

Spettroscopia NMR

Momento magnetico

Si dice che un sistema costituisce un *dipolo magnetico* quando crea un campo magnetico. Un dipolo magnetico posto in un campo magnetico esterno \mathbf{B} possiede un'energia potenziale E che dipende dal suo orientamento rispetto a \mathbf{B} .

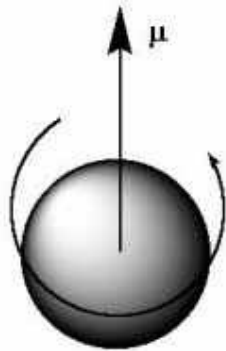
$$E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B} \cos \phi$$

dove $\boldsymbol{\mu}$ è il *momento magnetico* e ϕ l'angolo compreso tra i due vettori $\boldsymbol{\mu}$ e \mathbf{B} .

Quando $\boldsymbol{\mu}$ e \mathbf{B} sono paralleli ($\phi = 0^\circ$) l'energia del sistema è minima ($E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B}$), quando sono antiparalleli ($\phi = 180^\circ$) l'energia è massima ($E = \boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B}$), quando sono perpendicolari ($\phi = 90^\circ$) è nulla ($E = 0$).

Una corrente elettrica che fluisce in una spira, o una sfera carica che ruota, creano un campo magnetico, quindi sono assimilabili a dipoli magnetici e possiedono un *momento magnetico* $\boldsymbol{\mu}$.

La direzione e il verso del vettore $\boldsymbol{\mu}$ sono determinati dalla regola della mano destra.



Momento magnetico nucleare

I nuclei sono assimilabili a cariche ruotanti, quindi a dipoli magnetici.

Come tali:

a) creano un campo magnetico; possiedono un *momento magnetico di spin nucleare* μ .

Quantizzazione di μ . Il momento magnetico di spin nucleare μ è quantizzato attraverso il *numero quantico di spin nucleare I*, che può assumere un solo valore. Il valore di I è determinato dal valore di Z (numero atomico) e N (numero dei neutroni).

Per N e Z pari, $I = 0$;

per N e Z dispari $I = 1, 2, \dots$;

per (N + Z) dispari $I = \frac{1}{2}$.

Tra i nuclei più comuni,

^{12}C possiede $I = 0$,

$^2\text{H(D)}$ ha $I = 1$,

mentre

^{13}C e ^1H

hanno

$I = 1/2$.

L'orientazione μ rispetto a un asse arbitrario z può assumere solo $(2I + 1)$ valori. La proiezione di μ sull'asse z è quantizzata dal *numero quantico di spin* s , che può assumere valori da $-I \dots 0 \dots +I$.

Per $I = 0,$
 $s = 0,$
 $\mu_z = 0.$

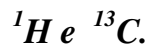
Il nucleo non possiede momento magnetico

Per $I = 1,$
 $s = +1, 0, -1.$

Sono possibili 3 orientazioni, parallela, antiparallela e perpendicolare all'asse z .

Per $I = 1/2,$
 $s = +1/2$ e $-1/2.$

Sono possibili due orientazioni



Questi nuclei hanno

$$I = 1/2,$$

quindi

$$s = +1/2$$
 e $-1/2.$

Sono possibili due valori per la proiezione di μ sull'asse z:

$$\mu_z = +1/2 \gamma (h/2\pi) \text{ (stato } \alpha \text{)}$$

e

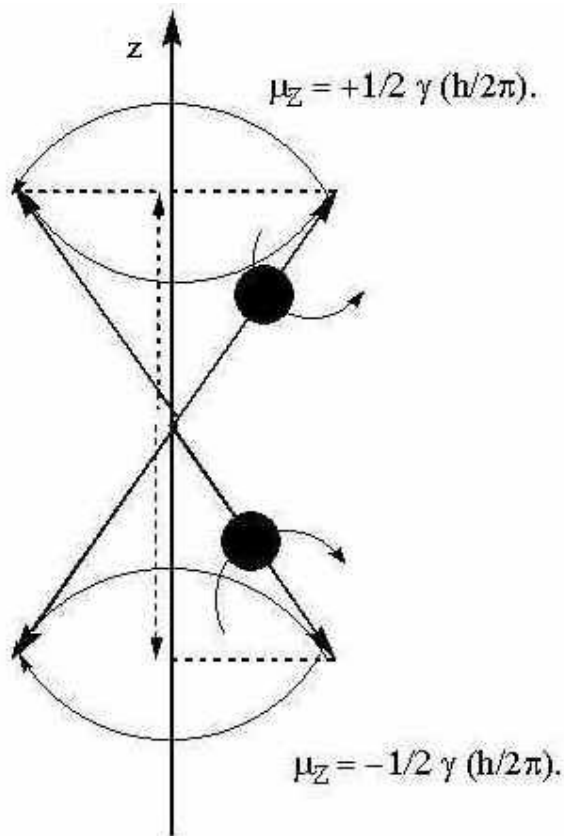
$$\mu_z = -1/2 \gamma (h/2\pi) \text{ (stato } \beta \text{)}$$

