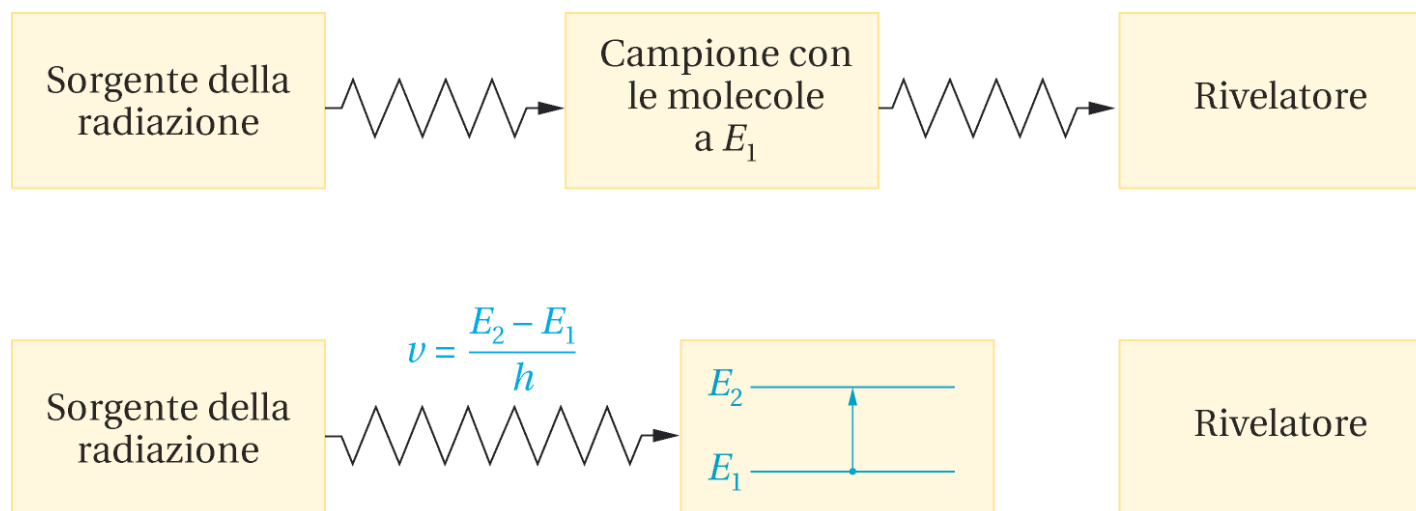


Le tecniche spettroscopiche utilizzano le radiazioni *per identificare alcune molecole* (la loro struttura con l'NMR) o *legami* (IR) o *presenza di delocalizzazione elettronica*, come nelle molecole aromatiche (UV-visibile)

La **risonanza magnetica nucleare (NMR)** usa le onde radio, che permettono transizioni di spin nucleare, lo spin nucleare ce l'hanno solo alcuni nuclei : ^1H , ^{13}C , ^{31}P x es.

La **spettroscopia nell'infrarosso (IR)** permette transizioni tra livelli energetici dovuti alle vibrazioni molecolari.

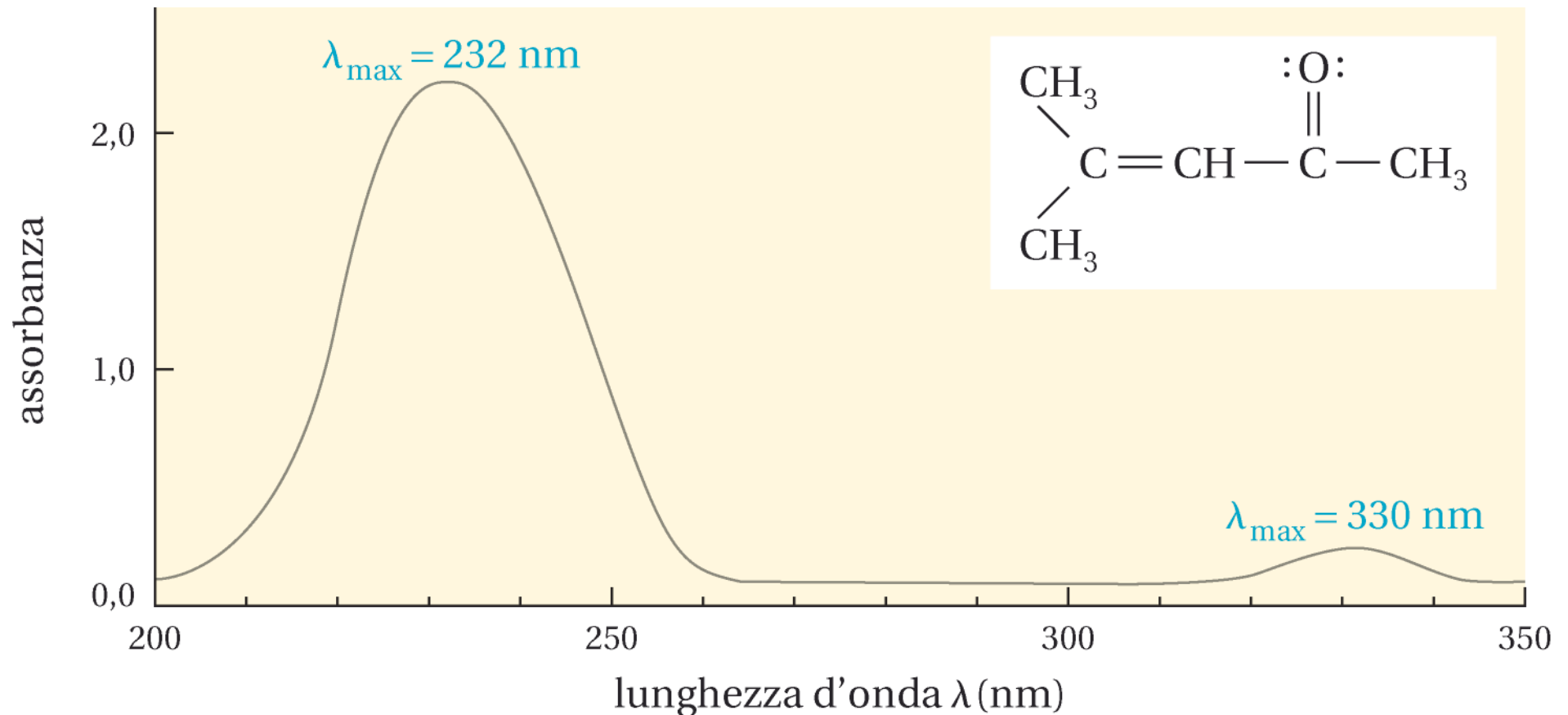
La **spettroscopia UV-visibile** permette transizioni elettroniche



E_1 ed E_2 sono 2 stati energetici di una molecola, se c'è una radiazione di energia sufficiente si può avere la transizione

