

20. Kernspinresonantie (N.M.R.)-spectroscopie

Bij 'nuclear magnetic resonance' (N.M.R.) spectroscopie wordt de interactie bestudeerd van een oscillerend magneetveld en bepaalde typen kernen, die zich in een statisch magneetveld bevinden. De interactie treedt alleen op als het eerste veld H_1 oscilleert bij voor een kern specifieke frequenties, die verder afhankelijk zijn van de sterkte van het statische magneetveld H_0 .

Een atoomkern heeft behalve lading en massa een hoekmoment I door rotatie om een as (spin). Hierdoor ontstaat een magneetveld, parallel aan de as van de spin, dat wordt gekarakteriseerd door een magnetisch dipoolmoment μ_a . Indien een 'klassieke' roterende magnetische dipool onder een hoek θ in een uitwendig magneetveld geplaatst wordt (Fig. 20.1), dan oefent dit veld een kracht op de dipool uit die resulteert in een precessiebeweging om de as van het veld (als bij een gyroscoop in een gravitatieveld).

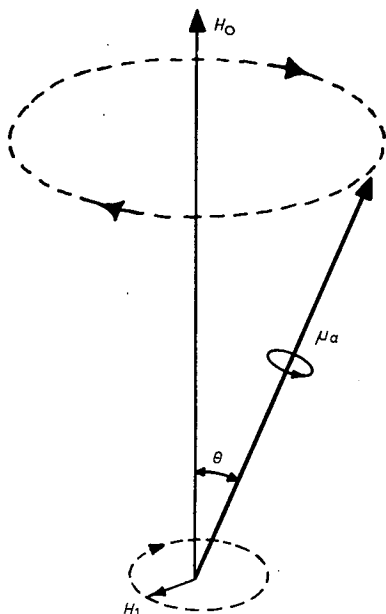


Fig. 20.1. Precessie van magnetisch moment μ_a in een magnetisch veld H_0 . Een tweede, roterend veld $H_1 \perp H_0$ trekt μ_a in het vlak van H_1 , als de hoeksnelheid waarmee H_1 om H_0 draait evengroot is als die van de precessiebeweging.

Volgens de klassieke elektrodynamica is de hoeksnelheid van de precessiebeweging onafhankelijk van θ , doch evenredig met H_0 .

$$\omega = \gamma H_0$$

(γ = gyromagnetische verhouding, bevat μ en enige universele constanten).

Wordt nu vervolgens een klein magneetveld H_1 aangelegd loodrecht op H_0 , dan zal H_1 de dipool in de richting van het x-y-vlak trekken. De invloed van H_1 is echter betrekkelijk gering, tenzij H_1 om de as van H_0 draait met eenzelfde hoeksnelheid ω als de precessiebeweging. Indien de rotatiesnelheid van H_1 varieert, dan zal de hoek θ oscilleren indien de precessiesnelheid is bereikt. Er bestaat dan een duidelijke energieuitwisseling tussen de dipool en het magneetveld H_1 (resonantie). Hebben we te maken met een atoomkern dan komen enige quantum-mechanische beperkingen in het geding.

a. Voor het hoekmoment I geldt:

$$I = \sqrt{J(J+1)} \cdot h/2\pi$$

h = constante van Planck

J = quantumgetal dat een hele of een halve waarde heeft, of gelijk is aan 0.

De relatie tussen de samenstelling van de kern en J is weergegeven in tabel 20.1.

Tabel 20.1. Relatie tussen samenstelling van de atoomkern en quantumgetal.

Aantal protonen	Aantal neutronen	J	Voorbeelden
even	even	0	^{12}C , ^{16}O
oneven	oneven	1 of groter	^2H , ^{14}N
oneven	even	$\frac{1}{2}$	^1H , ^{19}F , ^{31}P
even	oneven	$\frac{1}{2}$	^{13}C

De kernen waarvan het spin-quantumgetal 0 is, hebben geen magnetisch dipoolmoment en komen dus niet in aanmerking voor N.M.R.-spectroscopie.

b. Een volgende quantumbeperking is afkomstig van de component van het moment in de richting van het veld H_0 .

Hiervoor geldt:

$$I_z = m \cdot h/2\pi$$

m = quantumgetal, dat ieder van de $(2J+1)$ waarden $+J$; $+J-1$; $+J-2 \dots -J$ kan hebben. Als gevolg hiervan kan de as van de spin slechts bepaalde hoeken met het aangelegde veld maken. Bv. $J = \frac{1}{2} \rightarrow m = +\frac{1}{2}$ en $m = -\frac{1}{2}$.

