

Θεοδ. Μαυρομούστακος
Ανδρέας Τζάνης
Γεωργίου Σπυρούλια
Εμμανουήλ Μικρός

Αντωνίου Κολοκούρη
Κωνσταντίνου Παπακωνσταντίνου
Ιωάννη Γεροθανάση
Ιωάννη Ματσούκας

Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός



Θ. Μαυρομούστακος, Α.
Τζάκος, Γ. Σπυρούλιας, Ε. Μικρός, Α.
Κολοκούρης, Κ. Παπακωνσταντίνου,
Ι. Γεροθανάσης, Ι. Ματσούκας.
Εκδόσεις Συμμετρία 2019.
ISBN 978-960-266-504-6.

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ΠΥΡΗΝΙΚΟΥ ΜΑΓΝΗΤΙΚΟΥ ΣΥΝΤΟΝΙΣΜΟΥ

(**N**UCLEAR **M**MAGNETIC **R**ESONANCE SPECTROSCOPY)

Κεφάλαιο 1^ο

Αρχές Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού

Δρ. Ανδρομάχη Τζάνη
atzan@chem.uoa.gr

20/02/2023

01 Εισαγωγή

02 Εφαρμογές

03 Βασικές Έννοιες/Αρχές
Φασματοσκοπίας NMR

04 Οργανολογία

05 Ερωτήσεις/Ασκήσεις



Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός

Ο Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός είναι μία μορφή **φασματοσκοπίας απορρόφησης**, όπου το δείγμα εντός ομογενούς, στατικού μαγνητικού πεδίου, απορροφά **ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία** σε συχνότητες που το χαρακτηρίζουν.

Η απορρόφηση είναι συνάρτηση του παρατηρούμενου πυρήνα.

Ένα **φάσμα NMR** αποτελείται από μία **πληθώρα κορυφών**, οι οποίες συντονίζονται σε **διαφορετικές συχνότητες**.

Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός

Οι παράμετροι που χρησιμοποιούνται στον Πυρηνικό Μαγνητικό Συντονισμό

- (α) Χημική μετατόπιση σε κλίμακα δ (ppm) \rightarrow πληροφορίες για χημικό περιβάλλον ενός μορίου
- (β) Χρόνοι αποδιεγερσης ή εφησυχασμού \rightarrow φυσικές ιδιότητες ενός μορίου (π.χ. συντελεστής διαχυσης)
- (γ) Σταθερά σύζευξης (J-coupling) \rightarrow εύρεση ευνοϊκών διαμορφώσεων των μορίων
- (δ) Συζεύξεις γειτνιαζόντων πυρήνων στο χώρο (NOE-Nuclear Overhauser Effect) \rightarrow χωρική εγγύτητα των διαφόρων πυρήνων
- (ε) Βαθμιδωτό πεδίο \rightarrow πληροφορίες για τον τοπογραφικό εντοπισμός μορίου (πχ μαγνητική τομογραφία)

Η χρήση των αναφερθέντων παραμέτρων στη τεχνική του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού οδηγεί σε πολλές εφαρμογές

Εφαρμογές NMR

1. Ταυτοποίηση δομής οργανικών ενώσεων

- Συνθετική Οργανική Χημεία
- Χημεία Φυσικών προϊόντων

3. Προσδιορισμός 3D δομής

- Πρωτεΐνες
- DNA, RNA
- Σύμπλοκα πρωτεΐνη/DNA, πρωτεΐνη/RNA
- Πολυσακχαρίτες

5. Σχεδιασμός φαρμάκων

Σχέση Δομής-Δραστικότητας (Structure-Activity Relationship)

7. Μεταβολομική

Προσδιορισμός μικρών μορίων σε βιολογικά υγρά

2. Μελέτη δυναμικών φαινομένων

- Χημική κινητική
- Χημική ισορροπία

4. Πολυμερή, συμπολυμερή & πολυμερικά μίγματα

- Σύσταση & δομή
- Συμβατότητα
- Δυναμική

6. Ιατρική

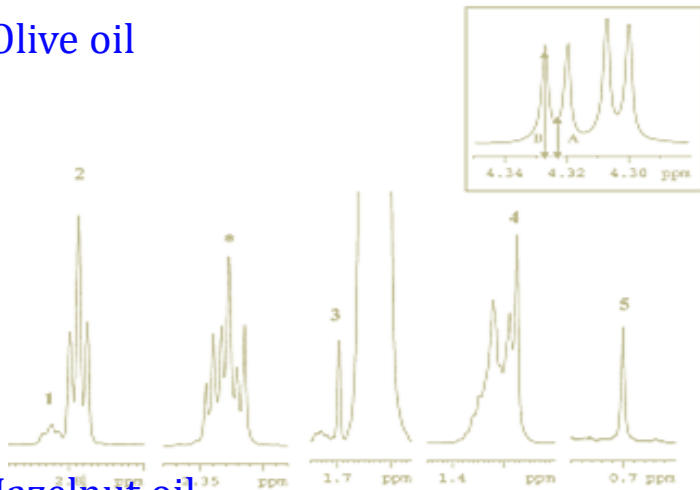
Μαγνητική Τομογραφία (MRI)



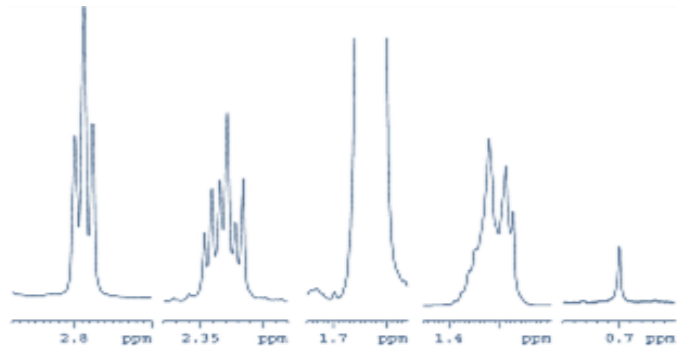
Εφαρμογές NMR

Χρήση Φασματοσκοπίας **NMR** για την ανίχνευση **Νοθείας**

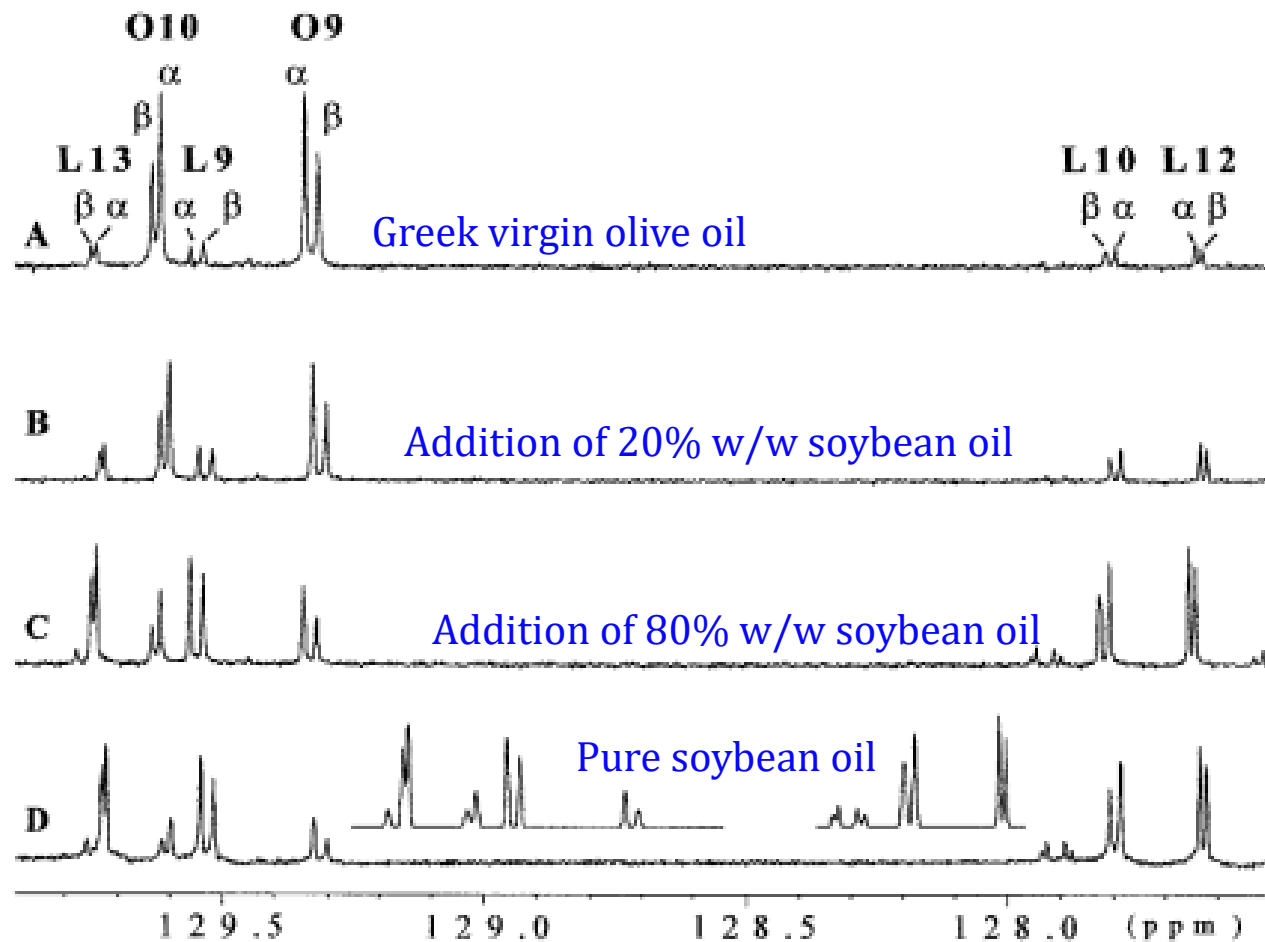
Olive oil



Hazelnut oil



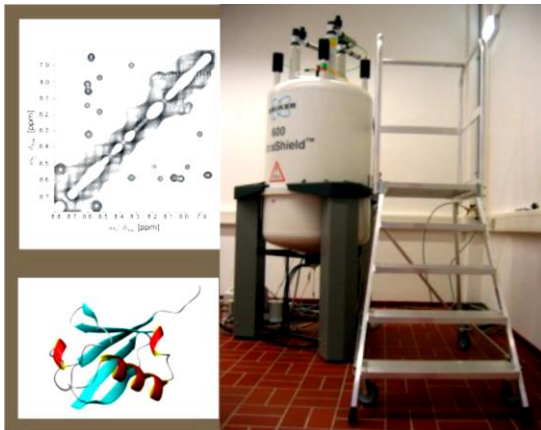
Mannina, L. ; D'Imperio, M. ; Capitani, D. ; Rezzi, S. ; Guillou, C. ; Mavromoustakos, T. ; Vilchez, M. D. M. ; Fernández, A. H. ; Thomas, F. ; Aparicio, R. 1H Nmr-Based Protocol For The Detection Of Adulterations Of Refined Olive Oil With Refined Hazelnut Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2009**, 57, 11550 - 11556.
<https://doi.org/10.1021/jf902426b>



T. Mavromoustakos, M. Zervou, G. Bonas, A. Kolocouris, and P. Petrakis, "A novel analytical method to detect adulteration of virgin olive oil by other oils," *Journal of the American Oil Chemists Society*, vol. 77, no. 4, pp. 405-411, 2000.

