

# **Corso di Laurea Magistrale in Chimica**

## **Metodi spettroscopici per la determinazione delle strutture organiche**

[ffelluga@units.it](mailto:ffelluga@units.it)

**Tel. 0405583924**

**Stanza 349**

**Ricevimento: appuntamento per email**

**Esame: ORALE diviso in due parti**

- a) Risoluzione di un esercizio con spettri combinati 1D e 2D**
- b) Orale vero e proprio**

# ARGOMENTI DEL CORSO

1. PRINCIPI GENERALI
2. STRUMENTAZIONE
3. CHEMICAL SHIFT E ACCOPPIAMENTO DI SPIN
4. ANALISI DI SISTEMI DI SPIN
5. ESPERIMENTI IN DOPPIA RISONANZA
6.  $^{13}\text{C}$  NMR
7. SEQUENZE COMPLESSE
8. NMR 2D

Testi consigliati:

Horst Friebolin

Basic one- and two-dimensional NMR spectroscopy

Wiley-VCH

Altro materiale didattico:

Slides delle lezioni su Moodle e su Teams

Esercizi forniti dalla docente

# NMR BREVE STORIA

1940 - 1945 Primo segnale rilevato in H<sub>2</sub>O, paraffina e in solidi

1952 Premio Nobel a Bloch e Purcell

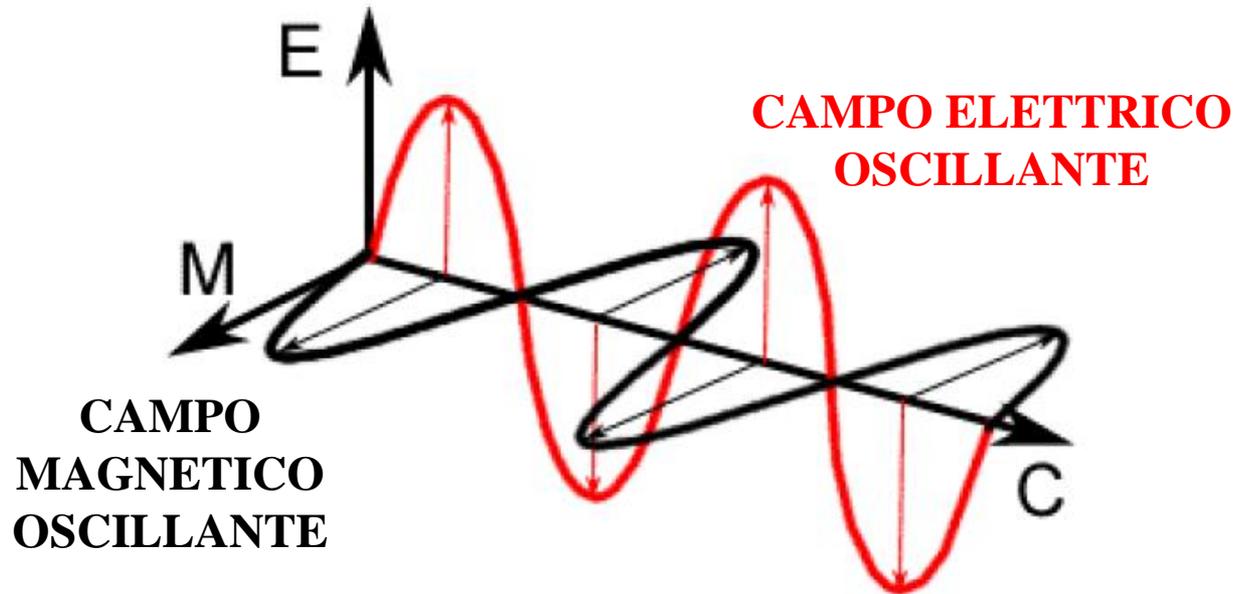
1991 Premio Nobel a Richard Ernst

2002 Premio Nobel a Kurt Wüthrich

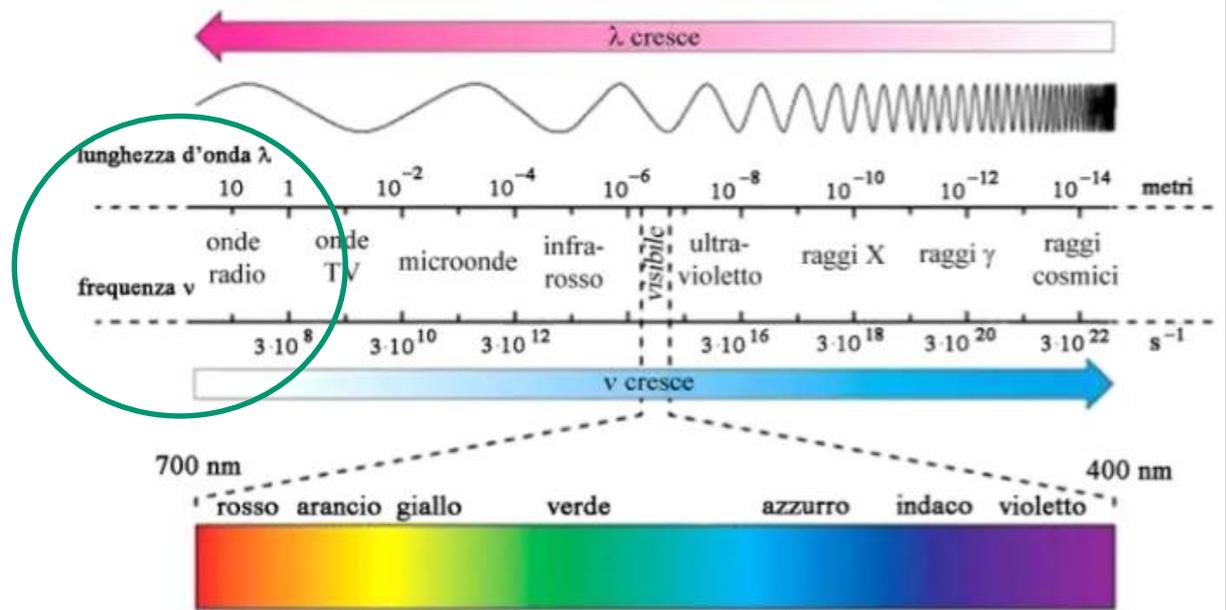
- 1940 Prime osservazioni di NMR in solidi e liquidi
- 1950 Sviluppo di chemical shift e costanti di accoppiamento;
- NMR a basso campo con magneti permanenti
- 1960 Strumenti controllati da PC / FT - NMR e NOE; elettromagneti
- 1970 Sviluppo di magneti superconduttori
- 1980 Tecniche in 2D e sequenze multiple
- 1990 Applicazioni di campi in gradienti
- 2000 Probes ultrasensibili
- **2000** → **continua evoluzione**

# **1.PRINCIPI GENERALI IL METODO A IMPULSI**

# LA RADIAZIONE EM



Radiofrequenze  $\nu = 40 - 1000$  MHz (in pratica:  $300 - 1000$  MHz)



# Lo Spin Nucleare I

$$I = 0, 1/2, 1, 3/2, \dots, 6$$

**Nuclei con numero di massa pari e numero atomico pari hanno spin nucleare  $I = 0$**

**Nuclei con numero di massa dispari e/o numero atomico dispari hanno spin nucleare  $I \neq 0$**

<b>Neutroni</b>	<b>pari</b>	<b>dispari</b>	<b>pari</b>	<b>dispari</b>
<b>Protoni</b>	<b>pari</b>	<b>dispari</b>	<b>dispari</b>	<b>pari</b>
<b>I</b>	<b>0</b>	<b>intero</b>	<b>semintero</b>	

**$^{12}\text{C}$ : 6p, 6n  $I = 0$**

**$^{16}\text{O}$ : 8p, 8n  $I = 0$**

**Nuclei silenti**

**$^{13}\text{C}$ : 6p, 7n  $I = 1/2$**

**$^1\text{H}$ : 1p, 0n  $I = 1/2$**

**$^{19}\text{F}$ : 9p, 10n  $I = 1/2$**

**$^{31}\text{P}$ : 15p, 16n  $I = 1/2$**

**$^{15}\text{N}$ : 7p, 8n  $I = 1/2$**

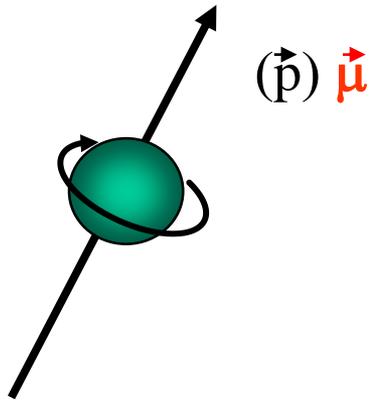
**Nuclei attivi**

**$^2\text{H}$ : 1p, 1n  $I = 1$**

**$^{14}\text{N}$ : 7p, 7n  $I = 1$**

**Nuclei quadrupolari**

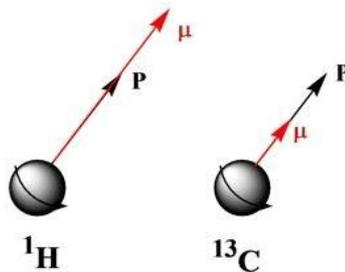
## MOMENTO ANGOLARE E MOMENTO MAGNETICO



Il nucleo possiede massa e carica.  
La sua rotazione intorno al suo  
asse («spinning»)  
genera un momento angolare  $\vec{p}$  e  
un momento magnetico  $\vec{\mu}$   
**I deve essere diverso da 0!**

$$|\vec{p}| = \frac{h}{2\pi} \sqrt{[I(I+1)]}$$

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{p} \quad |\vec{\mu}| = \gamma |\vec{p}| = \frac{\gamma h}{2\pi} \sqrt{[I(I+1)]}$$



$\gamma$  rapporto giromagnetico (rad/Tesla)

$h$  costante di Planck  $6.626e^{-34}$  J s

**Table 1-1.**  
Properties of some nuclides of importance in NMR spectroscopy.

Frequenza  
assoluta

Nuclide	Spin $I$	Natural abundance <sup>a)</sup> [%]	Magnetic Moment <sup>b)</sup> $\mu_z/\mu_N$	Electric quadrupole moment <sup>c)</sup> $Q$ [ $10^{-30}$ m <sup>2</sup> ]	Magnetogyric ratio <sup>a)</sup> $\gamma$ [ $10^7$ rad T <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> ]	NMR frequency <sup>a)</sup> [MHz] ( $B_0 = 2.3488$ T)	Sensibilità Intrinseca Relativa <sup>c)</sup>
<sup>1</sup> H	1/2	99.9885	2.7928	—	26.7522	100.000	1.00
<sup>2</sup> H	1	0.0115	0.8574	0.2860	4.1066	15.3506	9.65 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>3</sup> H <sup>d)</sup>	1/2	—	2.9790	—	28.5350	106.6640	1.21
<sup>6</sup> Li	1	7.59	0.8220	-0.0808	3.9372	14.7161	8.50 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>10</sup> B	3	19.9	1.8006	8.459	2.8747	10.7437	1.99 x 10 <sup>-2</sup>
<sup>11</sup> B	3/2	80.1	2.6887	4.059	8.5847	32.0840	1.65 x 10 <sup>-1</sup>
<sup>12</sup> C	0	98.9	—	—	—	—	—
<sup>13</sup> C	1/2	1.07	0.7024	—	6.7283	25.1450	1.59 x 10 <sup>-2</sup>
<sup>14</sup> N	1	99.63	0.4038	2.044	1.9338	7.2263	1.01 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>15</sup> N	1/2	0.368	-0.2832	—	-2.7126	10.1368	1.04 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>16</sup> O	0	99.96	—	—	—	—	—
<sup>17</sup> O	5/2	0.038	-1.8938	-2.558	-3.6281	13.5565	2.91 x 10 <sup>-2</sup>
<sup>19</sup> F	1/2	100	2.6269	—	25.1815	94.0940	8.32 x 10 <sup>-1</sup>
<sup>23</sup> Na	3/2	100	2.2177	10.4	7.0809	26.4519	9.27 x 10 <sup>-2</sup>
<sup>25</sup> Mg	5/2	10.00	-0.8555	19.94	-1.6389	6.1216	2.68 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>29</sup> Si	1/2	4.68	-0.5553	—	-5.3190	19.8672	7.86 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>31</sup> P	1/2	100	1.1316	—	10.8394	40.4807	6.65 x 10 <sup>-2</sup>
<sup>39</sup> K	3/2	93.258	0.3915	5.85	1.2501	4.6664	5.10 x 10 <sup>-4</sup>
<sup>43</sup> Ca	7/2	0.135	-1.3176	-4.08	-1.8031	6.7301	6.43 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>57</sup> Fe	1/2	2.119	0.0906	—	0.8681	3.2378	3.42 x 10 <sup>-5</sup>
<sup>59</sup> Co	7/2	100	4.627	42.0	6.332	23.7271	2.78 x 10 <sup>-1</sup>
<sup>119</sup> Sn	1/2	8.59	-1.0473	—	-10.0317	37.2906	5.27 x 10 <sup>-2</sup>
<sup>133</sup> Cs	7/2	100	2.5820	-0.343	3.5333	13.1161	4.84 x 10 <sup>-2</sup>
<sup>195</sup> Pt	1/2	33.832	0.6095	—	5.8385	21.4968	1.04 x 10 <sup>-2</sup>

<sup>a)</sup> Values from [1].

<sup>b)</sup> z-component of nuclear magnetic moment in units of the nuclear magneton  $\mu_N$ .

Values from the Bruker Almanac 2004.  $\mu_N = eh/4\pi m_p$ ,  $m_p$ : mass of the proton =  $5.05095 \times 10^{-27}$  JT<sup>-1</sup>.

<sup>c)</sup> Receptivity is expressed relative to <sup>1</sup>H (= 1) for constant field and equal numbers of nuclei.

Values from the Bruker Almanac 2004.

<sup>d)</sup> <sup>3</sup>H is radioactive.

# Sensibilità/Recettività

La Sensibilità  $S_x$  di un nuclide X è una misura di quanto sia facile acquisire un segnale NMR di del nuclide indipendentemente dalla sua abbondanza relativa

La Recettività  $R_x$  è una misura di quanto sia facile acquisire un segnale NMR di un certo nuclide tenendo conto della sua abbondanza relativa.

$a$  = abbondanza relativa del nucleo X

$S_x$  = sensibilità intrinseca del nucleo X (indipendente da  $a$ )

$R_x$  = recettività

$$R_x = aS_x = ak(\gamma_x)^3 I(I+1)$$

Interessa in genere quanto sia facile rilevare un nucleo rispetto ad uno sensibile di riferimento

Sensibilità relativa =  $\frac{S_x}{S_{1H}}$  Sensibilità del nucleo X rispetto ad H (nucleo sensibile)

$$\frac{S_{13C}}{S_{1H}} = \frac{\gamma_{13C}^3}{\gamma_{1H}^3} = \left(\frac{1}{4}\right)^3 = 1.59 \cdot 10^{-2} \quad S_{1H} = 64 S_{13C}$$

$$\text{Recettività relativa} = \frac{R_{13C}}{R_{1H}} = \frac{\gamma_{13C}^3}{\gamma_{1H}^3} * \frac{1.07}{99.99} = 1.67 * 10^{-4}$$

$$R_{1H} \sim 6000 R_{13C}$$

A parità di condizioni ( $B_0$ , strumento, concentrazione)  
il segnale  $^{13}C$  NMR è circa 6000 volte più basso di quello dell' $^1H$ !