γ è chiamato *rapporto giromagnetico*;

il suo valore è una caratteristica del nucleo.

Poichè il verso di z è arbitrario, è arbitrario assegnare ad un nucleo lo stato α o β : i due stati sono degeneri.

I vettori μ_z formano tra loro un angolo di ca. 110° , quindi non sono mai allineati con l'asse z: i nuclei hanno un moto precessionale rispetto all'asse z.



Effetto Zeeman

Quando il nucleo (^1H o ^{13}C) è posto in un campo magnetico esterno B_0 viene ad assumere un'energia (energia di interazione di Zeeman) data da:

$$E = -\mu_z \cdot B_0$$

Sono possibili quindi due valori:

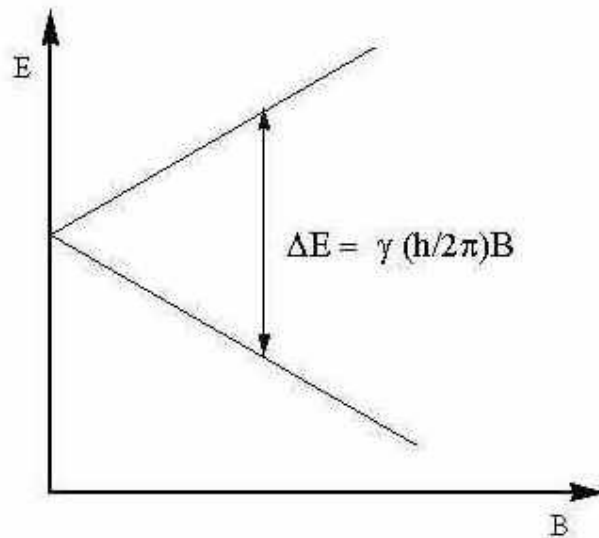
$$E = -1/2\gamma \cdot (\hbar/2\pi) B_0 \text{ (stato } \alpha; \mu_z \text{ è parallelo a } B_0 \text{ e l'interazione è stabilizzante)}$$

$$E = +1/2\gamma \cdot (\hbar/2\pi) B_0 \text{ (stato } \beta; \mu_z \text{ è antiparallelo a } B_0 \text{ e l'interazione è destabilizzante)}$$

In questa nuova situazione i due stati di spin α e β non sono più degeneri, poichè lo stato α , in cui i vettori proiezione momento magnetico e campo magnetico B sono paralleli, è più favorita rispetto allo stato β .

Si dice che il campo magnetico B_0 ha rimosso la degenerazione di spin.

La differenza di energia tra i due stati è $\Delta E = (\hbar/2\pi) \gamma B_0$.



Risonanza

Se si irradia la molecola con una radiazione elettromagnetica di frequenza ν , tale che $\Delta E = (h/2\pi) \gamma B_0 = h\nu$, avviene l'assorbimento di radiazione da parte della molecola per compiere la transizione da α a β (*risonanza*).

Campo di frequenza

Gli strumenti lavorano applicando campi magnetici dell'ordine di 50-100 kG. Anche a questi elevati valori di B_0 la differenza di energia tra i due stati α e β è piccola, per cui le transizioni avvengono per assorbimento di radiazioni elettromagnetiche ad energia molto bassa (campo delle radiofrequenze tra 200 e 400 MHz).

Probabilità di transizione e intensità del segnale

Dai principi generali della spettroscopia sappiamo che l'intensità di un segnale è determinato dalla probabilità di transizione, che è legata alla differenza di popolazione tra i due livelli.

Questa a sua volta è legata alla differenza di energia tramite l'equazione di Boltzmann

$$[(N_\beta/N_\alpha) = \exp(-\Delta E/kT)].$$

Poiché il ΔE è molto piccolo, la differenza di popolazione è molto piccola (eccesso di popolazione di 1 su $1 \cdot 10^4$ per il protone, 1 su $6 \cdot 10^5$ per il C^{-13}). Il piccolo eccesso di popolazione dello stato fondamentale determina:

1. bassa sensibilità strumentale . La sensibilità per il C^{-13} è molto minore che per il protone per due ragioni: a) il minore rapporto giromagnetico determina un minore ΔE e, quindi, un minore eccesso di popolazione tra i due stati; b) solo l'1.1% di carbonio è C^{-13} .

