

## فصل پنجم

### اسپکتروسکوپی رزونانس مغناطیسی هسته<sup>۱</sup> (NMR)

#### ۵-۱. تئوری NMR:

خواص اصلی پروتون عبارتند از جرم، بار و اسپین ( $I$ ). برخلاف اسپین الکترون که می‌تواند برابر  $\frac{1}{2}$  ( $S = \frac{1}{2}$ ) باشد،  $I$  می‌تواند صفر، عدد صحیح و یا نیمه صحیح<sup>۲</sup> باشد و مقدار  $I$  بستگی به نوع هسته دارد. چون حرکت اسپینی یک ذره باردار تولید یک میدان مغناطیسی می‌کند، هسته‌هایی که اسپین غیر صفر دارند ( $I \neq 0$ )، دارای گشتاور دوقطبی مغناطیسی ( $\mu_I$ ) خواهند بود. وقتی چنین هسته‌هایی در یک میدان مغناطیسی خارجی قرار گیرند، انرژی میان کنش بین گشتاور دوقطبی مغناطیسی و میدان مغناطیسی خارجی توسط رابطه (۵-۱) زیر داده می‌شود:

$$E = -\mu_I H \cos \theta \quad (5-1)$$

که در آن،  $\mu_I$  گشتاور دوقطبی مغناطیسی،  $H$  میدان مغناطیسی خارجی و  $\theta$  زاویه بین بردارهای  $H$  و  $\mu_I$  است. علامت منفی نیز نشان‌دهنده نیروی جاذبه می‌باشد. از نظر تئوری مغناطیس کلاسیک،  $\theta$  می‌تواند هر زاویه‌ای باشد و در نتیجه  $E$  به طور مداوم و پیوسته تغییر می‌کند. ولی مکانیک کوانتوم جهت‌یابی‌های  $\mu_I$  را در میدان مغناطیسی خارجی محدود می‌کند و این جهت‌یابی‌ها توسط عدد کوانتایی اسپین هسته ( $M_I = \pm \frac{1}{2}$ ) مشخص می‌شود. بر طبق تئوری مکانیک کوانتم، انرژی بین میدان مغناطیسی خارجی و گشتاور دوقطبی مغناطیسی توسط رابطه زیر تعیین می‌شود:

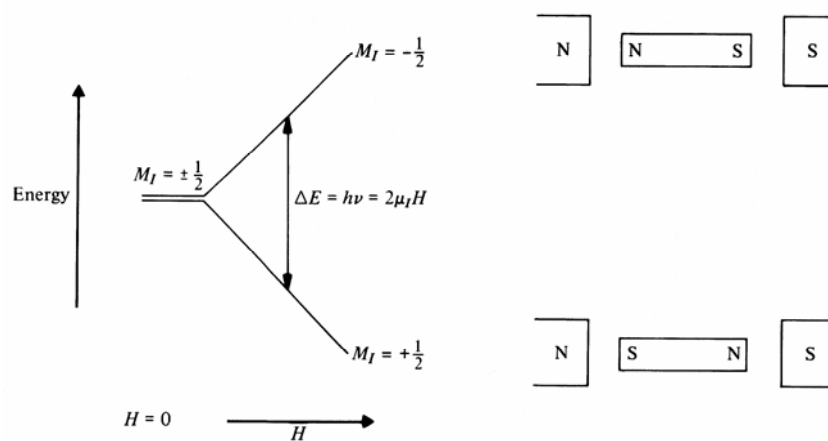
$$E = -\frac{\mu_I}{I} H M_I \quad (5-2)$$

در غیاب میدان مغناطیسی خارجی (یعنی وقتی  $H = 0$ )، این دو جهت‌یابی دارای مقدار یکسانی از انرژی هستند ولی در حضور میدان مغناطیس خارجی، هم‌سطح بودن انرژی<sup>۳</sup> از بین می‌رود. شکسته شدن<sup>۴</sup> سطوح انرژی با نمایش کلاسیک مشابه آن در شکل (۵-۱) نشان داده شده است:

<sup>۱</sup> Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

<sup>۲</sup> Half-Integer

<sup>۳</sup> Degeneracy



**شکل (۱-۵):** شرایط رزونانس برای یک اسپین هسته‌ای در حضور یک میدان مغناطیسی خارجی. شمای سمت چپ توصیف مکانیک کوانتوم و شمای سمت راست توصیف مکانیک کلاسیک است.

