

Тема № 10

**Ядерный
магнитный
резонанс
(основы метода 1)**

Ядерный магнитный резонанс

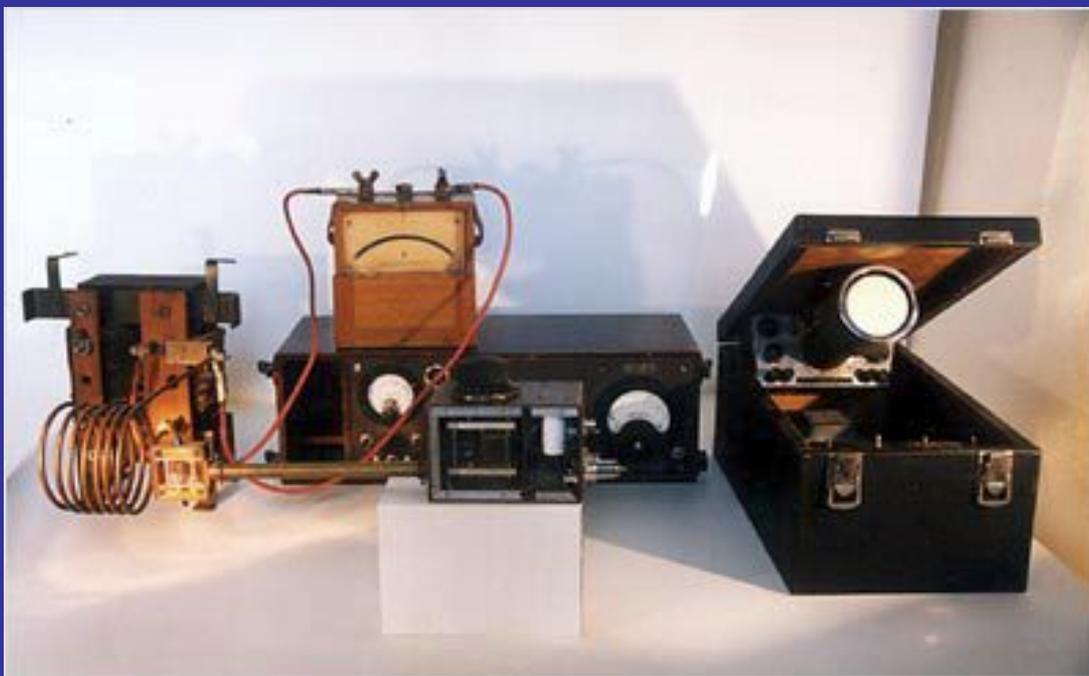
История открытий

1941(?) - открытие Е.К. Завойским явления ядерного магнитного резонанса(ПМР)

1944 - открытие Е.К. Завойским явления электронного парамагнитного резонанса

1946 – «официальное» открытие ЯМР

Ф. Блохом и Э. Пёрселлом



Реконструированная установка Е.К. Завойского
(музей Е.К. Завойского в КГУ, Казань)



ЗАВОЙСКИЙ
Евгений Константинович
(1907 - 1976)

Нобелевские лауреаты



Физика – 1944

Isidor Isaac Rabi, USA

За резонансный метод записи магнитных свойств атомных ядер



Физика - 1952

Felix Bloch, USA

Edward Mills Purcell, USA

За создание нового метода измерения ядерной магнитной прецессии и последующие связанные с ним открытия



Химия - 1991

Richard R. Ernst, Switzerland

За вклад в развитие методологии спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) высокого разрешения



Химия - 2002

Kurt Wüthrich, Switzerland

За развитие методов спектроскопии ядерного магнитного резонанса для исследования трехмерной структуры биологических макромолекул в растворе



Физиология и медицина 2003

Paul C. Lauterbur, USA
Sir Peter Mansfield, UK

За открытия в области визуализации био-объектов

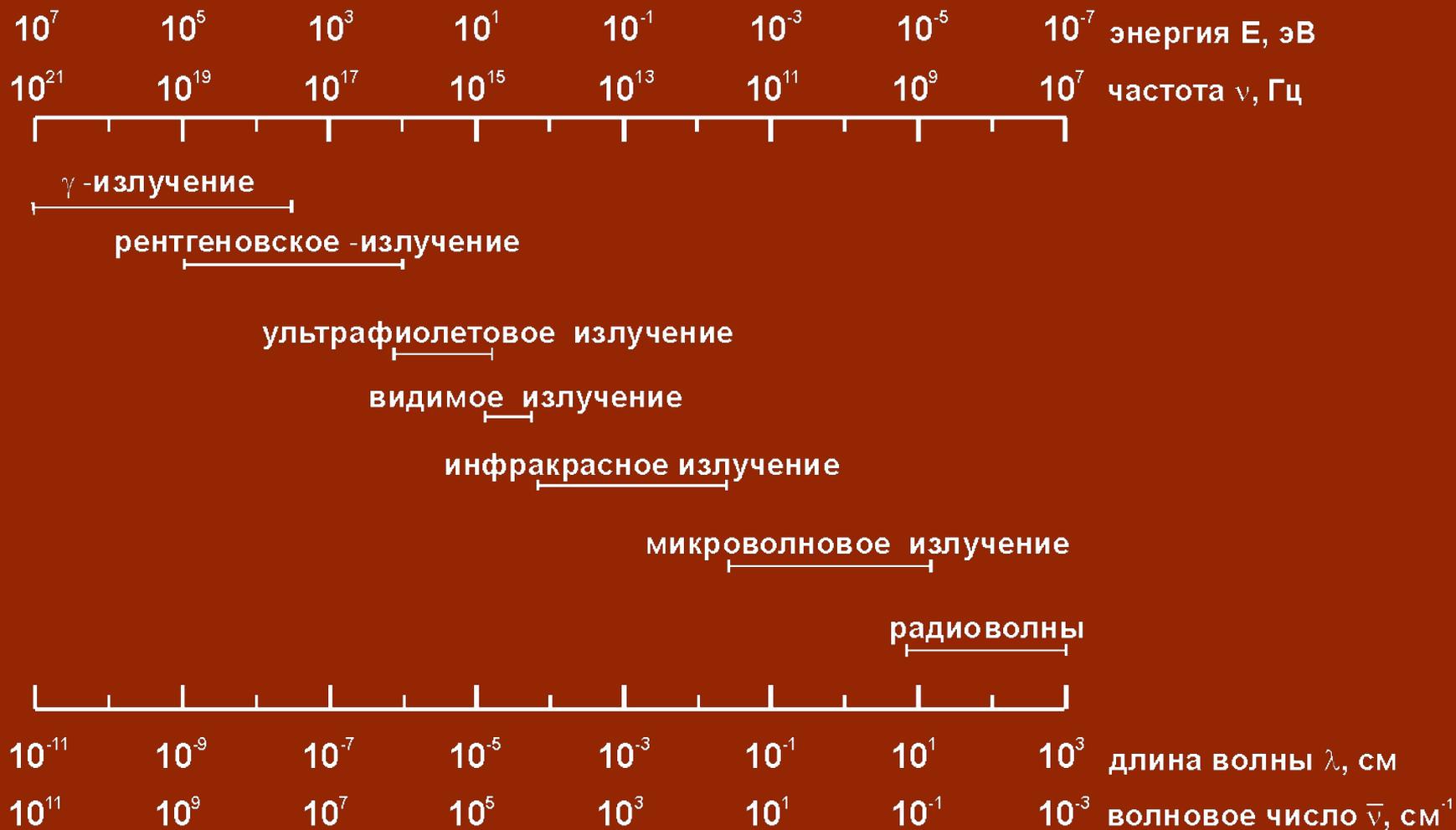
Общие понятия ЯМР

Объекты исследования для метода ЯМР – вещества, содержащие в своём составе атомы с ядрами, имеющими отличное от нуля ядерное спиновое квантовое число (^1H , ^{13}C , ^{19}F и др.)

Ядерный магнитный резонанс – явление поглощения микроволнового электромагнитного излучения ядрами атомов с $I \neq 0$ во внешнем магнитном поле при выполнении условий резонанса.

Спектроскопия ЯМР – метод исследования, основанный на изучении ЯМР в веществах с магнитоактивными ядрами **Инструмент исследования** – мощный магнит (до 21 Тесла) и микроволновой генератор с приёмником (до 900 МГц)

Области электромагнитных излучений, используемых в аналитических методах



Взаимосвязь спектроскопических методов и областей электромагнитного спектра

Спектроскопические методы	Спектральная область	С какими элементами взаимодействует
ядерно-физические	0.005-1.4 Å	ядра
рентгеновские	0.1-100 Å	внутренние электроны
вакуумная УФ-спектроскопия	10-180 нм	валентные электроны
УФ-спектроскопия	180-400 нм	валентные электроны
спектроскопия в видимой области	400-780 нм	валентные электроны
ближняя ИК-спектроскопия	780-2500 нм	молекулы (колебательная энергия)
ИК-спектроскопия	4000-400 см ⁻¹	молекулы (колебательная и вращательная энергия)
микроволновая спектроскопия	0.75-3.75 мм	молекулы (вращательная энергия)
электронный парамагнитный резонанс	~ 3 см	неспаренные электроны (в магнитном поле)
ядерный магнитный резонанс	0.6-10 м	ядерные спины (в магнитном поле)

Перечень аналитических задач, решаемых методом ЯМР включает:

1. Идентификация органических соединений.
Установление или подтверждение структуры (структурно-групповой анализ).
2. Количественное определение концентрации (органических) соединений в сложных смесях по площадям под соответствующими компонентами спектра.
3. Изучение динамических равновесий конформационных превращений, меж- и внутримолекулярных превращений и т. д.
4. Исследование комплексообразования. Разрабатывается вариант метода, позволяющий получать реальное двухмерное изображение объекта (ЯМР-интроскопия). Это является результатом съемки спектра ЯМР при наложении на образец градиента поля В.

Основным достоинством ЯМР-спектроскопии как аналитического метода являются высокая селективность, отсутствие необходимости в адекватных стандартных образцах, т.к. как правило используется принцип внутреннего стандарта, кроме того метод является недеструктивным.

