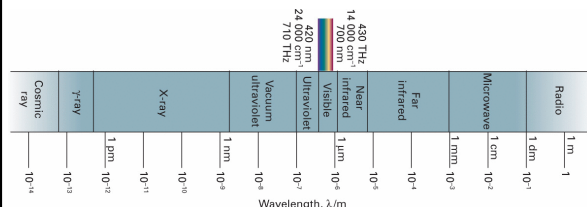


## Nuklearna Magnetska Rezonancija NMR spektroskopija

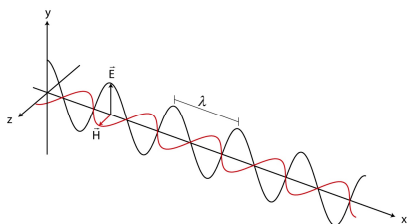
## NMR spektroskopija

Obuhvaća mjerenje rezonantne apsorpcije elektromagnetskog zračenja frekvencije 50-800 MHz kontinuiranim, pulsним i složenim pulsним tehnikama.



## NMR spektroskopija

Oscilirajuće magnetsko polje elektromagnetskog zračenja dolazi u interakciju s magnetskim momentom nekih atomskih jezgri.



## NMR spektroskopija

NMR spektroskopija je od iznimne vrijednosti u suvremenim istraživanjima:

- Strukture lijekova i drugih spojeva.
- Dinamičkih procesa, kinetika i ravnoteža.
- Strukturnim istraživanjima biomolekula.
- Interakcija lijekova i biomolekula.
- Pri dizajnu novih lijekova.
- U medicini MRI.

Postoje brojne različite tehnike mjerenja u NMR spektroskopiji. Mjerenje i interpretacija NMR spektara mogu biti vrlo složeni.

## Spinski kvantni broj

Atomske jezgre imaju svojstvo koje nazivamo spin.

Atomska jezgra, ovisno o broju  $p$  i  $n$  ima spinski kvantni broj  $I$ .

Broj protona	Broj neutrona	$I$
parni	parni	0
neparni	neparni	1, 2, 3, 4, 5, ...
parni	neparni	1/2, 3/2, 5/2, ...
neparni	parni	1/2, 3/2, 5/2, ...

## Spinski kvantni broj

Atomska jezgra koja ima spinski kvantni broj  $I$  može u prostoru prema proizvoljnoj osi zauzeti  $2I+1$  različitih orijentacija magnetskog momenta.

Orijentacije međusobno razlikujemo magnetskim kvantnim brojem  $m_I$  koji može imati vrijednosti:

$$m_I = I, I-1, \dots, -I.$$

Npr.:

$^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  jezgre imaju  $I=1/2$  i svaka od njih može imati 2 međusobno različite orijentacije u prostoru koje opisujemo  $m_I = +1/2, -1/2$ .

$^{14}\text{N}$  jezgra ima  $I=1$  može imati 3 različite orijentacije  $m_I = +1, 0, -1$ .

## Magnetski moment

Atomske jezgre koje imaju  $I > 0$  imaju magnetski moment  $\mu$  iznosa:

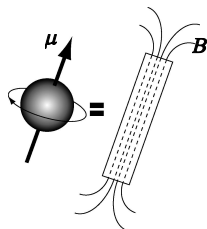
$$\vec{\mu} = \gamma \vec{I} \frac{\hbar}{2\pi}$$

Magnetski moment pokazuje iznos i smjer "magneta jezgre".

$\gamma$  (magnetožirni omjer) vrijednost određena eksperimentom za pojedine vrste atomske jezgre, izražava se jednačinom:

$$\gamma \hbar = g_I \mu_N$$

$g$  je nuklearni  $g$ -faktor,  $\mu_N$  je nuklearni magneton i iznosi  $5.051 \cdot 10^{-27} \text{ J T}^{-1}$



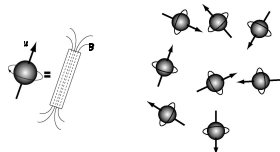
## Svojstva atomskih jezgri

Svojstva nekih atomskih jezgri korištenih u NMR spektroskopiji:

Jezgra	Spinski kvantni broj $I$	$\gamma$ ( $10^{-7} \text{ rad/T sec}$ )	Osjetljivost mjerenja prema $^1\text{H}$ /%	Udio izotopa u prirodi /%
$^1\text{H}$	1/2	26.7520	100.0	99.9844
$^2\text{H}$	1	4.1067	0.965	0.0156
$^{13}\text{C}$	1/2	6.7265	1.59	1.108
$^{15}\text{N}$	1/2	-2.7108	0.104	0.365
$^{19}\text{F}$	1/2	25.167	83.3	100
$^{31}\text{P}$	1/2	10.829	6.63	100

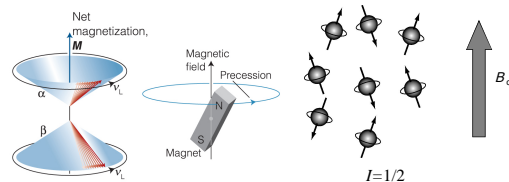
## Atomske jezgre u magnetskom polju

Kada nema vanjskog magnetskog polja, sve orijentacije atomskih jezgri (prikazane magnetskim momentom) su jednako vjerojatne i prema tome atomske jezgre su u prostoru proizvoljno orijentirane.



## Atomske jezgre u magnetskom polju

Ako se atomske jezgre s  $I = 1/2$  stave u vanjsko magnetsko polje  $B_0$  dolazi do magnetizacije uzorka. Magnetski momenti atomskih jezgri poravnati će se paralelno s vanjskim poljem, orijentaciju momenta opisujemo magnetskim kvantnim brojem  $m_I = +1/2, -1/2$ .

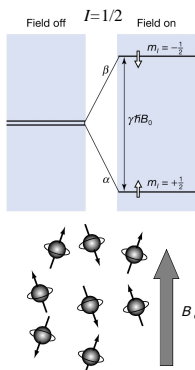


## Atomske jezgre u magnetskom polju

Magnetski momenti orijentirani su u smjeru ili suprotno od smjera vanjskog polja.

Ove dvije različite orijentacije magnetskog momenta imaju različitu energiju.

Moguće je inducirati prijelaze između spinskih stanja dovođenjem energije u obliku elektromagnetskog zračenja odgovarajuće frekvencije.



## Energije jezgre u magnetskom polju

Energija jezgre koja ima magnetski moment  $\mu$  i nalazi se u vanjskom magnetskom polju  $B$  iznosi:

$$E = \vec{\mu} \cdot \vec{B} \quad \vec{\mu} = \gamma \vec{I} \frac{\hbar}{2\pi}$$

Ako je vanjsko magnetsko polje  $B_0$  u smjeru osi  $z$ ,  $2I+1$  različitih orijentacija imati će različite energije prema jednačini:

$$E_{m_I} = -\vec{\mu} \cdot \hat{B}_0 = -\mu_z B_0 = -\gamma \hbar m_I B_0 \quad m_I = -I, -I+1, \dots, I-1, I$$

## Larmorova frekvencija

Energije se obično izražavaju Larmorovom frekvencijom  $\nu_L$ :

$$\nu_L = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad E_{m_I} = -m_I \hbar \nu_L$$

Iz jednadžbe je vidljivo što je snažnije vanjsko magnetsko polje, veća je Larmorova frekvencija  $\nu_L$ .

Npr. za  $^1\text{H}$  u magnetskom polju od 12 T Larmorova frekvencija  $\nu_L$  iznosi oko 500 MHz.

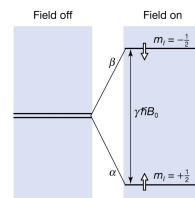
## Larmorova frekvencija

Razlika u energiji između dva stanja za jezgru sa spinskim kvantnim brojem  $I = 1/2$  i magnetskim kvantnim brojem  $m_I = +1/2$  ( $\alpha$ ),  $-1/2$  ( $\beta$ ) u vanjskom magnetskom polju  $B_0$  iznosi:

$$\Delta E = E_\beta - E_\alpha = \frac{1}{2} \gamma_I \hbar B_0 - \left( -\frac{1}{2} \gamma_I \hbar B_0 \right) = \gamma_I \hbar B_0 = \hbar \nu_L$$

