoj metod pro přesná měření jaderného magnetismu a první NMR signál - Felix Bloch a Edward Mills Purcell.
- ▶ **1965** Širokopásmový ^1H decoupling.
- ▶ **1991** Nobelova cena za HR-NMR, vývoj nových pulsních technik, rozvoj FT-NMR a zavedení 2D NMR technik - Richard R. Ernst.
- ▶ **2002** Nobelova cena za vývoj NMR technik umožňujících určení 3D struktury biomolekul - Kurt Wüthrich.
- ▶ **2003** Nobelova cena za vývoj MRI - Paul C. Lauterbur.

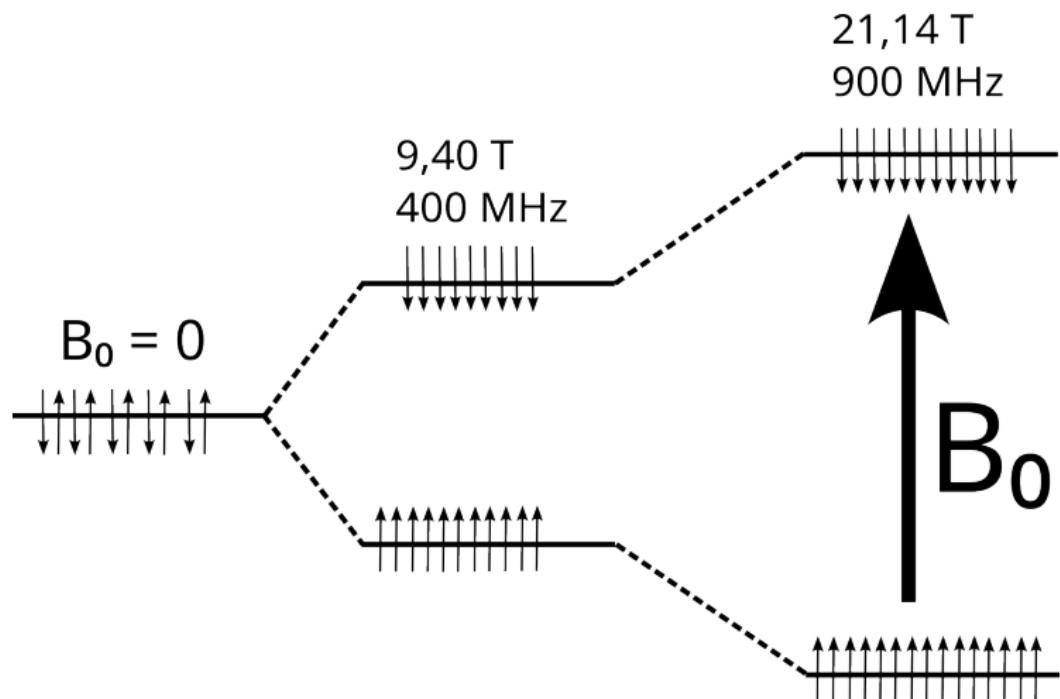
Nukleární Magnetická Rezonance

Jaderný spin

- ▶ Atomové jádro se skládá z protonů a neutronů.
- ▶ Obě částice mají spin $\pm \frac{1}{2}$.
- ▶ Jaderný spin je roven součtu spinů všech nukleonů.
- ▶ V NMR jsou aktivní pouze jádra s *nenulovým jaderným spinem*.
- ▶ Nejčastěji se využívají jádra se spinem $\frac{1}{2}$, např. ^1H , ^{13}C , ^{19}F nebo ^{31}P .
- ▶ Bez vlivu vnějšího magnetického pole mají všechny orientace jaderného spinu stejnou energii.
- ▶ Pokud ale vložíme jádro do magnetického pole, získáme systém hladin o různých energiích.
- ▶ Pokud na tento systém působíme radiofrekvenčním zářením, může dojít k absorpci energie a excitaci spinu na vyšší energetickou hladinu.
- ▶ Poté pozorujeme návrat spinu a původní hladinu a emisi absorbované energie, kterou následně snímáme.