Οι διαφορετικές «όψεις» του NMR

Χημεία (φασματοσκοπία NMR)



Ένταση μαγνητικού πεδίου
7.05 - 23.5 Tesla

Συχνότητα συντονισμού
πυρήνων ^1H
300 MHz – 1 GHz

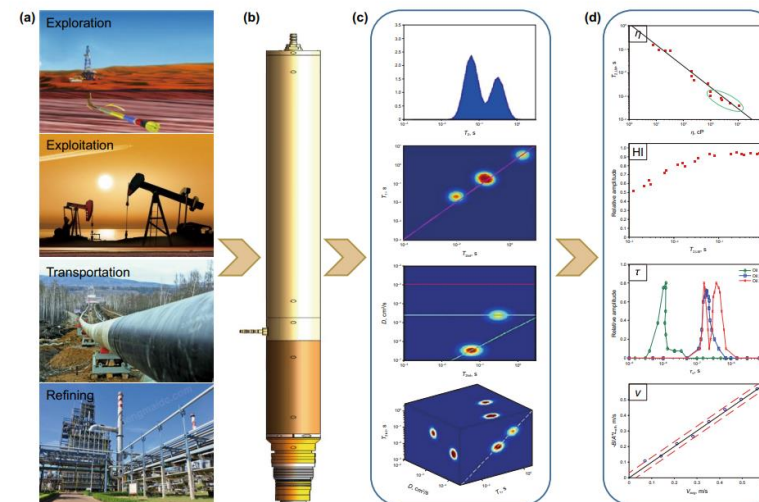
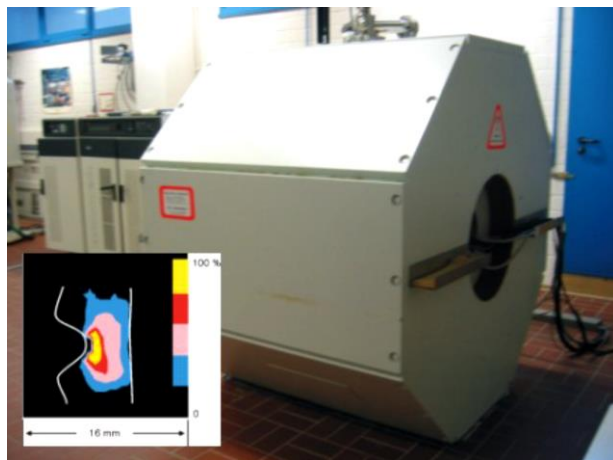
Ιατρική (Μαγνητική τομογραφία-Τομογραφία NMR)



Ένταση μαγνητικού πεδίου
0.2 - 3 Tesla

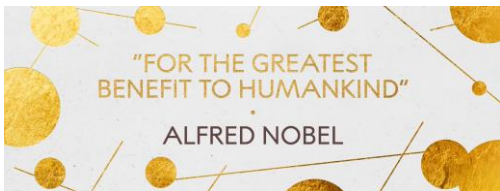
Συχνότητα συντονισμού
πυρήνων ^1H
8.5 MHz – 127,7 MHz

Επιστήμη Υλικών (φασματοσκοπία και τομογραφία NMR)

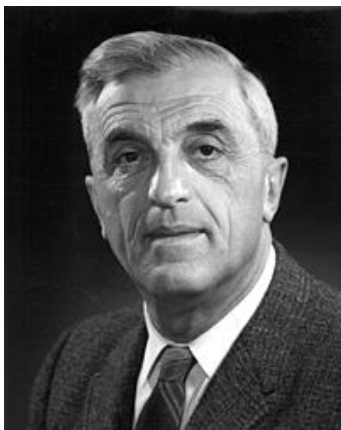


Πετρελαιοβιομηχανία (τεχνική 'χαλάρωσης spin' NMR)

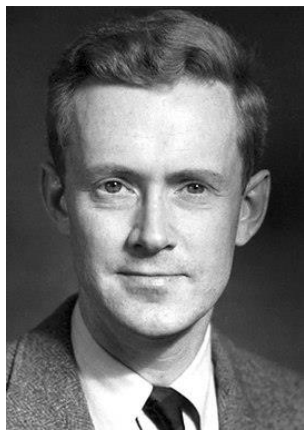
Liao, GZ., Chen, WL., Zong, FR. et al. NMR fluid analyzer applying to petroleum industry. Pet. Sci. 18, 54–91 (2021).



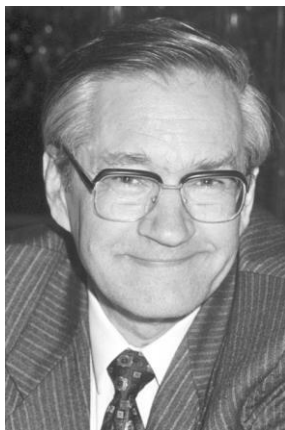
Βραβεία Nobel για το NMR



Felix Bloch
(Stanford, USA)
1905 – 1983
**Nobel Prize for
Physics 1952**



Edward Mills Purcell
(Harvard, USA)
1912 – 1997
**Nobel Prize for
Physics 1952**



Richard R. Ernst,
1933 - 2021
**Nobel Prize for
Chemistry 1991**

*Εφαρμοσέ
τους μετασχηματισμούς
Φουριέ για την βελτίωση της
ακρίβειας στην απεικόνιση
μαγνητικού συντονισμού*

*“Contribution to the
invention of Fourier
transform (FT) NMR”*



Kurt Wüthrich,
1938
**Nobel Prize for
Chemistry 2002**

*“For his development of
nuclear magnetic
resonance spectroscopy for
determining the three-
dimensional structure of
biological macromolecules
in solution”*



Paul Lauterbur
(University of
Illinois, USA),
1929 - 2007
**Nobel Prize for
Medicine 2003**

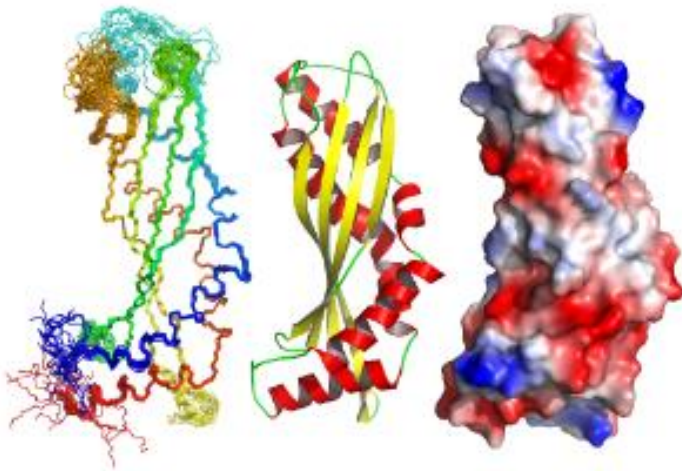
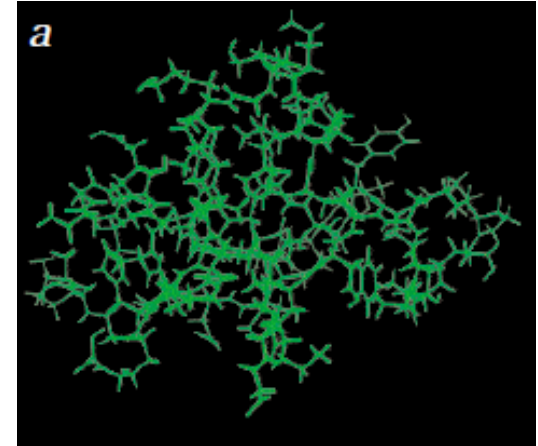
*“For their discoveries concerning
magnetic resonance imaging”*



Sir Peter
Mansfield (University
of Nottingham, UK)
1933
**Nobel Prize for
Medicine 2003**

Η αρχή του NMR βιομορίων

- **1984.** Τα σήματα NMR των βιομορίων (πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα) συνήθως αλληλοεπικαλύπτονται. Το 1984 έγινε για πρώτη φορά αποτίμηση του φάσματος μιας πρωτεΐνης 57 αμινοξέων.
- Αν και ήταν μικρή πρωτεΐνη αυτή η αποτίμηση έδειξε τη δυνατότητα να χρησιμοποιείται το NMR ως εναλλακτική τεχνική αντί της κρυσταλλογραφίας ακτίνων X για την ταυτοποίηση της δομής πρωτεϊνών σε διάλυμα.

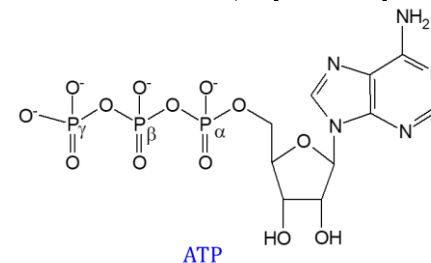


3D protein structure determined by NMR

School Of Molecular Biosciences

University of Glasgow

- **In vivo NMR** : Πραγματοποιήθηκαν μελέτες μεταβολισμού σε πειραματόζωα χρησιμοποιώντας τα σήματα του ^{31}P που υπάρχει σε ενδοκυττάρια μόρια όπως το ATP, ADP, φωσφοκρεατίνη και άλλους φωσφορικούς εστέρες.

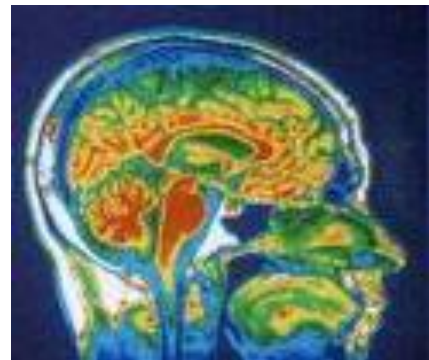


Η αρχή του NMR βιομορίων

Στα τέλη του **1970**, αναπτύχθηκε η **Μαγνητική Τομογραφία (Magnetic Resonance Imaging (MRI))** ως διακριτή και πολλά υποσχόμενη εφαρμογή του NMR.

Η μαγνητική τομογραφία στηρίζεται στην ανάλυση των μορίων νερού που υπάρχουν στους οργανισμούς. Τα σήματα αυτά επεξεργάζονται και παρέχουν εικόνες. Η μαγνητική τομογραφία αποτελεί σήμερα μία από τις σημαντικότερες μη επεμβατικές τεχνικές στην ιατρική.

Το **2003** οι πρωτοπόροι της μαγνητικής τομογραφίας, Paul Lauterbur και Peter Mansfield τιμήθηκαν με το βραβείο Nobel Ιατρικής και Φυσιολογίας.



Paul Lauterbur (University of Illinois, USA),
Nobel Prize for

Medicine 2003



Sir Peter Mansfield (University of Nottingham, UK)
Nobel Prize for

Medicine 2003

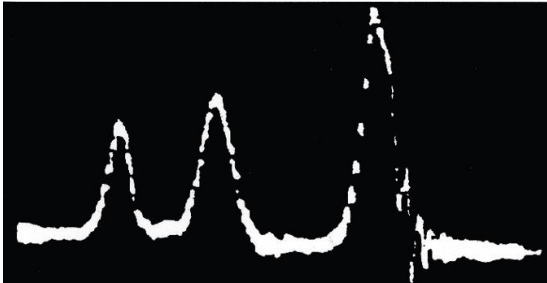
Ανάπτυξη τεχνολογίας και μεθοδολογιών



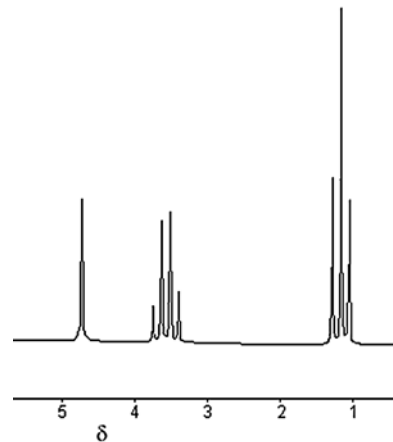
1949 Varian First commercially available NMR instrumentation

1952 First high resolution NMR spectrometer (**30 MHz**)

1958 60 MHz



Arnold, J.T., S.S. Dharmatti, and M.E. Packard,
J. Chem. Phys., : p. 507.



