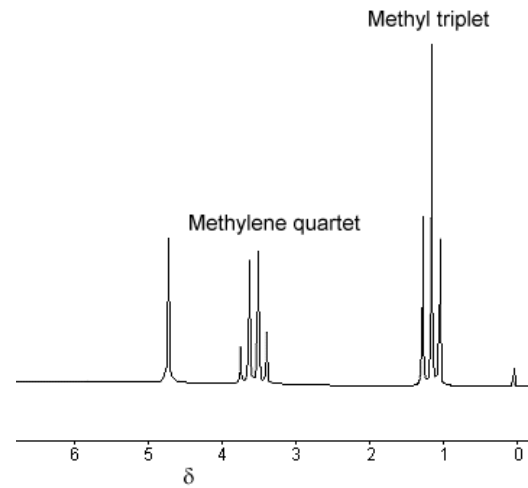
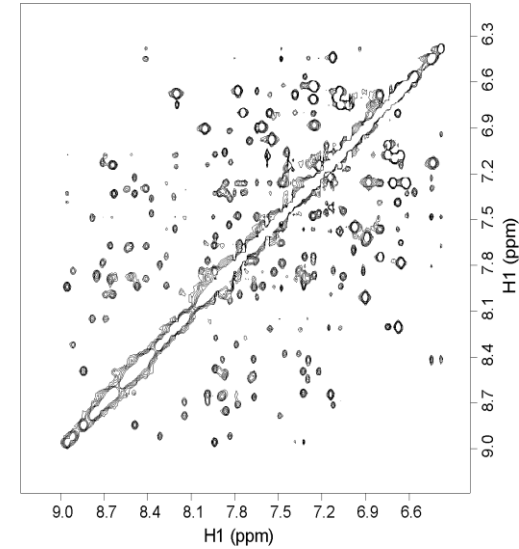
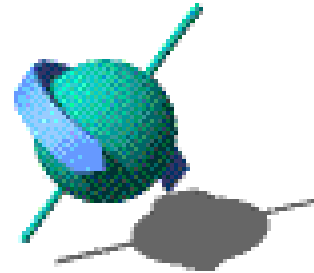


NMR spektroskopie



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)

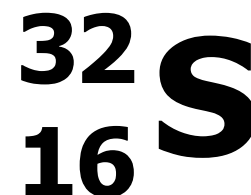
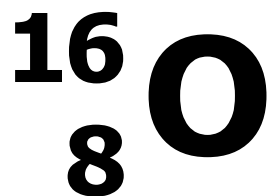
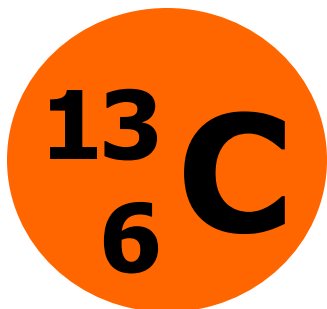
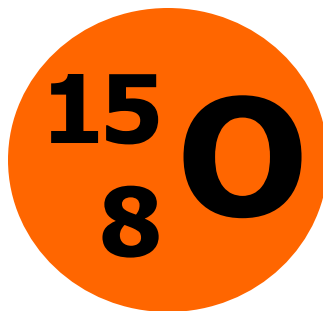
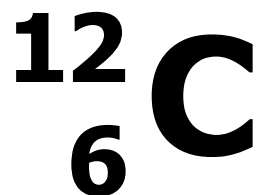
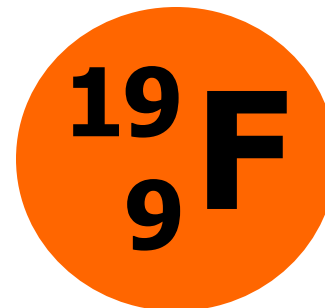
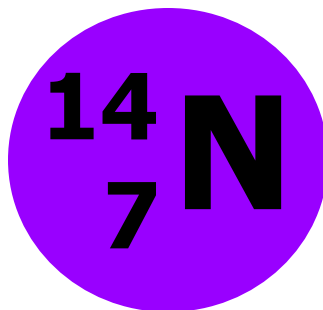
NMR spektroskopie

- fyz.-chem. analytická metoda
- řadíme ji stejně jako spektroskopii IR, UV-Vis mezi **spektroskopie absorpční**
- detekuje **absorpci radiofrekvenčního záření jádry** atomů v molekule
- toto RF záření má **mnohem větší λ** ($\sim 10^4$ cm), protože ke změnám populací spinových stavů v jádře stačí **mnohem menší E** ($\sim 10^{-6}$ kcal/mol)

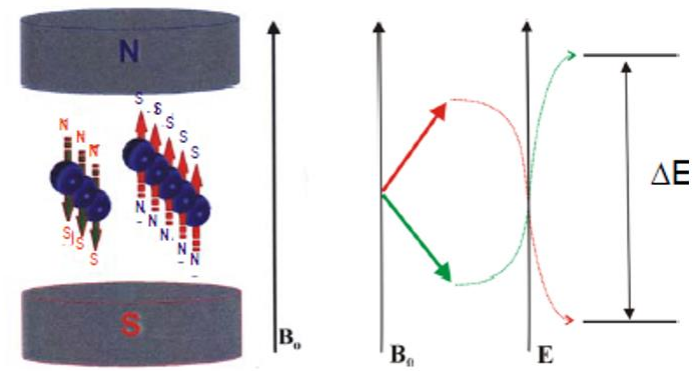
NMR spektroskopie

- Z názvu NMR lze odvodit, že využívá:
 - vlastností atomových jader → **NUKLEÁRNÍ**
 - velmi silného magnetického pole na ovlivnění magnetických vlastností jader → **MAGNETICKÁ**
 - **REZONANCE** = schopnosti jader přejít na vyšší energetickou hladinu po absorpci RF záření
 - výsledkem je spektrum

Která jádra jsou NMR aktivní?



NMR spektroskopie

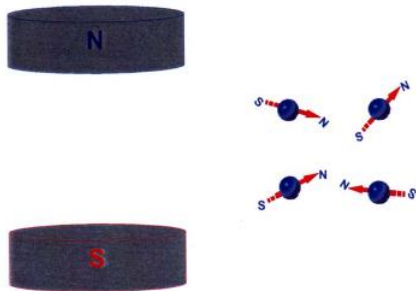


- ❑ Absorbované záření způsobuje přechody mezi energetickými stavy vzniklými rozštěpením jednoduchých stavů s nenulovým spinem v magnetickém poli.
- ❑ Jelikož **lokální magnetické pole** (a tím i velikost rozštěpení) je ovlivněno **okolím atomu**, lze tak studovat vlastnosti okolí sondujícího atomu.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

Historie NMR

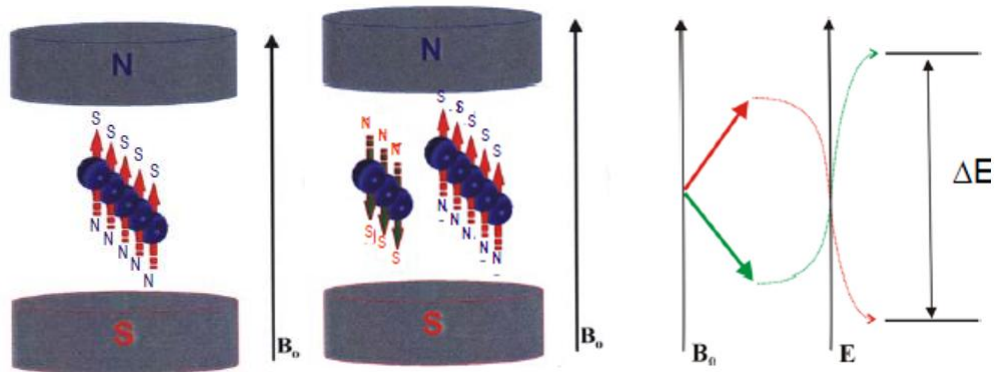
- Teorii NMR předložil W. Pauli v roce 1924. Navrhl, že vystavení atomových jader (s **jaderným spinem** a **magnetickým momentem**) silnému magnetickému poli by mělo vést k rozštěpení jejich energetických hladin.

Mimo magnetické pole –
jaderné spiny nemají
žádnou orientaci



V magnetickém poli – jaderné spiny se orientují podle vektoru magnetické indukce (B)

Jaderný spin je kvantován – povoleny pouze vybrané orientace
Počet možných orientací - dán spinovým kvantovým číslem $(2I+1)$

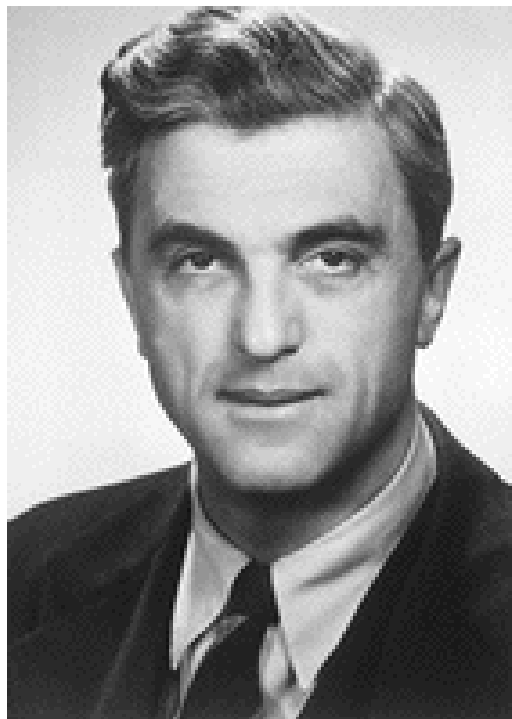


NMR

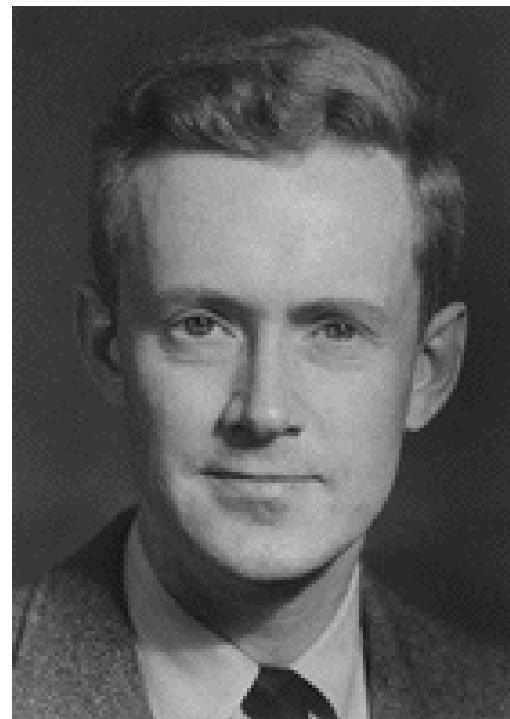


- Avšak až roku 1946 Bloch (Stanford) a Purcell (Harvard) dokázali, že *jádra* atomů *absorbují záření rádiových vln* v silně magnetickém poli jako *důsledek rozštěpení energetických hladin*, což bylo způsobeno magnetickým polem. Tito fyzici dostali za tento objev **Nobelovu Cenu.**

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.