## Recettività

$$R_{1H} \sim 1.2 R_{19F}$$

$$R_{1H} \sim 16 R_{31P}$$

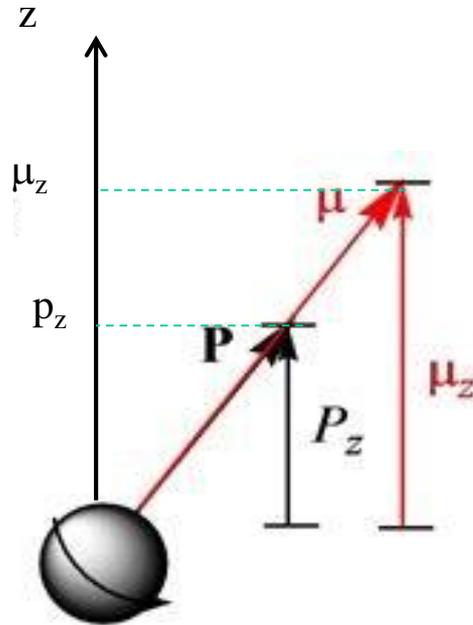
$$R_{1H} \sim 240 R_{15N}$$

Dipende da:

1. Numero quantico di spin
2. Rapporto giromagnetico (cioè dal nuclide)
3. Abbondanza relativa
4. Forza di B0
5. Differenza di popolazione fra gli stati di spin
6. Forza del segnale indotto nel receiver

# EFFETTO DEL CAMPO MAGNETICO $B_0$

## QUANTIZZAZIONE DIREZIONALE



$$p_z = \hbar m_I \quad \mu_z = \hbar \gamma m_I$$

$m_I$  numero quantico magnetico

$$-I < m_I < +I$$

# EFFETTO DEL CAMPO MAGNETICO $B_0$

## QUANTIZZAZIONE DIREZIONALE

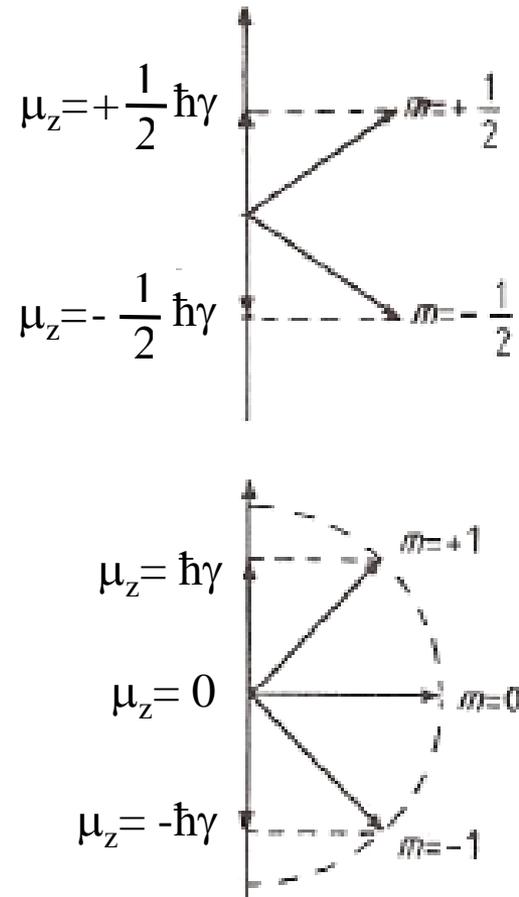
$$I = \frac{1}{2} \quad m_I = -\frac{1}{2} \quad +\frac{1}{2}$$

$$I = 1 \quad m_I = -1 \quad 0 \quad +1$$

$$I = \frac{3}{2} \quad m_I = -\frac{3}{2} \quad -\frac{1}{2} \quad +\frac{1}{2} \quad +\frac{3}{2}$$

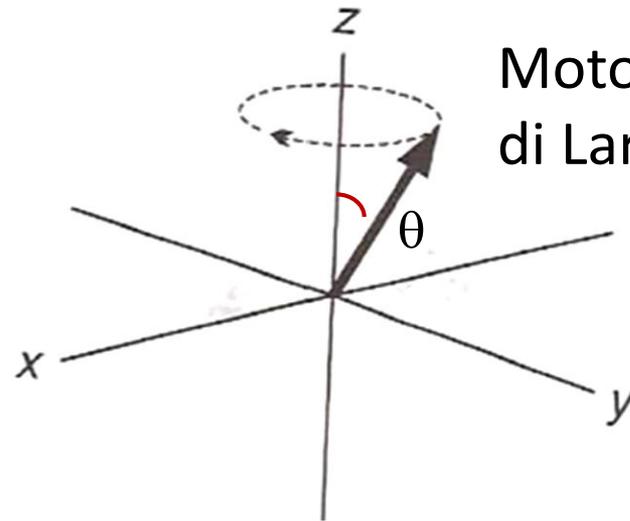
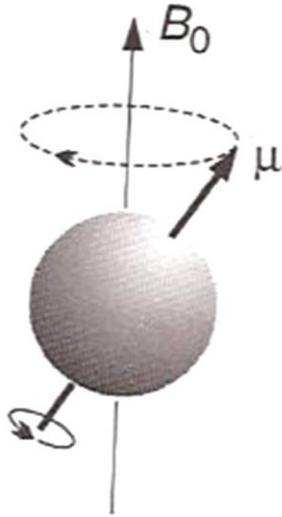
$2I + 1$  valori

$2I + 1$  orientazioni in un  $B_0$



Quantizzazione direzionale  
per nuclei con  $I = \frac{1}{2}$  e  $I = 1$

# EFFETTO DEL CM STATICO $B_0$ SECONDO LA MECCANICA CLASSICA



Moto di precessione  
di Larmor

Velocità angolare

$$\omega_0 = \gamma B_0 = 2\pi\nu_0 \quad \text{rad s}^{-1}$$

$$\nu_0 = \frac{\gamma}{2\pi} B_0 \quad \text{Hz}$$

$$\mu_z = \mu \cos\theta$$

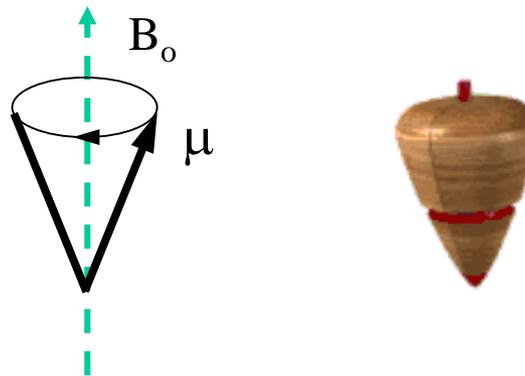
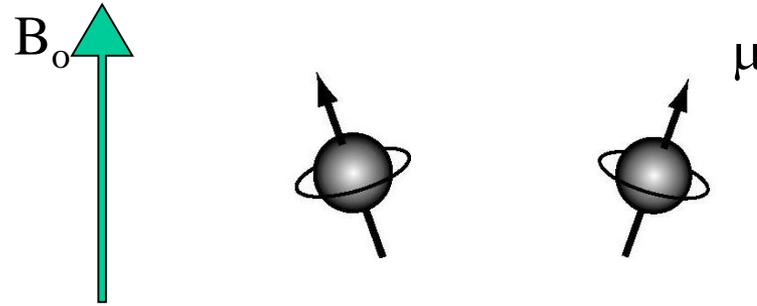
$$\cos\theta = \frac{\mu_z}{\mu} = \frac{\gamma\hbar m_I}{\gamma\hbar \sqrt{[I(I+1)]}}$$

$$I = \frac{1}{2} \quad \theta = 54^\circ$$

$$I = 1 \quad \theta = 45^\circ$$

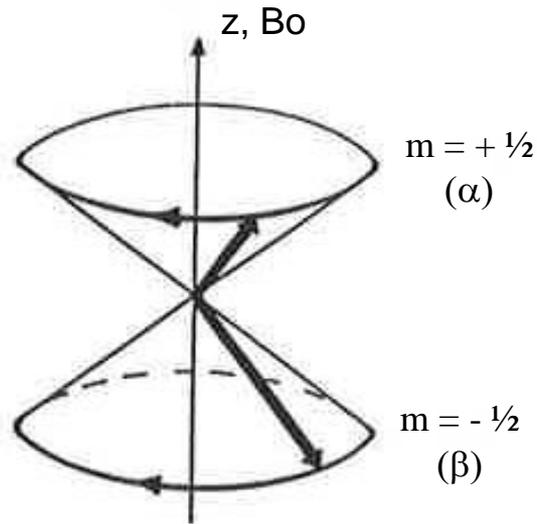
# Precessione del Momento Magnetico attorno alla Direzione del Campo Magnetico

(meccanica classica)



$$\nu_0 = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad \text{Equazione di Larmor}$$

# QUANTIZZAZIONE DIREZIONALE E PRESSIONE DI LARMOR



Precessione dei dipoli nucleari con  $I = 1/2$

$$E = - \vec{\mu} \times \vec{B}_0 = - \mu \cos\theta B_0 = -\mu_z B_0$$

$$\mu_z = \hbar m_I \gamma$$

$$E = -\hbar m_I \gamma B_0$$

Energia degli stati di spin

# QUANTIZZAZIONE DIREZIONALE

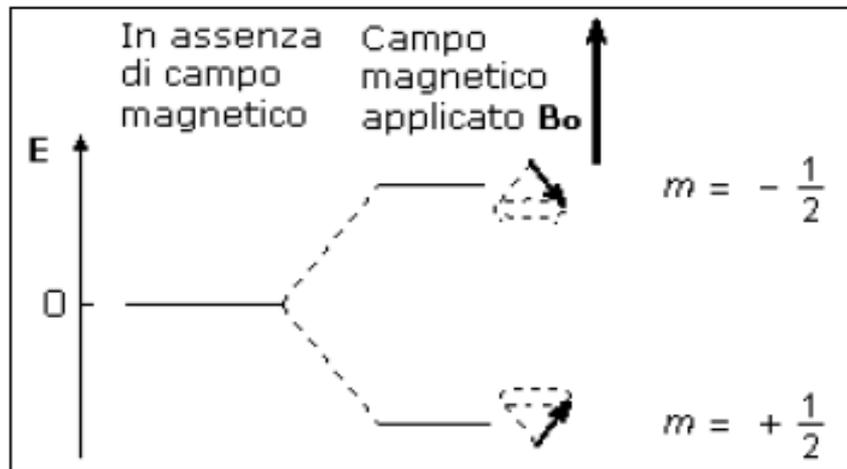
$$E = -\hbar m_l \gamma B_0$$

Energia degli stati di spin

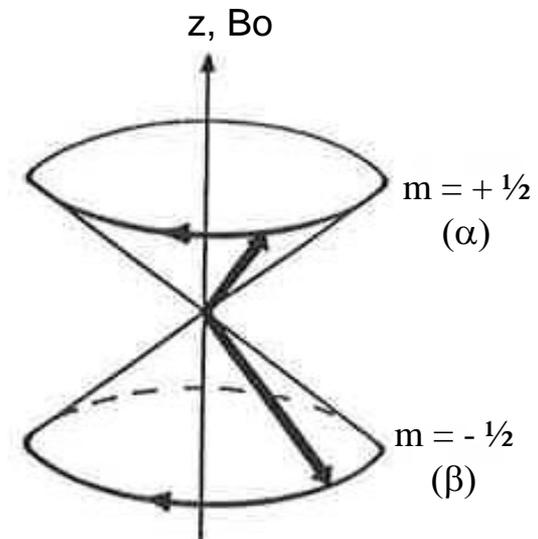
Per  $I = 1/2$ : ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , ...) per i quali  $m_l = \pm 1/2$  e  $\gamma > 0$

$m_l = +1/2$  :  $E = -1/2 \gamma \hbar B_0$  Stato  $\alpha$  parallelo cono superiore E minore

$m_l = -1/2$  :  $E = +1/2 \gamma \hbar B_0$  Stato  $\beta$  antiparallelo cono inferiore E maggiore

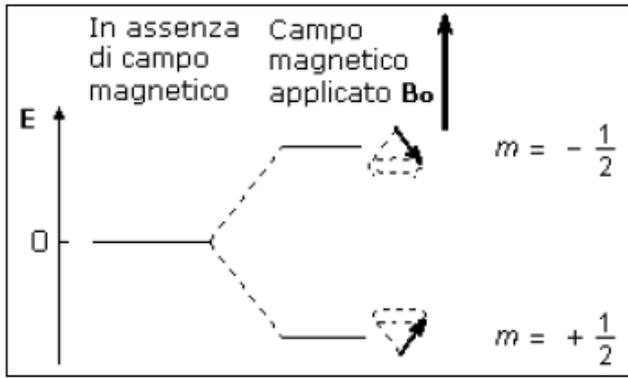


Energie dei dipoli nucleari con  $I = 1/2$



Precessione dei dipoli nucleari con  $I = 1/2$

# CONDIZIONE DI RISONANZA



$$\beta \quad E = +1/2 \gamma \hbar B_0$$

$$\alpha \quad E = -1/2 \gamma \hbar B_0$$

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0 = h \nu_0$$

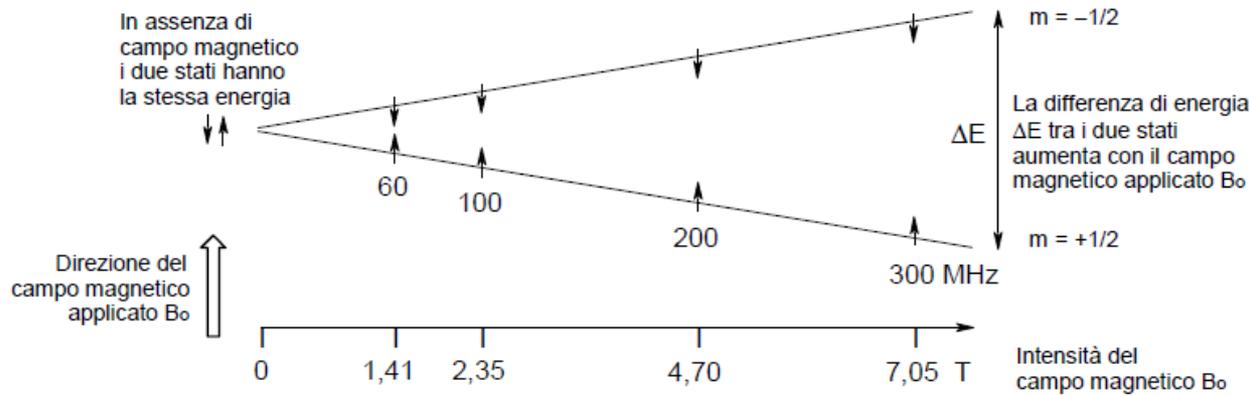
Condizione di risonanza

Energie dei dipoli nucleari con  $I = 1/2$

**Frequenza  
della  
radiazione  
incidente  
che causa la  
transizione:  
frequenza di  
Larmor**

Si ha la transizione quando si applica una radiazione (un campo magnetico  $B_1$ ) la cui frequenza  $\nu_1$  eguagli quella di Larmor  $\nu_L = \nu_0$ .

# FREQUENZE DI RISONANZA $^1\text{H}$ E $^{13}\text{C}$



**Table 1-2.**

$^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  resonance frequencies at different magnetic flux densities  $B_0$ .<sup>a)</sup>

$B_0$ [T]	Resonance frequencies [MHz]	
	$^1\text{H}$	$^{13}\text{C}$
2.35	100	25.15
4.70	200	50.32
5.87	250	62.90
7.05	300	75.47
9.40	400	100.61
11.75	500	125.76
14.10	600	150.90
16.44	700	176.05
17.62	750	188.62
18.79	800	201.19
21.14	900	226.34

<sup>a)</sup> Values from the Bruker Almanac 2004.

