

Nukleární magnetická rezonance (NMR)

Mgr. Zdeněk Moravec, Ph.D.

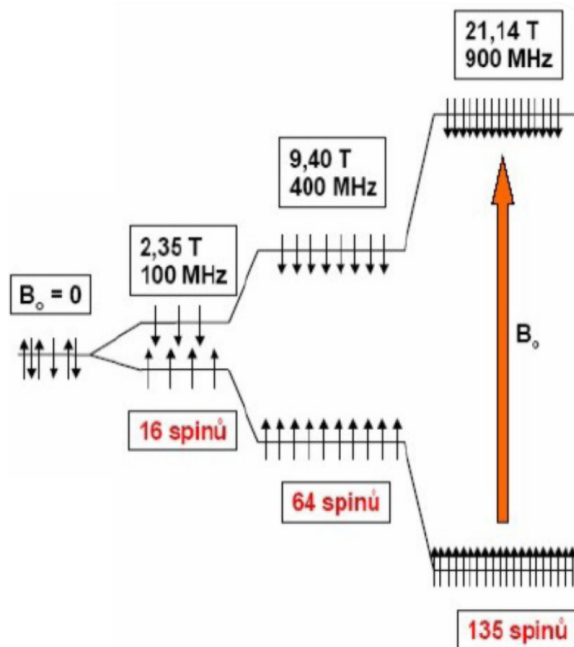
Úvod

Zkratka NMR znamená Nukleární Magnetická Rezonance. Jde o analytickou metodu, která na základě absorpce radiofrekvenčního záření vzorkem umístěným v silném magnetickém poli poskytuje informace o struktuře zkoumané látky. Tato metoda je v chemii velmi důležitá a slouží jak ke studiu nízkomolekulárních látek, tak i k objasnování struktury velkých molekul z oblasti biologie a biochemie, např. bílkovin, DNA, RNA, atd.

Jak je patrné z názvu, NMR spektroskopie se zabývá chováním atomového jádra v magnetickém poli. Atomové jádro se v nejjednodušším přiblížení skládá ze dvou částic – kladně nabitého *protonu* a elektricky neutrálního *neutronu*. Každá z těchto částic má důležitou vlastnost, která se nazývá *spin*. Zjednodušeně můžeme říct, že jde o směr rotačního pohybu částice. Hodnota spinu elementární částice (protonu nebo neutronu) může být $+1/2$ nebo $-1/2$. Součet spinů všech částic v jádře se nazývá *jaderný spin*. Tato charakteristika nám říká, jestli bude dané jádro vhodné pro NMR spektroskopii nebo ne. Pro vlastní měření jsou nejvýhodnější jádra se spinem $1/2$, např. ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P ,...

Interakce jaderného spinu s magnetickým polem

V základním stavu (bez působení magnetického pole) jsou spiny uspořádány náhodně a mají stejnou energii. Pokud na spiny začneme působit vnějším magnetickým polem, rozdělí se na dvě hladiny. Jedna bude mít nižší energii oproti základnímu stavu, druhá naopak vyšší. Na hladině s nižší energií bude mírný nadbytek spinů, oproti druhé hladině. Čím bude vnější magnetické pole silnější, tím bude i větší rozštěpení hladin a také větší rozdíl v populaci jednotlivých hladin.



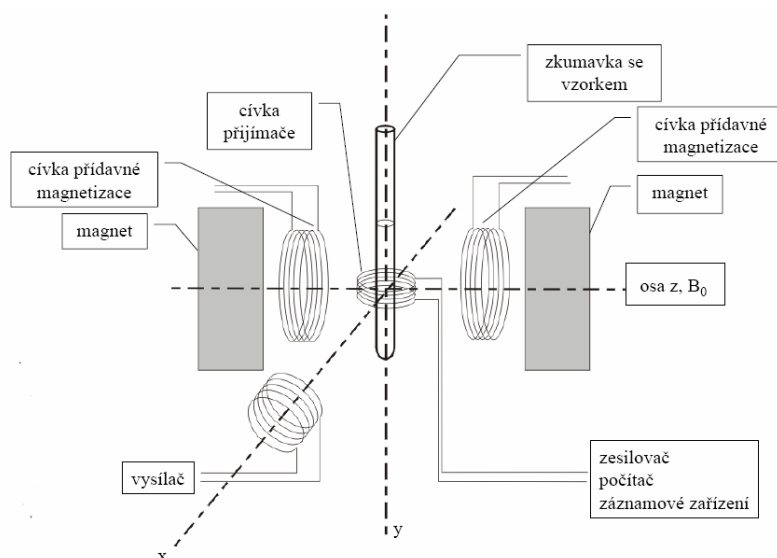
Pokud takto rozštěpený spinový systém začneme ozařovat radiofrekvenčním zářením, může dojít k absorpci a excitaci jednotlivých spinů na vyšší hladinu. Po ukončení ozařování dochází k deexcitaci, kterou následně měříme.