Spettroscopia UV-visibile

ESEMPIO

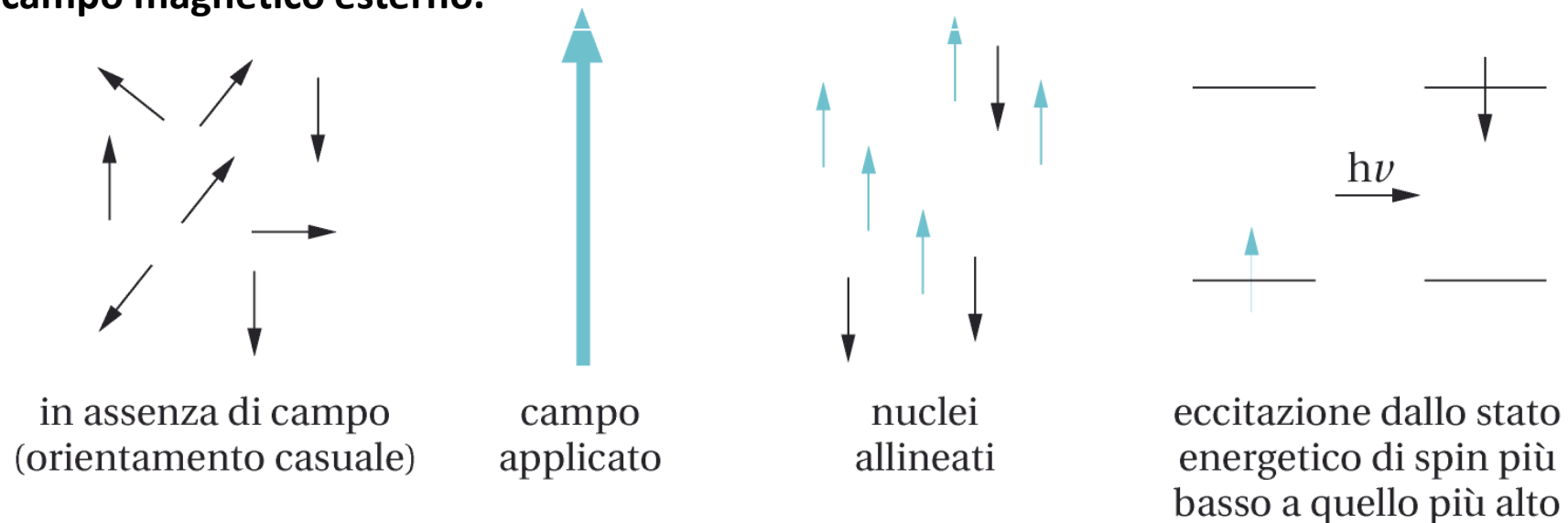


LEGGE DI BEER : $A = \epsilon c l$ dove A è l'assorbanza, ϵ il coefficiente di estinzione molare, c la concentrazione della soluzione espressa in mol/L e l il cosiddetto cammino ottico cioè la lunghezza del campione attraversato dalla luce

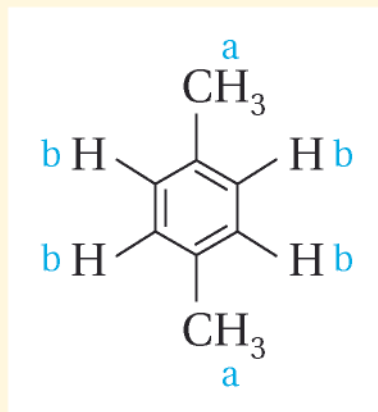
Risonanza magnetica (nucleare, NMR o MR) : NO RADIOATTIVITA'

- ogni particella carica in moto produce un campo magnetico cioè si comporterà come un piccolo magnete con un dipolo magnetico
- Non solo gli elettroni ma anche **protoni e neutroni** possiedono un **momento angolare di spin o momento magnetico** con relativo **numero quantico di spin I**
- L'**NMR** dipende dall'esistenza dello spin nucleare quindi nuclei con $I=0$ sono magneticamente inattivi (non possiedono momento magnetico)
- Modello a shell anche per il nucleo: su ogni livello energetico nucleare i protoni e i neutroni si appaiano (a coppie up and down), protoni con protoni, neutroni con neutroni
- La sensibilità di rivelazione di un nucleo può essere più o meno grande (nucleo sensibile o insensibile)

La **risonanza magnetica** sfrutta l'interazione fra il momento magnetico nucleare ed un campo magnetico esterno.



- In assenza di campi magnetici esterni, gli stati con diverso valore di m sono degeneri, cioè hanno stessa energia; in presenza di un campo magnetico esterno, invece, le orientazioni del nucleo corrispondono a stati ad energia diversa
- La differenza di E tra i 2 stati di spin (per l' ^1H) dipende dall'intensità del campo magnetico applicato oltreché dal tipo di nucleo. Tanto > il campo, tanto > il Δ . Nella spettroscopia di risonanza magnetica nucleare si usano campi magnetici da 1,4 a 14 tesla (il campo magnetico terrestre è di 0,0007 T circa) che portano a Δ di 60-600 MHz, $6-60 \times 10^{-6}$ kcal/mol
- Si applicano radiofrequenze a E crescente, quando l'allineamento si inverte si dice che i nuclei risuonano con la frequenza applicata



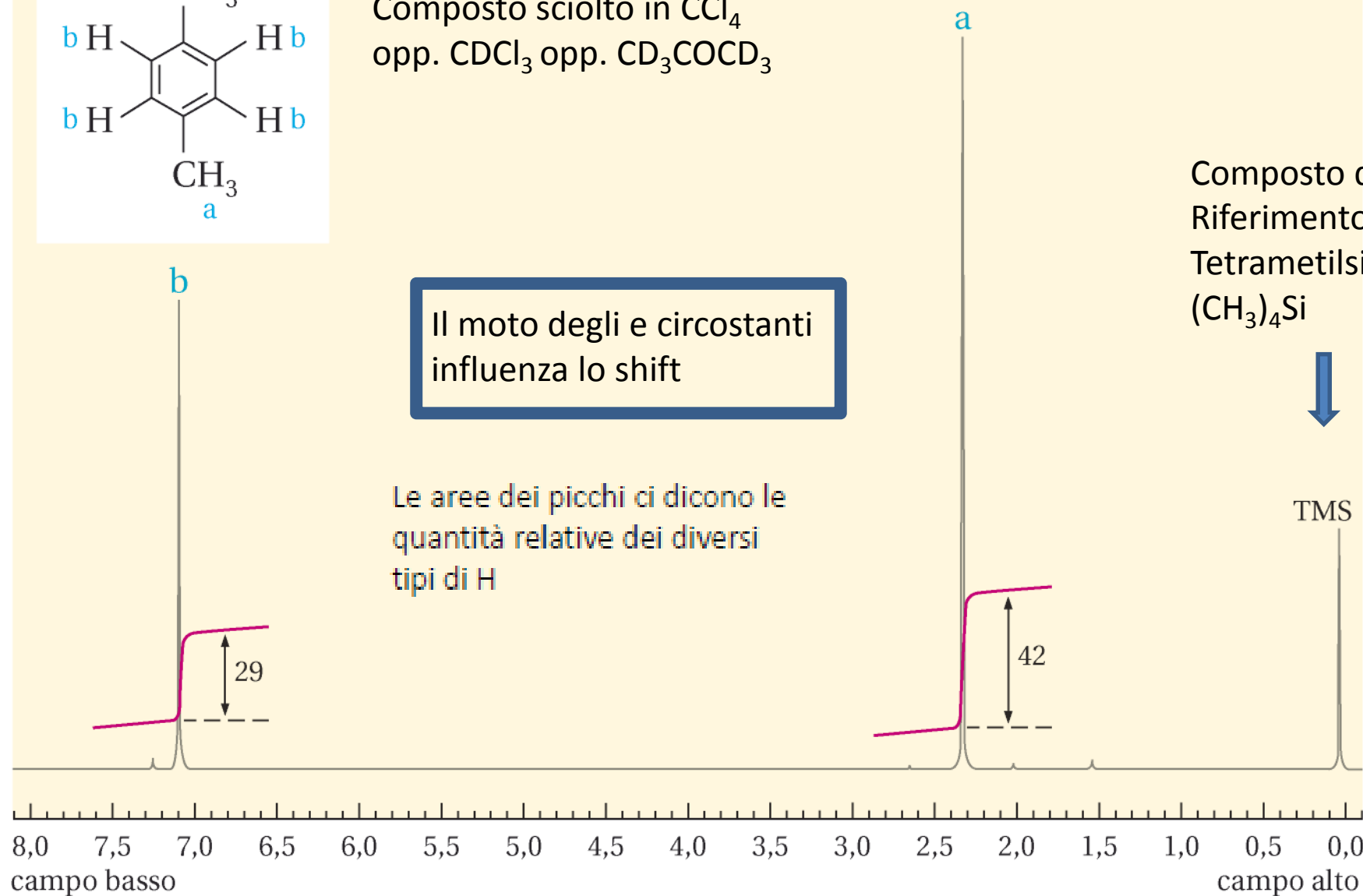
Si misura il chemical shift rispetto al segnale di riferimento