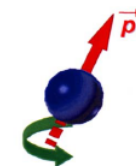
- ❑ $m = I, I-1, \dots, -I$

($m \rightarrow$ mag. kvant. č.) ($I \rightarrow$ spin. kvant. č.)

- ❑ pro $I = 1/2$, dva stavy $m = 1/2, -1/2$

- ❑ **magnetický moment** μ – důsl. spinu a náboje jádra

- ❑ γ **gyromagnetická konst.** – konst. úměrnosti daná mag. vl. jádra;
pro každý typ jádra charakteristická

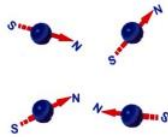


$$\boldsymbol{\mu} = \gamma \frac{h}{2\pi} \mathbf{I}$$

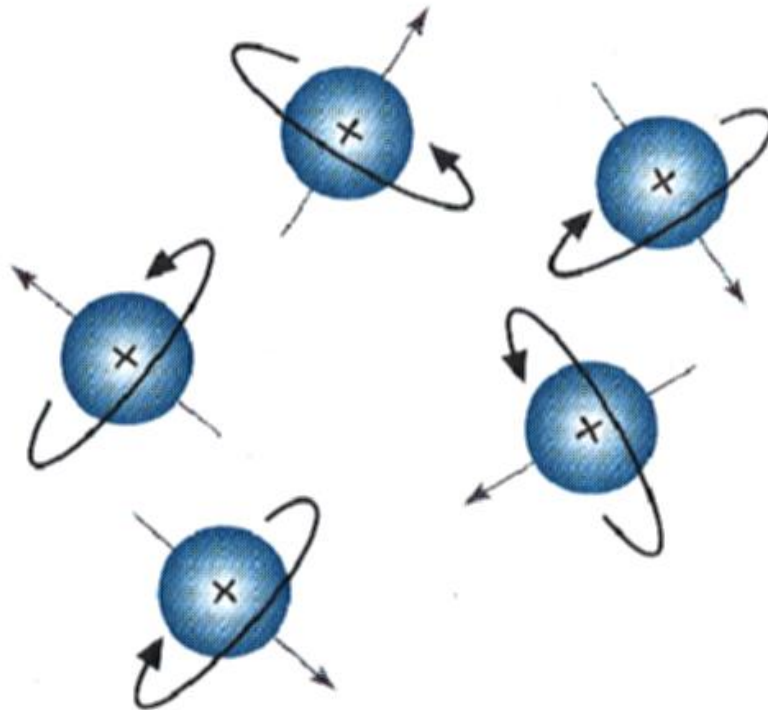
Rozdělení atomových jader

- **sudý počet protonů a neutronů** - kvantové číslo jaderného spinu **$I=0$** , nemají jaderný magnetický moment, **nejsou** v NMR pozorovatelná (^{12}C , ^{16}O)
- **nepárový počet protonů a neutronů** - celočíselný **spin**, vedle jaderného magnetického momentu mají i kvadrupólový moment, **obtížně** měřitelná v NMR (^{14}N , ^{17}O)
- **liché hmotnostní nukleonové číslo** - poločíselný **spin**, mají jaderný magnetický moment, **snadno** měřitelná v NMR (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P)

Atomové jádro

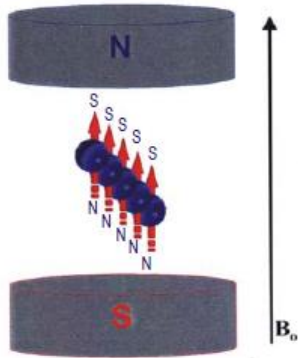


Mimo magnetické pole – jaderné spiny nemají žádnou orientaci



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

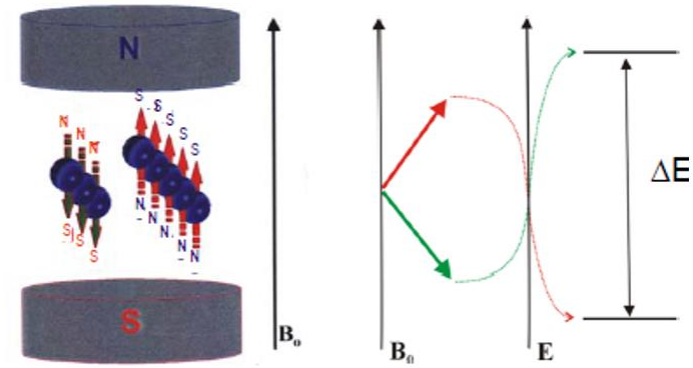
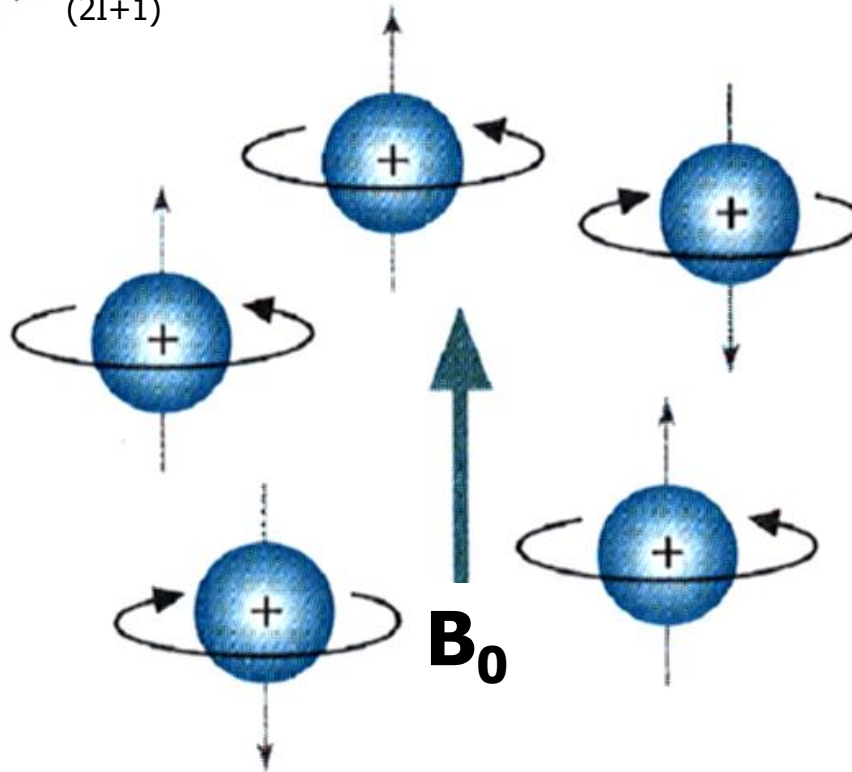
Atomové jádro



V magnetickém poli – jaderné spiny se orientují podle vektoru magnetické indukce (B)

Jaderný spin je kvantován – povoleny pouze vybrané orientace

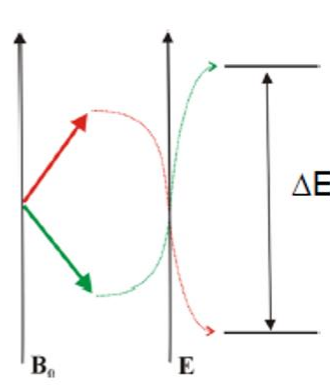
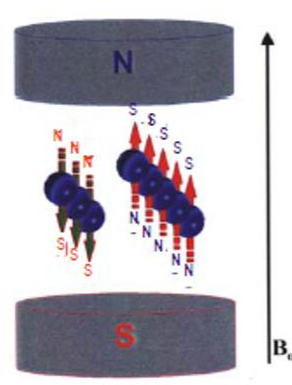
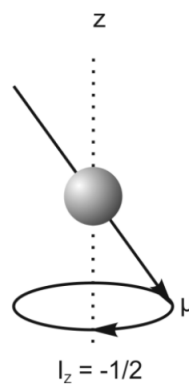
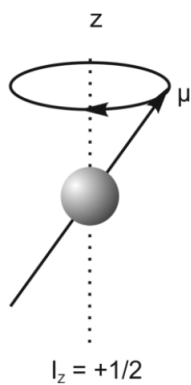
Počet možných orientací - dán spinovým kvantovým číslem $(2I+1)$



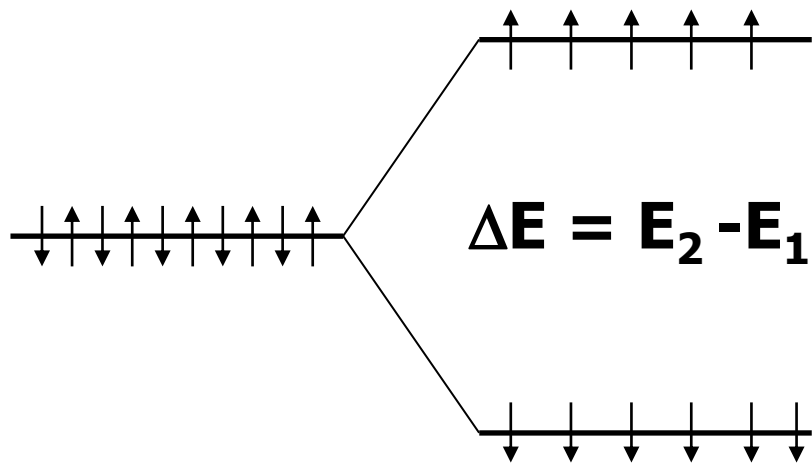
Protony ve vnějším magnetickém poli B_0 (magnetická indukce, jednotka 1T = tesla)