- Η αλματώδης ανάπτυξη των υπολογιστών και της τεχνολογίας ηλεκτρομαγνητών (**μέχρι ~1 GHz**) έχει οδηγήσει σε επέκταση των μεγεθών των πρωτεϊνών που μπορούν να αναλυθούν.
- Ανάπτυξη νέων εφαρμογών (τρόφιμα, υλικά, πολυμερή κλπ)

Ανάπτυξη τεχνολογίας και μεθοδολογιών

“The World's Most Powerful NMR Magnet Arrives at The Scripps Research Institute (TSRI)”

“The **900 MHz** is expected to be **40 to 50 percent more sensitive** (peak heights) and have **greater resolving power** (peak separations) than the **800 MHz** instrument. **The increased resolution will help separate peaks of two close chemical shifts that would normally overlap.**”

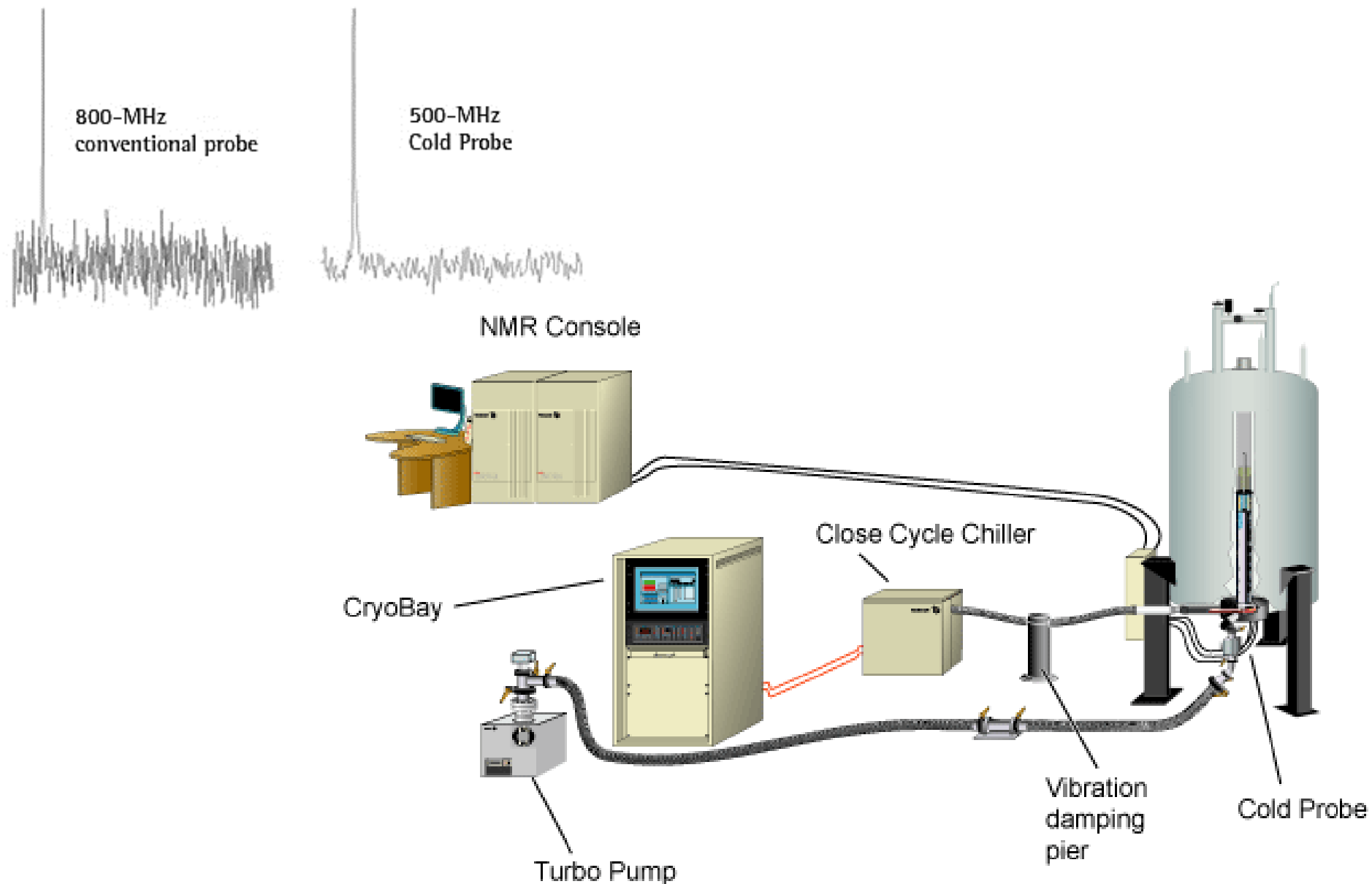
“The first thing we do will probably be to exploit this resolution to study systems that were not possible before,” says Dyson.

“It's rather a technological triumph”



Peter Wright,
Professor and Chair
of the Department of
Molecular Biology.

Ανάπτυξη τεχνολογίας και μεθοδολογιών



Κρυογενικοί Αισθητήρες

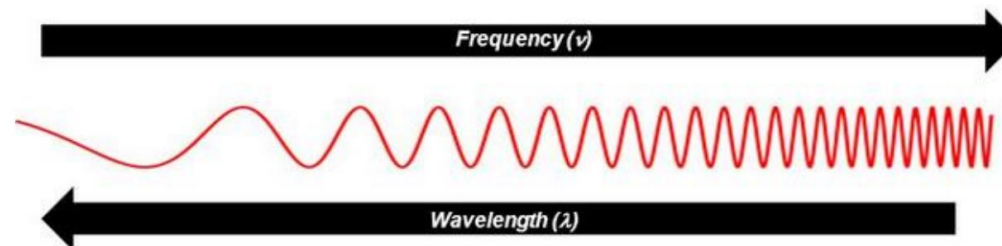
Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού

Φασματοσκοπία

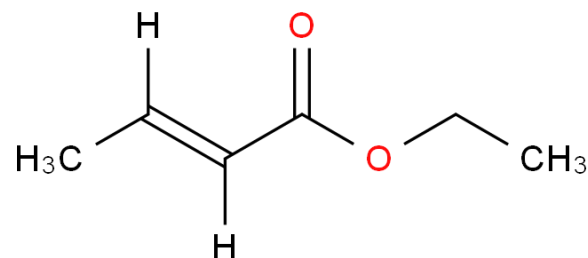
- ✓ Η μελέτη της μοριακής δομής μέσω της **απορρόφησης**, **εκπομπής** και **σκέδασης** του φωτός.
- ✓ Φως: η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία κάθε είδους (ορατό, υπεριώδες, υπέρυθρο, ραδιοκύματα).

Ανάλογα με τη **συχνότητα** ή το **μήκος κύματος** της ακτινοβολίας παρουσιάζονται διαφορετικού τύπου αλληλεπιδράσεις με την ύλη (τα μόρια).

Το **μήκος κύματος** και η **συχνότητα** είναι αντιστρόφως ανάλογα επομένως υψηλές συχνότητες σημαίνουν χαμηλότερο μήκος κύματος



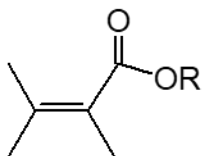
Σύγκριση μεθόδων Μοριακής Φασματοσκοπίας



trans-ethyl crotonate

Φασματοσκοπία ορατού-υπεριώδους (UV-Vis):

Απορρόφηση στα 208nm: α,β-ακόρεστο οξύ ή εστέρας



Φασματοσκοπία υπερύθρου (IR):

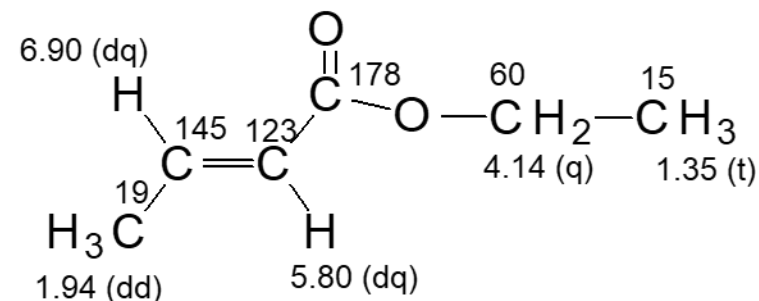
3050 cm^{-1} : C=C-H

2980-2910 cm^{-1} : alkyl groups: CH₃, CH₂

1710 cm^{-1} : α,β-unsaturated acid or ester .

1660 cm^{-1} : C=C

Φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR):



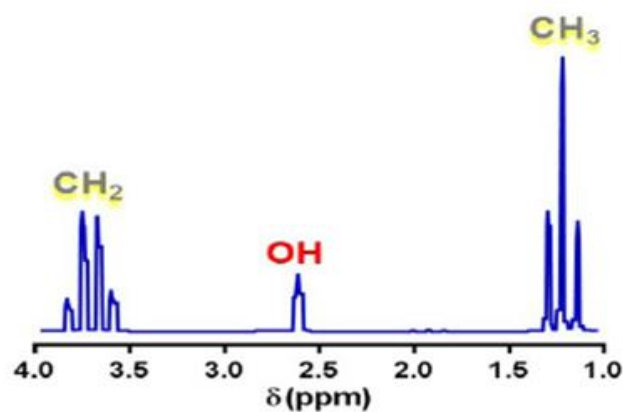
Χημική μετατόπιση, πολλαπλότητα, και ολοκλήρωση

Σύζευξη ^1H - ^1H και NOE

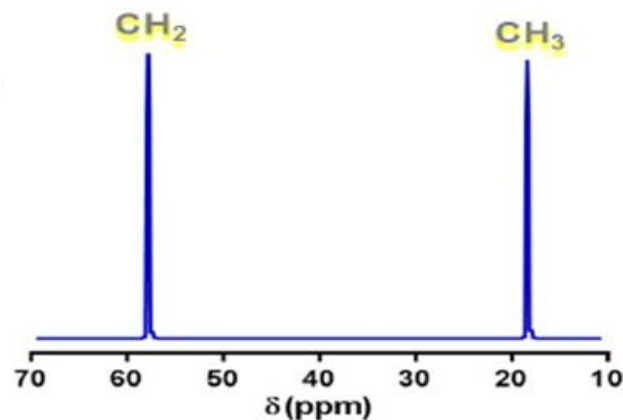
Φάσματα NMR

Μιας Διάστασης (1D)

Αιθανόλη $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$

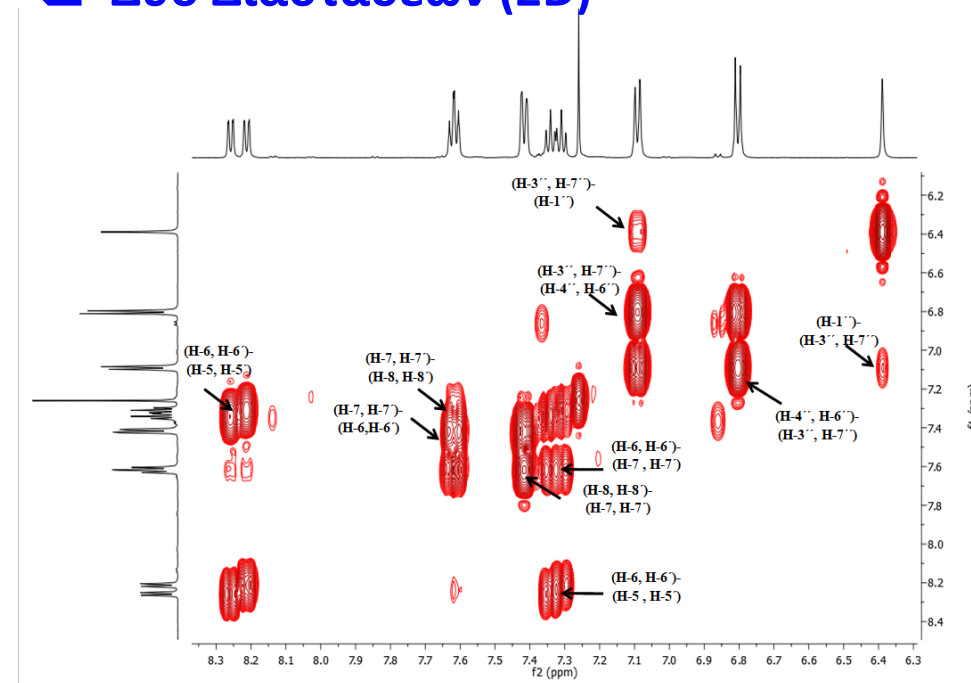


^1H NMR – Φάσμα Πρωτονίου



^{13}C NMR – Φάσμα Άνθρακα

Δύο Διαστάσεων (2D)



Ομοπυρηνικά Φάσματα

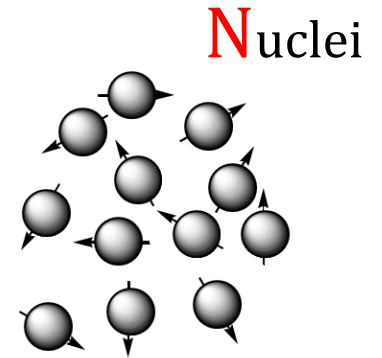
- COSY – COrrelated SpectroscopY
- NOESY - Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy

Ετεροπυρηνικά Φάσματα

- HSQC – Heteronuclear Single Quantum Coherence
- HMBC - Heteronuclear Multi-Bond Correlation

Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού

Πυρηνικός

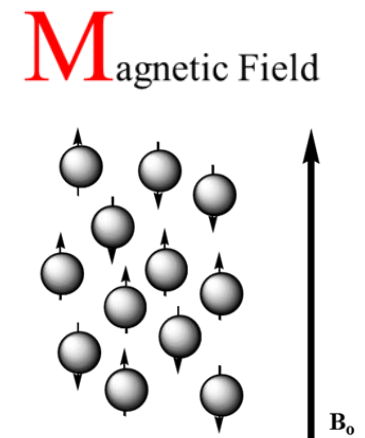


- ✓ Η μέθοδος αρχίζει με τη λέξη Πυρηνικός γιατί βασίζεται στην **ανίχνευση Πυρήνων με spin**.
- ✓ Πυρήνες με **ατομικό ή μαζικό αριθμό περιττό** → Ανίχνευση
 $^1\text{H}_1$, $^{13}\text{C}_6$, $^{15}\text{N}_7$, και $^{27}\text{Al}_{13}$
- ✓ Πυρήνες με **ζυγό** ατομικό και μαζικό αριθμό → Δεν ανιχνεύονται επειδή στερούνται αυτοστροφορμής
 $^{12}\text{C}_6$, $^{16}\text{O}_8$, και $^{56}\text{Fe}_{28}$

Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού

Μαγνητικός

- ✓ Η λήψη των φασμάτων γίνεται **εντός μαγνητικού πεδίου**.
- ✓ Ο φασματογράφος αποτελείται, από ένα μαγνήτη με μορφή σωληνοειδούς που περιέχει υπεραγώγιμο υλικό.
- ✓ Η **ένταση του πεδίου** προσδιορίζει και τη **διακριτικότητα** των φασμάτων, που λαμβάνονται.

