

# ENSEÑANZA

Comenzamos esta sección con una colaboración de la profesora Dolores Santa María sobre la utilización de la Resonancia Magnética Nuclear en Química para la obtención de información muy precisa sobre la estructura de las moléculas, en el apartado de *Problemas metodológicos de la Enseñanza de las Ciencias*. Esta técnica es de gran utilidad debido, principalmente, a ser un método no invasivo, que necesita cantidades muy pequeñas de las muestras para obtener una información muy exhaustiva, y a que es muy versátil, teniendo amplias aplicaciones en campos tan diversos como la Ciencia de los Materiales, la Biología y la Medicina, entre otros. Debido a todo ello, esperamos que ofrecer una visión general de los fundamentos y las aplicaciones de esta técnica sea de gran utilidad para su estudio por parte de los alumnos.

En el apartado de *Taller y Laboratorio* incluimos como experimento casero el experimento de la masa oscilante, de realización muy sencilla, pero que requiere de la aplicación de diferentes modelos y aproximaciones para su análisis. Como experimento histórico, se describe la importancia de los colorantes químicos y sus aplicaciones en la tecnología científica: microscopía de epifluorescencia, láseres de colorante, ...

En el apartado de *Nuevas Tecnologías en Enseñanza* contamos con diversas colaboraciones: la primera dedicada a la enseñanza de la Cristalografía y la Mineralogía en la UNED a través de internet. Los profesores García

del Amo y Gavrilenko nos ofrecen una descripción detallada de la web educativa sobre Cristalografía y Mineralogía en el servidor de la UNED (CristaMine), que contiene cinco cursos, en los que se ha combinado, de manera muy didáctica, textos e imágenes. Estamos seguros de que cualquier persona interesada en el tema disfrutará con este material.

La segunda colaboración está dedicada al uso de la Ciencia y la Tecnología para la conservación del medio ambiente, el mantenimiento de los recursos naturales y el desarrollo social, bajo el prisma de la ética y la solidaridad. El profesor Segundo Jiménez, Numerario de la Real Academia de Farmacia, nos presenta, de manera consistente y documentada, una nueva forma de educar adaptada a las nuevas tecnologías emergentes, que permita un desarrollo sostenido respetuoso con el medio ambiente, a escala internacional.

La tercera colaboración es una reflexión acerca de la utilización de las nuevas tecnologías en la enseñanza, del profesor Manuel Criado, donde hace especial hincapié en que no nos dejemos llevar por las facilidades que nos proporcionan las nuevas herramientas, olvidando los contenidos. Este tema nos preocupa a muchos profesores; sus opiniones nos pueden ayudar en la reflexión que al respecto todos debemos hacer.

Y, finalmente, como viene siendo habitual, incluimos las recensiones de algunos libros y de un vídeo, que nos han hecho llegar profesores de nuestra Facultad.

---

## PROBLEMAS METODOLÓGICOS DE LA ENSEÑANZA DE LAS CIENCIAS

---

### RMN: Una herramienta útil en Química

#### INTRODUCCIÓN

Probablemente, para los químicos, la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) es la herramienta más poderosa para la determinación estructural de moléculas y, aunque no proporciona los detalles precisos de la técnica de difracción de rayos X, se pueden deducir de forma rápida datos sobre la estructura e incluso aspectos tridimensionales de las moléculas con cantidades muy pequeñas de muestra. Además, es una técnica no invasiva y también tiene aplicaciones en otras ramas de la Ciencia, como en Biología, Medicina, Ciencias de los Materiales o Geología.

La importancia que tiene esta técnica espectroscópica se manifiesta en su estudio en diferentes asignaturas de primer y segundo ciclo de los Planes de Estudio de la Licenciatura en Químicas. Por ello, quiero agradecer

a la Dirección de esta revista la posibilidad que se me ha brindado para ofrecer una visión muy general de esta técnica, que espero ayude al alumnado a una mejor comprensión de la misma.

#### DESARROLLO HISTÓRICO

Las primeras señales de resonancia fueron observadas en 1945 por dos grupos diferentes de físicos: por un lado Bloch observó una señal procedente de los protones del agua, y por otro lado, Purcell, la de los protones de una cera de parafina. Por estos descubrimientos les fue otorgado el Premio Nobel de Física en 1952.

Posteriormente, en 1950, una serie de científicos observaron que los núcleos de una misma especie podían

absorber energía a distintas frecuencias, descubriendo así el desplazamiento químico y las constantes de acoplamiento como herramientas estructurales.

Por otro lado, los problemas asociados con el núcleo de <sup>13</sup>C, debido a su baja abundancia natural, no se resolvieron hasta la introducción de los espectrómetros de transformada de Fourier, a finales de la década de los sesenta. También en esta década se empezó a aplicar el efecto nuclear Overhauser en el análisis estereoquímico.

Ya en la década de los setenta el avance más importante se consiguió con la introducción de los imanes superconductores, con los que se alcanzaron altos campos magnéticos, que combinados con la transformada de Fourier hizo que la espectroscopía de carbono-13 fuera una técnica rutinaria.

En la década de los ochenta se desarrollaron las técnicas de multipulsos en una dimensión y la RMN en dos dimensiones, con las que se obtuvieron un gran número de datos estructurales con menos cantidad de muestra y en menos tiempo.

En la década de los noventa continuó el desarrollo de nuevas secuencias, siendo la técnica de pulsos de gradientes de campo la que proporciona espectros de mejor calidad y en tiempos más cortos. También en esta década se empezaron a aplicar métodos analíticos acoplados a la RMN, como la cromatografía líquida.

**EL EXPERIMENTO DE RMN. FUNDAMENTOS FÍSICOS**

La RMN estudia la estructura molecular a través de la interacción de un campo magnético de radiofrecuencias B<sub>1</sub> con un conjunto de núcleos que se encuentran bajo la acción de un fuerte campo magnético B<sub>0</sub>. Según esta definición, para poder comprender los principios básicos de la RMN es necesario introducirse en el estudio de sus fundamentos físicos.

La mayoría de los núcleos atómicos, debido al movimiento de giro sobre su eje, poseen un momento angular P, cuyo valor depende del número cuántico de espín nuclear I. Por otro lado, como el núcleo también presenta carga, el movimiento de la misma lleva asociado un momento magnético μ, que se encuentra relacionado con el momento angular a través de la constante giromagnética γ, que es característica de cada isótopo.

$$P = \sqrt{I(I+1)} h/2\pi$$

I = número cuántico de espín nuclear (0, 1/2, 1, 3/2.....6)

h = constante de Plank (6,6256 10<sup>-34</sup> J s)

Momento magnético μ = γP

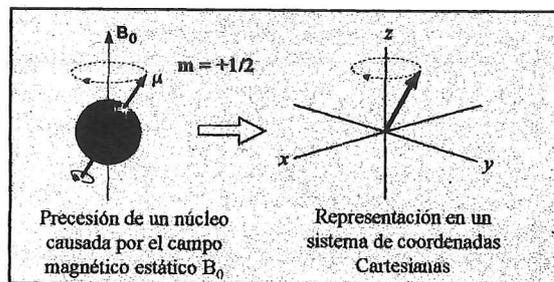
$$\mu = \gamma \sqrt{I(I+1)} h/2\pi$$

Por tanto, aquellos núcleos con espín nuclear cero no poseen momento magnético y no darán señal en RMN. Esto ocurre con aquellos isótopos que tienen tanto el número másico como el número atómico pares, como es el caso de los núcleos de <sup>12</sup>C y <sup>16</sup>O.

La interacción de un núcleo con un campo magnético externo, denominado B<sub>0</sub>, se suele describir por una combinación de las mecánicas clásica y cuántica. Según la mecánica cuántica, esta interacción provoca que el momento magnético adopte un cierto ángulo, cuya componente en la dirección del campo viene dada por la ecuación representada en la figura 1. En total puede haber 2I+1 orientaciones posibles de los momentos magnéticos. En la figura 1 se ha representado la situación para núcleos con espín nuclear I, como el deuterio, para los cuales hay tres posibles orientaciones. Por tanto, se puede decir que los núcleos se comportan en el interior de un campo magnético como si fuesen unos pequeños imanes.

Desde el punto de vista de la mecánica clásica, la interacción entre el campo y el momento magnético de un núcleo provoca que éste realice un movimiento de precesión en la dirección del campo. Convencionalmente, en un sistema de coordenadas cartesianas, este movimiento se representa como un vector moviéndose en la superficie de un cono.

