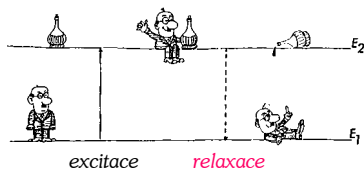


## Relaxace jaderného spinu



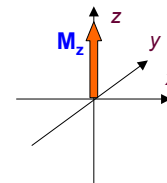
Relaxační doby  
Metody měření relaxačních dob  
Relaxační mechanismy  
Dipól-dipólová relaxace  
Nukleární Overhauserův efekt  
Chemická výměna

## Relaxační jevy

- **Relaxace** je proces navrácení spinového systému do rovnováhy (nebo do stacionárního stavu). Fenomenologicky jsou zavedeny dva základní druhy relaxace, které se popisují jako exponenciální v čase. *To je ve skutečnosti zjednodušení, které platí jen za speciálních podmínek!!!!*

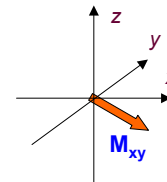
Podélná (= longitudinální, spin-mřížková) relaxace ( $T_1$ ):

- Týká se komponenty  $M_z$  spinové magnetizace, která je rovnoběžná s magnetickým polem v ose  $z$ .
- Spinový systém ztrácí energii  
– energie se přenáší na okolí (mřížku) ve formě tepla.
- Dipolární interakce s ostatními spiny, interakce s paramagnetickými částicemi, apod...



Příčná (= transversální, spin-spinová) relaxace ( $T_2$ ):

- Týká se komponent magnetizace  $M_{xy}$ , které leží v rovině  $\langle xy \rangle$ .
- Spin-spinové interakce rozfázují  $M_{xy}$
- přispívá též nehomogenita magnetického pole.
- nemůže být větší než  $T_1$ .



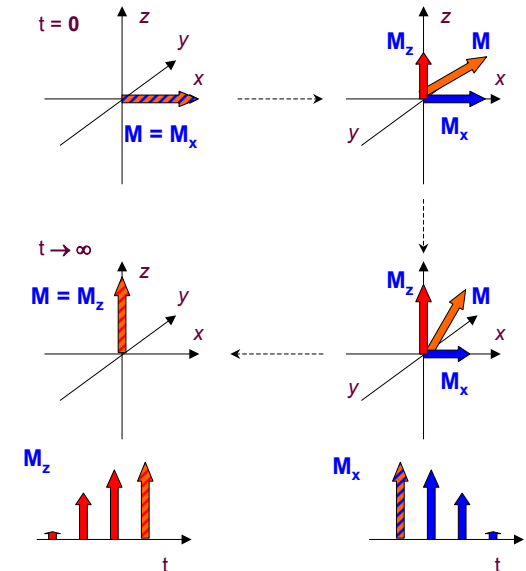
## Pár definic

- **Spinový systém** – skupina spinů spojených nepřímou spin-spinovou (J) interakcí.
- Abychom mohli pochopit relaxace, je nutné zavést **soubor spinů (spinových systémů)**.
- To je v praxi celý **vzorek** pro NMR měření, čili **cca  $10^{23}$  spinových systémů**. Takový soubor se popisuje pomocí statistické fyziky.
- **Magnetizace vzorku**, kterou měříme = **střední hodnota magnetického jaderného dipólu v celém souboru** (krát počet částic).
- Hodnoty fyzikálních veličin v takovém souboru mohou **fluktuovat**.
- Proto precese kolem statického magnetického pole neprobíhá pro každý ekvivalentní spin přesně stejnou úhlovou rychlostí, a tedy **nemáme nekonečně úzké čáry** ve spektru.

## Detailnější pohled na příčnou (a podélnou) relaxaci

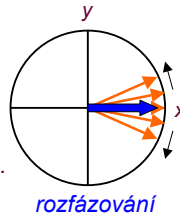
Hypotetický vzorek s jedním spinem:  
Relaxace v důsledku **otáčení magnetizace** ze směru **x** do **z**  
Tato část je společná pro podélnou i příčnou magnetizaci.  
Dochází při ní k **přenosu energie** na „mřížku“.

