

## 473. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

### 1 Espectroscopía de Resonancia 2 Magnética Nuclear para Muestras en 3 Solución

#### 4 Introducción

5 La espectroscopía de Resonancia  
6 Magnética Nuclear (RMN) permite  
7 visualizar átomos individuales y  
8 moléculas, tanto en solución como en  
9 estado sólido. La RMN es una técnica no  
10 destructiva y proporciona una respuesta a  
11 concentraciones molares que se puede  
12 utilizar para elucidación estructural y  
13 cuantificación.

14 De manera similar a otras  
15 espectroscopías, la absorción o emisión de  
16 energía electromagnética, se produce a  
17 frecuencias específicas y provee  
18 información sobre la estructura  
19 molecular. La diferencia de la RMN,  
20 respecto a otras espectroscopías, radica en  
21 que los niveles de energía, entre los que  
22 ocurren las transiciones, se presentan  
23 únicamente cuando el núcleo se sitúa en  
24 un campo magnético con intensidad  $B_0$ . Es  
25 usual definir la dirección del campo  $\vec{B}_0$   
26 como la dirección  $\hat{z}$  de un sistema de  
27 coordenadas fijo en el laboratorio, es decir  
28  $\vec{B}_0 = B_0 \hat{z}$ .

29 Los núcleos atómicos poseen  
30 momento magnético intrínseco  $\vec{\mu}$  y  
31 momento angular de espín  $\vec{S}$ .  
32 Fundamentos de mecánica cuántica  
33 indican que se cumple la siguiente  
34 relación entre ambos vectores,  $\vec{\mu} = \gamma \vec{S}$ ,  
35 en la cual  $\gamma$  se denomina constante  
36 giromagnética del núcleo y es igual para  
37 todos los núcleos de un isótopo dado,  
38 independientemente de su posición en una  
39 molécula. El momento angular de una  
40 partícula con espín toma valores de la  
41 forma:

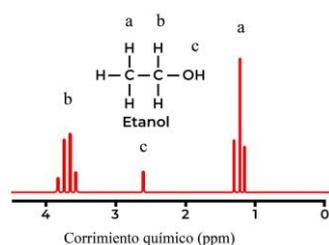
$$42 \quad (S(S + 1))^{1/2} \hbar$$

43 en la cual,  $S$  puede asumir valores enteros  
44 o semienteros y representa el valor del  
45 espín nuclear.

46 La espectroscopía de RMN se basa en  
47 el hecho de que algunos núcleos, como los  
48 núcleos de los átomos  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,

49 poseen número cuántico de espín  $I \neq 0$ . Al  
50 ser colocados en un campo magnético  
51 estático  $\vec{B}_0 = B_0 \hat{z}$ , la componente  $S_z$   
52 del vector momento angular de espín toma  
53 ciertas orientaciones bien definidas  
54  $(2I + 1)$ , con respecto a la dirección de  
55 este campo, que corresponden a distintos  
56 niveles de energía. Para la mayoría de los  
57 isótopos analíticamente importantes con  $I$   
58  $= 1/2$ , existen dos orientaciones posibles  
59 que corresponden a dos estados de energía  
60 distintos, paralela y antiparalela a  $\vec{B}_0$ . El  
61 momento angular de una partícula con  
62 espín es un vector y este vector puede  
63 adoptar cualquier dirección en el espacio.  
64 En presencia de un campo magnético  
65 externo  $\vec{B}_0$ , el momento magnético del  
66 espín se moverá alrededor del campo  
67 externo formando un cono, manteniendo  
68 constante el ángulo entre el momento  
69 magnético del espín y el campo externo.  
70 Esto se denomina movimiento de  
71 precesión. La frecuencia angular del  
72 movimiento de precesión a menudo se  
73 denomina frecuencia de Larmor,  $\omega_0$ , y se  
74 relaciona con el valor de  $S_z$  de la forma  
75  $\omega_0 = -\gamma S_z$ .

76 Un campo magnético oscilante de  
77 radiofrecuencia ( $B_1$ ), perpendicular a  $B_0$ ,  
78 provocará la resonancia cuando la  
79 frecuencia del campo  $B_1$  iguale a la  
80 velocidad angular del movimiento  
81 precesional del núcleo, produciendo  
82 transiciones entre los niveles de energía  
83 vecinos debido a la absorción de radiación  
84 electromagnética a frecuencias  
85 características. Esta absorción puede ser  
86 detectada, amplificada y registrada en lo  
87 que sería una línea espectral o señal de  
88 resonancia. De esta forma se generan los  
89 espectros de RMN para compuestos con  
90 núcleos de momento magnético distinto  
91 de cero. Así, un espectro de RMN aparece  
92 como un conjunto de señales que  
93 corresponden a los núcleos que lo  
94 originaron y son características de su  
95 entorno, nuclear y electrónico, dentro de  
96 la molécula (*Figura 1*).