A la frecuencia o velocidad de precesión se le denomina *frecuencia de Larmor*, su valor depende de la



$\mu_z = \gamma mh/2\pi$      m = número cuántico magnético (I, I-1,.....-I)  
 (2 I + 1) valores de m      $\Rightarrow$      (2 I + 1) orientaciones posibles

Isótopo	Espín	Orientaciones	Valores de m
<sup>1</sup> H	1/2	2	+1/2, -1/2
<sup>2</sup> H	1	3	+1, 0, -1
<sup>11</sup> B	3/2	4	+3/2, +1/2, -1/2, -3/2
<sup>17</sup> O	5/2	6	+5/2, +3/2, +1/2, -1/2, -3/2, -5/2
<sup>10</sup> B	3	7	+3, +2, +1, 0, -1, -2, -3

Figura 1. Orientaciones de los momentos magnéticos para diferentes núcleos.

intensidad del campo aplicado y de la constante giromagnética del núcleo, y representa la condición de resonancia, puesto que es justamente la frecuencia de observación de RMN.

**CONDICIÓN DE RESONANCIA**

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

Frecuencia de Larmor

Como se observa en la Tabla 1, a 9,4 teslas cada núcleo tiene su frecuencia de resonancia característica. Además, a la hora de hablar de la sensibilidad de un núcleo para ser observado por RMN hay que tener en cuenta dos factores: la constante giromagnética y la abundancia natural. Por ello, el núcleo de protón (<sup>1</sup>H) es el más fácil de observar y se suele hablar de sensibilidad respecto a este núcleo, al que se le asigna el valor de 1. Otros núcleos sensibles son el <sup>19</sup>F y el <sup>31</sup>P; sin embargo, núcleos como los de <sup>13</sup>C y <sup>15</sup>N son poco sensibles.

La energía asociada a cada una de las posibles orientaciones del momento magnético viene dada por la siguiente ecuación:

$$E = -\mu_z B_0 \quad \mu_z = m \gamma h / 2\pi$$

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

A los estados de energía se les denomina *niveles Zeeman*. Por ejemplo, los núcleos con spin nuclear <sup>1</sup>/<sub>2</sub> tienen dos niveles de energía, designados como estados  $\alpha$  (menor energía) y  $\beta$  (mayor energía).

La diferencia de energía entre dos niveles adyacentes,  $\Delta E$ , es directamente proporcional a la intensidad del campo magnético y al valor de la constante giromagnética. Este hecho es muy importante en RMN, ya que la sensibilidad de un experimento de RMN aumenta cuanto mayor sea la separación entre los niveles de energía.

Así pues, para que haya transiciones de espín es necesario aplicar una radiación electromagnética cuya frecuencia sea igual a la frecuencia de Larmor del núcleo, que sabemos que es del orden de megaherzios y, por tanto, corresponde a la región de radiofrecuencias.

Condición de resonancia

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

$$\Delta E = h \nu_L$$

La cuestión que uno se plantea llegado a este punto es: ¿cómo se distribuyen los núcleos en una muestra macroscópica entre los niveles de energía? La respuesta

Tabla 1. *Propiedades de algunos núcleos*

Núcleo	Espín	Abundancia Natural	$\gamma$ ( $\times 10^7$ rad T <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )	Frecuencia RMN (MHz) $B_0 = 9,4$ T
<sup>1</sup> H	1/2	99,98	26,7522	400,000
<sup>2</sup> H	1	0,015	4,1064	61,402
<sup>10</sup> B	3	19,58	2,8747	42,986
<sup>11</sup> B	3/2	80,42	8,5727	128,335
<sup>13</sup> C	1/2	1,108	6,7283	100,577
<sup>14</sup> N	1	99,63	1,9324	28,894
<sup>15</sup> N	1/2	0,37	-2,7126	40,531
<sup>17</sup> O	5/2	0,037	-3,6266	54,227
<sup>19</sup> F	1/2	100	25,1815	376,308
<sup>29</sup> Si	1/2	4,7	-5,3190	79,460
<sup>31</sup> P	1/2	100	10,8394	161,923
<sup>103</sup> Rh	1/2	100	-0,8468	12,590

1 Tesla = 10<sup>4</sup> Gauss

viene dada por la mecánica estadística de Boltzmann, cuya ecuación para núcleos de espín <sup>1</sup>/<sub>2</sub> es:

Ecuación de Boltzmann

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = e^{-\Delta E / k_B T} \approx 1 - \frac{\Delta E}{k_B T} \approx 1 - \frac{\gamma h}{2\pi k_B T} B_0$$

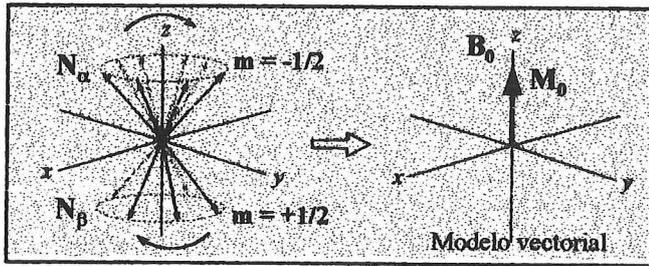
N = Poblaciones

Para protones, y también otros núcleos, las poblaciones en los dos niveles de energía son casi iguales a temperatura ambiente, y sólo existe un débil exceso de núcleos en el nivel de más baja energía. Por ello, al irradiar, de los dos procesos posibles, absorción y emisión, el proceso dominante es el de absorción dando lugar a una señal en el espectro.

Por tanto, cualquier factor que aumente el número de núcleos en exceso en el nivel de más baja energía, hará que el número de procesos de absorción aumente y, con ello, la intensidad de la señal. Por consiguiente, la sensibilidad de la técnica de RMN aumenta:

- A mayor número de núcleos presentes (concentración y abundancia natural).
- Al aumentar  $B_0$ .
- A mayor  $\gamma$ .
- Al disminuir la temperatura.

Para poder entender cómo se obtiene un espectro de RMN es necesario volver a la descripción clásica. Si se suman todas las componentes en el eje z de los momentos magnéticos individuales se obtiene una magnetización macroscópica neta  $M_0$ . A esta magnetización se la denomina *magnetización longitudinal* y juega un papel muy importante en la descripción de los experimentos de RMN de pulsos.



Por otro lado, experimentalmente, para irradiar los núcleos se coloca una bobina transmisora a lo largo del eje X, a través de la cual se hace pasar una corriente alterna de radiofrecuencias, de manera que se genera un campo magnético  $B_1$  polarizado linealmente [figura 2 (a)]. Existe una componente de este campo que oscila circularmente en el plano XY y es la que va a interactuar con los momentos magnéticos, pues oscila en la misma dirección y a la misma velocidad de precesión de los núcleos. Como resultado [figura 2 (b)], los momentos magnéticos entran en lo que se denomina coherencia de fase cambiando de orientación, lo que provoca que la magnetización macroscópica  $M_0$  se desplace hacia el plano XY un cierto ángulo  $\theta$ . Por tanto, ahora se tiene una componente de la magnetización en dicho plano, denominada *magnetización transversal*, que es la que va a dar lugar a la señal en el espectro, puesto que los aparatos de RMN se construyen de forma que la bobina receptora de las señales se sitúa a lo largo del eje Y.

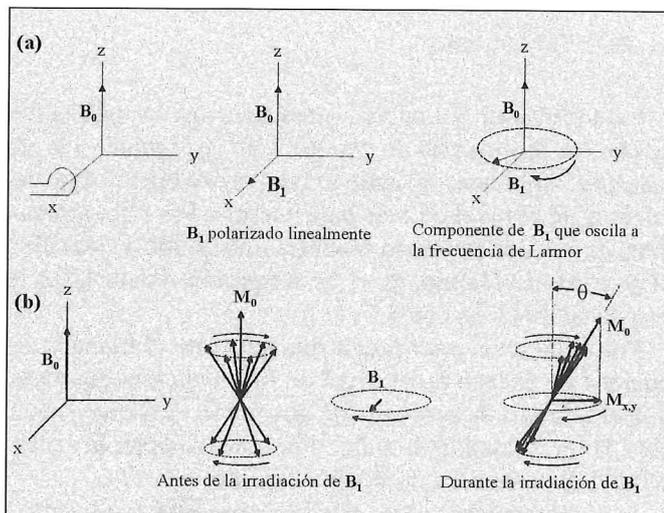


Figura 2. a) Generación del campo  $B_1$ . b) Interacción de  $M_0$  con el campo  $B_1$  oscilante a la frecuencia de Larmor.

### ESPECTRÓMETROS DE FT. ESPECTROSCOPIA DE PULSOS

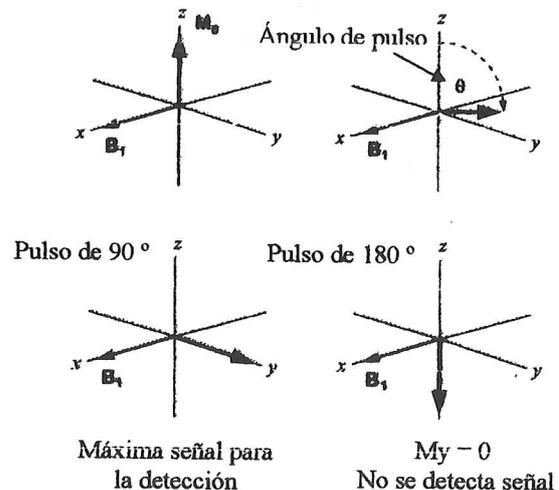
Los primeros espectrómetros comerciales fueron los de onda continua, en los que el espectro se registraba punto a punto, bien alterando la intensidad del campo, o bien, variando la frecuencia del transmisor. Pero estos espectrómetros sólo eran adecuados para registrar espectros de núcleos sensibles.

