

# Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού

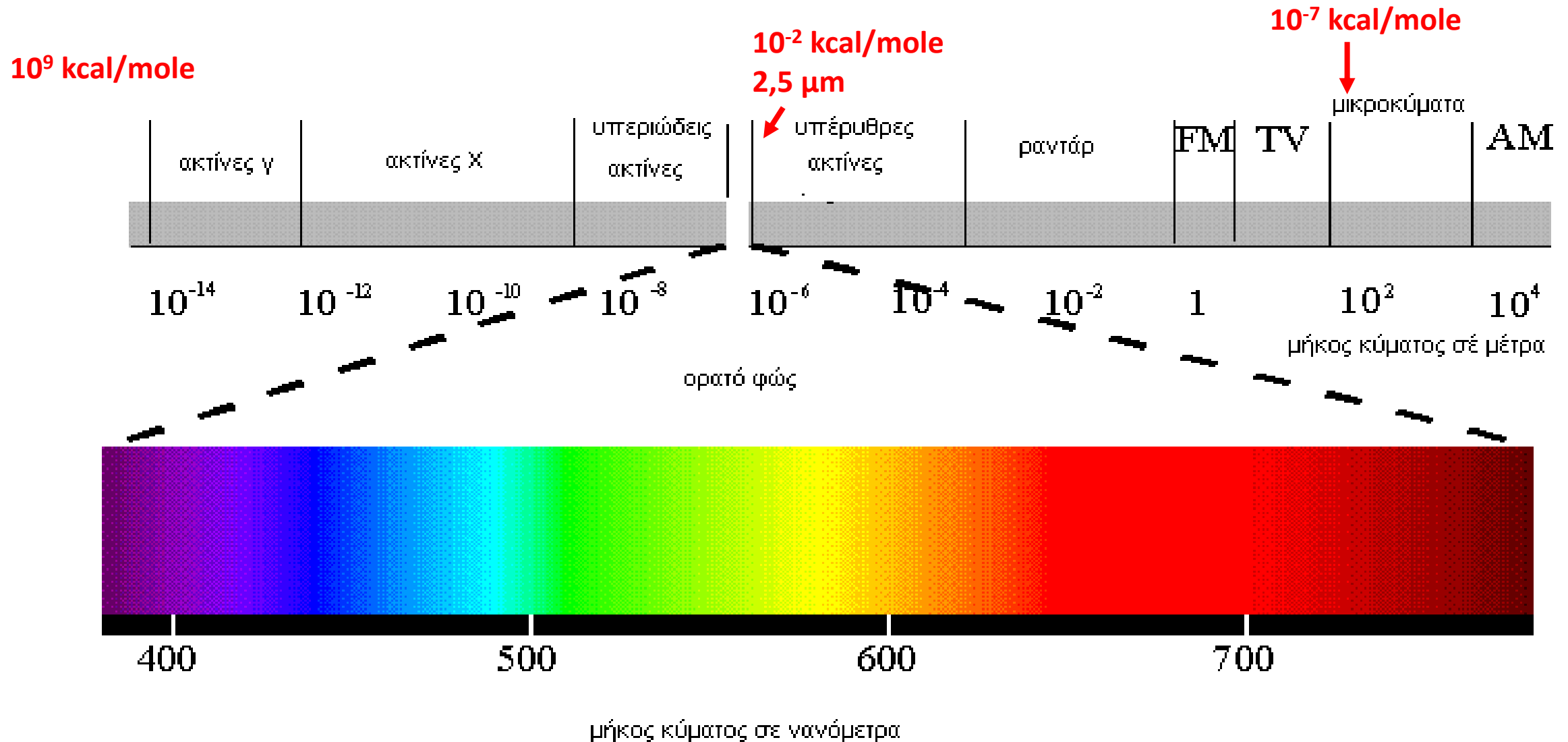
## Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

1946	E. Purcell (Harvard University) F. Bloch (Stanford University)	Παρατήρηση του φαινομένου του μαγνητικού συντονισμού	Nobel 1952
1950-1965		Εφαρμογή σε επίλυση χημικών προβλημάτων, κυκλοφορία CW NMR φασματομέτρων	
1966-1980 1980-	R. Ernest (Swiss Federal Institute of Technology)	FT NMR NMR δύο διαστάσεων	Nobel 1991
	K. Wüthrich (The Scripps Research Inst. La Jolla USA)	Ανάπτυξη NMR για τον προσδιορισμό της τρισδιάστατης δομής βιολογικών μακρομορίων σε διάλυμα	Nobel <sup>(1/2)</sup> 2002
1980-	P. Lauterbur (University of Illinois) P. Mansfield (University of Nottingham)	Μαγνητική Τομογραφία Magnetic Resonance Imaging (MRI)	Nobel 2003

# Φασματομέτρα NMR

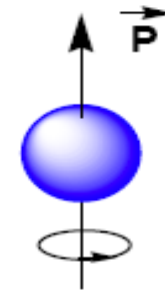


Τα φάσματα NMR οφείλονται σε διεγέρσεις μαγνητικών πυρήνων μέσα σε μαγνητικό πεδίο με επίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας περίπου στην περιοχή των ραδιοκυμάτων



## Σπιν

**Τι είναι σπιν;** Είναι μια θεμελιώδης ιδιότητα της ύλης, όπως η μάζα ή το ηλεκτρικό φορτίο και αναφέρεται στην **αυτοπεριστροφή γύρω από ένα φανταστικό άξονα** υποατομικών, μεμονωμένων σωματιδίων (ηλεκτρονίων, πρωτονίων, νετρονίων), τα οποία χαρακτηρίζονται από  $I$ , μαγνητικό κβαντικό αριθμό  $+1/2$  ή  $-1/2$ . Λόγω της περιστροφής το σωματίδιο εμφανίζει **ιδιοστροφορμή ή σπιν**, η οποία παρίσταται με το άνυσμα  $\mathbf{P}$ .

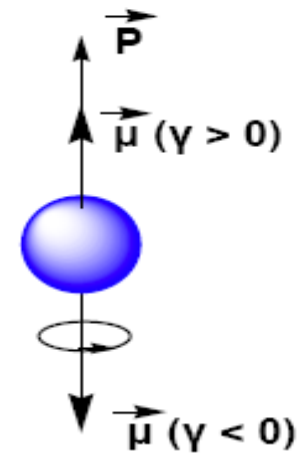


$$P = \hbar \sqrt{I(I+1)}$$

## Πυρηνικό σπιν πρωτονίου

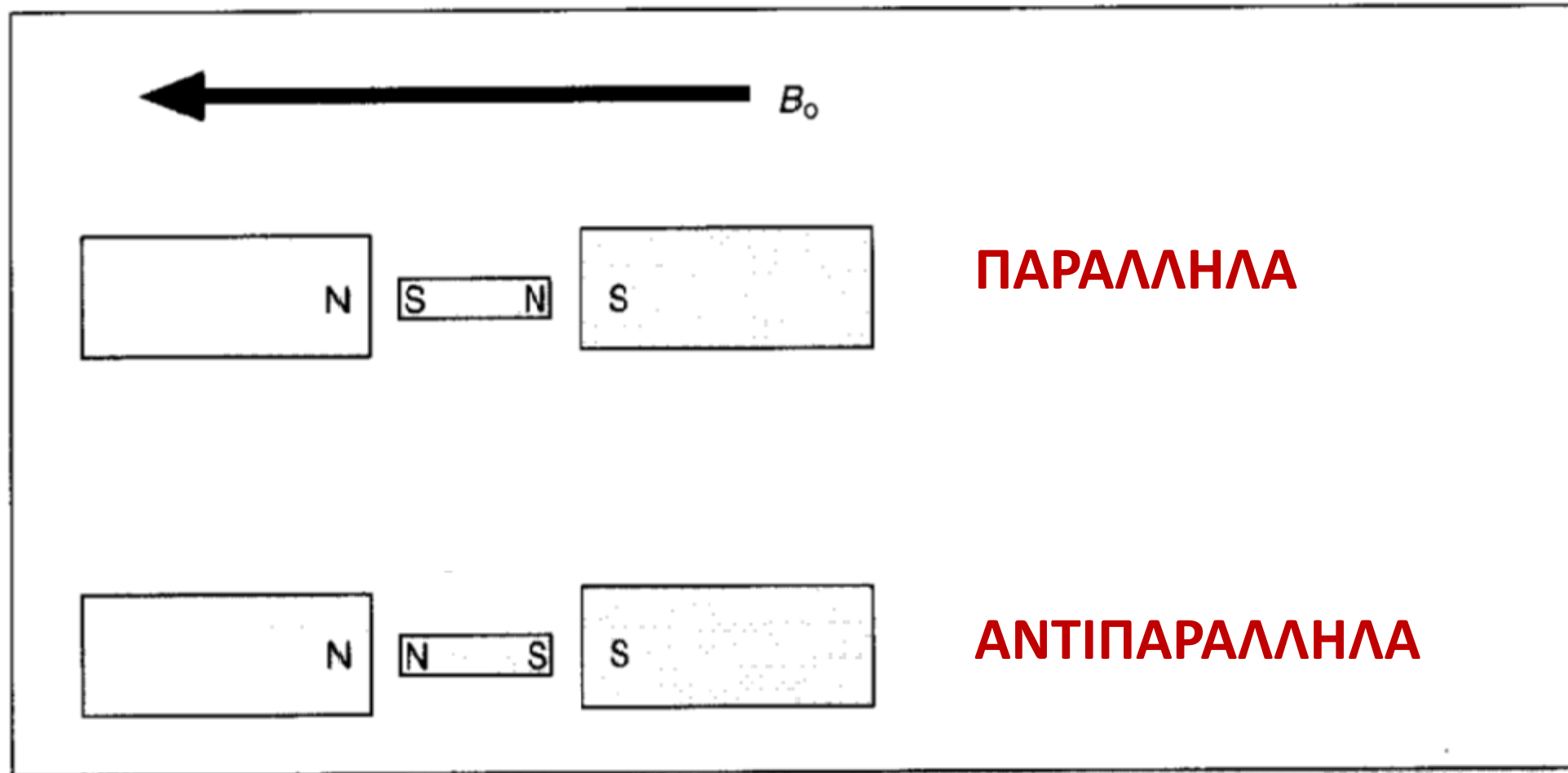
Ο πυρήνας του ατόμου του υδρογόνου έχει ένα πρωτόνιο, το οποίο εκδηλώνει την ιδιότητα του σπιν. Η ύπαρξη του σπιν συνεπάγεται εγγενή πυρηνική μαγνητική ροπή. Δηλαδή το **πρωτόνιο συμπεριφέρεται ως ένα μαγνητικό δίπολο ή ως ένας μικροσκοπικός μαγνήτης**.