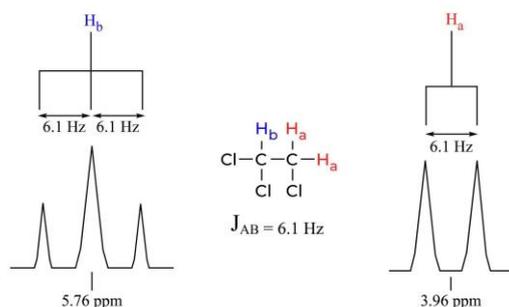
98 **Figura 1.** Espectro de  $^1\text{H}$ -RMN para el etanol

97

99 Todas las características de la señal  
 100 (corrimiento químico, multiplicidad, ancho  
 101 de la línea, constantes de acoplamiento, e  
 102 intensidad relativa) proporcionan  
 103 información valiosa. La utilidad analítica  
 104 de la RMN se basa en la observación de que  
 105 los mismos tipos de núcleos, cuando se  
 106 ubican en diferentes ambientes  
 107 moleculares, presentan frecuencias de  
 108 resonancia distintas. La razón de esta  
 109 diferencia es que el campo efectivo,  
 110 asociado con un núcleo particular, se  
 111 compone del campo externo provisto por el  
 112 instrumento y el campo generado por la  
 113 circulación de los electrones circundantes.  
 114 Este último campo generalmente se opone  
 115 al campo externo y reduce la intensidad  
 116 general del campo en el sitio nuclear. Este  
 117 fenómeno se denomina apantallamiento. En  
 118 consecuencia, los núcleos más apantallados  
 119 tendrán frecuencias de Larmor menores.  
 120 La separación entre una señal dada y la de  
 121 un compuesto de referencia se denomina  
 122 corrimiento químico ( $\delta$ ), es expresado en  
 123 partes por millón (ppm) y caracteriza el tipo  
 124 de núcleos en términos de entorno  
 125 electrónico (*Figura 1*). El tetrametilsilano  
 126 (TMS) es la referencia de desplazamiento  
 127 químico más utilizada para espectros de  
 128 protones ( $^1\text{H}$ ) y carbono ( $^{13}\text{C}$ ). Es  
 129 químicamente inerte, presenta solo un pico  
 130 (que está más apantallado que la mayoría de  
 131 las señales) y es volátil, lo que permite una  
 132 fácil recuperación de la muestra. Los  
 133 espectros de RMN convencionales se  
 134 presentan con un aumento en el  
 135 apantallamiento y una disminución en el  
 136 desplazamiento químico de izquierda a  
 137 derecha, debido a que los núcleos menos  
 138 apantallados tienen frecuencias de Larmor

139 más altas que los núcleos más apantallados.  
 140 Se destaca que las señales de resonancia  
 141 que aparecen a la derecha del espectro  
 142 presentan un mayor apantallamiento  
 143 (tienen una mayor densidad electrónica)  
 144 que las que aparecen a la izquierda, con  
 145 menor densidad electrónica y mínimo  
 146 apantallamiento.  
 147 Con frecuencia las señales suelen  
 148 presentarse como conjuntos de picos  
 149 relacionados, denominados dobletes,  
 150 tripletes, multipletes; esta partición es  
 151 atribuida a la presencia de los campos  
 152 magnéticos pertenecientes a los núcleos  
 153 vecinos ya que, cuando dos núcleos  
 154 interactúan, ocasionan una división  
 155 recíproca de sus resonancias (*Figura 2*). El  
 156 sistema de acoplamiento entre dos núcleos  
 157 se puede describir en términos de la  
 158 constante de acoplamiento de espín-espín,  
 159  $J$ , que es la separación entre los picos  
 160 individuales de un multiplete. Además,  $J$  es  
 161 independiente de la intensidad del campo  
 162 magnético  $B_0$ , se mide en Hz y las  
 163 constantes de acoplamiento, medidas en los  
 164 dos multipletes resultantes, son iguales. Se  
 165 pueden predecir el número de picos  
 166 individuales que se espera estén presentes  
 167 en un multiplete y las intensidades relativas  
 168 de los picos. El número de picos se  
 169 determina mediante la expresión  $(2nI + 1)$ ,  
 170 en la cual  $n$  es el número de núcleos  
 171 idénticos ubicados en átomos adyacentes e  
 172  $I$  es el espín del núcleo que origina la señal,  
 173 por lo que, para los protones con  $I = 1/2$ , el  
 174 número de picos está dado por  $(n + 1)$ .  
 175 Asimismo, la intensidad relativa de cada  
 176 pico en el multiplete se puede determinar  
 177 utilizando el triángulo de Pascal.

179 **Figura 2.** Constantes de acoplamiento (J) en  
180 el espectro de 1,1,2-tricloroetano



17

### 181 **Equipamiento**

182 Un espectrómetro de RMN de alta  
183 resolución consta mínimamente de las  
184 siguientes partes:

- 185 - un imán para generar el campo  
186 magnético constante  $B_0$ ;
- 187 - una sonda de temperatura controlada  
188 para contener la muestra, para entregar  
189 el pulso de radiofrecuencia y detectar la  
190 radiación emitida por la muestra;
- 191 - una consola electrónica.

192 El magneto de los equipos actuales  
193 está constituido por una bobina  
194 superconductora sumergida en una  
195 cámara tipo Dewar conteniendo helio  
196 líquido, la cual está contenida en otra  
197 cámara Dewar llena con nitrógeno a  
198 77,4 °K a los fines de mantener al helio  
199 en estado líquido y evitar su  
200 evaporación.

