

Μαγνητικός συντονισμός NMR









- Σε μια απλουστευτική προσέγγιση, μπορούμε να θεωρήσουμε πως τα υποατομικά σωματίδια (πρωτόνια, νετρόνια, ηλεκτρόνια) περιστρέφονται γύρω από τον άξονά τους, έχουν με άλλα λόγια κάποιο spin ($\pm 1/2$)
- Σε κάποια άτομα, τα spin των πρωτονίων και των νετρονίων αλληλοαναιρούνται μεταξύ τους, οπότε ο πυρήνας τους δεν έχει ολικό spin (I), ενώ σε άλλα άτομα ο πυρήνας έχει μη μηδενικό ολικό spin



Κανόνες πρόβλεψης του ολικού spin ενός πυρήνα

Number of protons	Number of neutrons	I
Even	Even	0
Odd	Odd	Integer (1, 2, 3, ...)
Even	Odd	Half-integer ($\frac{1}{2}, \frac{3}{2}, \frac{5}{2}, \dots$)
Odd	Even	Half-integer ($\frac{1}{2}, \frac{3}{2}, \frac{5}{2}, \dots$)

					
¹H	²H (D)	⁴He	¹¹B	¹²C	¹³C
1 proton	1 proton	2 protons	5 protons	6 protons	6 protons
0 neutrons	1 neutron	2 neutrons	6 neutrons	6 neutrons	7 neutrons
spin	spin	no spin	spin	no spin	spin

Μόνο τα άτομα με $I \neq 0$ μπορούν να ανιχνευτούν με τεχνικές NMR!



Nuclear Spins for Main Elemental Isotopes that Undergo NMR

1A 1 H																	8A 2 He
3 Li	4 Be											5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
11 Na	12 Mg											13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar
19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe
55 Cs	56 Ba	57-71 <small>Lanthanides</small>	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn
87 Fr	88 Ra	89-103 <small>Actinides</small>	104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Ds	111 Rg	112 Cn	113 Uut	114 Fl	115 Uup	116 Lv	117 Uus	118 Uuo

Lanthanides	57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu
Actinides	89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr

Nuclear Spin

	1/2		3/2		7/2		5
	1		5/2		9/2		8

No data for synthetic elements ≥ 103

Πυρήνες ατόμων με ημιακέραιο spin

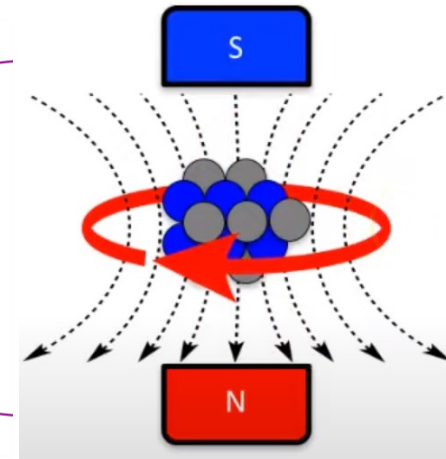
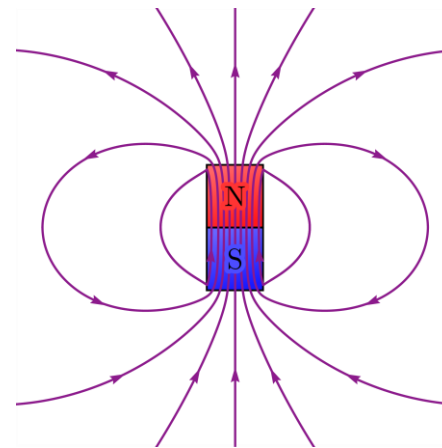
$${}^1\text{H} = 1/2 \quad {}^{13}\text{C} = 1/2 \quad {}^{15}\text{N} = 1/2 \quad {}^{19}\text{F} = 1/2 \quad {}^{31}\text{P} = 1/2$$

$${}^{11}\text{B} = 3/2 \quad {}^{17}\text{O} = 5/2 \quad {}^{43}\text{Ca} = 7/2 \quad {}^{209}\text{Bi} = 9/2$$

Πυρήνες ατόμων με ακέραιο spin

$${}^2\text{H} = 1 \quad {}^6\text{Li} = 1 \quad {}^{10}\text{B} = 3 \quad {}^{14}\text{N} = 1 \quad {}^{50}\text{V} = 6 \quad {}^{138}\text{La} = 5$$

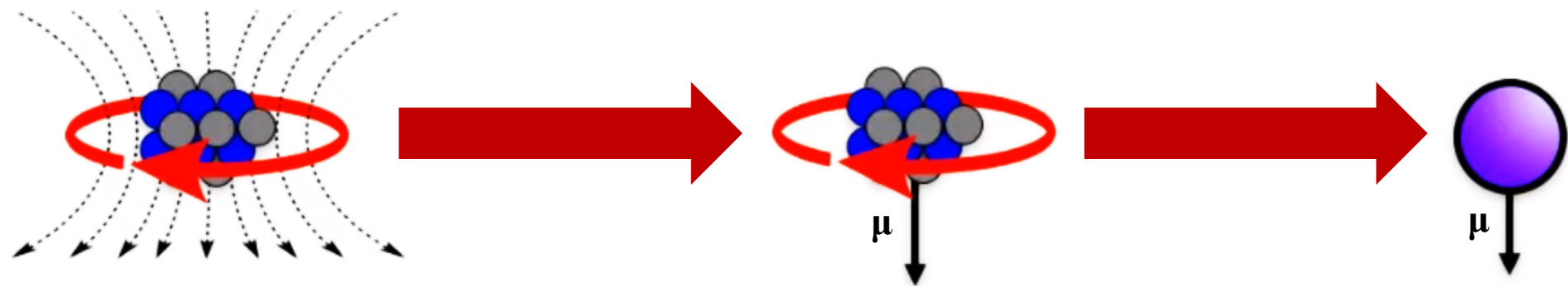
- Από την κλασσική ηλεκτροδυναμική γνωρίζουμε πως τα **κινούμενα ηλεκτρικά φορτία δημιουργούν μαγνητικό πεδίο**
- Οι πυρήνες είναι **θετικά φορτισμένοι** λόγω των πρωτονίων τους
- Συνεπώς, οι πυρήνες που έχουν μη μηδενικό ολικό spin I θα συμπεριφέρονται σαν **μικροί ραβδόμορφοι μαγνήτες** που παράγουν το δικό τους μικροσκοπικό **μαγνητικό πεδίο**



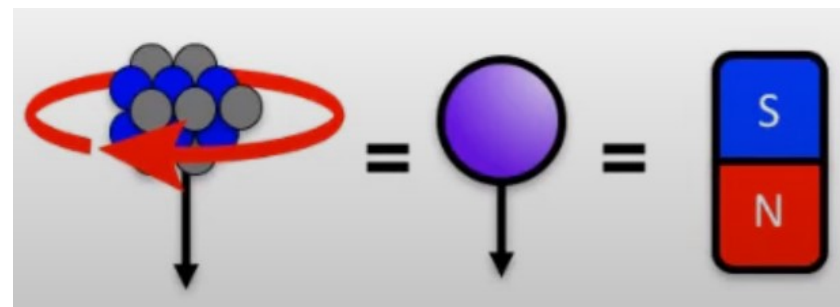
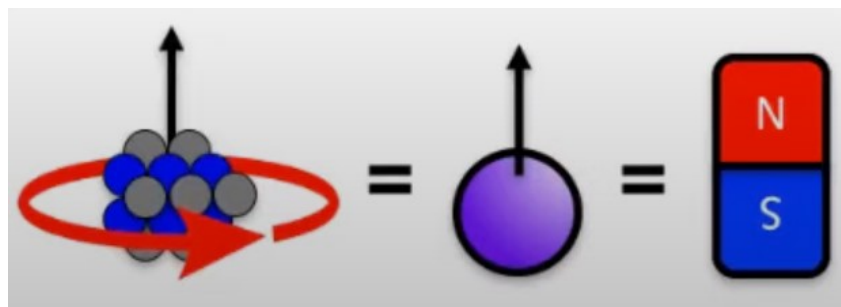
Dr. Danny Allwood

https://youtu.be/T3scEom1E1s?list=PLIq1pYmhQkxiawe0g_TtwQ-m4CUbTZA2j



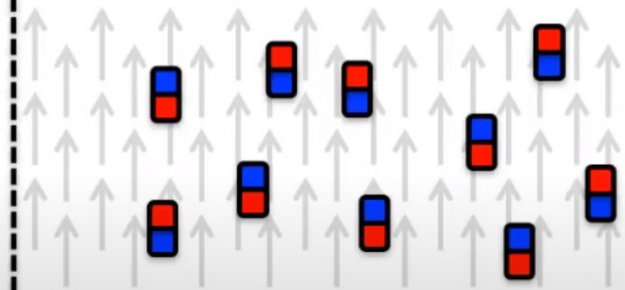
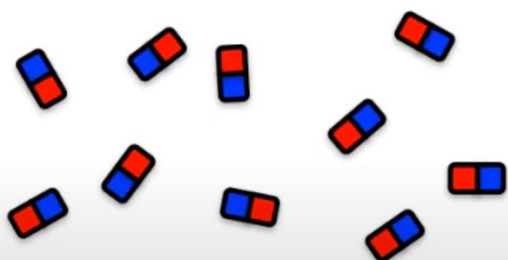