2. facilità di *saturazione del segnale*. La transizione tra i due stati di spin (risonanza) avviene in questo modo: i nuclei α assorbono fotoni per compiere la transizione da α a β ; contemporaneamente, i nuclei β vengono stimolati dalla radiazione ad emettere fotoni di uguale frequenza per compiere la transizione da β ad α (*emissione indotta*).

La probabilità con cui avvengono i due processi è uguale. L'intensità del segnale dipende dalla differenza tra fotoni assorbiti e fotoni emessi, a sua volta dipendente dalla differenza di popolazione tra i livelli α e β . Poiché il numero di nuclei α è maggiore di quelli β , sarà maggiore il numero di transizioni da α a β rispetto alle transizioni da β ad α ; questo determina il livellamento delle popolazioni e, quindi, scomparsa del segnale (*saturazione*). Fortunatamente, esistono modi di decadimento non-radiattivo da β ad α (*modi di rilassamento*) che tendono a ripristinare la popolazione di Boltzmann. E' necessario che la velocità di rilassamento sia sempre superiore alla velocità di assorbimento dei fotoni.

Intorno chimico e frequenza di risonanza

Le condizioni di risonanza si hanno quando si irradia il nucleo con una radiofrequenza

$$\nu_s = (\gamma/2\pi) B_s,$$

dove B_s è il valore di campo magnetico *sentito* dal nucleo.

Il *campo sentito* B_s è minore del *campo applicato* B_0 , poichè l'insieme dei nuclei e delle nuvole elettroniche che circondano il nucleo (*intorno chimico*) si comporta come uno schermo magnetico.

$$B_s = B_0 (1 - k),$$

dove k è una costante (*costante di schermo*) che dipende dall'intorno chimico del nucleo.

Le condizioni di risonanza non avvengono per

$$\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi,$$

ma per

$$\nu_s = \gamma B_s / 2\pi,$$

dove

$$\nu_s < \nu_0 \text{ perchè } B_s < B_0.$$

Siccome k è dell'ordine di 10^{-6} , la differenza $(B_0 - B_s)$ è dell'ordine dei ppm (parti per milione), così come la differenza $\nu_0 - \nu_s$.

Ossia, la frequenza di risonanza di un nucleo è minore di qualche ppm rispetto a quella teorica che si avrebbe non tenendo conto dello schermo magnetico esercitato dall'intorno chimico.

COROLLARIO

Siccome nuclei che occupano posizioni diverse in una molecola hanno intorni chimici diversi, il valore di k , e quindi di B_s , sarà diverso, quindi risuonano a frequenze diverse. La frequenza di risonanza sarà tanto maggiore quanto meno il nucleo è schermato. Lo spettro NMR sarà formato da tante righe quanti sono i protoni diversi (spettro H NMR) o i carboni diversi (spettro C NMR) nella molecola (vedremo poi che in realtà le righe possono avere una struttura fine, cioè essere splittate in più righe)

Spettri a campo costante e a frequenza costante

Per ottenere uno spettro (vedi Spettroscopia) è possibile lavorare a campo applicato costante B_0 facendo una scansione di radiofrequenza. Lo spettro sarà in questo caso un grafico intensità vs. frequenza ν (andando da destra a sinistra lungo l'asse delle ascisse la frequenza cresce; si dice che si va verso *frequenze alte*).

Alternativamente, è possibile registrare uno spettro a frequenza costante ν_0 facendo una scansione di campo. In questo modo le condizioni di risonanza avvengono quando il campo applicato B_{appl} è tale che

$$B_{\text{appl}} - k = B_s = B_0.$$

I nuclei risuoneranno a campi applicati B_{appl} tanto maggiori quanto più sono schermati. Lo spettro sarà in questo caso un grafico intensità vs. campo magnetico B (andando da destra a sinistra lungo l'asse delle ascisse dello spettro il campo cala; si dice che si va verso *campi bassi*).

