

# **Krátký kurs NMR spektroskopie**

Miloš Buděšínský

UOCHB AV ČR

Praha 2003

## ZÁKLADNÍ POJMY Z NMR SPEKTROSKOPIE

\* základní stavební částice atomů - protony, neutrony a elektrony - rotují kolem vlastní osy a mají tedy moment hybnosti  $p$  (označovaný jako spin)

\* v jádrech izotopů se sudým počtem protonů i neutronů jsou spiny částic spárovány, takže výsledný spin jádra, charakterizovaný spinovým kvantovým číslem  $I$ , je nula. Taková jádra (např.  $^{12}\text{C}$ ,  $^{16}\text{O}$ ) nemají magnetický moment a neposkytují NMR signály.

\* jádra s lichým počtem protonů, neutronů či obou typů částic nemají spiny spárovány a jejich  $I > 0$ . Protože pohyb elektricky nabitě částice po uzavřené dráze je spojen se vznikem magnetického pole, mají jádra s  $I > 0$  (např.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{17}\text{O}$ ) vlastní magnetický moment

$$\mu = \gamma p$$

\* magnetogyrický poměr  $\gamma$  je konstanta, charakteristická pro daný izotop.

\* umístíme-li jádro s  $I > 0$  do statického magnetického pole  $B_0$ , bude výsledkem jeho silového působení precesní pohyb vektoru magnetického momentu jádra  $\mu$  kolem směru  $B_0$  s kruhovou frekvencí

$$\omega_0 = \gamma B_0,$$

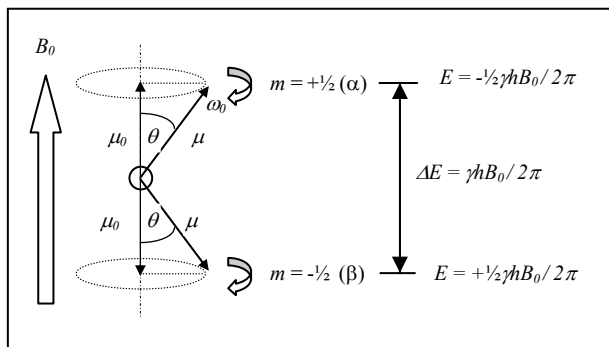
označovanou jako Larmorova precesní frekvence.

\* z kvantové mechaniky plyne, že precesující vektor  $\mu$  může zaujmout celkem  $2I + 1$  orientací, lišících se úhlem  $\theta$  mezi  $\mu$  a  $B_0$ . Jednotlivým orientacím odpovídají složky magnetického momentu ve směru pole

$$\mu_0 = \mu \cos \theta = \gamma \hbar m / 2\pi,$$

kde  $m$  je magnetické kvantové číslo jádra (s hodnotami  $I, I-1, \dots, -I$ ) a  $\hbar$  je Planckova konstanta. Každé orientaci přísluší hodnota energie

$$E = -\mu_0 B_0 = -\gamma \hbar m B_0 / 2\pi.$$



Obr. 1 Jádro se spinem  $I = 1/2$  ve statickém poli  $B_0$ .

Pro jádra se spinem  $I$  existuje tudíž  $2I+1$  ekvidistančních energetických hladin (Zeemanovy hladiny) s

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0 / 2\pi.$$

Pro jádro se spinem  $I = 1/2$  (např.  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) je situace ukázána na obr. 1. Je-li  $m = +1/2$  pak  $\mu_0$  je paralelní vůči poli  $B_0$  což odpovídá energeticky výhodnější orientaci (označované jako stav  $\alpha$ ), zatímco je-li  $m = -1/2$  pak  $\mu_0$  je anti-paralelní vůči  $B_0$  což odpovídá energeticky nevýhodnější orientaci (označované jako stav  $\beta$ ).

### Jaderná rezonance a NMR signál

\* přechody mezi energetickými hladinami mohou být vyvolány oscilujícím magnetickým polem  $B_1$  s vhodnou frekvencí  $\nu$ , jejíž hodnotu lze odvodit porovnáním Einsteinova vztahu

$$\Delta E = h \nu$$

s výrazem pro rozdíl energetických hladin jader

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0 / 2\pi.$$

Tak získáme výrazy pro frekvenci  $\nu$  a odpovídající kruhovou frekvenci  $\omega$

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi \text{ [Hz]}$$

$$\omega = \gamma B_0 \text{ [rad]}.$$

K vyvolání přechodů mezi energetickými hladinami jader je tedy třeba oscilujícího pole  $B_1$  s kruhovou frekvencí rovnou Larmorově precesní frekvenci jádra (tzv. rezonanční podmínka).

\* pro jádra daného izotopu je tedy rezonanční frekvence závislá na použitém poli  $B_0$  zatímco pro jádra různých izotopů v daném poli  $B_0$  jsou jejich rezonanční frekvence úměrné  $\gamma$  hodnotám izotopů.

\* umístíme-li makroskopický soubor stejných jader se spinem  $1/2$  do magnetického pole  $B_0$ , zaujmou vektory magnetických momentů  $\mu$  dvě dovolené orientace vůči  $B_0$  a budou vykonávat precesní pohyb s frekvencí  $\omega_0$ . Populace jader na energetických hladinách jsou dány Boltzmannovým zákonem:

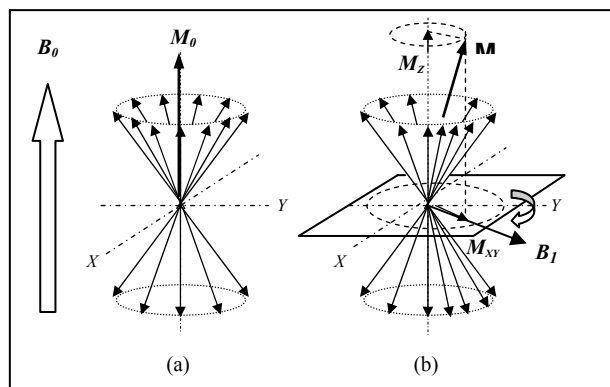
$$n_\alpha / n_\beta = e^{\Delta E / k_B T},$$

kde  $n_\alpha$  a  $n_\beta$  jsou populace jader na energeticky nižší a vyšší hladině,  $\Delta E$  je energetický rozdíl mezi hladinami,  $k_B$  je Boltzmannova konstanta a  $T$  je absolutní teplota.

\* protože  $\Delta E$  je i při vysokých polích  $B_0$  velmi malá ( $< 4$  Joule), existuje v rovnovážném stavu velmi malý přebytek jader na nižší hladině (např. pro vodíky v poli  $B_0 = 10$

Tesla a při  $T = 300\text{ K}$  je poměr  $n_\alpha / n_\beta$  roven 1.000006). Důsledkem tohoto malého přebytku je nenulová magnetizace  $M_0$  ve směru  $B_0$  (podélná magnetizace obr. 2a).

\* **RF-puls** (pomocí oscilujícího magnetického pole  $B_1$  v rovině kolmé k  $B_0$ ) s frekvencí rovnou Larmorově precesní frekvenci jader  $\omega_0$  vychýlí rovnovážnou makroskopickou magnetizaci ze směru pole  $B_0$ . To se projeví nenulovou rotující složkou magnetizace v rovině  $M_{x,y}$  (příčná magnetizace - obr. 2b), která se pak deteguje jako rezonanční signál.



**Obr. 2** Makroskopická magnetizace jader s  $I = \frac{1}{2}$ :  
(a) v rovnovážném stavu (v poli  $B_0$ ),  
(b) v rezonanci (s polem  $B_1$ )

### Citlivost, přirozené zastoupení a receptivita

\* **citlivost** (intenzita NMR signálu jádra A v daném magnetickém poli  $B_0$ ) je úměrná  $\gamma(A)^3$

\* **relativní citlivost** dvou různých jader A a B je v poli  $B_0$  je dána poměrem  $\gamma(A)^3 / \gamma(B)^3$

**Tab. 1** NMR vlastnosti jader vybraných magneticky aktivních izotopů.

Izotop	Spin	Přiroz. výskyt %	Relativní receptivita	Frekvence v $B_0 = 4.70\text{ T}$
<b>1 H</b>	1/2	99.98	1	200.00
<b>2 H</b>	1	$1.5 \times 10^{-2}$	$1.45 \times 10^{-6}$	30.70
<b>7 Li</b>	3/2	92.58	0.27	77.73
<b>10 B</b>	3	19.58	$3.90 \times 10^{-3}$	21.49
<b>11 B</b>	3/2	80.42	0.13	64.17
<b>13 C</b>	1/2	1.11	$1.76 \times 10^{-4}$	50.29
<b>14 N</b>	1	99.63	$1.01 \times 10^{-3}$	14.45
<b>15 N</b>	1/2	0.37	$3.85 \times 10^{-6}$	20.26
<b>17 O</b>	5/2	$3.7 \times 10^{-2}$	$1.08 \times 10^{-5}$	27.11
<b>19 F</b>	1/2	100	0.83	188.15
<b>23 Na</b>	3/2	100	$9.25 \times 10^{-2}$	52.90
<b>27 Al</b>	5/2	100	0.21	52.11
<b>29 Si</b>	1/2	4.7	$3.69 \times 10^{-4}$	39.73
<b>31 P</b>	1/2	100	$6.63 \times 10^{-2}$	80.96
<b>33 S</b>	3/2	0.76	$1.72 \times 10^{-5}$	15.34
<b>35 Cl</b>	3/2	75.53	$3.55 \times 10^{-3}$	19.60
<b>37 Cl</b>	3/2	24.47	$6.63 \times 10^{-4}$	16.31

\* **přirozené isotopické zastoupení** jader A ( $a(A)$  v %) je definováno poměrem počtu jader daného isotopu k celkovému počtu jader daného prvku ve vzorku krát 100

\* **receptivita** jader A v poli  $B_0$  je citlivost vztahovaná k jejich přirozenému zastoupení:

$$R(A) = a(A) \cdot \gamma(B)^3$$

\* **relativní receptivity** jader A a B v poli  $B_0$  jsou dány poměrem:

$$R(A) / R(B) = a(A) \cdot \gamma(B)^3 / a(B) \cdot \gamma(B)^3$$

\* vlastnosti jader magneticky aktivních izotopů (spin, přirozený výskyt, relativní receptivita a rezonanční frekvence) jsou uvedeny v tabulce 1.

### Chemický posun

\* odráží vliv chemického okolí na rezonanční frekvenci jaderného spinu ve statickém magnetickém poli  $B_0$

\* protože je nepraktické vyjadřovat rezonanční frekvence v absolutních hodnotách (MHz), vyjadřují se jako rozdíly vůči rezonanční frekvenci standardu:

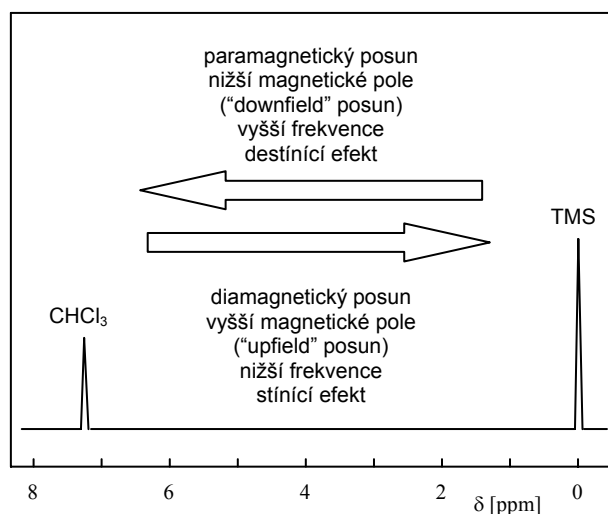
$$\nu_i \text{ (Hz)} = \nu_i \text{ (vzorek)} - \nu \text{ (standard)}$$

\* chemické posuny v Hz však závisí na pracovní frekvenci spektrometru a proto byla zavedena tzv.

$\delta$ -stupnice posunů s bezrozměrnými jednotkami ppm:

$$\delta \text{ (ppm)} = [(\nu_i \text{ (vzorek)} - \nu \text{ (standard)}) / \nu_0 \text{ (spektrometr)}] \cdot 10^6$$

\* chemický posun v  $\delta$ -stupnici a definici směrů stínění, paramagnetického a diamagnetického posunu v  $^1\text{H}$  NMR spektru schematicky znázorňuje obr. 3.



**Obr. 3**  $^1\text{H}$  NMR spektrum  $\text{CHCl}_3$  s TMS.

### Intensity NMR signálů

\* absolutní hodnoty intenzit NMR signálů ( $A$ ) jsou složitou funkcí parametrů vzorku, spektrometru a zvolených experimentálních podmínek:

$$A \sim N \gamma I (I+1) B_0^{3/2} T^{-3/2} f^{-1} \Phi (QV_S)^{1/2} b^{-1/2}$$

kde  $N$  je počet jader v jednotce objemu,  $\gamma$  je magnetogyrický poměr a  $I$  je spin pozorovaného jádra,  $f$  je šumová charakteristika,  $\Phi$  je faktor plnění,  $Q$  je faktor kvality rezonančního obvodu,  $V_S$  aktivní objem NMR cívký a  $b$  je šířka pásma přijímače

\* relativní intenzity signálů jsou (za "kvantitativních podmínek" měření) přímo úměrné pouze koncentraci měřených jader v roztoku → odrážejí relativní počty resonujících jader v případě čisté látky, nebo relativní počty molekul ve směsi. Toho se využívá v kvalitativní strukturní analýze (určení počtu vodíků u jednotlivých signálů a jejich strukturní přiřazení v molekule) i kvantitativní analýze (určení molárního poměru složek ve směsi).

