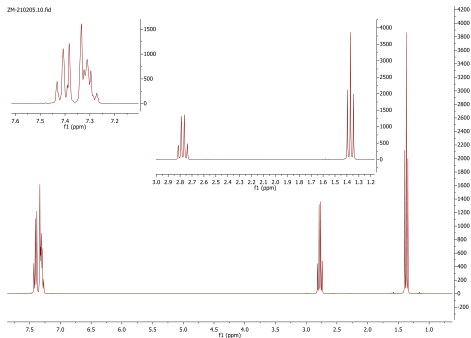


## NMR

### Nukleární Magnetická Rezonance



Zdeněk Moravec, hugo@chemi.muni.cz

# Nukleární Magnetická Rezonance

## Princip

- ▶ NMR – Nukleární Magnetická Rezonance
- ▶ 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.<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>Zdroj: 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  $^1\text{H}$  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  $^1\text{H}$  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.

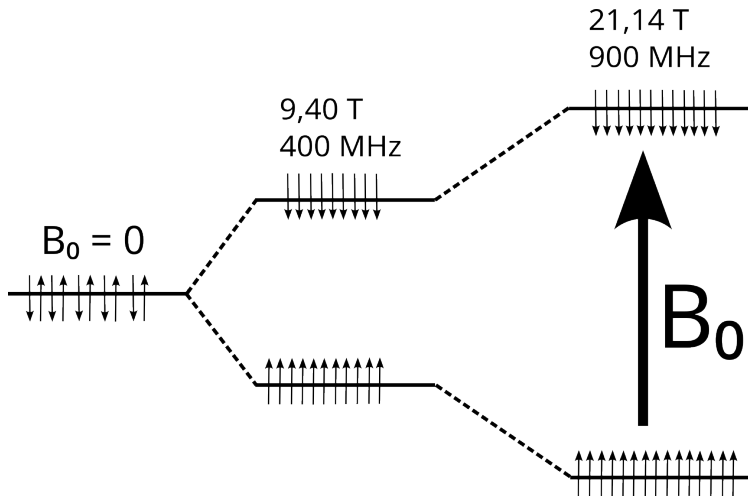
# Nukleární Magnetická Rezonance

## 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.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$  nebo  $^{31}\text{P}$ .
- ▶ 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 puls

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

# Nukleární Magnetická Rezonance

## Chemický posun

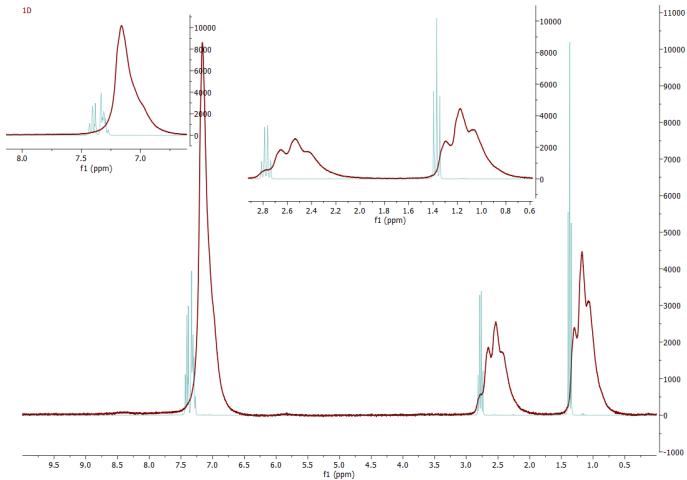
- ▶ Izolovaná jádra stejného izotopu budou v magnetickém poli rezonovat při stejné frekvenci.
- ▶ Pokud uvažujeme molekuly, je každé jádro ovlivněno také lokálními magnetickými poli, které jsou generovány vazebnými elektrony. Tím dochází ke změně rezonanční frekvence daného jádra.
- ▶ Změna je dána tzv.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

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

- ▶  $\nu_{TMS}$  je rezonanční frekvence standardu,  $\nu$  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



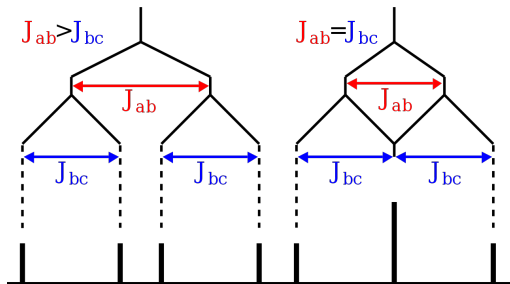
Srovnání  $^1\text{H}$  NMR spekter ethylbenzenu na spektrometrech 60 a 300 MHz