# Statistica di Boltzmann

- **Quando un insieme di nuclei con  $I = 1/2$  è posto in un campo magnetico  $B_0$ , ciascuno spin assume una delle due possibili orientazioni,  $\alpha$  o  $\beta$ .**
- **A temperatura ambiente, il numero degli spin che si dispone sul livello a energia minore ( $N_\alpha$ ), supera di poco il numero di quelli che occupano il livello a energia superiore, ( $N_\beta$ ). La statistica di Boltzmann ci dice che**

$$\frac{N_\beta}{N_\alpha} = e^{-\frac{\Delta E}{kT}} = e^{-\frac{\gamma h}{2\pi kT} B_0}$$

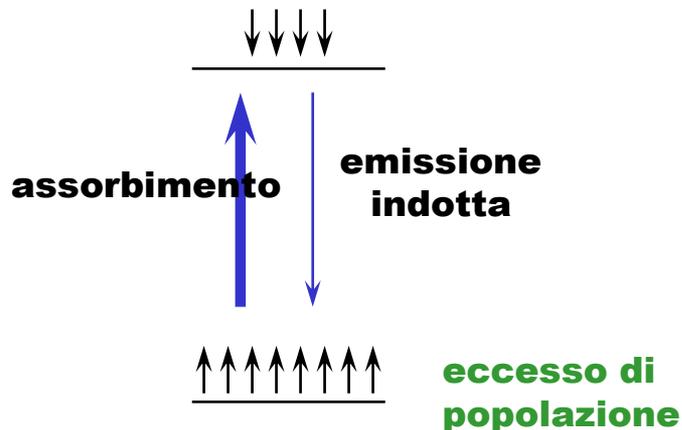
**$\Delta E$  = differenza di energia tra gli stati di spin**  
 **$k$  = costante di Boltzmann =  $1.3805 \times 10^{-23}$  J/K**  
 **$T$  è la temperatura in Kelvin**

**Tale rapporto è molto vicino all'unità, a meno di una quantità vicina a  $10^{-5}$ – $10^{-6}$**

## POPOLAZIONE E INTENSITÀ DEL SEGNALE

Si applica una radiazione di frequenza  $\nu_1$  (= **campo  $B_1$** ) tale che:  $\nu_1 = \nu_L = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$

La radiazione induce transizioni verso l'alto (assorbimento) e verso il basso (emissione) ugualmente probabili, tali da mantenere l'eccesso sullo stato  $\alpha$



L'eccesso di popolazione è piccolissimo, nell'ordine delle ppm

$$\text{Es.: } B_0 = 7.05 \text{ T (300 MHz)} \quad N_\alpha/N_\beta = 1.00005$$

Affinché si abbia un segnale, ci deve essere un **eccesso** di popolazione di spin sul livello inferiore

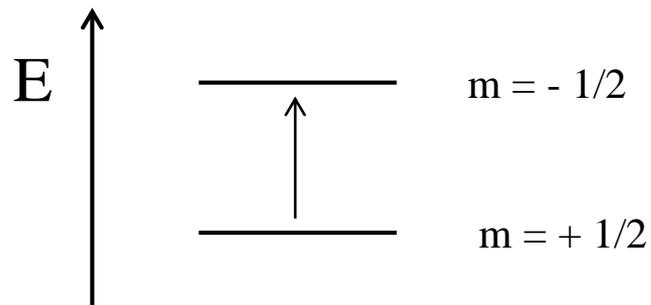
L'intensità del segnale NMR è proporzionale alla **differenza di popolazione** tra i due stati di spin

**Saturazione = popolazioni uguali = nessun segnale**

# TRANSIZIONI CONSENTITE

1 nucleo

$I = 1/2$

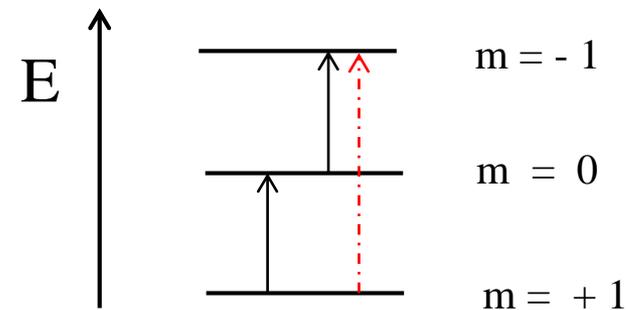


$$\Delta m = \pm 1$$

Transizioni monoquantiche

Permesse dalla quantomeccanica

$I = 1$



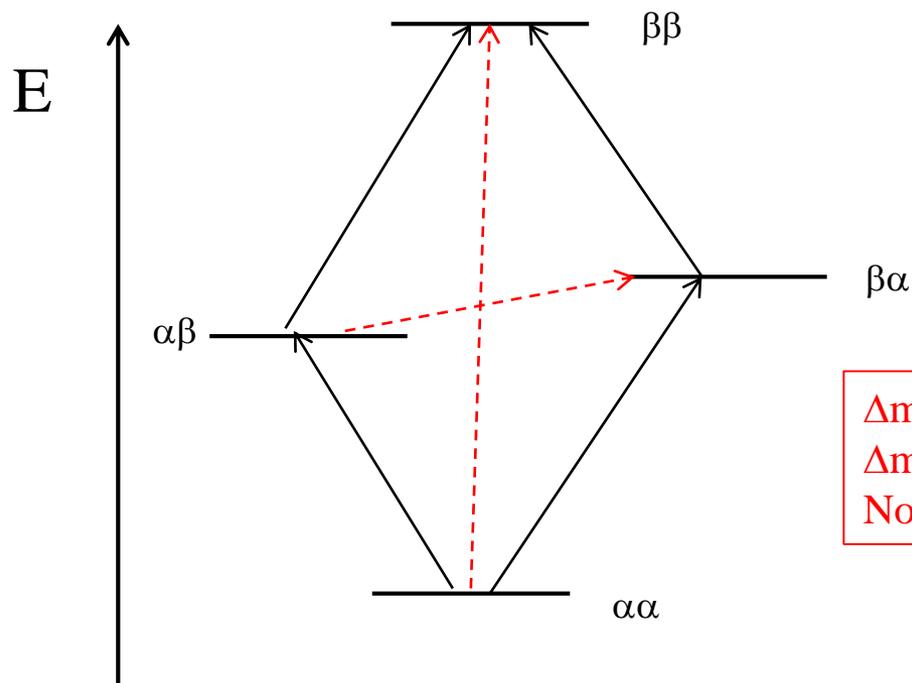
$$\Delta m = 2,$$

Transizione doppioquantica

Non permessa

# TRANSIZIONI CONSENTITE

2 nuclei diversi o in accoppiamento  
entrambi con  $I = \frac{1}{2}$



$$\Delta m = \pm 1$$

Transizioni monoquantiche

Permesse dalla quantomeccanica

$\Delta m = 0$ , Transizioni zeroquantiche

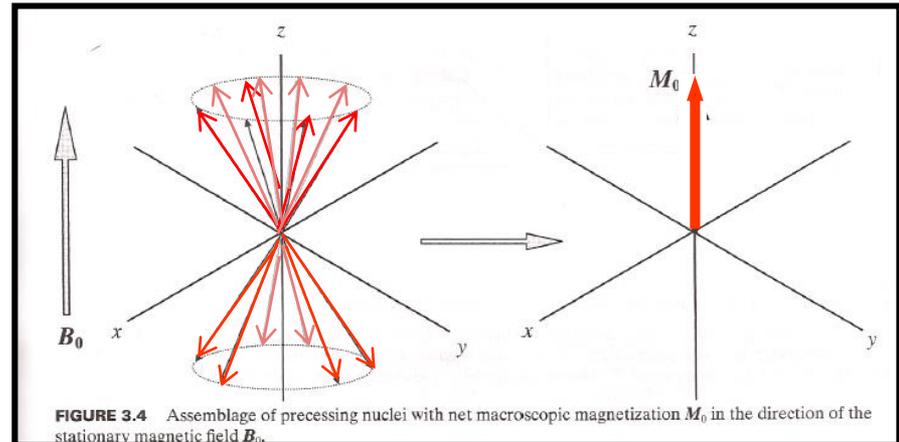
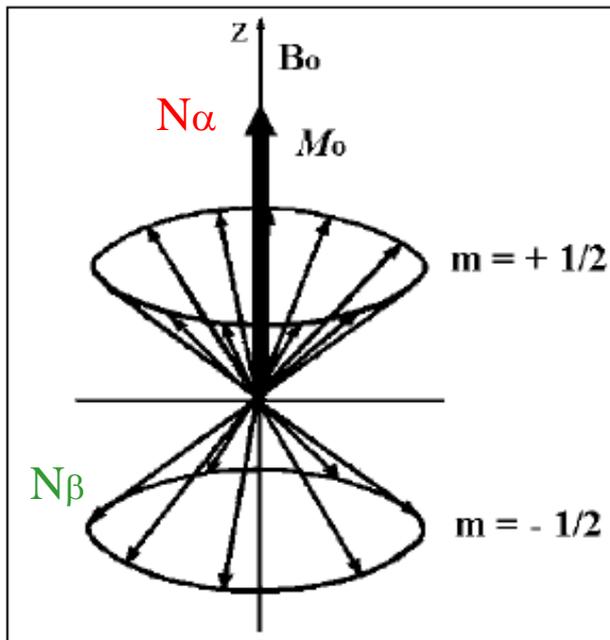
$\Delta m = 2$ , Transizioni doppioquantiche

Non permesse

# RAPPRESENTAZIONE VETTORIALE

## VETTORE MAGNETIZZAZIONE MACROSCOPICA

Insieme di nuclei  $I = 1/2$  in un CM esterno  $B_0$

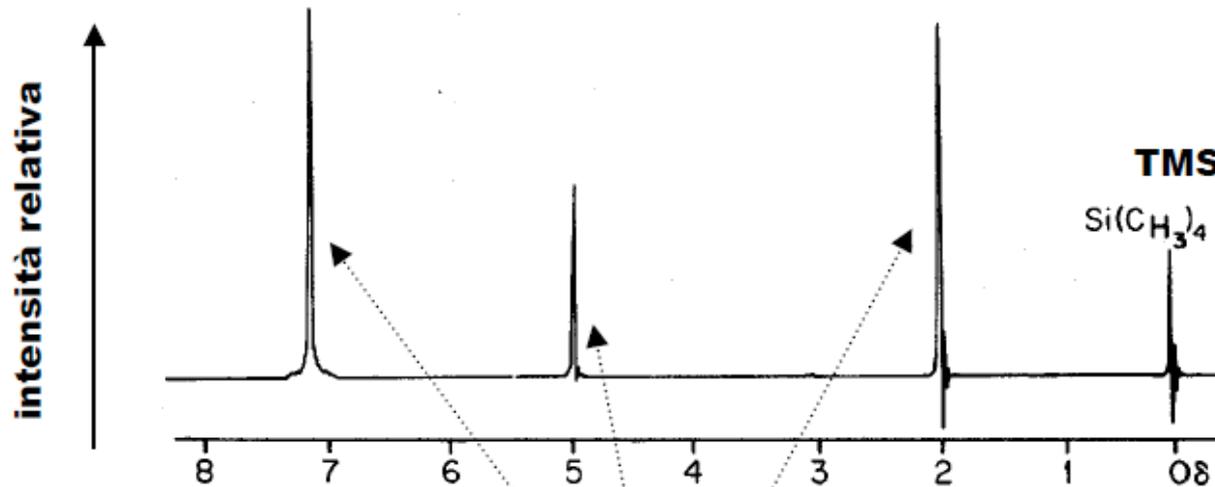


$$N_\alpha > N_\beta$$

# RISONANZA

## Registrazione dello spettro in onda continua CW = Continuous wave

In uno **strumento che opera in “onda continua”** l'emettitore di radiofrequenze varia la frequenza in modo continuo nel corso della scansione; quando la frequenza corrisponde a quella di precessione dei nuclei presenti nella molecola questi vanno in risonanza dando luogo ad un segnale che viene registrato dallo strumento per formare uno spettro NMR



$$\nu_1 = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$$

Condizione  
di risonanza

Segnali di protoni con intorno magnetico diverso; “sentono” un campo  $B_{\text{eff}}$  diverso gli uni dagli altri

# METODO PULSATO IN TRASFORMATA DI FOURIER

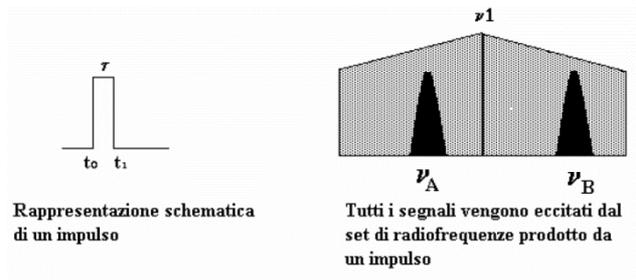
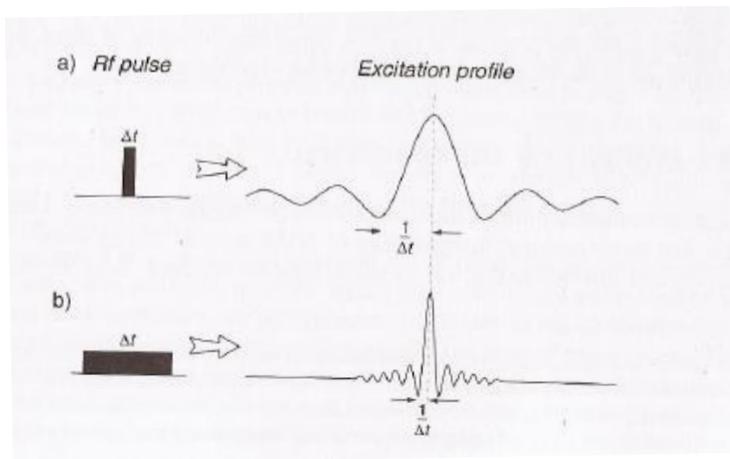
Lo strumento che opera con il metodo pulsato in **Trasformata di Fourier** invia da un generatore un **impulso** di radiofrequenze di frequenza  $\nu_1$  (= campo B1) per un tempo estremamente breve **(1-10 $\mu$ s)** con elevate Potenza (alcuni watt) lungo l'asse x (perpendicolarmente a B0).

$\nu_1$  dipende da B0.

Es.: B0 = 9,40 T  $\rightarrow$   $\nu_1$  = 400MHz

Per il **principio di indeterminazione di Heisenberg** questo equivale a emettere un intervallo ampio di frequenze che mette in risonanza tutti i nuclei della molecola.

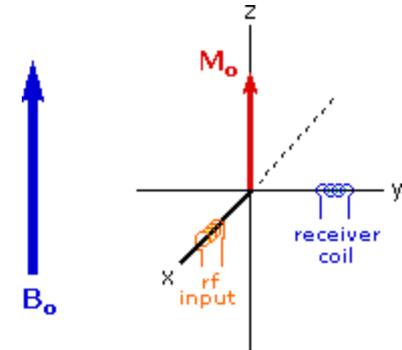
$$\Delta E \times \Delta t \approx \frac{h}{2\pi} \quad \text{ma } \Delta E = h\Delta\nu \quad \text{allora } \overbrace{\Delta\nu \times \Delta t}^{\text{questo prodotto è costante!}} \approx \frac{1}{2\pi}$$



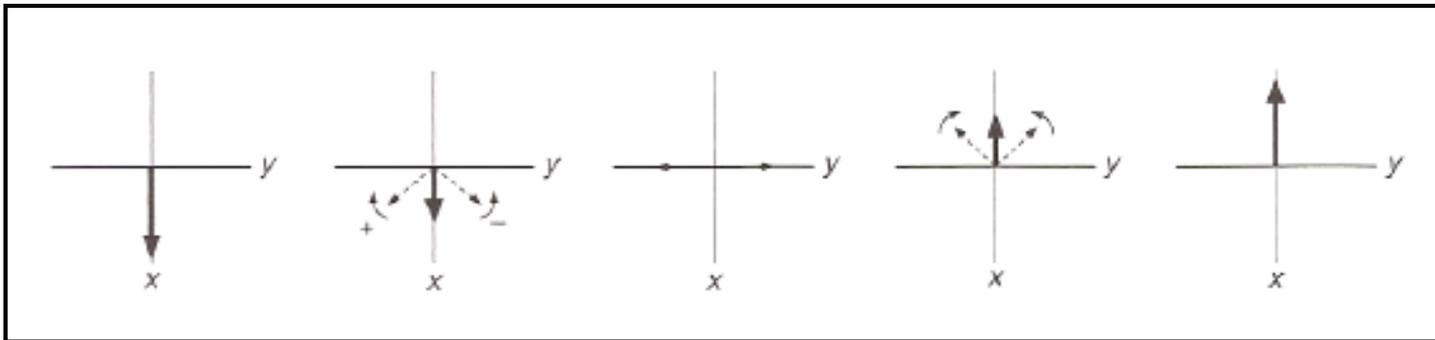
$\nu_1$  frequenza dell'impulso

# VETTORE $M_0$ DOPO L'IMPULSO NEL SISTEMA CARTESIANO DI LABORATORIO $x,y,z$

- Viene applicato l'impulso di frequenza  $\nu_1$  lungo l'asse  $x$  che eccita tutti i nuclei del campione.
- La magnetizzazione risente di un campo aggiuntivo  $B_1$  perpendicolare a  $B_0$ , di frequenza incidente  $\nu_1$
- Requisito geometrico: il generatore di  $B_1$  deve essere su un piano perpendicolare a  $B_0$  (convenzionalmente su  $x$ ), il ricevitore su  $y$ .



