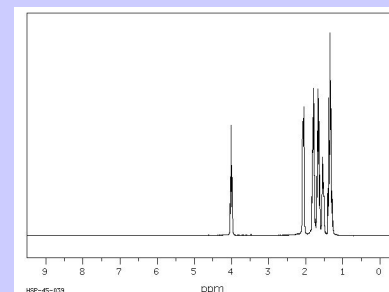
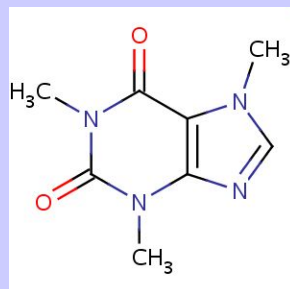




Основы спектроскопии ЯМР для идентификации и количественного анализа веществ и материалов

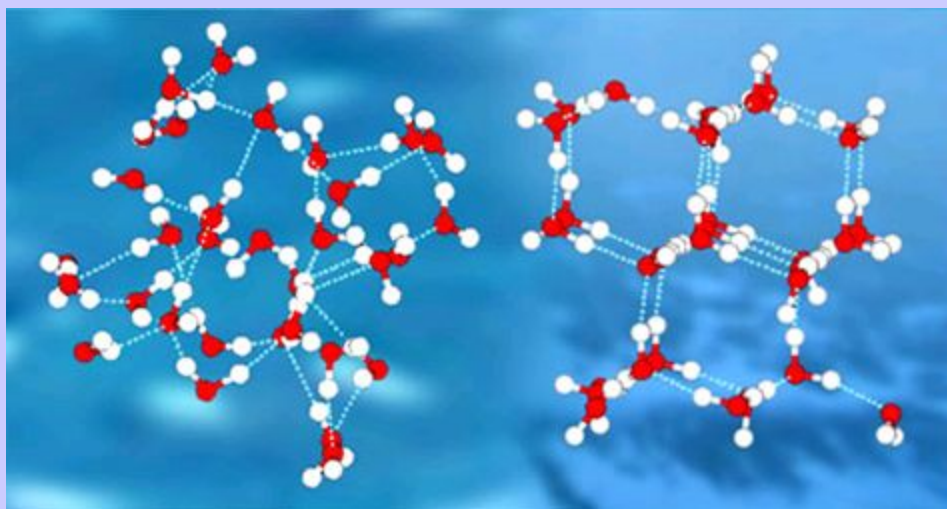


Лектор: Ивлев Василий Александрович
Инженер лаборатории структурных и химико-аналитических
методов исследования ЦКП (НОЦ) РУДН
chemistron@mail.ru

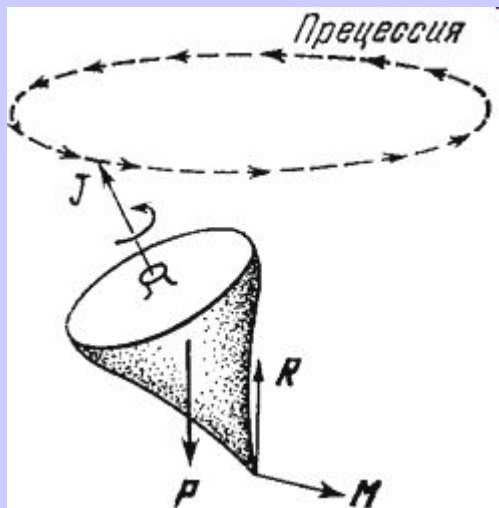
Явление ядерного магнитного резонанса открыто в 1945 г. Ф. Блохом и Э.Парселлом (Нобелевская премия по физике, 1952 г.)

Спектроскопия ЯМР - один из наиболее важных экспресс-методов исследования органических соединений.

- Простота приготовления образцов
- Быстрота исследования
- Высокая информативность спектров



Основы спектроскопии ЯМР



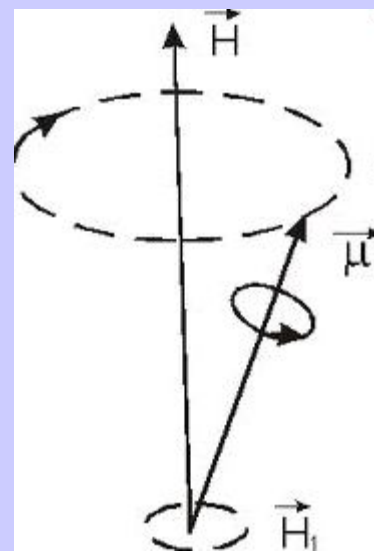
Прецессия вращающегося волчка.

J – момент импульса,

P – сила тяжести,

R – реакция опоры,

M – вращающий момент.



$\vec{\mu}$ – магнитный момент,
 \vec{H} – напряженность внешнего магнитного поля.

$$\mu = \gamma P$$

γ – коэффициент пропорциональности,

μ – магнитный момент ядра

P – угловой момент, спин

$$P_z = \frac{h}{2\pi} m_I$$

m_I - магнитное квантовое число
 h - постоянная Планка

m_I может принимать значения, равные $I, I-1; \dots -I$,
где I – спиновое квантовое число - число протонов и
нейтронов в ядре

Сигналы в спектрах ЯМР могут давать только ядра атомов, обладающих нечетным спиновым числом.

Все ядра с нечетными массовыми числами, а также ядра, имеющие нечетное число протонов и нейтронов, обладают магнитным моментом ($I \neq 0$). В первом случае I принимает полуцелые значения ($1/2, 3/2, 5/2 \dots$), во втором - целые ($1, 2, 3 \dots$). Из практически важных спиновое число $1/2$ имеют следующие ядра: ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P , ^{15}N . Ядра ^2H и ^{14}N имеют $I = 1$; ядра ^{11}B , ^{35}Cl , ^{37}Cl , ^{79}Br и ^{81}Br - $3/2$.

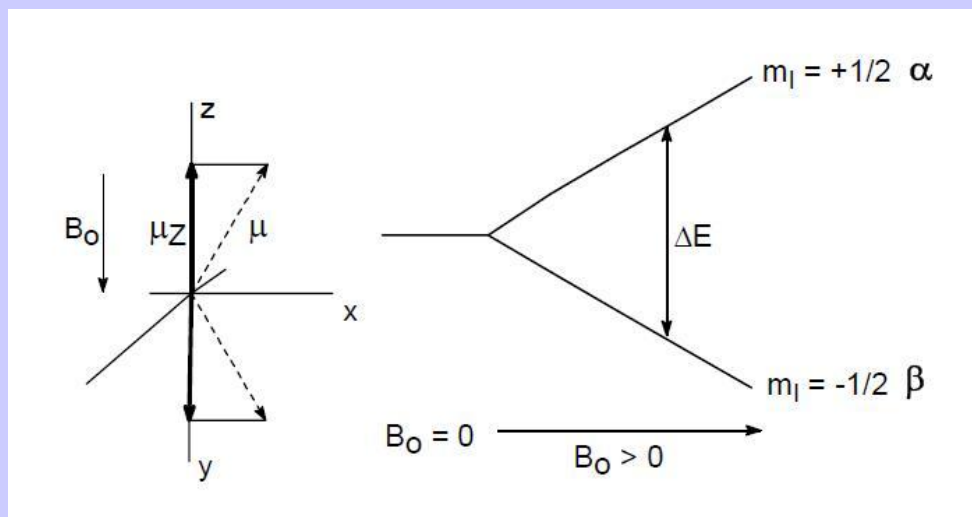
При $I = 1/2$ возможны 2 спиновых состояния ($+1/2$ и $-1/2$)

При $I = 1$ - 3 спиновых состояния ($-1, 0, +1$)

При $I = 3/2$ - 4 спиновых состояния ($-3/2, -1/2, +1/2$ и $+3/2$)

Ядро со спином I может находиться в магнитном поле в $2I+1$ состояниях

Эффект Зеемана

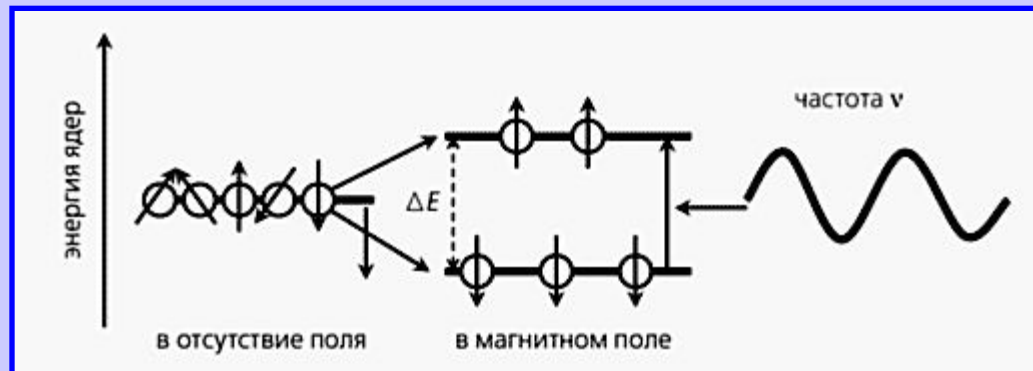
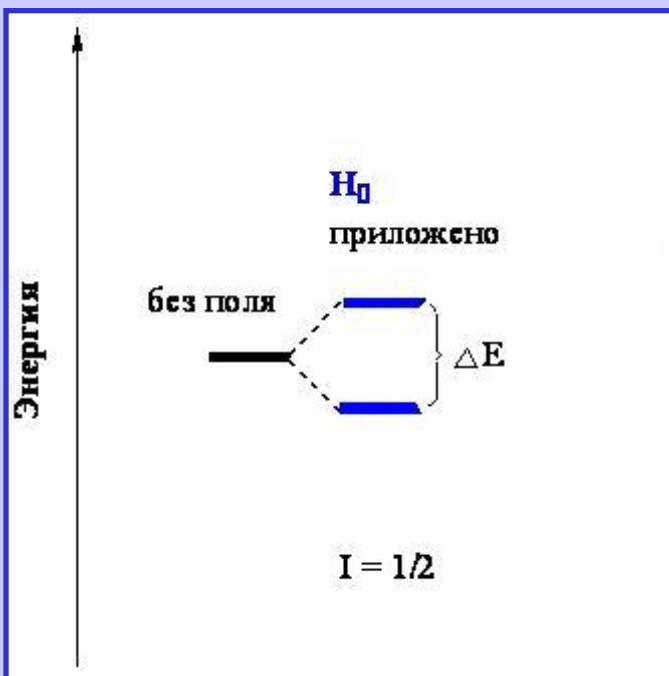


Спектроскопия ядерного магнитного резонанса регистрирует переходы между магнитными энергетическими уровнями атомных ядер, вызываемые радиочастотным излучением

Явление ядерного магнитного резонанса

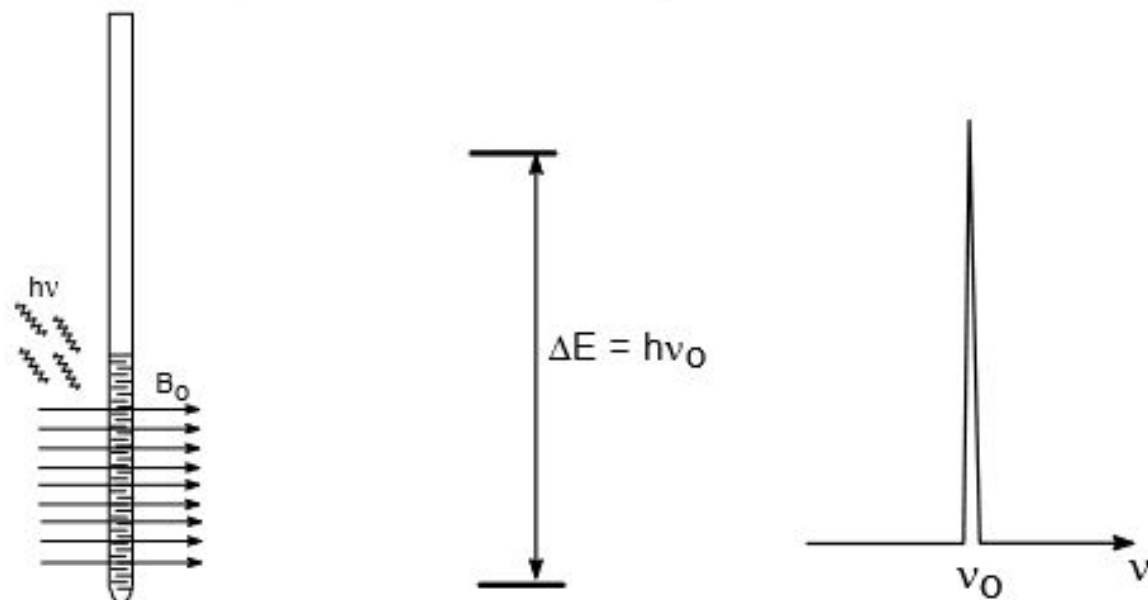
Образование уровней энергии ядра при наложении внешнего магнитного поля H_0