حال اگر هسته به وسیله تابشی با فرکانس مناسب مورد تابش قرار گیرد به طوری که انتقال از سطح انرژی پایین‌تر به سطح انرژی بالاتر روی دهد، اختلاف انرژی بین دو سطح برابر خواهد بود با:

$$\Delta E = E_r - E_l = h\nu = 2\mu_I H \quad (۳-۵)$$

چنین انتقالی، رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) نامیده می‌شود. در جدول (۱-۵) نام چندین هسته که در تکنیک NMR به کار می‌روند، نشان داده شده است:

<sup>‡</sup> Splitting

جدول (۱-۵): هسته های مناسب برای مطالعه رزونانس مغناطیسی هسته.

ایزوتوپ	اسپین هسته‌ای ( $I$ )	درصد فراوانی طبیعی
$^1\text{H}$	$\frac{1}{2}$	۹۹/۹۸۵
$^{13}\text{C}$	$\frac{1}{2}$	$1/5 \times 10^{-2}$
$^{14}\text{N}$	۱	۹۹/۶۳
$^{15}\text{N}$	$\frac{1}{2}$	۰/۳۷
$^{17}\text{O}$	$\frac{5}{2}$	$3/7 \times 10^{-2}$
$^{19}\text{F}$	$\frac{1}{2}$	۱۰۰
$^{31}\text{P}$	$\frac{1}{2}$	۱۰۰

#### ۵-۲. اسپکترومتر NMR:

یک دستگاه اسپکترومتر NMR دارای بخش‌های اصلی به شرح زیر می‌باشد:

- ۱- یک منبع تابش
  - ۲- یک سیم‌پیچ دریافت‌کننده جهت آشکار ساختن جذب انرژی
  - ۳- یک میدان مغناطیسی DC
  - ۴- یک ثبات و یا اسپیلوسکوپ برای نشان دادن سیگنال‌ها
- روش کار بدین صورت است که لوله حاوی نمونه در بین دو قطب یک مغناطیس که حدود ۱۴۰۰۰ گاوس<sup>۵</sup> (G) کار می‌کند، قرار داده می‌شود (در سیستم SI واحد قدرت میدان مغناطیسی تسلا<sup>۶</sup> (T) می‌باشد و  $1 \text{ T} = 10000 \text{ G}$ ). این شدت میدان برای پروتون‌ها مطابق با فرکانس  $6 \times 10^7 \text{ Hz}$  یا ۶۰ MHz است. چنین فرکانسی در محدوده فرکانس امواج رادیویی قرار دارد. بر طبق معادله (۵-۳)،

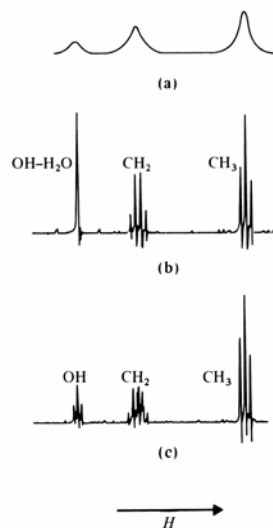
<sup>۵</sup> Gauss

<sup>۶</sup> Tesla

دو متغیر وجود دارد، فرکانس ( $\nu$ ) و شدت میدان مغناطیسی خارجی ( $H$ ). از نظر تجربی بهتر است فرکانس ثابت نگه داشته شود و  $H$  تغییر داده شود تا شرایط رزونانس مهیا گردد. سپس جذب انرژی توسط هسته تعقیب شده، تقویت می گردد و توسط یک ثبات و یا اسیلوسکوپ نمایش داده می شود. چون بسیاری از مواد حاوی اتم‌های هیدروژن می باشند،  $^1\text{H NMR}$  یا  $^y\text{PMR}$  پرکاربردترین تکنیک NMR محسوب می شود.

### ۳-۵. طیف NMR اتانول:

طیف NMR اتانول در شکل (۲-۵) نشان داده شده است. همان طور که در بخش a این شکل مشاهده می گردد، طیف NMR اتانول دارای سه پیک با نسبت ۱:۲:۳ می باشد که به ترتیب مربوط به پروتون گروه‌های  $-\text{CH}_3$ ،  $-\text{CH}_2$  و  $-\text{OH}$  است. سطح زیر هر پیک نیز نشان‌دهنده تعداد اسپین‌های هسته ای است. وجود سه پیک مجزا نشان می دهد که میدان مغناطیسی  $H$  برای هر نوع هسته متفاوت از میدان مغناطیسی خارجی  $H_0$  است.