Состав и характеристика атомных ядер (1)

Атомное ядро состоит из протонов и нейтронов (нуклонов). Эта модель была предложена в 1932 г. Независимо Гейзенбергом и Иваненко.

Протон (p) - обладает зарядом $+e$ и массой $m_p = 938,28$ МэВ. Для сравнения масса электрона $m_e = 0,511$ МэВ. Следовательно $m_p = 1836 m_e$. Протон имеет спин равный половине ($s=1/2$) и собственный магнитный момент:

$$\mu_p = +2,79 \cdot \mu_{\text{я}}$$

где
$$\mu_{\text{я}} = \frac{e \cdot \hbar}{2 \cdot m_p \cdot c} = 5,05 \cdot 10^{-24} \text{ эрг} / \text{Гс} \quad (\text{ядерный магнетон})$$

Следовательно ядерный магнетон в 1836 раз меньше магнетона Бора.

$$\mu_B = \frac{e \cdot \hbar}{2 \cdot m_e \cdot c} = 0,927 \cdot 10^{-20} \text{ эрг} / \text{Гс}$$

Поэтому собственный магнитный момент протона в 660 раз меньше чем магнитный момента электрона.

Состав и характеристика атомных ядер (2)

Нейтрон (n) – электрический заряд равен нулю, а масса $m_n = 939,57$ МэВ. Разность масс нейтрона и протона составляет 1,3 МэВ, т.е. $2,5 m_e$. Нейтрон имеет спин равный половине ($s=1/2$) и (несмотря на отсутствие электрического заряда) собственным магнитным моментом:

$$\mu_n = -1,91 \cdot \mu_p$$

Знак минус указывает на то, что направление собственных механического и магнитного моментов противоположны. Следует отметить, что отношение экспериментальных значений μ_p и μ_n с большой степенью точности равно: **- 3/2**.

В свободном состоянии нейтрон нестабилен – он распадается, превращаясь в протон и испуская электрон и антинейтрино. Период полураспада равен примерно 12 мин. Схему распада можно представить следующим образом:



Состав и характеристика атомных ядер (3)

Дейтрон (d) – имеет механический момент, равный сумме механических моментов **протона** и **нейтрона**, т.е. $I_d=1$. Его магнитный момент равен:

$$\begin{aligned}\mu_d &= \mu_p + \mu_n = (2,793)\mu_{\text{я}} + (-1,913)\mu_{\text{я}} = 0,880 \cdot \mu_{\text{я}} = \\ &= 0,433 \cdot 10^{-23} \text{ эрг} / \text{Гс}\end{aligned}$$

Экспериментальные начения μ_d определялись в целом ряде работ; наиболее точные данные получены методом магнитного резонанса в молекулярных пучках ($\mu_d=0,857\mu_{\text{я}}$). Разница $0,023\mu_{\text{я}}$ представляет значительный интерес с точки зрения теории строения дейтрона.

Наряду с магнитным моментом дейтрон, как ядро с $I>1/2$ обладает квадрупольным моментом Q . Значений Q равно:

$$Q = 2,73 \cdot 10^{-27} \text{ см}^2$$

Магнитный момент ядра (1)

Атомное ядро состоит из протонов и нейтронов, обладающих спином $1/2$, и может иметь отличный от нуля результирующий спин I . Соответствующий ему угловой момент количества движения $\mathbf{p} = \hbar I$, где $\hbar = h/2\pi$, h – постоянная Планка. Отсутствие или наличие спина ядра и его значение определяется числом протонов и нейтронов.

Различают три вида зависимости ядерного спина от состава ядра.

1. Все четно-четные (Z – четное, A – четное) ядра имеют нулевой спин и нулевой магнитный момент: $I=0$, $\mu=0$. Этот факт говорит о том, что протоны и нейтроны в ядре располагаются таким образом, что их спины и магнитные моменты взаимно компенсируют друг друга. Примеры: ^{12}C , ^{16}O , ^{32}S и др.
2. У всех с нечетным массовым числом при любом порядковом номере, т.е. когда числа протонов и нейтронов разной четности, имеют полуцелочисленный спин. Например ^1H ($1/2$), ^{11}B ($3/2$), ^{35}Cl ($3/2$), ^{17}O ($5/2$) и т. д.
3. При четном массовом числе и нечетном заряде, т.е. нечетное число как протонов так и нейтронов, ядро обладает целочисленным спином. Например: ^2H ($1+1, 1$), ^{10}B ($5+5, 3$), ^{14}N ($7+7, 1$), ^{40}K ($19+21, 4$).

Магнитный момент ядра (1)

Для ядер, обладающих ненулевым спином I , магнитный момент ядра будет равен:

$$\mu_{\text{я}} = \gamma_{\text{я}} \mathbf{p} = \gamma_{\text{я}} \hbar \mathbf{I} = g_{\text{я}} \beta_{\text{я}} \mathbf{I},$$

где:

$\gamma_{\text{я}}$ – гиромагнитное отношение (отношение магнитного момента к угловому);

$g_{\text{я}}$ – ядерный фактор спектроскопического расщепления (множитель Ланде), безразмерная величина, имеющая разные значения для различных ядер;

$\beta_{\text{я}} = e\hbar/2Mc$ - ядерный магнетон (M – масса ядра).

Ранее $\beta_{\text{я}}$ мы обозначали как принято в ядерной физике $\mu_{\text{я}}$. Значения I , $\gamma_{\text{я}}$ и $\beta_{\text{я}}$ определяются природой ядра и представляют собой табулируемые константы. Наиболее информативными для ЯМР спектроскопии являются ядра, имеющие спин $I=1/2$.

Параметры ядер изотопов, имеющих практическое применение в ЯМР спектроскопии

Изотоп	Спин	Естественно е содержание в природе, %	Гиромагнитно е отношение $\gamma_{\text{я}}, 10^7$ Тл/с	$g_{\text{я}}$	$\mu_{\text{я}}$ в единицах $\beta_{\text{я}}$
^1H	1/2	99,98	26,752	5,585	2,792
^2H	1	0,015	4,107	0,857	0,857
^{13}C	1/2	1,108	6,728	1,405	0,702
^{14}N	1	99,635	1,934	0,403	0,404
^{15}N	1/2	0,365	-2,712	-0,56	-0,283
^{17}O	5/2	0,037	-3,628	-0,757	-1,893
^{19}F	1/2	100	25,181	5,25	2,627
^{29}Si	1/2	4,70	-5,319	-1,111	-0,555
^{31}P	1/2	100	10,841	2,26	1,131
^{35}Cl	3/2	75,4	2,616	0,54	0,822

Физические основы ядерного магнитного резонанса

При наложении постоянного магнитного поля, обладающего индукцией B_0 возникает взаимодействие между этим полем и магнитным моментом ядра $\mu_{\text{я}}$. Магнитное поле в системе СИ характеризуется индукцией B , измеряемой в единицах Тл (тесла). Вместе с тем иногда используется напряженность магнитного поля H , размерность которой совпадает с размерностью индукции. Энергия этого взаимодействия зависит от ориентации вектора магнитного момента ядра относительно направления поля. Возможен лишь некоторый дискретный набор проекций, т. е. компонент вектора ядерного спина в любом заданном направлении, определяемых магнитным квантовым числом m_l , которое принимает $2l+1$ -значение, т. е. от $+l$ до $-l$. Если направление магнитного поля B_0 выбрать по оси z декартовой системы координат ($B_z=B_0$), а I_z —проекция ядерного спина на эту ось, то энергия взаимодействия ядра с полем запишется в виде:

$$E = -\gamma_{\text{я}} \hbar B I_z = -g_{\text{я}} \beta_{\text{я}} B I_z$$

Квантование проекции I_z , возникающее под действием приложенного магнитного поля B приводит к зеемановскому расщеплению ядерных уровней на $(2I+1)$ подуровня с разрешенными собственными значениями энергии E_I .

Для наиболее важного в практическом отношении случая протона или другой частицы со спином $I=1/2$ возможны только два значения квантового числа m_I : $+1/2$ и $-1/2$. Энергии спиновых состояний соответствующих этим квантовым числам равны

