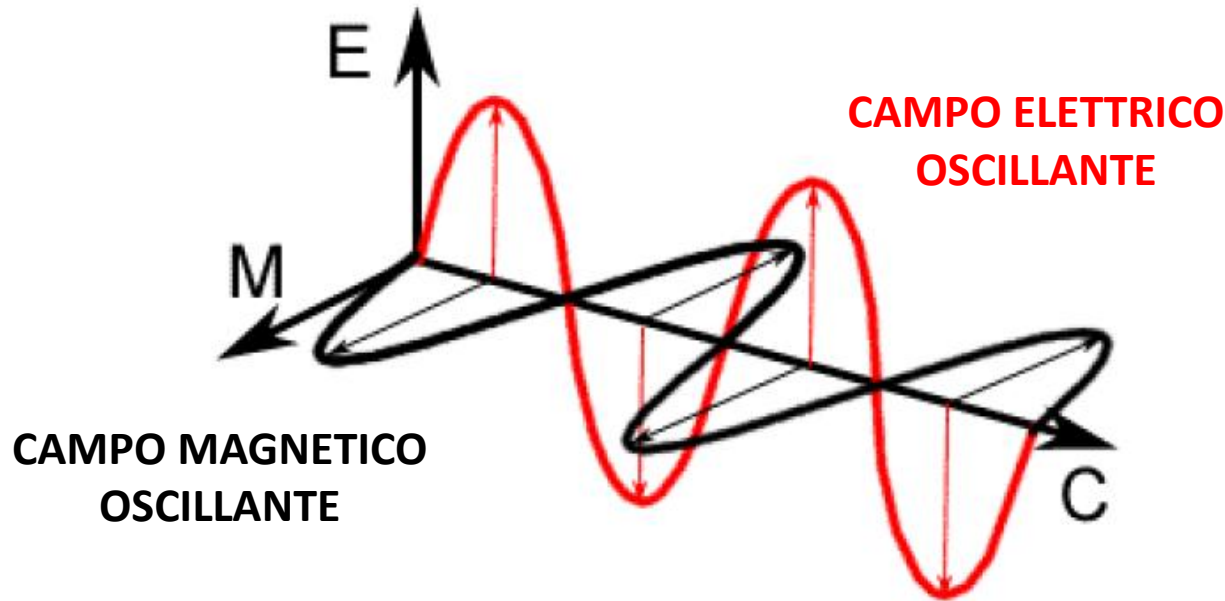


Spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR)

Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR)

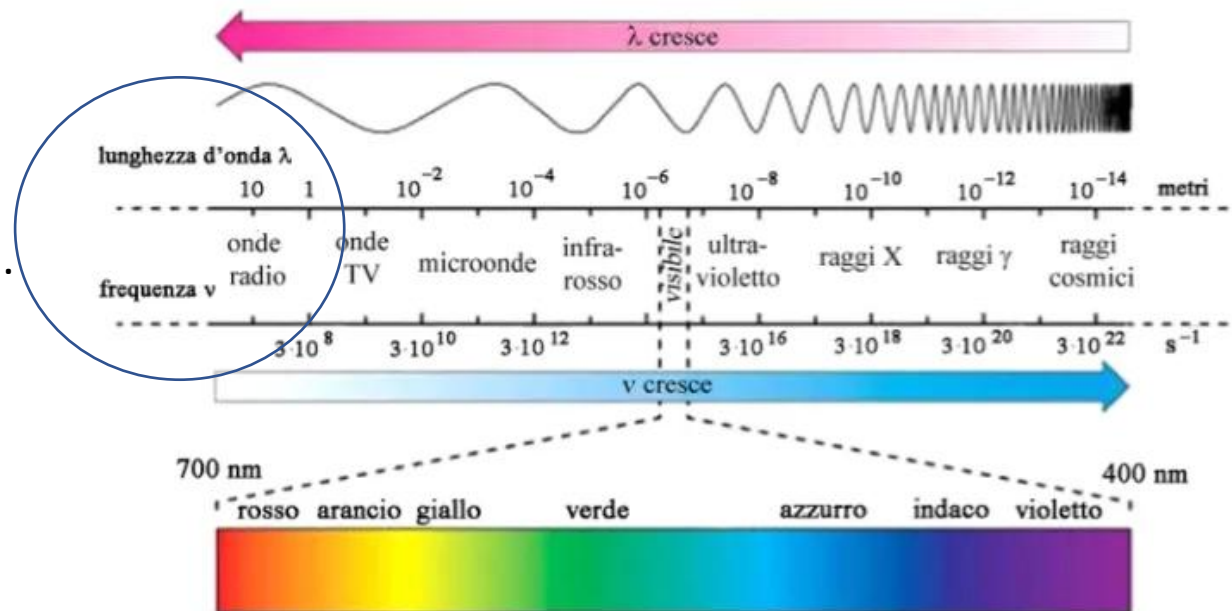
- ❑ **Tecnica spettroscopica** basata sulle proprietà magnetiche dei **nuclei di alcuni atomi**.
- ❑ Consente la determinazione esatta della struttura di una molecola organica.
- ❑ I nuclei particolarmente utili per il chimico organico sono:
 ^1H e ^{13}C NMR
- ❑ Il fenomeno della **risonanza magnetica nucleare** si verifica quando il campione è immerso in un campo magnetico (CM) esterno e sottoposto a un secondo campo magnetico oscillante (radiazione elettromagnetica).

La radiazione elettromagnetica



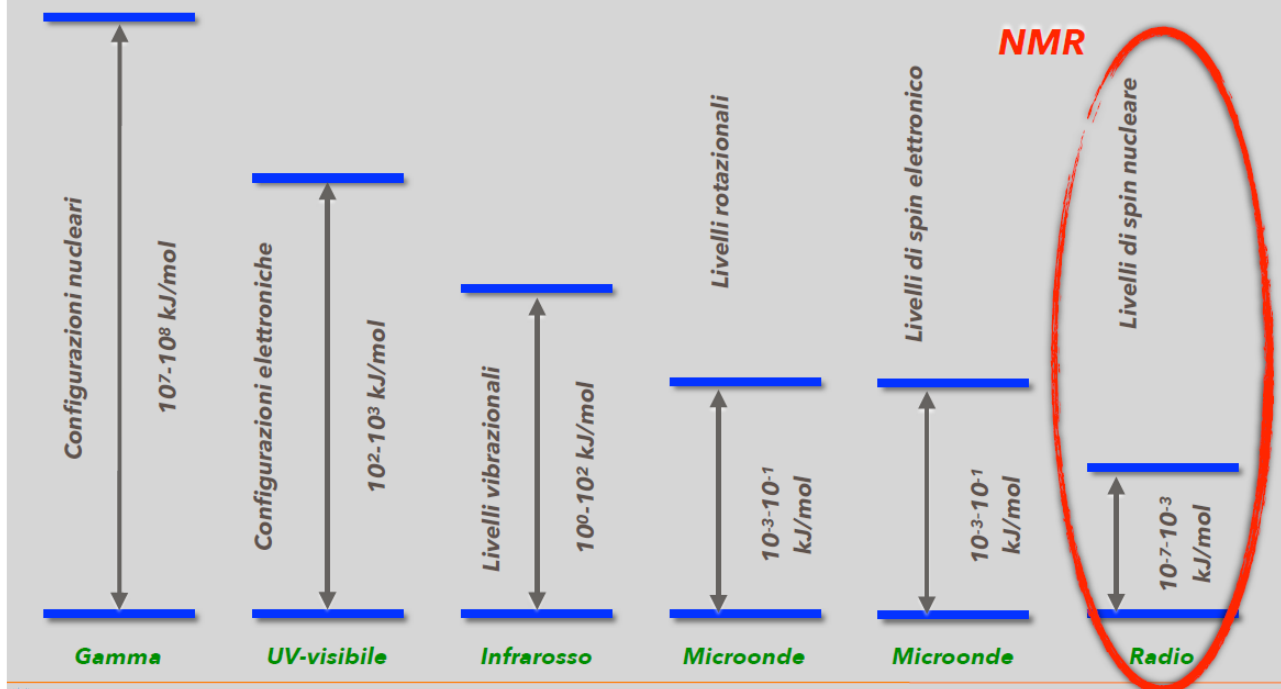
Le luci utilizzate in questa tecnica sono nel campo delle radiofrequenze (o onde radio).

