

Técnicas de Caracterização

Ressonância Magnética Nuclear

RMN

Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

Aula 1

4 Março 2020

Andreia Valente
amvalente@ciencias.ulisboa.pt
Gab - 8.5.34

1

Ressonância Magnética Nuclear

Bibliografia:

Livros

- P. J. Hore, *Nuclear Magnetic Resonance*, Oxford, 1995
- Horst Friebolin, *Basic One- and two-Dimensional NMR Spectroscopy*, 4th ed., Wiley-VCH, 2005,
- T. D. W. Claridge, *High Resolution NMR techniques in Organic Chemistry*, Pergamon, 2009.
- R. M. Silverstein, F. X. Webster & D. J. Kiemle, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7th ed., John Wiley & Sons, INC., 2005.

WWW

- <http://www.cis.rit.edu/htbooks/nmr/>
- <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virtxtjml/spectrpy/nmr/nmr1.htm>

2

Ressonância Magnética Nuclear

- Introdução - Aplicações do RMN
- Teoria básica - química quântica e magnetização
- Conceitos de RMN - Frequência, relaxação, desvio químico, integração, acoplamento *spin-spin*
- Experiências de RMN 1D (monodimensionais)
- Experiências de RMN 2D (COSY, HMQC/HSQC, HMBC)
- Equipamento

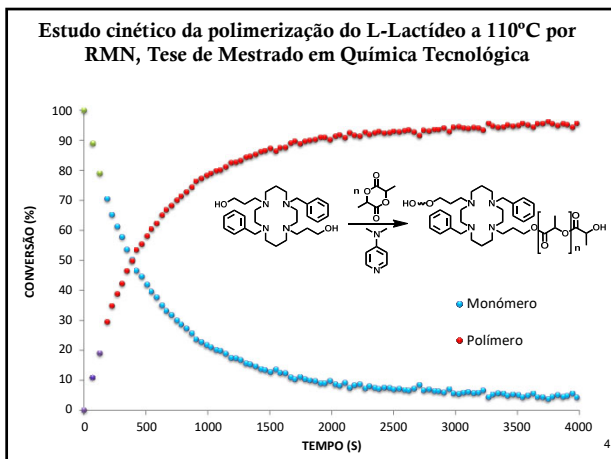
3

Aplicações do RMN

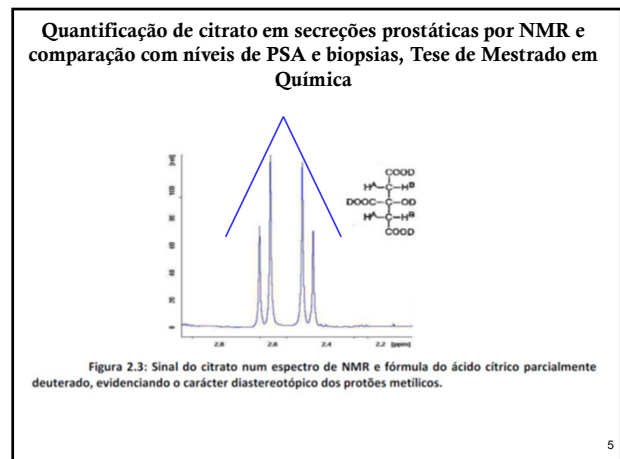
- Elucidação estrutural de pequenas moléculas em solução
 - Química orgânica
 - Química de produtos naturais
 - Química de polímeros
 - Química do ambiente
 - Bioquímica
- Estudo de processos dinâmicos
 - Cinéticas de reações
 - Equilíbrio químico (estrutural ou de reação)
- Estudos estruturais (3D)
 - Proteínas, DNA/RNA, ...
- Ressonância magnética de imagem - MRI
(Magnetic Resonance Imaging)

Uma das técnicas analíticas mais usada rotineiramente

4



5



6

Síntese de novos complexos de rutênio, Tese de Mestrado em Química

6

7

Aplicações do RMN

Environmental Science & Technology

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy and Its Key Role in Environmental Research
 Andre J. Simpson, Myria J. Simpson, and Rerald Soong
 Environmental NMR Centre, Department of Chemistry, University of Toronto, Toronto, Canada

“Nuclear magnetic resonance (NMR) is arguably the most powerful and versatile tool in modern science. It has the capability to solve complex structures and interactions in situ even in complex heterogeneous multiphase samples such as soil, plants, and tissues.”