Průběh relaxace v čase:



## Detailnější pohled na příčnou relaxaci

- Skutečný vzorek – soubor spinů:  
Navíc – **rozfázování = ztráta koherence**.
- Důvod:  
**Fluktua**ce silových polí působících na jednotlivé spiny.  
Statické **nehomogenity** magnetického pole.



rozfázování

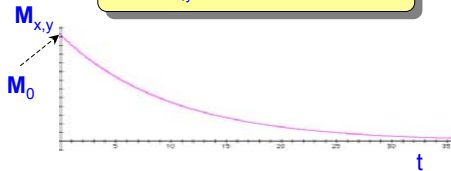
Proto

$$T_2 \leq T_1$$

Fenomenologické zavedení relaxací předpokládá exponenciální relaxaci, což umožňuje zavedení relaxačních časů  $T_1$ ,  $T_2$  jako parametrů, které relaxaci popisují.

Pokles  $x,y$ -magnetizace  $M_{x,y}$  při volné precesi:

$$M_{x,y} = M_0 \exp(-t/T_2)$$

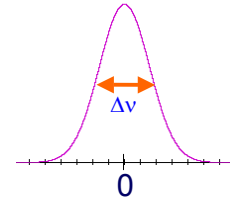


NMR spektrum vzniká jako Fourierova transformace FIDu, a tedy rychlost poklesu FIDu ovlivňuje tvar spektra.

## Detailnější pohled na příčnou relaxaci (pokrač.)

Po Fourierově transformaci  $\mathcal{F}(M_x(t))$  dostaneme Lorentzovu křivku na nulové frekvenci a se šířkou  $\Delta\nu$  v polovině výšky:

$$\Delta\nu = 1/\pi T_2$$



Velikost chemického posunu určuje pozici čáry.  
Relaxace určuje její tvar!!!!

Příspěvek nehomogenity magnetického pole  $1/T_{2n}$  se nazývá **nehomogenní rozšíření** a většinou není zajímavý a snažíme se ho odstranit – ladění magnetu, vhodný tvar vzorku, kvalitní kyvety apod.

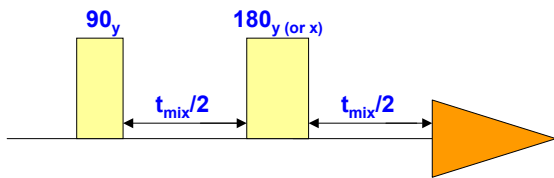
Změna značení:  $1/T_2^* = 1/T_2 + 1/T_{2n}$

Rychlost poklesu FIDu je nyní dána  $1/T_2^*$ .  
Potenciálně **zajímavá** informace je skryta jen ve složce  $1/T_2$  (homogenní rozšíření).

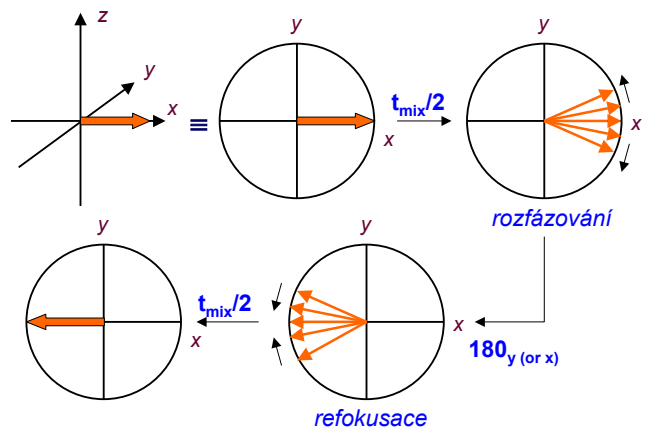
Vždy, když budete chtít ze spektra odečíst pološířky čar, si vzpomeňte, že obsahují nehomogenní rozšíření, které je těžké oddělit – **pološířka je levná, ale mnohdy nepřesná informace!!!!**