Το άνυσμα της μαγνητικής ροπής,  $\mu$ , είναι συγγραμμικό με το άνυσμα της ιδιοστροφορμής,  $\mathbf{P}$ , ενώ η φορά του εξαρτάται από τον γυρομαγνητικό λόγο,  $\gamma$ .



$$\mu = \gamma P$$

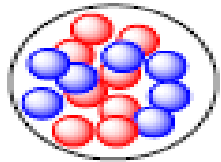
# Προσανατολισμός μαγνήτη σε εξωτερικό μαγνητικό πεδίο



# Μαγνητικοί πυρήνες

Ο κβαντικός αριθμός του spin I εξαρτάται από τον αριθμό των πρωτονίων και των νετρονίων και μπορεί να είναι 0, ακέραιος ή ημιακέραιος. Οι πυρήνες με  $I \neq 0$  χαρακτηρίζονται ως μαγνητικοί πυρήνες και μπορούν να δώσουν φάσματα NMR.

**Z = αριθμός πρωτονίων, N = αριθμός νετρονίων, A = Z + N.**



- πρωτόνια
- νετρόνια

1. **Z και N άρτιοι αριθμοί (A = άρτιος) → I = 0**

$^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{32}\text{S}$

2. **Z και N περιττοί αριθμοί (A άρτιος) →**

**→ I = ακέραιο πολλαπλάσιο του 2(1/2)**

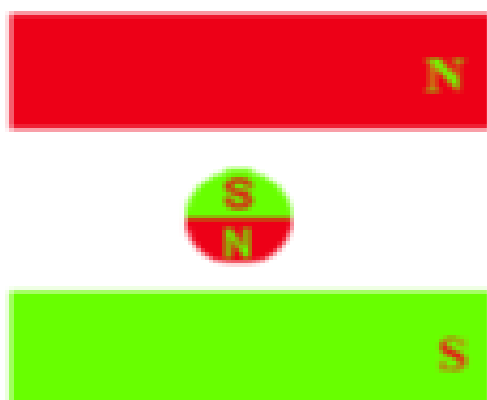
$^2\text{H}$  (I = 1),  $^{10}\text{B}$  (I = 3),  $^{14}\text{N}$  (I = 1),  $^{50}\text{V}$  (I = 6)

3. **Z άρτιος (περιττός) και N περιττός (άρτιος) αριθμός (A = περιττός)**

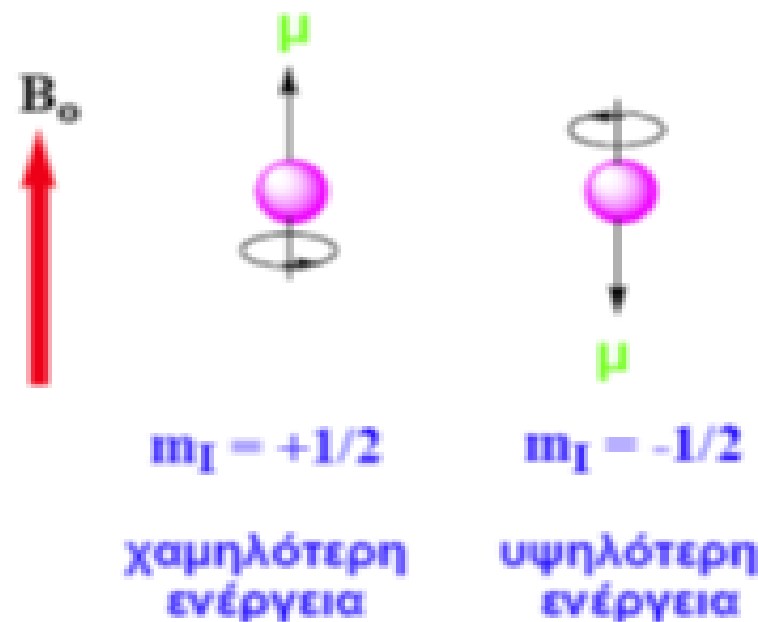
**→ I = n(1/2)      n = περιττός ακέραιος αριθμός (1, 3, 5, ...)**

$^1\text{H}$  (I = 1/2),  $^{13}\text{C}$  (I = 1/2),  $^{31}\text{P}$  (I = 1/2),  $^{11}\text{B}$  (I = 3/2),  $^{17}\text{O}$  (I = 5/2),  $^{35}\text{Cl}$  (I = 3/2),  $^{19}\text{F}$  (I = 1/2)

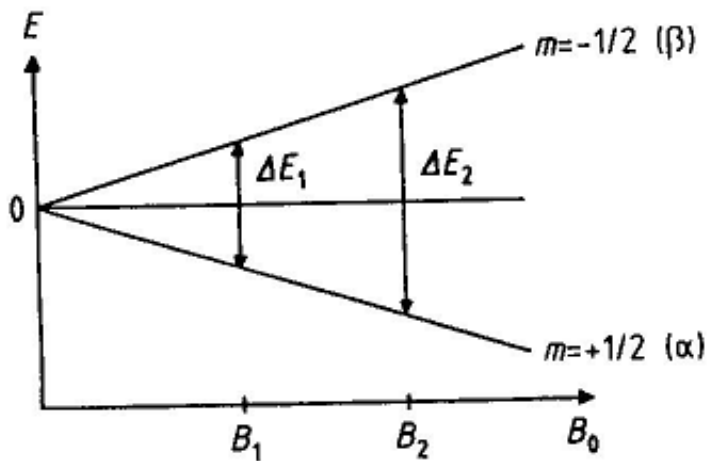
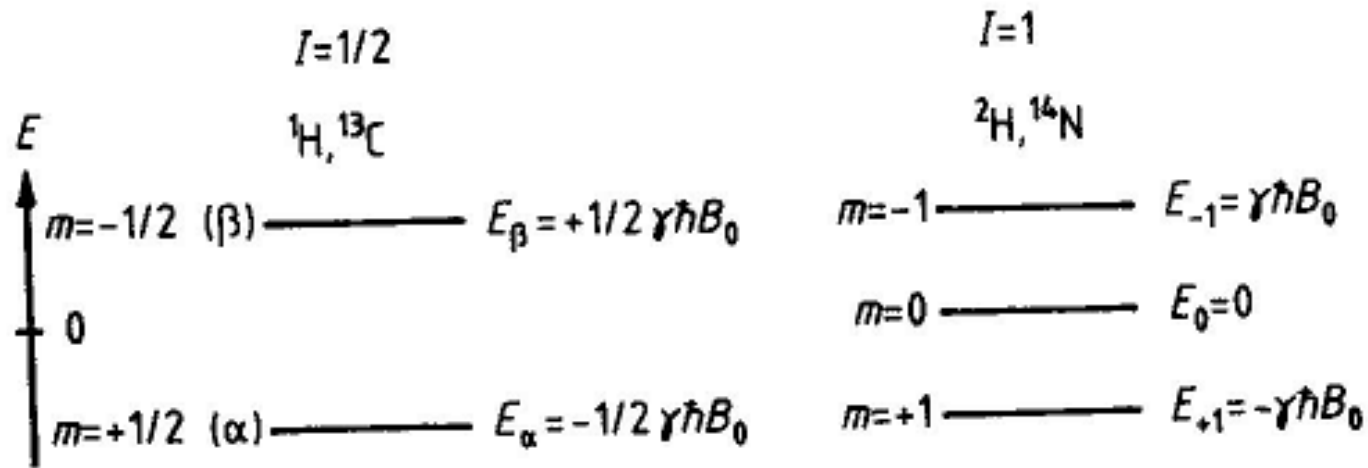
## Πυρηνικό ενός σπιν εντός μαγνητικού πεδίου



Οι κατευθύνσεις του ανύσματος της μαγνητικής ροπής,  $\mu$ , καθορίζονται από τον μαγνητικό κβαντικό αριθμό του σπιν,  $m_I$ . Για  $I = \frac{1}{2}$  (π.χ. πρωτόνιο), ο  $m_I$  παίρνει δύο τιμές  $+\frac{1}{2}$  (η μαγνητική ροπή έχει την ίδια κατεύθυνση με το πεδίο  $B_0$ ) και  $-\frac{1}{2}$ . (η μαγνητική ροπή έχει την αντίθετη κατεύθυνση με το πεδίο  $B_0$ ). Οι δύο προσανατολισμοί της  $\mu$  ορίζουν δύο ενεργειακές στάθμες με διαφορετική ενέργεια.



# Ενεργειακό διάγραμμα NMR



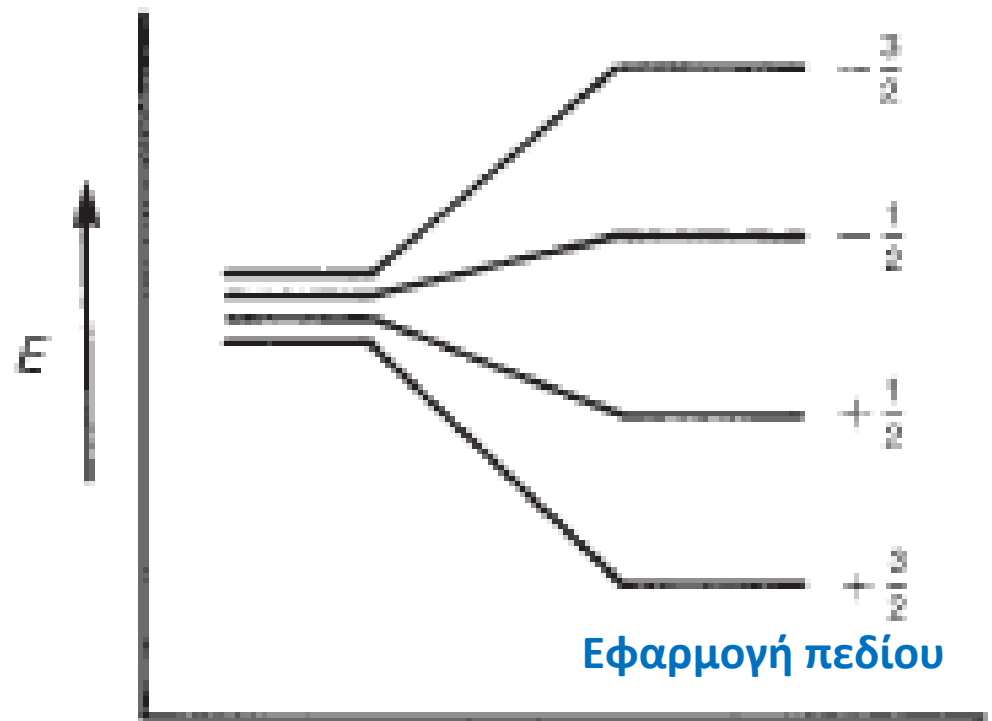
$$\Delta E = h\nu = \gamma \frac{h}{2\pi} B_0$$