“NMR is unique in that it can be used to study liquids, gels, solids, gases, and any combination of the aforementioned.”

7

8

Aplicações do RMN

Titulação
 Podemos titular o ligando (ião metálico, pequenas moléculas, proteínas, peptídeos) em soluções de proteínas:

- Identificar se o composto está ou não ligado, se há ou não interação;
- Determinação de parâmetros termodinâmicos e cinéticos;
- Identificação do local de ligação à proteína (requer material enriquecido com ¹⁵N e informação acerca da atribuição dos sinais).

Chemical shift mapping approach

8

9

Aplicações do RMN

Imagem por ressonância magnética (MRI: Magnetic resonance imaging)

Equipamentos de MRI

9

10

Aplicações do RMN

Espectroscopia de RMN *in vivo*

- Método de diagnóstico
- Visualiza diretamente os metabolitos no corpo de um paciente vivo
- Exemplos:
 - ³¹P em músculos
 - Doenças cerebrais (Alzheimer)

10

11

Aplicações do RMN

RMN de ³¹P NMR *in vivo* do músculo carpo

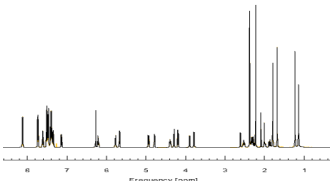
http://143.129.203.3/biomag/bil_bio1_spectra/bil-bio1.html

11

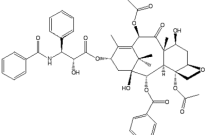
12

Objetivo do Bloco de RMN

Passar de:



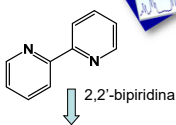
Para:



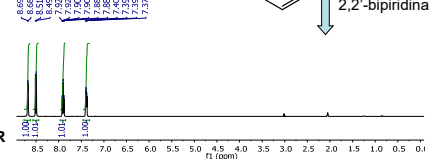
12

13

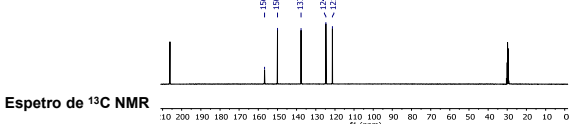
Cada núcleo observável em RMN origina um sinal no espectro "fingerprint" da estrutura



Espectro de ¹H NMR



Espectro de ¹³C NMR



13

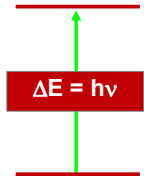
14

Informação que se obtém de um espectro de NMR

Informação	Nome	Interpretação
Nº de sinais diferentes	na	Núcleos quimicamente não equivalentes
Posição do pico	Desvio químico (δ /ppm) (chemical shift)	Ambiente eletrônico dos diferentes tipos de núcleos
Desdobramento dos picos	Multiplicidade dos sinais (desdobramento ou estrutura fina) – Constante de acoplamento (J, Hz)	Núcleos vizinhos
Intensidade dos picos	Integrais (áreas dos sinais)	Núcleos que originam cada sinal
Forma dos picos	Largura da linha	Processos dinâmicos?

14

15



A radiação eletromagnética é absorvida quando a energia de um fóton corresponde à diferença de energia entre dois estados

15

16

Quais estados?

eletrônico	UV-Vis
vibracional	infravermelho
rotacional	microondas
Spin nuclear	radiofrequência

O RMN está relacionado com a mudança na direção de orientação do spin como resultado da absorção de radiação de radiofrequência.