Radiofrequenze $\nu = 40 - 1000$ MHz (in pratica: 300 – 1000 MHz)



Energie in NMR

Nelle molecole esistono vari tipi di livelli energetici, a seconda della proprietà che prendiamo in considerazione:

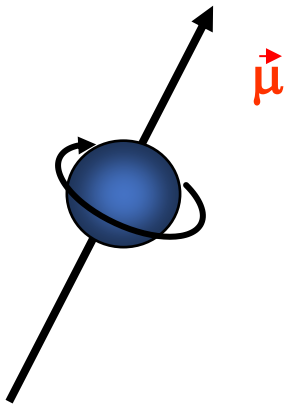


Energia fotoni: UV-Vis > IR > Microonde > Onde Radio

Questo significa che le onde radio riescono a promuovere transizioni tra livelli energetici che presentano una differenza in energia relativamente piccola.

Momento magnetico del nucleo

5



- Il nucleo possiede massa e carica (positiva).
- La rotazione di una particella carica intorno al suo asse («spinning») genera un dipolo magnetico: $\vec{\mu}$ (**momento magnetico nucleare**)
- I nuclei si comportano come dipoli magnetici.
- I dipoli magnetici nucleari sono caratterizzati da un **numero quantico di spin I** (ovvero da uno Spin Nucleare)
- **Per avere un nucleo NMR attivo I deve essere diverso da 0!**

$$\mu = \gamma \sqrt{I(I+1)} \hbar$$

dove I è il numero quantico di spin nucleare

$$I = 0, 1/2, 1, 3/2, \dots, 6$$

γ è il **rapporto giromagnetico** che dipende dal nucleo in esame

h è la costante di Plank = 6.626×10^{-34} Js

$$\hbar = h/2\pi$$

Lo spin nucleare I

$$I = 0, 1/2, 1, 3/2, \dots, 6$$

Nuclei con **numero di massa pari e numero atomico pari** hanno **spin nucleare $I = 0$**
(nuclei silenti all'NMR)

Nuclei con **numero di massa dispari e/o numero atomico dispari** hanno **spin nucleare $I \neq 0$**
(nuclei attivi all'NMR)

Neutroni	pari	dispari	pari	dispari
Protoni	pari	dispari	dispari	pari
I	0	intero	semintero	

^{12}C : 6p, 6n $I = 0$

^{16}O : 8p, 8n $I = 0$

Nuclei silenti

^{13}C : 6p, 7n $I = 1/2$

^1H : 1p, 0n $I = 1/2$

^{19}F : 9p, 10n $I = 1/2$

^{31}P : 15p, 16n $I = 1/2$

^{15}N : 7p, 8n $I = 1/2$

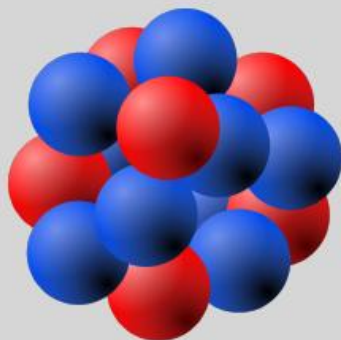
Nuclei attivi

^2H : 1p, 1n $I = 1$

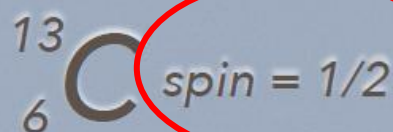
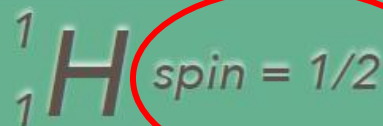
^{14}N : 7p, 7n $I = 1$

Nuclei attivi - quadripolari

Isotopi e spin



Isotopi diversi dello stesso elemento chimico hanno in generale diverso spin nucleare



1A	2A	Nuclear Spins for Main Elemental Isotopes that Undergo NMR																3A	4A	5A	6A	7A	8A		
1 H		3 Li	4 Be																	5 B	6 C	7 N	8 O	9 F	10 Ne
		11 Na	12 Mg	3B	4B	5B	6B	7B	8B		1B	2B	13 Al	14 Si	15 P	16 S	17 Cl	18 Ar							
19 K	20 Ca	21 Sc	22 Ti	23 V	24 Cr	25 Mn	26 Fe	27 Co	28 Ni	29 Cu	30 Zn	31 Ga	32 Ge	33 As	34 Se	35 Br	36 Kr								
37 Rb	38 Sr	39 Y	40 Zr	41 Nb	42 Mo	43 Tc	44 Ru	45 Rh	46 Pd	47 Ag	48 Cd	49 In	50 Sn	51 Sb	52 Te	53 I	54 Xe								
55 Cs	56 Ba	57-71 Lanthanides	72 Hf	73 Ta	74 W	75 Re	76 Os	77 Ir	78 Pt	79 Au	80 Hg	81 Tl	82 Pb	83 Bi	84 Po	85 At	86 Rn								
87 Fr	88 Ra	89-103 Actinides	104 Rf	105 Db	106 Sg	107 Bh	108 Hs	109 Mt	110 Ds	111 Rg	112 Cn	113 Uut	114 Fl	115 Uup	116 Lv	117 Uus	118 Uuo								
Lanthanides			57 La	58 Ce	59 Pr	60 Nd	61 Pm	62 Sm	63 Eu	64 Gd	65 Tb	66 Dy	67 Ho	68 Er	69 Tm	70 Yb	71 Lu								
Actinides			89 Ac	90 Th	91 Pa	92 U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr								

Nuclear Spin

1/2

1

3/2

5/2

7/2

9/2

5

8

No data for synthetic elements ≥ 103

Effetto del Campo Magnetico Esterno B_0

Secondo la meccanica quantistica

- Se si applica un **campo magnetico esterno B_0** , gli spin dei nuclei presenti nelle molecole tenderanno ad orientarsi rispetto alla direzione del campo.
- Per un certo valore di I , il numero di possibili orientazioni dei dipoli magnetici in un B_0 dipende da **m** numero quantico magnetico.
(Quantizzazione direzionale)

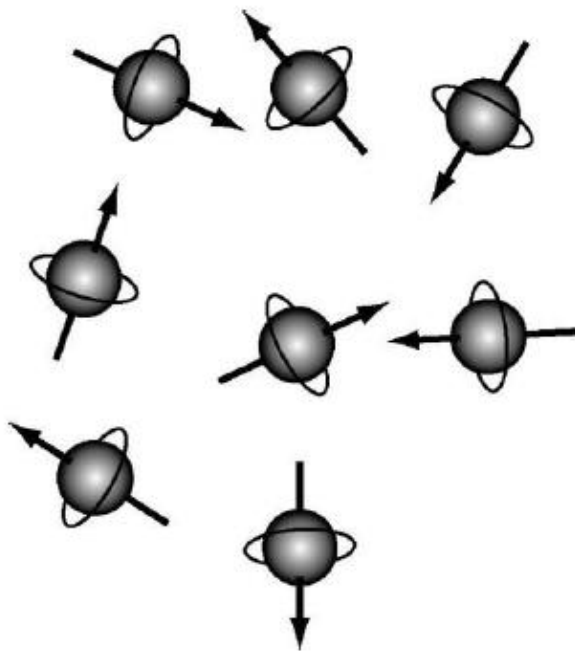
$$-I < m < +I$$

In generale: Il numero di orientazioni possibili di uno spin in un B_0 è quantizzato ed è pari a **$2I + 1$**