# Spinové echo

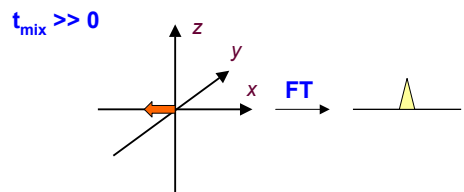
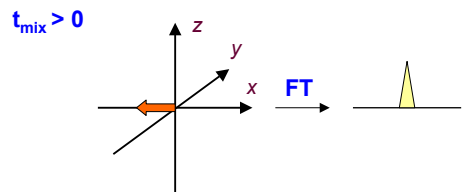
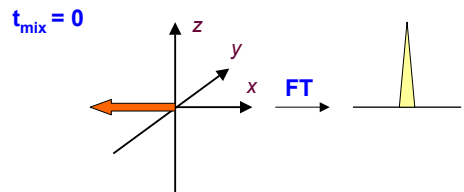
• Pulzní sekvence:



• Vektorová analýza po  $90_y$  pulzu:



# Spinové echo (pokračování)



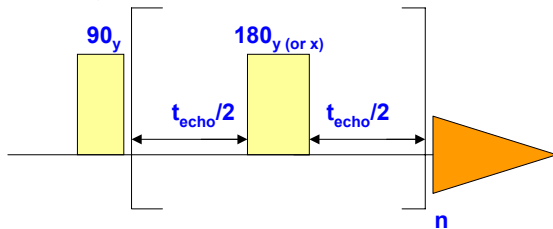
• V závislosti na mix získáme signál s měnící se intenzitou, který závisí na relaxačním času  $T_2$ .

## Metody měření relaxačních dob

Závislost signálu na  $t_{\text{mix}}$  je exponenciála klesající k nule.

$$I(t_{\text{mix}}) = I_0 * e^{-t_{\text{mix}} / T_2}$$

Nejlepší metoda pro měření  $T_2$  je **sekvence CPMG** (Carr, Purcell, Meiboom, Gill) – mnohonásobné spinové echo s konstantním echočasem a proměnným počtem cyklů  $n$ .



### Komplikace

Spinové echo je ovlivněno J-interakcí  
Velké množství pulzů – nutnost velmi přesné kalibrace pulzů, jinak vznikají artefakty.

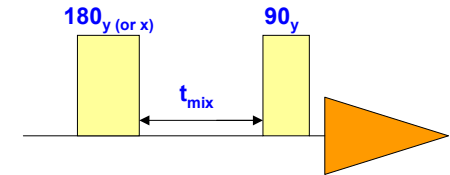
### Shrnutí

Přesné měření  $T_2$  patří ve skutečnosti mezi **obtížné** experimenty.

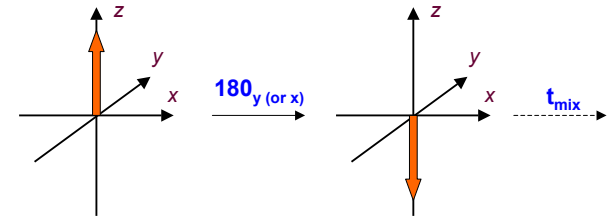
Spinové echo se velmi často používá jako **segment pulzních sekvencí** s jiným určením.

## Inversion recovery

- Podélná relaxační doba  $T_1$  – návrat po inverzi (inversion recovery).