16

17

Ressonância Magnética Nuclear

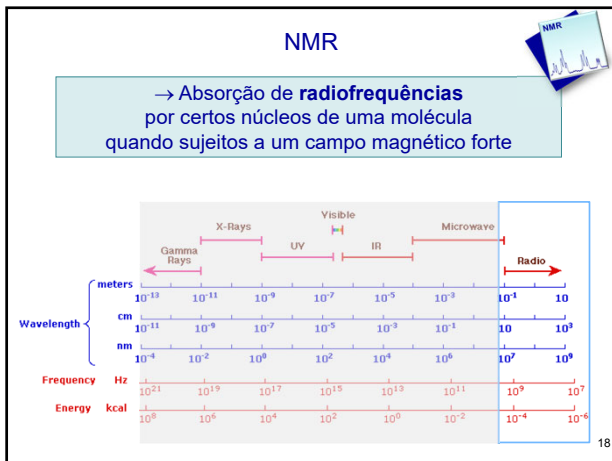
Ressonância Magnética Nuclear (RMN) mede a absorção de radiação eletromagnética na região das radiofrequências (~4-900 MHz)

- núcleos (em vez de elétrons) estão envolvidos nos processos de absorção
- as amostras precisam de ser colocadas num campo magnético para causar diferentes estados de energia

O RMN foi primeiramente observado por Bloch e Purcell em 1946 (receberam o prêmio Nobel em 1952) e rapidamente ficou disponível comercialmente e largamente usado.

17

18



19

Os dois núcleos mais frequentemente usados são:

^1H e ^{13}C

ambos têm spin = 1/2

A abundância natural do ^1H é 99 %

A abundância natural do ^{13}C é 1.1%

20

Base da técnica de NMR:

Spin nuclear

21

Momento Magnético Nuclear

- Todos os núcleos atômicos podem ser caracterizados por um número quântico de spin nuclear, I . I pode ser ≥ 0 e qualquer múltiplo de $1/2$.
- Núcleos com $I = 0$ não são ativos no RMN.
- Todos os núcleos com $I \neq 0$ têm spin, carga e momento angular \vec{l} , resultando num momento magnético nuclear μ .

$$\mu = \gamma \vec{l}$$

onde γ é o razão magnetogírica do núcleo.

γ é constante para cada isótopo de cada elemento, é uma medida da sua força.

22

Razões magnetogíricas de alguns núcleos mais comuns

$\mu = \gamma \vec{l}$

	spin	γ ($10^7 \text{T}^{-1} \text{s}^{-1}$)
^1H	1/2	26.75
^2H	1	4.11
^{13}C	1/2	6.73
^{14}N	1	1.93
^{15}N	1/2	-2.71
^{17}O	5/2	-3.63
^{19}F	1/2	25.18
^{29}Si	1/2	-5.32
^{31}P	1/2	10.84

23

Momento Magnético Nuclear

$I =$ momento angular de spin

Para núcleos de	$I =$	Exemplos
Número de massa ímpar	Múltiplo de $1/2$	^1H , ^{13}C
Número de massa par / n° ímpar de prótons e neutrões	N° inteiro (> 0)	^2H , ^{14}N
Número de massa par / n° par de prótons e neutrões	0	^{12}C , ^{16}O

$I = 0 \Rightarrow$ não são activos em NMR

$I \geq 1 \Rightarrow$ núcleos quadrupolares – distribuição de carga nuclear não esférica

24

Números quânticos de spin nuclear - I - de alguns núcleos mais comuns

I	Núcleo
0	^{12}C , ^{16}O
$1/2$	^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{29}Si , ^{31}P
1	^2H , ^{14}N
$3/2$	^{11}B , ^{23}Na , ^{35}Cl , ^{37}Cl
$5/2$	^{17}O , ^{27}Al
3	^{10}B

- Isótopos do mesmo elemento podem ter diferentes I
- $I > 1/2 \Rightarrow$ formas dos campos magnéticos mais complexas

25

Número Quântico Magnético

I está quantificado em $2I + 1$ estados de spin

Estados de spin nuclear – número quântico magnético m_I

$m_I = I, (I-1), (I-2), \dots, (-I)$ ie, $(2I + 1)$ orientações

26

Spin nuclear

Na ausência de um campo magnético externo, a distribuição de spins nucleares é aleatória.

O que acontece quando é aplicado um campo magnético estático (B_0)?

27

Interação com um campo magnético (núcleos de spin $1/2$)

Um campo magnético externo faz com que os momentos magnéticos nucleares se alinhem de forma paralela ou antiparalela ao campo aplicado.

