

# **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  $\text{H}_2\text{O}$ , paraffina e in solidi

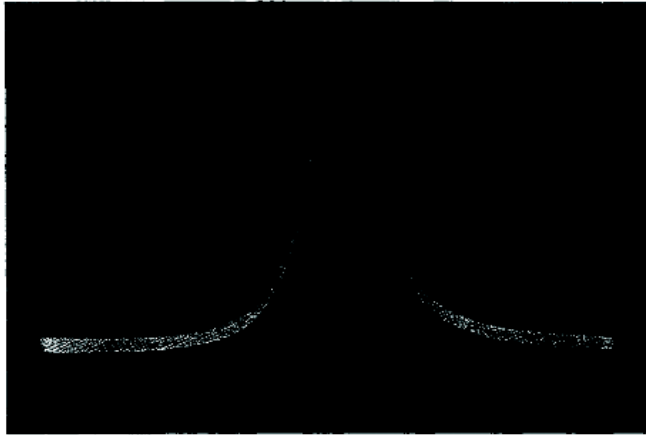
1952 Premio Nobel per la Fisica a Bloch e Purcell

1991 Premio Nobel per la Chimica a Richard Ernst

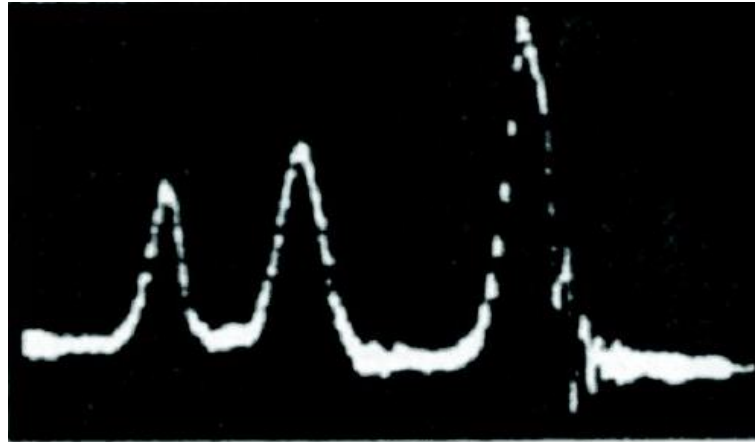
2002 Premio Nobel per la Chimica a Kurt Wüthrich

- 1926 Principi della meccanica quantistica (Schrödinger, Heisenberg)
- 1933 Esistenza del momento angolare nucleare (Stern, Gerlach)
- 1940 Prime osservazioni del segnale NMR in solidi e liquidi (Bloch Purcell)
- 1948 Studio del rilassamento (Blömbergen 1948)
- 1950 Sviluppo di chemical shift e costanti di accoppiamento;
- NMR a basso campo con magneti permanenti.
- 1966 Strumenti controllati da PC / FT - NMR e NOE (Ernst); 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

# NMR BREVE STORIA



il primo segnale di risonanza magnetica nucleare dei protoni dell'acqua



il primo spettro al protone dell'EtOH, con le caratteristiche tre bande per i gruppi OH, CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>, da sinistra verso destra.

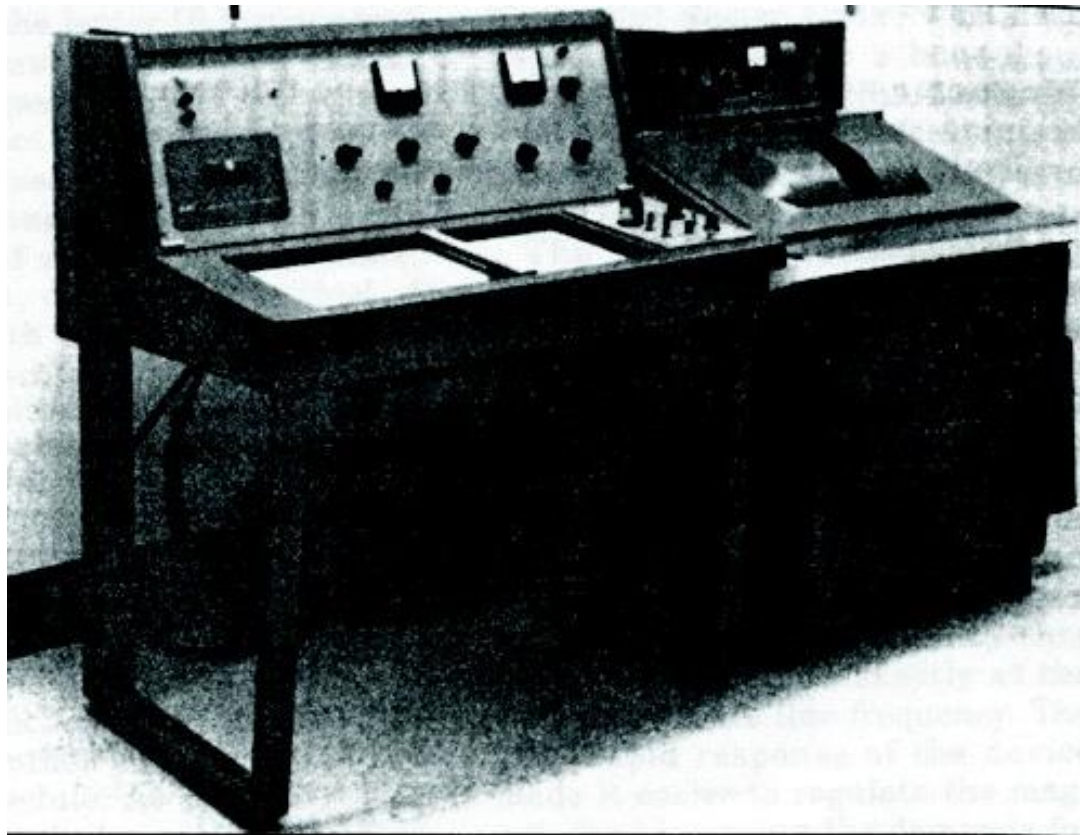


Felix Bloch, premio Nobel per la fisica nel 1952.



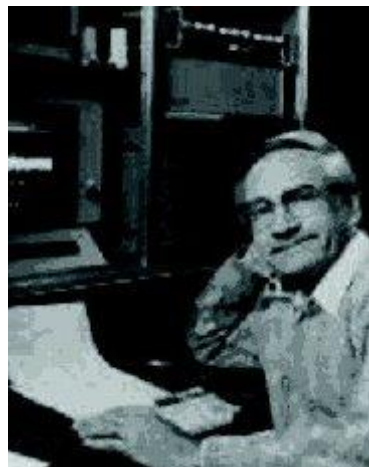
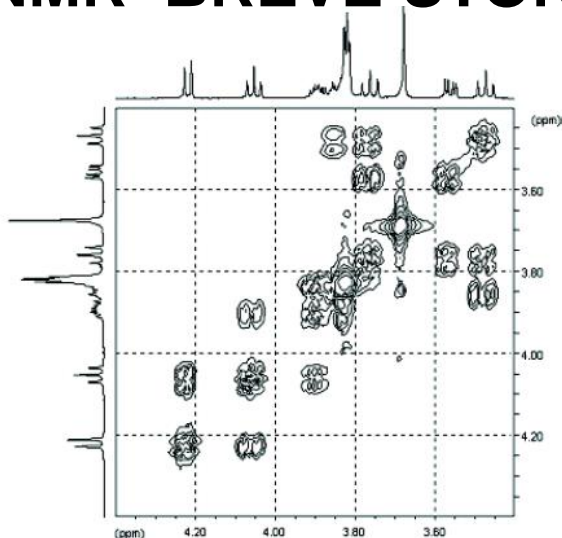
Edward Purcell, premio Nobel per la fisica nel 1952

# NMR BREVE STORIA

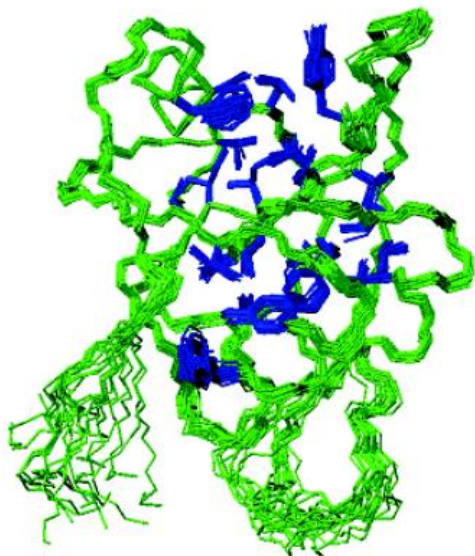


Primo strumento NMR in onda continua commercializzato nel 1961, (Varian A-60).

# NMR BREVE STORIA



Richard R. Ernst, premio Nobel per la chimica nel 1991.



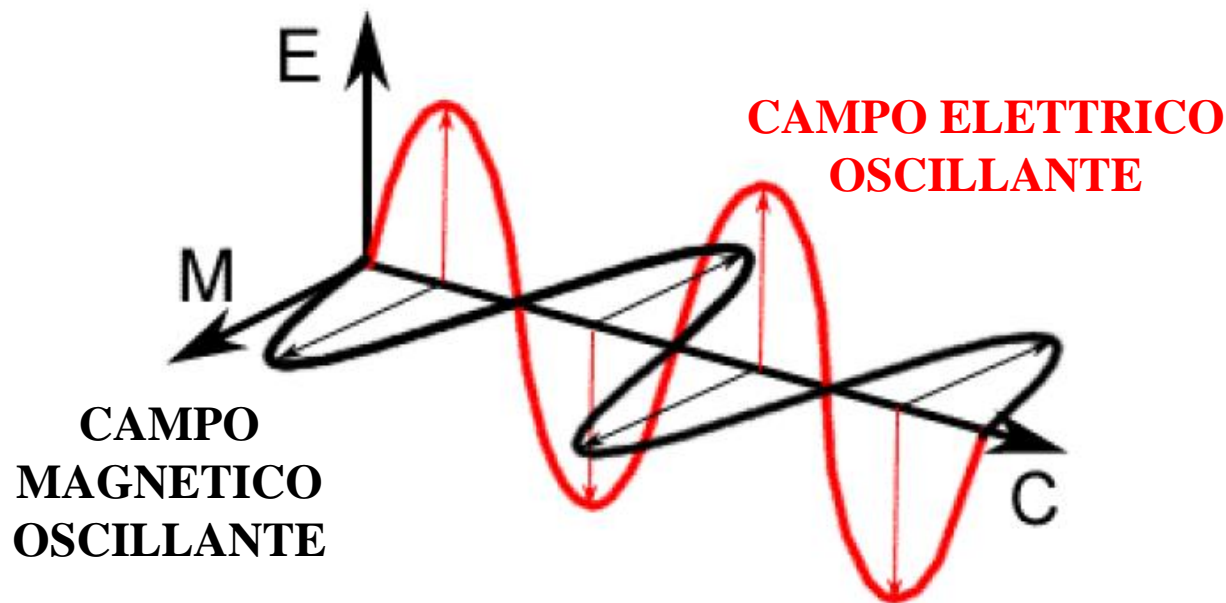
Struttura tridimensionale della proteina TM1290, dell'organismo *Thermotoga maritima*, risolta dal gruppo di Wüthrich (J. Biomol. NMR 29, 403–406 (2004)).



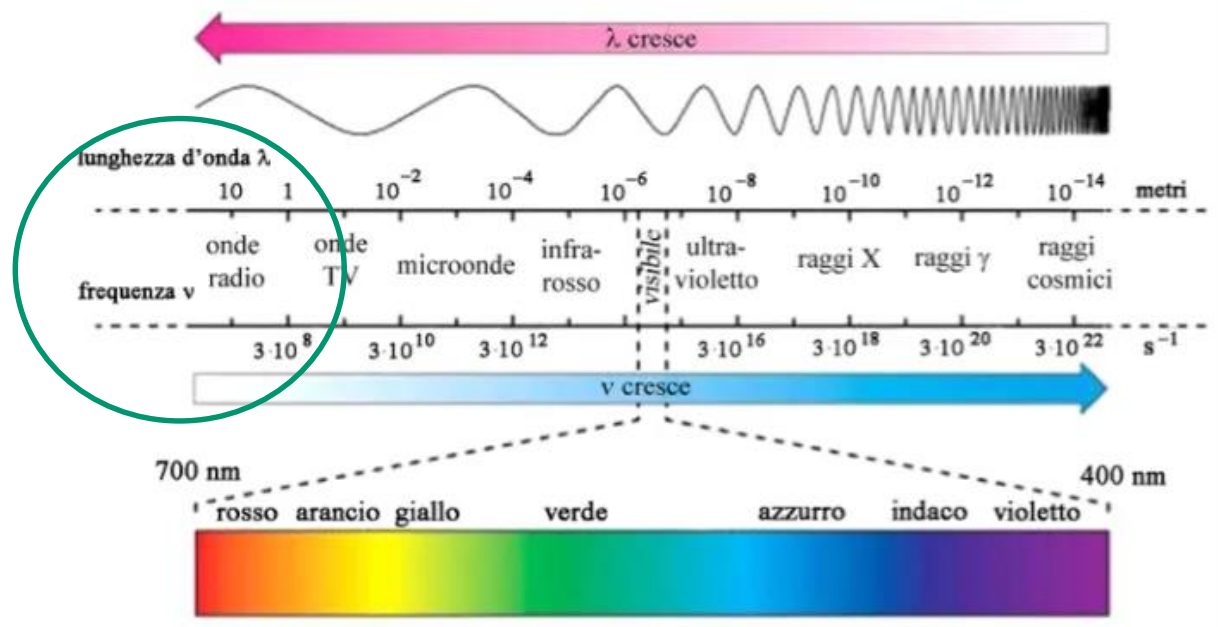
Kurt Wüthrich, premio Nobel per la chimica nel 2002.

