

Laboratoře z NMR 1

Místo: Laboratoř NMR, místnost A28 a počítačová učebna 276

Kontakt: doc. Ing. Bohumil DOLENSKÝ, Ph.D.

Ústav analytické chemie

Vysoká škola chemicko-technologická

Technická 5, 166 28 Praha 6

budova A, laboratoř A28

Telefon: (+420) 220 44 4110

E-mail: Bohumil.Dolensky@vscht.cz

Obsah

1. Nastavení přístroje JEOL ECZ 500R (11,73 Tesla, 500 MHz) a měření ^1H a ^{13}C spekter NMR vzorku neznámé organické látky a vzorku lihoviny (vlastní vzorek v množství 0,1 mL vítán).
2. Zpracování naměřených dat pomocí freeware programu ACD/NMR Processor Academic Edition www.acdlabs.com.
3. Vyhodnocení ^1H a ^{13}C spekter neznámé látky. Výpočty molární hmotnosti, elementární analýzy, empirického a sumárního vzorce, a stupně nenasycenosti pomocí tabulkového procesoru MS Excel. Odvození struktury neznámé látky s pomocí predikce chemických posunů programem ChemDraw a SpecTool.
4. Vyhodnocení ^1H spekter lihoviny. Výpočet molárního a hmotnostního obsahu ethanolu, methanolu a vody v lihovině pomocí tabulkového procesoru MS Excel. Posouzení závadnosti lihoviny.

Předpoklady

1. Základní znalost ^1H a ^{13}C spekter NMR jednoduchých látek, tj., počet signálů, integrální intenzita signálů, multiplicita signálů, chemické posuny signálů (tabulky sebou povoleny).

2. Znalost základních analytických výpočtů, tj. výpočty a převody molárních a hmotnostních zlomků, výpočet molární hmotnosti a elementární analýzy ze sumárního vzorce, výpočet empirického vzorce z elementární analýzy.
3. Znalost vazností níže uvedených prvků. Výpočet stupně nenasycenosti jednak ze strukturního vzorce a jednak ze sumárního vzorce.
4. Práce s tabulkovým procesorem Excel.

Postup pro stanovení struktury neznámé organické látky

1. Vytvořte soubor tabulkového procesoru s názvem ROK-MESIC-DEN-JMENO, a průběžně ho ukládejte na pracovní plochu do složky NMR-1-Vysledky.
2. Připravte si v tabulkovém procesoru výpočet molární hmotnosti, elementární analýzy a stupně nenasycenosti látek obsahujících C ($A_r = 12,011$), H ($A_r = 1,008$), N ($A_r = 14,007$), O ($A_r = 15,999$), Cl ($A_r = 35,450$) a Br ($A_r = 79,904$).¹ Dusík uvažujte pouze trojvazný.
3. Připravte si v tabulkovém procesoru výpočet empirického vzorce z elementární analýzy. Obsah kyslíku se obvykle nestanovuje, ale dopočítává. Pokud tedy součet obsahů stanovených prvků není přibližně 100 %, přiřaďte zbývající hodnotu kyslíku.
4. Z elementární analýzy neznámých vzorků vypočtete empirický vzorec a vypočtete jeho stupeň nenasycenosti.
5. Zpracujte FID záznamy ^1H a ^{13}C NMR experimentů data. U získaných spekter upravte fázi, korigujte základní linii, jako referenci použijte standard či zbytkové rozpouštědlo. Stanovte počet signálů v ^1H spektru NMR a jejich integrální plochu, a následně poměr signálů. Stanovte počet signálů ^{13}C spektra NMR.
6. Z informací s bodu 3. a 4. navrhnete sumární vzorec.
7. S ohledem na přítomné prvky a chemické posuny ^1H a ^{13}C jader navrhnete strukturní fragmenty molekuly s pomocí tabulek chemických posunů či programu SpecTool. Znovu navrhnete sumární vzorec a ověřte jeho smysluplnost výpočtem stupně nenasycenosti.
8. Na základě multiplicity signálů v ^1H spektru zpřesněte fragmenty molekuly; uvažte možnou symetrii molekuly.
9. Navrhnete strukturu organické sloučeniny a v programu ChemDraw a/nebo SpecTool proveďte predikci chemických posunů ^1H a ^{13}C jader. Porovnejte chemické posuny predikce s experimentálními. V případě malých rozdílů považujte strukturu za správnou.

Za malý rozdíl je považováno ca. 0,3 ppm u chemických posunů ^1H jader a ca. 2 ppm u chemických posunů ^{13}C jader. Pokud jsou rozdíly velké, zkontrolujte předchozí postup a navrhněte jinou strukturu.

10. Do souboru tabulkového procesoru zaznamenejte navrženou strukturu, a hodnoty a rozdíly chemických posunů predikce a experimentu.

Postup pro vyhodnocení závadnosti lihoviny

1. Spočítejte molární hmotnosti ethanolu, methanolu a vody.
2. Zpracujte FID záznamy ^1H NMR experimentu. U získaných spekter upravte fázi, korigujte základní linii, jako referenci použijte standard či zbytkové rozpouštědlo.
3. Určete signály ethanolu, methanolu a vody, a odečtěte jejich integrální hodnoty; neopomeňte přítomnost hydroxylových skupin ethanolu a methanolu.
4. V tabulkovém procesoru vytvořte výpočet pro stanovení molárního a hmotnostního obsahu zastoupených složek, a výpočet molárního a hmotnostního poměru methanolu a ethanolu. Aromatické složky a nečistoty zanedbejte, jsou-li zanedbatelné.
5. Do souboru tabulkového procesoru zaznamenejte, zda je analyzovaná lihovina z hlediska obsahu methanolu nezávadná.
6. Soubor tabulkového procesoru uložte do výše určené složky a na své paměťové médium. Soubor můžete dále upravovat. Konečnou verzi odešlete do půlnoci na email dolenskb@vscht.cz.

Reference

1. Více o molárních hmotnostech na stránkách Komise pro izotopické zastoupení a atomové hmotnosti při IUPAC (CIAAW, The Commission on Isotopic Abundances and Atomic Weights, www.ciaaw.org).

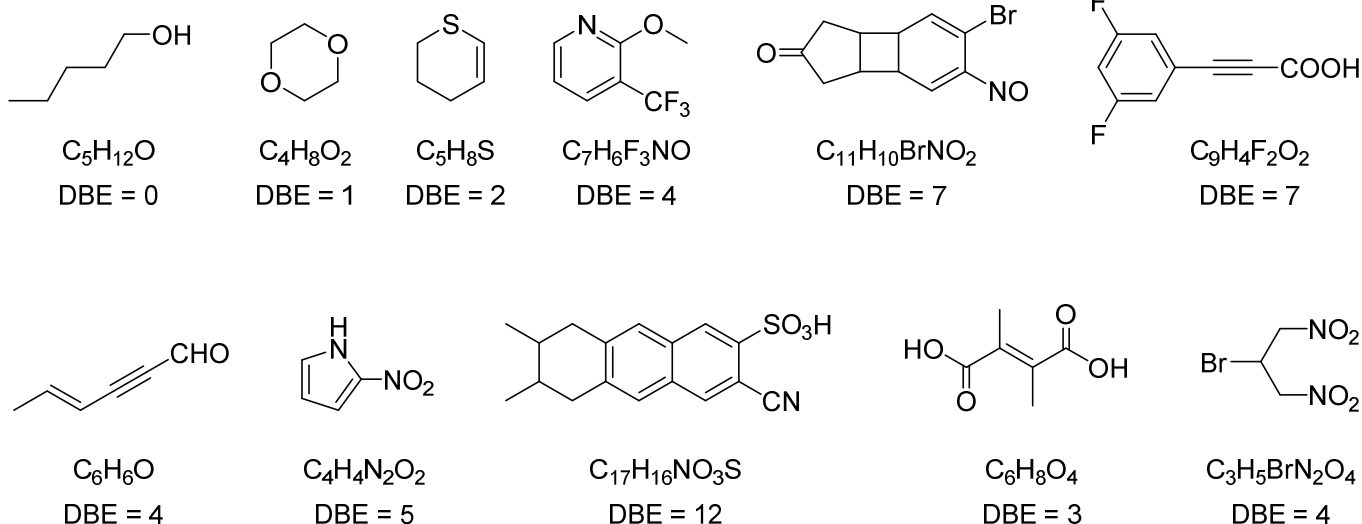
Ekvivalent dvojných vazeb - stupeň nenasycenosti molekuly

Bohumil Dolenský, Ústav analytické chemie, VŠCHT Praha, verze 2015-1

Stupeň nenasycenosti sloučeniny se nejčastěji vyjadřuje ekvivalentem dvojných vazeb (DBE, double bond equivalent, nebo UN, unsaturation number). Hodnota DBE organické sloučeniny udává minimální počet „redukčních operací“ nezbytných k převedení molekuly dané sloučeniny na nasycenou a necyklickou. Je-li známa struktura molekuly, lze DBE vypočítat jako součet počtu dvojných vazeb, počtu cyklů a dvojnásobku počtu trojných vazeb.

$$\text{DBE} = \text{počet dvojných vazeb} + \text{počet cyklů} + 2 \cdot \text{počet trojných vazeb}$$

Příklady:



Pro strukturní analýzu je zásadní výpočet stupně nenasycenosti ze sumárního vzorce, který je obvykle získán z hmotnostní spektrometrie nebo odhadnut z empirického vzorce získaného z elementární analýzy. Výpočet DBE ze sumárního vzorce vyplývá z vaznosti prvků, které molekula sloučeniny obsahuje. Vaznost v tomto případě znamená maximální počet jednoduchých vazeb, kterých je daný prvek v daném oxidačním stavu schopen teoreticky vytvořit. V molekulách stabilních organických sloučenin je vaznost některých prvků jednoznačná (např.: vodík, lithium, fluor, chlor, brom a jod jsou jednovazné, kyslík dvouvazný, uhlík čtyřvazný). Některé prvky však mohou mít různou vaznost (např.: dusík je trojvazný či pětivazný, síra je dvouvazná, čtyřvazná či šestivazná) a výpočet DBE pak vede k několika možným hodnotám.

Výpočet DBE ze sumárního vzorce

Výpočet DBE ze sumárního vzorce lze odvodit úvahou o nerozvětvené (acyklické) a zcela nasycené molekule:

1. Vaznost a počet vícevazných prvků daného vzorce udává maximální počet vazeb, kterých se mohou účastnit. Je-li sumární vzorec $C_7H_6F_3NO$ správný a dusík je trojvazný, pak je maximální počet vazeb vícevazných prvků.

$$4 \cdot 7_C + 3 \cdot 1_N + 2 \cdot 1_O = 33$$

2. V nasycené acyklické struktuře jsou všechny vícevazné prvky vzájemně zřetženy právě jednou vazbou. Každý z vícevazných prvků je tedy součástí dvou vazeb, s výjimkou krajních prvků (jinak by vznikla monocyklická struktura). Počet možných vazeb je tedy menší o dvojnásobek počtu vícevazných prvků plus jedna vazba prvního a jedna vazba posledního prvku řetězce.

$$33 - 2 \cdot (7_C + 1_N + 1_O - 1) = 33 - 16 = 17$$

3. Výpočet počtu možných vazeb lze zjednodušit spojením předchozích dvou kroků tím, že se vaznost těchto prvků rovnou sníží o dvě, a počet se navýší o dvě za krajní prvky. Tím se čísla zmenší a zcela vypadnou dvouvazné prvky.

$$2 \cdot 7_C + 1 \cdot 1_N + 0 \cdot 1_O + 2 = 17$$

4. Počet možných vazeb je nutné dále snížit o počet jednovazných prvků, které musí být k vícevazným prvkům vázány. Jelikož se na vzniku normální kovalentní vazby podílejí vždy dva prvky, je polovina z tohoto rozdílu rovna DBE sloučeniny daného sumárního vzorce.

$$DBE = (17 - 9) / 2 = 4$$

5. Obsahuje-li sloučenina prvky mající více možných vazností, je důležité uvážit všechny možnosti. Uvážíme-li dusík jako pětivazný pak pro výše uvedený sumární vzorec je $DBE = 5$.

$$DBE = (2 \cdot 7_C + 3 \cdot 1_N + 2 - 6_H - 3_F) / 2 = 5$$

NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE (NMR)

Pavel Řezanka, Marcela Tkadlecová, Jaroslav Havlíček

Obecné základy

Spektroskopie NMR (nukleární magnetická rezonance) je nedestruktivní metoda strukturní analýzy. Spolu s infračervenou spektroskopií a hmotnostní spektrometrií jsou základními metodami pro **identifikaci látek**.