Con el desarrollo de los imanes superconductores se pudo disponer de campos magnéticos altos y, por tanto, de aparatos cada vez más sensibles. No obstante, el avance más importante que permitió observar núcleos poco sensibles se consiguió con la introducción de la *espectroscopía de pulsos*.

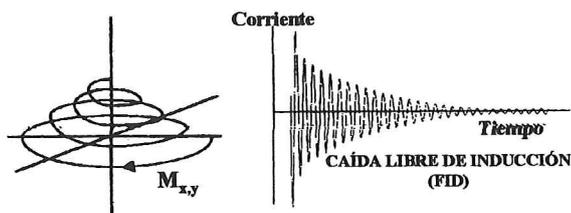
En el método de pulsos todos los núcleos de una misma especie se excitan simultáneamente mediante un pulso de radiofrecuencias de alta intensidad, lo que supone, respecto a la técnica de onda continua, una reducción significativa en la duración del experimento. Además las señales obtenidas son digitalizadas permitiendo mejoras en la resolución y en la sensibilidad.

Para excitar a la vez todas las frecuencias de un núcleo, el generador, que opera a una frecuencia monocromática, actúa durante un tiempo corto denominado pulso. Con este pulso, que es del orden de microsegundos, se obtiene una banda de frecuencias efectivas que abarca la cantidad comprendida en el intervalo  $\nu_0 + 1/\tau_p$  y  $\nu_0 - 1/\tau_p$ .

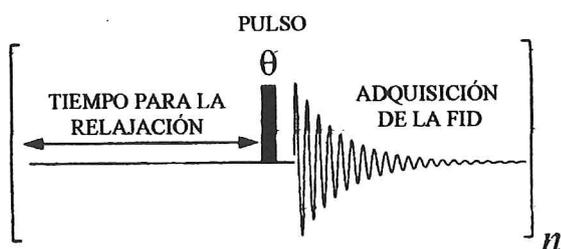
Así, cuando se aplica un pulso de radio frecuencia en la dirección del eje X, el vector magnetización  $M_0$  se desplaza de su posición de equilibrio un cierto ángulo que se denomina *ángulo de pulso*. Si el pulso tiene una potencia y duración adecuadas, podrá mover la magnetización sobre el eje Y: a este pulso se le denomina pulso de  $90^\circ$  y generará la máxima señal para la detección.



En el momento en el que se desconecta el pulso, la magnetización tiende de nuevo a su posición de equilibrio debido a que los núcleos empiezan a transferir su energía de excitación al entorno. A este proceso se le conoce con el nombre de *relajación*. Así pues, después del pulso de  $90^\circ$ , la magnetización transversal empieza a disminuir hasta alcanzar el valor de cero en el equilibrio. Como el detector se enciende justamente cuando el pulso se desconecta, es decir, cuando se inicia el proceso de relajación, a la bobina receptora le va a llegar una corriente de tipo sinusoidal. A esta corriente inducida se le denomina *caída libre de inducción o FID* y es una función matemática en el dominio del tiempo.



Por tanto, los elementos esenciales de un experimento de pulsos son: el tiempo que hay que dejar para que los núcleos se encuentren relajados, el ángulo de pulso para la excitación y el tiempo de adquisición de los datos para obtener la FID.



Cuando las muestras están diluidas, o si la sensibilidad del núcleo es baja, la señal que se obtiene después de un solo pulso es muy débil. Por este motivo, la secuencia arriba descrita se repite n veces hasta obtener una relación señal-ruido satisfactoria.

Para transformar la información que contiene una FID, obtenida en el dominio del tiempo, en datos en el dominio de las frecuencias, es necesario aplicar la transformada de Fourier. De esta manera se obtendrá el espectro con los correspondientes picos que representan las frecuencias de resonancia de los núcleos.

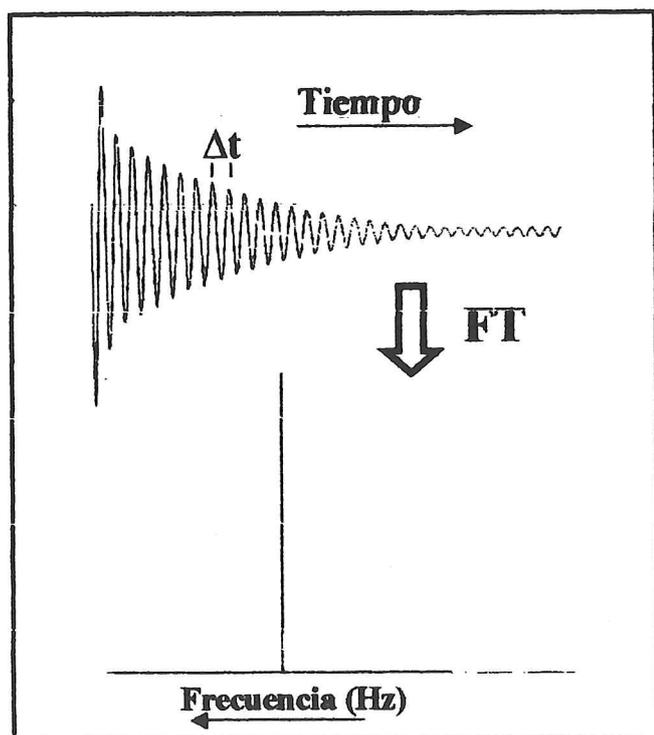


Figura 3. Espectro de <sup>1</sup>H RMN a 90 MHz del CH<sub>3</sub>I: obtenido en el dominio del tiempo (FID) y en el dominio de las frecuencias.

Se puede afirmar, de lo comentado hasta ahora, que el proceso de relajación va a tener un papel muy importante en la espectroscopía de RMN, y son varias las razones:

- porque es el que va a dar lugar a la FID de la que se obtiene el espectro,
- porque es determinante a la hora de seleccionar el ángulo de pulso y el tiempo entre pulsos,
- porque también influye en la anchura de las señales y,
- porque se puede obtener información sobre detalles estructurales.

En la figura 4 se ha representado a la magnetización que se está relajando en un determinado momento después de terminado el pulso. Este movimiento hacia su posición de equilibrio fue estudiado por Bloch y explicó el proceso mediante dos tiempos de relajación distintos que describen las variaciones de M<sub>x</sub>, M<sub>y</sub> y M<sub>z</sub> en función del tiempo: el tiempo de relajación longitudinal T<sub>1</sub> o tiempo de relajación de espín-retículo y el tiempo de relajación transversal T<sub>2</sub> o tiempo de relajación espín-espín.

Ecuaciones de Bloch

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1} \quad T_2 \leq T_1$$

$$\frac{dM_x}{dt} = -\frac{M_x}{T_2} \quad \frac{dM_y}{dt} = -\frac{M_y}{T_2}$$

Comparado con otras partículas la relajación de los núcleos es muy lenta, especialmente en aquellos con espín nuclear 1/2, y puede variar desde unos cuantos segundos hasta incluso horas.

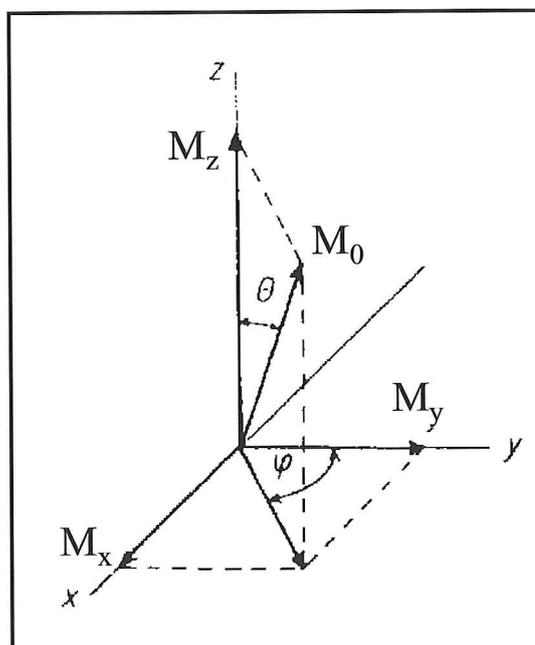
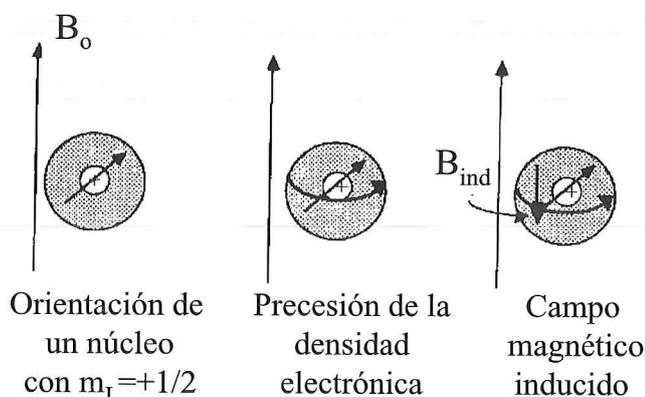


Figura 4. Evolución de M<sub>0</sub>.