### Relaxace a relaxační časy

\* relaxace označuje všechny děje, které vedou k obnovení rovnovážné magnetizace ve statickém poli  $B_0$

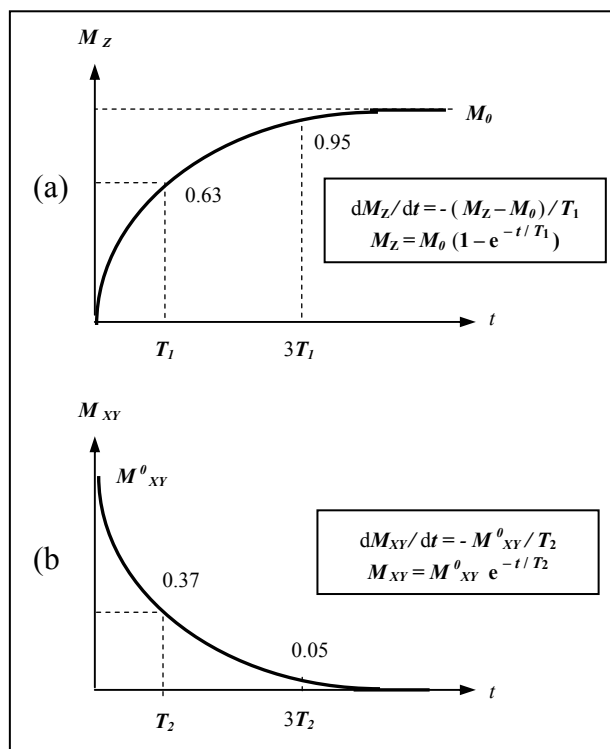
\* spin-mřížková relaxace (podélná) spočívá v tom, že relaxující jádro předá energii translačním a rotačním pohybům jader a elektronů, které tvoří tzv. mřížku. Relaxace obnovuje přebytek jader na nižší hladině (nenulovou podélnou magnetizaci). Je procesem 1. řádu s rychlostní konstantou  $1/T_1$ , kde  $T_1$  je spin-mřížkový relaxační čas (časová konstanta návratu podélné magnetizace  $M_Z$  z nulové do rovnovážné hodnoty  $M_0$  - obr. 4a).

\* spin-spinová relaxace (příčná) spočívá ve vzájemné interakci jader, spojené s výměnou orientace jejich spinů a předáním energie  $\Delta E$ . Spin-spinový relaxační čas  $T_2$  je časovou konstantou ubývání příčné makroskopické magnetizace  $M_{XY}$  k nulové rovnovážné hodnotě (obr. 4b).

\* pološířka NMR signálu, který má Lorentzovský tvar, je definována jako šířka signálu (v Hz) v polovině jeho výšky a je nepřímo úměrná střední době života jader v excitovaném stavu (a tudíž i relaxačním časům  $T_1$  a  $T_2$ ). Protože  $T_2 < T_1$ , je pozorovaná pološířka dána výrazem

$$\nu_{1/2} = 1 / \pi T_2 + \nu^*$$

kde  $1 / \pi T_2$  je přirozená pološířka čáry a  $\nu^*$  je rozšíření způsobené nedokonalou homogenitou magnetického pole  $B_0$ .



Obr. 4 (a) Návrat podélné magnetizace  $M_Z$  k rovnovážné hodnotě  $M_0$ , (b) doznívání příčné magnetizace  $M_{XY}$  k nulové rovnovážné hodnotě.

### Dekaplink

\* použití druhého oscilujícího magnetického pole  $B_2$  (vedle pozorovacího pole  $B_1$ ) je označováno jako "dekaplink-experiment"

\* podle toho, zda pozorovaná a dekaplovaná jádra patří témuž izotopu či nikoliv, rolišujeme homo- a heteronukleární dekaplink

\* míra perturbace spinového systému závisí na amplitudě ozařovacího pole  $B_2$  a jeho frekvenci. Projeví se buď kolapsem multiplétů (když  $\gamma B_2 / 2\pi > J$ ) nebo změnami relativních intenzit signálů ( $\gamma^2 B_2^2 T_1 T_2 / 2\pi \sim 1$ ).

\* selektivní dekaplink používá silné pole  $B_2$  (s frekvencí rovnou rezonanční frekvenci zvoleného ozařovaného jádra X), které způsobí, že všechny interakce jádra X s ostatními jádry ve spektru zmizí.

\* širokopásmový dekaplink vodíků používá ještě silnějšího pole  $B_2$  (obvykle s vhodnou modulací) a eliminuje všechny interakce vodíků s ostatními jádry (např.  $^{13}\text{C}$ )

\* je-li silné pole  $B_2$  umístěno mimo frekvenční oblast protonového spektra, jde o mimoresonanční dekaplink a ve spektru jader X pak pozorujeme místo pravých hodnot redukované  $J$  (jejich velikost klesá s rostoucí amplitudou  $B_2$  a klesajícím rozdílem frekvencí  $\nu_2 - \nu_X$ )

### Nukleární Overhauserův efekt (NOE)

\* stimulace intenzitních změn pomocí ozařovacího pole  $B_2$  (při dekaplinku) je označována jako NOE. Lze ho pozorovat mezi jádry, jejichž dominujícím relaxačním mechanismem je jejich dipól-dipólová relaxace.

\* velikost pozorovaného NOE signálu jader A při ozaření jader X udává poměr:

$$\eta = (I(X) - I(0)) / I(0)$$

kde  $I(X)$  je intenzita signálu jader A při ozaření jader X a  $I(0)$  je intenzita jader A bez ozaření jader X.

\* maximální dosažitelná hodnota NOE ( $\eta$ ) je dána výrazem:

$$\text{NOE}_{(\max)} = \gamma(X) / 2\gamma(A)$$

a pro některá běžná jádra je uvedena v Tabulce 2.

**Tab. 2** Maximální hodnoty NOE pro různá jádra při saturaci jader vodíku.

Jádro	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$	$^{15}\text{N}$	$^{19}\text{F}$	$^{29}\text{Si}$	$^{31}\text{P}$
NOE	0.5	1.99	-4.93	0.53	-2.52	1.24

### Spin-spinové interakce

\* nepřímé (skalární) interakce jaderných spinů přes kovalentní vazby způsobují štěpení signálů v NMR spektrech kapalin

\* jejich velikost udávají interakční konstanty  $J$  (v Hz), které jsou mírou interakční energie jader podle vztahu:

$$J(A, B) = K \gamma(A) \gamma(B)$$

kde  $K$  závisí na elektronické struktuře a geometrii a  $\gamma(A)$ ,  $\gamma(B)$  jsou magnetogyrické poměry jader A a B

\* hodnota  $J$  nezávisí na poli  $B_0$  a může být buď pozitivní nebo negativní

\*  $J$  odpovídá (u spekter 1.řádu) vzdálenosti mezi dvěma čarami multipletu v Hz

\* podle počtu vazeb mezi interagujícími jádry se  $J$  označují jako přímé ( $^1J$ ), geminální ( $^2J$ ), viciální ( $^3J$ ) anebo „long-range“ ( $^4J$  nebo  $^5J$ )

\* přímé (dipolární) interakce jsou důsledkem vzájemného působení jaderných spinů prostorem. Uplatňují se pouze v anisotropním prostředí (pevný stav, kapalné krystaly)

### Spinový systém, ekvivalence jader a řád spektra

Pro analýzu spektra jsou důležitými pojmy ekvivalence jader, stupeň interakce, řád spektra a notace spinových systémů.

#### Ekvivalence jader

Jádra téhož izotopu v dané molekule mohou vykazovat z NMR hlediska následující typy ekvivalence:

\* ekvivalence podle chemických posunů znamená, že jádra mají stejný chemický posun (jádra jsou izochronní), což může být i náhodným důsledkem různých stínících efektů.

\* symetrická ekvivalence platí pro jádra, která si vzájemně vymění polohy v molekule provedením některé z operací symetrie. Vyplývá buď ze symetrie molekuly nebo může být důsledkem zprůměrování pohybem (např. interkonverze konformerů). Symetricky ekvivalentní jádra mají stejné chemické posuny.

\* magnetická ekvivalence znamená, že jádra mají nejen stejný chemický posun, ale i stejné interakční konstanty s libovolným jiným jádrem molekuly. Vzájemné interakce magneticky ekvivalentních jader nejsou ve spektru pozorovatelné.

#### Stupeň interakce a řád spektra

\* jako slabě interagující je označován spinový systém, kde pro všechna jádra A, B platí, že

$$\nu(A) - \nu(B) \gg J(A, B)$$

Takový systém poskytuje snadno analyzovatelná spektra 1. řádu

\* není-li tato podmínka splněna, pak jde o silně interagující systém, poskytující spektrum 2. řádu kde nelze správné hodnoty  $\delta$  a  $J$  přímo odečítat ze spektra.

#### Pravidla pro NMR spektra 1. řádu

(1) Maximální počet čar  $m$  daného jádra (nebo skupiny magneticky ekvivalentních jader) je:

$$m = (2 I_a n_a + 1) (2 I_b n_b + 1) \dots,$$

kde  $n_i$  jsou počty magneticky ekvivalentních jader se spinovými čísly  $I_i$ , která s daným jádrem interagují.

Pro jádra s  $I = 1/2$  je počet čar roven:

$$m = (n_a + 1)(n_b + 1) \dots$$

Jsou-li některé z  $J_{ij}$  stejně velké, počet čar multipletu klesá, až v případě rovnosti všech  $J_{ij}$  dosahuje:

$$m = n + 1,$$

kde  $n = n_a + n_b + \dots$

(2) Relativní intenzity čar multipletu, vzniklého interakcí se skupinou  $n$  magneticky ekvivalentních jader se spinem  $I = 1/2$ , jsou v poměrech koeficientů binomického rozvoje  $(a + b)^n$ , tedy:

dublet	1:1
triplet	1:2:1
kvartet	1:3:3:1
kvintet	1:4:6:4:1
sextet	1:5:10:10:5:1
septet	1:6:15:20:15:6:1, atd.

(3) Chemický posun jádra lze odečíst ze spektra jako střed multipletu.

(4) Šířka multipletu jádra odpovídá sumě jeho interakčních konstant, které lze odečíst ze vzdáleností čar v multipletu.

### Notace spinových systémů

\* jako spinový systém je označována izolovaná skupina vzájemně interagujících jader. Standardní notace odráží vlastnosti spinového systému - počet jader, druh ekvivalence a stupeň interakce.

\* silně interagující jádra se označují po sobě jdoucími písmeny z počátku abecedy (A,B,...) a další takové skupiny (s chemickými posuny dostatečně odlišnými od prvé) se označují X,Y,... případně M,N,...

\* magneticky ekvivalentní jádra se označují stejným písmenem a index udává počet jader (např. A<sub>3</sub>, B<sub>2</sub>,...)

\* skupiny magneticky neekvivalentních, ale isochronních jader se označují čárkami (např. A,A',A'',...)

\* příklady tří-, čtyř- a pěti-spinových systémů ukazuje obr. 5

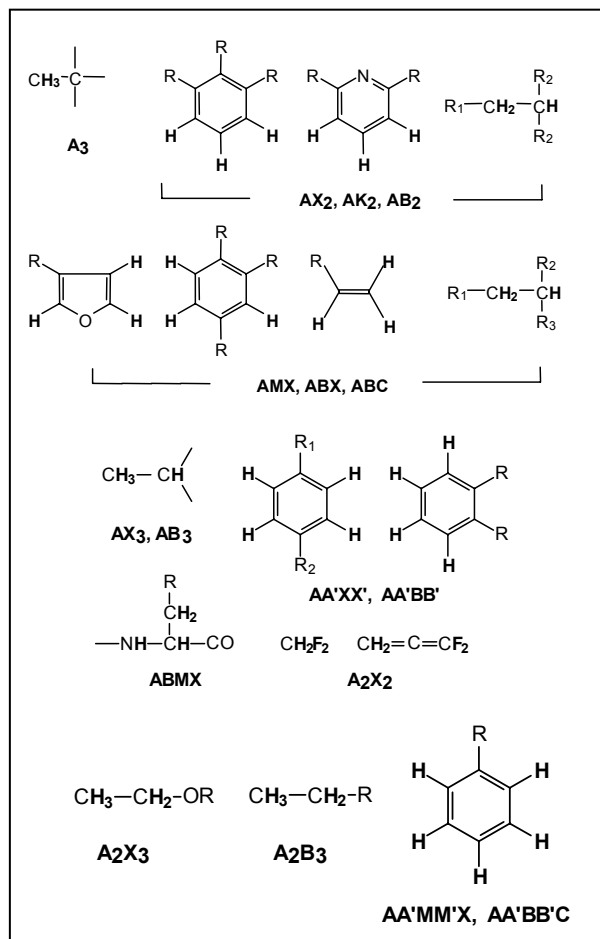
### Multiplicita signálu

\* multiplicita signálu definuje štěpení signálu na více linií vlivem spin-spinových interakcí

\* signály bez štěpení jsou označovány jako singlety (s), signály s dvěma, třema, čtyřma, pěti, šesti a sedmi ekvi-

distantními liniemi (všechny hodnoty  $J$  jsou stejné) se označují jako: dublety (d), triplety (t), kvartety (q), kvintety (qui), sextety (sxt) a septety (sep).

\* pokud multiplet obsahuje více různých  $J$  pak ho lze popisovat například jako dublet dubletů (dd), dublet dubletů dubletů (ddd), dublet tripletů (dt), případně jako obecně jako multiplet (m).



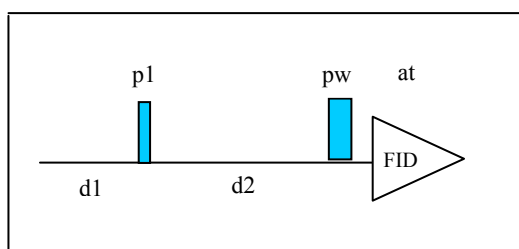
Obr. 5 Příklady tří-, čtyř- a pěti-spinových systémů.

## PULSNÍ SEKVENCE A JEJICH ELEMENTY

\* NMR experiment je definován příslušnou pulsní sekvencí. Pulsní sekvence je časový popis dějů v pozorovacím i dekaplovacím kanálu spektrometru. Elementy pulsních sekvencí tvoří údaje o časových prodlevách, přípravných, vývojových a měřících dobách, pulsech vysílače v pozorovacím nebo dekaplovacím kanálu a ozařování dekaplerem.

\* pulsní sekvence se schematicky zapisují ve formě časového diagramu (např. obr. 6) a často se označují akronymy (např. APT, COSY, ..). K popisu jejich elementů používá VNMR software firmy Varian symboly:

<b>d1, d2, d3, tau</b>	časové prodlevy;
<b>p1, pw</b>	radiofrekvenční pulsy;
<b>tof</b>	pozorovací frekvence;
<b>tpwr</b>	výkon pozorovacího vysílače;
<b>dof</b>	dekaplovací frekvence;
<b>dpwr</b>	výkon dekapleru;
<b>at</b>	akviziční doba (v diagramech jí odpovídá trojúhelník FIDu).



**Obr. 6** Diagram dvou-pulsní sekvence.

\* vliv radiofrekvenčního pulsu závisí na jeho amplitudě, délce a fázi a na stavu spinového systému v okamžiku pulsu. Puls ve směru osy x otáčí magnetizaci v rovině y,z (puls ve směru osy y otáčí magnetizaci v rovině x,z) o sklápěcí úhel, jehož hodnota závisí na délce a amplitudě pulsu.