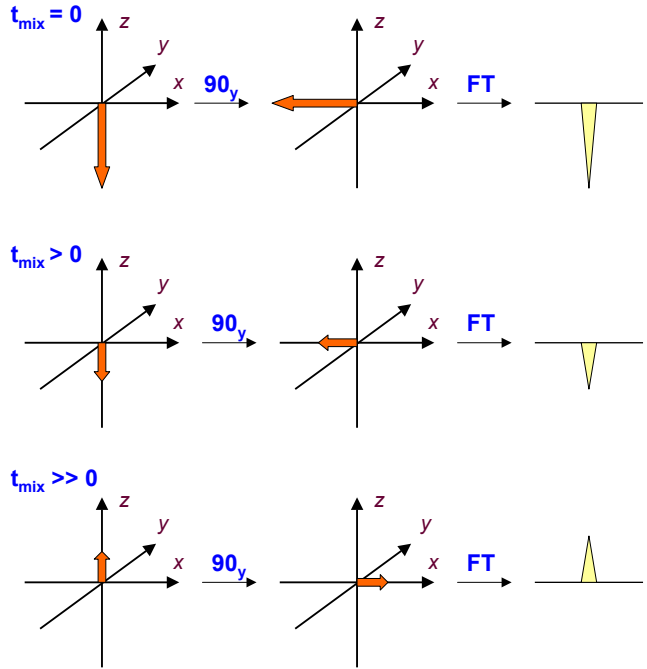


- Analýza pomocí vektorového modelu:



- Během směšovací periody  $t_{\text{mix}}$  necháme  $z$ -složku magnetizace relaxovat. Postupně v následných experimentech měníme délku  $t_{\text{mix}}$ .

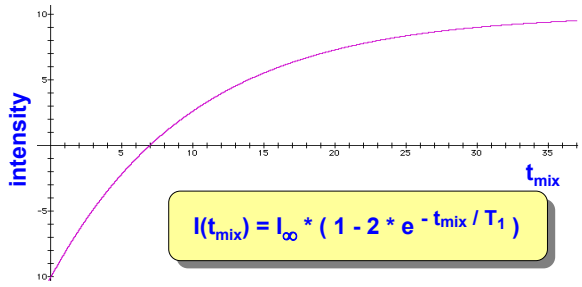
### Inversion recovery (pokračování)



• V závislosti na mix získáme signál s měnící se intenzitou, který závisí na relaxačním času  $T_1$ .

### Inversion recovery (pokračování)

• Když vyneseme závislost intenzity signálu na směšovací čas  $t_{mix}$ , dostaneme exponenciální závislost.



• Velmi robustní metoda – získaná hodnota  $T_1$  závisí velmi málo na přesné kalibraci pulzů (jen její statistická přesnost). Případně je vhodné nahradit faktor 2 ve vzorci proměnným parametrem.

Měřit raději  $T_1$  než  $T_2$  !!!!

## Relaxační mechanismy

K čemu je vůbec detailní znalost relaxací dobrá?

- a) Optimalizace NMR experimentů: optimální nastavení relaxační periody, která determinuje celkovou délku experimentu s více skeny.
- b) Nové informace o vzorku (geometrie molekuly, pohyblivost molekuly a funkčních skupin atd.).

Motivační otázky:

- Proč je někdy relaxační doba krátká, jindy dlouhá?
- Jak souvisí relaxační doby s velikostí molekuly, vzdáleností jednotlivých spinů, s druhem rozpouštědla?

- Každá interakce (působení) je charakterizována svým energetickým příspěvkem k celkové energii systému (celkové energii se ve fyzice říká **hamiltonián**).
- Základní interakcí, která je zodpovědná za jev NMR je **Zeemanova interakce**.

$$H = -\mu B_0$$

- Hamiltonián této interakce je v čase konstantní,  $\neq 0$ , a tedy je odlišný pro různá jádra (mají různé  $\mu$ ), a protože  $\omega = -\gamma B_0$ , mají i různé rezonanční frekvence.
- Další podobné interakce jsou **magnetické stínění** (způsobuje chemický posun) a **nepřímá spin-spinová** (J-coupling). Ve spektru je viditelný posun nebo štěpení, tedy interakce mění rezonanční frekvenci.

## Relaxační mechanismy (pokračování)

- Pro relaxaci mají význam ty interakce, které rychle fluktuují v čase a naopak mají **střední hodnotu = 0**. Proto **nepřispívají k chemickému posunu**.
- Některé z těchto interakcí mohou být i velmi silné.
- Jejich význam pro relaxaci tak závisí na jednak na jejich **síle (amplitudě)** a jednak na **charakteristických frekvencích jejich fluktuací**.