Hay varios tipos de interacciones intra e intermoleculares que convierten la energía de excitación en energía térmica y, por tanto, son las responsables de que los núcleos se relajen. Para núcleos con espín  $1/2$  la más importante es la *interacción dipolo-dipolo*. La magnitud de esta interacción aumenta con partículas que tienen grandes momentos magnéticos, por ello los núcleos de protón son los más eficaces para producir la relajación dipolo-dipolo de los núcleos a los que se encuentran unidos.

Hasta el momento se ha tratado a los núcleos como entes aislados y se ha ignorado el efecto que pueden producir los electrones que los rodean. De hecho, el campo magnético externo provoca un movimiento de precesión de los electrones de forma que se induce un pequeño campo magnético en sentido opuesto al campo aplicado.



Por ello, el campo efectivo  $B_{\text{efec}}$  que recibe el núcleo es siempre menor que el campo aplicado, es decir, el núcleo se encuentra apantallado. Este efecto, aunque es pequeño, puede medirse y viene determinado por la fórmula abajo indicada, donde  $\sigma$  es la *constante de apantallamiento*, cuyo valor será mayor a medida que aumente el número de electrones que rodeen al núcleo.

$$B_{\text{efec}} = B_0 - B_{\text{ind}} \quad B_{\text{ind}} = \sigma B_0$$

$$\Downarrow$$

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

Por esta razón, y afortunadamente, las frecuencias de resonancia de núcleos de una misma especie, por ejemplo protones, podrán ser diferentes, ya que su densidad electrónica puede verse modificada por el entorno químico.

Así, la frecuencia de resonancia de un núcleo con alta densidad electrónica, porque esté próximo a sustituyentes dadores de electrones, será menor y dará una señal situada en la parte derecha del espectro (ver figura 5). Por el contrario, aquellos núcleos próximos a sustituyentes que atraigan electrones se dice que están desapantallados, ya que el campo efectivo que experimentan es mayor y darán señales a la izquierda del espectro.

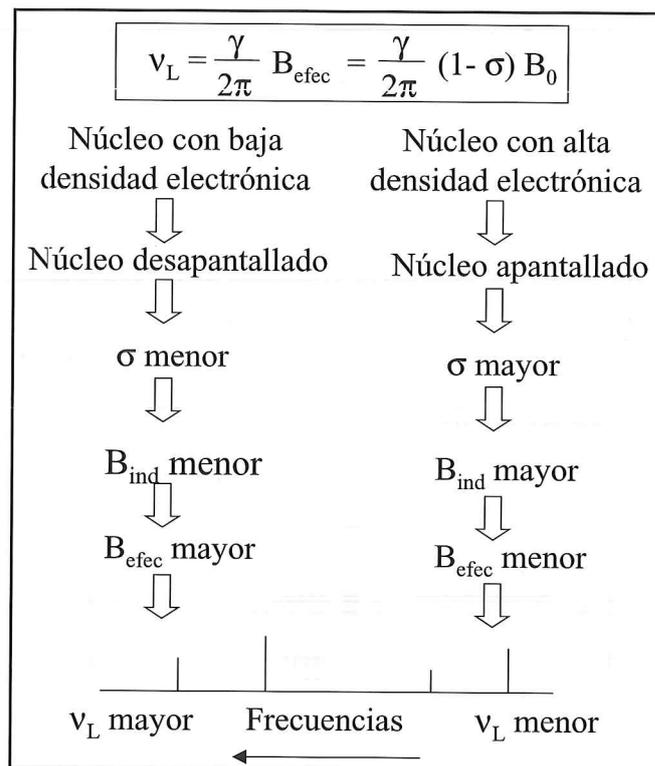


Figura 5. Dependencia de las frecuencias de resonancia con el entorno químico.

Como se comentará más adelante, existen otros factores que van a contribuir a que un núcleo se encuentre más o menos apantallado.

## DESPLAZAMIENTO QUÍMICO Y CONSTANTES DE ACOPLAMIENTO

En la figura 6 se muestra el espectro de protón de una muestra que contiene una mezcla de bromoformo, bromuro de metileno, bromuro de metilo y tetrametilsilano (TMS). La posición de cada pico se puede dar en frecuencias y, de este modo, se puede decir que bajo la acción de un campo magnético de 2,1 Teslas (90 MHz) las frecuencias de resonancia de los protones aparecen a los valores indicados en la figura. Pero como se trata de números grandes, y además las frecuencias serán diferentes si la intensidad del campo varía, en RMN se utiliza una escala relativa donde se mide la diferencia de frecuencias entre las señales de la muestra y la de un compuesto que se toma de referencia. En el caso de las espectroscopías de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  se utiliza el tetrametilsilano.

De esta forma, se define una magnitud, el *desplazamiento químico*  $\delta$ , que hace que el valor de una señal medida en aparatos con diferentes intensidades de campo sea igual. Esta magnitud se expresa en partes por millón (ppm).

Desplazamiento químico

$$\delta = \frac{\nu_{\text{núcleo}} - \nu_{\text{núcleo referencia}}}{\nu_{\text{espectrómetro}}} 10^6 \text{ (ppm)}$$

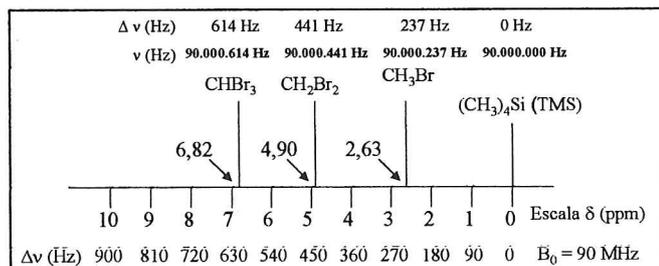


Figura 6. Desplazamiento químico.

El desplazamiento químico para el compuesto de referencia, el TMS, es por definición cero, puesto que de este modo la diferencia de frecuencias es cero. De acuerdo con la escala  $\delta$ , los desplazamientos químicos de los protones de la figura 6 son 2,63, 4,90 y 6,82 ppm.

En las figura 7 y 8 están representados los intervalos en donde aparecen los núcleos de  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$  más característicos. Se observa que en algunos casos hay grandes diferencias en los desplazamientos químicos y pueden identificarse fácilmente.

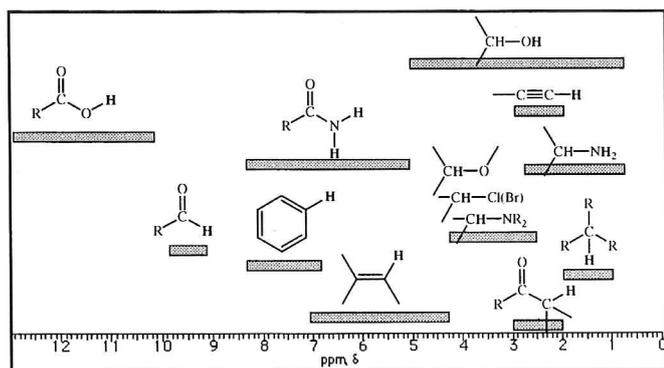


Figura 7. Intervalos de aparición de los núcleos de  $^1\text{H}$  más característicos.

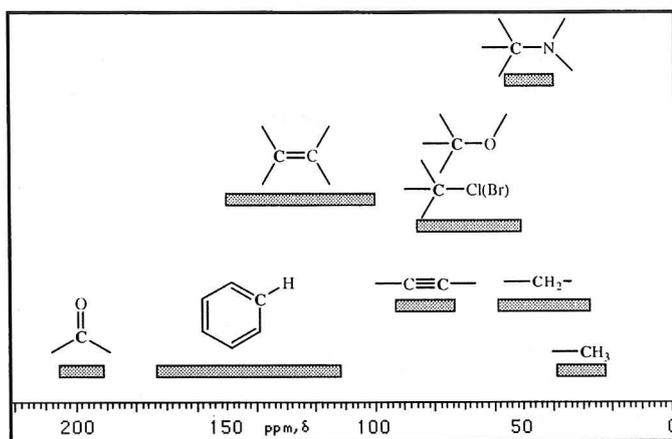


Figura 8. Intervalos de aparición de los núcleos de  $^{13}\text{C}$  más característicos.