Эксперимент ЯМР состоит в том, чтобы сообщить энергию ядру и перевести его с одного энергетического уровня на другой, более высокий энергетический уровень



Значение ΔE **зависит от молекулярного окружения возбуждаемого ядра**, потому имеется возможность связать величину ΔE со строением молекулы и в конечном итоге определить структуру всей молекулы

Таким образом, в упрощенном виде эксперимент по спектроскопии ЯМР выглядит следующим образом: ампула с образцом исследуемого соединения помещается в магнитное поле и облучается электромагнитным излучением с частотой ν . При некоторой частоте ν_0 , соответствующей энергии $\Delta E = h\nu_0$, наблюдается поглощение энергии. Графически его представляют в виде спектра - зависимости поглощения от частоты:



Т.к. энергия магнитного диполя равна $\mu_z B_0$, при $I = 1/2$ разность энергий между двумя спиновыми состояниями ядра описывается уравнением:

$$\Delta E = 2 \mu_z B_0 = \gamma B_0 \hbar / 2\pi = h\nu_0$$

1.2. Заселенность энергетических уровней. Чувствительность различных ядер.

Заселенность энергетических уровней, соответствующих величинам $m_I = +1/2$ и $-1/2$, определяется распределением Больцмана:

$$N_\alpha/N_\beta = \exp(-\Delta E/kT) = \exp(-\gamma h B_0/2\pi kT), \text{ или } \approx 1 - (\gamma h B_0/2\pi kT)$$

Из этого выражения очевидно, что разница в заселенности энергетических уровней N_α и N_β , определяющая вероятность перехода и, следовательно, интенсивность сигнала в спектре, непосредственно связана с температурой - при понижении температуры чувствительность спектроскопии ЯМР растет.

Чувствительность метода ЯМР при исследовании некоторого ядра зависит от величины магнитного момента ядра m , которая определяет разность энергии между ядерными спиновыми состояниями и, согласно вышеприведенному уравнению, избыток заселенности нижнего состояния. Было показано, что *интенсивность* сигнала ядра пропорциональна $[(I+1)/I^2]\mu^3 B_0^2$.

Магнитные свойства некоторых ядер

Ядро	I	Магнитный момент в единицах μ_N	Гиромагнитное отношение γ , 10^{-8} рад/(Тл·с)	Относительная чувствительность	Природное содерж., %
^1H	1/2	2.79277	2.675	1	99.98
^2H	1	0.85735	0.411	0.009	0.0156
^{10}B	3	1.8007	0.288	0.02	18.83
^{11}B	3/2	2.6880	0.858	0.165	81.17
^{13}C	1/2	0.70216	0.673	0.016	1.108
^{14}N	1	0.40369	0.193	0.001	99.635
^{15}N	1/2	-0.28298	-0.271	0.001	0.365
^{17}O	5/2	-1.8930	-0.363	0.029	0.037
^{19}F	1/2	2.6273	2.517	0.834	100
^{29}Si	1/2	-0.55492	-0.531	0.079	4.70
^{31}P	1/2	1.1316	1.083	0.066	100

Наибольшее распространение имеет спектроскопия протонного магнитного резонанса (ПМР) и ЯМР ^{13}C

1.3. Релаксационные процессы и ширина линий в спектрах ЯМР.

При поглощении ядром кванта электромагнитного излучения оно переходит на более высокий энергетический уровень - т.е. имеет место поглощение излучения, которое регистрируется ЯМР-спектрометром. Поглощение электромагнитного излучения происходит не точно при определенной частоте, а в пределах некоторого интервала частот - т.е. реальные линии поглощения в спектрах ЯМР являются уширенными. Уширение линий связано со множеством факторов, основными из которых являются:

- однородность магнитного и радиочастотного полей (эта задача в современных спектрометрах ЯМР в основном решена). Помимо всего прочего, одним из путей ее достижения является быстрое вращение исследуемого образца;
- спонтанное излучение энергии ядром, обуславливающее т.н. естественную ширину линий (вносит пренебрежимо малый вклад);
- ширина, обусловленная *релаксацией*.

Релаксация - это переход между энергетическими состояниями, восстанавливающий обычное больцмановское распределение. Такой переход, как правило, не сопровождается радиочастотным излучением. Существуют различные типы и механизмы релаксации.

- Наиболее важным релаксационным процессом является т.н. спин-решеточная релаксация (обозначается T1), механизмом осуществления которой являются взаимодействия магнитного ядра с локальными электромагнитными полями окружающей среды.
- Существует ряд механизмов спин-решеточной релаксации:
 - обусловленный диполь-дипольным магнитным взаимодействием с молекулами растворителя, в результате которого магнитная энергия преобразуется в тепловую.
 - обусловленный наличием у исследуемого ядра квадрупольного электрического момента. Такой момент имеют ядра с $I > \frac{1}{2}$
 - обусловленный диполь-дипольными взаимодействиями между соседними ядрами, приводящим к уменьшению T1.
 - обусловленный взаимодействием магнитных ядер с парамагнитными частицами, приводящим к резкому уменьшению T1. Это связано с тем, что неспаренный электрон обладает очень большим магнитным моментом. Если в исследуемом образце имеются парамагнитные примеси (в-ва с нечетным количеством электронов), этот процесс доминирует над другими механизмами релаксации. В некоторых случаях даже присутствие следов кислорода приводит к уширению сигналов, поэтому спектроскопия ЯМР очень высокого разрешения требует специальной подготовки образцов.
- Второй процесс, называемый спин-спиновой релаксацией T2, заключается в обмене энергией внутри спиновой системы.

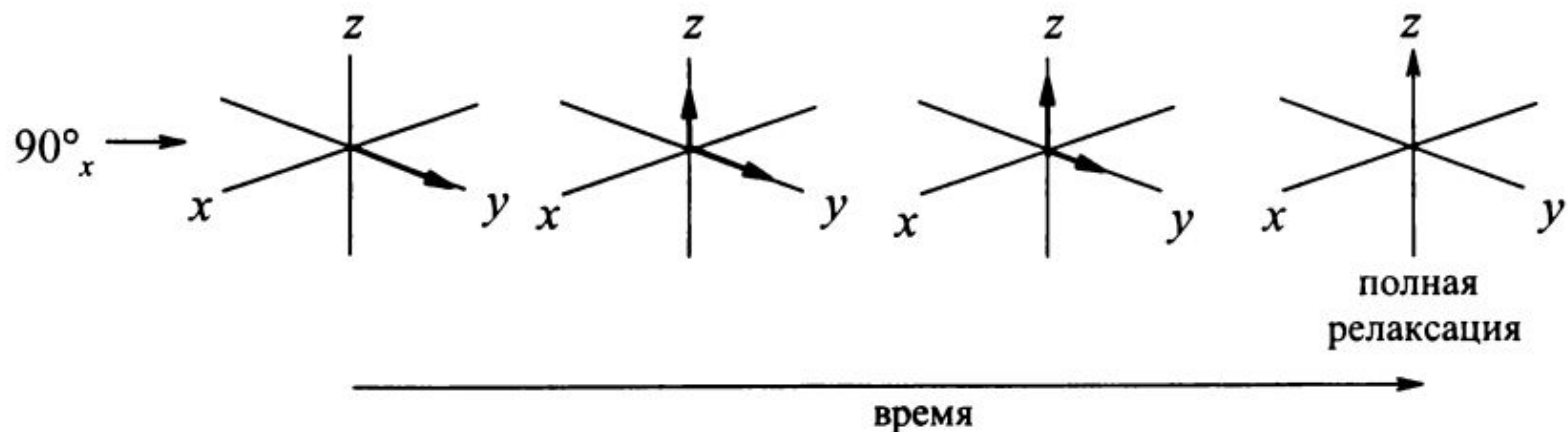


Рис. 2.29. Продольная релаксация. Возврат вектора намагниченности к равновесному состоянию (показано на сигналах во вращающейся системе координат) уменьшает компоненты намагниченности в плоскости x - y и увеличивает продольную z -компоненту.

В соответствии с теорией Блоха восстановление $+z$ намагниченности, M_z , имеет экспоненциальный характер, который описывается уравнением:

$$dM_z/dt = (M_0 - M_z)/T_1,$$

где M_0 – намагниченность в состоянии теплового равновесия, T_1 – временная константа этого процесса.

Начиная с нулевой z -намагниченности, которая реализуется сразу после воздействия 90° -импульса, продольная намагниченность через время t составит:

$$M_z = M_0(1 - e^{-t/T_1}).$$

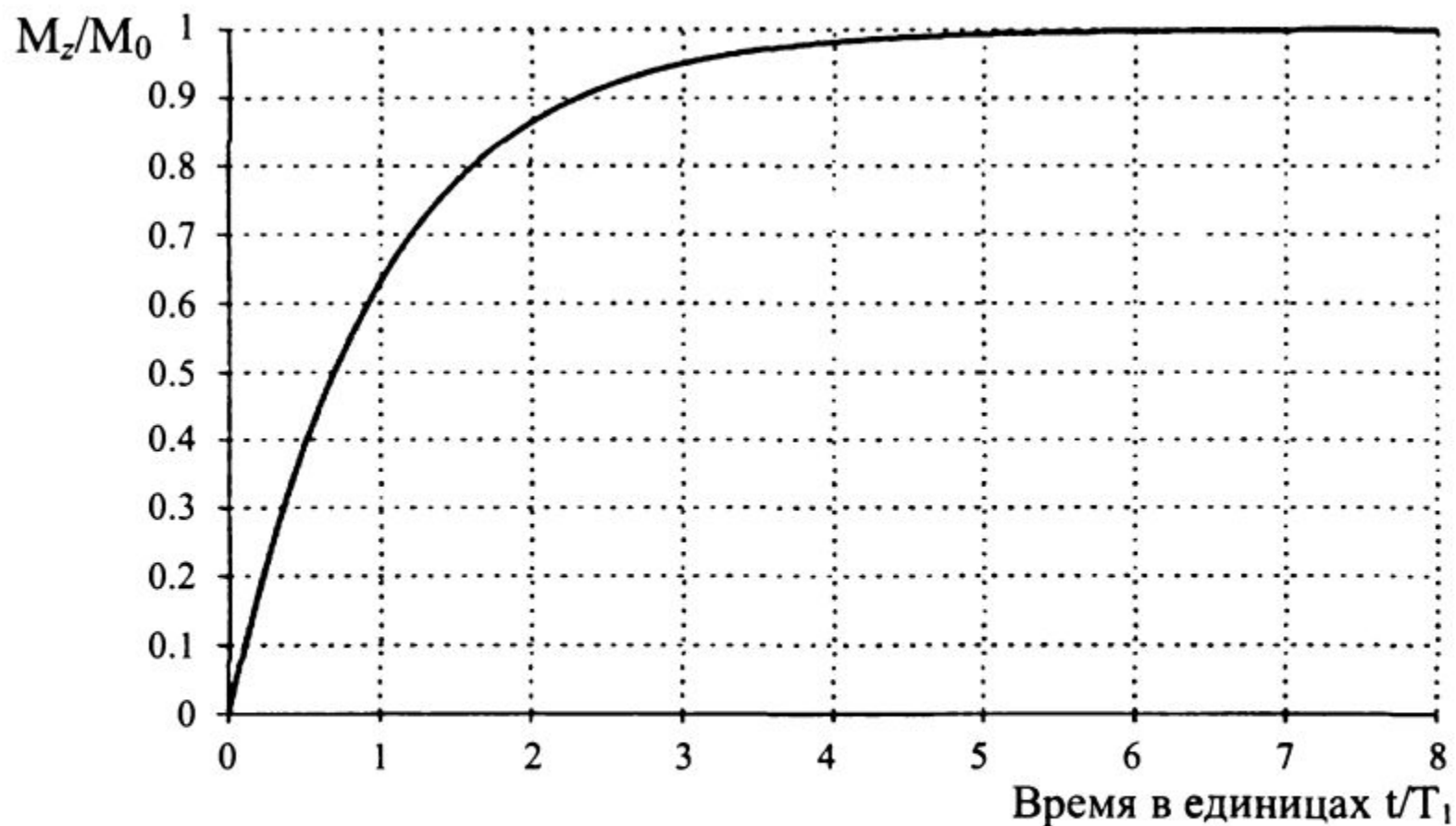
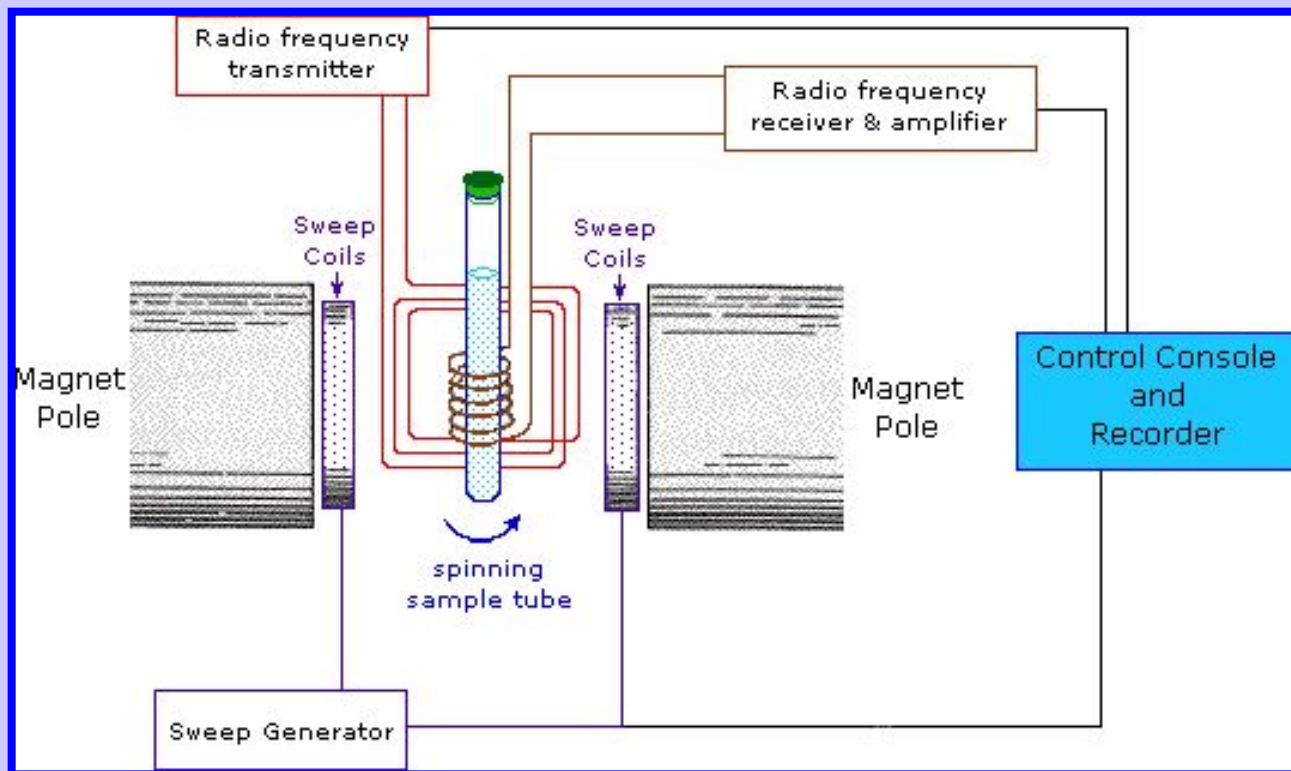


Рис. 2.30. Экспоненциальный рост продольной намагниченности определяется временной константой T_1 . В основном, он заканчивается после периода $5T_1$.

Аппаратурное оформление эксперимента ЯМР

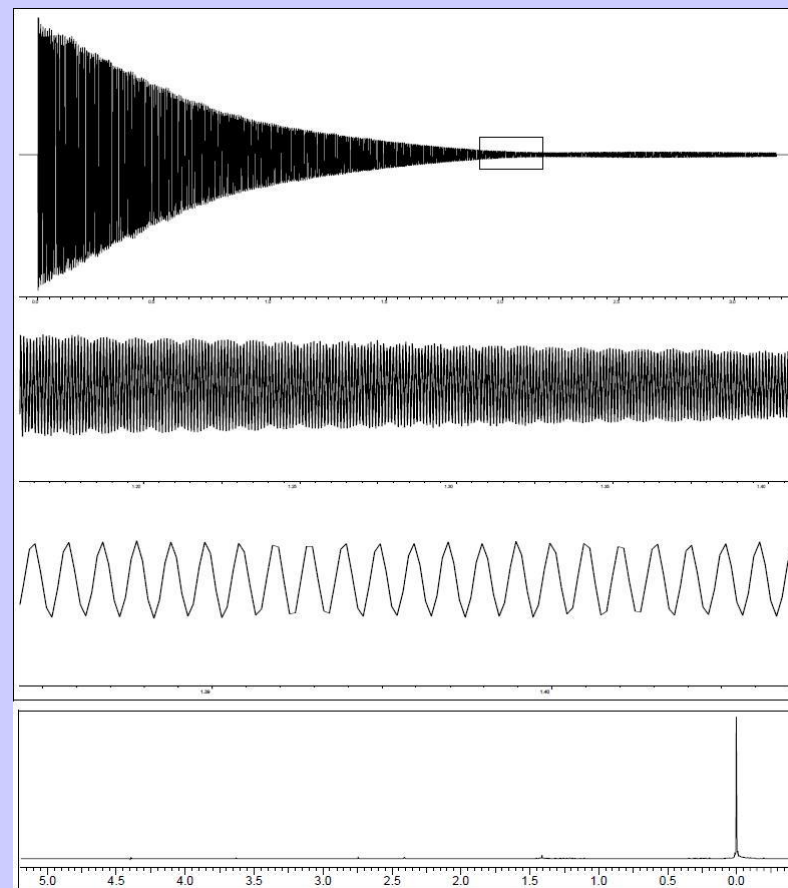


природное содержание изотопа ^{13}C 1,1%
природное содержание изотопа ^1H 99,98%

относительную чувствительность спектроскопии:

$$^{13}\text{C} : ^1\text{H} \sim 1 : 5700$$

ЯМР-спектрометр Jeol «JNM-ECA 600»



Картина, получаемая "на выходе" импульсного ЯМР-спектрометра и результат фурье-преобразования (спектр ^1H ЯМР). Объект - тетраметилсилан $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$.

Химический сдвиг

Гиромагнитное отношение ядра - величина постоянная, и в идеальном случае при регистрации протонного спектра ЯМР мы бы наблюдали единственный сигнал. Однако в реальных молекулах помимо наложенного внешнего поля на протоны воздействуют электромагнитные поля молекулы - проявляется т.н. диамагнитное экранирование. Напряженность результирующего поля $V_{\text{лок}}$:

$$V_{\text{лок}} = V_0(1-\sigma)$$

где σ – константа экранирования

Разность между резонансными частотами определенного сигнала и сигнала стандарта называют *химическим сдвигом* этого сигнала

Вводится единая **относительная** шкала (δ -шкала), выражаемая в миллионных долях - м.д., ppm (за 0 принимают сигнал протонов $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ (TMC), шкала растет в направлении ослабления поля, или увеличения частоты), и величина **относительного химического сдвига** δ определяется следующим выражением:

$$\delta = (V_{\text{в-во}} - V_{\text{эталон}})/V_{\text{прибора}}$$

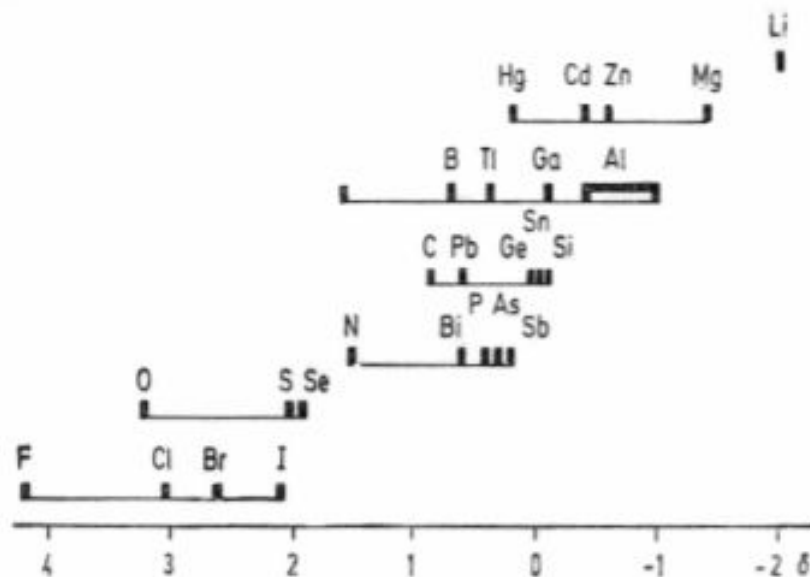
Химический сдвиг протонов молекулы зависит от их химического окружения - на его величину влияют следующие факторы:

1. Локальный вклад электронного облака вокруг протона $\sigma_{\text{лок}}$
2. Эффекты соседних атомов и групп, так-то:

Эти группы могут изменять электронную плотность у протона ($\sigma_{\text{лок}}$) (проявление *индуктивного* и *мезомерного эффектов* заместителей).

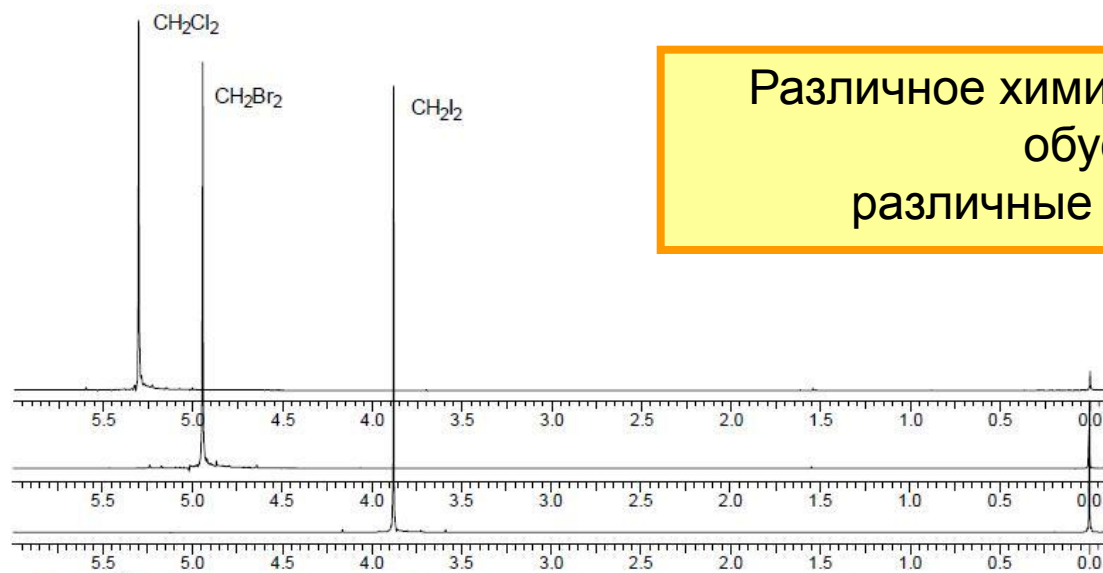
Вызванная B_0 циркуляция электронов в этих атомах и группах порождает возникновение вторичных магнитных полей, изменяющих поле $B_{\text{лок}}$.