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

Jádra v mag. poli



Populace stavů



E_2 N_2

E_1 N_1

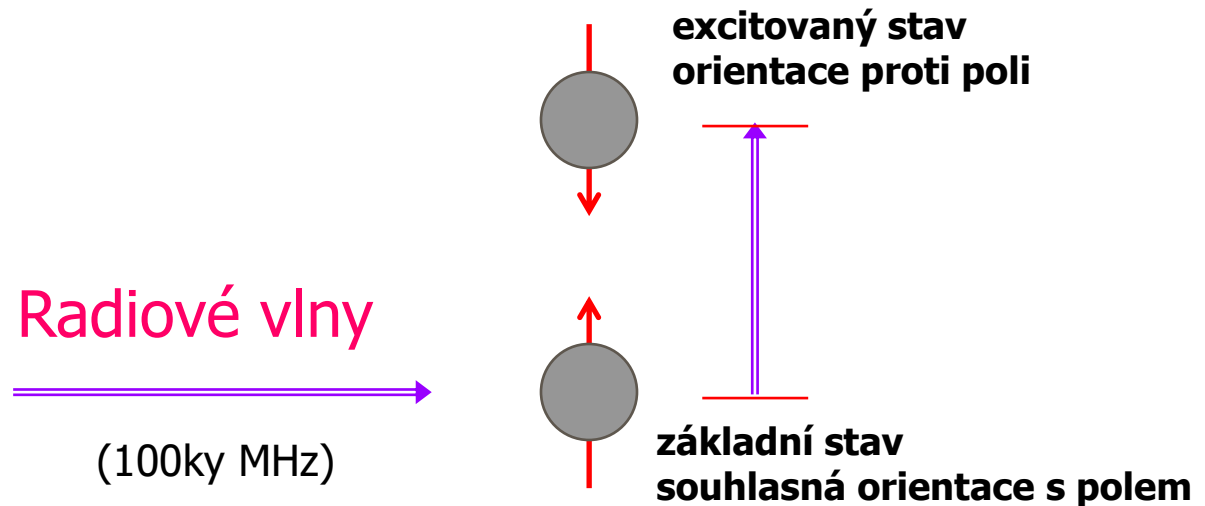
$$\frac{N_1}{N_2} = e^{\Delta E / k_B T}$$

Poměr populací stavů
je dán Boltzmannovým
rozdělením, ΔE bývá
malé

B_0

Absorpce radiových frekvencí

- Co se děje v NMR experimentu?
 - jádra, na něž působí silné a stálé magnetické pole, jsou excitována radiovými vlnami

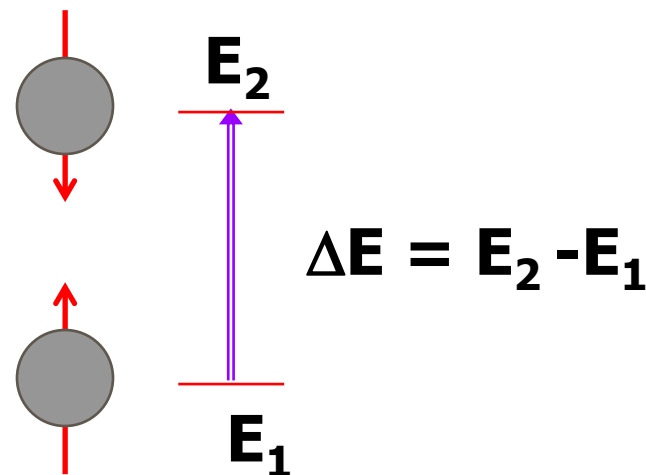


B_0 = indukce externího magnetického pole $\uparrow B_0$

Blochova teorie

- pro jádra s $I=1/2$

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



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

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

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

Larmorova frekvence

rezonanční frekvence příslušného jádra

- absorpce nastává za **rezonanční podmínky**

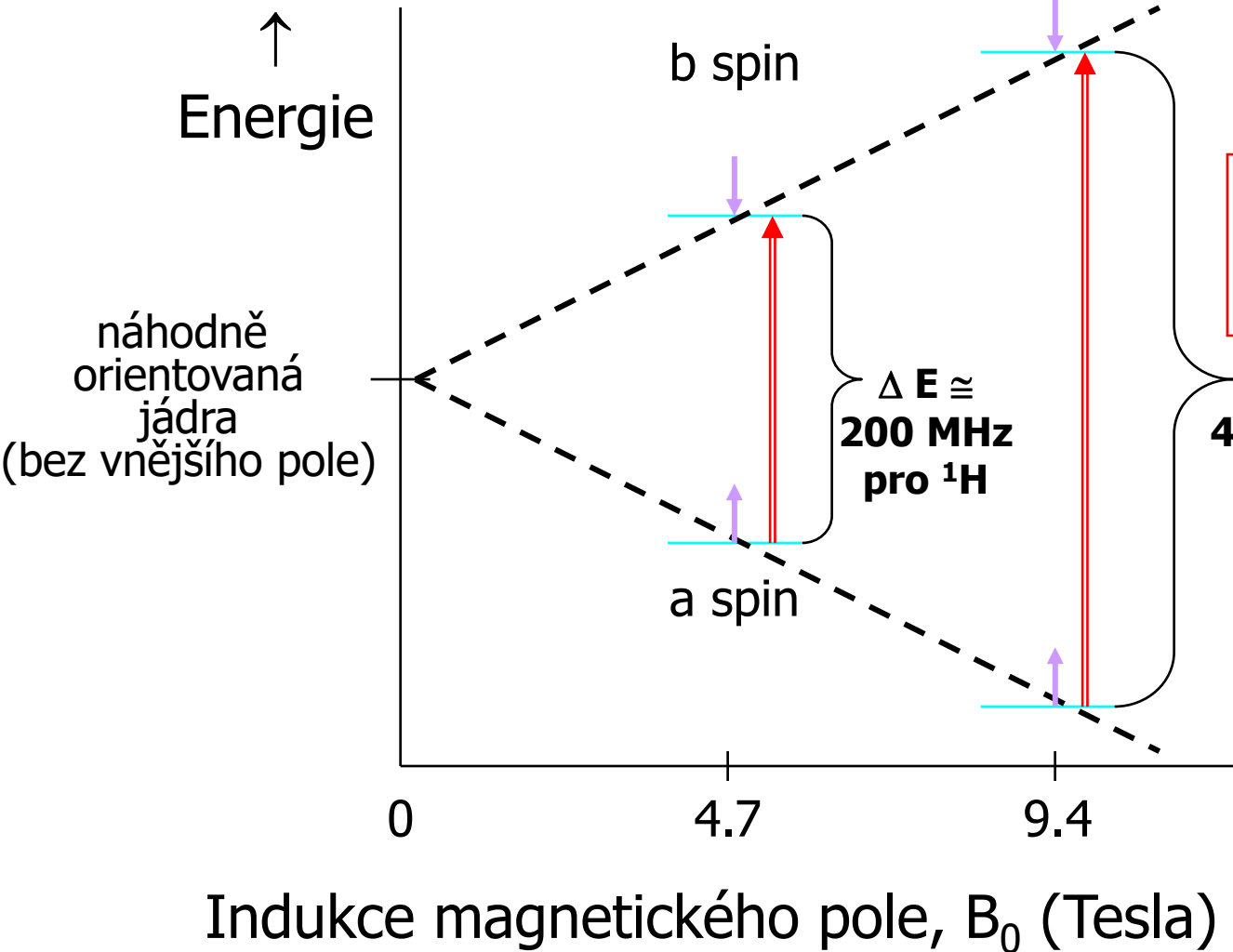
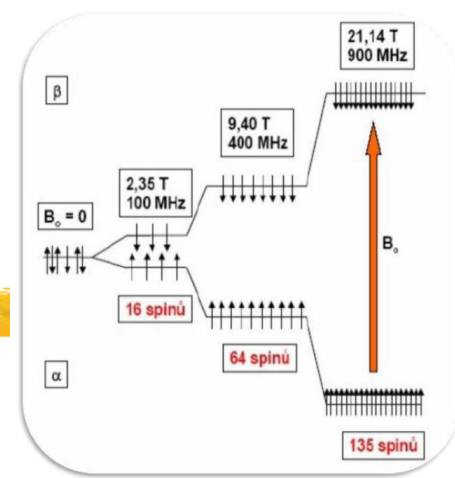
$$\Delta E = \gamma \frac{h}{2\pi} \mathbf{B}_0 = h\nu$$

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} \mathbf{B}_0$$

$$\nu\left(\frac{1}{1}\text{H}\right) = 42.58 \text{ MHz}; \mathbf{B}_0 = 1 \text{ T}$$

$$\nu\left(\frac{1}{1}\text{H}\right) = 200 \text{ MHz}; \mathbf{B}_0 = 4.7 \text{ T}$$

Intenzita vnějšího pole

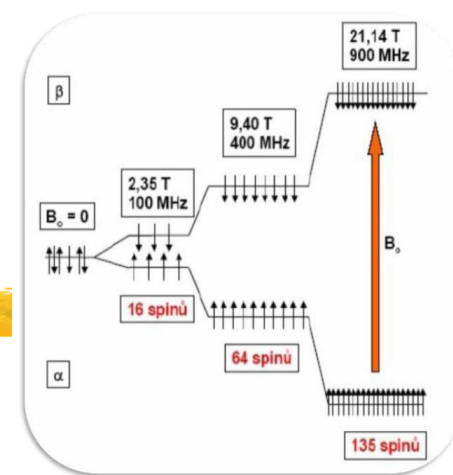


NMR přístroje se označují jako 300, 400, 500 ...

