

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO

CL in BIOTECNOLOGIE

Anno Accademico 2023/2024

CHIMICA ANALITICA

**Rivelatori – Spettroscopia
a risonanza**

Risonanza magnetica nucleare (RMN O NMR)

- ✓ Pauli nel 1924 introdusse l'idea dello **spin nucleare** che è un momento angolare (**J**) intrinseco;
- ✓ **Protoni e neutroni** possiedono un momento angolare di spin con relativo numero quantico di spin **I**
- ✓ il numero quantico di spin può essere **intero, semiintero o nullo**

L'NMR dipende dall'esistenza dello spin nucleare quindi nuclei con $I=0$ sono magneticamente inattivi

Risonanza Magnetica Nucleare **NMR**

- Il fenomeno trae origine dal fatto che alcuni nuclei posti in un campo magnetico sono in grado di assorbire radiazioni elettromagnetiche.
- I primi esperimenti NMR furono effettuati nel 1945, mentre utili applicazioni chimiche si ebbero solo nel 1949 dopo la scoperta dello spostamento chimico.

Proprietà dei nuclei

La materia è fatta di atomi. Gli atomi sono costituiti da elettroni e da nuclei. Ogni nucleo atomico possiede quattro importanti proprietà fisiche:

massa, carica elettrica, magnetismo e spin

particella	carica	spin
elettrone	- e	1/2
neutrone	0	1/2
protone	+ e	1/2
fotone	0	1

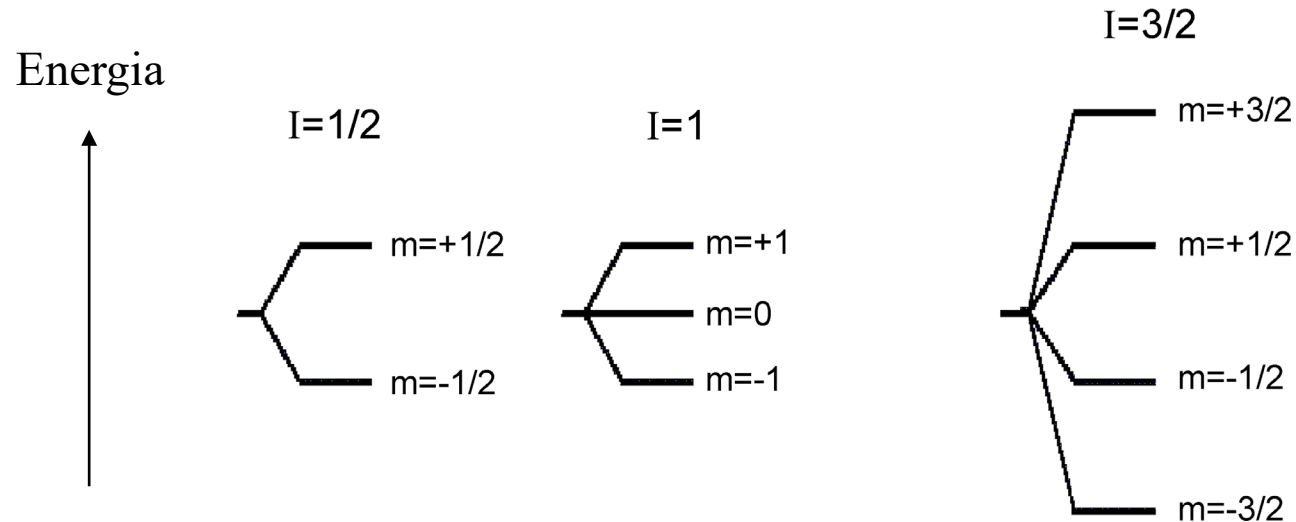
Proprietà di alcuni nuclei

isotopo	Abbondanza naturale	spin	Rapporto giromagnetico $\gamma/\text{rad s}^{-1} \text{T}^{-1}$	Freq. di Larmor (MHz) in un campo $B_0 = 11.7433 \text{ T}$
^1H	99.98%	1/2	267.5×10^6	-500.00
^2H	0.015%	1	41.1×10^6	-76.75
^{10}B	19.9%	3	28.7×10^6	-53.72
^{12}C	98.9%	0	-	-
^{13}C	1.1%	1/2	67.2×10^6	-125.72
^{14}N	99.6%	1	19.3×10^6	-36.13
^{15}N	0.37%	1/2	-27.1×10^6	+50.68
^{16}O	99.96%	0	-	-
^{17}O	0.04%	5/2	-36.3×10^6	+67.78
^{19}F	100%	1/2	251.8×10^6	-470.47
^{23}Na	100%	3/2	70.8×10^6	-132.26
^{27}Al	100%	5/2	69.8×10^6	-130.29
^{31}P	100%	1/2	108.4×10^6	-202.61

Energia

- Uno spin nucleare I ha $2I+1$ stati rotazionali in un campo magnetico, con numeri quantici m da $-I$ a $+I$ in step di 1.
- In un campo magnetico B_0 , l'energia dello stato con numero quantico m è data da:

$$E = -m_I \gamma_I \hbar B_0$$



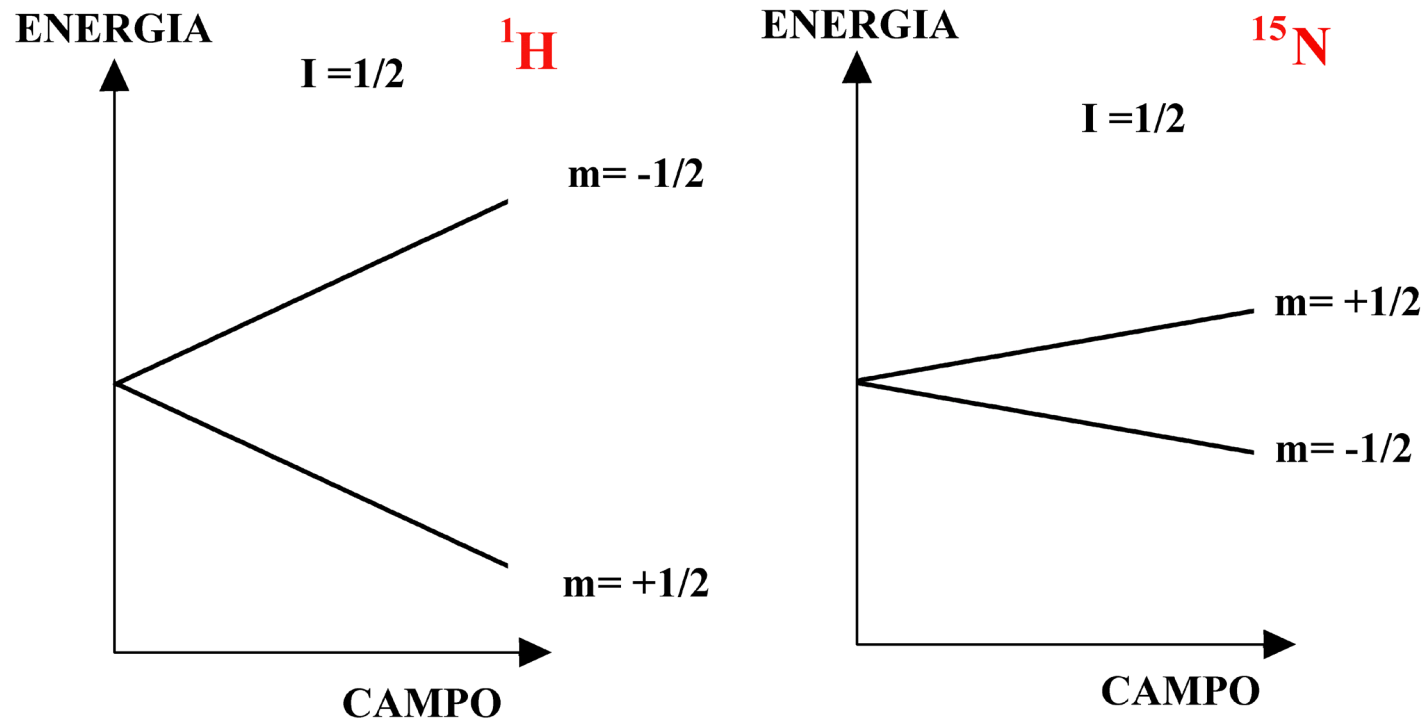
Differenza di energia tra i livelli

- Se $E = -m_I \gamma_I \hbar B_0$ allora $\Delta E = \gamma_I \hbar B_0$
- Quindi per stimolare una transizione da un livello al successivo ($\Delta m_I = \pm 1$) abbiamo bisogno di un quanto di energia $\Delta E = h\nu$ o di una radiofrequenza $\nu_0 = \gamma B_0$
- Questa equazione descrive la condizione di risonanza in cui la frequenza della radiazione esattamente corrisponde al salto energetico. ν_0 è chiamata **frequenza di Larmor**

Frequenza di Larmor e campo B_0

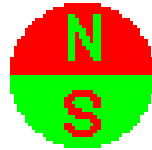
- Il rapporto giromagnetico γ determina la velocità con cui lo Zeeman splitting aumenta allorché aumenta il campo magnetico.

$$\Delta E = \gamma_I \hbar B_0$$

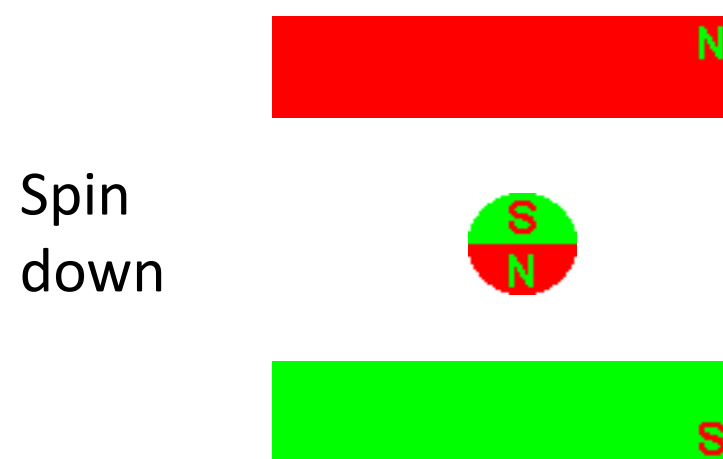
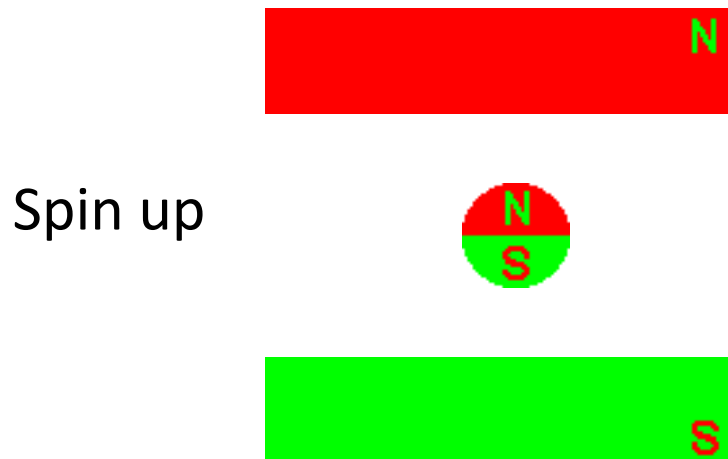


Condizioni di risonanza

- Una particella con spin non nullo, può essere immaginata come un piccolo magnete

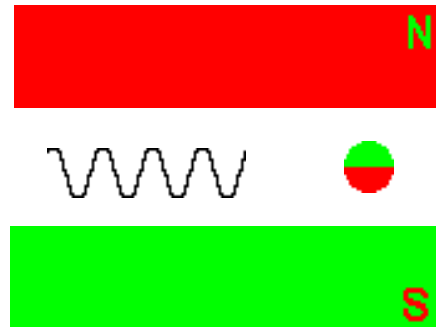


- Mettendo ad esempio una particella con spin $\frac{1}{2}$ in un campo esterno otteniamo due orientazioni: una a maggiore energia (discorde al campo) ed una ad energia minore (concorde al campo).



Condizioni di risonanza

- La differenza di energia tra i due stati equivale all'assorbimento di un fotone di energia $E = h \nu$.
- ν corrisponde alla frequenza di Larmor o di risonanza.