# **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  $I = 1/2$

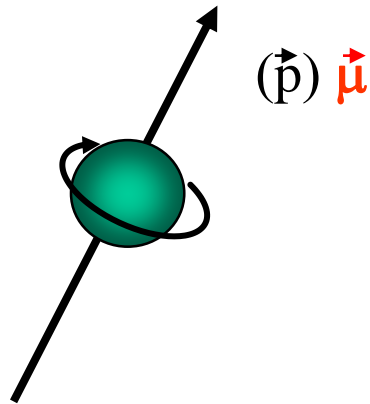
**Nuclei attivi**

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

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

**Nuclei quadrupolari**

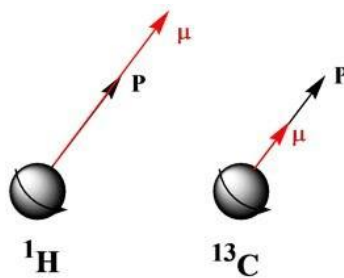
# MOMENTO ANGOLARE E MOMENTO MAGNETICO



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  $6.626 \times 10^{-34}$  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>a)</sup> $Q$ [10 <sup>-30</sup> m <sup>2</sup> ]	Magnetogyric ratio <sup>a)</sup> $\gamma$ [10 <sup>7</sup> 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.

# 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  $B_0$ .

La frequenza di risonanza di un nucleo viene misurata rispetto ad un riferimento. Entrambe queste frequenze sono proporzionali a  $B_0$

# Sensibilità/Recettività

La Sensibilità  $S_x$  di un nuclide X è una misura di quanto sia facile acquisire un segnale NMR di un certo 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

$$R_x = a S_x = a k (\gamma_x)^3 I(I+1)$$

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

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

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

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

$$R_{1H} \sim 6250 R_{13C}$$

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

## Recettività

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

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

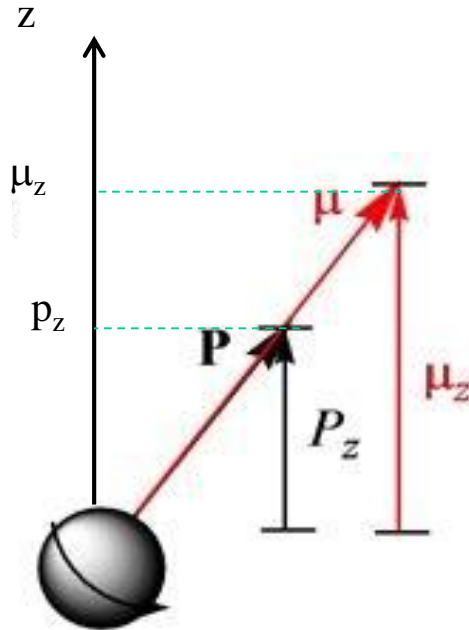
$$R_{1H} \sim 240 R_{15N}$$

Dipende da:

1. Numero quantico di spin
2. Rapporto giromagnetico (cioè dal nuclide)
3. Abbondanza relativa
4. Intensità 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

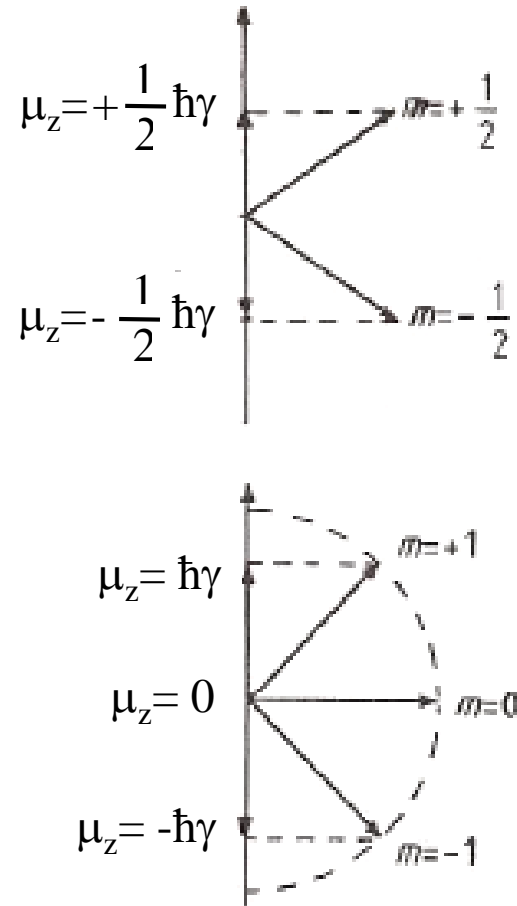
$$I = \frac{1}{2} \quad m_I = -\frac{1}{2} \quad +\frac{1}{2}$$

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

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

$2I + 1$  valori

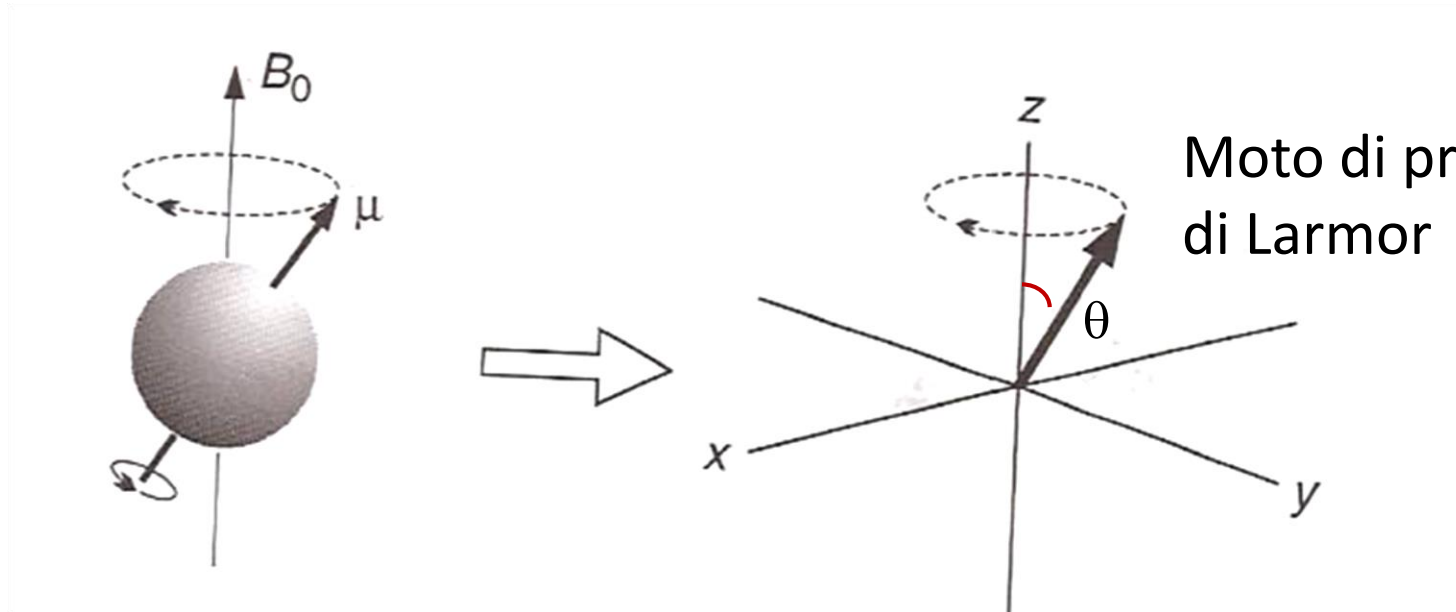
$2I + 1$  orientazioni in un  $B_0$



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



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



Velocità angolare

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

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

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

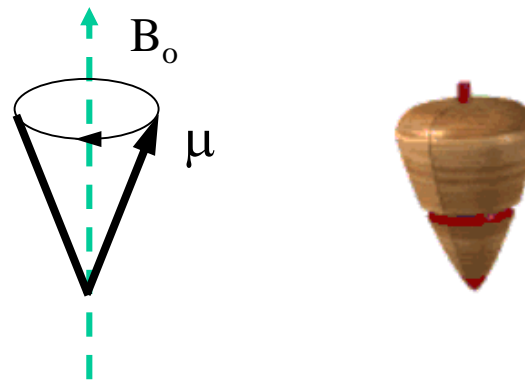
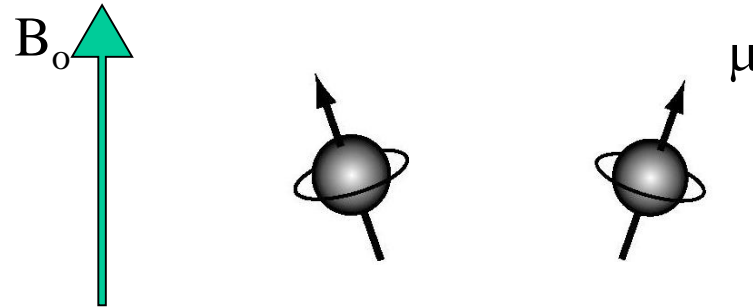
$$\cos\theta = \frac{\mu_z}{\mu} = \frac{\gamma\hbar m_I}{\gamma\hbar \sqrt{I(I+1)}}$$

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

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

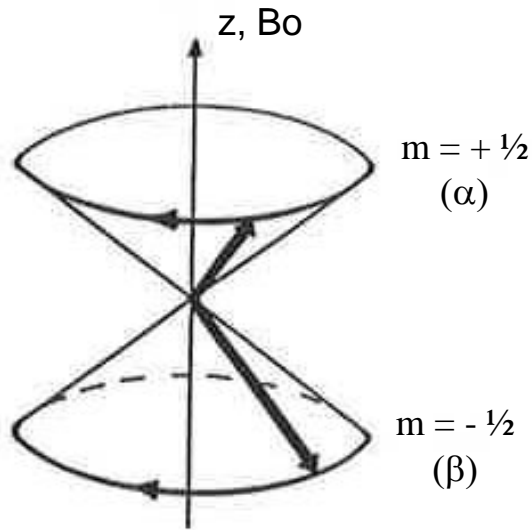
# Precessione del Momento Magnetico attorno alla Direzione del Campo Magnetico

(meccanica classica)



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

# QUANTIZZAZIONE DIREZIONALE E PRECESSIONE 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

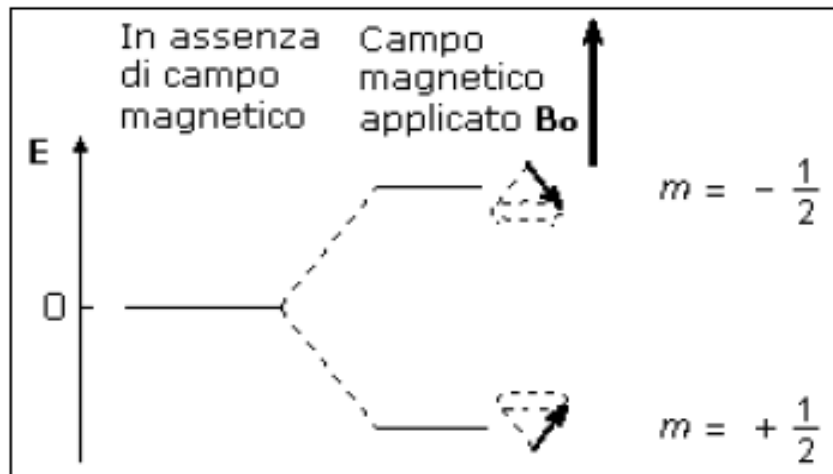
$$E = -\hbar m_l \gamma B_0$$

Energia degli stati di spin

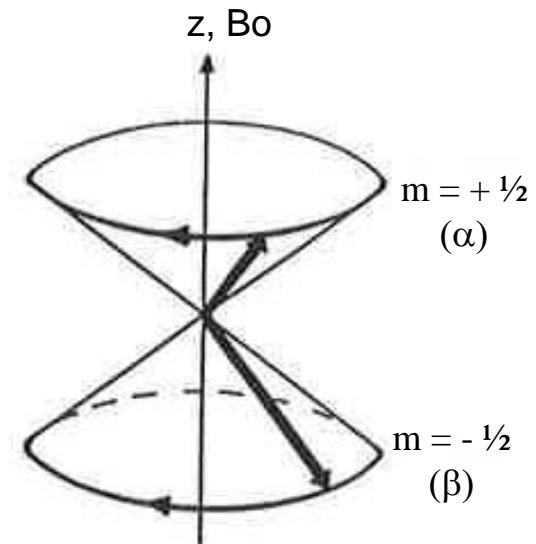
Per  $I = 1/2$ : ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,...) per i quali  $m_l = \pm 1/2$  e  $\gamma > 0$

$m_l = +1/2$  :  $E = -1/2 \gamma \hbar B_0$  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

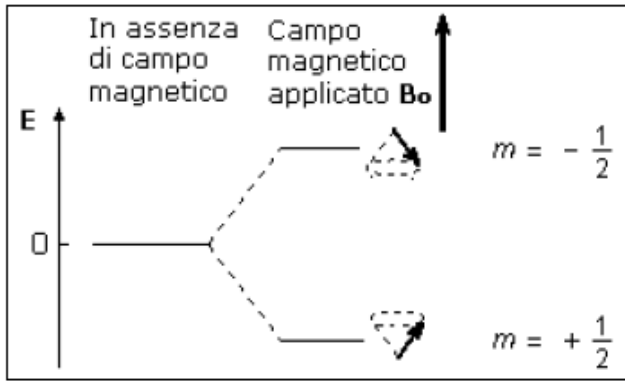


Energie dei dipoli nucleari con  $I = 1/2$



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

# CONDIZIONE DI RISONANZA



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

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

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

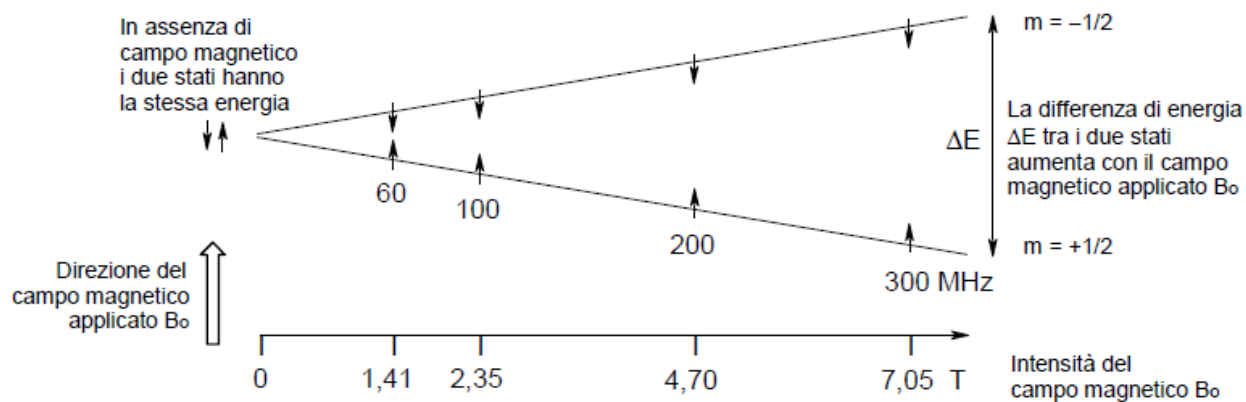
Condizione di risonanza

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  $I = \frac{1}{2}$  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