Composto sciolto in CCl_4
opp. CDCl_3 opp. CD_3COCD_3

Il moto degli e circostanti
influenza lo shift

Le aree dei picchi ci dicono le
quantità relative dei diversi
tipi di H

Composto di
Riferimento,
Tetrametilsilano
 $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$



δ (ppm) = chemical shift

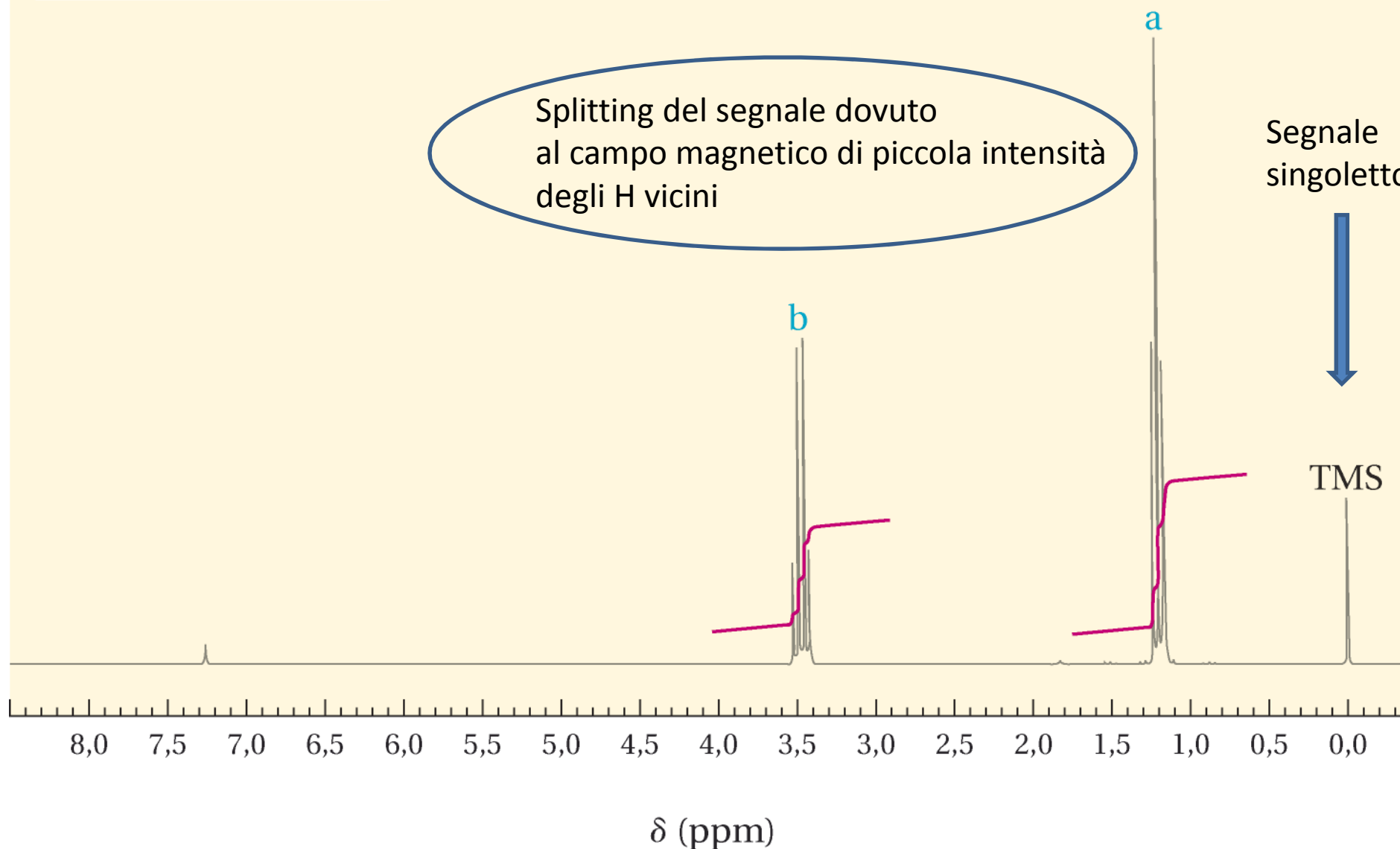


Splitting del segnale dovuto
al campo magnetico di piccola intensità
degli H vicini