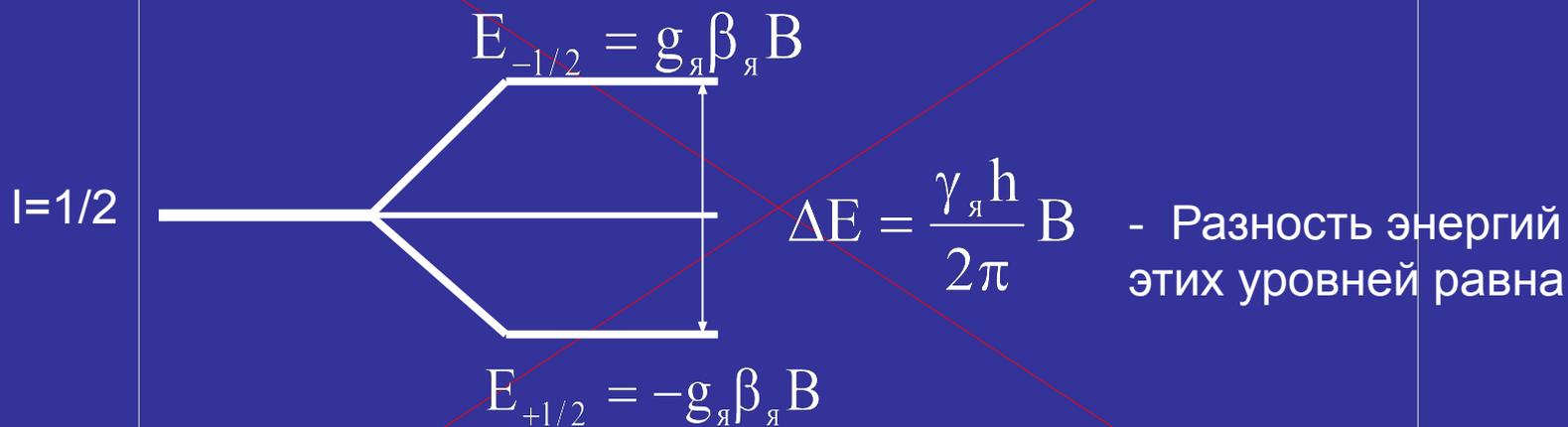
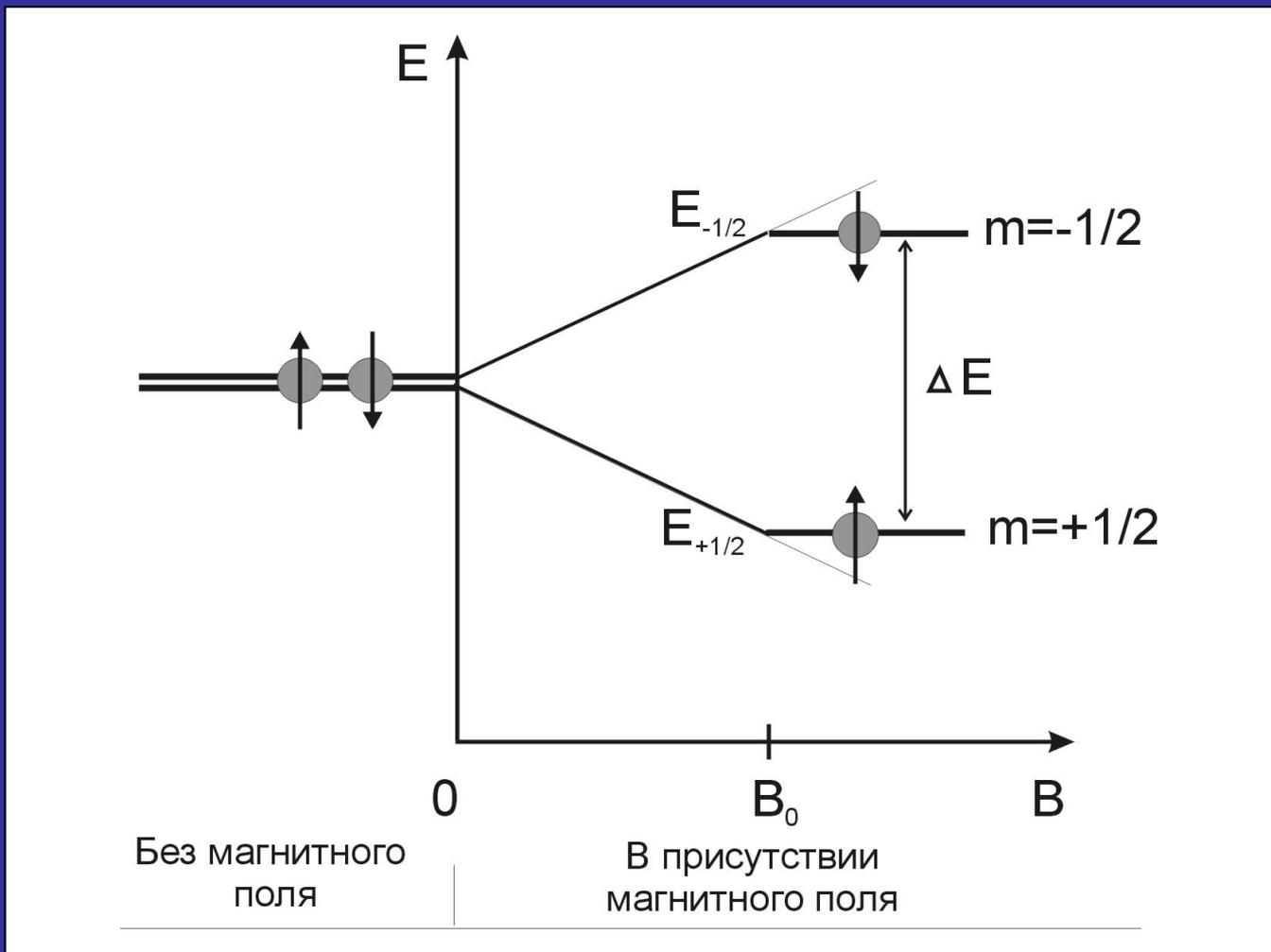
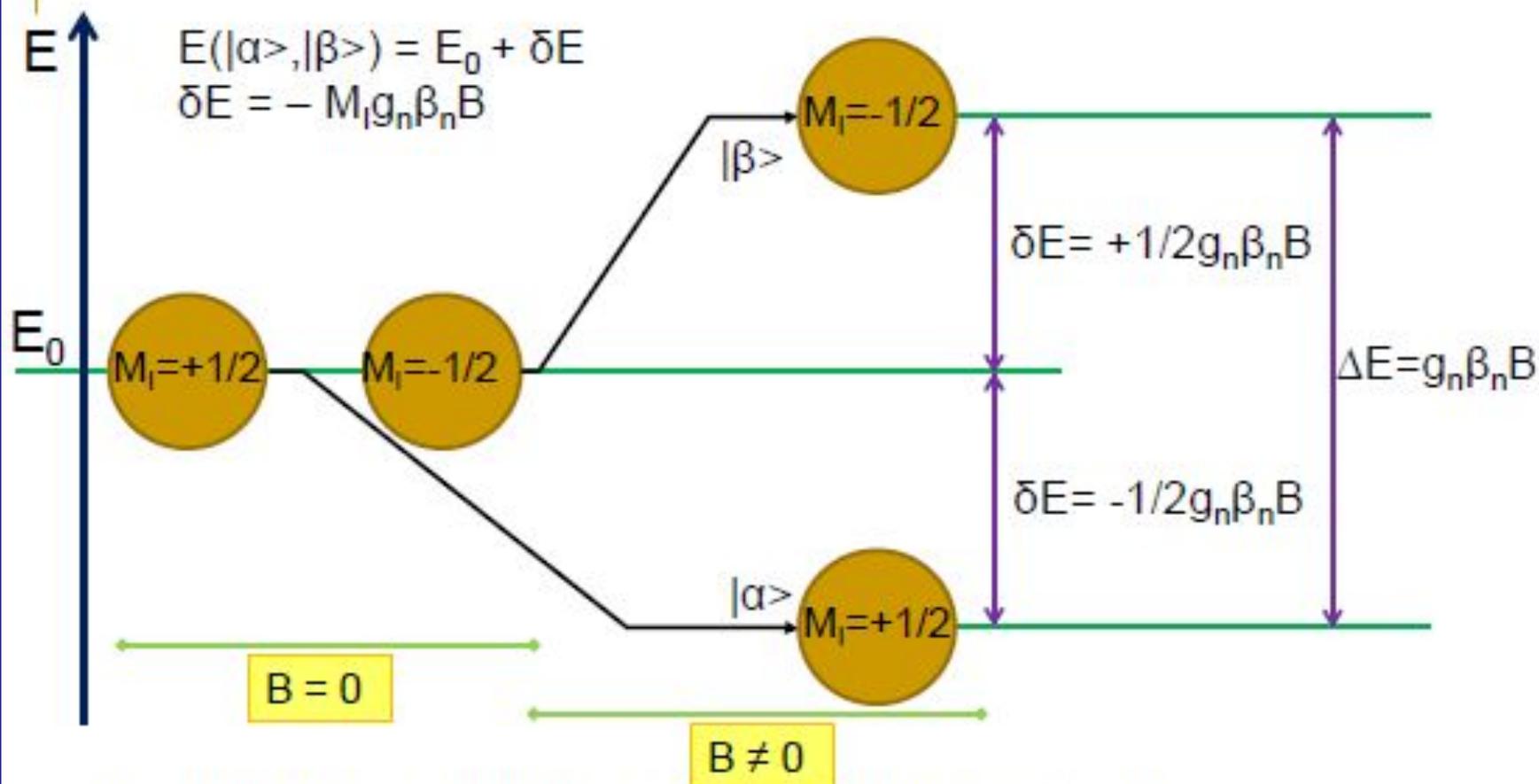


Схема расщепления энергетических уровней частицы со спином $I=1/2$ в зависимости от приложенного магнитного поля B_0