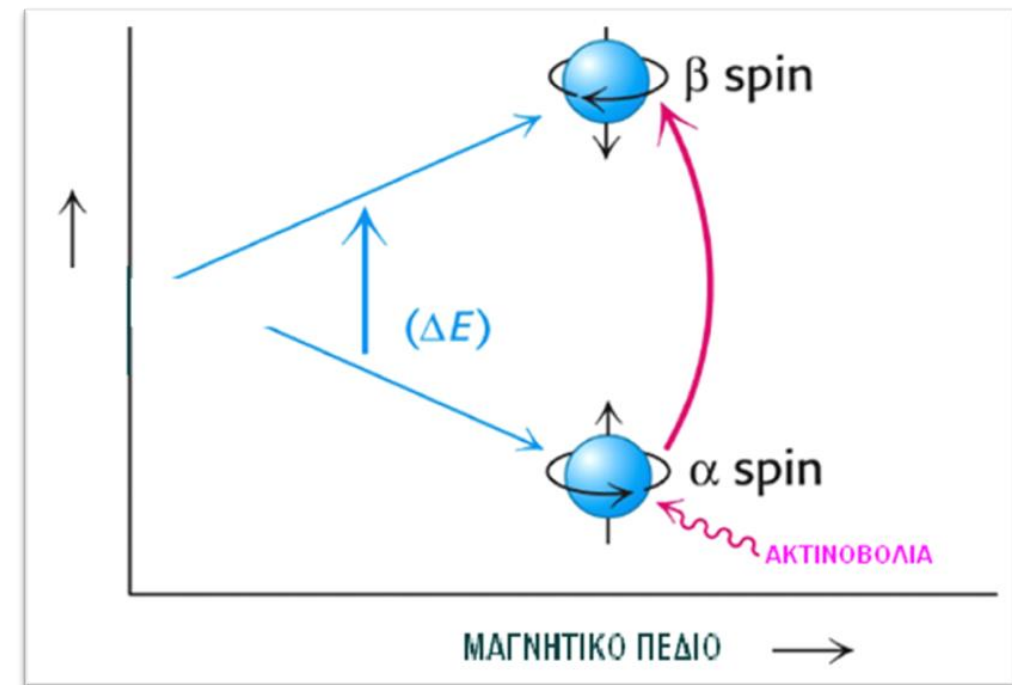


Φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού

Συντονισμός

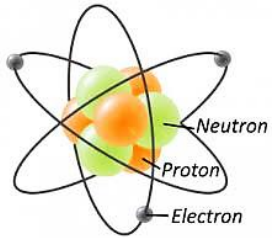
- ✓ Οι πυρήνες **διεγείρονται** με **απορρόφηση** ακτινοβολίας και μεταβαίνουν από την κατάσταση **spin χαμηλής ενέργειας** σε κατάσταση **spin υψηλότερης ενέργειας**.
- ✓ Κατά την **αποδιέγερση** (μετάβαση στην αρχική κατάσταση χαμηλής ενέργειας) **λαμβάνεται το σήμα**.
- ✓ Η **ενέργεια** που χρειάζεται για τη διέγερση των πυρήνων αντιστοιχεί σε συγκεκριμένη τιμή **συχνότητας** (συχνότητα συντονισμού) που εξαρτάται από την είναι τιμή της **ισχύος** του εφαρμοζόμενου πεδίου.

R_{esonance}



Βασικές Έννοιες

Πυρήνας



Z: Αριθμός των **Πρωτονίων** (Ατομικός Αριθμός)

N: Αριθμός των **Νετρονίων**

$$A = Z + N$$

Μαζικός Αριθμός = Αριθμός Πρωτονίων + Αριθμός Νετρονίων

- ✓ Το **spin** (**ιδιοστροφομή** γύρω από φανταστικό άξονα) είναι θεμελιώδης ιδιότητα της ύλης, όπως η μάζα ή το ηλεκτρικό φορτίο.
- ✓ Τα πρωτόνια, τα νετρόνια και τα ηλεκτρόνια έχουν spin

Κάθε ένα από αυτά τα σωματίδια, όταν είναι ανεξάρτητο (μη συζευγμένο), έχει $\text{spin} = 1/2$.

Άτομο δευτερίου: ^2H

1 πρωτόνιο	<i>spin</i> +1/2	} συνολικό πυρηνικό $\text{spin} = +1$
1 νετρόνιο	+1/2	
1 ηλεκτρόνιο	+1/2	} συνολικό ηλεκτρονιακό $\text{spin} = +1/2$

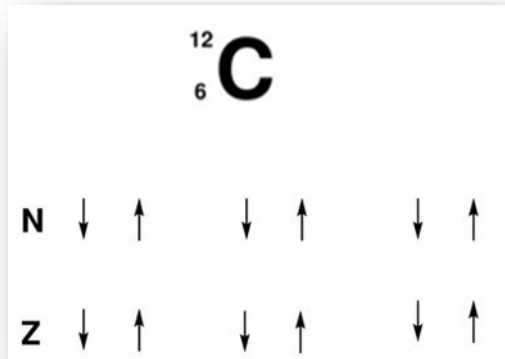
Τιμές κβαντικού αριθμού
πυρηνικού *spin*:
 $I = \frac{1}{2} \times n$ ($n = 1, 2, 3, \dots, 6$)

Το **spin** είναι αυτό που καθορίζει
αν θα εμφανιστεί το φαινόμενο
του **NMR** ή όχι.

Κβαντικός Αριθμός Πυρηνικού spin (*I*)

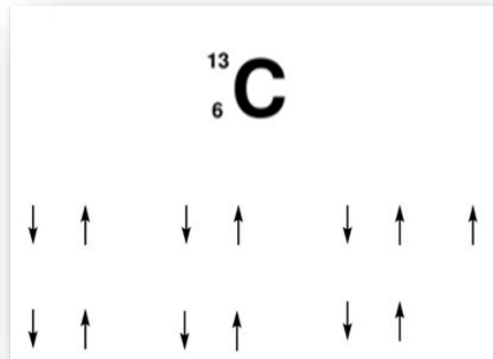
- ❑ **I**: Φυσική σταθερά χαρακτηριστική του ατόμου
- ❑ Για κάθε πυρήνα με **$I=0$** , ο αριθμός των καταστάσεων spin είναι **0**
- ❑ Για κάθε πυρήνα με **$I \neq 0$** , τότε οι καταστάσεις **spin** είναι **$2I+1$**

$$I = \frac{1}{2} \times n \quad (n = 1, 2, 3, \dots, 6)$$



Για το άτομο ^{12}C , $I=0$.

Συνεπώς, δεν υπάρχει συνολική στροφορμή και **δεν** υπάρχουν καταστάσεις spin.



Για το ισότοπο ^{13}C , $I=1/2$.

Συνεπώς, υπάρχουν **2** διαφορετικές καταστάσεις spin.

Δεν διαθέτουν spin, **ΔΕΝ** είναι «ορατοί» στο NMR

Πυρήνας	^1H	^2H	^{12}C	^{13}C	^{14}N	^{16}O	^{17}O	^{19}F
Κβαντικός αρ. spin (<i>I</i>)	1/2	1	0	1/2	1	0	5/2	1/2
Ενεργειακές Καταστάσεις του spin	2	3	0	2	3	0	6	2

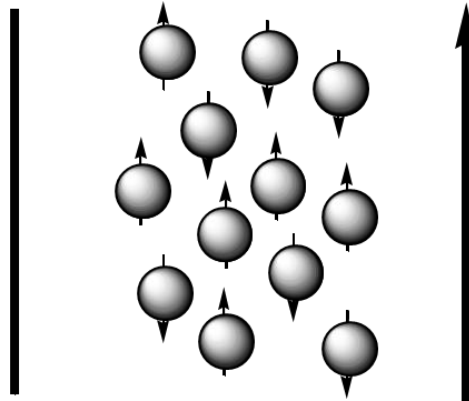
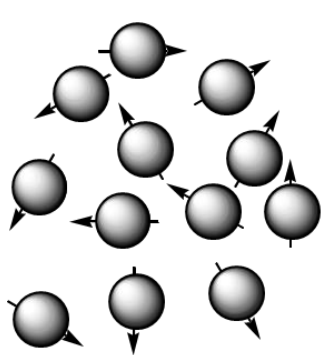
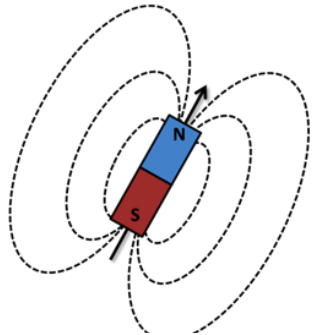
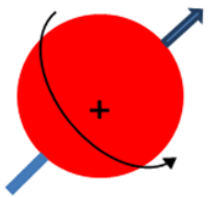
Πυρήνες με μη σφαιρική κατανομή φορτίου (3d τροχιακό) παρουσιάζουν $I > 1/2$ π.χ. ^{10}B , ^{14}N

Θα μας απασχολήσουν **ΜΟΝΟ** οι πυρήνες με **$I=1/2$**

Βασικές Έννοιες

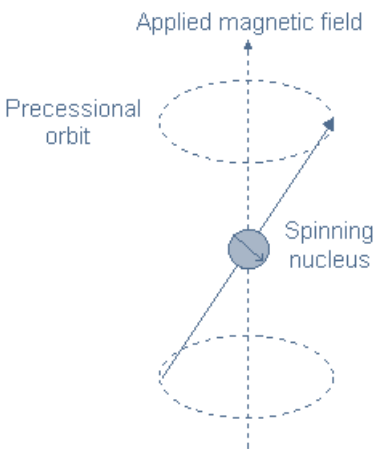
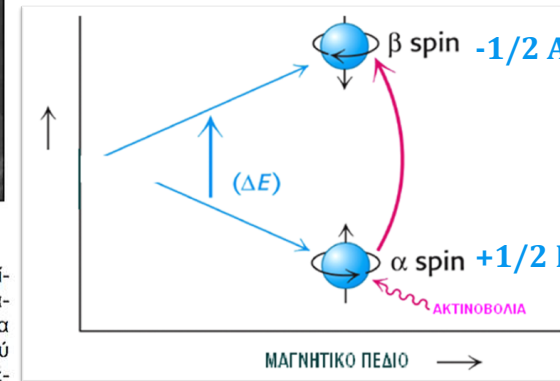
Πυρηνική μαγνητική ροπή

- ✓ Η περιστροφή του θετικά φορτισμένου πυρήνα δημιουργεί την **πυρηνική μαγνητική ροπή (μ)** που είναι ανάλογη του **κβαντικού αριθμού πυρηνικού spin, I** .



Larmor Joseph
(1857-1942)

Η συχνότητα Larmor είναι ένας όρος που απαντάται στην ορολογία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού και αναφέρεται στην συχνότητα κατά την οποία επιτυγχάνεται συντονισμός.



Ο άξονας περιστροφής του πυρήνα δεν μπορεί να προσανατολίζεται ακριβώς παράλληλα ή αντιπαράλληλα με διεύθυνση το μαγνητικό πεδίο B_0 αλλά πρέπει να εκτελεί **γυροσκοπική πορεία** (precess) γύρω από το πεδίο κατά μία **γωνία** με **γωνιακή ταχύτητα** που δίνεται από τη σχέση

$$\omega = \gamma \cdot B_0$$

Η φυσική σταθερά γ για κάθε πυρήνα καλείται **γυρομαγνητικός λόγος** και συσχετίζεται με τη μαγνητική ροπή μ και το I

$$\gamma = \frac{2\pi \cdot \mu}{hI}$$

h = σταθερά Planck = 6.626×10^{-34} Js

Βασικές Έννοιες

Ευαισθησία

Όσο μεγαλύτερος είναι ο γυρομαγνητικός λόγος ενός πυρήνα, τόσο πιο εύκολα ανιχνεύεται στο NMR.