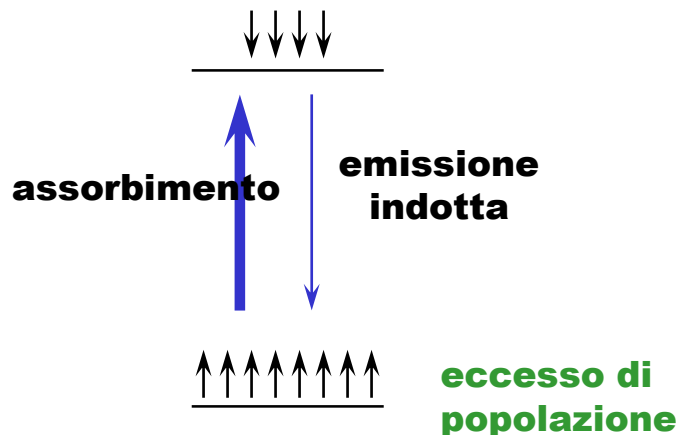
$T$  è la temperatura in Kelvin

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

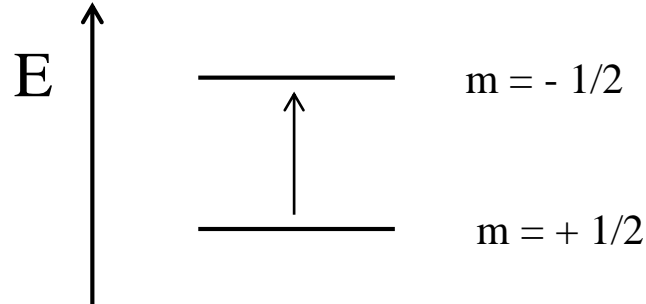
**Saturazione = popolazioni uguali = nessun segnale**



# TRANSIZIONI CONSENTITE

1 nucleo

$I = 1/2$

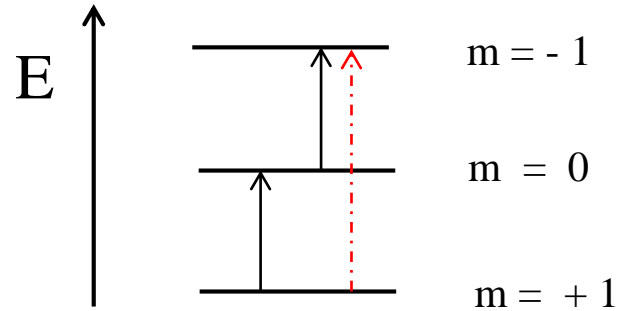


$$\Delta m = \pm 1$$

Transizioni monoquantiche

Permesse dalla quantomeccanica

$I = 1$



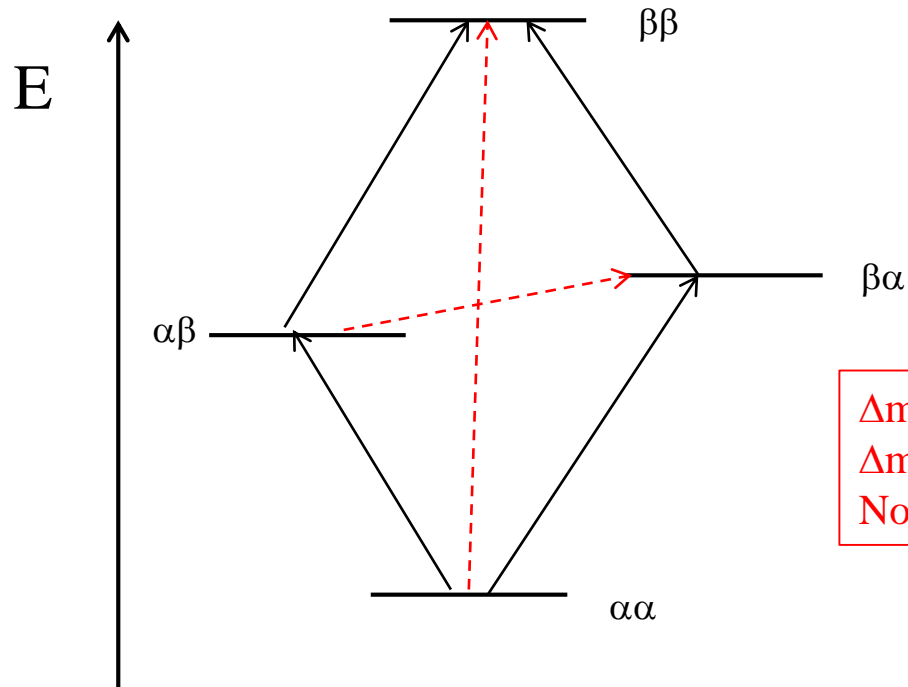
$$\Delta m = 2,$$

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

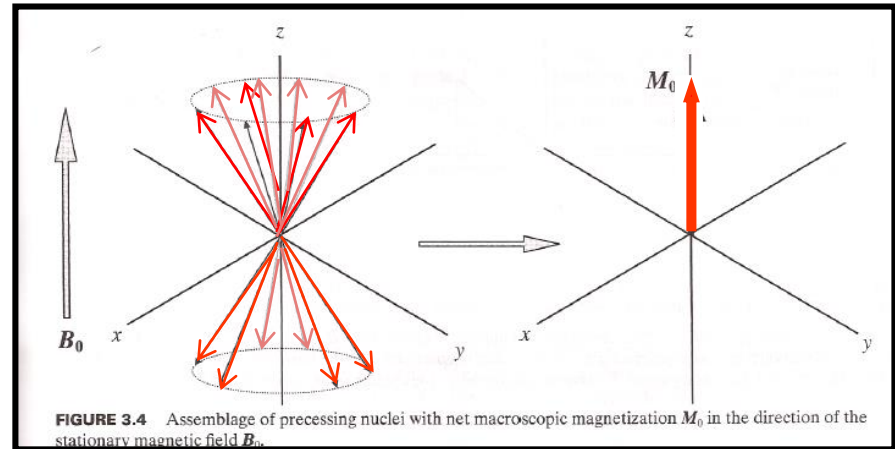
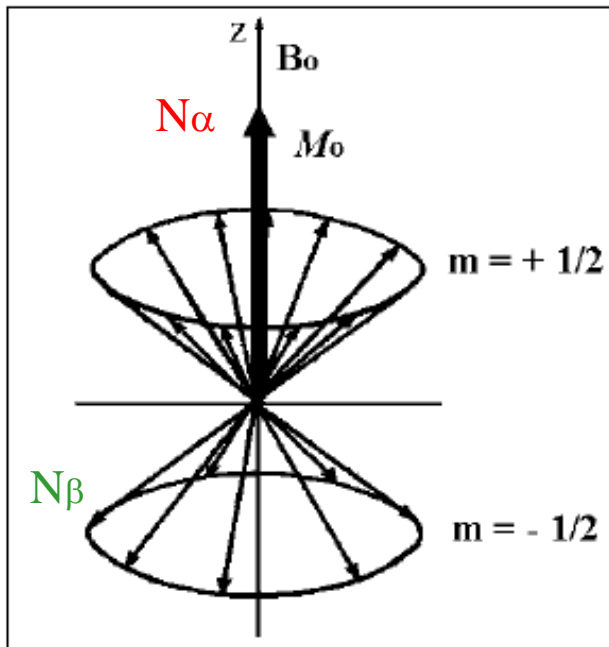
$\Delta m = 2$ , Transizioni doppioquantiche

Non permesse

# RAPPRESENTAZIONE VETTORIALE

## VETTORE MAGNETIZZAZIONE MACROSCOPICA

Insieme di nuclei  $I = \frac{1}{2}$  in un CM esterno  $B_0$

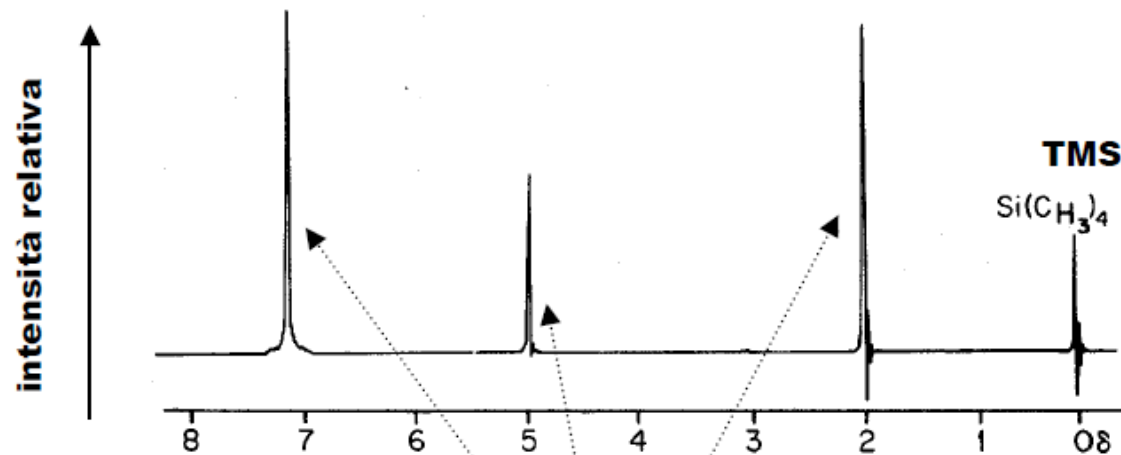


$$N_\alpha > N_\beta$$

# RISONANZA

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

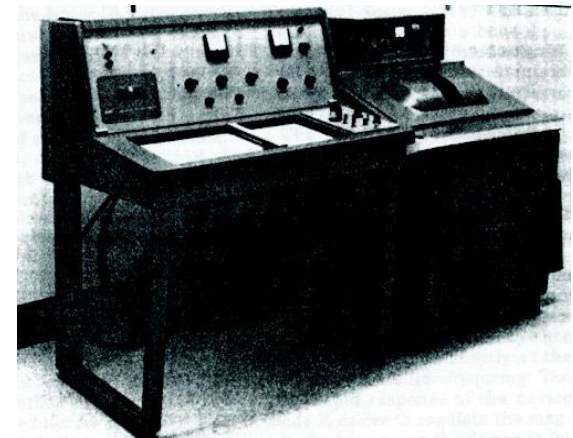
In uno **strumento che opera in “onda continua”** l'emettitore di radiofrequenze varia la frequenza in modo continuo nel corso della scansione; quando la frequenza corrisponde a quella di precessione dei nuclei presenti nella molecola questi vanno in risonanza dando luogo ad un segnale che viene registrato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



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

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

Condizione  
di risonanza



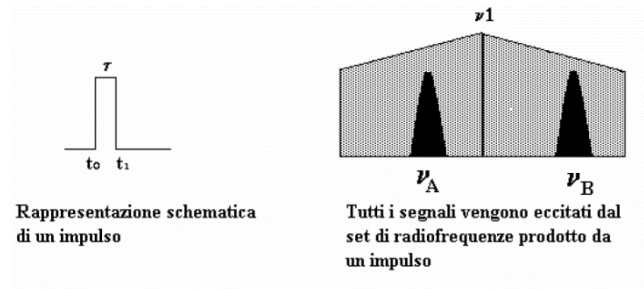
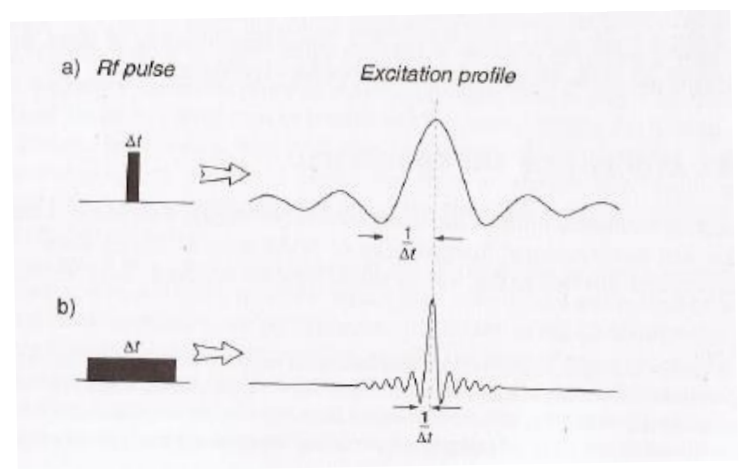
# METODO PULSATO IN TRASFORMATA DI FOURIER

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 elevata potenza (alcuni watt) lungo l'asse x (perpendicolarmente a B0).