Μαγνητική ροπή (μ): διανυσματικό μέγεθος που εκφράζει τη **μαγνητική ισχύ** καθώς και τον **προσανατολισμό** ενός μαγνήτη ή ενός άλλου σώματος που παράγει μαγνητικό πεδίο



no magnetic field – spins disordered

applied magnetic field – spins aligned



$2I + 1$ προσανατολισμοί των spins κατά την εφαρμογή ενός εξωτερικού μαγνητικού πεδίου έντασης B_0



$2I + 1$ προσανατολισμοί
για διαφορετικά άτομα

${}^1\text{H} (I = 1/2) = 2$ ${}^{10}\text{B} (I = 3) = 7$

${}^2\text{H} (I = 1) = 3$ ${}^{11}\text{B} (I = 3/2) = 4$

${}^{13}\text{C} (I = 1/2) = 2$ ${}^{209}\text{Bi} (I = 9/2) = 10$

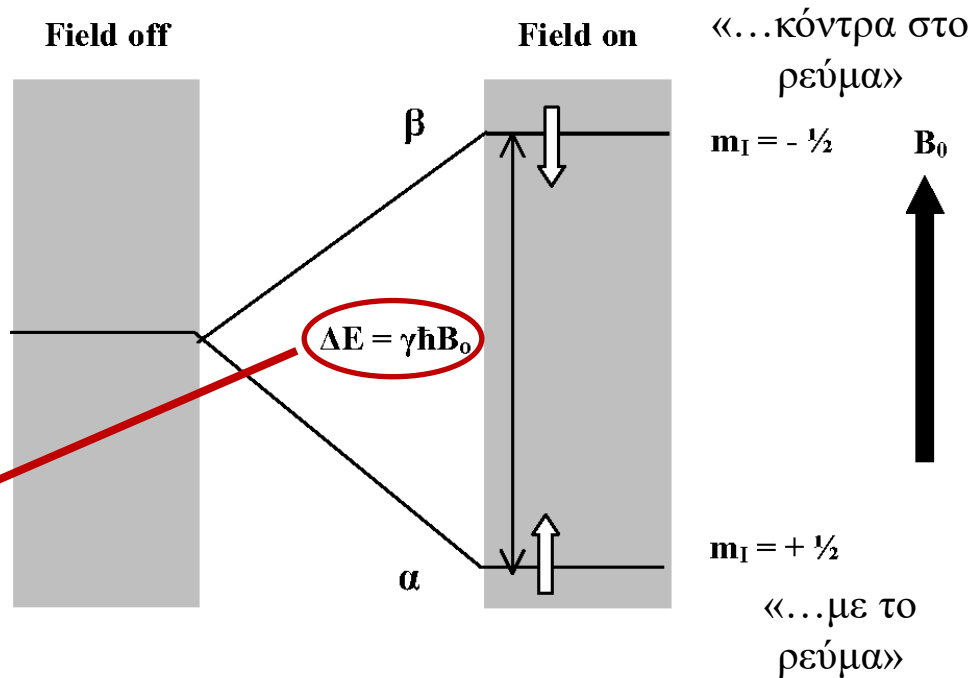


Η ενεργειακή διαφορά ανάμεσα στις δύο καταστάσεις spin είναι ανάλογη του εξωτερικού πεδίου

$E_{m_I} = -\gamma_N \hbar B_0 m_I$ (ενέργεια κατάστασης)

όπου γ ο πυρηνικός γυρομαγνητικός λόγος που είναι **χαρακτηριστικός για κάθε πυρήνα** (μονάδες: $\text{rad} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{T}^{-1}$) και \hbar η επαυξημένη σταθερά Planck ίση με $h/2\pi$

Συνεπώς: $\Delta E = E_\beta - E_\alpha = \frac{1}{2}\gamma_N \hbar B_0 - (-\frac{1}{2}\gamma_N \hbar B_0) = \gamma_N \hbar B_0$



Για πυρήνες με **spin** $1/2$, η εφαρμογή του εξωτερικού μαγνητικού πεδίου B_0 δίνει δύο διαφορετικές καταστάσεις spin: την α , όπου η μαγνητική ροπή μ είναι ευθυγραμμισμένη με το πεδίο (**χαμηλή ενέργεια**) και τη β , όπου η μαγνητική ροπή μ είναι αντίθετη σε σχέση με την κατεύθυνση του πεδίου (**υψηλή ενέργεια**)



Κατανομή Boltzmann για τους πληθυσμούς πυρήνων N κατάστασης spin α, β



$$\frac{N_{\alpha}}{N_{\beta}} = e^{-(E_{\alpha}-E_{\beta})/kT}$$



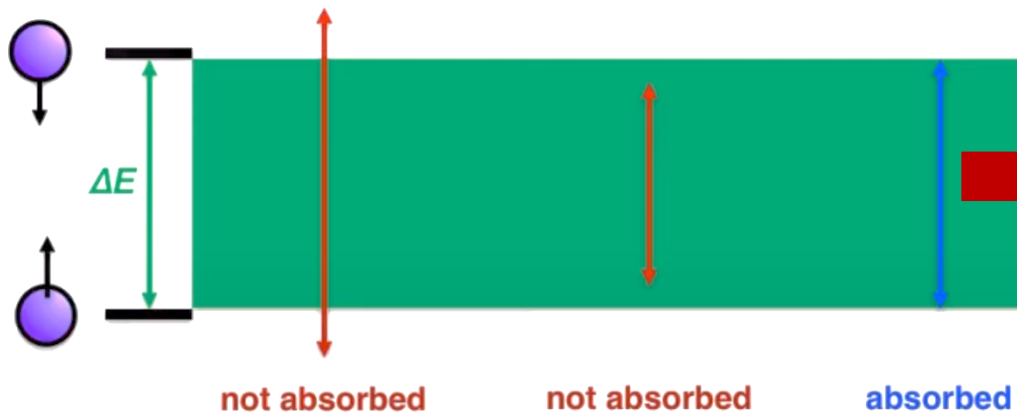
Επειδή $E_{\alpha} < E_{\beta} \rightarrow E_{\alpha} - E_{\beta} < 0$ και άρα το εκθετικό είναι μεγαλύτερο από τη μονάδα. Συνεπώς $N_{\alpha} > N_{\beta}$ πράγμα που σημαίνει πως στην ισορροπία θα υπάρχουν περισσότεροι πυρήνες στην κατάσταση α (χαμηλής ενέργειας) σε σχέση με τη β (υψηλής ενέργειας)

$$\Delta E = h\nu \quad \rightarrow \quad h\nu = \gamma_N \hbar \mathcal{B}_0 \quad \text{or} \quad \nu = \frac{\gamma_N \mathcal{B}_0}{2\pi}$$

- Στην περίπτωση όπου ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία συχνότητας ν αλληλεπιδράσει με τα πυρηνικά spins θα έχουμε **συνθήκες συντονισμού**
- Η ακτινοβολία τότε θα **απορροφηθεί έντονα**, προκαλώντας τη μετάβαση από την κατάσταση α (χαμηλής ενέργειας) στην κατάσταση β (υψηλής ενέργειας)
- Με άλλα λόγια θα προκύψουν μεταβάσεις **μαγνητικού πυρηνικού συντονισμού** ως αποτέλεσμα του **spin flip**

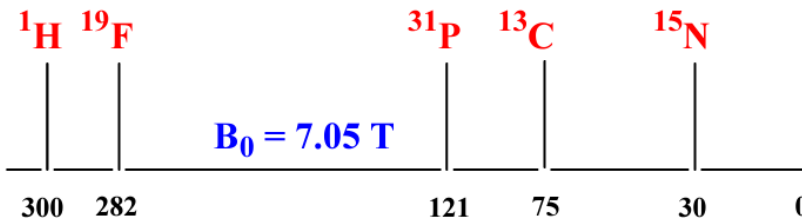


Nuclei can only absorb energy which matches ΔE .