Konstrukce NMR spektrometru

Aby byla intenzita NMR signálu co nejvyšší, je nutné použít velmi silné magnetické pole. To je získáváno pomocí solenoidu ze suprařivového materiálu (materiál bez Ohmického odporu). Protože tyto suprařivodiče pro svůj provoz vyžadují velmi nízkou teplotu ($-269\text{ }^{\circ}\text{C}$ a méně) je cívka ponořena do kapalného helia. Cívka je tvořena několika tisíci závity a teče jí proud o velikosti 100 a více A. Pole generované touto cívku je 4–18 T. Protože se jedná o cívku bez odporu, stačí ji nabít jen jednou při instalaci přístroje a poté zůstává plně funkční bez dodávek proudu i po dobu několika let, musí ale být neustále udržována na nízké teplotě.

Protože je kapalné helium drahé, je dewarova nádoba (termoska) s cívku vložena do vnější dewarovy nádoby s kapalným dusíkem ($-195,8\text{ }^{\circ}\text{C}$). Izolace mezi dewarovými nádobami a pláštěm magnetu je tvořena vakuem.

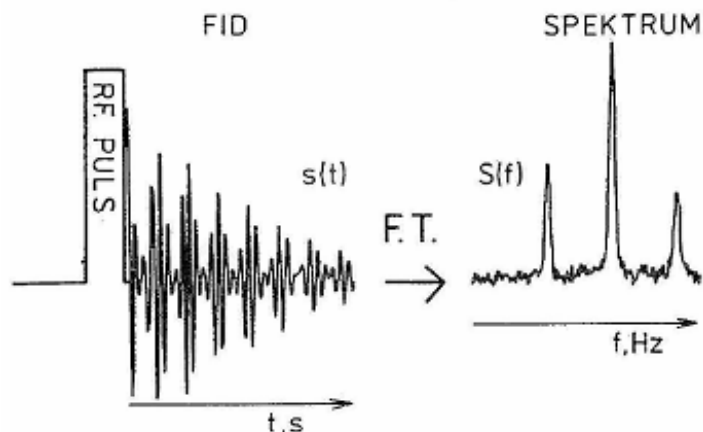
Magnet je asi nejzajímavější součástí NMR spektrometru, mimo něj je potřeba pro měření NMR spekter ještě sonda, do které se vkládá vzorek a která obsahuje vysílací a přijímací cívky a dále sada zesilovačů a vysílačů radiofrekvenčního záření.



Měření a interpretace 1D NMR spekter

NMR spektra je možné měřit dvěma způsoby. U starších spektrometrů se využívalo postupné měření spektra bod po bodu, tzv. CW-NMR. Tento postup byl velmi zdlouhavý a neumožňoval akumulaci spekter, dal se využít pouze pro jádra s vysokou citlivostí a koncentrované roztoky.

V dnešní době se měří výhradně metodou FT-NMR, kdy jedním radiofrekvenčním pulsem, příp. sekvencí pulsů excitujeme všechny jaderné spiny a měříme následnou deexcitaci. Tím získáme tzv. FID (Free Induction Decay), z něhož pomocí Fourierovy transformace (FT), z časové domény do frekvenční, získáme NMR spektrum.



Výhodou tohoto přístupu je možnost několikanásobného měření, tzv. akumulace spekter a tím zlepšením poměru signál/šum ve spektru.

NMR spektrum obsahuje signály, tzv. peaky, které jsou charakterizovány především chemickým posunem a intenzitou. Intenzita signálu odpovídá kvantitě dané spinu v systému a chemický posun o chemickém okolí měřeného jádra.