Do rezonantne apsorpcije zračenja (prijelaz  $\alpha \rightarrow \beta$ ) dolazi kada je frekvencija elektromagnetskog zračenja  $\nu$  jednaka Larmorovoj frekvenciji  $\nu_L$ :

$$h\nu = \gamma_I \hbar B_0 = \hbar \nu_L$$



## Atomske jezgre u magnetskom polju

Udio jezgri u pojedinim  $\alpha$  i  $\beta$  stanjima može se izračunati iz Boltzmannove razdiobe:

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = e^{\frac{-\Delta E}{kT}}$$

Kod uobičajenih NMR mjerenja ( $B = 9.5 \text{ T}$ ) za  $^1\text{H}$  jezgre  $\Delta E$  iznosi  $3.8 \cdot 10^{-5} \text{ kcal mol}^{-1}$ , te je omjer populacija:

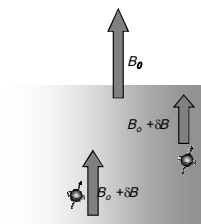
$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = 1.000064$$

## Konstanta zasjenjenja

Magnetski momenti jezgre dolaze u interakciju s lokalnim magnetskim poljem.

Lokalno magnetsko polje može se razlikovati od primijenjenog vanjskog magnetskog polja.

Vanjsko magnetsko polje inducira elektronski orbitalni moment impulsa (kružne struje elektrona) koji doprinosi malim dodatnim magnetskim poljem  $\delta B$  koje djeluje na jezgru.



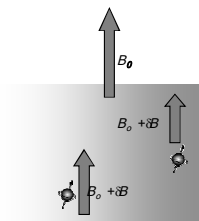
## Konstanta zasjenjenja

Dodatno magnetsko polje  $\delta B$  razmjerno je jakosti vanjskog magnetskog polja.

Vrijedi jednadžba:

$$\delta B = -\sigma B_0$$

$\sigma$  je bezdimenzijska veličina - konstanta zasjenjenja



## Konstanta zasjenjenja

Vanjsko magnetsko polje inducira kružne struje elektrona u molekuli koje lokalno mijenjaju jakost vanjskog magnetskog polja u okolini molekule.

Konstanta zasjenjenja  $\sigma$  ovisi o elektronskoj strukturi u neposrednoj okolini jezgre.

Za istu vrstu atomskih jezgri (iste atome), različite funkcionalne skupine imati će različite konstante zasjenjenja  $\sigma$ .

$$\nu_L = \frac{\nu B_L}{2\pi} = (1 - \sigma) \frac{\gamma B_0}{2\pi}$$

## Kemijski pomak

Rezonancijska frekvencija obično se iskazuje kemijskim pomakom  $\delta$  definiranim prema jednadžbi:

$$\delta = \frac{\nu_L - \nu_L^0}{\nu_L^0} \times 10^6$$

$\nu_L$  je rezonancijska frekvencija promatrane jezgre

$\nu_L^0$  je rezonancijska frekvencija referentne (standardne) jezgre.

Standard u  $^1\text{H}$  i  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopiji je tetrametilsilan  $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$  - TMS

## Kemijski pomak

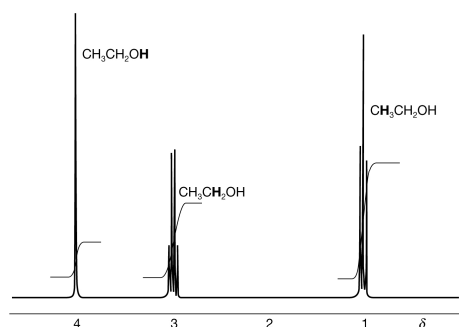
Što je veći kemijski pomak  $\delta$  konstanta zasjenjenja  $\sigma$  je manja.

Jezgre s velikim kemijskim pomakom su *odsjenjene*.

