SPETTROSCOPIA NMR ^1H

MASTER COPY
Tel. 050 8312126
Cell. 388 9837745

La spettroscopia NMR (= **RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE**) non è altro se non una spettroscopia d'assorbimento; infatti, in condizioni appropriate, un campione posto in un campo magnetico può assorbire radiazione elettromagnetica nella regione delle RADIOFREQUENZE (rf) o frequenze che sono dette delle caratteristiche del campione. Tuttavia, per come viene condotta un'analisi NMR, in essa non ci riferiremo più al concetto d'assorbimento, bensì parleremo di PICCHI o di RISONANZE NMR.

→ Il fenomeno dell'assorbimento magnetico nucleare è legato al fatto che i nuclei di certi isotopi possiedono un **MOMENTO ANGOLARE** di **SPIN** (P) e cui è associato un **MOMENTO MAGNETICO** (μ) che vengono definiti come:

m = numero quantico magnetico

- $P = \frac{mh}{2\pi}$
- $\mu = \gamma \cdot P$

→ I è il **NUMERO QUANTICO di SPIN NUCLEARE**: ad ogni isotopo di un elemento è associato un valore di I (può assumere valore intero, semintero, o nullo, e in quest'ultimo caso $I = 0$ implica che il nucleo possiede spin nullo) e nello specifico il suo valore dipende dal: 1. NUMERO ATOMICO, di un nucleo. 2. NUMERO di MASSA

γ è il **RAPPORTO GIROMAGNETICO**, ovvero una costante caratteristica del nucleo in esame → è il rapporto tra il momento magnetico e il momento angolare

Quando un nucleo viene posto in un campo magnetico esterno B_0, cioè quello generato dal magnete di uno spettrometro NMR, la sua energia diviene dipendente dalla sua **orientazione** rispetto al campo, e, nello specifico sono possibili solo un numero quantizzato di orientazioni → ciò è da attribuirsi al fatto che la **PROIEZIONE** dei vettori 1. momento angolare di spin nucleare lungo una direzione ← 2. momento magnetico ortogonale può assumere solo $2I+1$ orientazioni, ciascuna data dal valore del numero quantico magnetico M.

Ad esempio, i nuclei ^1H e ^{13}C possiedono $I = \frac{1}{2}$, e dunque per essi sono previste $2 \cdot \frac{1}{2} + 1 = 2$ possibili orientazioni:

1. Il nucleo è parallelo a B_0 → lo definiamo stato α → $m = +1/2$
2. Il nucleo è antiparallelo a B_0 → lo definiamo stato β → $m = -1/2$

↓

Dunque in termini quantomeccanici il numero di spin I determina il numero degli stati quantomeccanici che uno spin isolato può assumere in un campo magnetico uniforme, in accordo con la regola $2I+1$; invece, in assenza di un campo magnetico esterno, l'orientazione del momento magnetico è del tutto casuale.

Nello specifico i nuclei che risultano **ATTIVI** all'NMR sono quelli per cui $I \neq 0 \Rightarrow m \neq 0$. Inoltre all'NMR è più facilmente osservabile un nucleo che possiede un rapporto giromagnetico superiore.

→

In un insieme di nuclei identici la differenza di popolazione degli stati quantomeccanici dipende dalla loro separazione energetica ΔE → per un livello energetico $E = +mB_0$, e dunque:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = (m_1 - m_2) B_0 \rightarrow m = \frac{\gamma \mu \cdot h}{2\pi} \rightarrow$$

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

↳ nel caso di ^1H, $\Delta m = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} = 1 \Rightarrow$ $\boxed{\Delta E = \frac{h \gamma}{2\pi} \cdot B_0}$

MASTER COPY
Tel. 050 8312126
Cell. 388 9837745

↓

Dunque nella spettroscopia NMR i livelli energetici, e di conseguenza anche le frequenze dei picchi nei spettri, non dipendono solamente dalla natura delle molecole, ma anche dal campo magnetico applicato.