$\therefore I_z = \sqrt{J(J+1)} \cdot h/2\pi$. Indien $J = \frac{1}{2}$, is $I = \frac{1}{2}\sqrt{3} \cdot h/2\pi$.

$\cos \theta = I_z/I = +1\sqrt{3}$ of $-1\sqrt{3}$, bijgevolg kan θ slechts de waarden $54^\circ 44'$ of $125^\circ 16'$ hebben. De potentiële energie van een dipool met een hoek θ t.o.v. H_0 is

$$E = \mu H_0 \cos \theta$$

Als $J = \frac{1}{2}$ geldt voor het energieverval van de 2 waarden van θ :

$$\Delta E = \frac{2}{\sqrt{3}} \mu H_0$$

Overgang tussen deze energieniveaus komt tot stand door absorptie of emissie van of aan het veld H_1 (zie ook fig. 20.1). Bij N.M.R. wordt voor H_1 gebruikt het veld dat afkomstig is van geschikte elektromagnetische straling.

Volgens de Bohr relatie geldt dan:

$$h\nu = \frac{2}{\sqrt{3}} \mu H_0 \quad (\nu = \text{frequentie})$$

De klassieke relatie luidde:

$$\omega = \gamma H_0.$$

Daar $\omega = 2\pi\nu$ wordt γ in het geval $J = \frac{1}{2}$:

$$\gamma = 4\pi\mu\sqrt{3}$$

Als zich in een magneetveld H_0 een groot aantal kernen bevindt, is de overgangswaarschijnlijkheid van een hoger energieniveau naar een lager even groot als vice versa, bij interactie met elektromagnetische straling. Een netto absorptie c.q. emissie van energie kan alleen optreden indien de niveaus ongelijk bezet zijn. De verhouding van de bezetting van de niveaus wordt gegeven door de Boltzmann factor: $e^{-\Delta E/kT}$. Bij kamertemperatuur is normaliter het laagste niveau iets beter bezet, ~ 5 per 10^6 .

De frequentie ν , waarbij een kern in een bepaald magneetveld tot resonantie komt, hangt af van het magnetisch moment van de kern. Dit is voor diverse magnetische kernen verschillend. Bv. in een veld van 14.000 gauss treedt resonantie van protonen op bij 60 MHzertz, hetgeen overeenkomt met korte radiogolven met $\lambda = 5$ meter. In magneetvelden met andere veldsterkte verandert ook de resonantie-frequentie.

Apparatuur

De meest gebruikelijke toepassing van N.M.R. is het onderzoek aan protonen. Een N.M.R.-apparaat bestaat uit:

1. een magneet, die een sterk homogeen veld levert;
2. een voorziening om de magnetische veldsterkte over een gebied continu te kunnen variëren;
3. een radiofrequentie-oscillator als bron van monochromatische elektromagnetische straling;

4. een buisje waarin zich het te analyseren monster bevindt;
5. een radiofrequentie ontvanger, die als detector gebruikt wordt om energie-opname door het te analyseren monster te meten;
6. een recorder.

Aangezien op eenvoudige wijze monochromatische elektromagnetische straling verkregen kan worden, houdt men gewoonlijk H_1 constant en varieert men H_0 . Monsters worden geanalyseerd in een oplossing of als vloeistof. Om storing door protonen van het oplosmiddel te vermijden gebruikt men bv. CCl_4 , $CDCl_3$, of $CD_3\underset{\text{O}}{\underset{|}{C}}-CD_3$ als oplosmiddel.

Chemische verschuiving

De veldsterkte waarbij protonen tot resonantie komen, hangt af van de molecuulsoort en van de groep, waarin het proton zich bevindt. Daar alle protonen hetzelfde magnetische moment hebben, moet de oorzaak hiervoor liggen in de effectieve waarde van het magneetveld in de buurt van verschillende kernen. Het aangelegde veld wordt gemodificeerd door secundaire magneetvelden, afkomstig van bewegingen van valentie-elektronen. Deze geïnduceerde velden zijn tegengesteld gericht aan het uitwendige veld en scherpen de kern af. Hun sterkte hangt af van de lokale elektronen-dichtheid; verder zijn ze evenredig met H_0 .

$H_{\text{bij de kern}} = H_0 - \sigma H_0$ (σ = afschermingsconstante).