Nukleární Magnetická Rezonance

Jaderný spin



Nukleární Magnetická Rezonance

Radiofrekvenční pulsy

- ▶ FT-NMR využívá k excitaci jaderných spinů radiofrekvenční pulsy.
- ▶ Ty excitují všechna měřená jádra, např. protony, najednou.
- ▶ Pulsy sklápí vektor magnetizace a způsobují jeho precesi.
- ▶ Délka pulsů se pohybuje v řádu μs .
- ▶ Čím je puls delší, tím je větší i sklápěcí úhel.

Nukleární Magnetická Rezonance

Chemický posun

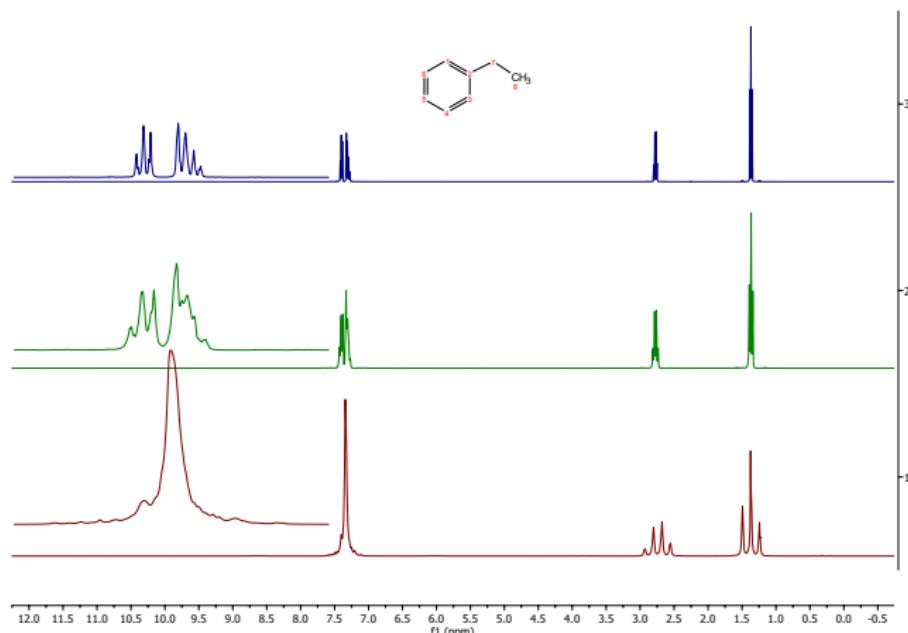
- ▶ Izolovaná jádra stejného izotopu budou v magnetickém poli rezonavat při stejně frekvenci.
- ▶ Pokud uvažujeme molekuly, je každé jádro ovlivněno také lokálními magnetickými poli, které jsou generovány vazebními elektronami. Tím dochází ke změně rezonanční frekvence daného jádra.
- ▶ Změna je dána tzv. chemickým okolím pozorovaného jádra a nazývá se *chemický posun*. Označuje se δ a je dán vztahem:

$$\delta = \frac{\nu - \nu_{TMS}}{\nu}$$

- ▶ ν_{TMS} je rezonanční frekvence standardu, ν je rezonanční frekvence signálu.
- ▶ Chemický posun je bezrozměrný, jelikož se jedná o velmi malé hodnoty, udává se v ppm.
- ▶ Chemický posun je, na rozdíl od rezonanční frekvence, nezávislý na hodnotě vnějšího magnetického pole.