Ya se ha comentado que el desplazamiento químico depende de la constante de apantallamiento  $\sigma$  y que es función de la densidad de carga que rodea al núcleo. Pero también hay que tener en cuenta que en la molécula hay otros lugares con densidad de carga, como pueden ser otros átomos o los propios enlaces y que van a pro-

ducir pequeños campos magnéticos. Estos campos debidos a los grupos vecinos pueden sumarse o restarse al campo local que experimenta el núcleo y se encuentran representados en la ecuación global por los siguientes términos:

$$\sigma = \sigma_{\text{local}} + \sigma_{\text{N}} + \sigma_{\text{R}} + \sigma_{\text{e}} + \sigma_{\text{i}}$$

- $\sigma_{\text{N}}$  → Anisotropía magnética de los grupos vecinos
- $\sigma_{\text{R}}$  → Corriente de anillo en los arenos
- $\sigma_{\text{e}}$  → Efecto de los campos eléctricos intramoleculares producidos por grupos polares
- $\sigma_{\text{i}}$  → Efectos de las interacciones intermoleculares (puentes de hidrógeno, efecto de los disolventes)

Así pues, existen muchos factores que van a influir en el desplazamiento químico de un núcleo y por ello la espectroscopía de RMN es muy útil para la determinación de estructuras, pues cualquier pequeño efecto que modifique el campo efectivo que recibe un núcleo hará que su frecuencia sea distinta de las del resto de su misma especie.

Además del desplazamiento químico, otra importante fuente de información para la determinación estructural se obtiene de las *constantes de acoplamiento* entre núcleos. Este acoplamiento se genera por la interacción de los dipolos magnéticos y produce un desdoblamiento de las señales. Este tipo de acoplamiento se denomina acoplamiento indirecto, ya que tiene lugar a través del enlace químico. En la figura 9 se ha representado el espectro resultante del acoplamiento entre dos núcleos A y X, ambos con espín nuclear  $1/2$ . En la parte inferior se muestran las transiciones de espín que dan lugar a las cuatro líneas en el espectro. Se observa que la energía requerida depende de la orientación que adopte el momento magnético del otro núcleo. En este caso cada línea se ha desdoblado en dos, siendo la separación, en hercios (Hz), la constante de acoplamiento  $^nJ$ , que es la misma medida en ambas partes del espectro y donde n indica el número de enlaces que separan a ambos núcleos.

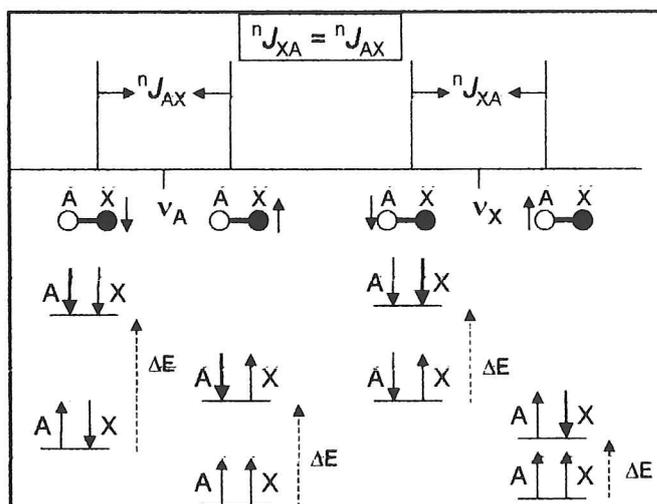


Figura 9. Acoplamiento entre dos núcleos A y B con espín  $1/2$ .

El número de líneas de un multiplete se denomina *multiplicidad* y se calcula de acuerdo con la expresión general  $(2nI+1)(2n'I+1)$ ....., donde  $n$  y  $n'$  representan el número de núcleos equivalentes e  $I$  el espín nuclear de esos núcleos. Cuando el espín es  $1/2$ , que es lo más frecuente, el número de señales y la intensidad relativa de cada una de ellas se calcula según los coeficientes del desarrollo binómico obtenidos a partir del triángulo de Pascal:

n=0	1	1	Singlete			
n=1	1	1	Doblete			
n=2	1	2	1	Triplete		
n=3	1	3	3	1	Cuadruplete	
n=4	1	4	6	4	1	Quintuplete

Un ejemplo de acoplamiento entre núcleos es el espectro de  $^{19}\text{F}$  de la molécula de clorotrifluoroetileno (figura 10), en el que se observan las constantes de acoplamiento entre los átomos de flúor. Hay tres constantes de acoplamiento diferentes, una a dos enlaces,  $^2J_{MA}$ , denominada *constante de acoplamiento geminal*, y dos a tres enlaces,  $^3J_{AX}$  y  $^3J_{MX}$ , denominadas *constantes de acoplamiento vecinales cis y trans*. Por tanto, se deduce que el valor de estas constantes no sólo depende de la distancia internuclear sino también de la estructura molecular.

Para que los multipletes se analicen de acuerdo con las reglas que se han comentado se tiene que cumplir que la diferencia, en hercios, entre los desplazamientos químicos de los núcleos que se acoplan sea mucho mayor que la constante de acoplamiento. En estos casos se habla de espectros de primer orden.

Pero cuando esta condición no se cumple la intensidad de los multipletes se altera y, a veces, pueden aparecer líneas adicionales; en estos casos se habla de espectros de orden superior, y hay que recurrir a cálculos de la mecánica cuántica para poder determinar los desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento. En la actualidad se utilizan programas de ordenador que vienen provistos de un sistema de iteración que adapta los parámetros hasta conseguir un espectro teórico idéntico al experimental, obteniendo un listado de todos los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento.

Hay muchos factores que influyen en la magnitud de la constante de acoplamiento, pero en general los más

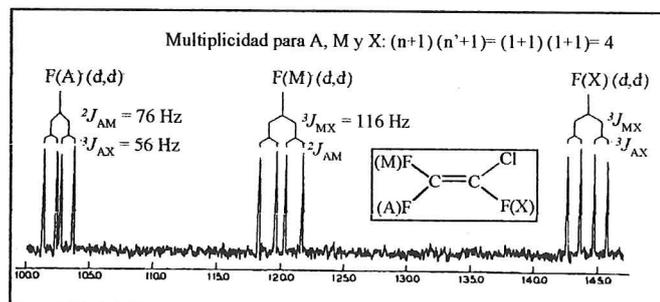


Figura 10. Espectro de  $^{19}\text{F}$ -RMN del clorotrifluoroetileno.

importantes se encuentran representados en esta ecuación:

$$|J_{ab}| \propto \gamma_a \gamma_b f_a f_b F(\text{ángulo})$$

Así, la constante es proporcional a los valores de las constantes giromagnéticas de los núcleos, a la fracción de carácter  $s$  de los orbitales que interactúan y también es función del ángulo de enlace. En la figura 11 se muestran algunos ejemplos: en el caso de las moléculas de etano, etileno y acetileno, la constante de acoplamiento  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  a un enlace es mayor a medida que aumenta el carácter  $s$  del orbital híbrido empleado en el enlace; la constante a dos enlaces  $^{31}\text{P}$ - $^1\text{H}$  cambia radicalmente dependiendo del ángulo de enlace; y en las constantes a tres enlaces hay que tener en cuenta el ángulo diedro como se aprecia en la molécula de ciclohexano, en la que el acoplamiento entre los protones en posición axial es mayor por ser el ángulo diedro de  $180^\circ$ .

Cuando los núcleos están separados por muchos enlaces, los acoplamientos sólo se observan en determinados casos (figura 12), entre otros: cuando entre los núcleos hay múltiples enlaces; si la molécula es rígida y los núcleos forman parte de una geometría en W; o cuando se encuentran próximos en el espacio.

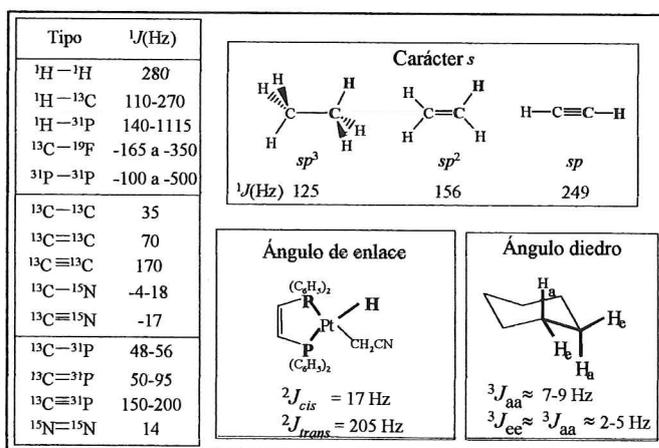


Figura 11. Algunas constantes de acoplamiento representativas y ejemplos de su dependencia con ciertos factores.