\* amplitudu pozorovacího pulsu určuje nastavení výkonu vysílače (**tpwr**) a numericky se zadává v dB - rozsah je 0 - 61 dB (maximální hodnota).

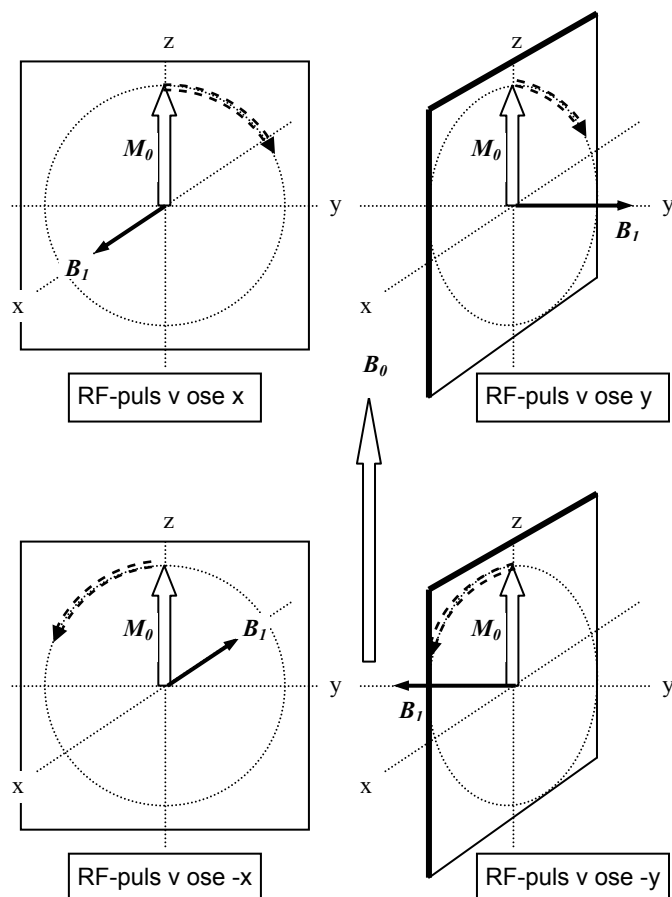
\* délka pulsu (**pw** nebo **p1**) se zadává v  $\mu$ s. Hodnoty amplitudy a a délky pulsu určují tzv. sklápěcí úhel ( $\alpha$ ) – úhel o který puls otočí makroskopickou magnetizaci.

$$\alpha \approx pw \cdot tpwr$$

Kalibračním měřením serie spekter při dané amplitudě a s proměnnou délkou pulsu lze určit délky pulsu odpovídající sklápěcím úhlům 90°, 180°, atd... Délky pulsu odpovídající příslušným hodnotám sklápěcího úhlu

je třeba znát pro správné nastavení řady pulsních sekvencí.

\* fáze pulsu udává směr jeho působení vzhledem k rotujícímu systému souřadnic. Pulsní sekvence používají různých (předem určených) fází jednotlivých RF pulsů a přijímacích obvodů (tzv. cyklování fází) tak, abychom získali požadované spektrum. Základními používanými fázemi pulsu jsou:



\* časové prodlevy slouží pro:

- relaxaci spinového systému (relaxační delay d1)
- dosažení potřebných fázových vztahů mezi složkami magnetizace (např. úhlu 180° pro přenos polarizace) a proto bývají v určitém poměru k hodnotě  $J$
- fázovou nebo amplitudovou modulaci u 2D NMR spekter (délka prodlevy se během experimentu postupně mění – tzv. inkrementovný delay)

\* dekaplink vodíků může být buď selektivní nebo širokopásmový a je dále charakterizován dobou zapnutí.

Širokopásmový dekaplink vodíků v přípravné době zvýší rozdíly v populacích hladin pozorovaných jader X (ustavení NOE). Během zapnutí dekapleru se složky magnetizace jader X otáčejí stejnou rychlostí → eliminace všech interakcí  $J(X,H)$ . Současného ozaření všech vodíků se

dosahuje speciální modulací nosného ozařovacího kmitočtu tak, aby pokryl celé frekvenční pásmo vodíkových signálů. K tomu je třeba používat dekaplovacího kmitočtu s vyšším výkonem než při homonukleárním dekaplinku a nosný kmitočet modulovat. Podle způsobu modulace dekaplovacího kmitočtu rozeznáváme několik základních druhů dekaplinku - "square-wave", "noise", WALTZ-16, MLEV-16, GARP - , které se liší šířkou excitovaného pásma při stejném použitém výkonu dekaplovacího ozařovacího kmitočtu.

\* k popisu chování spinového systému v průběhu většiny pulsních sekvencí lze použít vektorový model. Pro zjednodušení popisu pohybu vektorů se používá rotující systém souřadnic, v němž magnetické pole  $B_0$  je orientováno ve směru osy z a osy x, y rotují kolem osy z s frekvencí rovnou pozorovací frekvenci pole  $B_1$ , která může být rovna precesní frekvenci sledovaných jader. Přijímač je nastaven tak, že deteguje NMR signál v rovině x, y.

## NMR EXPERIMENTS NA VARIAN UNITY-200 POVOLENÉ V SAMOOBSLUŽNÉM MĚŘENÍ

### $^1\text{H}$ -NMR:

exp1	Jednorozměrné $^1\text{H}$ NMR spektrum
exp2	Selektivní homonukleární dekaplink
exp3	Homonukleární 2D- $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY
exp4	Homonukleární 2D-J-rozlišené NMR spektrum

### $^{13}\text{C}$ -NMR

exp5	Rutiní $^{13}\text{C}$ NMR spektrum s širokopásmovým dekaplinkem vodíků
exp6	Kvantitativní $^{13}\text{C}$ NMR spektrum s širokopásmovým dekaplinkem vodíků
exp7	Nedekaplované $^{13}\text{C}$ NMR spektrum s NOE
exp8	APT ("Attached Proton Test ") $^{13}\text{C}$ NMR spektrum



## ZÁKLADNÍ KROKY NMR EXPERIMENTU

VNMR software umožňuje pracovat:

- pomocí příkazů a parametrů zadávaných z klávesnice (v tzv. "command modu")
- pomocí rozsáhlého "menu systému", v němž řadu operací lze provádět klikáním myši na příslušná okna
- interaktivně pomocí "GLIDE menu"

V praxi se obvykle kombinují oba první způsoby práce.

V následujícím stručném popisu základních kroků NMR experimentu se zaměříme hlavně na "command mode".

### Příprava vzorku

\* všechny výše uvedené typy NMR experimentů vyžadují vzorky v tenkostěnných koaxiálních kyvetách (vnější průměr 5 mm), umístěné v plastových rotorech (pozice kyvety v rotoru se nastavuje podle obrázku na noze magnetu)

\* k měření je třeba připravit ca 0.6 ml roztoku studované látky v deuterovaném rozpouštědle

\* minimální množství vzorku závisí na typu experimentu a molekulové hmotnosti, které pak ovlivňují potřebnou dobu měření

\* reálná množství vzorku jsou řádově 1-50 mg pro  $^1\text{H}$  NMR a 10-100 mg pro  $^{13}\text{C}$  NMR experimenty

\* rozpuštědlo musí obsahovat deuterium ( $\Rightarrow$  lock signal), dostatečně rozpouštět vzorek, být vůči vzorku chemicky inertní, stálé, nepříliš viskosní při teplotách měření a jeho signály by neměly interferovat se signály vzorku. Důležitou roli při volbě rozpouštědla může hrát i cena.

\* nerozpuštěné nečistoty mohou nepříznivě ovlivňovat homogenitu pole a tím i kvalitu spektra (vhodné odstranit filtrací nebo centrifugací)

\* k určení chemických posunů se používá standard, který může být buď přidán přímo do roztoku (vnitřní standard), umístěn v kapiláře ponořeně do roztoku (vnější standard), anebo se použije signál rozpouštědla se známým chemickým posunem (sekundární standard)

\* přehled běžných NMR rozpouštědel a standardů uvádějí tabulky 3 a 4

Tab. 3 Rozpouštědla pro NMR spektroskopii, jejich fyzikální vlastnosti, chemické posuny a orientační ceny.

Rozpouštědlo	t.v. (°C)	t.t. (°C)	nedeuterované		deuterované		cena (DM / 10g)
			$\delta$ (H)	$\delta$ (C)	$\delta$ (C)	% D	
Aceton	56.3	-94.7	2.09	30.7; 206.7	29.8; 206.5	99.5	60.30
Acetonitril	81.6	-44.0	2.00	1.7; 118.2	1.3; 118.2	99.6	89.30
Benzen	80.1	5.5	7.27	128.5	128.0	99.6	77.80
Chloroform	61.1	-63.5	7.25	78.0	77.0	99.8	7.72
Cyklohexan	80.7	6.6	1.40	27.8	26.4	99.5	287.50
Dichlormetan	39.8	-95.1	5.30	54.2	53.7	99.6	190.00
Dimethylformamid	153.0	-60.4	2.74; 2.91; 8.01	30.9; 36.0; 167.9	30.1; 35.2; 17.7	99.5	571.00
Dimethylsulfoxid	189.0	20.2	2.50	40.9	39.7	99.5	44.70
1,4-Dioxan	101.3	11.8	3.57	67.6	66.5	99.0	404.00
Ethanol	78.3	-114.1	1.20	16.9; 56.3	15.8; 55.4	99.0	554.00
Kyselina octová	117.9	16.7	2.10	20.9; 178.8	20.0; 178.4	99.5	88.60
Kyselina trifluorooctová	72.4	-15.2	--	113.6; 161.4	113.5; 161.1	99.5	34.50
Methanol	64.7	-97.7	3.30	49.9	49.0	99.8	109.30
Nitromethan	101.2	-28.5	4.33	61.1	60.5	99.0	98.20
Pyridin	115.3	-41.6	7.12; 7.50; 8.61	124.2; 136.2; 150.2	123.5; 135.5; 149.2	99.0	128.60
Tetrahydrofuran	64.0	-108.0	1.73; 3.58	26.7; 68.6	25.2; 67.4	99.5	513.30
Toluen	110.6	-94.9	2.30; 7.20	21.3; 125 - 138	20.4; 125 - 138	99.5	165.00
Voda	100.0	0	4.80	--	--	99.9	46.90

Tab. 4 Standardy používané v  $^1\text{H}$  a  $^{13}\text{C}$  NMR spektroskopii.

Jádro	Standard (zkratka)	Vzorec	$\delta$ (ppm)
$^1\text{H}$	Tetramethylsilan (TMS)	$\text{C}_4\text{H}_{12}\text{Si}$	0
	Hexamethyldisilan (HMDS)	$\text{C}_6\text{H}_{18}\text{Si}_2$	0.037
	Hexamethyldisiloxan	$\text{C}_6\text{H}_{18}\text{OSi}_2$	0.055
	Sodná sůl kyseliny 3-(trimethylsilyl)propansulfonové (DSS)	$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NaO}_3\text{SSi}$	0
	Sodná sůl kyseliny 3-(trimethylsilyl)propionové (TSP)	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NaOSi}$	0
$^{13}\text{C}$	Tetramethylsilan (TMS)	$\text{C}_4\text{H}_{12}\text{Si}$	0
	Deuteriochloroform	$\text{CDCl}_3$	77.0
	Hexadeuterodimethylsulfoxid	$\text{CD}_3\text{SOCD}_3$	39.7
	Tetradeteromethanol	$\text{CD}_3\text{OD}$	49.0

#### Naladění sondy, zalockování a optimalisace homogenity pole

\* kyveta s rotorem se na polštáři stlačeného vzduchu spustí do sondy v magnetu

\* zvolí se typ experimentu a provede jeho setup

\* pro zvolené jádro a použité rozpouštědlo se naladí pozorovací kanál sondy (kabel se přepojí z pozice OBS na TUNE, knoflík přepne do pozice OBS a pomocí ladících tyček na spodku sondy se minimalizuje odražený signál – výchylka na měřidle). Po vrácení kabelu do původní pozice se v případě potřeby doladí i kanál dekapleru (dalšími ladícími tyčkami opět na minimální výchylku na měřidle). Přeladění sondy a dekapleru je žádoucí pouze při změně měřeného jádra ( $^1\text{H} \leftrightarrow ^{13}\text{C}$ ) nebo rozpouštědla (zejména při přechodu mezi organickými a vodnými roztoky)

\* před zalockováním se otevře akviziční okno a nastaví rezonanční podmínka pro signál deuteria změnou hodnoty pole  $B_0$  pomocí korekce **Zo** tak, aby obrázek signálu ukazoval "jednoduchý schod". Pak je možno zalockovat (kliknutím na "lock on")

\* po zalockování se přistoupí k optimalisaci homogenity pole opět pomocí deuteriového signálu rozpouštědla. Fáze lockovacího signálu ("lock phase") se nastaví na maximální intenzitu signálu. Intenzita lockovacího signálu závisí také na typu rozpouštědla a proto je vhodné před optimalisací homogenity nastavit hodnoty "lock-power" a "lock-gain" tak, aby intenzita lock-signálu byla 50-80%. Pozor na přesycení (při poklesu "lock-power" intenzita signálu stoupne)  $\Rightarrow$  je třeba snížit "lock-power" tak aby při jejím snížení docházelo k poklesu intenzity signálu. Při ladění homogenity pole obvykle

stačí použít korekce Z1 a Z2, které se střídavě nastavují tak aby výchylka na "lock-meteru" byla co nejvyšší. Používání stejných objemů roztoku (výšky sloupce v kyvetě) zjednodušuje ladění pole (přechod mezi vzorky nevyžaduje větší změny hodnot korekcí Z1 a Z2. Homogenita pole výrazně ovlivňuje rozlišení v NMR spektru. Proto u  $^1\text{H}$  NMR spekter je vhodné zkontrolovat kvalitu naladění změřením kontrolního spektra (jedním pulsem,  $nt = 1$ ). Při dobrém naladění by standard (TMS) nebo zbytkový signál rozpouštědla (např.  $\text{CHCl}_3$ ) měl poskytovat úzký symetrický absorpční signál (s pološířkou ca 0.5 Hz nebo menší).

#### Akvizice NMR dat

\* před odstartováním vlastního experimentu je třeba zkontrolovat správnost a hodnoty všech důležitých akvizičních parametrů, zejména rozpouštědla, šířky spektra, pozorovací frekvence, délky pulsů, akviziční doby, počet přechodů, případně nastavení parametrů pro dekaplink. Aktuální hodnoty parametrů se zobrazí příkazem "dg".