# 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.



Příklad štěpení NMR signálu.<sup>2</sup>

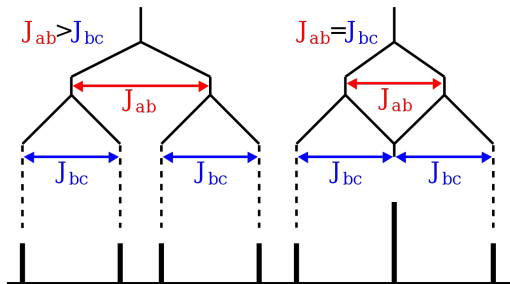
<sup>2</sup>Zdroj: Keministi/ Commons



# 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.

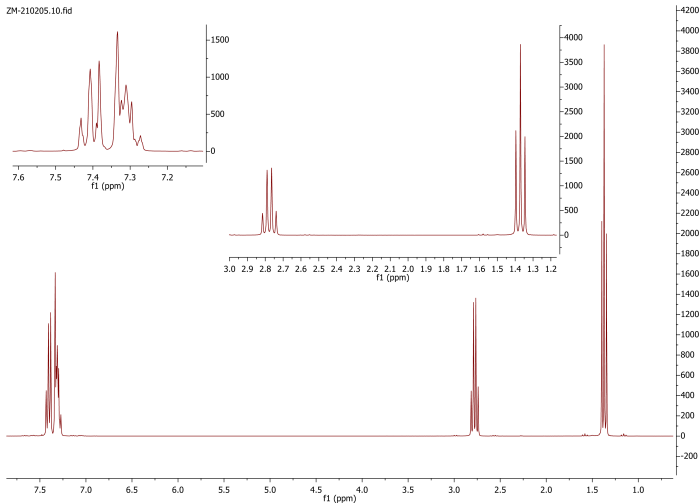


Příklad štěpení NMR signálu.<sup>3</sup>

<sup>3</sup>Zdroj: Keministi/ Commons

# Nukleární Magnetická Rezonance

## Interakční konstanta

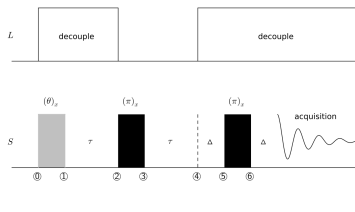


$^1\text{H}$  NMR ethylbenzenu

# 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.

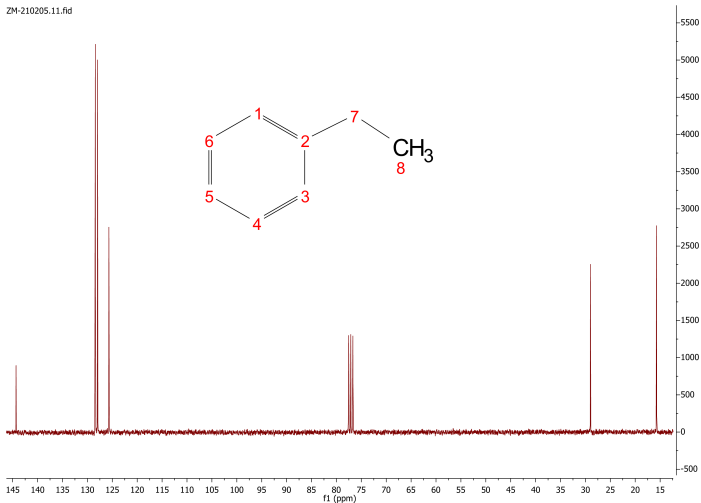


APT pulsní sekvence, využívá  $^1\text{H}$  decoupling.<sup>4</sup>

<sup>4</sup>Zdroj: Thypinginen/Commons

# Nukleární Magnetická Rezonance

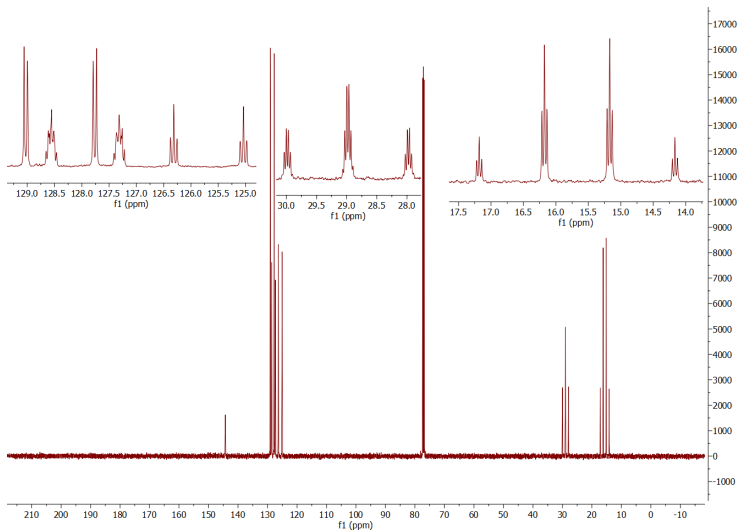
## Decoupling (dekaplink)