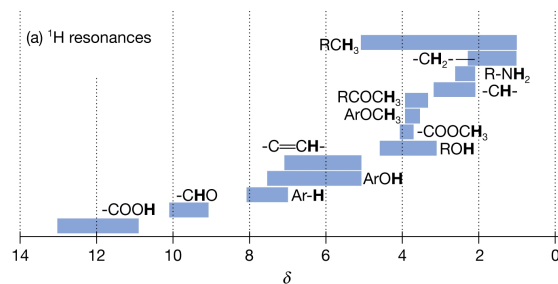
NMR spektar je izmjerena funkcija intenziteta rezonancijske apsorpcije prema kemijskom pomaku  $\delta$ .

Kemijski pomak i Larmorova frekvencija se povećavaju s desna na lijevo.

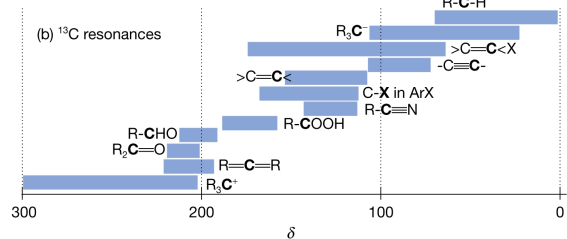
## $^1\text{H}$ NMR spektar etanola



## Kemijski pomaci različitih spojeva za $^1\text{H}$ rezonanciju



## Kemijski pomaci različitih spojeva za $^{13}\text{C}$ rezonanciju



## Konstanta zasjenjenja

Eksperimentom izmjerena konstanta zasjenjenja  $\sigma$  može se razlučiti na doprinose elektrona oko jezgre, doprinose susjednih funkcionalnih skupina i doprinose molekula otapala:

$$\tau = \tau(\text{atom}) + \tau(\text{okolina}) + \tau(\text{otapalo})$$

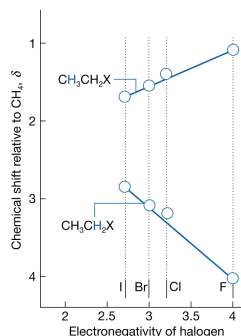
$$\sigma_{\text{atom}} = \sigma_d + \sigma_p$$

$\sigma_d$  i  $\sigma_p$  su diamagnetski i paramagnetski doprinosi.

## Diamagnetski doprinos

Diamagnetski doprinos zasjenjenju dolazi od elektrona iz unutrašnjih ljuski.

Razmjern je elektronskoj gustoći atoma i elektronegativnosti susjednih atoma.



## Paramagnetski doprinos

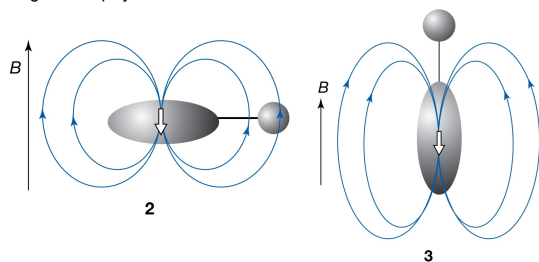
Paramagnetski doprinos zasjenjenju dolazi od elektrona iz vanjskih ljuski koji pod utjecajem vanjskog magnetskog polja kruže koristeći prazne orbitale.

Paramagnetski doprinos znatan je kod atoma s praznim orbitalama niže energije.

Dominantan je kod svih jezgri osim  $^1\text{H}$ .

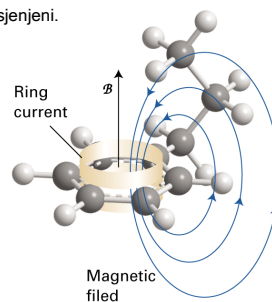
## Doprinos susjednih skupina

Doprinos susjednih skupina zasjenjenju ovisi o položaju jezgre u rezonanciji prema kružnoj struji elektrona inducirane vanjskim magnetskim poljem.



## Doprinos susjednih skupina

Kod aromatskih spojeva vanjsko magnetsko polje inducira snažne struje elektrona. Jezgre na benzenu su odsjenjene, dok su jezgre na supstituentu zasjenjeni.



## Doprinos otapala

Otapalo ovisno o relativnom položaju doprinosi zasjenjenju i odsjenjenju. Također doprinosi ako dolazi u interakciju s otopljenom tvari (vodikove veze, asocijacija, ...)

