

# PULSE FIELD GRADIENT 2D-NMR SPECTROSCOPY

## EFFETTO DEI GRADIENTI DI CAMPO SULLA MAGNETIZZAZIONE TRASVERSALE

Seleziona segnali considerati interessanti sopprimendo segnali non utili:

-> Gradient-selected spectroscopy

Alternativa ai cicli di fase negli esperimenti tradizionali:

-> Gradient-accelerated spectroscopy

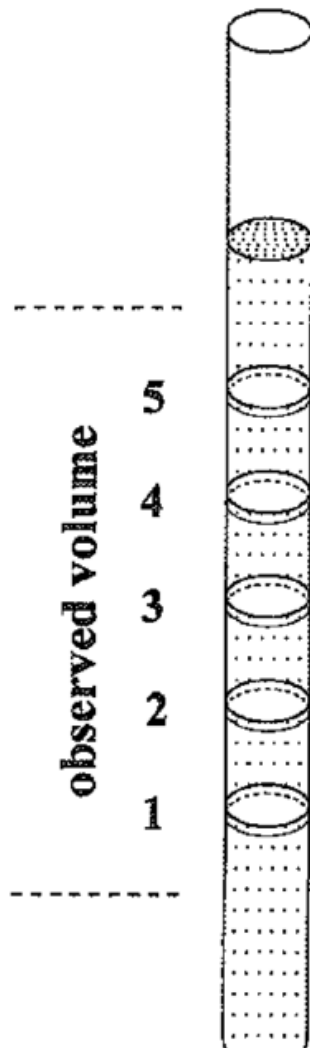
Cicli di fase: tecnica in cui una sequenza di impulsi viene ripetuta con la fase dell'impulso/degli impulsi variata di  $90^\circ$  ad ogni scan. I dati raccolti dopo ogni scan vengono combinati in modo da sommare quelli desiderati e cancellare quelli indesiderati.

Sono quindi procedure basate su difference-spectroscopy.

Nella spettroscopia NMR-2D senza gradienti richiedono  $2^n$  scansioni per incremento in  $t_1$ .

# GRADIENTI DI CAMPO (PFG = Pulse Field Gradient)

$$\nu_n = \frac{\gamma}{2\pi} (B_0 + g_n)$$



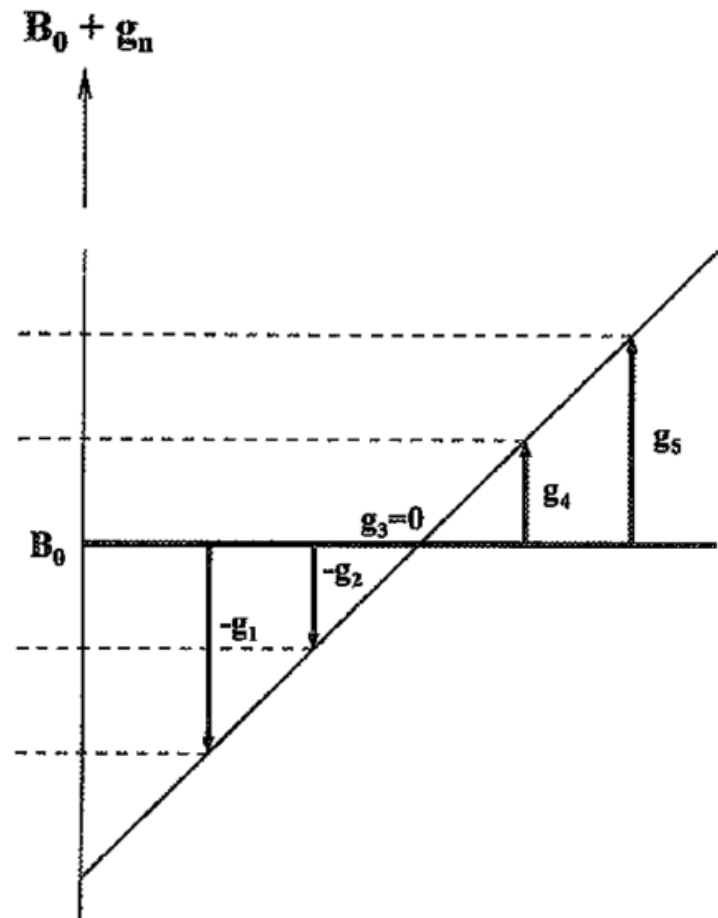
$$\nu_5 = \nu_0 + \frac{\gamma}{2\pi} g_5$$