Základní stavební částice jádra atomů, protony a neutrony, rotují kolem vlastní osy a mají tedy moment hybnosti p , označovaný jako **spin**. Protony a neutrony mají spinové kvantové číslo $I = 1/2$. V jádrech izotopů se sudým počtem jak protonů, tak i neutronů, jsou spiny částic spárovány, takže výsledný spin jádra $I = 0$. Taková jádra (např. ^{12}C , ^{16}O) mají nulový spin a neposkytují signály NMR. 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. ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P) vlastní magnetický moment μ

$$\mu = \gamma p, \quad (1)$$

kde konstanta γ je **gyromagnetický poměr**, charakterizující každý izotop.

Umístíme-li vzorek obsahující izotop s nenulovým magnetickým momentem do silného magnetického pole o **indukci magnetického pole B_0** , dojde k rozštěpení energetických hladin jeho jaderných spinů.

Potenciální energie jádra E je dána vztahem

$$E = -\mu B_0 \quad (2)$$

Pro složku magnetického momentu ve směru pole B_0 platí vztah

$$\mu = m h \gamma / 2\pi \quad (3)$$

kde h je Planckova konstanta, m je magnetické kvantové číslo, které nabývá hodnot $m = I, I-1, \dots, -I+1, -I$. Počet vzniklých energetických hladin je určen hodnotou spinového kvantového čísla I (počet stavů $= 2I+1$), proto u izotopů s $I = 1/2$, jako jsou ^1H a ^{13}C , zaujmou jaderné spiny dva energetické stavy s magnetickým kvantovým číslem $m = +1/2$ a $m = -1/2$. Jejich energii lze pak vypočítat ze vztahu

$$E_{+1/2} = -1/2(hB_0\gamma/2\pi) \quad (4)$$

$$E_{-1/2} = +1/2(hB_0\gamma/2\pi)$$

Podle zákonů kvantové mechaniky může být však každé jádro trvale pouze na jedné energetické hladině a spin tedy může mít pouze jednu ze dvou možných orientací. Přechody mezi těmito hladinami může způsobit záření, jehož frekvence splňuje podmínku

$$\Delta E = E_{-1/2} - E_{+1/2} = h\nu, \quad (5)$$

kde ΔE je rozdíl energií mezi hladinami. S využitím vztahu (4) a (5) lze pak napsat

$$\nu_0 = \Delta E/h = \gamma B_0 / 2\pi \quad (6)$$

Uvedený vztah je známý jako **resonanční podmínka**, frekvence ν_0 je tzv. **Larmorova frekvence**. Často se však uvádí ve tvaru $\omega = \gamma B_0$, kde ω je úhlová rychlost. Protože rozdíl hladin ΔE je malý, postačí k excitaci těchto jader pouze energie radiofrekvenčního záření (o frekvenci řádově MHz).

Na energeticky nižší hladině jsou jádra, jejichž průmět jaderného magnetického momentu μ je orientován souhlasně s vnějším magnetickým polem B_0 . Tato orientace odpovídá magnetickému kvantovému číslu $m = +1/2$. Jádra na vyšší energetické hladině mají výsledný magnetický moment orientovaný proti směru magnetického pole $m = -1/2$.

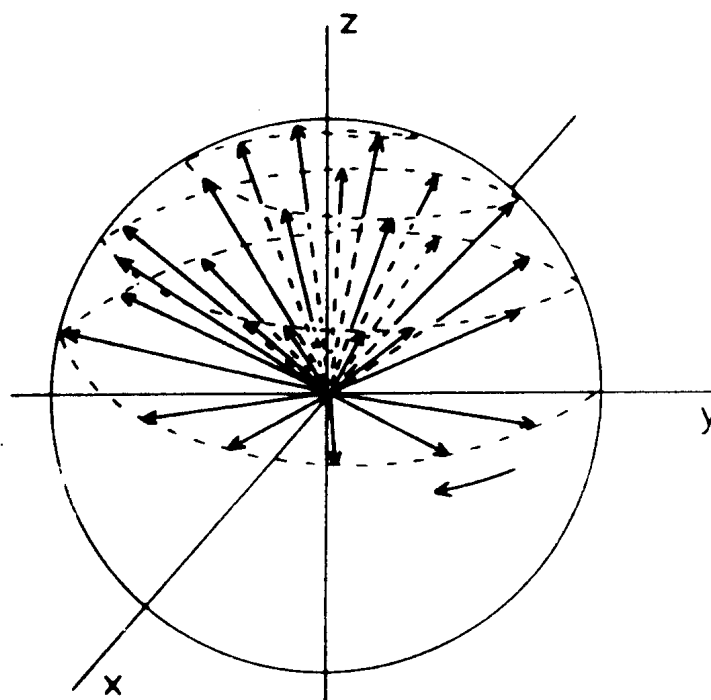
V rovnovážném stavu při teplotě $T = 300$ K a indukci magnetického pole $B = 1$ T je podle Boltzmanova rozdělovacího zákona poměr počtu spinů protonů na energetických hladinách $n_{+1/2}$ ($m = 1/2$) a $n_{-1/2}$ ($m = -1/2$)

$$n_{+1/2}/n_{-1/2} = \exp(\Delta E/kT) = 1,000006 \quad (7)$$

kde k je Boltzmanova konstanta.

Populace jader na energeticky nižší hladině je tedy jen nepatrně větší než na hladině energeticky vyšší. Výsledkem tohoto přebytku je vektorový součet všech jaderných spinových magnetických momentů – **jaderná magnetizace M_0** . Její velikost je úměrná přebytku jader na nižší energetické hladině.

Při měření NMR spekter pulsními metodami se vhodným radiofrekvenčním pulsem vyrovná populace obou energetických hladin a magnetizace M_0 se vychýlí ze své rovnovážné polohy (ze směru osy vnějšího magnetického pole B_0). Protože je magnetizace spojena s momenty hybnosti jader, nevrací se ihned po ukončení pulsu do směru magnetického pole, ale chová se podobně jako setrvačnick upevněný mimo těžiště, jehož osa rotace je skloněna vůči gravitačnímu poli. Výsledkem je precese, při které magnetizace zachovává svou velikost i sklon vůči magnetickému poli a otáčí se okolo směru magnetického pole B_0 s Larmorovou frekvencí (**obr. 1**).

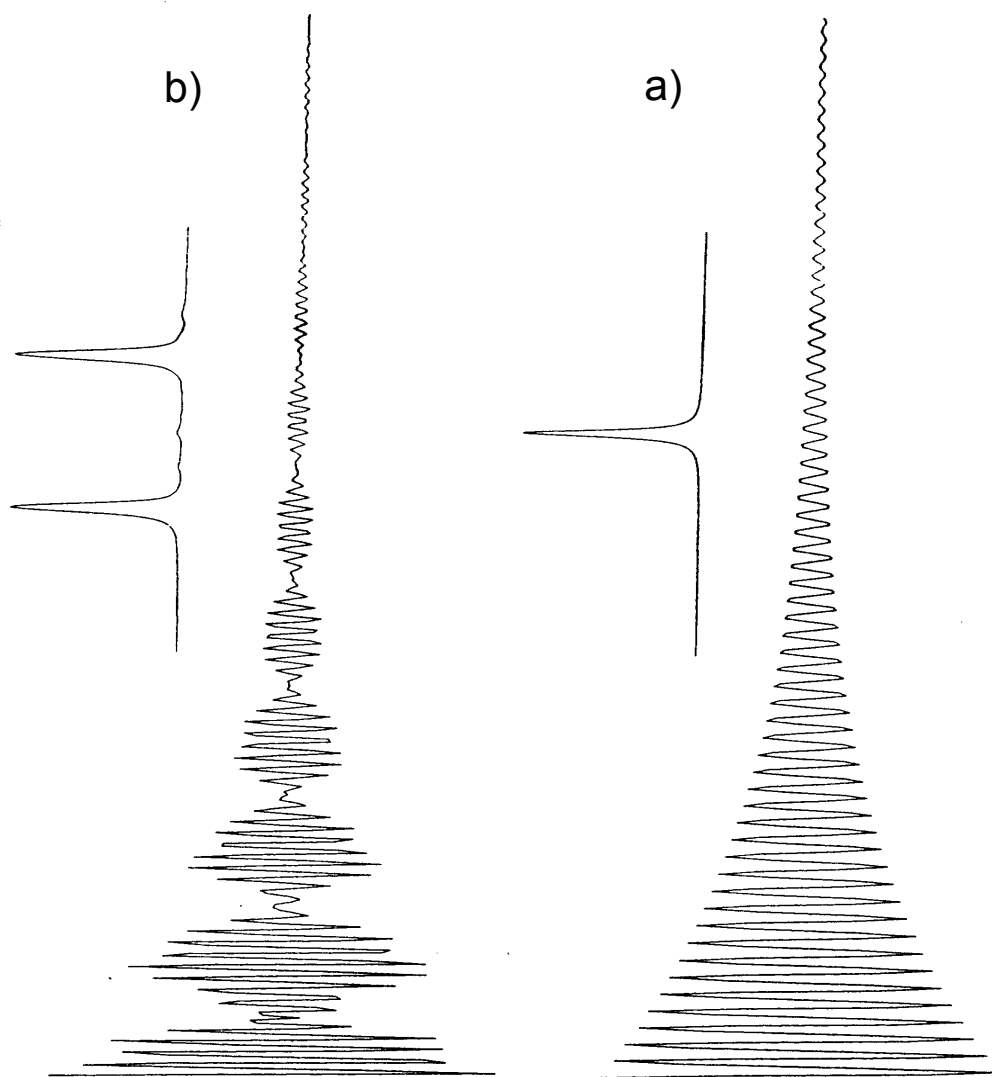


Obr. 1: Návrat vektoru magnetizace M do rovnovážné polohy po vychýlení radiofrekvenčním pulsem

Kromě toho se ale relaxačními procesy postupně obnovuje narušený rovnovážný stav. Po určité době, charakterizované dobou tzv. **spin-mřížkové relaxace** T_1 , se ustálí opět rovnovážné rozdělení spinů na obou energetických hladinách. Tím se obnoví složka magnetizace ve směru pole. Složka magnetizace kolmá na směr magnetického pole se naopak snižuje až na nulovou hodnotu s dobou tzv. **spin-spinové relaxace** T_2 .

Podobně jako budí otáčející se magnet střídavé napětí v cívkách statoru alternátoru, budí i otáčející se vektor magnetizace střídavé napětí v cívce přijímače, která je navinuta okolo vzorku v NMR spektrometru. Časový průběh napětí (signálu) indukovaného jadernou magnetizací v cívce se běžně označuje jako **FID** (free induction decay) je naznačen na **obr. 2a** lze si jej představit jako doznívající tón po stisknutí klávesy klavíru.

Pokud vzorek obsahuje pouze jeden typ atomů jednoho izotopu např. CHCl_3 (**obr. 2a**), je pokles amplitudy tlumených kmitů exponenciální a je charakterizován dobou spin-spinové relaxace T_2 . Frekvencí kmitů je Larmorova frekvence. U složitějších vzorků je výsledný FID interferogramem nebo superpozicí FIDů pocházejících od různých jader stejného izotopu (**obr. 2b**). Abychom získali rezonanční frekvence jednotlivých typů jader a intenzitu jejich signální odezvy, je nutno nejprve převést FID, tj. časovou závislost signálu na závislost signálu na frekvenci, nebo-li na **spektrum NMR**. Tento převod se provádí na počítači tzv. Fourierovou transformací.