### • Interakce

Přímá dipól-dipólová (DD)

Paramagnetická (možná nejsilnější, jedním z dipólů je **elektronový spin**)

Anizotropie chemického stínění (CSA)

Kvadrupolární

Spin-rotační

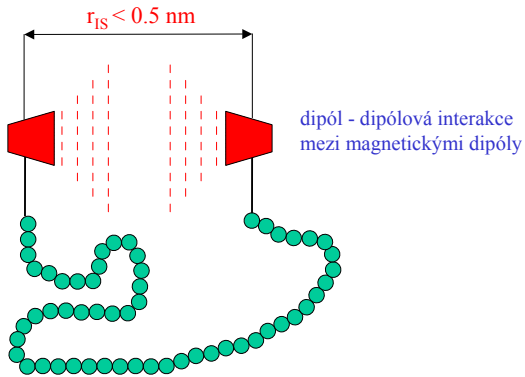
Skalární (J)

## Dipól-dipólová relaxace

- Přímá interakce mezi dvěma magnetickými dipóly
- Volně přes prostor (dosah cca 0.5 nm) – není ovlivněna chemickými vazbami, na rozdíl od nepřímé dipól-dipólové (J) interakce

$$K_{dip} = \left( \frac{\mu_0 \gamma_I \gamma_S \hbar}{8\pi^2} \right) r_{IS}^{-3}$$

- Velikost:

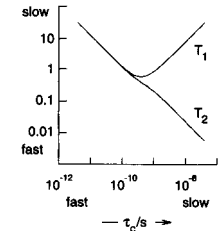


## Dipól-dipólová relaxace (pokračování)

- Zdroj fluktuací: pohyb spojnice dvou dipólů vzhledem k  $B_0$ , tedy rotační pohyb molekul a jejich částí.
- Nulová střední hodnota je v kapalných vzorcích způsobena právě rychlým rotačním pohybem.
- U pevných vzorků nebo u velkých molekul je velmi efektivní ve zkracování  $T_2$  (rozšíření čar), v případě nedokonalého středování i vliv na chemický posun.
- Z DD-relaxace můžeme zjistit:
  - I) Střední vzdálenost dvou dipólů.
  - II) Charakteristiky molekulárních rotačních pohybů (např. rotační korelační časy) – potřebujeme odhadnout typ pohybu (izotropní rotace rigidní kulové molekuly (adamantan) atd.).

Závislost  $T_1$ ,  $T_2$  na rotačním korelačním čase  $\tau_C$ .

Obrázek z publikace: P. J. Hore: Nuclear Magnetic Resonance, Oxford University Press, Oxford 1995.

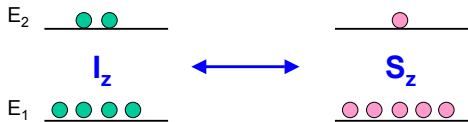


- Projevem dipól-dipólové interakce je nukleární Overhauserův efekt (NOE).



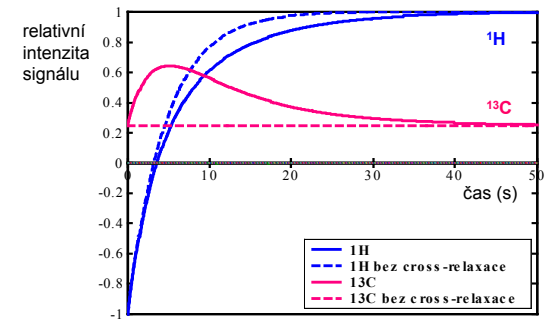
## Nukleární Overhauserův Efekt (NOE)

- NOE je typický případ, kde selhává představa mono-exponenciální podélné relaxace – jedná se o tzv. křížovou relaxaci, kdy změna stavu jednoho spinu (způsobená uměle nebo i jeho vlastní podélnou relaxací) ovlivňuje stav spinu druhého a naopak.
- NOE je nedílnou součástí podélné relaxace.
- NOE se nedá vysvětlit bez trochy kvantové mechaniky (str. 28). Kdo to nepřekousne, nechť se smíří s konstatováním, že u páru spinů vlivem vzájemné dipól-dipólové interakce stav  $z$ - složky magnetizace jednoho spinu v každém okamžiku ovlivňuje  $z$ -složku magnetizace partnera.
- Jedná se o skutečný přenos  $z$ -magnetizace = energie. V důsledku toho potom ve spektru vidíme změněné intenzity.