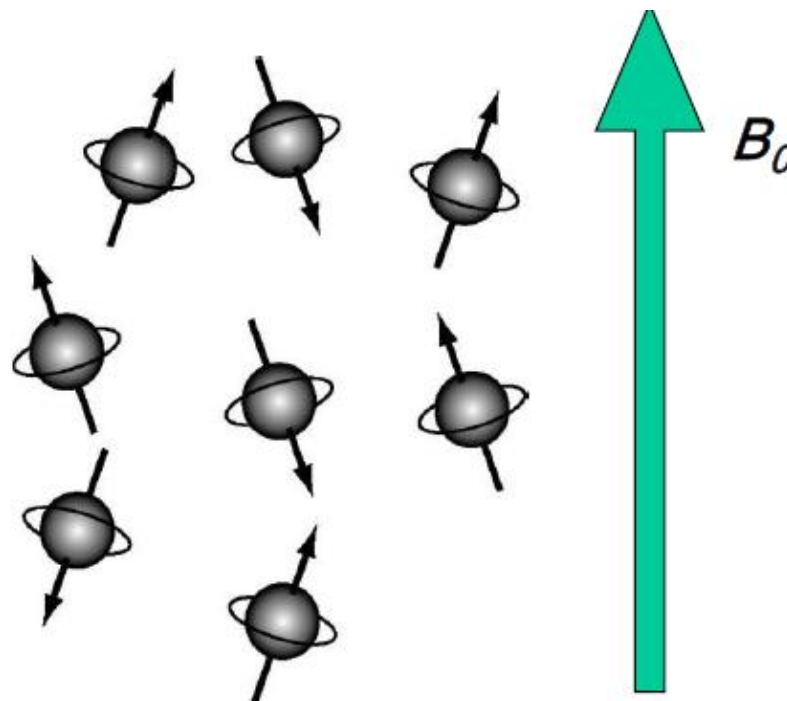
Per $I = 1/2$ (^1H e ^{13}C) **$m = -1/2$ e $+1/2$, quindi per questi nuclei sono possibili solo due orientazioni dei dipoli magnetici nel B_0**

Nuclei con $I = \frac{1}{2}$ in un campo magnetico

Se non è presente un campo magnetico tutte le orientazioni sono possibili, non vi è una orientazione preferita



Se si applica un campo magnetico esterno B_0 , gli spin tenderanno ad allinearsi con la direzione del campo o in modo parallelo o antiparallelo se $I = \frac{1}{2}$
 → 2 sole orientazioni possibili



Quantizzazione direzionale

Livelli Energetici di Spin Nucleare

10

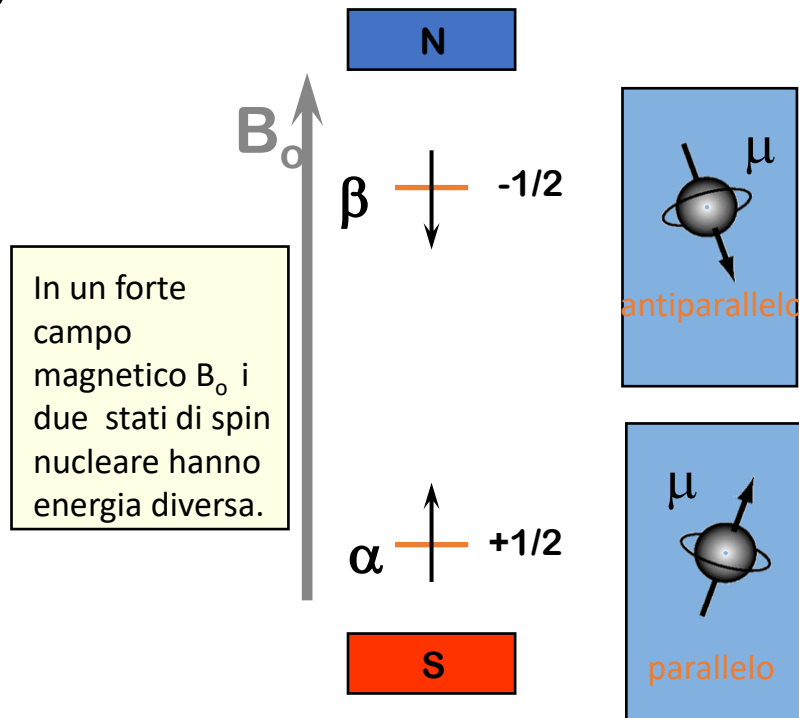
(meccanica quantistica)

Per $I = \frac{1}{2}$, alle due orientazioni di $\mathbf{m}$ nel B_0 corrispondono due stati di spin a diversa energia:

Lo **stato α** , parallelo con $m = +\frac{1}{2}$

Lo **stato β** antiparallelo, con $m = -\frac{1}{2}$

Ai due stati di spin corrispondono due livelli energetici quantizzati: Lo **stato α** parallelo ha energia minore dello **stato β** antiparallelo



Precessione del Momento Magnetico attorno alla Direzione del Campo Magnetico B_0

11

(meccanica classica)

- Secondo la descrizione della meccanica classica il B_0 impone a μ un moto di **precessione** (moto rotatorio attorno a un asse) simile a quello di una trottola. Questo viene definito Precessione di Larmor:

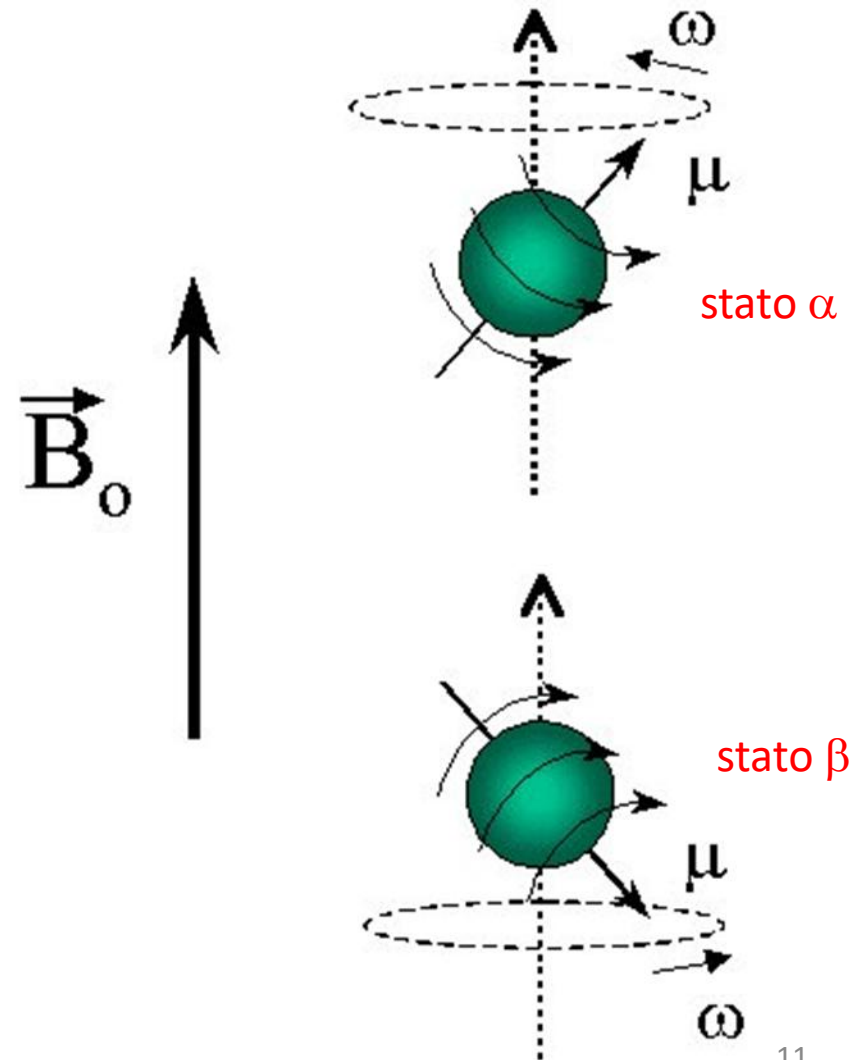
$$\omega = 2\pi\nu = \gamma B_0$$

ω = velocità angolare

ν = frequenza di precessione

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi = \text{frequenza di Larmor}$$

ν e ω dipendono da B_0 !