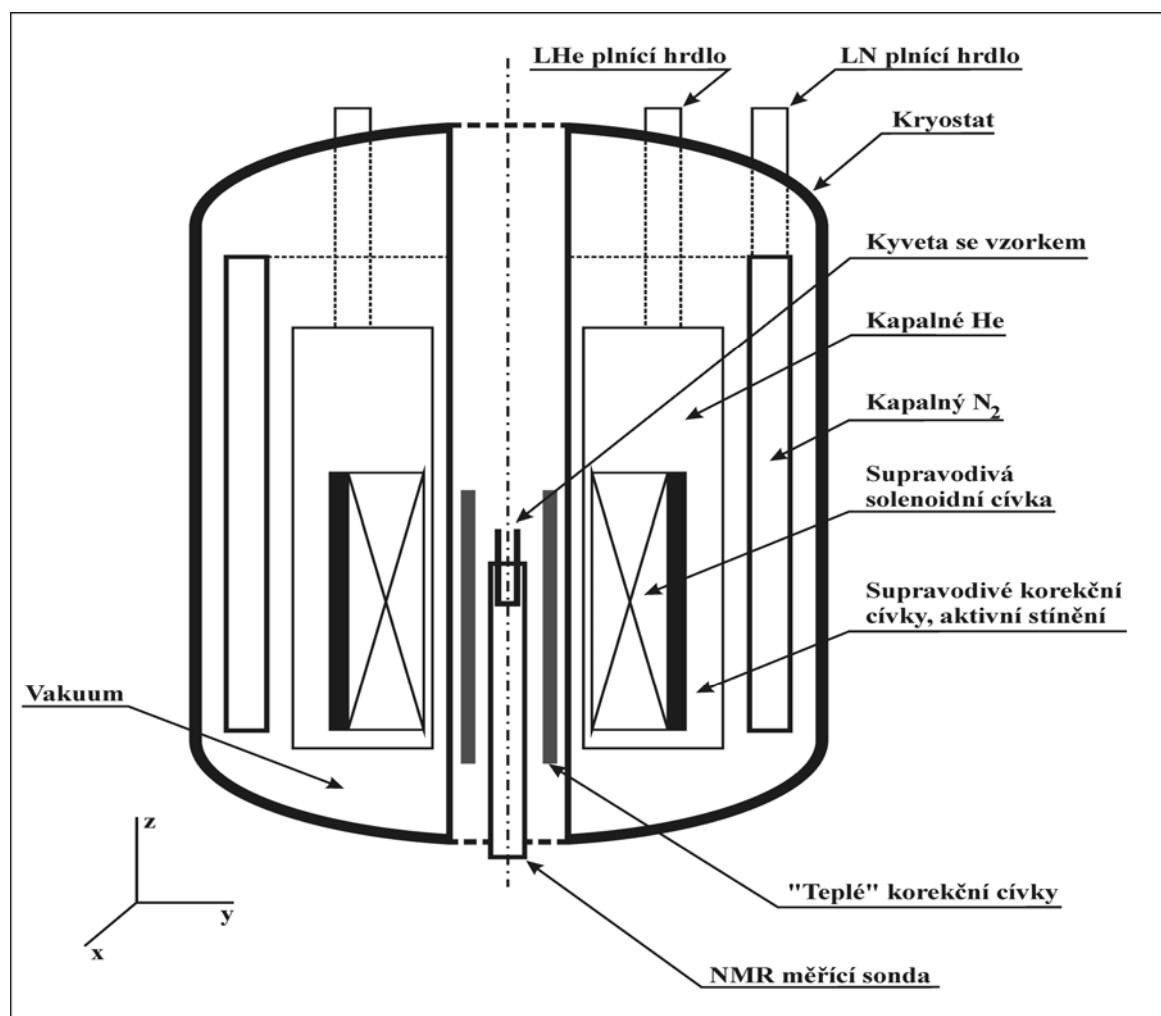
Obr. 2: FID – závislost signálu s na čase t pro a) jeden, b) dva typy jader, jímž odpovídají ve spektru jeden, resp.dva signály.

NMR spektrometr

NMR spektrometr (**obr. 3**) lze rozdělit do tří základních částí: magnet, elektronika spektrometru a výpočetní systém s periferiemi. Základem NMR spektrometru je supravodivý magnet, který je tvořen solenoidní cívkou ze supravodivého materiálu. Ta je umístěna v nádobě s kapalným heliem o teplotě 4 K. Při této teplotě vykazuje materiál cívky supravodivost. Vně nádoby s kapalným heliem je ještě nádoba s kapalným dusíkem o teplotě 77 K a zbylý prostor kryostatu je evakuován. Kryostat jako takový má tvar dutého válce.

Vzorek měřené látky, který je ve skleněné kyvetě, je umístěn uvnitř dutiny kryostatu, tedy v prostoru obklopeném supravodivou cívkou. V tomto prostoru, kde je laboratorní teplota, je zároveň tzv. měřicí sonda. Hlavní částí sondy jsou elektrické obvody, které slouží k dodání energie do vzorku radiofrekvenčním pulsem při excitaci a k detekci frekvencí emitovaných vzorkem při relaxaci.

Supravodivé korekční cívky umístěné v kryostatu a tzv. teplé korekční cívky mimo kryostat slouží k dosažení homogenity magnetického pole.



Obr. 3: Schematický obrázek supravodivého magnetu

Interpretace NMR spektra

Vztah mezi frekvencí absorbovaného záření a magnetickou indukcí B_0 je vyjádřen v rezonanční podmínce (6). Podle uvedené podmínky by měla být rezonanční frekvence konstantní pro všechna jádra téhož izotopu. V molekule jsou však jednotlivá jádra vázána do skupin a jsou tak ovlivňována rozdílným elektronovým okolím. Elektronové okolí mění („stíní“) magnetické pole v místě jádra, takže v místě jádra platí pro magnetickou indukci vztah

$$B_{\text{lok}} = B_0(1-\sigma) \quad (8)$$

kde σ je **konstanta stínění**. Jádra ^1H i ^{13}C jsou v molekule vždy stíněny, tedy hodnoty konstanty stínění jsou vždy kladné.

Zjištění konstanty stínění je experimentálně náročné, a proto se v praxi uvádí relativní hodnoty vztažené vůči standardu. Jako standard se používá tetramethylsilan – TMS, který se přímo přidává do měřeného vzorku jako tzv. **vnitřní standard**. Vzdálenost rezonančních signálů od signálu TMS se měří v Hz. Protože je tato hodnota závislá na B_0 , byl definován **chemický posun** δ jako veličina, která je nezávislá na indukci magnetického pole:

$$\delta = \frac{\nu - \nu_{st}}{\nu_{st}} 10^6 \text{ [ppm]} \quad (9)$$

kde ν a ν_{st} jsou frekvence měřeného jádra a standardu. Chemický posun se vyjadřuje v ppm (parts per million). Hodnota chemického posunu TMS je podle vztahu (9) rovna 0 ppm.

Příklad: V ^1H -NMR spektru je signál o frekvenci 300002020 Hz. Jaký je jeho chemický posun za předpokladu, že frekvence TMS je 300000300 Hz? Dosazením do vztahu (9) získáme:

$$\delta = \frac{300002020 - 300000300}{300000300} 10^6 = 5,73 \text{ ppm}$$

^1H -NMR spektroskopie

Z ^1H -NMR spektra lze pro každý signál určit následující údaje:

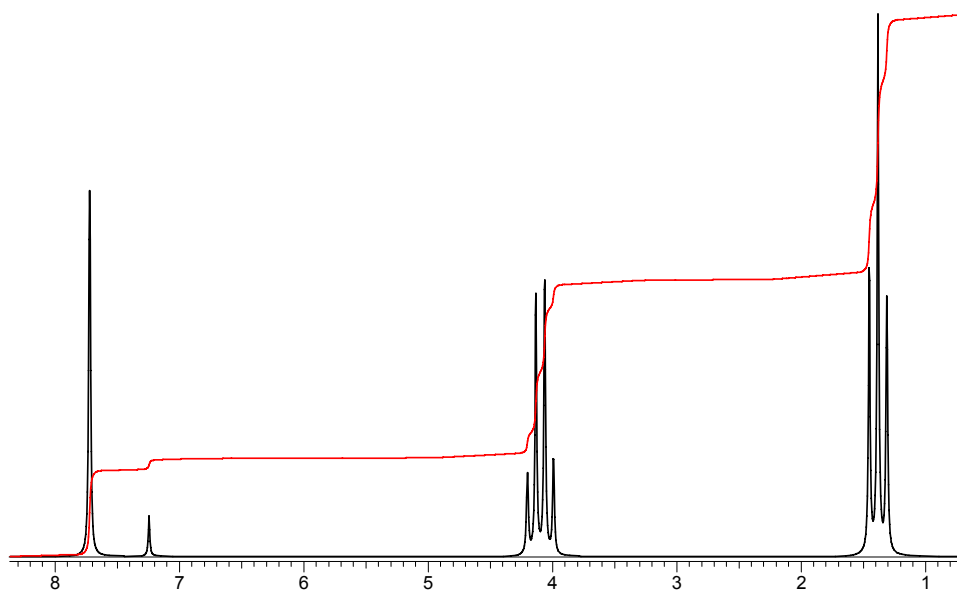
- chemický posun
- integrální intenzita signálu
- multiplicita signálu

Chemický posun

Rozsah chemických posunů v ^1H -NMR spektrech je nejčastěji v rozsahu 0-20 ppm. V **tabulce I** jsou uvedeny chemické posuny protonů, podle nichž lze signál protonů přiřadit určitému strukturnímu seskupení. Jsou-li protony vázány stejným způsobem, a tedy mají-li stejné „okolí“, vykazují stejnou rezonanční frekvenci. Taková jádra se nazývají magneticky ekvivalentní a jsou také vždy chemicky ekvivalentní (ne však naopak). Tak např. v benzenu, cyklohexanu jsou díky symetrii všechny protony ekvivalentní a poskytnou v ^1H -NMR spektru pouze jediný signál. Podobně ve skupině $-\text{CH}_3$ jsou v důsledku volné rotace kolem jednoduché vazby všechny tři protony ekvivalentní, a ve spektru jim bude odpovídat pouze jediný signál. Také sloučeniny tetramethylsilan – $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ a symetricky substituovaný ethan $\text{X}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{X}$ (zde se uplatňuje jak volná rotace kolem jednoduché vazby, tak i symetrie molekuly) poskytnou v ^1H -NMR spektru pouze jediný signál, odpovídající v případě tetramethylsilanu dvanácti, v případě ethanu čtyřem ekvivalentním protonům.

Chemický posun je ovlivňován řadou faktorů (elektronegativita substituentů, magnetická anizotropie, sterické efekty, teplota, koncentrace, rozpouštědlo atd.). Nejvýznamnější z nich je elektronegativita substituentů. Platí, že s rostoucí elektronegativitou sousedního atomů nebo skupiny klesá stínění a roste hodnota chemického posunu δ . Teplota, koncentrace a rozpouštědlo výrazně ovlivňují hodnotu chemického posunu protonů vázaných na heteroatomy ($-\text{OH}$, $-\text{NH}-$, $-\text{SH}$).

Na **obrázku 4** je ^1H -NMR spektrum ethylformiátu. Ve spektru se nacházejí tři signály (1,3 ppm, 4,2 ppm a 8,0 ppm), odpovídající třem skupinám protonů obsažených v ethylformiátu, tedy CH_3- , $-\text{CH}_2-$ a $\text{H}-\text{CO}-$. Liší se svými chemickými posuny, které jsou v souladu s hodnotami uvedenými v **tabulce I**. Signál s chemickým posunem 7,26 ppm, který se ve spektru také nachází, odpovídá zbytkovému signálu CHCl_3 , který byl v tomto případě použit jako rozpouštědlo.



Obr. 4: ^1H -NMR spektrum ethylformiátu

Poznámka: Rozpouštědla, která se NMR spektroskopii používají, nejsou 100% deuterovaná, a proto se vždy v ^1H -NMR spektrech nacházejí signály nedeuterovaných rozpouštědel.