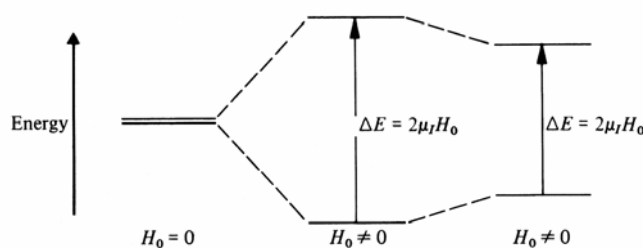
شکل (۲-۵): (a) قدرت تفکیک پایین و (b) قدرت تفکیک بالای طیف  $^1\text{H NMR}$  اتانول. (c) طیف  $^1\text{H NMR}$  اتانول بسیار خالص.

<sup>y</sup> Proton Magnetic Resonance

$$H = H_0 - H_0\sigma \quad (4-5) \quad \text{می‌توانیم بنویسیم:}$$

$$H = H_0(1 - \sigma) \quad (5-5) \quad \text{و یا}$$

که در این معادله،  $H$  میدان مغناطیسی خارجی احساس شده توسط پروتون‌ها،  $H_0$  میدان مغناطیسی خارجی اعمال شده و  $\sigma$  یک کمیت بدون دیمانسیون است که ثابت مانع<sup>۸</sup> نامیده می‌شود. به طور کلی  $\sigma$  یک عدد کوچک (حدود  $10^{-5}$  برای پروتون‌ها) است که بزرگی آن بستگی به آرایش الکترونی در اطراف هسته دارد. حالت رزونانسی تغییر یافته در شکل (۳-۵) نشان داده شده است:



شکل (۳-۵): اثر محافظتی الکترون بر شرایط رزونانس مغناطیسی هسته.

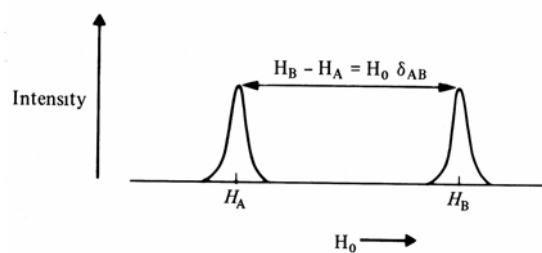
در این شکل اثر محافظتی یا سپری الکترون<sup>۹</sup> بر روی شرایط رزونانس مغناطیسی هسته نشان داده شده است. اثر محافظتی یا سپری الکترون ناشی از این حقیقت است که میدان مغناطیسی حاصل از اسپین الکترون‌ها مخالف میدان مغناطیسی خارجی است و از اینرو میدان مغناطیسی خارجی احساس شده توسط پروتون کم می‌شود.

<sup>۸</sup> Screening Constant

<sup>۹</sup> Electron Shield Effect

۴-۵. جابجایی شیمیایی<sup>۱۰</sup>:

طیفی را در نظر بگیرید که دارای دو خط است و حضور این دو خط، نشان‌دهنده وجود دو نوع پروتون A و B می‌باشد (شکل ۴-۵):



شکل (۴-۵): جابجایی نسبی بین هسته‌های A و B.

میدان‌های مغناطیسی در A و B توسط روابط زیر نشان داده می‌شود:

$$H_A = H_0(1 - \sigma_A) \quad (۶-۵)$$

$$H_B = H_0(1 - \sigma_B) \quad (۷-۵)$$

که در این روابط،  $\sigma_B$  و  $\sigma_A$  ثابت‌های مانع برای به ترتیب هسته‌های A و B است. جدایی بین این دو خط توسط تفاضل زیر داده می‌شود:

$$H_B - H_A = H_0(1 - \sigma_B) - H_0(1 - \sigma_A) = H_0(\sigma_A - \sigma_B) = H_0\delta_{AB} \quad (۸-۵)$$

$\delta_{AB}$  را جابجایی شیمیایی A نسبت به B یا B نسبت به A می‌نامند. جدایی بین A و B به طور مستقیم متناسب با  $H_0$  است. به عنوان مثال، اگر این دو خط در اسپکترومتری که در ۶۰ MHz کار می‌کند توسط ۱۰۰ Hz از هم جدا شده باشند، این جدایی برابر با  $100 \times \frac{220}{60}$  Hz یا ۳۶۶/۷ Hz برای اسپکترومتری خواهد بود که در ۲۲۰ MHz کار می‌کند. در کارهای NMR مرسوم است که