Dall'equazione di Planck sappiamo che $\Delta E = h\nu$ → sostituendo la relazione determinata precedentemente ricaviamo l'**EQUAZIONE FONDAMENTALE della NMR**, equazione che come un particolare valore di radiofrequenza applicata, della **FREQUENZA di LARMOR**, con il campo magnetico

↓

$$\nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi}$$ → è la frequenza della radiazione elettromagnetica che deve essere fornita al sistema di spin per avere transizione tra lo stato a basso e quello ad alta energia.

In particolare quando questo valore viene soddisfatto il sistema può essere detto in **RISONANZA**.

Inoltre possiamo vedere il rapporto giromagnetico come la costante di proporzionalità tra 1. Il momento magnetico μ → $\gamma = \frac{2\pi\mu}{h \cdot I}$,
2. Il numero di spin I

e la sua presenza nell'equazione fondamentale dell'NMR ci permette di capire il motivo per cui le varie specie chimiche siano identificabili tramite questa tecnica.

Nello specifico in questa equazione sono reperibili 2 DIPENDENZE fondamentali:

1. γ → come abbiamo già detto, la dipendenza della frequenza dal rapporto giromagnetico fa sì che le specie siano identificabili tramite tecnica NMR; infatti se ν dipendesse solamente dal n° quantico di spin tutti i nuclei che possiedono lo stesso valore di I darebbero lo stesso segnale in un campo magnetico B_0. Inoltre, più è grande il valore di γ, più è grande ΔE, e dunque maggiore è la differenza di popolazione dei livelli energetici.

↳ da quest'ultima considerazione ne concludiamo che più è elevato il valore del rapporto giromagnetico, più la specie risulterà sensibile all'NMR, e dunque migliore sarà il segnale rilevato.

2. B_0 → anche questa dipendenza è importante nello stesso che, se così non fosse, nuclei che possiedono stesso I, stesso γ e stesso ambiente isotopico fornirebbero lo stesso segnale → ciò in realtà non è vero poiché l'effetto di un campo esterno sul nucleo dipende dalla sua densità elettronica, e dunque dall'INTORNO CHIMICO

MASTER COPY
Tel. 050 8312126
Cell. 388 9837745

→ SPETTROMETRO NMR

per la descrizione di un determinato strumento, l'equazione fondamentale dell'NMR ci permette di scegliere fra 2 metodi: infatti possiamo far variare o il campo magnetico o la frequenza di lavoro. Distinguiamo dunque in questo modo due tipologie di spettrometri NMR:

1. **CW** → sigla con cui si indicano gli strumenti in ONDA CONTINUA: in questi strumenti la frequenza dell'oscillatore viene mantenuta costante, mentre il CAMPO MAGNETICO viene fatto variare gradualmente → in questo modo il campione è sottoposto ad un campo debole e viene misurata l'energia.
   Tuttavia gli strumenti moderni utilizzano dei **MAGNETI SUPERCONDUTTORI**, i cui campi magnetici sono estremamente costanti, motivo per cui il metodo standard di registrazione di spettri NMR prevede l'utilizzo di strumenti