Эффект Зеемана на ядрах с $I=1/2$

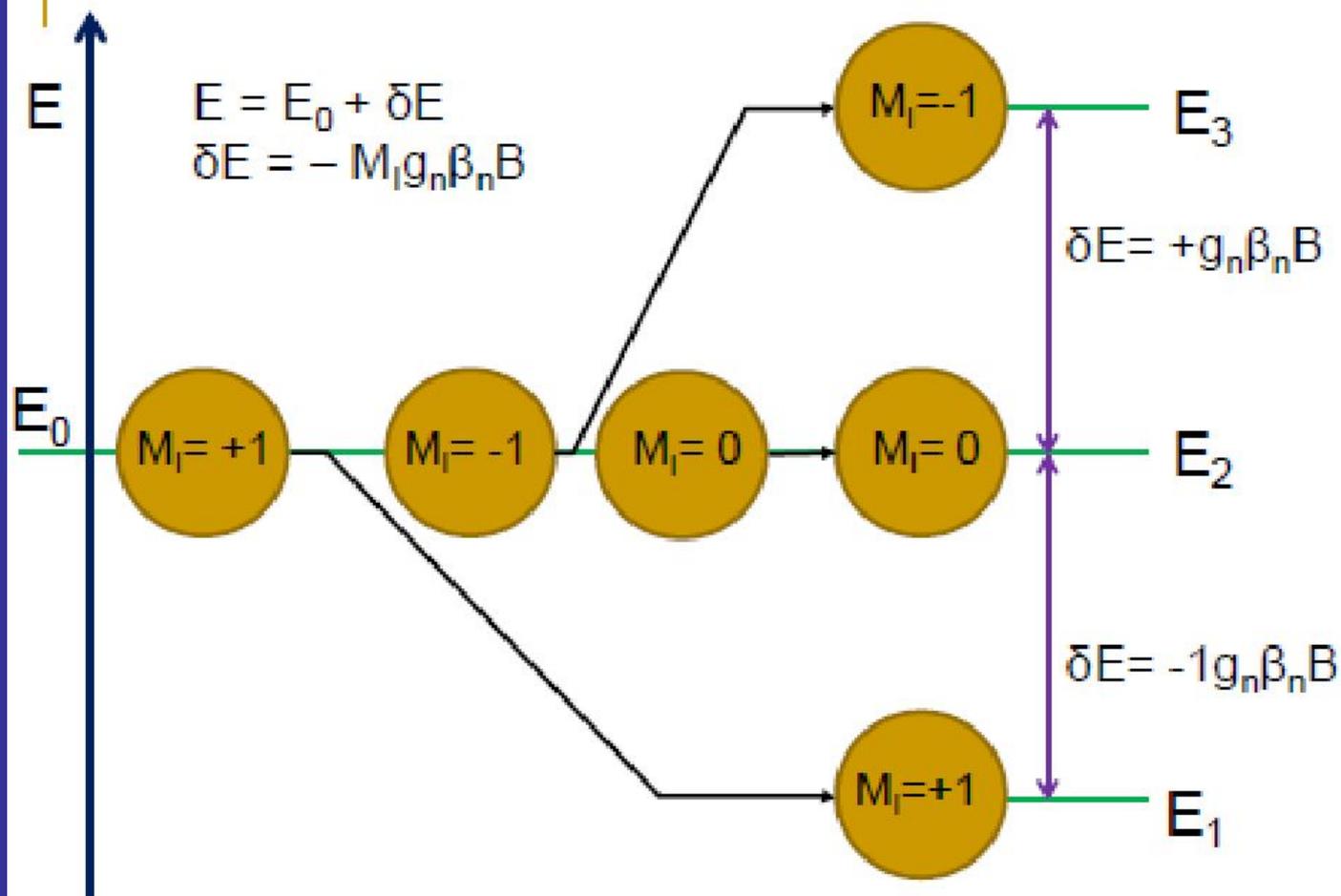


M_I – магнитное спиновое квантовое число ($-I \dots +I$)

g_n – ядерный g-фактор (5,5855 для протона)

β_n – ядерный магнетон ($5,0509 \cdot 10^{-27} \text{ А} \cdot \text{м}^2$)

Эффект Зеемана на ядрах с $I=1$



$N_i = \exp(-E_i/kT)$ – населённость уровня i

Заселенности энергетических уровней ядра в приложенном магнитном поле

В макроскопическом ансамбле частиц, помещенных в постоянное магнитное поле B , относительная заселенность энергетических уровней при данной температуре определяется законом Больцмана:

$$\frac{N_B}{N_H} = \exp\left(-\frac{\Delta E}{kT}\right) = \exp\left(-\frac{\gamma_{\text{я}} h B}{2\pi kT}\right) \approx 1 - \frac{\gamma_{\text{я}} h B}{2\pi kT}$$

где $N_{B,H}$ – вероятность нахождения частицы на верхнем или нижнем уровне соответственно; k - постоянная Больцмана, T - абсолютная температура. Избыток заселенности нижних уровней очень невелик (порядка $\sim 10^{-5} - 10^{-6}$). Он зависит от температуры образца и, что самое главное для практической реализации метода, от величины приложенного поля B и гиромагнитного отношения $\gamma_{\text{я}}$ для ядер в образце, на которых наблюдается ЯМР.

Условие ядерного магнитного резонанса и его практическая реализация

Как в любом другом спектроскопическом методе, переходы между энергетическими, в данном случае спиновыми, уровнями, сопровождающиеся изменением энергии системы, удовлетворяют общему условию:

$$\Delta E = h\nu_0$$

где ΔE – разность энергии между расщепленными уровнями ядра, ν_0 – частота поглощаемого или испускаемого излучения при переходах между этими уровнями.

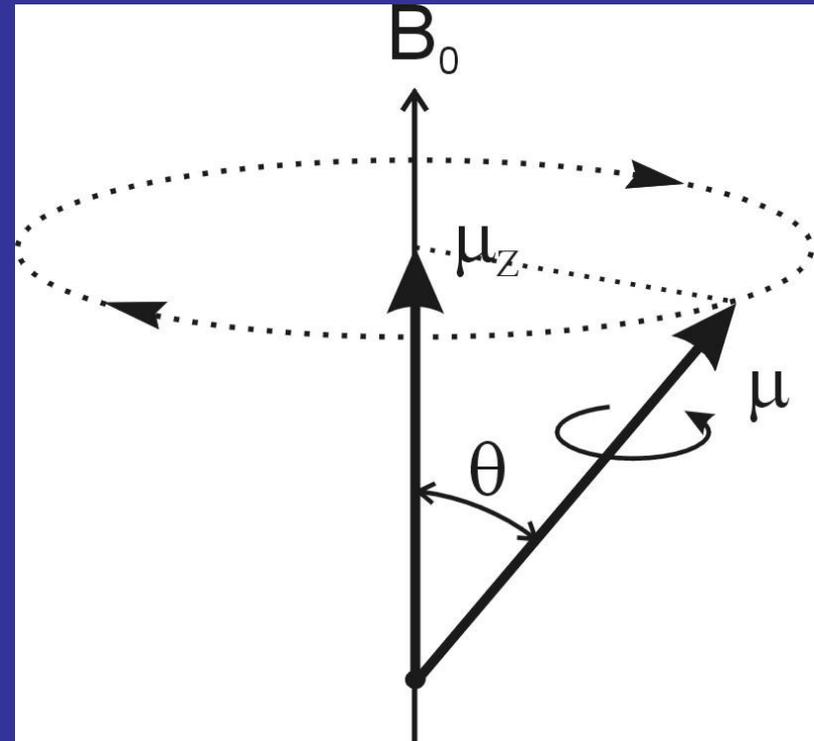
Для возбуждения переходов между расщепленными спиновыми уровнями ядра на образец, помещенный в постоянное однородное магнитное поле \mathbf{B}_0 , необходимо воздействовать переменным магнитным полем \mathbf{B}_v , сравнимым по энергии с энергией расщепления уровней ΔE . Резонансное поглощение электромагнитного излучения происходит при условии, что вектор осциллирующего магнитного поля перпендикулярен направлению постоянного магнитного поля $\mathbf{B}_v \perp \mathbf{B}_0$ и условия эксперимента удовлетворяют равенству:

$$h\nu_0 = \gamma_{\text{я}} \hbar B_0 = g_{\text{я}} \beta_{\text{я}} B_0$$

Это равенство представляет собой так называемое условие ядерного магнитного резонанса. При этом для представленной на рисунке двухуровневой системы со спином $I=1/2$, так и для более сложных систем, когда $I > 1/2$, действует правило отбора для разрешенных переходов: $\Delta m_l = \pm 1$.

Моделью поведения ядра, обладающего ненулевым магнитным моментом $\mu_{\text{я}}$, в магнитном поле B_0 , может служить вращающийся гироскоп, отклоняемый под действием внешней силы.

Такую силу создает магнитное поле, направленное вдоль «оси вращения» ядра. В результате отклонения этой оси происходит прецессия: круговое вращение магнитного момента ядра μ под углом θ к направлению магнитного поля B_0 . Частота прецессии ядра ω называется ларморовой частотой.

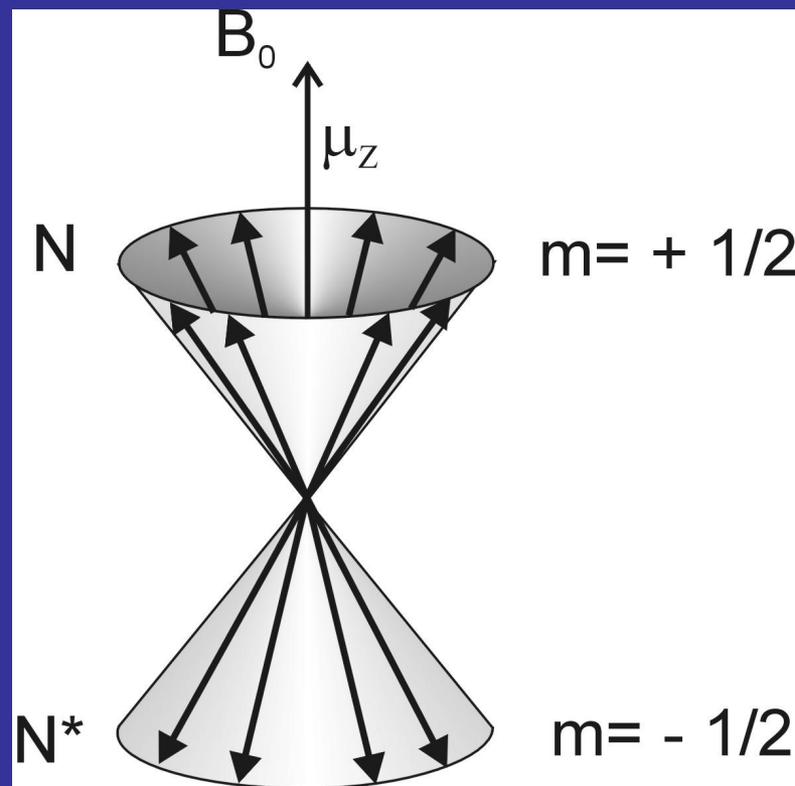


Магнитный момент ядра может располагаться равно- или противоположно направленно магнитному полю. Разность энергий этих двух состояний непосредственно связана с величиной угла прецессии:

$$E = -\mu_z B_0 = -\mu_y B_0 \cos \theta$$

Распределение ядер со спином 1/2 между двумя энергетическими состояниями.

Заселенность основного состояния N (в котором магнитные моменты ориентированы по направлению поля) выше, чем возбужденного N^* . В результате поглощения электромагнитного излучения нарушается термодинамическое равновесие в системе спинов и разность заселенностей уменьшается. Ядра, находившиеся до этого в основном состоянии, переходят в возбужденное.



