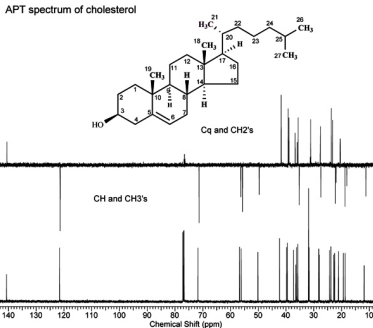


Nukleární Magnetická Rezonance

NMR

Nukleární Magnetická Rezonance



Zdeněk Moravec, hugo@chemi.muni.cz

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

Princip

- ▶ Sledujeme absorpci radiofrekvenčního záření vzorkem, který je umístěn v 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.

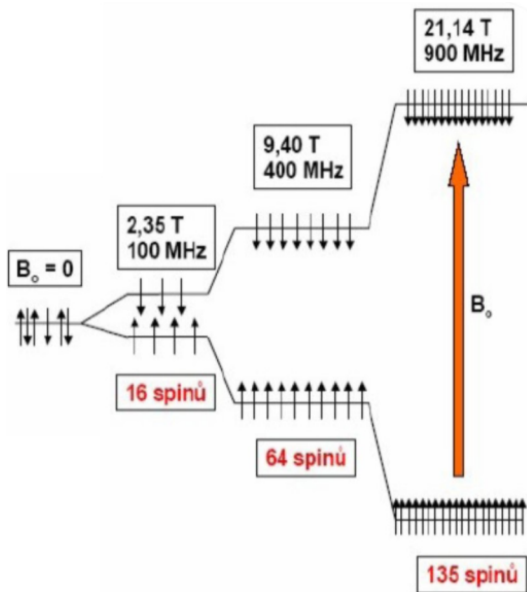
Nukleární Magnetická Rezonance

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

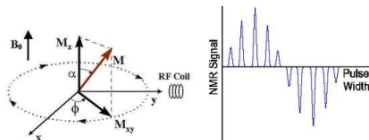
Jaderný spin



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

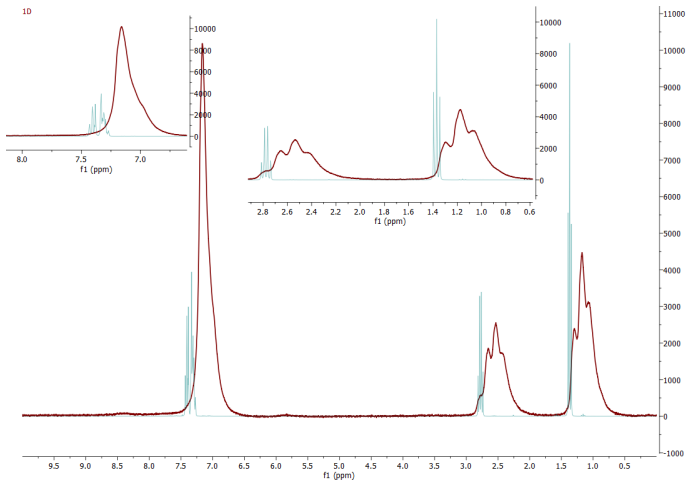
- ▶ Izolovaná jádra stejného izotopu budou v magnetickém poli rezonovat při stejné frekvenci.
- ▶ Pokud uvažujeme molekuly, je každé jádro ovlivněno také lokálními magnetickými poli, které jsou generovány vazebnými elektrony. Tím dochází ke změně rezonanční frekvence daného jádra.
- ▶ Změna je dána tzv. 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

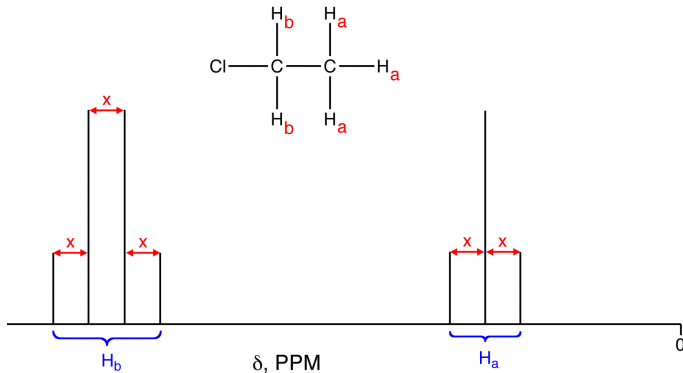


Srovnání ^1H NMR spekter ethylbenzenu na spektrometrech 60 a 300 MHz

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.