201 La sonda, que constituye una de las  
202 partes más importantes del equipo,  
203 consta de una o dos bobinas que emiten  
204 pulsos de radiofrecuencia y se  
205 encuentran en un circuito que contiene  
206 varios elementos capacitivos, los que se  
207 ajustan para permitir que la sonda  
208 transmita y reciba a la frecuencia de  
209 Larmor, para que los núcleos puedan  
210 entrar en resonancia. Un pulso de  
211 radiofrecuencia a la frecuencia de  
212 Larmor resulta en un campo magnético  
213 aplicado ( $B_1$ ). Para inducir una  
214 transición,  $B_1$  debe aplicarse de manera  
215 perpendicular al campo estático  
216 generado por la bobina superconductora  
217 del magneto. La bobina de  
218 radiofrecuencia no sólo transmite el  
219 pulso de excitación, sino que también se  
220 modifica electrónicamente para recibir  
221 la señal de radiofrecuencia de la  
222 muestra.

223 Normalmente, la muestra se coloca  
224 en un tubo de 5 mm de diámetro  
225 exterior, aunque se han diseñado sondas

226 que permiten acomodar tubos de  
227 mayores o menores dimensiones. Las  
228 muestras se insertan o se extraen de la  
229 sonda mediante un chorro de aire o  
230 nitrógeno filtrado y seco.

231 La consola electrónica es la  
232 encargada de generar las diferentes  
233 frecuencias de Larmor requeridas para  
234 un experimento dado, amplificando y  
235 transmitiendo dichas frecuencias a la  
236 sonda, y detectando las señales  
237 resultantes que se transmiten desde la  
238 sonda de modo que se puedan usar para  
239 crear un espectro de RMN. Además de  
240 dichas funciones primarias, la consola  
241 lleva a cabo muchas más operaciones  
242 las cuales son controladas en su  
243 totalidad por una computadora, la que  
244 realiza el proceso de transformada de  
245 Fourier y también se utiliza para  
246 procesar los datos posteriormente a la  
247 adquisición.

248 Los espectrómetros  
249 contemporáneos funcionan de acuerdo  
250 con el principio de la transformada de  
251 Fourier (FT), después de excitar la  
252 muestra con un pulso de  
253 radiofrecuencia de frecuencia, amplitud  
254 y duración apropiadas, que excita a  
255 todos los núcleos simultáneamente,  
256 seguido de un tiempo de relajación de  
257 corta duración (para permitir que la  
258 electrónica se recupere), la radiación  
259 emitida durante el retorno al estado  
260 inicial se observa en forma de una curva  
261 de decaimiento, denominada  
262 decaimiento por inducción libre. La  
263 transformación de Fourier posterior da  
264 el espectro en el dominio de la  
265 frecuencia, proporcionando  
266 información sobre la estructura  
267 molecular.

268 Se debe corroborar que el  
269 espectrómetro de RMN funciona  
270 correctamente, antes de realizar  
271 cualquier corrida espectral. Las pruebas

272 adecuadas para comprobarlo incluyen la  
273 medición de ancho de línea a la mitad  
274 de la altura para picos definidos bajo  
275 condiciones de adquisición definidas,  
276 de la relación señal-ruido (S/N) para  
277 mezclas estándar y de la potencia y  
278 reproducibilidad del pulso.

#### 279 **Preparación de la muestra.**

280 En general los experimentos de  
281 RMN se realizan en soluciones diluidas  
282 (alrededor del 1 por ciento) del analito  
283 en un solvente apropiado, pudiéndose  
284 agregar un estándar adecuado para la  
285 calibración del desplazamiento  
286 químico. El volumen final de solución a  
287 ensayar debe ser de 0,5 mL. Las  
288 soluciones a emplear deben ser  
289 completamente homogéneas y los  
290 contaminantes sólidos deben  
291 eliminarse para obtener buenos  
292 espectros. La muestra se coloca en un  
293 tubo de RMN y la medición debe  
294 realizarse colocando el tubo en la sonda  
295 de RMN.

#### 296 **Solventes**

297 Hay disponibles diferentes solventes  
298 deuterados para emplear en RMN. Para  
299 la elección del solvente se tendrán en  
300 cuenta determinados criterios: el  
301 solvente debe permitir la disolución de  
302 la muestra y no debe reaccionar con  
303 ella, y sus señales no se deben  
304 superponer con las señales de la  
305 muestra. Algunos de los solventes  
306 deuterados más habituales son: agua  
307 deuterada, acetona- $d_6$ , acetonitrilo- $d_3$ ,  
308 cloroformo- $d$ , dimetilformamida- $d_7$ ,  
309 metanol- $d_4$  y dimetilsulfóxido- $d_6$ . Es  
310 necesario considerar que los  
311 desplazamientos químicos pueden  
312 depender del solvente empleado, de la  
313 concentración de la muestra y la  
314 concentración de iones de deuterio, y  
315 que las soluciones viscosas suelen dar  
316 señales bastante amplias y con  
317 resolución deficiente.