Για το ^1H $\gamma = 2.675 \text{ T}^{-1}\text{s}^{-1}$

Για τον ^{13}C $\gamma = 0.6728 \text{ T}^{-1}\text{s}^{-1}$

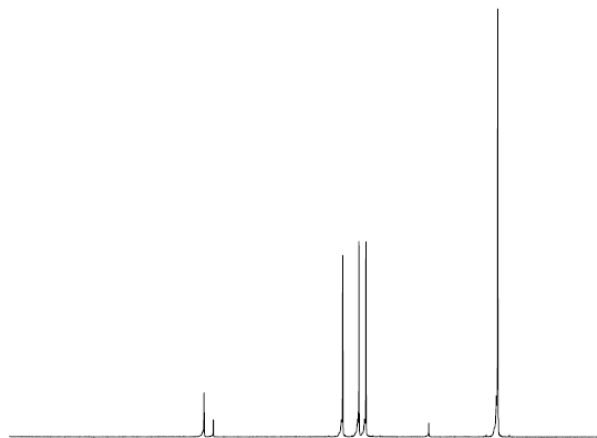


Η ευαισθησία είναι ανάλογη του γ^3 .

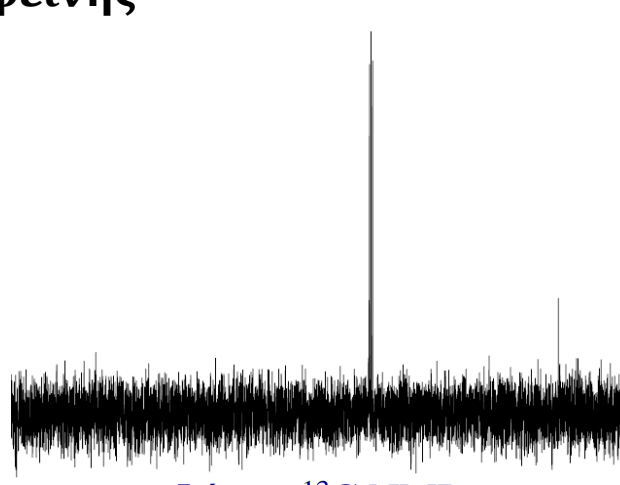
Επομένως, ο πυρήνας ^1H είναι **64 φορές πιο ευαίσθητος** από τον ^{13}C

Φυσική αφθονία ^1H : 100%
Φυσική αφθονία ^{13}C : 1.1%

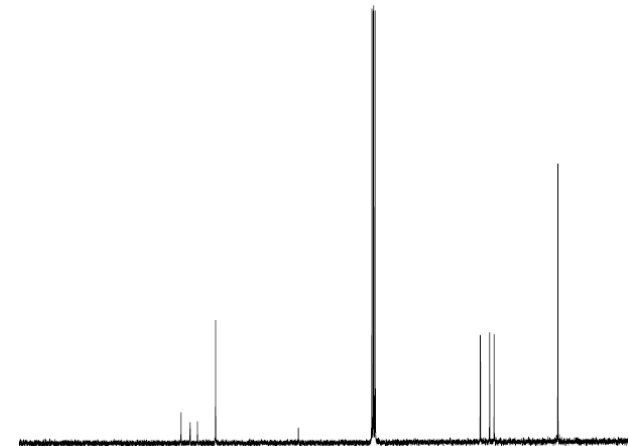
Παράδειγμα: φάσματα ^1H και ^{13}C της καφεΐνης



Φάσμα ^1H NMR
8 scans ~12 secs



Φάσμα ^{13}C NMR
8 scans ~12 secs



Φάσμα ^{13}C NMR
10,000 scans ~4.2 hours

Βασικές Έννοιες

Ευαισθησία

Ο προσανατολισμός υπακούει στη στατιστική Boltzmann κατά την οποία υπάρχει περίσσειμα πυρήνων στη βασική κατάσταση με προσανατολισμό παράλληλο προς την ένταση B_0 .

Μεταβάσεις μεταξύ των δύο καταστάσεων συμβαίνουν με την απορρόφηση ή εκπομπή κβαντικής ενέργειας ισοδύναμης με την ενεργειακή διαφορά των δύο καταστάσεων (συχνότητα Larmor). **Κατά τον συντονισμό** ισχύει η παρακάτω εξίσωση η οποία συσχετίζει τη **συχνότητα Larmor (ν_L)** με την ένταση του εξωτερικού πεδίου B_0 .

$$\Delta E = h \times \nu_L$$

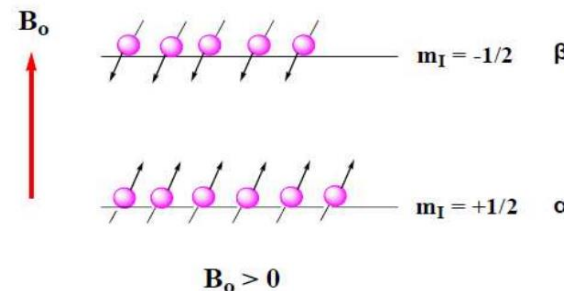
$$\nu_L = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot B_0$$

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = e^{\Delta E / kT} = e^{\gamma \hbar B_0 / kT}$$

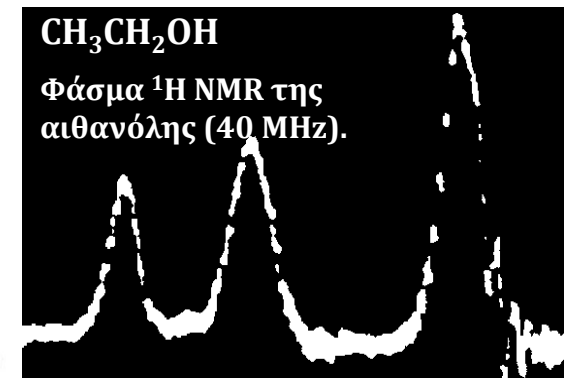
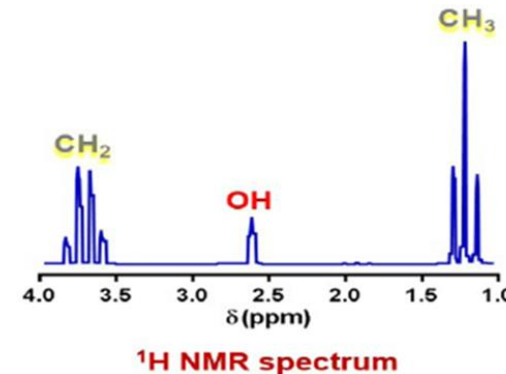
Νόμος Boltzmann

Αύξηση μαγνητικού πεδίου $B_0 \rightarrow$

Αύξηση $\Delta E \rightarrow$ Αύξηση πληθυσμιακής διαφοράς στις 2 κβαντικές καταστάσεις



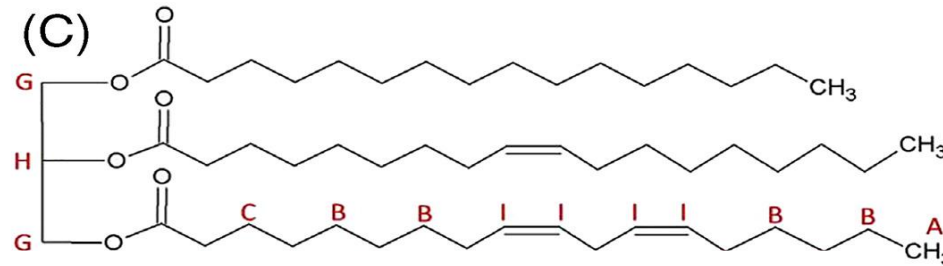
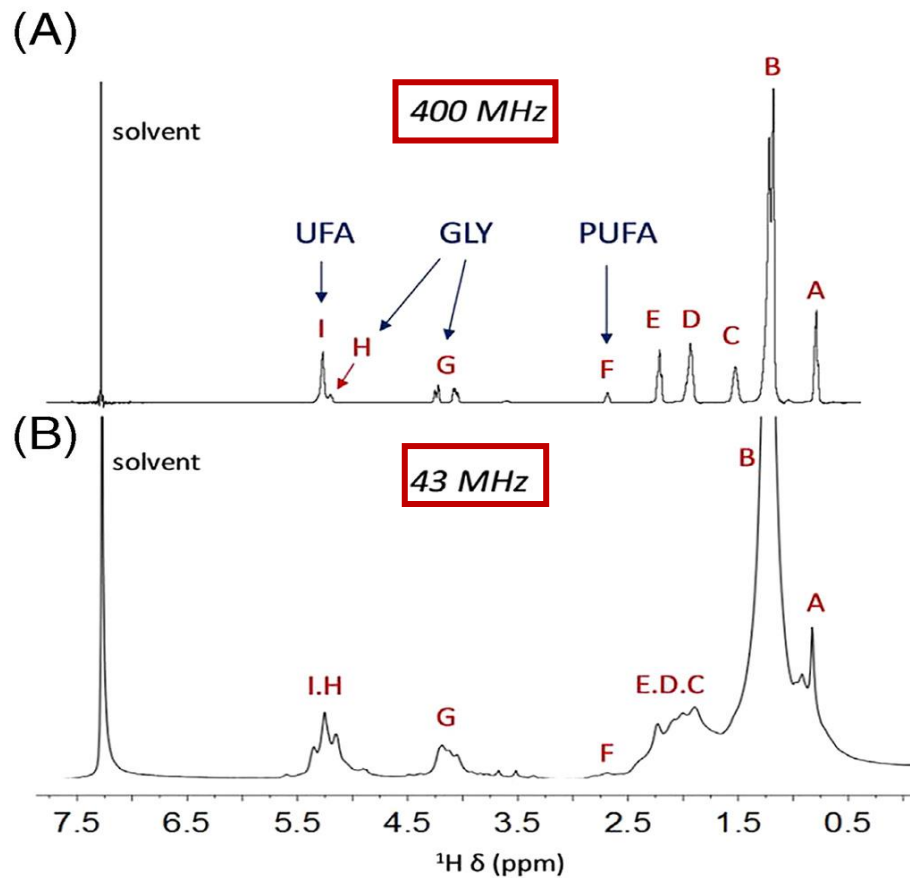
Ισχύς Μαγνητικού Πεδίου



Βασικές Έννοιες

Ευαισθησία

Ισχύς Μαγνητικού Πεδίου



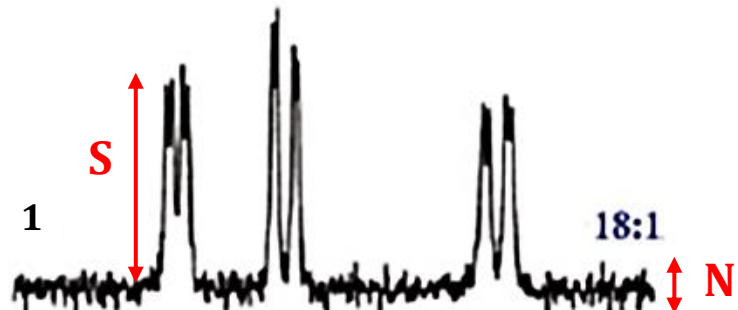
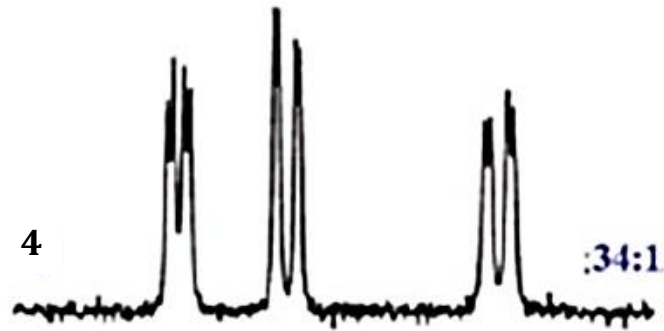
$$\Delta\nu = \frac{\gamma_1 B_0 - \gamma_2 B_0}{2\pi} = \frac{(\gamma_1 - \gamma_2) B_0}{2\pi}$$