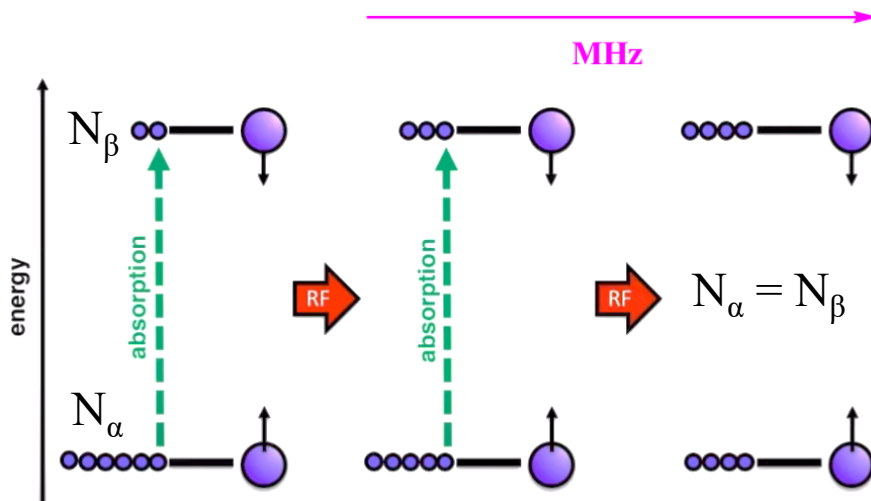


Συχνότητα μετάπτωσης
Larmor

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

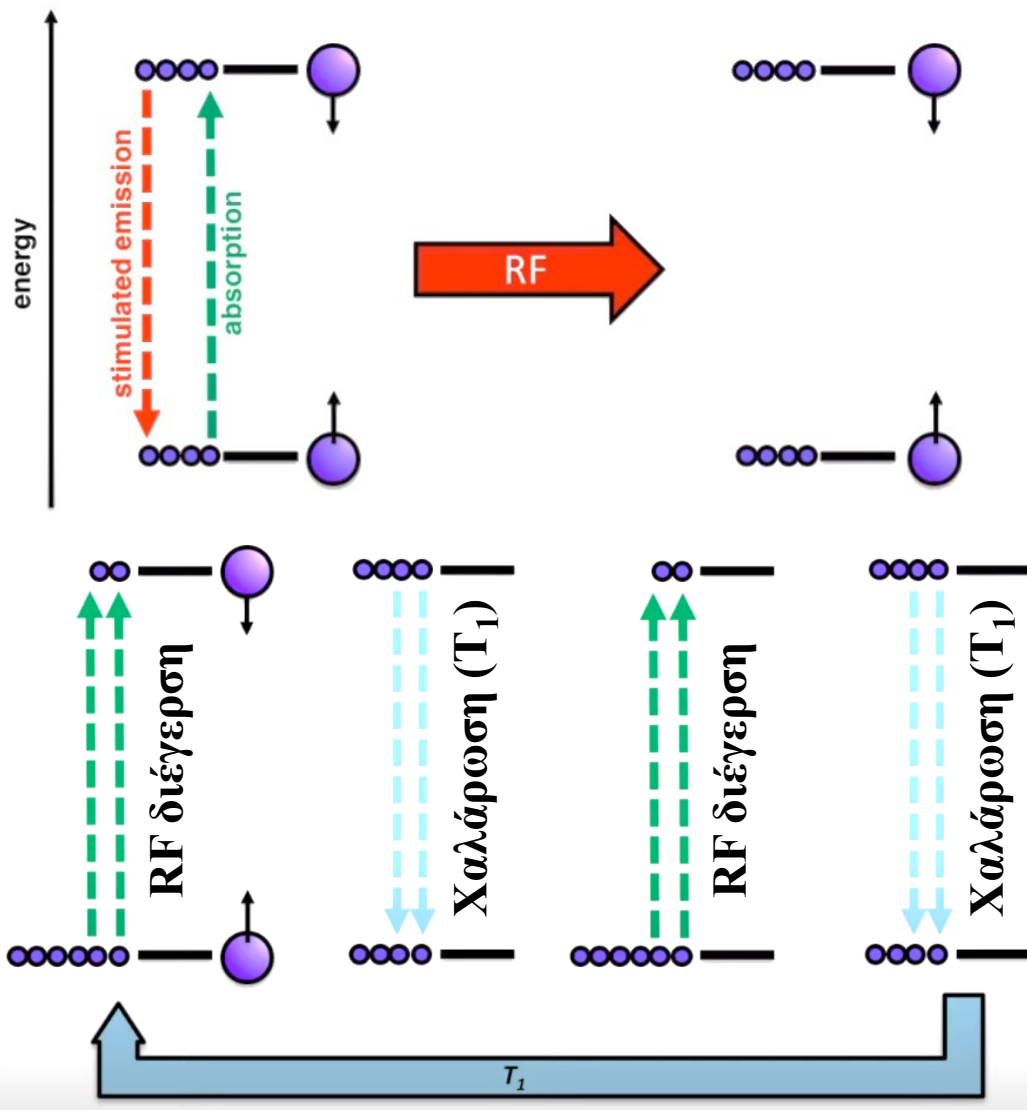


Για δεδομένο B_0 , η συχνότητα συντονισμού ν είναι μοναδική για κάθε πυρήνα!



- Σύμφωνα με την κατανομή Boltzmann, θα έχουμε περισσότερους πυρήνες στην κατάσταση α σε σχέση με τη β
- Αν εφαρμόσουμε RF ακτινοβολία με συχνότητα $\nu = \Delta E/h$, θα προκύψει έντονη απορρόφηση με αποτέλεσμα οι πυρήνες να μεταβαίνουν σταδιακά στην κατάσταση β
- Κάποια στιγμή $N_\alpha = N_\beta$ (κορεσμός)





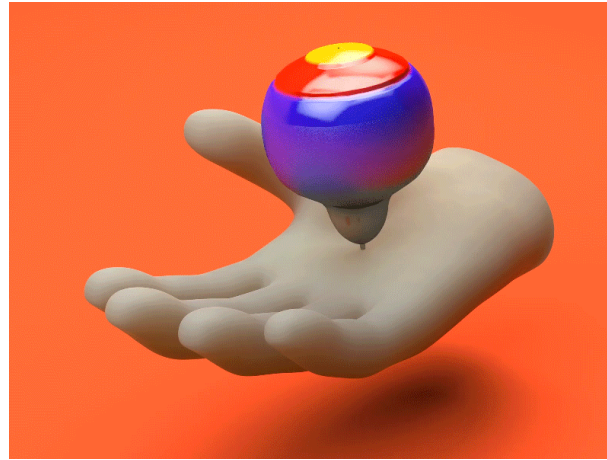
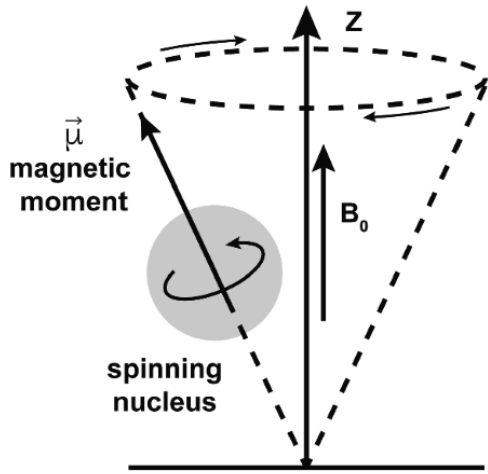
Στον κορεσμό δεν έχουμε πλέον «καθαρή» απορρόφηση της ακτινοβολίας συχνότητας ν λόγω της ανταγωνιστικής διεργασίας της εξαναγκασμένης εκπομπής

- Αν αφήσουμε τους πυρήνες να «χαλαρώσουν» έπειτα από την κατάσταση κορεσμού ($N_\alpha = N_\beta$), θα παρατηρήσουμε μια σταδιακή επαναφορά του συστήματος στην κατάσταση ισορροπίας ($N_\alpha > N_\beta$) χωρίς εκπομπή ακτινοβολίας
- Ονομάζουμε **χρόνο αποκατάστασης spin-πλέγματος T_1** το χαρακτηριστικό χρόνο που απαιτείται για να επανέλθει το σύστημα εκθετικά στην κατάσταση ισορροπίας λόγω μεταφοράς ενέργειας σε γειτονικά μόρια

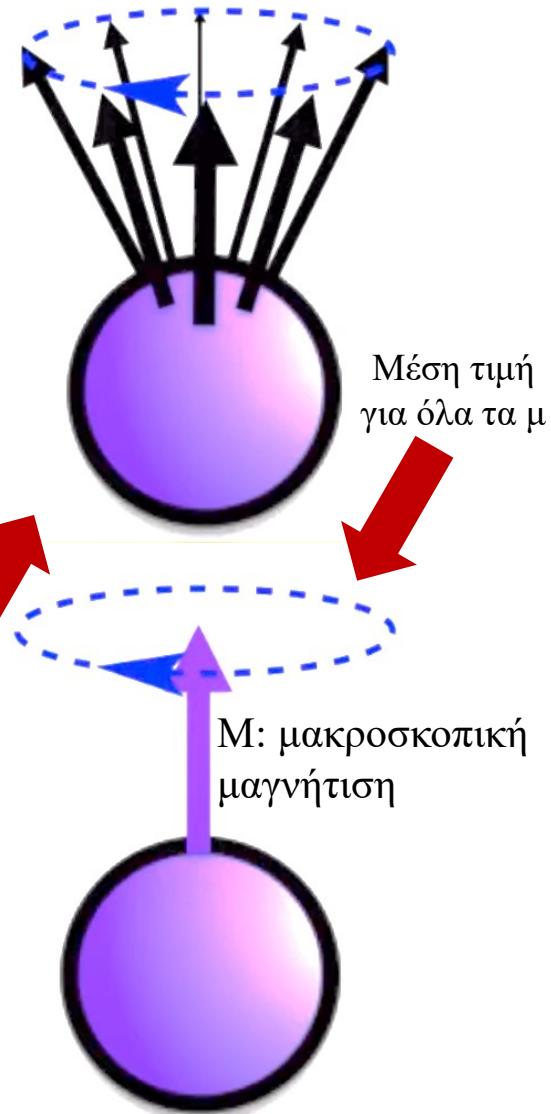


Ο χρόνος T_1 εξαρτάται από το γ_N καθώς και την **κινητικότητα του πλέγματος**. Όταν η συχνότητα ταλάντωσης των γειτονικών μορίων πλησιάζει τη ν τότε το επαγόμενο μαγνητικό πεδίο προκαλεί τη μετάβαση $\beta \rightarrow \alpha$ και ο χρόνος T_1 μειώνεται