$\nu_1$  dipende da B0.  
 Es.: B0 = 9,40 T ->  $\nu_1$  = 400MHz

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

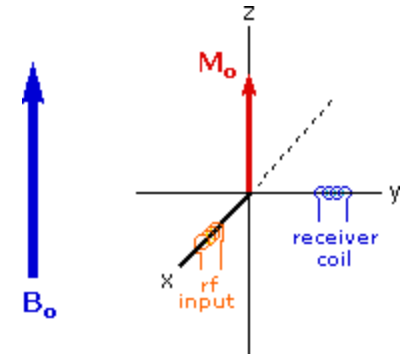
$$\Delta E \times \Delta t \approx \frac{h}{2\pi} \quad \text{ma } \Delta E = h\Delta\nu \quad \text{allora } \overbrace{\Delta\nu \times \Delta t}^{\text{questo prodotto è costante!}} \approx \frac{1}{2\pi}$$



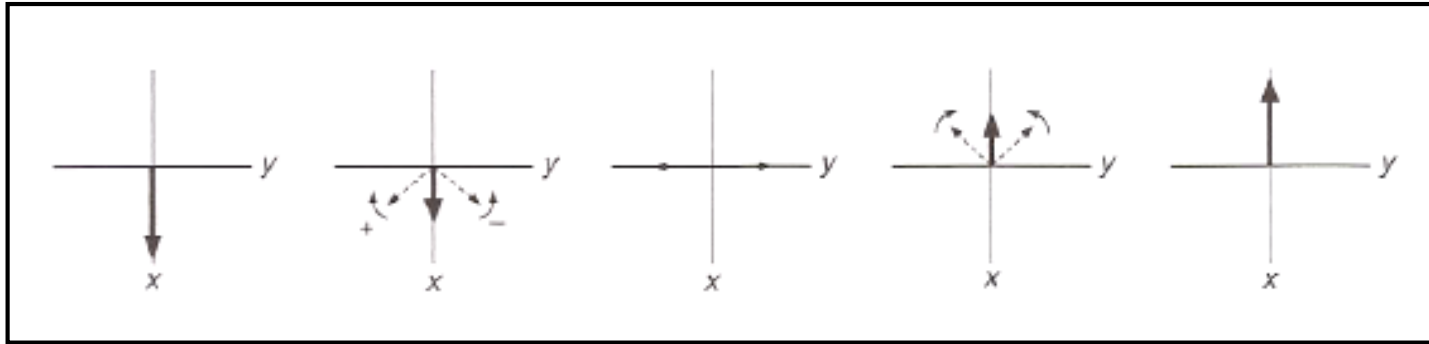
$\nu_1$  frequenza dell'impulso

# 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  $B_0$ )

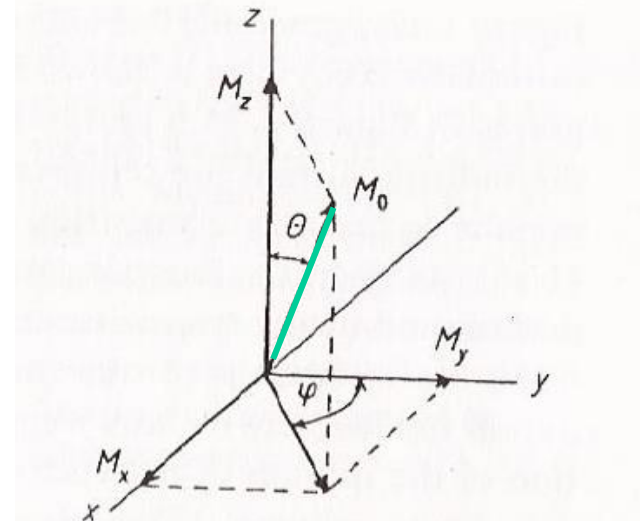
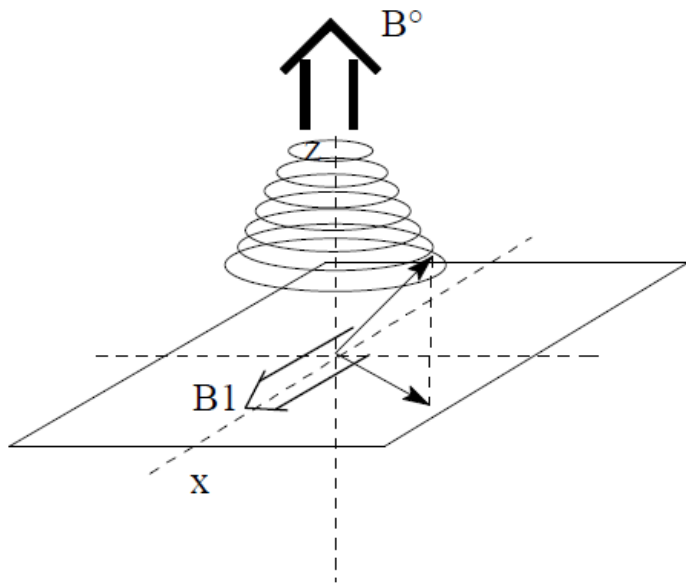
$B_1$  è un campo alternante lungo  $x$  ed è rappresentato come due vettori dello stesso modulo  $B_1$  che ruotano nel piano  $xy$  con frequenza  $\nu_1$  ( $= \nu_0$ ) ma in direzioni opposte

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

$$\nu_1 = \nu_0$$

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

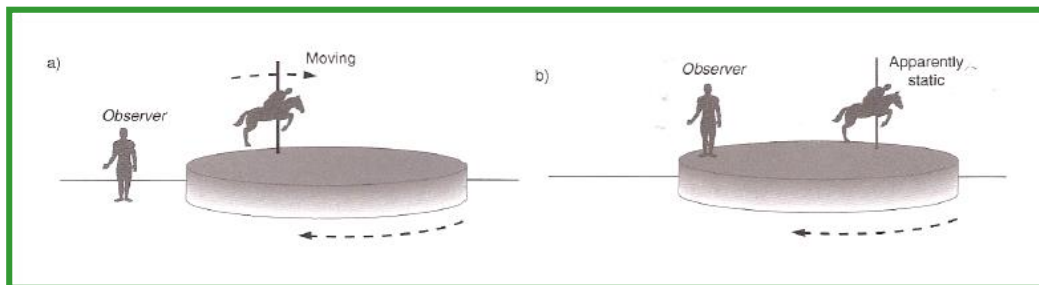
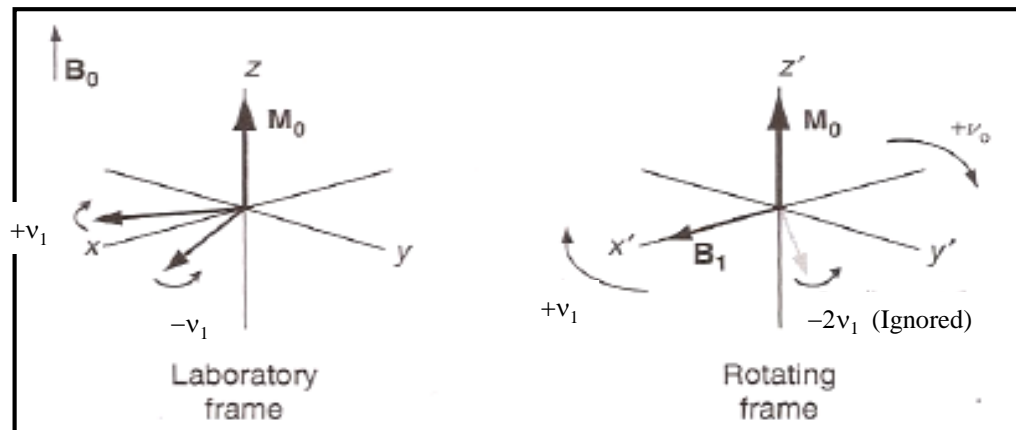
- Viene applicato l'impulso di frequenza  $\nu_1$  lungo l'asse  $x$  che eccita tutti i nuclei del campione
- La magnetizzazione risente di un campo aggiuntivo  $B_1$  perpendicolare a  $B_0$ , di frequenza incidente  $\nu_1$
- Requisito geometrico: il generatore di  $B_1$  deve essere su un piano perpendicolare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

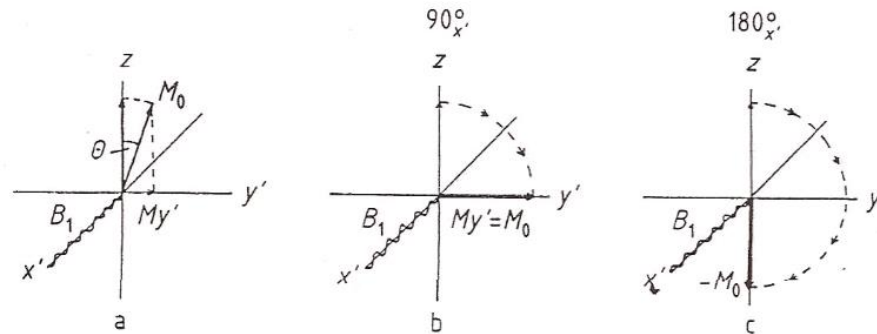
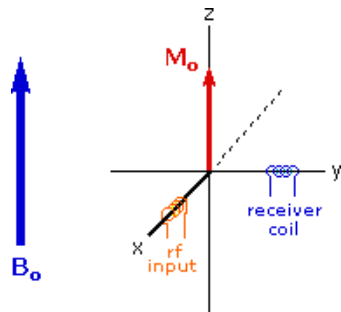


Nel sistema di assi rotanti:

- $z=z'$ ;  $x'y'$  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



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

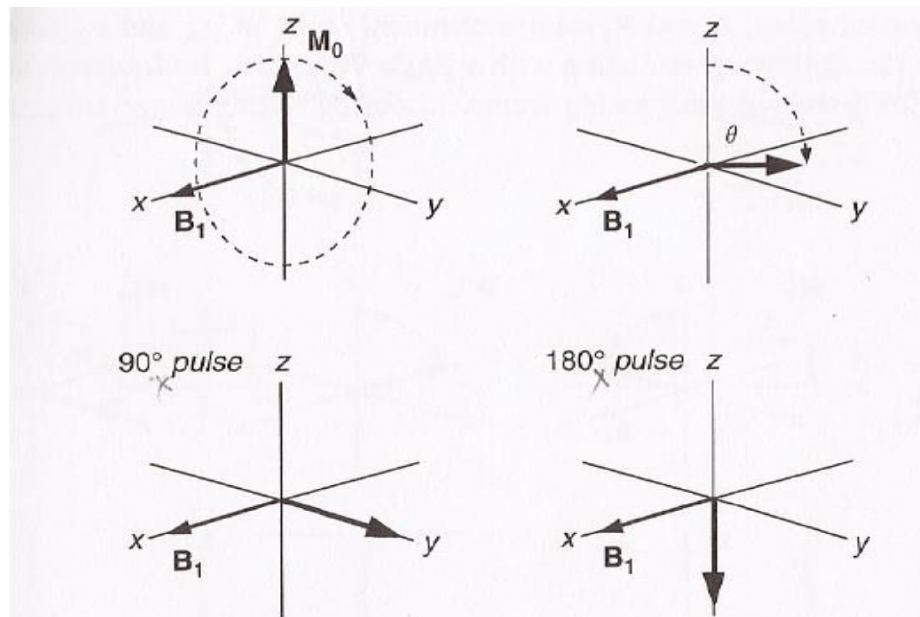


$M_0$  risente solo di  $B_1$  e ruota verso  $y'$  nel piano  $y'z'$ .