## IL CAMPO $B_1$ NEL MODELLO VETTORIALE



$B_1$  ( $\nu_1$ ) viene applicato lungo  $x$  (in direzione perpendicolare a  $B_0$ )

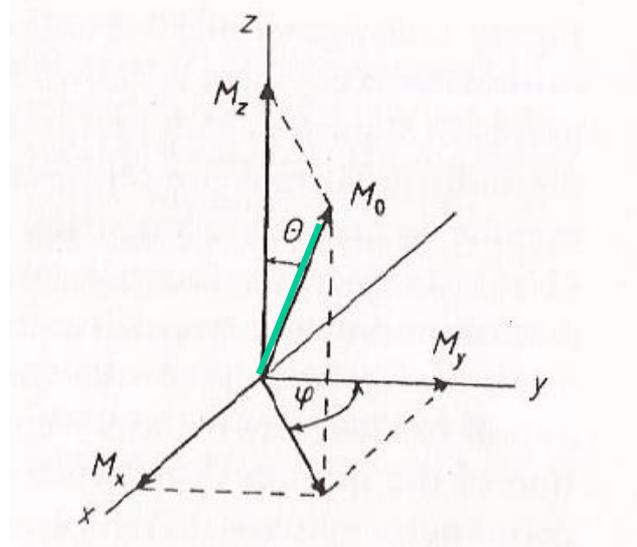
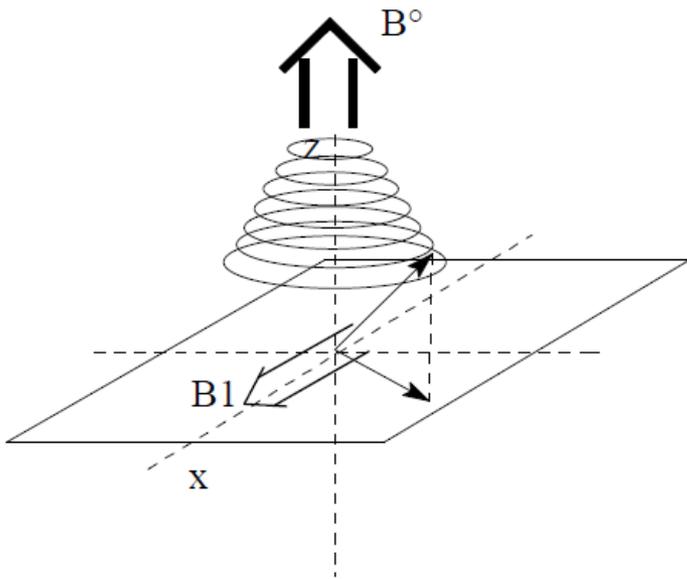
$B_1$  è un campo alternante lungo  $x$  ed è rappresentato come due vettori dello stesso modulo  $B_1$  che ruotano nel piano  $xy$  con frequenza  $\nu_1$  ( $= \nu_0$ ) ma in direzioni opposte

Di queste solo quella che ruota nello stesso verso dei dipoli nucleari può interagire con essi e quindi con  $M_0$  (magnetizzazione macroscopica)

$$\nu_1 = \nu_0$$

# VETTORE $M_0$ DOPO L'IMPULSO NEL SISTEMA CARTESIANO DI LABORATORIO $x,y,z$

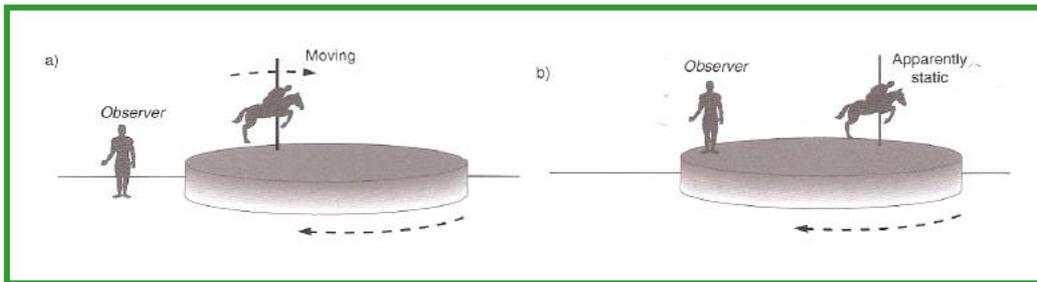
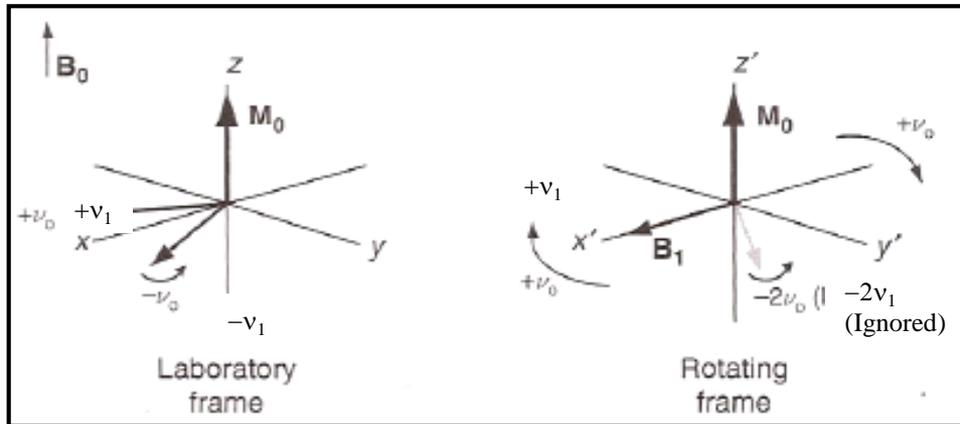
- Viene applicato l'impulso di frequenza  $\nu_1$  lungo l'asse  $x$  che eccita tutti i nuclei del campione
- La magnetizzazione risente di un campo aggiuntivo  $B_1$  perpendicolare a  $B_0$ , di frequenza incidente  $\nu_1$
- Requisito geometrico: il generatore di  $B_1$  deve essere su un piano perpendicolare a  $B_0$  (convenzionalmente su  $x$ ), il ricevitore su  $y$ .
- Nel sistema di riferimento del laboratorio il campo  $B_1$  sposta la magnetizzazione dall'asse  $z$  verso il piano  $xy$  con un moto a spirale difficilmente descrivibile (3 coordinate in ogni istante)



$M_0$  precessa intorno all'asse  $z$   
 $M_0$  precessa intorno a  $x$   
 $B_1$  campo alternante

**DESCRIZIONE MOLTO  
COMPLICATA**

# VETTORE $M_0$ DOPO L'IMPULSO NEL SISTEMA DI ASSI ROTANTI



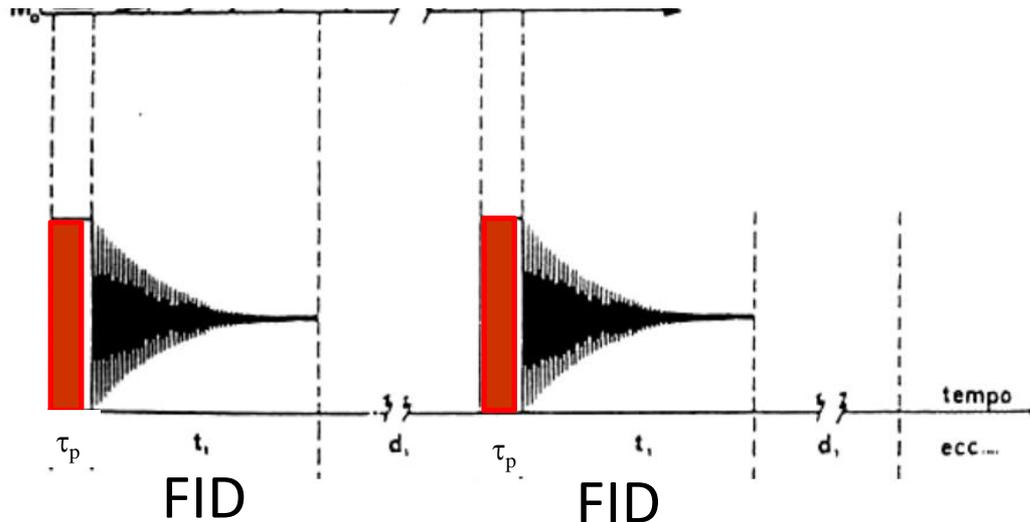
Nel sistema di assi rotanti:

- $z=z'$ ;  $x'y'$  ruota con frequenza la frequenza  $v_1$  di  $B_1$
- $B_1$  risulta statico lungo  $x'$
- Gli spin si muovono con la stessa frequenza  $v_1$ , viene annullato il moto precessionale indotto da  $B_0$
- $B_0$  non è più rappresentato

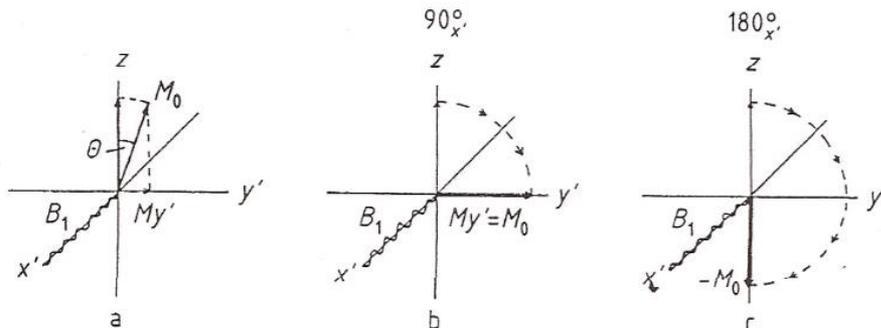
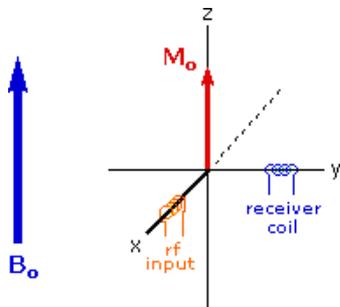
# METODO PULSATO

Fasi di un esperimento pulsato in FT (spettro monodimensionale - single pulse)

1. Applicazione dell'impulso
2. Emissione e ricezione del FID( $t$ ) (Free Induction Decay)
3. Accumuli
4. Trasformata di Fourier



# APPLICAZIONE DELL'IMPULSO: EFFETTO SU $M_0$ NEL SISTEMA ROTANTE

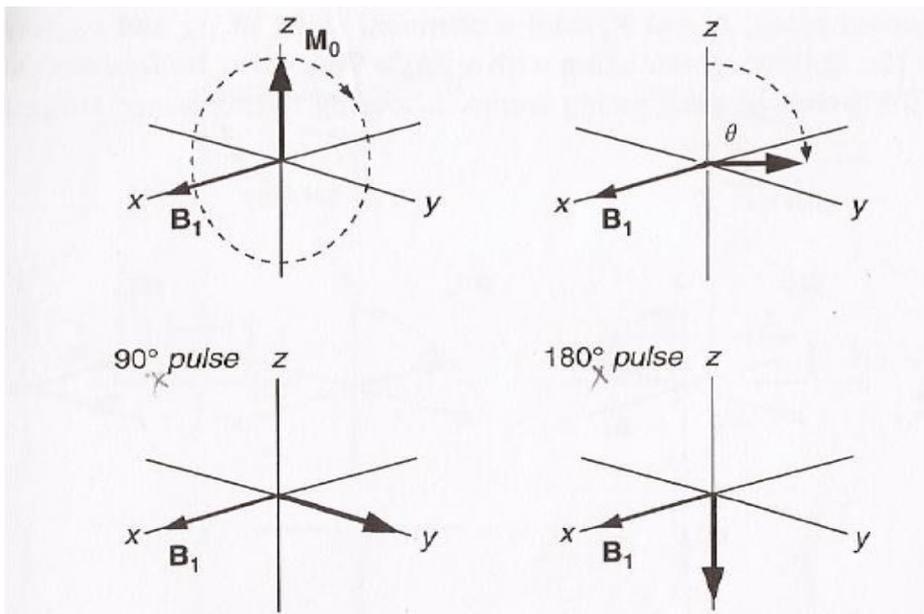


$M_0$  risente solo di  $B_1$  e ruota verso  $y'$  nel piano  $y'z'$ .

$M_0$  dopo a) impulso arbitrario  $q$ ;  
b) impulso a  $90^\circ_x$ ; c) impulso di  $180^\circ_x$

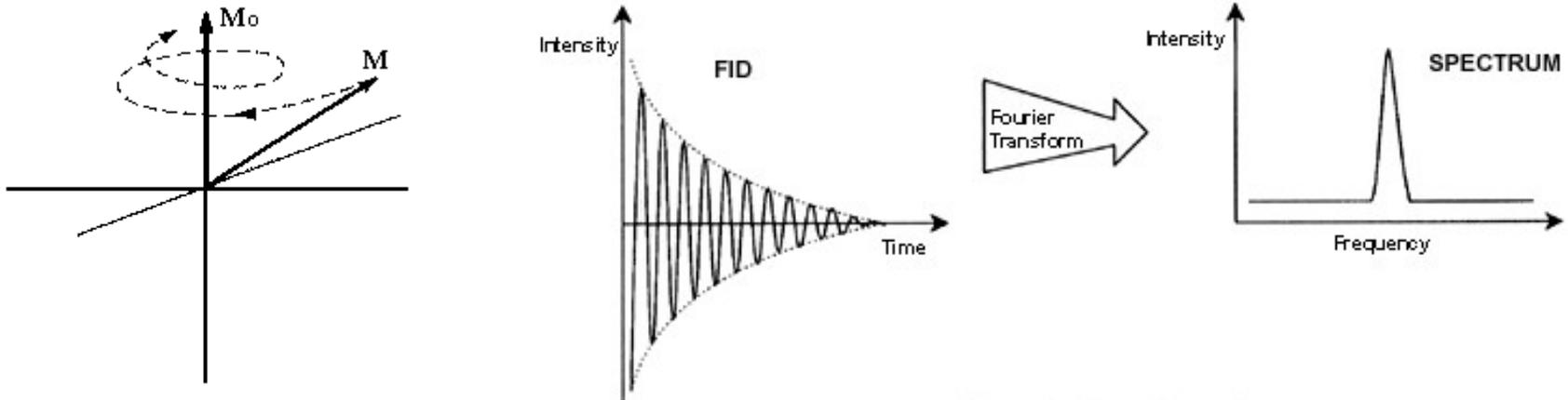
$$\Theta = \gamma \tau_p B_1$$

Angolo di nutazione



## Eventi che seguono l'applicazione dell'impulso.

- Rilassamento con emissione del FID
- Trasformata di Fourier

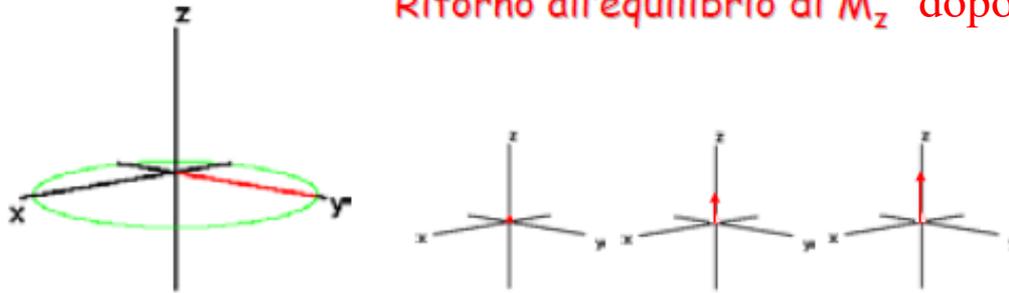


## RILASSAMENTO

Rilassamento = Ripristino delle condizioni di equilibrio

# RILASSAMENTO longitudinale

Ritorno all'equilibrio di  $M_z$  dopo l'impulso



**Il rilassamento longitudinale ristabilisce la componente longitudinale  $M_z$  della magnetizzazione lungo l'asse z**

**Avviene con meccanismo spin-lattice, cioè con trasferimento di energia all'intorno per interazione con campi magnetici fluttuanti alle stesse frequenze derivati dal moto browniano molecolare**

