

RMN

• región de radiofrecuencias

• para que en los núcleos se formen los estados de energía que hagan posible la absorción, es necesario colocar el analito en un intenso campo magnético

Base: absorción de radiación electromagnética de RF ($\nu = 4-900 \text{ MHz}$, $E = 10^{-6} \text{ kJ/mol}$)

Involucrados: núcleos de los átomos

Necesario: campo magnético intenso para que aparezcan los estados energéticos de los núcleos

Utilidad: elucidación de estructuras químicas y aplicaciones cuantitativas

Bases Teóricas

1924 W. Pauli, sugiere que ciertos núcleos atómicos deberían tener propiedades de espín y momento magnético, y expuestos a un campo magnético desdoblarían sus niveles de energía

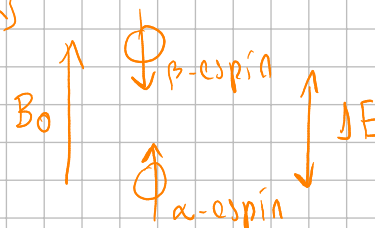
1952 premio Nobel a Bloch & Purcell demostraron que los núcleos en un campo magnético intenso absorben radiación electromagnética, como consecuencia del desdoblamiento de niveles de energía inducido por el campo magnético.

1957* la frecuencia de absorción (ν) depende del entorno

Tipos de espectrómetros de RMN

*de onda continua (CW)

*de Transformada de Fourier (FT/NMR) o de impulsos



el entorno molecular influía en la absorción de la radiación de radiofrecuencia (RF) por parte de un núcleo en un campo magnético, y que este efecto se podía correlacionar con la estructura molecular

Principio General

Núcleos con un número impar de protones, neutrones, o ambos, tendrán un momento nuclear angular intrínseco o "espín nuclear".

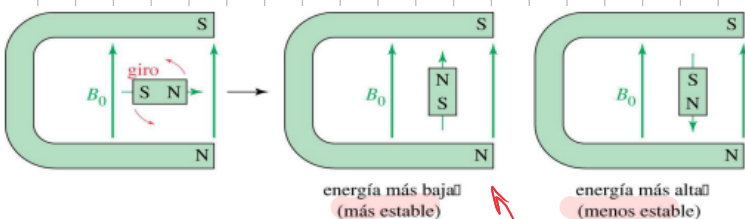
Número de protones	Número de Neutrones	Numero cuantico de espín (I)	Ejemplos
Par	Par	0	^{12}C , ^{16}O , ^{32}S
Impar	Par	1/2	^1H , ^{19}F , ^{31}P
Impar	Impar	3/2	^{11}B , ^{35}Cl , ^{79}Br , ^{127}I
Impar	Impar	1	^2H , ^{14}N

no son activos en espectroscopia RMN

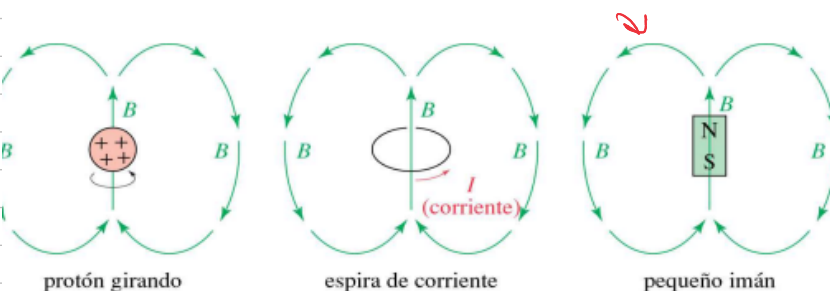
si lo son

Un protón girando genera un campo magnético, conocido como su momento magnético.

Este campo magnético (B) se asemeja al de una barra magnética pequeña.



Se observa el mismo efecto cuando un protón se sitúa en un campo magnético externo, el protón se alinear con o en contra del campo



Un número impar de protones en el núcleo crea un espín nuclear.

El espín nuclear genera un pequeño campo magnético denominado momento magnético.

La visualización del momento magnético como un minúsculo imán ayudará a comprender mejor lo que está ocurriendo en el nivel atómico.

Teoría de la RMN

• Tanto la mecánica clásica como la mecánica cuántica resultan útiles para explicar el fenómeno de la resonancia magnética nuclear

Sin embargo, la mecánica cuántica proporciona una relación útil entre las frecuencias de absorción y los estados de energía de los núcleos, mientras que la mecánica clásica proporciona una descripción física clara del proceso de absorción y de la forma de medirlo

Descripción cuántica

es necesario suponer que los núcleos giran alrededor de un eje y por consiguiente tienen la propiedad de espín.

Momento angular p

Cuantizado, múltiplo entero o semientero de $(h/2\pi)$

$$p = I h/2\pi$$

Los núcleos con espín tienen una cantidad de movimiento angular o momento angular p .

esta cantidad de movimiento angular o este momento angular está cuantizado y debe ser un

múltiplo entero o semientero de $h/2\pi$, donde h es la constante de Planck.

Número máximo de valores de p

depende de su número cuántico de espín I

$$2I + 1$$

El número máximo de componentes de espín o valores de p para un núcleo en particular es su número cuántico de espín I .

El núcleo entonces tiene $2I + 1$ estados discretos.

El componente de la cantidad de movimiento angular de estos

estados en cualquier dirección elegida tendrá los valores de

Valores $I, I-1, I-2, \dots, -I$

para $I = \frac{1}{2} \rightarrow \text{estados} = 2 \cdot \frac{1}{2} + 1 = 2 \rightarrow \frac{1}{2} \text{ y } -\frac{1}{2}$

En ausencia de campo magnético externo = E

Momento magnético $\mu = \gamma p = \gamma I h/2\pi$

Si no hay un campo externo, la energía de los distintos estados es idéntica.

Un núcleo cargado y que gira crea un campo magnético. El momento magnético resultante μ se orienta a lo largo del eje del espín y es proporcional a la cantidad de movimiento angular p .

γ constante o relación giromagnética característica de cada núcleo

Estados cuánticos magnéticos $m = I, I-1, I-2, \dots, -I$

$$\mu = \gamma p$$

La relación entre el espín nuclear y el momento magnético conduce a una serie de estados cuánticos magnéticos observables m dados por

estados cuánticos magnéticos y niveles de energía

Cuando un núcleo con un número cuántico de espín de $1/2$ se somete a un campo magnético externo B_0 , su momento magnético se orienta en una de las dos direcciones posibles respecto al campo, en función de su estado cuántico magnético.

La energía potencial E de un núcleo en estas dos orientaciones o estados cuánticos viene dada por

$$m = I, I-1, I-2, \dots, -I$$

$$m = +1/2 \text{ y } m = -1/2$$

Energía en cada estado

Cuando $m = +1/2$

Energía potencial

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

$$p = I h/2\pi$$

$$\mu = \gamma p = \gamma I h/2\pi$$

$$E_{+1/2} = - \frac{\gamma(+1/2)h}{2\pi} B_0 = - \frac{\gamma h}{4\pi} B_0$$

donde $\gamma \Rightarrow$ relación giromagnética
 $m \Rightarrow$ número cuántico magnético
 $h \Rightarrow$ constante de Planck
 $B_0 \Rightarrow$ campo magnético externo

$$E_{-1/2} = - \frac{\gamma(-1/2)h}{2\pi} B_0 = \frac{\gamma h}{4\pi} B_0$$

$$\Delta E = E_{\text{estado alto}} - E_{\text{estado bajo}} = E_{-1/2} - E_{+1/2}$$

$$\Delta E = (\gamma h B_0 / 4\pi) - (- \gamma h B_0 / 4\pi)$$

$$\Delta E = h \nu = \frac{\gamma h}{2\pi} B_0 \text{ así } \nu = (\gamma B_0) / 2\pi$$

frecuencia de Larmour

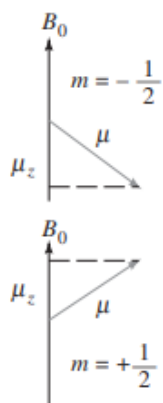
Condición de Resonancia
= frecuencia de la radiación

Las transiciones entre estados de energía se pueden lograr por absorción o emisión de radiación electromagnética de una frecuencia ν_0 que corresponde en energía a ΔE .