2. **FT** → sigla con cui si indicano gli strumenti ad impulsi in TRASFORMATA di FOURIER: in questi strumenti il campo magnetico è mantenuto costante e il campione è sottoposto ad un forte impulso di radiofrequenza che si estende su tutta la banda di frequenze, così che tutti i nuclei che risuonano all'interno di quella regione siano ECCITATI contemporaneamente.
   Quando l'impulso viene interrotto si misura l'energia EMESSA dai nuclei durante il **processo di rilassamento** → per rilassamento si intende il raggiungimento o il ripristino dello stato di equilibrio della magnetizzazione da spin nucleare
   → **MECCANISMO** → il campione viene posto in una sonda NMR (provvista di nome di **PROBE**) e immerso in un campo magnetico costante, dove viene irraggiato con un breve impulso ad alta potenza di energia di radiofrequenza, che è in grado di eccitare contemporaneamente tutti i nuclei di un dato tipo (come ad esempio i nuclei ^1H).
   Immediatamente dopo l'impulso, gli spin eccitati compiono tutti insieme un moto di precessione attorno al campo magnetico esterno, creando una CORRENTE nella bobina del trasmettitore della probe. Il segnale risultante, noto come decadimento di induzione libera, è registrato e digitalizzato da un computer, e viene scritto come **FID**;
   l'informazione contenuta nel FID, che è funzione del tempo, viene convertita tramite la trasformata di Fourier in uno spettro leggibile nel dominio di frequenza. (È necessario adoperare la trasformata per isolare le componenti desiderate nel segnale, visto che esso contiene tutte le componenti di frequenza)

N.B → Gli **IMPULSI a RADIOFREQUENZA** sono ad alta intensità, ma di durata brevissima (sono dell'ordine dei microsecondi)
; FID = decadimento di induzione libera

STRUMENTO: Gli strumenti sopra i 100 MHz utilizzano magneti superconduttori (= solenoide) raffreddati ad He ed operano con modalità FT; oltre al campo ALTO, gli altri requisiti fondamentali sono stabilità e omogeneità del campo (controllati rispettivamente con il circuito del lock e con il comando di deuterio) e l'interfaccia al computer (adoperata per l'acquisizione dei dati) → il campione è posto nella probe, che contiene le BOBINE del trasmettitore e del ricevitore, e uno **SPINNER** fa ruotare il tubo che lo contiene attorno al proprio asse verticale, in modo da mediare la disomogeneità del campo. Fondamentali per valutare i concetti di:
- **RISOLUZIONE** → capacità di differenziare picchi diversi dello spettro lungo l'asse delle Rf
- **SENSIBILITÀ** → rapporto segnale/rumore dell'esperimento NMR

→ PARAMETRI NMR

Si individuano fondamentalmente **3** parametri NMR:

1. POSIZIONE del SEGNALE (= **CHEMICAL SHIFT**)
2. STRUTTURA FINE del SEGNALE (= **MOLTEPLICITÀ** del **SEGNALE**)
3. INTEGRAZIONE dell'**AREA** sotteso dal SEGNALE → l'intensità del segnale è infatti proporzionale al numero di protoni che l'hanno prodotto, e ciò è possibile visto che per i nuclei ^1H i tempi di rilassamento sono molto brevi

→ Infatti l'utilità della tecnica NMR nell'ambito strutturale di un composto chimico è legata al fatto che la frequenza a cui un dato nucleo risuona (= chemical shift) non dipende solamente dal composto chimico applicato e dal rapporto giromagnetico del nucleo, ma dipende anche da un certo fattore: l'**INTORNO CHIMICO** del nucleo. Da ciò abbiamo che:

1. per uno specifico nucleo, e tutti i diversi intorni chimici generano segnali NMR a valori di frequenza differenti.
2. I nuclei interagiscono con altri nuclei della stessa molecola provocando il fenomeno dell'**ACCOPPIAMENTO SCALARE**, che si riflette nella struttura (molteplicità) dei segnali (determinata con la regola $2nI+1$)
3. È importante integrare il segnale al fine di determinarne l'area sotteso, in quanto quest'ultima fornisce il numero di nuclei che hanno prodotto tale segnale => dunque la tecnica NMR è una **TECNICA QUANTITATIVA**