$\Delta E \approx 400 \text{ MHz}$ pro ^1H

- indukce vnějšího pole pro NMR
- zvyšuje citlivost
 - zvyšuje rozlišení
 - cenu přístroje

Intenzita vnějšího pole



Po vložení *silného externího magnetického pole* se jaderné spiny orientují podle vektoru magnetické indukce B_0

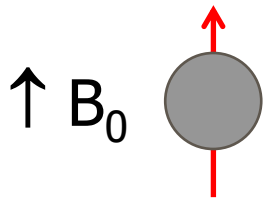
Dále když začne působit druhé *radiofrekvenční pole* a toto dosáhne **Larmorovy frekvence** daného jádra – nastane **absorpce** = tento proces = **rezonance**

Jádra mohou absorbovat E, jen když je splněna **podmínka rezonance**, toho lze dosáhnout buď změnou *vloženého mag. pole*, nebo změnou *radiofrekvenčního záření*

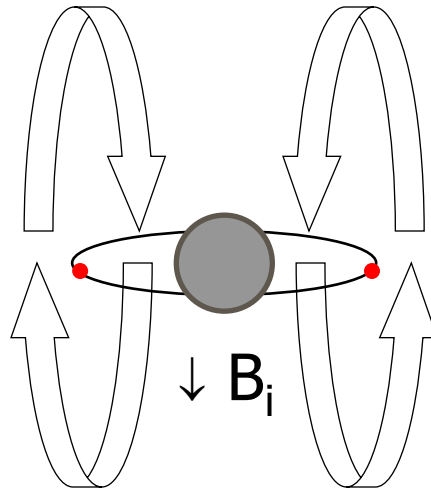
Během rezonance dochází k vyrovnání obou populací – když dojde k vyrovnání populací – vymizí NMR signál

Čím větší signál populací → tím více E systém absorbuje → tím intenzivnější signál dostáváme → tím citlivější měření lze provést

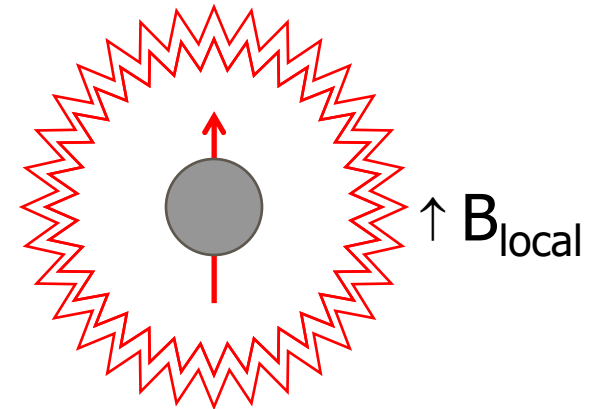
Stínění jader elektrony



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

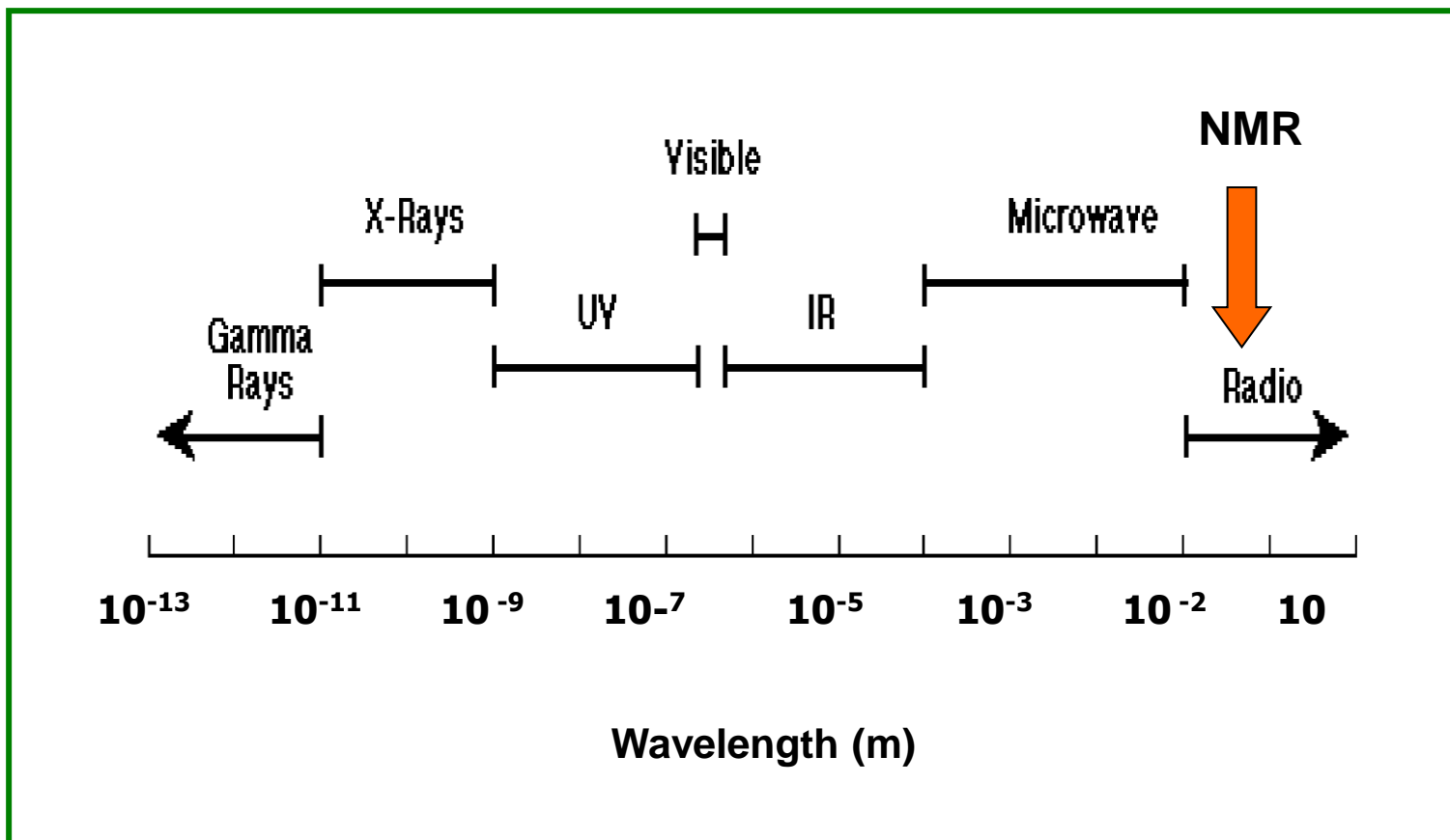


elektrony vytváří
indukované pole (B_i)
orientované proti B_0



elektronová hustota částečně
odstiňuje jádro před
 B_0 takže to cítí B_{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 σ
- ❑ 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

- Reálné molekuly – atomy = jádro + el. obal, el. svým pohybem zesilují či zeslabují mag. pole B_0
- V místě jádra působí tzv. **efektivní magnetické pole B_{eff}** , které je tvořeno externím mag. polem B_0 a lokálním mag. polem B_{loc}

$$B_{\text{eff}} = B_0 - B_{\text{loc}}$$

$$B_{\text{eff}} = B_0 (1 - \sigma)$$

σ **stínící konstanta** ovlivňuje rezonanční frekvenci jádra = **chemický posun**

$$\nu_i = \frac{\gamma}{2\pi} B_0 (1 - \sigma_i)$$

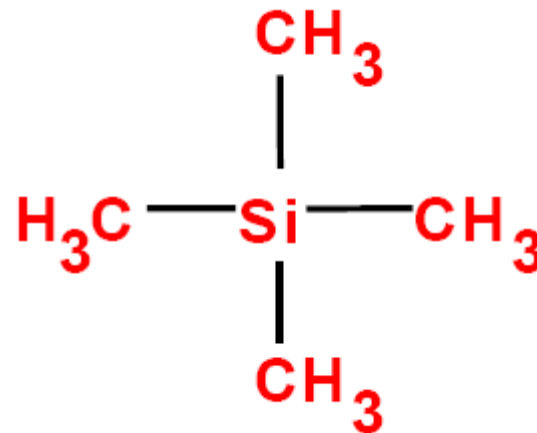
Chemický posun

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

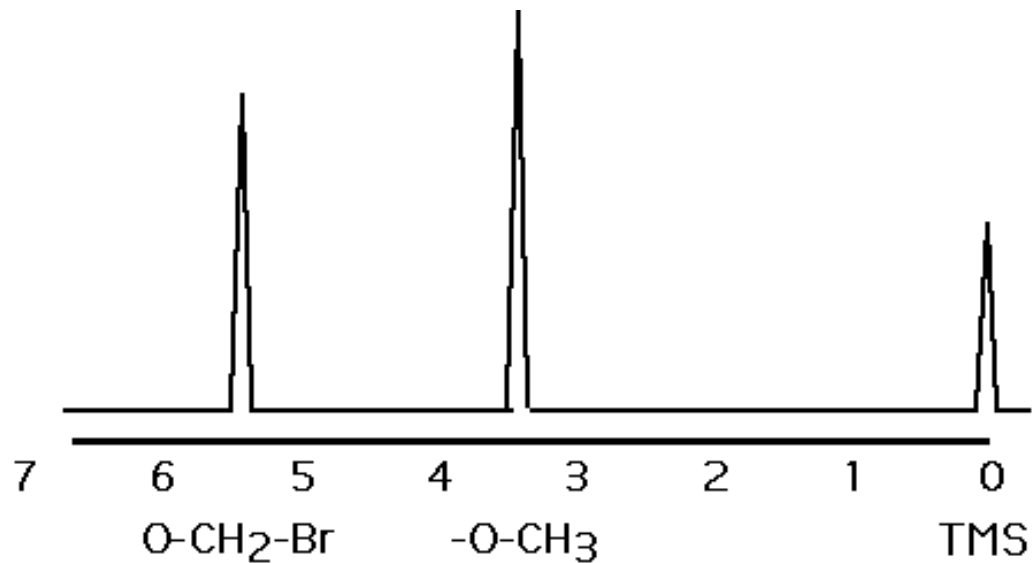
$$\delta(\text{ppm}) = \frac{\nu}{\nu_o} \times 10^6$$