Por tanto, si se sustituye la relación de Planck $\Delta E = h \nu_0$, se obtiene la frecuencia de la radiación necesaria para producir la transición

la frecuencia de una transición magnética es proporcional a la intensidad del campo aplicado B_0

Momentos magnéticos



Energías

Misma energía

Campo aplicado B_0

$$E = \frac{\gamma \hbar}{4\pi} B_0$$

$m = -\frac{1}{2}$

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

$$E = -\frac{\gamma \hbar}{4\pi} B_0$$

$m = +\frac{1}{2}$

Sin campo

diferencia de energía

cuando irradian la muestra con una frecuencia tal que me de la diferencia de energía entre los dos estados, esa es la frecuencia de absorción de los núcleos en menos energía a mayor energía

TABLA 19-1. Propiedades magnéticas de cuatro importantes núcleos que tienen un número cuántico de espín de 1/2

Núcleo	Relación giromagnética (radian $T^{-1} s^{-1}$)	Abundancia isotópica, %	Sensibilidad relativa ^a	Frecuencia de absorción, MHz ^b
1H	$2,6752 \times 10^8$	99,98	1,00	200,00
^{13}C	$6,7283 \times 10^7$	1,11	0,016	50,30
^{19}F	$2,5181 \times 10^8$	100,00	0,83	188,25
^{31}P	$1,0841 \times 10^8$	100,00	0,066	81,05

^a A campo constante para igual número de núcleos.

^b A una intensidad de campo de 4,69 T.

$$1T = 10^4 G = kg s^{-2} A^{-1}$$

$$1T = 1 Wb m^{-2} = 1 kg \cdot s^{-2} \cdot A^{-1} = 1 kg \cdot C^{-1} \cdot s^{-1}$$

Distribución de partículas entre los estados cuánticos magnéticos

A falta de un campo magnético, las energías de los estados cuánticos magnéticos de un núcleo son idénticas. Por consiguiente, un conjunto grande de protones contiene un número idéntico de núcleos con números cuánticos magnéticos $m = 1/2$ y $m = -1/2$.

↪ Pero cuando se colocan en un campo magnético, los núcleos tienden a orientarse de modo que predomine el estado de energía menor ($m = 1/2$).

Para saber que cantidad hay de uno y del otro se usa la ecuación de Boltzmann

$$\frac{N_j}{N_0} = \exp\left(\frac{-\Delta E}{kT}\right)$$

$$= \exp\left(\frac{-h\nu}{kT}\right)$$

N_j es el número de protones en el estado de mayor energía ($m = -1/2$),

N_0 es el número en el estado de menor energía ($m = 1/2$),

k es la constante de Boltzmann $1,38 \times 10^{-23} J K^{-1}$

T es la temperatura absoluta y

ΔE está definida por la ecuación ya vista

Se demuestra que el número relativo de núcleos de baja energía en exceso está linealmente relacionado con la intensidad del campo magnético.

↪ Por tanto, la intensidad de una señal de resonancia magnética nuclear aumenta linealmente cuando aumenta la intensidad del campo

Si las cantidades de núcleos en los dos estados fueran idénticas, no se observaría ninguna absorción neta porque la cantidad de partículas excitadas a causa de la radiación sería exactamente igual a la cantidad que produce emisión inducida.

EJEMPLO 19.2

Calcule la cantidad relativa de protones en los estados magnéticos de mayor y de menor energía cuando una muestra se coloca en un campo de 4.69 T a 20°C.

Solución

Si se sustituyen los valores numéricos en la ecuación 19.7 se obtiene

$$\frac{N_j}{N_0} = \exp\left(\frac{-(2.68 \times 10^8 T^{-1} s^{-1})(6.63 \times 10^{-34} J \cdot s)(4.69 T)}{2\pi(1.38 \times 10^{-23} J K^{-1})(293 K)}\right)$$

$$= e^{-3.28 \times 10^{-5}} = 0.999967$$

o bien,

$$\frac{N_0}{N_j} = 1.000033$$

Entonces, para exactamente 10^6 protones en los estados de energía mayor habrá

$$N_0 = 10^6 / 0.999967 = 1\,000\,033$$

en el estado de energía menor. Este valor corresponde a un exceso de 33 ppm.

Descripción clásica

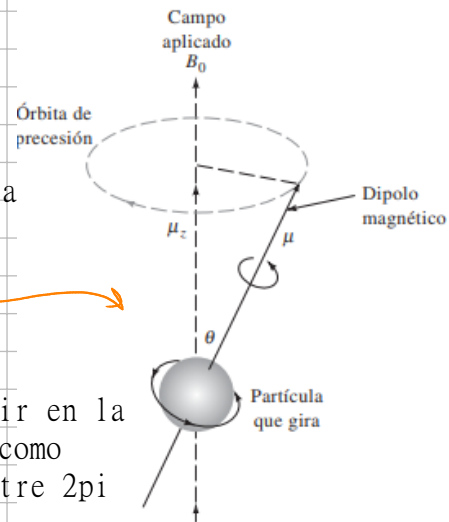
Para comprender el proceso de absorción y, en particular, el proceso para medirla

Precesión de un núcleo en un campo

- En primer lugar, considere el comportamiento de un cuerpo magnético que no está en rotación, en un campo magnético externo.

- Si se desvía momentáneamente de su alineación con el campo, la aguja oscilará en un plano alrededor de su pivote como consecuencia de la fuerza que ejerce el campo sobre sus dos extremos;

- La fuerza aplicada por el campo sobre el eje de rotación causa un movimiento, pero no en el plano de la fuerza, sino perpendicular al mismo; por consiguiente, el eje de la partícula en rotación se mueve en una trayectoria circular. Es decir, el eje de rotación de la partícula que gira tiene un movimiento de precesión alrededor del vector que representa al campo magnético aplicado



Velocidad angular La velocidad angular de este movimiento ω_0 , en radianes por segundo,

$$\omega = \gamma B_0$$

$$\omega / 2\pi = \gamma B_0 / 2\pi = \nu_{\text{precesión}}$$

- La velocidad angular se puede convertir en la frecuencia de precesión ν_0 , conocida como frecuencia de Larmor, al dividirla entre 2π

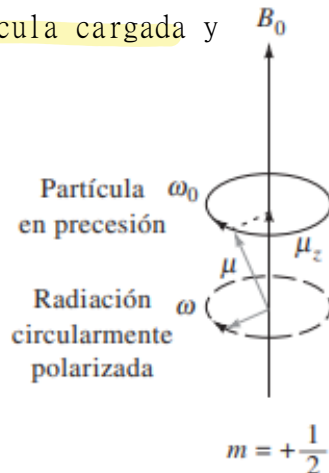
$\nu_{\text{Precesión}} = \nu_{\text{rad}} = \nu_{\text{abs}} = \nu_{\text{resonancia}}$ Una comparación revela que la frecuencia de Larmor es idéntica a la frecuencia de la radiación absorbida que se deduce de las consideraciones de la mecánica cuántica.

Proceso de absorción de radiofrecuencia

- La energía potencial E de la partícula cargada y con movimiento de precesión es

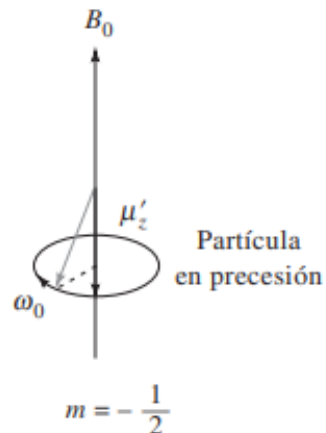
$$E = -\mu B_0 \cos \theta = -\mu_z B_0$$

θ es el ángulo entre el vector del campo magnético y el eje del espín o giro de la partícula, μ es el momento magnético de la partícula y μ_z es el componente de μ en la dirección del campo magnético.



$$m = +\frac{1}{2}$$

Absorción
Emisión
no radiante



$$m = -\frac{1}{2}$$

- Por tanto, cuando un núcleo absorbe energía de radiofrecuencia, su ángulo de precesión θ debe cambiar. Por consiguiente, imagine que para un núcleo que tiene un número cuántico de espín de $1/2$ la absorción representa una sacudida del momento magnético que está orientado en la dirección del campo hacia el sentido opuesto.

Transformada de Fourier o de impulsos

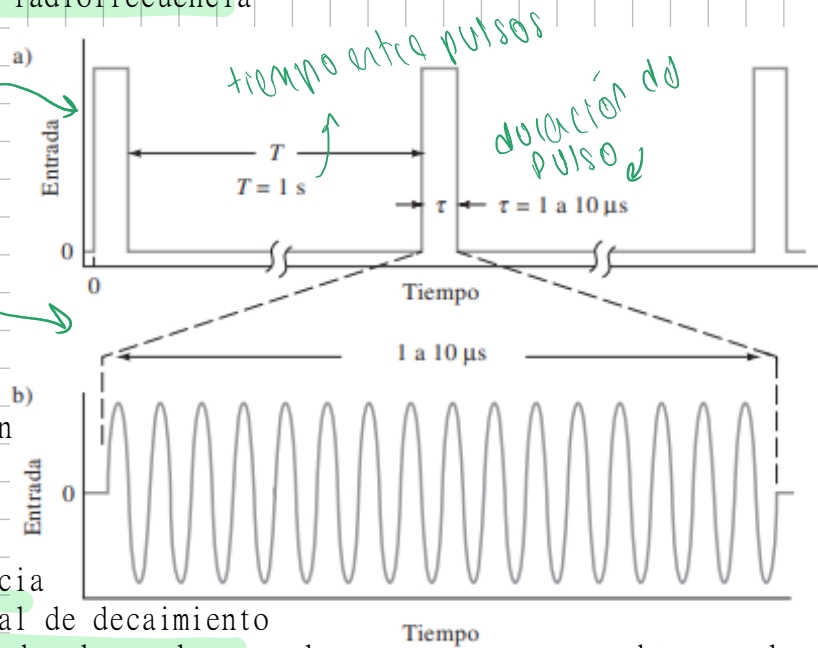
Los núcleos que están en un intenso campo magnético se someten en forma periódica a pulsos muy cortos de una intensa radiación de radiofrecuencia

La forma de la onda en la parte a) de la figura ilustra el tren de pulsos, la anchura del pulso y el intervalo de tiempo entre pulsos.