Segnale
singoletto

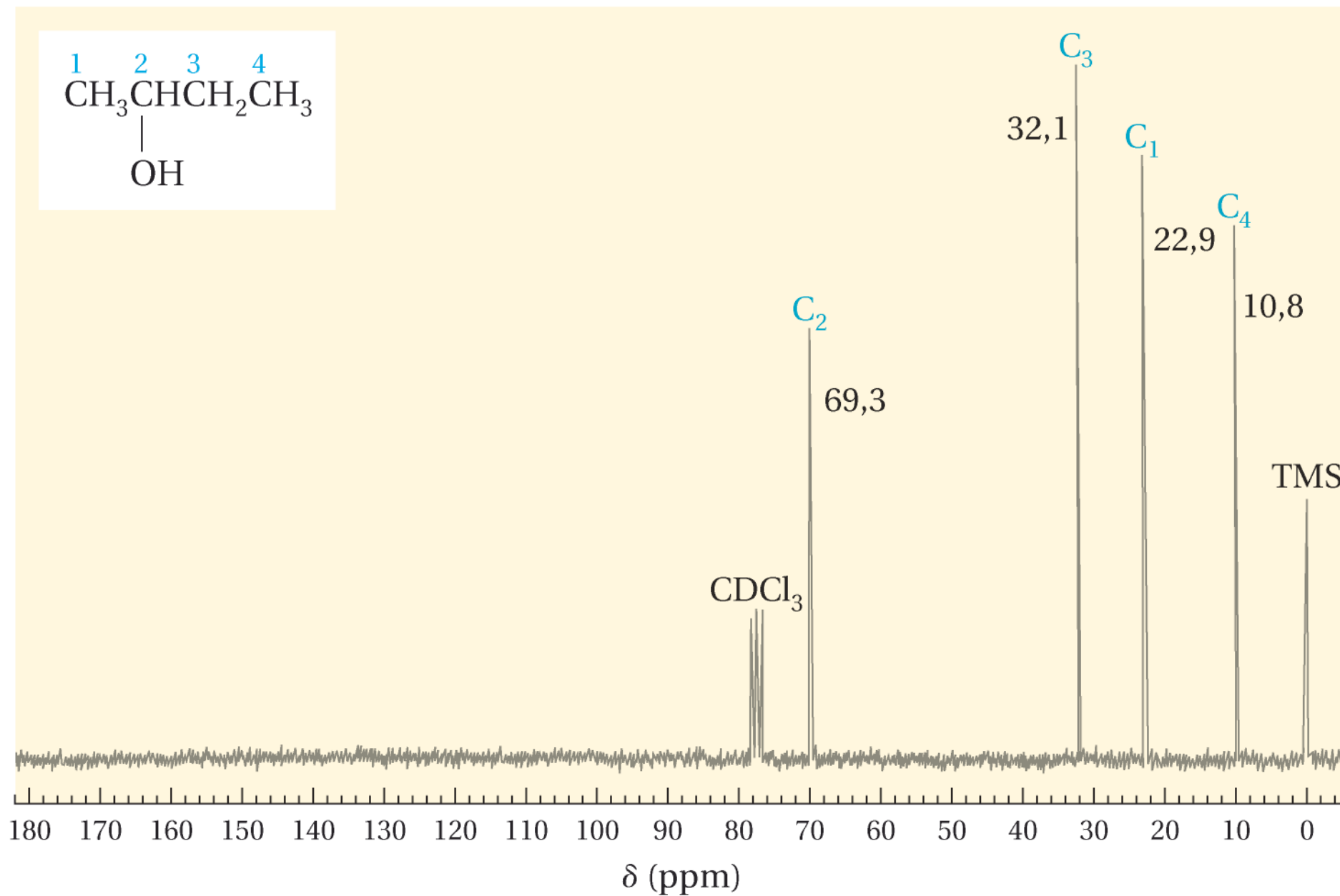


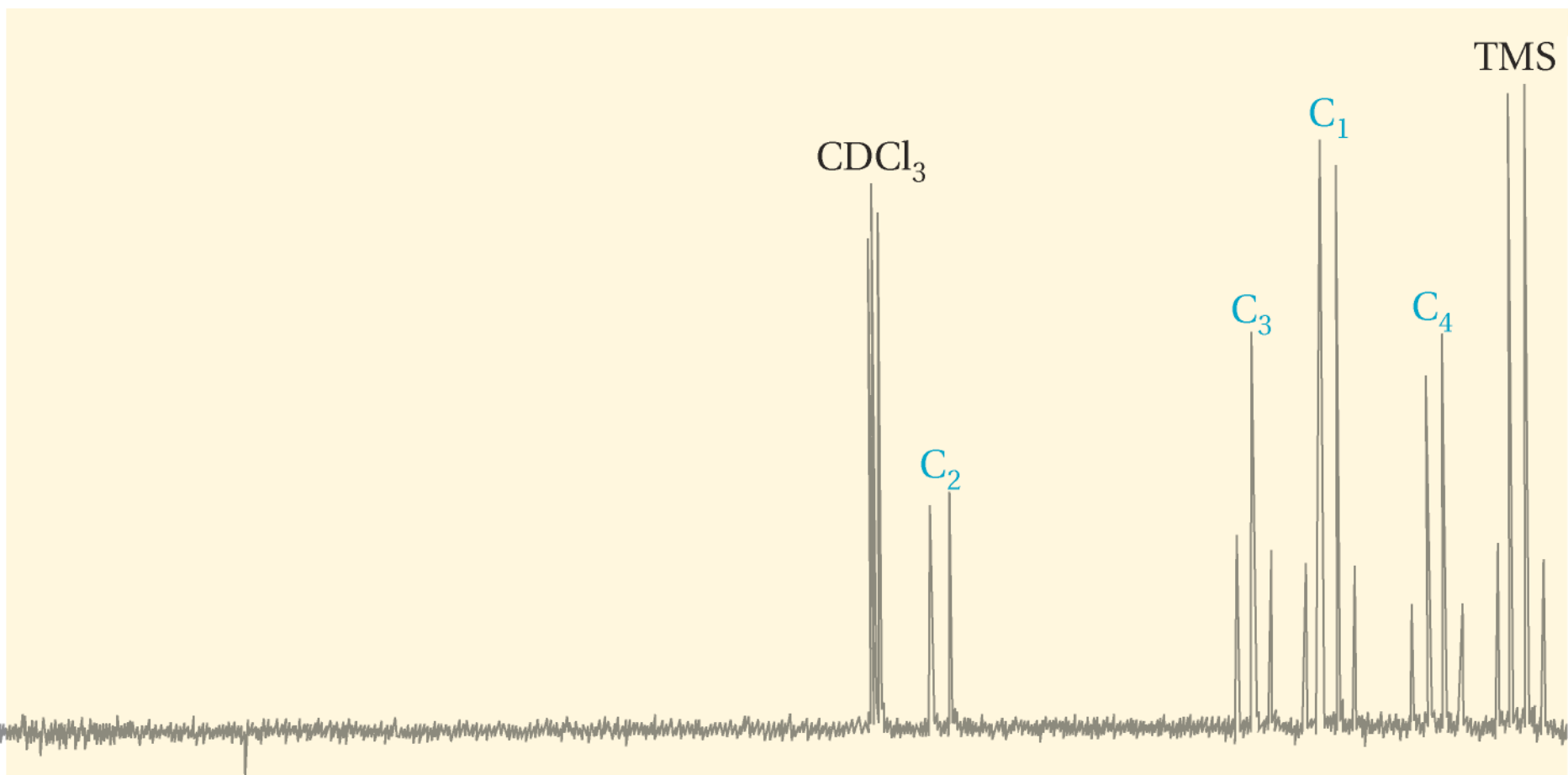
TMS

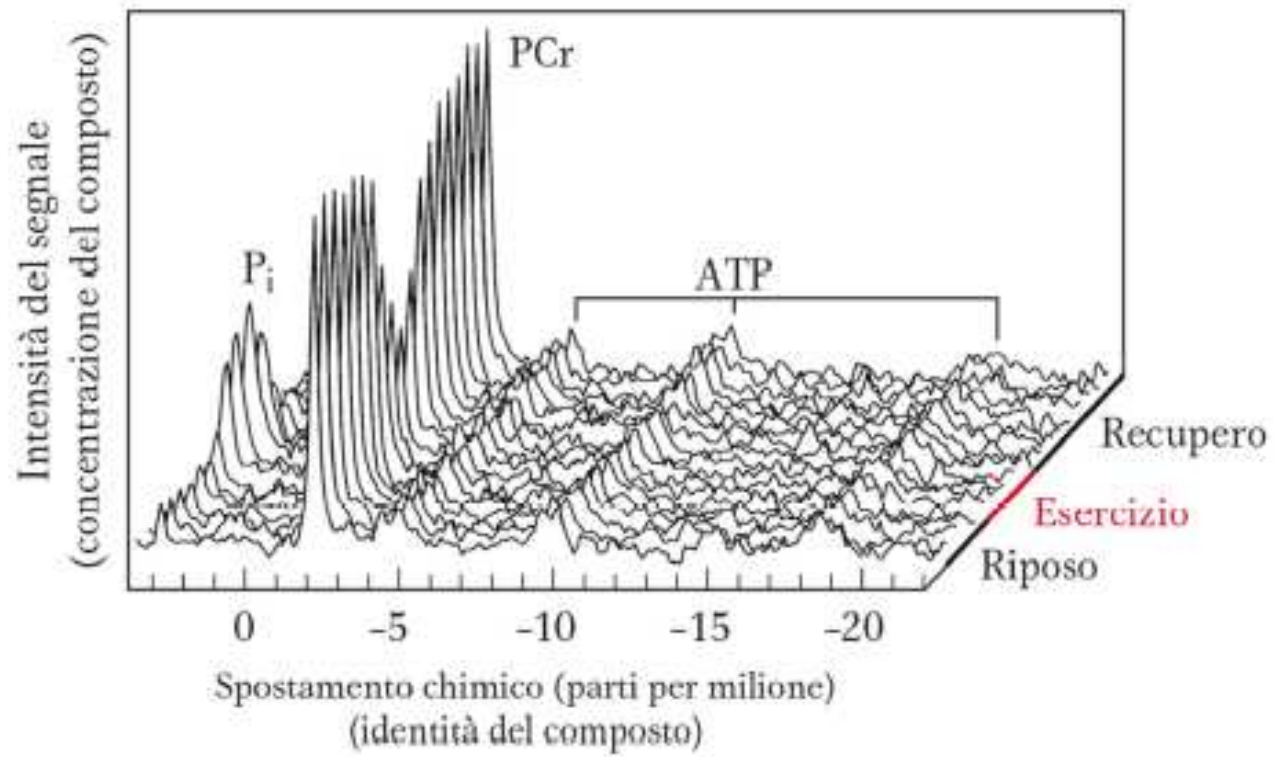


Anche lo splitting dà informazioni, sugli H vicini

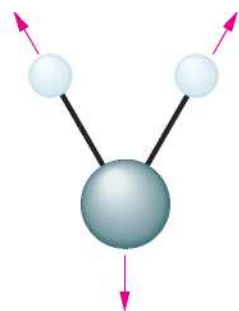
^{13}C NMR



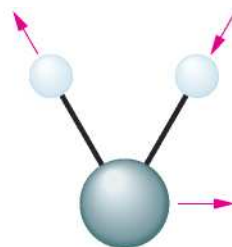




Stiramento
(*stretching*)



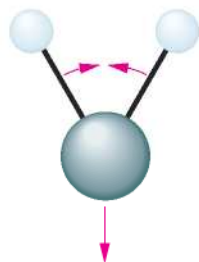
simmetrico



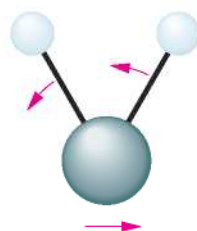
asimmetrico

**TIPI DI VIBRAZIONI INDIVIDUABILI
NELL'IR**

