

NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANČNÍ SPEKTROMETRIE

- Teoretický úvod
- Pracovní technika NMR
- ^1H -NMR organických sloučenin
- ^{13}C -NMR
- Aplikace NMR

Nukleární (jaderná) magnetická rezonanční spektrometrie

- je založena na absorpci radiofrekvenčního elektromagnetického záření (desítky-stovky MHz) jádru některých atomů v molekulách analyzovaných látek (vzorků) umístěných v magnetickém poli
- kvalitativní analýza: identifikace a řešení struktury organických sloučenin (nejčastěji využití ^1H -, ^{13}C -, ^{19}F -, ^{31}P -NMR)
- určování způsobu vazby méně běžných prvků (Al, Se, Sn...)
- kvantitativní analýza směsí
- analýza izotopového zastoupení prvků ve složkách vzorků (SNIF-NMR)

Fyzikální podstata NMR

Základní podmínka: nenulový jaderný magnetický moment μ ; splněno u jader s jaderným spinovým kvantovým číslem $I \neq 0$.

Spin jádra je dán kombinací spinů jednotlivých protonů a neutronů, které nabývají hodnot $+1/2$ nebo $-1/2$.

Typy jader:

- sudý počet protonů i neutronů (^4He , ^{12}C , ^{16}O) $\rightarrow I = 0$
- lichý počet protonů i neutronů (^2H , ^6Li , ^{10}B , ^{14}N) $\rightarrow I = 1, 2, 3$
- lichý počet nukleonů, tj. lichý počet protonů a sudý počet neutronů (^1H , ^{11}B , ^{15}N , ^{19}F , ^{23}Na , ^{27}Al , ^{31}P , ^{35}Cl , ^{79}Br , ^{133}Cs) nebo sudý počet protonů a lichý počet neutronů (^{13}C , ^{17}O , ^{29}Si , ^{33}S , ^{77}Se , ^{125}Te) $\rightarrow I = 1/2, 3/2, 5/2 \dots$

Účinek magnetického pole na jádro

- vnější magnetické pole (indukce B_0) vyvolává rozštěpení základního energetického stavu jádra na diskrétní hladiny
- počet hladin $= 2I + 1$, tj. počet možných orientací vektoru magnetického momentu jádra v magnetickém poli

Jádro lehkého vodíku ^1H – proton

$$I = 1/2 \rightarrow 2I + 1 = 2$$

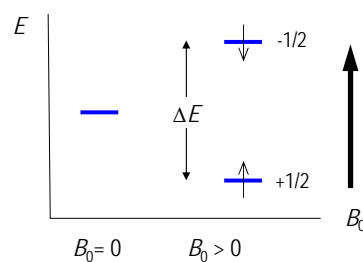
\rightarrow dojde k rozštěpení na dvě hladiny
vzdálenost energetických hladin

$$\Delta E = \gamma B_0 h / 2\pi$$

γ – gyromagnetický poměr jádra

B_0 – indukce vnějšího magnetického pole [T]

h – Planckova konstanta, $h = 6,6256 \cdot 10^{-34}$ Js



Magnetická rezonance jadra

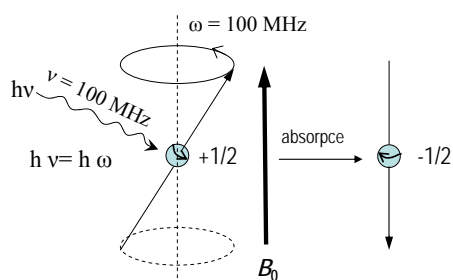
je energetický přechod mezi hladinami, který nastává při absorpci elektromagnetického záření o frekvenci odpovídající rozdílu energetických hladin

$$\nu = \Delta E/h = \gamma B_0 / 2\pi \quad \text{rezonanční podmínka}$$

Tato frekvence je rovna frekvenci precesního pohybu, který koná vektor magnetického momentu jadra kolem osy vnějšího magnetického pole.

Rezonance lze dosáhnout:

- změnou ν při konstantní B_0
- změnou B_0 při konstantní ν



Vlastnosti některých jader

Nuklid	Výskyt nuklidu [atom %]	Spin	Frekvence [MHz] (pro B=2,35T)	Relativní citlivost
¹ H	99,98	1/2	100	1
² H	0,015	1	15,35	1,45.10 ⁻⁶
¹³ C	1,11	1/2	25,14	1,76.10 ⁻⁴
¹⁴ N	99,63	1	7,22	1,01.10 ⁻³
¹⁵ N	0,37	1/2	10,13	3,85.10 ⁻⁶
¹⁷ O	0,037	5/2	13,56	1,08.10 ⁻⁵
¹⁹ F	100	1/2	94,1	0,83
³¹ P	100	1/2	40,48	6,63.10 ⁻²

NMR spektrum

Skutečná hodnota magnetické indukce B , která působí na atomové jádro atomu v molekule je nižší, než vnější indukce B_0 . Je to dáno stínícím účinkem elektronového obalu atomu a sousedních atomů.

$$B = B_0 (1 - \sigma)$$

σ je stínící konstanta; nabývá hodnot cca 10^{-4} až 10^{-2}

Rezonanční podmínka je tedy splněna při jiné hodnotě frekvence

$$\nu = \gamma B_0 (1 - \sigma) / 2\pi$$

a dochází k posunu rezonanční frekvence různých aktivních jader v molekule podle míry stínícího účinku okolí jádra.

Posun signálů na frekvenční ose se vyjadřuje jako relativní veličina – tzv. **chemický posun δ** .

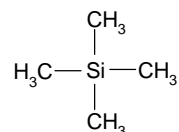
Chemický posun

vzdálenost signálu vzorku na frekvenční ose

od signálu referenční látky

(nejčastěji tetramethylsilan – TMS)

vztažená vůči pracovní frekvenci přístroje



$$\delta = 10^6 \cdot (\nu_v - \nu_{\text{TMS}}) / \nu_0 \quad [\text{ppm}]$$

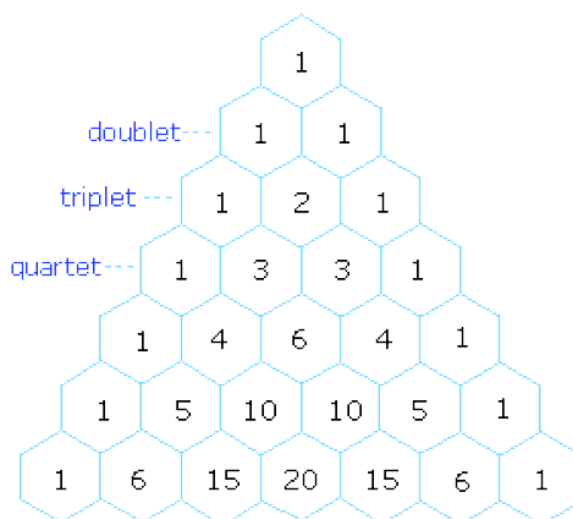
ν_v frekvence rezonančního signálu určitého jádra ve vzorku

ν_{TMS} frekvence rezonančního signálu TMS přidaného ke vzorku

ν_0 nominální frekvence přístroje

První pohled na ^1H -NMR spektrum

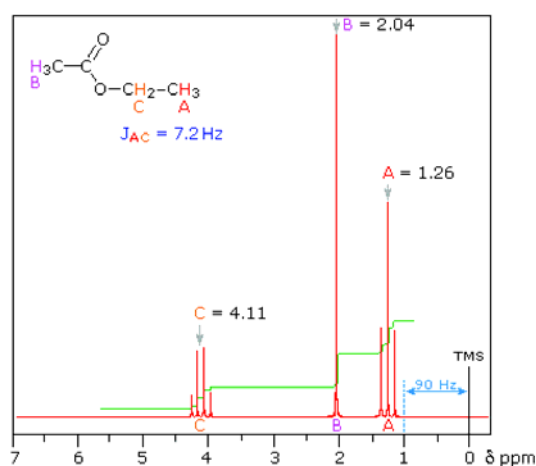
- počet signálů
 - chemické posuny signálů
 - multiplicita signálů
 - singlet
 - dublet: dvě čáry, poměr 1:1
 - triplet: tři čáry, poměr 1:2:1
 - kvartet: čtyři čáry, poměr 1:3:3:1
 - kvintet: pět čar, poměr 1:4:6:4:1
 - sextet: šest čar, poměr 1:5:10:10:5:1
 - septet: sedm čar, poměr 1:6:15:20:15:6:1
 - oktet: 8 čar, poměr 1:7:21:35:35:21:7:1
 - nonet: 9 čar, poměr 1:8:28:56:70:56:28:8:1
 - velikost signálů (plocha pod křivkou) je úměrná počtu vodíků
 - interakční konstanta
- štěpení signálů do multipletu je způsobeno spinovou interakcí protonu, kterému signál přísluší, s protony na sousedním uhlíku; u jednoduchých spekter se multiplicita řídí pravidlem $n+1$