Понятие химического сдвига в ЯМР спектроскопии

Для химии метод ЯМР важен прежде всего потому, что под влиянием химического окружения ядер частоты магнитного резонанса ν несколько смещаются. Причина этого явления состоит в воздействии дополнительных магнитных полей, индуцируемых окружающими электронами и ядрами. Эти магнитные поля направлены противоположно внешнему магнитному полю и как бы «экранируют» ядро от него. Таким образом, результирующее магнитное поле, воздействующее на ядро Вэфф отличается от внешнего поля B_0 на величину индуцированного поля σB_0 :

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

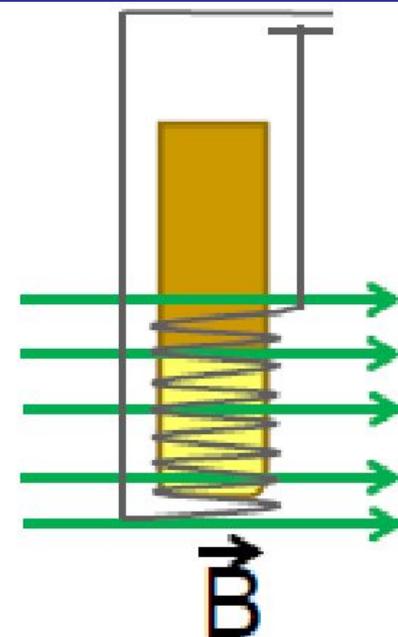
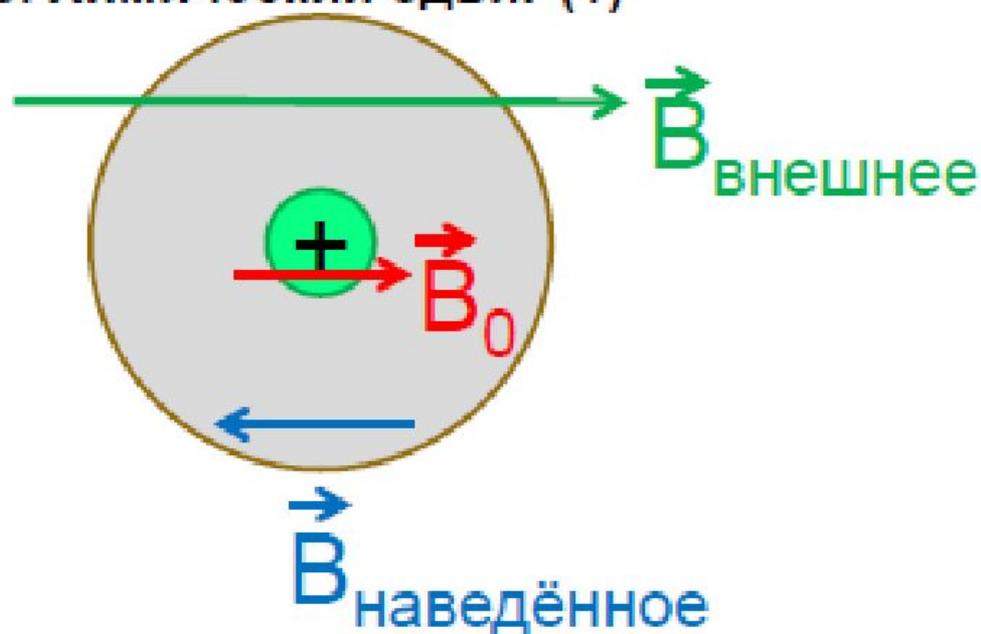
Величина σ называется константой экранирования. С учетом явления экранирования условие резонанса выглядит как:

$$h\nu_0 = \gamma_{\text{я}} \hbar B_0 \cdot (1 - \sigma)$$

Поскольку резонансная частота ν_0 и напряженность магнитного поля B_0 взаимосвязаны через константу экранирования, то на практике удобно измерять не абсолютные значения константы экранирования σ , а разности: $\delta = \sigma_{\text{эт}} - \sigma_{\text{х}}$, где $\sigma_{\text{эт}}$ – константа экранирования ядра в каком-то эталонном веществе, а $\sigma_{\text{х}}$ – константа экранирования того же ядра в исследуемом образце.

Параметры спектра ЯМР

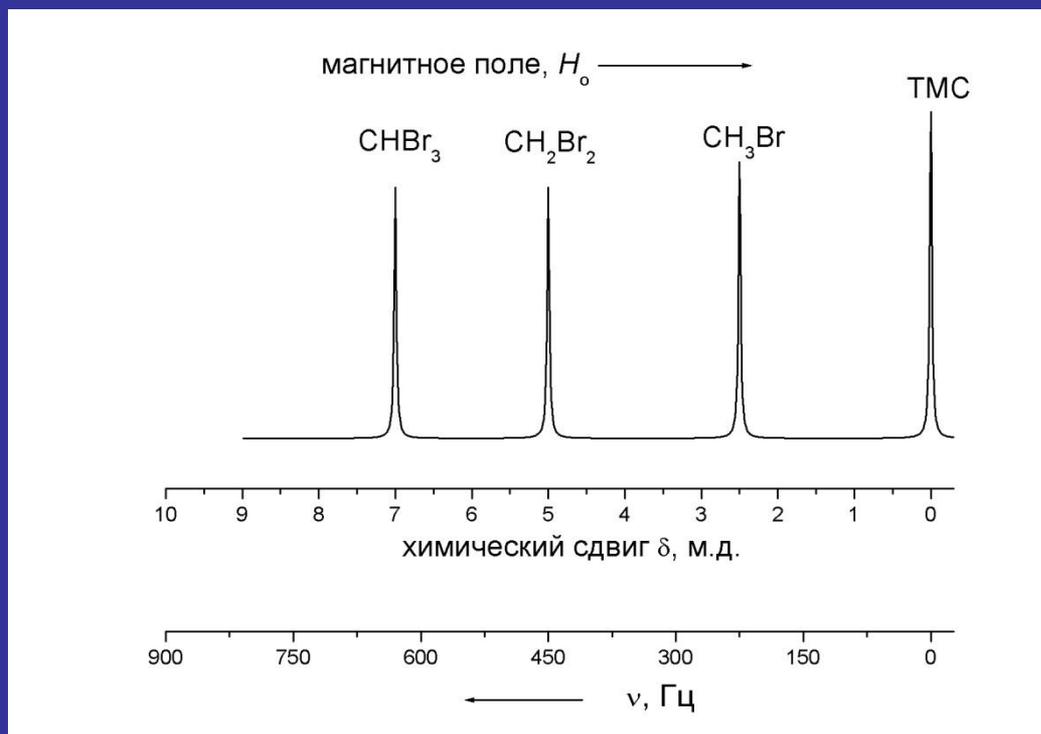
3. Химический сдвиг (1)



$$B_0 = B_{\text{внешнее}} - B_{\text{наведённое}} = B_{\text{вн.}} - \sigma \cdot B_{\text{вн.}} = B_{\text{вн.}}(1 - \sigma)$$

σ – константа экранирования ($\sigma = \sigma_{\text{ат}} + \sigma_{\text{мол}} + \sigma_{\text{мм}}$)

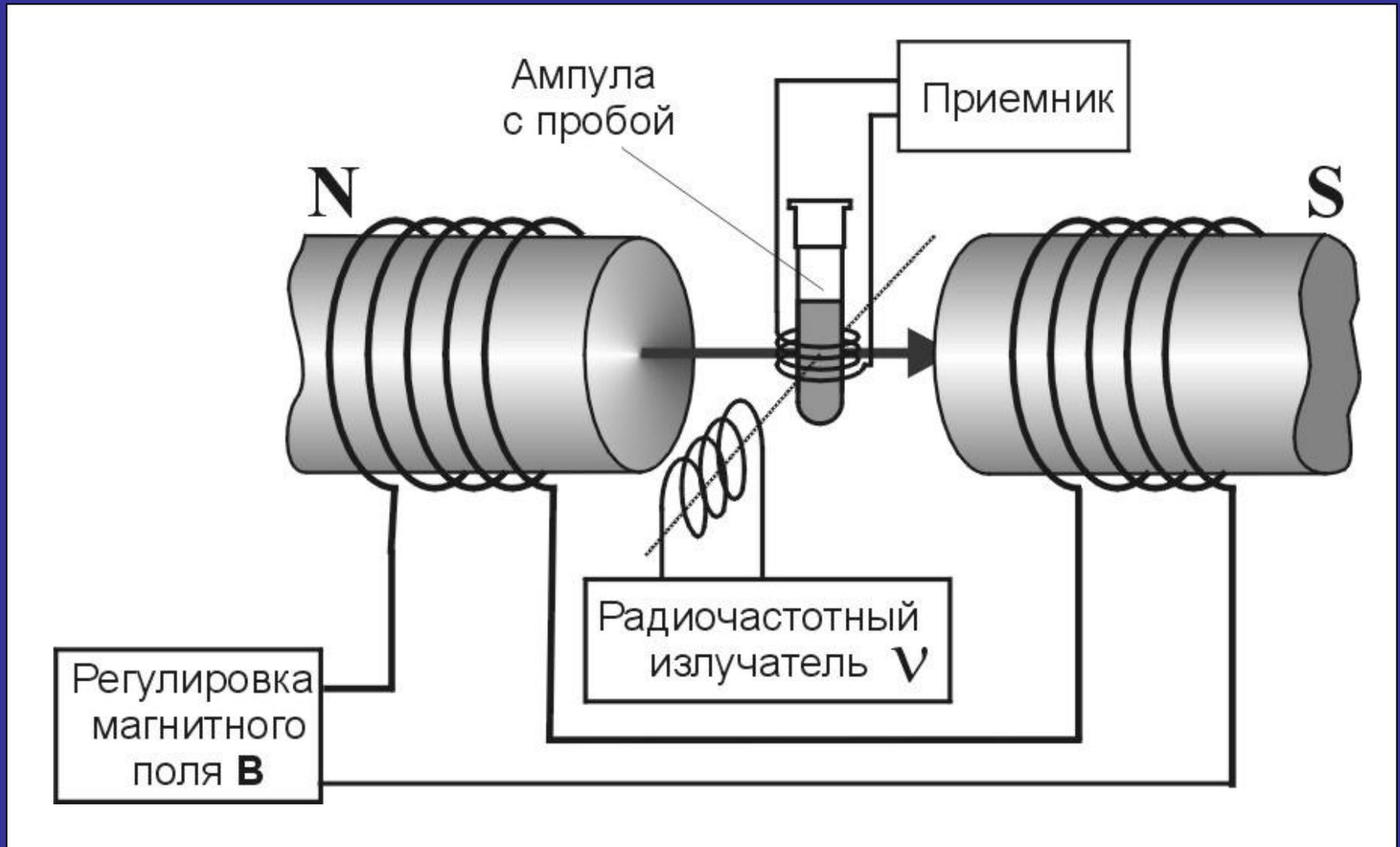
Разность δ для эталона и образца называется относительным или просто химическим сдвигом. При построении шкалы δ в качестве начала отсчета используют сигнал какого-либо стандартного вещества. В спектроскопии ЯМР на ядрах ^1H и ^{13}C им обычно служит тетраметилсилан (ТМС). Он дает единственный сигнал ЯМР, поскольку все его двенадцать протонов (и четыре атома углерода) эквивалентны.