La vista ampliada de un pulso muestra que es en realidad un paquete de radiación de radiofrecuencia.

la frecuencia de la radiación está en el orden de 10^{-2} a 10^{-3} MHz.

Durante el tiempo T, los núcleos excitados emiten al relajarse una señal de radiofrecuencia en el dominio del tiempo, que se denomina señal de decaimiento libre de inducción (FID). El decaimiento de todos los pulsos es lo que se suma para obtener el espectro



experimento de impulsos

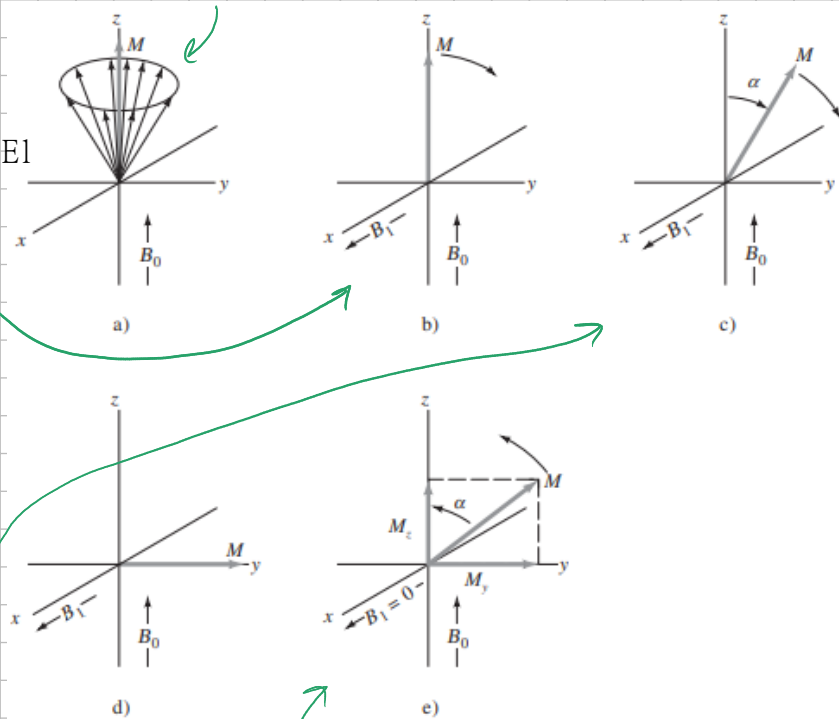
se ilustra la posición del momento magnético neto en el instante en que el pulso de radiofrecuencia, que viaja a lo largo del eje x, incide sobre la muestra. El campo magnético de la radiación electromagnética incidente se representa mediante el símbolo B_1 . B_1 y el vector de magnetización de la muestra M son estáticos, uno a lo largo del eje x y el otro perpendicular a él. con cada pulso M experimenta un momento de torsión que tiende a separarlo del eje z.

este momento de torsión hace girar el momento magnético de la muestra M alrededor del eje x en el plano yz

Cuando el pulso ha terminado, los núcleos empiezan a relajarse y vuelven a sus posiciones de equilibrio. Después de algunos segundos, estas interacciones hacen que los núcleos vuelvan a los estados originales

Cuando un núcleo retorna a su estado de equilibrio después de haber sido excitado por un pulso de radiación de RF, el momento magnético M_y a lo largo del eje y disminuye y aumenta el componente M_z del momento magnético a lo largo del eje z

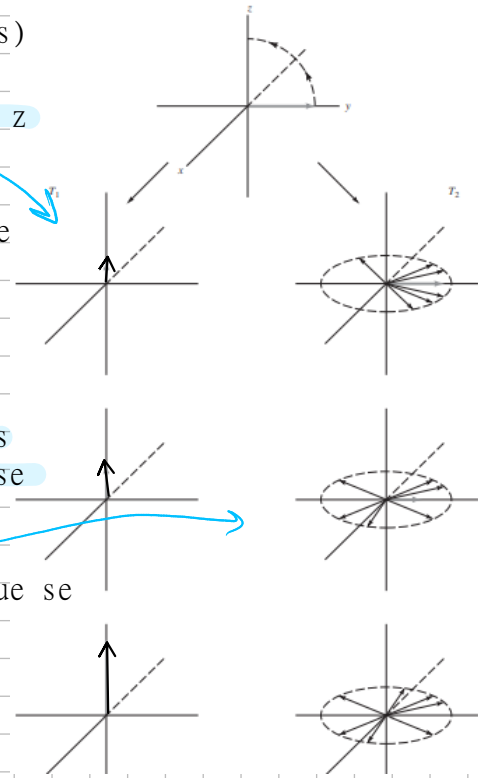
a) Vectores magnéticos de los núcleos de baja energía en exceso antes del pulso;



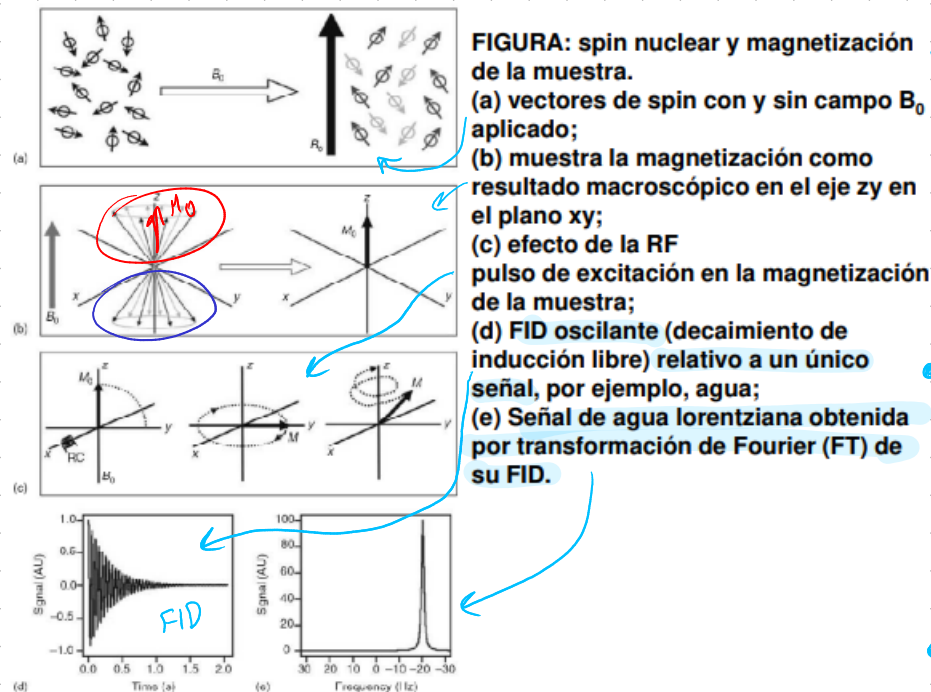
Procesos de relajación

Relajación no radiante (rápida 0,1-10 s)

- Longitudinal o espín-red T1: la magnetización a lo largo del eje z aumenta hasta que alcanza de nuevo su valor original. Se considera que el exc de energía, esos núcleos se lo dan al resto de los componentes de la muestra, solvente por ej. Intercambio de energía entre el núcleo y el ambiente
- Transversal o espín-espín T2 (10⁻⁴ s): Los núcleos intercambian entre sí la energía de espín, de tal forma que unos alcanzan un movimiento de precesión mayor que la frecuencia de Larmor y otros uno menor. El resultado es que los espines empiezan a distribuirse en el plano xy
- Estos procesos tienen que ser rápidos, pero no tanto como para que se ensanchen o no se vean las señales



Resumen



- Cuando se aplica campo tenemos núcleos en contra del campo y a favor. Los que absorberán energía serán los de menor energía. Se trata de la componente M_0 como proyección de la componente de cada uno de los vectores a favor del campo
- Cuando aplicamos una radiofrecuencia, que tiene que tener una frecuencia de radiación = a la frecuencia de precesión de los núcleos para que se produzca la frecuencia de abs, la componente M_0 en el eje z sufre un torque hacia el eje y
- Cuando se deja de aplicar, los núcleos vuelven al estado original, relajación

- Con la transformada de Fourier, esta señal con dominio del tiempo es transformada al dominio de la frecuencia, con la cual analizamos los espectros. Cada impulso arroja una FID y la suma de las mismas van a ser procesadas por TF para obtener el espectro

Efecto del entorno

- La frecuencia de la radiación de radiofrecuencia que absorbe un núcleo determinado se ve fuertemente afectada por el entorno químico, es decir, por los núcleos y electrones vecinos

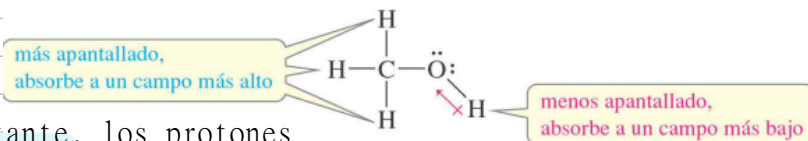
- *número de señales → número de núcleos no equivalentes
- *posición de las señales → desplazamiento químico
- *intensidad de las señales → cantidad de núcleos
- *desdoblamiento de las señales → acoplamiento espín-espín

- El análisis que sigue se centra en los espectros de protón porque el ¹H es el isótopo que más se ha estudiado. Sin embargo, la mayor parte de los conceptos se aplica también a los espectros de otros isótopos.