Пример влияния индуктивного эффекта: с увеличением электроотрицательности заместителей сигналы протонов сдвигаются в область слабых полей (высоких частот). Ниже приведен ряд характерных примеров.



Химические сдвиги метильных производных ряда элементов [3].

Различное химическое окружение ядер
обуславливает
различные химические сдвиги

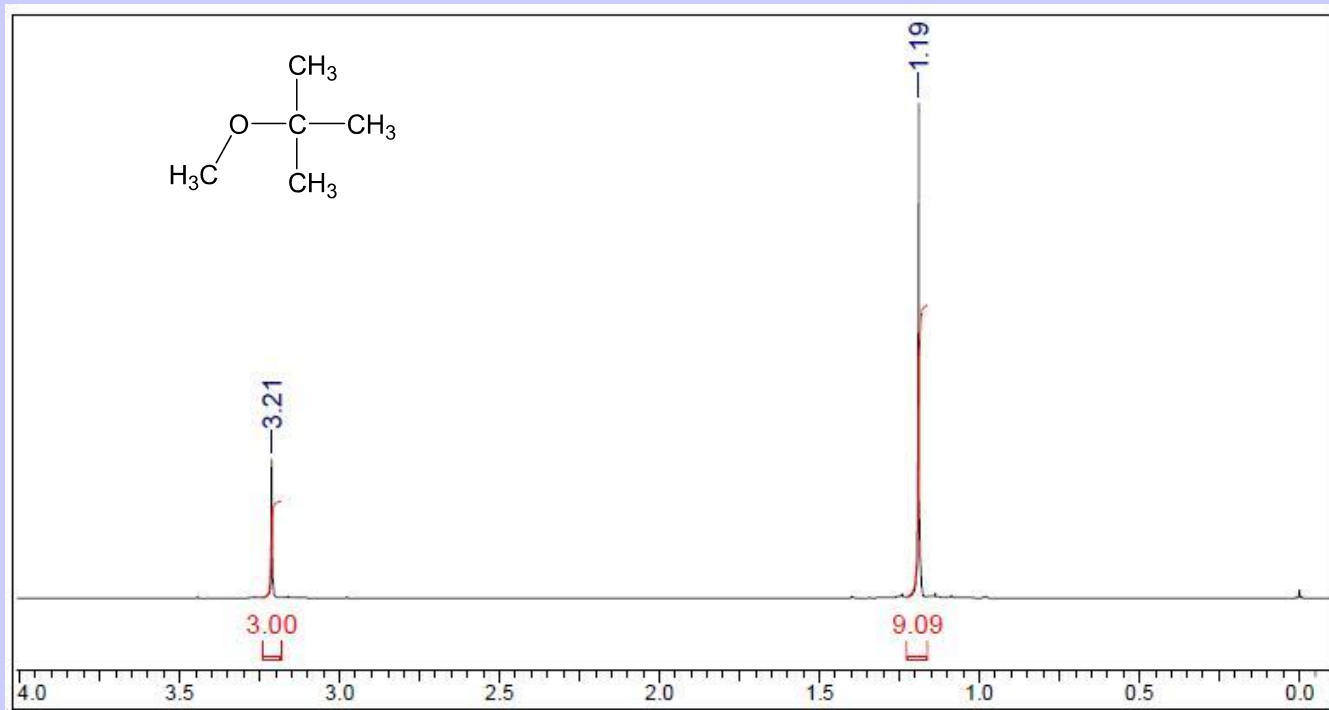


Спектры ^1H ЯМР соединений CH_2Hal_2 .

Области ПМР спектра (м.д.)

Протоны при ненасыщенны х С-атомах, связанных с кислородом: альдегиды	Протоны при ненасыщенны х С-атомах: бензол, ароматика	Протоны при ненасыщенных С-атомах: алкены	Протоны групп: CH_3 CH_2 CH рядом с кислородом	Протоны групп: CH_3 CH_2 CH не рядом с кислородом	
10.5	8.5	6.5	4.5	3.0	0

Интенсивность каждого сигнала (площадь соответствующего пика) пропорциональна числу протонов каждого типа (их называют эквивалентными)

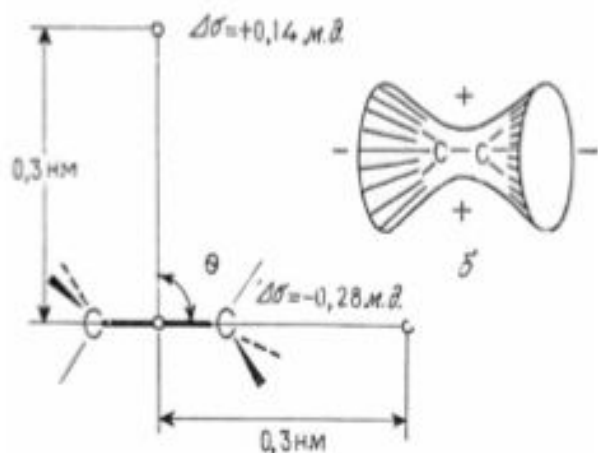


Протоны с одинаковым химическим сдвигом магнитно-эквивалентны, или *изохронны*

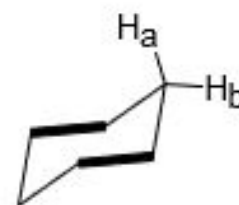
Протоны, химические сдвиги которых различны, магнитно-неэквивалентны, или *анизохронны*

Помимо индуктивного и мезомерного эффектов соседних атомов и групп, на величину химического сдвига могут кардинально влиять и факторы, обусловленные циркуляцией электронов в заместителях. Из-за взаимодействия электронных облаков функциональных групп с полем B_0 возникают т.н. области экранирования и дезэкранирования.

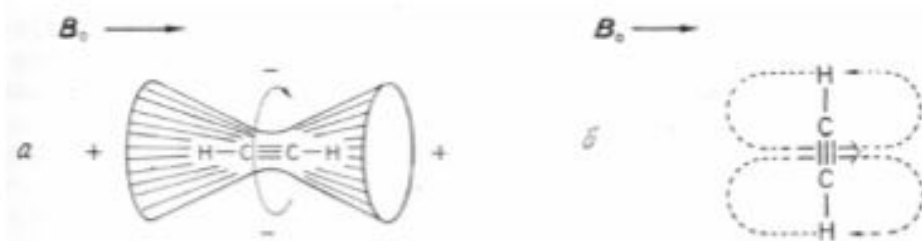
Так, для простой связи C-C наблюдается следующая картина ("+" - область экранирования, "-" - область дезэкранирования):



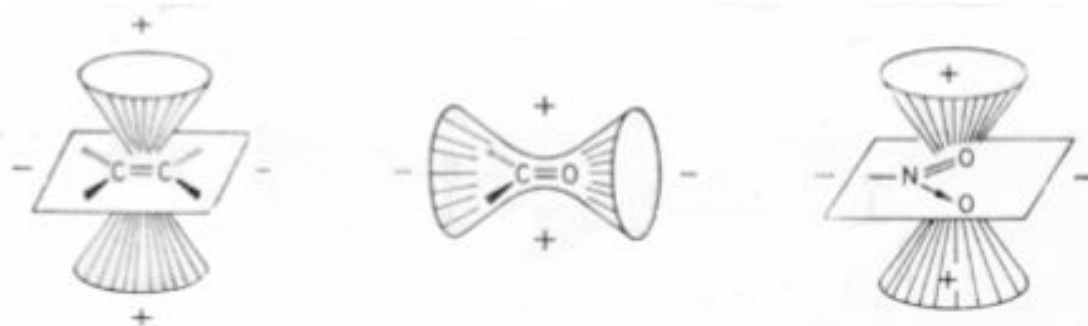
Это влияние проявляется, например, в спектре циклогексана. При низких температурах удается различить сигналы аксиальных и экваториальных протонов, причем сигнал аксиального протона расположен на 0.5 м.д. правее (более экранирован), чем сигнал экваториального протона.



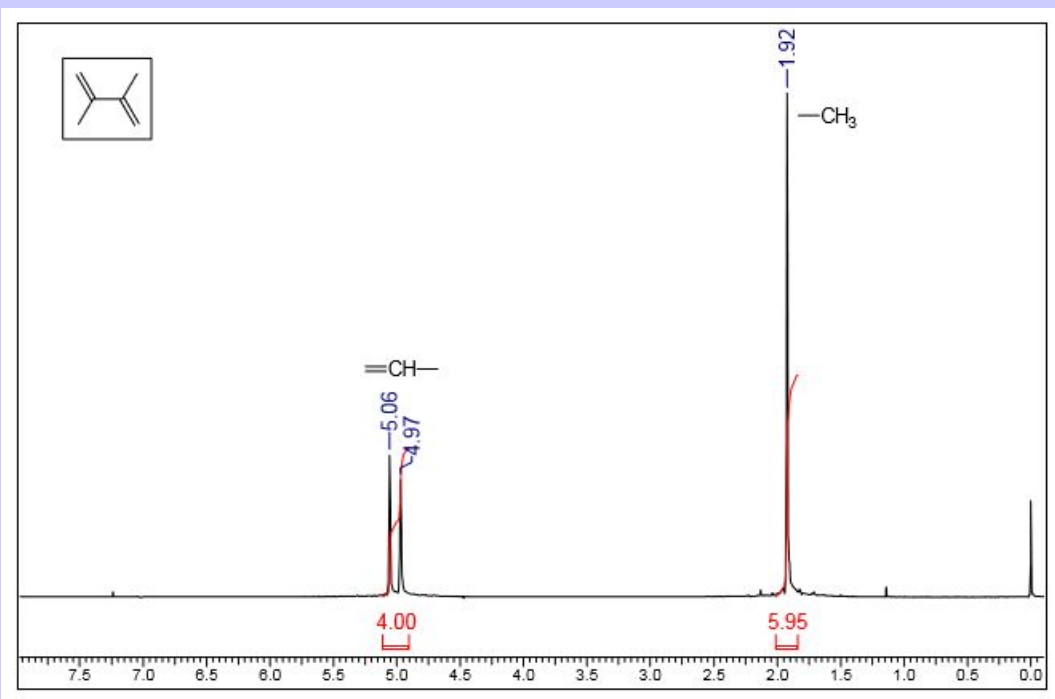
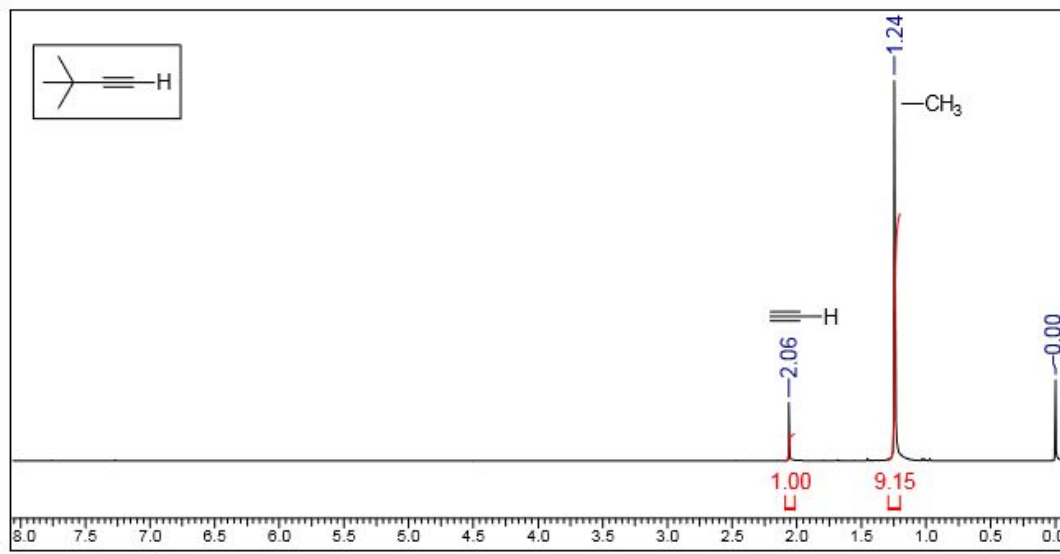
В алкинах сигналы протонов $C\equiv CH$ расположены при ~ 3 м.д. В то же время в алкенах сигналы винильных протонов $-CH=$ расположены в области 5-6 м.д., т.е. протоны, связанные с *менее* электроотрицательным атомом (sp^2 -гибридизованным), оказываются *более* дезэкранированными. Для объяснения этого факта также привлекается понятие об областях экранирования. В алкинах "в конусе" $C\equiv C$ находится область экранирования:



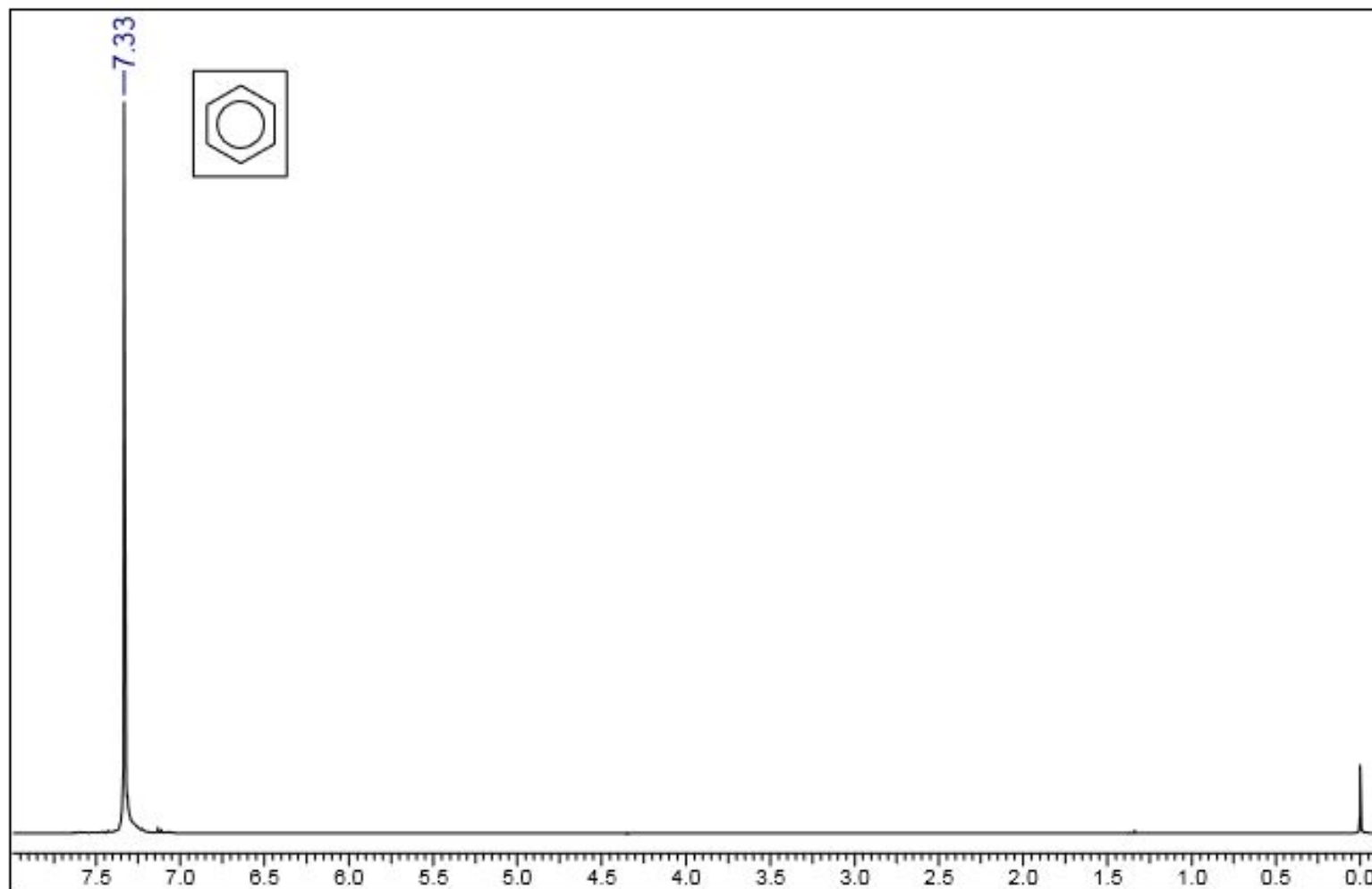
Напротив, в алкенах и карбонильных соединениях (и вообще, в случае sp^2 -гибридизованного атома C) в плоскости sp^2 -гибридизованной системы расположена область дезэкранирования:



Характерные примеры спектров:



Очень важным эффектом, влияющим на величину химического сдвига, является принадлежность соответствующего протона к ароматической системе: как правило, такие протоны сильно дезэкранированы, например:



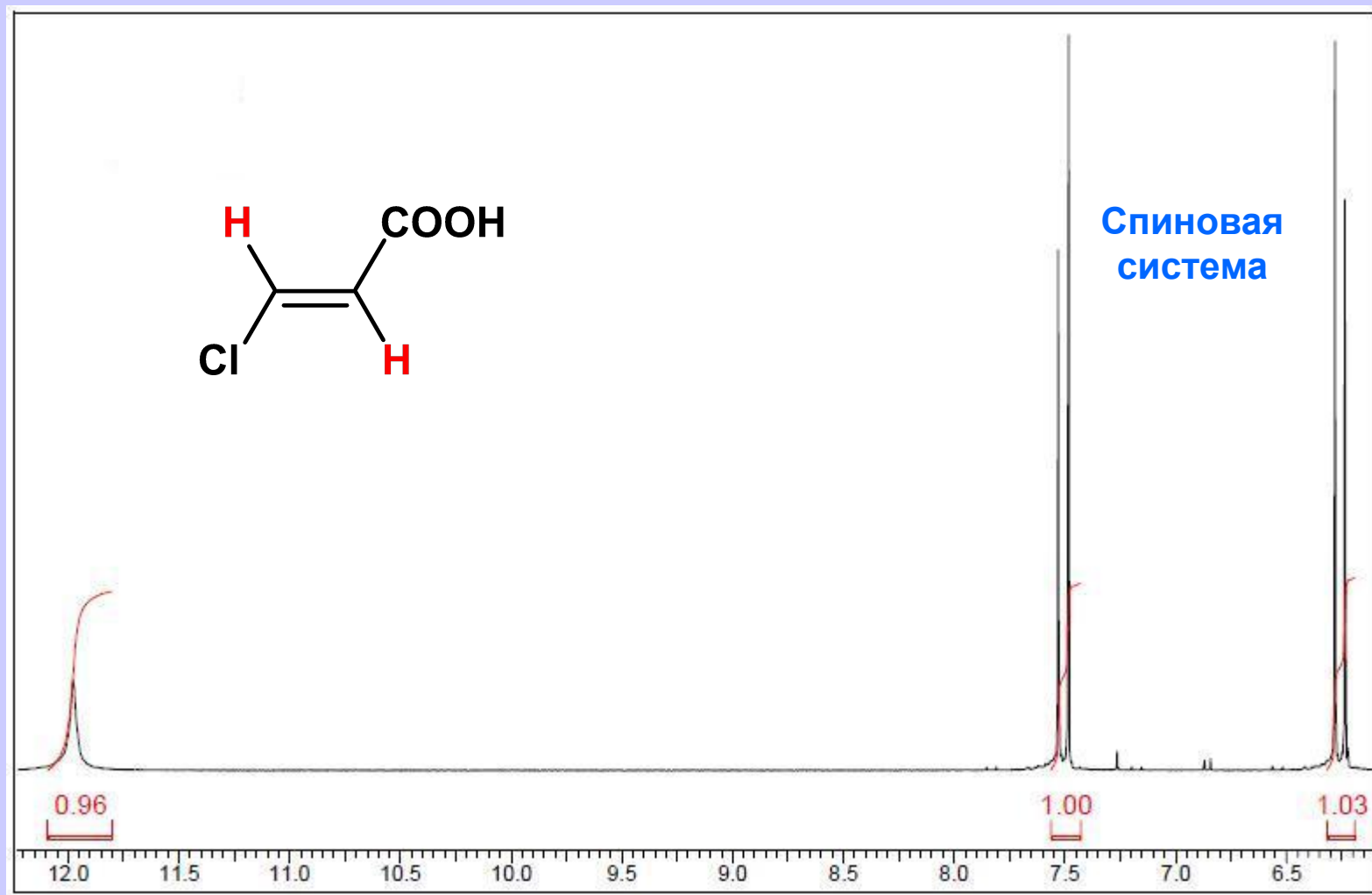
^1H ЯМР спектр бензола (если в диметилбутadiене сигналы $-\text{CH}=\text{}$ расположены при ~ 5 м.д., в бензоле их хим. сдвиг равен 7.33 м.д.)

Для проведения анализа используются дейтерированные растворители

Выбор растворителя определяется растворимостью анализируемого вещества и наиболее полным разделением сигналов резонанса вещества и растворителя, если последний содержит ядра, по которым проводится регистрация спектра ЯМР

Растворитель	¹ H ЯМР		¹³ C ЯМР	
	Сдвиг	Мультиплетность	Сдвиг	Мультиплетность
вода - d ₂	4.82	1	-	-
метилен хлорид -d ₂	5.32	3	53.8	5
хлороформ - d	7.27	1	77.0	3
бензол - d ₆	7.16	1	127.7	3
толуол - d ₃	7.09-6.97	Группа с.	137.5	1
			128.9	3
			128.0	3
			125.2	3
ацетон - d ₆	2.05	5	20.4	7
			206.2	1
ДМСО - d ₅	2.50	5	29.8	7
			39.6	7
ацетонитрил -d ₃	1.94	1	118.1	1
			1.25	7

Спин-спиновое взаимодействие

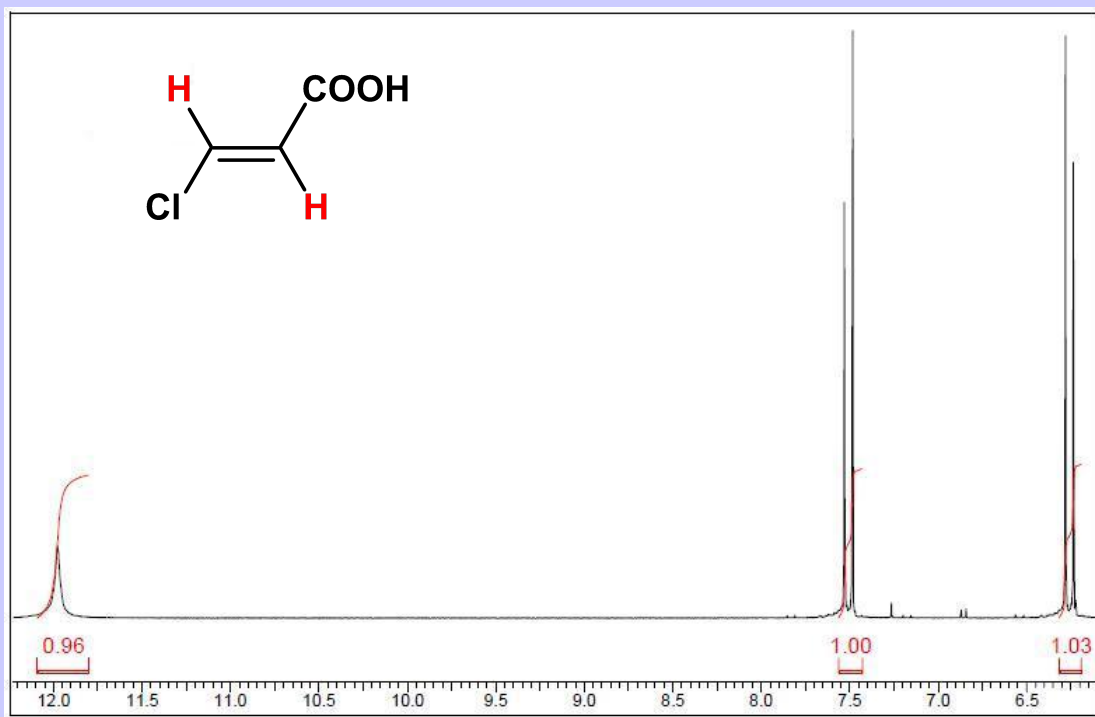


Принципы классификации спиновых систем

группы эквивалентных ядер обозначаются буквами латинского алфавита в порядке перехода из области слабых в область сильных полей.