**Εξίσωση Larmor**

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$$

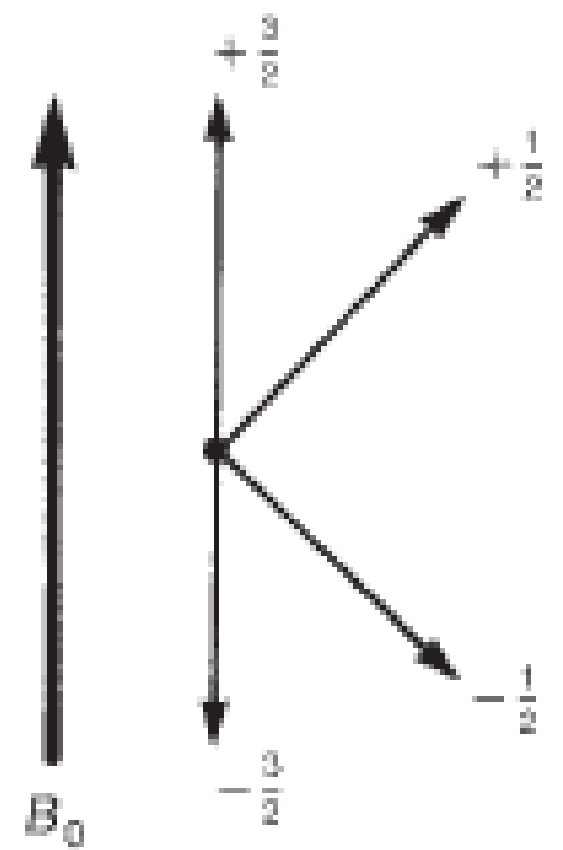


**$^{35}\text{Cl}$ :  $I=3/2$  ΠΡΟΣΑΝΑΤΟΛΙΣΜΟΙ spin: 4**



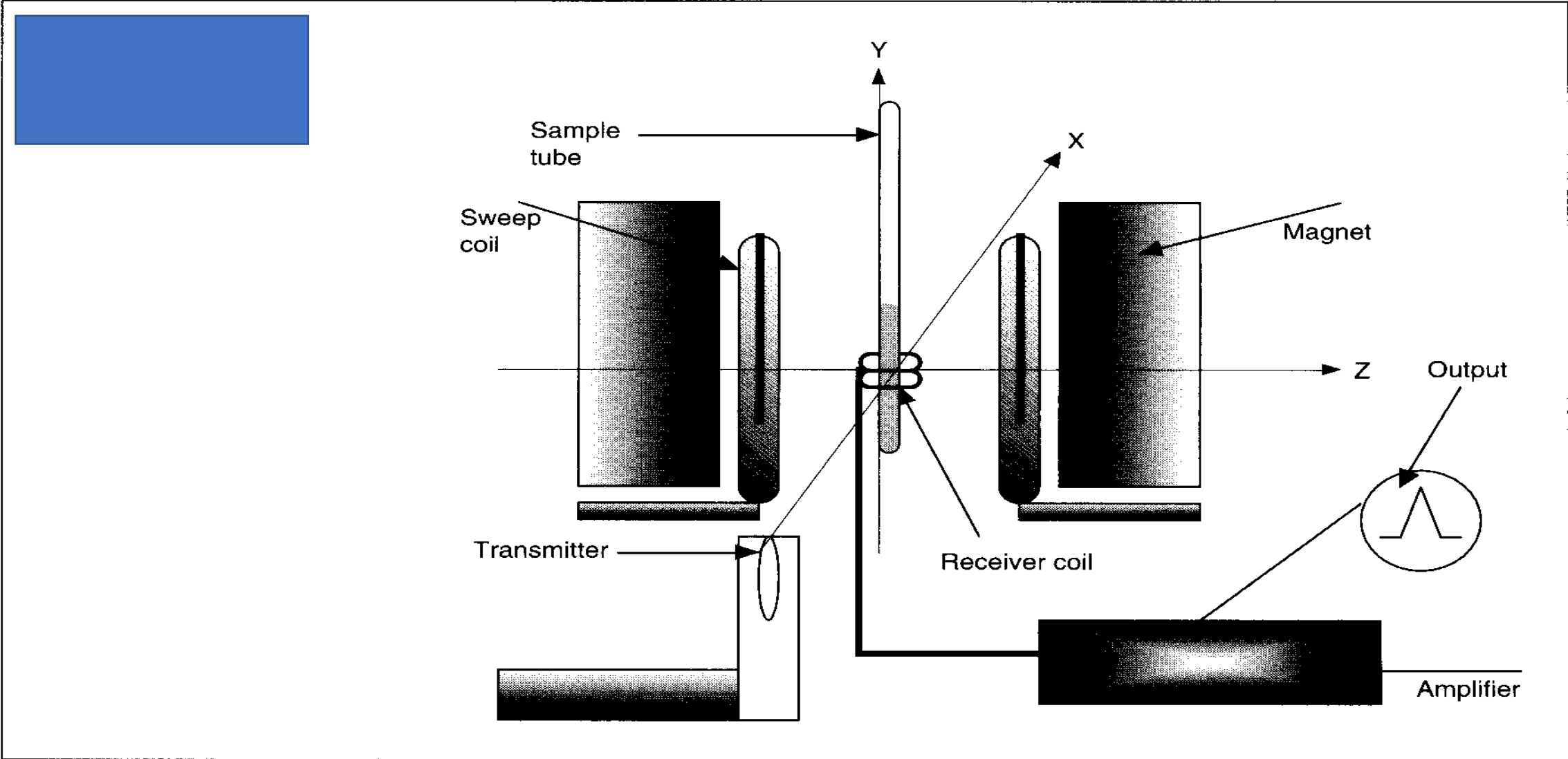
Εφαρμογή πεδίου

Energies



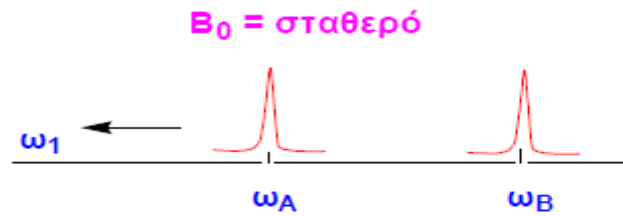
Alignments

# ΟΡΓΑΝΟ NMR ΣΥΝΕΧΟΥΣ ΚΥΜΑΤΟΣ



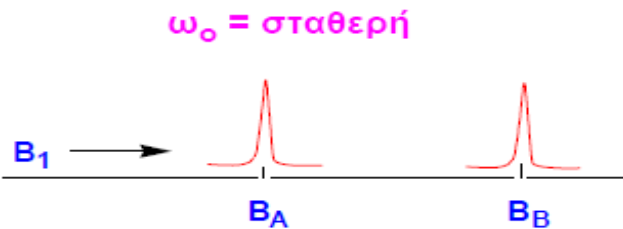
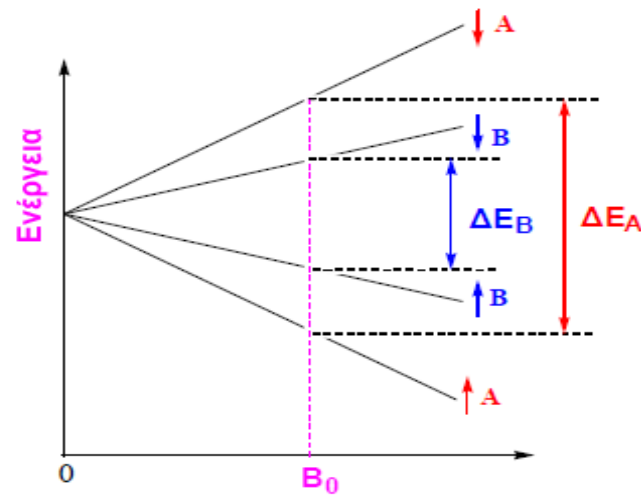
# Μέθοδοι λήψης φασμάτων NMR