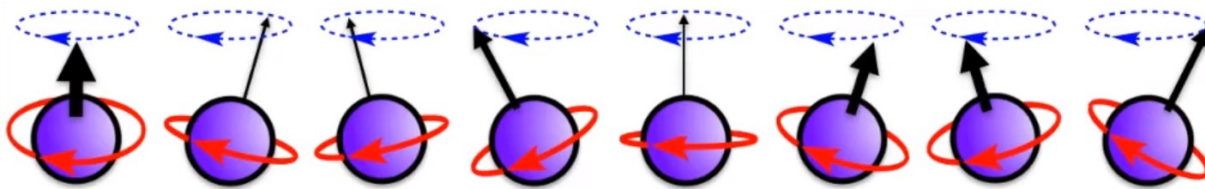




Snapshot για όλους
τους πυρήνες



Κατά την εφαρμογή του μαγνητικού πεδίου έντασης B_0 , η μαγνητική ροπή μ δεν ευθυγραμμίζεται τέλεια με το πεδίο αλλά εκτελεί μια **μεταπτωτική κίνηση** (όπως ακριβώς μια σβούρα) με συχνότητα ίση με τη συχνότητα συντονισμού ν

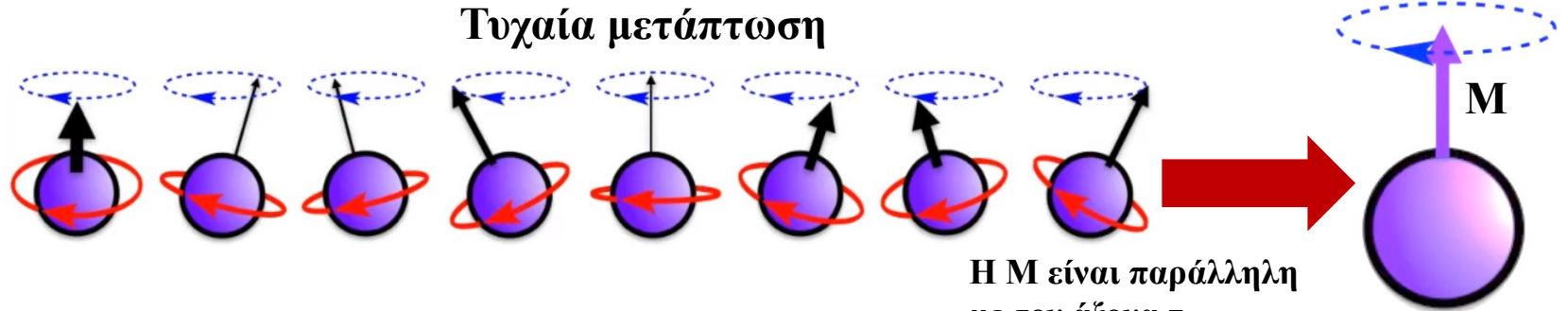


Οι πυρήνες εκτελούν τη **μεταπτωτική κίνηση** στη **συχνότητα συντονισμού** με άτακτο τρόπο

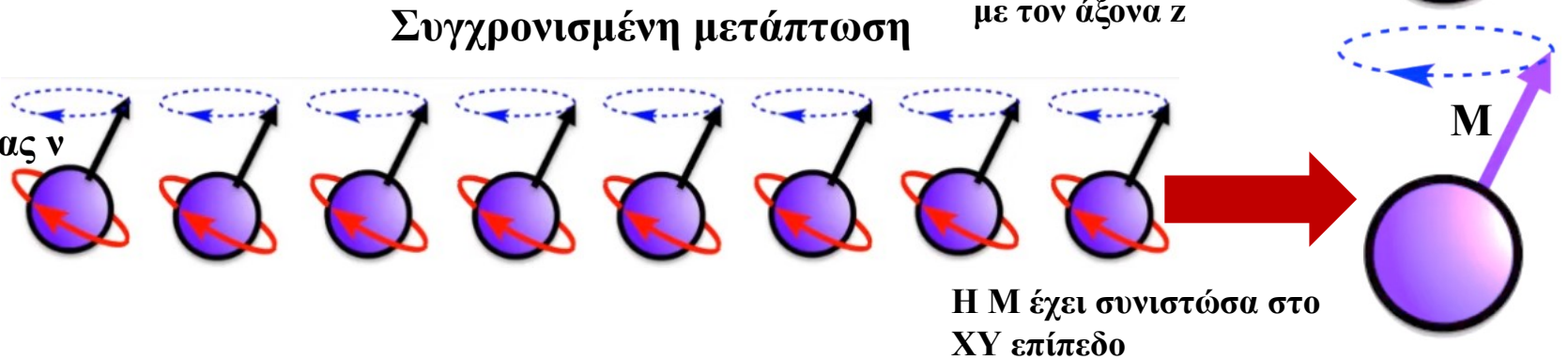
($M \neq 0$, διότι $N_\alpha > N_\beta$ για $B_0 \neq 0$.
Για $B_0 = 0$, $N_\alpha = N_\beta$ και $M = 0$)



χωρίς RF
παλμό



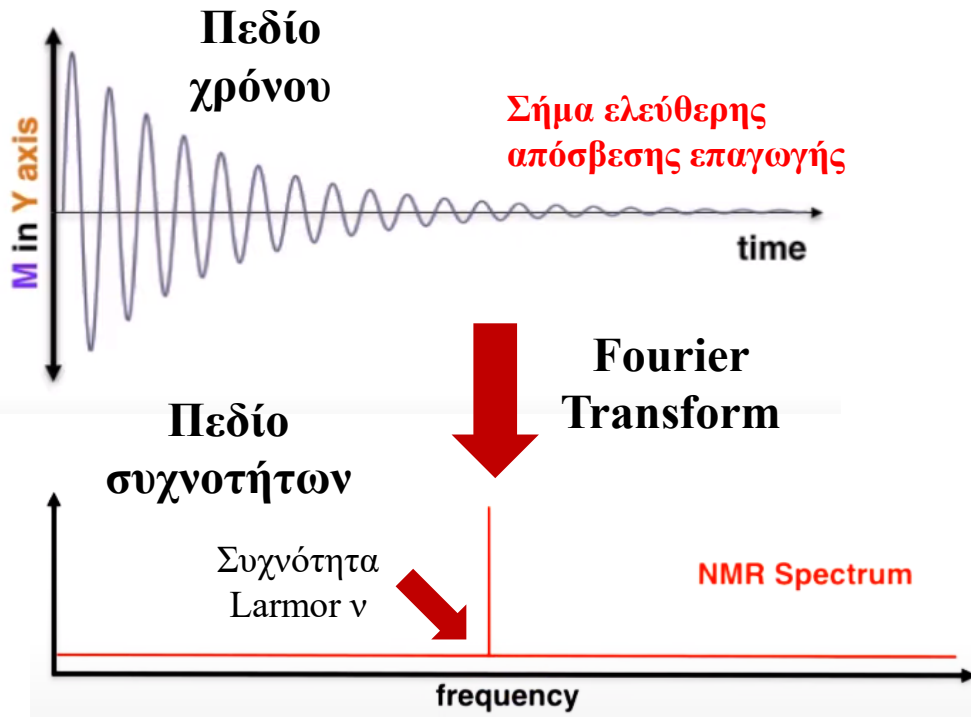
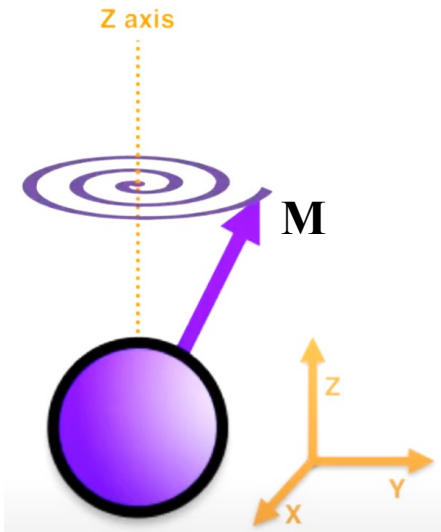
με RF
παλμό
συχνότητας ν