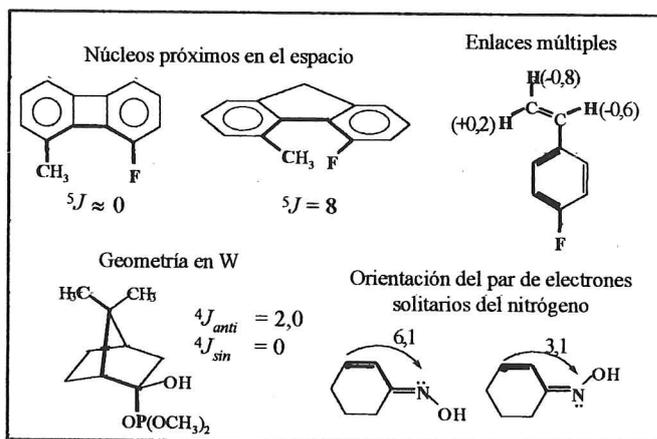


Figura 12. Algunos factores que influyen en las constantes de acoplamiento a larga distancia.

**Elementos de un espectrómetro de pulsos**

En la figura 13 se indican los elementos que forman parte de un espectrómetro de pulsos.

En un dewar denominado *imán* se encuentra el solenoide que genera el campo magnético. Las bobinas de emisión y detección se encuentran en su interior, en un dispositivo, llamado *sonda*, por donde se introduce la muestra.

Para conseguir altas intensidades de campo, el solenoide se construye con aleaciones de metales como niobio-estaño o niobio-estaño-tántalo, que tienen la propiedad de ser superconductores a temperaturas muy bajas. Por ello, la bobina se introduce en un dewar con helio líquido, en cuyas paredes existe un vacío casi perfecto. El exterior de este criostato está a su vez rodeado por otro que contiene nitrógeno líquido (figura 14).

Hay dos dispositivos, uno para transmitir y otro para detectar la señal del núcleo de deuterio. Estos elementos constituyen el denominado *lock de frecuencia-campo* y se utilizan para mantener el campo magnético estable, realizando un experimento de deuterio de forma continua y automática. Por esta razón, la muestra se disuelve en un disolvente deuterado. También es muy importante que el campo sea homogéneo y esto se consigue mediante unas bobinas, denominadas *shims*, que se encuentran situadas en el interior del imán.

Por otro lado, como las señales que se recogen en la bobina son de intensidad muy débil, éstas se amplifican mediante un *preamplificador* antes de que lleguen al

detector. Una vez en este punto las señales analógicas se vuelven a amplificar y se convierten en digitales mediante un convertidor (ADC).

Otros elementos son el de regulación de la temperatura y de forma opcional se puede instalar una unidad de gradientes de campo.

**TÉCNICAS DE RMN**

En aquellos casos de espectros simples la interpretación de los mismos se puede realizar sin dificultad, pero pueden darse diversos factores que compliquen o bien la obtención de un espectro o, en algunos casos, la asignación de las señales. Por ello, se han ido desarrollando diversas técnicas para facilitar tanto la obtención como la interpretación de un espectro.

Así, con la utilización de *espectrómetros de alto campo* se consigue aumentar la intensidad de las señales de núcleos poco sensibles, como el <sup>13</sup>C o el <sup>15</sup>N, y además, se incrementan las diferencias de los desplazamientos químicos de los núcleos acoplados, pudiendo convertir espectros de orden superior en espectros de primer orden.

También se pueden conseguir espectros de primer orden utilizando los denominados *reactivos de desplazamiento*, que suelen ser complejos de tipo quelato de iones lantánidos con beta dicetonas que, por ser compuestos paramagnéticos, producen grandes cambios en los desplazamientos químicos. Por lo general, provocan un desplazamiento de las señales hacia campos bajos, como se observa en el ejemplo de la molécula de 2β-androstanol de la figura 15.

Si el reactivo de desplazamiento es quiral, se puede utilizar para distinguir enantiómeros, ya que por RMN dan señales idénticas. Al añadir el reactivo quiral se forman complejos diastereoisómeros que dan espectros diferentes.

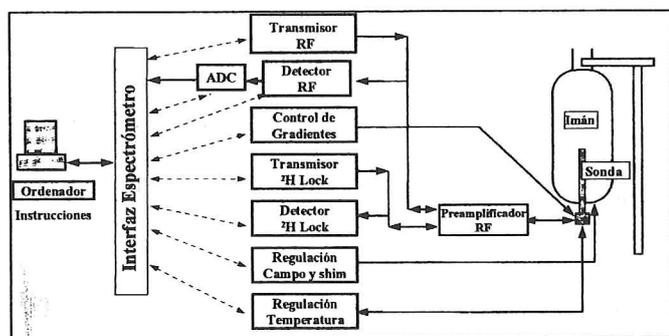


Figura 13. Elementos de un espectrómetro de pulsos.

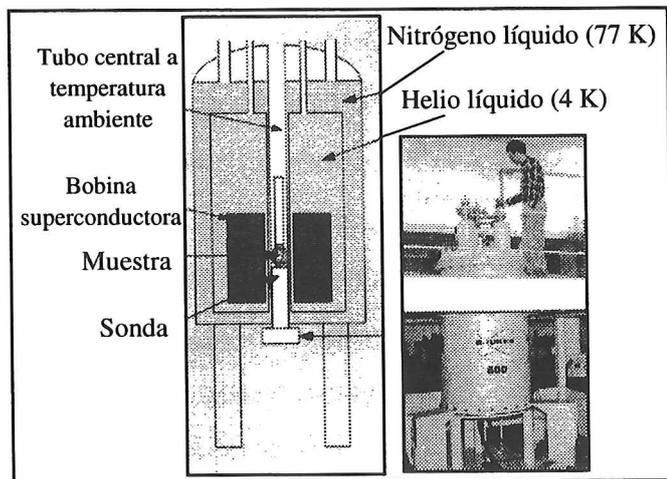


Figura 14. Interior de un imán y fotografía de un 800 MHz.

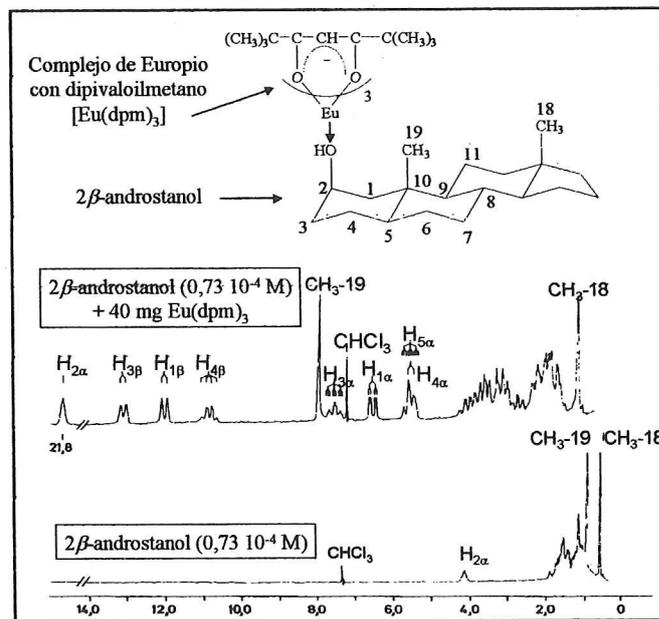


Figura 15. Espectros de <sup>1</sup>H-RMN del 2β-androstanol con y sin el empleo del reactivo de desplazamiento Eu (dpm)<sub>3</sub>.

Un método muy utilizado para simplificar espectros que contienen multipletes complejos que pueden dificultar la asignación de las señales y además reducen su intensidad debido al acoplamiento, consiste en desacoplar el núcleo causante del mismo irradiando la muestra con un segundo campo magnético. Por tanto, en este tipo de experimentos es necesario utilizar dos frecuencias, una de observación y otra de desacoplamiento. Por ello, también se conocen como *experimentos de doble resonancia* y pueden ser de dos tipos:

Desacoplamiento Homonuclear	→	Núcleo que se observa y desacopla el mismo (Ej.: $^1\text{H}$ )
Desacoplamiento Heteronuclear	→	Núcleo que se observa diferente al que se desacopla (Ej.: $^{13}\text{C}$ $\{^1\text{H}\}$ )

Además, con el desacoplamiento se produce el denominado *efecto nuclear Overhauser*, o *efecto NOE*, que puede definirse como el cambio en la intensidad de una señal cuando se irradia las transiciones de otro núcleo próximo en el espacio. La relajación dipolo-dipolo es la única que debe considerarse en el efecto NOE; por tanto, la magnitud de dicho efecto depende de la distancia internuclear, produciendo en la mayoría de los casos un aumento en la intensidad de las señales. Así, en los desacoplamientos homonucleares el NOE puede llegar a producir un aumento de hasta un 50%, y en el caso de los experimentos de carbono-13 con desacoplamiento de protón hasta un 200%.