28

Níveis de energia para um núcleo de spin $1/2$
Cálculo da energia de transição

Quanto maior for o campo magnético, (B_0), maior é a diferença de energia entre os estados α e β (o estado de spin α tem $< E$)

$E_\beta = \gamma h B_0 / 4\pi$

$E_\alpha = -\gamma h B_0 / 4\pi$

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

B_0

β $(-1/2)$

α $(+1/2)$

ΔE

29

Condição de ressonância

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

h constante de Planck
 γ Constante nuclear (razão magnetogírica)
 B_0 campo magnético externo

Lembrar: $\Delta E = h\nu$

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

ν_L = Frequência de Larmor

30

Condição de ressonância

A velocidade angular deste movimento é dada por:

$$\omega_0 = \gamma B_0$$

Onde a frequência de precessão ou frequência de Larmor é:

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

Absorção ocorre quando $\nu = \omega$

Irradiando com a frequência adequada, o estado de spin α é "flipped" para o estado β com absorção de energia. O núcleo está em **ressonância**.

31

Razões magnetogíricas, frequências de Larmor (9,4 T) e abundâncias naturais de alguns núcleos

	spin	γ ($10^7 T^{-1} s^{-1}$)	ν (MHz)	Abundância natural (%)
¹ H	1/2	26.75	400.0	99.985
² H	1	4.11	61.4	0.015
¹³ C	1/2	6.73	100.6	1.108
¹⁴ N	1	1.93	28.9	99.63
¹⁵ N	1/2	-2.71	40.5	0.37
¹⁷ O	5/2	-3.63	54.3	0.037
¹⁹ F	1/2	25.18	376.5	100.0
²⁹ Si	1/2	-5.32	79.6	4.70
³¹ P	1/2	10.84	162.1	100.0

32

Frequências de ressonância (Larmor)

Um campo magnético típico (aparelho de NMR do DQB) tem uma força de **9,4 T** - cerca de 10^5 vezes mais forte do que o campo magnético da Terra.

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

T = Tesla = 10^4 Gauss

$\nu_L(^1H) = 400$ MHz

Zona das **radiofrequências**

33

É comum classificar os espectrômetros pela sua frequência de próton. Ex.:

$B_0 = 2.34$ T $\ll 100$ MHz

$$\nu = \frac{\mu B_0}{hI} = \frac{4.68 \mu}{h}$$

Para um B_0 fixo, cada tipo de núcleo ativo em NMR está associado a uma frequência.

> Equipamento do DQB: Bruker Avance 400 (9,4 T) $\ll 400$ MHz

ν (MHz): 100,6 162,1 376,5 400,0

34

Energia e populações de spin

Pode usar-se a distribuição de Boltzmann para calcular a razão de populações de *spin* para uma determinada força de campo:

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = e^{-\Delta E/kT} \approx 1 - \frac{\Delta E}{kT} = 1 - \frac{\gamma \hbar B_0}{kT}$$

Para ¹H a 400 MHz ($B_0 = 9.4$ T), $\Delta E = 3.8 \times 10^{-5}$ kcal/mol

$N_\alpha / N_\beta = 1.000064$

Em **10^6 de spins** há apenas uma diferença de **64** ...

35

Energia e Sensibilidade em NMR

- Núcleos com γ elevado são mais sensíveis
- A sensibilidade é proporcional a N_α / N_β e ao campo magnético
- ¹H é ≈ 64 vezes mais sensível do que ¹³C apenas devido a diferenças de γ
 - $\gamma^{13C} = 6,728$ rad / G
 - $\gamma^{1H} = 26,753$ rad / G
- Considerando também a **abundância natural**, (¹³C $\approx 1\%$): **¹³C é 6400 menos sensível do que ¹H**

36

Qual é então a utilidade da técnica de NMR?

Nas moléculas, os núcleos estão sempre rodeados por elétrons e por outros átomos.
 ⇒ A frequência também depende, ligeiramente, do ambiente químico do núcleo numa molécula - um efeito conhecido como **desvio químico**.

⇒ O campo magnético efetivo (B_{ef}) no núcleo é menor que o campo aplicado (B_0)

⇒ Efeito de **blindagem**

37

Origem da blindagem

Núcleo isolado num campo magnético B_0

Átomo num campo magnético B_0

38

Blindagem diamagnética e campo magnético efectivo

⇒ Núcleos quimicamente não equivalentes sofrem **diferentes graus de blindagem** e têm **ressonâncias separadas no espectro**

$B_{ef} = B_0 - B_{local}$

$B_{ef} = B_0(1 - \sigma)$

$\sigma =$ constante de blindagem
 Depende da vizinhança (tipo de átomo, grupo funcional, etc.)