\* velmi důležitými parametry jsou nosná frekvence RF-pulsu ("to") a šířka snímaného spektra ("sw"). Při dnes používané kvadrurní detekci se nosná frekvence umísťuje doprostřed předpokládaného spektra a šířka spektra se volí tak, aby bezpečně pokryla celý předpokládaný rozsah signálů spektra. Příliš malá šířka spektra může vést k nepozorování některých signálů ležících mimo její rozsah anebo k jejich zobrazení v nesprávné pozici a fázi (tzv. "folding").

\* po excitaci spinového systému jader měřeného vzorku RFpuls (trvajícím několik  $\mu\text{s}$ ) je indukovaná příčná magnetizace detegována jako NMR signál. Tento signál, který reprezentuje časový průběh magnetizace  $M(t)$ , je označován jako volně dozrívající indukce (FID).

\* detekce NMR signálu obsahuje vzorkování signálu ("sampling") v pravidelných časových intervalech a jeho převod z analogové do digitální formy. Jak vyplývá z teorie informace, sinusovou funkci lze jednoznačně převést do digitální formy, jestliže ji vzorkujeme alespoň dvakrát za periodu. To znamená, že při snímání spekter o šířce **sw** musí být vzorkovací rychlost FIDu rovna **2.sw** a je tedy nutno převést do digitální formy **2. sw** bodů za sekundu. Aby nedošlo k distorzím tvaru signálů, měl by digitalizační proces (akviziční čas at) trvat dokud FID nedozní k nule. Požadavky na citlivost a čas vedou v praxi (zejména u 2D-NMR) ke kratším hodnotám **at**. Je-li signál vzorkován po dobu **at** rychlostí **2.sw**, získáme **2.sw.at** digitalizovaných data-bodů (**np**), z nichž každý musí být uložen v separovaném místě paměti počítače. Velikost paměti (daná počtem slov **np**) pak vymezuje i maximální použitelné hodnoty **sw** a **at** vztahem:

$$np = 2 \cdot sw \cdot at,$$

což je tzv. vzorkovací teorém.

Digitální rozlišení DR (vzdálenost mezi dvěma body ve spektru v Hz) je pak dáno vztahem:

$$DR = 2 \cdot sw / np = 1 / at.$$

Vztah mezi **sw**, **np**, **at** a **DR** ukazuje Tabulka 5.

**Tab. 5** Vztah mezi šířkou spektra (**sw**), počtem bodů (**np**), akvizičním časem (**at**) a digitálním rozlišením (**DR**).

sw [Hz]	np = 4 096		np = 16 384		np = 65 536	
	at [s]	DR [Hz]	at [s]	DR [Hz]	at [s]	DR [Hz]
100	20.48	0.049	81.92	0.012	327.7	0.003
200	10.24	0.098	40.96	0.024	163.8	0.006
500	4.096	0.244	16.38	0.061	65.54	0.015
1000	2.048	0.488	8.192	0.122	32.78	0.031
2000	1.024	0.976	4.096	0.244	16.38	0.061
5000	0.410	2.441	1.638	0.610	6.554	0.153
10000	0.205	4.883	0.819	1.221	3.277	0.305
20000	0.102	9.766	0.410	2.441	1.638	0.610

\* Prakticky dosažitelné rozlišení je však omezeno pološířkou signálu. Pro aktuální signál, zvolený kurzorem na obrazovce, zobrazí příkaz "dres" hodnotu DR a pološířku signálu ("linewidth"). Příkaz "res" pak zobrazí hodnoty šířky signálu v 0.5, 0.11 a 0.055 % výšky signálu.

\* kvalitu spektra určuje poměr poměr signálu k šumu (S/N). Poměr S/N roste s druhou odmocninou počtu akumulovaných spekter. Hodnota aktuálního poměru S/N se zobrazí příkazem „dsn“.

\* volbu počtu akumulací (FIDů) určuje buď požadovaný poměr signálu k šumu (S/N) nebo celkový čas k provedení měření.

\* v průběhu měření lze (bez jeho přerušení) sledovat kvalitu spektra zadáním velikosti bloku (např. bs=8) a podmiňovacího příkazu (např. wbs='ft'), takže po každých osmi akvizicích se na obrazovce objeví aktuální transformované spektrum

\* vztah mezi dobou měření, počtem akumulací a vzrůstem poměru S/N ukazuje tabulka 6.

**Tab. 6** Vztah mezi dobou měření, počtem akumulovaných spekter a poměrem signálu k šumu (pro pulsní repetiční čas 1 s).

Doba měření	Počet akumulovaných spekter	Citlivost (S/N)
1 s	1	1
1 min	60	7.7
1 h	3 600	60.0
12 h (noc)	43 200	207.8
60 h (víkend)	216 000	464.8
168 h (týden)	604 800	777.7

\* důležité akviziční parametry a jejich typické hodnoty jsou diskutovány níže u jednotlivých experimentů

### Zpracování NMR dat a zápis spektra

\* za vhodných experimentálních podmínek obsahuje FID informaci identickou s informací v konvenčním NMR spektru, kde magnetizace je funkcí frekvence **M(v)**. Funkce **M(t)** a **M(v)** jsou navzájem vztaženy Fourierovou transformací. FID proto musí být nejprve digitalizován v analogově-digitálním převodníku (ADC) a teprve pak převeden na frekvenční spektrum pomocí algoritmu, umožňujícího rychlou Fourierovu transformaci (řádově sekundy).

\* digitální rozlišení lze zvýšit doplněním FIDu nulami (t.zv. zero-filling). Prakticky se provede nastavením hodnoty "fn" (počtu bodů použitých pro Fourierovu transformaci tak, že:

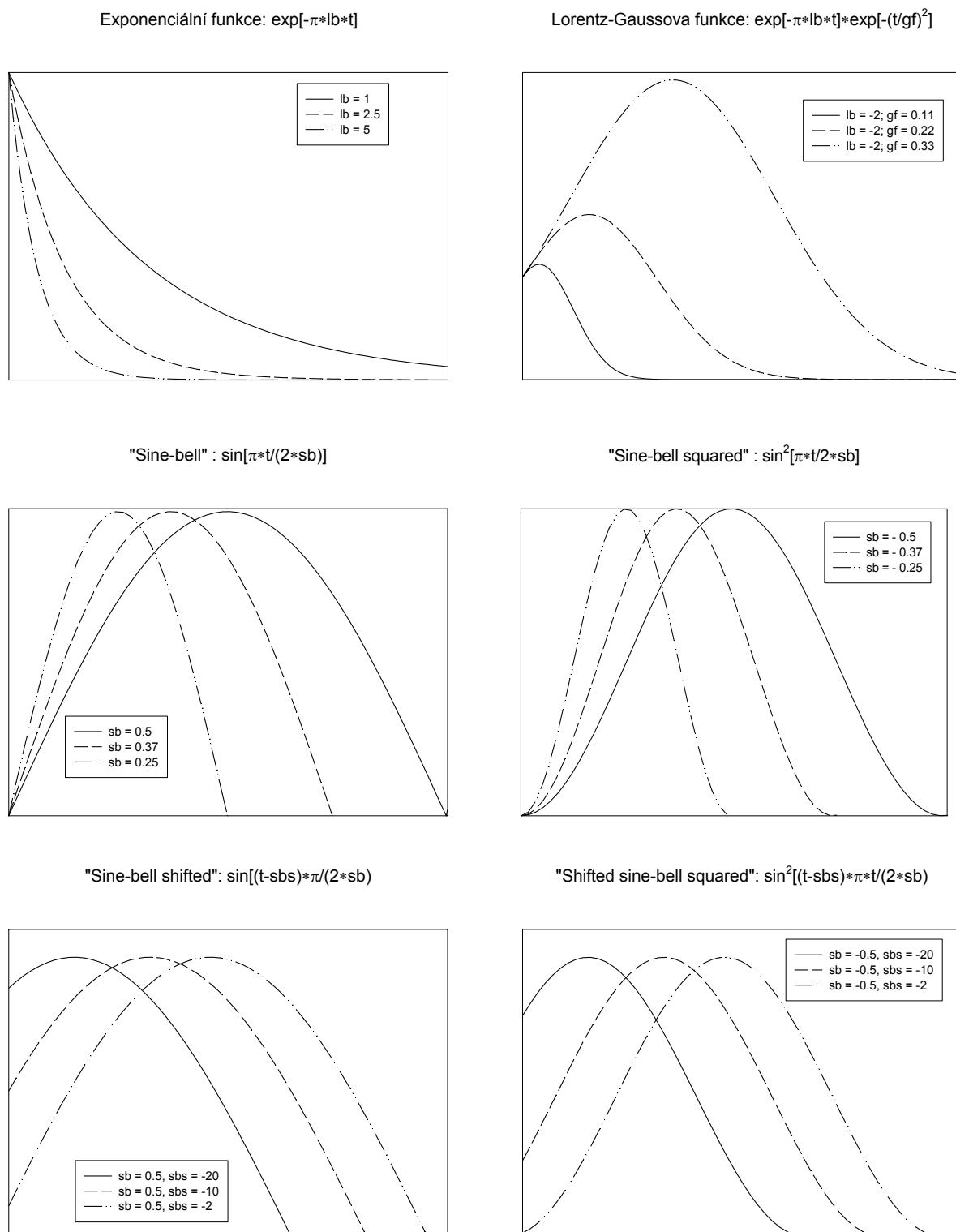
$$fn > np$$

Povolené hodnoty "fn" jsou n-té mociny 2, tedy např. 1024, 2048, 4096, 8192, 16384, 32768, 65536, ... Po zadání libovolného "fn" je jeho hodnota automaticky zaokrouhlena na nejbližší hodnotu  $2^n$ . Obecně se doporučuje doplnění počtu bodů FIDu na přibližně dvojnásobek ( $fn = 2 \cdot np$ ). Další plnění nulami má pouze estetický efekt (zlepšuje vzhled signálu), ale nepřináší novou informaci.

\* před FT transformací může být výsledný FID ještě matematicky zpracován použitím některé z vážících

funkcí. Každý bod FIDu se přitom násobí hodnotou zvolené vážící funkce v odpovídajícím čase. Přehled nejčastěji používaných vážících funkcí je ukázán na obr. 7. Použitím vhodné vážící funkce lze buď zvýšit citlivost na úkor rozlišení anebo zvýšit rozlišení na úkor citlivosti

Výběr vážící funkce a její parametry je možno optimalizovat interaktivně programem, který zobrazuje současně FID, vážící funkci a zvážené transformované spektrum (aktivuje se kliknutím na "Process" a následně na "Adj Weghting").



Obr. 7 Přehled nejčastěji používaných vážících funkcí

\* po provedení Fourierovy transformace na frekvenční spektrum je třeba zkorigovat fázi spektra na obrazovce buď manuálně (adjustací fázových korekcí “rp” a “lp” pro signály v pravé a levé části spektra) anebo automaticky (“aph”).

\* referencování se provede na zobrazeném spektru nastavením kursoru na signál standardu. Příkaz “hl” automaticky nastaví kursor na vrchol píku a příkaz “rl” jej deinuje jako referenční. Pomocí “rpf” lze přiřadit standardu hodnotu v ppm.

\* dalším krokem (zejména u  $^1\text{H}$  NMR, případně u kvantitativních  $^{13}\text{C}$  NMR) je integrace signálů. K tomu je třeba vymezit oblasti integrace (signálů) a baseliny v integračním modu klikáním na “reset” ikonu. Integrační křivka se objevuje na obrazovce a příkaz “dpim” zobrazí i numerické hodnoty integrálů pod jednotlivými oblastmi spektra (vertikální pozice spektra “vp” musí být nejméně vp=12). Kvalitní integrál vyžaduje správné zřazování a rovnou baselinu. Korekce baseliny se provede příkazy “dc” a “bc”. Případně distorse tvaru integrační křivky lze ještě korigovat nastavením hodnot “lvi” a “tlt”. Integraci vodíkových signálů je třeba provést na NMR spektru transformovaném bez použití vážení pro zvýšení rozlišení.

\* polohy signálů (v Hz nebo ppm), jako maxima nad zvolenou hladinou (“treshold”), definovanou nastavením horizontálního kursoru (parametr “th”), lze automaticky zobrazit příkazem “dpp” a tisknout příkazem “ppf”.

\* před zápisem spektra je vhodné vytvořit k němu příslušný text (jméno autora, označení vzorku, typ experimentu, rozpouštědlo, datum, ...) pomocí příkazu “text” ve formátu:

```
text ( ' ..... \\ ..... \\ ..... ' )
```

Celý aktuální text lze vymazat příkazem “ctext”.

\* požadované spektrum, jeho části a detaily se formátově upraví na monitoru. Celková plocha monitoru odpovídá rozměrům papíru dostupným pro zápis (pro připojenou tiskárnu a formát papíru A4 je maximální plocha pro zápis 250 x 185 mm). K úpravě formátu spekter pak slouží tzv. “display” parametry, jejichž význam (případně rozsah hodnot) ukazují pro 1D a 2D NMR spektra obrázky 8 a 9.