MASTER COPY
Tel. 050 8312126
Cell. 388 9837745

→ POSIZIONE del SEGNALE

La differenza tra i diversi nuclei presenti in una molecola è dovuta alla nuvola elettronica che è situata intorno al nucleo e che scherma o protegge il nucleo dall'influenza del campo magnetico applicato; nello specifico il campo magnetico esterno induce una **circolazione** di questi elettroni, in modo tale che essi generino un campo locale secondario che si oppone al campo magnetico applicato.
Dunque per ottenere la condizione di risonanza è necessario applicare un campo maggiore rispetto a quello che servirebbe necessario per un nucleo isolato, e nello specifico gli **EFFETTI di SCHERMO** sono dipendenti dalla densità elettronica attorno al nucleo, ad esempio gli **elettroni s** schermano il nucleo causando uno spostamento a campi alti (e dunque a basse frequenze) che prende il nome di **SHIFT DIAMAGNETICO**

→ Il **GRADO di SCHERMATURA** varia con l'**intorno chimico**; e questa variazione dà origine a differenze nelle frequenze di risonanza, che vengono comunemente chiamate **CHEMICAL SHIFT** (Il chemical shift indica la posizione del segnale originato da un dato nucleo).

→ per un insieme di protoni equivalenti inseriti in una molecola l'equazione fondamentale dell'NMR viene modificata nel modo seguente:

$$\nu_{EFF} = \frac{\gamma B_0}{2\pi}(1-\sigma)$$

in cui σ è la **COSTANTE di SCHERMATURA MAGNETICA**, e il suo valore varia al variare dell'intorno chimico in cui è posto il nucleo osservato.

Il chemical shift (δ) viene misurato in ppm (visto che la frequenza dell'oscillatore è espressa in MHz) e viene definito come:

$$\delta = \frac{\nu_{CAMP} - \nu_{RIF}}{\nu}$$

, in cui:
- ν_{camp} è la frequenza di risonanza del nucleo in esame, espressa in Hz
- ν_{rif} è la frequenza di risonanza del riferimento, sempre in Hz
- ν è la FREQUENZA dello STRUMENTO → è espressa in megacicli al secondo o in MHz.

Al denominatore troviamo la frequenza dello strumento in modo da ottenere un valore di chemical shift che non dipenda dalla tipologia di spettrofotometro adoperato.

↳ In genere si assume che la frequenza del RIFERIMENTO sia NULLA, da cui otteniamo che → $\delta = \frac{\nu_{CAMP}}{\nu}$

MASTER COPY
Tel. 050 8312126
Cell. 388 9837745

$(CH_3)_4Si$

Generalmente come riferimento si adopera uno standard interno (convenzione che viene aggiunto alla soluzione da analizzare in una quantità intorno al 5%), e quello maggiormente adoperato è il **TMS** (tetrametilsilano) (adoperato come riferimento anche in ^{13}C) questo scelto è dovuto alle seguenti caratteristiche del TMS, che lo rendono un ottimo **STANDARD INTERNO**:

1. questo metodo contiene 12 atomi di idrogeno che sono chimicamente equivalenti e che dunque generano, a parità di concentrazione, un segnale che è 12 volte più intenso di quello prodotto da un unico nucleo ^1H.
2. essendo il Si ELETTROPOSITIVO, i protoni quindi possiedono un'elevata densità elettronica, ovvero sono fortemente schermati, e dunque risuonano a ν bassissime (nello specifico la loro frequenza di risonanza risulta essere più bassa quasi di 10 Hz quelle della maggior parte dei composti organici) ⇒ il TMS produce un segnale che è all'estremità dello spettro NMR, a cui per convenzione assegniamo $\delta = 0$
3. Il TMS è chimicamente quasi INERTE, caratteristica che lo rende un ottimo riferimento visto che esso non deve interagire con il campione
4. È una specie altamente volatile, e dunque può essere facilmente allontanato dalla soluzione.

Inoltre per poter eseguire misure NMR in soluzione il campione deve risultare SOLUBILE, e nello specifico il solvente IDEALE: 1. non dovrebbe contenere protoni
2. dovrebbe essere inerte
3. dovrebbe essere bassobollente
4. dovrebbe essere economico

Dunque per la spettroscopia NMR è di fondamentale importanza anche la scelta del solvente, e in genere vengono adoperati dei solventi deuterati.