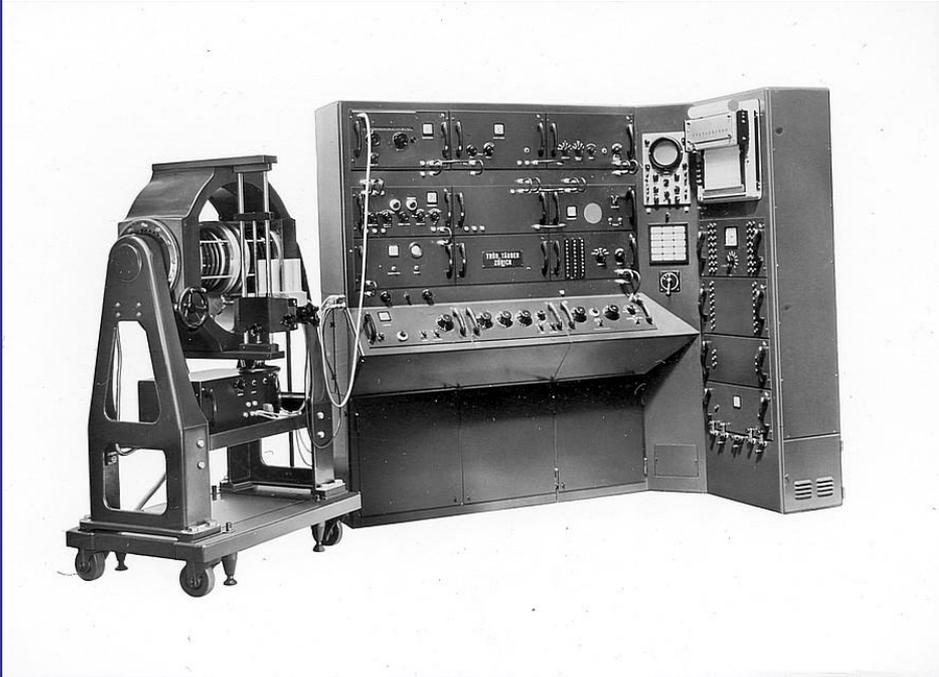
Спектр ЯМР на протонах (ПМР) низкого разрешения для бромформа, бромистого метилена и бромистого метила с указанием химических сдвигов в шкалах δ и частоты ν .

Техника ЯМР спектроскопии и области её применения

Схема простейшего спектрометра ЯМР



Сканирующая ЯМР- спектроскопия



Одни из первых спектрометров ЯМР фирмы Bruker



Современный спектрометр ЯМР на электромагните

Современный приборы. Топ-модели.



Магнит спектрометра
ЯМР на 1000 МГц

Bruker

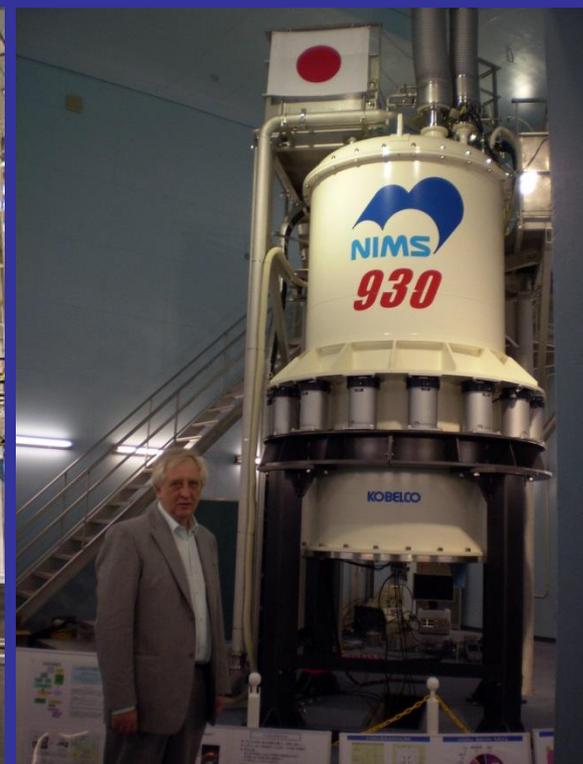
Германия



Магнит спектрометра
ЯМР на 900 МГц

Varian (Agilent)

США



Магнит спектрометра
ЯМР на 930 МГц

Jeol

Япония

Современный приборы. Средний класс.



Фурье–ЯМР-спектрометр Bruker Avance III 500

Год запуска: 2009



Современный приборы. Средний класс.



Фурье–ЯМР-спектрометр Bruker DPX 250 после upgrade 'а

Год запуска: 1998.

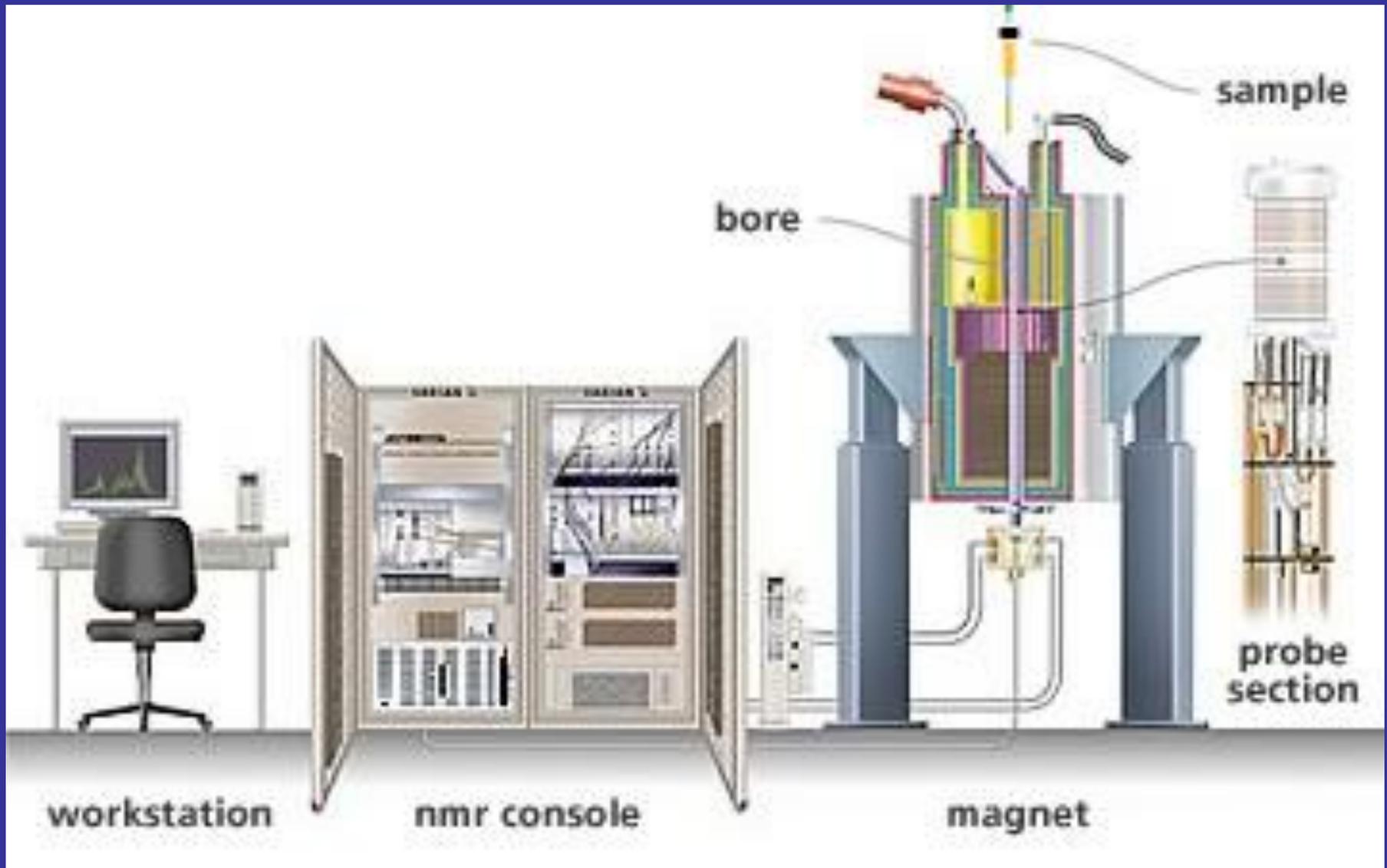


Физико-химические комплексы



Жидкостный хроматограф в комплексе с ЯМР-спектрометром

Устройство спектрометра.