Transizioni di spin

14

- Avendo il nucleo a disposizione due livelli energetici, se $I = 1/2$, può subire una transizione tra i due stati energetici assorbendo un fotone.
- L'energia del fotone deve essere uguale alla differenza di energia tra i due livelli, secondo la relazione di Planck

$$\Delta E = h\nu$$

$$h = 6.626 \times 10^{-34} \text{ J s}$$

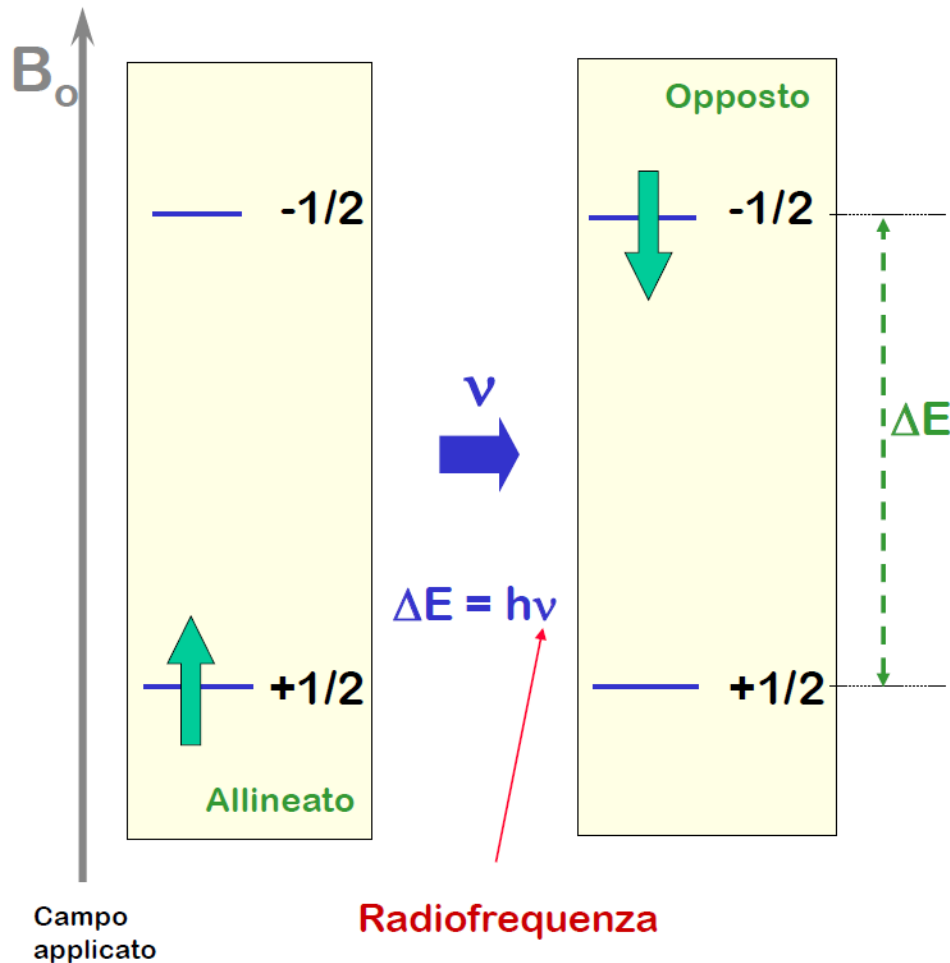
$$\Delta E = h\nu$$
$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi$$



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

**ΔE è direttamente proporzionale al rapporto
giromagnetico γ e a B_0**

Risonanza



In sostanza posso utilizzare fotoni nel campo delle radiofrequenze per promuovere spin dei nuclei dallo stato alfa (allineato al campo magnetico esterno) allo stato beta a più alta energia, che è opposto al campo magnetico esterno. **I nuclei vanno quindi in risonanza.** Per fare avvenire queste transizioni occorrono fotoni con basse energie in quanto i ΔE sono abbastanza piccoli. I ΔE dipendono dal rapporto giromagnetico che è una caratteristica propria del nucleo in esame e dal valore del campo magnetico esterno. Quindi questi ΔE non hanno valori fissi ma dipendono dallo **strumento con cui lavoro** (dipendono dal campo magnetico applicato).

Condizione di Risonanza

The diagram shows the equation $\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$ centered within a light red square. Three arrows point from external text labels to parts of the equation: a teal arrow from the left points to the frequency symbol ν ; a red arrow from the top right points to the gyromagnetic ratio γ ; and a blue arrow from the bottom right points to the magnetic field B_0 .

frequenza della radiazione incidente che causa la transizione: frequenza di Larmor

rapporto giromagnetico

forza del campo magnetico

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$$

Affinché un nucleo vada in risonanza (transizione da stato alfa a stato beta) occorre che assorba un fotone di un'onda elettromagnetica (luce) che soddisfi la relazione di Larmor.

Frequenze di risonanza in un campo magnetico

17

I = spin nucleare, μ = momento magnetico nucleare, γ = rapporto giromagnetico

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi \quad \text{per } B_0 = 4.7 \text{ Tesla}$$

$$\gamma (^1\text{H}) \sim 4 \gamma (^{13}\text{C}) !$$

Nucleo	I	μ	γ (10^8 rad/Ts)	ν (MHz)*	Abbondanza isotopica naturale
^1H	1/2	2.79268	2.675	200.000	99.9844
^{13}C	1/2	0.70220	0.673	50.288	1.108
^{14}N	1	0.40358	0.193	14.447	99.635
^{19}F	1/2	2.6273	2.518	188.154	100.0
^{31}P	1/2	1.1305	1.083	80.961	100.0

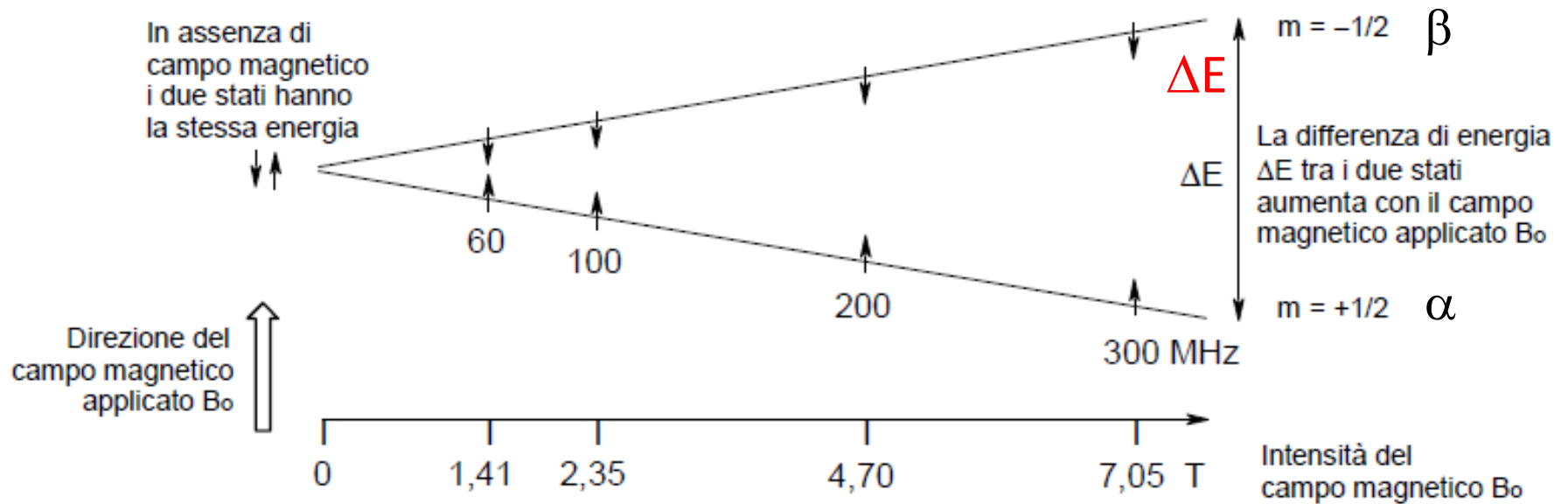
*frequenze di risonanza NMR in un campo magnetico applicato di 4.6975 Tesla