Nukleární Magnetická Rezonance

Interakční konstanta

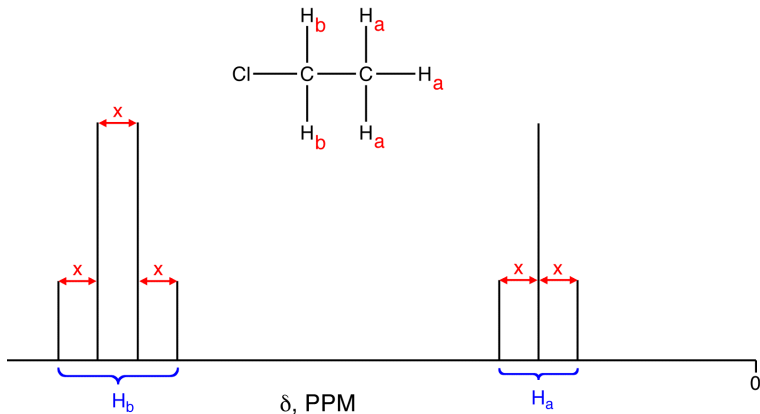
- ▶ Způsob štěpení je dán počtem interagujících spinů.
- ▶ Pro jádra se spinem $\frac{1}{2}$ je velikost multipletu, tzn. počet signálů po štěpení a jejich vzájemná intenzita dána *Pascalovým trojúhelníkem*.

| | | | | | | | | | | | | |
|---------|---|---|---|---|----|----|----|----|----|---|---|---|
| $n = 0$ | | | | | | 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

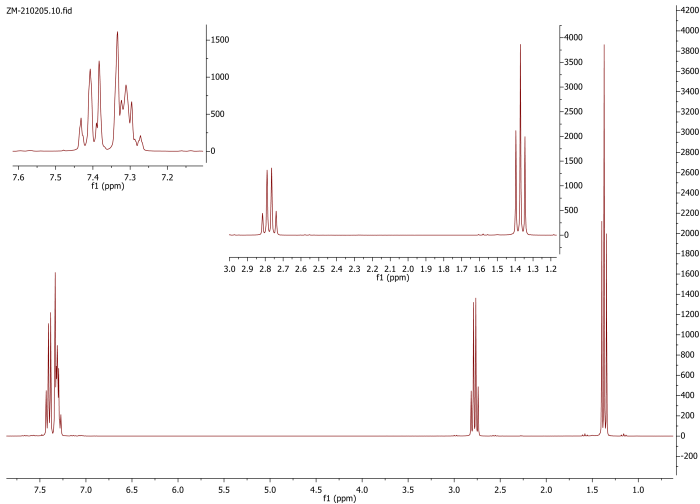
Interakční konstanta

- 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 $^3J_{HH}$. Její velikost se udává v Hz.



Nukleární Magnetická Rezonance

Interakční konstanta

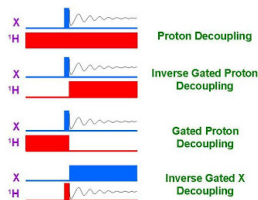


^1H NMR ethylbenzenu

Nukleární Magnetická Rezonance

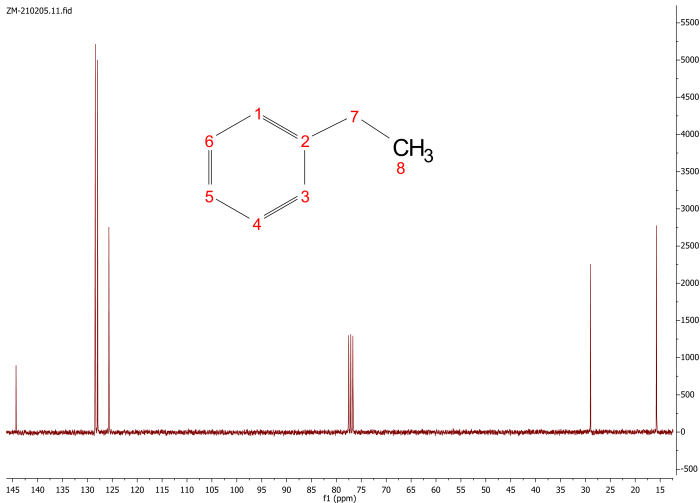
Decoupling (dekaplink)

- ▶ 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.
- ▶ Gated decoupling – neozařujeme během akvizice, nedojde k potlačení NOE.
- ▶ Inverse-gated decoupling – ozařujeme pouze během akvizice, vhodné pro jádra se záporným gyromagnetickým poměrem – ^{15}N , ^{29}Si .