Chemický posun

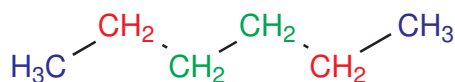
Poloha peaku v NMR spektru je dána rezonanční frekvencí daného jádra. Pokud bychom měřili soustavu izolovaných jader ^1H získáme pouze jeden pík. V reálných vzorcích jsou ale jádra součástí molekul, tzn. že jsou obklopeny vazebnými elektrony, které se chovají jako malé lokální magnety, tím ovlivňují intenzitu vnějšího magnetického pole, které na tyto jádra působí. Proto se rezonanční frekvence jader mění v závislosti na chemickém okolí měřeného jádra (viz tabulka).

Chemický posun (δ) se udává v jednotkách ppm (parts per milion – miliontina), a je dán následujícím vztahem:

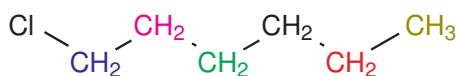
$$\delta = \frac{\nu_x - \nu_{ref}}{\nu_{ref}} \times 10^6$$

kde ν_x je rezonanční frekvence měřeného jádra a ν_{ref} je rezonanční frekvence referenční sloučeniny. Hodnota chemického posunu je tak nezávislá na použitém přístroji.

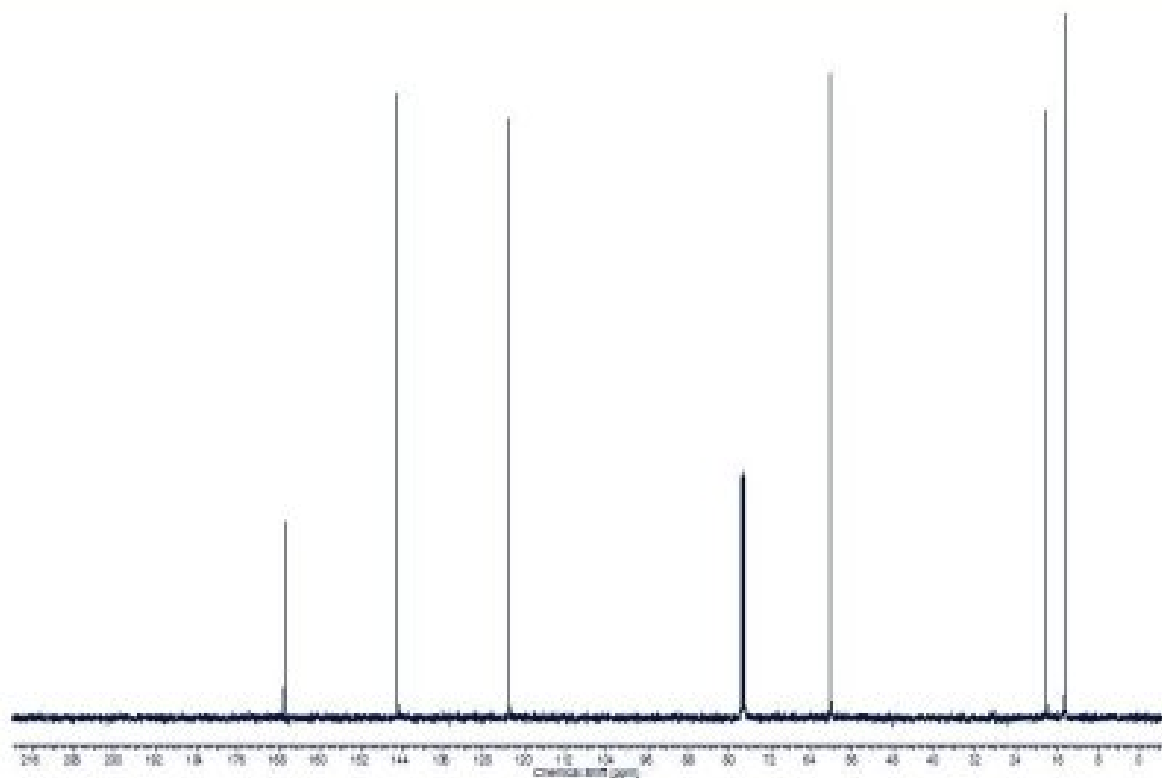
Každý pík ve spektru odpovídá jednomu chemicky neekvivalentnímu jádru ve sloučenině. Tzn. pokud bychom měřili ^1H NMR spektrum hexanu, který obsahuje tři typy neekvivalentních protonů, získáme spektrum se třemi signály.



Naproti tomu, nesymetricky substituovaný hexan, např. 1-chlorhexan, bude mít signálů šest, protože kvůli substituci dojde ke snížení symetrie molekuly.