$^{13}\text{C}$  NMR ethylbenzenu s  $^1\text{H}$  decouplingem

# Nukleární Magnetická Rezonance

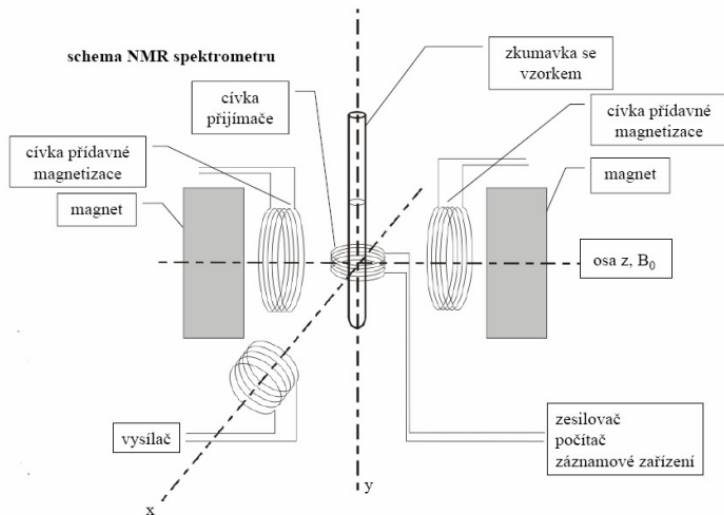
## Decoupling (dekaplink)



$^{13}\text{C}$  NMR ethylbenzenu bez  $^1\text{H}$  decouplingu

# Nukleární Magnetická Rezonance

## Schéma NMR spektrometru





# Nukleární Magnetická Rezonance

NMR magnety

- ▶ Permanentní - do 100 MHz



Benchtop NMR.<sup>5</sup>

<sup>5</sup>Zdroj: Johannes Schneider/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 MHz.<sup>7</sup>

<sup>7</sup>Zdroj: MartinSaunders/Commons

# Nukleární Magnetická Rezonance

Závislost rezonanční frekvence na síle magnetického pole

$B_0$ [T]	$^1\text{H}$ [MHz]	$^{13}\text{C}$ [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

- ▶ Sondy 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  $^1\text{H}$  nebo  $^1\text{H}$  decoupling. *Inverzní sondy* mají uspořádání opačné a jsou vhodné pro snímání jader  $^1\text{H}$  jader, např. v 2D experimentech –  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  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.<sup>8</sup>



NMR spektrometr 1.2 GHz s kryosondou.<sup>9</sup>

<sup>8</sup>Zdroj: Steff-X/Commons

<sup>9</sup>Zdroj: Adville/Commons

# 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  $^2\text{H}$  (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.<sup>10</sup>

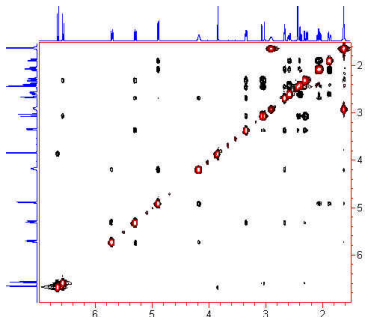
<sup>10</sup>Zdroj: Edgar181/Commons



# 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.



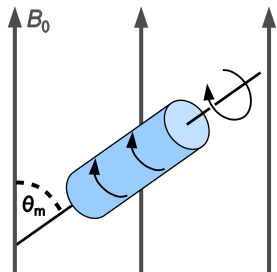
NOESY NMR spektrum kodeinu.<sup>11</sup>

<sup>11</sup>Zdroj: 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.<sup>12</sup>



Rotory pro MAS NMR.<sup>13</sup>

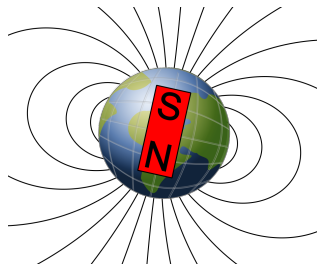
<sup>12</sup>Zdroj: Dtrx/Commons

<sup>13</sup>Zdroj: 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.<sup>14</sup>

# 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.