$$\nu_4 = \nu_0 + \frac{\gamma}{2\pi} g_4$$

$$\nu_3 = \nu_0$$

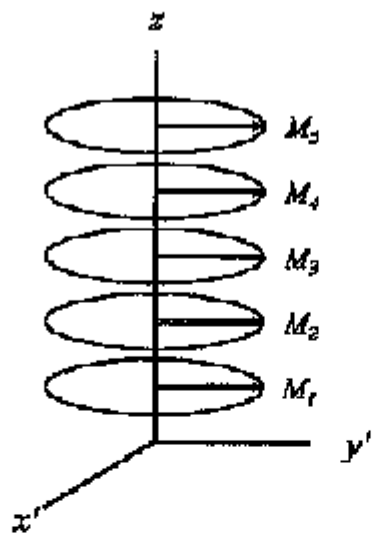
$$\nu_2 = \nu_0 - \frac{\gamma}{2\pi} g_2$$

$$\nu_1 = \nu_0 - \frac{\gamma}{2\pi} g_1$$

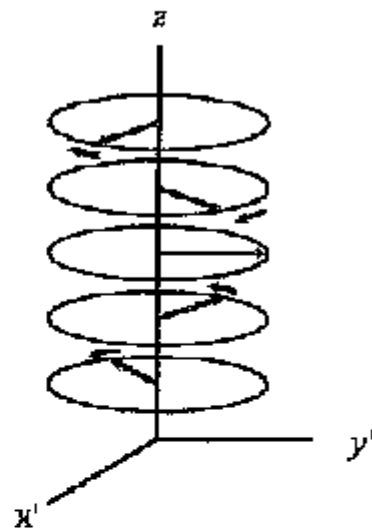




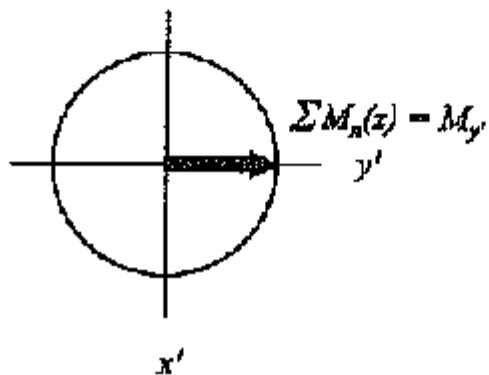
**a**



**b**

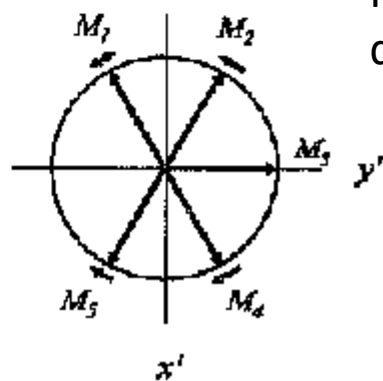


**c**



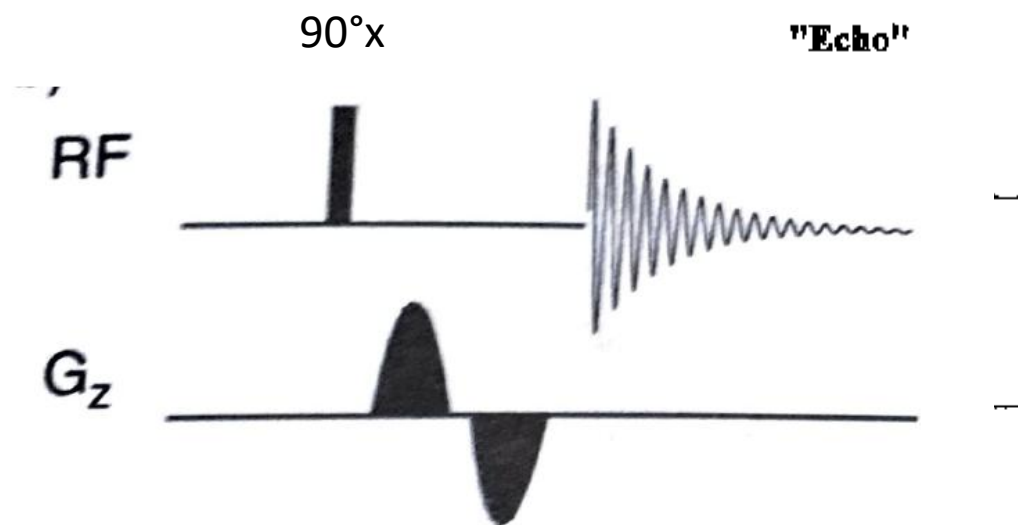
vista dall'alto:

**d**



Perdita  
di magnetizzazione

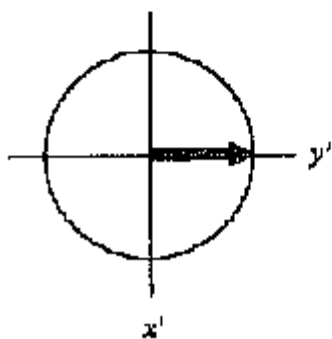
(A)



(B)

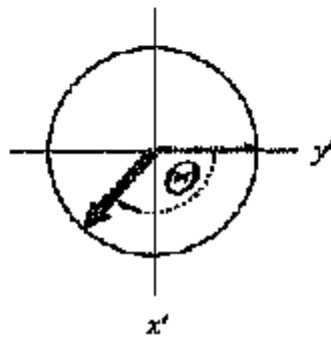
a

$$\Theta = 0$$



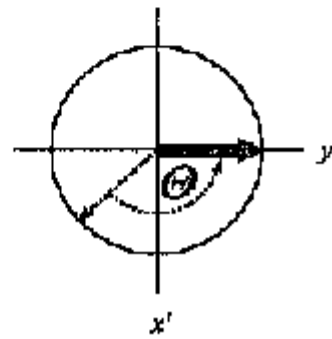
b

$$\Theta = 2\pi(\nu_n - \nu_0)\tau$$

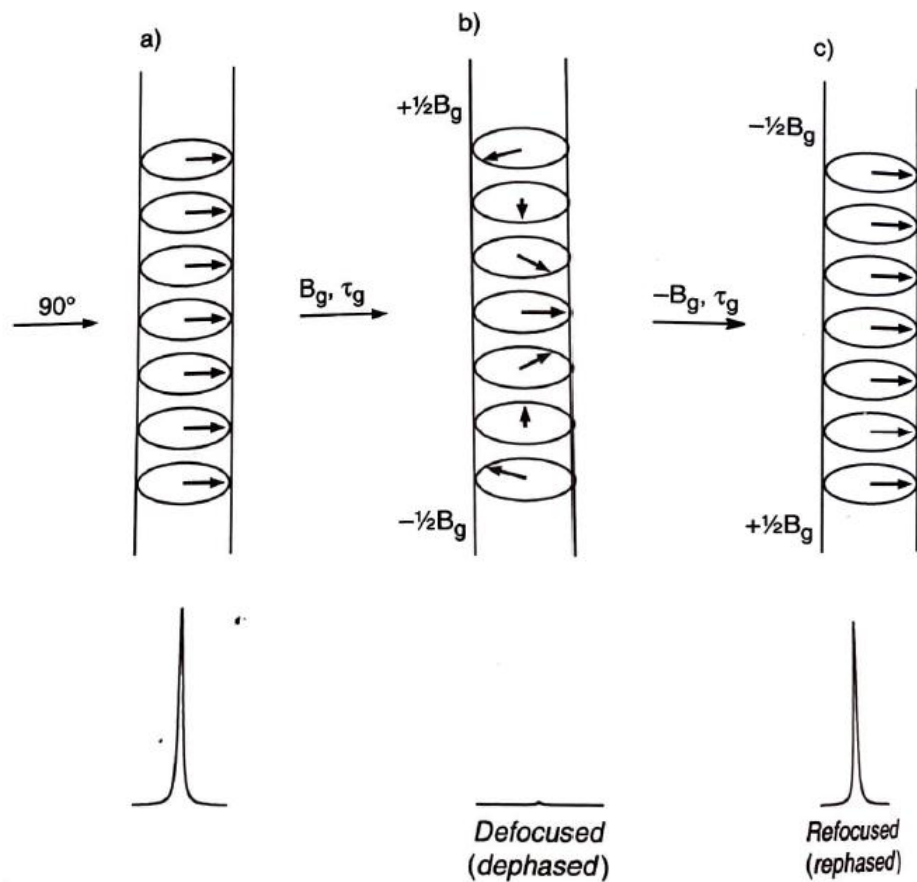
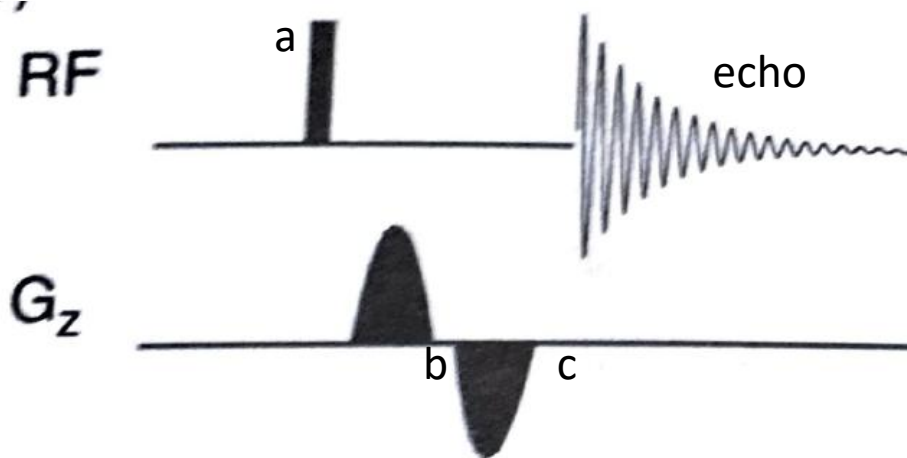