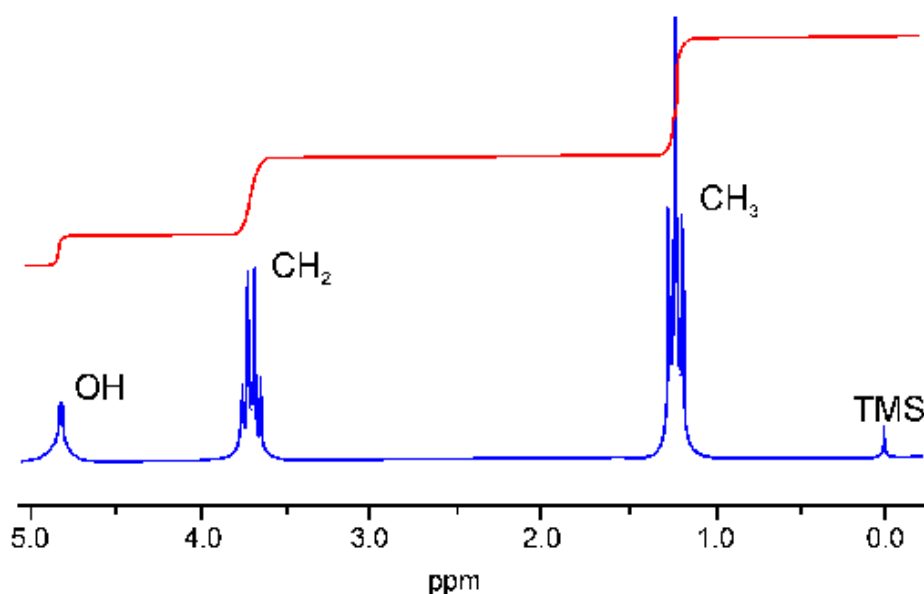
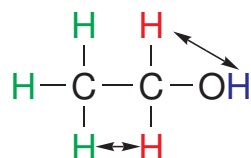
V ^1H spektru platí, že integrál plochy pod píkem je přímo úměrný počtu ekvivalentních jader v molekule.



Typ H atomu	Přibližné posuny ¹ H-NMR
RCH_3	0.9 - 1.1
R_2CH_2	1.2 - 1.4
R_3CH	1.5 - 1.7
$R_2C=CH_2$	4.5 - 5.5
$R_2C=CHR$	5.5 - 6.5
$R_2C=C\begin{matrix} R \\ \diagup \\ CH_3 \end{matrix}$	1.5 - 2.0
$RC\equiv CH$	2.0 - 2.5
$ArCH_3$	2.3 - 2.5
$Ar-H$	6.5 - 8.5
$\begin{matrix} O \\ \\ RCCH_3 \end{matrix}$	2.0 - 2.5
$\begin{matrix} O \\ \\ RCH \end{matrix}$	9.5 - 10.0
$ROCH_2R'$	3.5 - 4.5
RCH_2Cl	3.0 - 3.5
$RCH_2NR'_2$	2.5 - 3.0
RCH_2OH	3.5 - 4.5

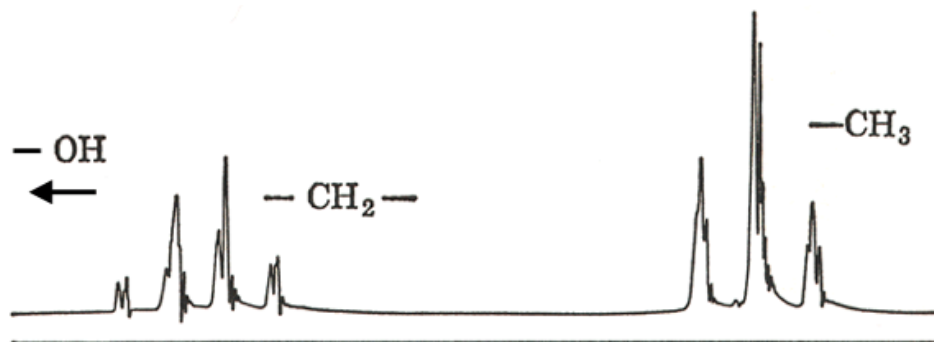
Magnetické interakce jader

Pokud je v molekule několik NMR aktivních jader, může dojít k interakci jaderných spinů, která se ve spektru projeví rozštěpením píku na složitější soustavu. Interakce jsou dvojího druhu – přímé dipól-dipólové interakce, které se šíří přes prostor a v izotropním, kapalném prostředí se neprojevují a nepřímé spin-spinové interakce, které jsou zprostředkovány vazebnými elektrony a způsobují pozorovatelné štěpení NMR signálů v kapalně fázi. Tyto interakce vznikají pouze mezi neekvivalentními jádry.

