

# Basi teoriche della Spettroscopia NMR

## Premessa

La Spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) è una tecnica analitica molto potente che permette di ottenere dettagliate informazioni sulla struttura molecolare dei composti in esame.

La spettroscopia NMR misura l'assorbimento di radiazione elettromagnetica in molecole immerse in un forte campo magnetico. Questo assorbimento avviene ad opera dei nuclei di particolari atomi (tipicamente  $^1\text{H}$  o  $^{13}\text{C}$ ).

Quindi con l'NMR si esaminano direttamente i nuclei atomici e non gli elettroni. Ogni informazione sull'intorno chimico viene dedotta osservando il comportamento dei nuclei atomici.

## Spin nucleare

Sono osservabili all'NMR solo i nuclei che hanno un momento magnetico nucleare di spin  $m$ , e che quindi si comportano come l'ago di una bussola che si può orientare in un campo magnetico applicato. Il momento magnetico nucleare di spin  $m$  è legato allo spin nucleare  $I$  dalla relazione  $m = \gamma I h/2\pi$

dove  $\gamma$  è il rapporto giromagnetico,  $I$  è il numero quantico di spin nucleare,  $h$  è la costante di Planck.

Lo spin nucleare viene prodotto dalle particelle che costituiscono il nucleo, **protoni** e **neutroni**. Queste si comportano come se fossero in rotazione (spin) attorno al loro asse e hanno **spin 1/2**.

In molti atomi (come nel  $^{12}\text{C}$ ) gli spin sono tutti appaiati, uno in opposizione all'altro e quindi si annullano reciprocamente e il nucleo atomico ha uno spin risultante  $I$  uguale a zero. In alcuni atomi, però (come in  $^1\text{H}$  e in  $^{13}\text{C}$ ), il nucleo possiede uno spin risultante  $I$  diverso da zero. Le regole per determinare lo spin nucleare si possono così riassumere:

- 1) Se i **protoni** e i **neutroni** sono **entrambi pari**, allora il nucleo ha **spin zero**.
- 2) Se i **protoni** e i **neutroni** sono **gli uni pari e gli altri dispari**, allora il nucleo ha **spin semi intero** ( $1/2, 3/2, 5/2, \dots$ ).
- 3) Se i **protoni** e i **neutroni** sono **entrambi dispari**, allora il nucleo ha **spin intero** ( $1, 2, 3, \dots$ ).

Rientrano nel primo caso  $^{12}\text{C}$  e  $^{16}\text{O}$  che hanno  $I = 0$  e quindi **non hanno** momento magnetico di spin e **non** sono osservabili all'NMR.

Rientrano nel secondo caso  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  e  $^{15}\text{N}$  che hanno  $I = 1/2$  e quindi sono osservabili all'NMR.

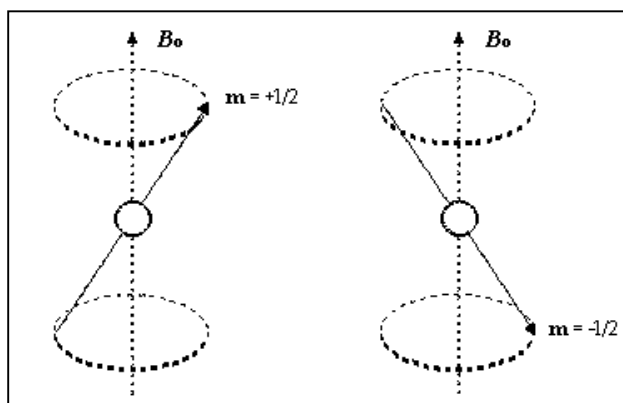
Rientrano nel terzo caso  $^2\text{H}$  e  $^{14}\text{N}$  che hanno  $I = 1$  e quindi anche questi sono osservabili all'NMR.

## Livelli energetici in un campo magnetico

Quando un nucleo dotato di spin viene immerso in un campo magnetico, si comporta come l'ago di una bussola, è sottoposto ad una coppia di forze che lo fanno ruotare per allinearlo col campo magnetico esterno.