Il Chemical Shift (δ)

In realtà, nella scala delle ascisse di uno spettro NMR non c'è mai né la frequenza di risonanza né il campo, ma la differenza espressa in ppm tra il campo (o la frequenza) a cui risuona un protone (o carbonio) e quello a cui risuona il protone (o carbonio) di una molecola campione (in genere, tetrametilsilano, TMS), che è preso come 0 della scala. Questa differenza si chiama *chemical shift* e si esprime in δ .

$$\delta_x = (\nu_x - \nu_{\text{TMS}}) / \nu_{\text{TMS}} = (B_{\text{TMS}} - B_x) / B_{\text{TMS}}$$

Con questa unità di misura il valore di risonanza di un nucleo è indipendente dal modo con cui si è ottenuto lo spettro (scansione di campo o di frequenza) e dal valore del campo applicato.

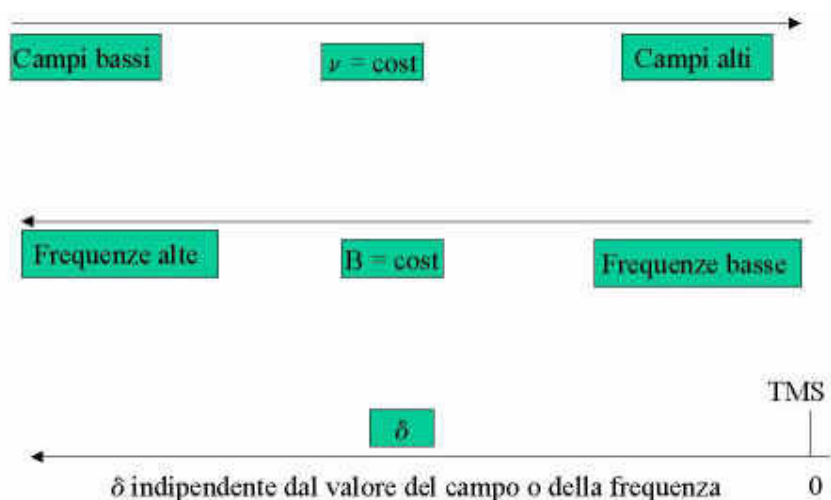
Come standard si usa il TMS perché

a) è molto volatile, quindi si può eliminare facilmente dal campione una volta registrato lo spettro;

b) fornisce un segnale senza struttura fine (singoletto); c) poiché il silicio ha un forte effetto schermante, qualsiasi protone o carbonio risuona a campi più bassi, o a frequenze più alte, dei protoni o del carbonio del TMS.

Quindi, tutti i valori di δ sono positivi rispetto a quello del TMS ($\delta = 0$).

Generalmente, tutti i protoni risuonano nell'intervallo $0 < \delta < 9$, tranne i protoni aldeidici e quelli carbossilici, che hanno δ ca. 9-12, mentre tutti i carboni risuonano nell'intervallo $0 < \delta < 250$.



Strumentazione

I campi magnetici sono generati da una corrente elettrica che gira nella spira di un superconduttore mantenuto alla temperatura dell'elio liquido (3 K).

I superconduttori hanno una resistenza nulla per cui gli elettroni possono percorrere la spira liberamente, generando un campo magnetico perfettamente costante.

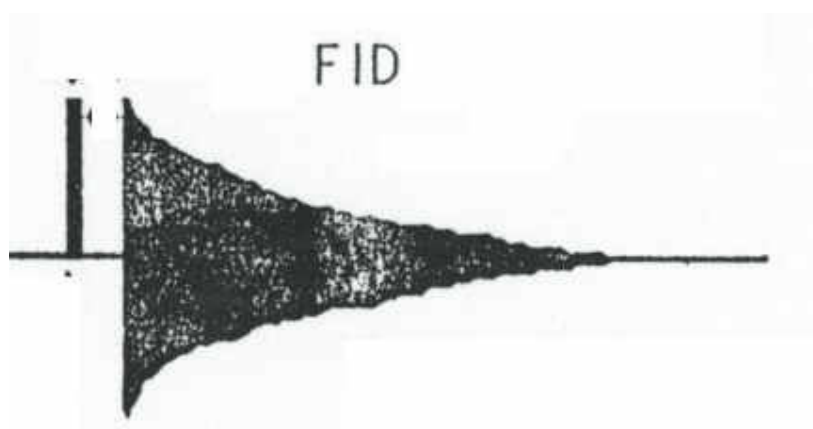
Sul campione da analizzare viene inviato un impulso di radiofrequenza (pochi msec) che copre una banda di radiofrequenze abbastanza grande da permettere a tutti i nuclei di risuonare contemporaneamente.