\* k vlastnímu zápisu spekter tiskárnou se slouží řada příkazů, které je možné psát v řádce za sebou, nebo odesílat postupně:

pro 1D-NMR spektra:

pap – vytiskne textovou hlavičku a kompletní experimentální parametry zobrazené pomocí “dg”

pl – vypíše spektrum a integrační křivku ve stejných pozicích a měřítku jako na obrazovce v momentě odeslání příkazu

pscale – vytiskne stupnici v ppm nebo Hz (podle aktuálního zobrazení)

ppf – vytiskne pozice píků definované výškou thresholdu

page – je vlastní příkaz k zahájení tisku podle předchozích instrukcí operátora

pro 2D-NMR spektra:

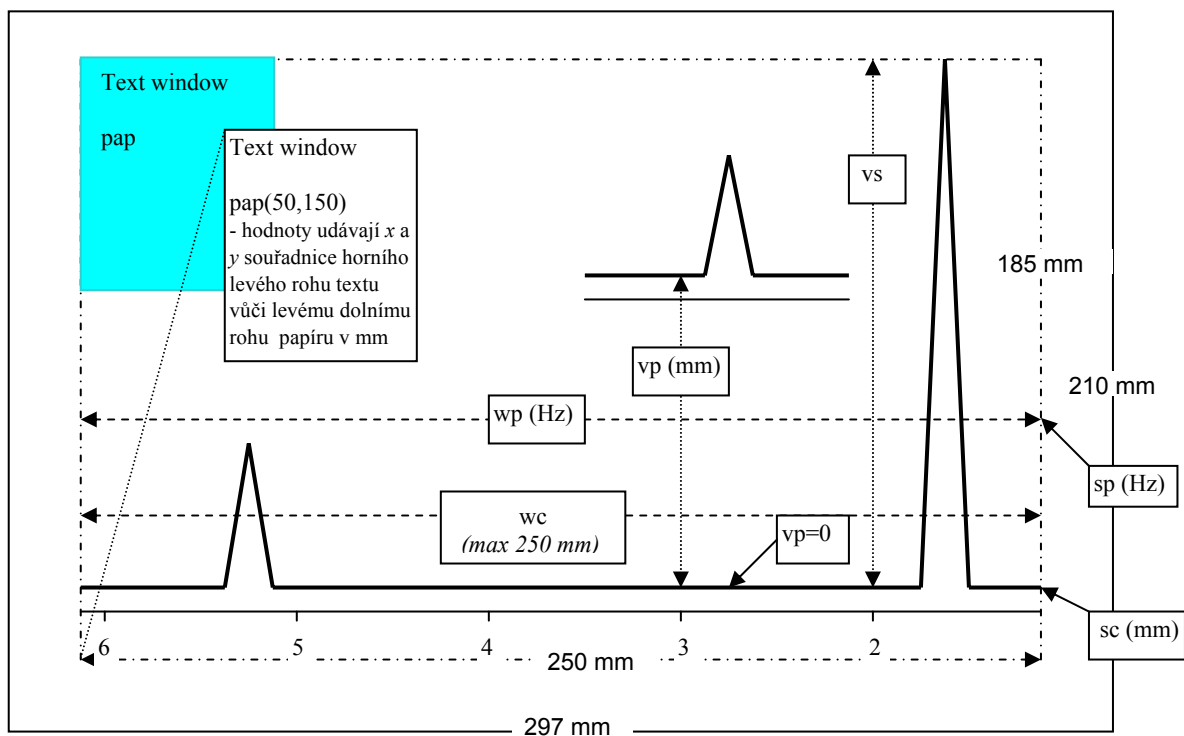
pap – vytiskne textovou hlavičku a kompletní experimentální parametry zobrazené pomocí “dg”

pcon – vytiskne aktuálně zobrazené 2D-NMR spektrum ve vrstevnicovém zobrazení (“contour-plot”) a stupnice na obou osách

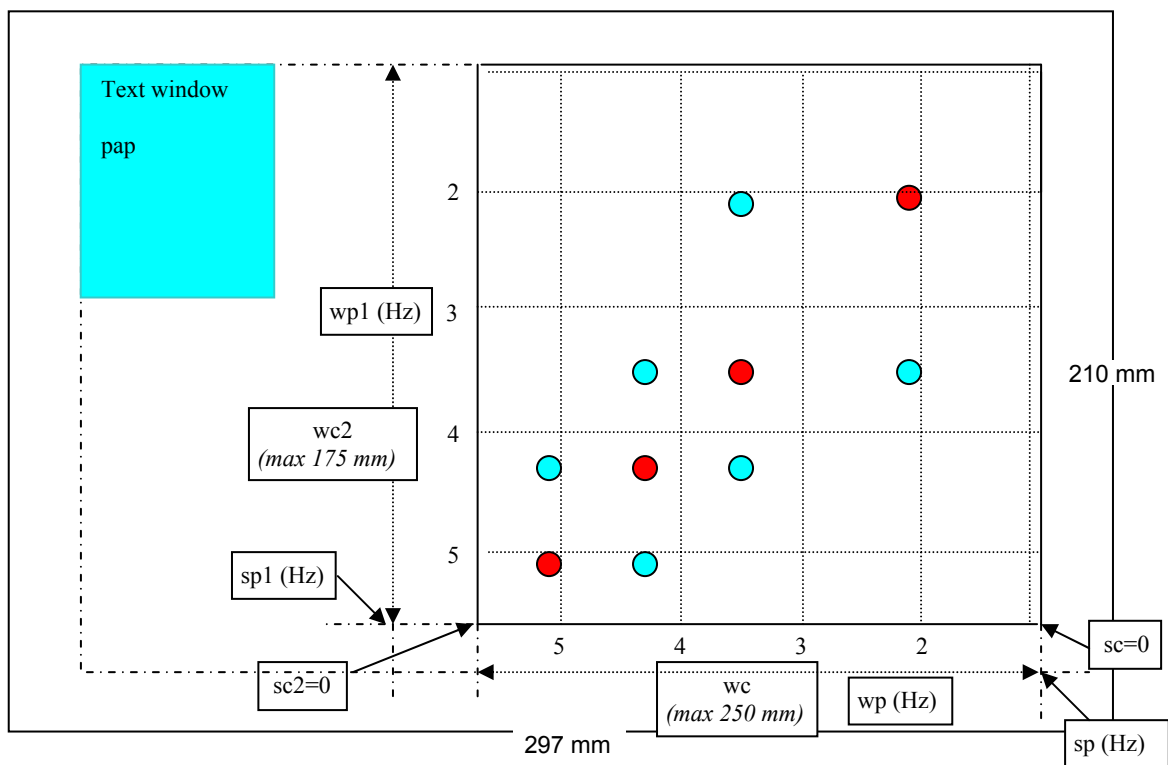
plgrid – vytiskne rastr 2D-NMR spektra

page – je vlastní příkaz k zahájení tisku podle předchozích instrukcí operátora

\* file obsahující FID, spolu se všemi akvizičními parametry i hodnotami použitých korekcí homogenity pole, může být uložen na disk pomocí příkazu “svf” a zadáním názvu filu.



**Obr. 8** Význam důležitých parametrů pro zobrazení a zápis 1D NMR spektra



**Obr. 9** Význam důležitých parametrů pro zobrazení a zápis 2D NMR spektra

## ABECEDNÍ PŘEHLED DŮLEŽITÝCH PARAMETRŮ A PŘÍKAZŮ

C = command

M = macro command

P = parameter

Name	Description	Type
<b>aa</b>	abort acquisition	C
<b>add</b>	add current FID to add-sub mde	C
<b>ai</b>	select absolute-intensity mode	C
<b>alfa</b>	set alfa delay before acquisition	P
<b>aph</b>	automatic phase adjustment of spectra	C
<b>at</b>	acquisition time	P
<b>au</b>	start acquisition and process data	M
<b>av</b>	Set absolute value mode	C
<b>awc</b>	additive weighting constant	P
<b>axis</b>	axis label for displays and plots	C
<b>bc</b>	1D and 2D baseline correction	C
<b>bs</b>	block size	P
<b>cdc</b>	cancel drift correction	C
<b>cexp</b>	create a VNMR experiment	M
<b>clradd</b>	clear add-subtract experiment	C
<b>cr</b>	cursor position	P
<b>crl</b>	clear reference line	M
<b>ct</b>	completed transients	P
<b>ctext</b>	clear the text of the current experiment	C
<b>cz</b>	clear integral reset points	C
<b>d1</b>	first delay	P
<b>d2</b>	incremented delay	P
<b>da</b>	display acquisition parameter array	C
<b>dc</b>	calculate spectral drift corrections	C
<b>dconi</b>	interactive 2D data display	C
<b>ddff</b>	display FID file in current experiment	C
<b>delta</b>	cursor difference	P
<b>delta1</b>	cursor difference in indirectly detected dimension	P
<b>df</b>	display a single FID	C
<b>dfrq</b>	transmitter frequency of decoupler	P
<b>dg</b>	display group of acquisition-processing parameters	C
<b>dg1</b>	display group of display parameters	M
<b>dga</b>	display group of spin simulation parameters	M
<b>dgs</b>	display group of shims and automion parameters	M
<b>dhp</b>	decoupler high-power control	P
<b>dlp</b>	decoupler low-power control	P
<b>dm</b>	decoupler mode	P
<b>dmf</b>	decoupler modulation frequency	P
<b>dmm</b>	decoupler modulation mode	P
<b>dn</b>	decoupler nucleus	P
<b>dof</b>	frequency offset for decoupler	P
<b>dp</b>	double precision	P
<b>dpcon</b>	display plotted contours	C
<b>dpf</b>	display peak frequencies	C
<b>dpirn</b>	display normalized integral amplitudes	M
	below spectrum	
<b>dps</b>	display pulse sequence	C
<b>dpwr</b>	decoupler power level	P
<b>dres</b>	measure linewidth and digital resolution	C
<b>ds</b>	display spectrum	C
<b>dscale</b>	display scale below spectrum or FID	C
<b>dseq</b>	decoupler sequence	P
<b>dsn</b>	display signal-to-noise ratio	C
<b>dss</b>	display stacked spectra	C
<b>dssh</b>	display stacked spectra horizontally	C
<b>dsww</b>	display spectra in whitewashed mode	C
<b>e, eject</b>	eject sample	C
<b>f, full</b>	set display parameters for full spectrum	C
<b>fb</b>	filter bandwidth	P
<b>flip</b>	flip between graphics and text windows	C
<b>fn</b>	Fourier number in directly detected dimension	P
<b>fn1</b>	Fourier number in indirectly detected dimension	P
<b>foldj</b>	foldt J-resolved 2D-spectrum	C
<b>foldt</b>	fold COSY-spectrum along diagonal	C
<b>ft</b>	Fourier transform 1D-data	C
<b>ft2d</b>	Fourier transform 2D-data	C
<b>ga</b>	submit experiment to acquisition and FT	M
<b>gain</b>	receiver gain	P
<b>gf</b>	Gaussian function	P
<b>gfs</b>	Gaussian shift constant	P
<b>glide</b>	interactive windows for data acquisition and processing	C
<b>go</b>	submt experiment to acquisition	M
<b>grid</b>	draw a grid on a 2D-display	M
<b>help</b>	display current help file	C
<b>ho</b>	horizontal offset	P
<b>homo</b>	homodekaplink control	P
<b>hs</b>	homospoil pulses	P
<b>hzmm</b>	scaling factor for plots (Hz / mm)	P
<b>il</b>	interleave (in arrayed and 2D-exp.)	P
<b>in</b>	lock and spin interlock	P
<b>ins</b>	integral normalization scale	P
<b>insert</b>	insert sample	M
<b>intmod</b>	integral display mode	P
<b>io</b>	integral offset	P
<b>is</b>	integral scale	P
<b>jexp</b>	join existing experiment	C
<b>killplot</b>	stop plot jobs and remove from plot queue	M
<b>large</b>	use large graphic window	C
<b>lb</b>	line broadening	P
<b>load</b>	load status of displayed shims	P
<b>lp</b>	first order phase	P
<b>lvl</b>	zero-order baseline correction	P
<b>man</b>	display online description of command or macro	M
<b>math</b>	Fourier transform mathematics	P
<b>mf</b>	move FID between experiments	C
<b>movesw</b>	Move spectral width according to cursors	M
<b>mp</b>	move parameters between experiments	C
<b>ni</b>	number of increments (in 2D exp.)	P

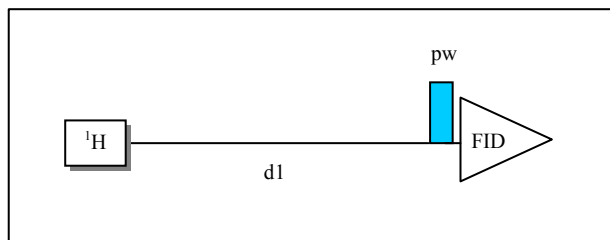
<b>niter</b>	number of iterations	P	<b>text</b>	display text or set new text for current experiment	C
<b>nl</b>	position cursor at the nearest line	C	<b>textvi</b>	edit text file of current experiment	C
<b>nm</b>	select normalized intensity mode	C	<b>th</b>	treshold	P
<b>np</b>	number of data points	P	<b>time</b>	display experiment time	M
<b>nt</b>	Number of transients	P	<b>tlt</b>	first-order baseline correction	P
<b>p1</b>	first pulse width	P	<b>tn</b>	nucleus for observe transmitter	P
<b>page</b>	submit plot and change plotter page	C	<b>tof</b>	frequency offset for observe transmitter	P
<b>pap</b>	plot out all parameters	C	<b>tpwr</b>	observe transmitter level	P
<b>pcon</b>	plot contours on a plotter	C	<b>trace</b>	mode for n-dimensional data display	P
<b>ph</b>	set phase mode	C	<b>vf</b>	vertical scale of FID	P
<b>pirn</b>	plot normalized integral intensities below spectrum	M	<b>vo</b>	vertical offset	P
<b>pl</b>	plot spectra	C	<b>vp</b>	vertical position of spectrum	P
<b>pltmod</b>	plotter display mode	P	<b>vs</b>	vertical scale	P
<b>proc</b>	type of processing on np FID	P	<b>vs2d</b>	vertical scale for 2D-display	P
<b>pw</b>	pulse width	P	<b>vsproj</b>	vertical scale for projections and traces	P
<b>rfl</b>	reference peak position in directly detected dimension	P	<b>vtc</b>	variable temperature cutoff point	P
<b>rfl1</b>	reference peak position in indirectly detected dimension	P	<b>wbs</b>	when block size (specify action when bs transients accumulate)	C
<b>rfp</b>	reference peak frequency in directly detected dimension	P	<b>wc</b>	width of chart	P
<b>rfp1</b>	reference peak frequency in indirectly detected dimension	P	<b>wc2</b>	width of chart in second direction	P
<b>rl</b>	set reference line	M	<b>werr</b>	when error (specify action when error occurs)	C
<b>rp</b>	zero-order phase	P	<b>wexp</b>	when experiment completed (specify action when experiment completes)	C
<b>rts</b>	retrieve shim coil settings	C	<b>wf</b>	width of FID	P
<b>sa</b>	stop acquisition	C	<b>wft</b>	weight and Fourier transform 1D data	C
<b>sb</b>	sinebell constant	P	<b>wft2d</b>	weight and Fourier transform 2D data	C
<b>sc</b>	start of chart	P	<b>wnt</b>	when number of transients (specify action when nt transients accumulate)	C
<b>sd</b>	set decoupler frequency to cursor position	M	<b>wp</b>	width of plot in directly detected dimension	P
<b>sf</b>	start of FID	P	<b>wp1</b>	width of plot in indirectly detected dimension	P
<b>sfrq</b>	transmitter frequency of the observed nucleus	P	<b>wti</b>	interactive weighting	C
<b>slw</b>	spin simulation linewidth	P	<b>x1</b>	X1 shim gradient	P
<b>smaxf</b>	maximum frequency in simulated spectrum	P	<b>xy</b>	XY shim gradient	P
<b>sminf</b>	minimum frequency in simulated spectrum	P	<b>xz</b>	XZ shim gradient	P
<b>sn</b>	signal-to-noise ratio	P	<b>x2y2</b>	X2Y2 shim gradient	P
<b>solvent</b>	lock solvent	P	<b>x3</b>	X3 shim gradient	P
<b>sp</b>	start of plot in directly detected dimension	P	<b>Y1</b>	Y1 shim gradient	P
<b>sp1</b>	start of plot in indirectly detected dimension	P	<b>yz</b>	YZ shim gradient	P
<b>spin</b>	sample spin rate	P	<b>y3</b>	Y3 shim gradient	P
<b>ss</b>	steady-state transients	P	<b>z0</b>	Z0 field position	P
<b>sth</b>	minimum intensity treshold	P	<b>z1</b>	Z1 shim gradient (fine)	P
<b>su</b>	Submit a setup experiment to acquisition	M	<b>z1c</b>	Z1 shim gradient (coarse)	P
<b>sub</b>	Subtract current FID from add/substract experiment	C	<b>z2</b>	Z2 shim gradient (fine)	P
<b>svf</b>	save FID(s) from current experiment	M	<b>z2c</b>	Z2 shim gradient (coarse)	P
<b>svp</b>	save parameters from current experiment	M	<b>z3</b>	Z3 shim gradient (fine)	P
<b>svs</b>	spin simulation vertical scale	P	<b>z4</b>	Z4 shim gradient (coarse)	P
<b>sw</b>	spectral width (in directly detected dimension)	P			
<b>sw1</b>	spectral width (in indirectly detected dimension)	P			
<b>temp</b>	sample temperature	P			