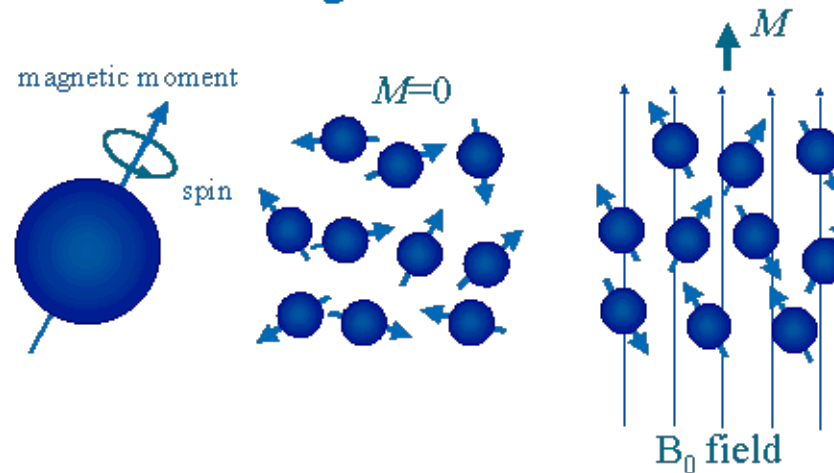
- Una particella con spin non nullo, in un campo magnetico di intensità B_0 , può assorbire un fotone con frequenza ν , dove ν dipende dal rapporto giromagnetico γ della particella. $\nu_0 = \gamma B_0$

Per l'idrogeno, $\gamma = 42,58 \text{ MHz / T}$

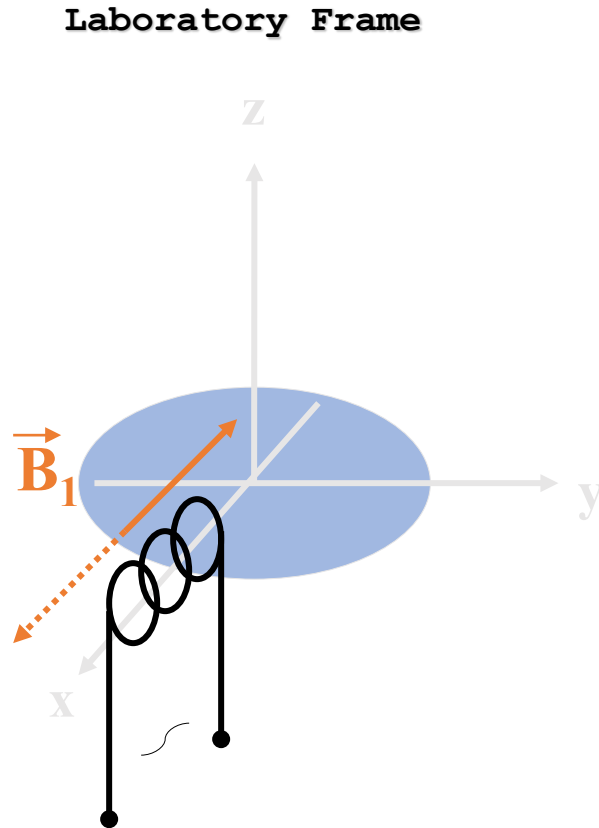
Cosa accade ai singoli nuclei

I nuclei in condizioni “normali” si muovono caoticamente per effetto del moto termico. Non appena introduco un campo esterno B_0 i nuclei si orientano disponendosi secondo l’asse del campo B_0

Alignment of Spins in a Magnetic Field



Come faccio in realtà

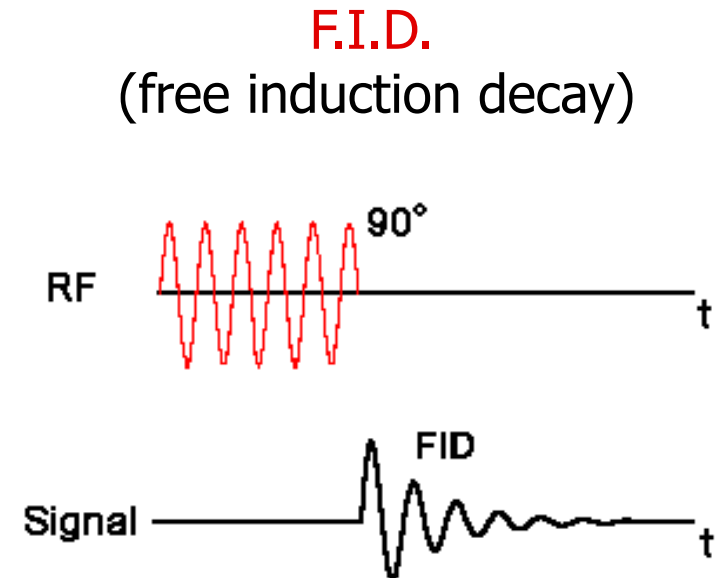
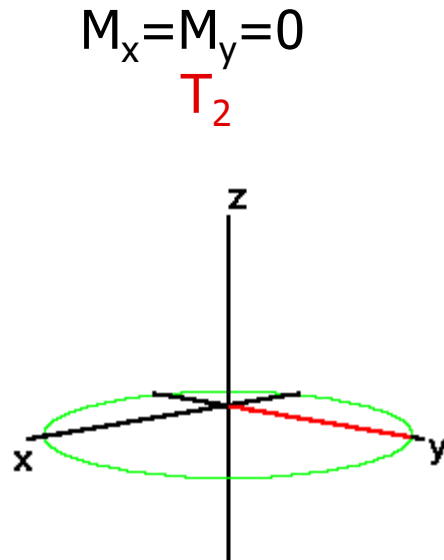
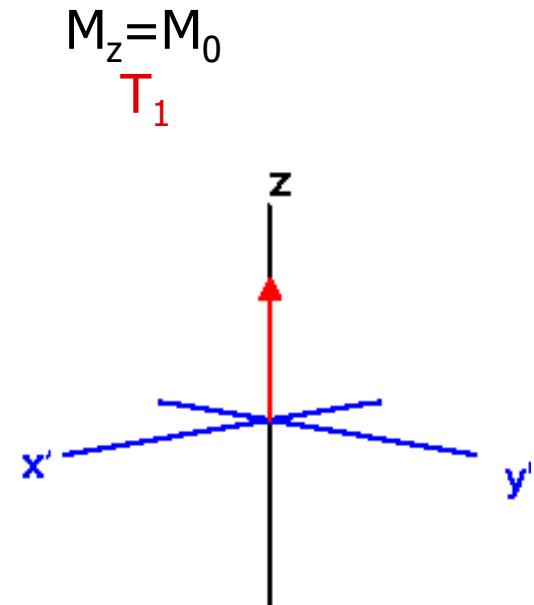


Con una bobina orientata ortogonalmente al campo statico (asse X) alimentata con corrente sinusoidale impulsata genero un campo magnetico B_1 lungo l'asse X.