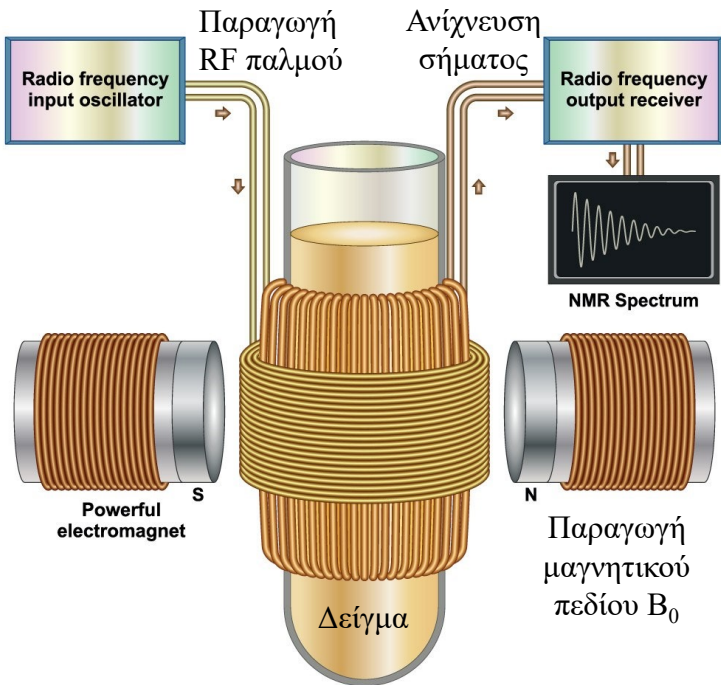
- Μετά το τέλος του RF παλμού, οι πυρήνες σταδιακά επανέρχονται σε **τυχαίες μεταπτώσεις**, προκαλώντας συνεπώς τη σταδιακή επαναφορά της μακροσκοπικής μαγνήτισης M στον άξονα z (όπως δηλαδή πριν την εφαρμογή του RF παλμού)
- Η διαδικασία ονομάζεται αποκατάσταση spin-spin και ο χαρακτηριστικός χρόνος που απαιτείται για την εκθετική επαναφορά των μαγνητικών ροπών σε τυχαία κατανομή μετάπτωσης ονομάζεται **χρόνος αποκατάστασης spin-spin T_2**



Καθώς η μακροσκοπική μαγνήτιση M επανέρχεται στον άξονα z , διαγράφοντας σπειροειδή τροχιά, καταγράφουμε στο χρόνο τη σταδιακή μείωση της συνεισφοράς της (ταλαντευόμενης σε συχνότητα ν) M στον y άξονα, από μια πεπερασμένη τιμή μέχρι το 0

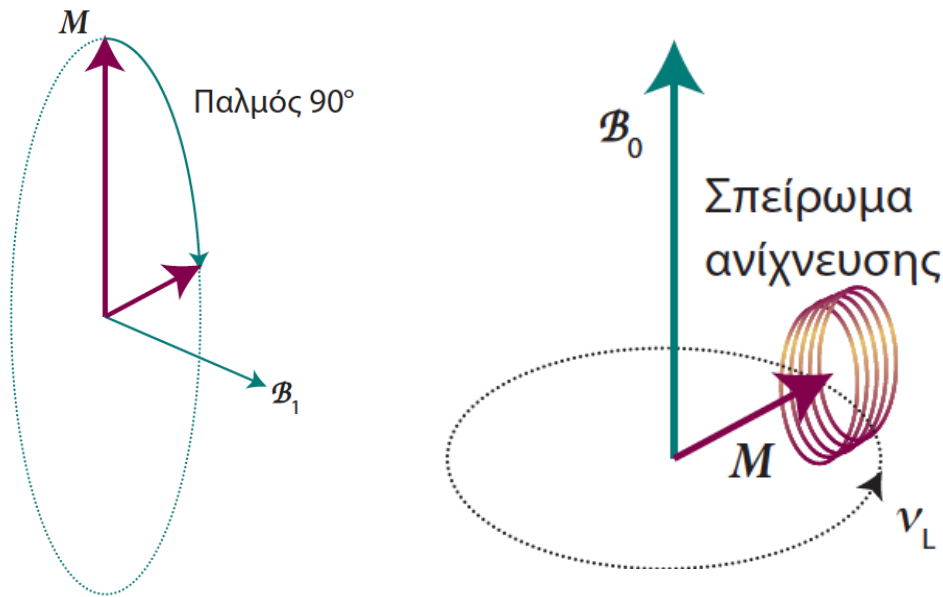


Διάταξη φασματομέτρου NMR



Η απόσβεση της συνεισφοράς M στον άξονα y παράγει ένα ταλαντευόμενο μαγνητικό πεδίο, το οποίο επάγει ηλεκτρικό ρεύμα στο σπείρωμα του δέκτη και έτσι ανιχνεύεται το σήμα NMR





(α)

Σχ. 14.31 (α) Αν το πεδίο ραδιοσυχνότητας εφαρμοστεί για ορισμένο χρονικό διάστημα, το διάνυσμα της μαγνήτισης περιστρέφεται στο επίπεδο xy . (β) Για έναν εξωτερικό παρατηρητή (το σπείρωμα), το διάνυσμα της μαγνήτισης περιστρέφεται με συχνότητα Larmor, και μπορεί να επάγει σήμα στο σπείρωμα.

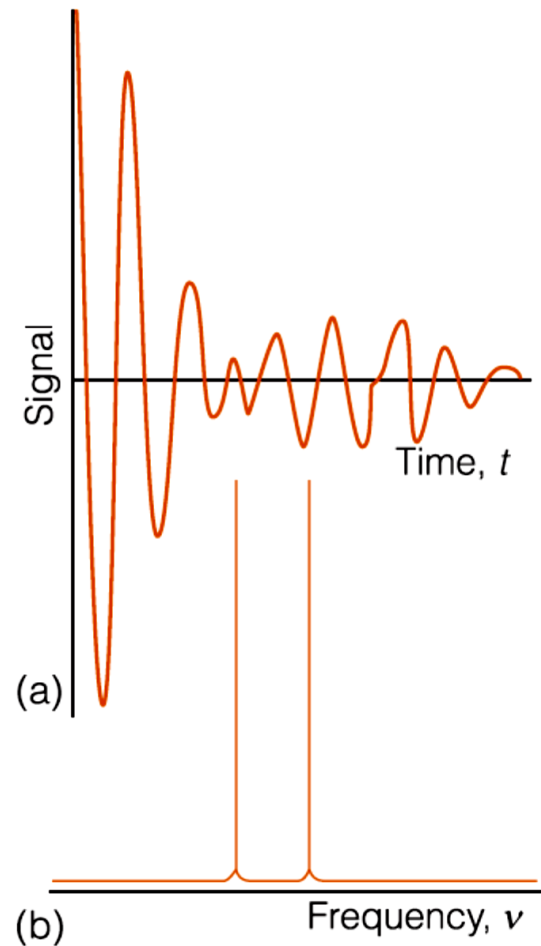
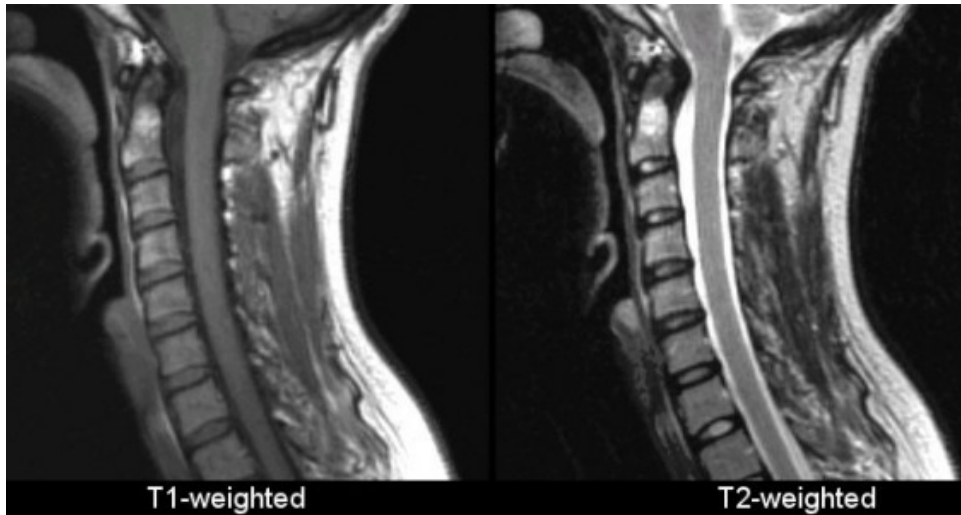


Fig. 13.24 (a) A free-induction decay signal of a sample of an AX species and (b) its analysis into its frequency components.



Μαγνητική τομογραφία



Tissue	T1 (msec)	T2 (msec)
Water/CSF	4000	2000
Gray matter	900	90
Muscle	900	50
Liver	500	40
Fat	250	70
Tendon	400	5
Proteins	250	0.1- 1.0
Ice	5000	0.001

- Η απεικόνιση μαγνητικού συντονισμού MRI (μαγνητική τομογραφία) είναι μια μη επεμβατική ιατρική απεικονιστική μέθοδος η οποία παράγει λεπτομερείς εικόνες σχεδόν όλων των εσωτερικών δομών στο ανθρώπινο σώμα, όπως τα όργανα, τα οστά, τους μυς και τα αιμοφόρα αγγεία.
- Δεν απαιτείται χρήση ιοντίζουσας ακτινοβολίας σε αντίθεση με τις ακτίνες X και την αξονική τομογραφία. Οι εικόνες αυτές παρέχουν σημαντική πληροφορία για τη διάγνωση μιας ιατρικής κατάστασης καθώς και το σχεδιασμό της ανάλογης θεραπείας.
- Οι T1-weighted τομογραφικές εικόνες καταγράφονται με δεδομένα πριν από την αποκατάσταση spin-πλέγματος, κατά την οποία τα spins επιστρέφουν στην κατάσταση ισορροπίας. Υπό αυτές τις συνθήκες, διαφορές στην ένταση του σήματος συσχετίζονται με διαφορές στους χρόνους T1
- Οι T2-weighted τομογραφικές εικόνες καταγράφονται με δεδομένα έπειτα από την εκτεταμένη αποκατάσταση του συστήματος αλλά όχι την πλήρη. Με τον τρόπο αυτό, οι διαφορές στην ένταση του σήματος συσχετίζονται με διαφορές στους χρόνους T2