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

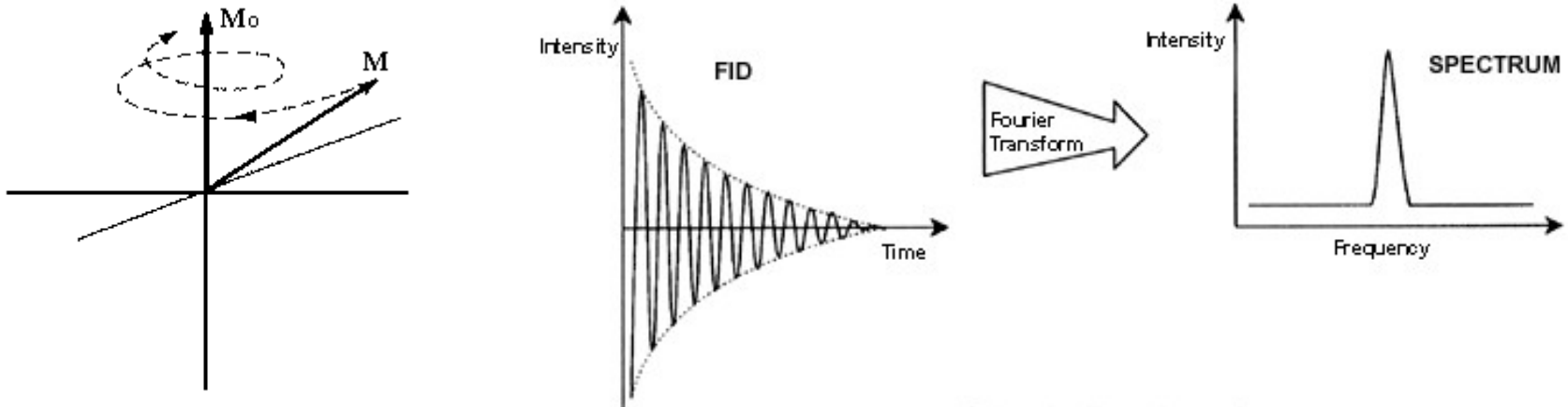
$$\Theta = \gamma \tau_p B_1$$

Angolo di nutazione



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

- Rilassamento con emissione del FID
- Trasformata di Fourier



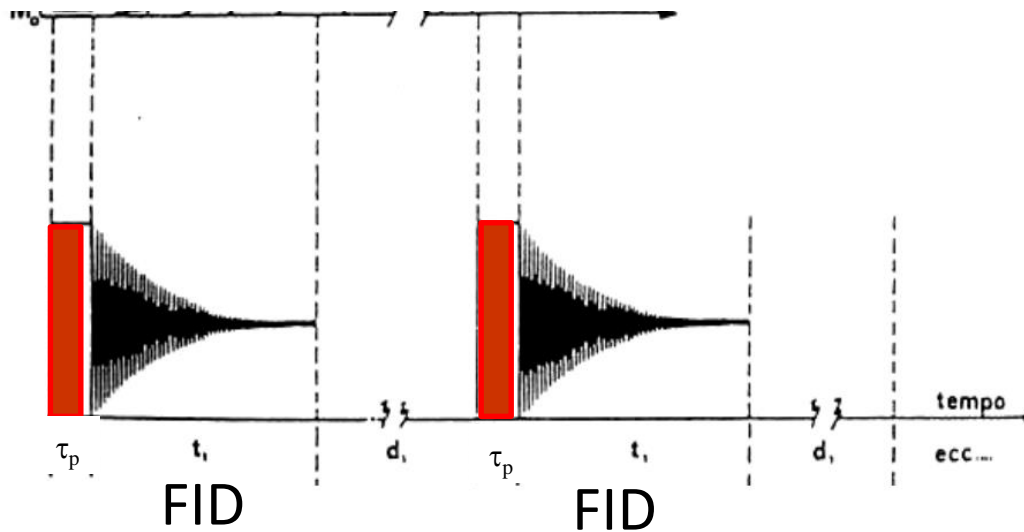
## RILASSAMENTO

Rilassamento = Ripristino delle condizioni di equilibrio

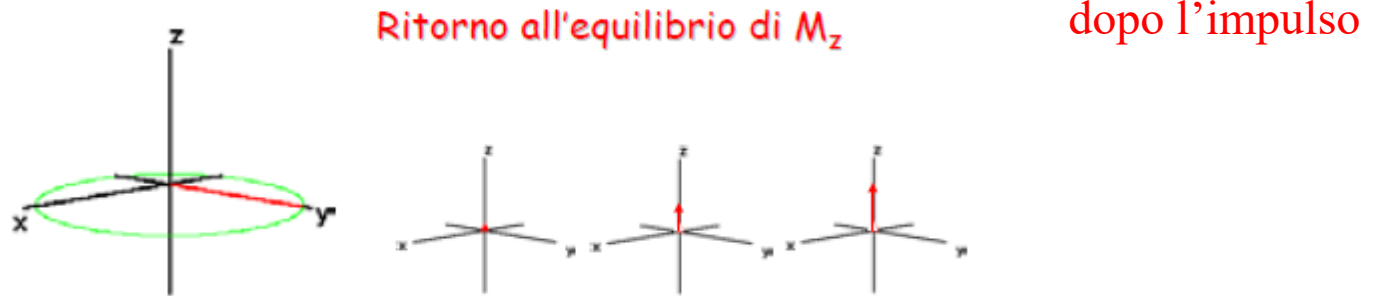
# METODO PULSATO

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



# RILASSAMENTO longitudinale



**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**

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

$$M_0 = M_z \text{ al tempo } 0$$

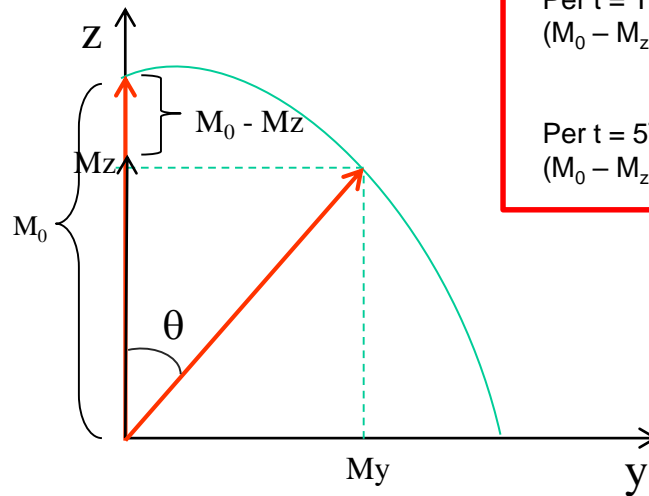
**$T_1$  costante di tempo del rilassamento longitudinale**

**$T_1^{-1}$  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  $z$

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



Per  $t = T_1$

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

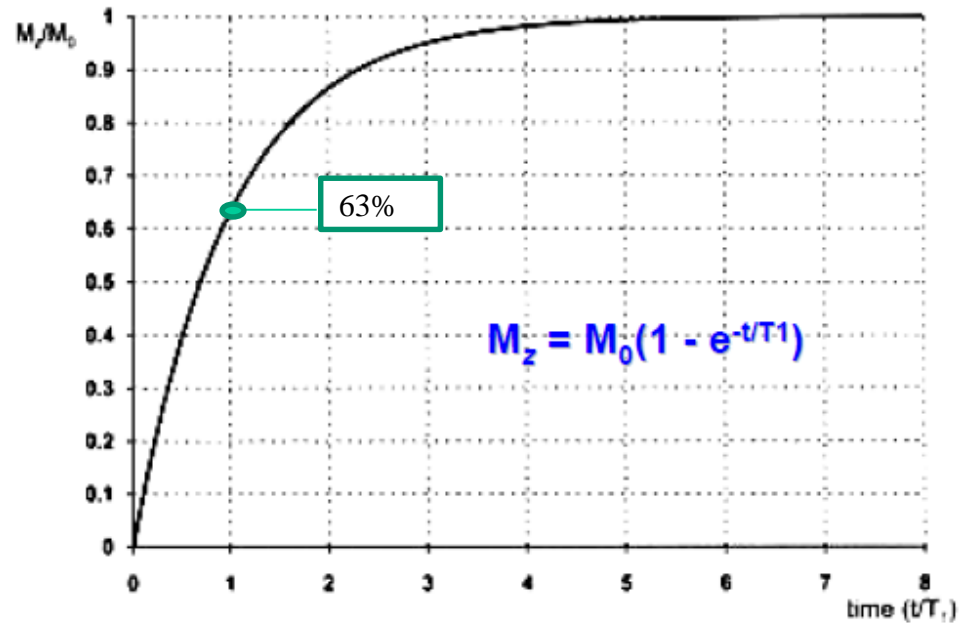
Per  $t = 5T_1$

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

$T_1$  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.**

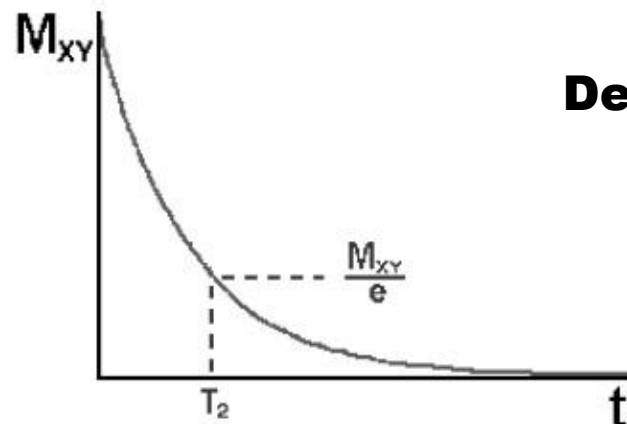
**E' un fenomeno che avviene con decadimento esponenziale descritto dall'equazione di Bloch, e caratterizzato dalla costante di tempo  $T_2$**

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

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 (T2)

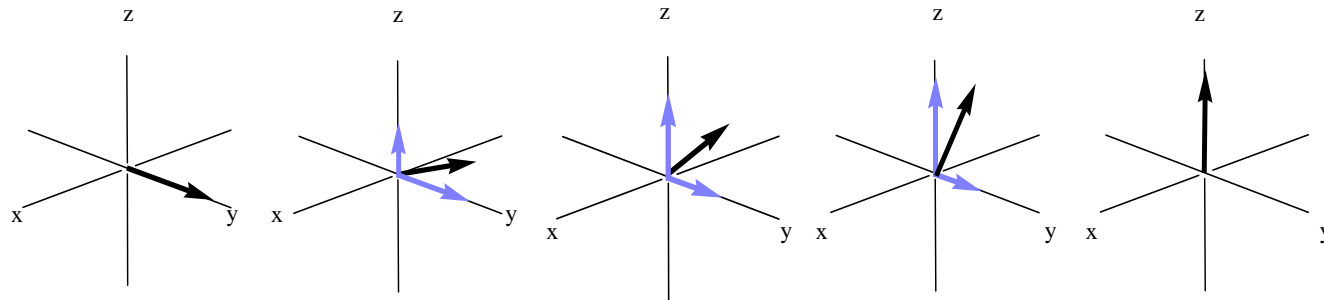
$$M_{y(t)} = M_{y_0} (\exp(-t/T_2))$$

$$t = T_2$$

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

$$t = 5T_2$$

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



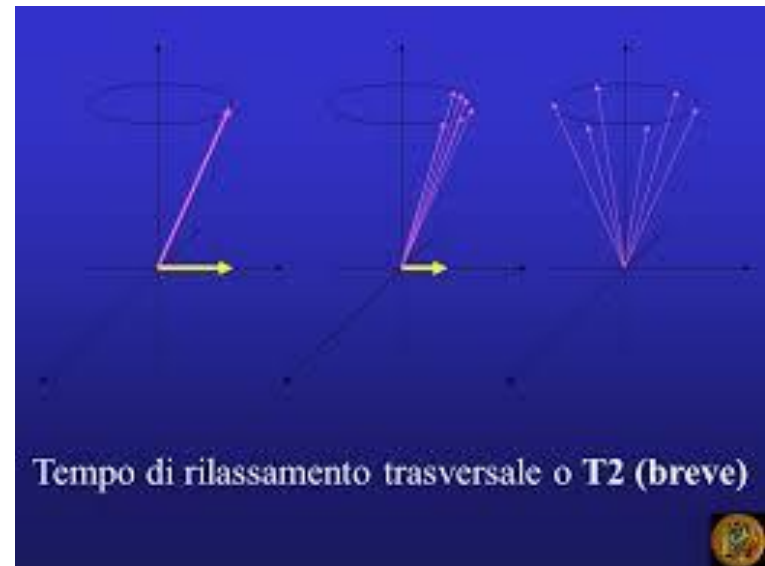
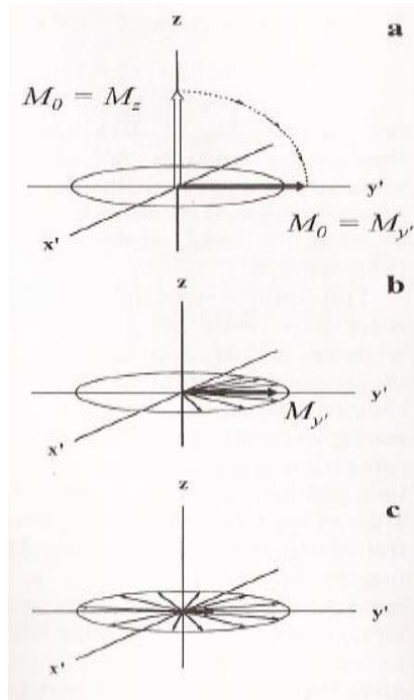


# RILASSAMENTO TRASVERSALE

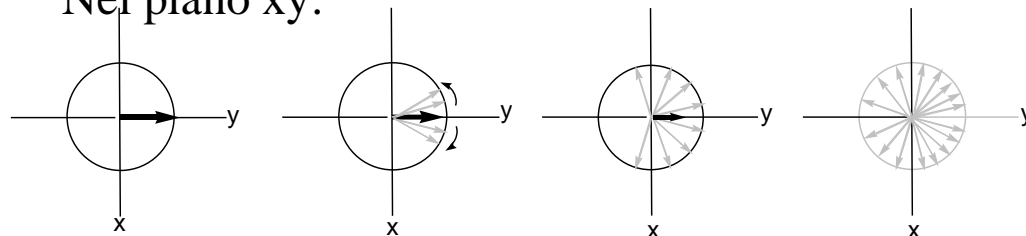
La componente trasversale  $M_{xy}$  della magnetizzazione torna a zero attraverso defasamento dei dipoli individuali che compongono  $M_0$

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 ( $T_2$ )
- Le disomogeneità di campo

**Per cui si definisce un tempo effettivo  $T_2^*$  tale per cui:**

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

Processi spin-spin      Inomogeneità di campo

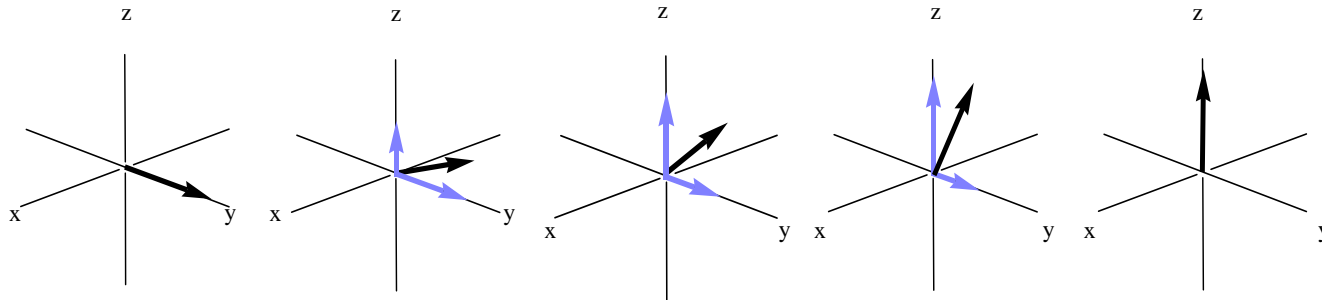
Velocità effettiva di  
rilassamento longitudinale

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

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

## 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 (T1) contribuisce a quello trasversale (T2)

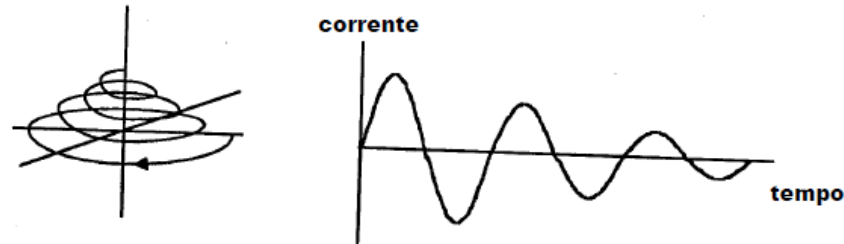
Il rilassamento trasversale sente tutti i contributi di quello longitudinale più qualche altro contributo che lo rende più veloce, il più importante è quello dovuto alla disomogeneità di campo

Per cui:

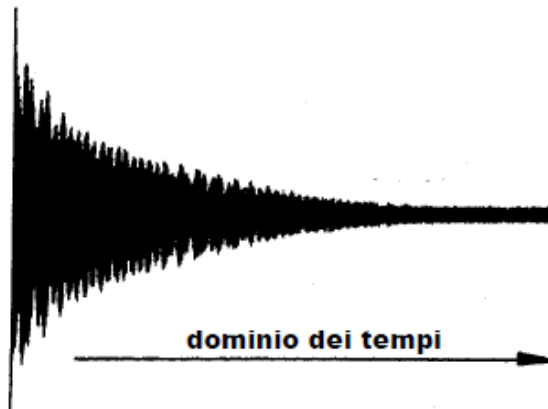
$T1 \geq T2$  e corrispondentemente  $1/T1 \leq 1/T2$  o  $R1 \leq R2$  (velocità di rilassamento)