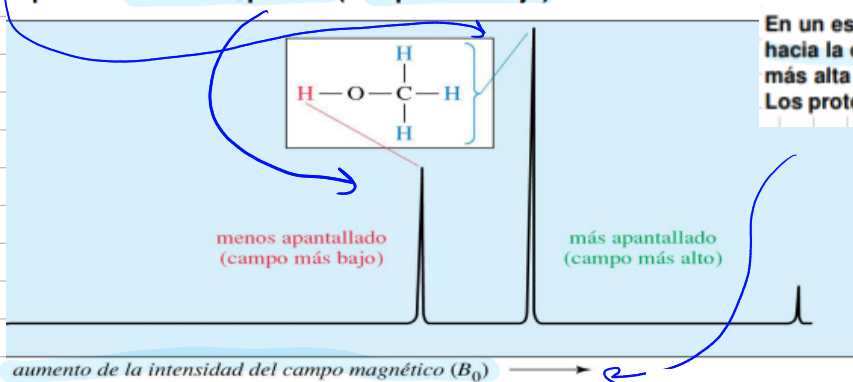
Apantallamiento

- Los protones en distintos entornos químicos están apantallados en distintas cantidades.
 → El protón hidroxilo no está tan apantallado como los protones metilo, por lo que el protón hidroxilo absorbe a un campo más bajo que los protones metilo.
 Decimos que el protón está algo desapantallado por la presencia de átomos de oxígeno electronegativos

- Cuando los protones se encuentran en distintos entornos de la molécula y la molécula está expuesta a una frecuencia constante, los protones absorberán la radiación a distintas intensidades del campo magnético.
 → La RMN variará el campo magnético y representará un gráfico de la absorción de energía como función de la intensidad del campo magnético



Los protones de metilo más apantallados aparecen hacia la derecha del espectro (campo más alto); el protón hidroxilo menos apantallado aparece hacia la izquierda (campo más bajo).



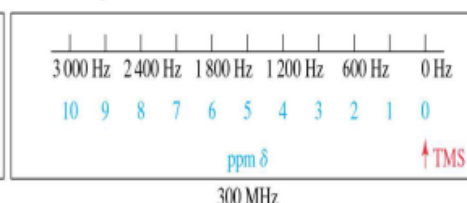
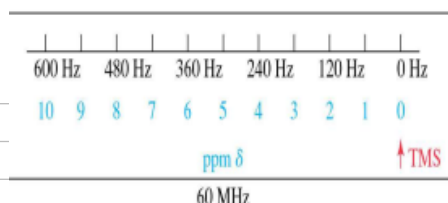
En un espectro RMN el campo magnético aumenta desde la izquierda hacia la derecha. Las señales del lado de la derecha están en la parte más alta del espectro y las de la izquierda están en la parte más baja. Los protones apantallados aparecen en la parte alta.

Escaleta δ RMN

- El desplazamiento del TMS se define como 0.

- La escala aumenta de derecha a izquierda (hacia el campo más bajo).

$$\text{desplazamiento químico, } \delta \text{ (en ppm)} = \frac{\text{desplazamiento del campo con respecto al del TMS (en Hz)}}{\text{frecuencia del espectrómetro (en MHz)}}$$

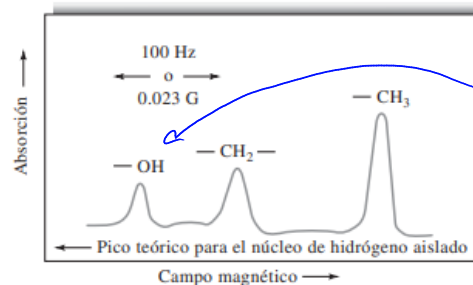


- Cada unidad δ se diferencia 1 ppm del TMS: 60 Hz a 60 MHz y 300 Hz a 300 MHz.

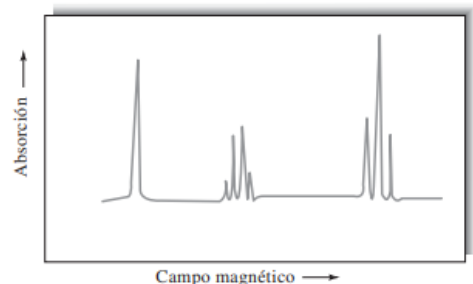
- El desplazamiento químico de los protones se mide en partes por millón (ppm), independientemente del campo y la frecuencia del instrumento utilizado.

- Cuanto más altas son las frecuencias del espectrómetro, más detallado es el espectro

a) Baja resolución



b) Alta resolución



- * tres tipos → OH, CH2, CH3
- * áreas 1:2:3

- * sustitución con D desaparece la señal de OH

La ν depende del grupo al que está unido el núcleo.

Desplazamiento Químico

unido el átomo de hidrógeno. A este efecto se le denomina desplazamiento químico.

La ν de RF que un núcleo absorbe depende de su entorno molecular : **electrones** y **núcleos** vecinos

si el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo se sustituye por deuterio, el primer pico desaparece

Por tanto, hay pequeñas diferencias en la frecuencia de absorción del protón que dependen del grupo al que está

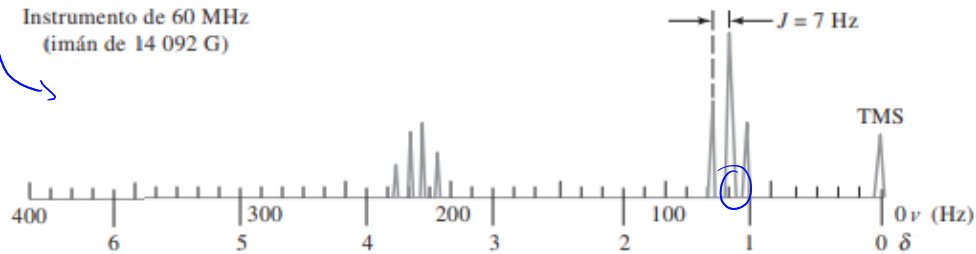
• Desdoblamiento de señales → 4 y 3
efecto secundario del entorno

depende de la cantidad de protones en C vecinos

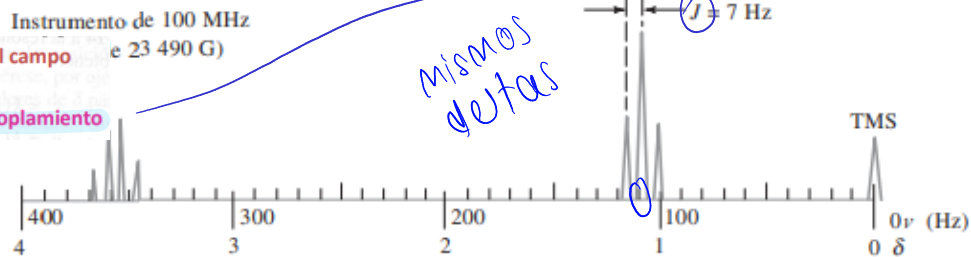
Acoplamiento espín-espín

- Las separaciones entre picos que son el resultado de un desplazamiento químico son directamente proporcionales a la intensidad del campo o a la frecuencia del oscilador. Si el espectro anterior de baja resolución se toma a 100 MHz y no a 60 MHz, la distancia horizontal entre cualquier conjunto de resonancias aumenta en 100/60. En cambio, la distancia entre los picos de estructura fina dentro de un grupo, a causa del acoplamiento espín-espín, no se ve alterada por esta modificación de frecuencia.