#### 318 **Patrones de referencia**

319 Para poder calibrar los espectros de  
320 RMN es necesario utilizar un patrón de  
321 referencia. Para los espectros de  $^1\text{H}$  y  
322  $^{13}\text{C}$  se suele utilizar, como compuesto  
323 de referencia, el tetrametilsilano (TMS)  
324 para las muestras disueltas en solventes  
325 orgánicos. Para las muestras disueltas  
326 en agua deuterada, se puede utilizar 2,2-  
327 dimetil-2-silapentano-5-sulfonato de  
328 sodio (DSS) o 3-  
329 (trimetilsilil)propionato de sodio (TSP).

330 Cuando se utilizan otros núcleos como  
331  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$  y  $^{31}\text{P}$ , se pueden emplear como  
332 patrones de referencia nitrometano,  
333 triclorofluorometano y ácido fosfórico,  
334 respectivamente. Además, los átomos  
335 del solvente dan señales que se  
336 identifican fácilmente por su  
337 desplazamiento químico y se pueden  
338 utilizar para calibrar el eje de  
339 corrimiento químico (referencia  
340 secundaria).

#### 341 **Identificación**

342 El principal uso de la espectroscopía  
343 de RMN, en análisis cualitativo, es  
344 cómo técnica de identificación  
345 estructural, debido a su especificidad  
346 para detectar ciertos núcleos tales como  
347  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  y  $^{19}\text{F}$ . El espectro completo  
348 de la muestra o una región espectral  
349 distintiva del mismo se compara con el  
350 espectro de un estándar de referencia o,  
351 con menos frecuencia, un espectro  
352 publicado de la muestra. Ambos deben  
353 ser adquiridos utilizando el mismo  
354 solvente y condiciones operativas, a la  
355 vez que deben proporcionarse detalles  
356 experimentales como, por ejemplo, la  
357 referencia empleada para la lectura del  
358 desplazamiento químico. Cuando los  
359 espectros de la muestra y del estándar de  
360 referencia exhiben las mismas señales  
361 que se corresponden en los  
362 desplazamientos químicos,  
363 intensidades, multiplicidades y las  
364 constantes de acoplamiento del  
365 espectro, la muestra puede identificarse  
366 como la misma sustancia que el  
367 estándar de referencia. En casos  
368 particulares, la comparación  
369 matemática, mediante el cálculo del  
370 coeficiente de correlación, puede ser  
371 apropiada. En ausencia de un estándar  
372 de referencia, se puede usar una  
373 referencia interna, cuya identidad haya  
374 sido demostrada por RMN o métodos  
375 alternativos. Asimismo, la comparación  
376 de espectros puede usarse para detectar  
377 la presencia de impurezas, como  
378 solventes residuales, que generan  
379 señales no esperadas.

380 Para muestras desconocidas, el  
381 análisis de RMN, usualmente  
382 combinado con otras técnicas analíticas,  
383 es una herramienta valiosa para la  
384 elucidación estructural. Los  
385 desplazamientos químicos  
386 proporcionan información del entorno  
387 químico de los núcleos. Existe una  
388 amplia bibliografía de referencia con  
389 tablas y reglas de correlación para

390 predecir los corrimientos químicos.  
 391 Además, la multiplicidad de las señales  
 392 proporciona información estructural  
 393 importante. Experimentos de análisis  
 394 multidimensionales homonucleares o  
 395 heteronucleares determinan la  
 396 correlación de acoplamientos y pueden  
 397 simplificar la interpretación de  
 398 espectros complejos.

399 **Análisis Cuantitativo**

400 La espectroscopía de RMN puede  
 401 ser utilizada como una técnica analítica  
 402 cuantitativa rápida y específica, ya que  
 403 cuando se seleccionan las condiciones  
 404 experimentales apropiadas, las  
 405 intensidades relativas de las resonancias  
 406 son proporcionales a la población de los  
 407 núcleos que ocasionan tales  
 408 resonancias. Para la obtención de  
 409 resultados cuantitativos confiables, se  
 410 deben optimizar los parámetros  
 411 siguientes: Resolución digital, Relación  
 412 señal-ruido, Región de integración.

413 El procedimiento de RMN  
 414 cuantitativo más utilizado es el método  
 415 del estándar interno, en el cual el analito  
 416 y el material de referencia trazable se  
 417 colocan en un tubo de RMN, con el  
 418 solvente adecuado y se miden  
 419 simultáneamente. En este método, el  
 420 número de núcleos se determina  
 421 mediante el fenómeno de RMN, lo que  
 422 significa que la cantidad molar de un  
 423 analito en una solución se calibra  
 424 directamente con un material de  
 425 referencia. Se deben integrar los picos  
 426 apropiados, evitando el uso de picos  
 427 superpuestos o los que se deban a  
 428 protones susceptibles de intercambio,  
 429 tales como los unidos a O y a N. La  
 430 determinación de la cantidad de analito  
 431 se deriva de la proporcionalidad básica  
 432 entre la intensidad del pico y la  
 433 concentración del soluto.