## ZÁKLADNÍ VODÍKOVÁ NMR SPEKTRA

### exp1 JEDNOROZMĚRNÉ $^1\text{H}$ NMR SPEKTRUM parametry: exp1\_H-basic

- \* je obvykle prvním zdrojem informací o strukturních rysech a čistotě studované organické látky
- \* u jednodušších sloučenin lze za příznivých okolností získat z tohoto spektra všechny základní parametry ( $\delta(\text{H})$ ,  $J(\text{H},\text{H})$ , intenzity), které mohou dostačovat k důkazu struktury
- \* měří se jednoduchou jednopulsní sekvencí (obr. 9)



Obr. 9 Standardní  $^1\text{H}$  NMR experiment.

#### Poznámky:

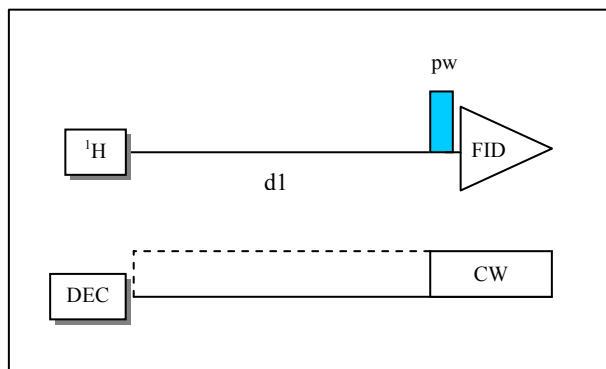
- \* akviziční parametry v **exp1** by měly umožnit naměřit standardní  $^1\text{H}$  NMR spektrum
- \* zkontrolovat (případně opravit) je třeba zadání rozpouštědla (**solvent**)
- \* ve speciálních případech je možno upravit šířku spektra (**sw**) a offset vysílače (**tof**), pozorovací puls (**pw**), akviziční čas (**at**) a počet bodů pro FT (**fn**)
- \* pro analýzu spekter je užitečné použít vážící funkce pro zvýšení rozlišení (doporučené orientční hodnoty: **lb**=-1.5 a **gf**=0.7, případně jejich interaktivní nastavení) před výpisem zvolených expandovaných částí spektra

### exp2 SELEKTIVNÍ HOMONUKLEÁRNÍ DEKAPLINK parametry: exp2\_homodecoupling

- \* umožňuje jednoduchý experimentální důkaz vzájemně interagujících vodíků

- \* selektivním ozářením signálu daného vodíku jsou současně eliminovány všechny jeho interakce s jinými vodíky v molekule, což se projeví zjednodušením multipletů příslušných interagujících vodíků.

- \* pulsni sekvenci ukazuje obr. 10.



Obr. 10 Selektivní homonukleární dekaplink

#### Poznámky:

- \* akviziční parametry v **exp2** by měly umožnit naměřit nejprve standardní  $^1\text{H}$  NMR spektrum, nutné:
  - a) jako referenční spektrum pro srovnání s dekaplovaným spektrem
  - b) pro výběr multipletů a určení dekaplovacích frekvencí
- \* je třeba zkontrolovat (případně opravit) zadání rozpouštědla (**solvent**='...'), **dm**='n' případně upravit akviziční parametry jako v **exp1**
- \* ve změřeném nedekaplovaném spektru vybrat multiplet, najet kurzorem na jeho střed, zadat **sd** (automaticky určí a uloží dekaplovací frekvenci **dof** v parametrech DEC & VT) a určit šířku multipletu v Hz (pomocí 2 kurzorů).
- \* z šířky dekaplovaného multipletu se pomocí následující kalibrační tabulky určí potřebný výkon dekapleru (**dpwr**) a zadá jeho hodnota:

šířka (Hz)	5	10	15	20	30	40
dpwr	10	17	20	22	24	26

- \* zkontrolovat nastavení: **dm**='y', **dmm**='c', **homo**='y'
- \* po změření dekaplovaného spektra lze při jeho zpracování použít vážící funkce pro zvýšení rozlišení jako v **exp1**

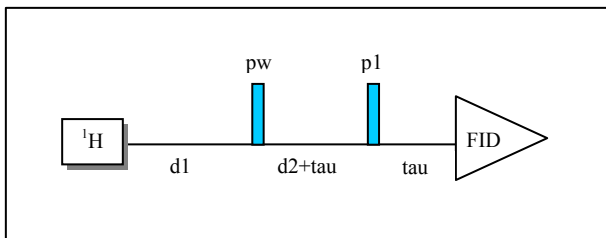
**exp3**  
**HOMONUKLEÁRNÍ KORELOVANÉ**  
**2D-  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY**  
**parametry: exp3\_HH-COSY**

\* jedna z nejdůležitějších a nejčastěji používaných 2D-NMR technik

\* lze jej považovat za ekvivalentní serii selektivních dekaplink experimentů, během nichž jsou všechny vodíky postupně dekaplovány. Výhodou je to, že odpadají problémy selektivního dekaplinku v případě blízkosti či překryvu signálů.

\* základní verzi pulsní sekvence ukazuje obr. 11.

\* spektrum zobrazuje v obou dimenzích chemické posuny vodíků. V 2D-COSY spektru se objevují dva typy signálů: diagonální píky reprezentují původní 1D spektrum a mimodiagonální píky ("krospíky") indikují skalární interakci mezi jádry. Interagující partnery lze nalézt pomocí horizontální a vertikální čáry vycházející z krospíku a protínající diagonálu. Průsečíky na diagonále určují pozice interagujících partnerů. Vzhledem k symetrii spektra podle diagonály lze tuto proceduru provést v levém horním anebo pravém dolním trojúhelníku.



**Obr. 11** (a) Základní pulsní sekvence pro homonukleární  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY spektrum

**Poznámky:**

\* akviziční parametry v **exp3** by měly umožnit naměřit standardní 2D-COSY spektrum

(pw, p2 =  $90^\circ$   $^1\text{H}$ -pulsy, d1 = 2 s, tof = střed  $^1\text{H}$  spektra, d2 = inkrementovaná evoluční doba, tau=0)

\* zkontrolovat (případně opravit) je třeba zadání rozpouštědla (**solvent**)

\* je možno upravit šířky spektra (**sw** musí být stejná jako **sw1**) a offset vysílače (**tof**) podle předem změřeného normálního  $^1\text{H}$  NMR spektra tak, aby na obou stranách spektra zbývala oblast asi 1 ppm bez signálů. V případě změny **sw** je nutné upravit **at** tak aby **fn=2048**.

\* parametry (**bs=4**, **il='y'**, **ni=256** a **nt=128**) vedou k tomu, že nejprve proběhne celý experiment probíhá v cyklech, vždy se čtyřmi přechody pro každé ni. Kdykoliv po ukončení prvního cyklu lze experiment (bez jeho přerušení) zpracovat a při dostatečném poměru S/N zastavit. Při nízké koncentraci je možné pokračovat v měření dokud nejsme spokojeni s kvalitou spektra.

\* zpracování vyžaduje použití vážící funkce pro zvýšení rozlišení v obou dimenzích (doporučujeme: **sb=at/2** a **sb1=sb/4**, případně nastavit interaktivně)

**"Long-range" COSY**

\* intenzita krospíků v COSY spektru závisí na velikosti interakčních konstant příslušných vodíků a intenzitě jejich signálů v 1D NMR spektru (široké multiplety poskytují slabší krospíky). Krospíky odpovídající malým interakcím (obvykle "long-range" interakcím < 2 Hz) proto nemusí být v "normálním" 2D-COSY spektru vidět.

\* k identifikaci malých interakcí je možno použít "long-range" COSY experiment. K tomu je potřeba pouze změnit prodlevu tau: zadat **tau=0.2**

\* ostatní parametry a způsob zpracování spekter jsou stejné jako u normálního 2D-COSY experimentu

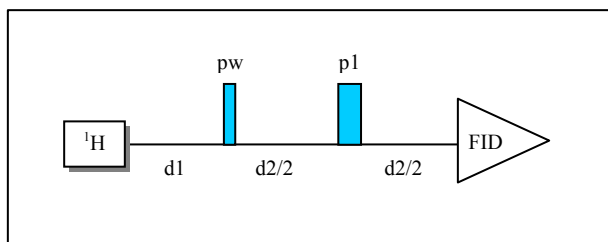
\* všechna uvedená COSY spektra obvykle obsahují artefakty (falešné krospíky či pásy v oblastech velmi intenzivních signálů). K jejich odstranění lze použít tzv. symetrizace dat – procedura porovnává data, symetricky umísťená podle diagonály, a eliminuje signály, které nemají odpovídající protějšky. Symetrizace se provede příkazem **foldt**.

**exp4**  
**HOMONUKLEÁRNÍ 2D-J-ROZLIŠENÉ**  
**NMR SPEKTRUM**  
 parametry: exp4\_homo-2D-J-res

\* využívá jednoduché dvoupulsní sekvence pro generaci spinového echa (obr. 12)

\* umožňuje separovat chemické posuny vodíků v ose  $F_2$  od interakčních konstant  $J(H,H)$  v ose  $F_1$ . Projekce do osy  $F_2$  je ekvivalentní  $^1H$  NMR spektru s "kompletním dekaplinkem vodíků" (singlety pro každý H) a řezy rovnoběžné s osou  $F_1$  představují separované multiplety jednotlivých vodíků. Případné heteronukleární interakce (např.  $J(H,P)$ ) zůstávají zachovány v ose  $F_2$ .

\* metoda umožňuje rozlišit multiplety (určení  $\delta(H)$  a  $J(H,H)$ ) v oblastech překryvu signálů vodíků několika strukturně podobných slabě interagujících systémů (např. aminokyselinových zbytků peptidu). Neodstraňuje však problémy interpretace multipletů silně interagujících systémů vodíků, které nadále nesou rysy spektra 2. řádu.



**Obr. 12** (a) Pulsní sekvence pro homonukleární 2D NMR spektrum rozlišené podle  $J$ .

**Poznámky:**

\* akvizici parametry v **exp4** by měly umožnit naměřit standardní 2D-J-rozlišené spektrum.

\* zkontrolovat (případně opravit) je třeba zadání rozpouštědla (**solvent**)

Důležité parametry:

**pw** =  $90^\circ$  a **p1** =  $180^\circ$   $^1H$ -pulsy

**d1** ~ 1s (relaxační prodleva)

**d2** = inkrementovaná evoluční doba

**tof** = střed  $^1H$  spektra

**sw** = šířka  $^1H$  spektra

**sw1** = maximální šířka multipletů (~ 50 Hz)

\* nízká koncentrace roztoku může vyžadovat zvýšení počtu přechodů (**nt** musí být násobkem 2)

\* zpracování vyžaduje použití vážící funkce pro zvýšení rozlišení v obou dimenzích (doporučujeme:

**sb=at/2** a **sb1=sb/4**, případně nastavit interaktivně)

\* po vážení a transformaci (**wft2d**) je nutné "otočit" data o  $45^\circ$  příkazem **rotate(45)**

\* eliminace artefaktů pomocí symetrizace se provede příkazem **foldj**

## ZÁKLADNÍ UHLÍKOVÁ NMR SPEKTRA

Pro většinu organických sloučenin mají informace o počtu a charakteru uhlíkových atomů zásadní význam pro odvození (důkaz) struktury.

**exp5**  
**RUTINNÍ  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRUM**  
**S ŠIROKOPÁSMOVÝM DEKAPLINKEM**  
**VODÍKŮ**  
**parametry: exp5\_Carbon-BB-decoupled**

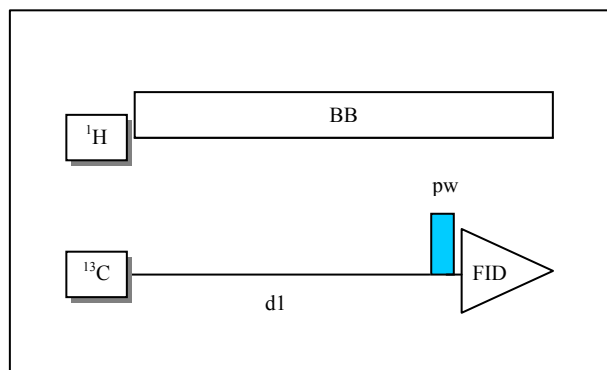
\* pulsni sekvence je ukázána na obr. 13.

\* širokopásmový dekaplink zapnutý během celé sekvence výrazně zvyšuje citlivost:

- (a) eliminací všech interakcí  $J(\text{C},\text{H})$  dávají všechny uhlíkové atomy singlety,
- (b) NOE může zvýšit intenzity signálů až 3x.