39

Condição de ressonância para núcleos blindados

Na ausência de blindagem $\Delta E = h\nu = \hbar\gamma B_0$
 $\nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi}$

Na presença de blindagem $\Delta E = h\nu = \hbar\gamma B_0(1 - \sigma)$
 $\nu = \frac{B_0\gamma(1 - \sigma)}{2\pi}$

$B_0\gamma\hbar$ vs $(B_0 - B_{local})\gamma\hbar = B'\gamma\hbar = B_0\gamma\hbar(1 - \sigma)$

40

NMR – escala de desvio químico

$$\Delta E = h\nu = \frac{h}{2\pi} \gamma \times B_0$$

Como comparar dados obtidos em diferentes aparelhos?

- Utiliza-se um padrão interno como referência ($\delta=0$);
- A frequência dos sinais (em Hz) é medida em relação ao padrão.
- A referência mais comum para 1H e ^{13}C é o **TMS - $Si(CH_3)_4$** (tetrametilsilano).

Desvio químico, δ (ppm) = $\frac{\text{desvio relativo ao padrão (Hz)}}{\text{frequência do espectrómetro (MHz)}}$

41

Desvio químico: escala δ (ppm)

$$\delta = \frac{(\nu_{sinal} - \nu_{referência})(\text{Hz})}{(\nu_{espectrómetro})(\text{MHz})}$$

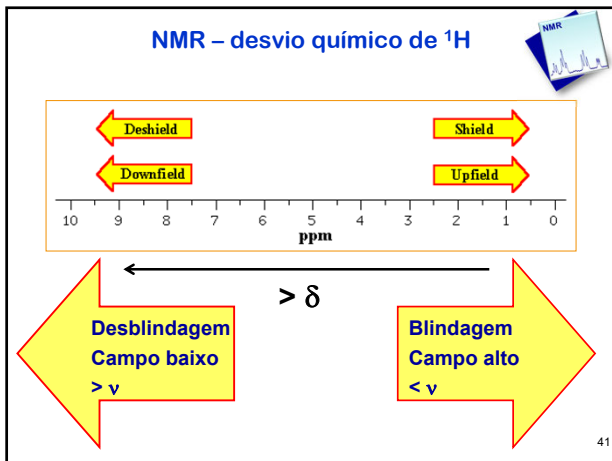
600 Hz	480 Hz	360 Hz	240 Hz	120 Hz	0 Hz
10	9	8	7	6	5
					4
					3
					2
					1
					0
					↑ TMS