Μεγάλο $B_0 \rightarrow$ αυξημένο $\Delta\nu \rightarrow$ μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα

Βασικές Έννοιες

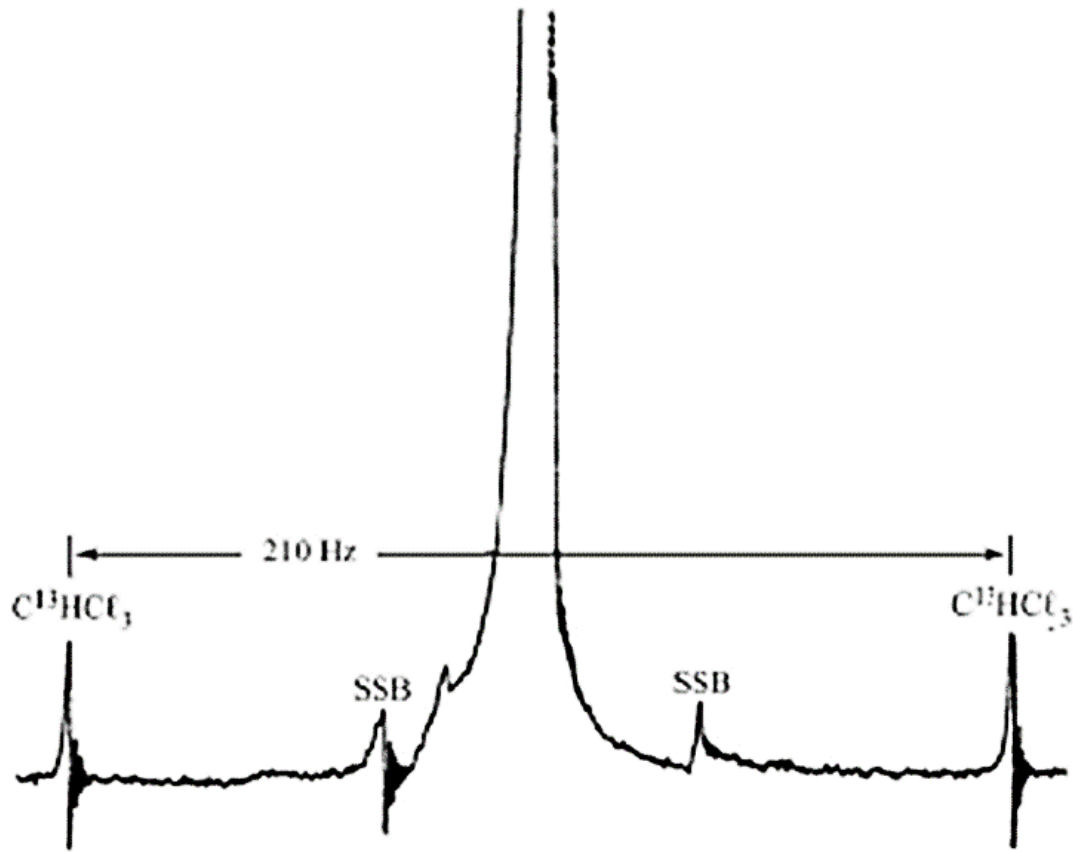
Ευαισθησία

Αριθμός Σαρώσεων



Αύξηση αριθμού σαρώσεων (Number of scans, NS)
είναι η πιο κοινή προσέγγιση για να αυξηθεί η
ευαισθησία (Signal-to-Noise, S/N).

Κορυφές περιστροφής (Spinning Side-bands, SSB)



Κάποιες φορές, παρατηρούνται δύο μικρές κορυφές, οι οποίες συντονίζονται συμμετρικά γύρω από την κύρια κορυφή.

Οι κορυφές αυτές μπορεί να οφείλονται:

- στην **περιστροφή του δείγματος (Side Spinning Bands - SSB)** ή
- να είναι **δορυφορικές (satellites)**, να οφείλονται δηλαδή σε ετεροπυρηνικές συζεύξεις.

Οι κορυφές SSB, κατανέμονται συμμετρικά γύρω από την κεντρική και απέχουν απόσταση ίση με τη συχνότητα περιστροφής. → Έλεγχος: Αλλαγή ρυθμού περιστροφής

Βασικές Έννοιες

Ευαισθησία

Χρόνος Δειγματοληψίας

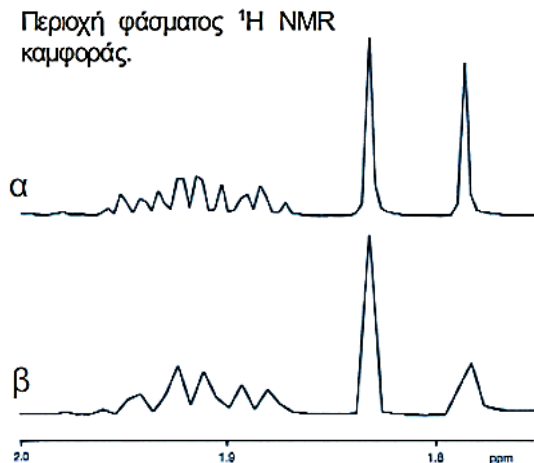
Σύμφωνα με το θεώρημα του Nyquist, για να προσδιορισθεί η συχνότητα κάθε συστατικού χρειάζεται δειγματοληψία δύο σημείων σε μία περίοδο.

Επομένως, ο χρόνος δειγματοληψίας (**dwell time = DW**) θα προσδιορίσει και τη διακριτικότητα (**digital resolution = DR = 1/DW**) των λαμβανομένων σημάτων, η οποία και θα πρέπει να είναι επαρκής ώστε να ισχύει το θεώρημα Nyquist.

Η **διακριτικότητα (R=resolution)** ορίζεται ως το αντίστροφο του χρόνου λήψης (**R=1/AQ**).



1889 -1976



Χρόνος δειγματοληψίας

$$DW = \frac{1}{2 \cdot SW}$$

DW : dwell time (χρόνος δειγματοληψίας μεταξύ 2 σημείων λήψης)

SW : spectral width (φασματικό εύρος)

SR : spectral rate (ρυθμός δειγματοληψίας)

$$SR = 1/DW$$

PW : pulse Width (Πλάτος Παλμού)

TD : time domain (Αριθμός δεδομένων λήψης)

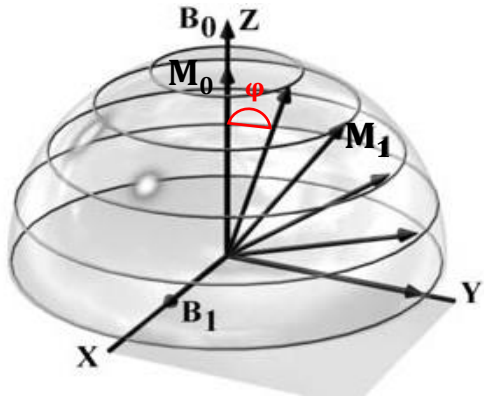
AQ : acquisition time (Χρόνος λήψης δεδομένων)

$$AQ = DW \times TD$$

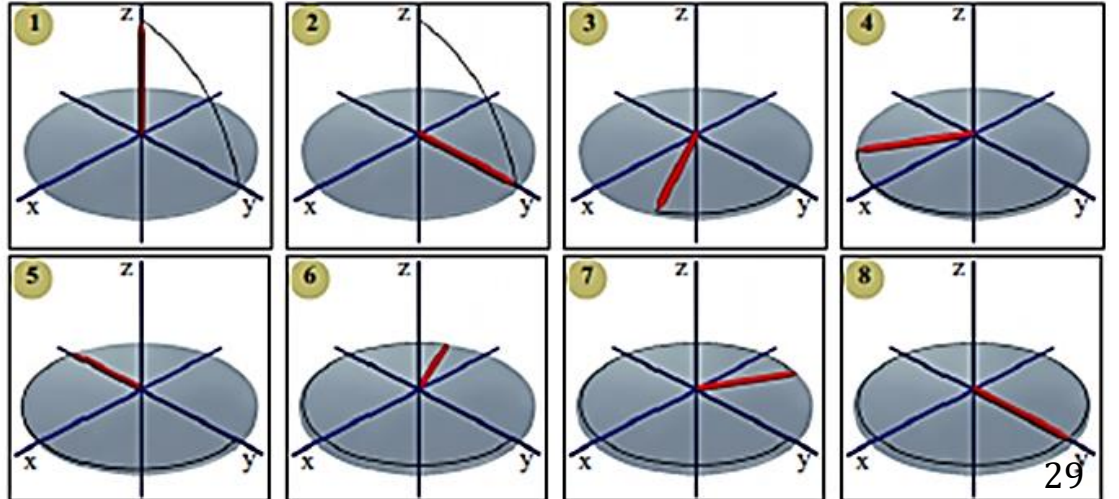
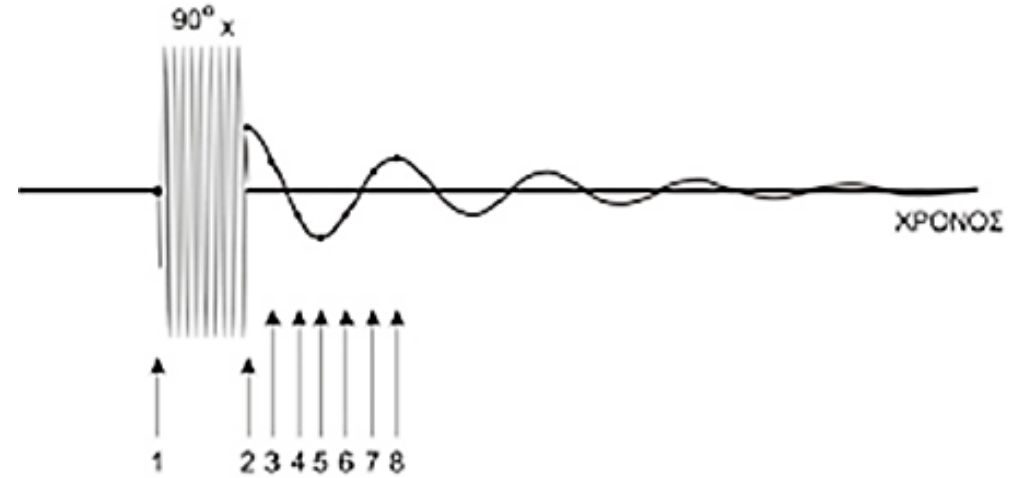
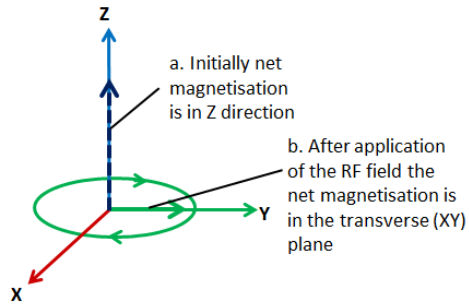
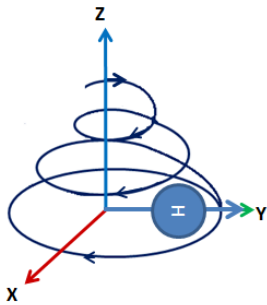
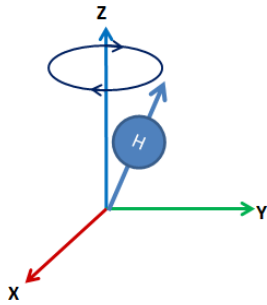
DR : digital resolution (ψηφιακή διακριτικότητα)

$$DR = 1/AQ$$

Βασικές Έννοιες Ελεύθερη Επαγόμενη Απόσβεση (**FID** – **F**ree **I**nduction **D**ecay)



$\varphi = \gamma \times B \times t$
 M_0 = ολικός προσανατολισμός spin
 B_1 = κάθετο ηλεκτρομαγνητικό πεδίο