Frequenze di risonanza in un campo magnetico

18

Per lo stesso nucleo, la differenza di energia ΔE tra gli stati nucleari di spin aumenta con l'aumentare dell'intensità di B_0 . Ad esempio per i nuclei di ^1H a 4.70 T la frequenza di risonanza è 200 MHz mentre a 7 T è 300 MHz.

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



^1H

18

Frequenze di risonanza in un campo magnetico

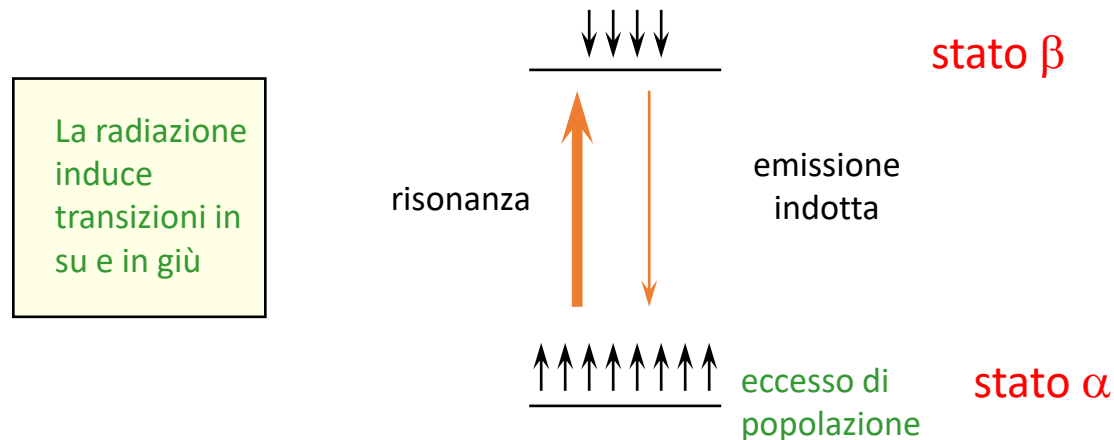
$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi$$

$$\gamma (^1\text{H}) = 4 \gamma (^{13}\text{C}) !$$

B_0 (Tesla)	ν ^1H (MHz)	ν ^{13}C (MHz)
1.4093	60	15.087
2.1139	90	22.629
2.3488	100	25.144
4.6975	200	50.288
9.3950	400	100.577
11.744	500	125.720
14.0923	600	150.864
17.616	750	188.580
18.790	800	201.154
21.128	900	226.296

Insieme di Nuclei: Popolazione degli stati di spin e intensità del segnale

- Il grande problema della spettroscopia NMR è la sua bassa sensibilità.
- L'intensità del segnale NMR è proporzionale alla differenza di popolazione tra i due stati di spin, che a sua volta è determinata da ΔE



Affinché si abbia un segnale, ci deve essere un **eccesso** di popolazione di spin sul livello inferiore.
Nel caso delle transizioni fra livelli di spin l'eccesso è piccolissimo.

Statistica di Boltzmann

- A temperatura ambiente, il numero degli spin che si dispone sul livello a energia minore (N^α), supera di poco il numero di quelli che occupano il livello a energia superiore, (N^β). La statistica di Boltzmann ci dice che :

$$\frac{N^\alpha}{N^\beta} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} = e^{-\frac{\gamma h}{2\pi kT} B_0}$$

ΔE = differenza di energia tra gli stati di spin

k = costante di Boltzmann = 1.3805×10^{-23} J/K

T è la temperatura in Kelvin

In NMR: $\Delta E \ll kT$ quindi $\Delta E/kT$ è vicino a 0

Tale rapporto è molto vicino all'unità, a meno di una quantità vicina a 10^{-5} – 10^{-6}

Statistica di Boltzmann

Esempio

*Le popolazioni possono essere calcolate dalla distribuzione di Boltzmann.
Ad es. per i **nuclei ^1H** in un campo da 11.7 T ("500 MHz"):*

$$\Delta E = 2.7 \cdot 10^8 \cdot 1.05 \cdot 10^{-34} \cdot 11.7 = 3.32 \cdot 10^{-25} \text{ J}$$

$$\text{per } T = 298 \text{ K} \quad \Delta E/kT = 3.32 \cdot 10^{-25} / (1.38 \cdot 10^{-23} \cdot 298) = 8 \cdot 10^{-5}$$

$$n_{\beta}/n_{\alpha} = \exp(-8 \cdot 10^{-5}) = 0.99992$$

$$n_{\alpha} = 50.002 \% \quad n_{\beta} = 49.998 \%$$

*Il segnale è dunque determinato dalla differenza di popolazione Δn , pari
allo 0.004 % dei nuclei attivi, cioè circa **40 su 1 milione**.*

Statistica di Boltzmann

Esempio

*Per i **nuclei** ^{13}C la situazione è decisamente peggiore poiché il rapporto giromagnetico è 1/4 di quello dei nuclei ^1H :*

per $T = 298 \text{ K}$

$$n_{\alpha} = 50.0005 \%$$

$$n_{\beta} = 49.9995 \%$$

$$\Delta n = 0.001 \%$$

Il segnale è dunque determinato dallo 0.001 % dei nuclei attivi, che però (essendo l'abbondanza isotopica naturale del ^{13}C l'1.1%) corrispondono a
1 atomo di carbonio ogni 10 milioni.

Intensità del segnale e sensibilità

- Il piccolo eccesso di popolazione dello stato fondamentale determina una bassa sensibilità strumentale
- ΔE e ΔN molto piccole (Distribuzione di Boltzmann).
- L' NMR è una tecnica intrinsecamente poco sensibile.
- ΔE e ΔN aumentano con B_0 , per cui la sensibilità migliora con B_0 più intensi

A parità di B_0 :

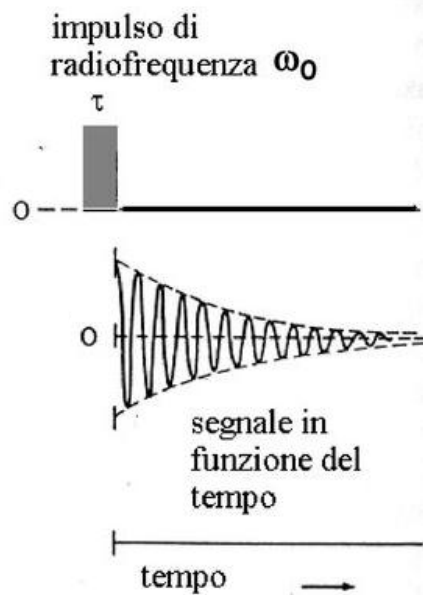
- La sensibilità varia a seconda del nucleo osservato, perché dipende da γ e dall'abbondanza isotopica.
- La sensibilità per il ^{13}C è molto minore che per ^1H per due ragioni:
 - a) il minore rapporto giromagnetico determina un minore ΔE e, quindi, un minore eccesso di popolazione tra i due stati; $\gamma(^1\text{H}) = 4 \gamma(^{13}\text{C})$
 - b) solo l'1.1% di carbonio è ^{13}C : $a(^1\text{H}) = 99.9\%$; $a(^{13}\text{C}) = 1.1\%$,