Nukleární Magnetická Rezonance

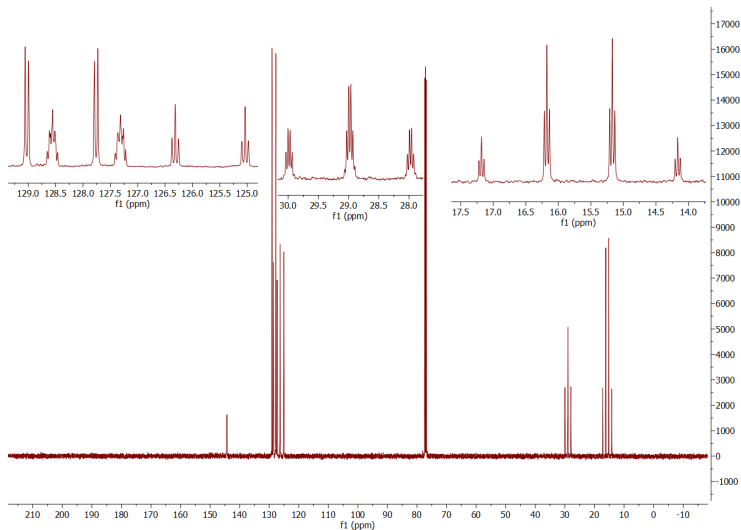
Decoupling (dekaplink)



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

Nukleární Magnetická Rezonance

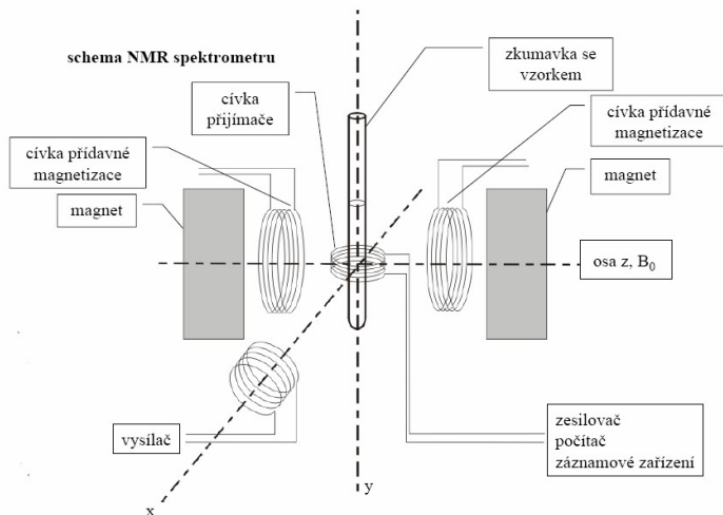
Decoupling (dekaplink)



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

Nukleární Magnetická Rezonance

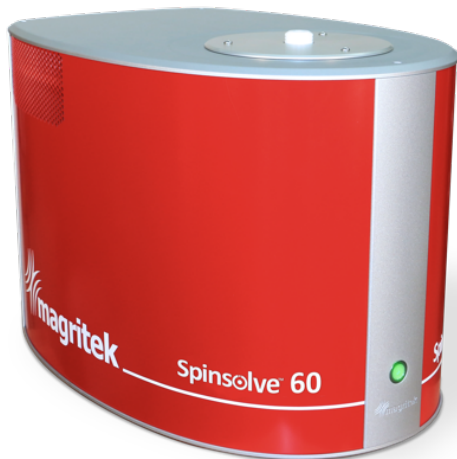
Schéma NMR spektrometru



Nukleární Magnetická Rezonance

NMR magnety

- Permanentní - do 100 MHz



Nukleární Magnetická Rezonance

NMR magnety

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



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)



Nukleární Magnetická Rezonance

Závislost rezonanční frekvence na síle magnetického pole

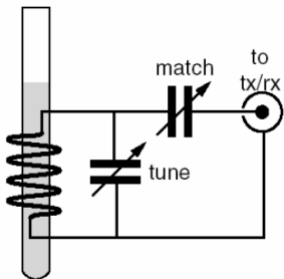
| B_0 [T] | ^1H [MHz] | ^{13}C [MHz] |
|-----------|--------------------|-----------------------|
| 1,41 | 60 | 15,1 |
| 2,35 | 100 | 25,15 |
| 7,05 | 300 | 75,4 |
| 11,74 | 500 | 125,7 |
| 14,09 | 600 | 150,9 |
| 16,44 | 700 | 176,05 |
| 19,97 | 850 | 213,78 |
| 22,32 | 950 | 238,94 |
| 28,20 | 1200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



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



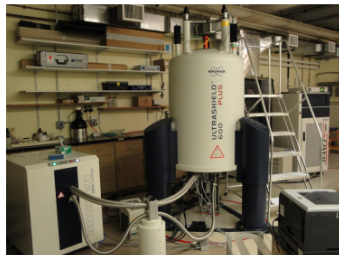
Nukleární Magnetická Rezonance

NMR sondy

- ▶ Sonden se dále dělí podle počtu cívek. Citlivost cívek klesá se vzdáleností 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.
- ▶ Sonden také dělíme sondy podle velikosti NMR kyvety, pro které jsou konstruovány, nejčastěji 5 a 10 mm.