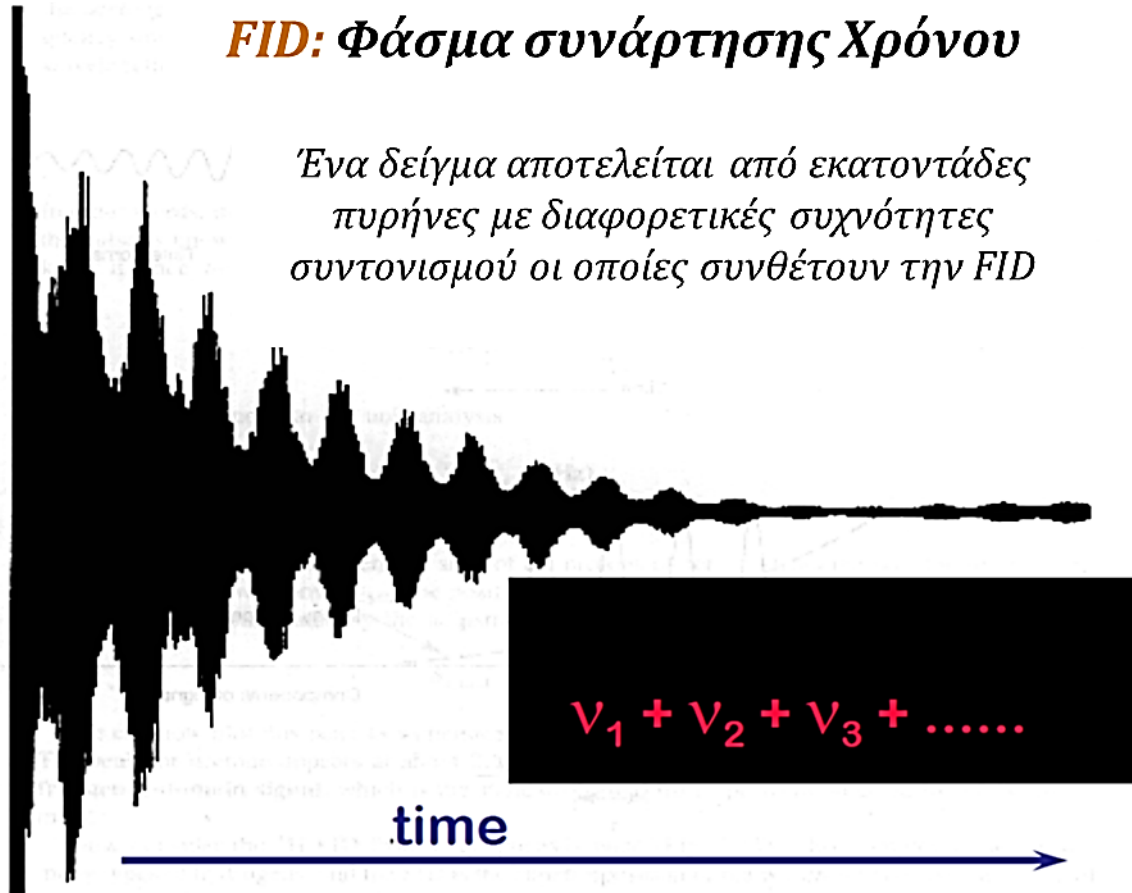
Η συνάρτηση της φθίνουσας εγκάρσιας μαγνήτισης του πυρήνα με τον χρόνο καλείται **ελευθέρως φθίνουσα επαγωγή** και έχει τη μορφή μιας φθίνουσας ταλάντωσης.

Επομένως η FID περιέχει δύο πληροφορίες:
συχνότητες φασματικών κορυφών και τα **εύρη τους**

Βασικές Έννοιες Ελεύθερη Επαγόμενη Απόσβεση (**FID** – **F**ree **I**nduction **D**ecay)

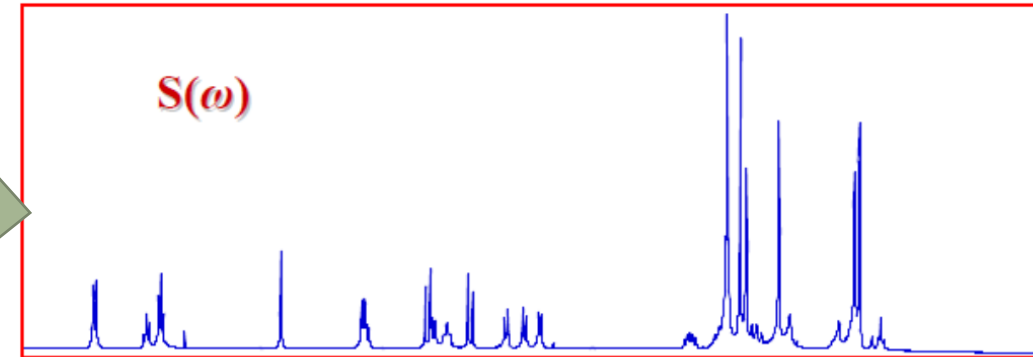
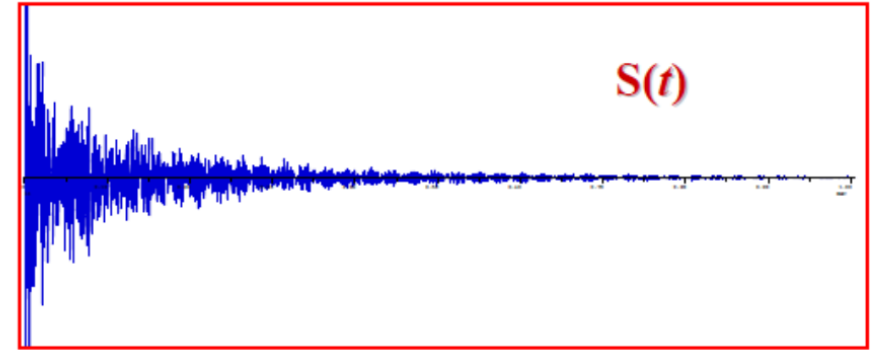
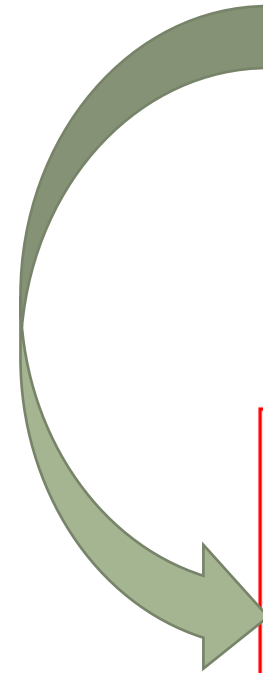
FID: Φάσμα συνάρτησης Χρόνου

Ένα δείγμα αποτελείται από εκατοντάδες
πυρήνες με διαφορετικές συχνότητες
συντονισμού οι οποίες συνθέτουν την FID



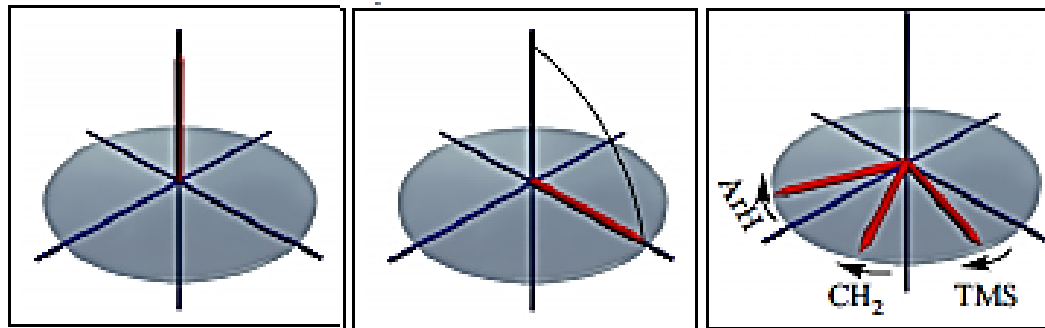
Μετασχηματισμός Fourier
(Fourier Transformation)

$$F(\nu) \propto \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{-i2\pi\nu t} dt$$



Μαθηματική μετατροπή συνάρτησης χρόνου
σε συνάρτηση συχνοτήτων³⁰

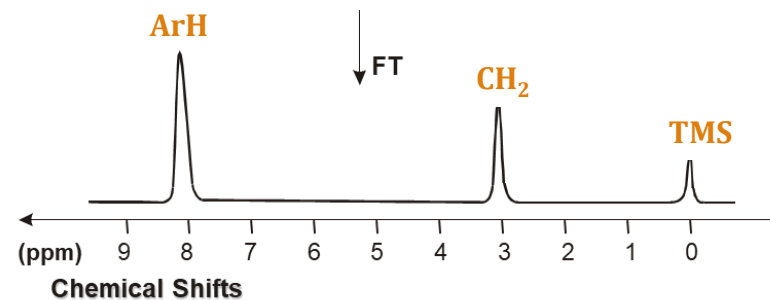
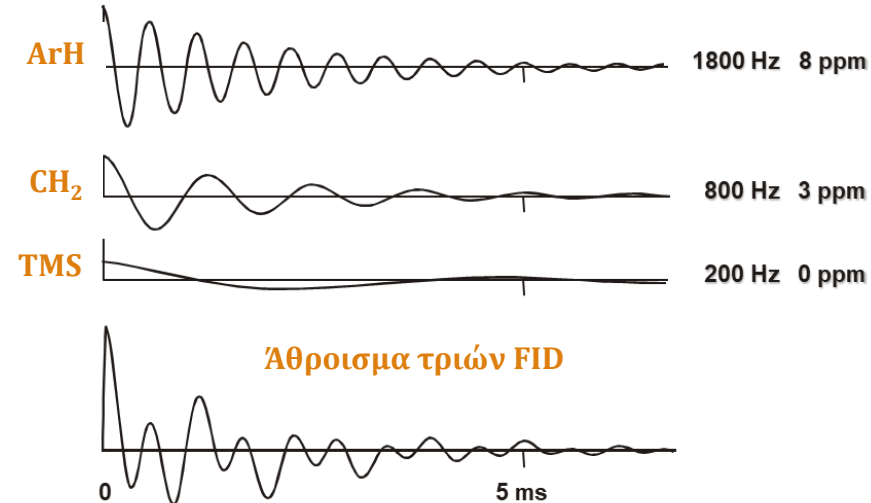
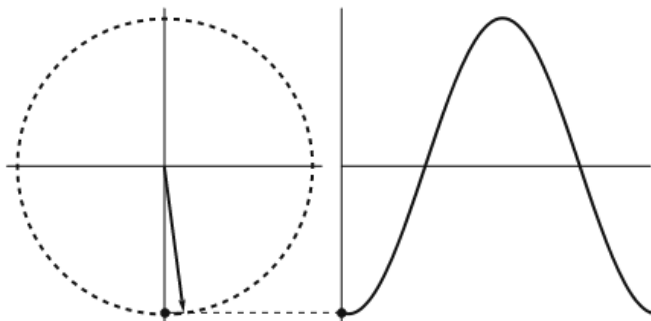
Βασικές Έννοιες Ελεύθερη Επαγόμενη Απόσβεση (Μετασχηματισμός κατά **Fourier**)