Nukleární Magnetická Rezonance

Chemický posun

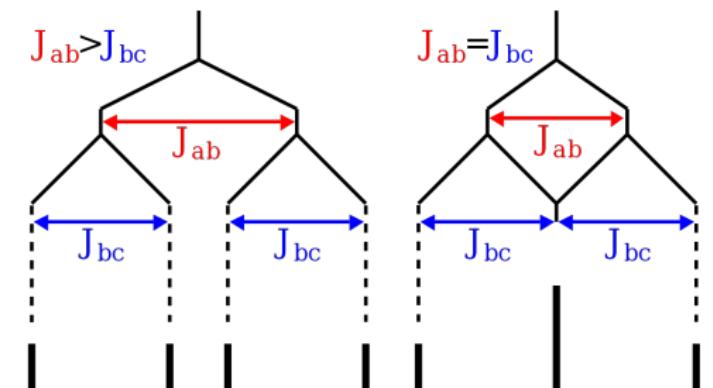


Srovnání ^1H NMR spekter ethylbenzenu na spektrometrech 60, 300 a 500 MHz

Nukleární Magnetická Rezonance

Interakční konstanta

- ▶ Pokud je v molekule více NMR aktivních jader, může docházet k jejich vzájemné interakci. Síla této interakce je dána hlavně počtem vazeb, které jádra oddělují.
- ▶ Velikost interakční konstanty je nezávislá na intenzitě magnetického pole.



Příklad štěpení NMR signálu.²

²Zdroj: Keministi/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

Interakční konstanta

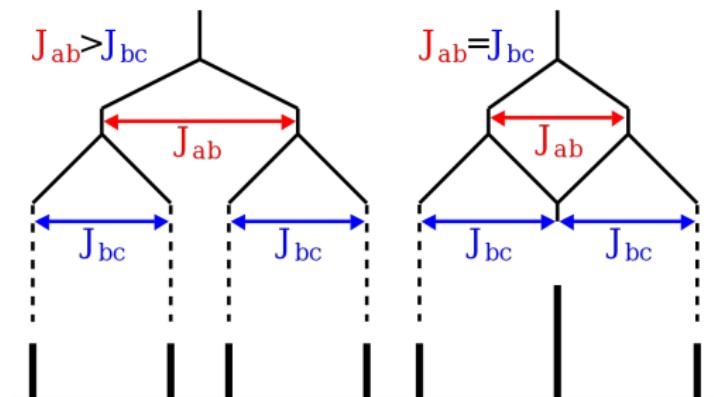
- ▶ Způsob štěpení je dán počtem interagujících spinů.
- ▶ Pro jádra se spinem $\frac{1}{2}$ je velikost multipletu, tzn. počet signálů po štěpení a jejich vzájemná intenzita dána *Pascalovým trojúhelníkem*.

$n = 0$				1				
$n = 1$				1	1			
$n = 2$			1	2	1			
$n = 3$		1	3	3	1			
$n = 4$	1	4	6	4	1			
$n = 5$	1	5	10	10	5	1		
$n = 6$	1	6	15	20	15	6	1	

Nukleární Magnetická Rezonance

Interakční konstanta

- Velikost interakce se vyjadřuje pomocí interakční konstanty, která se označuje písmenem J . Pro přesnější popis interakce se využívá indexů, např. interakci mezi atomy vodíku v ethanolu (přes tři vazby H-C-C-H) vyjádříme $^3J_{\text{HH}}$. Její velikost se udává v Hz.