## Μέθοδος συνεχούς μήκους κύματος (Continuous Wave method)

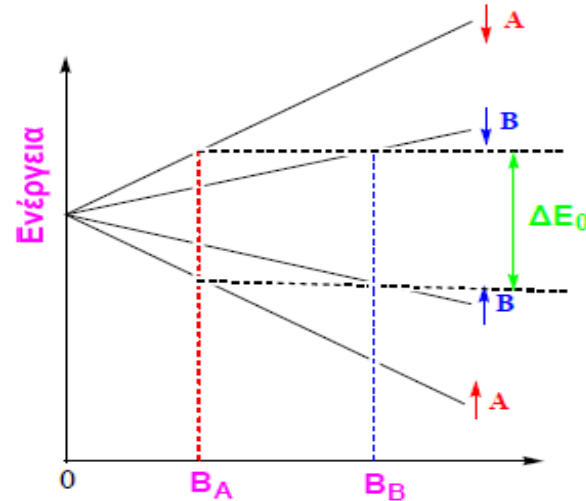


$$\omega_A = \frac{\Delta E_A}{h} \quad \omega_B = \frac{\Delta E_B}{h}$$

$\omega_A - \omega_B = \text{χημική μετατόπιση}$

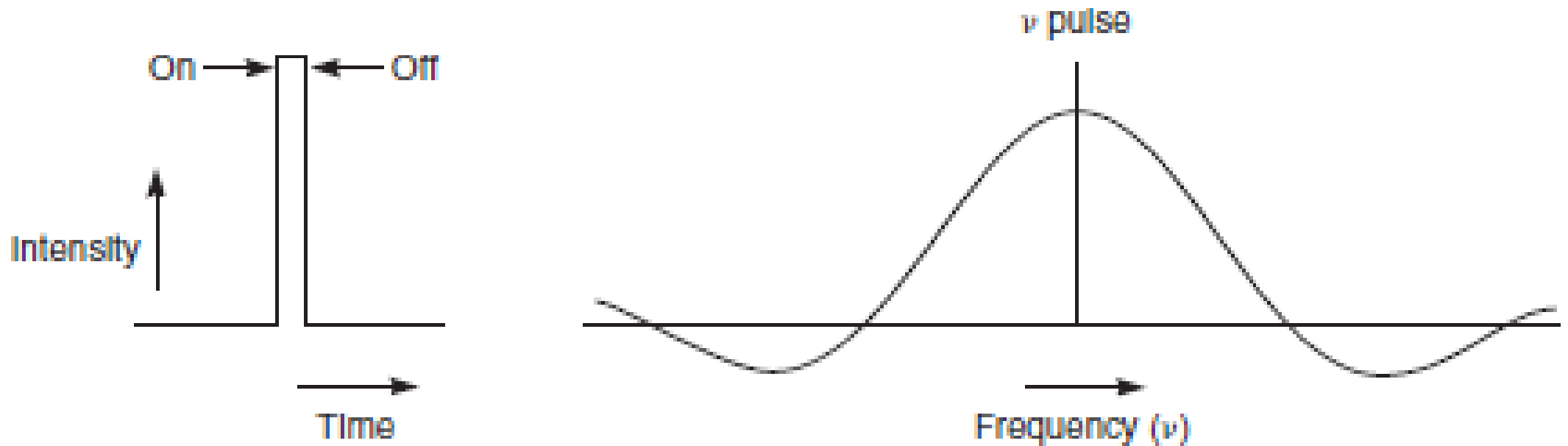


$$B_A = \frac{\omega_0}{\gamma_A} \quad B_B = \frac{\omega_0}{\gamma_B}$$



Κατά την μέθοδο αυτή για να επιτευχθεί η συνθήκη συντονισμού είτε το πεδίο  $B_0$  διατηρείται σταθερό, ενώ μεταβάλλεται η συχνότητα  $\omega_1$  (**σάρωση συχνότητας**) είτε η συχνότητα  $\omega_0$  διατηρείται σταθερή, ενώ μεταβάλλεται το πεδίο  $B_1$  (**σάρωση πεδίου**). Διεγείρεται ένας πυρήνας κάθε φορά.

Εναλλακτικά δίνεται ενέργεια στο σύστημα με τη μορφή παλμού.  
Έτσι διεγείρονται όλοι οι μαγνητικοί πυρήνες συγχρόνως.

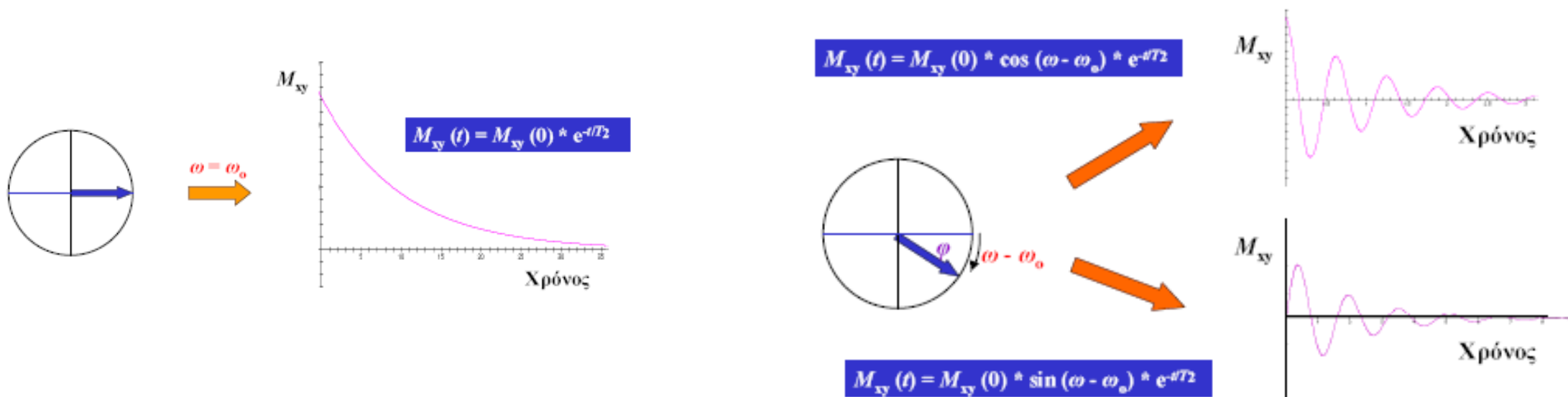


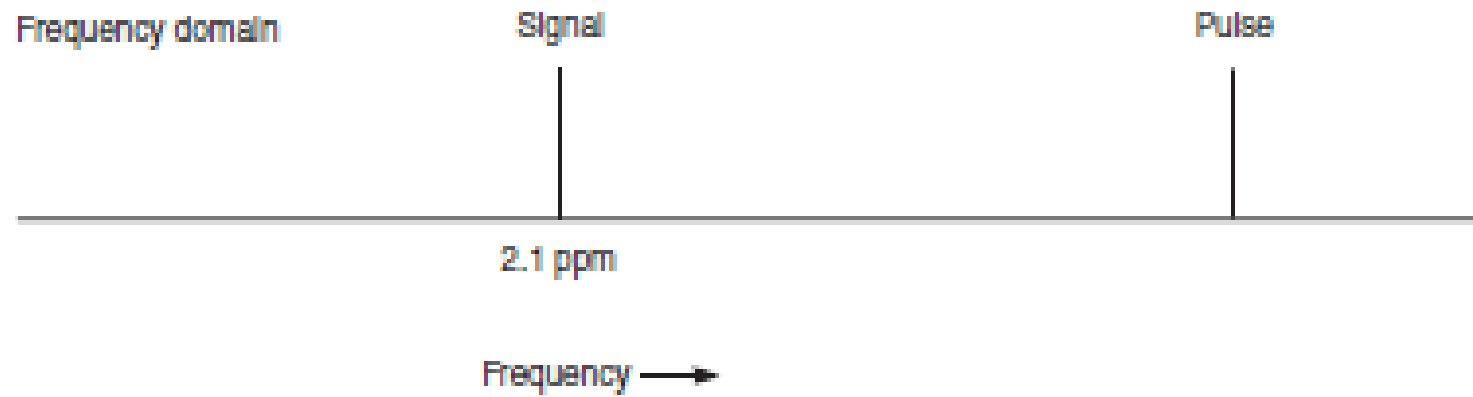
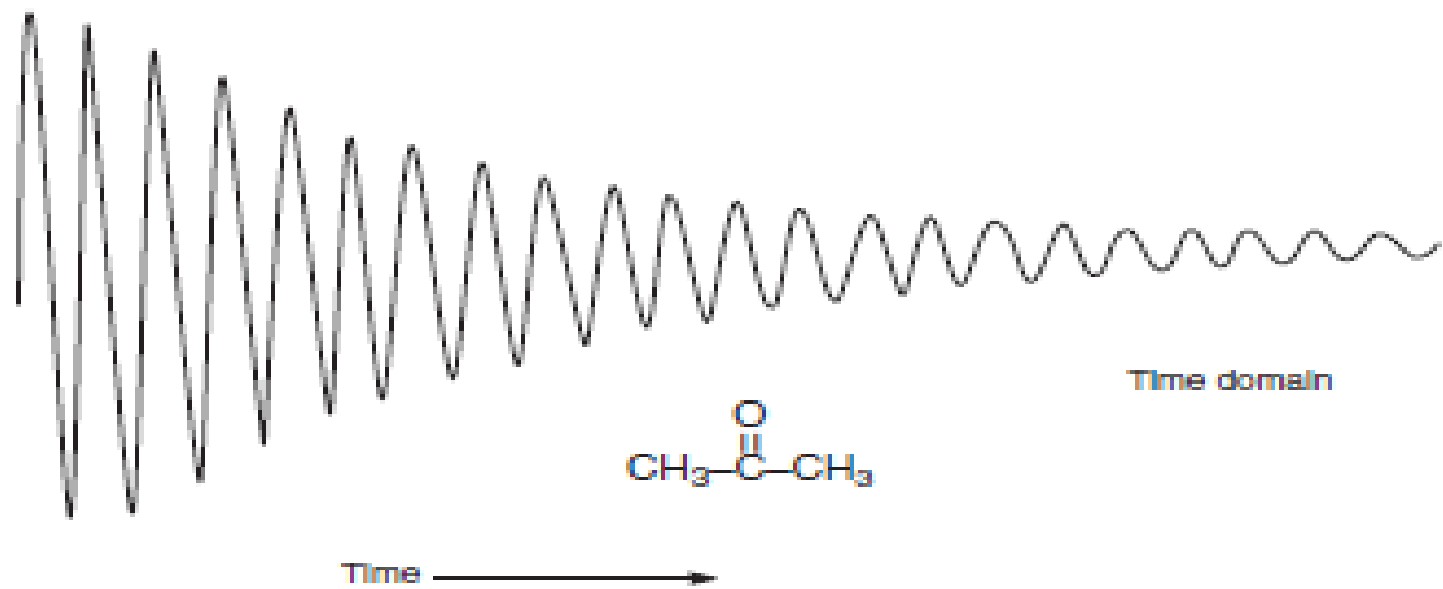
## Free Induction Decay (FID)

Μετά την παύση του παλμού παρατηρείται και καταγράφεται η φθίνουσα μαγνήτιση (ελεύθερη φθίνουσα επαγωγή FID) στον άξονα των ψ. Το FID είναι μια συνάρτηση ως προς τον χρόνο και με μετασχηματισμό Fourier μετατρέπεται σε συνάρτηση ως προς την συχνότητα.