\* to je však provázeno:

- (a) kompletní ztrátou informace obsažené v  $J(\text{C},\text{H})$  (nelze přímo rozlišit signály  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}$  a  $\text{C}$ ),
- (b) zkreslením intenzit signálů (nekvantitativní poměry intenzit signálů spektra).



**Obr. 13** Pulsní sekvence pro rutinní  $^{13}\text{C}$  NMR experiment s širokopásmovým dekaplinkem vodíků.

### Poznámky:

\* akviziční parametry v **exp5** by měly umožnit naměřit rutinní  $^{13}\text{C}$  NMR spektrum s širokopásmovým dekaplinkem vodíků

\* zkontrolovat (případně opravit) je třeba zadání rozpouštědla (**solvent**)

Důležité parametry:

**pw** =  $30-60^\circ$  (pozorovací  $^{13}\text{C}$ -puls)

**d1** ~ 1s (relaxační prodleva)

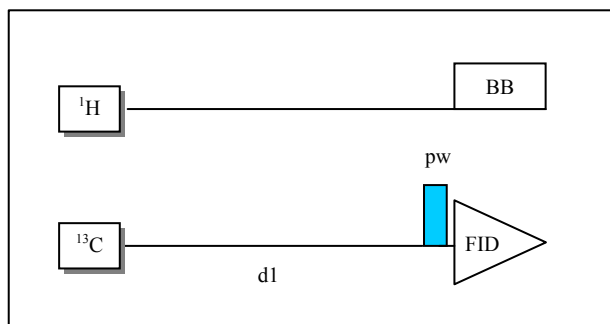
**tof** = střed  $^{13}\text{C}$  spektra

**sw** = šířka  $^{13}\text{C}$  spektra

\* pro zvýšení citlivosti se používá vážení FIDu doznívající exponenciálou (**lb=1**)

**exp6**  
**KVANTITATIVNÍ  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRUM**  
**S ŠIROKOPÁSMOVÝM DEKAPLINKEM**  
**VODÍKŮ**  
**parametry: exp6\_Carbon-quantitative**

- \* pulsní sekvence je ukázána na obr. 14.
- \* je třeba použít krátký puls ( $<45^\circ$ ) a dostatečně dlouhou relaxační dobu (aby i uhlíky s dlouhými  $T_1$  stačily zrelaxovat) a potlačit rozdílné NOE efekty (dekapler je zapnut pouze během akviziční doby)
- \* za optimálních podmínek by každému uhlíku měl odpovídat signál s přibližně stejnou intenzitou (možnost integrace podobně jako v  $^1\text{H}$  NMR spektru)
- \* dlouhé relaxační prodlevy a potlačení NOE snižují citlivost měření, které pak může být časově náročné (podle koncentrace vzorku)
- \* pro zkrácení relaxačních časů substrátu lze přidat acetylacetonát chromitý ( $\text{Cr}(\text{acac})_3$ ).



**Obr. 14** (a) Pulsní sekvence pro kvantitativní  $^{13}\text{C}$  NMR s dekaplinkem protonů

**Poznámky:**

\* akviziční parametry v **exp6** by měly umožnit naměřit kvantitativního  $^{13}\text{C}$  NMR spektra s širokopásmovým dekaplinkem vodíků

\* zkontrolovat (případně opravit) je třeba zadání rozpouštědla (**solvent**)

Důležité parametry:

**pw** =  $45^\circ$  (pozorovcí  $^{13}\text{C}$ -puls)

**d1**  $\geq 5$  s (relaxační prodleva – teoreticky by měla být ~ 5krát delší než nejdelší uhlíkový relaxační čas  $T_1$ )

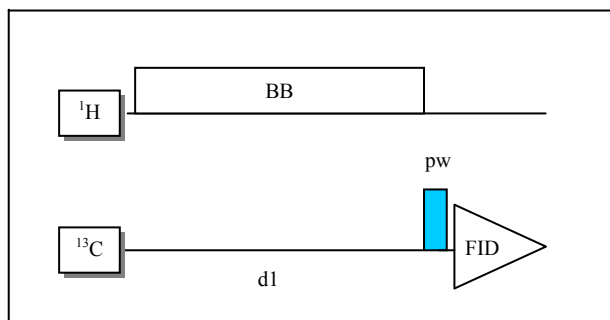
**tof** = střed  $^{13}\text{C}$  spektra

**sw** = šířka  $^{13}\text{C}$  spektra

\* pro zvýšení citlivosti se používá vážení FIDu doznívající exponenciálou (**lb=1**)

**exp7**  
**"NEDEKAPLOVANÉ"  $^{13}\text{C}$  NMR SPEKTRUM**  
**S NOE**  
**parametry: exp7\_Carbon-H-coupled**

- \* obsahují štěpení uhlíkových signálů všemi interakcemi  $J(\text{C},\text{H})$
- \* širokopásmový dekaplink vodíků je zapnut pouze v době mimo akvizici tak, aby mohlo dojít k ustavení NOE a tudíž nárůstu intenzity signálů (pulsní sekvence na obr.15).
- \* uhlíkové signály jsou štěpeny velkými interakcemi  $^1J(\text{C},\text{H}) \sim 120\text{--}200\text{ Hz}$  na dublety ( $\text{CH}$ ), tripletu ( $\text{CH}_2$ ) či kvartety ( $\text{CH}_3$ ), které obvykle obsahují další štěpení interakcemi  $J(\text{C},\text{H})$  přes dvě a více vazeb  $\Rightarrow$  analysovatelná interpretovatelná spektra lze získat pouze u jednoduchých molekul



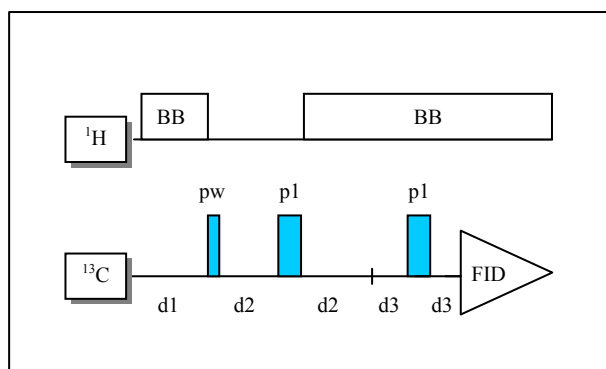
**Obr. 15** Pulsní sekvence pro nedekaplované  $^{13}\text{C}$  NMR spektrum obsahující interakce  $J(\text{C},\text{H})$ .

**Poznámky:**

- \* akviziční parametry v **exp7** by měly umožnit naměřit nedekaplované  $^{13}\text{C}$  NMR spektrum s využitím NOE od vodíků
  - \* zkontrolovat (případně opravit) je třeba zadání rozpouštědla (**solvent**)
- Důležité parametry:  
**pw** =  $45^\circ$  (pozorovací  $^{13}\text{C}$ -puls)  
**d1** ~ 3s (relaxační prodleva a doba k ustavení NOE)  
**tof** = střed  $^{13}\text{C}$  spektra  
**sw** = šířka  $^{13}\text{C}$  spektra
- \* použití typu vážení funkce závisí na poměru S/N, velikosti  $J(\text{C},\text{H})$  a potřeby přesnosti jejich stanovení. Pro zvýšení citlivosti lze použít vážení FIDu doznívající exponenciálou (**lb=1**).
  - Při velmi dobrém poměru S/N lze použít i vážení zvyšující rozlišení (hodnoty lb a gf je nutno nastavit Interaktivně)

**exp8**  
**"ATTACHED PROTON TEST "  $^{13}\text{C}$  NMR**  
**("J-MODULATED SPIN-ECHO")**  
**parametry: exp8\_Carbon-APT**

- \* k rozlišení  $^{13}\text{C}$  signálů podle počtu přímo vázaných vodíků používá multipulsní sekvensi (obr. 16) - modulace intenzit signálů podle počtu přímých  $J(\text{C},\text{H})$ :
- $>\text{C}<$  a  $-\text{CH}_2-$  uhlíky  $\rightarrow$  signály s pozitivní amplitudou  
 $>\text{CH}-$  a  $-\text{CH}_3$  uhlíky  $\rightarrow$  signály s negativní amplitudou
- \* u signálů s pozitivní amplitudou lze rozlišit kvarterní uhlíky ( $>\text{C}<$ ) podle výrazně nižších intenzit signálů oproti uhlíkům ( $-\text{CH}_2-$ )
  - \* u signálů s negativní amplitudou mají methylové uhlíky ( $-\text{CH}_3$ ) obvykle nižší intenzitu a menší  $\delta$ -hodnoty chemických posunů oproti methinovým uhlíkům ( $>\text{CH}-$ )
  - \* u látek obsahujících uhlíky s velmi vysokými hodnotami  $^1J(\text{C},\text{H})$  (např. heteroaromáty, epoxidy) je třeba zkrátit **d2** na 6 ms, aby se tyto uhlíky objevily ve spektru

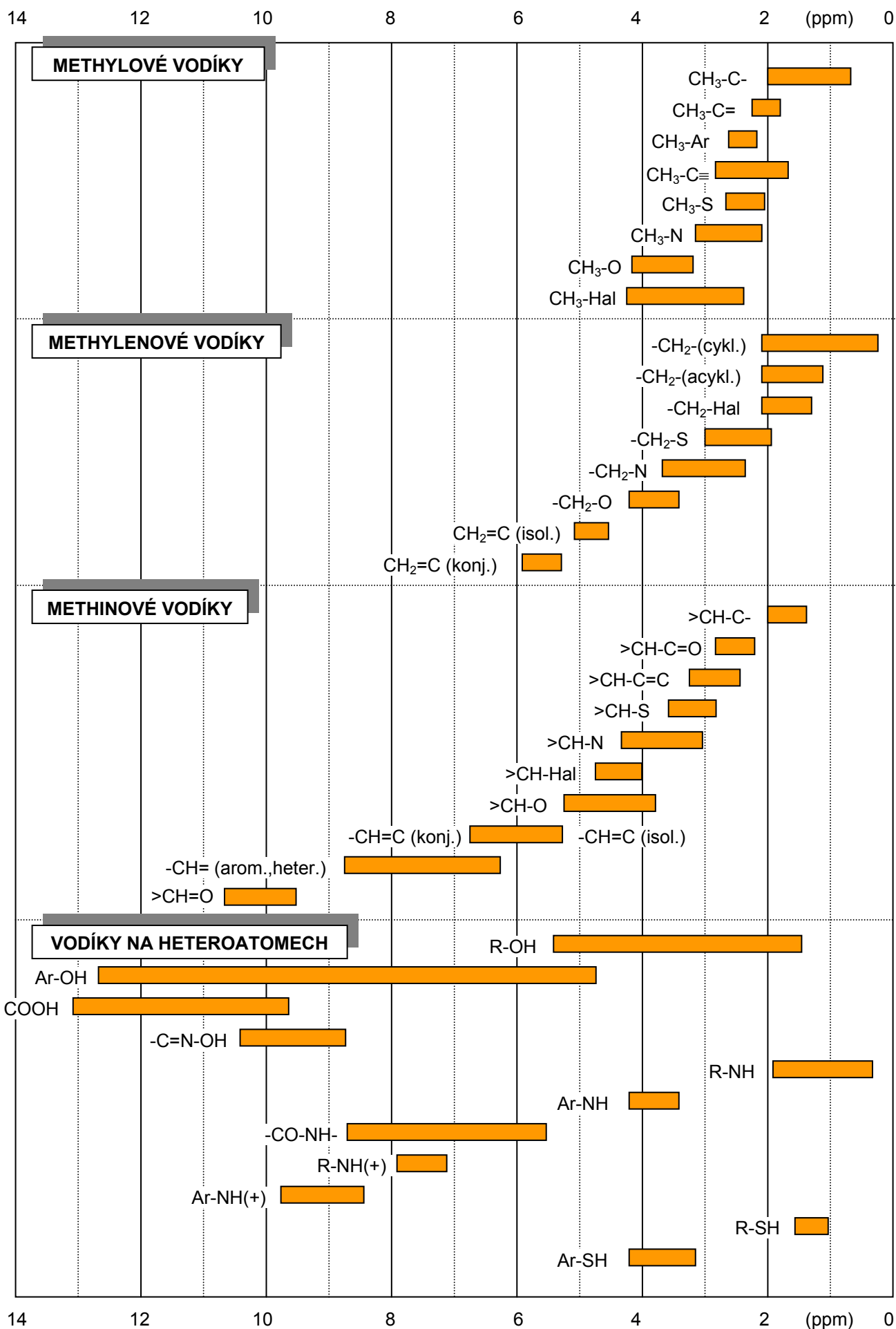


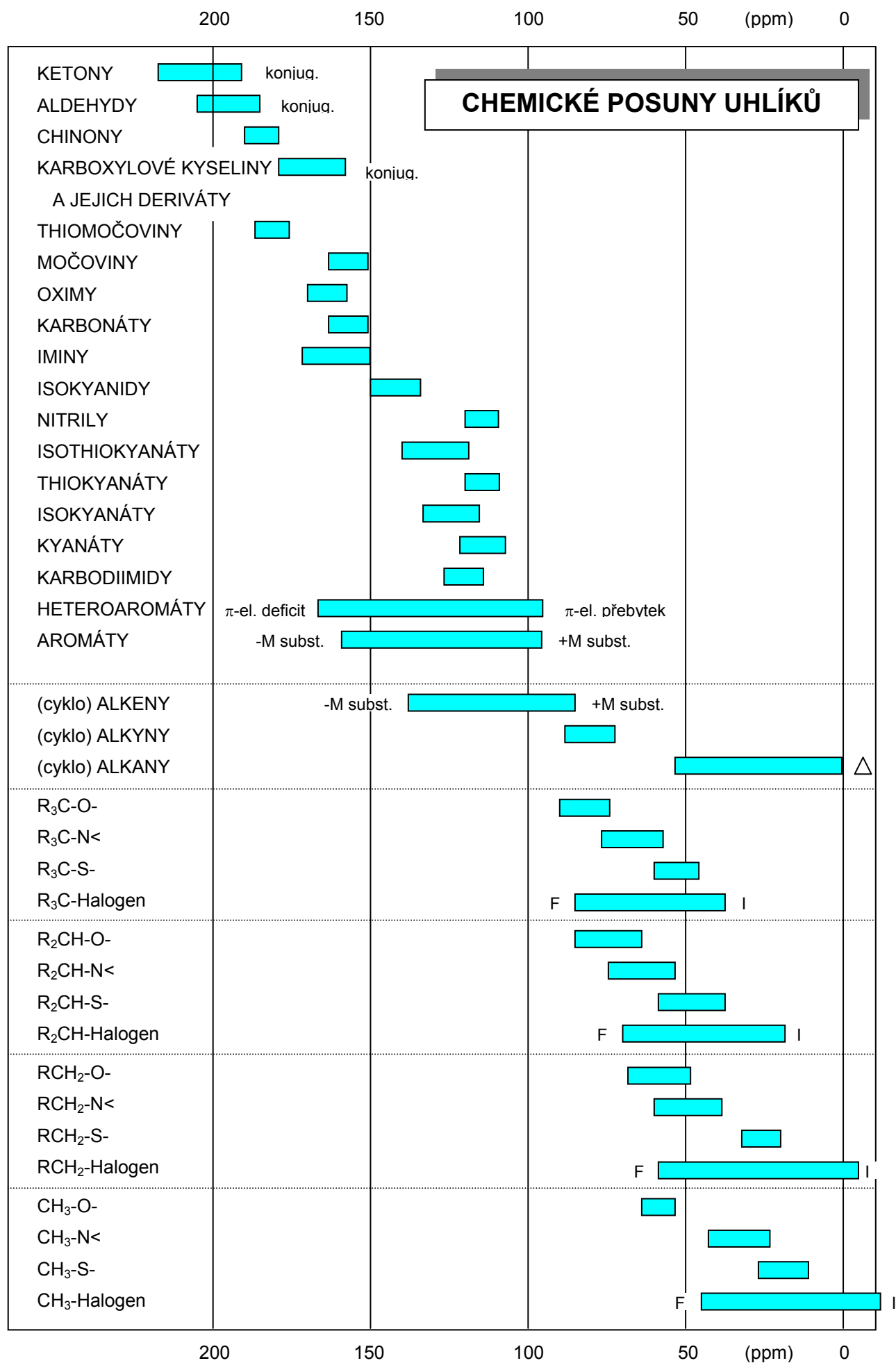
**Obr. 16** (a) Pulsní sekvence pro "Attached Proton Test"  $^{13}\text{C}$  NMR