La frequenza di alimentazione della corrente nella bobina deve essere ω_L

Dopo l'impulso

Finito il periodo di “eccitazione” generato dal campo B_1 tutti i nuclei tendono a “rilassarsi”, ovvero a tornare nelle condizioni iniziali di equilibrio termico ognuno con la sua ω_L .

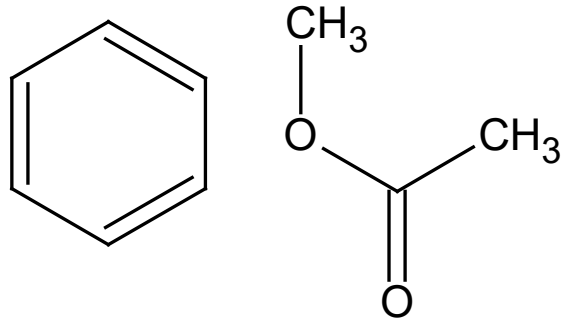


Dal FID allo spettro: FT

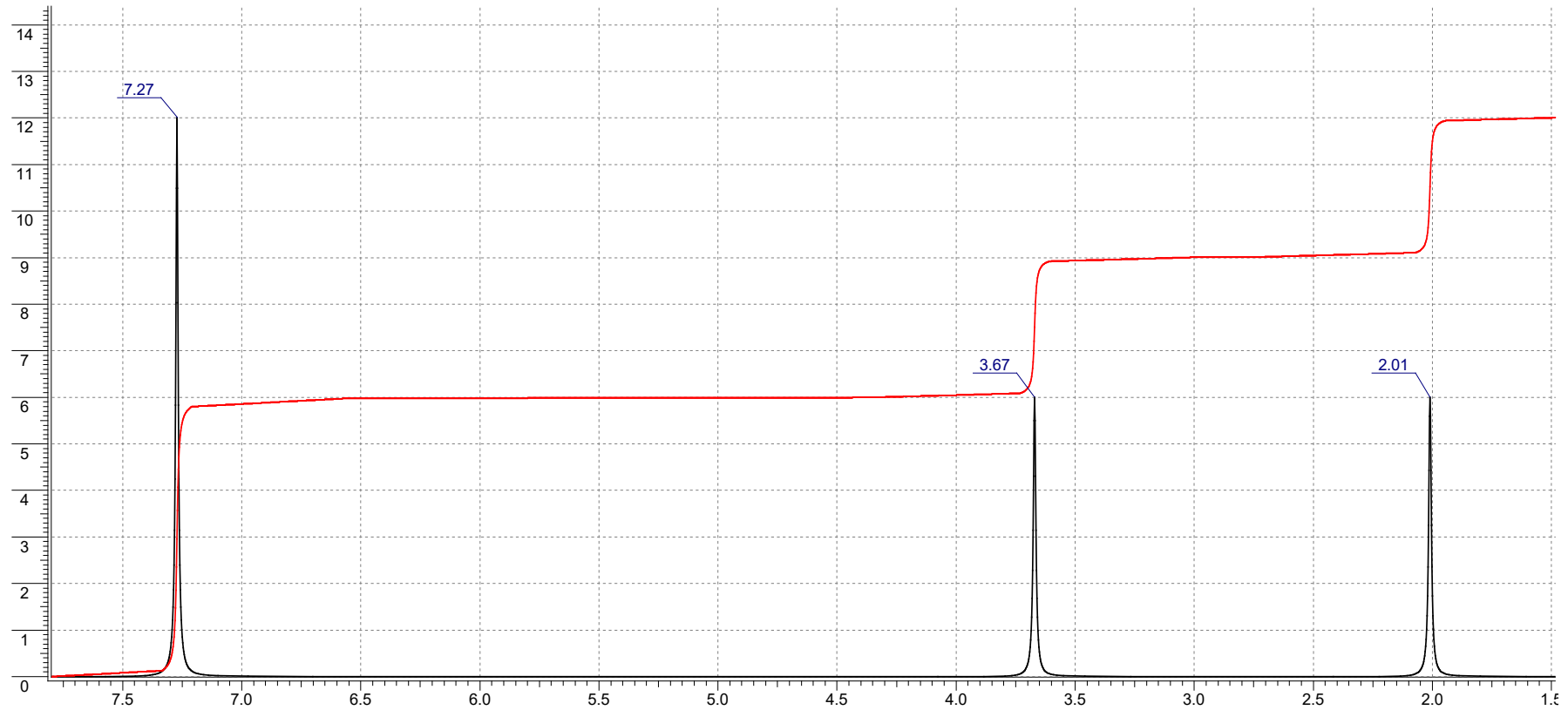
Il F.I.D. rappresenta il segnale NMR nel dominio del tempo. Ogni nucleo genera un segnale rappresentabile tramite una sinusoide smorzata.

Attraverso la trasformata di Fourier in quadratura del segnale nel dominio del tempo otteniamo il segnale nel dominio delle frequenze (spettro).

