

## Orientação para Preparo e Envio de Amostras para RMN – 2023.07

Preparo e descrição corretos das amostras para envio ao Ressonância Magnética Nuclear auxiliam na otimização de uso de tempo de máquina para obtenção de espectros com boa resolução, uma vez que o tempo de cada análise é ajustado pela quantidade de amostra solubilizada. A padronização de volume de solvente deuterado utilizado para cada análise evita desperdícios, visto que são solventes de custo elevado.

Os tubos utilizados no equipamento Bruker Ultrashield 300 são tubos para RMN de 3 ou 5mm de diâmetro e 7” de altura ou tubos Shigemi de 5mm de diâmetro e base de 8mm. Certifique-se que os tubos são adequados para 300MHz, frequência utilizada pelo equipamento. O equipamento suporta análises com temperatura de até 65°C.

As análises unidimensionais padrões são 1H, 13C, 13C DEPT-135 e as bidimensionais são COSY, HSQC e HMBC.

### Orientações gerais do preparo:

1. Certificar que o produto esteja puro antes de solubilizar. Isso evita possíveis dúvidas sobre degradação de produto em solução e desperdício de solvente deuterado com produtos impuros.
2. Secar sua amostra para retirar água e possíveis solventes utilizados em síntese. É recomendado uso de bomba de alto-vácuo.
3. Certificar que o produto é solúvel no solvente escolhido para análise e que os sinais do solvente deuterado não caem na mesma região de outros sinais da molécula a ser analisada. Lembre-se que o solvente deuterado geralmente é muito mais puro e contém muito menos água do que solventes PA ou HPLC (principalmente acetona, acetonitrila, metanol e DMSO), o que pode afetar a solubilidade, fazendo com que menos produto seja solúvel na mesma quantidade de solvente. A temperatura da sonda do equipamento fica entre 20 e 22°C, o que também pode afetar a solubilidade do produto no solvente escolhido.
4. Caso seja necessário enviar quantidades grandes de produto para obtenção de espectro de 13C com boa resolução, escolher o solvente que melhor dissolva seu produto.
5. Evite enviar amostras turvas ou precipitadas para não prejudicar a resolução da análise. Filtre em algodão e pipeta ou utilize filtros para seringa compatíveis com o volume e solvente utilizados. Amostras com produto não solubilizado geram linhas de base com muito ruído e dificultam a calibração.
6. Evite enviar amostras superconcentradas, principalmente em clorofórmio deuterado (somente um deutério), pois o sinal do deutério do solvente utilizado para travá-lo (lock) reduz demais, o que dificulta a calibração da amostra, resultando em espectros com baixa resolução (alterações na linha de base e multiplicidade dos sinais).
7. Combinar com antecedência amostras que necessitem de atenção especial como: degradação em solução, por temperatura ou luz; amostras com pouca quantidade de produto e que necessitem rodar a noite toda; amostras que necessitem de análise em temperatura específica.

### Instruções para o preparo em tubo comum (3mm ou 5mm):

1. Pesar e anotar a quantidade de produto a ser enviada. É recomendado 2 a 15mg de produto.
2. Dissolver o produto em solvente deuterado. 500uL a 600uL são suficientes para tubos de 5mm. Para tubos de 3mm, utilizar de 150 a 200uL. A amostra deve ter, **no mínimo**, 3.0cm de altura contando da base do tubo.

### Instruções para o preparo em tubo Shigemi:

1. Pesar e anotar a quantidade de produto a ser enviada.
2. Dissolver o produto em solvente deuterado. 300uL a 400uL são suficientes. A distância entre a base interna do tubo e o começo do êmbolo interno deve ser de 2cm.
3. Não deixar bolha de ar entre o êmbolo e a amostra, pois prejudica a resolução da análise.

### Informações para o envio de amostras de RMN

- Enviar todas as informações abaixo em papel anexo à amostra. **Não colar etiquetas diretamente nos tubos nem escrever no vidro**, pois os tubos serão inseridos dentro do equipamento e a cola ou tinta podem estragar a sonda e o *spinner*.
- **Obrigatórias:** nome da amostra, nome do aluno/nome do docente (ou nome da empresa), análises solicitadas (ex.: 1H, 13C, DEPT, COSY), quantidade solubilizada de produto e solvente deuterado utilizado.
- **Opcionais:** Temperatura em °C (até 65°C); “overnight”.

### Solventes deuterados mais utilizados (em ordem de preço Julho/2023):

- Clorofórmio-d (CDCl<sub>3</sub>) – R\$ 10 / grama
- Dimetilsulfóxido-d<sub>6</sub> (DMSO-d<sub>6</sub>) – R\$ 20 / grama
- Água-d<sub>2</sub> (Óxido de deutério / D<sub>2</sub>O) – R\$ 25 / grama
- Acetona-d<sub>6</sub> – R\$ 30 / grama
- Metanol-d<sub>4</sub> (CD<sub>3</sub>OD) – R\$ 60 / grama
- Acetonitrila-d<sub>3</sub> (CD<sub>3</sub>CN) – R\$ 80 / grama
- Diclorometano-d<sub>2</sub> (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) – R\$ 90 / grama
- Ácido acético-d<sub>4</sub> – R\$ 100 / grama
- Piridina-d<sub>5</sub> – R\$ 140 / grama

### Códigos tubos Sigma-Aldrich que utilizamos (preços Julho/2023):

- Z276278-1PAK – Wilmad NMR Tubes 5 mm diam., economy – R\$ 93 (5 un.)
  - NRS3HT7-25EA – Norell Select Series 3 mm high-throughput NMR tube - R\$ 529 (25 un.)
  - Z529141-1EA – Shigemi Advanced NMR microtube assembly – CD<sub>3</sub>OD L 8 mm
  - Z529087-1EA – Shigemi Advanced NMR microtube assembly – CDCl<sub>3</sub> L 8 mm
  - Z529451-1EA – Shigemi Advanced NMR microtube assembly – D<sub>2</sub>O L 8 mm
  - Z529214-1EA – Shigemi Advanced NMR microtube assembly – DMSO-d<sub>6</sub> L 8 mm
-