- Για το ίδιο εξωτερικό μαγνητικό πεδίο B_0 , οι πυρήνες του ίδιου ισότοπου θα έχουν την ίδια συχνότητα Larmor ν

- Ωστόσο, τα ηλεκτρόνια έχουν και αυτά τα δικά τους μικροσκοπικά μαγνητικά πεδία τα οποία μειώνουν ή ενισχύουν το μαγνητικό πεδίο που «αισθάνεται» ο πυρήνας κατά $\delta B = -\sigma B_0$ όπου σ είναι η αδιάστατη σταθερά θωράκισης

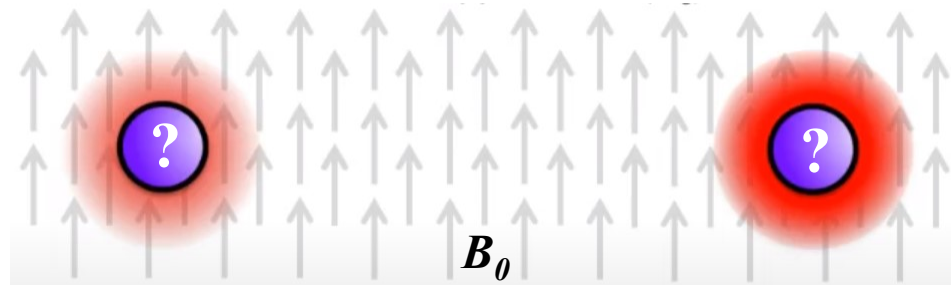
- Το τοπικό μαγνητικό πεδίο στον πυρήνα θα είναι τότε

$$B_{loc} = B_0 + \delta B = (1 - \sigma) B_0$$

και άρα η συχνότητα συντονισμού γίνεται

$$\nu = \frac{\gamma_N B_{loc}}{2\pi} = \frac{\gamma_N}{2\pi} (1 - \sigma) B_0$$

- Εφόσον το σ μεταβάλλεται ανάλογα με το περιβάλλον, διαφορετικοί πυρήνες του ίδιου στοιχείου σε διαφορετικές θέσεις του μορίου θα συντονίζονται σε διαφορετικές συχνότητες



Χαμηλή
ηλεκτρονιακή
πυκνότητα

Υψηλή
ηλεκτρονιακή
πυκνότητα



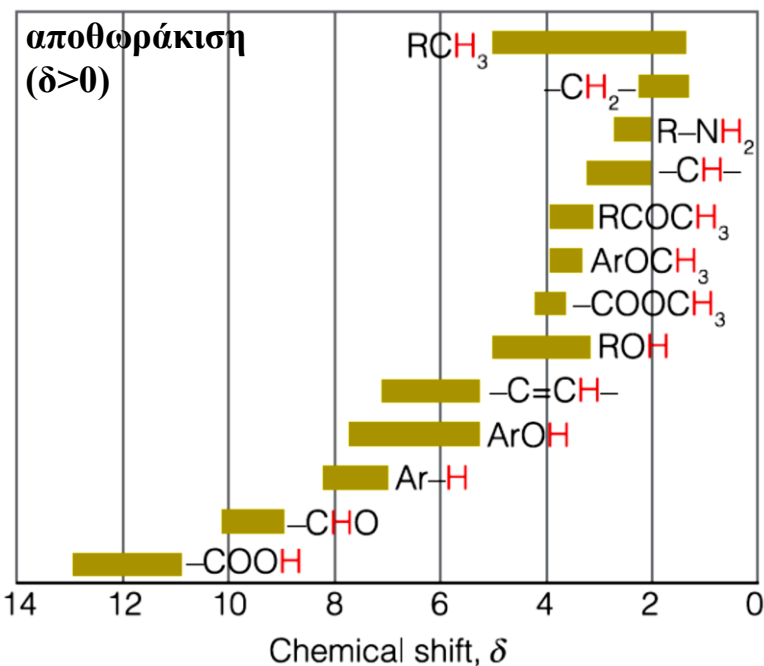
Η χημική μετατόπιση ενός πυρήνα είναι η διαφορά ανάμεσα στη συχνότητα συντονισμού του ν και εκείνη κάποιου πυρήνα αναφοράς ν^0 και εκφράζεται στην κλίμακα δ

$$\delta = \frac{\nu - \nu^0}{\nu^0} \times 10^6$$

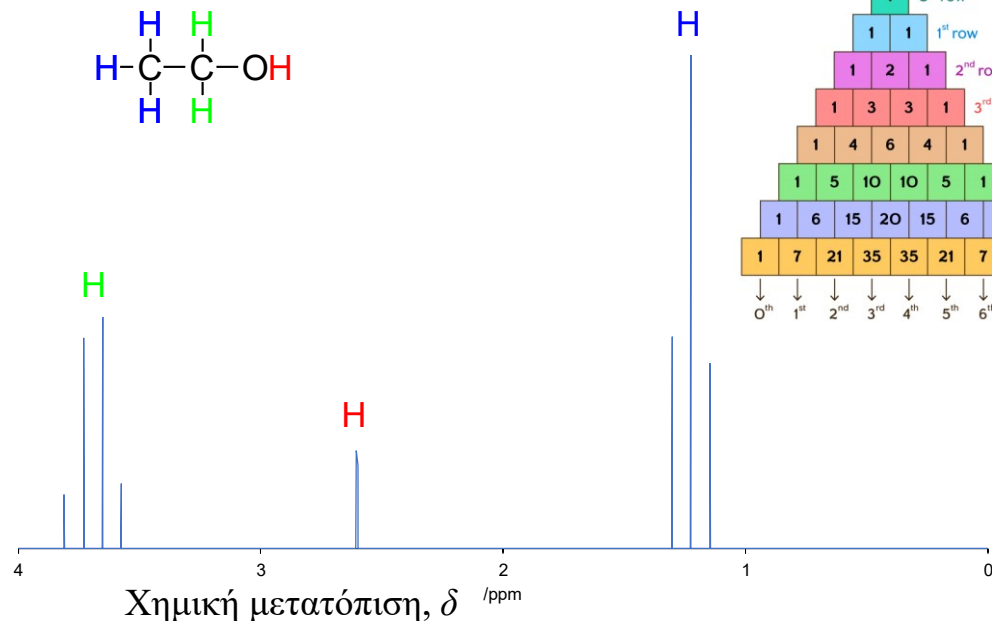
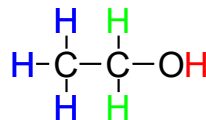
- Για πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό πρωτονίου ($^1\text{H-NMR}$), ο πυρήνας αναφοράς είναι του **TMS (tetramethylsilane)**
- Η κλίμακα δ δίνει τιμές που δεν έχουν εξάρτηση από τις παραμέτρους του οργάνου



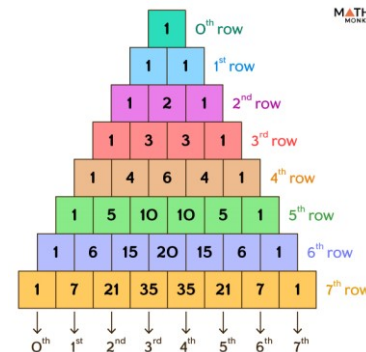
Το εύρος των τυπικών χημικών μετατοπίσεων για συντονισμούς ^1H



Ethanol



Τρίγωνο Pascal



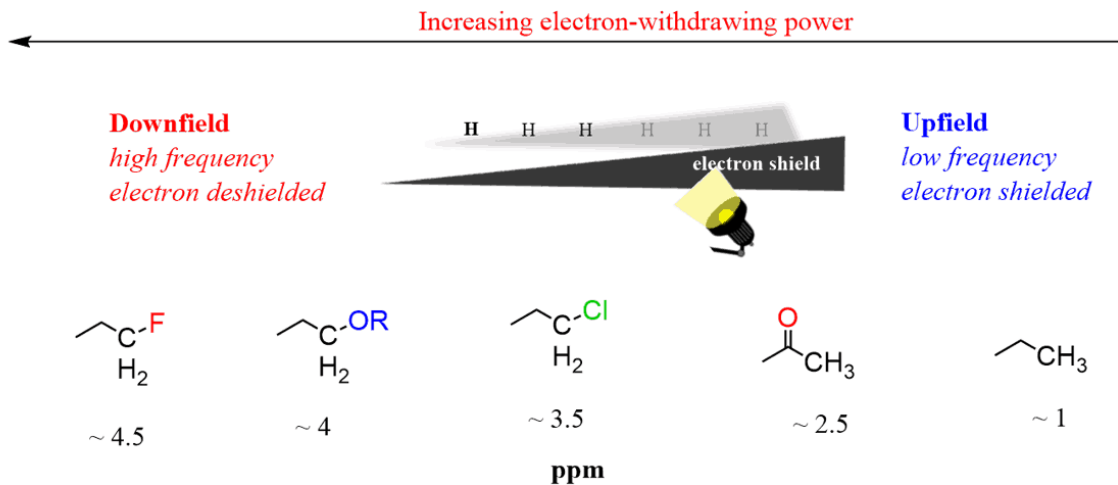
- Οι πολλαπλές γραμμές οφείλονται στη **βαθμωτή σύζευξη**, στην οποία η συχνότητα συντονισμού ενός πυρήνα επηρεάζεται από την κατάσταση spin ενός άλλου πυρήνα
- Η σύζευξη σε n ισοδύναμους (spin $\frac{1}{2}$) πυρήνες διαχωρίζει το σήμα σε $n+1$ γραμμές με λόγους έντασης που δίνονται από το τρίγωνο Pascal
- Στην αιθανόλη, η ομάδα CH_3 διαχωρίζεται σε μια τριπλέτα με λόγο εντάσεων 1:2:1 από τα δύο γειτονικά πρωτόνια της ομάδας CH_2
- Αντίστοιχα, η ομάδα CH_2 διαχωρίζεται σε 4 γραμμές με λόγο εντάσεων 1:3:3:1 από τα 3 γειτονικά πρωτόνια της ομάδας CH_3 .
- Θα περιμέναμε επιπλέον διαχωρισμό (στα 2) των 4^{ων} γραμμών λόγω του πρωτονίου στο γειτονικό υδροξύλιο, ωστόσο δεν είναι πάντοτε ορατός