La frequenza di risonanza dipende dall'intorno chimico



Group	nH	Shift
2,3,4,5	6	7.27
8	3	3.67
11	3	2.01

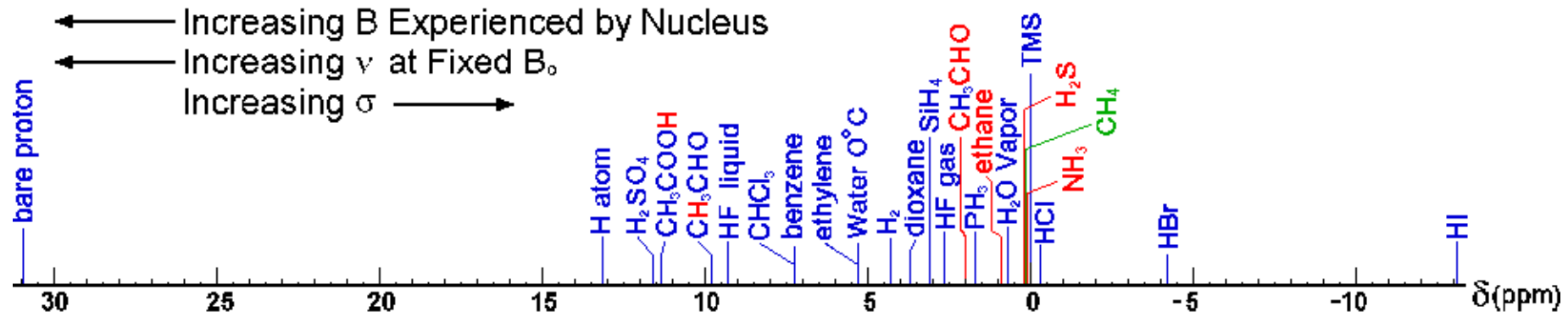


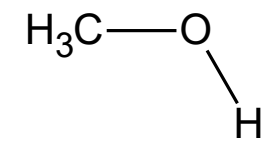
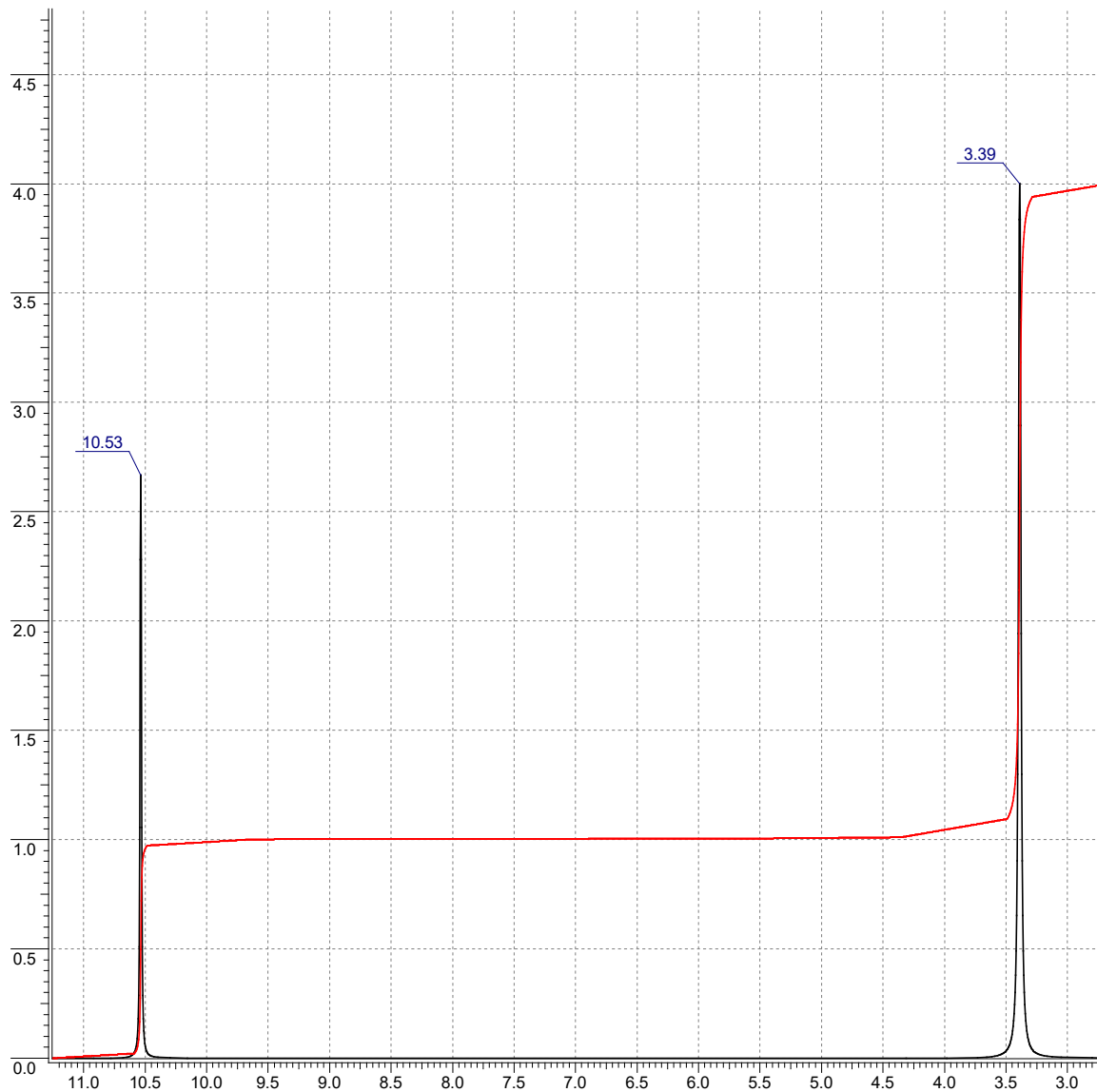
Costante di schermo

- Nel caso delle molecole la situazione è più complessa, la distorsione della distribuzione elettronica sferica causata dalla presenza di altri nuclei riduce l'effetto diamagnetico.

$$\sigma = \sigma_{\text{dia}} + \sigma_{\text{para}} + \sigma'$$

- Per i protoni sono importanti solo due termini





$$\sigma_{\text{C-H}} > \sigma_{\text{O-H}}$$

$$B_{\text{C-H}} = B_0(1 - \sigma_{\text{C-H}})$$

$$B_{\text{O-H}} = B_0(1 - \sigma_{\text{O-H}})$$

$$B_{\text{C-H}} < B_{\text{O-H}}$$

Chemical shift

- Grazie al chemical shift, l'NMR fornisce importanti dati per la determinazione di composti sconosciuti.
- Per il chemical shift e le costanti di schermo possiamo fare le seguenti generalizzazioni:

Per legami C-H alifatici la costante di schermo decresce nella serie
 $\text{CH}_3 > \text{CH}_2 > \text{CH}$