434 Un analito puede ser cuantificado  
 435 por medición de los protones  
 436 seleccionados contra la señal de un  
 437 estándar interno. La cantidad de analito  
 438 presente se calcula a través de la  
 439 fórmula siguiente:

440  
 441 
$$= \frac{A_i}{A_s} \cdot \frac{P_s}{P_i} \cdot \frac{N_s}{N_i}$$

443 en la cual,  $A$  en el analito,  $E_i$  es el  
 444 estándar interno,  $PM$  es el peso  
 445 molecular y  $N^\circ H$  es el número de  
 446 átomos de hidrógeno

447 **Experimentos Bidimensionales**

448 Si bien la inserción de la técnica de  
 449 RMN, mediante los espectros  
 450 unidimensionales de  $^1H$  y  $^{13}C$ , brindó un  
 451 gran aporte al análisis estructural, en las  
 452 últimas décadas se originó un avance  
 453 relevante con la introducción de  
 454 experimentos de RMN bidimensionales  
 455 (2D). Su incorporación aumentó en  
 456 gran medida el poder de la RMN para la  
 457 elucidación estructural y amplió el  
 458 rango y la complejidad de los problemas  
 459 que podrían abordarse. Los espectros  
 460 RMN, también conocidos como 1D,  
 461 tienen una dimensión de frecuencia y  
 462 otra de intensidad, mientras que la  
 463 RMN bidimensional (RMN 2D)  
 464 presenta dos dimensiones de frecuencia.  
 465 Las señales que normalmente se  
 466 observan en 1D dan información acerca  
 467 de un “ambiente químico” en particular  
 468 (entorno químico, cantidad y tipos de  
 469 núcleos presentes, cantidad de núcleos  
 470 cerca del sitio en estudio, entre otros),  
 471 aunque no pueden informar acerca de  
 472 cómo esos sitios se conectan entre sí, lo  
 473 cual resulta de gran utilidad si se desea  
 474 conocer la conectividad presente en la  
 475 estructura de una molécula. Esta  
 476 espectroscopía, que se fundamenta en la  
 477 aplicación de diferentes secuencias de  
 478 pulsos, diseñadas de forma tal que, a  
 479 partir de la magnetización de los  
 480 núcleos naturales más abundantes, se  
 481 pueda transferir energía a los menos  
 482 abundantes y estos puedan ser  
 483 visualizados en los espectros  
 484 bidimensionales, a la vez que dicho  
 485 fenómeno sea posibilitado en función  
 486 del lugar que los distintos núcleos  
 487 ocupan en la estructura molecular.

488 La espectroscopía de RMN 2D  
 489 puede dividirse, a grandes rasgos, en  
 490 dos tipos de experimentos generales.  
 491 Dentro de cada uno de estos grupos se  
 492 encuentran numerosas metodologías  
 493 que permiten establecer correlaciones  
 494 entre átomos de manera tal que se pueda  
 495 armar una estructura molecular de  
 496 forma prácticamente inequívoca. Los  
 497 dos grandes grupos de correlaciones  
 498 estudiadas a través de la RMN 2D, son  
 499 los experimentos homonucleares y los  
 500 heteronucleares, según se  
 501 correlacionen, en ambas dimensiones  
 502 del espectro bidimensional, frecuencias  
 503 de un mismo núcleo atómico o de dos  
 504 núcleos diferentes. Todo experimento  
 505 de RMN 2D tiene la misma secuencia  
 506 general y todas incluyen la detección de  
 507  $^1H$ .

508 Las técnicas bidimensionales, más  
509 comúnmente empleadas, para la  
510 asignación estructural de moléculas  
511 orgánicas son las:

512 • Heteronucleares:

513 HSQC: **H**eteronuclear **S**ingle **Q**uantum  
514 **C**orrelation Spectroscopy

515 HMBC: **H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond  
516 **C**orrelation

517 • Homonucleares:

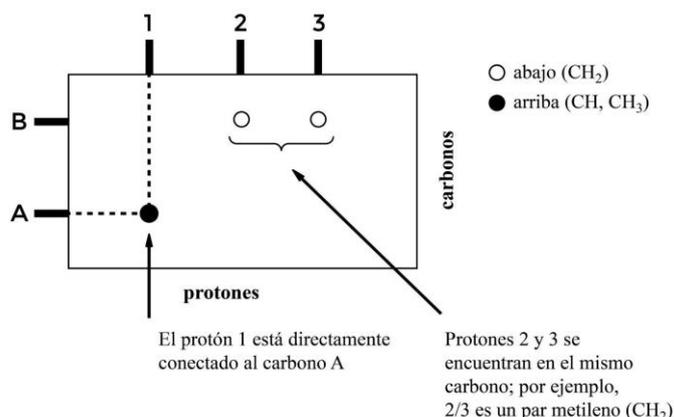
518 COSY: **C**ORrelations **S**pectroscopY

519 **E**spectroscopía de **C**orrelación  
520 **H**eteronuclear.

521 Para realizar un experimento  
522 heteronuclear, uno puede elegir  
523 preparar, evolucionar o mezclar la  
524 magnetización tanto en el protón como  
525 en el carbono (el núcleo X).