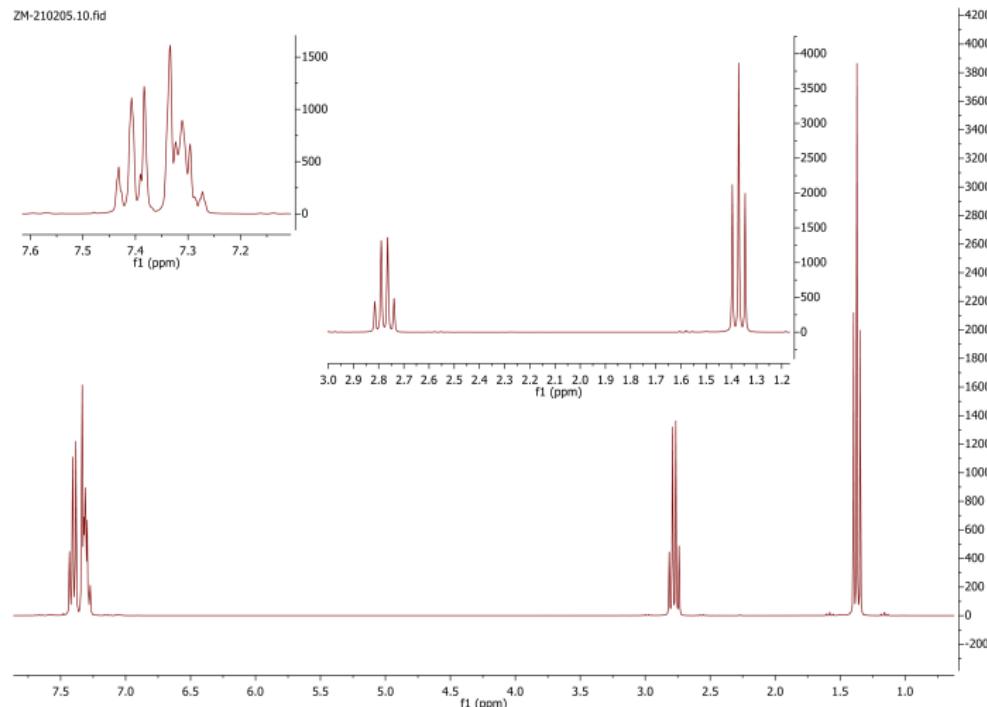


Příklad štěpení NMR signálu.³

³Zdroj: Keministi/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

Interakční konstanta

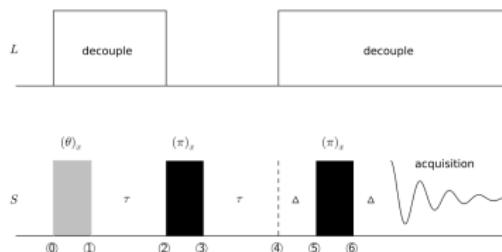


^1H NMR ethylbenzenu

Nukleární Magnetická Rezonance

Decoupling (dekaplink)

- ▶ Štěpením signálů spektra je důležitou informací pro strukturní analýzu, zároveň ale zhoršuje poměr signál/šum.
- ▶ Pro potlačení štěpení se používá tzv. decoupling, kdy kontinuálně ozařujeme dekaplovaná jádra. Tím dojde k potlačení štěpení.
- ▶ Ztratíme ale informaci o kvantitativním složení vzorku, protože intenzita signálu v dekaplovaném spektru není úměrná koncentraci.