Nukleární Magnetická Rezonance

NMR sondy



Nukleární Magnetická Rezonance

Vzorky pro NMR spektroskopii

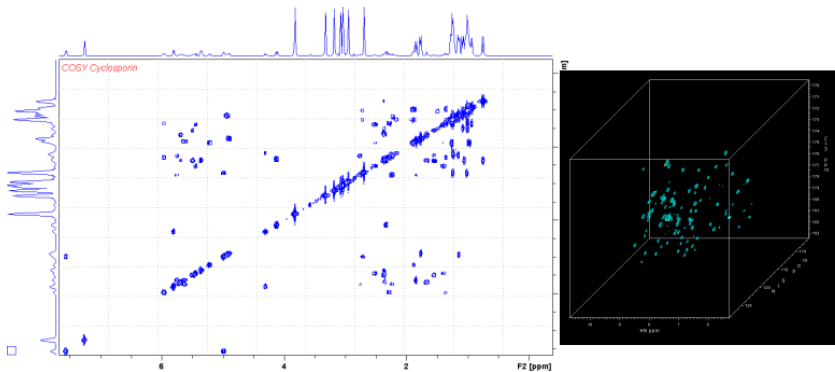
- ▶ Využívají se tenkostěnné skleněné kyvety, které se umísťují do plastových nebo keramických rotorků. Průměr kyvet je nejčastěji 3, 5 nebo 10 mm.
- ▶ Pro měření je nutné připravit roztok měřené látky v deuterovaném rozpouštědle. Signál ^2H (D) se používá k lockování vzorku.
- ▶ Vzorky reakčních směsí 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.



Nukleární Magnetická Rezonance

2D NMR

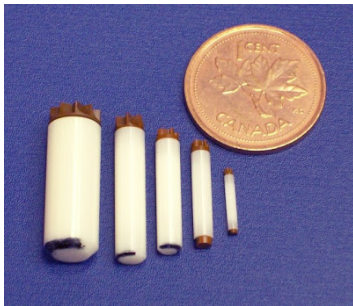
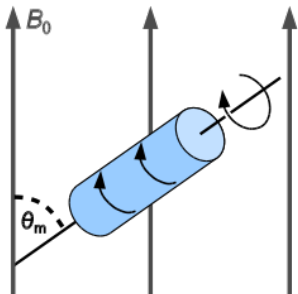
- ▶ Pro složitější molekuly už nemusí být 1D NMR spektrum čitelné.
- ▶ Rozlišení se dá zvýšit silnějším magnetickým polem.
- ▶ Lepší cestou je přechod na NMR experimenty ve dvou a více dimenzích.
- ▶ V dnešní době se rutinně využívá 2D a 3D NMR.



Nukleární Magnetická Rezonance

NMR v pevné fázi

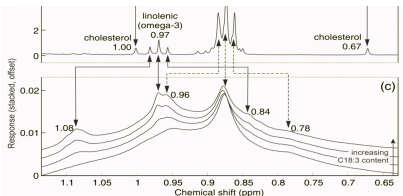
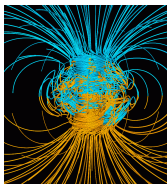
- ▶ MAS NMR - Magic Angle Spinning.
- ▶ Vzorek je napěchován do keramického rotoru a rotuje pod úhlem $54,7^\circ$ ($\cos^2 \theta_m = \frac{1}{3}$, magický úhel).
- ▶ Rotace při rychlostech 0-130 kHz.
- ▶ Pro měření málo citlivých jader se využívá cross-polarizace.



Nukleární Magnetická Rezonance

NMR ve slabém magnetickém poli

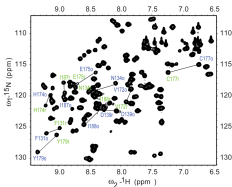
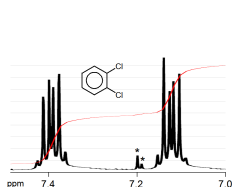
- ▶ Earth's-Field NMR.
 - ▶ Využívá magnetické pole Země.
 - ▶ Lze měřit velké vzorky.
 - ▶ Pro zlepšení S/N se využívá pre-polarizace v elektromagnetu.
- ▶ Low-Field NMR.
- ▶ Systémy využívající permanentní magnety nebo elektromagnety.



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.



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.