En la figura 16 se muestra un ejemplo de un experimento con desacoplamiento homonuclear, conocido con el nombre de NOE diferencia, que se utiliza para determinar los núcleos de protón que se encuentran próximos en el espacio, es decir, para determinar la estereoquímica de una molécula. Este experimento requiere dos tipos de espectros: uno normal y otro en el que se irradia a la frecuencia de un determinado protón

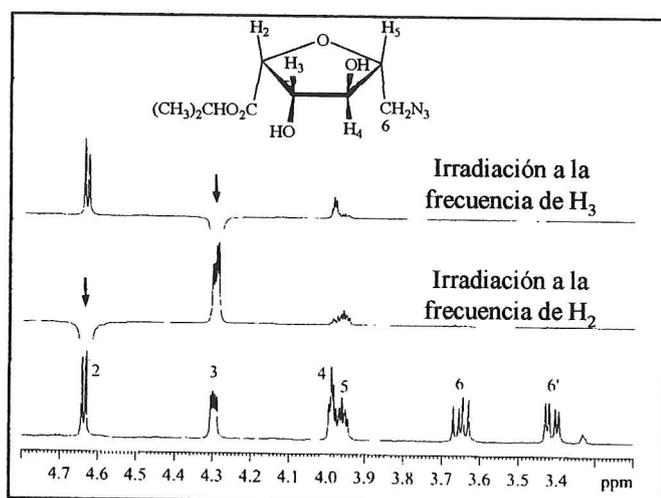


Figura 16. Experimentos de NOE diferencia del azúcar representado.

para observar el efecto NOE sobre los núcleos vecinos. La resta de las dos FIDs proporciona, después de la transformada de Fourier, un espectro en el que sólo aparecen los picos que dan respuesta positiva por el efecto NOE.

Otra alternativa para aumentar la intensidad de las señales de núcleos poco sensibles consiste en transferir la superior diferencia de población existente en el núcleo de protón, debido a su alta constante giromagnética, al núcleo poco sensible con el que se encuentra acoplado. A este fenómeno se le conoce como *transferencia de la polarización o transferencia de la población*, y forma parte de una gran cantidad de experimentos como el INEPT (Insensitive Nuclei Enhanced by Polarization Transfer) o el DEPT (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer).

En estas técnicas la transferencia de la magnetización viene determinada por el acoplamiento entre el protón y el núcleo X. Este método supera en efectividad al efecto NOE, ya que la intensidad del pico puede llegar a incrementarse en un factor de 4 para el núcleo de  $^{13}\text{C}$  y de 10 para el de  $^{15}\text{N}$ . El experimento DEPT sirve para determinar las multiplicidades y, por ello, es muy útil en la espectroscopía de carbono-13, ya que permite diferenciar grupos  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  y  $\text{CH}$ .

En la figura 17 se muestran dos espectros de  $^{15}\text{N}$ -INEPT de la molécula de monofosfato de adenosina. Como se observa, el INEPT se caracteriza porque el desdoblamiento de las señales debido al acoplamiento con los protones está en antifase.

Todos los experimentos mencionados hasta el momento pertenecen a la espectroscopía en una dimensión (1D). La extensión a dos o más dimensiones surge porque en muchos sistemas moleculares con la espectroscopía 1D no se pueden resolver espectros que presentan acoplamientos débiles y solapamientos apreciables de los multipletes.

Los principios de la espectroscopía en dos dimensiones se muestran en la figura 18, con un ejemplo de corre-

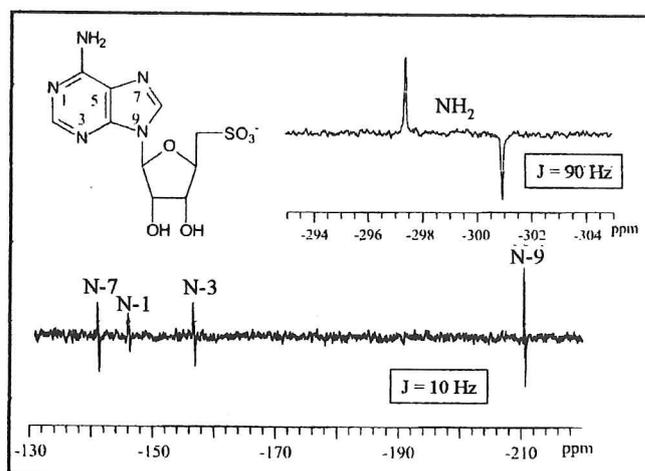


Figura 17. Espectros de  $^{15}\text{N}$ -INEPT del monofosfato de adenosina.

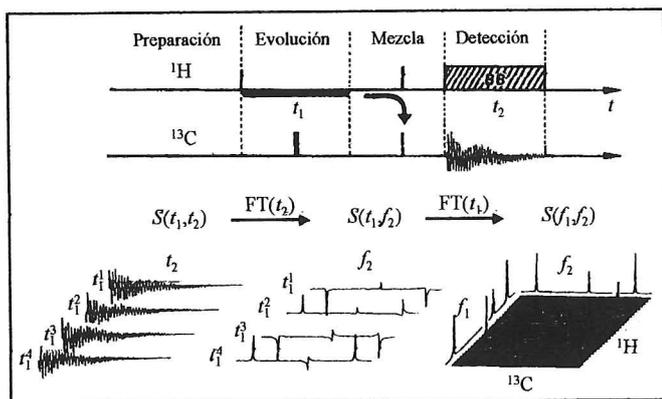


Figura 18. Experimento de correlación de desplazamientos químicos  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (XHCORR).

lación de desplazamientos químicos  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  (XHCORR). La segunda dimensión se introduce con una segunda variable de tiempo, el tiempo de evolución  $t_1$ . De esta forma, se obtiene una señal función de dos variables de tiempo que, después de dos transformadas de Fourier, da lugar al espectro en dos dimensiones, función de las frecuencias  $f_1$  y  $f_2$ .

En la figura 19 se indican las principales correlaciones que se pueden establecer con las técnicas bidimensionales, indicando en cada caso el nombre del experimento, y en las figuras 20 y 21 se muestran dos ejemplos de espectros 2D.

### OTRAS APLICACIONES DE LA RMN

Hasta la década de los setenta, la RMN era casi exclusivamente competencia de los químicos. Como ya se ha mencionado, con la introducción de la RMN en dos dimensiones se pudo abordar el estudio de biomoléculas más complejas. Aparte de la determinación estructural, la *RMN en bioquímica* es una excelente fuente de información acerca de las propiedades dinámicas de las biomoléculas, y también permite conocer cómo las moléculas biológicas interactúan en la naturaleza.

La RMN durante su desarrollo ha sido una técnica para muestras en disolución, hasta el punto que creció el mito de que era imposible obtener espectros de sólidos. La razón era que los espectros mostraban líneas muy anchas que dificultaban su interpretación y reducían la información de los mismos. Hoy en día, y gracias a técnicas recientes como el desacoplamiento de protones de alta potencia, el giro de la muestra alrededor del ángulo mágico (MAS) y la técnica de la polarización cruzada (CP), los espectros que se obtienen para los sólidos son comparables en resolución a los de disolución.

La RMN de *alta resolución para sólidos* se puede utilizar como técnica complementaria a la cristalografía, permite estudiar compuestos inestables en disolución o insolubles, es muy útil para detectar y estudiar