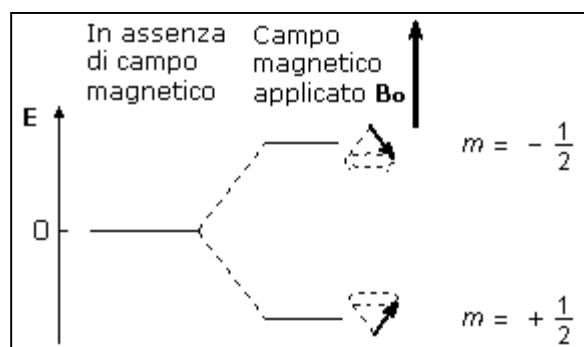
Le possibili orientazioni che il nucleo può assumere in un campo magnetico sono governate dal numero quantico  $m$  che può assumere i valori da  $-I$  a  $+I$  (con incrementi di una unità) e quindi può assumere  $2I+1$  valori diversi. Nel caso di un nucleo con spin  $1/2$  (come  $^1\text{H}$ ) ci sono due possibili orientazioni:

una con  $m = -1/2$  e una con  $m = +1/2$ .



Il momento magnetico nucleare  $\mathbf{m}$  non sta fermo, ma continua ad oscillare attorno al campo magnetico applicato  $\mathbf{B}_0$  compiendo un moto di precessione simile a quello di una trottola.

I due stati possibili del nucleo non hanno la stessa energia, ma lo stato con  $m = +1/2$  (allineato con il campo) si trova ad energia leggermente più bassa di quello con  $m = -1/2$  (opposto al campo)

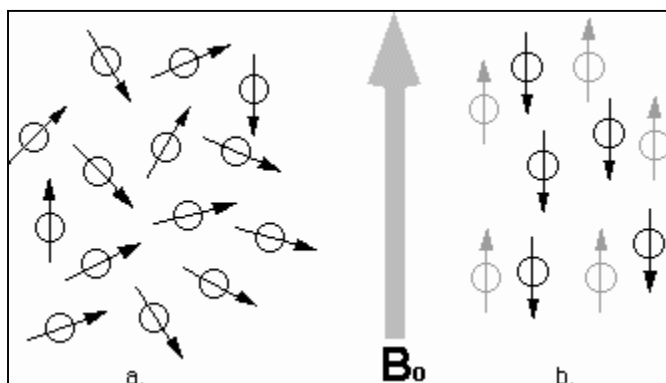


Il moto di precessione dei momenti magnetici nucleari avviene con una frequenza  $\nu$  proporzionale alla differenza di energia tra i due livelli detta **frequenza di Larmor** data dalla formula

$$\nu = \gamma B_0 / 2\pi \quad (\text{in Hertz})$$

dove  $\gamma$  è il rapporto giromagnetico che dipende dal nucleo in esame. All'aumentare del campo applicato  $\mathbf{B}_0$ , aumenta la frequenza di Larmor e quindi la differenza di energia tra i livelli.

Poichè la differenza di energia tra i due livelli è piccolissima, dell'ordine di  $9 \cdot 10^{-6} \text{ kcal mol}^{-1}$ , la popolazione di nuclei nei due stati è praticamente identica con una piccolissima prevalenza per lo stato a bassa energia allineato con il campo. A temperatura ambiente, in un campo magnetico di 1.41 Tesla (60 MHz) abbiamo un nucleo in più nello stato di bassa energia ogni duecentomila nuclei, in un campo di 7.05 Tesla (300MHz) abbiamo 5 nuclei in più nello stato di bassa energia ogni duecentomila nuclei.



Eppure sono proprio questi pochi nuclei in eccesso allineati con il campo magnetico  $\mathbf{B}_0$  quelli che permettono di generare il segnale NMR.

Si noti che con un campo magnetico più intenso (7.05 T) c'è una maggiore differenza di energia tra i livelli e quindi una maggiore frequenza di Larmor (300 MHz) e un maggior numero di nuclei in più allineati con il campo (5 su duecentomila) e quindi una maggiore sensibilità nell'analisi NMR.

### Assorbimento di energia

Se il campione viene irradiato con una radiazione elettromagnetica di frequenza uguale alla frequenza di Larmor, ci sarà una interazione della componente magnetica della radiazione con i momenti magnetici nucleari (anche questi oscillanti alla frequenza di Larmor). L'energia della radiazione potrà così essere trasferita ai nuclei. Ogni assorbimento di radiazione comporta un **cambiamento di orientazione dello spin nucleare** che ruoterà da allineato con il campo ad opposto al campo. Quando si verifica questa transizione di spin, si dice che i nuclei sono in risonanza con la radiazione applicata, da qui il nome di **Risonanza Magnetica Nucleare, NMR**.