Integrální intenzita signálu

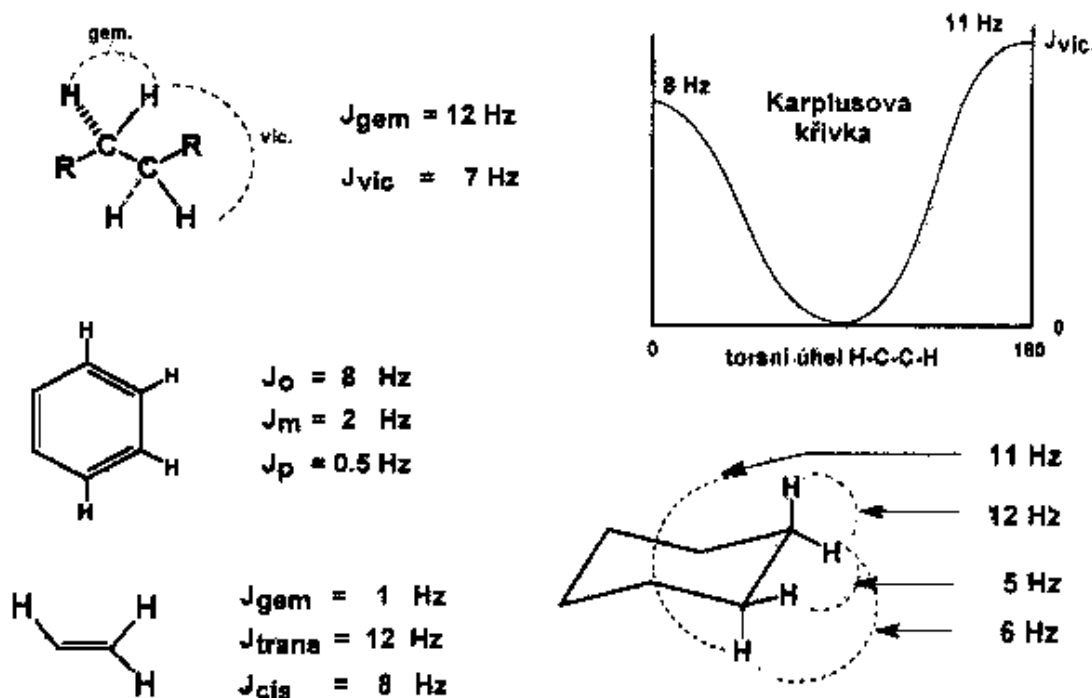
V ^1H -NMR spektrech jsou plochy resonančních signálů úměrné počtu protonů v molekule. Za tímto účelem se pořizuje integrální záznam, který obvykle má tvar vlny nad jednotlivými signály. Výška integrální vlny odpovídá plochám jednotlivých signálů a hodnoty těchto ploch se nacházejí pod stupnicí chemických posunů. Abychom získali počet protonů obsažených v jednotlivých signálech, je třeba poměr velikostí ploch upravit na poměr malých celých čísel.

Tak např. v případě ethylformiátu (**obr. 4**) je třeba plochu (výšku vlny) pod signálem u 1,3 ppm uvažovat jako ekvivalent odpovídající třem protonům. V této oblasti se prakticky vždy vyskytují pouze signály $-\text{CH}_3$ skupin. Můžeme tedy snadno zjistit, jaká velikost plochy odpovídá jednomu protonu, a touto hodnotou podělit ostatní plochy, a potom čísla zaokrouhlit. Ve spektru ethylformiátu na **obr. 4** je tento poměr po zaokrouhlení zprava doleva 3:2:1. Z tohoto poměru plyne, že signál o relativní intenzitě 3 odpovídá skupině $-\text{CH}_3$, skupině $-\text{CH}_2-$ odpovídá signál o relativní intenzitě 2 a poslední signál o relativní intenzitě 1 odpovídá skupině $\text{H}-\text{CO}-$. Signál u 7,2 ppm je od CHCl_3 , který je vždy spolu s CDCl_3 přítomný.

Multiplicita signálů

V ^1H -NMR spektru ethylformiátu se signály liší nejen rozdílnou polohou, danou rozdílným chemickým posunem jednotlivých skupin v molekule, rozdílnou intenzitou, danou počtem protonů v jednotlivých skupinách molekuly, ale také jemnou strukturou (štěpením, multiplicitou) signálů. Příčinou tohoto štěpení je vzájemná interakce spinů jednotlivých protonů - spin-spinová interakce. Jde o interakci, která je přenášena vazebnými elektrony (nikoliv prostorem). Je proto zpravidla nejvýznamnější pro nejbližše sousedící skupiny. Spin-spinová interakce je vzájemná, tzn. je-li signál protonů A štěpen protony odpovídajícími signálu B, musí být i signál protonů B štěpen protony odpovídajícími signálu A.

Spin-spinová interakce je charakterizována hodnotou **spin-spinové interakční konstanty J** . Její hodnota se vyjadřuje v Hz a nezávisí na indukci vnějšího magnetického pole. Ze spekter lze hodnotu J vypočítat jako rozdíl frekvencí jednotlivých čar multipletů. Polohy čar multipletů v Hz jsou uváděny nad těmito multiplety. Hodnoty některých spin-spinových interakčních konstant jsou uvedeny v **obr. 5**. Za předpokladu, že interpretované spektrum je tzv. spektrum 1. řádu, to znamená, že je splněna podmínka $\Delta\nu/J > 6$, kde $\Delta\nu$ je rozdíl resonančních frekvencí vzájemně interagujících jader, můžeme interakční konstanty vypočítat jako rozdíl frekvencí čar jednotlivých multipletů.



Obr. 5: Interakční konstanty v různých funkčních skupinách

Pro protony a obecně pro jádra se spinovým kvantovým číslem $I = 1/2$ platí ve spektrech 1.řádu pro tvar multipletu jednoduchá pravidla:

1. Jsou-li v sousedství pozorovaného jádra skupiny s jádry majícími různou interakční konstantu s pozorovaným jádrem, je signál pozorovaného jádra rozštěpen na maximálně $(n_1+1) \cdot (n_2+1)$ složek, kde n_1 resp. n_2 jsou počty jader sousedících skupin s interakční konstantou J_1 resp. J_2 . Pokud však platí, že $J_1 = J_2$, pak signál je rozštěpen na $(n+1)$ složek, kde n je počet jader sousedící skupiny nebo skupin se stejnou vzájemnou interakční konstantou.

2. Relativní intenzity čar multipletu, vzniklého interakcí se skupinou n magneticky ekvivalentních jader, jsou v poměrech koeficientů binomického rozvoje $(a+b)^n$, které lze určit z Pascalova trojúhelníku, tedy dublet 1:1, triplet 1:2:1, kvartet 1:3:3:1, atd.

Možnosti štěpení pro jednu až tři interakční konstanty jsou uvedeny na **obr. 6**.

Ve spektru ethylformiátu (**obr. 4**) nacházíme dva multiplety, triplet s chemickým posunem 1,3 ppm a kvartet s chemickým posunem 4,2 ppm. Triplet odpovídá skupině $-\text{CH}_3$, protože tato skupina přímo sousedí s dvěma ekvivalentními protony skupiny $-\text{CH}_2-$. Kvartet naopak odpovídá skupině $-\text{CH}_2-$, protože methylenová skupina přímo sousedí s třemi ekvivalentními protony skupiny $-\text{CH}_3$. Proton ve skupině $\text{H}-\text{CO}-$ nemá přímo vedle sebe žádný proton, proto signál s chemickým posunem 8,0 ppm, odpovídající této skupině je ve spektru ethylformiátu jako singlet.

J_1	$J_1=J_2$	$J_1>J_2$	$J_1=J_2=J_3$	$J_1>J_2=J_3$	$J_1=J_2>J_3$	$J_1>J_2>J_3$
dublet (d)	triplet (t)	dublet doubletu (dd)	kvartet (q)	dublet tripletu (dt)	triplet doubletu (td)	dublet doubletu doubletu (ddd)

Obr. 6: Možnosti štěpení

Hodnota spin-spinové interakční konstanty v ^1H -NMR spektrech klesá s počtem vazeb, které jsou mezi interagujícími jádry. Proto rozlišujeme interakční konstanty geminální

H-C-H , označované 2J , vicinální 3J (H-C-C-H) a interakční konstanty dalekého dosahu 4J až 9J . Je třeba zdůraznit zvláštnost aromatických protonů. U substituovaného aromatického jádra nejsou vodíkové atomy ekvivalentní. Podle povahy přítomného substituentu není často splněna podmínka pro spektrum 1. řádu (rozdíly v chemických posunech jsou často malé) a u spektrometrů s nižší pracovní frekvencí nelze tyto vodíkové atomy rozlišit. Ve spektru pak nalezneme v oblasti 6-9 ppm řadu signálů s jemnou strukturou. Protože tyto signály lze zaměnit se signály dvojné vazby (rozsahy chemických posunů se překrývají), je třeba při analýze spektra uvažovat také relativní intenzity multipletů a hodnoty spin-spinových interakčních konstant (**obr. 5**), které jsou ve srovnání s dvojnou vazbou menší.

Poznámka: V případě vícenásobných multipletů mohou být krajní, nejslabší, signály multipletu zakryty šumem (např. pro nonet je teoretický poměr mezi nejslabším a nejsilnějším signálem multipletu podle Pascalova trojúhelníku 1:70).

¹³C-NMR spektroskopie

Vzhledem k tomu, že izotop ¹²C není magneticky aktivní, lze v případě uhlíků měřit pouze izotop ¹³C, jehož spinové kvantové číslo je stejné jako u protonů, tedy $I = 1/2$. Ve srovnání s ¹H-NMR spektry mají ¹³C-NMR spektra řadu odlišností.

1. Rozsah chemických posunů, na rozdíl od ¹H-NMR spekter, je přibližně 300 ppm. Obvykle se však signály uhlíkových atomů organických sloučenin vyskytují v intervalu 0-220 ppm. To zlepšuje přehlednost a usnadňuje interpretaci těchto spekter, protože nedochází k tak častému překryvu signálů, jako v případě protonových spekter. Chemický posun uhlíků se vztahuje tak jako u protonů k TMS. I v tomto případě je chemický posun ovlivněn řadou faktorů. Jeho hodnota v první řadě závisí na hybridizaci uhlíkových atomů, přičemž chemický posun klesá v tomto pořadí:

$$sp^2 > sp > sp^3$$

Největší chemické posuny však mají uhlíkové atomy kvarterní a karbonylové. Dále chemický posun ovlivňuje indukční efekt substituentů. Substituenty přitahující elektrony způsobují posun C_α a C_β uhlíků k nižšímu poli, tedy k vyšším chemickým posunům, zatímco u C_γ je efekt opačný a na C_δ obvykle zanedbatelně malý. Chemický posun ovlivňují také sterické, konjugační a další efekty. Základní přehled ¹³C chemických posunů je shrnut v **tabulce II**.

2. Intenzita A signálů jader ¹³C závisí na gyromagnetickém poměru, spinovém kvantovém čísle I a na přirozeném výskytu jádra n (v %) podle vztahu

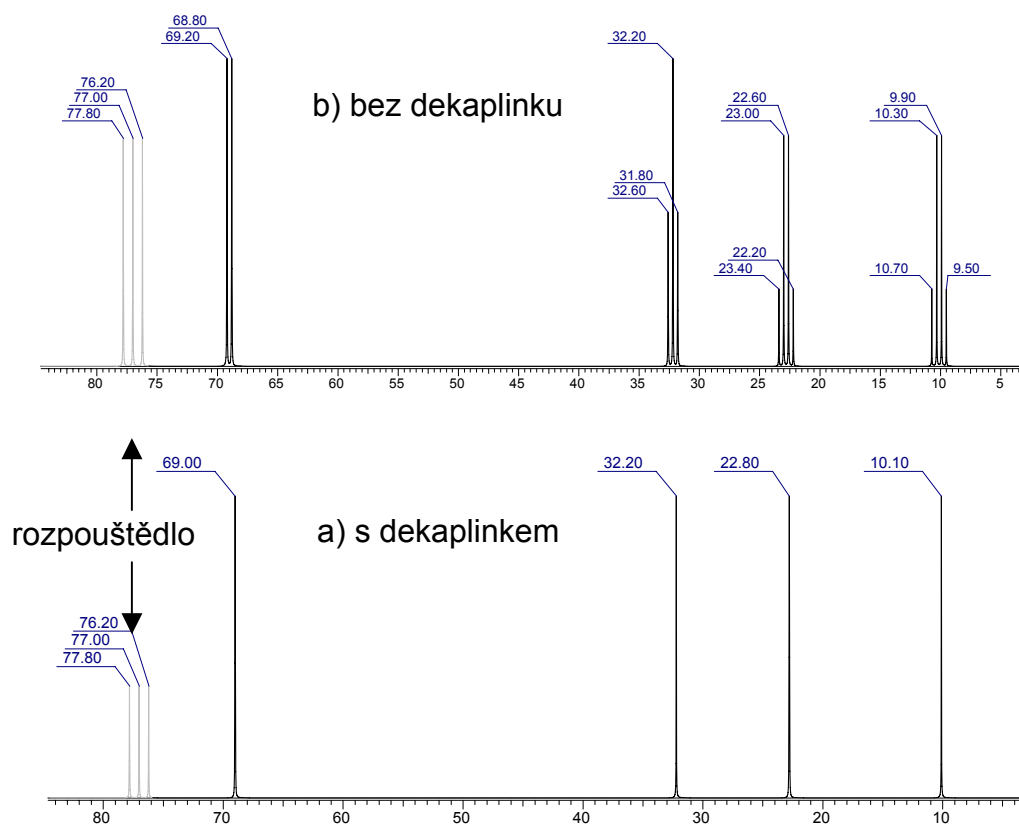
$$A = \gamma^3 n I(I+1) \quad (10)$$

V důsledku přirozeného výskytu jader ¹³C, který je jen 1,11% a čtyřikrát menšího gyromagnetického poměru ve srovnání s jádrem ¹H, je relativní citlivost uhlíků přibližně 5700-krát nižší než u protonů. Proto se stala ¹³C-NMR spektroskopie běžnou metodou až zavedením pulsních FT NMR spektrometrů, které umožňují rychlou akumulaci spekter. Protože poměr signálu k šumu roste s odmocninou z počtu akumulací (scanů), je třeba pro získání kvalitních uhlíkových spekter provést řádově stovky až několik desítek tisíc akumulací v závislosti na struktuře molekuly a koncentraci vzorku.