Per legami C-H olefinici $4 < \delta < 6.5$

Per legami C-H aromatici $7 < \delta < 9$

Spostamento Chimico

- La frequenza effettiva di risonanza per ciascun nucleo della molecola è dato da:

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

- La differenza nella posizione di assorbimento di un particolare protone rispetto alla posizione di assorbimento di un protone di riferimento viene detta **spostamento chimico** e si indica con il simbolo δ

$$\delta = \frac{\nu_{misurata} - \nu_{riferimento}}{\nu_{spettrometro}} 10^6$$

Dati di spostamento chimico per protoni (scala δ)

Protoni alifatici (ciclici o aciclici, esclusi i derivati del ciclopropano)

Metile (solo con H o sostituenti alchilici su entrambi i carboni α e β): **0,9**

Metilene (solo con H o sostituenti alchilici su entrambi i carboni α e β): **1,25**

Metino (solo con H o sostituenti alchilici su entrambi i carboni α e β): **1,6**

La presenza sul C- α di sostituenti capaci di sottrarre elettroni (per es., X, OH, OR, R-COO, NH₂, NO₂) sposta il protone di 2 - 4 ppm verso campi bassi.

I gruppi C=O, C=C, e gli anelli aromatici hanno un effetto simile, ma meno pronunciato. lo spostamento verso campi bassi è generalmente di circa 0,5 - 1,5 ppm.

Protoni benzilici: **2 - 3** (*toluene* 2,34).

Protoni acetilenici: **2 - 3**.

Protoni olefinici: **5 - 7**, con una variazione regolare con la sostituzione (*etilene* 5,30).

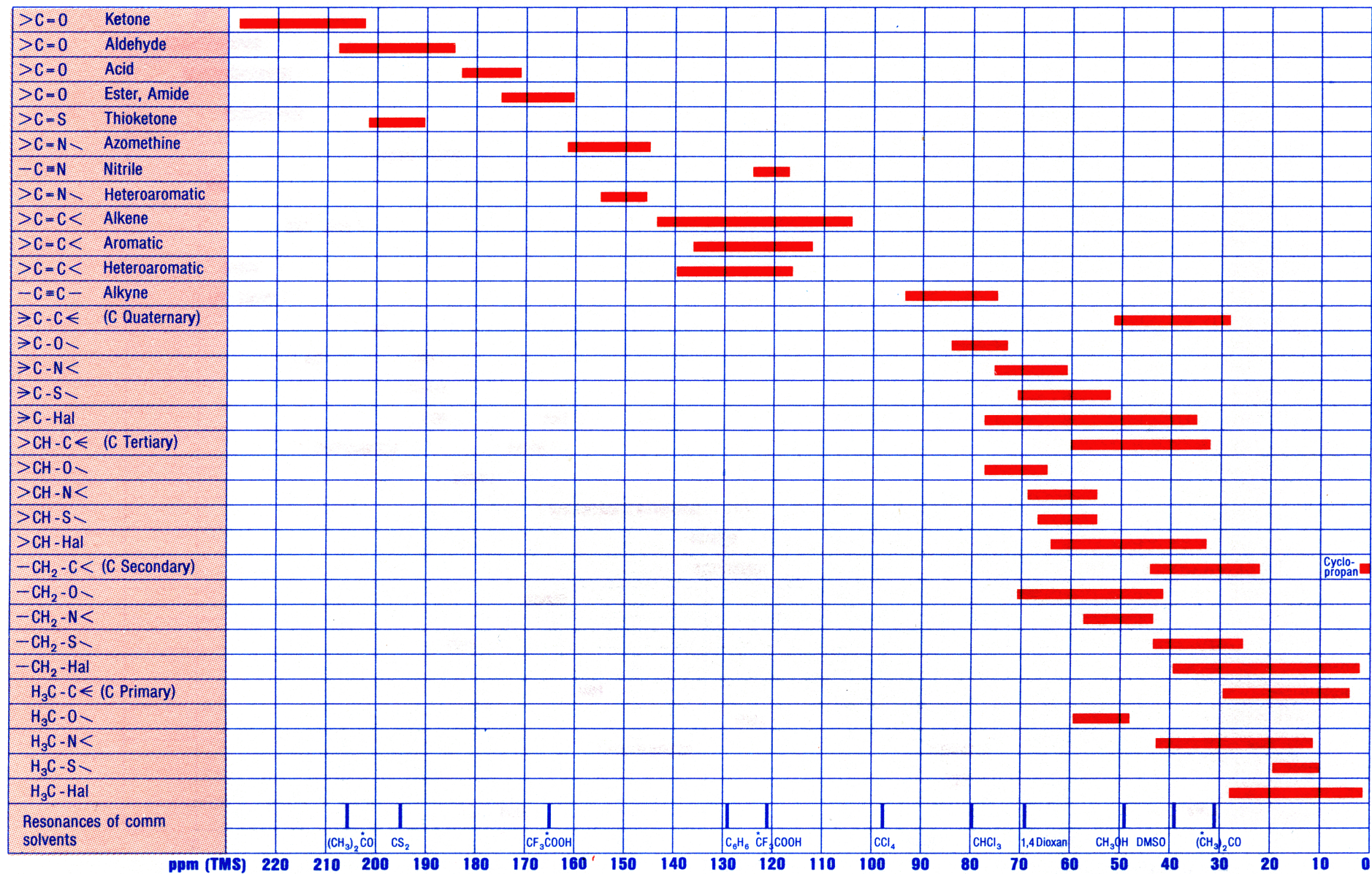
Protoni aromatici ed eteroaromatici: **6 - 10** (*benzene* 7,27).

Protoni aldeidici: **9 - 10**.

Protoni idrossilici ed amminici: Tra 1 e 16 ppm, a seconda del tipo di legami idrogeno (un legame idrogeno forte è deschermente). I segnali dovuti a questi protoni possono essere facilmente riconosciuti dagli spostamenti con la temperatura, che altera il grado dei legami idrogeno, e per la facilità con la quale vengono scambiati con D₂O.

Quest'ultimo procedimento può essere eseguito nel tubo del campione NMR e i segnali dovuti a OH, NH₂, ecc., scompaiono.

¹³C Chemical Shifts in Organic Compounds*



*Relative to internal tetramethylsilane.