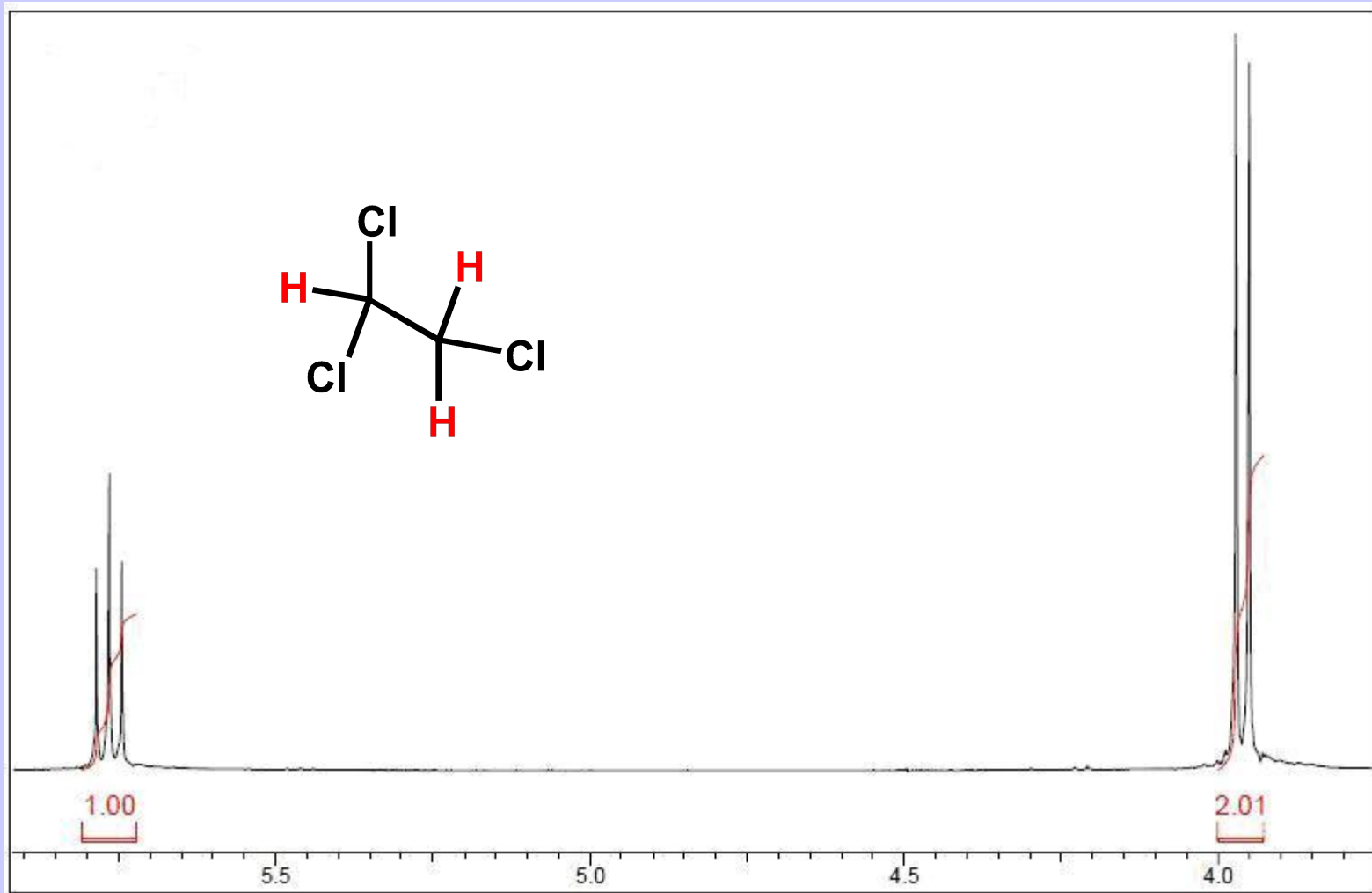
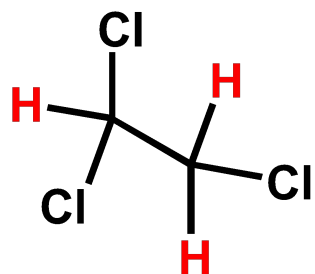
- Для состоящей из двух неэквивалентных ядер системы обозначение AX используется, если разница в химических сдвигах между этими ядрами значительна (несколько м.д.). В случае двух взаимодействующих ядер система относится к AX-типу, если интенсивности компонент каждого из дублетов одинаковы.**
- Если разница в хим. сдвигах наряду с рабочей частотой спектрометра мала, говорят о спиновой системе АВ.**
- Промежуточный вариант - спиновая система AM.**
- Если спиновую систему образуют не отдельные ядра, а группы эквивалентных ядер, их число в каждой группе обозначается подстрочными индексами, как в химических формулах (AB_2 , A_2X_3 , AMX и т.п.).**

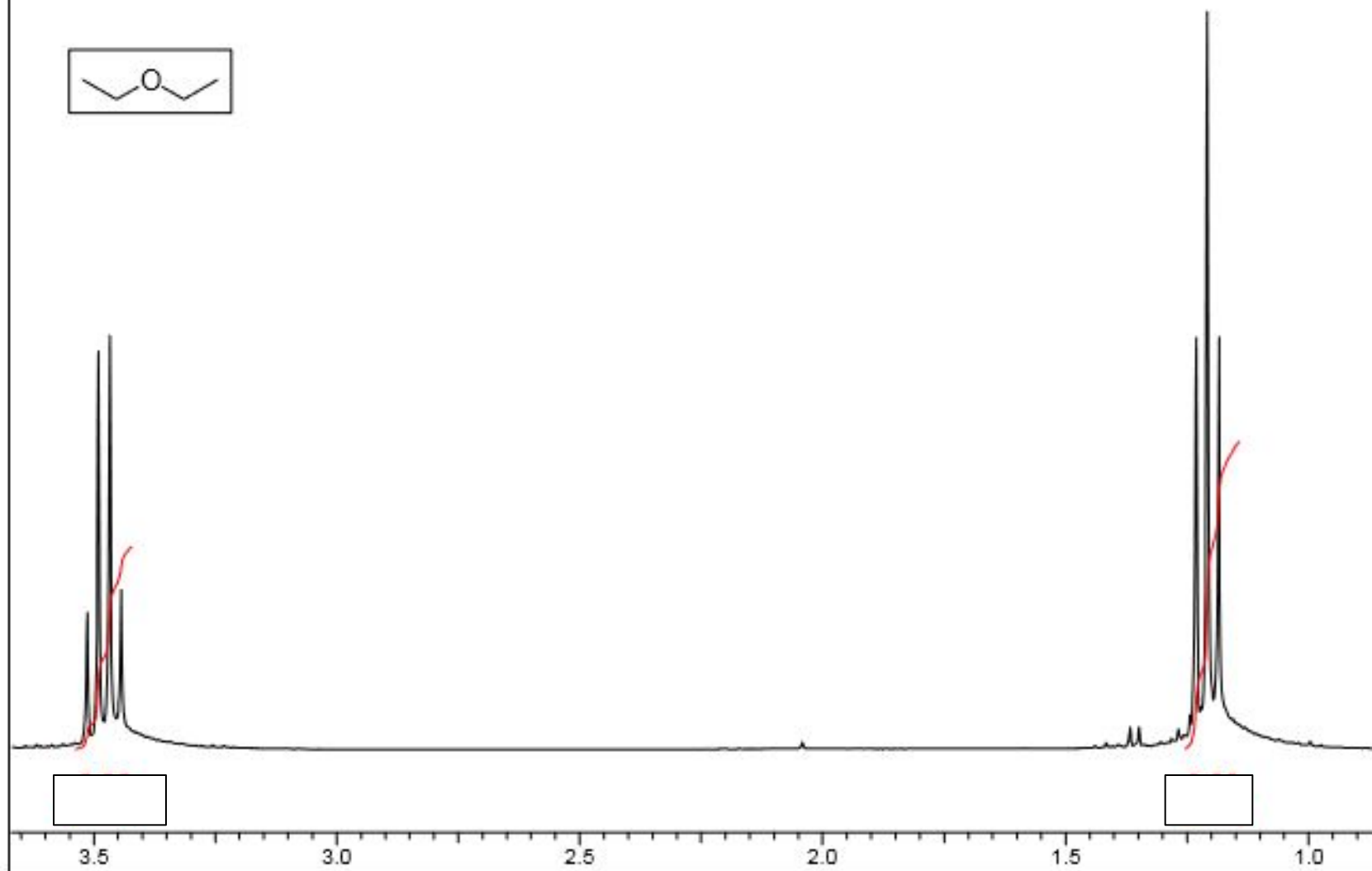
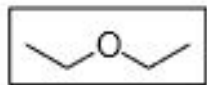
Спин-спиновое взаимодействие



Сигналы протонов могут быть расщеплены на несколько компонентов. Это вызвано *непрямым взаимодействием спинов неэквивалентных протонов*

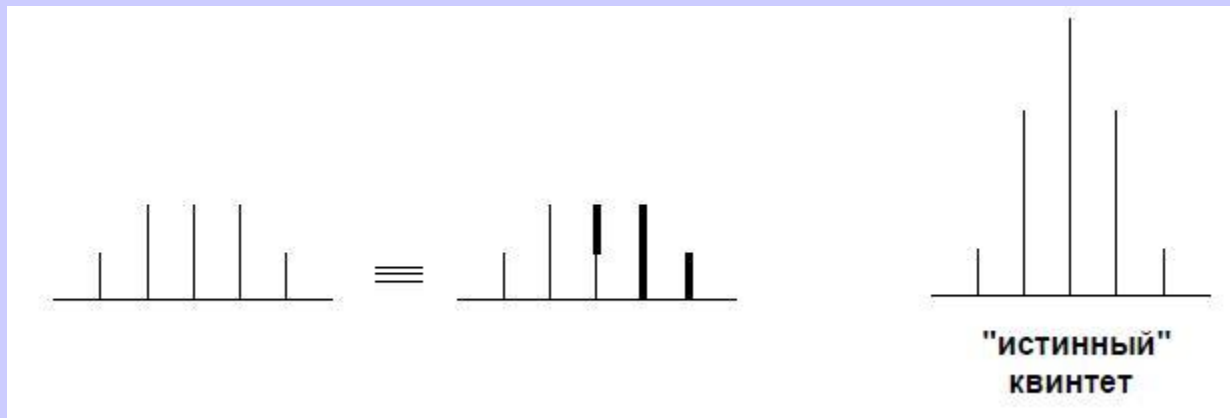
Общее правило $2nI+1$,
т.к. для протона $I = \frac{1}{2}$,
то мультиплетность равна $n + 1$.
Каждая линия любого мультиплета
будет отстоять от соседних линий
того же мультиплета на одно и то же
число герц





Треугольник Паскаля

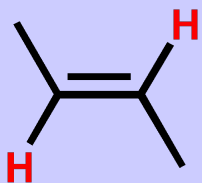
Число соседних ядер	Наблюдаемая интегральная интенсивность линий	Название и общепринятое обозначение мультиплета
0	1	синглет, s
1	1 1	дублет, d
2	1 2 1	триплет, t
3	1 3 3 1	квадруплет (квартет), q
4	1 4 6 4 1	квинтиплет (квинтет), p
5	1 5 10 10 5 1	секстиплет (секстет)
6	1 6 15 20 15 6 1	септиплет (септет)
7	1 7 21 35 35 21 7 1	октиплет (октет)



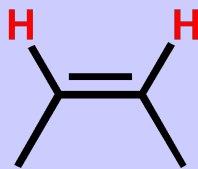
Константа спин-спинового взаимодействия (КССВ)

Расстояние между пиками дублетов, триплетов, квартетов, измеренное в герцах, называют *константой спин-спинового взаимодействия*. Обозначают буквой **J**.