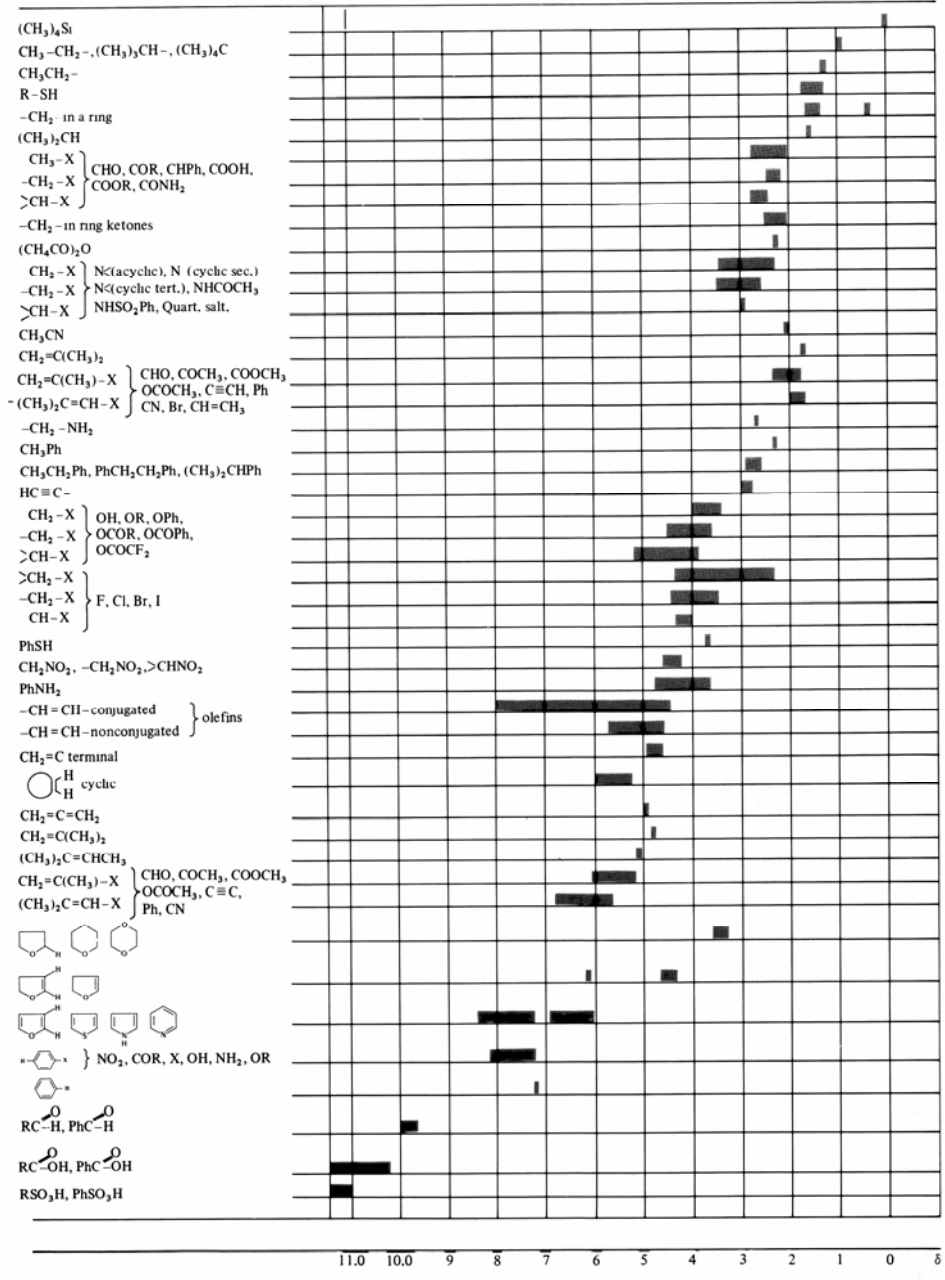
<sup>۱۰</sup> Chemical Shift

میدان مغناطیسی را برحسب فرکانس و نه بر حسب گاوس بیان کنند و  $1G = 2/83 \times 10^6 \text{ Hz}$  می‌باشد.