- Η παρατηρούμενη σταθερά θωράκισης σ είναι το άθροισμα τριών επιμέρους συνεισφορών: α) της τοπικής συνεισφοράς, β) της συνεισφοράς γειτονικών ομάδων και γ) της συνεισφοράς του διαλύτη.
- Η τοπική συνεισφορά είναι ανάλογη της ηλεκτρονιακής πυκνότητας του ατόμου που περιέχει τον πυρήνα που μας ενδιαφέρει. Η θωράκιση θα είναι μειωμένη εφόσον η ηλεκτρονιακή πυκνότητα του ατόμου μειώνεται υπό την επίδραση ενός γειτονικού ηλεκτραρνητικού ατόμου. Επειδή $\delta \approx (\sigma^0 - \sigma) \times 10^6$, αυτό σημαίνει πως η χημική μετατόπιση δ αυξάνεται όσο μεγαλύτερη είναι η ηλεκτραρνητικότητα του γειτονικού ατόμου.
- Η συνεισφορά των γειτονικών ομάδων προέρχεται από τα ρεύματα που επάγονται από τις διπλανές ομάδες ή άτομα. Η ισχύς των επιπρόσθετων μαγνητικών πεδίων είναι αντιστρόφως ανάλογη με την 3η δύναμη ανάμεσα στο H και τη γειτονική ομάδα.
- Ο διαλύτης μπορεί να επηρεάσει το τοπικό μαγνητικό πεδίο που «αισθάνεται» ο πυρήνας με διαφορετικούς τρόπους (π.χ., ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου διαλύτη – διαλυμένης ουσίας).
- Σε τελική ανάλυση, η φασματοσκοπία NMR χρησιμοποιείται ευρέως στη χημεία για την ταυτοποίηση μορίων και τον προσδιορισμό των δομών τους.



The more electron-withdrawing the group, the stronger the protons feel the magnetic field as they are less shielded by the electrons and more exposed to the field.

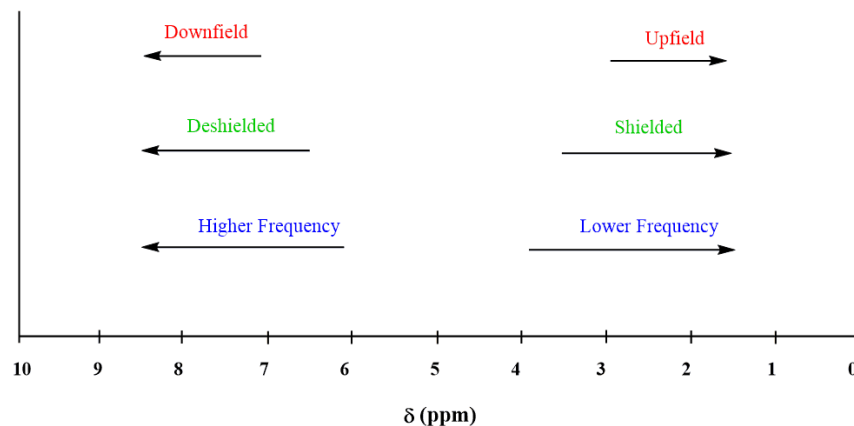


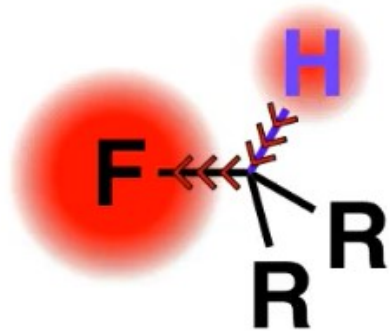
Fluorine, as the most electronegative element, deshields and shifts the signal of adjacent protons to ~ 4 ppm.

The oxygen and chlorine are not as electronegative and the ppm value is less downfield. I, Br, and some other groups also shift the signal to this region.

The carbonyl group is electron-withdrawing and the frequency of H's next to are shifted downfield by ~ 1.5 and found at 2.5 ppm.

This is the typical region of alkyl protons. Increasing the number of alkyl groups shifts the signal downfield.

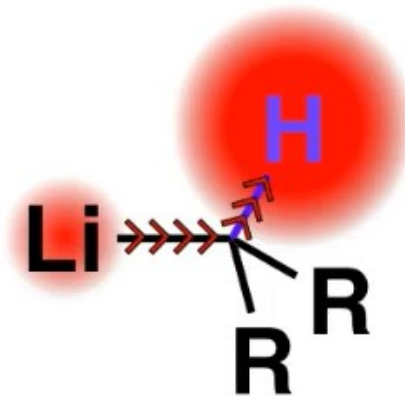




F is **highly electronegative**

H **deshielded** by induction through the σ bonds.

Higher chemical shift (δ)



Li is **highly electropositive**

H **shielded** by induction through the σ bonds.

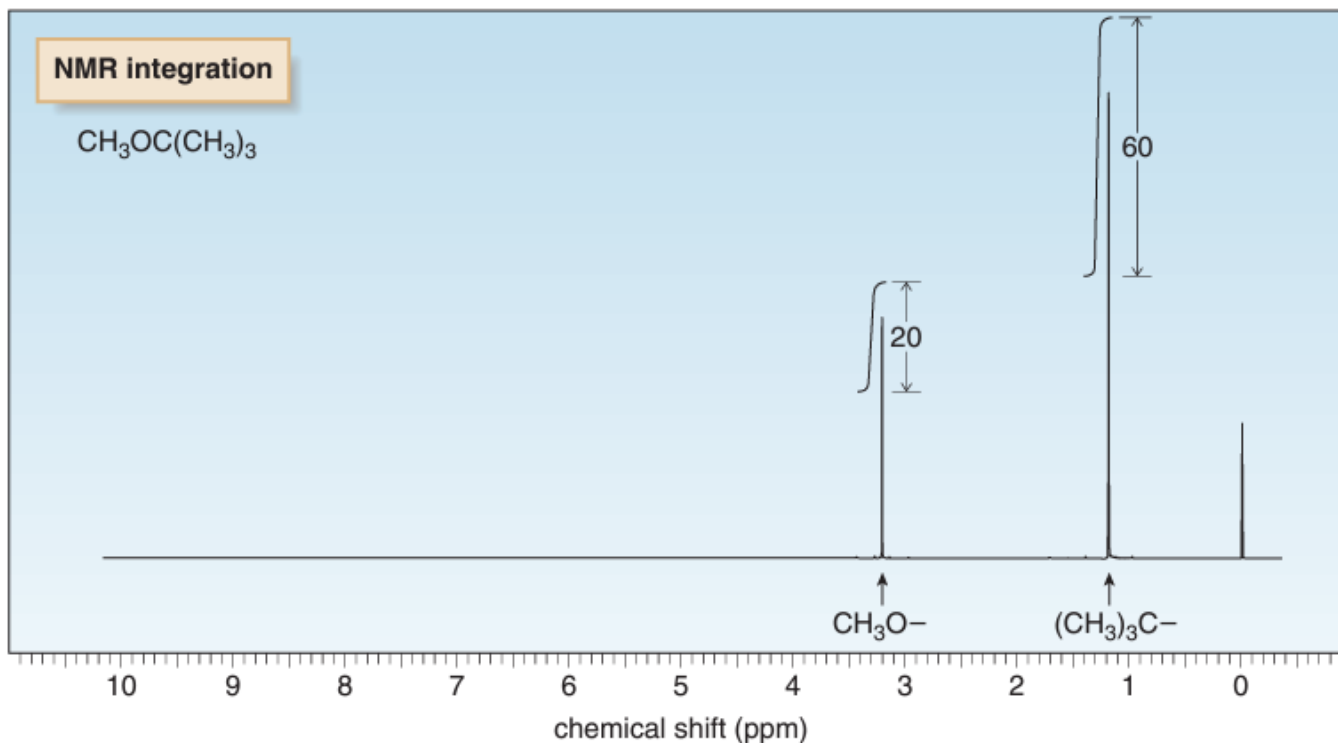
Lower chemical shift (δ)

atom	Pauling electronegativity
Li	0.98
Si	1.90
H	2.20
C	2.55
I	2.66
N	3.04
Cl	3.16
O	3.44
F	3.98



- The area under an NMR signal is proportional to the number of absorbing protons.