546

526 *HSQC*. El análisis se empieza  
527 generalmente por esta técnica debido a  
528 que en el espectro bidimensional resulta  
529 más fácil realizar la asignación de las  
530 correlaciones. En cada uno de los ejes  
531 se grafican los protones (horizontal) y  
532 los carbonos (vertical),  
533 respectivamente. Es un experimento de  
534 detección de protones y carbonos  
535 directamente conectados (un enlace). Si  
536 bien es recomendable contar con los  
537 espectros unidimensionales respectivos,  
538 los mismos no son indispensables para  
539 la interpretación y asignación de la  
540 correlación. Los pares de protones  
541 asociados a un mismo carbono dan  
542 cuenta de protones diastereotópicos. De  
543 modo esquemático el espectro se  
544 observa como se muestra en la *Figura*  
545 3.

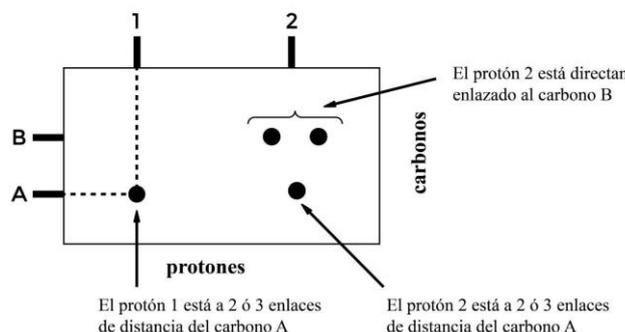


548 **Figura 3.** Ejemplo de un espectro RMN-HSQC

549 *HMBC*. En cada uno de los ejes se  
550 grafican los protones (horizontal) y los  
551 carbonos (vertical), respectivamente. Es  
552 un experimento de detección de protones  
553 que muestra los carbonos que se  
554 encuentran a 2 o 3 enlaces de distancia de  
555 los protones, mediante la conexión de  
556 sistemas de spin. Dependiendo de los

565

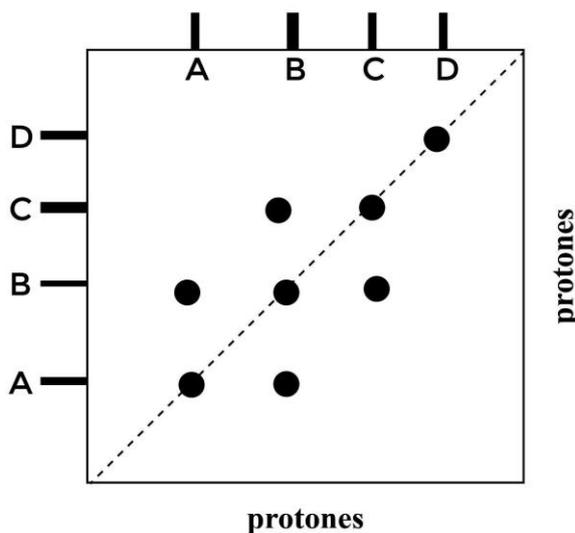
557 tiempos de mezcla, empleados en el  
558 experimento, se podrán ver  
559 secuencialmente los átomos unidos a dos  
560 enlaces, tres enlaces, siendo posible llegar  
561 a ver correlaciones hasta cinco o seis  
562 enlaces. De modo esquemático el  
563 espectro se observa como se muestra en la  
564 *Figura 4.*

567 **Figura 4.** Ejemplo de un espectro RMN-HMBC

568 **Espectroscopía de Correlación**  
 569 **Homonuclear.** En ambas dimensiones del  
 570 espectro las frecuencias graficadas  
 571 corresponden al mismo núcleo,  
 572 generalmente  $^1\text{H}$ .

573 *COSY.* Es un método para encontrar  
 574 relaciones homonucleares, a través de un  
 575 enlace. El espectro resulta de la corrida de  
 576 una serie de experimentos, con un valor fijo  
 577 de  $t_1$  cada vez. El COSY para determinar la

578 composición de cada sistema de spin, en  
 579 ambos ejes se grafican los espectros de H y  
 580 las correlaciones observadas como picos  
 581 fuera de la diagonal tienen acoplamientos  
 582 de 2,3 enlaces entre protones. El objetivo de  
 583 los espectros COSY (45 o 90) es asignar  
 584 los protones pertenecientes a cada sistema  
 585 de spin (conjunto de protones que  
 586 comparten acoplamientos entre enlaces (J))  
 587 presente en una molécula. De modo  
 588 esquemático el espectro se observa como se  
 589 muestra en la *Figura 5*.

591 **Figura 5.** Ejemplo de un espectro RMN-COSY

592 A partir de las correlaciones  
 593 observadas puede inferirse que los  
 594 átomos A, B y C pertenecen a un  
 595 mismo sistema de spin, dado que A  
 596 correlaciona con B y este con C,  
 597 mientras que D corresponde a un  
 598 núcleo/s no acoplados con otros de la  
 599 molécula bajo análisis. Una variante  
 600 del COSY la constituye el *TOCSY*  
 601 (**T**otal **C**orrelated **S**pectroscop**Y**),  
 602 donde se observan todas las  
 603 correlaciones involucradas en uno de  
 604 los sistemas de spin presentes en la  
 605 molécula bajo análisis.