**E' detto perciò rilassamento **entalpico****

**E' descritto dall'equazione di Bloch**

$$(M_z)_t = M_0 (1 - \exp(-t/T_1)) \quad \text{Equazione di Bloch}$$

**$M_0 = M_z$  al tempo 0**

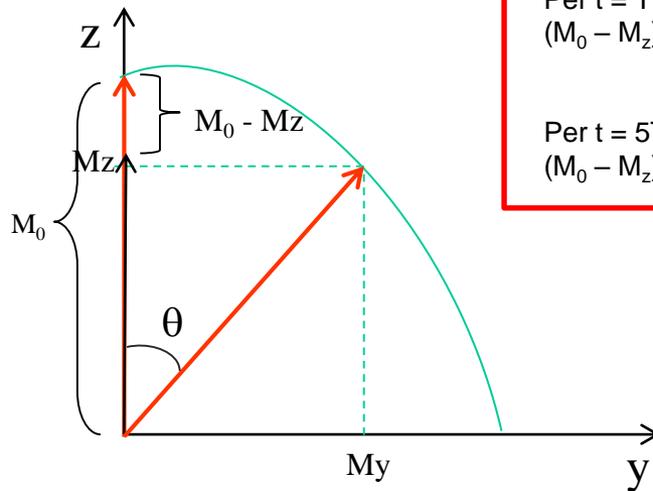
**$T_1$  costante di tempo del rilassamento longitudinale**

**$T_1^{-1}$  costante di velocità del rilassamento longitudinale**

# RILASSAMENTO longitudinale

Si segue come varia  $(M_0 - M_z)$  nel tempo. Esso diminuisce man mano che  $M_z$  si riallinea con  $z$

$$(M_0 - M_z)_t = M_0 \exp^{-t/T_1} \text{ corrisponde all'equazione di Bloch}$$

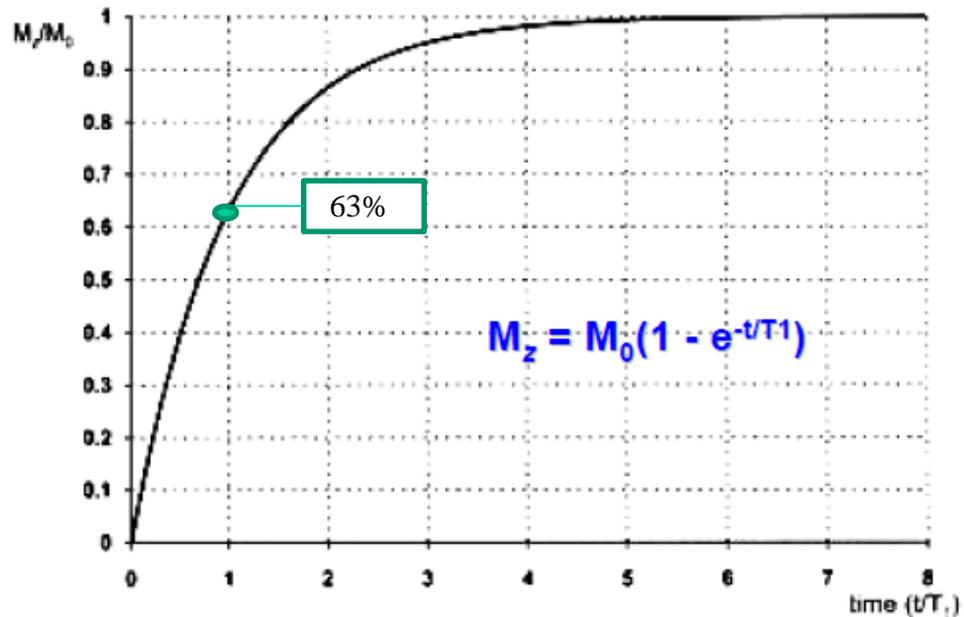


$$\text{Per } t = T_1 \\ (M_0 - M_z)_{T_1} = M_0 \exp^{-1} = 0.37M_0$$

$$\text{Per } t = 5T_1 \\ (M_0 - M_z)_{5T_1} = M_0 \exp^{-5} = 0.0067M_0 \approx 0.00$$

$T_1$  tempo necessario per un recupero del 63% di  $M_0$   
 $5T_1$  tempo necessario per il recupero completo

# RILASSAMENTO LONGITUDINALE



**Al tempo  $t = T_1$ , il recupero di  $M$  lungo  $z$  è del 63%**  
**Il recupero è totale dopo  $t = 5T_1$**

**$T_1(^1\text{H})$ : 0.5 – 5s**  
 **$T_1(^{13}\text{C})$ : 2 – 100s**

# RILASSAMENTO TRASVERSALE

**E' il processo con cui  $M_y'$  torna a zero.**

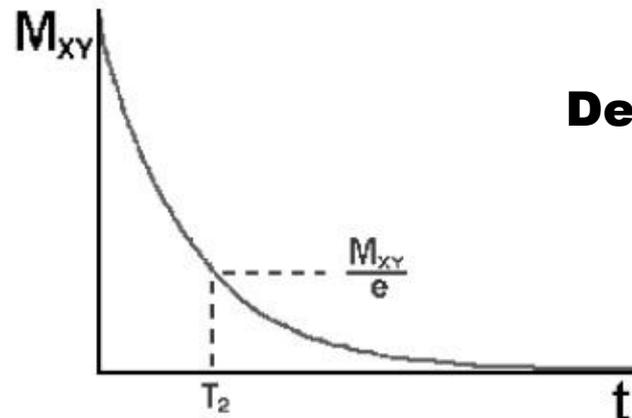
**E' un fenomeno che avviene con decadimento esponenziale descritto dall'equazione di Bloch, e caratterizzato dalla costante di tempo  $T_2$**

$$M_{y(t)} = M_{y_0} (\exp(-t/T_2))$$

Equazione di Bloch  
per rilassamento trasversale

**Avviene con meccanismo spin-spin, senza scambi di energia con l'esterno**

**E' detto perciò rilassamento **entropico****



**Decadimento esponenziale**

## Rilassamento trasversale intrinseco (T<sub>2</sub>)

$$\mathbf{My}_{(t)} = \mathbf{My}_0 (\mathbf{exp}(-t/\mathbf{T}_2))$$

$$t = T_2$$

$$My(T_2) = My(0) e^{-1} = 0.37 My(0)$$

$$t = 5T_2$$

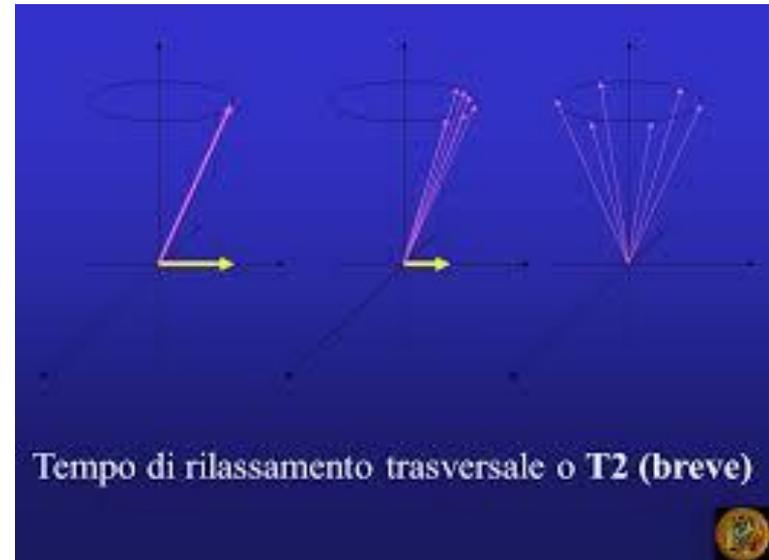
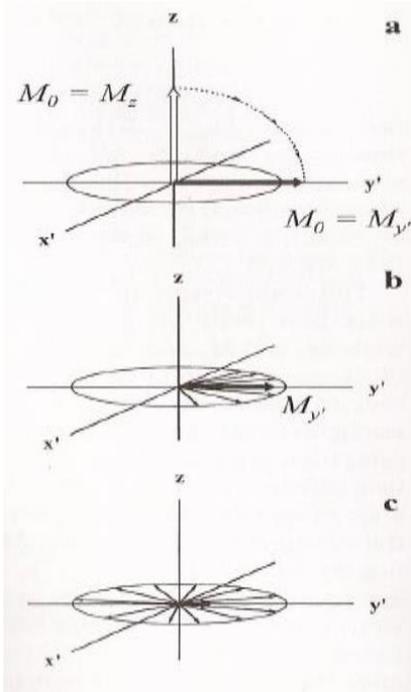
$$My(5T_2) = My(0) e^{-5} = 0.0067 My(0)$$

# RILASSAMENTO TRASVERSALE

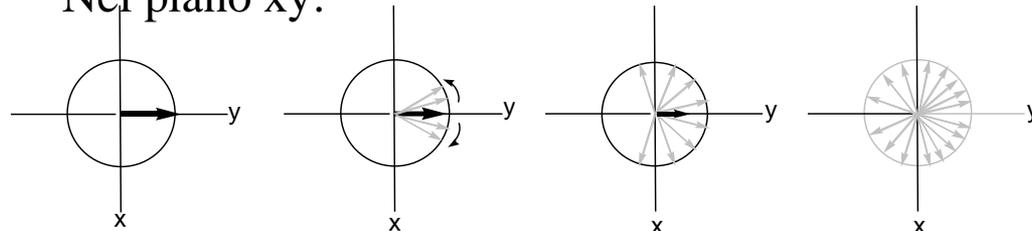
La componente trasversale  $M_{xy}$  della magnetizzazione torna a zero attraverso defasamento dei dipoli individuali che compongono  $M_0$

Questo defasamento è dovuto alla disomogeneità di campo (oltre che al rilassamento spin-spin)

Questa genera differenze locali di CM nel campione che causano piccole differenze di frequenza di precessione degli spin.  $M_y$  è statico su  $y$  solo se tutti i dipoli individuali risentono dello stesso valore di campo  $B_1$



Nel piano xy:



## **COSA DETERMINA IL RILASSAMENTO TRASVERSALE**

- **Il rilassamento spin-spin**
- **Le disomogeneità di campo**

**Per cui si definisce un tempo effettivo  $T_2^*$**

$$T_2^* = T_2 + T_2(\Delta B_0)$$

quindi 
$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_2 \Delta B_0}$$

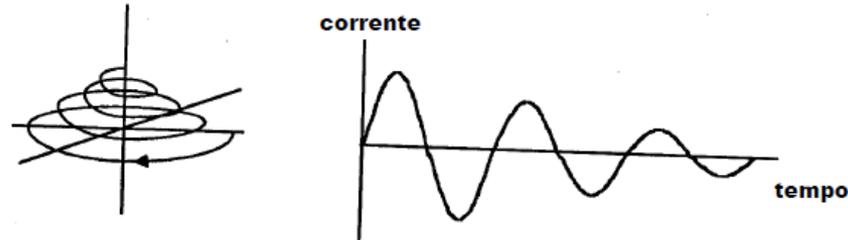
Processi spin-spin      Inomogeneità di campo

**$T_2$  costante di tempo di rilassamento trasversale spin – spin (intrinseco)**

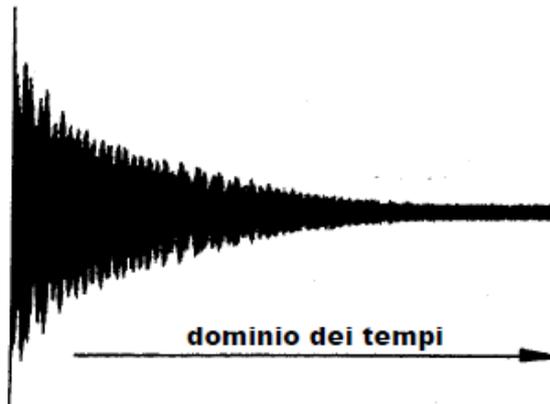
**$T_2(\Delta B_0)$  costante di tempo di rilassamento dovuto alle disomogeneità di campo**

# DECADIMENTO ESPONENZIALE della magnetizzazione trasversale

Ricapitoliamo cosa succede in un esperimento ad impulsi

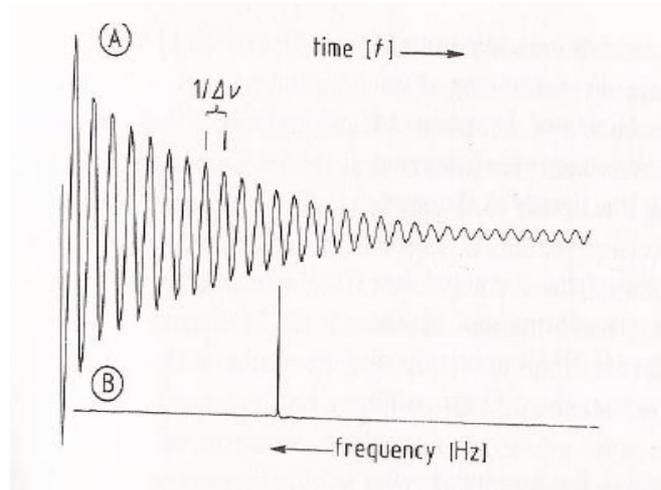


Il segnale emesso dagli spin nucleari è rilevato dal receiver come una corrente time-dependent, combinazione di un decadimento (rilassamento trasversale) e di un moto sinusoidale (moto della magnetizzazione)

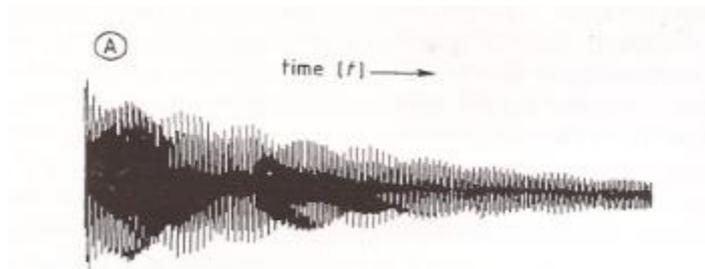


ma tutti i nuclei sono in risonanza  
quindi avremo una serie di correnti  
oscillanti che decadono nel tempo;  
il FID a fianco contiene tutte le  
informazioni relative alle frequenze  
di risonanza dei nuclei...  
basta eseguire la Trasformata di  
Fourier

# FID = Free Induction Decay



**Per un campione con nuclei tutti uguali (es di  $\text{CHCl}_3$ )**



**FID qualsiasi**

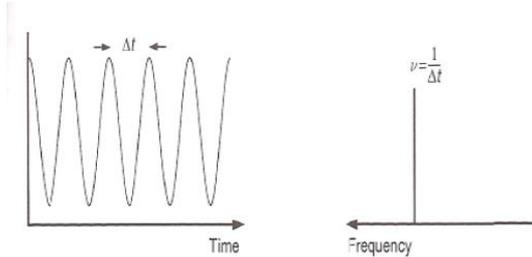
# LA TRASFORMATA DI FOURIER

## FT

Relazione fra  $t$  e  $\nu$

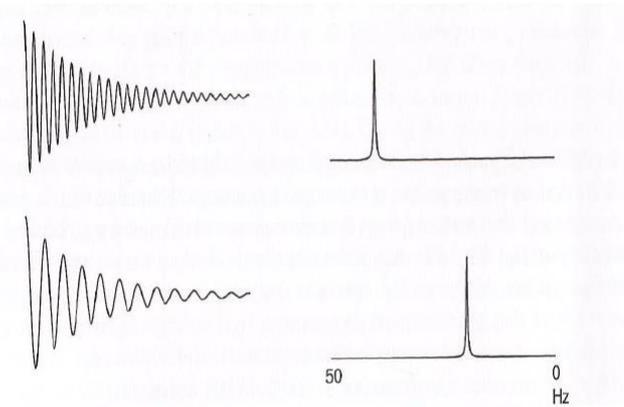
$$F(\nu) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{i\nu t} dt$$

$$e^{i\nu t} = \cos \nu t + i \sin \nu t$$



FID e spettro di un campione con un'unica risonanza (es.:  $\text{CHCl}_3$ ) senza decadimento ( $B_0$  perfettamente omogeneo)