Instrumento de 60 MHz
(imán de 14 092 G)



Instrumento de 100 MHz
e 23 490 G)



Desplazamiento químico proporcional a la intensidad del campo
Instrumento de 100 MHz
(imán de 23.490 G)

Desdoblamiento espín-espín no se altera $J = \text{constante de acoplamiento}$

Desplazamientos
químicos más frecuentes

Campo bajo → Campo alto
Bajo blindaje → Alto blindaje
Alta frecuencia ← Baja frecuencia

Escala

Patrón interno para ^1H → TMS (tetrametilsilano) $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ → muy baja frecuencia

$\nu(\text{Hz})$ o $\delta = (\nu_s - \nu_r) / \nu_r \times 10^6$ (ppm)
por definición para TMS $\delta = 0$

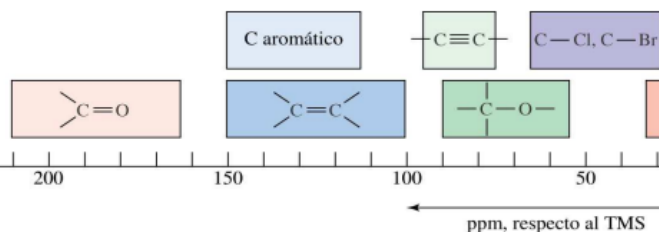
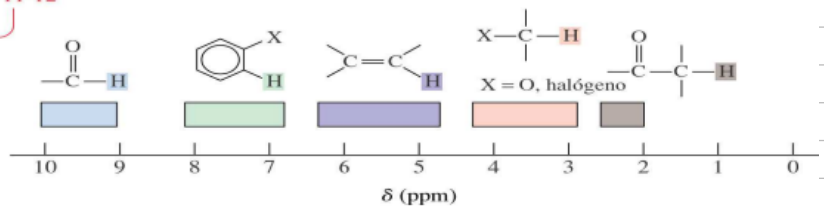
$^1\text{H} \delta = 0-12$; $^{13}\text{C} \delta = 0$ a 220 y 400

$^{19}\text{F} \delta = 0-800$ y $^{31}\text{P} \delta = 0-300$

solución acuosa: - sal sódica del ácido 3-(trimetilsilil)propiónico o del 2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfonato

- Los protones directamente enlazados a los carbonilos están muy desapantallados y sus señales se encontrarán en el campo bajo del espectro.
- Las señales de los protones vinílicos se pueden encontrar centradas alrededor de 5 - 6 ppm, mientras que los protones aromáticos están en el campo más bajo a aproximadamente 7.0 ppm.
- La mayoría de estos valores para un átomo de carbono son 15 a 20 veces el desplazamiento químico de un protón que estuviese enlazado a ese átomo de carbono.

$-\text{COOH}$
 $\delta = 11-12$



- La señal para los carbonos carbonilo se encuentra en la parte de abajo del espectro aproximadamente a 160 - 200 ppm.
- Las señales de los carbonos vinílicos se pueden encontrar entre los 100 - 150 ppm.

- Los carbonos alcanos con ningún átomo electronegativo se encuentran en la parte superior (hacia la derecha) del espectro, no muy alejados de la señal TMS.

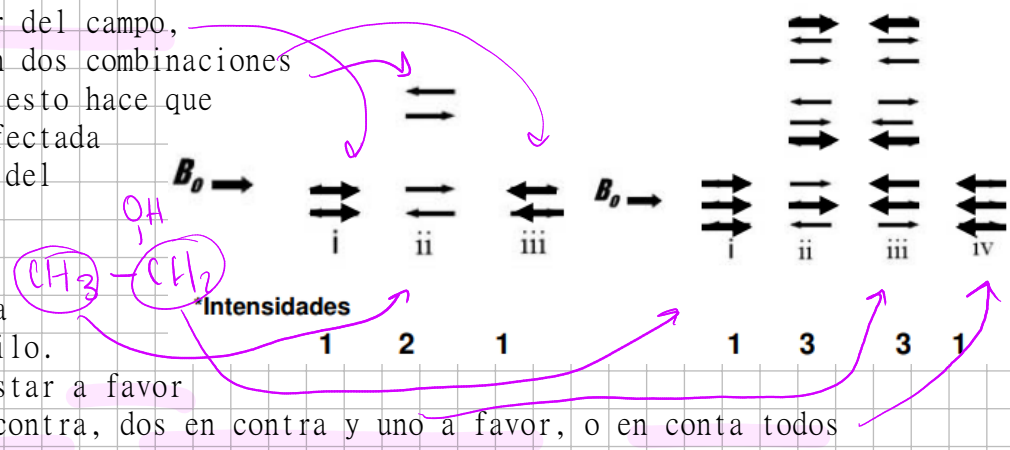
Origen y teoría del desdoblamiento espín-espín

Methyl protons	δ	Methylene protons	δ	Methine protons	δ
$\text{CH}_3\text{-R}$	0.7-1.6	$\text{RCH}_2\text{-R}$	1.4	CH-R	1.5
$\text{CH}_3\text{-Ar}$	2.3	$\text{RCH}_2\text{-Ar}$	2.3-2.7	CH-Ar	3.0
$\text{CH}_3\text{-C}\equiv\text{N}$	2.0	$\text{RCH}_2\text{-C}\equiv\text{N}$	2.3	$\text{CH-C}\equiv\text{N}$	2.7
$\text{CH}_3\text{-C(=O)-R}$	2.2				
$\text{CH}_3\text{-C(=O)-O-R}$	2.0	$\text{RCH}_2\text{-C(=O)-R}$	2.4	CH-C(=O)-R	2.7
$\text{CH}_3\text{-C(=O)-Ar}$	2.6			CH-C(=O)-Ar	3.3
$\text{CH}_3\text{-C(=O)-O-Ar}$	2.4	$\text{RCH}_2\text{-C(=O)-Ar}$	2.9	CH-N-C(=O)-R	4.0
		$\text{ArCH}_2\text{-C(=O)-R}$	3.7		
$\text{CH}_2\text{-N-R}$	2.3	$\text{RCH}_2\text{-N}$	2.5	CH-OH	3.9
$\text{CH}_3\text{-N-Ar}$	3.0	$\text{RCH}_2\text{-N-C(=O)-R}$	3.2	CH-O-R	3.7
$\text{CH}_3\text{-N-C(=O)-R}$	2.9	$\text{RCH}_2\text{-Cl}$	3.6	CH-O-Ar	4.5
$\text{CH}_3\text{-O-R}$	3.3	$\text{RCH}_2\text{-Br}$	3.5	CH-O-C(=O)-R	4.8
$\text{CH}_3\text{-O-Ar}$	3.8	$\text{RCH}_2\text{-I}$	3.2	CH-Cl	4.2
$\text{CH}_3\text{-O-C(=O)-R}$	3.7	$\text{RCH}_2\text{-OH}$	3.6	CH-Br	4.3
$\text{CH}_3\text{-O-C(=O)-Ar}$	4.0-4.2	$\text{RCH}_2\text{-O-R}$	3.4	CH-I	4.3
		$\text{RCH}_2\text{-O-Ar}$	4.3		
		$\text{RCH}_2\text{-O-C(=O)-R}$	4.1		
		$\text{ArCH}_2\text{-O-C(=O)-R}$	4.9		

- El desdoblamiento de las resonancias de desplazamiento químico tiene lugar cuando el momento magnético de un núcleo interactúa con los momentos magnéticos de los núcleos inmediatamente adyacentes.
- El campo magnético producido por un núcleo que está girando afecta la distribución de los electrones en sus enlaces con otros núcleos. Este cambio en la distribución de los electrones produce entonces cambios en los campos magnéticos de los núcleos adyacentes, desdoblamiento de los niveles de energía y, por tanto, múltiples transiciones.
- Este acoplamiento magnético de los núcleos que se transmite mediante los electrones de enlace se denomina a menudo interacción de polarización
- la separación de los tres componentes de la banda del metileno es la misma que la de los cuatro picos de la banda del metilo. Esta separación en hertz se denomina constante de acoplamiento de la interacción La J es la misma para los núcleos que interactúan
- La relación entre las áreas de los picos en un múltiple se aproxima a una relación entre números enteros. Así, para el triple del metilo, la relación de áreas es de 1:2:1; para el cuádruple de los picos del metileno es de 1:3:3:1.

Los protones metílicos por efecto de los del metileno se desdoblan en 3. Los protones metilénicos pueden estar, a favor del campo, uno a favor y otro en contra (con dos combinaciones posibles) y en contra. Entonces, esto hace que la señal de los metilos se vea afectada por el efecto que inducen los e- del metileno en un enlace

***Multiplicidad**
***El efecto de los protones metílicos sobre la resonancia de los protones de los metilenos del etanol y viceversa**



La señal del metileno se desdobra en 4, por los 3 protones del metilo. Los protones del metilo pueden estar a favor del campo, dos a favor y uno en contra, dos en contra y uno a favor, o en contra todos

Espectros de primer orden

Espectros de primer orden $J/\Delta\nu < 0.1$

- Los núcleos equivalentes no interaccionan entre si
- las J disminuyen con la separación de los grupos
- acoplamientos a no más de 3 enlaces
- multiplicidad = (protones eq. en los vecinos + 1)
- si B está afectado por A y C la multiplicidad = $(n_A+1)(n_C+1)$
- áreas relativas $(x+1)^n$

- Aquellos en los que el desplazamiento químico entre los grupos de núcleos que interactúan es grande respecto a sus constantes de acoplamiento J.
- Un comportamiento de primer orden riguroso requiere que $J/\Delta\nu$ sea menor que 0.05. Pero por lo general es posible analizar los espectros con técnicas de primer orden hasta valores de $\Delta\nu/J$ algo superiores a 0.1.