**Poznámky:**

- \* akviziční parametry v **exp8** by měly umožnit naměřit "Attached Proton Test"  $^{13}\text{C}$  NMR spektrum
  - \* zkontrolovat (případně opravit) je třeba zadání rozpouštědla (**solvent**)
- Důležité parametry:  
**pw** =  $45^\circ$  (pozorovací  $^{13}\text{C}$ -puls)  
**p1** =  $180^\circ$  ( $^{13}\text{C}$ -puls0)  
**d1** = 1s (relaxační prodleva)  
**d2** = 7 ms (odpovídá průměrné hodnotě  $1 / J(\text{C},\text{H})$ )  
**d3** = 1 ms  
**tof** = střed  $^{13}\text{C}$  spektra  
**sw** = šířka  $^{13}\text{C}$  spektra
- \* pro zvýšení citlivosti se používá vážení FIDu doznívající exponenciálou (**lb=1**)

# CHEMICKÉ POSUNY VODÍKŮ

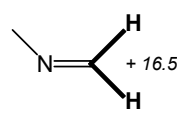
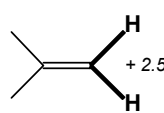
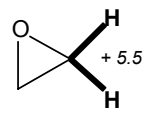
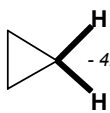
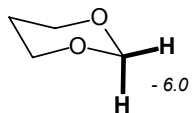
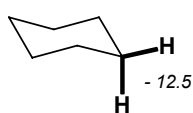
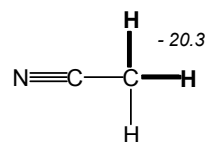
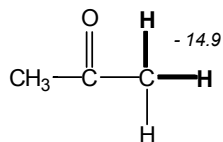
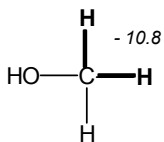
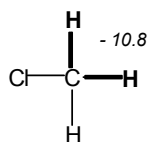
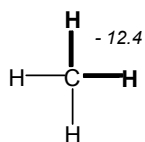




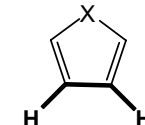
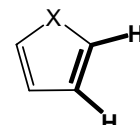
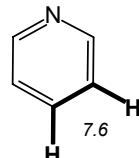
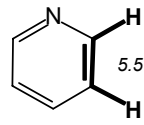
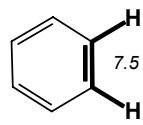
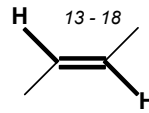
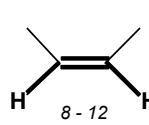
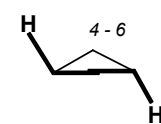
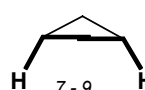
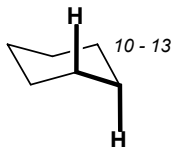
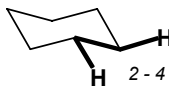
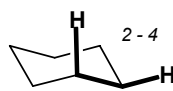
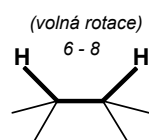


# INTERAKČNÍ KONSTANTY VODÍKŮ J(H,H)

## $2J(\text{H,H})$

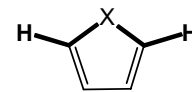
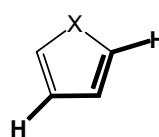
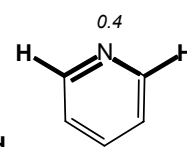
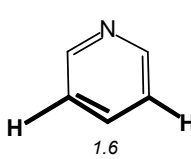
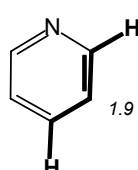
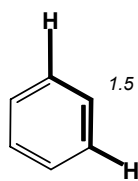
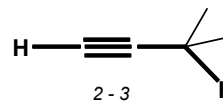
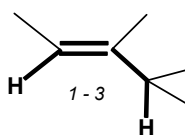
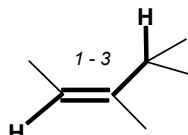
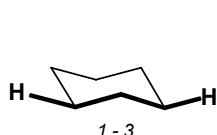


## $3J(\text{H,H})$

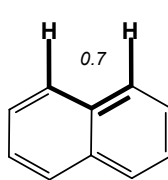
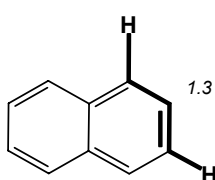


X		
1.8	O	3.4
2.6	NH	3.5
4.8	S	3.5

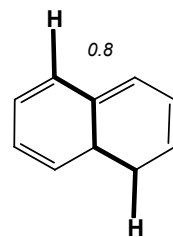
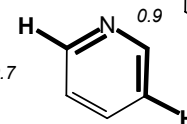
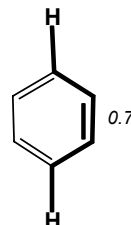
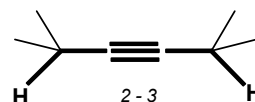
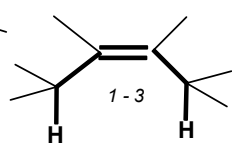
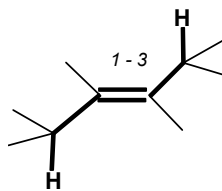
## $4J(\text{H,H})$



X		
0.9	O	1.5
1.3	NH	2.1
1.0	S	2.8



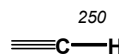
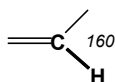
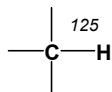
## $5J(\text{H,H})$



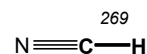
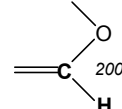
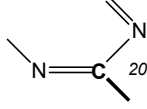
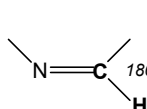
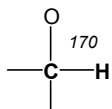
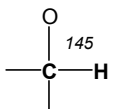
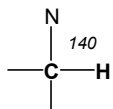
# INTERAKČNÍ KONSTANTY J(C,H)

## 1J(C,H)

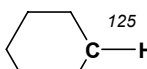
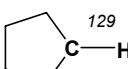
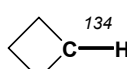
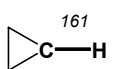
C-Hybridisace:



Elektronegativita:

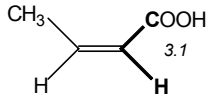
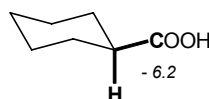


Velikost kruhu:

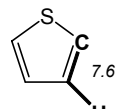
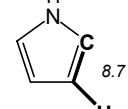
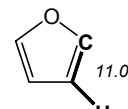
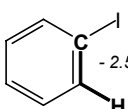
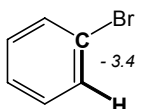
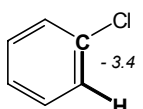
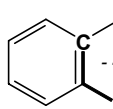


## 2J(C,H)

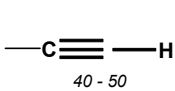
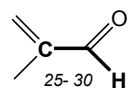
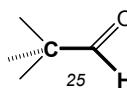
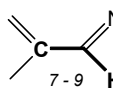
Valenční úhel:



Elektronegativita:

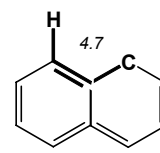
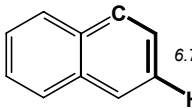
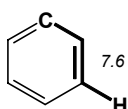
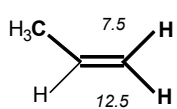


Násobné vazby:

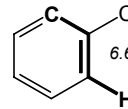
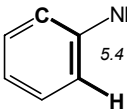
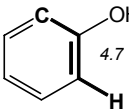
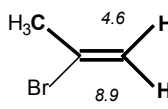
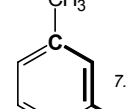
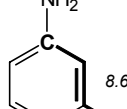
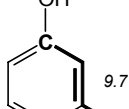
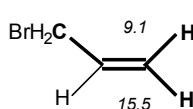


## 3J(C,H)

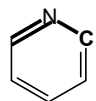
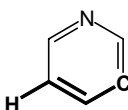
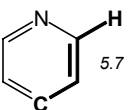
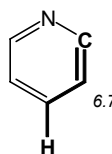
Relativní konfigurace:



Elektronegativita:

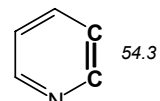
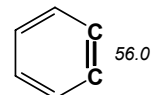
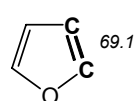
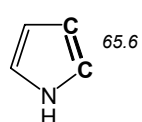
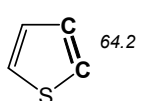
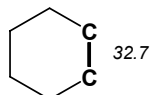
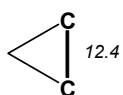
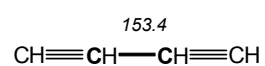
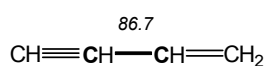
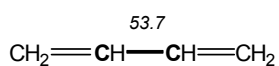
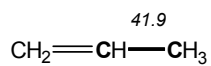
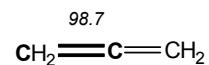
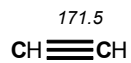
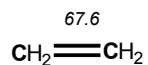
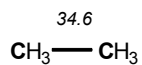


Volný elektronový pár:

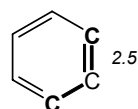
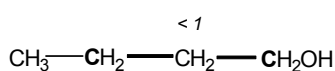
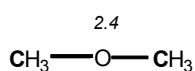
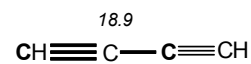
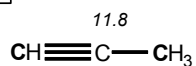
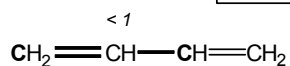
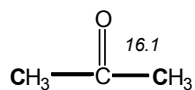


# INTERAKČNÍ KONSTANTY UHLÍKŮ J(C,C)

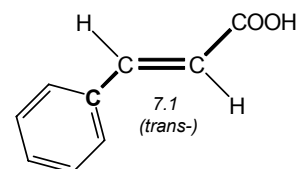
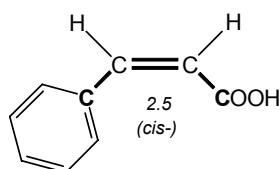
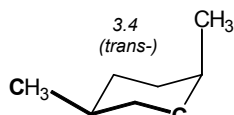
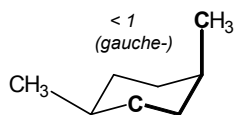
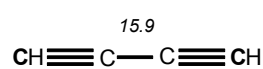
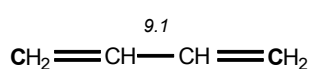
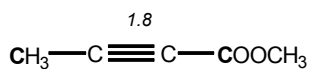
## 1J(C,C)



## 2J(C,C)



## 3J(C,C)

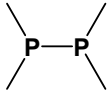
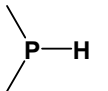
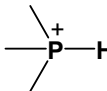
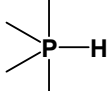
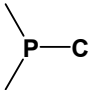
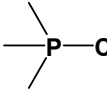
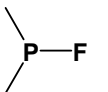
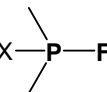
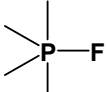
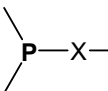
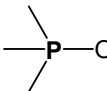
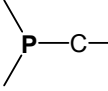
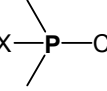
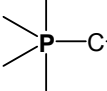
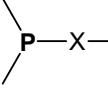
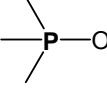
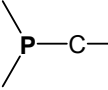
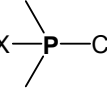
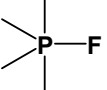
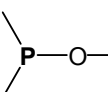
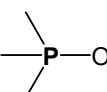
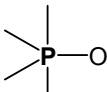
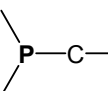
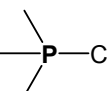
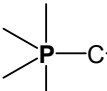
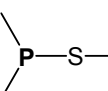
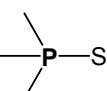
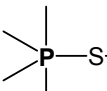
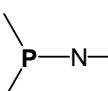
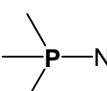
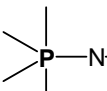


# INTERAKČNÍ KONSTANTY FOSFORU

P (III)

P (IV)

P (V)

	100 - 400				
	180 - 225		490 - 600		700 - 1000
	0 - 40		50 - 305		
	820 - 1450		820 - 1450 (X = O, S)		530 - 1100
	70 - 90 (X = C, S)		0 - 23		
	0 - 18		7 - 30		10 - 18
	12 - 20 (X = C) 10 - 12 (X = O)		~6		
	40 - 150		100 - 130 (X = O, S)		120 - 190
	0 - 15		0 - 13		12 - 17
	10 - 16		14 - 25		20 - 27
	2 - 20		16 - 20		13 - 25
	3 - 14		9 - 17		2 - 15