606 **Resonancia Magnética Nuclear**  
 607 **para Muestras en Estado Sólido**

608 **Introducción**

609 La RMN de sólidos se aplica tanto  
 610 para la determinación estructural y el  
 611 empaquetamiento molecular, como  
 612 para estudios de dinámica molecular.  
 613 Esta técnica puede dar información útil  
 614 sobre el número de moléculas en la  
 615 unidad asimétrica o sobre la simetría  
 616 del sitio molecular en la red, para  
 617 ayudar en el refinamiento de datos de  
 618 Rayos X en polvo cuando no están

619 disponibles los monocristales  
620 apropiados. Alternativamente, se  
621 puede usar para medir distancias  
622 internucleares en forma directa,  
623 muchas veces con alta precisión. Para  
624 sólidos amorfos y desordenados, la  
625 RMN de sólidos provee una invaluable  
626 información estructural que no puede  
627 ser provista por otros métodos.

628 Debido a que la RMN es un método  
629 excelente para la dilucidación de  
630 estructuras moleculares,  
631 principalmente orgánicas, y que, en  
632 principio, la intensidad de la señal es  
633 proporcional al número de núcleos que  
634 la originan, resulta que la RMN de  
635 sólidos también es una técnica capaz de  
636 distinguir diferentes polimorfos.

637 i) Elección de un núcleo diluido,  
638 como por ejemplo  $^{13}\text{C}$ , 1% abundante,  
639 para evitar el acoplamiento dipolar  
640 homonuclear ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ).

641 ii) Desacople homonuclear,  
642 remueve la interacción dipolar  
643 homonuclear en el caso de espines  
644 abundantes como por ejemplo ( $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ ).

645 iii) Rotación al ángulo mágico  
646 (magic angle spinning, MAS) la cual  
647 promedia la anisotropía del  
648 apantallamiento químico al valor  
649 isotrópico como en espectros de  
650 solución y, además, ayuda a reducir el  
651 acoplamiento dipolar heteronuclear. La  
652 rotación de ángulo mágico implica  
653 hacer girar la muestra por medios  
654 mecánicos a un ángulo de  $54,7^\circ$  (el  
655 ángulo mágico) con respecto al campo  
656 magnético estático ( $B_0$ ) a fin de simular  
657 la rápida rotación molecular en  
658 solución. Hacer girar una muestra  
659 sólida al ángulo mágico para minimizar  
660 el ensanchamiento de la línea requiere  
661 que la muestra se haga girar más rápido  
662 (en Hz) que el ancho de la anisotropía  
663 de corrimiento químico.

664 iv) Desacople dipolar de protones.  
665 Remueve las interacciones  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  o  
666 entre protones y otros núcleos diluidos,  
667 como por ejemplo  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ .

668 v) Polarización cruzada. Esta  
669 técnica de pulsos permite incrementar  
670 de manera notable la relación señal  
671 ruido (s/n) del espectro transfiriendo  
672 magnetización desde los protones a los  
673 carbonos u otros núcleos diluidos.

674 La relajación hace referencia a  
675 aquellos procesos que vuelven al  
676 equilibrio la magnetización cuando

677 ésta ha sido perturbada por un pulso de  
678 radiofrecuencia. El tiempo de  
679 relajación espín-red o longitudinal,  $T_1$ ,  
680 es la recuperación de la componente de  
681 la magnetización a lo largo del campo  
682 externo  $B_0$ . Para  $^{13}\text{C}$  el  $T_1$  es de varios  
683 segundos, por lo cual, para repetir cada  
684 experimento se debe esperar  $5T_1$ , lo  
685 cual en sólidos es mucho tiempo. Para  
686 subsanarlo se diseñó la técnica de  
687 polarización cruzada y el tiempo de  
688 repetición para esta técnica está  
689 gobernado por  $T_1(^1\text{H}) \ll T_1(^{13}\text{C})$ . La  
690 polarización cruzada es un  
691 procedimiento de resonancia doble en  
692 el que una cantidad abundante de  $^1\text{H}$  y  
693 una limitada de  $^{13}\text{C}$  se hacen resonar  
694 mediante la aplicación simultánea de  
695 dos campos de radiofrecuencia de  
696 fijación de espín ( $B_{1\text{H}}$  y  $B_{1\text{C}}$ ), cuya  
697 magnitud cumplirá con la condición de  
698 correspondencia de Hartmann-Hahn,

$$699 \quad \gamma_{\text{C}}B_{1\text{C}} = \gamma_{\text{H}}B_{1\text{H}}$$

700 Durante el tiempo de contacto se  
701 transfiere magnetización de los  $^1\text{H}$  a los  
702  $^{13}\text{C}$ . Así los  $^{13}\text{C}$  ganan magnetización,  
703 respecto a la adquisición por medio de  
704 un único pulso, lo que genera un  
705 aumento en la sensibilidad de hasta  
706 cuatro veces y una reducción en el  
707 tiempo de repetición de pulsos, lo cual  
708 permite un mayor número de  
709 adquisiciones por unidad de tiempo,  
710 permitiendo una mejor relación señal-  
711 ruido.