Ve srovnání s protonovými spektry nejsou intenzity v ¹³C-NMR spektrech vždy úměrné počtu odpovídajících jader uhlíku. To znesnadňuje využití ¹³C-NMR spektroskopie ke kvantitativním účelům a někdy též interpretaci spekter. Příčinou jsou nestejně relaxační časy různých jader uhlíku, které závisí na okolí dotýčných atomů. Je užitečné vědět, že signály kvarterních uhlíků dávají slabší signály než uhlíky, na něž jsou vázány atomy vodíku. Intenzita signálů v ¹³C-NMR spektrech je navíc závislá na tom, jakým způsobem (podle použité pulsní sekvence) bylo spektrum získáno.

3. Na rozdíl od protonových spekter se v uhlíkových spektrech interakce ¹³C-¹³C prakticky neobjeví vzhledem k malé pravděpodobnosti výskytu dvou jader izotopu ¹³C

v jedné molekule v těsné blízkosti. Naopak se v uhlíkových spektrech výrazně projevuje spin-spinová interakce ^1H - ^{13}C . Nejvýznamnější jsou přímé 1J interakční konstanty, které závisí na hybridizaci uhlíkového atomu a jejichž hodnota se mění v tomto pořadí: sp^3 (120 až 150 Hz), sp^2 (150 až 250 Hz) a sp (250 až 320 Hz). Tato skutečnost sice usnadňuje přiřazení signálů uhlíků molekuly, ale na druhé straně zhoršuje přehlednost spekter v případě, že je malý rozdíl v chemických posunech jednotlivých uhlíků. Proto se používá metoda označovaná jako **dekaplink**. ^{13}C -NMR spektra se měří za současného ozařování všech protonů v molekule. Tím dojde k eliminaci všech štěpení, vyvolaných spin-spinovou interakcí uhlík-proton. Navíc dojde i ke zvýšení intenzity signálů uhlíkových atomů ve spektru, protože veškerá intenzita je pak soustředěna do jediného píku signálu. Dokumentuje to **obr. 7**, kde je uvedeno normální (nedekaplované) i dekaplované spektrum 2-butanolu měřené v CDCl_3 (signál u 77 ppm je od CHCl_3 , který je vždy spolu s CDCl_3 přítomný). V dekaplovaném spektru (**obr. 7a**) se vyskytují pouze čtyři neštěpené signály charakterizované různým chemickým posunem a odpovídající čtyřem typům atomů uhlíku v molekule 2-butanolu. V nedekaplovaném spektru (**obr. 7b**) lze pozorovat dva kvartety odpovídající dvěma $-\text{CH}_3$ skupinám, triplet a dublet pak přísluší skupině $-\text{CH}_2-$, resp. $-\text{CH}-$. Kvartet o vyšším chemickém posunu přísluší methylové skupině, která je blíže skupině $-\text{OH}$.

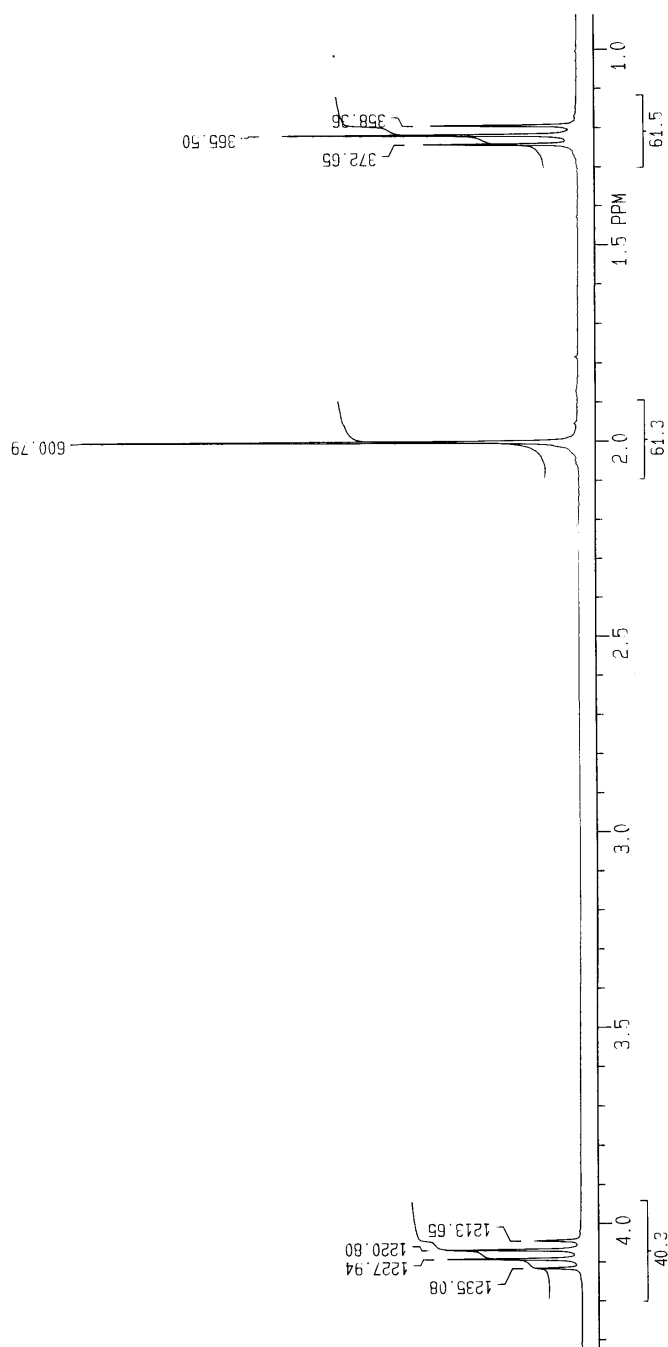


Obr. 7: ^{13}C -NMR spektrum 2-butanolu

Příklad interpretace ^1H -NMR spektra

Interpretací NMR spektra se rozumí vyhodnocení všech parametrů, tj. chemického posunu, integrální intenzity a spin-spinové interakční konstanty. V praxi, při zjišťování struktury neznámé látky, se pak závěry z NMR spektra srovnávají s ostatními fyzikálně-chemickými údaji o látce a s výsledky jiných spektrálních metod, zejména hmotnostní, infračervené a ultrafialové spektroskopie, případně s výsledky rentgenové strukturní analýzy.

Ukažme si nyní, jak postupovat při interpretaci spektra neznámého vzorku. Na **obr. 8** je ^1H -NMR spektrum látky, která byla změřena v roztoku CDCl_3 .



Obr. 8: ^1H -NMR spektrum neznámé sloučeniny

Z výsledků elementární analýzy byl zjištěn sumární vzorec C_4H_8O . Nejprve vypočteme číslo nenasycenosti UN podle vztahu

$$UN = n(C) - \frac{1}{2} n(H) + \frac{1}{2} n(N) + 1, \quad (11)$$

kde $n(C)$ je počet atomů uhlíku (obecně čtyřvazných atomů), $n(H)$ je počet atomů vodíků (obecně jednovazných atomů, tedy i halogenů) a $n(N)$ je počet atomů dusíku (obecně trojvazných atomů). Dvojvazné atomy (např. kyslík) číslo nenasycenosti neovlivňují.

Číslo nenasycenosti udává, kolik násobných vazeb nebo cyklů struktura s daným sumárním vzorcem musí obsahovat, aby byla dodržena základní pravidla o vaznosti atomů. Pro sumární vzorec C_4H_8O vychází $UN = 1$ a znamená to, že tato látka obsahuje buď jednu dvojnou vazbu nebo jeden kruh. Podobně pro $UN = 2$ existují čtyři varianty: látka obsahuje a) dvě dvojně vazby, b) jednu trojnou vazbu, c) dva kruhy, nebo d) kruh a jednu dvojnou vazbu. Opačně, pro benzenové jádro musí vyjít číslo nenasycenosti $UN = 4$, neboť benzen představuje tři dvojně vazby a jeden kruh.

Ve spektru se nacházejí tři signály (zprava doleva to jsou triplet s chemickým posunem 1,22 ppm, singlet s chemickým posunem 2,00 ppm a kvartet s chemickým posunem 4,08 ppm). Z tabulek chemických posunů (**tab. I**) lze signálu u 1,22 ppm přiřadit uskupení CH_3-C- , signálu u 2,00 ppm uskupení CH_3-CO- nebo $CH_3-C=C-$ a signálu s chemickým posunem 4,08 ppm $-CH_2-O-$ nebo $-CH_2-X$.

Podívejme se nyní, jaká je integrální intenzita jednotlivých signálů. Signál s chemickým posunem 1,22 ppm podle tabulek chemických posunů s největší pravděpodobností odpovídá skupině $-CH_3$. V tom případě plocha uvedená pod tímto signálem odpovídá třem protonům a jednoduchou matematickou úpravou zjistíme, že plochy jednotlivých signálů jsou (zprava doleva) v poměru 3:3:2. To je také ve shodě s výsledky získanými z chemických posunů.

Signál s chemickým posunem 1,22 ppm je triplet. To znamená, že sousedí se skupinou obsahující dva protony, tedy $-CH_2-$. Ve spektru skupině $-CH_2-$ odpovídá signál s chemickým posunem 4,08 ppm. Ten, pokud je $-CH_2-$ připojena ke skupině $-CH_3$ a za předpokladu, že z druhé strany je připojena ke kyslíku nebo halogenu (jak plyne z **tab. I**), musí být štěpen na kvartet. Ve spektru se takový signál nachází. Variantu, že $-CH_2-$ skupina je připojena k halogenu, můžeme vzhledem k výsledkům elementární analýzy vyloučit. Sloučenina musí tedy obsahovat ethylovou skupinu vázanou na kyslíkový atom. Signál s chemickým posunem 2,00 ppm je singlet. Odpovídá tedy skupině $-CH_3$, která není přímo vázaná na skupinu obsahující proton. Podle **tab. I** je tato skupina vázaná na karbonylovou skupinu nebo na skupinu s dvojnou vazbou. Druhou možnost můžeme vyloučit, protože pokud by na dvojně vazbě byl vázaný nějaký proton, musel by se takový signál nacházet ve spektru. Kdyby na dvojně vazbě byly vázány pouze uhlíkové či jiné atomy, nesouhlasilo by to se sumárním vzorcem sloučeniny.