Pascal's Triangle

Příklad ^1H -NMR spektra se spinovými interakcemi

Ethylacetát: tři signály = tři různé typy vodíků v molekule



Poměr intenzit A:B:C = 3:3:2

Signál A – triplet

odpovídá 3 vodíkům, které spinově interagují se 2 vodíky v okolí (skupina CH_2 vedle skupiny CH_3)

Signál B – singlet

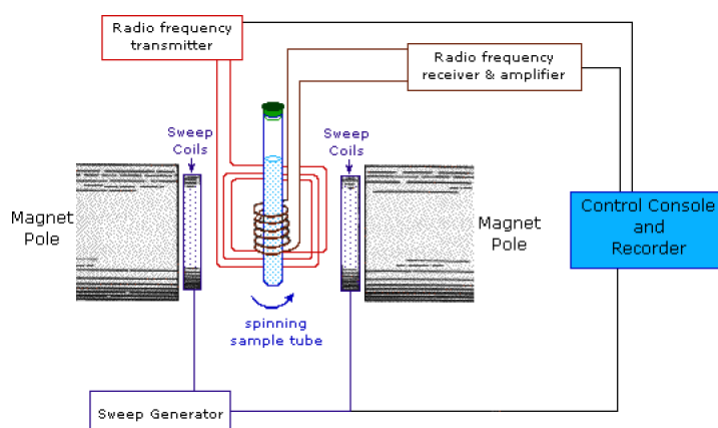
odpovídá 3 vodíkům, v jejichž okolí není další vodík (izolovaná skupina CH_3)

Signál C – kvartet

odpovídá 2 vodíkům, které spinově interagují se 3 vodíky v okolí (skupina CH_2 vedle skupiny CH_3)

Pracovní technika NMR

Schéma NMR spektrometru



Měření NMR spekter

- kontinuální metoda:
plynule se mění frekvence nebo magnetická indukce
- pulsní metoda:
všechna jádra se uvedou do resonance pulsním vstupním radiofrekvenčním signálem
odezvu (*free induction decay* – FID) je třeba převést na spektrum Fourierovou transformací

Rozpouštědla pro ^1H -NMR

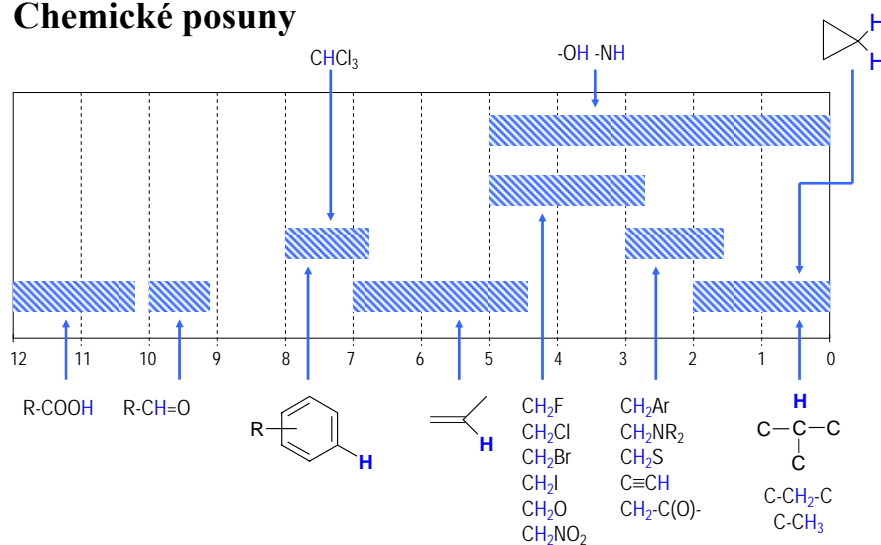
- CCl_4 , CS_2 – neposkytují rezonanční signál
- normální rozpouštědla: aceton, chloroform, benzen, cyklohexan, dimethylsulfoxid, trifluoroctová kyselina, dioxan, voda – poskytují jeden rezonanční signál
- nejběžnější jsou **deuterovaná rozpouštědla**:
deuteriumoxid (D_2O), **chloroform-d** (CDCl_3),
aceton- d_6 ($(\text{CD}_3)_2\text{CO}$), dimethylformamid- d_7 ($\text{DCON}(\text{CD}_3)_2$),
dimethylsulfoxid- d_6 ($(\text{CD}_3)_2\text{SO}$),
benzen- d_6 , octová kyselina- d_4 , ethanol- d_6 , methanol- d_3
– poskytují jen malý signál nečistot nedeuterovaných molekul

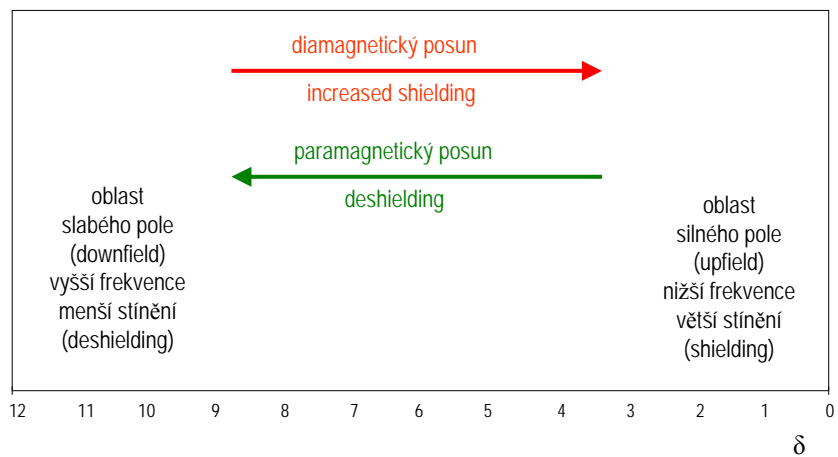
Referenční (standardní) látky pro $^1\text{H-NMR}$

- tetramethylsilan (TMS) – poskytuje jediný rezonanční signál, je nepolární, nerozpustný v D_2O , nereaktivní a velmi těkavý (t.v. $27\text{ }^\circ\text{C}$)
- hexamethyldisiloxan – poskytuje jediný signál (chem. posun proti TMS je 0,05), má obdobné vlastnosti, je méně těkavý (t.v. $100\text{ }^\circ\text{C}$) – hodí se pro měření při vyšších teplotách
- 3-(trimethylsilyl)-propansulfonan sodný – je rozpustný v polárních rozpouštědlech, signál methylových skupin má vzhledem k TMS chem. posun 0,02 (methylenové skupiny dávají jen slabý signál, který neruší spektrum vzorku).
- další látky: chloroform, cyklohexan, voda, trichloroctová kys.