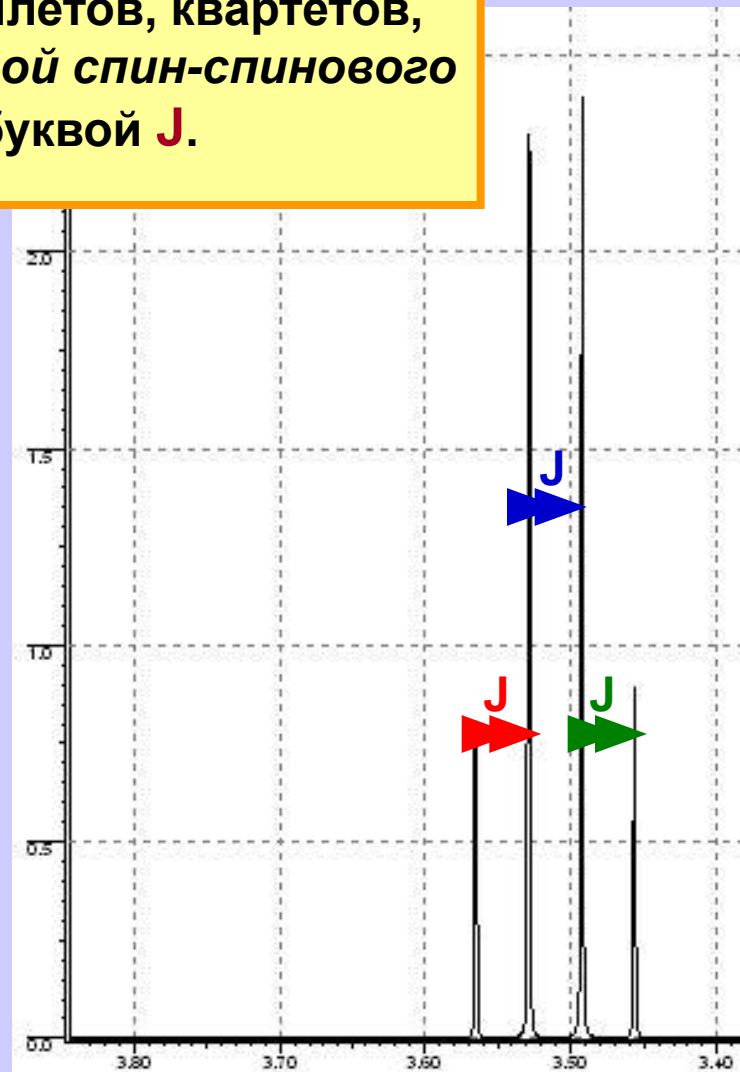
Спектроскопия ПМР является незаменимым методом для однозначного определения цис- и транс-изомеров олефинов, т.к. в этом случае значения $J_{\text{транс}}$ и $J_{\text{цис}}$ существенно различаются.



$J = 13-18$ Гц



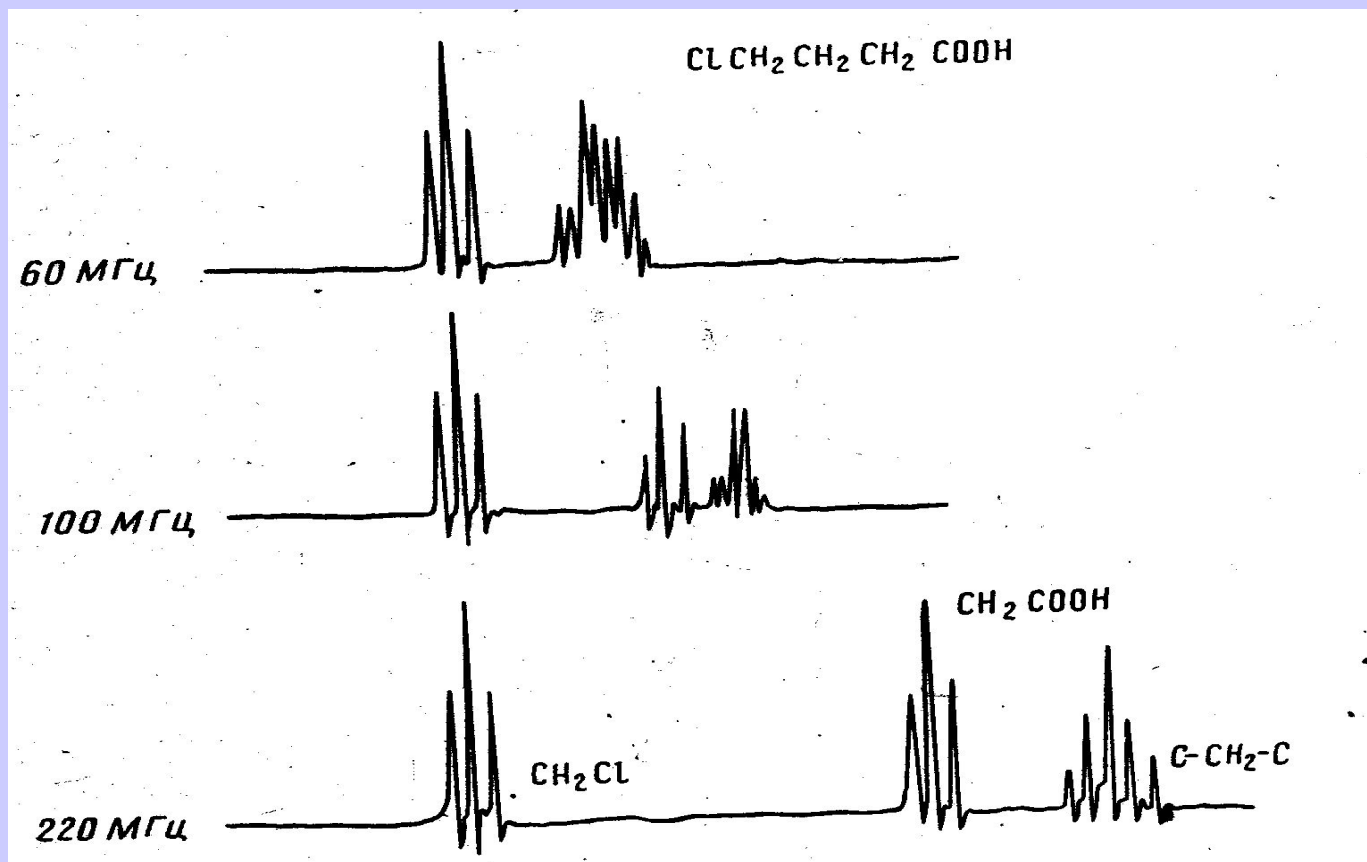
$J = 7-12$ Гц



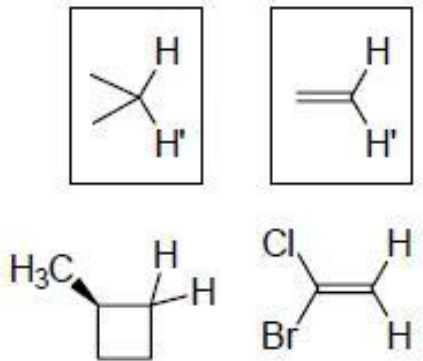
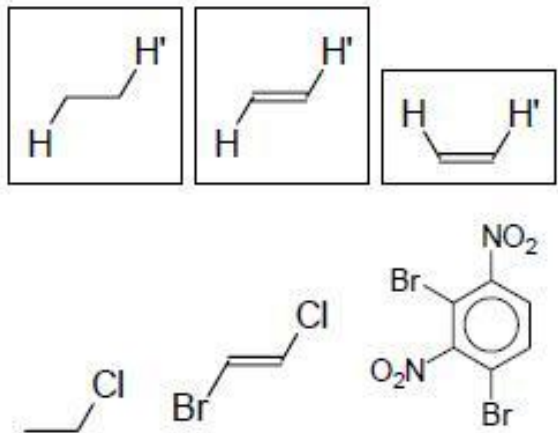
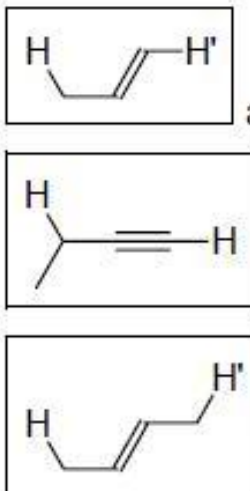
Подавление спин-спинового взаимодействия (упрощение сложных спектров)

Превращение сложного спектра в спектр первого порядка может быть достигнуто увеличением соотношения $(\delta H_A - \delta H_B)/J_{AB}$

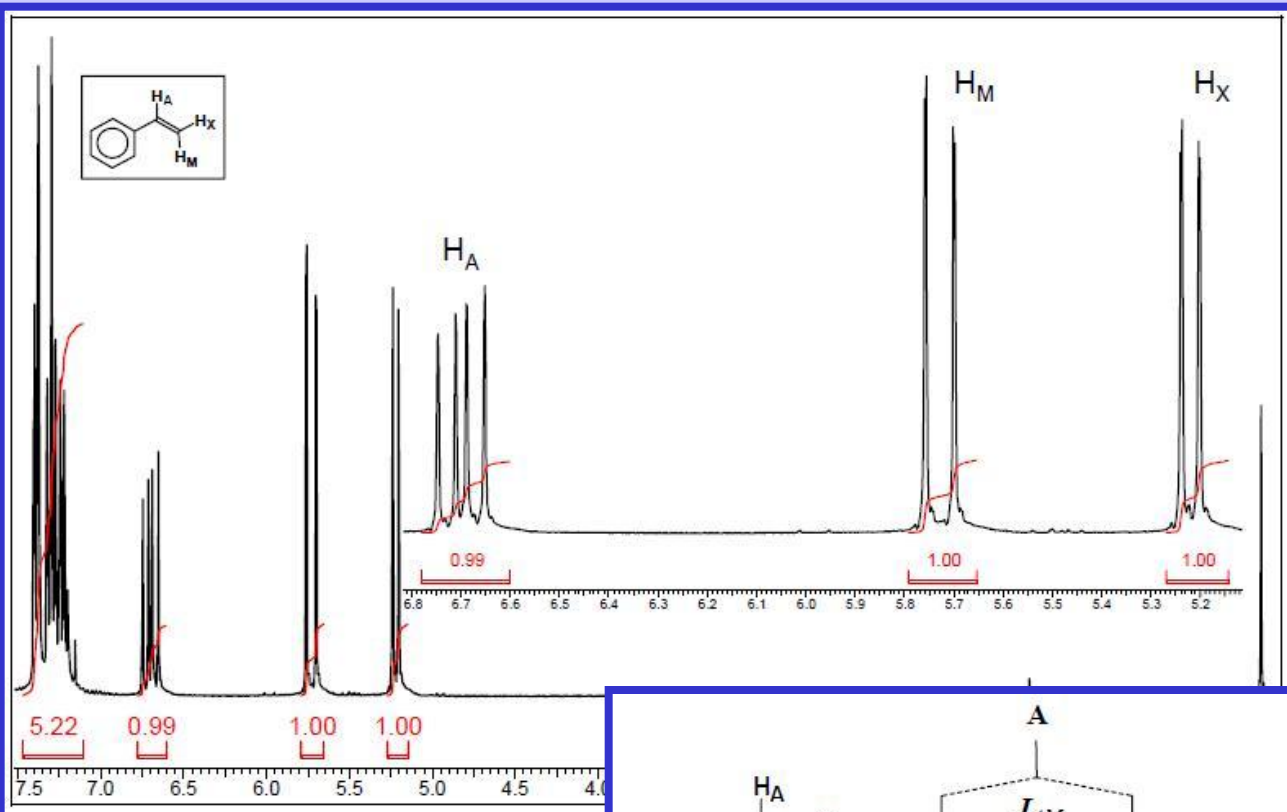
Возрастание
рабочей частоты
прибора
увеличивает
расстояние между
сигналами,
сохраняя
неизменным
константы спин-
спинового
взаимодействия