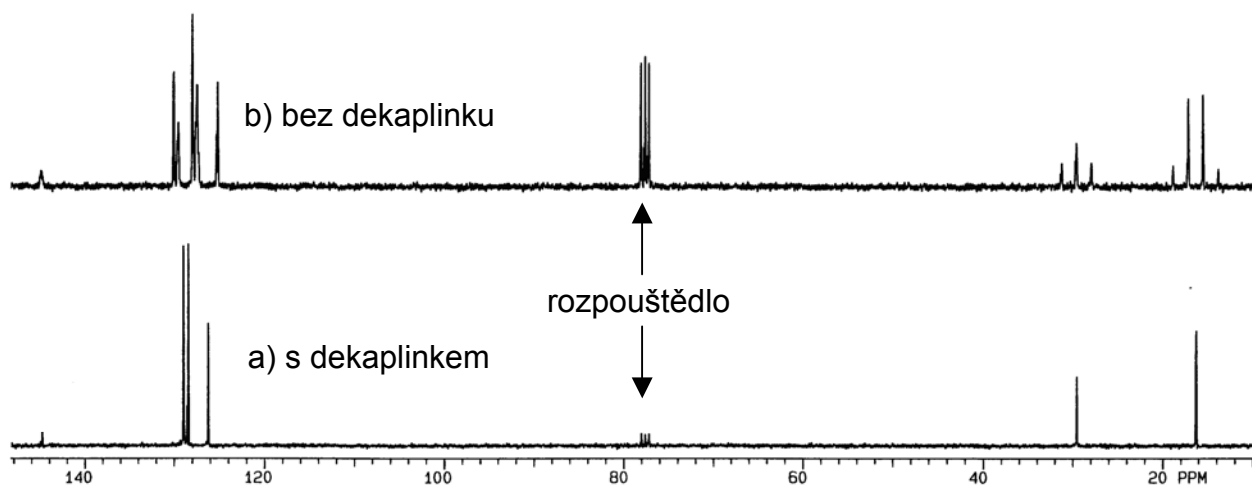
Sloučenina tedy obsahuje skupinu CH_3-CO- a CH_3-CH_2-O- . To je v souladu i s číslem nenasycenosti (ve sloučenině je dvojná vazba ve skupině $C=O$). Protože jiné signály se ve spektru nenachází, a vzhledem k sumárnímu vzorci, můžeme tyto dvě skupiny spojit.

1H -NMR spektrum na **obr. 8** je tedy spektrum **octanu ethylatého**.

Příklad interpretace ^{13}C -NMR spektra

Na **obr. 9** je spektrum organické látky, které bylo změřeno v roztoku CDCl_3 . Z elementární analýzy byl zjištěn sumární vzorec C_8H_{10} . Dosazením do vztahu (10) pro číslo nenasycenosti vypočteme $UN = 4$. Ve spektrech (**obr. 9a,b**) lze pozorovat signál s chemickým posunem 77 ppm, odpovídající signálu rozpouštědla. Multiplicita tohoto signálu je způsobena spin-spinovou interakcí uhlíku s deuteriem. Protože deuterium má spinové kvantové číslo $I = 1$, bude signál podle obecného pravidla $2nI+1$, rozštěpen na $2nI+1$ složek, tedy na triplet (n je počet jader, v našem případě deuteria).

Ve spektru na **obr. 9a** se nachází kromě signálu rozpouštědla celkem 6 signálů s chemickým posunem (16,2; 29,5; 126,2; 128,5; 128,9 a 144,9 ppm). První, s chemickým posunem 16,2 ppm, má v nedekaplovaném spektru multiplicitu 4, tedy kvartet. Ten přísluší skupině $-\text{CH}_3$. Druhý signál je triplet, tedy odpovídá skupině $-\text{CH}_2$. Poslední signál vlevo je singlet. Vzhledem k jeho vysoké hodnotě chemického posunu (144,9 ppm) a malé intenzitě lze usoudit, že se jedná o kvarterní uhlíkový atom. Podle sumárního vzorce však sloučenina obsahuje 10 uhlíkových atomů. Molekula tedy musí obsahovat prvek symetrie, resp. dvě dvojice ekvivalentních uhlíků. Vzhledem k číslu nenasycenosti a přítomnosti signálů v rozmezí 125-130 ppm lze usoudit, že molekula obsahuje aromatické jádro. Protože se ve spektru nachází pouze jeden kvarterní uhlík, bude se pravděpodobně jednat o monosubstituované aromatické jádro. Monosubstituované aromatické jádro má také již předpokládané dvě dvojice ekvivalentních uhlíků. Protože zbývající dva uhlíky jsme určili jako skupiny $-\text{CH}_2-$ a $-\text{CH}_3$, závěr je jednoznačný. ^{13}C -NMR spektrum na **obr. 9** náleží **ethylbenzenu**.



Obr. 9: ^{13}C -NMR spektrum neznámé sloučeniny

Návod laboratorní práce

Spektroskopie NMR

Úkoly:

- 1 Interpretujte zadaná ^1H a ^{13}C -NMR spektra známých sloučenin.
- 2 Proveďte interpretaci ^1H a ^{13}C -NMR spekter dvou neznámých vzorků včetně porovnání naměřených a vypočtených hodnot chemických posunů. Vypočtené hodnoty získáte pomocí programu Spectool. U separovaných signálů v ^1H -NMR spektrech vypočtete hodnoty spin--spinových interakčních konstant.
- 3 Přiřaďte signály v ^1H a ^{13}C -NMR spektrech známé sloučeniny.
- 4 Výsledky zpracujte do protokolu.

Kontrolní otázky:

- 1 Které izotopy poskytují NMR signály?
- 2 Jaké veličiny jsou uvedeny na ose x a y v NMR spektru?
- 3 Které základní parametry se získávají z NMR spektra?
- 4 Co je chemický posun a čím je ovlivňována jeho hodnota?
- 5 Co je to číslo nenasycenosti a jak se určuje?
- 6 Jaké je číslo nenasycenosti hexanu, cyklohexanu, cyklohexenu a benzenu?
- 7 Kolik signálů je v ^1H -NMR spektru sloučenin obsahující skupiny CH_3O , $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$, resp. $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$? (Případě více signálů určete i jejich relativní intenzity.)
- 8 Čím se řídí intenzita čar multipletů?
- 9 Jaká je multiplicita u skupin uvedených v otázce 6?
- 10 Jaké signály jsou v ^1H -NMR spektru sloučenin obsahující symetricky, resp. asymetricky *p*-substituované aromatické jádro?
- 11 Jak se projeví přítomnost elektronegativního prvku (např. kyslíku) na hodnotě chemického posunu sousedícího uhlíku?
- 12 Co je to dekapling a proč se používá?
- 13 Jak se liší ^1H -NMR spektra *trans*-but-2-enu a *cis*-but-2-enu?

Příloha

Příklad interpretace ^1H -NMR a ^{13}C -NMR spektra

Na **obr. 10a,b** je ^1H -NMR spektrum neznámé sloučeniny a na **obr. 11a,b** je její dekaplované a nedekaplované ^{13}C -NMR spektrum. Z výsledků elementární analýzy plyne sumární vzorec sloučeniny $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$. Dosazením do vztahu (10) $n(\text{C}) = 10$ a $n(\text{H}) = 14$ vypočteme $UN = 4$. Z toho plyne, že molekula obsahuje čtyři dvojně vazby nebo dvě trojně nebo čtyři kruhy, popř. nějakou kombinaci těchto možností, např. aromatický kruh.

V ^1H -NMR spektru lze nalézt celkem 8 resonančních signálů, přičemž signál zcela vlevo, s posunem 7,26 ppm patří CHCl_3 , který je obsažen v CDCl_3 . Tento signál dále nebudeme uvažovat. Určíme nyní chemický posun a multiplicitu jednotlivých signálů. Zprava doleva to jsou: triplet (0,81 ppm), dublet (1,21 ppm), kvintet (1,57 ppm), sextet (2,55 ppm), singlet (4,77 ppm), dublet (6,78 ppm) a dublet (7,06 ppm).

V dekaplovaném ^{13}C -NMR spektru (**obr. 11a**) se kromě signálu rozpouštědla s chemickým posunem 77 ppm nachází celkem 8 signálů s chemickým posunem 12,89; 22,65; 32,00; 41,51; 115,92; 128,80; 140,83 a 153,73 ppm. Prvé dva uvedené signály (12,89 a 22,65 ppm) se vyskytují v nedekaplovaném spektru jako kvartety, odpovídají tedy methylovým skupinám. Třetímu s chemickým posunem 32,00 ppm odpovídá v nedekaplovaném spektru triplet, jedná se tedy o skupinu methylenovou. Signálům s chemickým posunem 41,51; 115,92 a 128,80 ppm přísluší v nedekaplovaném spektru dublety, jedná se tedy o $-\text{CH}-$ skupiny. Poslední dva signály přísluší buď kvarterním uhlíkům nebo karbonylům, protože v nedekaplovaném spektru je pozorujeme jako singlety. Porovnáme-li počet signálů v dekaplovaném spektru s počtem uhlíků v sumárním vzorci zjistíme, že ve spektru je o dva signály méně. To napovídá, že molekula obsahuje prvek symetrie.

Dále zjistíme z ^1H -NMR spektra relativní intenzity jednotlivých signálů. Ve spektru pod stupnicí jsou uvedeny velikosti ploch jednotlivých integrovaných oblastí. Za předpokladu, že triplet s chemickým posunem 0,81 ppm odpovídá skupině $-\text{CH}_3$ (tedy třem protonům), lze jednoduchým výpočtem z velikostí ploch uvedených pod jednotlivými signály a po zaokrouhlení na celá čísla získat poměr (opět zleva doprava) 3:3:2:1:1:2:2.

Poznámka: V případě, že po vydělení nedostaneme čísla, která lze snadno zaokrouhlit, je třeba pro tento výpočet použít signál některé jiné skupiny. Zvláštní pozornost je třeba věnovat integrální intenzitě širokých signálů, která může být zatížena chybou a není tedy vhodné k této intenzitě vztahovat ostatní. Zpravidla jde o signály protonů na heteroatomech (O, S, N), ve kterých může být obsažen signál vody odpovídající vlhkosti vzorku. Navíc chemický posun těchto signálů je značně závislý na teplotě.

Pokusme se nyní jednotlivým signálům v ^1H -NMR spektru přiřadit skupiny nebo strukturní seskupení. Z **tabulky I** chemických posunů plyne, že první dva signály o relativní intenzitě 3 odpovídají zřejmě dvěma neekvivalentním skupinám $-\text{CH}_3$ (vzhledem k rozdílné multiplicitě a rozdílnému chemickému posunu), vázaných na uhlíkový řetězec. Signál o relativní intenzitě 2 s chemickým posunem 1,57 ppm by mohl odpovídat skupině $-\text{CH}_2-$, ale také skupině $-\text{NH}_2$. V důsledku kvadrupolového

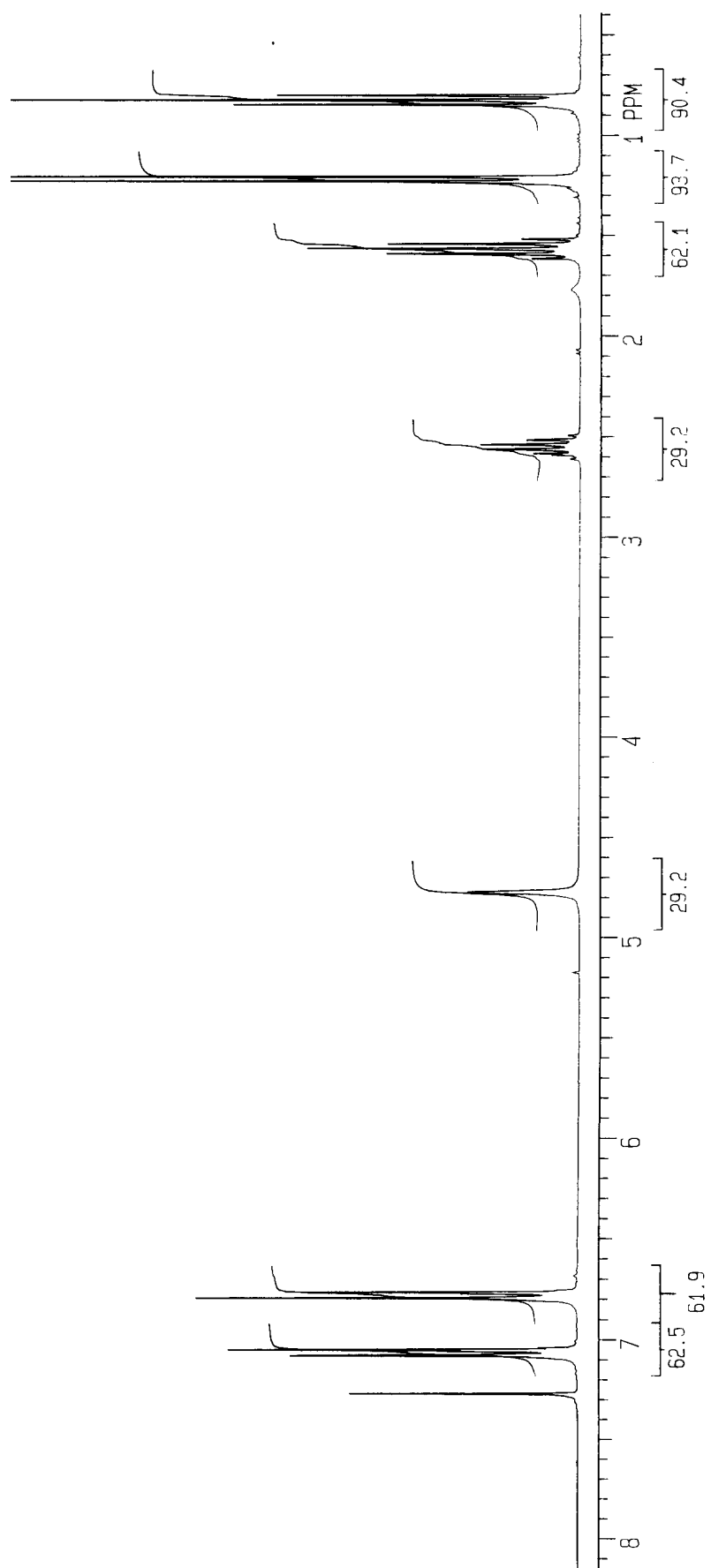
momentu izotopu ^{14}N jsou signály protonů ve skupinách $-\text{NH}-$, $-\text{NH}_2$ široké a nevykazují jemnou strukturu. Skupina $-\text{CH}_2-$ je také již potvrzena z ^{13}C -NMR spektra. Signál s chemickým posunem 2,55 ppm vyhovuje dle **tabulky I** seskupení $-\text{C}-\text{CH}-\text{Ar}$. Signál o relativní intenzitě 1 a chemickým posunem 4,77 ppm zřejmě odpovídá skupině $-\text{OH}$ nebo $-\text{NH}-$. Skupinu $-\text{NH}-$ lze vzhledem k výsledkům elementární analýzy vyloučit. Poslední dva signály s relativní intenzitou 2 leží v oblasti aromatických protonů. V této oblasti se vyskytují také signály konjugovaných alkenů. Ty však lze vzhledem k multiplicitě v tomto případě vyloučit. Naopak multiplicita signálů je charakteristická pro disubstituované aromatické jádro v poloze para. Aromatickému systému také odpovídá $UN = 4$.