## Nukleární Overhauserův Efekt (NOE) pokrač.

- Příklad: relaxace izolovaného spinového páru  $^1\text{H}$  -  $^{13}\text{C}$  po převrácení spinu  $^1\text{H}$  do směru  $-z$ . ( $B_0 = 9,4 \text{ T}$ ,  $r_{\text{CH}} = 0,109 \text{ nm}$ ,  $\tau_C = 10 \text{ ps}$ ).

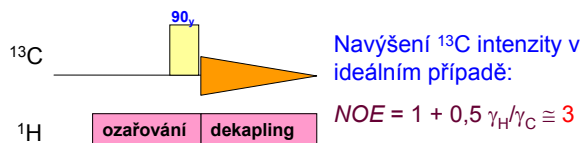


Pokud budeme měřit podélnou relaxaci za přítomnosti NOE, nebude exponenciální.

## Nukleární Overhauserův Efekt (NOE) pokrač.

- **NOE homonukleární** – např. mezi jádry  $^1\text{H}$
- **Přechodné**: RF pulzem vybudíme selektivně jeden spin interagujícího páru a pozorujeme přenos magnetizace na druhý spin. Množství přenesené magnetizace = energie závisí na délce směřovacího času = NOE je relaxační proces, takže k přenosu dochází v průběhu určitého času, ne okamžitě.
- **NOE heteronukleární** – např. mezi  $^{13}\text{C}$  a  $^1\text{H}$
- **Stacionární**: po dlouhou dobu selektivně ozařujeme jednoho partnera ( $^1\text{H}$ ) a následně změříme signál druhého spinu ( $^{13}\text{C}$ ).

Tak se normálně měří  $^{13}\text{C}$  spektra:



### Využití:

- Navýšení signálu málo citlivých jader ( $\gamma > 0$  !).
- Protože je to projev DD interakce, závisí na  $r^6$  - určení vzdálenosti spinů, a tedy určení geometrie molekuly v prostoru.
- Získání dynamické informace o rotačních pohybech molekuly.

## Nukleární Overhauserův Efekt (NOE) pokrač.

Podrobnější úvahy o rychlosti rotace molekuly a jejího vlivu na velikost NOE

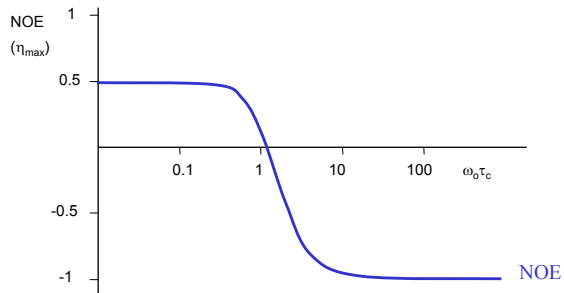
- Vždy se týká rychlosti rotace spojnice příslušného spinového páru (pro různé páry v molekule mohou mít spojnice různou rychlost).
- Jak rychlé pohyby ovlivní DD interakci?
  - I) na rezonanční frekvenci každého ze spinů
  - II) na součtu obou frekvencí
  - III) na rozdílu obou frekvencí
  - IV)  $T_2$ , NOE - také na nulové frekvenci – tj. velmi pomalé pohyby, chemická výměna.