Виды спин-спиновых взаимодействий

Геминальное спин-спиновое взаимодействие (2J)	Вицинальное спин-спиновое взаимодействие (3J)	Дальние спин-спиновые взаимодействия ($^4J, ^5J$)
		 <p>аллильное</p> <p>пропаргильное</p> <p>гомоаллильное</p> <p>дальние взаимодействия в ароматических соединениях</p>

Трехкомпонентные системы

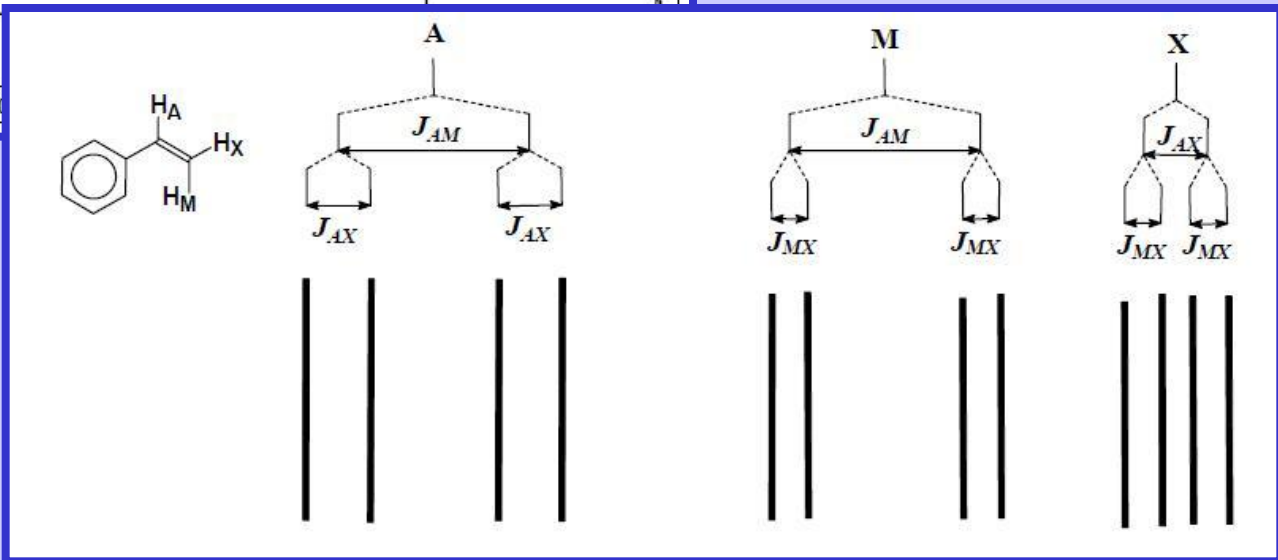


Схематичное изображение возникновения спектральных линий системы AMX (на примере винильной группы стирола).

$$J_{MX} = 1.1 \text{ Гц}$$

$$J_{AX} = 11.3 \text{ Гц}$$

$$J_{AM} = 18.0 \text{ Гц}$$



Спектроскопия ядерного магнитного резонанса ядер ^{13}C

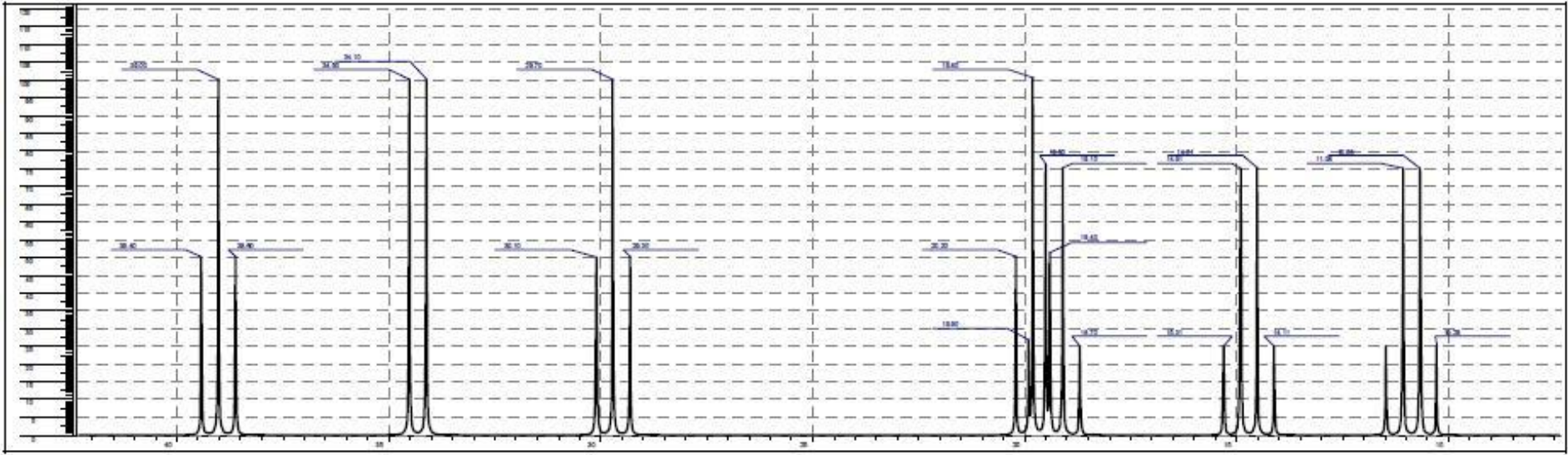
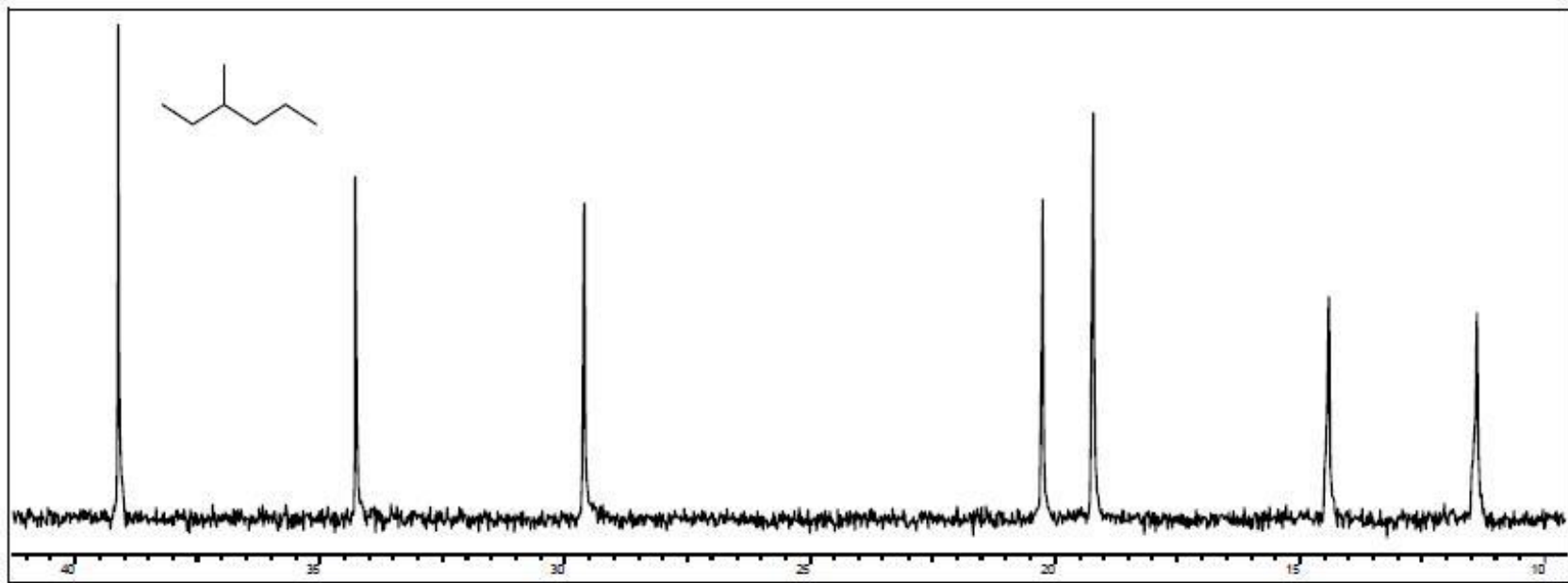
Изотоп	Естественное содержание, %	Для проведения эксперимента ЯМР ^{13}C используются дейтерированные растворители
^1H	99.98	
^{13}C	1.1	Концентрация исследуемых растворов: 100мг вещества в 2 мл растворителя

Сигналы ЯМР ^{13}C наблюдают в виде одиночных пиков, для этого подавляют спин-спиновое расщепление с протонами

Химические сдвиги измеряют в м.д., по отношению к сигналу ТМС. При обычных условиях съемки спектров ЯМР ^{13}C площади сигналов не обязательно пропорциональны числу идентичных ядер ^{13}C

Сигналы четвертичных атомов углерода менее интенсивны, чем сигналы атомов, связанных с атомами водорода

Общие положения спектроскопии ПМР справедливы и для углеродного магнитного резонанса



Ядерный эффект Оверхаузера (ОЯЭ, NOE)

принципиальное отличие ^{13}C спектров ЯМР от спектров ^1H

Принцип: если два магнитных ядра расположены в пространстве рядом друг с другом, облучение одного из них с его резонансной частотой вызывает увеличение интенсивности резонанса соседнего ядра.

Таким образом происходит увеличение интенсивности сигналов атомов углерода, непосредственно связанных с протонами.

Экспериментальные аспекты спектроскопии ЯМР

Ампулы – тонкостенные трубки из тугоплавкого стекла с очень *точно выдержанными по всей длине диаметром и толщиной стенок*.

Существует ряд достаточно очевидных обязательных правил:

- ампула должна быть *чистой*. Не допускается наличие как химических, так и механических примесей как на внутренних, так и на наружных стенках ампулы.
- при приготовлении образца необходимо следить за тем, чтобы в ампулу был помещен *истинный раствор* исследуемого вещества (во многих случаях для получения спектров высокого разрешения используется тщательное фильтрование или центрифугирование образцов).
- в зависимости от того, какие задачи ставятся при регистрации спектра, при приготовлении образца оценивается *необходимая концентрация исследуемого соединения*. Так, для регистрации спектров ^1H ЯМР вещества с небольшой молекулярной массой (до 500) вполне достаточно 20 мг. При регистрации спектров ^{13}C ЯМР рекомендуется брать большие навески (50-100 мг).

- дейтерированный *растворитель* выбирается исходя из следующих критериев:
 - ◇ растворимости в нем исследуемого соединения;
 - ◇ желательно, чтобы сигналы остаточных протонов дейтерированного растворителя не перекрывались с сигналами исследуемого соединения;
 - ◇ стоимости растворителя;
 - ◇ возможности сопоставления спектра исследуемого соединения со спектрами из электронных библиотек.
- для определения химических сдвигов в образец необходимо добавлять стандарт. Как и в случае с D-растворителями, сигнал стандарта не должен перекрываться с сигналами исследуемого вещества. Традиционно стандартом является тетраметилсилан, сигнал которого (0 м.д.) не перекрывается с сигналами большинства органических соединений.

Выбор растворителя и стандарта определяется не только необходимостью отсутствия наложения их сигналов на сигналы исследуемого соединения. Необходимо учитывать, что растворитель может взаимодействовать как с веществом, так и со стандартом.

Основные достоинства метода ЯМР

- **Высокая разрешающая способность**
- **Возможность вести количественный учет (подсчет) резонирующих ядер. Это открывает возможности для количественного анализа вещества.**
- **Высочайшая точность и прецизионность**
- **Простота пробоподготовки**
- **Экспрессность**

Спасибо за внимание!