Registrazione di Spettri NMR

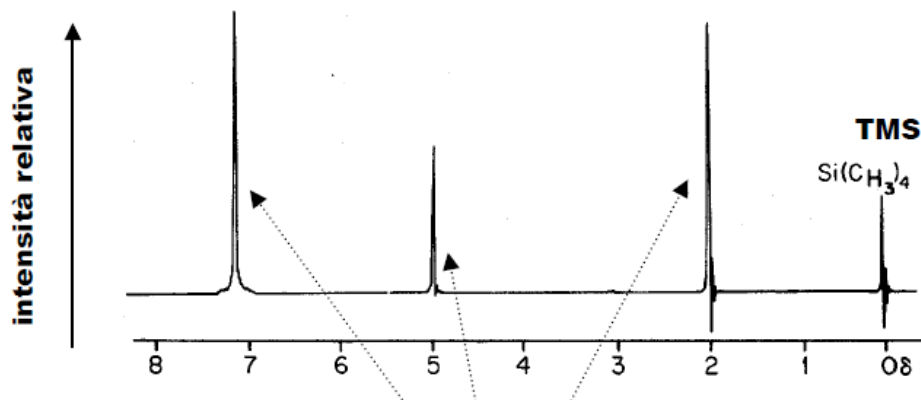
- **Metodo pulsato in FT.** (Trasformata di Fourier)

Il campione è irraggiato con un impulso di radiofrequenza e di durata τ molto breve (5-10 μs e diversi watt) di frequenza pari a quella di precessione del nucleo.

Si raccoglie un segnale in funzione del tempo che viene trasformato nello spettro in frequenza dalla trasformata di Fourier.

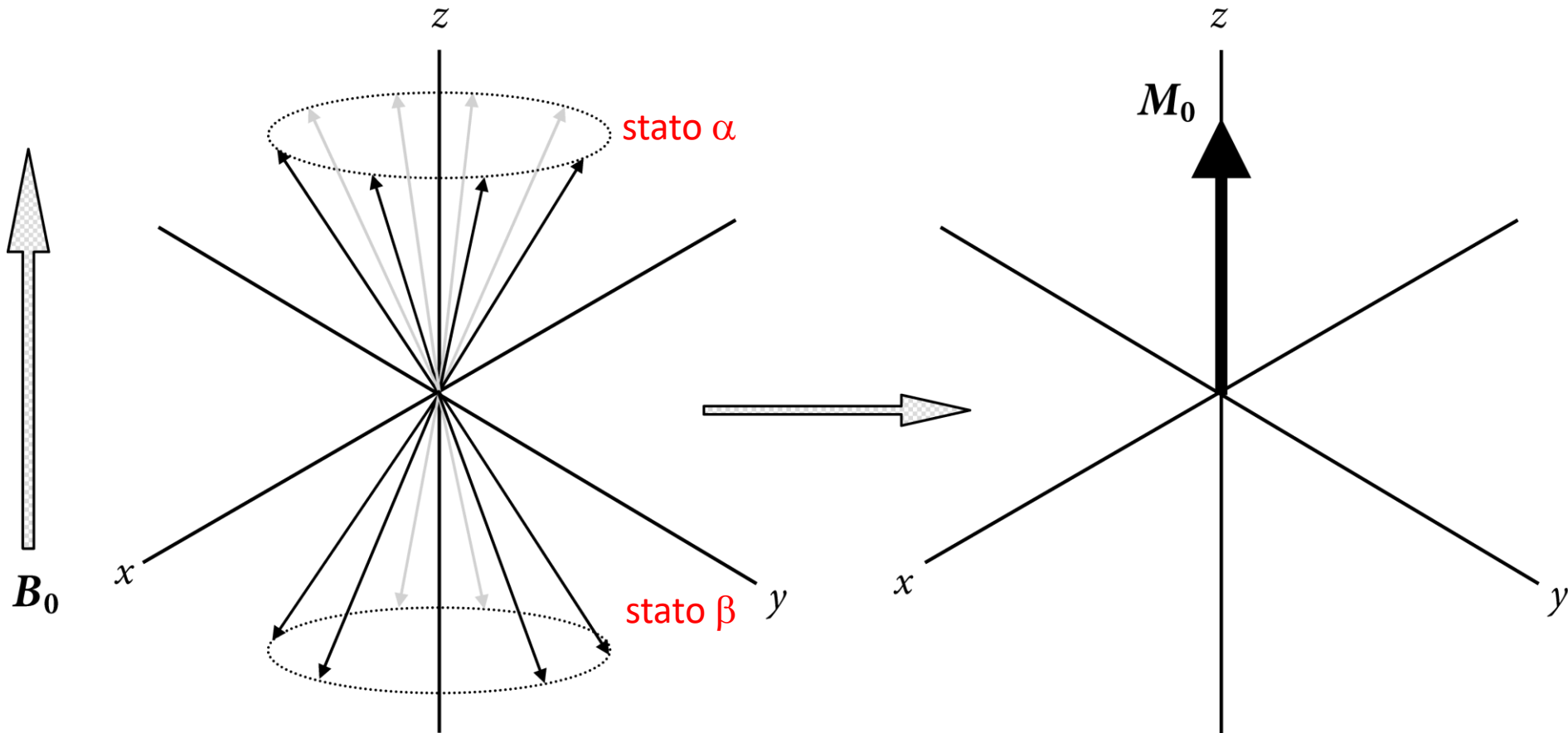


FT



Spettro NMR in funzione della «frequenza»

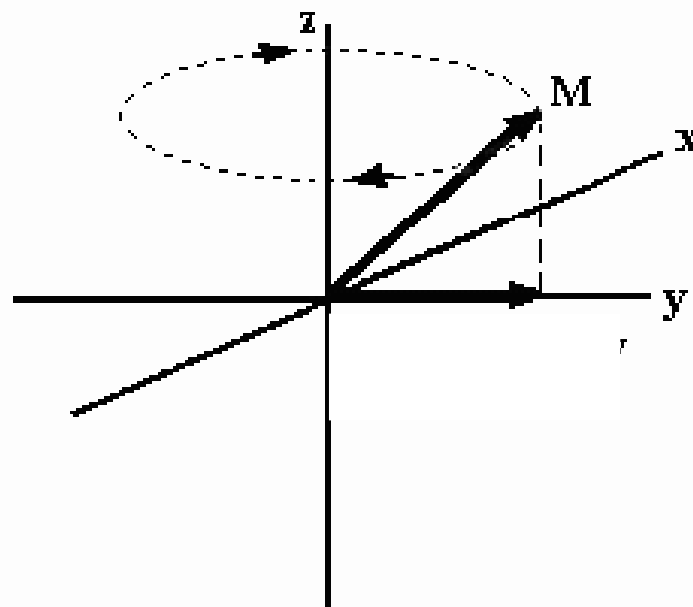
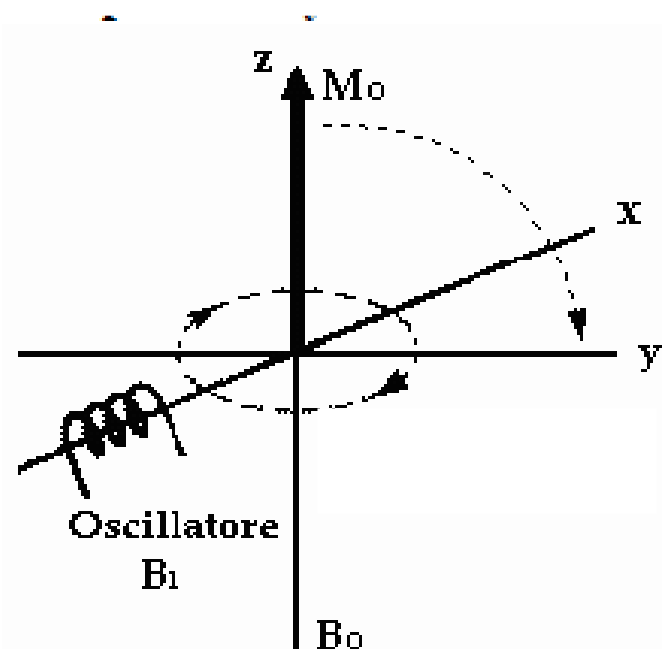
Insieme di nuclei in un CM esterno