Terminato l'impulso, i nuclei tornano al loro stato originale (ripristino della popolazione di Boltzmann) disperdendo l'energia attraverso i meccanismi di rilassamento citati.

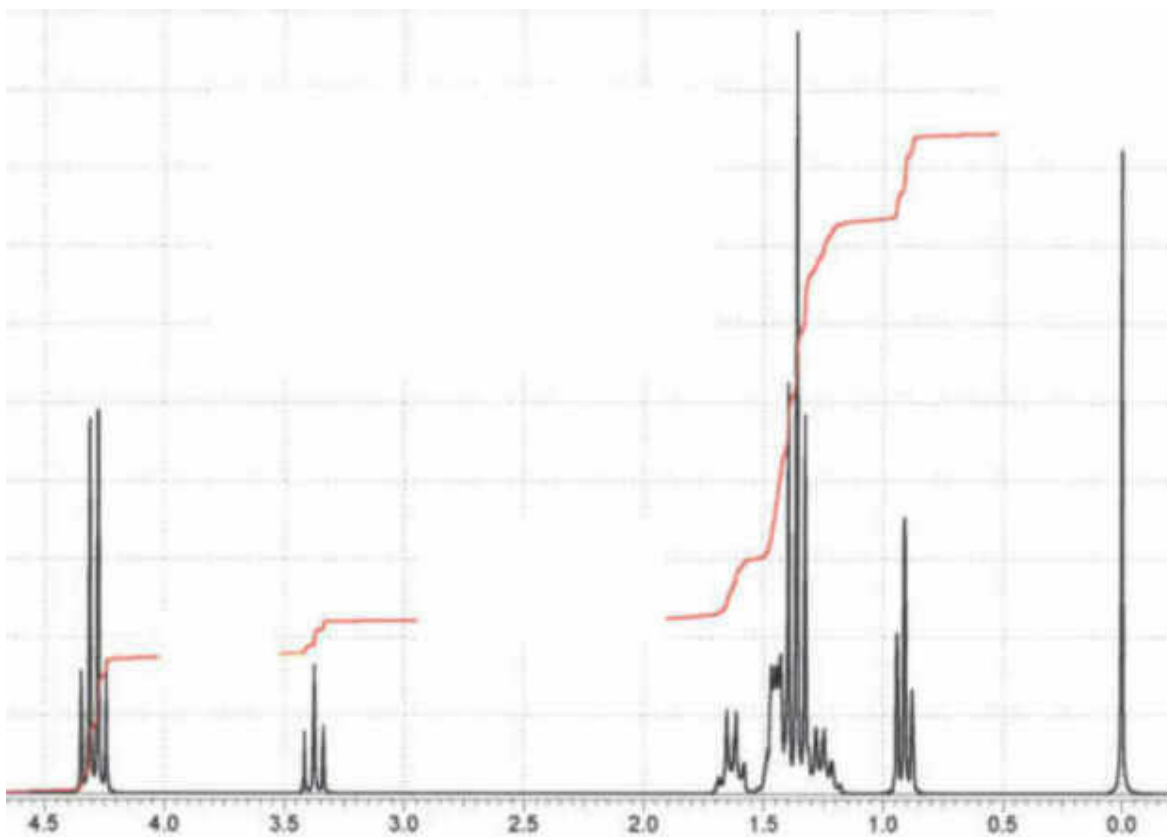
Durante questo processo si genera un segnale modulato che viene raccolto per circa 1 sec ed inviato al rivelatore dello strumento.

Il segnale così registrato (FID, Free Induction Decay) è rappresentato da un grafico che mette in relazione l'intensità del segnale in funzione del tempo.

Questo segnale contiene tutte le informazioni sulle frequenze di risonanza.



Attraverso un processo matematico (trasformata di Fourier, FT) il grafico intensità del segnale vs. tempo, $I_t = f(t)$, viene trasformato in un grafico intensità del segnale vs. frequenza, ossia nello spettro NMR.



Il campione viene preparato sciogliendo il prodotto da analizzare (5-20 mg) in un solvente deuterato (2-3 mL), in genere deuterocloroformio contenente lo 0.01% di TMS.

La soluzione è introdotta in un tubo (L=18 cm, i.d.=3mm) che viene posto nella cavità (probe) dello strumento, al centro del campo magnetico.

Il tubo è mantenuto in agitazione mediante un flusso di azoto. Dopo aver aggiustato i parametri strumentali per ottimizzare la risoluzione, si invia l'impulso in radiofrequenza e si acquisisce la FID, che viene automaticamente convertita in spettro.