## Nukleární Overhauserův Efekt (NOE) pokrač.

Výsledný vliv příspěvků má vliv na polaritu homonukleárního NOE ( $^1\text{H} - ^1\text{H}$ ):

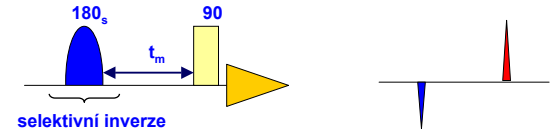
- 1) Malé molekuly -  $\omega\tau_c \ll 1$  (v praxi:  $\omega_H = 10^8 \text{ s}^{-1}$ ,  $\tau_c = 10^{-11} \text{ s}$ ) molekula rotuje rychle, NOE je kladné, tzv. limita extrémního zúžení.
- 2) Velké molekuly -  $\omega\tau_c \gg 1$  (v praxi:  $\omega_H = 10^8 \text{ s}^{-1}$ ,  $\tau_c = 10^{-8} \text{ s}$ ) molekula rotuje pomalu, NOE je záporné.
- 3) Středně velké molekuly – NOE je nulové nebo velmi malé.

Závislost homonukleárního NOE na  $\omega\tau_c$



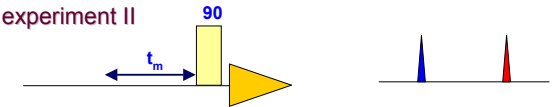
## Princip měření NOE

experiment I



$t_m$  směšovací čas - čas, ve kterém se buduje NOE

experiment II



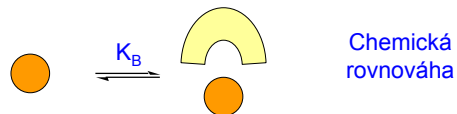
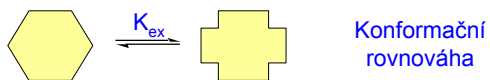
experiment I - experiment II

diferenční spektrum: odečtení 2 fidů (spekter)

- Intenzita červeného signálu odpovídá navýšení v důsledku NOE.

## Chemická výměna

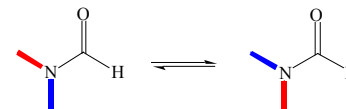
• zahrnuje všechny procesy, kdy sledované jádro přechází do jiného chemického okolí – tj. chemické reakce, konformační změny, mezomerní přechody, tvorbu komplexu apod.



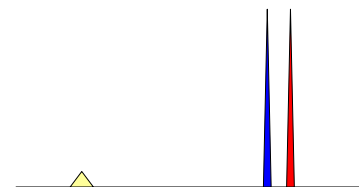
- Neřadí se přímo mezi relaxační mechanismy, ale velmi se jim podobá – místo samotné magnetizace nám po systému putuje celé jádro, včetně svého spinu.
- Důsledky i popis chemické výměny jsou velmi podobné spinové relaxaci.
- Vliv na z-složku magnetizace je matematicky téměř totožný s NOE.
- Na rozdíl od NOE má chemická výměna vliv i na příčnou složku magnetizace.

## Měření rychlostních konstant

• Příklad: inverze NN-dimethylformamidu:



• Máme výměnu mezi **červeným** a **modrým** methylem kvůli dvojnému charakteru amidické vazby. Oba methyly jsou chemicky a magneticky různé, takže NMR spektrum DMF obsahuje dva různé methylové signály:

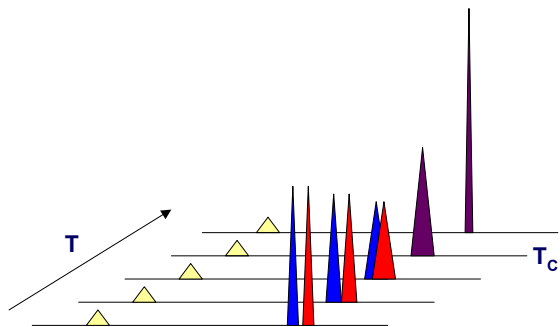


• To znamená, že rychlost výměny mezi dvěma místy je malá ve srovnání s relativní vzdáleností (v Hz) mezi rezonancemi obou míst (**červeného** a **modrého**):

$$k \ll \Delta\nu$$

## Měření rychlostních konstant (pokračování)

- Rychlost výměny závisí na  $\Delta G$  inverze, které je teplotně závislé. Rychlost inverze se zvýší při zvyšování teploty  $T$ . NMR spektra budou vypadat takto:



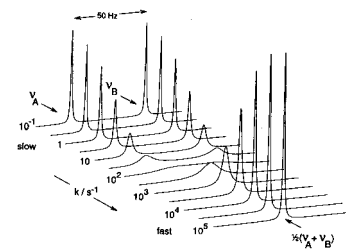
- Při **koalescenční teplotě** se rychlost  $k$  výměny mezi jednotlivými stavy stává srovnatelná s rozdílem chemických posunů (v Hz),

$$\text{při } T_c: k = \pi(\Delta\nu)/\sqrt{2}$$

- Chemická výměna ovlivňuje jak posun, tak tvar signálu a tedy má vliv na příčnou relaxaci

## Měření rychlostních konstant (pokračování)

- Realističtější obrázek: symetrická chemická výměna mezi dvěma stavy - závislost NMR spekter na teplotě:



Obrázek z publikace: P. J. Hore: Nuclear Magnetic Resonance, Oxford University Press, Oxford 1995.

Pro chemickou výměnu rozlišujeme dva režimy vzhledem k rozdílu chemických posunů (v Hz) dvou vyměňujících stavů

$k \ll \Delta\nu$       **pomalá výměna**

$k \gg \Delta\nu$       **rychlá výměna**

Protože je rozdíl chemických posunů v Hz a nikoli v ppm, je tento rozdíl závislý na magnetickém poli (při 200 MHz: 1 ppm = 200 Hz, při 500 MHz: 1 ppm = 500 Hz), může být chemická výměna  $k = 350$  Hz v prvním případě rychlá a v druhém pomalá. Proto při klasifikaci chemické výměny je třeba stanovit rezonanční frekvenci.

## Časové škály v NMR

$k \ll \Delta\nu$	pomalá výměna
$k \gg \Delta\nu$	rychlá výměna

Navíc, existuje celá řada důležitých časových režimů:

$10^{-12} - 10^{-8}$  s molekulární rotace

$10^{-8}$  s – Larmorova precese

$> 10^{-7}$  s – chemická výměna

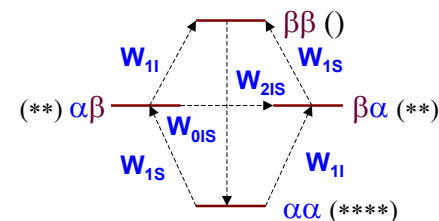
$> 10^{-3}$  s – spinová relaxace

Oblíbená věta: “Chemická výměna je rychlá v NMR škále.” je bez specifikace rezonanční frekvence **nesmysl!** I tak ale udává jen dolní limit pro rychlostní konstantu – chemickou výměnou indukovaný posun zpravidla nepřesahuje cca 5 ppm, při 500 MHz potom  $k > 2500$  Hz.

Pojem časové škály se pro různé jevy v NMR liší, proto je třeba vždy specifikovat přesně, o které škále se mluví.

V případě chemické výměny např.: **Rychlá výměna v časové škále dané  $^1\text{H}$  chemickým posunem při rezonanční frekvenci 500 MHz.**

Energetický diagram dvouspinového systému:



- **W** je pravděpodobnost přechodu mezi hladinami. Pro systém v rovnováze máme **W<sub>11</sub>** a **W<sub>1S</sub>** přechody, které jsou jedнокvantové.
- **W<sub>01S</sub>** a **W<sub>21S</sub>** jsou **nul-** and **dvou kvantové** přechody, které jsou zakázané a mají mnohem menší pravděpodobnost.
- Intenzita pozorovaného signálu spinů **I, S** je dána kombinací součinů jednotlivých pravděpodobností přechodu **W** a populací příslušných hladin.
- Je zřejmé, že změna populací hladin spinu **S** ovlivní počet přechodů (= intenzitu signálu) spinu **I** a opačně.