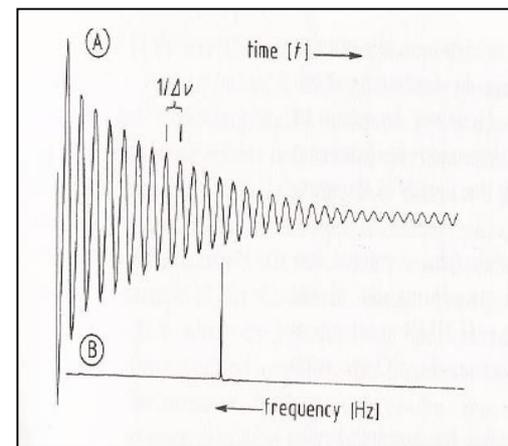
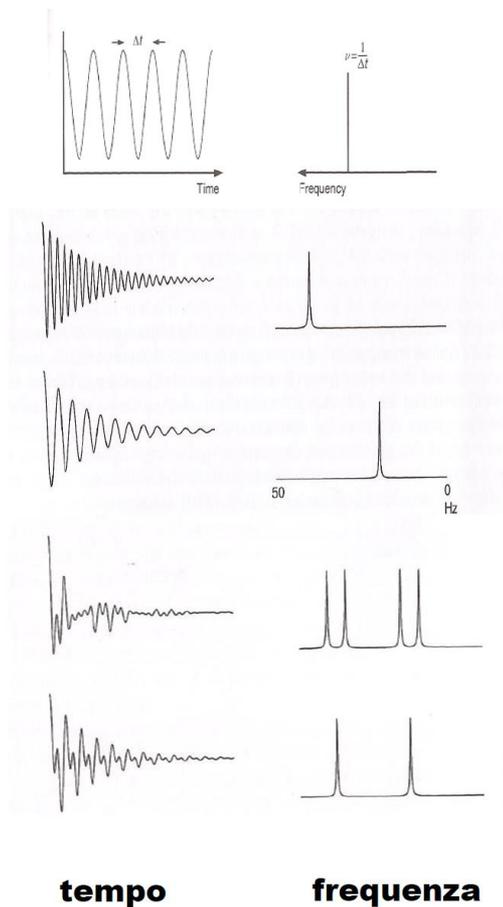
FID e spettro di un campione con un'unica risonanza (es.:  $\text{CHCl}_3$ ) e con un  $B_0$  non perfettamente omogeneo (caso reale)



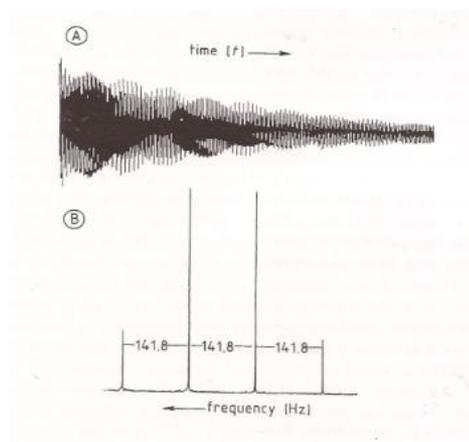
**tempo**

**frequenza**

# LA TRASFORMATA DI FOURIER FT

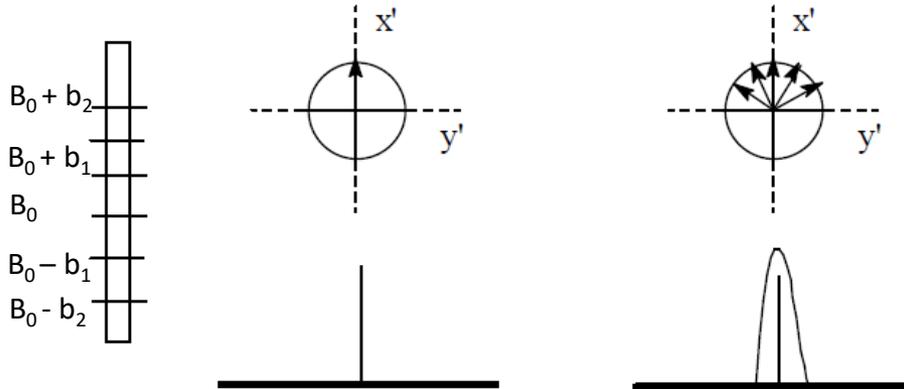


FID di un campione di  $\text{CHCl}_3$   
con  $n_1 - n_L = Dn$   
(frequenza di Larmor  $\neq$  frequenza di riferimento)

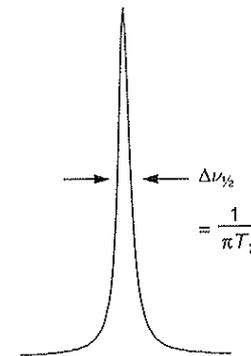
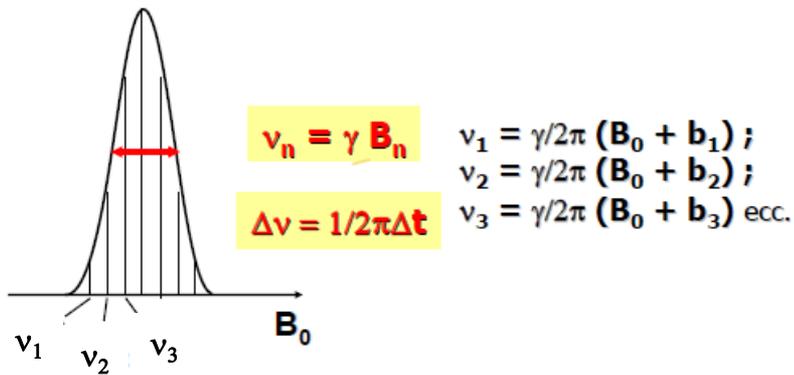


$^{13}\text{C}$  del  $\text{CH}_3\text{OH}$   
(accoppiato)

# TRASFORMATA DI FOURIER - LINESHAPE



Lorenziana

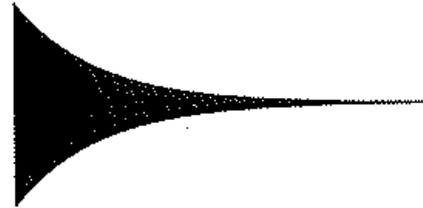


Larghezza a mezza altezza

# LINESHAPE – DIPENDENZA DA $T_2^*$

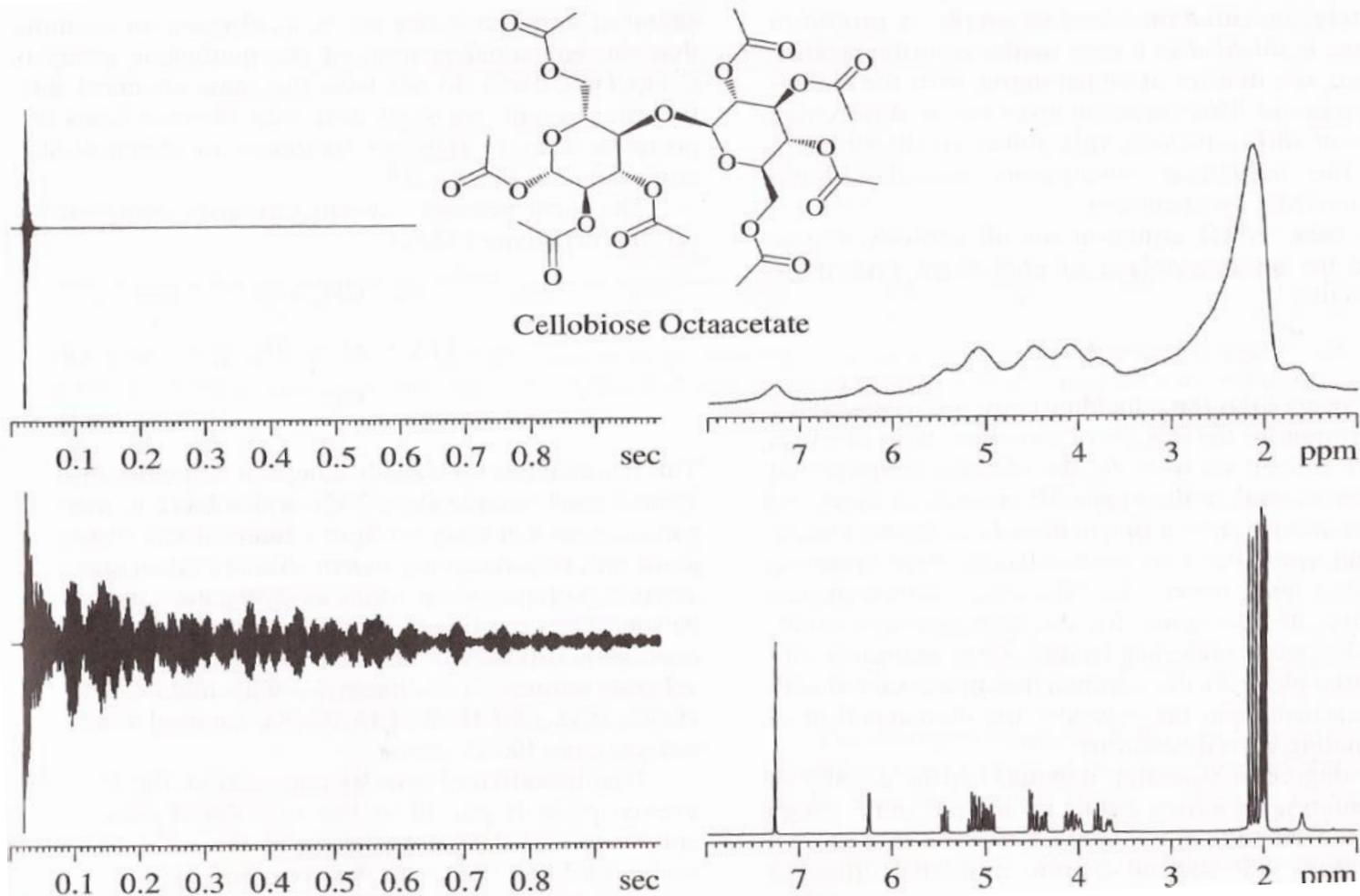


Short  $T_2^*$   
fast relaxation



Long  $T_2^*$   
slow relaxation

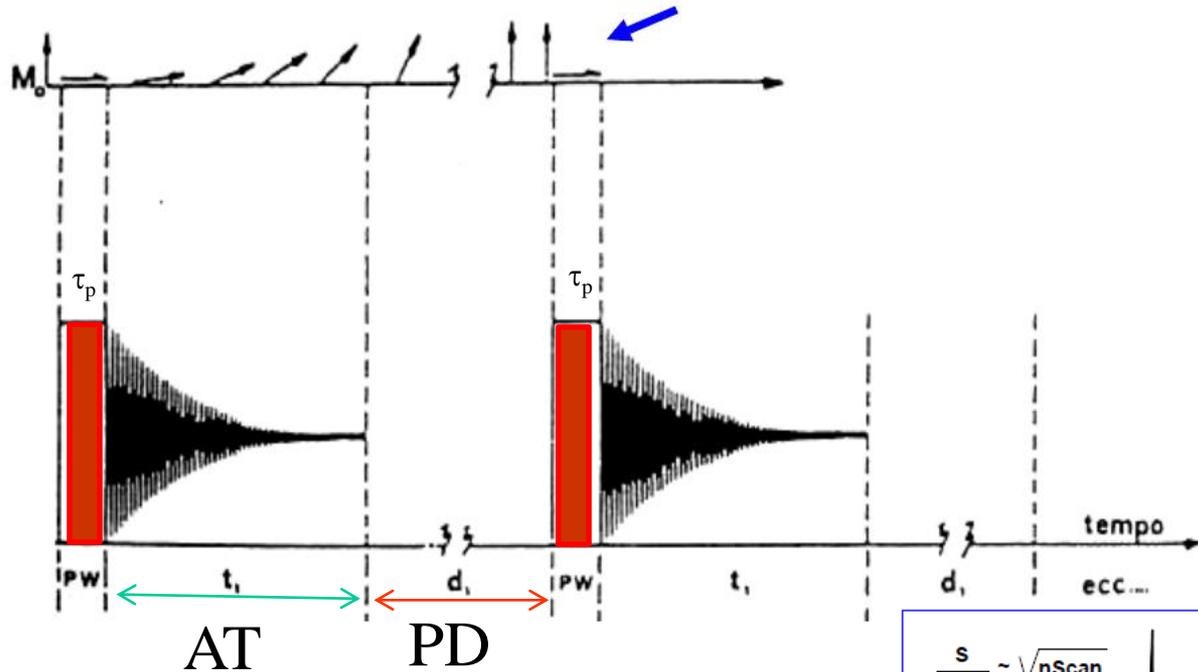
## Relazione fra $T_2^*$ e larghezza di riga



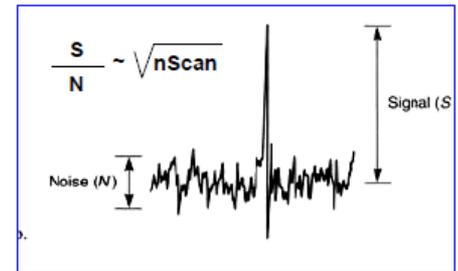
Effetto della presenza di particelle ferromagnetiche (che accelerano il decadimento) sulla risoluzione dello spettro

# METODO PULSATO – ACCUMULI (SCANSIONI)

Schema generale di base di un esperimento pulsato (spettro monodimensionale - single pulse)

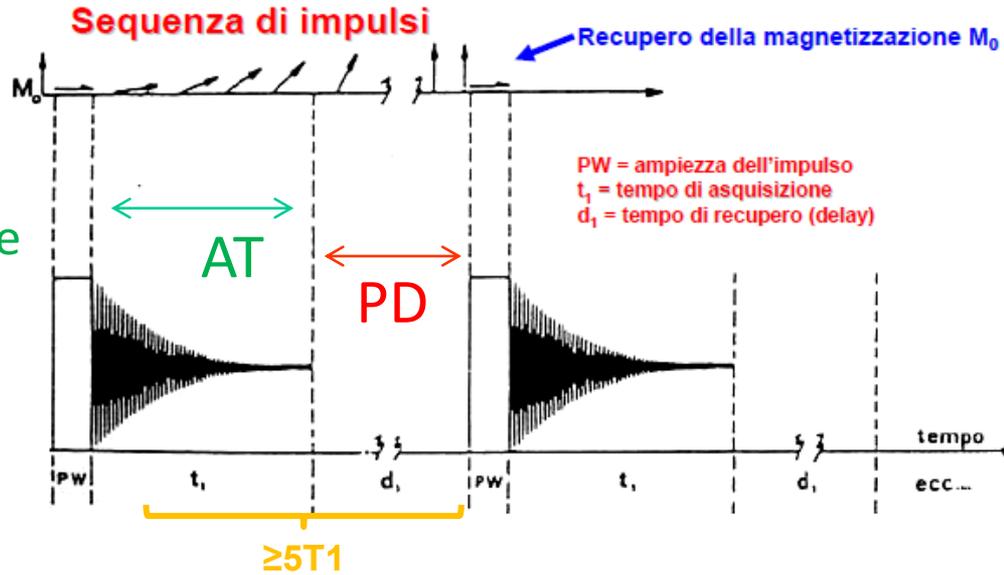


AT Acquisition Time  
PD Pulse Delay

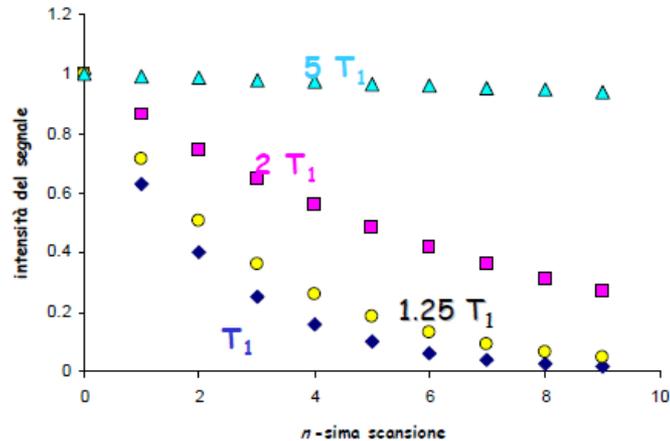


L'accumulo di molti FID consente di migliorare il rapporto S/N. Il rapporto S/N aumenta proporzionalmente alla radice quadrata del numero di scansioni

# PERCHE' DOBBIAMO PREOCCUPARCI DI $T_1$



Valore di  $M_z$  dopo  $n$  scansioni se il tempo tra un impulso e il successivo è....