### 712 Equipamiento

713 A diferencia de los espectrómetros  
714 para RMN en solución, los de RMN en  
715 estado sólido necesitan estar equipados  
716 con amplificadores de radiofrecuencia  
717 de alta potencia, de 300W a 1000W.  
718 También deben incluir pre-receptores y  
719 filtros de alta potencia para  $^1\text{H}/^{19}\text{F}$  y  
720 núcleos X. Deben venir provistos con  
721 una unidad neumática para la rotación  
722 mecánica de la muestra al ángulo  
723 mágico y, además, las velocidades de  
724 rotación deben estar usualmente entre  
725 10 y 100 kHz, dependiendo del tamaño  
726 del portamuestra y de la sonda usada.  
727 Los portamuestras son, generalmente,  
728 cilindros de óxido de zirconio, con  
729 tapas en uno o en ambos extremos. Los  
730 diámetros externos varían de los 0,7 a  
731 los 7 mm. La diferencia entre estos  
732 radica en el volumen de muestra que  
733 pueden alojar y en la máxima velocidad  
734 de rotación que pueden alcanzar. En la  
735 práctica, es habitual el uso de

736 portamuestras de 4 mm de diámetro  
737 externo con velocidad máxima de  
738 rotación de 15 kHz, éstos son  
739 particularmente aptos para espectros de  
740 núcleos diluidos como los de  $^{13}\text{C}$ . Estos  
741 rotores alojan una masa de muestra  
742 entre 100 y 150 mg, cantidad apropiada  
743 para núcleos pocos abundantes. A su  
744 vez, las tapas para contener los sólidos,  
745 dentro de los rotores, poseen un diseño  
746 de hélices que facilitan el giro de los  
747 portamuestras a través de un sistema de  
748 aire que se controla desde el software  
749 del equipo. El tipo de material varía  
750 según las temperaturas de los  
751 experimentos, pero en general para el  
752 estudio de compuestos farmacéuticos u  
753 orgánicos, consisten en materiales  
754 poliméricos que ofrecen la resistencia y  
755 durabilidad necesaria para llevar a cabo  
756 diversas determinaciones. Para  
757 experimentos a alta temperatura deben  
758 utilizarse tapas de materiales cerámicos  
759 como óxido de zirconio.

760 La sonda para sólidos consta de un  
761 estator que contiene la bobina de  
762 resonancia y cuyo eje longitudinal está  
763 inclinado respecto de la dirección del  
764 campo  $B_0$  un ángulo de  $54^\circ 44'$ , el  
765 denominado ángulo mágico. El imán  
766 para sólidos es de boca ancha (89 mm),  
767 para permitir el acceso de las sondas  
768 para sólidos. Es de aclarar que existen  
769 sondas para sólidos adaptables a los  
770 imanes de 54 mm, usados en RMN en  
771 solución.

### 772 **Preparación de la muestra**

773 Para realizar el estudio de muestras  
774 sólidas el procedimiento difiere  
775 considerablemente con respecto al de  
776 solución, ya que las mismas deben ser  
777 rotadas a diversas velocidades en torno  
778 al ángulo mágico, según sea el núcleo  
779 y el tipo de experimento que se quiere  
780 llevar a cabo. Un aspecto importante,  
781 para que las velocidades sean  
782 homogéneas y no originen desperfectos  
783 durante los experimentos, radica en  
832

784 garantizar un adecuado empaque de la  
785 muestra dentro de los rotores. En este  
786 sentido, las muestras deben ser  
787 perfectamente pulverizadas, para  
788 garantizar un tamaño homogéneo de  
789 partículas, controlando que el material  
790 quede perfectamente compactado,  
791 llenando por completo el espacio  
792 interno del rotor y dejando el espacio  
793 suficiente para la introducción de la  
794 tapa. Esto se controla empleando un  
795 pistón que contiene una marca que  
796 indica la altura a la que debe llenarse de  
797 sólido. En muchos casos, si la muestra  
798 resulta insuficiente para el correcto  
799 llenado del portamuestras, existen  
800 rotores con paredes gruesas (que  
801 reducen el diámetro interno) o con  
802 espaciadores especialmente diseñados  
803 para tal fin. Además, en casos que se  
804 necesite incrementar artificialmente la  
805 masa de la muestra y alcanzar el  
806 correcto llenado, las muestras pueden  
807 ser mezcladas, para lo cual se busca un  
808 compuesto que no contenga el núcleo  
809 de interés. Por ejemplo, se puede  
810 emplear sulfato de sodio o alúmina  
811 para llevar a cabo determinaciones de  
812  $^{13}\text{C}$  cuando la muestra es insuficiente.

813 Una vez que la muestra está  
814 correctamente envasada en el rotor, se  
815 procede a su introducción en el imán  
816 por el extremo superior ayudado de una  
817 guía que, mediante un sistema de aire  
818 comprimido, permitirá su ingreso al  
819 estator de la sonda para su giro en torno  
820 al ángulo mágico. Como dicho ángulo  
821 se puede modificar, debe ser  
822 controlado periódicamente empleando  
823 bromuro de potasio, a los fines de  
824 conocer exactamente en qué ángulo se  
825 está trabajando mediante el registro de  
826 experimentos de  $^{79}\text{Br}$ . De una manera  
827 indirecta también se puede controlar el  
828 ángulo haciendo uso de una muestra de  
829 glicina y minimizando el ancho de la  
830 señal isotrópica a 176,4 ppm a una  
831 velocidad de giro específica.