Μεταβολή της φθίνουσας μαγνήτισης ως προς το περιστρεφόμενο σύστημα συντεταγμένων

Μεταβολή της φθίνουσας μαγνήτισης ως προς το ακίνητο σύστημα συντεταγμένων





Isotope	Natural Abundance (%)	Field Strength, $B_0$ (Tesla <sup>a</sup> )	Frequency, $\nu$ (MHz)	Magnetogyric Ratio, $\gamma$ (radians/Tesla)
<sup>1</sup> H	99.98	1.00	42.6	267.53
		1.41	60.0	
		2.35	100.0	
		4.70	200.0	
		7.05	300.0	
<sup>2</sup> H	0.0156	1.00	6.5	41.1
<sup>13</sup> C	1.108	1.00	10.7	67.28
		1.41	15.1	
		2.35	25.0	
		4.70	50.0	
		7.05	75.0	
<sup>19</sup> F	100.0	1.00	40.0	251.7
<sup>31</sup> P	100.0	1.00	17.2	108.3

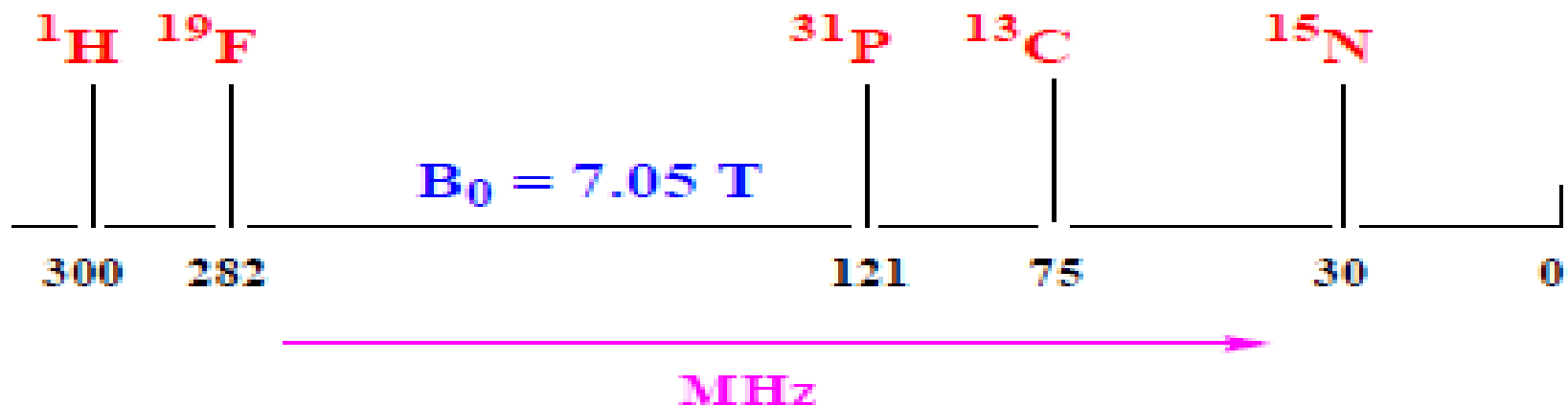
<sup>a</sup> 1 Tesla = 10,000 Gauss.

## Συντονισμός διαφόρων πυρήνων

Από την εξίσωση Larmor προκύπτει ότι η  $\Delta E$  και η  $\nu$  εξαρτώνται από το πεδίο  $B_0$  και από τη φύση του πυρήνα ( $\gamma$ )

Οι απορροφήσεις ακτινοβολίας των διαφόρων πυρήνων παρατηρούνται στην περιοχή των ραδιοσυχνοτήτων

π.χ. Για το  $^1\text{H}$  σε  $B_0 = 1.4 \text{ T}$  τα  $\nu = 60 \text{ MHz}$  και  $\lambda = 5 \text{ m}$

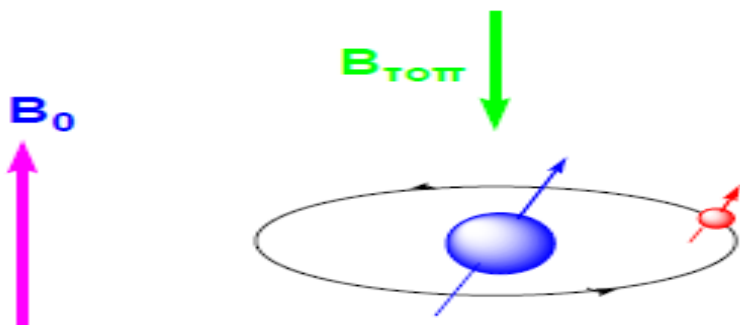




# Χημική Μετατόπιση

Με τον όρο χημική μετατόπιση ορίζονται οι μικρές διαφοροποιήσεις στην τιμή της συχνότητας συντονισμού που εμφανίζονται ανάλογα με το χημικό περιβάλλον του πυρήνα (είδος ένωσης) και κατά δεύτερο λόγο το φυσικό του περιβάλλον (διαλύτης, θερμοκρασία).

Η χημική μετατόπιση οφείλεται κυρίως στα ηλεκτρόνια που περιβάλλουν τους πυρήνες. Δημιουργείται ένα δευτερεύον μαγνητικό πεδίο, το μαγνητικό πεδίο που υφίστανται οι πυρήνες τροποποιείται και επομένως μεταβάλλεται η συχνότητα συντονισμού τους .



Κανόνας του Lenz

$$B_{\text{τοπ}} = \sigma B_0$$

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

Αποτελεσματικό μαγνητικό πεδίο,  $B_{\text{eff}}$

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

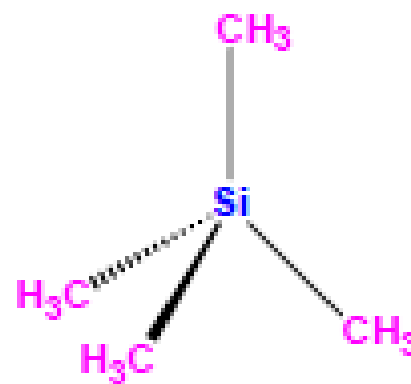
Η σταθερά αναλογίας  $\sigma$  ονομάζεται σταθερά προστασίας

## Ουσίες αναφοράς. Κλίμακα $\delta$

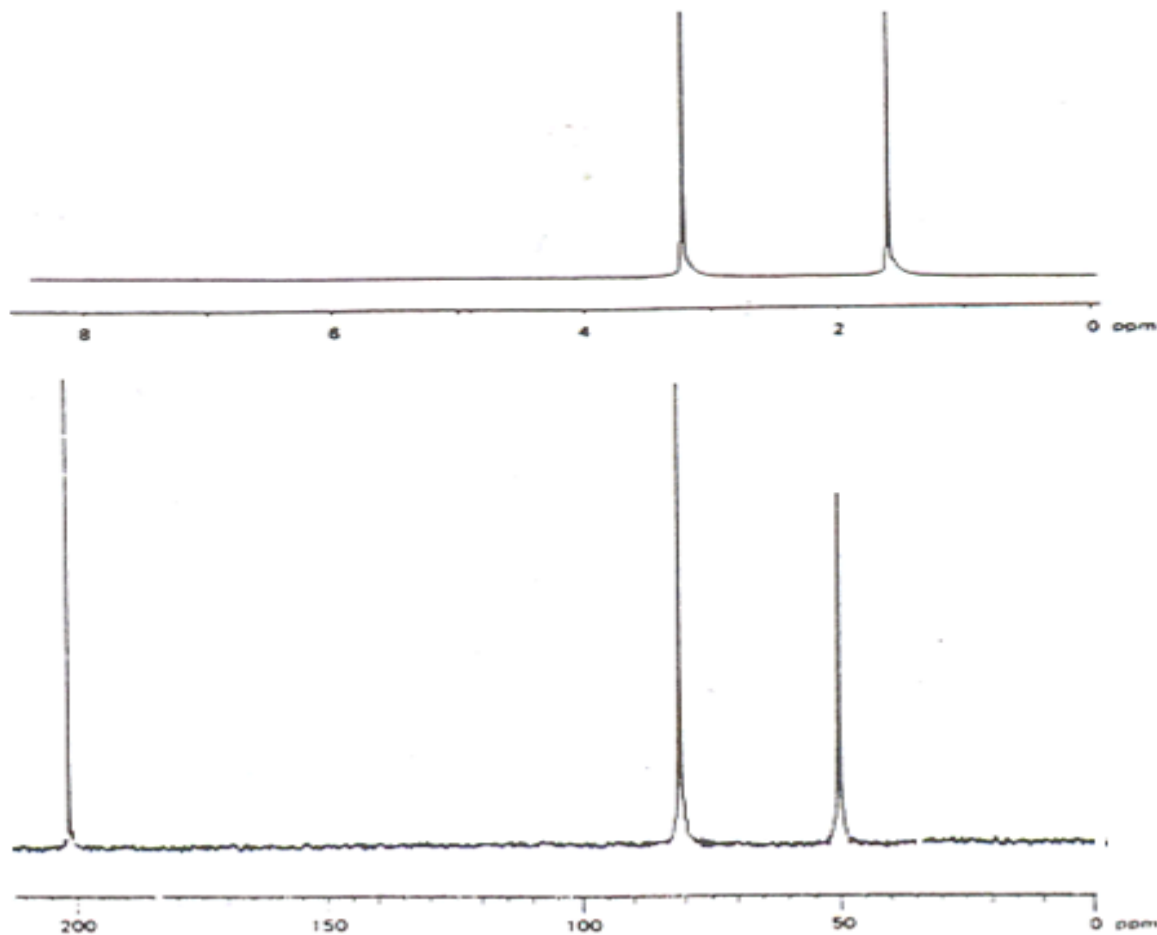
$$\delta = \frac{\omega - \omega_{\text{ref}}}{\omega_{\text{ref}}} \text{ ppm (parts per million)}$$

ΤΕΤΡΑΜΕΘΥΛΟΣΙΛΑΝΙΟ (TMS)