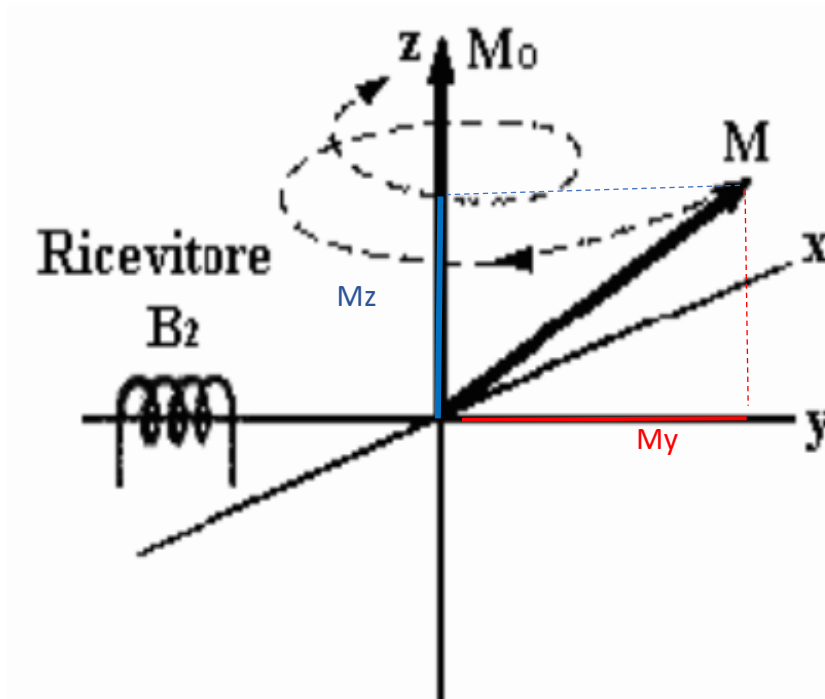
Il leggero eccesso di nuclei che si trovano allineati col campo magnetico B_0 (nello stato alfa) si somma vettorialmente in un vettore M_0 **Magnetizzazione macroscopica**. Il vettore M_0 è allineato col campo (asse z).

Vettore M_0 dopo l'impulso

- L'impulso (B_1 di frequenza ν_1) è impartito lungo x (perpendicolare al campo magnetico applicato) da parte di un oscillatore.
- M_0 ruota nel piano yz perpendicolare alla direzione di propagazione dell'impulso
- Con l'impulso a 90°_x si ottiene il segnale NMR massimo.



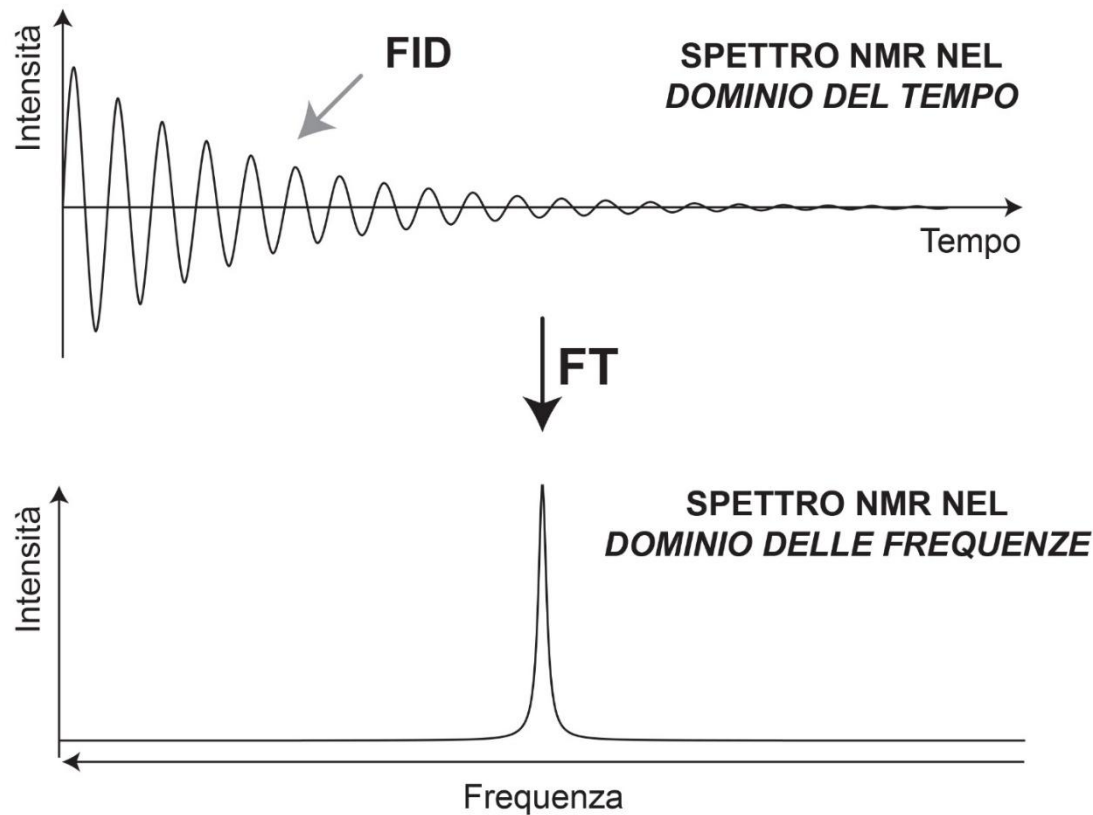
Rilassamento



- Il rilassamento è il ritorno allo stato fondamentale che avviene quando viene tolto l'impulso.
- M torna su z emettendo energia che viene rilevata da un ricevitore come un segnale elettrico variabile nel tempo

FID (Free Induction Decay)

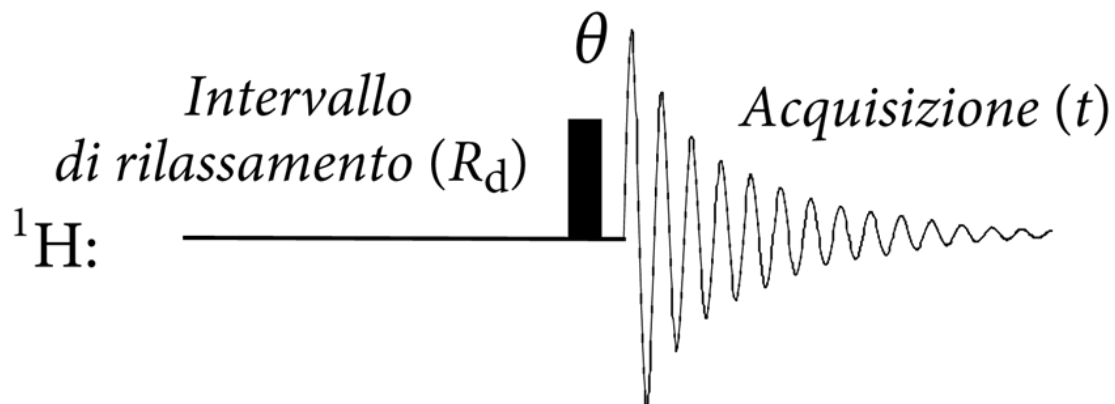
- Il campione, dopo l'impulso, emette energia sotto forma di un segnale chiamato FID (Free Induction Decay)
- E' una corrente oscillante in funzione del tempo.
- La trasformata di Fourier trasforma il FID (dominio tempo) in uno spettro (dominio frequenza)



Sequenza di impulsi

Al fine di aumentare la sensibilità della misura e migliorare rapporto segnale rumore si procede a registrare uno spettro NMR effettuando più scansioni o accumoli.