Risonanza magnetica elettronica (EPR O ESR)

La risonanza magnetica elettronica è una branca della spettroscopia nella quale la radiazione elettromagnetica è assorbita da molecole, ioni o atomi che possiedono elettroni spaiati.

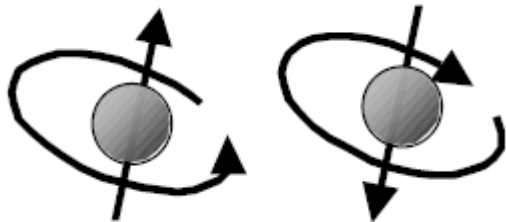
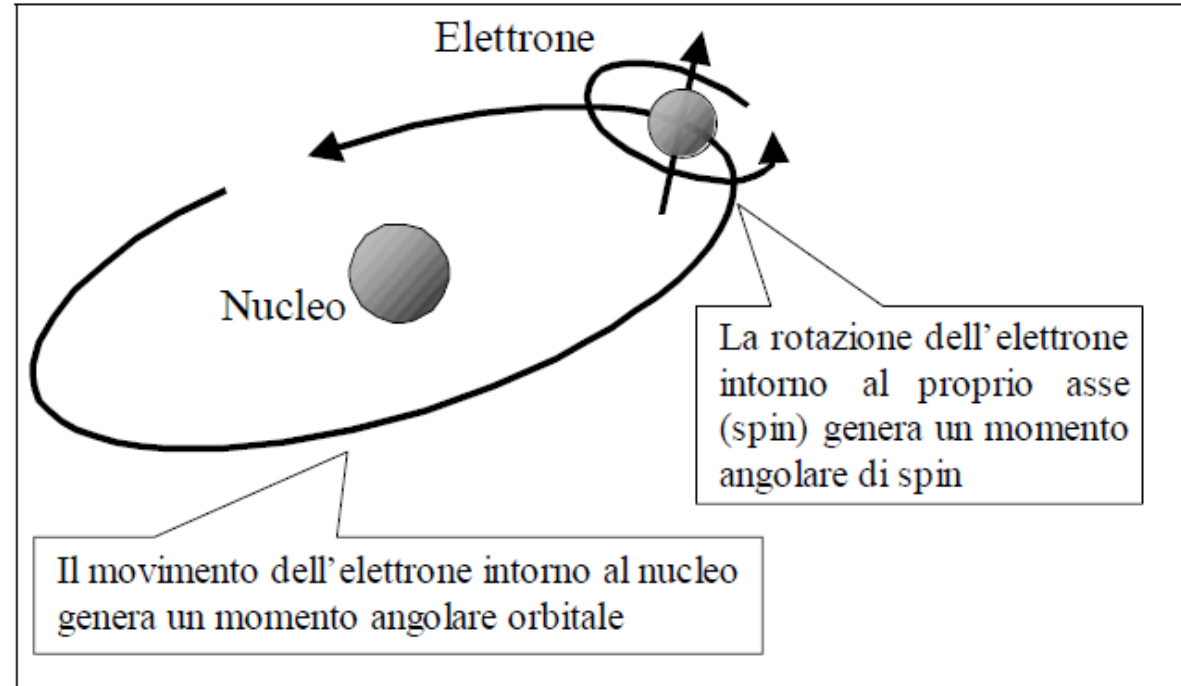
Viene utilizzata nello studio di:

- radicali organici
- composti degli ioni dei metalli di transizione
- solidi con difetti elettronici localizzati
- sistemi con stati di tripletto (ad es. l'ossigeno molecolare o indotto per fotoeccitazione)

In ESR i differenti stati di energia derivano invece dalla interazione dei momenti di spin elettronico con il campo magnetico mentre le transizioni si osservano applicando frequenze dell'ordine delle microonde.

Risonanza magnetica elettronica (EPR O ESR)

L'elettrone possiede sia un momento angolare intrinseco (o di spin) che un momento angolare orbitale ed entrambi questi fattori, in presenza di un campo magnetico applicato, generano un corrispondente momento magnetico

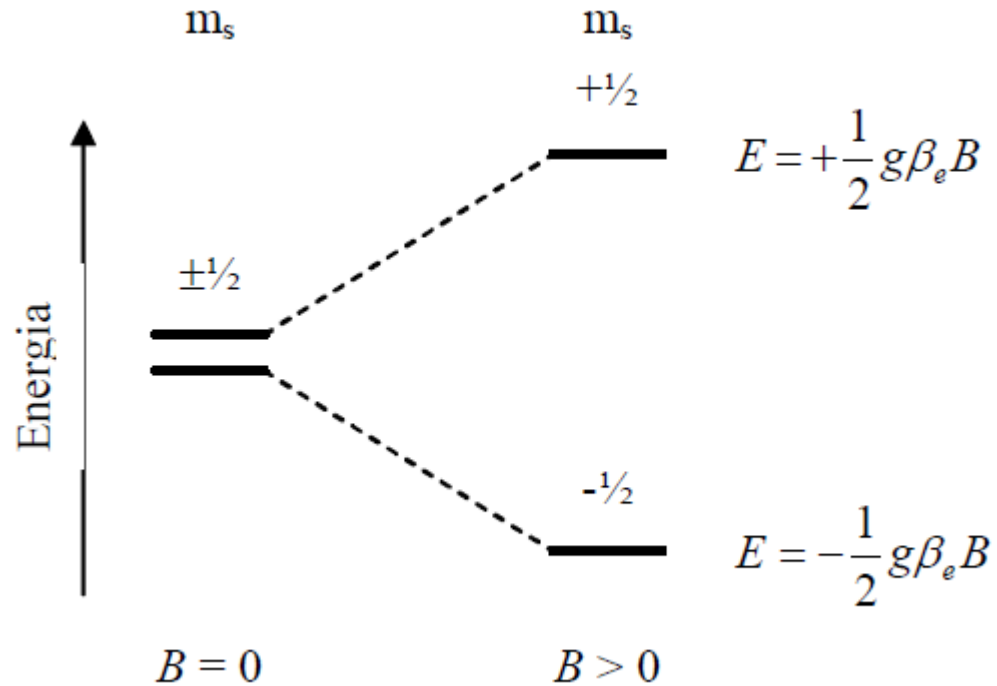
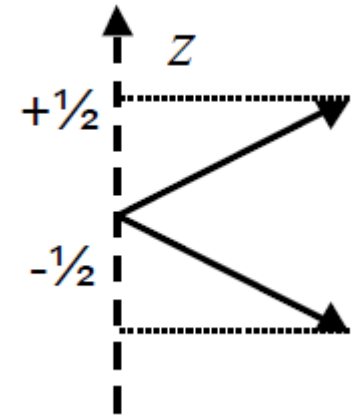