Přítomnost signálů v oblasti kolem 120 ppm v ^{13}C -NMR spektrech také dokazuje přítomnost aromatického systému (**tabulka II**). Protože se jedná o disubstituované aromatické jádro v poloze para, jsou zde přítomny jen dva signály odpovídající vždy dvojici ekvivalentních $-\text{CH}=$ uhlíkových atomů z aromatického kruhu. Poslední dva signály s chemickým posunem 140,83 a 153,73 ppm odpovídají kvarterním uhlíkovým atomům aromatického kruhu. Přítomnost karbonylu můžeme vzhledem k číslu nenasycenosti nyní už vyloučit.

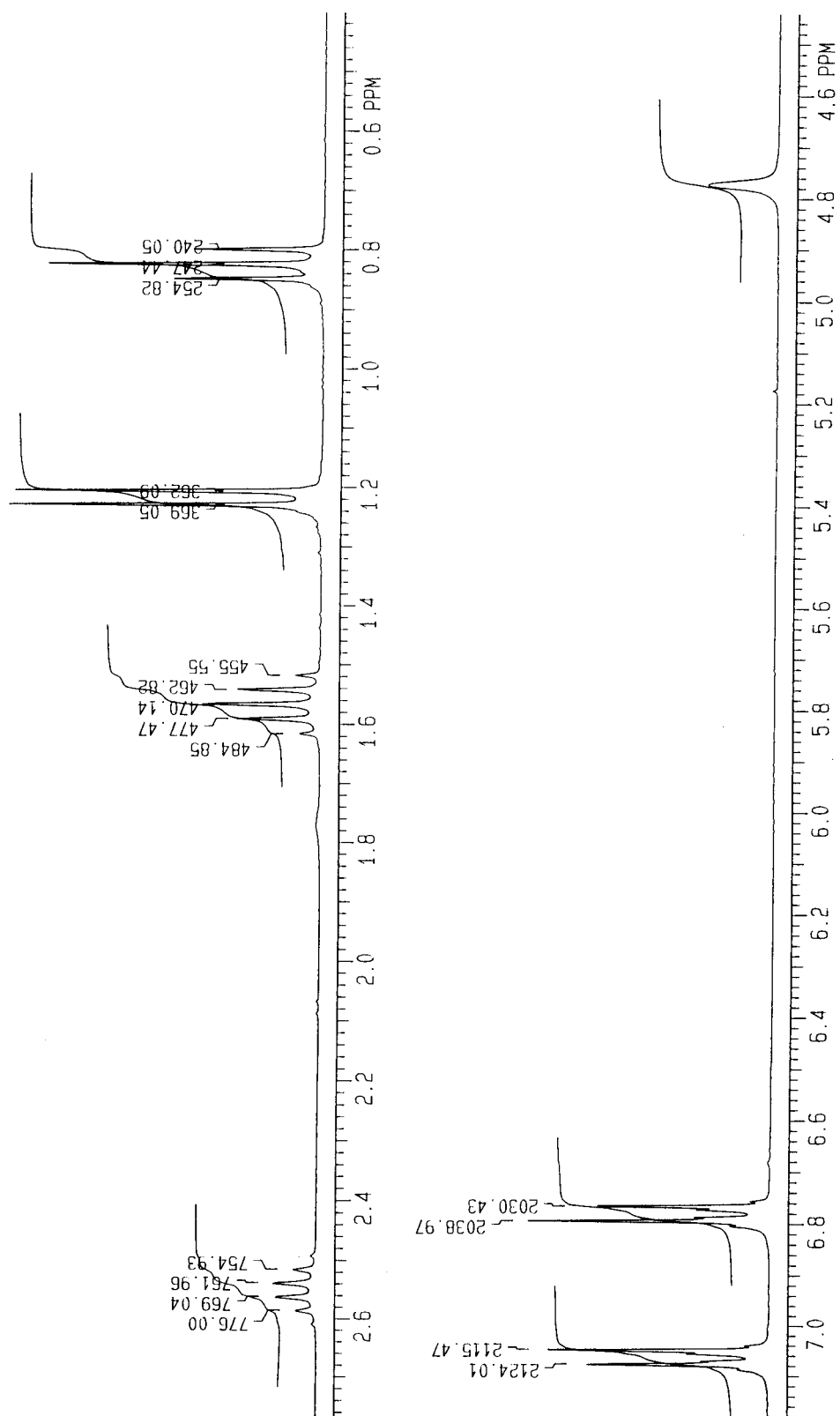
Můžeme tedy shrnout dílčí výsledky: Organická látka obsahuje dvě neekvivalentní skupiny $-\text{CH}_3$, skupinu $-\text{CH}_2-$, skupinu $-\text{CH}-$, skupinu $-\text{OH}$ a disubstituované aromatické jádro v poloze para. Lze navrhnout celkem 7 možných struktur neznámé molekuly (**obr. 12**). K tomu, abychom vybrali jedinou strukturu, využijeme multiplicitu signálů v ^1H -NMR spektru. Pokusme se navrhnout teoretická spektra pro jednotlivé struktury. Předpokládejme, že se jedná o spektra 1. řádu. Struktury I a VII obsahují uskupení $-\text{CH}-(\text{CH}_3)_2$, kde jsou dvě ekvivalentní skupiny CH_3 . Ty by poskytly jediný signál, dublet (interakce se sousední skupinou $-\text{CH}-$), o relativní intenzitě 6. Takový signál v našem spektru není, a proto můžeme tyto dvě struktury vyloučit. Struktura VI obsahuje ethylovou skupinu připojenou přímo na aromatické jádro. Tato skupina by poskytla dva signály: triplet a kvartet v poměru 3:2. Protože tato dvojice ve spektru také není, můžeme vyloučit i strukturu VI. Ve struktuře III, IV a V je na aromatické jádro vázaná methylová skupina, která by poskytla singlet v rozsahu chemických posunů 2-3 o relativní intenzitě 3. Takový signál se ve spektru opět nenachází, proto můžeme i tyto tři struktury vyloučit. Zbývá tedy struktura II.

Pokusme se nyní navrhnout multiplicitu jednotlivých signálů pro strukturu II v ^1H -NMR spektru. Skupina $-\text{CH}_3$ vedle skupiny $-\text{CH}_2-$ musí poskytovat triplet. Druhá skupina $-\text{CH}_3$ vázaná na skupinu $-\text{CH}-$ musí poskytnout dublet. Skupina $-\text{CH}_2-$, která je mezi skupinou $-\text{CH}-$ a $-\text{CH}_3$ má v přímém sousedství celkem 4 protony a podle pravidla $n+1$ by měla poskytnout kvintet. Konečně skupina $-\text{CH}-$ má v přímém sousedství celkem pět protonů a podle stejného pravidla by měla poskytnout sextet. Všechny čtyři signály s odpovídající relativní intenzitou pro uvedené skupiny a multiplicitou lze nalézt ve spektru.

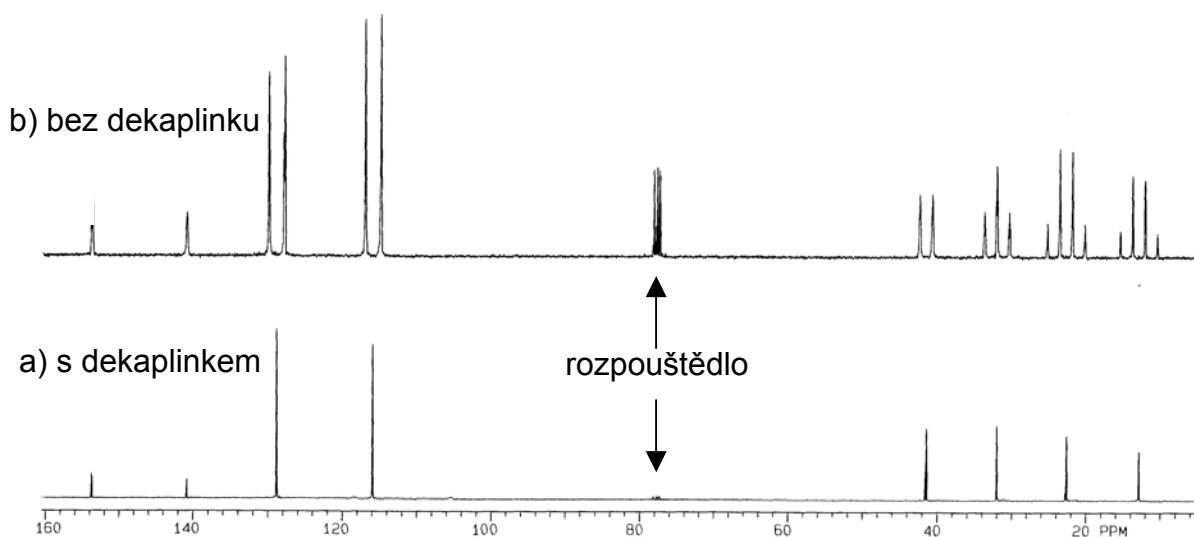
^1H -NMR spektrum (**obr. 10a,b**) a ^{13}C -NMR spektrum (**obr. 11**) tak náleží ***p*-(2-butyl)fenolu**.