Schema di un esperimento NMR (del ^1H)



- Tale sequenza viene ripetuta più volte (scansioni o accumoli) e i FID sommati prima della FT
- Questo è necessario per migliorare il rapporto segnale /rumore (S/N)
- n_s = numero di scansioni

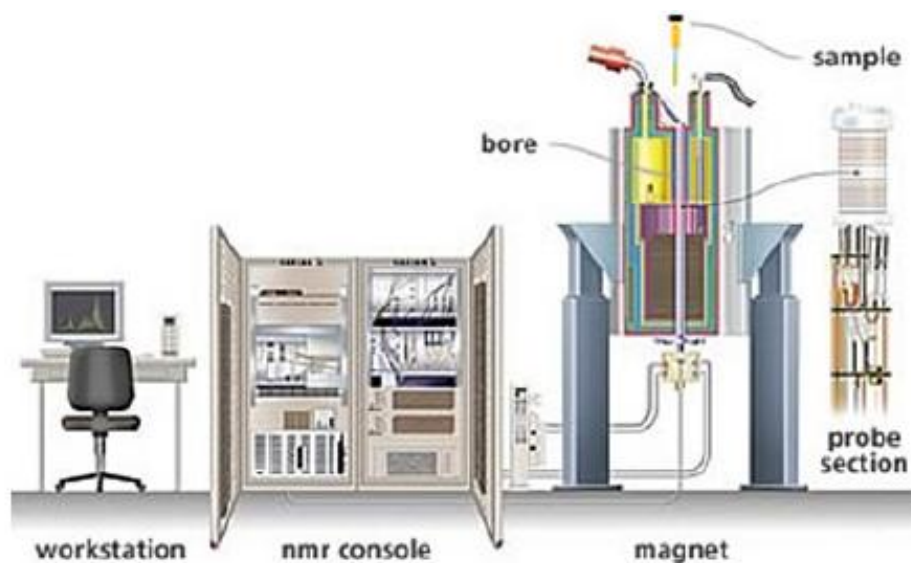
STRUMENTAZIONE

Strumento NMR ad impulsi o a trasformata di Fourier



Unità principali strumentazione NMR:

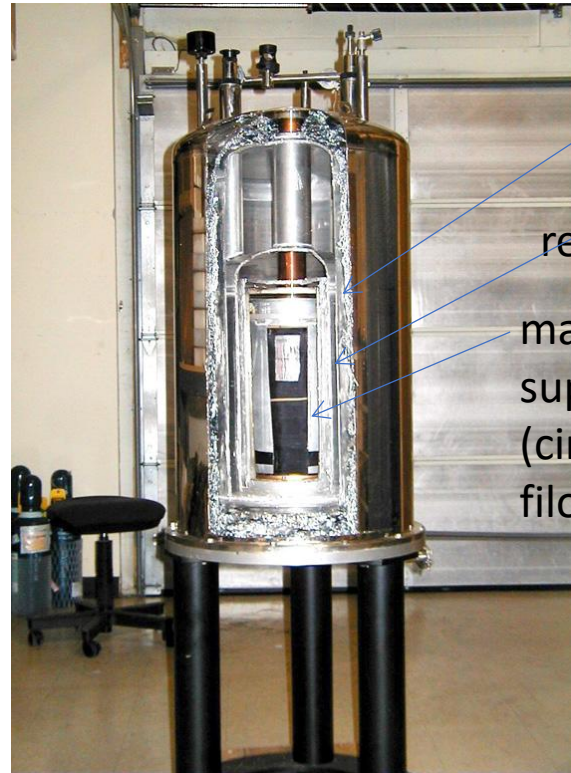
- Magnete superconduttore
- Console
- Workstation



La Console

- La console NMR ha il compito di produrre la radiazione elettromagnetica che poi interagisce con le molecole del campione all'interno del magnete.
- Inoltre, la console riceve la debole radiofrequenza emessa dal campione che, amplificata milioni di volte, è poi elaborata dalla workstation.

IL MAGNETE



recipiente N2 liquido (77 K)

recipiente He liquido (4 K)

magnete
superconduttore
(circa 19 Km di
filo)

Lo strumento contiene un magnete superconduttore (in genere fili di rame con all'interno leghe superconduttive). Questi magneti lavorano a temperature estremamente basse, in presenza di He liquido (4K). Per limitare al minimo le perdite di He liquido (estremamente costoso) si circonda questa camera con una seconda contenente azoto liquido.

Il Tubo NMR

La molecola organica viene sciolta in un opportuno solvente (deuterato) e inserita in un tubo NMR. Questo viene messo in uno spinner e inserito nella strumentazione per effettuare la misura

5 mm di diametro

forma esattamente cilindrica

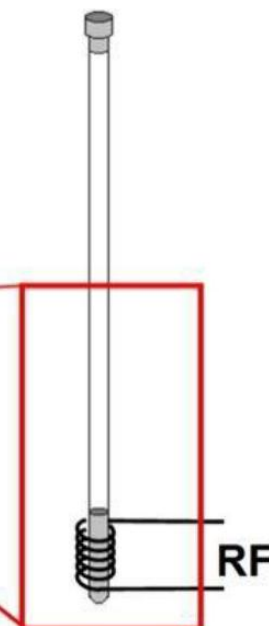
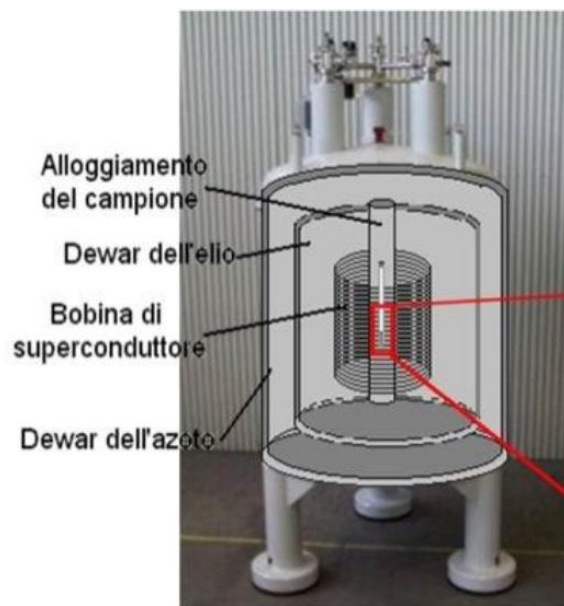
0.5 – 0.6 mL di soluzione



Misuratore
dell'altezza



Spinner



Solventi deuterati

- Cloroformio- d (CDCl_3) **il più usato**
- Alcol metilico- d_4 (CD_3OD)
- Acetone- d_6 (CD_3COCD_3)
- Dimetil solfossido- d_6 (CD_3SOCD_3)
- Ossido di deuterio, acqua deuterata (D_2O)
- Acido acetico- d_4 (CD_3COOD)