$\delta = 0 \text{ ppm}$



## Αλληλομετατροπή Hz και κλίμακας $\delta$



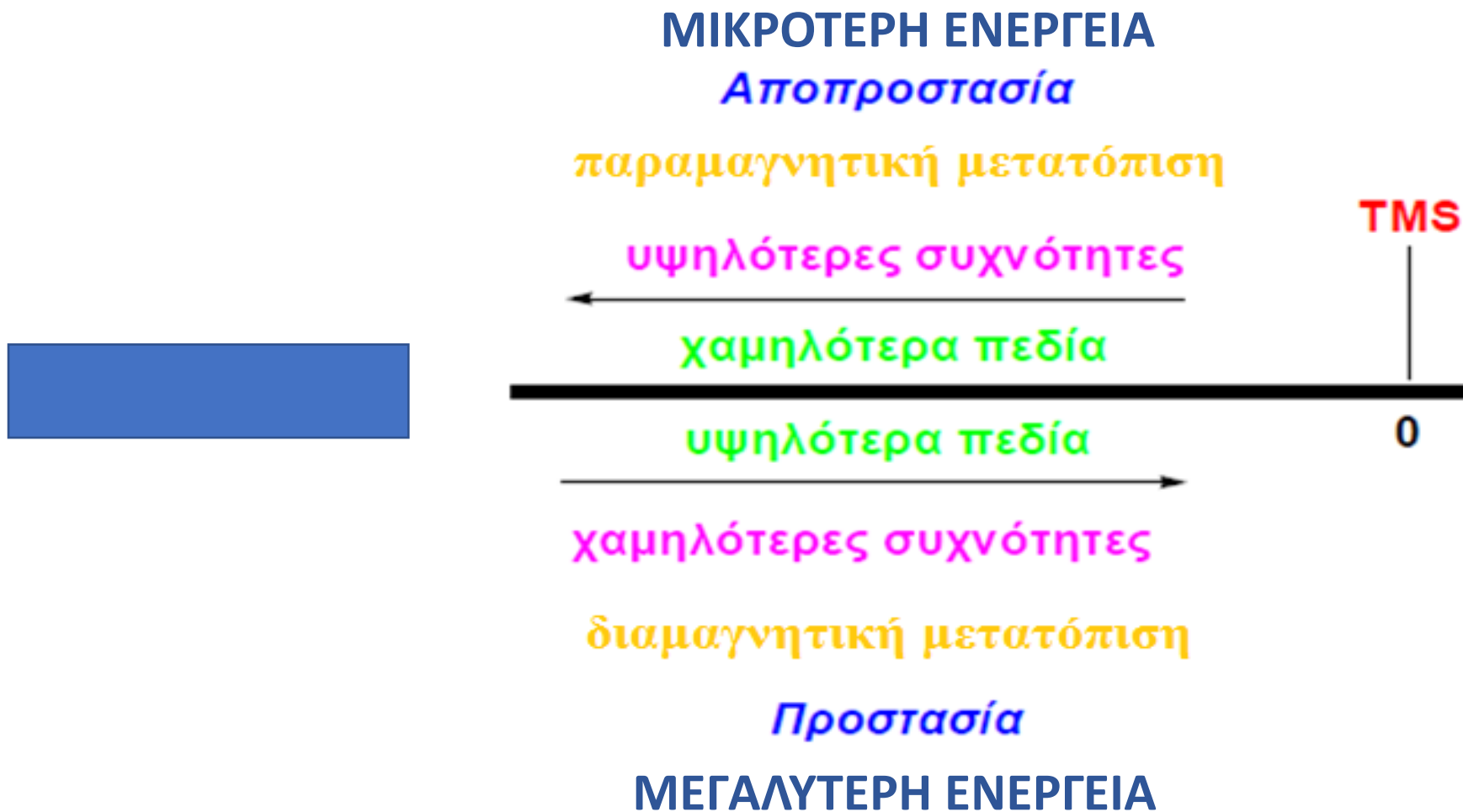
Τα φάσματα του σχήματος έχουν ληφθεί με όργανο έντασης  $B_0 = 2,11$  Tesla, στο οποίο η συχνότητα συντονισμού του πρωτονίου είναι 90 MHz και του άνθρακα 22,6 MHz.

Οι χημικές μετατοπίσεις δίνονται στην κλίμακα  $\delta$  και είναι για τα πρωτόνια  $\delta$  **1,6** και **3,2**. Οι τιμές αυτές αντιστοιχούν σε συχνότητες ( $\Delta\nu$ )  $1,6 \times 90 =$  **145** και  $3,2 \times 90 =$  **290 Hz**.

Στο φάσμα άνθρακα οι απορροφήσεις σε τιμές  $\delta$  **52**, **84** και **203** πολλαπλασιαζόμενες με 22,6 δίνουν αντίστοιχα **1175**, **1898** και **4589 Hz**.

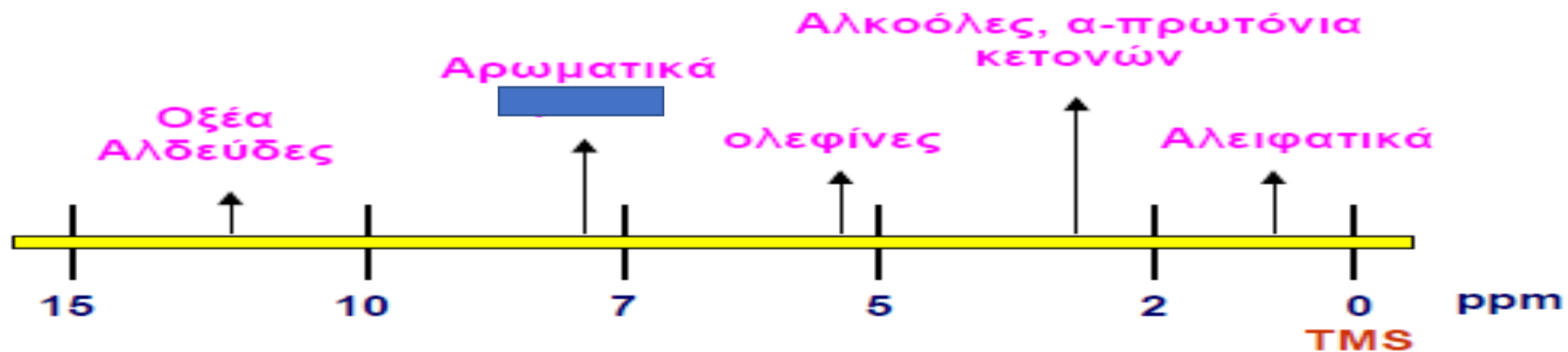
$^1\text{H}$  NMR και  $^{13}\text{C}$  NMR φάσμα του  $\text{CH}_3\text{COOCH}_3$

# Χαρακτηρισμοί των μεταβολών της χημικής μετατόπισης

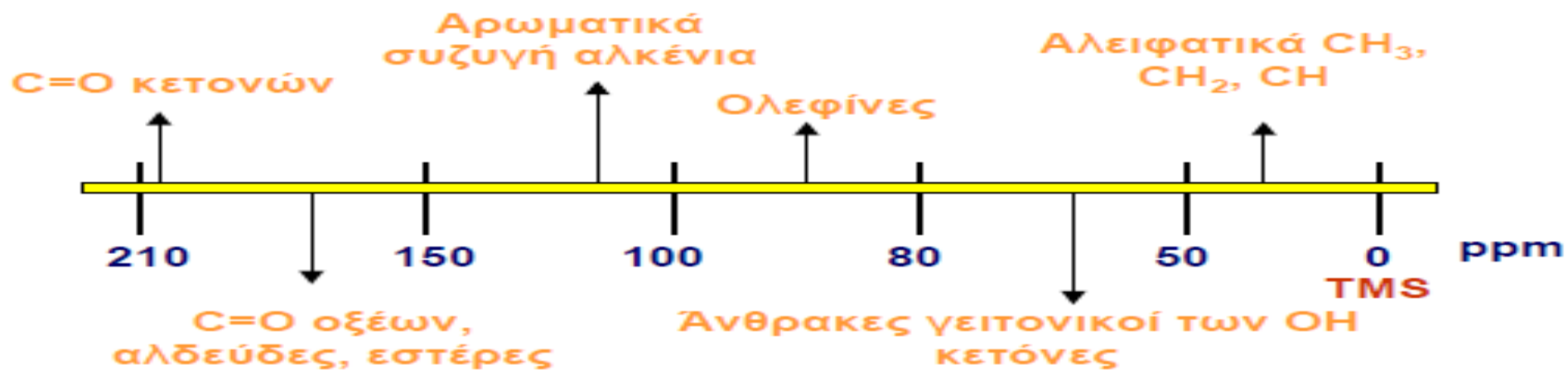


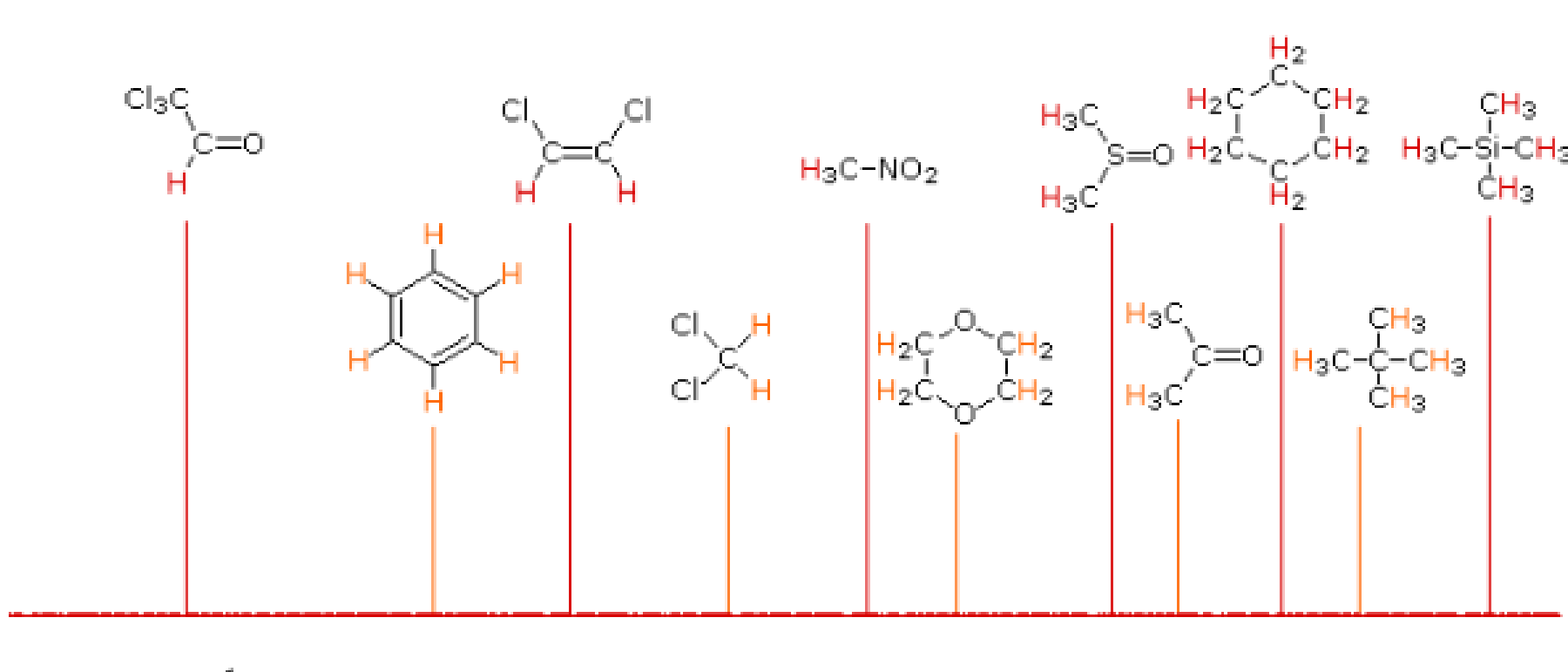
# Κλίμακες δ για πυρήνες $^1\text{H}$ και $^{13}\text{C}$