# DECADIMENTO ESPONENZIALE della magnetizzazione trasversale

Ricapitoliamo cosa succede in un esperimento ad impulsi

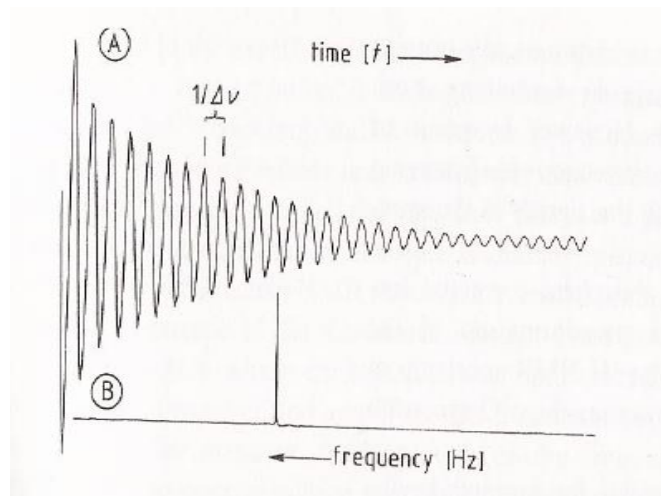


Il segnale emesso dagli spin nucleari è rilevato dal receiver come una corrente time-dependent, combinazione di un decadimento (rilassamento trasversale) e di un moto sinusoidale (moto della magnetizzazione)

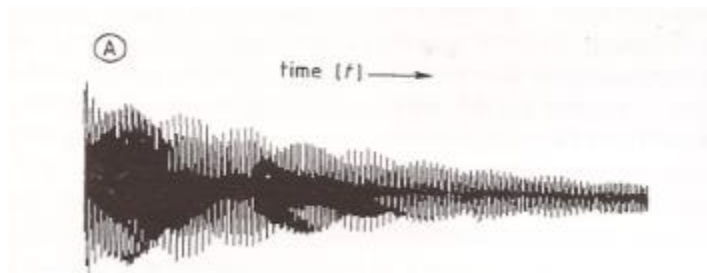


ma tutti i nuclei sono in risonanza  
quindi avremo una serie di correnti  
oscillanti che decadono nel tempo;  
il FID a fianco contiene tutte le  
informazioni relative alle frequenze  
di risonanza dei nuclei...  
basta eseguire la Trasformata di  
Fourier

# FID = Free Induction Decay



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



FID qualsiasi

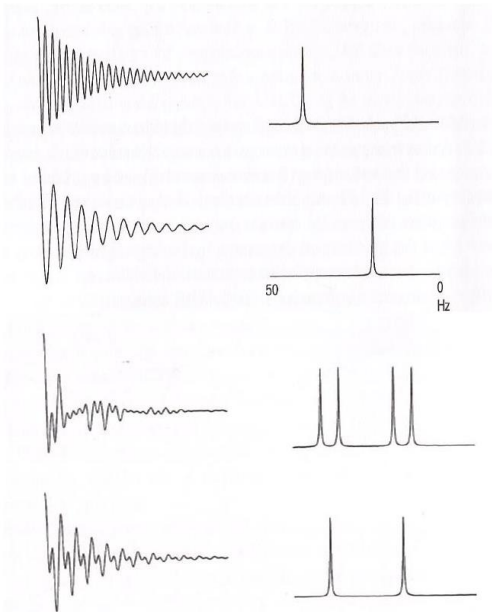
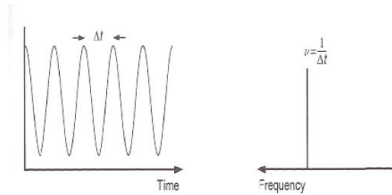
# LA TRASFORMATTA DI FOURIER

## FT

Relazione fra t e  $\nu$

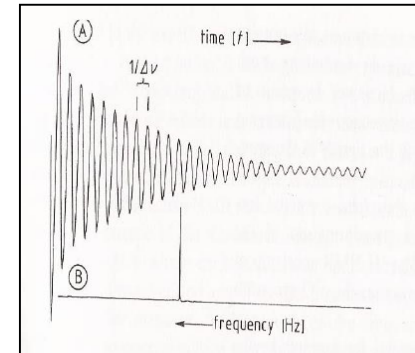
$$F(\nu) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{i\nu t} dt$$

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

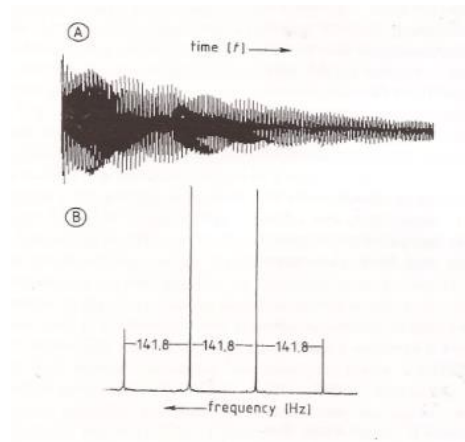


**tempo**

**frequenza**



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

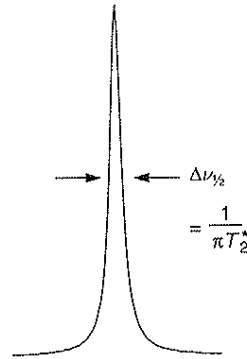


**$^{13}\text{C}$  del  $\text{CH}_3\text{OH}$   
(accoppiato)**

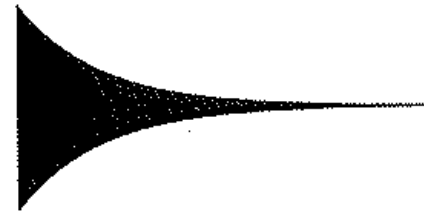
# LINESHAPE

Dopo la FT

**Lorenziana**



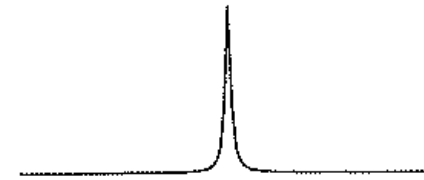
**Larghezza a mezza altezza**



Lorenziana



Short  $T_2^*$   
fast relaxation

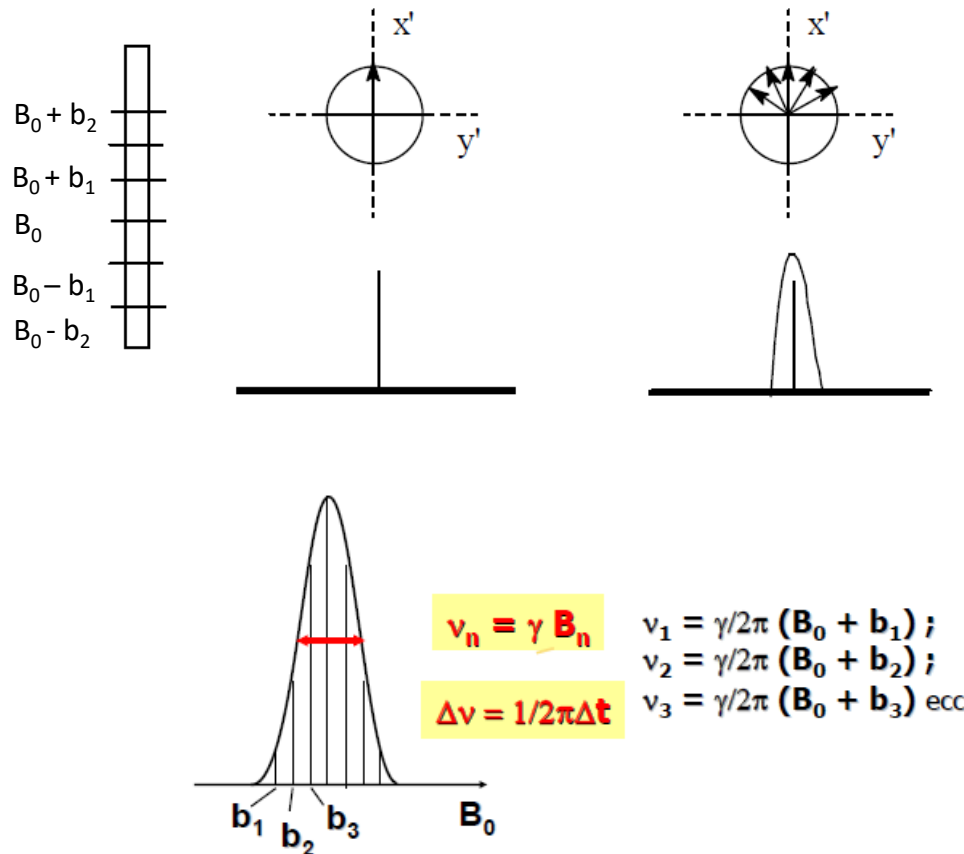


Long  $T_2^*$   
slow relaxation

# TRASFORMATA DI FOURIER - LINESHAPE

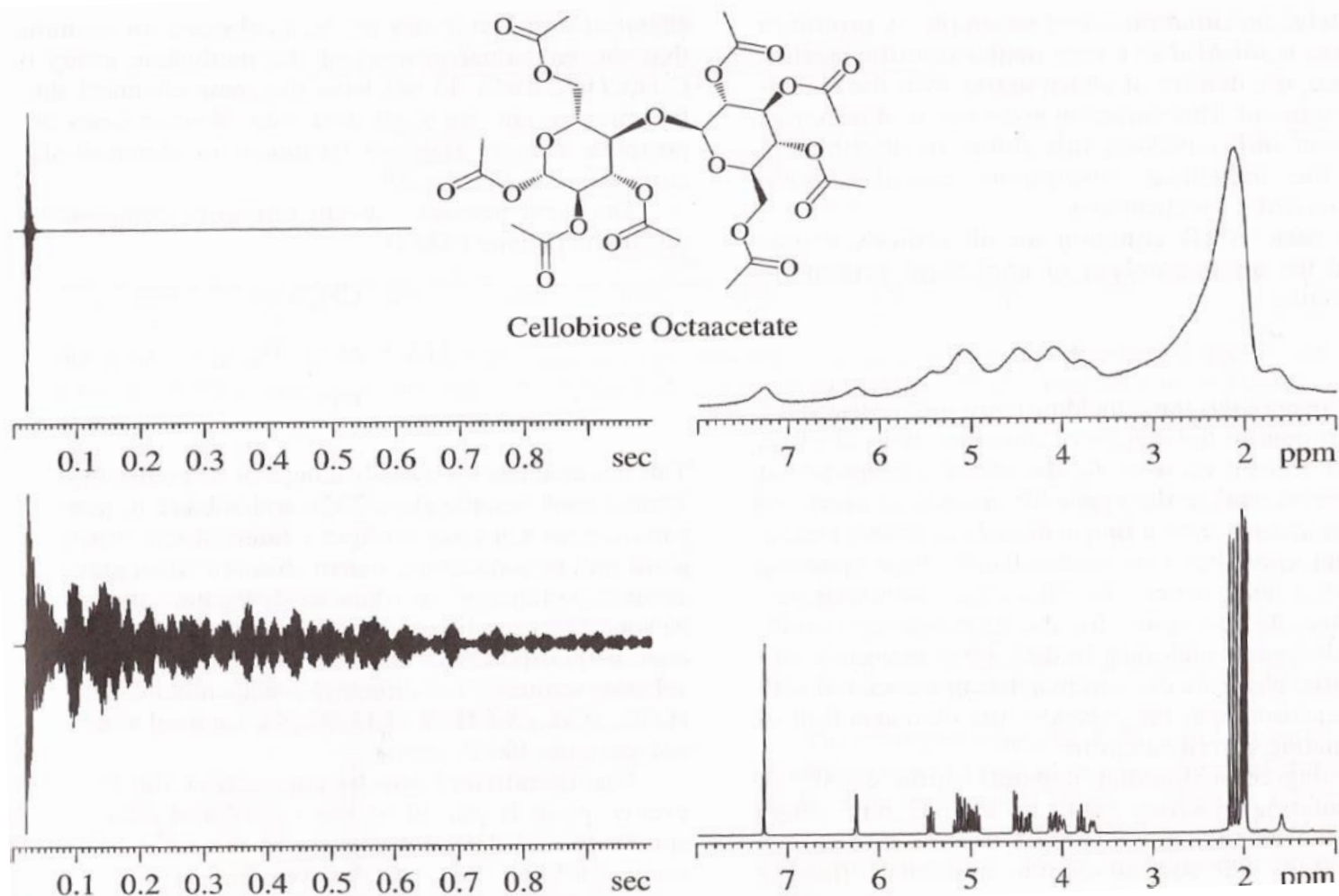
Nei liquidi la disomogeneità del campo magnetico è il fattore più importante per la dipendenza della magnetizzazione dal tempo.

Immaginiamo di suddividere il campione in piccole regioni, piccole a sufficienza da garantire una omogeneità locale del campo magnetico.  $M_{x,y}$  è data dalla somma della magnetizzazione di ciascuna regione. Assumendo che non può esservi perfetta omogeneità tra diverse regioni, ciascuna regione contribuirà alla magnetizzazione con una riga (isometrica) ad una precisa frequenza, differente da regione a regione.