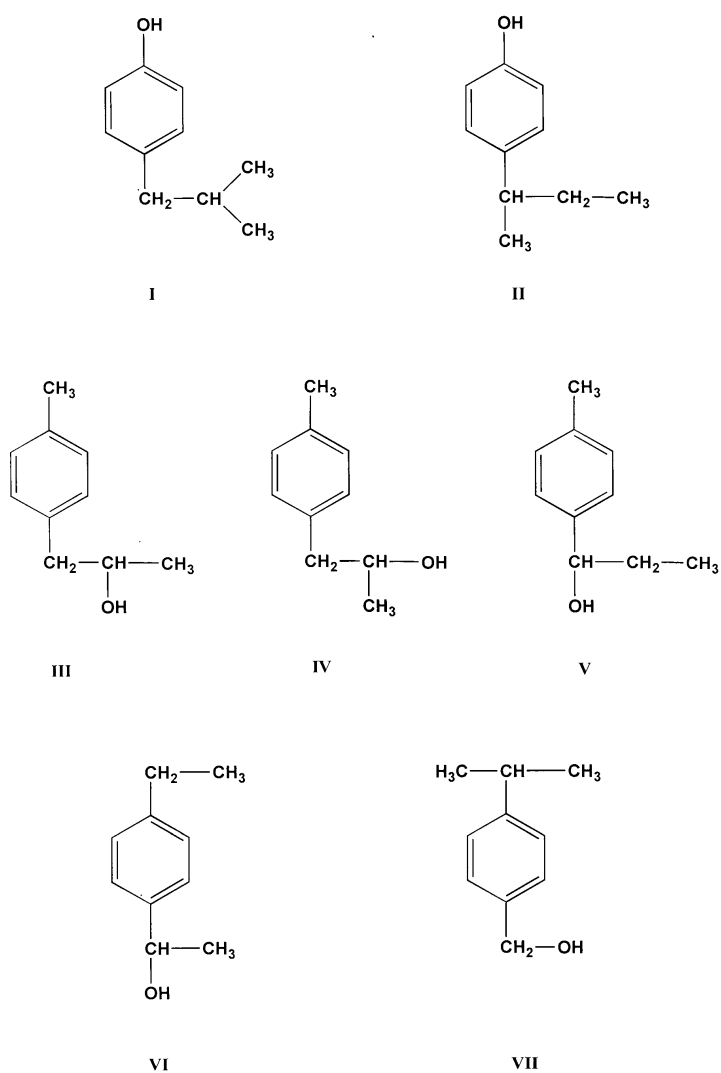
Obr. 10a: Přehledové ^1H -NMR spektrum neznámé látky



Obr. 10b: Expandované ^1H -NMR spektrum neznámé látky



Obr. 11: ^{13}C -NMR spektrum neznámé sloučeniny



Obr. 12: Navržené struktury neznámé látky

Program Spectool

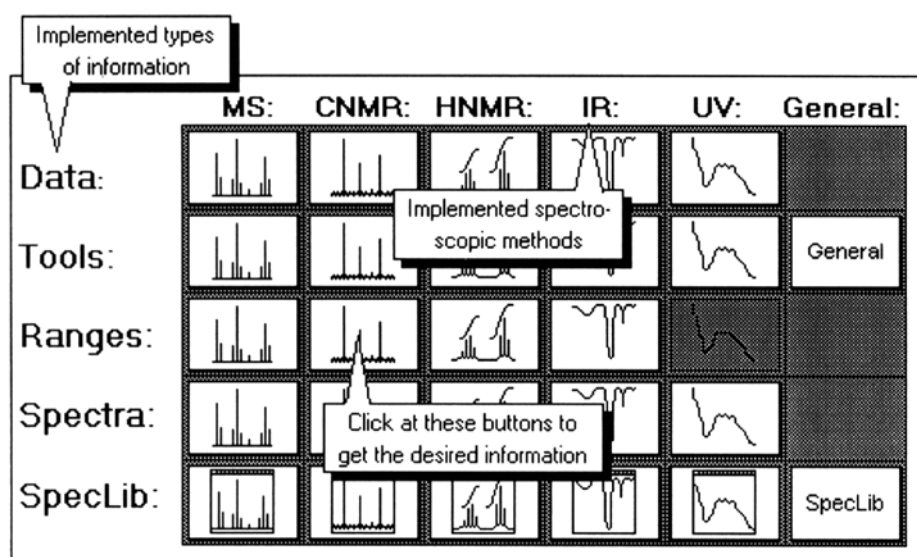
Spectool je program, který obsahuje data, spektra a matematický aparát pro interpretaci molekulových spekter. Jsou zde shrnuty informace z hmotnostní spektroskopie (MS), ^1H a ^{13}C -NMR spektroskopie (HNMR, CNMR), infračervené spektroskopie (IR) a spektroskopie v ultrafialové a viditelné oblasti (UV/VIS). Vzhledem k tomu, že tento návod bude vyžíván při laboratorní práci NMR spektroskopie, budou zde vysvětleno použití tohoto programu zejména pro tuto úlohu.

Po spuštění programu kliknutím na ikonu s označením Spectool se otevrou 4 okna označená *Manager*, *Go*, *Swt* a *Grp*.

Okno *Manager* s podtitulkem *Top* (obr. 13):

Toto okno slouží k výběru spektrální metody a dále k výběru dalších informací, které jsou označeny jako *data* (tabelované hodnoty), *Tools* (kde je možné zvolit nástroje např. pro výpočet chemických posunu, spin-spinových interakčních konstant atd), *Ranges* (rozsahy chemických posunů), *Spectra* (spektra některých sloučenin) a *SpecLib* (spektra různých typů sloučenin).

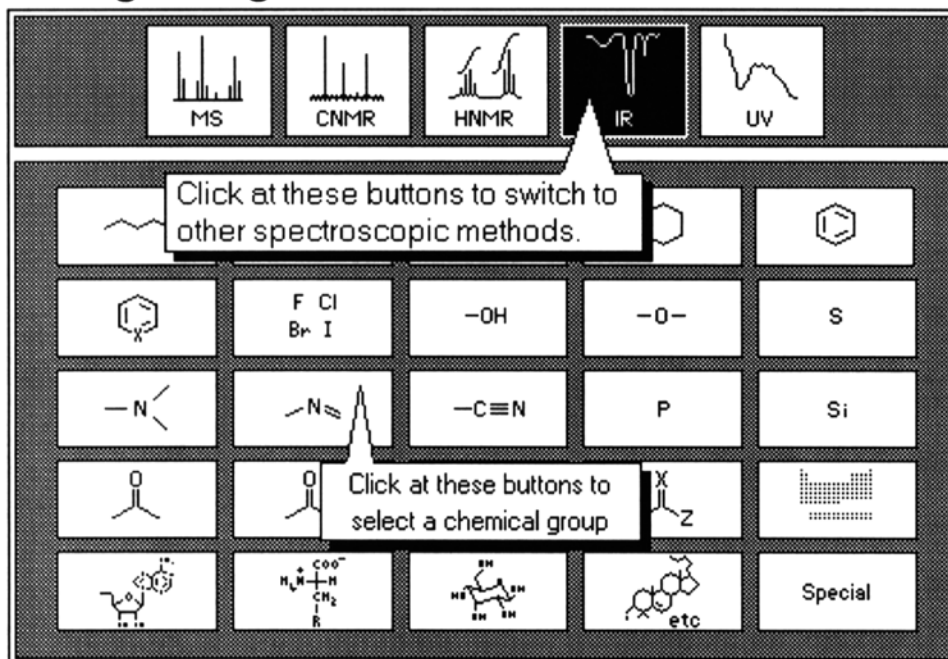
Top Page



Obr. 13: Okno *Top*

Výběrem typu informace a příslušné spektrální metody se postupně dostaneme až informacím o konkrétní molekule (**obr. 14**). Zpět na je možné se dostat pomocí okna **Go** (**obr. 15**) – tedy pomocí tlačítek označených jako šipka. Tlačítkem *Top* se vždy dostaneme do výchozí situace. Okno *Swt* (Switch – **obr. 16**) a okno *Grp* (Group) slouží ke změně skupiny, resp. k výběru jiné strukturní skupiny.

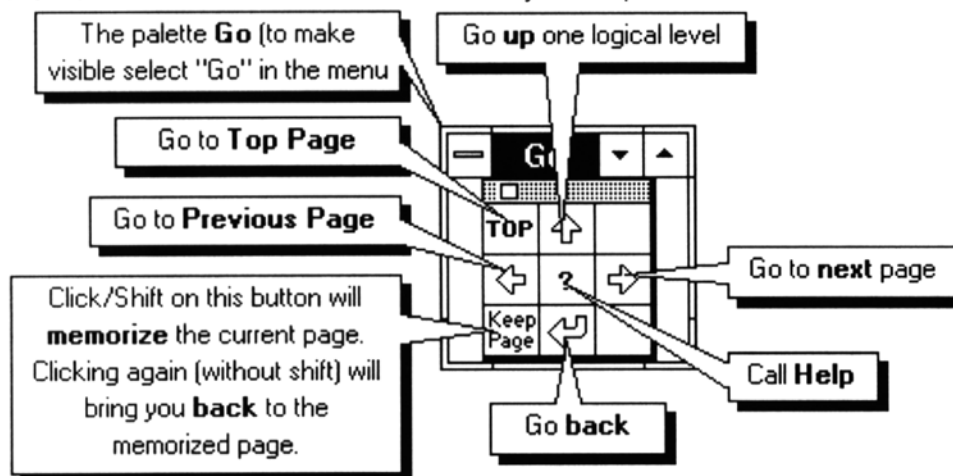
Manager Pages



Obr. 14: Okno Manager

Navigation: Palette Go

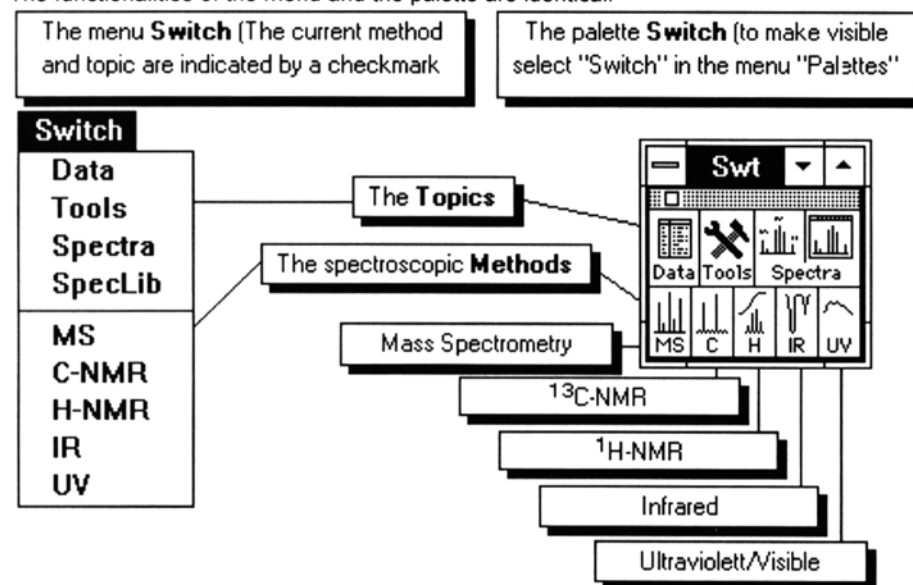
The menu Go has almost the same functionality as this palette.



Obr. 15: Okno Go

Navigation: Topics and Methods

The functionalities of the menu and the palette are identical.



Obr. 16: Okno Swt

Příklad zjištění ^1H -NMR chemických posunů toluenu

V okně manager vybrat *Data HNMR*. V novém okně vybrat aromatické sloučeniny (zobrazeno jako molekula benzenu), dále vybrat *Monosubstituted Benzenes* a v zobrazené tabulce lze odečíst chemické posuny aromatických protonů pro různé substituenty, tedy i pro skupinu CH_3 . Pokud klikneme na 3x šipku doprava pod tabulkou, zobrazí se chemické posuny některých substituovaných benzenů, kde na prvním místě je toluen.

Existuje i další možnost, která je vhodná u složitějších molekul, ale zůstaňme u toluenu. Pomocí tlačítka *TOP* v okně *Go* se dostaneme do výchozí pozice. Vybrat *Tools HNMR* a v následujícím okně zvolit ^1H Shift Estimation a dále zvolit *Draw*. Tím se spustí program ChemWindow, pomocí kterého se molekula nakreslí (kliknout na aromatický kruh a dalším kliknutím na kreslicí ploše umístit aromatické jádro. Kliknutím na jednouchou vazbu a následným tahem levou myší ze zvoleného uhlíkového atomu aromatického kruhu vytvoříme methylovou skupinu. Tím je molekula toluenu nakreslena. Nyní je třeba v panelu nástrojů programu ChemWindow kliknout na šipku a tahem levou myší okolo nakreslené molekuly tuto molekulu vyznačit. Dále je třeba ji umístit do schránky příkazem Ctrl C a nyní v okně, ve kterém bylo stisknuto tlačítko *Draw* stisknout tlačítko *Estimate*. Tím se provede výpočet chemických posunů a v novém okně se objeví nakreslená molekula s vypočtenými hodnotami chemickým posunů. Obdobným postupem lze získat i ^{13}C -NMR chemické posuny.

Tabulka I: Chemické posuny protonů ^1H (hodnoty jsou vztaženy k TMS, koncentračně nebo teplotně závislé posuny jsou značeny křížkem)

[illegible]

Tabulka II: Chemické posuny uhlíků ^{13}C (hodnoty jsou vztaženy k TMS)