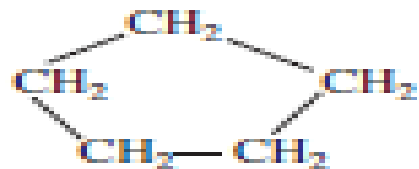
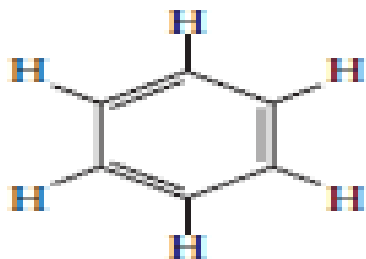
Για πρωτόνια  $\sim 15$  ppm:



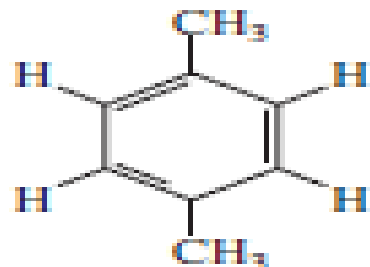
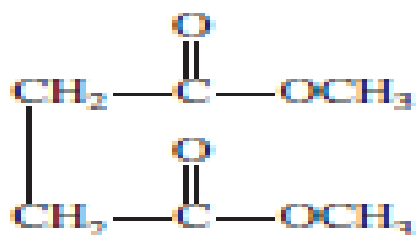
Για πυρήνες  $^{13}\text{C}$ ,  $\sim 220$  ppm:



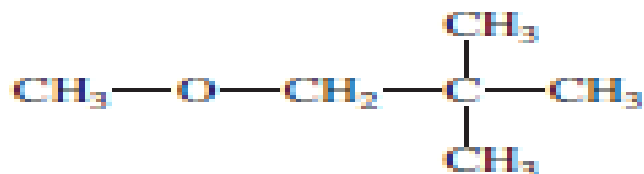
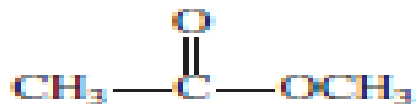




**ΧΗΜΙΚΑ ΙΣΟΔΥΝΑΜΑ ΠΡΩΤΟΝΙΑ**



**ΔΥΟ ΕΙΔΗ ΧΗΜΙΚΑ ΙΣΟΔΥΝΑΜΩΝ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ**

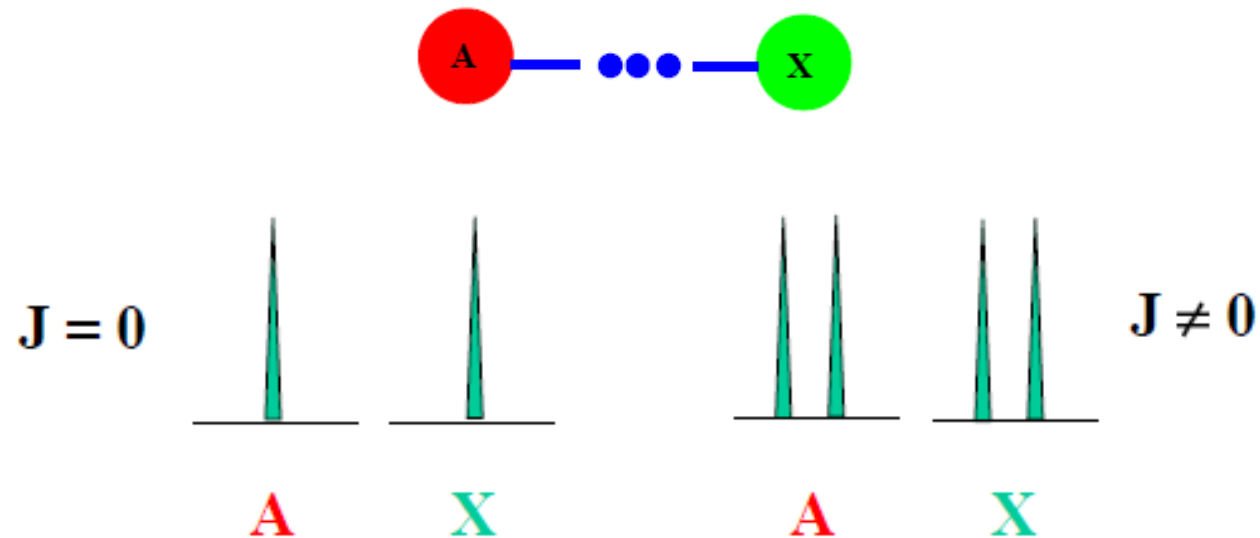


**ΤΡΙΑ ΕΙΔΗ ΧΗΜΙΚΑ ΙΣΟΔΥΝΑΜΩΝ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ**

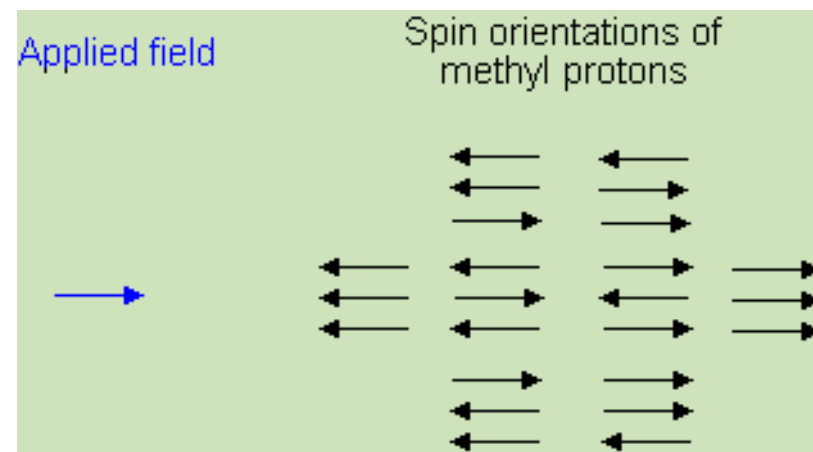
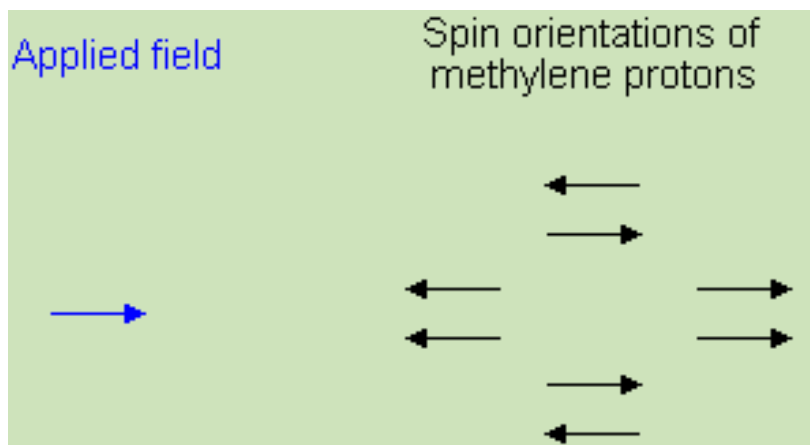
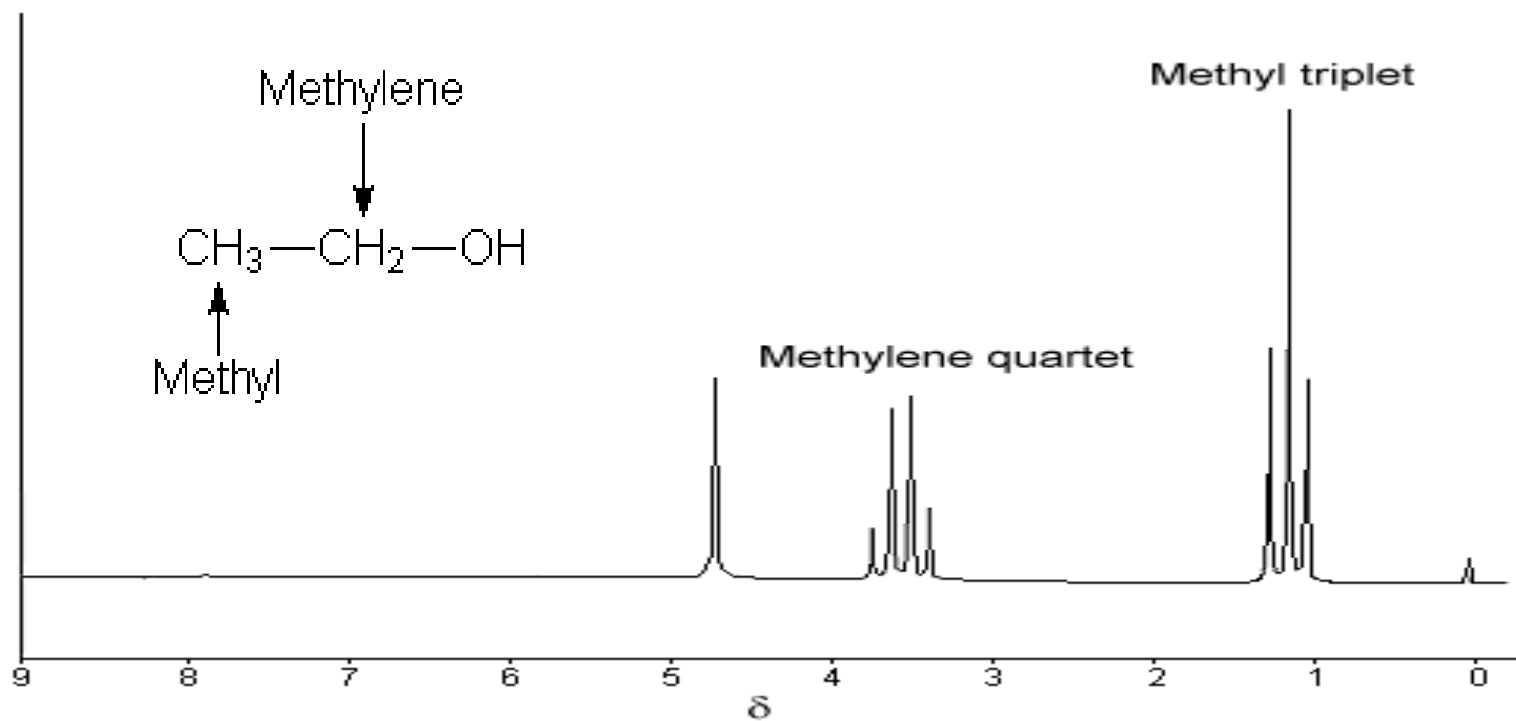


## Spin-spin σύζευξη

Στα φάσματα NMR σε διάλυμα παρατηρείται η έμμεση σύζευξη ( $J$ =**Σταθερά Σύζευξης**), η οποία γίνεται μέσω των χημικών δεσμών. Οι κορυφές σχάζονται σε περισσότερες γιατί δημιουργούνται περισσότερες ενεργειακές στάθμες λόγω των συνδυασμών των spin. Έτσι για δύο πυρήνες A και X, οι οποίοι είτε συνδέονται απ' ευθείας με έναν δεσμό είτε η σύνδεσή γίνεται με περισσότερους δεσμούς προκύπτουν δυο διπλές κορυφές.