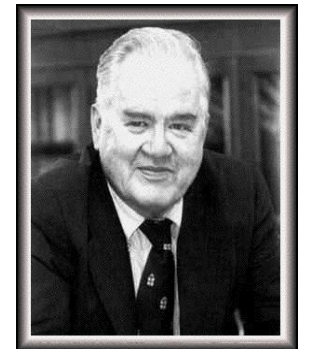
Πριν την εφαρμογή παλμού

Μετά την εφαρμογή παλμού

Μετάπτωση πυρήνων



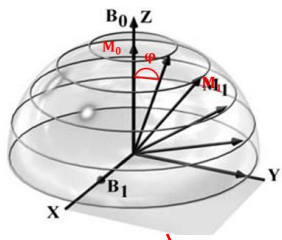
Fourier



John Wilder Tukey

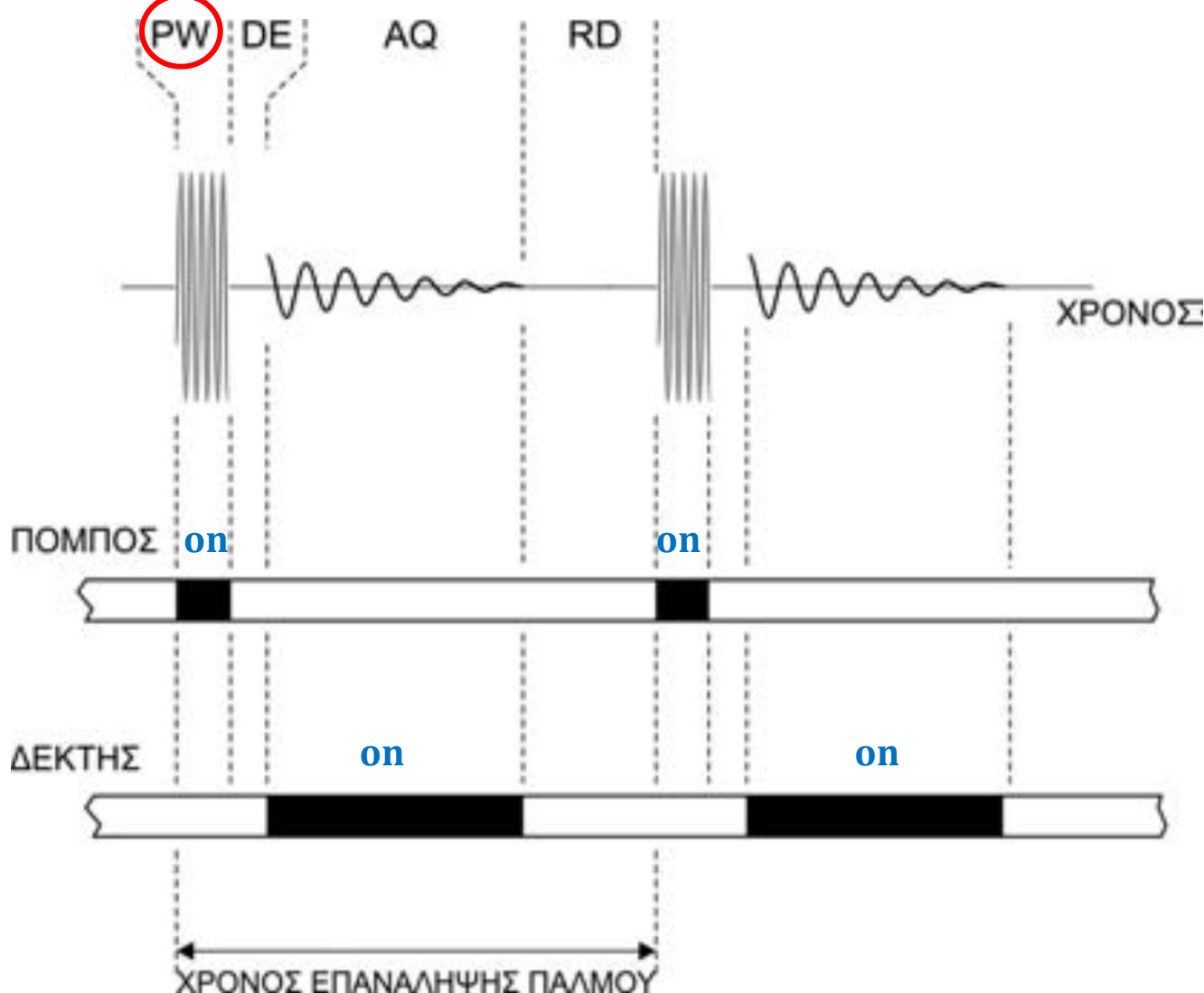
$$S(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t)e^{-i\omega t} dt \quad S(\nu) = \int_{-\infty}^{\infty} S(t)e^{-i2\pi\nu t} dt$$

$$\delta = \frac{\omega_{\text{TMS}} - \omega_I}{\gamma_I \cdot B_0} \cdot 10^6$$



Βασικές Έννοιες

Χρόνοι Πειράματος



PW : Pulse Width (Πλάτος Παλμού)

DE : Pre-acquisition delay (Χρόνος πριν τη λήψη δεδομένων)

AQ : Acquisition time (Χρόνος λήψης δεδομένων)

RD : Relaxation delay (Χρόνος επαναφοράς ή εφησυχασμού)

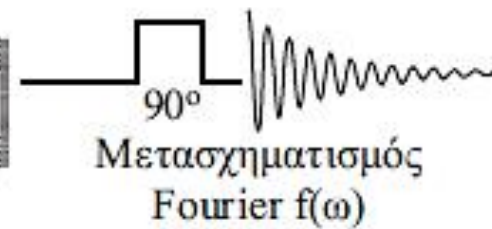
$$\text{Χρόνος Πειράματος} = \text{PW} + \text{DE} + \text{AQ} + \text{RD}$$

Πιάνο & NMR



«Music When Soft Voices Die Vibrates»
Orchardson William Quiller
(1832–1910)

Πιάνο	NMR
Χορδές	
Τάση στις χορδές	
Κτύπημα ενός πλήκτρου	
Μουσική	



Οργανολογία NMR

- Διάλυση δείγματος σε σωληνίσκο NMR (5 ή 10 mm)
- Διαλυτοποίηση δείγματος σε **δευτεριωμένο διαλύτη** (CDCl_3 , D_2O , DMSO κ.α)

Τοποθέτηση σε
μαγνητικό πεδίο

Φάσμα NMR

Υπεραγωγίμος
Μαγνήτης

Καταγραφικό
NMR

Θέση εργασίας

7-21 T

Μαγνητικό πεδίο της Γης: 5×10^{-5}

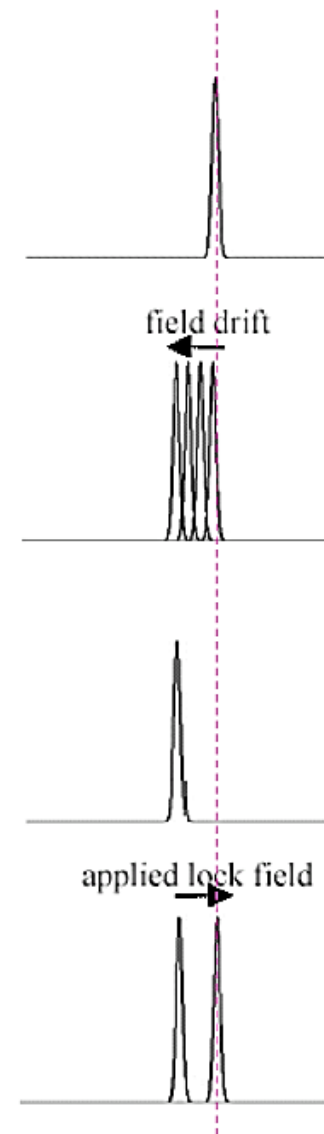
Γιατί χρησιμοποιείται **δευτεριωμένος διαλύτης**;

- ❑ Γιατί τα πρωτόνια του διαλύτη (αν δεν είναι δευτεριωμένος) θα δώσουν **ισχυρά σήματα** και θα επικαλύψουν τα σήματα της εξεταζόμενης ουσίας.
- ❑ Γιατί το όργανο χρησιμοποιεί το σήμα του δευτερίου του διαλύτη ως **αναφορά** για να «κλειδώνει» (να σταθεροποιεί, lock) τη συχνότητα λειτουργίας καθόλη τη διάρκεια λήψης του φάσματος.

Εσωτερικό κλείδωμα: συνήθως με διαλύτες όπως CDCl_3 , CD_3COCD_3 κ.α.)

Εξωτερικό κλείδωμα: ουσίες που δεν είναι σε επαφή με το δείγμα

Deuterium Lock



Ερωτήσεις - Ασκήσεις

- 1) Τα πειράματα μίας διάστασης NMR λαμβάνονται με χρήση πολλών σαρώσεων για να επιτευχθεί ικανοποιητικός λόγος σήματος/θόρυβο Σ ή Λ
- 2) Οι πυρήνες $^{12}_6\text{C}$ και $^{32}_{16}\text{S}$ δεν είναι ενεργοί στη φασματοσκοπία Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού. Σ ή Λ
- 3) Ο διαλύτης για το κλείδωμα του πεδίου δεν πρέπει να περιέχει δευτέριο. Σ ή Λ
- 4) Ο μετασχηματισμός κατά Fourier είναι αργή διαδικασία και δεν γίνεται αυτόματα. Σ ή Λ
- 5) Τα πειράματα μίας διάστασης NMR λαμβάνονται με χρήση πολλών σαρώσεων για να επιτευχθεί ικανοποιητικός λόγος σήματος/θόρυβο Σ ή Λ

Ερωτήσεις - Ασκήσεις

- 4) Ο γυρομαγνητικός λόγος του ^2H είναι περίπου 6,5 φορές μικρότερος από αυτόν του πρωτονίου σε μαγνήτη όπου το φάσμα ^1H μπορεί να παρατηρηθεί στα 400 MHz σε ποια συχνότητα αναμένετε να παρατηρηθεί το φάσμα ^2H NMR;

$$\nu_L = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot B_0$$

Με χρήση των τύπων 1.5 και 1.6:

$$f_{o,H} = \frac{\gamma_H}{2\pi} B_0 \quad (1.5)$$

$$f_{o,D} = \frac{\gamma_D}{2\pi} B_0 \quad (1.6)$$

προκύπτει με διαίρεση κατά μέλη η σχέση 1.7

$$\frac{f_{o,H}}{f_{o,D}} = \frac{\gamma_D}{\gamma_H} \quad (1.7)$$

$$f_{o,D} = \frac{\gamma_H \cdot f_{o,H}}{\gamma_D} \quad (1.8)$$

Θέτοντας στην σχέση 1.8 τις τιμές $\gamma_H/\gamma_D = 6,5$ και $f_{o,H} = 400$ MHz προκύπτει ότι

$f_{o,D} = 61,54$ MHz.

Ερωτήσεις - Ασκήσεις

- 7) Σε μαγνητικό πεδίο έντασης 2,349 T, η συχνότητα συντονισμού του ^{15}N είναι 10,13 MHz. Ποιά είναι η συχνότητα συντονισμού του ^{15}N σε μαγνήτη έντασης 11,745 T;

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

$$\frac{\nu_1}{\nu_2} = \frac{B_1}{B_2}$$

$$\nu_2 = \frac{\nu_1 B_2}{B_1} = \frac{10.13 \times 11.745}{2.349} = 50.65 \text{ MHz}$$

Ερωτήσεις - Ασκήσεις

- 5) Ποιά είναι η διαφορά σε Hz δύο πυρήνων υδρογόνου, οι οποίοι σε φασματογράφο 600 MHz συντονίζονται στα 4 και 8 ppm

$$4 \text{ ppm διαφορά} : 4 \times 600 \text{ MHz} = 2400 \text{ Hz}$$

- 6) Για τη λήψη ενός φάσματος ^1H NMR χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι χρόνοι: $PW=5\mu\text{s}$, $DE=30\mu\text{s}$, $AQ=3\text{s}$ και $RD=3\text{s}$. Επίσης για να αυξηθεί ο λόγος S/N χρησιμοποιήθηκαν 32 σαρώσεις. Ποιος ήταν ο πειραματικός χρόνος;

$$\text{Χρόνος Πειράματος} = PW + DE + AQ + RD = 5 \cdot 10^{-6} + 30 \cdot 10^{-6} + 2 + 1 = 3,00003 \text{ s}$$

$$\text{Ολικός Χρόνος Πειράματος} = NS \times \text{Χρόνος Πειράματος} = 32 \times 3,00003 \text{ s}$$

Ερωτήσεις - Ασκήσεις

- 8) Εάν σε ένα πείραμα ο χρόνος λήψης που χρησιμοποιήθηκε ήταν **4,1 s**, πόσα Hz ήταν η διακριτικότητα;

$$DR = \frac{1}{AQ}$$

DR : Digital Resolution (ψηφιακή διακριτικότητα)

AQ : Acquisition time (Χρόνος λήψης δεδομένων)

- 9) Εάν στο πείραμα αυτό χρειαζόμασταν διακριτικότητα μικρότερη από 0,24 Hz σε ποιες ενέργειες θα προβαίνατε για να το πετύχετε;

Για να επιτευχθεί $R < 0,24$ θα πρέπει ν' αυξηθεί ο χρόνος λήψης του πειράματος (AQ) δηλαδή ν' αυξηθεί ο χρόνος δειγματοληψίας (DW). **$AQ = DW \times TD$**

Ερωτήσεις - Ασκήσεις

10) Σύμφωνα με το θεώρημα του Nyquist, πόσο φασματικό εύρος θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί σε ένα πείραμα στο οποίο ο ρυθμός δειγματοληψίας είναι 6410 σημεία ανά δευτερόλεπτο;

$$DW = \frac{1}{2 \cdot SW}$$

DW : dwell time (χρόνος δειγματοληψίας)

SR : spectral rate (ρυθμός δειγματοληψίας)

$$SR = 1/DW \rightarrow DW = 1/ SR$$

$$SW = \frac{SR}{2} = 3205 \text{ Hz}$$

Βιβλιογραφία

«Πυρηνικός Μαγνητικός Συντονισμός» Θ. Μαυρομούστακος, Α. Τζάκος, Γ. Σπυρούλιας, Ε. Μικρός, Α. Κολοκούρης, Κ. Παπακωνσταντίνου, Ι. Γεροθανάσης, Ι. Ματσούκας. Εκδόσεις Συμμετρία 2019. ISBN 978-960-266-504-6.