Standard - TMS

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

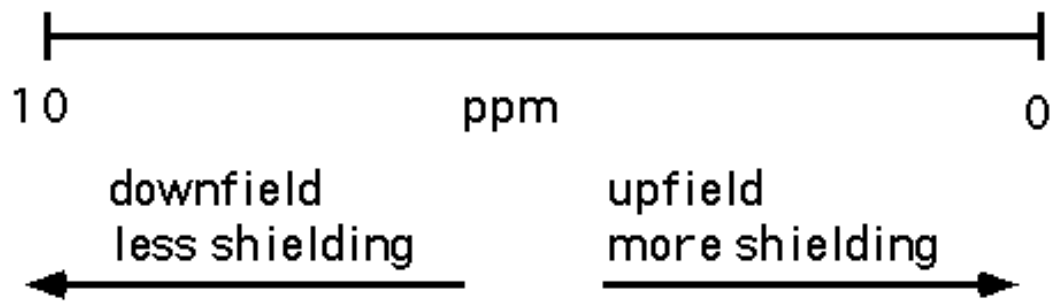


Chemický posun

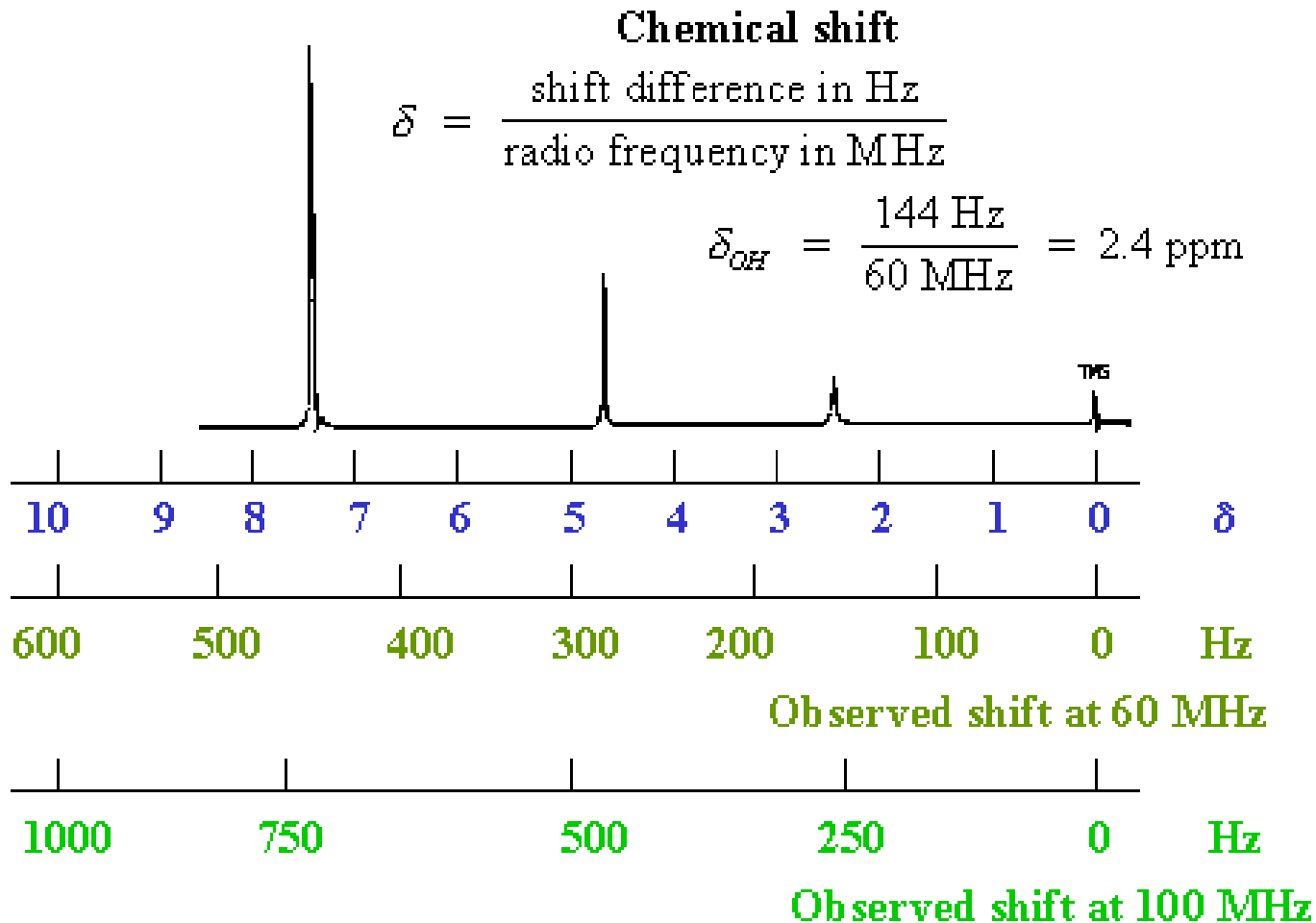


řídké elektronové okolí

husté elektronové okolí

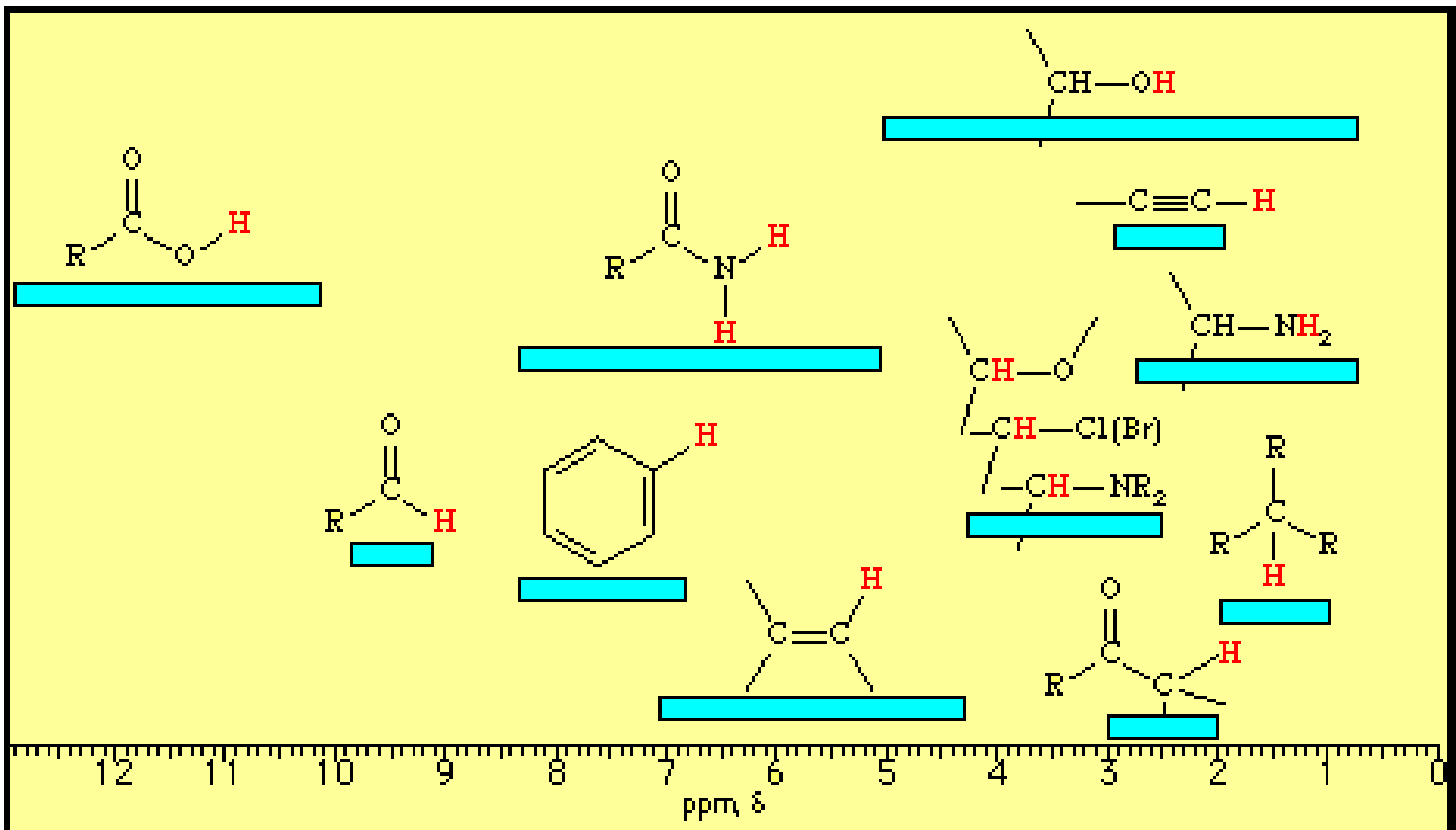


Chemický posun



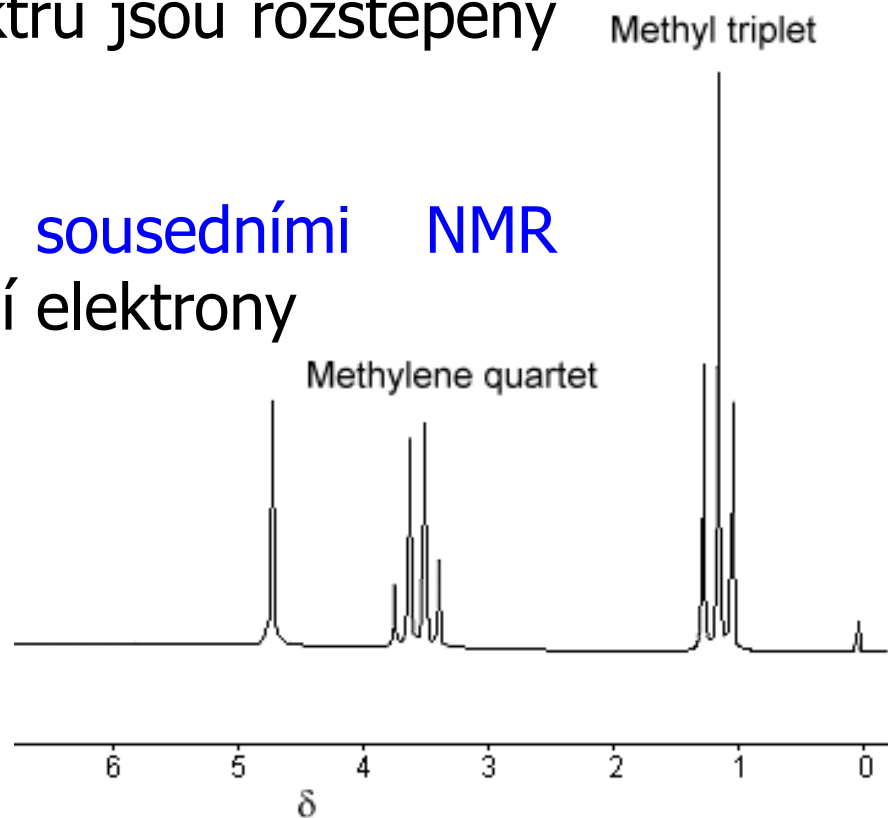