$^1\text{H-NMR}$ spektra organických sloučenin

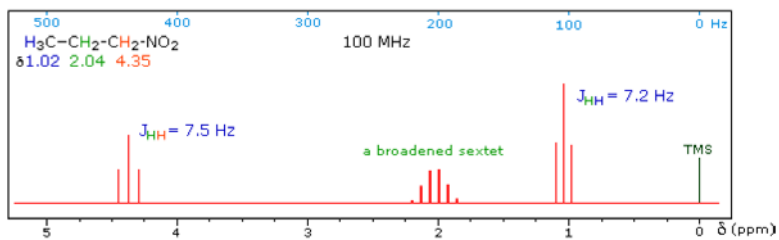
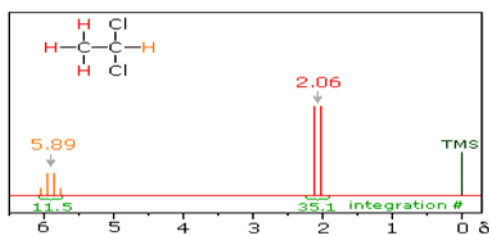
Chemické posuny





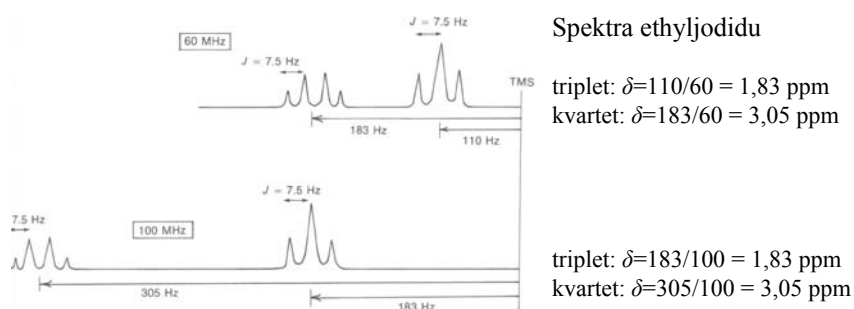
Vliv substituce na chemický posun

Substituce v alifatickém řetězci

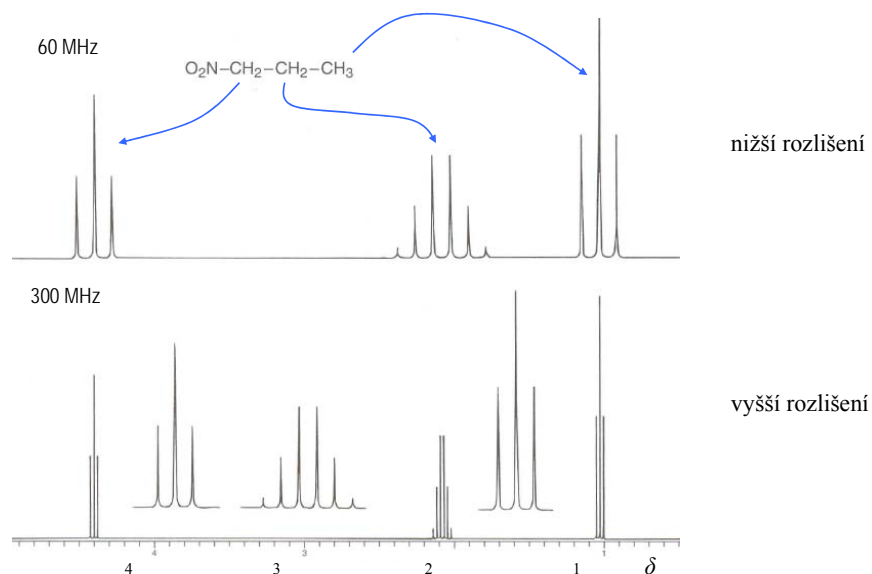


Interakční konstanta J

- vzdálenost jednotlivých čar (jednoduchého) multipletu
- udává se v Hz
- interakční konstanta pro určitý typ spinové interakce je nezávislá na podmínkách měření (tj. na pracovní frekvenci spektrometru)

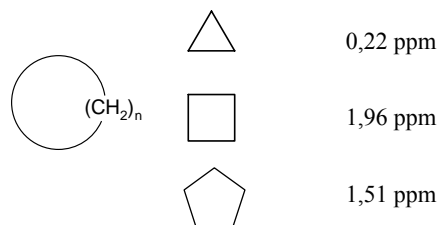
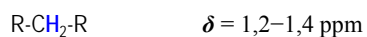


Vliv pracovní frekvence přístroje na spektrum

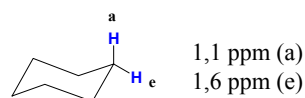
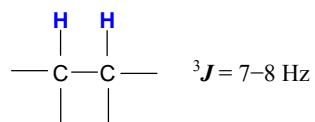


Některé skupiny organických látek

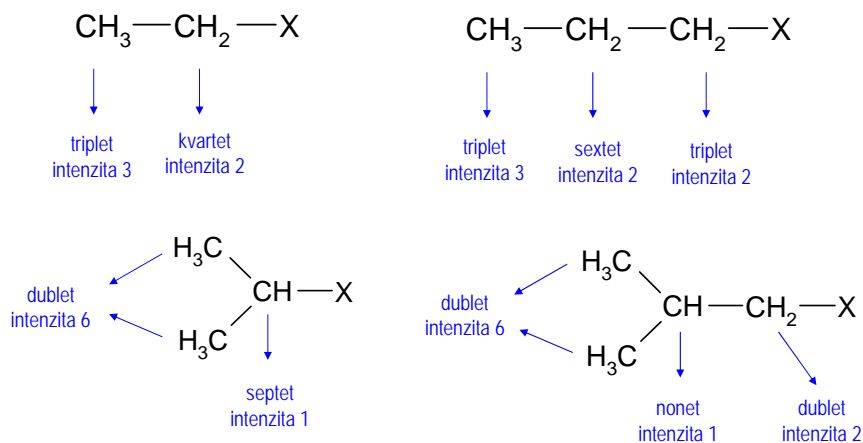
Alkany, cykloalkany a jejich (halogen- a nitro-)deriváty



Spinové interakce



Lineární vs. rozvětvený řetězec

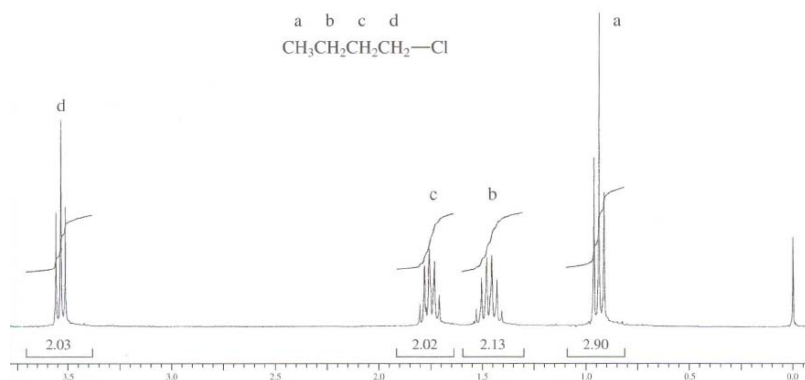


Halogenalkany

	Chemický posun	Heteronukleární spinové interakce
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---I} \\ \end{array}$	$\delta = 2,0\text{--}4,0 \text{ ppm}$	pouze u fluorderivátů
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---Br} \\ \end{array}$	$\delta = 2,7\text{--}4,1 \text{ ppm}$	
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---Cl} \\ \end{array}$	$\delta = 3,1\text{--}4,1 \text{ ppm}$	
$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---F} \\ \end{array}$	$\delta = 4,2\text{--}4,8 \text{ ppm}$	
		$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---C---F} \\ \end{array} \quad {}^2J = 50 \text{ Hz}$
		$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{F} \\ \quad \\ \text{---C---C---} \\ \quad \end{array} \quad {}^3J = 20 \text{ Hz}$

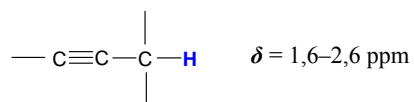
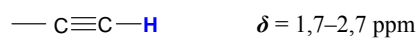
Halogenalkany