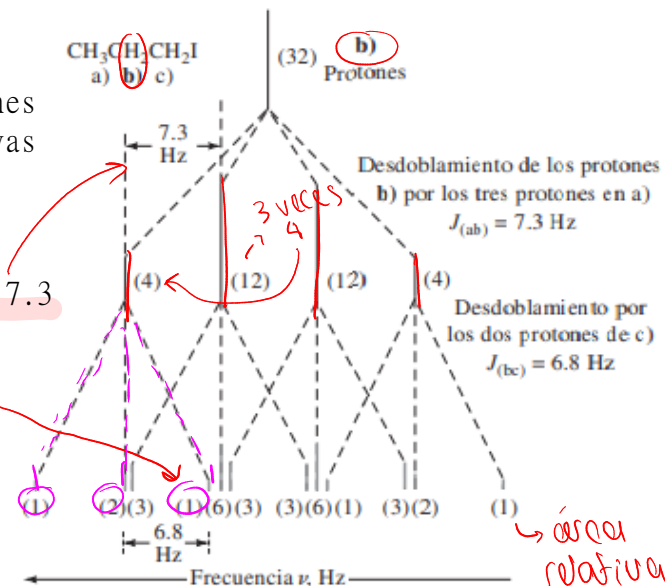
No. Protones Eq.	Multiplicidad	Áreas Relativas de los Picos
0	1	1
1	2	1 1
2	3	1 2 1
3	4	1 3 3 1
4	5	1 4 6 4 1
5	6	1 5 10 10 5 1
6	7	1 6 15 20 15 6 1

1. Los núcleos equivalentes no interaccionan entre sí para dar picos de absorción múltiples. Los tres protones del grupo metilo en el etanol sólo originan el desdoblamiento de los protones del metileno adyacente, y no de sí mismos.
2. Las constantes de acoplamiento disminuyen de manera importante al separarse los grupos, y raras veces se observa acoplamiento a distancias mayores que cuatro longitudes de enlace.
3. La multiplicidad está dada por $n + 1$.
4. Si los protones del átomo B están afectados por los protones de los átomos A y C que no son equivalentes, la multiplicidad de B es igual a $(n_A + 1) * (n_C + 1)$, donde n_A y n_C son el número de protones equivalentes de A y C, respectivamente
5. Las áreas relativas aproximadas de un múltiple son simétricas alrededor del punto medio de la banda y son proporcionales a los coeficientes de los términos de la serie $(x + 1)^n$.
6. La constante de acoplamiento es independiente del campo aplicado; por consiguiente, los múltiples se distinguen con facilidad de los picos de desplazamiento químico muy juntos, registrando los espectros con dos intensidades de campo diferentes.

Espectros de segundo orden $J/\Delta\nu > 0.1$ se pierde la simetría del multiplete, aumentan los picos internos, aparecen más líneas.

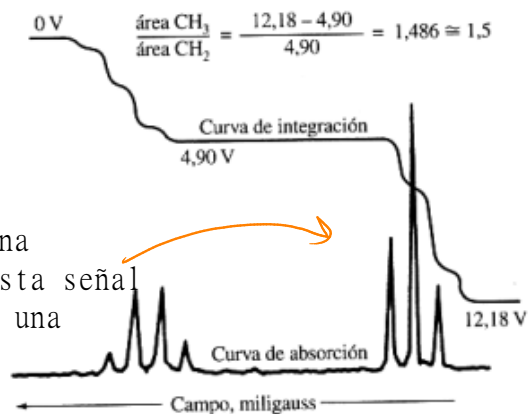
• Cuando dos o más protones no equivalentes afectan a un grupo de protones determinado, entonces resulta un modelo de desdoblamiento más complicado.

- las bandas de desplazamiento químico se encuentran a $d(a) = 1.02$, $d(b) = 1.86$ y $d(c) = 3.17$.
- La banda en $d(a) = 1.02$ se desdoblará por los dos protones del metileno en b) en $2 + 1 = 3$ líneas con áreas relativas de 1:2:1.
- Se observa un desdoblamiento semejante para la banda en $d(c) = 3.17$. Las constantes de acoplamiento experimentales para los dos desplazamientos son $J(ab) = 7.3$ y $J(bc) = 6.8$.
- La banda de los protones del metileno de b) está afectada por dos grupos de protones, que no son magnéticamente equivalentes, lo que es evidente a partir de la diferencia entre $J(ab)$ y $J(bc)$. El número de picos es $(3 + 1)(2 + 1) = 12$.
- Se muestra primero el efecto del protón a) que ocasiona cuatro picos de áreas relativas de 1:3:3:1 y separados por 7.3 Hz. Cada uno de ellos se desdobla luego en tres nuevos picos separados por 6.8 Hz, y con áreas relativas de 1:2:1.

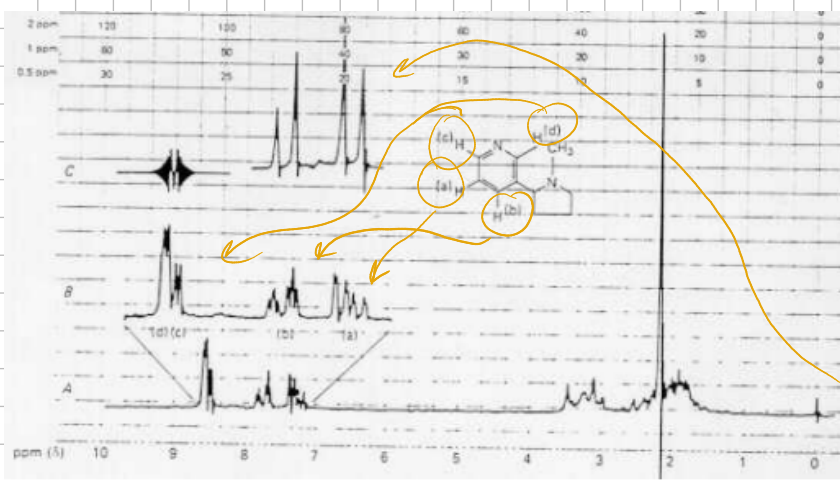


Integración de señales

- Las áreas de las señales de resonancia magnética nuclear del protón son casi siempre directamente proporcionales a la cantidad de protones presentes.
- 12,18 es el area total, se descuenta la del metilo y se hace una relacion. Se obtiene que hay una relacion de 1.5 protones de esta señal con respecto a la otra, se multiplica por dos y decimos que en una hay 3 protones y en la otra 2



Técnicas de doble resonancia facilitan la interpretación de espectros complejos



En este espectro si se realiza de manera tradicional se obtiene un espectro muy complejo

A parte de irradiar la muestra para producir el espectro complejo, irradio de vuelta a la frecuencia en la que aparece la primer señal. Al hacer esto, se desactiva esta señal, entonces los protones no se acoplan con los otros y se obtiene un espectro mas simple

Lo que se logra es que, antes un proton estaba afectado por todos los protones, ahora conseguimos disminuir el efecto y vemos el efecto del vecino

Desacoplamiento de espín en la nicotina

RMN de C^{13}

- 6.000 veces menos sensible que la de protón
- menos solapamientos entre picos 0-200 ppm *es decir, C con C*
- no se observa acoplamiento homonuclear ^{13}C porque es difícil que dos estén adyacentes
- existen métodos para desacoplamiento entre ^{13}C y protones
- Con el desacoplamiento cada tipo de carbono una línea
- la intensidad de la señal no es proporcional al nro de núcleos.

a) espectro desacoplado del protón;
b) espectro en el que se ilustra el acoplamiento entre el átomo de ^{13}C y los protones unidos al mismo.