Dato che una carica che gira su se stessa genera un campo magnetico la cui direzione dipende dal senso di rotazione, due spin opposti generano due campi magnetici orientati in direzioni opposte

Risonanza magnetica elettronica (EPR O ESR)

Il momento magnetico di spin può assumere lungo la direzione z solo i valori:

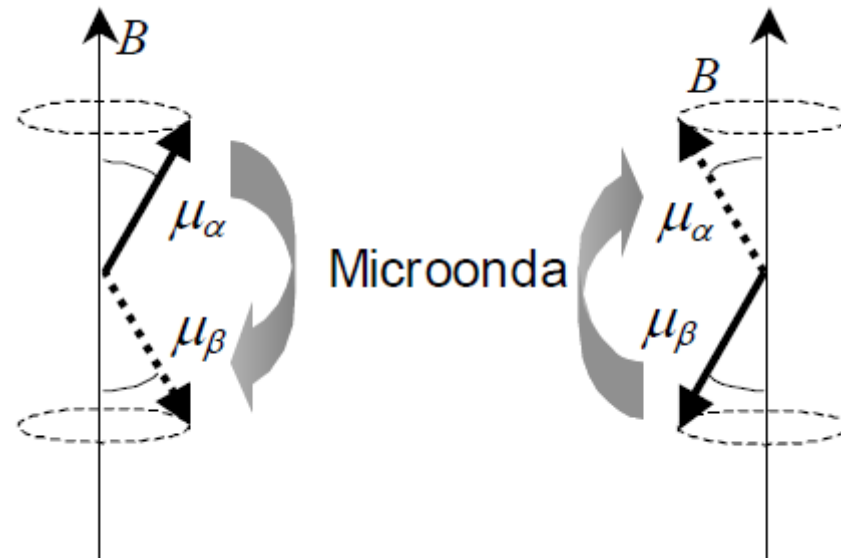
$$\mu_z = -m_s g \beta_e$$



In assenza di campo magnetico i due livelli energetici degli elettroni sono degeneri, un campo magnetico applicato separa i livelli e la differenza aumenterà linearmente con l'intensità del campo magnetico

Risonanza magnetica elettronica (EPR O ESR)

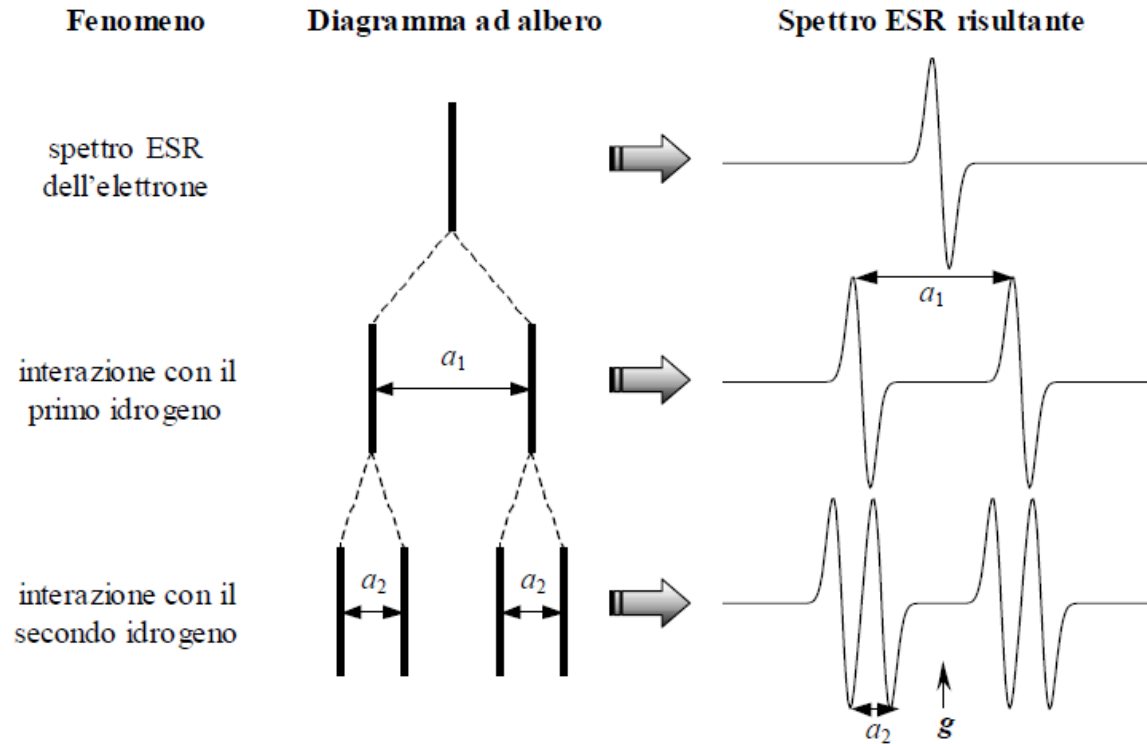
L'esperimento ESR consiste quindi nel mandare sul campione un fascio di microonde di frequenza opportuna ed eseguire una scansione di campo magnetico sino a raggiungere un valore tale da raggiungere la condizione di risonanza.



Alle condizioni di risonanza l'energia fornita dalle microonde permette le transizioni tra i due livelli di energia e quindi, essenzialmente, provoca l'inversione dell'allineamento degli spin rispetto alla direzione del campo magnetico

Risonanza magnetica elettronica (EPR O ESR)

Esistono altre interazioni che arricchiscono gli spettri ESR di varie componenti.
La prima interazione ha origine dai nuclei vicini al dipolo magnetico di spin elettronico.



ESEMPI DI SPETTRI NMR

Programma di predizione di spettri NMR

https://www.nmrdb.org/new_predictor/index.shtml?v=v2.138.0