1-chlorbutan

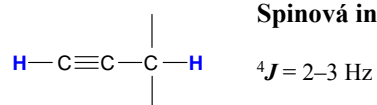


Alkyny

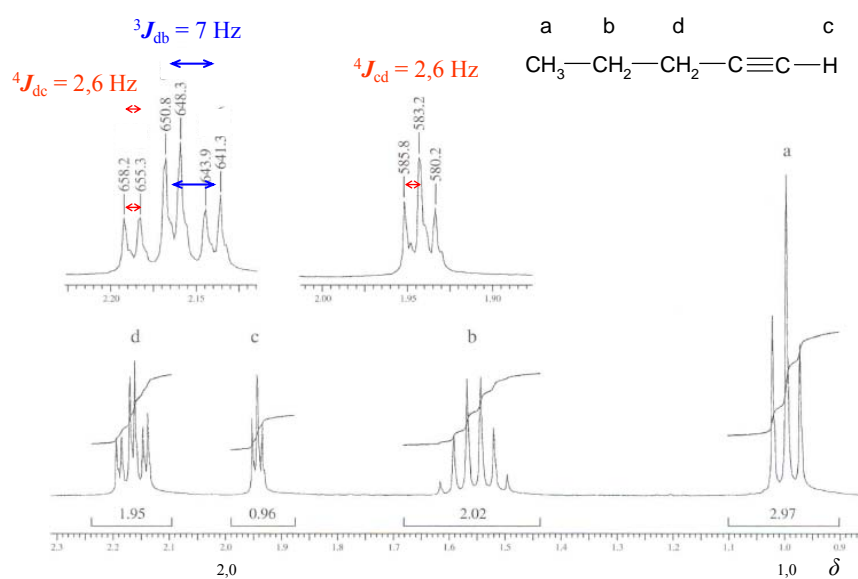
Chemický posun



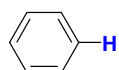
Spinová interakce



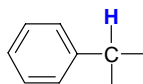
Alkyny: 1-pentyn



Aromatické uhlovodíky a jejich deriváty

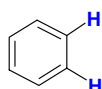


$\delta = 6,5-8,0$ ppm
(benzen 7,27)

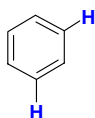


$\delta = 2,3-2,7$ ppm

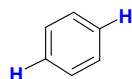
Spinové interakce



$^3J_{ortho} = 7-10$ Hz

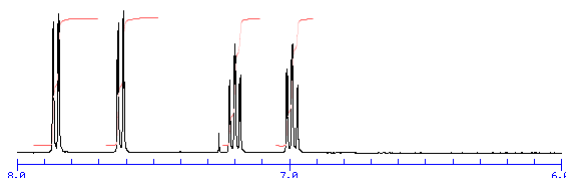
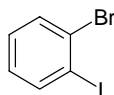


$^4J_{meta} = 2-3$ Hz



$^5J_{para} = 0-1$ Hz

C_6H_4BrI



2 dublety
2 triplety
v oblasti chem. posunu vodíků
aromatického jádra

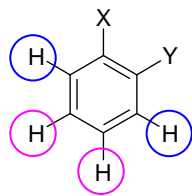
velikosti signálů jsou stejné

přítomnosti aromatického jádra
odpovídá index nenasycenosti 4

jde o disubstituovaný benzen

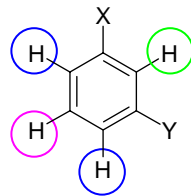
ortho?
meta?
para?

ortho-



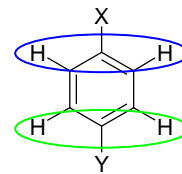
2 doublet
2 triplet

meta-



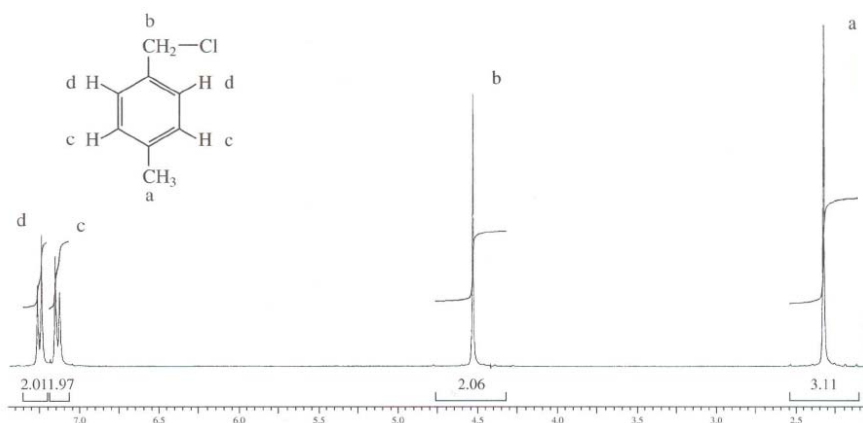
singlet
triplet
2 doublet

para-



doublet
doublet

α -chlor-*p*-xylen

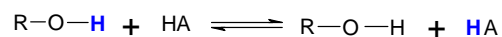


Alkoholy, fenoly a karboxylové kyseliny

	Chemický posun		Spinová interakce
	$\delta = 0,5-5$ ppm		obvykle nenastává v důsledku výměny protonů (vliv rozpouštědla), pokud nastává, ${}^3J = 5$ Hz
	$\delta = 3,2-3,8$ ppm		
	$\delta = 4,24$ ppm		
	$\delta = 11-13$ ppm		
	$\delta = 2,1-2,5$ ppm		
			zpravidla nenastává

Alkoholy, fenoly, karboxylové kyseliny

Výměna protonu



HA – nejčastěji voda

rychlost výměny roste za přítomnosti stop minerálních kyselin a zásad a zvýšením teploty

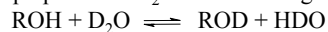
Důsledky výměny: – velmi variabilní pozice signálu OH skupiny

$\delta = 3,5-5,5$ ppm (roztoky 0,1–0,9 M), cca 0,8 ppm (velké zředění)

– při rychlé výměně nedochází ke spinové interakci

(signál OH skupiny je singlet)

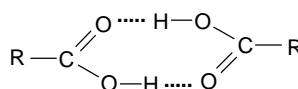
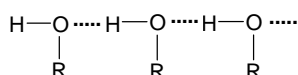
– po přidavku D_2O ke vzorku signál OH skupiny mizí:

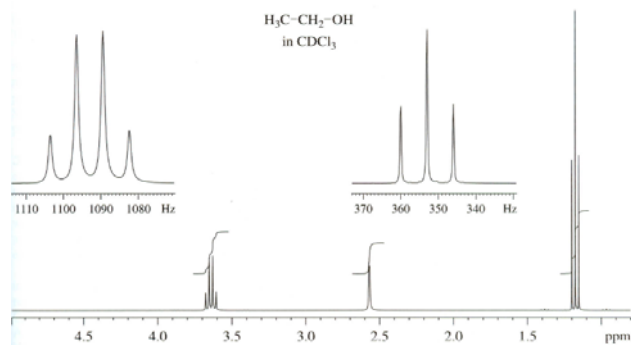


– při velmi pomalé výměně (roztoky v DMSO-d_6 nebo čistý alkohol)

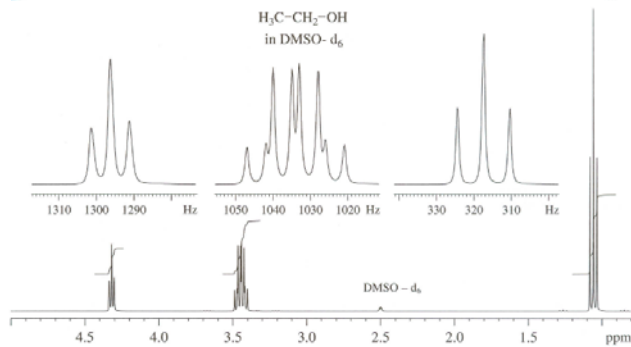
OH skupina spinově interaguje – signál je multiplet