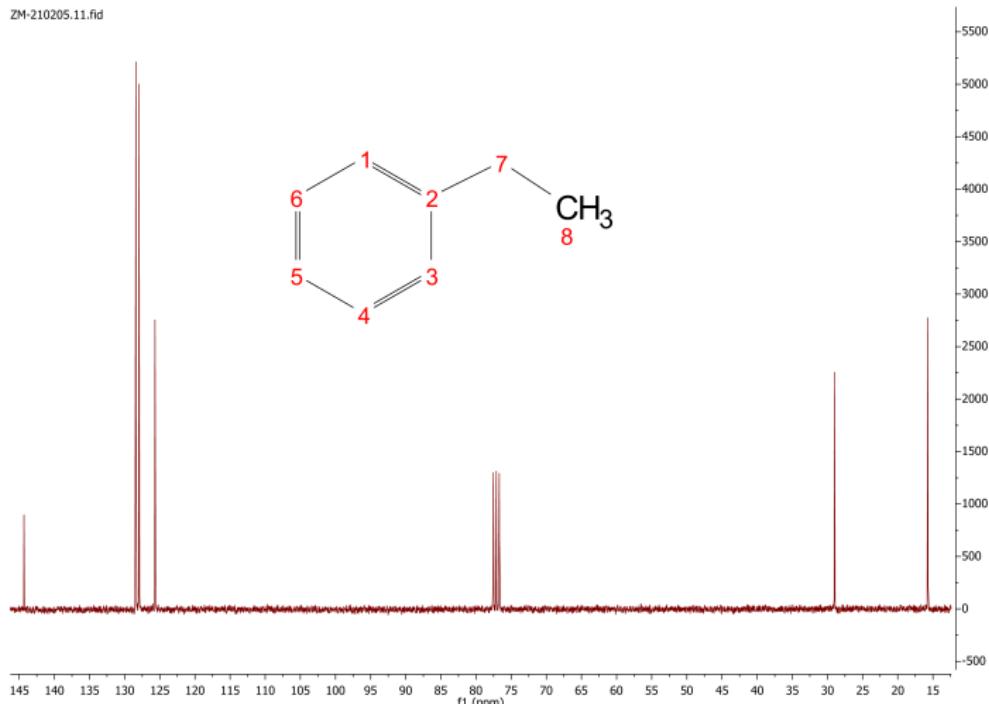


APT pulsní sekvence, využívá ^1H decoupling.⁴

⁴Zdroj: Thypingvinen/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

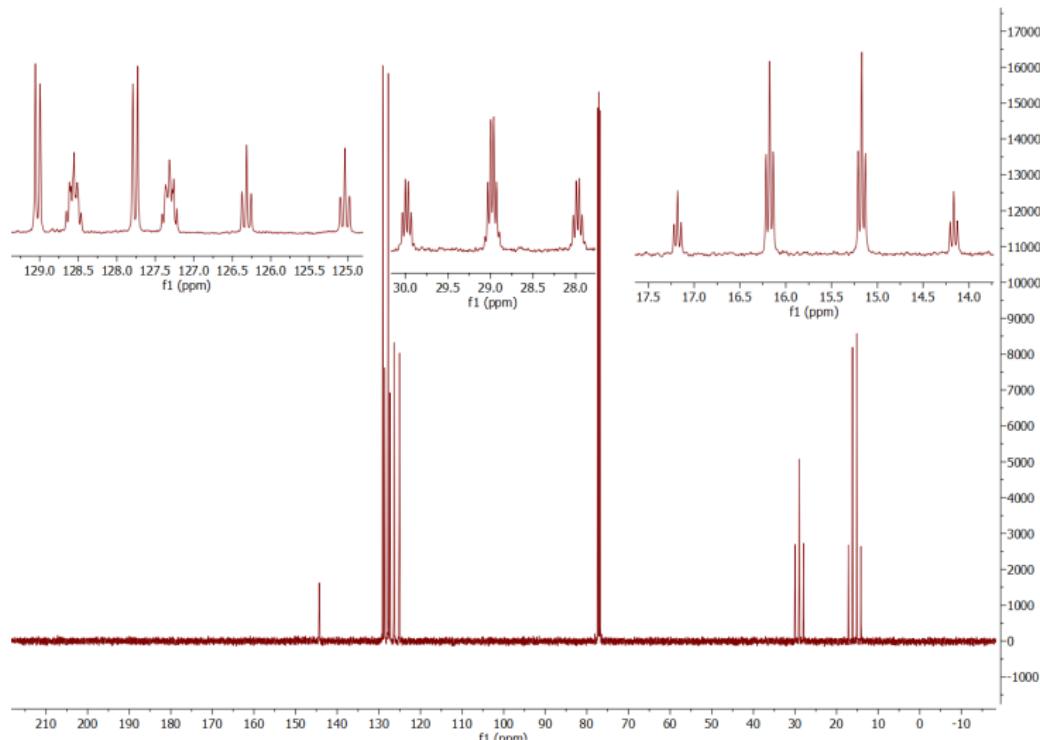
Decoupling (dekaplink)