Aplicación de RMN a otros núcleos

También tienen un espín de $1/2$, pero tienen constante giromagnética diferente y la escala de campo también

^{31}P y ^{19}F

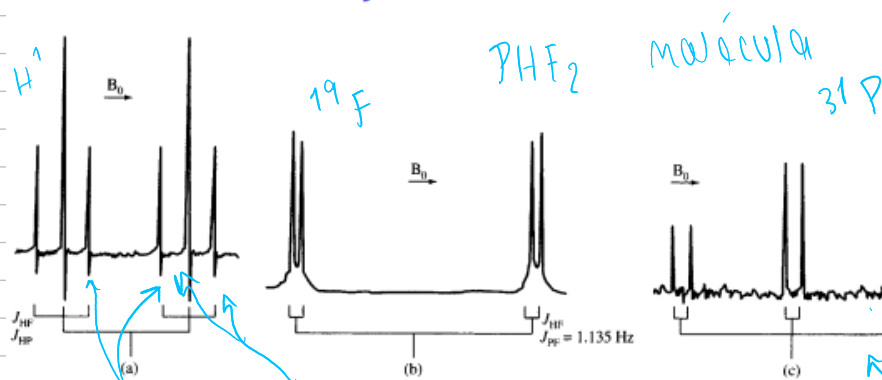
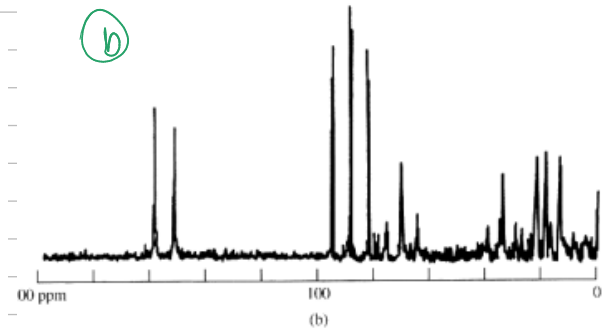
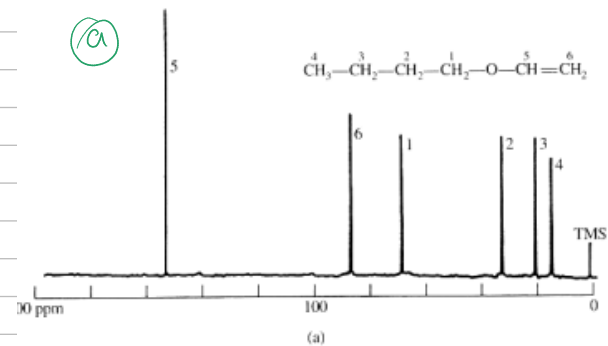


Figura 19-35. Espectro del PHF_2 , líquido a $-20^\circ C$: (a) espectro de 1H a 60 MHz; (b) espectro de ^{19}F a 94,1 MHz; (c) espectro de ^{31}P a 40,4 MHz. (De R. J. Myers, Molecular Magnetism and Molecular Resonance Spectroscopy. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall, 1973. Con autorización.)

- El H se desdobra por la acción del P en 2 y después la señal se desdobra en dos por los dos F



- Tengo un triplete por el efecto del F y a su vez se desdobra cada uno en 2 por el H

Diagrama en bloques de un TF/RMN

El componente principal es un imán de gran estabilidad en el que se coloca la muestra, la cual se rodea con una bobina transmisora/receptora. el imán desdobra los niveles de energía

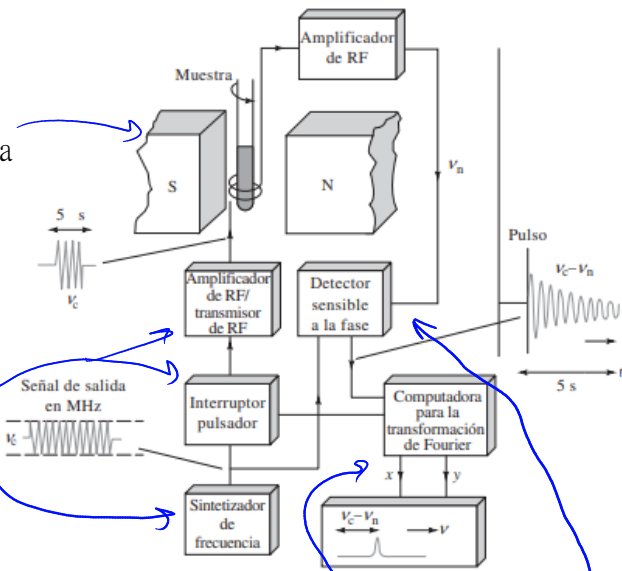
La radiación de radiofrecuencia se produce mediante un sintetizador de frecuencia controlado con un cristal que tiene una frecuencia portadora de salida ν_c . Esta señal pasa por un interruptor pulsador y un amplificador de potencia, lo que origina un pulso de radiación de radiofrecuencia intenso y reproducible en la bobina transmisora.

La radiación de RF resultante incide en la muestra, que está contenida en el interior de la bobina.

El operador selecciona la duración, amplitud, forma y fase del pulso, y los introduce luego en la consola, donde los controla una computadora. En la se muestra un impulso de 5 μ s de duración.

La señal de decaimiento libre de inducción que resulta es recogida por la misma bobina, que ahora sirve como receptor. La señal es amplificada y transmitida a un detector sensible a la fase.

Esta señal se digitaliza y se almacena en una computadora para analizarla mediante el programa de transformada de Fourier y otros programas de computadora. La señal de salida que se obtiene con este programa se grafica en un sistema de lectura, y así se obtiene un espectro en el dominio de la frecuencia.



Intercés de RMN

Aplicación a mezclas

En un solo experimento se puede cuantificar un amplio rango de compuestos

Distintos compuestos con núcleos diferentes (H, C, etc)

TÉCNICA CARA POR EL COSTO DEL EQUIPO PERO MUY ÚTIL

Sensibilidad incrementa con el aumento del campo magnético 400, 500 o 600 MHz

Consideraciones prácticas

Muestras líquidas:

-partículas de sólidos no contribuyen al espectro
-afectan resolución y sensibilidad

Mayor resolución: moléculas de bajo peso molecular: mono y oligosacáridos, amino ácidos, fenoles, mono-di y triglicéridos, esteroides

Señales anchas: proteínas y polisacáridos

Determinación de composición de lípidos: RMN (poderosa)

Corrimiento químico asociado a la concentración de grupo químico específico que indica un tipo de lípido

porque

Intensidad dependiente de la cantidad de núcleos,

-Se puede conocer la cantidad relativa de compuestos
-Se puede conocer la cantidad absoluta de cada compuesto en referencia a un estándar

Determinación de estructuras

-Identificación de sustancias desconocidas por el patrón RMN

tecnicas computacionales que se aplican a la resolucion de espectros

Quimiometría y RMN

-¹H RMN diferenciación geográfica de aceites de oliva italianos

-¹³C RMN diferenciación de aceites por origen botánico
aceite de oliva por tipo de procesamiento

-³¹P RMN y ¹H RMN adulteración de aceite de oliva con aceites de semillas, niveles límites 5% v/v

-diferenciación de vinos ¹H RMN

-control de calidad de jugos de naranja ¹H RMN

-diferenciación de café por tipo de elaboración ¹H RMN

con respecto a otros

tratar de que no haya

(moléculas grandes)

Preparación de la muestra

Volúmen: 0,5 mL/ 5 mm o 3 mL/ 10 mm

Solventes: agua o orgánicos **deuterados**

señal para estabilización del campo (ajuste campo-frecuencia)
optimización de resolución (homogeneidad de campo)

Ej: jugos de fruta

-Examinación directa con 5-10% D₂O

-Disolución de muestras de jugo frizado-seco en D₂O

RMN con TF

Modo general de trabajo

decaimiento de inducción libre (FID, free induction decay)

Excitación con pulsos de rf a intervalos regulares, digitalizado y acumulado

Tiempo de adquisición total: Varios períodos de tiempo
duración del pulso, tiempo de adquisición y de demora
Para la optimización señal-ruido

depende del espectro que querramos tomar,
de la cantidad de núcleos que haya, de si es de C o H

Asignación de señales

bases de datos, espectros y corrimientos químicos compilados (tablas)

Adquirir espectros de compuestos de referencia: bajo condiciones similares a la muestra real (pH, concentración, etc)

Aproximación complementaria y poderosa: 2D RMN

RMN bidimensional

Comprende una serie relativamente nueva de técnicas de pulsos múltiples que facilitan la interpretación de espectros complejos.
Con los métodos bidimensionales se pueden identificar resonancias relacionadas con acoplamiento mediante enlace, con interacciones espaciales o con intercambio químico.

En estos métodos, los datos se adquieren, en función del tiempo t₂. Pero antes de obtener la señal del decaimiento libre de inducción, el sistema es perturbado con un pulso durante un tiempo t₁.

La transformación de Fourier del decaimiento libre de inducción como una función de t₂ para un t₁ fijo origina un espectro semejante al que se obtiene en un experimento ordinario de pulsos. Este proceso se repite entonces para varios valores de t₁, con lo que se origina un espectro bidimensional respecto a dos variables de frecuencia v₁ y v₂ o, a veces, de los parámetros de desplazamiento químico d₁ y d₂.