Vodíkové můstky – tvorba oligomerů a dimerů





Vliv rozpouštědla
na spektrum ethanolu



$${}^3J_{\text{CH}_2\text{-CH}_3} = 7 \text{ Hz}$$

$${}^3J_{\text{CH}_2\text{-OH}} = 5 \text{ Hz}$$

kvartet dubletů

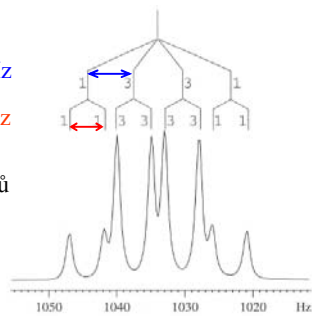
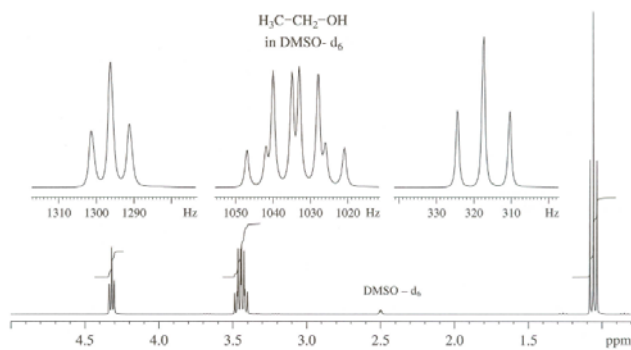
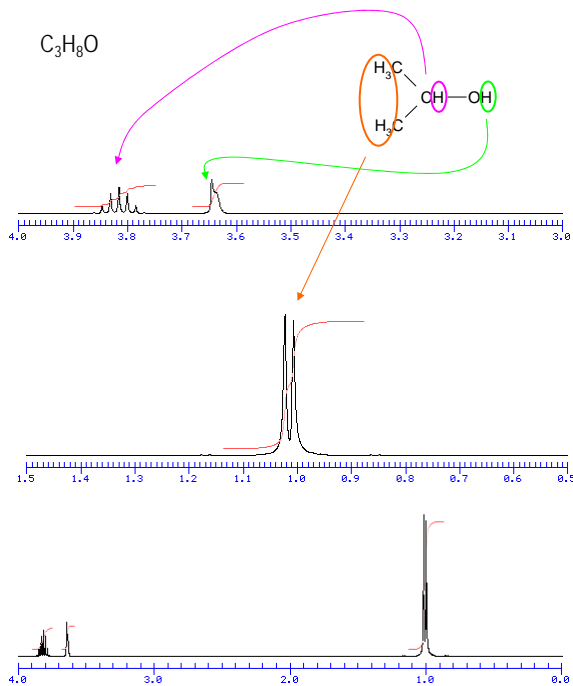


Diagram spinové interakce
složitého multipletu
skupiny CH₂

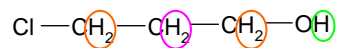
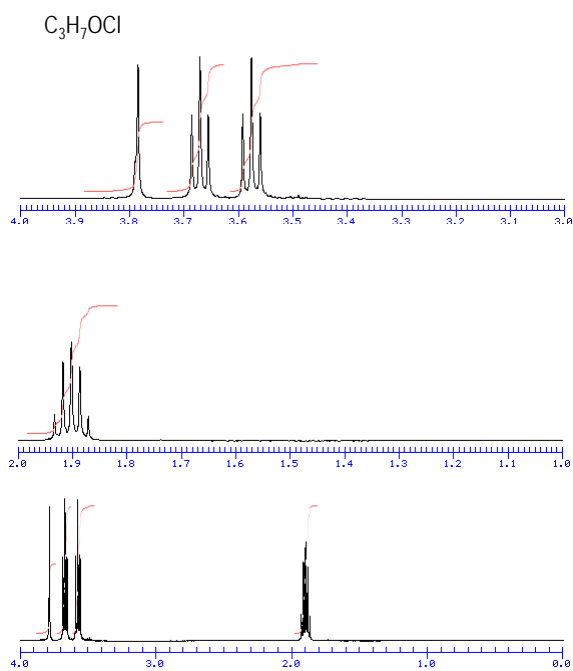


Spektrum ethanolu
v DMSO-d₆



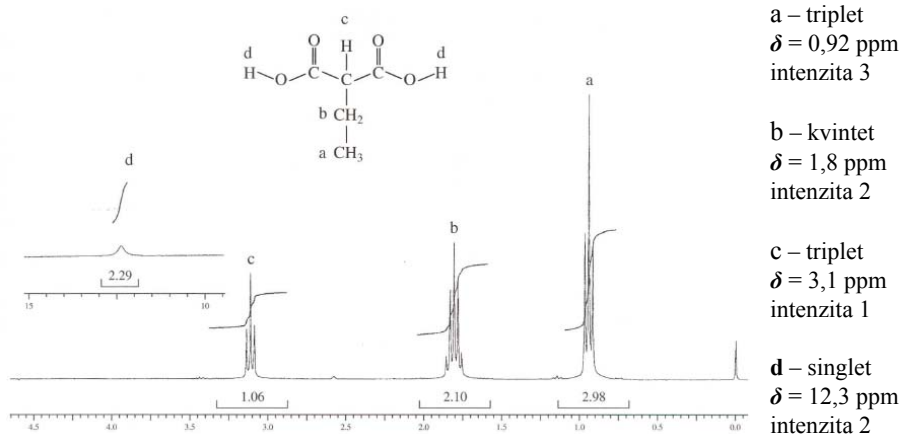
Signal	ppm	intenzita
septet	3,82	1 \Rightarrow 1H
singlet	3,64	1 \Rightarrow 1H
doublet	1,03	6 \Rightarrow 2*3H

Index nenasyčenosti =
 $= 1 + (2 \cdot 3 - 8)/2 = 0$



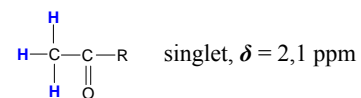
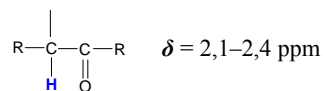
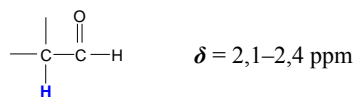
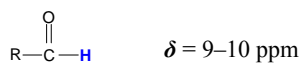
Signal	ppm	intenzita
singlet	3,78	1 \Rightarrow 1H
triplet	3,67	2 \Rightarrow 2H
triplet	3,57	2 \Rightarrow 2H
kvintet	1,90	2 \Rightarrow 2H

Karboxylové kyseliny: ethylmalonová kyselina

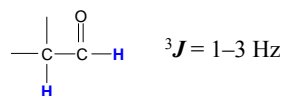


Aldehydy a ketony

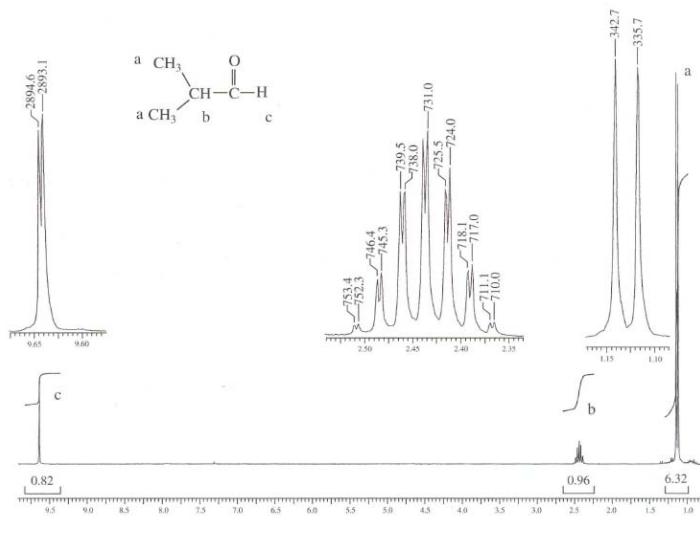
Chemický posun



Spinová interakce

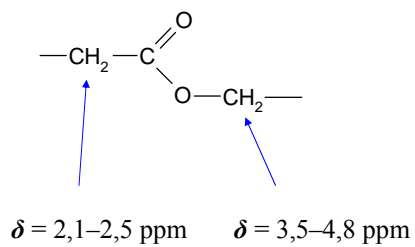


Aldehydy: 2-methylpropanal (isobutyraldehyd)