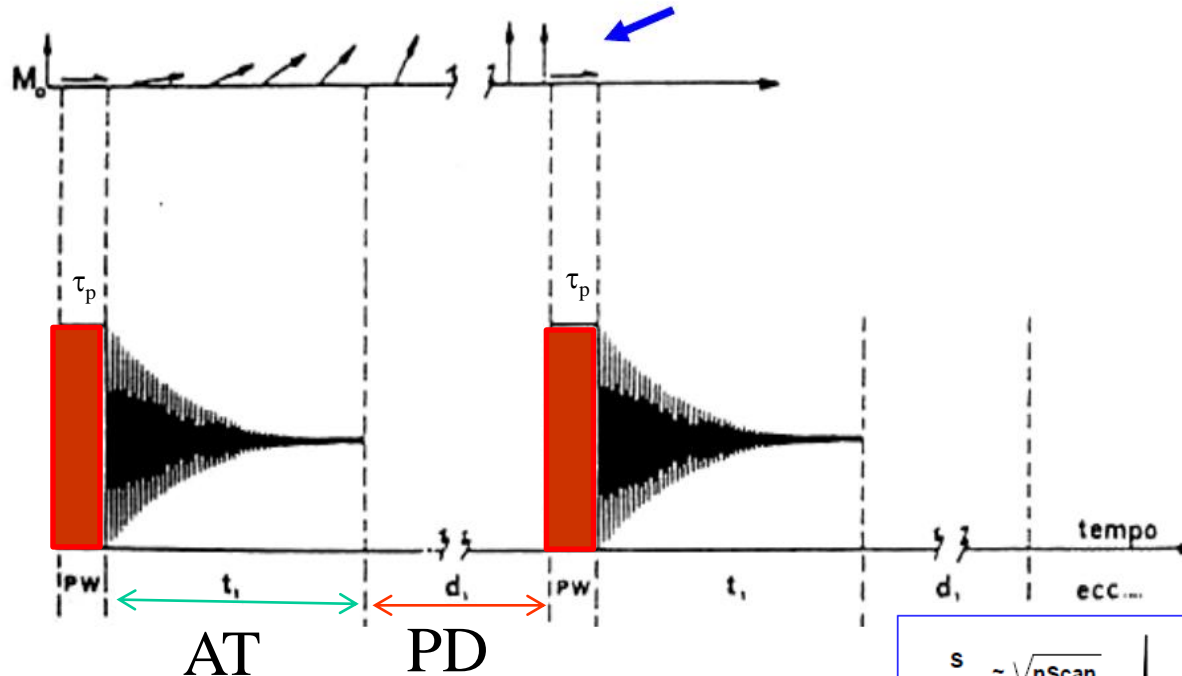
## Relazione fra $T_2^*$ e larghezza di riga



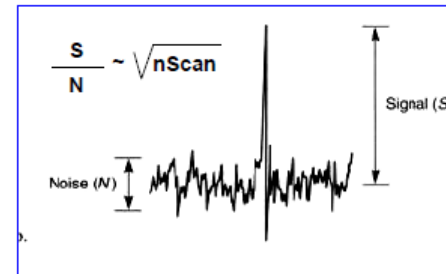
Effetto della presenza di particelle ferromagnetiche (che accelerano il decadimento) sulla risoluzione dello spettro

# METODO PULSATO – ACCUMULI (SCANSIONI)

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

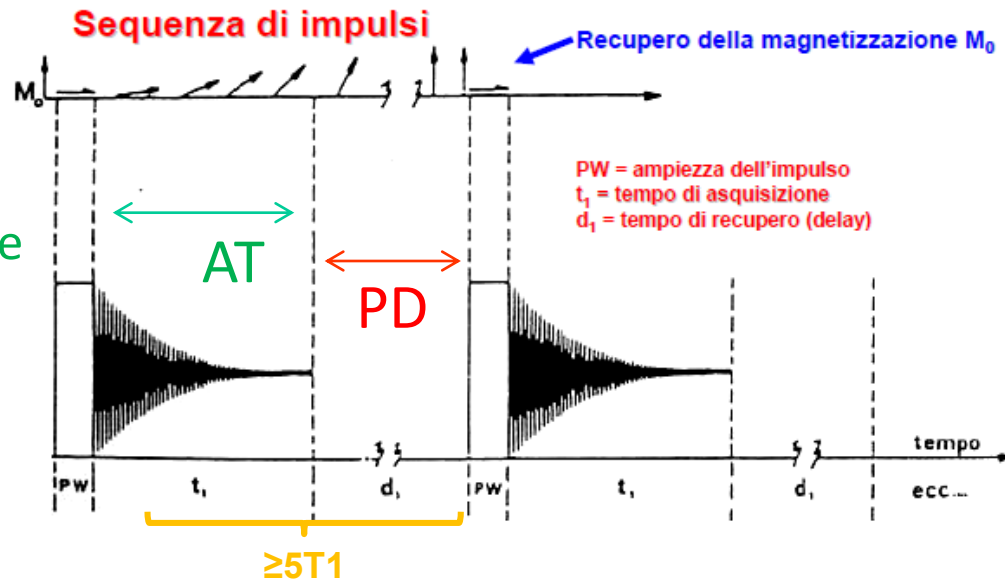


AT Acquisition Time  
PD Pulse Delay

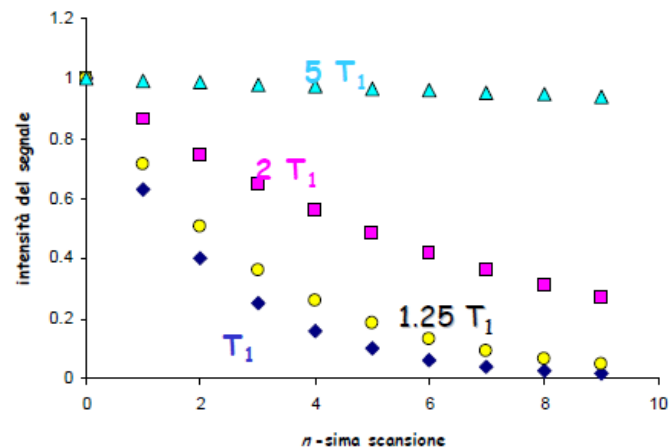


L'accumulo di molti FID consente di migliorare il rapporto S/N. Il rapporto S/N aumenta proporzionalmente alla radice quadrata del numero di scansioni

# 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:**

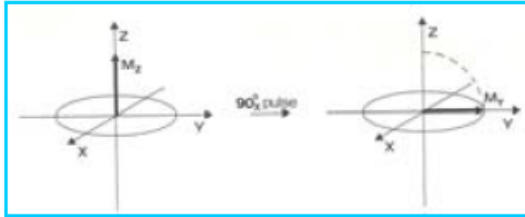
- INTEGRAZIONE**
- LA CALIBRAZIONE DELL'IMPULSO**
- L'IMPOSTAZIONE DEI PARAMETRI  
DELL'ESPERIMENTO**

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

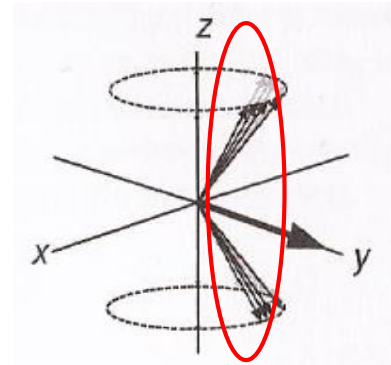
- INFLUENZA LA RISOLUZIONE  
(LARGHEZZA DELLA RIGA)**

# EFFETTO DEGLI IMPULSI SULLA MAGNETIZZAZIONE

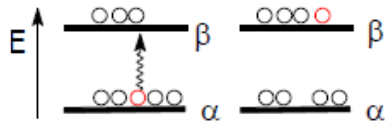
## EFFETTO DELL'IMPULSO A 90°



$$M_z \rightarrow M_y (M_{xy})$$



**Spin in COERENZA DI FASE**



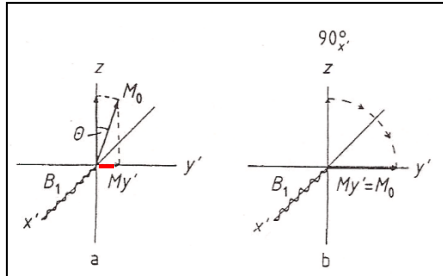
A seguito dell'impulso a 90° gli spin individuali si raccolgono lungo l'asse y e precedono in fase, creando magnetizzazione sul piano xy, che viene rilevata come segnale dal ricevitore. ( $M_z$  diventa nulla perché le popolazioni si uguagliano **ma non è saturazione!**)

La coerenza poi si disperde nel rilassamento con i meccanismi visti

## EFFETTO DELL'IMPULSO A 180°

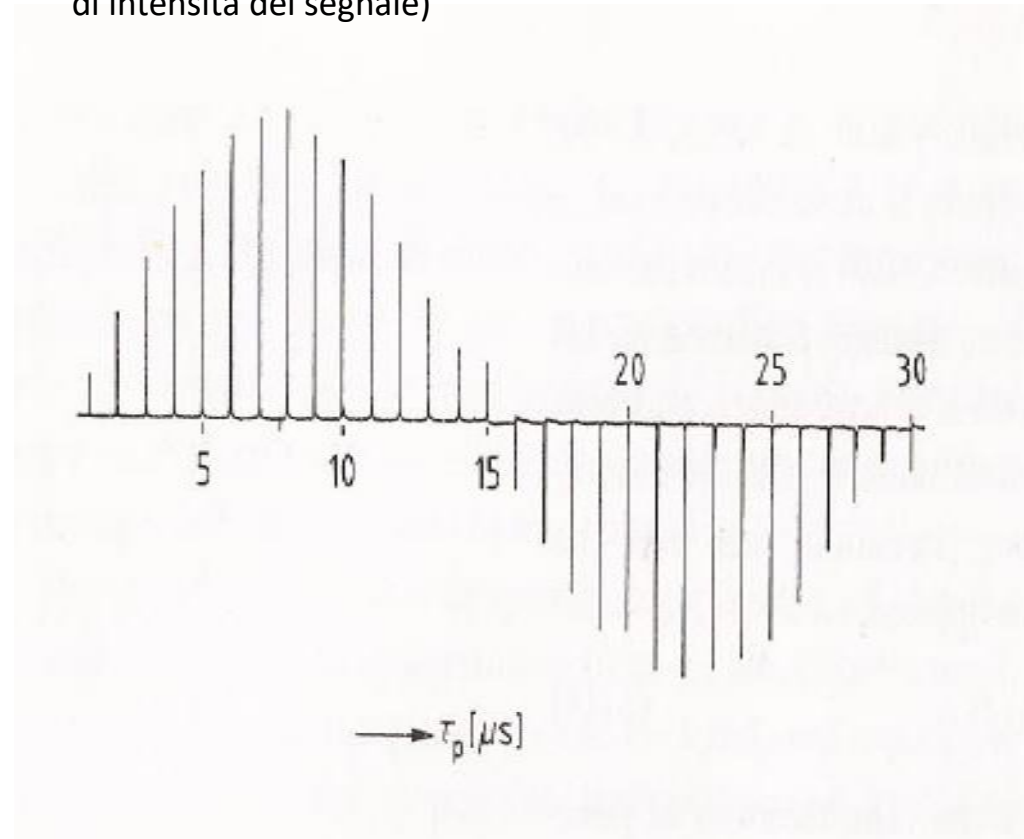
A seguito dell'impulso a 180° si invertono le popolazioni degli stati  $\alpha$  e  $\beta$ .  $M_z$  è nulla e non c'è segnale che arriva al receiver

# CALIBRAZIONE DELL'IMPULSO A 90°



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

$$\theta = \gamma \tau_p B_1$$



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  $\mu s$ .

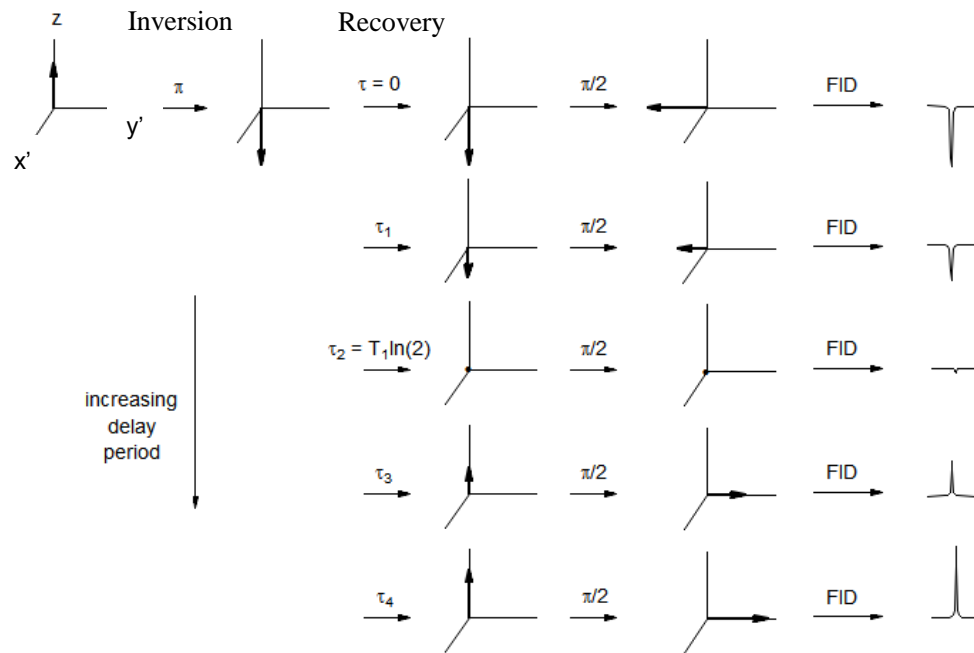
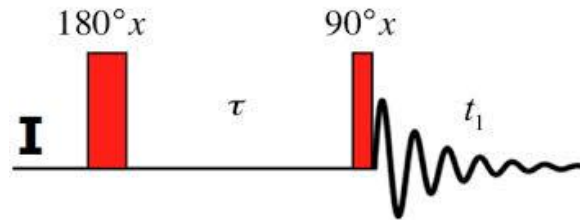
Il massimo dell'ampiezza del segnale è ottenuto con un impulso a 90° lungo  $x$  (circa 8  $\mu s$ )