Γενικά η πολλαπλότητα με την οποία εμφανίζονται οι κορυφές δίνεται από τη σχέση:

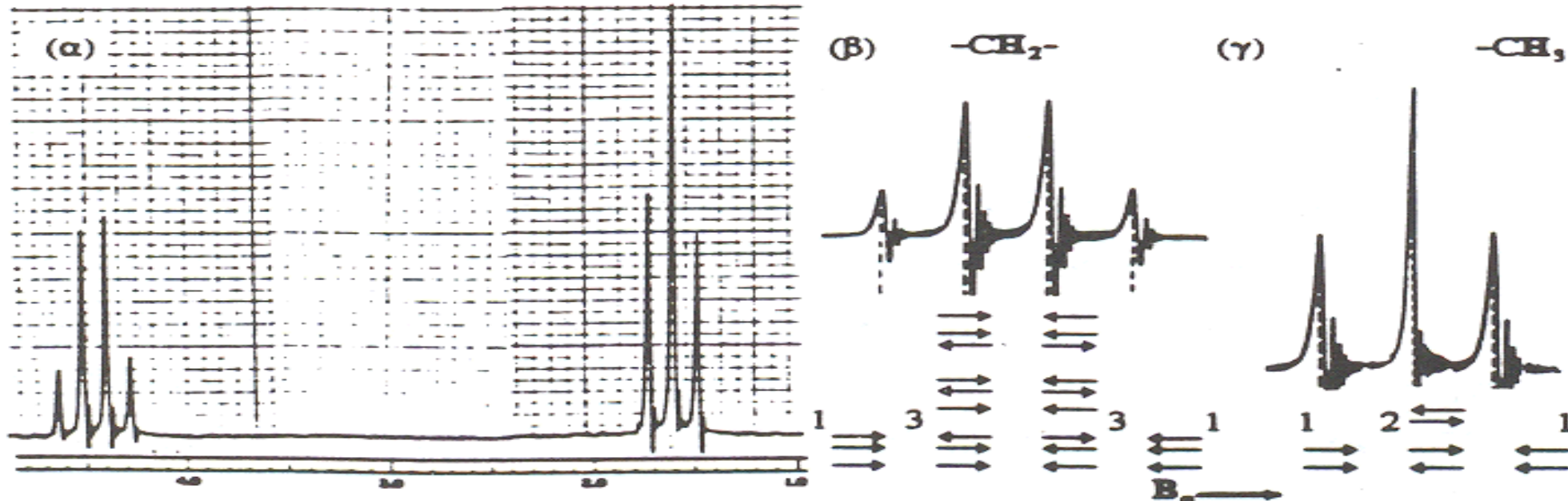
$$2nI+1$$

όπου  $n$  ο αριθμός και όπου  $I$  ο αριθμός spin, των γειτονικών μαγνητικών πυρήνων

Για  $I = 1/2$  η πολλαπλότητα θα είναι:

$$n+1$$

Η σχέση αυτή προκύπτει από τους δυνατούς συνδυασμούς των καταστάσεων spin των γειτονικών πυρήνων, που αντιστοιχούν σε διαφορετικές ενεργειακές καταστάσεις.



$^1\text{H}$  NMR φάσμα του  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NO}_2$

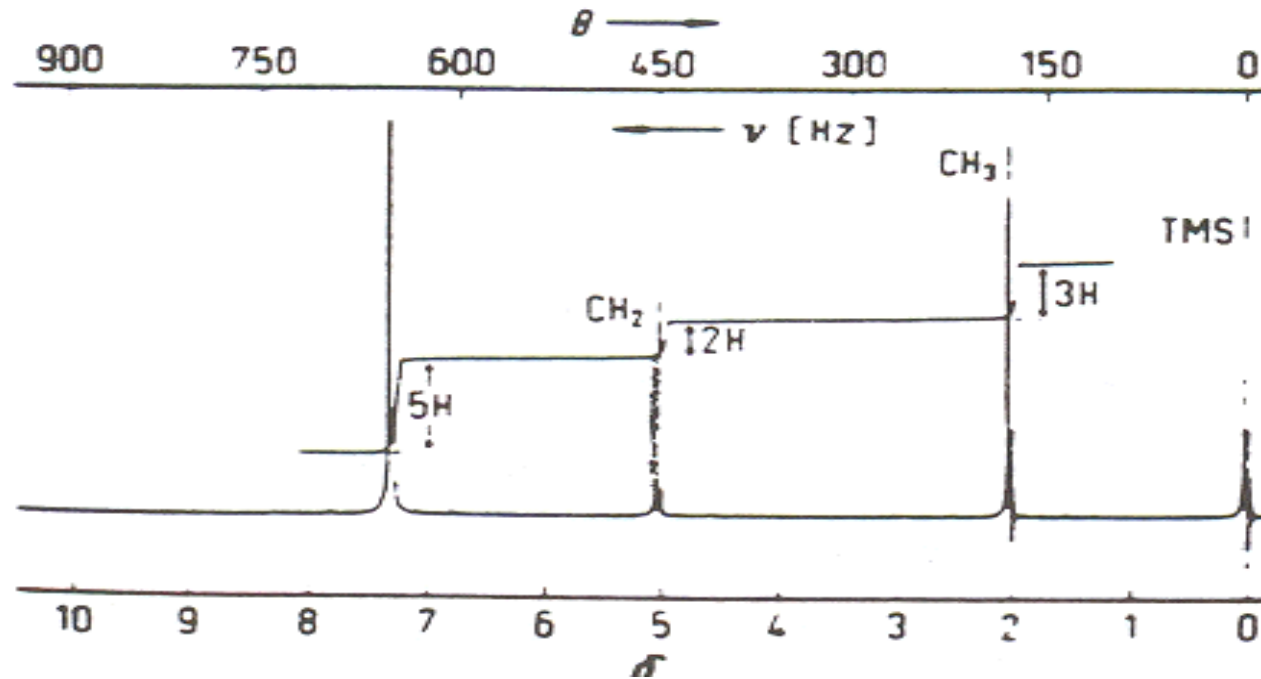


Η απόσταση μεταξύ δύο διαδοχικών κορυφών είναι ίδια και στις δύο ομάδες πολλαπλών, ονομάζεται **σταθερά σύζευξης  $J$** , δίνεται πάντα σε Hz και είναι ανεξάρτητη από την ένταση του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου. Η σταθερά σύζευξης εκφράζει το μέτρο των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μαγνητικών πυρήνων και εξαρτάται από **το είδος των πυρήνων που αλληλεπιδρούν, από τον αριθμό των δεσμών που μεσολαβούν, από το είδος του υβριδισμού των τροχιακών των ατόμων, από τη γεωμετρία του μορίου και από την επίδραση διαφόρων υποκαταστατών**. Αυξανόμενου του αριθμού των δεσμών η σύζευξη εξασθενίζει. Πλην ορισμένων εξαιρέσεων, που χαρακτηρίζονται σαν συζεύξεις μεγάλης απόστασης, η σύζευξη παρατηρείται μέχρι τρεις δεσμούς.

Η σταθερά σύζευξης παριστάνεται με την έκφραση  **${}^nJ_{AX}$** , όπου  $n$  ο αριθμός των δεσμών μεταξύ των δύο πυρήνων που συζεύγνυνται και  $A, X$  οι πυρήνες. Μπορεί να έχει θετικές τιμές ( $\gamma_A, \gamma_X > 0, n = \text{περιττό}$ ) ή αρνητικές ( $\gamma_A, \gamma_X < 0, n = \text{άρτιο}$ ), αλλά το πρόσημο της στις περισσότερες περιπτώσεις δεν μεταβάλλει τη μορφή του φάσματος και συνήθως δίνεται μόνον η απόλυτη τιμή της.

# Ένταση των σημάτων

Η περιοχή κάτω από την καμπύλη του σήματος μας δίνει την ένταση του σήματος, η οποία μετριέται άμεσα από το όργανο με την ολοκλήρωση. Η ένταση του σήματος είναι ανάλογη προς τη διαφορά  $n_1 - n_2$  και επομένως προς το συνολικό αριθμό των πυρήνων που αντιστοιχούν σε κάθε σήμα.



$^1\text{H}$  NMR φάσμα του  $\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$

Ο ποσοτικός συσχετισμός των εντάσεων με τον αριθμό των πυρήνων ισχύει στα φάσματα  $^1\text{H}$  NMR, στα οποία πάντοτε ορίζονται και οι σχετικές εντάσεις των κορυφών. Στα φάσματα  $^{13}\text{C}$  NMR συνήθως δε γίνεται ποσοτικός συσχετισμός για δύο λόγους. Πρώτον χρησιμοποιούνται τεχνικές που διαταράσσουν τις εντάσεις και δεύτερον οι πυρήνες  $^{13}\text{C}$  έχουν διαφορετικούς χρόνους αποδιέγερσης και αυτοί, που έχουν μεγάλους χρόνους αποδιέγερσης όπως οι τεταρτοταγείς, εμφανίζονται με μικρότερη ένταση. Με ειδικές συνθήκες και τεχνικές μπορούν να γίνουν και ποσοτικοί προσδιορισμοί στα φάσματα  $^{13}\text{C}$  NMR.