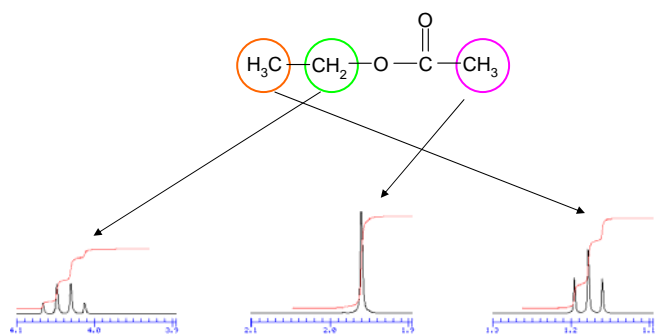
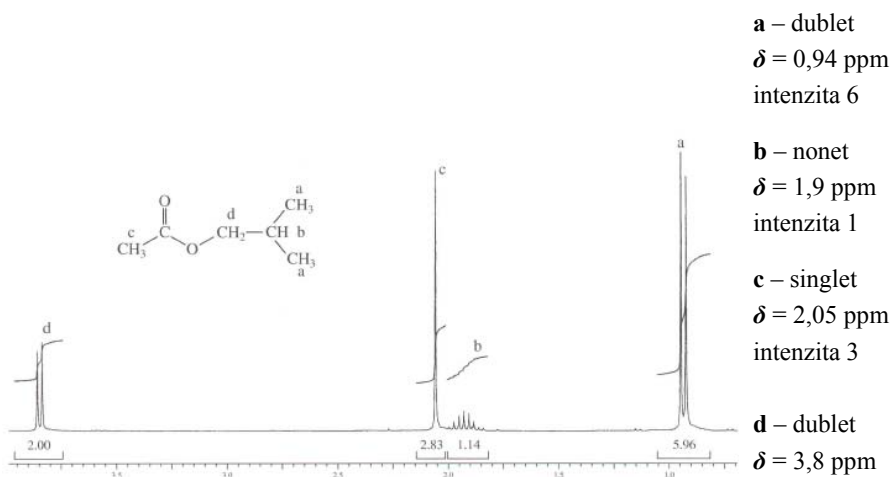


Estery

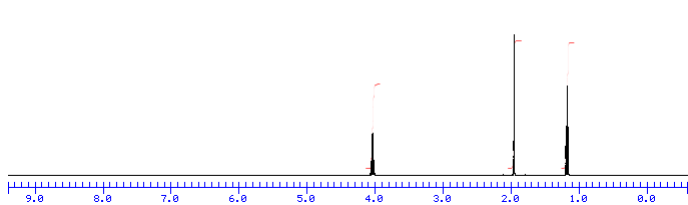
Chemický posun



Estery: isobutylacetát



Signál	ppm	intenzita
kvartet	4,04	1 \Rightarrow 2H
singlet	1,96	1,5 \Rightarrow 3H
triplet	1,18	1,5 \Rightarrow 3H



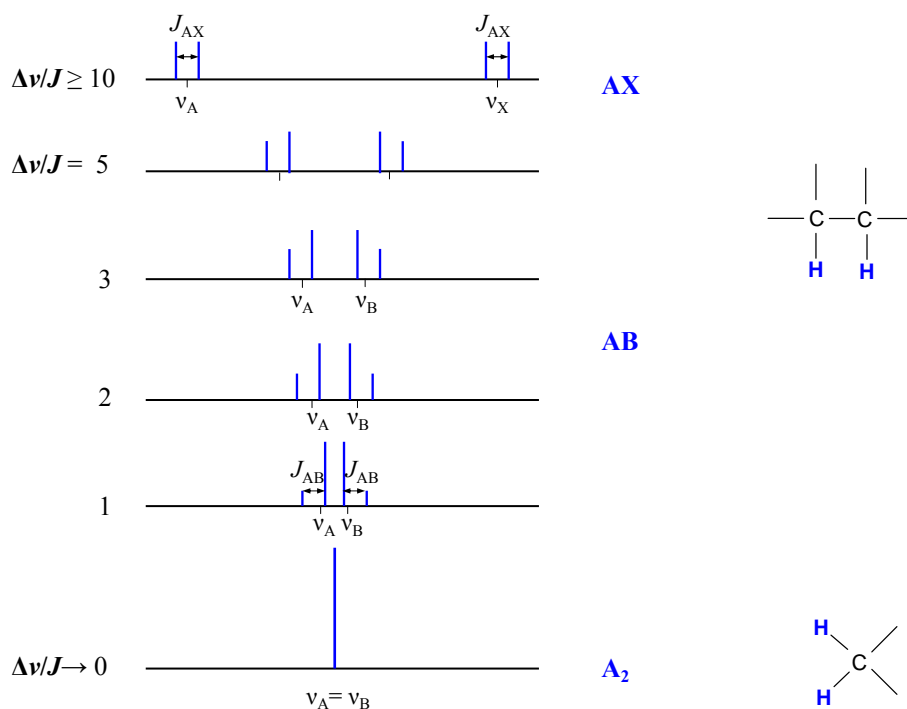
Index nenасыcenosti =
 $= 1 + (2 \cdot 4 - 8)/2 = 1$

1 dvojná vazba
 nebo 1 kruh

4 uhlíky,
 jen 3 z nich jsou vázány
 s vodíkem

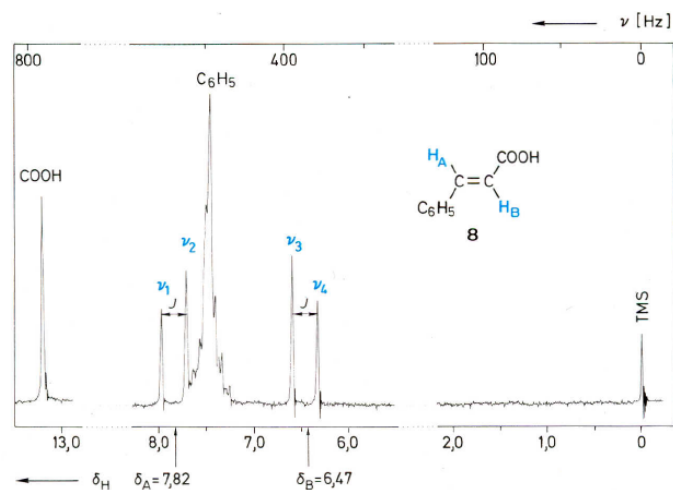
Klasifikace ^1H spekter podle složitosti

- spektra nultého řádu – obsahují jen singlety
- spektra prvního řádu
 - obsahují jednoduché multiplety odpovídající skupinám se spinovou interakcí
 - jednotlivé signály mají značně rozdílné chemické posuny: $\Delta\nu/J \geq 10$
 - např. spektra se spinovými systémy AX, A_2X , A_2X_2 , A_3X_2 ,
- spektra druhého řádu
 - obsahují multiplety multipletů
 - jednotlivé signály jsou blízké hodnotou chemického posunu: $\Delta\nu/J \leq 3$
 - např. spektra se spinovými systémy AB, A_2B , ABX, ABC...



Příklad spektra se spinovým systémem AB

trans-skořicová kyselina v CDCl₃, 60 MHz



$$J_{AB} = 16 \text{ Hz}$$

$$\nu_A = 469 \text{ Hz}$$

$$\nu_B = 388 \text{ Hz}$$

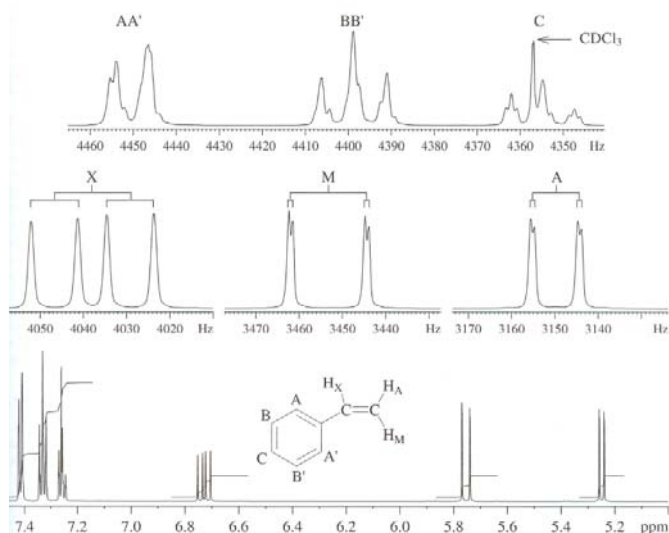
$$\Delta\nu/J = 5,06$$

Alkeny

	Chemický posun		Spinové interakce
	$\delta = 4,5-8,0 \text{ ppm}$		${}^3J_{\text{trans}} = 14-19 \text{ Hz}$ (obvykle 15-18)
	$\delta = 1,6-2,6 \text{ ppm}$		${}^3J_{\text{cis}} = 6-15 \text{ Hz}$ (obvykle 9-12)
			${}^2J = 0-5 \text{ Hz}$ (obvykle 1-3)
		nebo	
			${}^4J = 0-3 \text{ Hz}$