در مورد طیف NMR اتانول دیدید که پروتون‌های متفاوت در میدان‌های مغناطیسی متفاوت جذب انرژی می‌کنند. بنابراین مناسب خواهد بود که یک ترکیب مشترک به عنوان مرجع جابجایی شیمیایی در نظر گرفته شود. ترکیب انتخاب شده برای بیشترین موارد در سیستم‌های آلی، تترامتیل سیلان (TMS) می‌باشد زیرا این ماده  $((\text{CH}_3)_4\text{Si})$  دارای دوازده پروتون از یک نوع است و در نتیجه مقدار کمی از آن به عنوان یک مرجع داخلی مورد نیاز می‌باشد. همچنین از نظر شیمیایی خنثی است و پروتون‌های آن دارای میدان مغناطیسی رزونانسی بالاتری نسبت به دیگر پروتون‌ها می‌باشند. به عبارت دیگر پروتون‌های TMS بیش از هر پروتون دیگری محافظت می‌شوند و در نتیجه در منتهی‌الیه سمت راست کاغذ ثبت‌کننده ظاهر می‌گردند. مقیاس عملی جابجایی شیمیایی توسط معادله (۵-۹) تعریف می‌شود:

$$\delta = \frac{H_{\text{sample}} - H_{\text{TMS}}}{H_{\text{TMS}}} \times 10^6 \text{ ppm} \quad (9-5)$$

چون فرکانس رزونانس نمونه ( $H_{\text{sample}}$ ) و فرکانس رزونانس مرجع ( $H_{\text{TMS}}$ ) تنها به اندازه حدود ۱۰۰ Hz با هم تفاوت دارند، در حالی که مقادیر آنان در مرتبه ۶۰ MHz است، این نسبت در فاکتور  $10^6$  ضرب می‌شود تا  $\delta$  عدد مناسبی برای کار با آن باشد. از اینرو عموماً  $\delta$  بر حسب بخش در میلیون (ppm) بیان می‌گردد. شکل (۵-۵) مقادیر جابجایی شیمیایی را برای انواع مختلف پروتون‌ها نشان می‌دهد. موقعیت پیک TMS بر روی کاغذ به عنوان صفر قرار داده شده و موقعیت بقیه پیک‌ها نسبت به TMS سنجیده می‌شود.

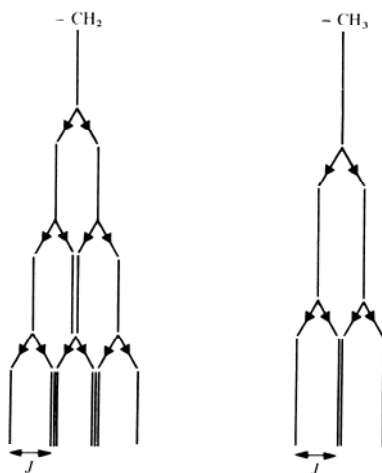


شکل (۵-۵): نمودار جایابی شیمیایی ترکیبات آلی مختلف.



**۵-۵. شکاف اسپین-اسپین<sup>۱۱</sup>:**

در قدرت تفکیک بالا<sup>۱۲</sup>، طیف اتانول به صورت شکل (۵-۲-b) در می آید. پیک های  $\text{CH}_2$ - و  $\text{CH}_3$ - در واقع از به ترتیب ۴ و ۳ خط با شدت های نسبی ۱:۳:۳:۱ و ۱:۲:۱ تشکیل شده اند. فاصله بین هر دسته از خطوط مستقل از فرکانس اسپکترومتر است و از اینرو نمی تواند اثر جابجایی شیمیایی باشد. علت این امر آن است که پروتون های هر گروه نه تنها با میدان مغناطیس خارجی میان کنش می کنند، بلکه با میدان های مغناطیسی محلی نیز که توسط پروتون های گروه مجاور ایجاد می شوند میان کنش می کنند. چون برای هر اسپین هسته ای دو جهت یابی فضایی محتمل است، پیک گروه متیل توسط اولین پروتون در گروه متیلن به دو خط شکافته می شود. هر یک از این دو خط سپس توسط پروتون دوم در گروه متیلن شکافته شده و مجموعاً چهار خط مشاهده می گردد. ولی تنها سه خط مشاهده خواهد شد زیرا دو تا از خط ها بر روی یکدیگر قرار می گیرند. همچنین به همین طریق چهار خط برای گروه  $\text{CH}_2$ - بدست می آید. فاصله جدایی بین خطوط در هر گروه، ثابت جفت شدن اسپین-اسپین<sup>۱۳</sup> ( $J$ ) نامیده می شود که بزرگی آن توسط شدت این میان کنش مغناطیسی تعیین می گردد (شکل ۵-۶):