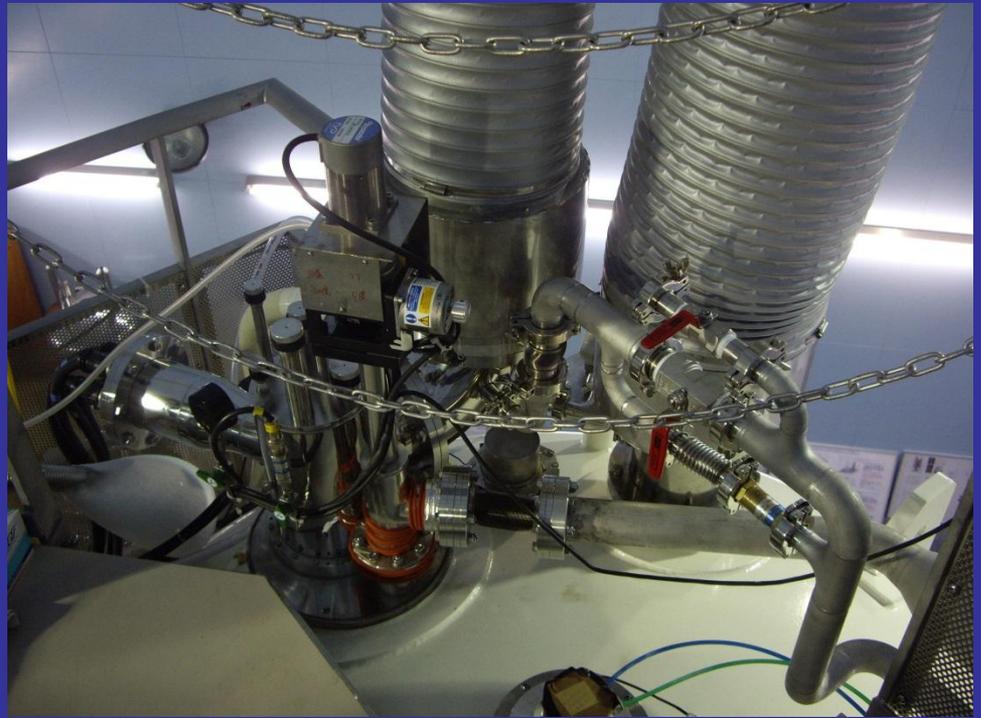
Устройство спектрометра.

Магнит



Устройство спектрометра.

Магнит



Устройство спектрометра.

Ампулы



Набор для пробоподготовки для жидкостного датчика:

- дозаторы
- пипетка
- склянка с дейтерорастворителем
- ампулы 5 мм
- ампула 10 мм
- колпачки



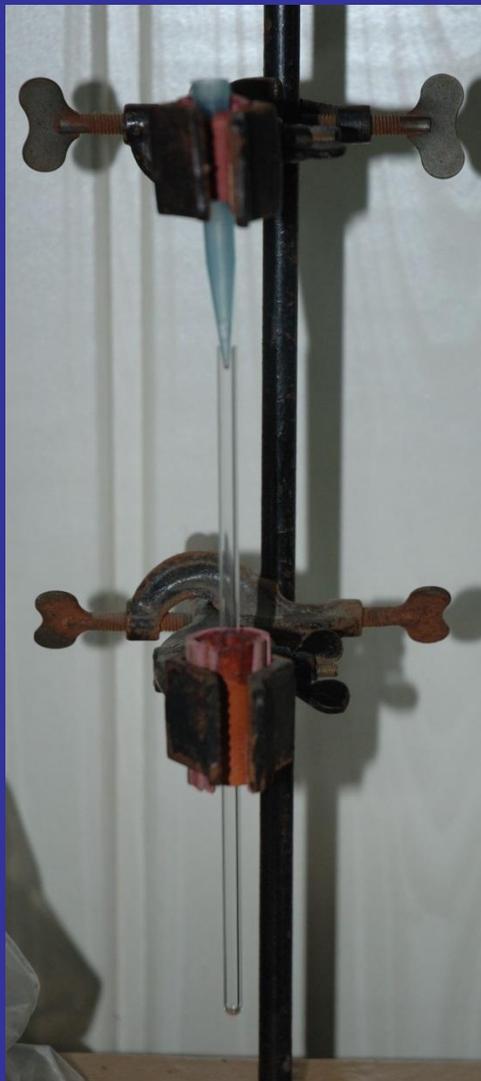
Набор для пробоподготовки для твердотельного датчика:

- воронка
- ампула
- крышка
- экстрактор

Пробоподготовка.



Пробоподготовка.



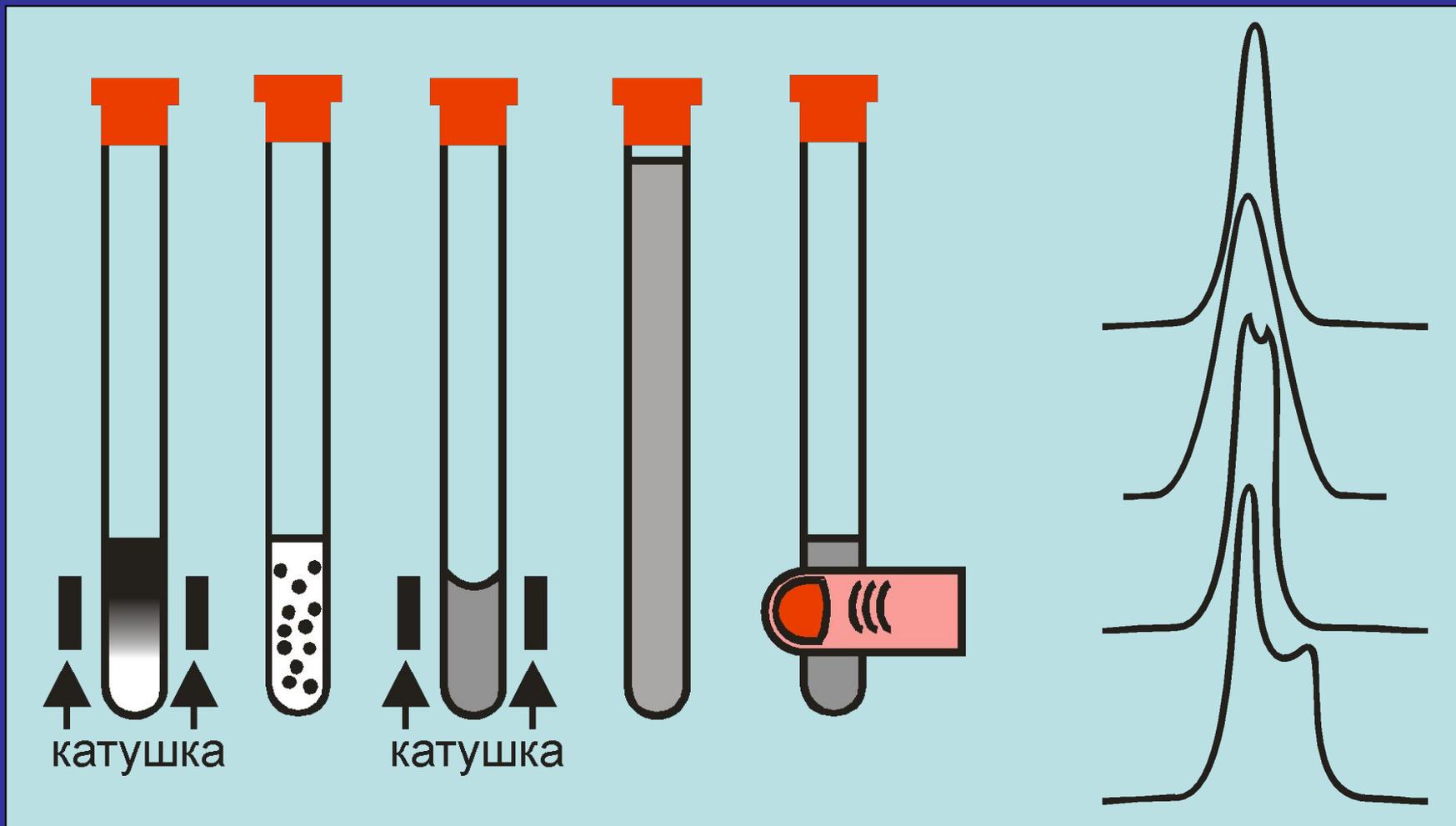
- Чистая ампула

- Однородный раствор

- Объем раствора (15-17 мм) - Плотнo надетый колпачок

Пробоподготовка.

Как не надо делать



Современный приборы. Средний класс



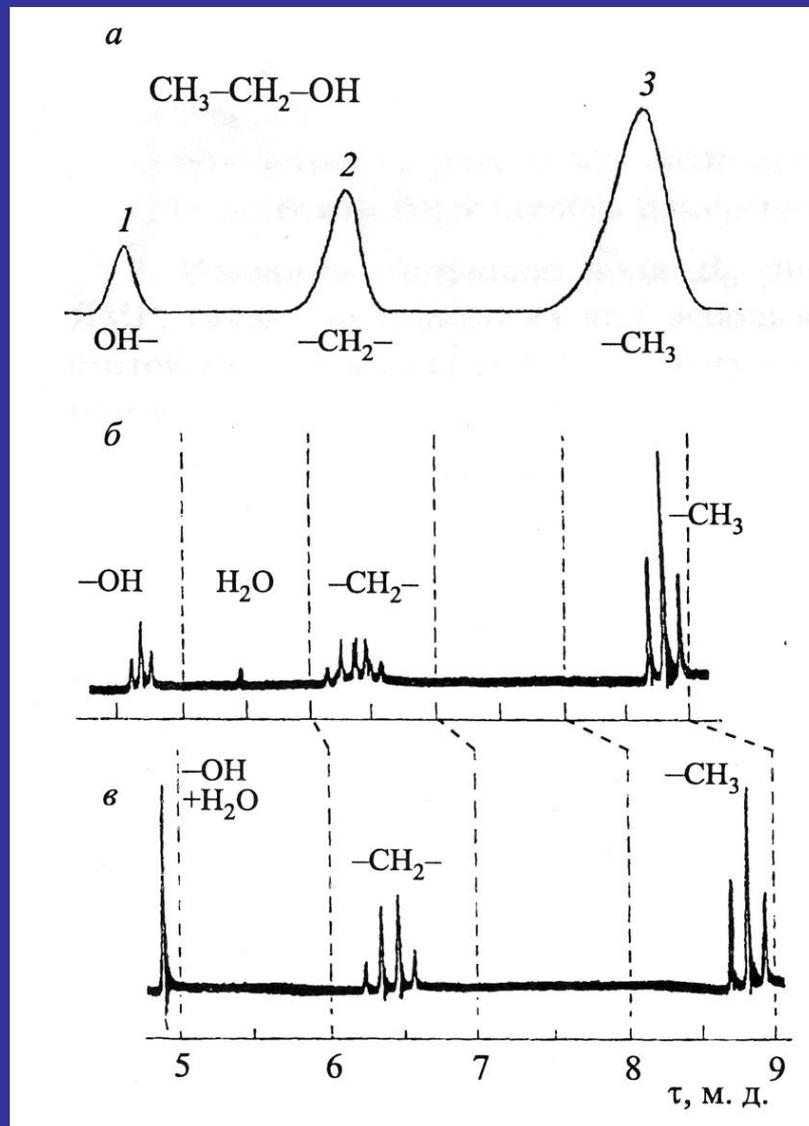
Фурье ЯМР-спектрометр Bruker AM-400 под управлением Aspect 3000.