Příklad spektra se spinovým systémem AMX

styren v CDCl_3 , 600 MHz



$$\delta_A = 5,25 \text{ ppm}$$

$$\delta_M = 5,75 \text{ ppm}$$

$$\delta_X = 6,73 \text{ ppm}$$

$$J_{MX} = 17 \text{ Hz}$$

$$J_{AX} = 11 \text{ Hz}$$

$$J_{AM} = 1 \text{ Hz}$$

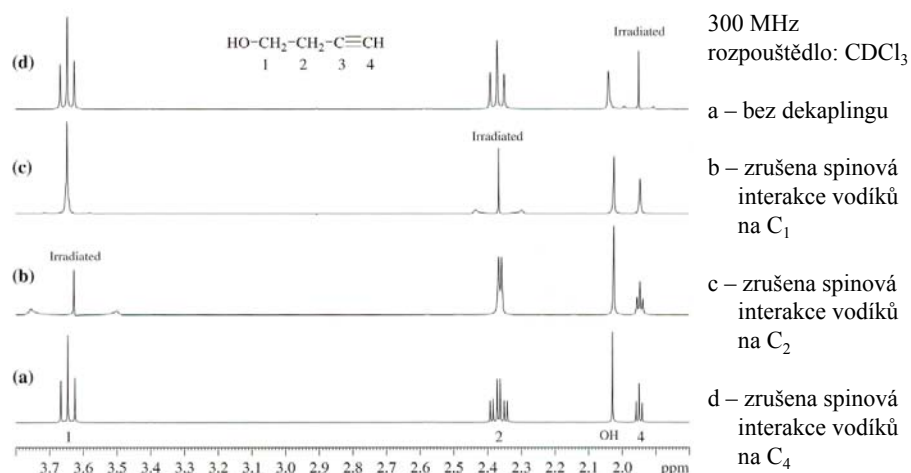
Pravidla pro značení spinových systémů

- chemicky ekvivalentní protony značíme stejným písmenem, např. A_3 pro tři protony methylové skupiny
- neekvivalentní jádra, kterým odpovídají chemické posuny, mezi nimiž je malý rozdíl, značíme sousedními písmeny abecedy, např. A, B, C...
- neekvivalentní jádra, kterým odpovídají více rozdílné nebo značně rozdílné chemické posuny, značíme písmeny, které jsou v abecedě od sebe vzdáleny, např. A, M, X ...
- chemicky ekvivalentní ale magneticky neekvivalentní jádra značíme stejnými písmeny a rozlišujeme je čárkou, např. AA' , B, B' ...
- pro vícospinové systémy se používají kombinace těchto zápisů, např. AX, A_2X , AMX, AB, ABX, A_3X_2 ...

Některé možnosti zjednodušení NMR spekter

- zvýšení operační frekvence přístroje (velmi nákladné)
- dekapling (*decoupling*): zrušení spinové interakce
 - mezi stejnými jádry (např. ^1H - ^1H): homonukleární dekapling
 - mezi různými jádry (např. ^{13}C - ^1H): heteronukleární dekapling
 - pro konkrétní skupinu nebo atom: selektivní dekapling
 - pro více skupin (signálů ve spektru): širokopásmový dekapling
- změna teploty vzorku
- deuterace
 D_2O jako rozpouštědlo: mizí signály vyměnitelných protonů (skupiny $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$)
- použití chemických posunových činidel

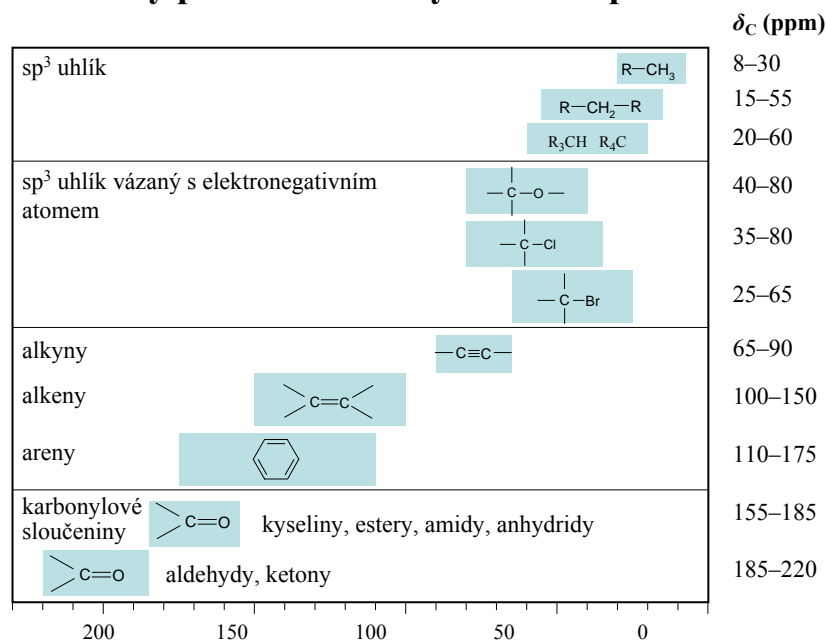
Selektivní homonukleární dekapling: 3-butyn-1-ol



^{13}C -NMR spektrometrie

- rezonance jader ^{13}C nastává ve srovnání s ^1H při cca čtvrtinové frekvenci,
tj. pracovní frekvenci 100 MHz (v ^1H) odpovídá 25,15 MHz (^{13}C)
a frekvenci 600 MHz (v ^1H) odpovídá 150,9 MHz (^{13}C)
- obvyklý rozsah chemického posunu: 5–220 ppm (vs. TMS)
- nejběžnější rozpouštědlo CDCl_3 (signál: triplet, $\delta = 77$ ppm)
- zastoupení ^{13}C v normální izotopové směsi uhlíku: 1,1 %
→ spinové interakce ^{13}C - ^{13}C se ve spektru neobjevují
- dochází ke spinovým interakcím ^{13}C - ^1H , případně ^{13}C - ^{19}F , ^{13}C - ^{31}P

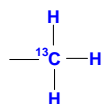
Chemický posun v uhlíkových NMR spektrech



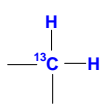
Spinová interakce ^{13}C - ^1H a její projev ve spektru