$^1\text{H-NMR}$

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

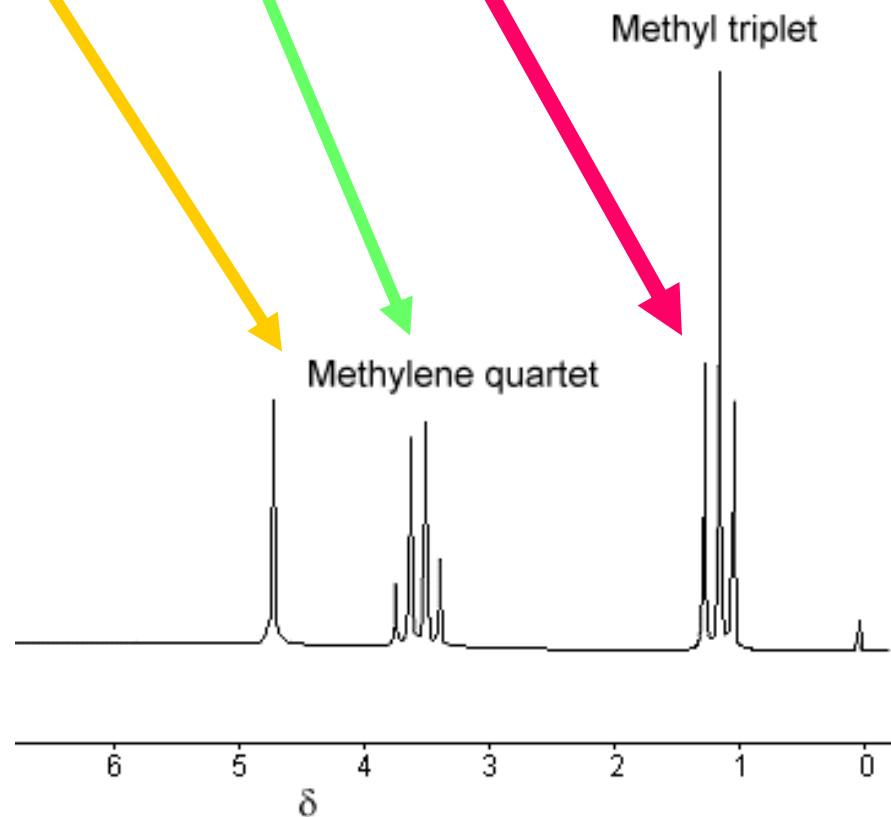


Multiplicita signálů

Pravidlo N+1

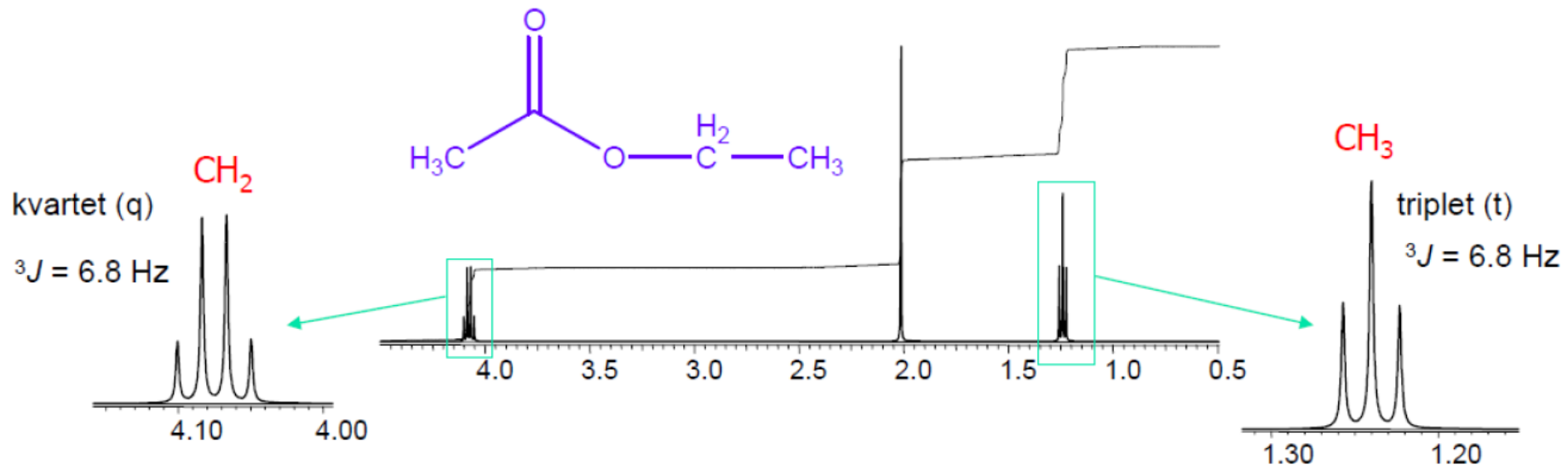
	sousedé	štěpení
CH_3	2	3
CH_2	3/1	4/2
OH	2	'3'

rychlá výměna, pozoruje se singlet



Štěpení

Příklady interpretace ^1H NMR spekter:



Relativní intensity v multipletu

1 singlet

1 1 doublet

1 2 1 triplet

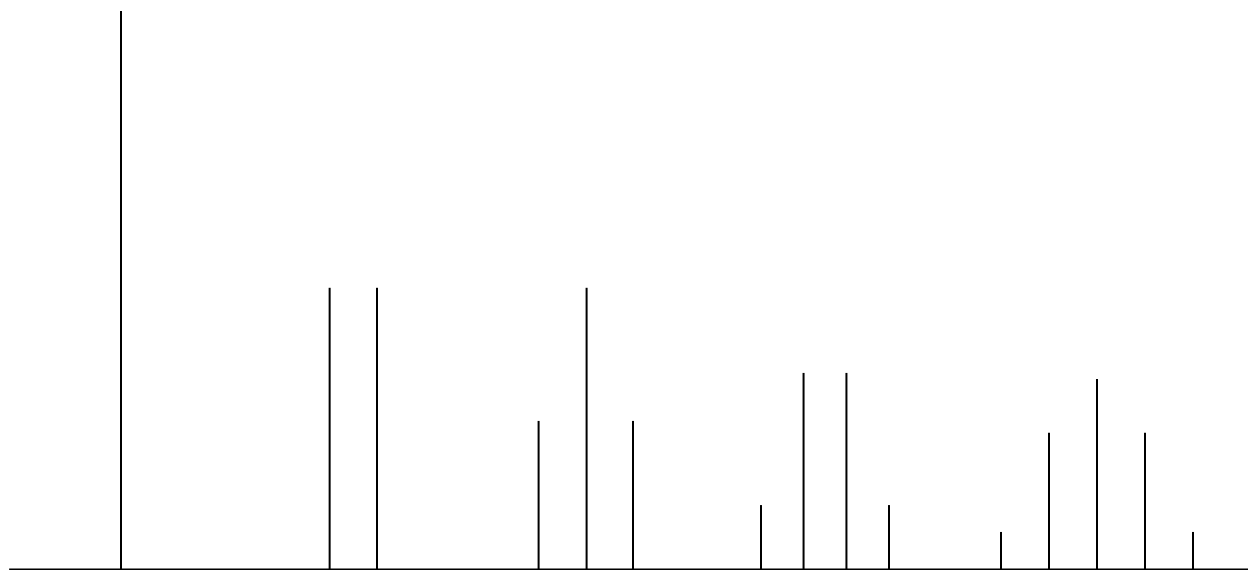
1 3 3 1 quartet

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

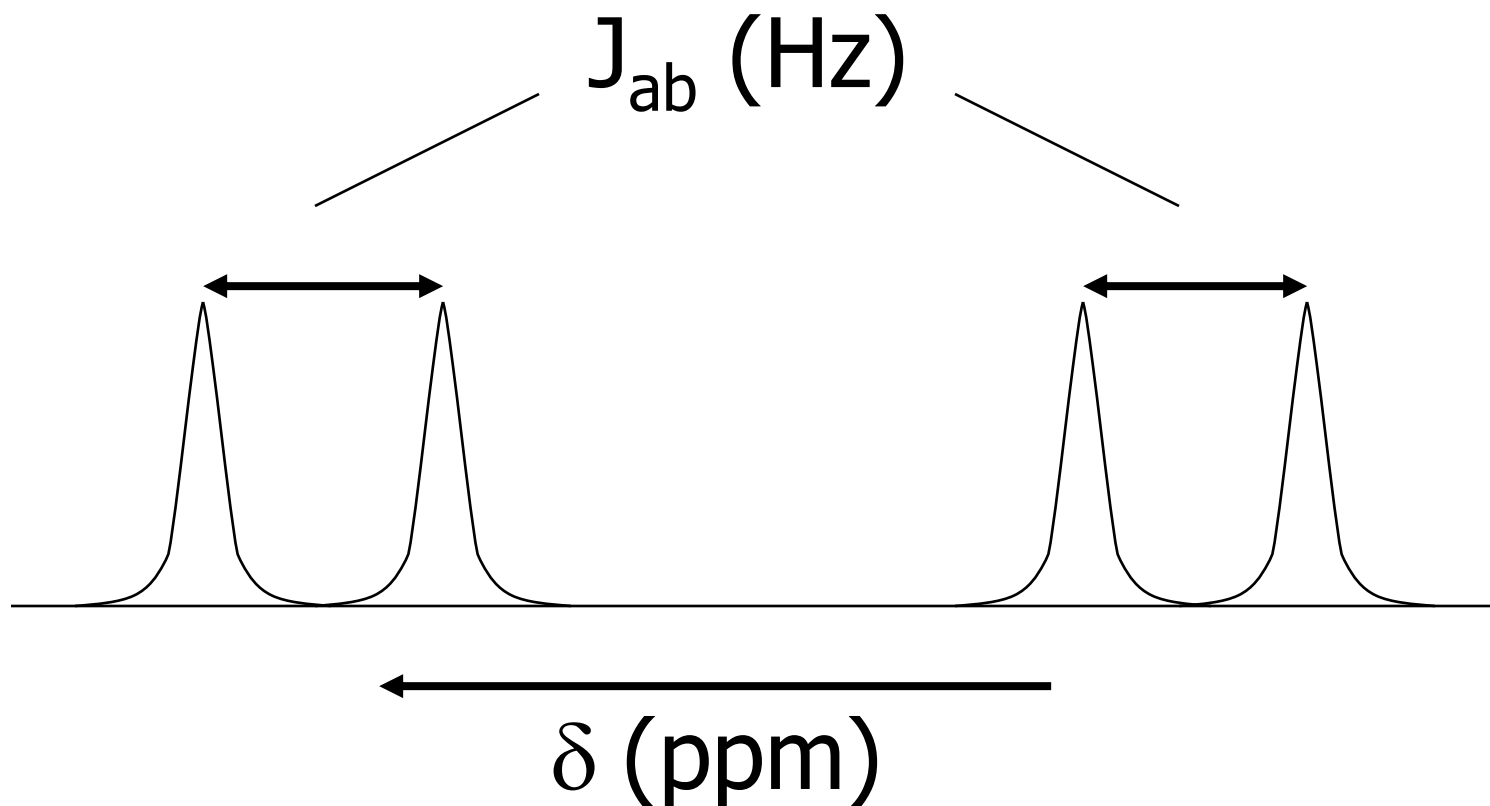
1:2:1

1:3:3:1

1:4:6:4:1

Interakční (coupling) konstanta

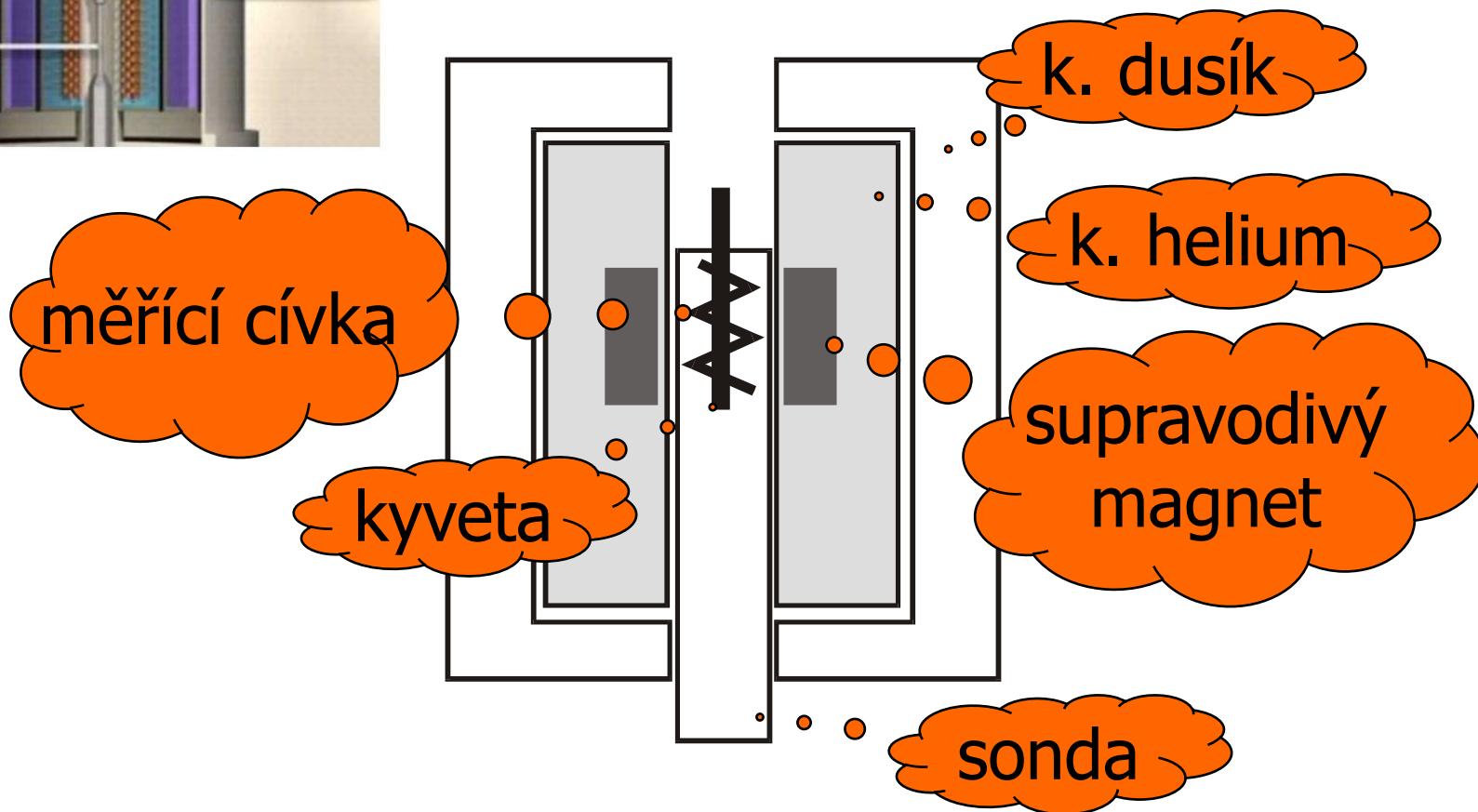
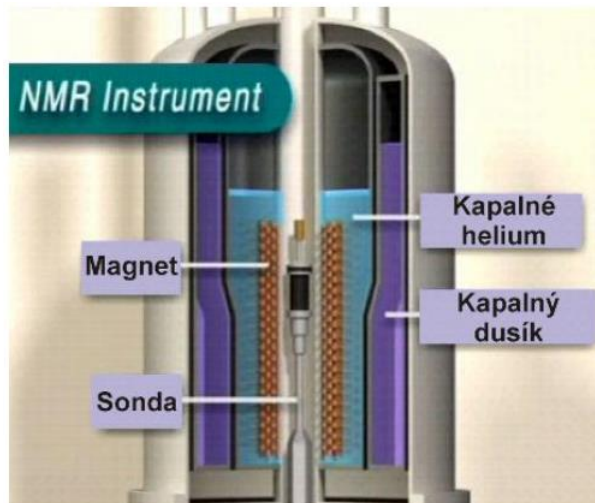
- vzdálenost rozštěpených signálů
- **nezávisí** na indukci vnějšího mag. pole



Struktura z NMR

- **chemický posun δ** - 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 instrumentace



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 spojitě intenzitu magnetického pole B_0 nebo frekvenci proudu v cívce. Při splnění rezonanční podmínky dojde k absorpci radiofrekvenčního záření.