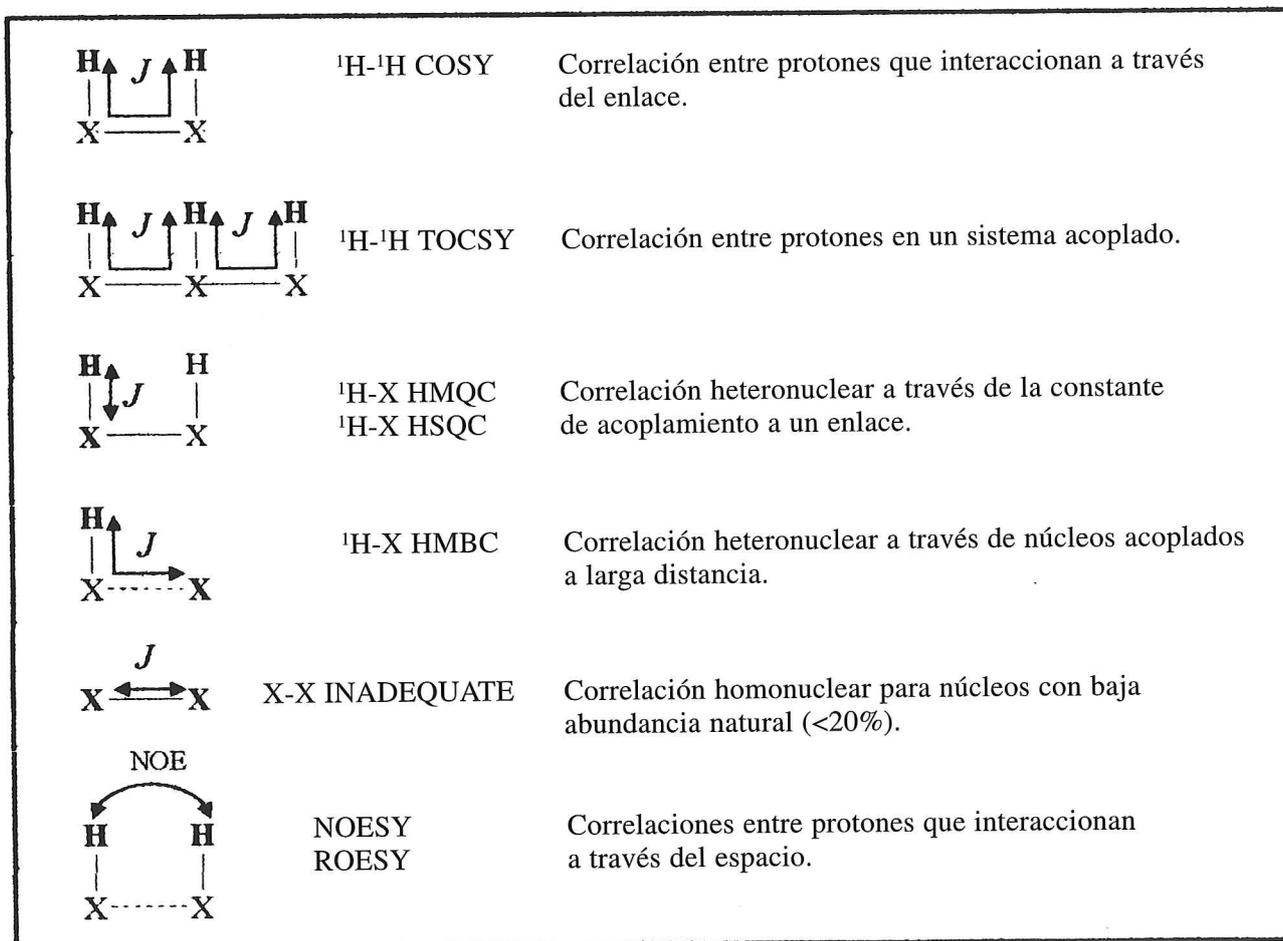


Figura 19. Principales correlaciones establecidas con la espectroscopía en dos dimensiones (2D).

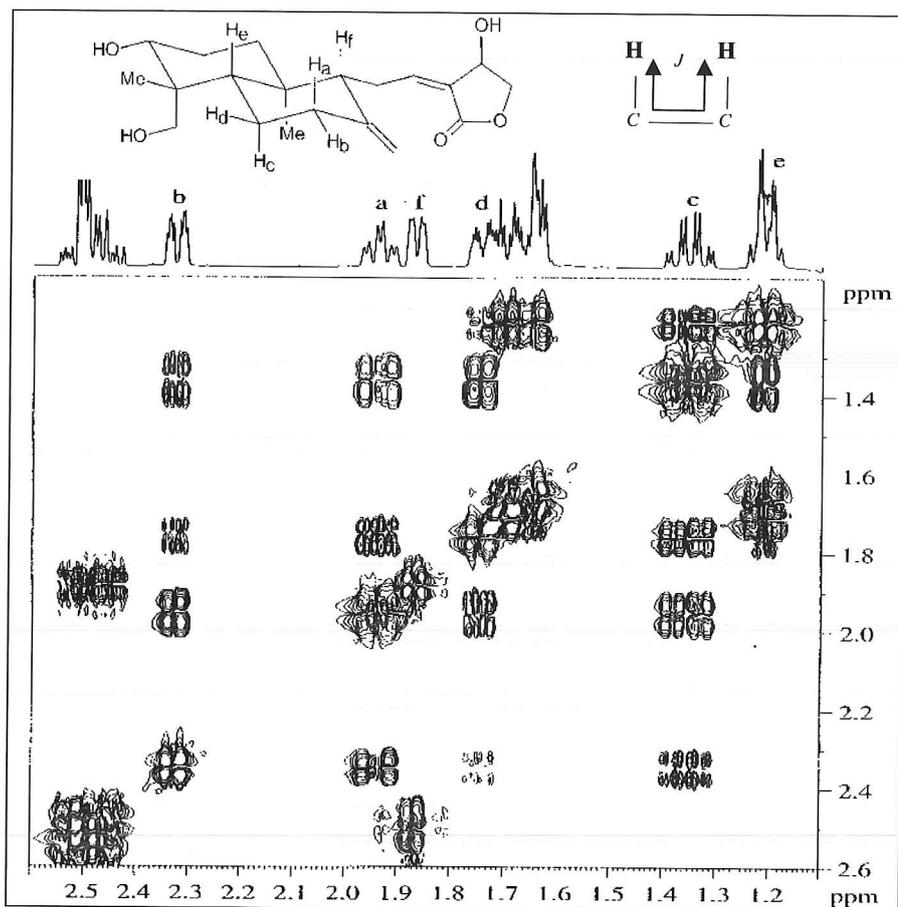


Figura 20.  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY de la Andrografolida.

el polimorfismo y una de las aplicaciones más interesantes es el estudio de los aspectos dinámicos en estado sólido.

La *Resonancia Magnética de Imagen (RMI)* es una de las herramientas más importantes hoy en día en biología y medicina. Es un método no invasivo y extremadamente sensible a los tiempos de relajación de los protones del agua en los diversos tejidos. También tiene aplicaciones no médicas que incluyen la imagen de materiales e incluso cambios de estos materiales en tiempo real, como por ejemplo, el proceso de secado del cemento o la cantidad de disolvente admitida por los polímeros.

## BIBLIOGRAFÍA

Para mayor información consultar los siguientes libros:

- S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger, *NMR Spectroscopy of the Non-Metallic Elements*, John Wiley, 1996.
- S. Braun, H.-O. Kalinowski, S. Berger, *150 and More Basic NMR Experiments*, Wiley-VCH, 1998.
- T. D. W. Claridge, *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*, Oxford, 1999.
- H. Friebolin, *Basic One- and Two-Dimensional NMR Spectroscopy*, 3.<sup>a</sup> ed., John Wiley, 1998.
- J. J. Giménez y J. M. Expósito, *RMN para Químicos Orgánicos*, Universidad de Almería, 1998.
- H. Gunther, *NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts, and Applications in Chemistry*, 2.<sup>a</sup> ed., John Wiley, 1995.
- M. Hesse, H. Meier y B. Zeeh, *Métodos Espectroscópicos en Química Orgánica*, Editorial Síntesis, 1997.
- R. S. Macomber, *A Complete Introduction to Modern NMR Spectroscopy*, Wiley, 1998.

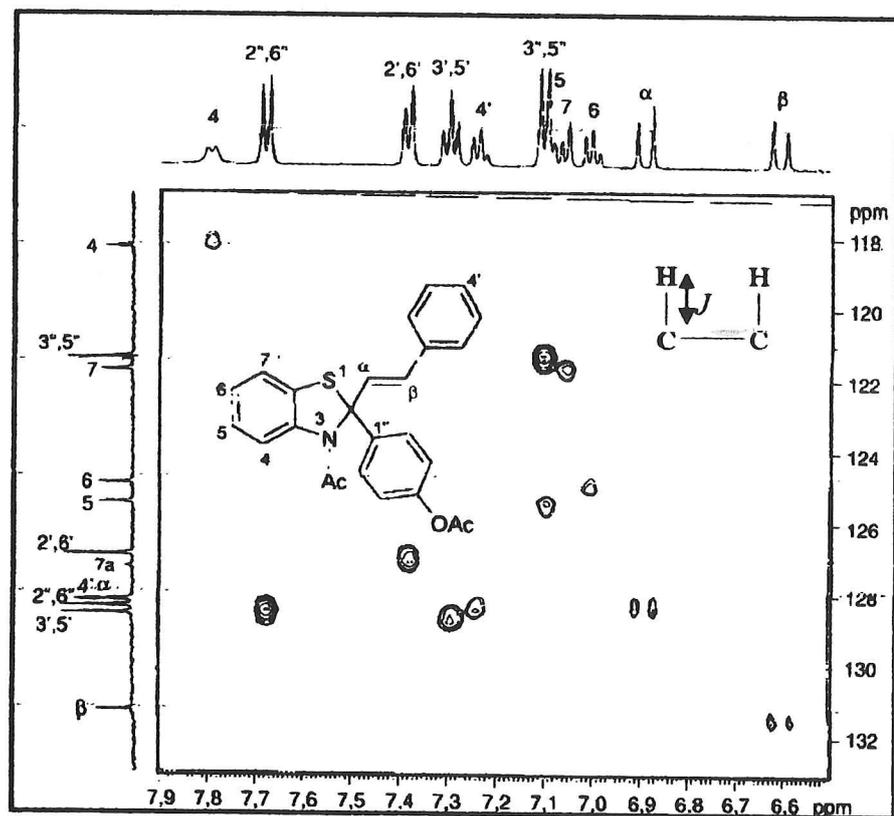


Figura 21.  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HMQC del heterociclo representado.