Algunos de los métodos más populares se basan en la transferencia de coherencia, entre los que están:

- la espectroscopía de correlación homonuclear (COSY),
- espectroscopía total de correlación (TOCSY),
- el increíble experimento de transferencia de cuanto doble natural (INADEQUATE),
- espectroscopía de correlación heteronuclear (HETCOR) y
- espectroscopía de coherencia heteronuclear de cuanto múltiple (HMQC)

Uso de compuesto de referencia

solventes orgánicos: TMS (tetrametilsilano)

solución acuosa:

- sal sódica del ácido 3-(trimetilsilil)propiónico (TSP)

- 2,2-dimetil-2-silapentano-5-sulfonato de sodio (DSS)

ajuste de pH: corrimientos químicos sensibles al pH

ajuste de concentración: ¹H y ¹³C corrimientos químicos y anchos de línea sensibles a la concentración, Ej. aceites

Análisis cuantitativo:

Generalmente pulsos de 90° con intervalos de 5T₁

Supresión del agua: irradiación a la frecuencia del agua en el tiempo de demora para que no interfiera

Límite de detección: >10 μM

500 MHz 15-20 min de adquisición

RMN 1D ¹H: componentes minoritarios difíciles de detectar

¹³C con técnicas de desacoplamiento:

mayor corrimiento químico (20/1) pero menos sensible (1/5000)

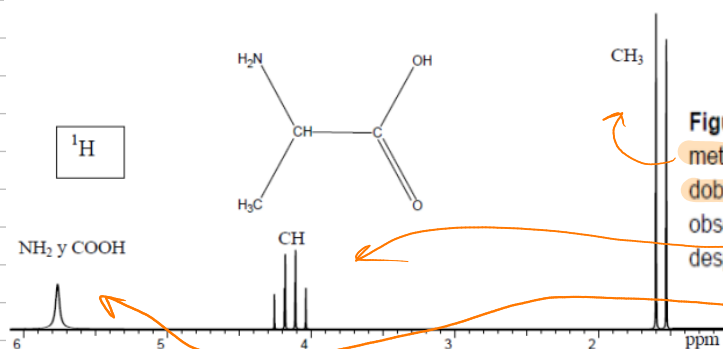
Tabla 1. Núcleos activos en RMN comúnmente usados en el estudio de proteínas.

Núcleo	Espín nuclear	Frecuencia de observación (MHz) a 14.1 Teslas	Abundancia Natural (%)	Región normal (ppm)
¹ H	½	600.0	99.99	10 : 0
¹³ C	½	150.86	1.1	220 : 0
¹⁵ N	½	60.82	0.37	130 : 0
¹⁹ F	½	564.52	100.0	0 : -250
³¹ P	½	242.86	100.0	100 : -100

Elementos importantes en estudios de RMN de compuestos biológicos

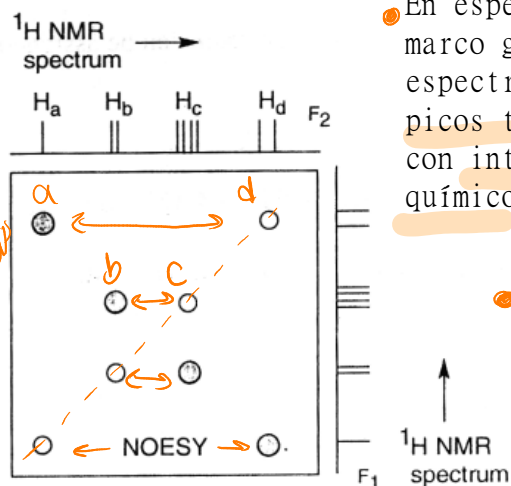
Compuesto	átomos	Abundancia natural
Todos	¹ H	100
	¹³ C	1
nucleótidos		
fosfolípidos	³¹ P	100
Compuestos fosforilados		
Amino ácidos	¹⁴ N	99.9
Péptidos	¹⁵ N	0.4
Proteínas	³³ S	0.7
Sustituyentes de ¹ H	² H	0.2
	¹⁹ F	100

Figura 3. Representación del espectro COSY (ver apéndice y glosario) de la alanina. En este ejemplo se muestra el acoplamiento entre los protones a tres enlaces de distancia. Los círculos rojos representan las señales en la diagonal del espectro. Las señales azules muestran que existe una constante de acoplamiento entre los protones del NH_2 y del H_α . A este efecto se le llama correlación entre los núcleos. Los círculos verdes muestran la correlación entre los protones del CH_3 y el H_α . Con lo cual se dice que los dos protones del NH_2 , el H_α y los tres protones del CH_3 forman un sistema de espín, ya que existe acoplamiento escalar entre ellos. Nótese que no existe correlación entre el protón del ácido y el H_α , debido a que se encuentran a más de 3 enlaces de distancia del H_α .

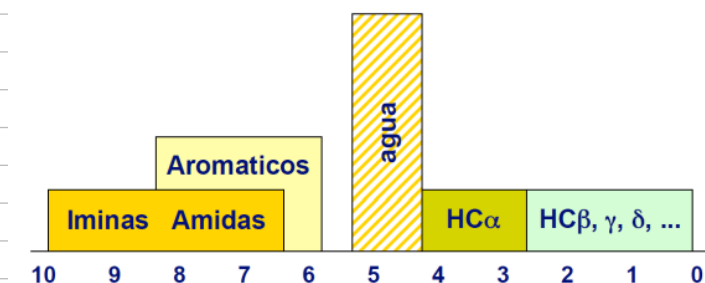


El espectro NOESY tiene un conjunto de picos en la diagonal (círculos) y otros fuera de la diagonal, estos ocurren donde protón del eje F1 está cerca en el espacio de uno del F2. En el esquema, H_a está cerca espacialmente de H_d , y H_b cerca de H_c .

NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy)



Lo primero que tenemos que saber es donde aparecen los picos de los ^1H s de los aminoácidos en el espectro:



Como están muy cerca unos de otros, después de 3 o 4 aminoácidos necesitamos hacer espectroscopia 2D para poder resolver las señales.

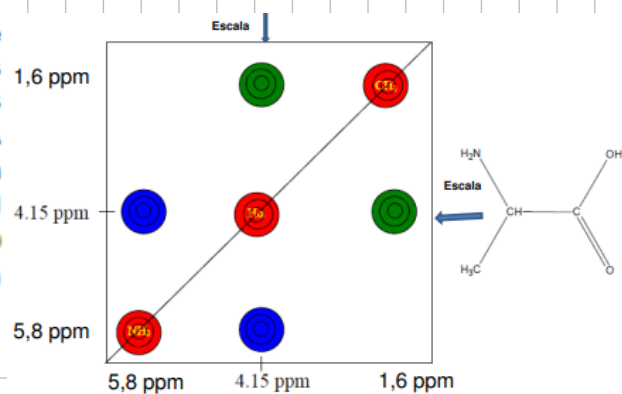


Figura 2. Espectro de RMN de protón en una dimensión de la alanina. Las señales de los metilos muestran el acoplamiento con el protón del metino, por tanto se observa como un doblete; el cual, a su vez muestra el acoplamiento con los tres protones del metilo, observándose un cuarteto. Los protones del COOH y NH_2 se encuentran en el mismo desplazamiento químico sin acoplamiento escalar.

Otra clase de experimentos bidimensionales se basa en la transferencia incoherente de magnetización mediante el efecto nuclear de Overhauser (ENO) o por intercambio químico.

En espectroscopia ENO (NOESY), espectroscopia de marco giratorio y efecto de Overhauser (ROESY) y espectroscopia de intercambio (EXSY), se observan picos transversales entre resonancias vinculadas con interacciones dipolo-dipolo o intercambio químico.

Observando los puntos fuera de la diagonal, viendo sus relaciones, podemos ver, en el caso del NOESY, la cercanía espacial, y en el caso del COSY, el acoplamiento escalar (que H se acoplan entre sí).

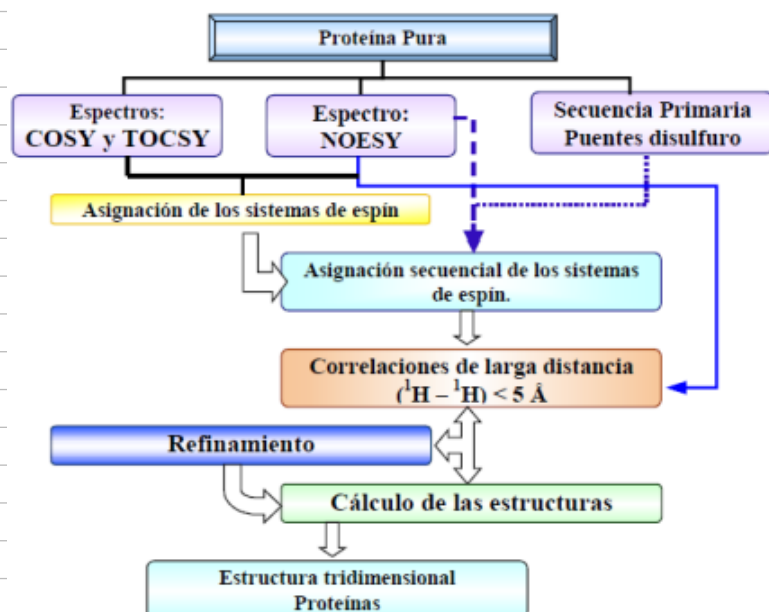


Figura 6. Sinopsis del procedimiento para la determinación de estructura de proteínas.