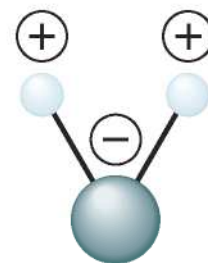
Piegamento
(*bending*)



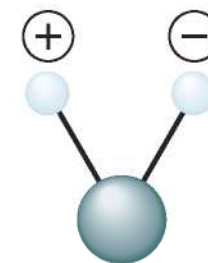
Piegamento
nel piano
o «scissoring»



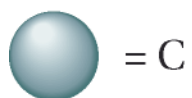
Piegamento
nel piano
o «rocking»



Piegamento
fuori dal piano
o «wagging»



Piegamento
fuori dal piano
o «twisting»



= C



= H

⊕ = moto in direzione dell'osservatore

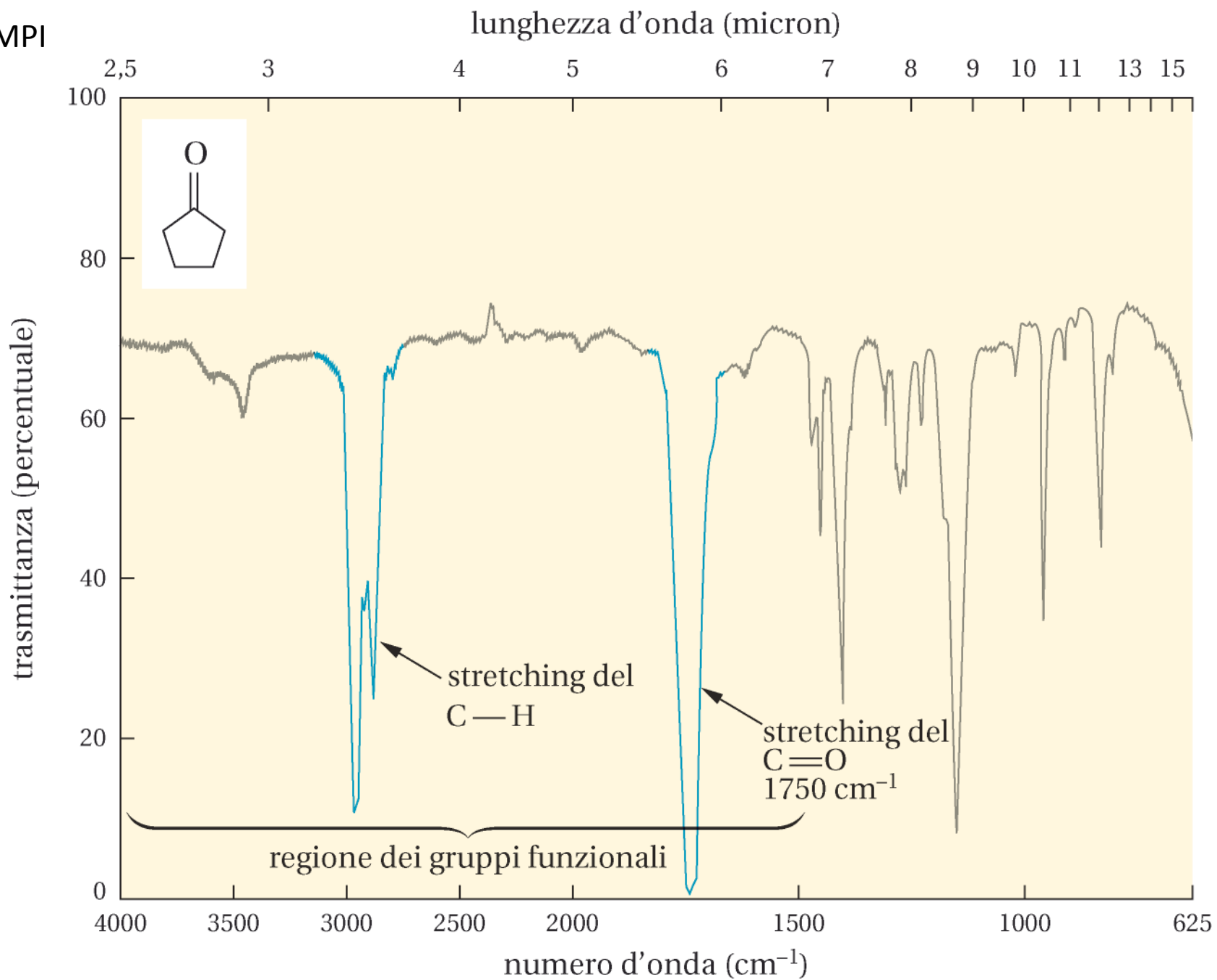
⊖ = moto in direzione opposta a quella dell'osservatore