^{13}C NMR ethylbenzenu s ^1H decouplingem

Nukleární Magnetická Rezonance

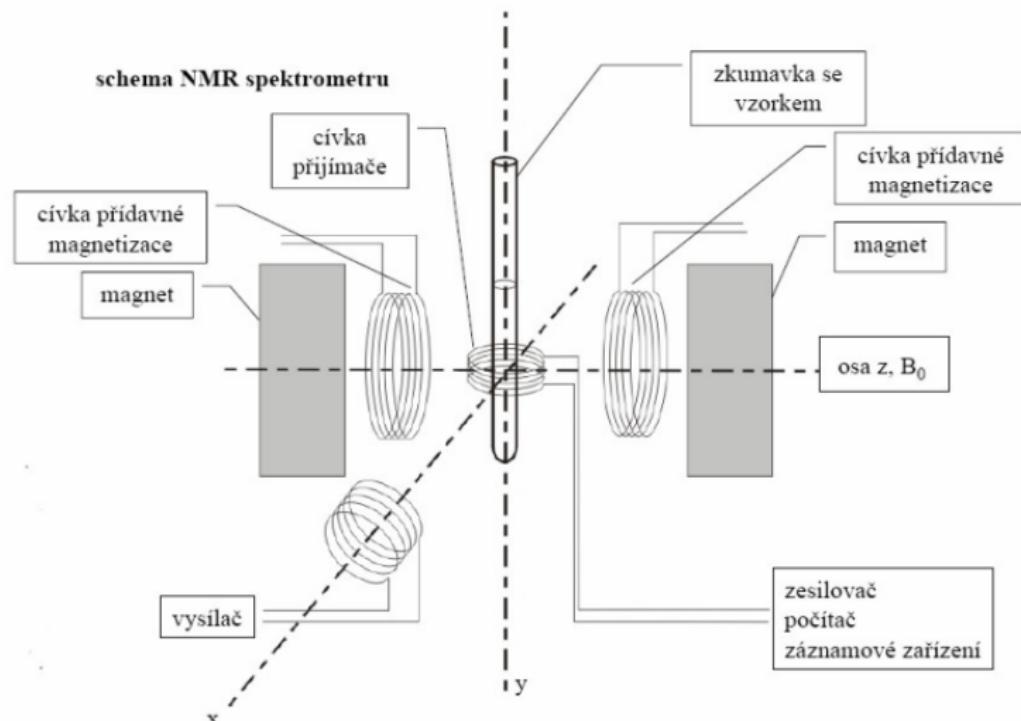
Decoupling (dekaplink)