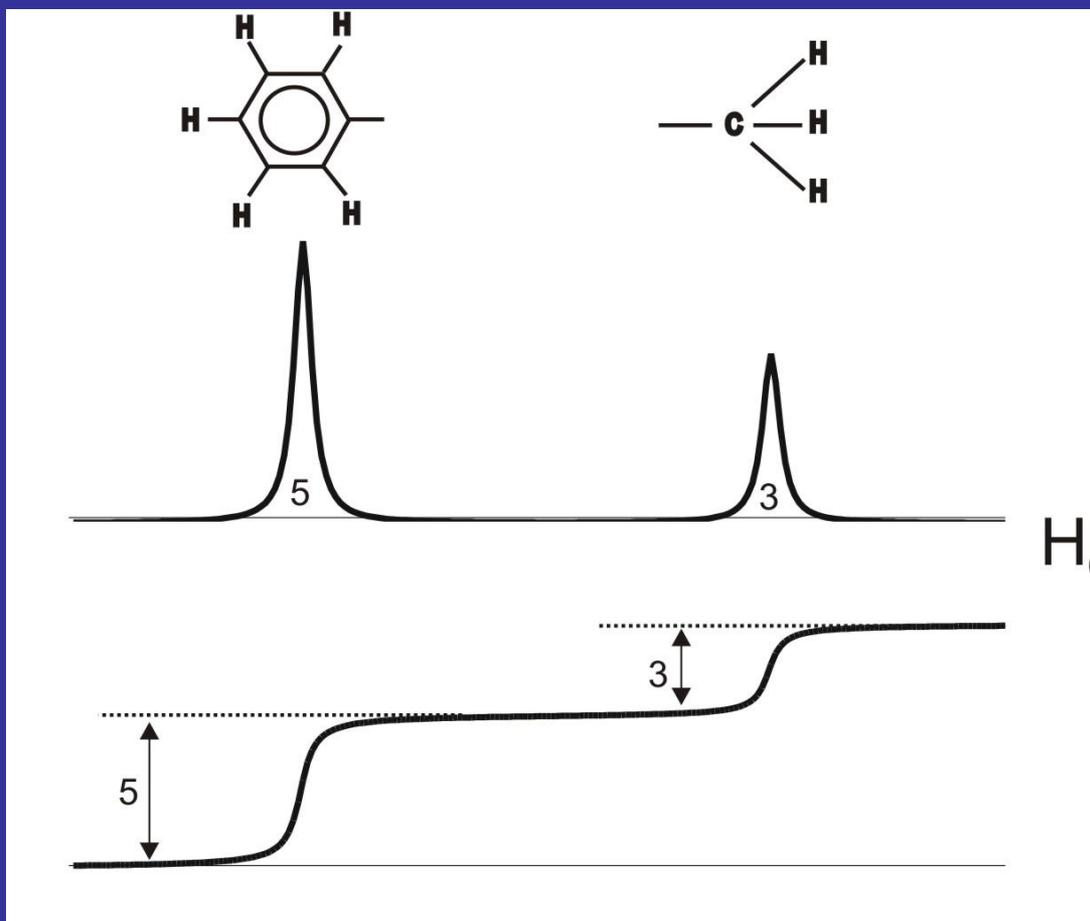
Фурье ЯМР-спектрометр Bruker AC-200 под управлением Aspect 2000.

Протонные ЯМР спектры, полученные при различной разрешающей способности спектрометра

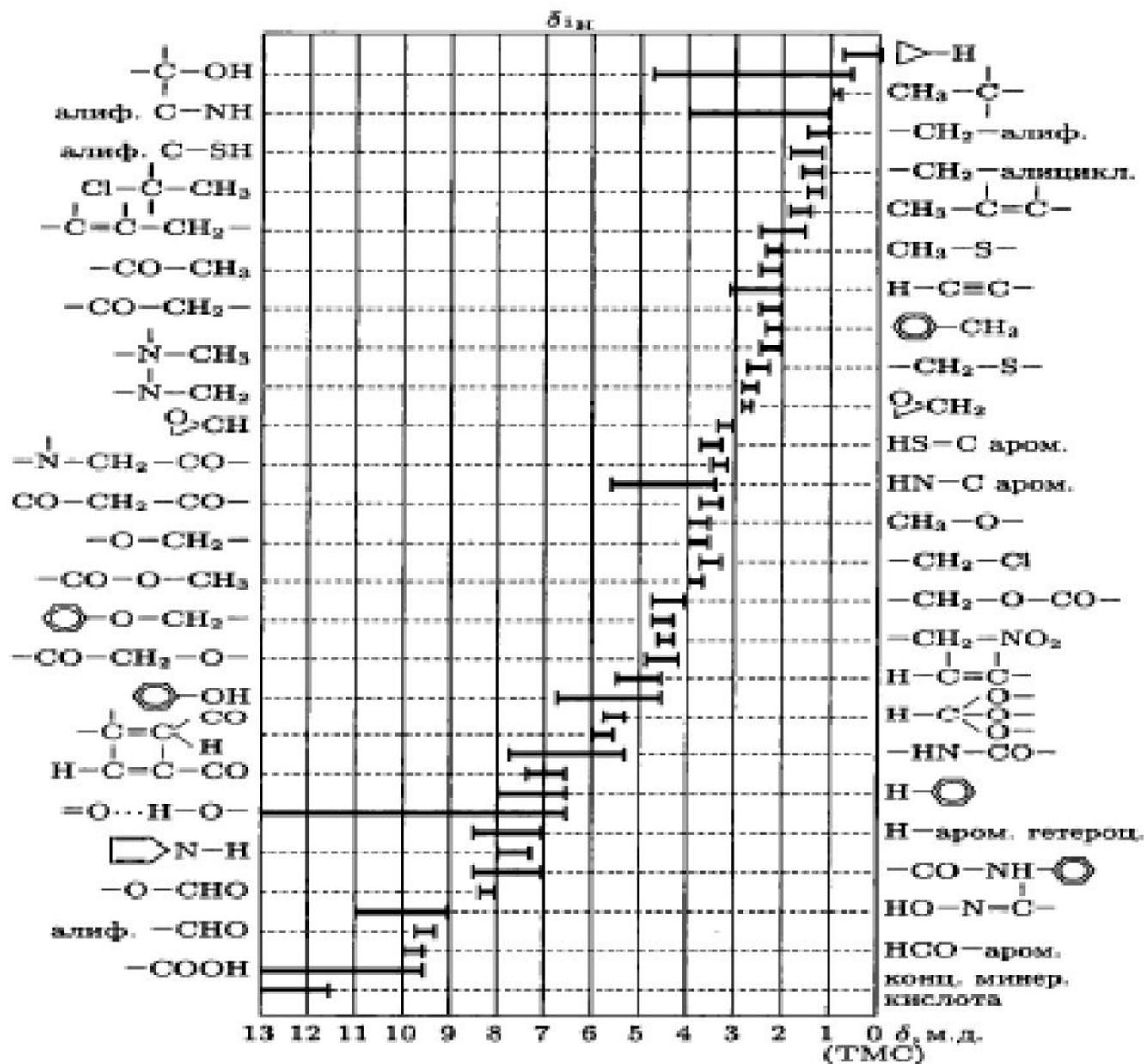
Для получения ЯМР спектров высокого разрешения были разработаны импульсный спектрометры с фурье-преобразованием сигнала. В спектрометрах высокого разрешения используют магниты с плотностью потока от 1,4 до 14 Тл. Для наблюдения резонанса протонов при этом необходимы частоты от 60 до 600 МГц. В спектрометрах среднего класса применяют частоты от 60 до 100 МГц, в более высококачественных — 200-600 МГц и сверхпроводящие магниты, охлаждаемые жидким гелием.



При обработке спектров ЯМР их обычно интегрируют. При этом помимо обычного спектра (в виде пиков), информацию дополнительно представляют в форме интегрального спектра. Высота каждой ступени соответствует площади пика. Относительная погрешность измерения площадей пиков составляет обычно $\pm 2\%$.



Химический сдвиг - таблицы



Основные характеристики спектра ЯМР

- количество сигналов \Rightarrow количество неэквивалентных ядер данного типа
 - положение сигналов (химический сдвиг) \Rightarrow распределение электронной плотности по молекуле
 - форма сигналов (спиновое расщепление) \Rightarrow тип и количество соседних ядер, конформация, обмен
 - площадь сигналов \Rightarrow количество эквивалентных ядер, давших сигнал
-

спектр ЯМР ^1H этилового спирта, 100МГц