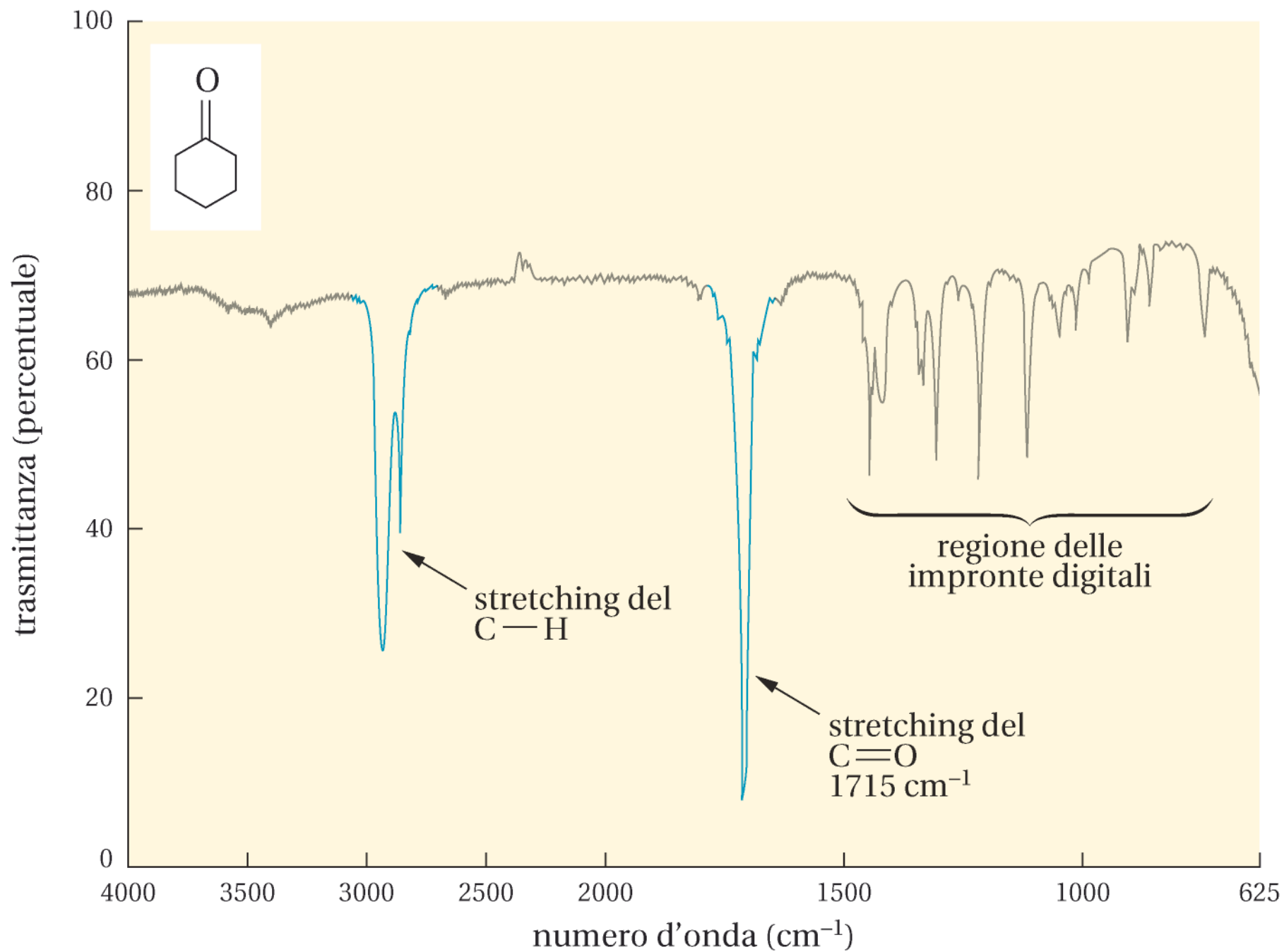


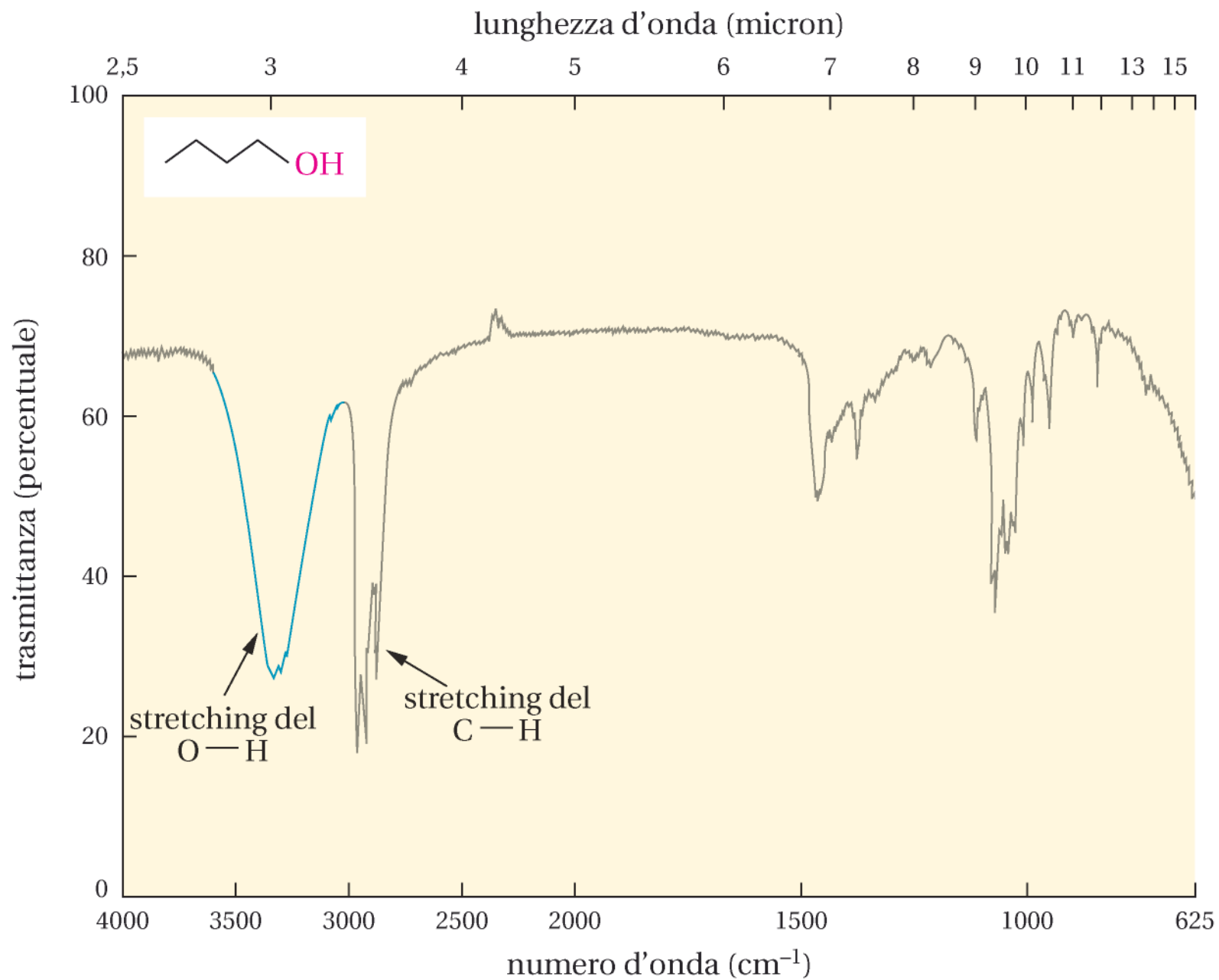
o = moto nel piano



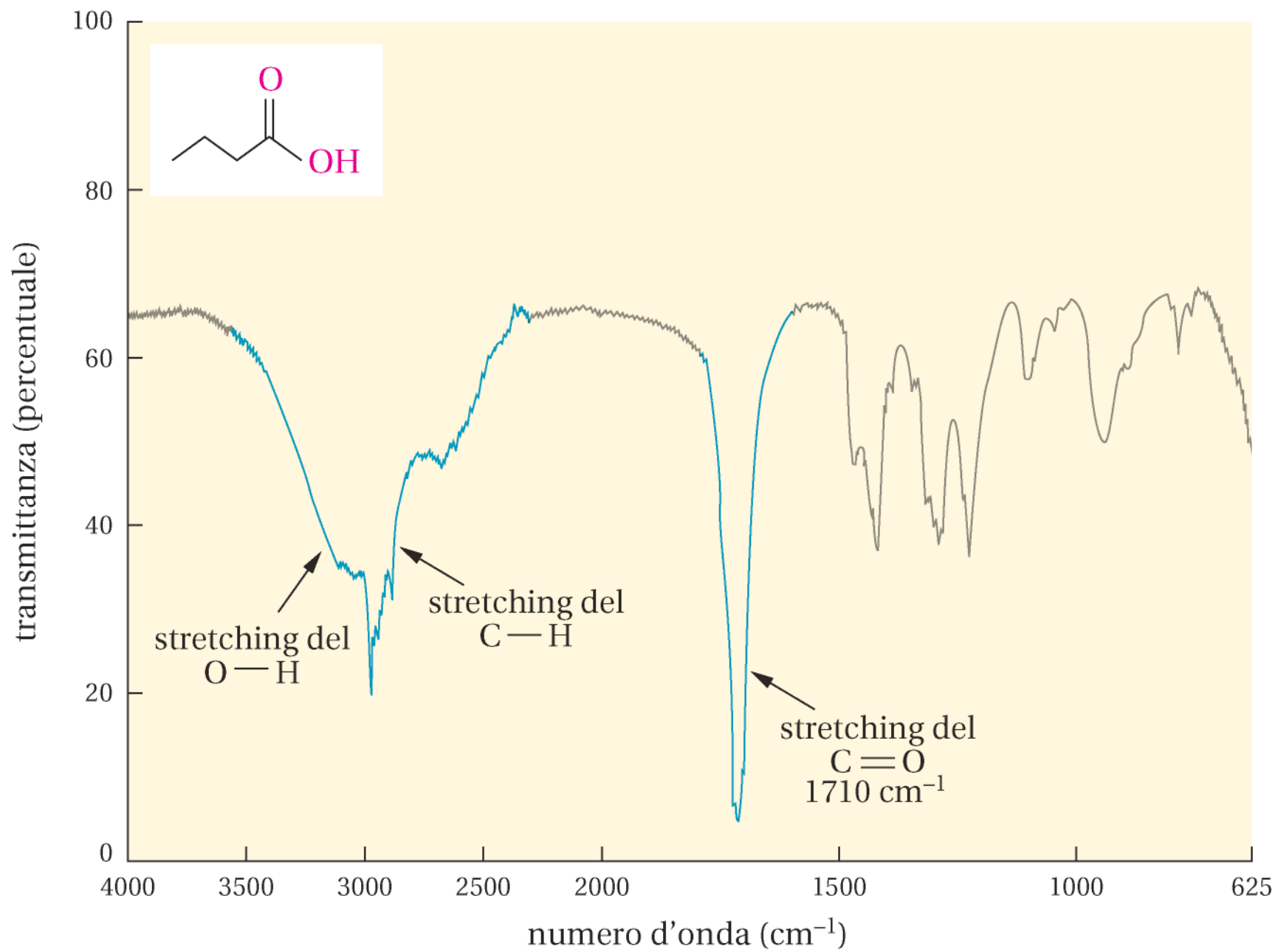
ESEMPI



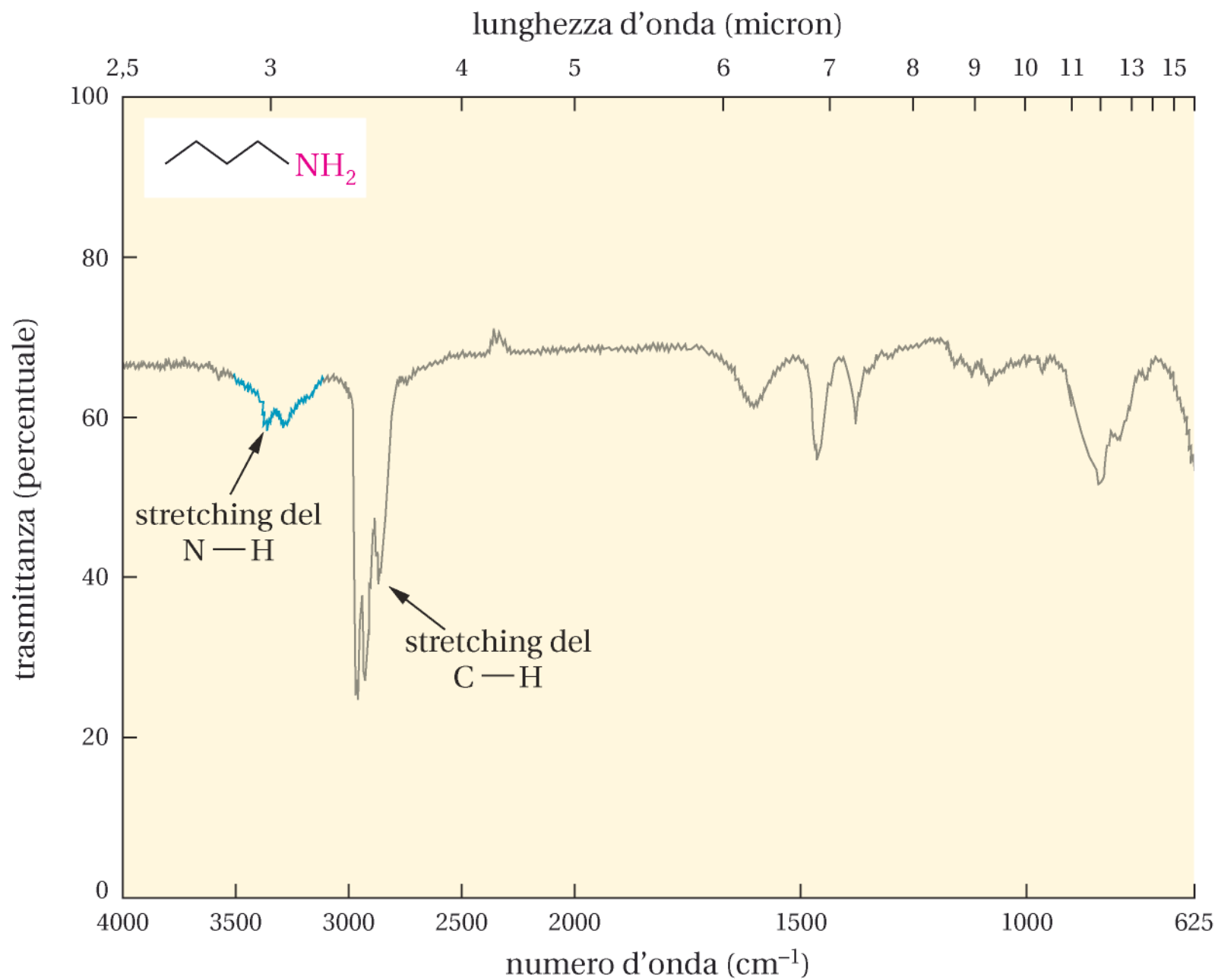




(a)



(b)



(c)

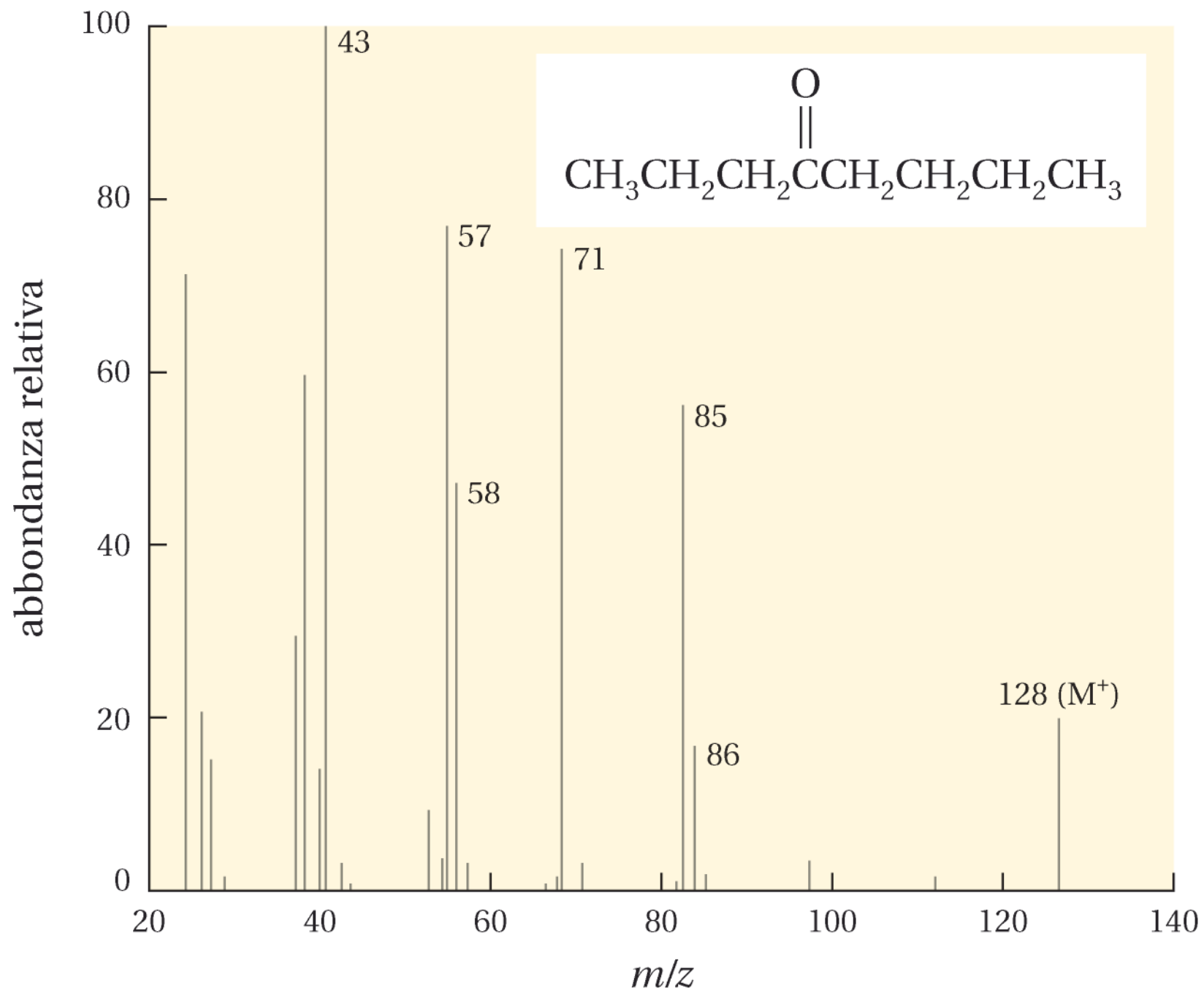
Nelle slides successive sono mostrati invece spettri di massa ottenuti con la **spettrometria di massa**, che permette di quantificare la massa e di identificare i composti (in base a spettri di riferimento)

In questa tecnica non è misurato l'assorbimento di radiazioni dovuto a transizioni energetiche ma

la sostanza viene introdotta in una camera ad alto vuoto, vaporizzata e bombardata con elettroni ad alta energia, per cui si produce uno ione positivo radicalico (**ione progenitore**) per espulsione di un elettrone, che anche si frammenta in ioni più piccoli (**ioni figli**).

Questi ioni sono identificati dal loro **rapporto massa/carica (m/z)**

Le più nuove spettrometrie di massa MALDI (matrix-assisted laser desorption ionization) e ESI (electrospray ionization) hanno permesso di fare spettri anche di molecole grandi come le proteine.



MS-ESI della catena alfa dell'emoglobina umana