**شکل (۵-۶):** شکاف اسپین-اسپین بین گروه های متیلن و متیل در اتانول. ثابت جفت شدن در هر دو مورد یکسان است.

<sup>۱۱</sup> Spin-Spin Splitting

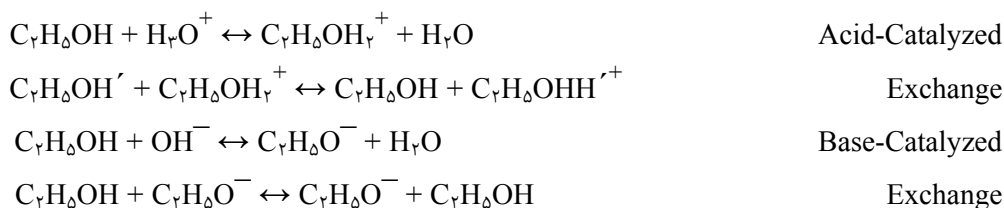
<sup>۱۲</sup> High Resolution

<sup>۱۳</sup> Spin-Spin Coupling Constant

تئوری فرض می‌کند که پروتون‌های درون یک گروه و یا پروتون‌هایی که جابجایی شیمیایی مشابهی دارند، بدین طریق با هم میان‌کنش نمی‌کنند.

طیف اتانول هنوز به طور کامل توصیف نشده است زیرا میان‌کنش اسپین-اسپین بین متیلن و گروه هیدروکسیل نیز باید به حساب بیاید. در واقع، در اتانول خالص پیک هیدروکسیل توسط گروه متیلن به ۱:۲:۱ شکافته می‌شود و سپس هر یک از چهار خط در گروه متیلن توسط پروتون هیدروکسیل به یک دابلت<sup>۱۴</sup> با شدت معادل شکافته می‌شوند (شکل ۵-۲-۷). فاصله جدایی بین گروه‌های -OH و -CH<sub>۲</sub>- خیلی بزرگتر از آن است که بتوان شکافته شدن آنها را مشاهده نمود.

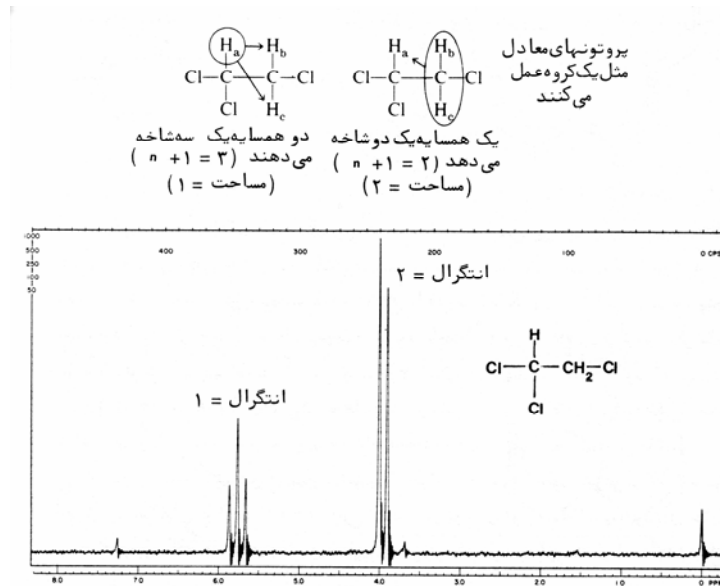
اگر مقدار کمی اسید و یا باز حضور داشته باشد، یک واکنش سریع مبادله پروتون یا یون هیدروکسید بین گروه -OH و H<sub>۲</sub>O انجام می‌شود که به طور موثری میان‌کنش اسپین-اسپین را از میان برمی‌دارد. واکنش‌های مبادله‌ای یا تعویضی صورت گرفته به صورت زیر می‌باشد:



#### ۵-۶. قاعده (n+1) شکاف اسپین-اسپین:

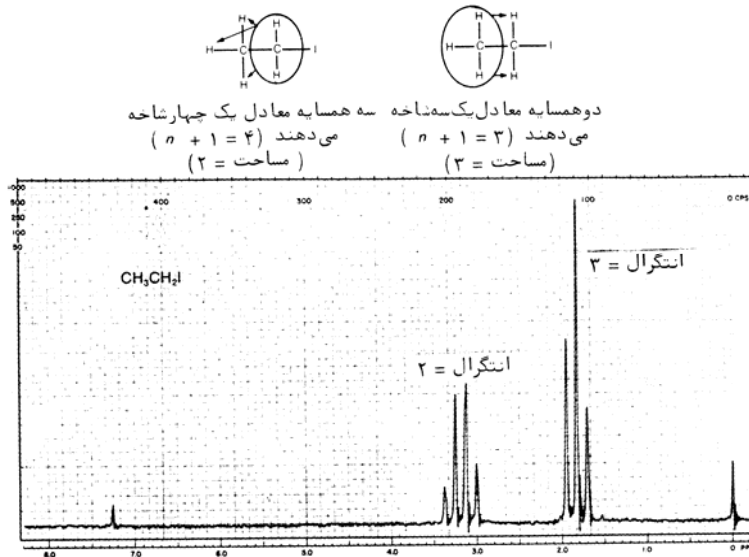
در اکثر موارد، پروتون‌هایی که بر روی کربن‌های مجاور هستند می‌توانند ایجاد شکاف کنند و بر روی هم اثر بگذارند. NMR با استفاده از تغییر مکان شیمیایی و انتگرال، اطلاعاتی در مورد نوع و تعداد پروتون‌های یک مولکول در اختیار قرار می‌دهد. اطلاعات دیگر ناشی از شکاف اسپین-اسپین است. بر اساس قاعده (n+1)، اگر پروتون متصل به یک اتم کربن را n در نظر بگیریم، پروتون‌های متصل به اتم کربن دیگر آن را به صورت n+1 شاخه احساس خواهند کرد. مثلاً، طیف NMR ۱و۱-۲ تری کلرواتان دارای یک سه شاخه و یک دو شاخه است (شکل ۵-۷):

<sup>۱۴</sup> Doublet



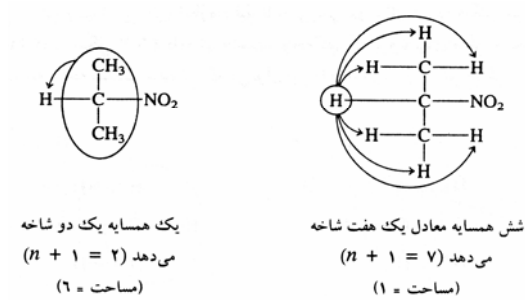
شکل (۷-۵): طیف  $^1\text{H}$  NMR ۱ و ۲-تری کلرواتان (۶۰ MHz).

طیف NMR یدید اتیل نیز از یک سه شاخه و یک چهار شاخه تشکیل شده است (شکل ۸-۵):



شکل (۸-۵): طیف  $^1\text{H}$  NMR یدید اتیل (۶۰ MHz).

طیف  $^1\text{H NMR}$  ۲- نیترو پروپان نیز دارای یک هفت شاخه و یک دو شاخه می‌باشد:



در جدول (۲-۵) تعدادی از طرح‌های شکاف اسپین-اسپین معمول نشان داده شده است:

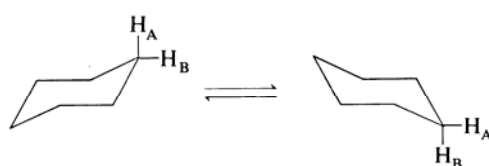
جدول (۲-۵): تعدادی از طرح‌های شکاف مشاهده شده.

ll	$\text{X}-\overset{ }{\text{CH}}-\overset{ }{\text{CH}}-\text{Y}$ ( $\text{X} \neq \text{Y}$ )	ll
ll	$-\text{CH}_2-\overset{ }{\text{CH}}$	lll
lll	$\text{X}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Y}$ ( $\text{X} \neq \text{Y}$ )	lll
ll	$\text{CH}_3-\overset{ }{\text{CH}}$	llll
lll	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-$	llll
ll	$\left\{ \begin{array}{l} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \right\} \text{CH}-$	lllll

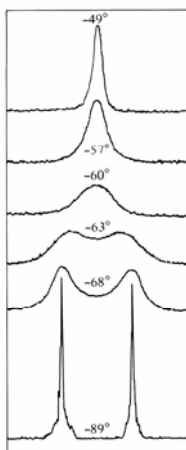
#### ۵-۷. کاربردهای NMR:

تکنیک NMR به ویژه در شناسایی ترکیبات شیمیایی بسیار مفید است. با اندازه‌گیری جابجایی‌های شیمیایی و ثابت‌های جفت شدن اسپین-اسپین می‌توان نوع پروتون‌های حاضر در یک ترکیب و همچنین آرایش اتم‌ها در مولکول را استنتاج نمود. میان کنش اسپین-اسپین آنالیز طیف NMR

مولکول‌های بزرگ را کاملاً پیچیده می‌کند. خوشبختانه  $^{12}\text{C}$  و  $^{16}\text{O}$  که ایزوتوپ‌های فراوان کربن و اکسیژن در طبیعتند، دارای اسپین صفر می‌باشند. تکنیک NMR همچنین برای مطالعه فرآیندهای سرعتی شیمیایی از قبیل واکنش معاوضه پروتون، چرخش حول یک پیوند منفرد و یا وارونگی  $^{15}\text{H}$  حلقه مناسب می‌باشد. تغییر بنای فضایی سیکلوهگزان را در شکل زیر در نظر بگیرید:



طیف PMR سیکلوهگزان به واسطه میان کنش‌های اسپین-اسپین پیچیده است. به وسیله روشی که بنام تجزیه یا عدم تزویج اسپین  $^{16}$  موسوم است، می‌توان این میان کنش‌ها را از میان برد که در این صورت دو خط مشاهده خواهد شد که مربوط به پروتون‌های محوری و استوایی سیکلوهگزان است. در  $50^\circ\text{C}$  - فرکانس وارونگی حلقه چنان بزرگ است که دستگاه اسپکترومتر تنها می‌تواند سیگنال میانگین حاصل از دو نوع پروتون را ثبت کند. با پایین آوردن دما، پیک ابتدا پهن شده و نهایتاً به دو خط با شدت یکسان شکافته می‌شود (شکل ۵-۹):



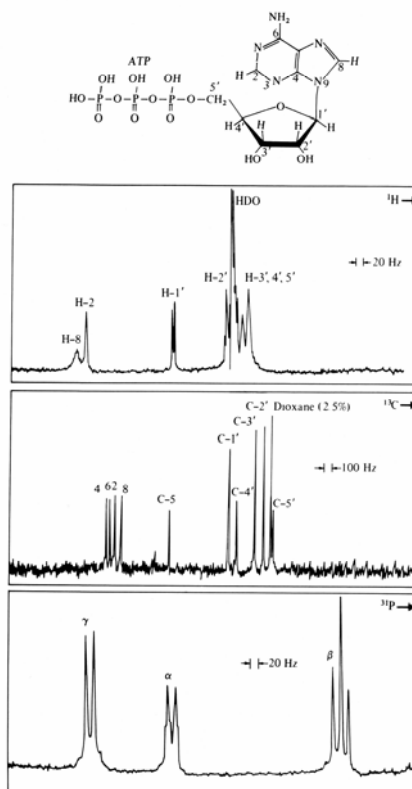
شکل (۵-۹): طیف  $^1\text{H}$  NMR سیکلوهگزان دوتریه ( $\text{C}_6\text{D}_{11}\text{H}$ ) در دماهای مختلف (درجه سانتیگراد).

<sup>۱۵</sup> Inversion

<sup>۱۶</sup> Spin Decoupling

با آنالیز پهنای خط و همچنین شکل آن، مقدار انرژی فعال‌سازی وارونگی حلقه حدود  $42 \text{ kJ.mol}^{-1}$  تعیین شده است.

طیف  $^{13}\text{C}$  NMR اهمیت قابل توجهی در مطالعه مولکول‌های بیولوژیک پیدا کرده است زیرا ایزوتوپ  $^{13}\text{C}$  از نظر طبیعی فراوان نیست و گشتاور مغناطیسی کوچکتری دارد. ثبت طیف  $^{13}\text{C}$  برای بیشتر ترکیبات مشکل است ولی با استفاده از روشی بنام اسپکتروسکوپی ترانسفورم فوریه  $^{13}\text{C}$  می‌توان اسکن‌های مکرر متعددی را در یک دوره زمانی کوتاه انجام داد و سیگنال‌ها را بدست آورد. در شکل (۵-۱۰) طیف  $^1\text{H}$  NMR،  $^{13}\text{C}$  و  $^{31}\text{P}$  مولکول کوچک ATP نشان داده شده است:



شکل (۵-۱۰): طیف رزونانس مغناطیسی هسته‌های  $^1\text{H}$ ،  $^{13}\text{C}$  و  $^{31}\text{P}$  آدنوزین-۵' تری فسفات.