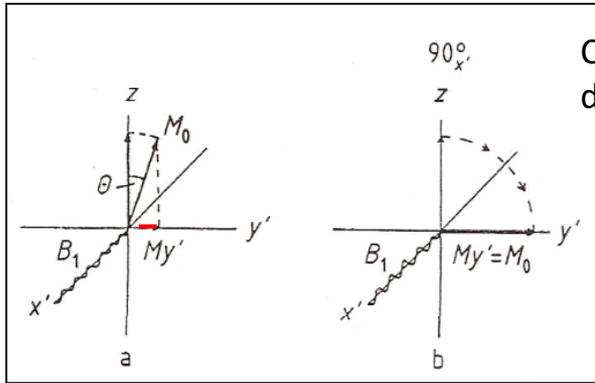
**T<sub>1</sub> E' IMPORTANTE PER:**

- **INTEGRAZIONE**
- **LA CALIBRAZIONE DELL'IMPULSO**
- **L'IMPOSTAZIONE DEI PARAMETRI  
DELL'ESPERIMENTO**

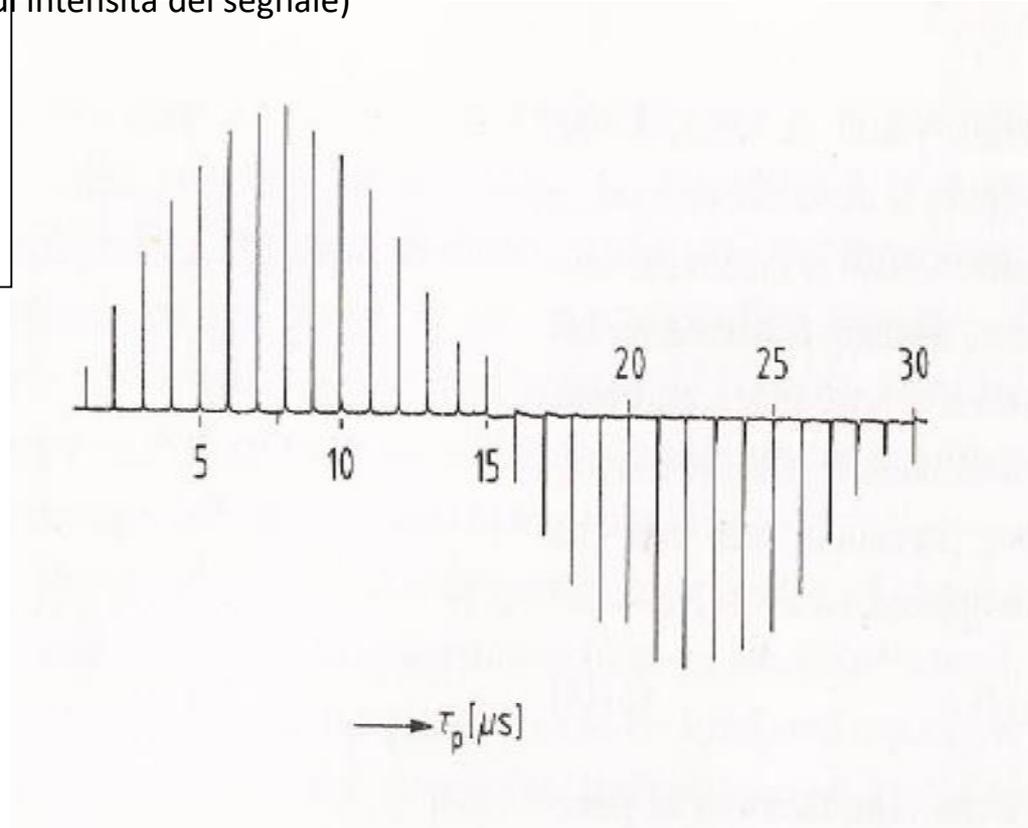
**T<sub>2</sub> E' IMPORTANTE PER:**

- **INFLUENZA LA RISOLUZIONE  
(LARGHEZZA DELLA RIGA)**

## CALIBRAZIONE DELL'IMPULSO A 90°



Con l'impulso a 90°x si tutta  $M_0$  è su  $y$  dove c'è il receiver, si ha il massimo di intensità del segnale)



Dipendenza del segnale NMR di un campione di  $H_2O$  rispetto al pulse angle  $\theta$ .

Nell'esperimento si incrementa ogni volta la durata del  $\tau_p$  di  $1 \mu s$ .

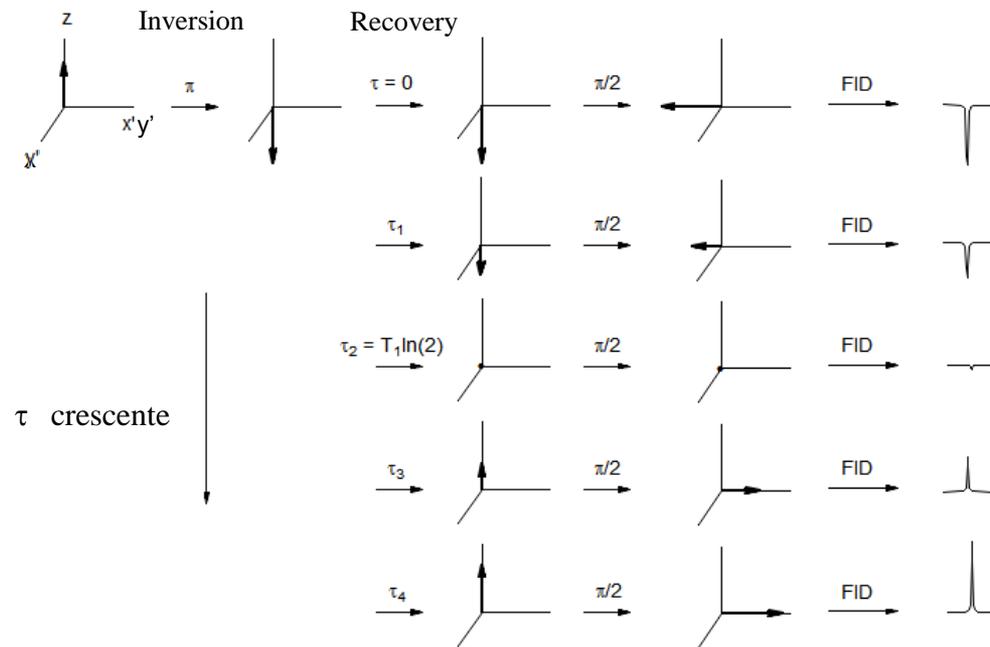
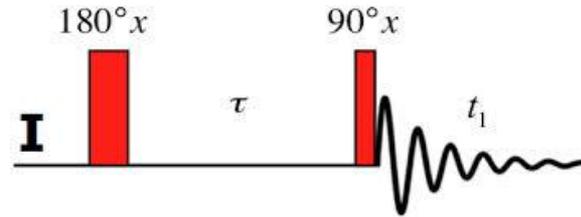
Il massimo dell'ampiezza del segnale è ottenuto con un impulso a  $90^\circ$  lungo  $x$  (circa  $8 \mu s$ )

Per  $\tau_p$   $15-16 \mu s$  l'ampiezza è zero, perché questa corrisponde a  $\theta = 180^\circ$ ,

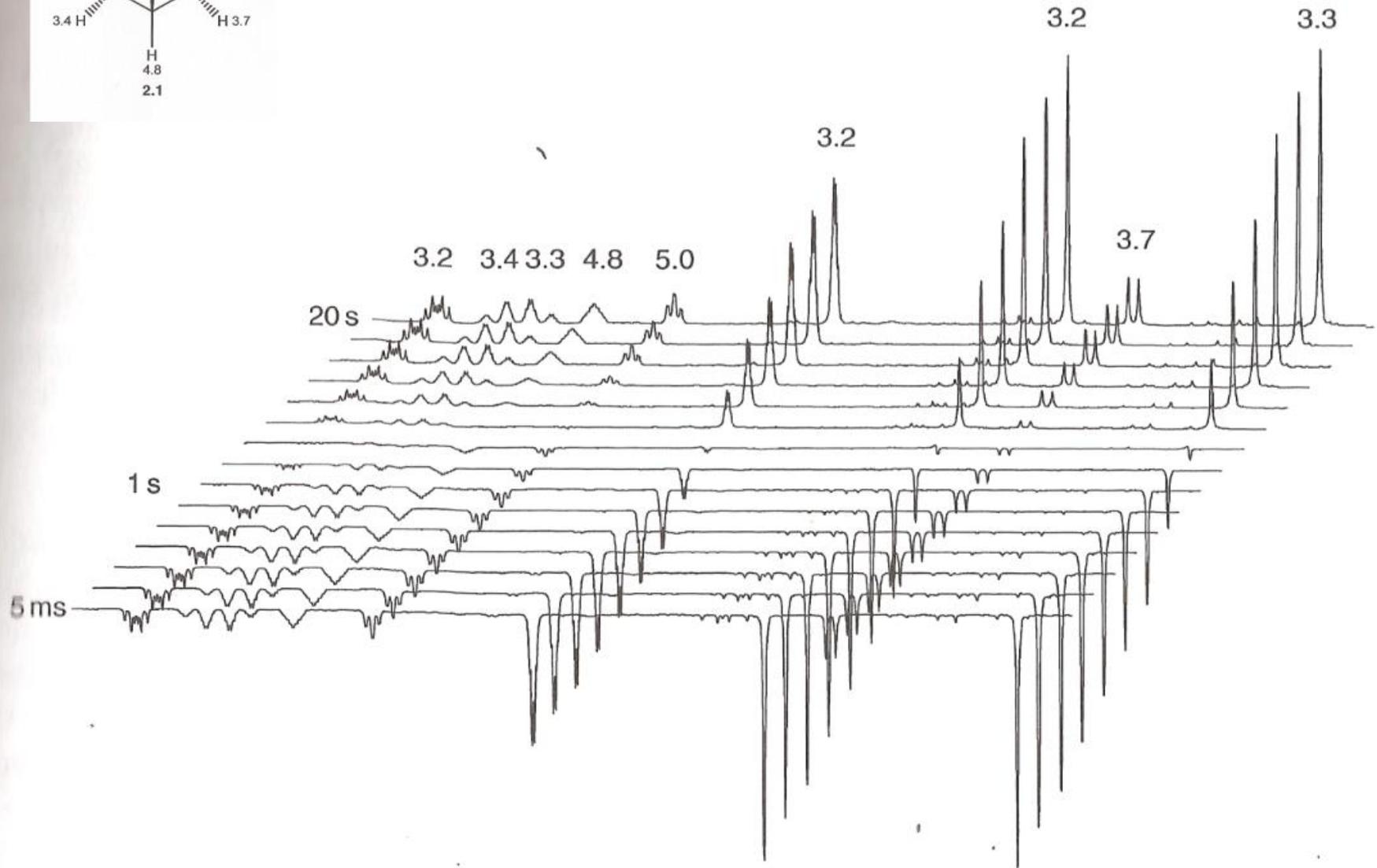
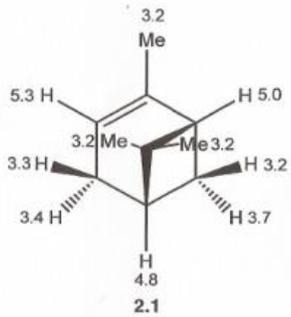
per impulsi più lunghi il segnale diviene negativo

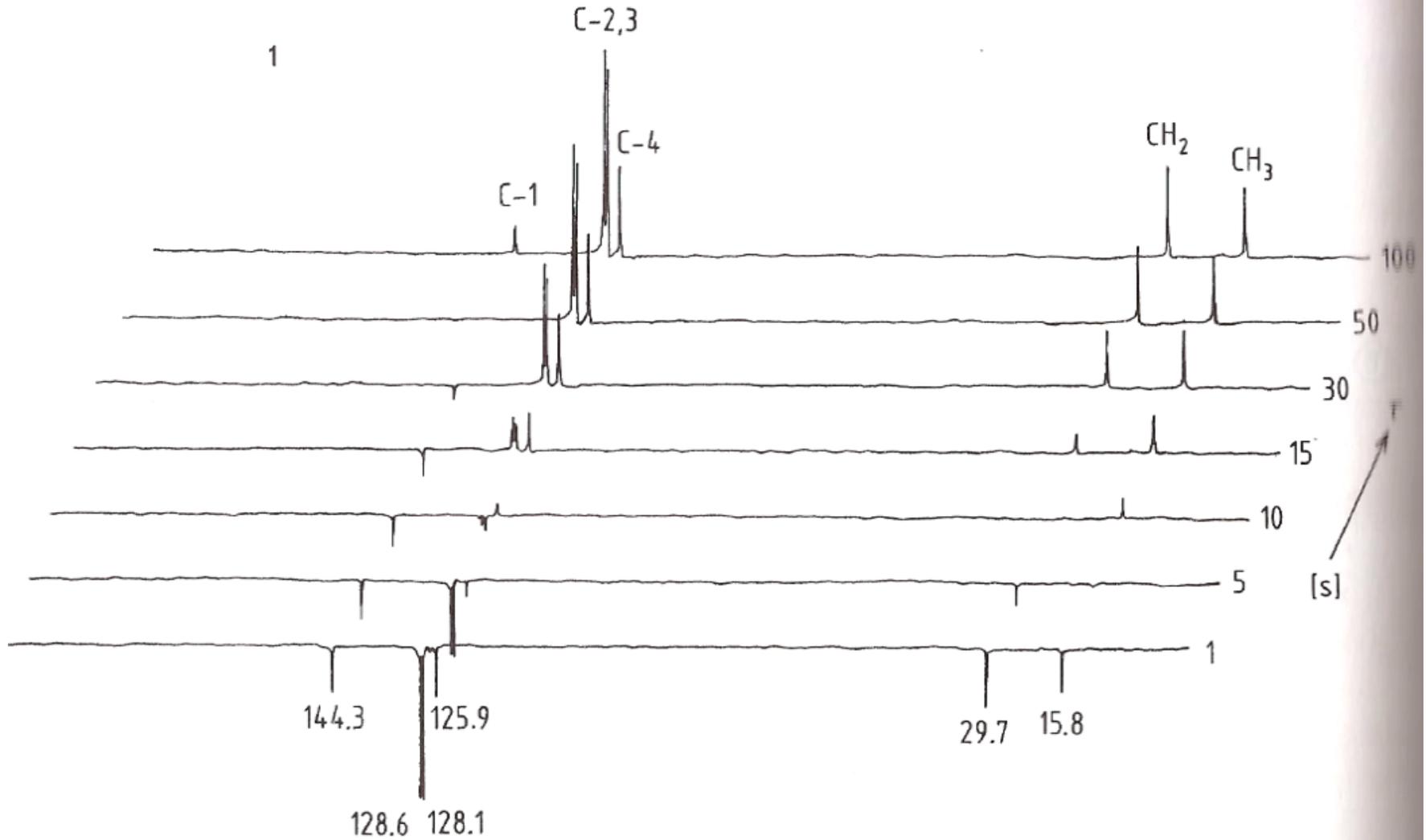
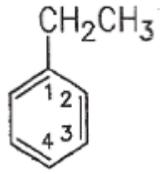
# MISURA DI $T_1$