^{13}C NMR ethylbenzenu bez ^1H decouplingu

Nukleární Magnetická Rezonance

Schéma NMR spektrometru



Nukleární Magnetická Rezonance

NMR magnety

- ▶ Permanentní - do 100 MHz



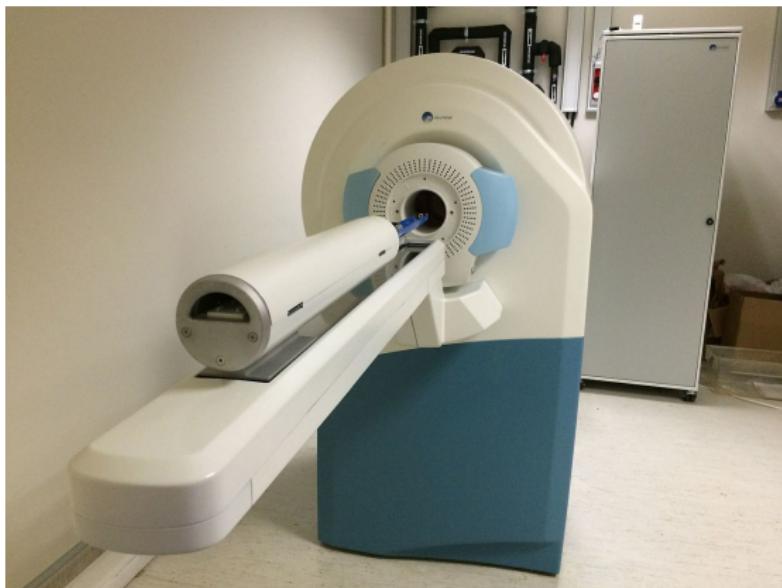
Benchtop NMR.⁵

⁵Zdroj: Johannes Schneider/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

NMR magnety

- ▶ Cryogen-free - 100-300 MHz - levný provoz



Cryogen-free MRI magnet.⁶

⁶Zdroj: MR Solutions/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

NMR magnety

- ▶ Supravodivé magnety - nejběžnější v NMR
 - ▶ Chlazené kapalným heliem (4-2,2 K)
 - ▶ Magnetické pole až 23,5 T (1000 MHz)



NMR spektrometr 900 MHz⁷

⁷Zdroj: MartinSaunders/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

Závislost rezonanční frekvence na síle magnetického pole

B_0 [T]	1H [MHz]	^{13}C [MHz]
1,41	60	15,1
2,35	100	25,15
7,05	300	75,4
11,74	500	125,7
14,09	600	150,9
16,44	700	176,05
19,97	850	213,78
22,32	950	238,94
28,20	1200	318,59
30,50	1300 ⁸	326,70

⁸Bruker Announces First-of-a-kind 1.3 GHz High-Resolution NMR System



Nukleární Magnetická Rezonance

NMR sondy

- ▶ Hlavní funkcí je excitace spinového systému a snímání odezvy.
- ▶ Obsahují lockovací kanál.
- ▶ Udržují stabilní teplotu vzorku.
- ▶ Často obsahují také gradientovou cívku(y) pro experimenty využívající pulsní gradienty magnetického pole.
- ▶ Podle konstrukce se dělí:
 - ▶ Teplé sondy
 - ▶ Kryosondy
 - ▶ Průtočné sondy
 - ▶ Nanosondy

Nukleární Magnetická Rezonance

NMR sondy

- ▶ Sondy se dále dělí podle počtu cívek. Citlivost cívek klesá se vzdálostí od vzorku.
 - ▶ Dvoukanálové - dvě cívky
 - ▶ Tříkanálové (triple resonance)
- ▶ BB sondy mají vnitřní cívku určenou pro měření jader X a vnější pro měření 1H nebo 1H decoupling. *Inverzní sondy* mají uspořádání opačné a jsou vhodné pro snímání jader 1H jader, např. v 2D experimentech – 1H - ^{13}C HSQC.
- ▶ Sondy také dělíme sondy podle velikosti NMR kyvety, pro které jsou konstruovány, nejčastěji 5 a 10 mm.

Nukleární Magnetická Rezonance

NMR sondy



NMR sonda.⁹



NMR spektrometr 1.2 GHz s kryosondou.¹⁰

⁹Zdroj: Steff-X/Commons

¹⁰Zdroj: Adville/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

Vzorky pro NMR spektroskopii

- ▶ Využívají se tenkostěnné skleněné kyvety, které se umisťují do plastových nebo keramických rotorků. Průměr kyvet je nejčastěji 3, 5 nebo 10 mm.
- ▶ Pro měření je nutné připravit roztok měřené látky v deuterovaném rozpouštědle. Signál ^2H (D) se používá k lockování vzorku.
- ▶ Vzorky reakčních směsí se často měří v koaxiálním uspořádání, kdy se kyveta se vzorkem vloží do kyvety s deuterovaným rozpouštědlem.
- ▶ Signál deuterovaného rozpouštědla lze využít i jako standard ke kalibraci spektra.