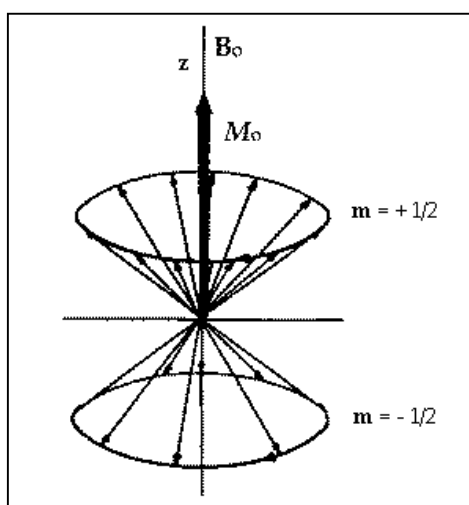
Anche nello stato di massima eccitazione, la popolazione dei nuclei nei due livelli permessi sarà circa uguale, data la piccolissima differenza di energia tra i livelli. Lo stato eccitato sarà solo leggermente più popolato di quello fondamentale con un rapporto di popolazioni invertito, cioè, in un campo di 7.05 Tesla (300MHz) ci potranno essere 5 nuclei in più nello stato di alta energia ogni duecentomila nuclei.

### Produzione del segnale NMR

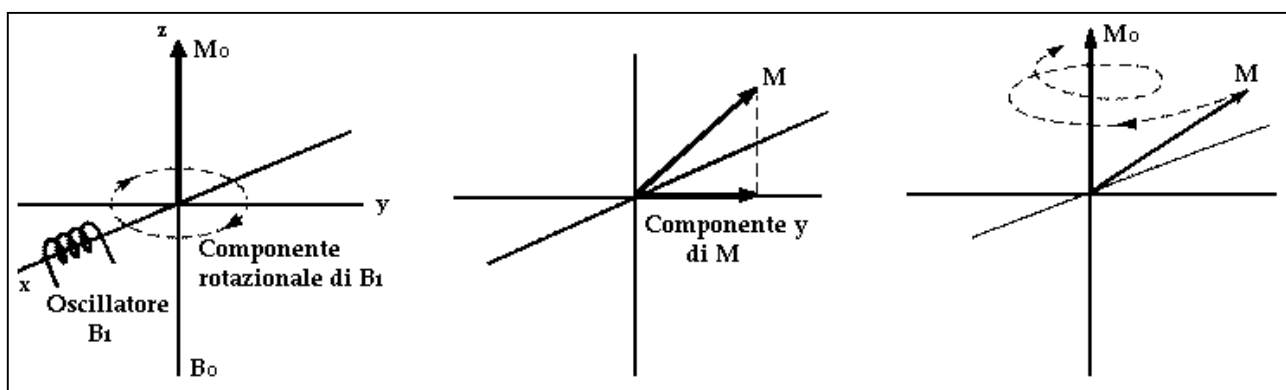
Il segnale NMR negli strumenti più moderni viene generato con il **metodo ad impulso**.

Con questa tecnica tutti i nuclei di una specie vengono eccitati contemporaneamente da un impulso di radiofrequenza che contiene tutto l'intervallo di frequenze necessario.

Per capire come l'impulso di radiofrequenza interagisce con i nuclei in esame dobbiamo introdurre un vettore chiamato Magnetizzazione Macroscopica  $M_0$  che è la risultante di tutti i momenti magnetici nucleari. Dato che esiste un leggero eccesso di nuclei che si trovano allineati col campo magnetico  $B_0$ ,  $M_0$  sarà piccolo e allineato col campo. Indichiamo questa direzione come asse  $z$ .



Se ora il campione viene irradiato lungo l'asse  $x$  con un impulso di radiofrequenza che contiene anche la frequenza  $\nu$  di Larmor dei nuclei in esame (ad es  $^1\text{H}$ ), i nuclei assorbiranno energia e subiranno una transizione di spin. A livello macroscopico si osserva che il vettore Magnetizzazione Macroscopica  $M_0$  ruota allontanandosi dall'asse  $z$  per avvicinarsi al piano  $xy$  iniziando un moto di precessione attorno all'asse  $z$ .