400 MHz NMR Spektrometr



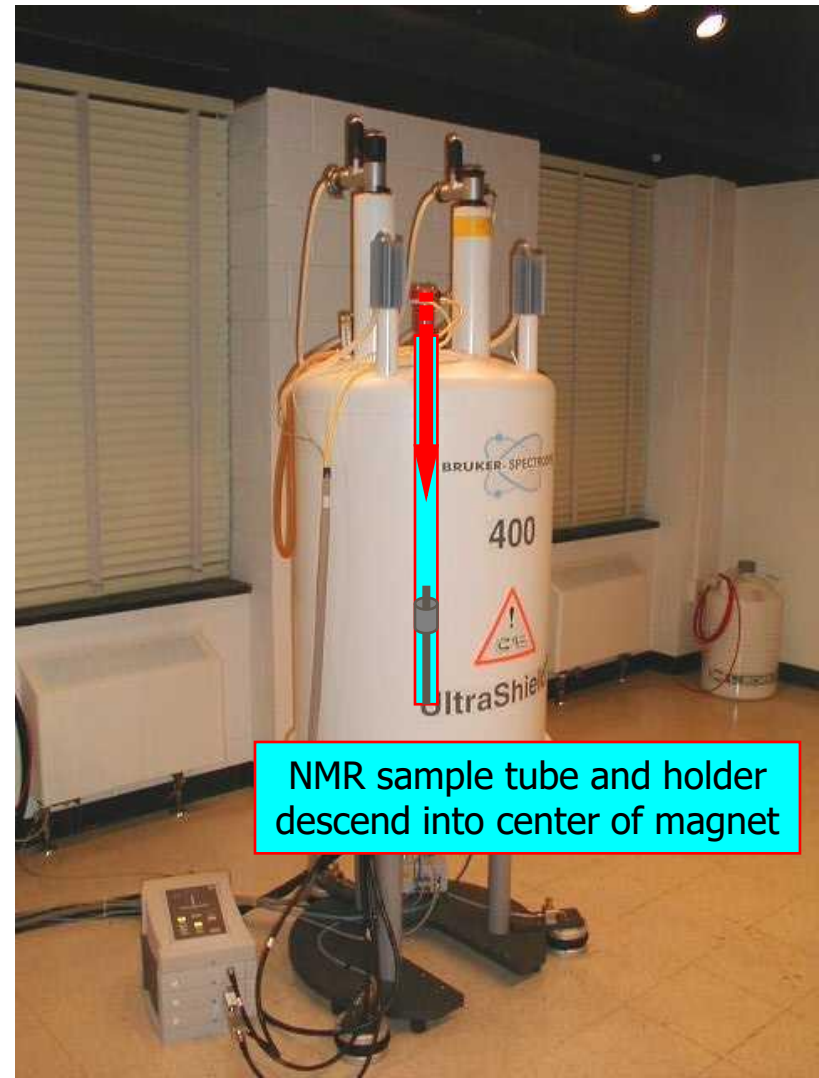
počítač

elektronika

supra-
vodivý
magnet

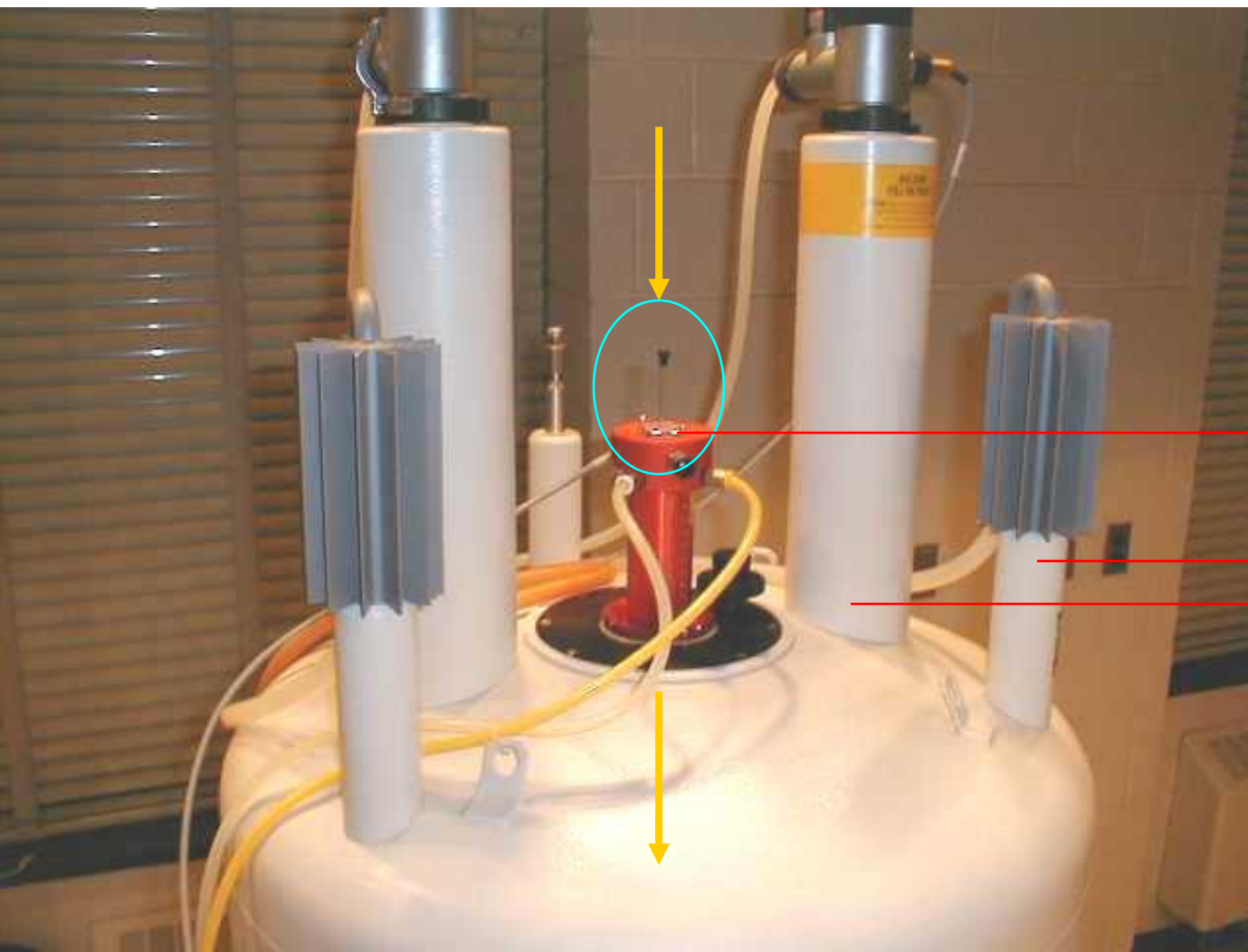
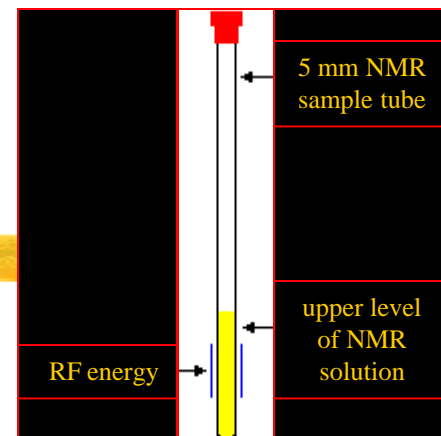
400 MHz supravodivý magnet

- 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°C (77.4 K)

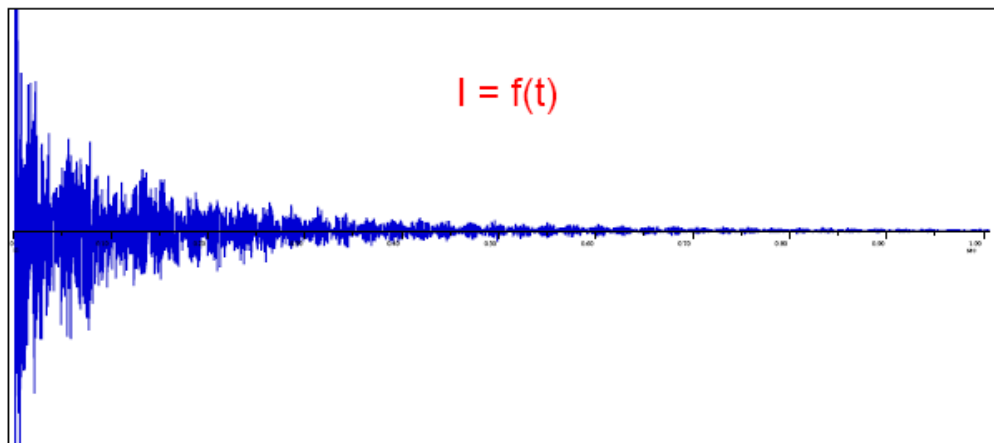
kapalné helium
-269°C (4.2 K)

supravodivé magnety
vyžadují neustálé
chlazení

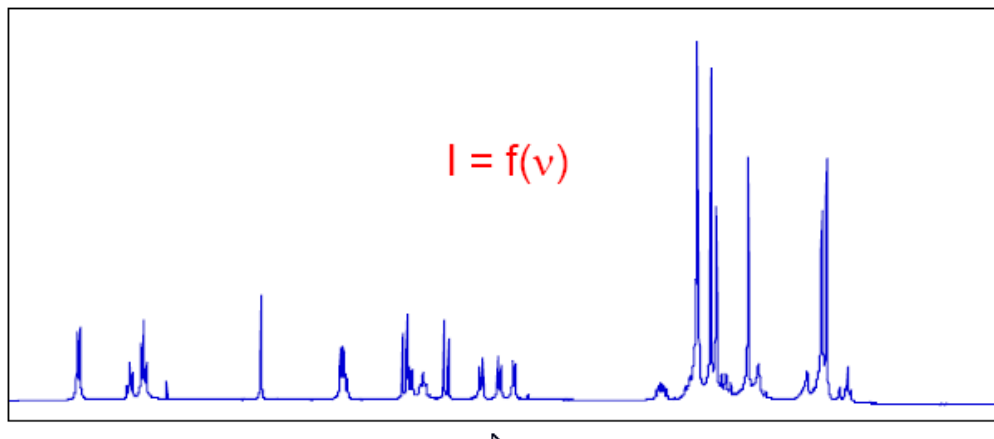
Magnetické pole

- ❑ 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 (μs). Návrat jader do rovnovážného stavu možno sledovat jako FID (free induction decay, volné dozívání 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)

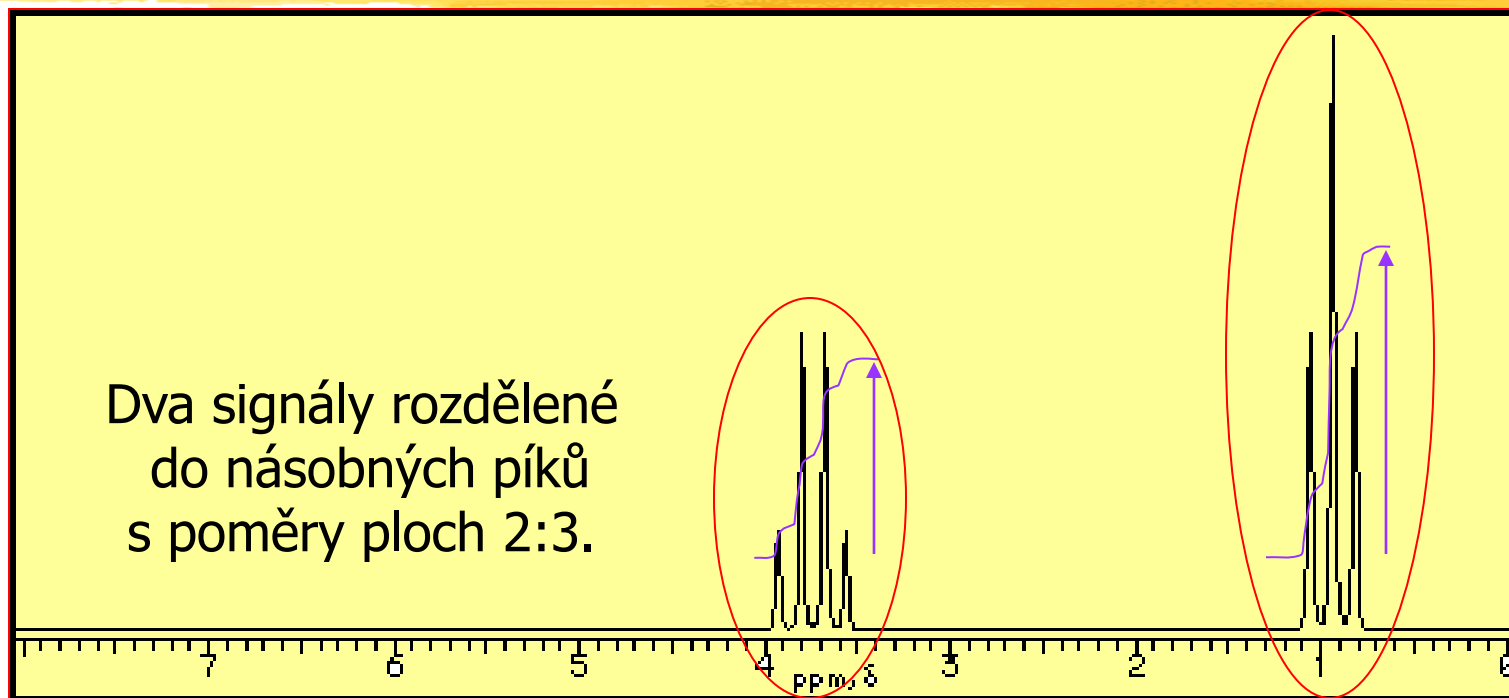
NMR techniky

- protonové spektrum ^1H NMR
- uhlíkové spektrum ^{13}C NMR
- další jednodimenzionální techniky
- dvoudimenzionální techniky (COSY – Correlation Spectroscopy, NOESY – Nuclear Overhauser Effect ...)

Protonové spektrum ^1H NMR

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

^1H - NMR Spektrum



^1H -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}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
 - měření změn mag. momentů atomových jader vodíku
- určování struktury sloučenin
- kvantitativní analýza