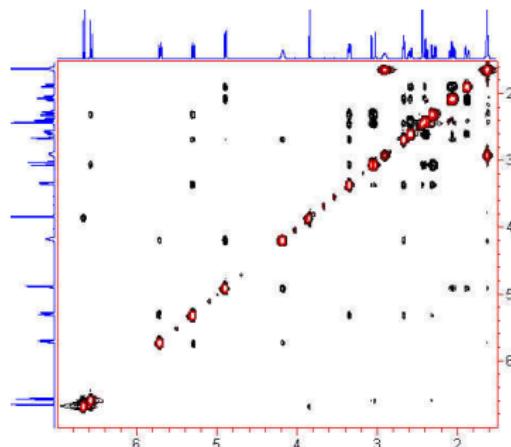
Skleněné NMR kyvety.¹¹

¹¹Zdroj: Edgar181/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

2D NMR

- ▶ Pro složitější molekuly už nemusí být 1D NMR spektrum čitelné.
- ▶ Rozlišení se dá zvýšit silnějším magnetickým polem.
- ▶ Lepší cestou je přechod na NMR experimenty ve dvou a více dimenzích.
- ▶ V dnešní době se rutinně využívá 2D a 3D NMR.



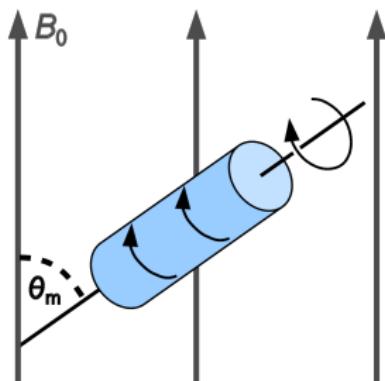
NOESY NMR spektrum kodeinu.¹²

¹²Zdroj: Acorn NMR Inc./Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

NMR v pevné fázi

- ▶ MAS NMR - Magic Angle Spinning.
- ▶ Vzorek je napěchován do keramického rotoru a rotuje pod úhlem $54,7^\circ$ ($\cos^2 \theta_m = \frac{1}{3}$, magický úhel).
- ▶ Rotace při rychlostech 0-130 kHz.
- ▶ Pro měření málo citlivých jader se využívá cross-polarizace.



Rotace pod magickým úhlem.¹³



Rotory pro MAS NMR.¹⁴

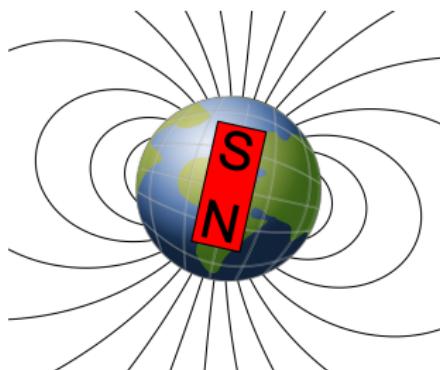
¹³Zdroj: Dtrx/Commons

¹⁴Zdroj: Thomas Kress/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

NMR ve slabém magnetickém poli

- ▶ Earth's-Field NMR.
 - ▶ Využívá magnetické pole Země.
 - ▶ Lze měřit velké vzorky.
 - ▶ Pro zlepšení S/N se využívá pre-polarizace v elektromagnetu.
- ▶ Low-Field NMR.
- ▶ Systémy využívající permanentní magnety nebo elektromagnety.



Magnetické pole Země.¹⁵

¹⁵Zdroj: Zureks/Commons

Nukleární Magnetická Rezonance

Využití NMR

- ▶ Rutinní kvalitativní a kvantativní chemická analýza.
- ▶ Strukturní analýza.
- ▶ Strukturní analýza biomolekul.
- ▶ Studium degradačních procesů a stupně degradace, např. barviv, polymerů, atd.
- ▶ Studium stupně hydratace v nástěnných malbách pomocí bezkontaktní sondy.

Nukleární Magnetická Rezonance

Literatura

1. <http://chem.ch.huji.ac.il/nmr/>
2. H. Günther (2013). NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts and Applications in Chemistry, ISBN 978-3527330003
3. J. Keeler (2005). Understanding NMR Spectroscopy. ISBN 978-0-470-01786-9.