## INVERSION RECOVERY EXPERIMENT

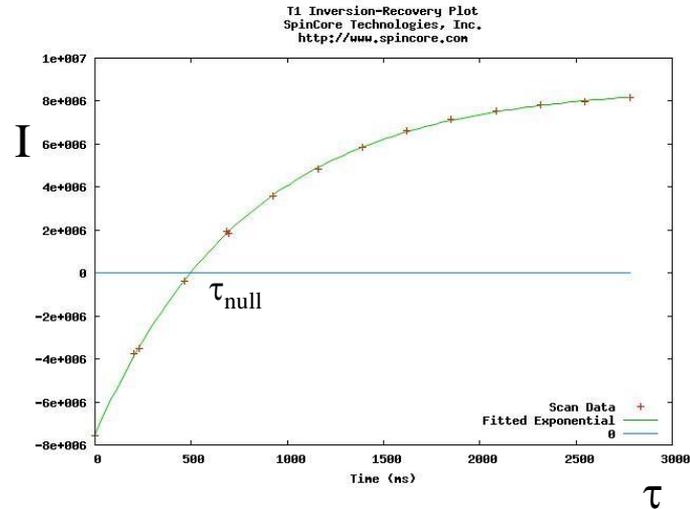


# INVERSION RECOVERY EXPERIMENT





# INVERSION RECOVERY EXPERIMENT



$$M_z = M_0 (1 - 2\exp(-t/T_1)) \quad \text{Rilassamento longitudinale}$$

Oppure:

$$(M_0 - M_z)_t = (M_0 - M_z)_0 e^{-t/T_1}$$

Al tempo  $t = 0$ :  $M_z = -M_0$  (inversion,  $180^\circ_x$ )

Per cui:  $(M_0 - M_z)_t = 2M_0 e^{-t/T_1}$

Ma  $I$  (intensità) è proporzionale a  $M$ , per cui

$$(I_0 - I_z)_t = 2I_0 e^{-t/T_1}$$

$$\ln(I_0 - I_z)_t = \ln 2I_0 - t/T_1$$

Per  $t = \tau_{\text{null}}$  :  $I_z = 0$ , quindi:

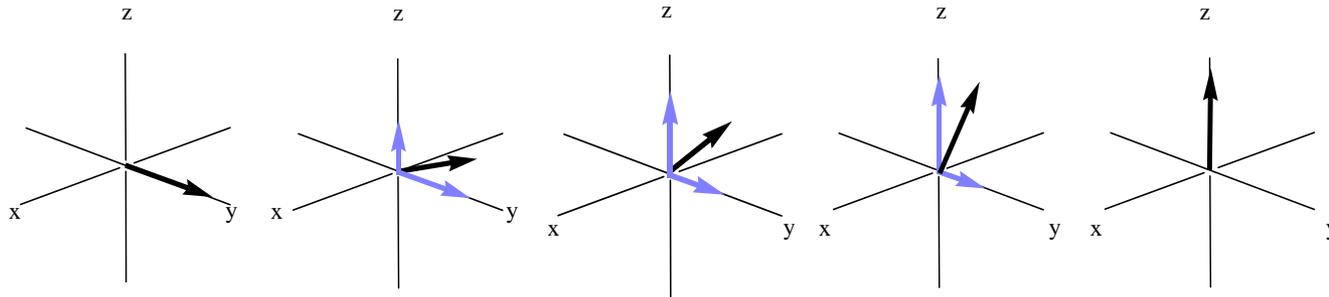
$$\ln I_0 = \ln 2I_0 - \frac{\tau_{\text{null}}}{T_1}$$

Da cui

$$\tau_{\text{null}} = \ln \frac{2I_0}{I_0} T_1 = T_1 \ln 2$$

# T1/T2

- **Il rilassamento ristabilisce l'equilibrio dopo l'impulso**
- **Il rilassamento ristabilisce la componente longitudinale della magnetizzazione lungo l'asse z e contemporaneamente fa diminuire la componente trasversale xy fino a portarla a zero**



OGNI FATTORE CHE CONTRIBUISCE AL RILASSAMENTO LONGITUDINALE ( $T_1$ )  
CONTRIBUISCE ANCHE A QUELLO TRASVERSALE ( $T_2$ )

Che tradotto:

IL RILASSAMENTO TRASVERSALE SENTE TUTTI I CONTRIBUTI DI QUELLO  
LONGITUDINALE, PIU' QUALCHE ALTRO CONTRIBUTO

Ossia:

$T_1 \geq T_2$  o anche  $1/T_1 \leq 1/T_2$  o anche  $R_1 \leq R_2$  VELOCITA' di RILASSAMENTO

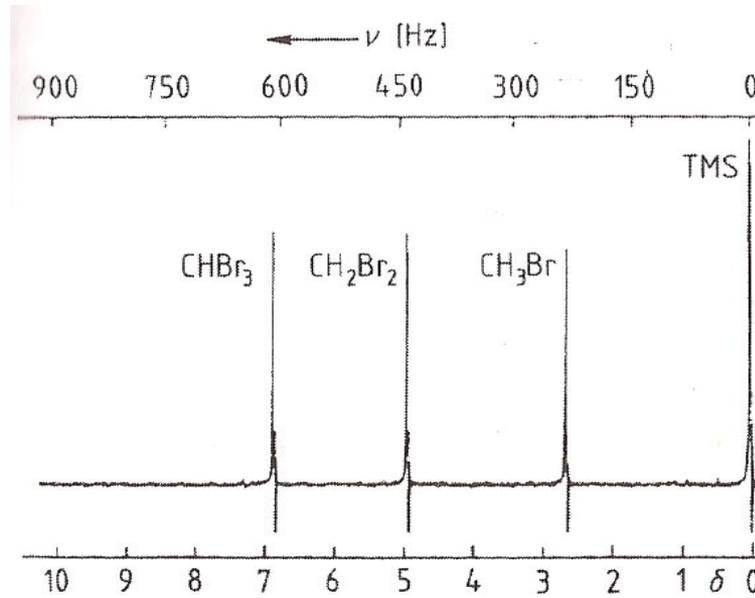
# CHEMICAL SHIFT

$$\delta = \frac{\overbrace{\nu_{\text{campione}} - \nu_{\text{riferimento}}}_{\text{Hz}}}{\underbrace{\nu_{\text{riferimento}}}_{\text{MHz}}} \quad \text{ppm}$$

La frequenza assoluta di risonanza di ogni nucleo varia con  $B_0$

Il chemical shift non dipende da  $B_0$

# CHEMICAL SHIFT



TMS = tetrametilsilano  
( $\text{CH}_3$ )<sub>4</sub>Si

$B_0 = 2.11 \text{ T}$   
 $\nu_1 = 90 \text{ MHz}$

$\sigma$	→	
↑	TMS:	90.000.000 Hz ( $\nu_1$ )
	$\text{CH}_3\text{Br}$ :	90.000.237 Hz
	$\text{CH}_2\text{Br}_2$ :	90.000.441 Hz
	$\text{CHBr}_3$ :	90.000.614 Hz

Frequenze assolute

## CHEMICAL SHIFT

$$\delta = \frac{\overbrace{\nu_{\text{campione}} - \nu_{\text{riferimento}}}^{\text{Hz}}}{\underbrace{\nu_{\text{riferimento}}}_{\text{MHz}}} \quad \text{ppm}$$

$\text{CH}_3\text{Br}$ : 2.63 ppm  
 $\text{CH}_2\text{Br}_2$ : 4.90 ppm  
 $\text{CHBr}_2$ : 6.82 ppm

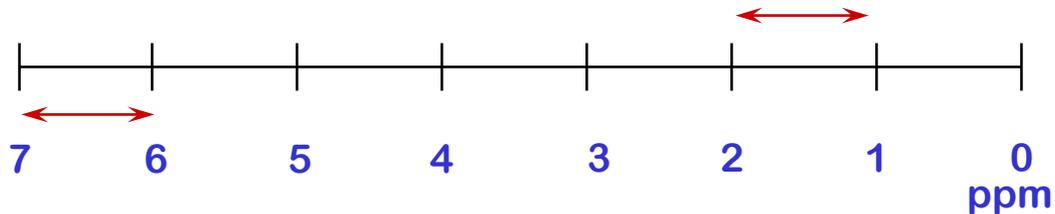
  
 $\nu_1$

$\nu_{\text{TMS}}$ : 90.000.000 Hz			$\delta_{\text{TMS}} = \frac{90.000.000 \text{ Hz} - 90.000.000 \text{ Hz}}{90.000.000 \text{ Hz}} = 0 \text{ ppm}$
$\nu_{\text{CH}_3\text{Br}}$ : 90.000.237 Hz	}	$\Delta\nu_1 = 237 \text{ Hz}$	$\delta_{\text{CH}_3\text{Br}} = \frac{90.000.237 \text{ Hz} - 90.000.000 \text{ Hz}}{90.000.000 \text{ Hz}} = 2.63 \text{ ppm}$
$\nu_{\text{CH}_2\text{Br}_2}$ : 90.000.441 Hz		$\Delta\nu_2 = 441 \text{ Hz}$	$\delta_{\text{CH}_2\text{Br}_2} = \frac{90.000.441 \text{ Hz} - 90.000.000 \text{ Hz}}{90.000.000 \text{ Hz}} = 4.90 \text{ ppm}$
$\nu_{\text{CHBr}_3}$ : 90.000.614 Hz		$\Delta\nu_3 = 614 \text{ Hz}$	$\delta_{\text{CHBr}_3} = \frac{90.000.614 \text{ Hz} - 90.000.000 \text{ Hz}}{90.000.000 \text{ Hz}} = 6.82 \text{ ppm}$

Con questo spettrometro 1 ppm corrisponde a 90 Hz

# Equivalenza in Hertz di 1 ppm

Frequenza dello strumento	Equivalenza in Hz di 1 ppm
60 MHz	60 Hz
100 MHz	100 Hz
300 MHz	300 Hz
400 MHz	400 Hz



Ogni unità di ppm rappresenta o una variazione di 1 ppm di  $B_0$  (forza del campo magnetico, Tesla) o una variazione di 1 ppm nella frequenza di precessione (MHz)

1 parte per milione di n MHz è n Hz

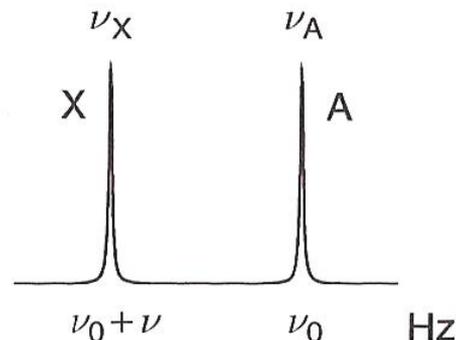
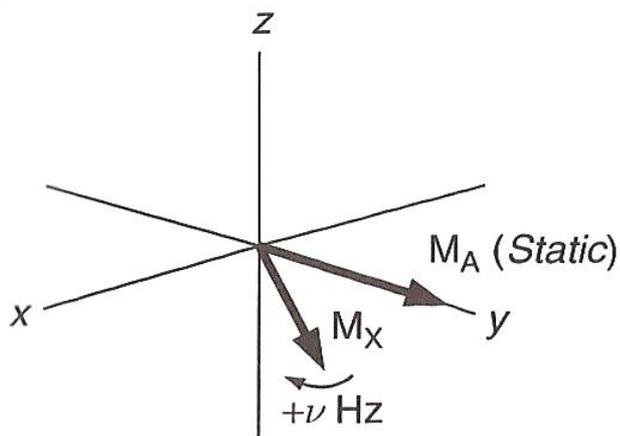
$$\frac{n \text{ MHz}}{10^6} = n \text{ Hz}$$

# CHEMICAL SHIFT NEL MODELLO VETTORIALE

Sistema formato da un nucleo A e un nucleo X non accoppiati con  $\nu_X > \nu_A$

Assumiamo che:  $\nu_A = \nu_{\text{rif}}$  → La magnetizzazione di A è statica su y (sistema rotante) dopo l'impulso a  $90^\circ$   
A **on resonance** con  $\nu_{\text{rif}}$

$\nu_{\text{rif}}$  coincide con la frequenza del sistema rotante



Il chemical shift è misurato dalla differenza di frequenza  $\nu$  fra i due vettori. Sono queste differenze che noi mettiamo in relazione con la struttura delle molecole. Questa differenza è la grandezza che compare al numeratore nella definizione di  $\delta$

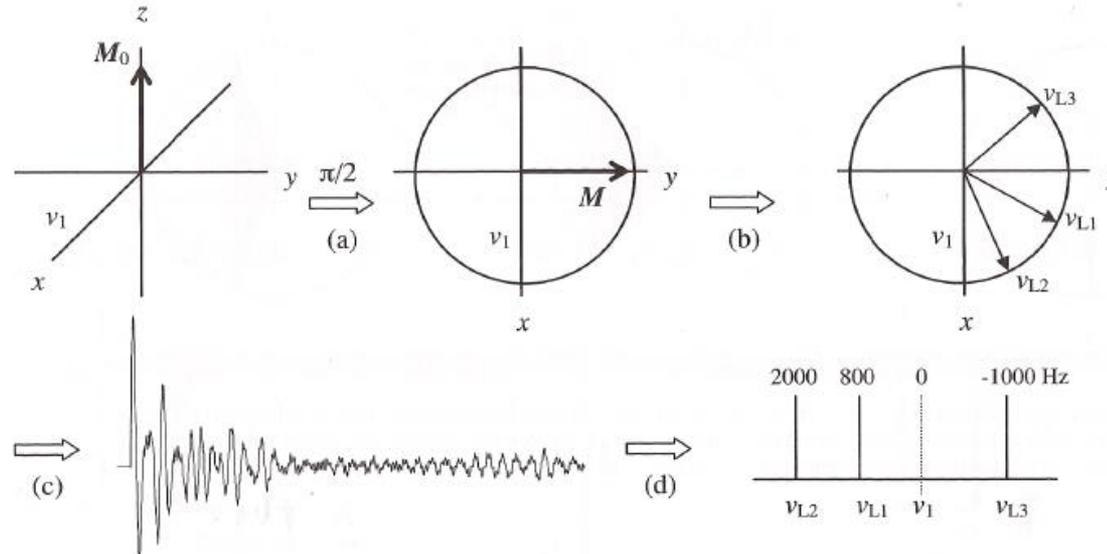
$\nu$  è l'**offset** rispetto alla  $\nu_{\text{rif}}$

# CHEMICAL SHIFT NEL MODELLO VETTORIALE

Altro esempio:

In questo esempio la  $\nu_{\text{rif}}$  non coincide con nessuna frequenza del campione

300 MHz



$\nu_{\text{rif}}$ :	300.000.000 Hz	$\Delta\nu_1 = 2000$ Hz (6.7 ppm)
$\nu_1$ :	300.002.000 Hz	$\Delta\nu_2 = 800$ Hz (2.7 ppm)
$\nu_2$ :	300.000.800 Hz	$\Delta\nu_3 = -1000$ Hz (-3.35 ppm)
$\nu_3$ :	299.999.000 Hz	

...dopo un tempo  $t = T_1 = T_2$

☞ che percentuale della magnetizzazione è tornata lungo  $z$ ?

$$M_z = M_\infty(1 - \exp(-t / T_1)) = M_\infty(1 - e^{-1}) = M_\infty(1 - 0.37) \\ = 0.63 M_\infty$$

$$M_\infty = M_0$$

☞ che percentuale è ancora nel piano  $xy$ ?

$$M_y = M_\infty \exp(-t / T_2) = M_\infty(e^{-1}) = 0.37 M_\infty$$

...dopo un tempo  $t = 5T_1$

☞ che percentuale della magnetizzazione è tornata lungo  $z$ ?

$$M_z = M_\infty(1 - \exp(-t / T_1)) = M_\infty(1 - e^{-5}) = M_\infty(1 - 0.00674) \\ = 0.99326 M_\infty$$

☞ che percentuale è ancora nel piano  $xy$ ?

$$M_y = M_\infty \exp(-t / T_2) = M_\infty(e^{-5}) = 0.00674 M_\infty$$