60 MHz

3000 Hz	2400 Hz	1800 Hz	1200 Hz	600 Hz	0 Hz
10	9	8	7	6	5
					4
					3
					2
					1
					0
					↑ TMS

300 MHz

42

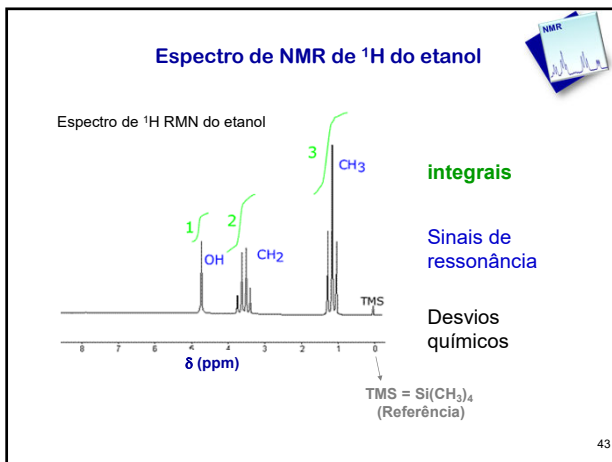


43

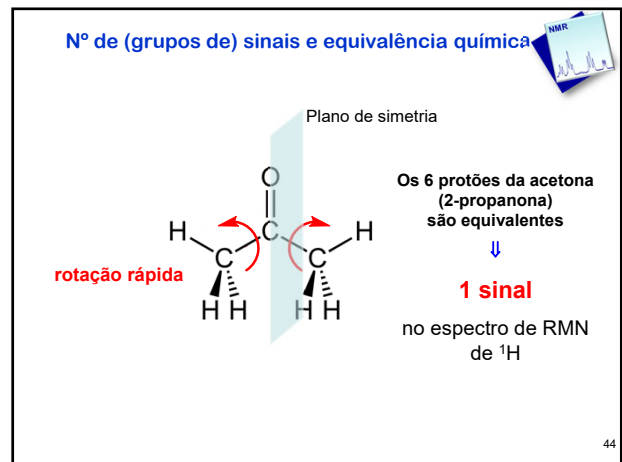
Informação que se obtém de um espectro de NMR

Informação	Nome	Interpretação
Nº de sinais diferentes	na	Núcleos quimicamente não equivalentes
Posição do pico	Desvio químico (δ /ppm) (chemical shift)	Ambiente eletrônico dos diferentes tipos de núcleos
Desdobramento dos picos	Multiplicidade dos sinais (desdobramento ou estrutura fina) – Constante de acoplamento (J, Hz)	Núcleos vizinhos
Intensidade dos picos	Integrais (áreas dos sinais)	Núcleos que originam cada sinal
Forma dos picos	Largura da linha	Processos dinâmicos?

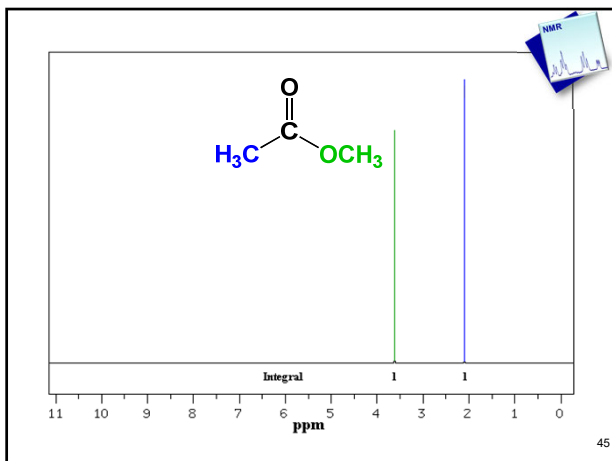
44



45



46



47

Quais dos seguintes compostos dão origem a 4 sinais no espectro de NMR de ¹H?

A.

CC(C)CC

A e B

B.

C=CC

B e C

C.

CC(Br)C

A e C

✓ todos

48

Informação que se obtém de um espectro de NMR

Informação	Nome	Interpretação
Nº de sinais diferentes	na	Núcleos quimicamente não equivalentes
Posição do pico	Desvio químico (δ /ppm) (chemical shift)	Ambiente eletrónico dos diferentes tipos de núcleos
Desdobramento dos picos	Multiplicidade dos sinais (desdobramento ou estrutura fina) – Constante de acoplamento (J, Hz)	Núcleos vizinhos
Intensidade dos picos	Integrais (áreas dos sinais)	Núcleos que originam cada sinal
Forma dos picos	Largura da linha	Processos dinâmicos?

49

Nº de grupos de sinais e integração

A área de um sinal é proporcional ao número de H que o sinal representa.

⇒ **O integral mede a área do sinal.**
A integração dos sinais do espectro dá a razão relativa do número de diferentes H

50

Nº de grupos de sinais

Os prótons da 1-metoxi-2-propanona aparecem como 3 conjuntos de núcleos equivalentes:

3H : 2H : 3H

↓
Três ressonâncias separadas
 rotação rápida

integração → 3 : 2 : 3

Metilo metileno metoxilo

3 sinais no espectro de RMN de ¹H

51

Exercises

- How many groups of equivalent protons, and therefore resonance signals, are present? (label them with letters)
- What are the relative intensities of the signals from the different groups of equivalent protons?

Compound (with labels)

1. # of signals

2. Integrals

52

Exercises

- How many groups of equivalent protons, and therefore resonance signals, are present? (label them with letters)
- What are the relative intensities of the signals from the different groups of equivalent protons?

Compound (with labels)

1. # of signals

2. Integrals

53