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

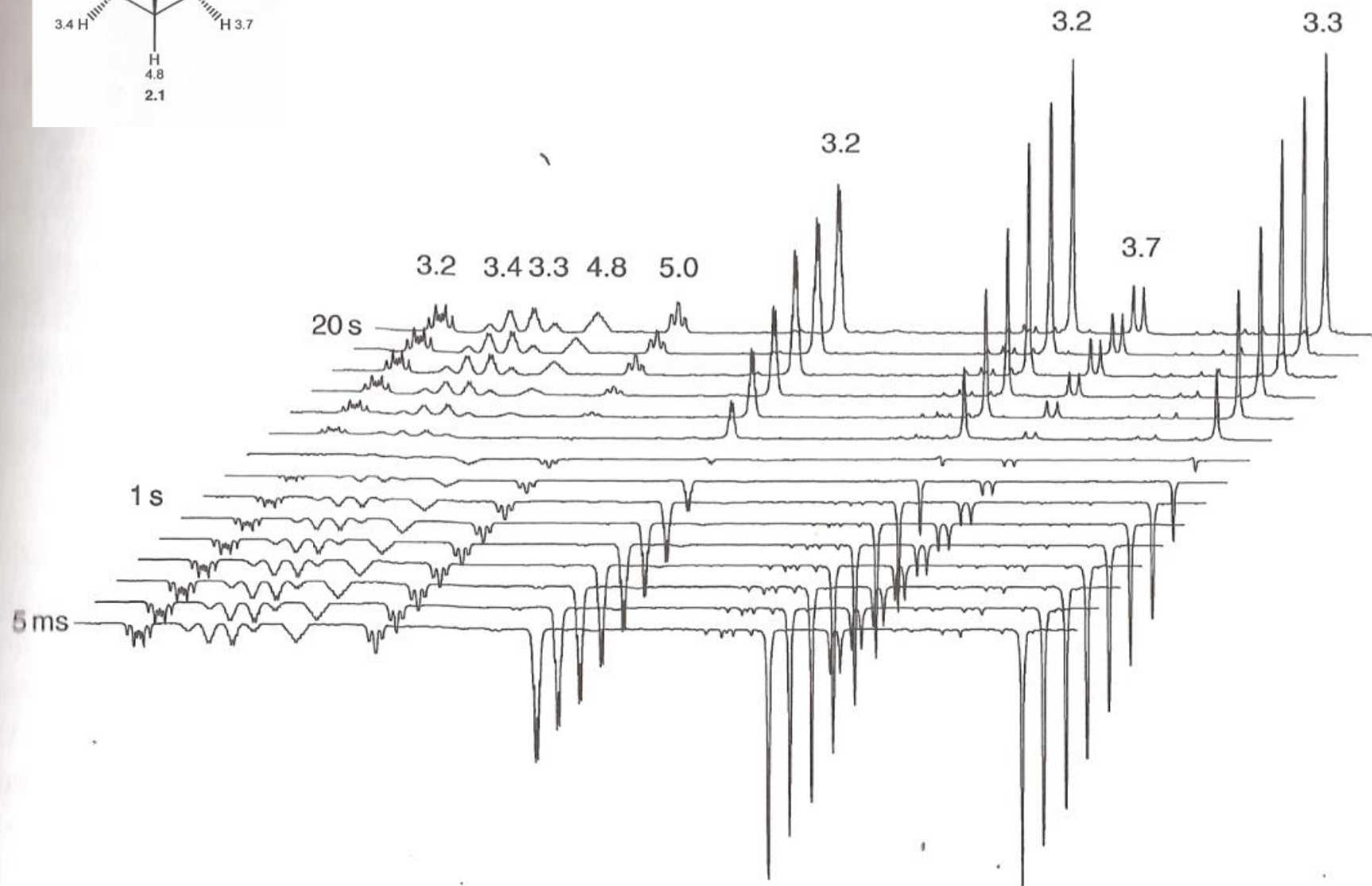
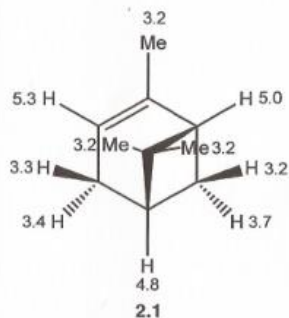
per impulsi più lunghi il segnale diviene negativo

# MISURA DI $T_1$

## INVERSION RECOVERY EXPERIMENT

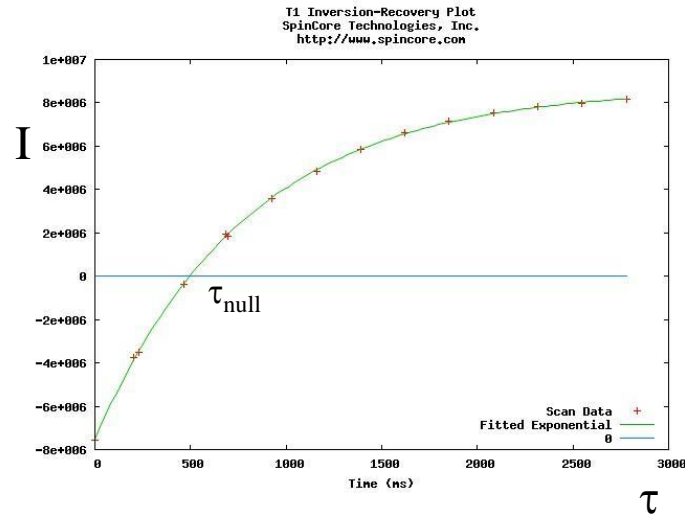


# INVERSION RECOVERY EXPERIMENT – $^1\text{H}$ NMR





# 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

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

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

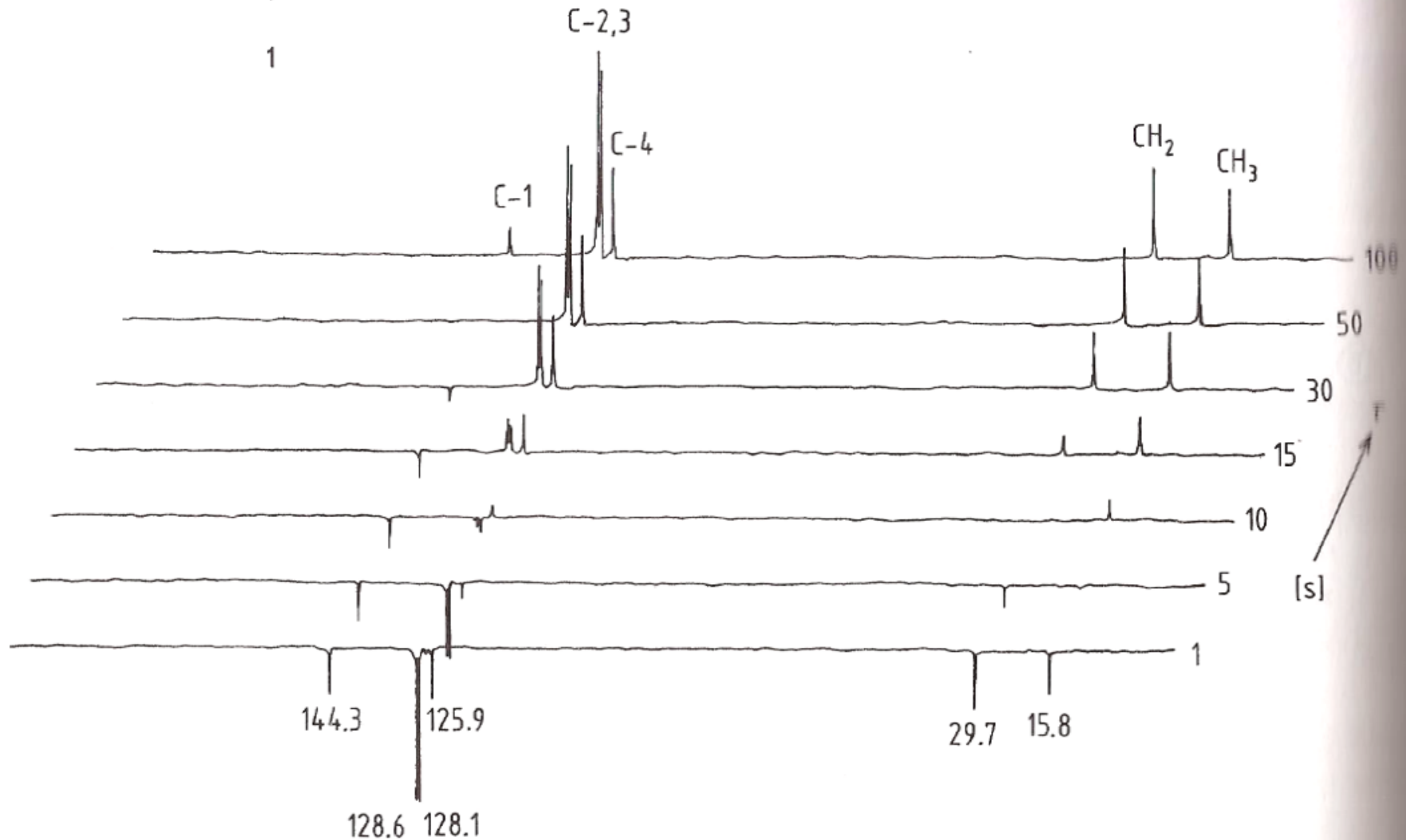
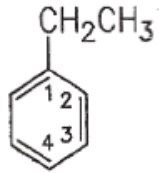
Per  $t = \tau_{\text{null}}$  :  $I_z = 0$ , quindi:

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

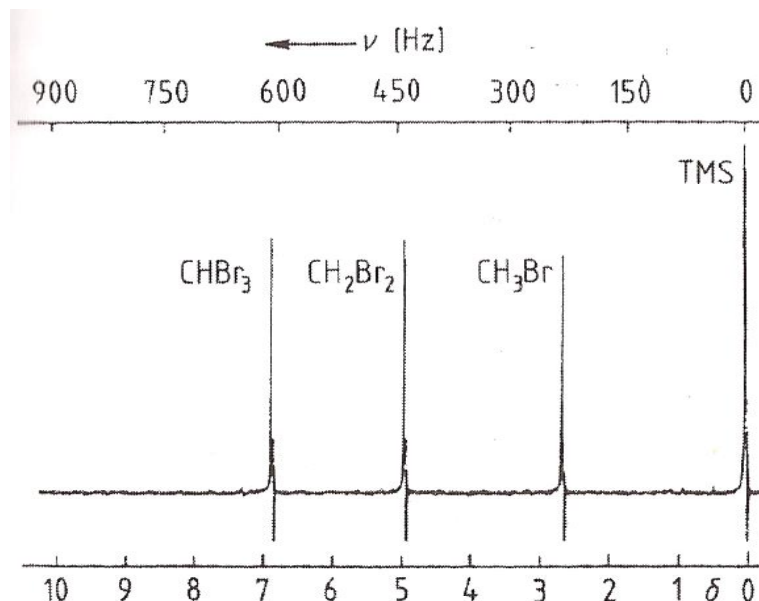
Da cui

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

# INVERSION RECOVERY EXPERIMENT - $^{13}\text{C}$ NMR



# CHEMICAL SHIFT



TMS = tetrametilsilano  
 $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$

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

$\sigma$	
	$\longrightarrow$
	$\uparrow$
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

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

La frequenza assoluta di risonanza di ogni nucleo varia con  $B_0$   
Il chemical shift non dipende da  $B_0$

# CHEMICAL SHIFT

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

CH<sub>3</sub>Br: 2.63 ppm

CH<sub>2</sub>Br<sub>2</sub>: 4.90 ppm

CHBr<sub>2</sub>: 6.82 ppm

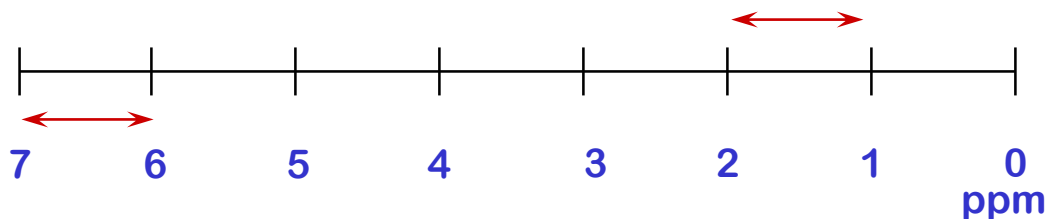
↓  
ν<sub>1</sub>

ν <sub>TMS</sub> : 90.000.000 Hz	} Δν <sub>1</sub> = 237 Hz	δ <sub>TMS</sub> = $\frac{90.000.000 \text{ Hz} - 90.000.000 \text{ Hz}}{90.000.000 \text{ Hz}}$	= 0 ppm
ν <sub>CH<sub>3</sub>Br</sub> : 90.000.237 Hz		δ <sub>CH<sub>3</sub>Br</sub> = $\frac{90.000.237 \text{ Hz} - 90.000.000 \text{ Hz}}{90.000.000 \text{ Hz}}$	= 2.63 ppm
ν <sub>CH<sub>2</sub>Br<sub>2</sub></sub> : 90.000.441 Hz	Δν <sub>2</sub> = 441 Hz	δ <sub>CH<sub>2</sub>Br<sub>2</sub></sub>	= 4.90 ppm
ν <sub>CHBr<sub>3</sub></sub> : 90.000.614 Hz	Δν <sub>3</sub> = 614 Hz	δ <sub>CHBr<sub>3</sub></sub>	= 6.82 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

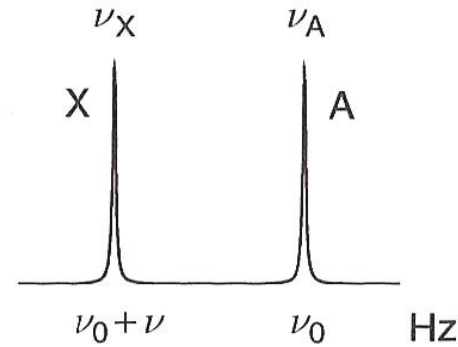
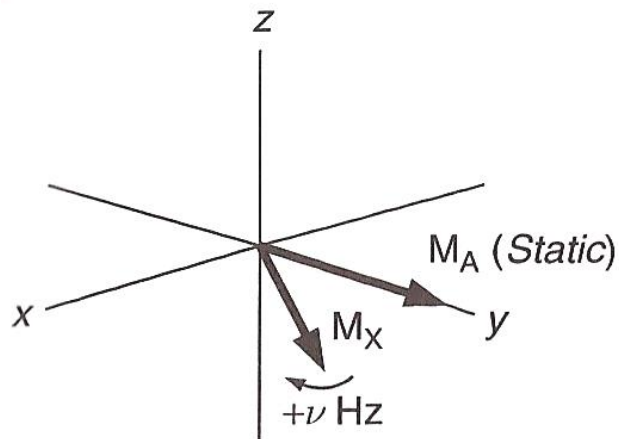
$$\frac{n \text{ MHz}}{10^6} = n \text{ Hz}$$

# 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  $\nu_{\text{rif}}$