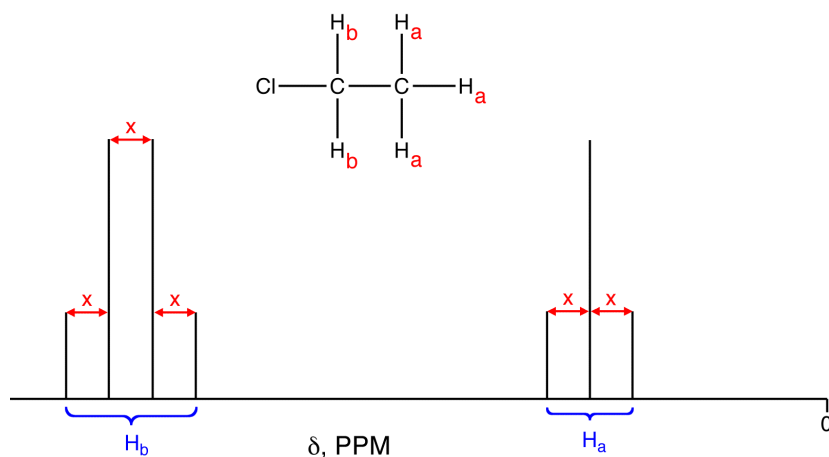


Způsob štěpení je dán počtem interagujících spinů, velikost štěpení je určena počtem vazeb, které tyto spiny oddělují. Pro jádra se spinem $1/2$ je velikost multipletu, tzn. počet signálů po štěpení a jejich vzájemná intenzita dán Pascalovým trojúhelníkem. Pokud s měřeným jádrem interaguje jedno jádro, získáme dva signály o stejné intenzitě, tzv. dublet. Pokud interagují dvě jádra, získáme tři signály (triplet), jejichž intenzity jsou v poměru 1:2:1. V případě tří jader získáme čtyři signály s poměrem intenzit 1:3:3:1.

1
1 1
1 2 1
1 3 3 1
1 4 6 4 1
1 5 10 10 5 1
1 6 15 20 15 6 1



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. Obrázek ukazuje třívazebnou interakci mezi protony v molekule chlorethanu.



Čím více vazeb je mezi atomy, tím je hodnota interakce menší. Interakce přes čtyři a více vazeb jsou již velmi slabé a často je nejde pozorovat.

Charakteristické chemické posuny atomu vodíku ^1H

Typ atomu vodíku	Chemický posun / ppm
Cyklopropan	0,2
Primární	RCH_3 0,9
Sekundární	R_2CH_2 1,3
Terciární	R_3CH 1,5
Vinylický	$\text{C}=\text{C}-\text{H}$ 4,6–5,9
Acetylenický	$\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$ 2–3
Aromatický	$\text{Ar}-\text{H}$ 6–8,5
Benzylický	$\text{Ar}-\text{C}-\text{H}$ 2,2–3
Allylický	$\text{C}=\text{C}-\text{H}$ 1,7
Fluorderiváty	$\text{HC}-\text{F}$ 4–4,5
Chlorderiváty	$\text{HC}-\text{Cl}$ 3–4
Bromderiváty	$\text{HC}-\text{Br}$ 2,5–4
Jodderiváty	$\text{HC}-\text{I}$ 2–4
Alkoholy	$\text{HC}-\text{OH}$ 3,4–4
Ethery	$\text{HC}-\text{OR}$ 3,4–4
Estery	$\text{RCOOC}-\text{H}$ 3,7–4,1
	$\text{HC}-\text{COOR}$ 2–2,2
Kyseliny	$\text{HC}-\text{COOH}$ 2–2,6
Karboxylové sloučeniny	$\text{HC}-\text{C}=\text{O}$ 2–2,7
Aldehydy	RCHO 9–10
Hydroxylové skupiny	ROH 1–5,5
Fenolické skupiny	ArOH 4–12
Hydroxy skupina enolu	$\text{C}=\text{C}-\text{OH}$ 15–17
Karboxylové kyseliny	RCOOH 10,5–12
Aminy	RNH_2 1–5

Charakteristické chemické posuny atomu vodíku ^{13}C