jádro ^{13}C interaguje s přímo připojenými protony \rightarrow multiplet

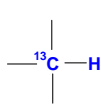
multiplicita: $n+1$



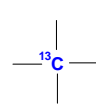
methylový uhlík



methylenový uhlík



methinový uhlík



kvarterní uhlík



kvartet



triplet



dublet

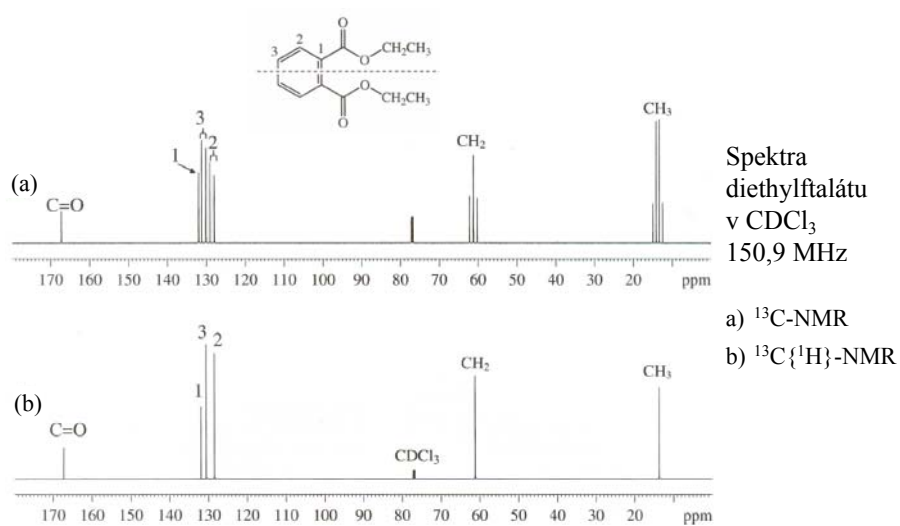


singlet

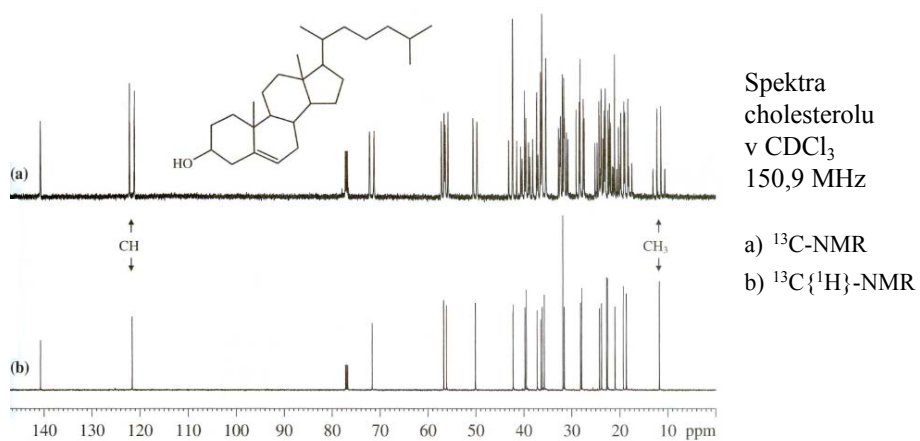
Rušení spinové interakce ^{13}C - ^1H (protonový širokopásmový dekapling)

- současné ozáření vzorku rezonančními frekvencemi protonů
- označení spektra: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR
- důsledky dekaplingu:
 - zjednodušení spektra (multiplet \rightarrow singlet)
každému signálu ve spektru odpovídá jeden uhlík nebo skupina chemicky ekvivalentních uhlíků
 - všechny signály (singlety) jsou dostatečně separovány
 - zvýšení některých signálů
 - potlačení šumu spektra

Vliv protonového dekaplingu na uhlíkové spektrum



Vliv protonového dekaplingu na uhlíkové spektrum



Některé vlastnosti uhlíkových spekter (^{13}C i $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$) odlišné od protonových spekter

- záznam spektra je třeba vícekrát (mnohokrát) opakovat (akumulace spekter)
- velikost jednotlivých signálů není zcela úměrná počtu chemicky ekvivalentních atomů uhlíku
→ kvantitativní analýza je problematictější
- atomy uhlíku, které nemají vázaný žádný atom vodíku (kvarterní uhlíky, uhlíky karbonylové skupiny s výjimkou formylové skupiny), poskytují menší signál
- ve spektru $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR zpravidla velikost signálů klesá v řadě $\text{CH}_3 > \text{CH}_2 > \text{CH} \gg \text{C}$

Aplikace NMR spektrometrie

Obecný přehled aplikací

- identifikace organických (i anorganických) sloučenin (např. léčiva, drogy...)
- kvantitativní analýza (farmacie, potraviny)
- stanovení enantiomerní čistoty
- stanovení absolutní konfigurace chirálních sloučenin
- stanovení rovnovážných konstant (např. disociační konstanty)
- stanovení tautomerního zastoupení
- studium struktury polymerů
- stanovení izotopového zastoupení

Kvantitativní analýza metodou NMR

- integrální intenzita signálu je přímo úměrná obsahu složky, které tento signál přísluší
- v $^1\text{H-NMR}$ je velikost signálu rovněž přímo úměrná počtu atomů vodíku v příslušné skupině molekuly detegované látky → možnost použití metody vnitřního standardu (IS) pro kvantifikaci analytu:

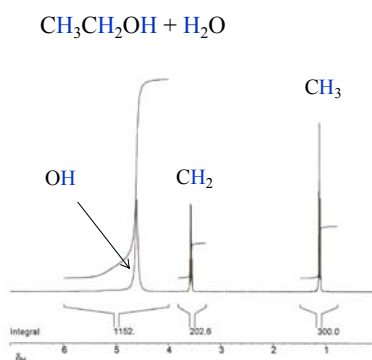
$$m_{\text{analyt}} = m_{\text{IS}} \cdot \frac{N_{\text{IS}} \cdot M_{\text{analyt}} \cdot A_{\text{analyt}}}{N_{\text{analyt}} \cdot M_{\text{IS}} \cdot A_{\text{IS}}}$$

A – integrální intenzity signálů analytu a vnitřního standardu

M – molární hmotnosti analytu a vnitřního standardu

N – počty atomů H ve skupinách molekul analytu a vnitřního standardu, které přísluší signálům analytu a vnitřního standardu

Příklad kvantitativní NMR analýzy: dvousložková směs ethanol-voda



$^1\text{H-NMR}$ spektrum vzorku vodky

$$\begin{aligned} A_{\text{OH}} &= 2 y_{\text{H}_2\text{O}} + y_{\text{EtOH}} \\ A_{\text{CH}_2} &= 2 y_{\text{EtOH}} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} 1152 &= 2 y_{\text{H}_2\text{O}} + y_{\text{EtOH}} \\ 203 &= 2 y_{\text{EtOH}} \end{aligned}$$

$$y_{\text{EtOH}} = 101,5$$

$$y_{\text{H}_2\text{O}} = 525,25$$

$$\begin{aligned} m_{\text{EtOH}}/m_{\text{H}_2\text{O}} &= (y_{\text{EtOH}}/y_{\text{H}_2\text{O}}) \cdot (M_{\text{EtOH}}/M_{\text{H}_2\text{O}}) = \\ &= (101,5/525,25) \cdot (46,07/18,015) = \\ &= 0,49394 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} w_{\text{EtOH}} &= m_{\text{EtOH}} / (m_{\text{EtOH}} + m_{\text{H}_2\text{O}}) = \\ &= 0,49394 \cdot m_{\text{H}_2\text{O}} / (0,49394 \cdot m_{\text{H}_2\text{O}} + m_{\text{H}_2\text{O}}) = \\ &= 0,49394/1,49394 = 0,3306 \end{aligned}$$

$$p_{\text{EtOH}} = 33,06 \% (m/m)$$

$$\varphi_{\text{EtOH}} = 39,75 \% (V/V)$$

Analýza izotopového složení: SNIF-NMR

= *Site-specific Natural Isotope Fractionation*

- izotopové poměry (např. D/¹H), ¹³C/¹²C) v přírodních produktech nejsou zcela konstantní
- závisejí na původu vzorku (druh rostliny, biochemické, geografické a klimatické faktory)
např. C₄ rostliny (cukrová třtina, kukuřice) mají vyšší poměr ¹³C/¹²C než C₃ rostliny (cukrová řepa, hrozny)
možnost určování původu potravin, druhu použité suroviny

SNIF-NMR: určování původu alkoholických nápojů

- ze vzorku se oddestiluje ethanol (→ 96 % EtOH)
- provede se měření ²H-NMR
- určí se poměry signálů odpovídající výskytu deuteria v jednotlivých skupinách molekuly

Monodeuterované molekuly ethanolu:

typ I: CH₂DCH₂OH (mol. zlomek 1/2)

typ II: CH₃CHDOH (mol. zlomek 1/3)

typ III: CH₃CH₂OD (mol. zlomek 1/6)

Kritérium $R = 3 \cdot (S_{II}/S_I) = 2 \cdot [(D/H)_{II}/(D/H)_I]$

S_I je signál D v methylové skupině, S_{II} je signál D v methylenové skupině

Při náhodné distribuci izotopů v molekule EtOH bude R=2;

skutečné hodnoty R pro kvasný ethanol jsou 2,2 až 2,7 podle druhu suroviny:

R ≈ 2,25 → cukrová třtina, kukuřice

R ≈ 2,5 → pšenice, ječmen, jablka, hrozny

R ≈ 2,7 → cukrová řepa, brambory

Poměr (D/H)_{celk.} a hodnota R v ethanolu různého původu