Chemisch verschillende protonen kunnen dus van elkaar onderscheiden worden. Dit noemt men chemische verschuiving. De verschuiving wordt gemeten t.o.v. een inwendige standaard. Hiervoor wordt aan de te analyseren oplossing een chemisch inerte stof, zoals $(CH_3)_4Si$ (TMS: tetramethylsilaan) toegevoegd. De protonen zijn in TMS zo sterk afgeschermd dat het signaal ervan valt buiten het gebied waarin de protonen in 'normale' organisch-chemische verbindingen terecht komen. De chemische verschuiving t.o.v. TMS kan weergegeven worden in eenheden van frequentie of magnetische veldsterkte. Daar deze waarden afhangen van de experimentele condities, wordt meestal een dimensieloze weergave gebruikt. Er zijn 2 methoden om de chemische verschuiving weer te geven, nl.:

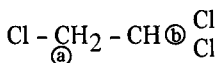
$$\delta = 10^6 \cdot \frac{H_{\text{TMS}} - H_{\text{waargenomen}}}{H_{\text{TMS}}}, \text{ of } \tau = 10 - \delta,$$

(De factor 10^6 is ingevoerd daar anders δ onhandelbaar klein is).

De sterkte van een signaal is evenredig met de aantallen protonen die van een bepaald type aanwezig zijn. De oppervlakken onder de pieken kunnen gebruikt worden om de verhouding te bepalen waarin de diverse protonen naast elkaar voorkomen.

Spin-spin interacties

Een groep protonen, die dezelfde chemische verschuiving heeft voor ieder van die protonen, hoeft niet één enkel scherp N.M.R.-signaal te geven. Onder invloed van interacties met andere protonen en/of andere magnetische kernen kan er een multiplet van pieken optreden. In het spectrum van:



is een doublet aanwezig bij $\delta = 3.95$, dat afkomstig is van de protonen \textcircled{a} en een triplet bij $\delta = 5.77$ afkomstig van proton \textcircled{b} . Kennelijk ondervinden de gelijkwaardige protonen \textcircled{a} niet exact het aangelegde, afgeschermd magnetische veld, maar twee modificaties ervan, zodat zij op 2 plaatsen tot resonantie komen.

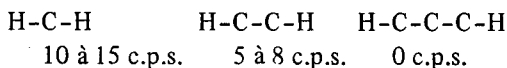
Deze modificaties van het veld worden veroorzaakt door het proton \textcircled{b} , dat op verschillende tijden in zijn 2 verschillende spintoestanden verkeert. Het externe veld zal versterkt worden indien proton \textcircled{b} in de ene toestand verkeert (\uparrow) en verzwakt in de andere spintoestand (\downarrow).

De 2 spintoestanden zijn even waarschijnlijk. Bij gevolg zijn de intensiteiten van de lijnen van het doublet identiek. Het proton \textcircled{b} ondervindt op dergelijke wijze invloed van de protonen (a).

Hier ontstaat dus een triplet waarvan de intensiteiten zich verhouden als 1 : 2 : 1. Het aantal lijnen van een multiplet is $(n + 1)$ als n het aantal naburige protonen is. De relatieve intensiteiten van de lijnen van het multiplet worden gegeven door de coëfficiënten van de binominale functie $(1 + a)^n$.

De grootte van de opsplitsing (J) is onafhankelijk van de sterkte van het aangelegde veld en neemt sterk af met de toename van het aantal bindingen dat tussen de gekoppelde kernen bestaat.

J wordt uitgedrukt in Hertz (c.p.s.):



Bovengenoemde eenvoudige opsplitsingsregels gelden alleen indien de chemische verschuiving (δ) tussen de protonen die elkaar beïnvloeden groot is t.o.v. de koppelingsconstante J . Gelijkwaardige protonen splitsen elkaars energieniveaus niet op!

Toepassing N.M.R.

- A. Structuuronderzoek van 'gewone' organische verbindingen (identificatie; zuiverheidscontrole; conformatie-analyse).
- B. Structuuronderzoek van biopolymeren in oplossing (mechanisme van enzymreacties; substraat- en inhibitor-binding; kinetische processen).

LITERATUUR

1. E.F.H. Britain, M.O. George, C.H.J. Wells, *Introduction to molecular spectroscopy*. London 1970.
2. D. Chapman, P.D. Magnus, *Introduction to practical high resolution NMR spectroscopy*. London 1966.
3. J.W. Emsley et al., *High resolution nuclear resonance spectroscopy* I-II. Oxford 1965.
4. B.D. Flockhart, 'NMR and ESR Methods', in: C.L. Wilson, D.W. Wilson (ed.), *Comprehensive analytical chemistry* IIc. Amsterdam 1971.
5. D.W. Mathieson, *Nuclear magnetic resonance for organic chemists*. London 1967.
6. R.E. Richards, 'The application of NMR to biological systems', in: P. Hepple (ed.), *Molecular spectroscopy*. London 1972.
7. J.D. Roberts, *Nuclear magnetic resonance*. New York 1959.

J.F.G. VLIEGENTHART

Ruimte voor aantekeningen