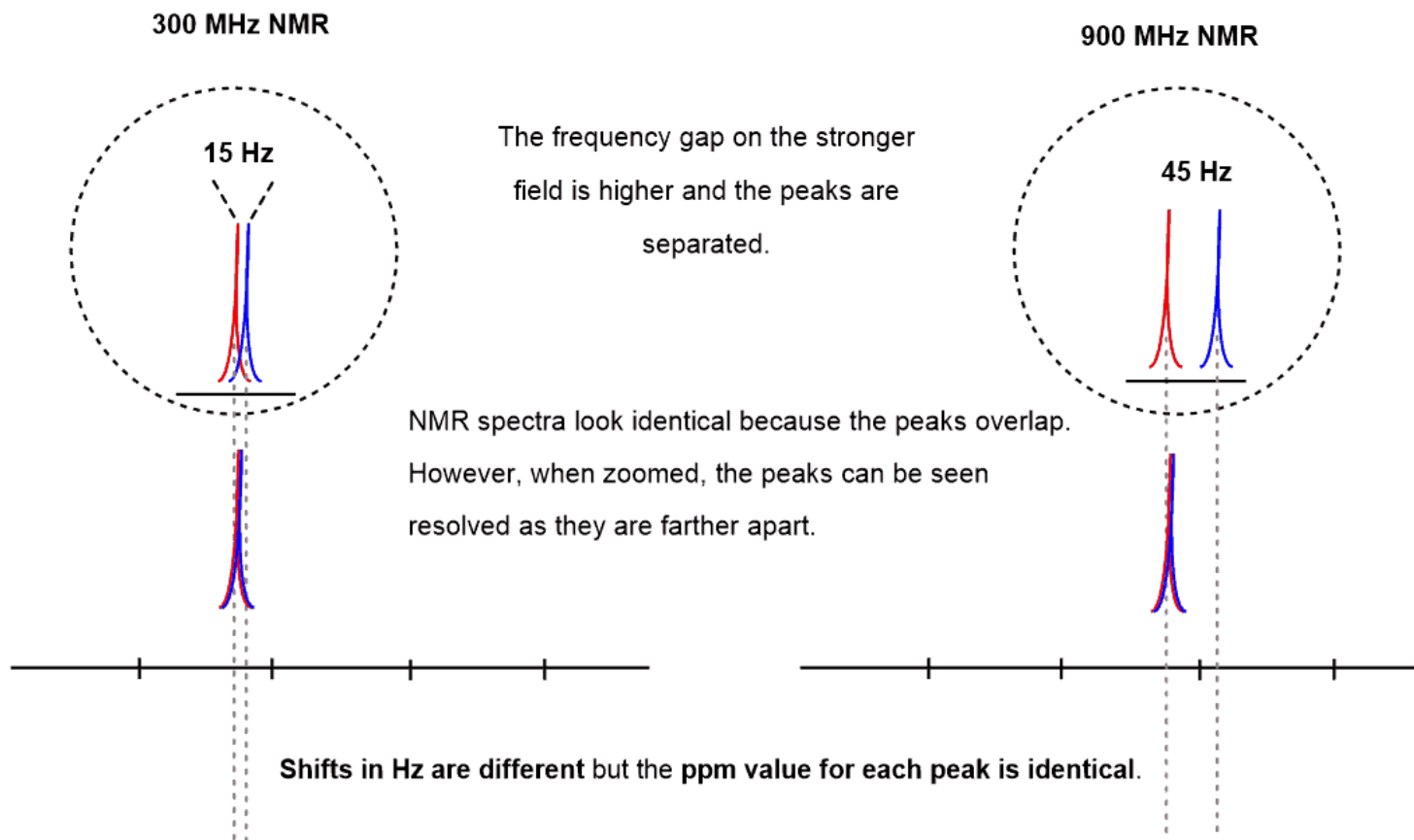
For example, in the ^1H NMR spectrum of $\text{CH}_3\text{OC}(\text{CH}_3)_3$, the ratio of the area under the downfield peak (due to the $\text{CH}_3\text{O}-$ group) to the upfield peak [due to the $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ group] is 1:3. An NMR spectrometer automatically integrates the area under the peaks, and prints out a stepped curve (an **integral**) on the spectrum. **The height of each step is proportional to the area under the peak, which is in turn proportional to the number of absorbing protons.**



Integrals can be manually measured, but modern NMR spectrometers automatically calculate and plot the value of each integral in arbitrary units. If the heights of two integrals are 20 units and 60 units, the ratio of absorbing protons is 20:60, or 1:3, or 2:6, or 3:9, and so forth. This tells the *ratio*, not the absolute number of protons. Integration ratios are approximate, and often values must be rounded to the nearest whole number.



The Benefit of Using More Powerful NMR Spectrometer



Whatever these ppm values are, they are identical because we divide the shift in Hz by the operational frequency of the instrument.

$$\delta = \frac{\text{(shift in Hz from TMS)}}{\text{(spectrometer frequency in MHz)}}$$



Example: Calculating ΔE for a ^1H nucleus in a 5.87 T applied magnetic field:

$$\Delta E = \frac{h \cdot \gamma \cdot B_0}{2\pi}$$

$$h = 6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}$$

$$\gamma \text{ for } ^1\text{H} = 267.512 \times 10^6 \text{ rad T}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$\pi = 3.14 \text{ rad}$$

$$\Delta E = \frac{(6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}) \times (267.512 \times 10^6 \text{ rad T}^{-1} \text{ s}^{-1}) \times (5.87 \text{ T})}{2 \times (3.14 \text{ rad})}$$

$$\Delta E = 1.66 \times 10^{-25} \text{ J}$$



Example: At 298 K, what is the ratio of ^1H nuclei in the **low** and **high energy spin states** in a 5.87 T magnetic field?

$$\frac{N_{high}}{N_{low}} = e^{\left(\frac{-\Delta E}{kT}\right)}$$

$\Delta E = 1.66 \times 10^{-25} \text{ J}$ (calculated previously)

$k = 1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$

$$\begin{aligned}\frac{N_{high}}{N_{low}} &= e^{\left(\frac{-1.66 \times 10^{-25} \text{ J}}{(1.38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}) \times (298 \text{ K})}\right)} \\ &= e^{(-4.04 \times 10^{-5})} \\ &= 0.999996\end{aligned}$$



Example: At **298 K**, what is the ratio of ^1H nuclei in the **low** and **high energy spin states** in a **5.87 T** magnetic field?

Now to express this as a **ratio**:

$$\frac{N_{high}}{N_{low}} = 0.99996$$

$$N_{high} + N_{low} = 1$$

$$N_{high} = 0.99996 \times N_{low}$$

$$1 - N_{low} = 0.99996 \times N_{low}$$

$$1 = 0.99996 \times N_{low} + N_{low}$$

$$1 = 1.99996 \times N_{low}$$

$$N_{low} = \frac{1}{1.99996}$$

$$N_{low} = 0.50001$$

$$N_{high} = 1 - N_{low}$$

$$N_{high} = 0.49999$$

so, **low energy state** = 0.50001
high energy state = 0.49999



So how strong is the magnetic field (B_0) in Tesla? (400 MHz NMR instrument)

$$\nu = \frac{\gamma \cdot B_0}{2\pi} \quad \xrightarrow{\text{rearrange}} \quad \frac{1}{B_0} = \frac{\gamma}{\nu \cdot 2\pi}$$

$$\gamma \text{ for } ^1\text{H} = 267.512 \times 10^6 \text{ rad T}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$\pi = 3.14 \text{ rad}$$

$$\frac{1}{B_0} = \frac{(267.512 \times 10^6 \text{ rad T}^{-1} \text{ s}^{-1})}{(400,000,000 \text{ s}^{-1}) \cdot 2 \cdot (3.14 \text{ rad})}$$

$$\frac{1}{B_0} = 0.1064936 \text{ T}^{-1}$$

$$B_0 = 9.39 \text{ T}$$

A brief illustration

The protons belonging to the methyl group ($-\text{CH}_3$) of the amino acid alanine have a resonance at $\delta = 1.39$. In a spectrometer operating at 500 MHz (1 MHz = 10^6 Hz) the shift relative to the reference is

$$\nu - \nu^0 = \frac{500 \text{ MHz}}{10^6} \times 1.39 = 500 \text{ Hz} \times 1.39 = 695 \text{ Hz}$$

In a spectrometer operating at 100 MHz, the shift relative to the reference would be only 139 Hz.



We're running a spectrum on a **600 MHz instrument** and we **detect a signal** from a resonance at **600,002,104 Hz**. What is the **chemical shift (δ)** of this signal?

We run the **same sample** on a **400 MHz instrument** and **detect a signal** from a resonance at **400,001,405 Hz**. What is the **chemical shift** of this signal?

$$\delta = \frac{\nu_{\text{sample}} - \nu_{\text{reference}}}{\nu_{\text{reference}}}$$

$$\delta = \frac{(600,002,104) - (600,000,000)}{600,000,000}$$

$$\delta = \frac{2,104}{600,000,000}$$

$$\delta = 3.51 \text{ ppm}$$

$$\delta = \frac{(400,001,405) - (400,000,000)}{400,000,000}$$

$$\delta = \frac{1,405}{400,000,000}$$

$$\delta = 3.51 \text{ ppm}$$