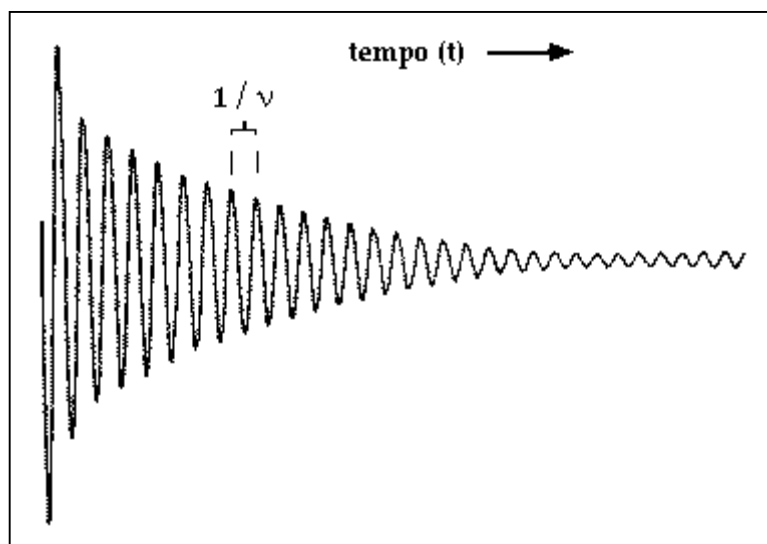
A questo punto l'impulso di radiofrequenza cessa ed entra in funzione un circuito ricevente che ha lo scopo di misurare l'oscillazione della componente  $y$  del vettore  $M$ . E' un po' come se, dopo aver gridato di fronte a una parete rocciosa, restassimo in silenzio per ascoltare l'eco.

L'energia assorbita dai nuclei viene lentamente ceduta agli atomi vicini a causa di fenomeni detti di **rilassamento** e il vettore  $M$ , compiendo delle spirali di precessione attorno all'asse  $z$ , si riporta al valore iniziale  $M_0$ , posizione per la quale la componente  $M_y$  vale zero.

La durata  $t(p)$  dell'impulso di radiofrequenza deve essere determinata con precisione per produrre un forte segnale NMR. Se  $t(p)$  è tale da piegare  $M_0$  di  $90^\circ$ , allora si produrrà il vettore  $M_y$  massimo. In genere  $t(p)$  è di alcuni microsecondi.

Il segnale raccolto è un segnale oscillante con frequenza  $n$ , la frequenza di Larmor del nucleo in esame, che si smorza nel tempo e che viene detto **FID** (Free Induction Decay), **libero decadimento dell'induzione**.

In figura è illustrato il FID del  $\text{CH}_3\text{I}$  per l'atomo di idrogeno.

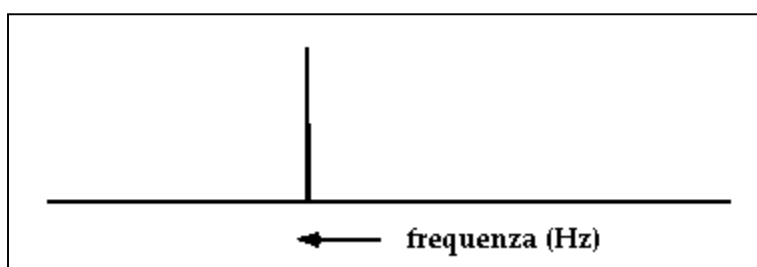


Dato che nella molecola  $\text{CH}_3\text{I}$  gli idrogeni sono equivalenti, avranno tutti la stessa frequenza di risonanza. Nel grafico questa frequenza è facilmente individuabile misurando la lunghezza d'onda (la distanza tra due creste successive) e calcolandone il reciproco, secondo la formula:

$$n = 1 / l$$

dove  $n$  è la frequenza e  $l$  la lunghezza d'onda.

Si ottiene così il seguente grafico in funzione delle frequenze, chiamato **spettro NMR**, che mostra la frequenza assorbita dagli atomi di idrogeno nella molecola  $\text{CH}_3\text{I}$ :



Se il campione contiene nuclei con differenti frequenze di risonanza, questi vengono tutti eccitati contemporaneamente dall'impulso di radiofrequenza e quindi il segnale raccolto sarà una curva complessa, chiamata **interferogramma**, data dalla combinazione di più FID semplici, uno per ogni frequenza assorbita dai nuclei.

Per poter risalire alle singole frequenze che combinandosi tra loro hanno generato il tracciato complesso, è necessario applicare una procedura matematica detta **Trasformata di Fourier** che permette di passare dal grafico in funzione del tempo, il FID, al grafico in funzione delle frequenze, lo spettro NMR.