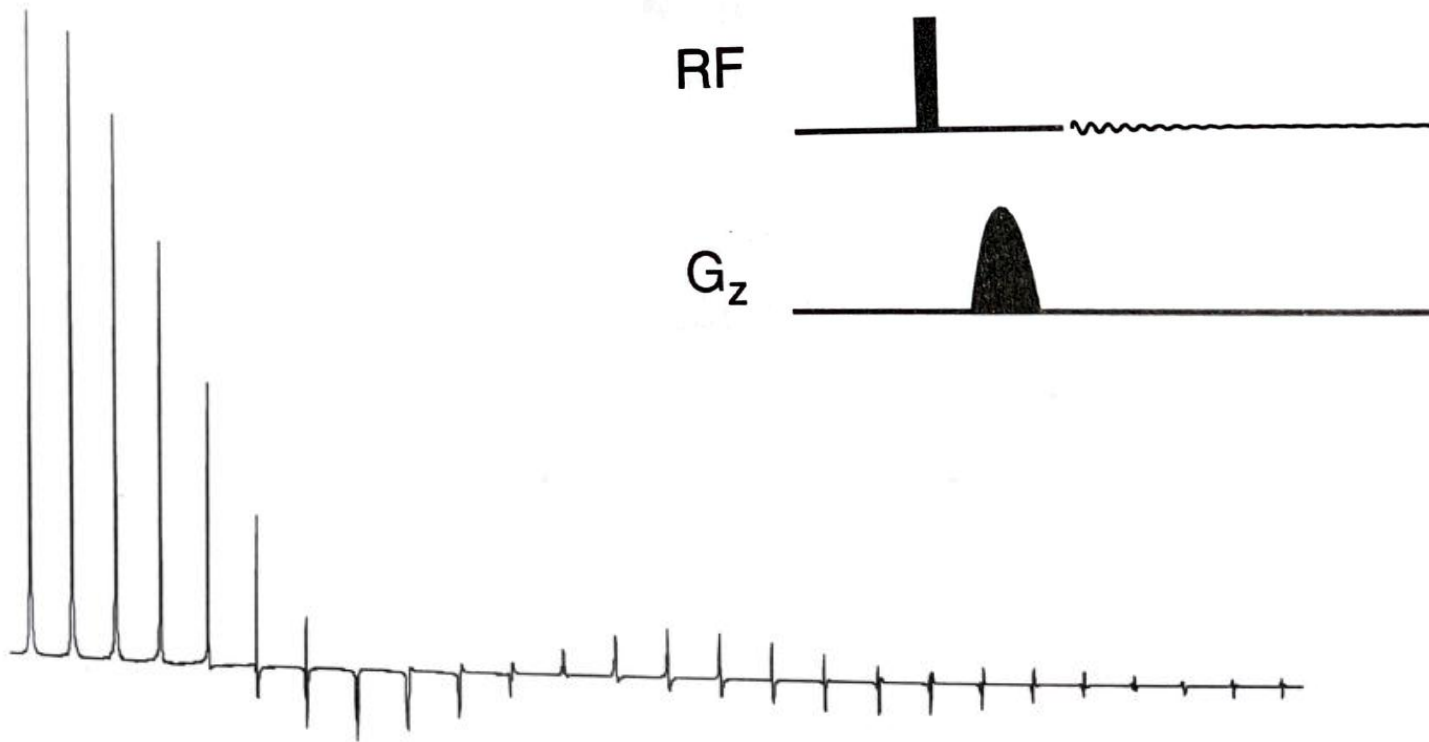
c

$$\Theta = 2\pi(\nu_0 - \nu_n)\tau$$



Su uno strato:





Distruzione di un segnale con l'applicazione di un PFG progressivamente più forte per ogni scan.

La rifocalizzazione dei segnali desiderati può essere resa selettiva

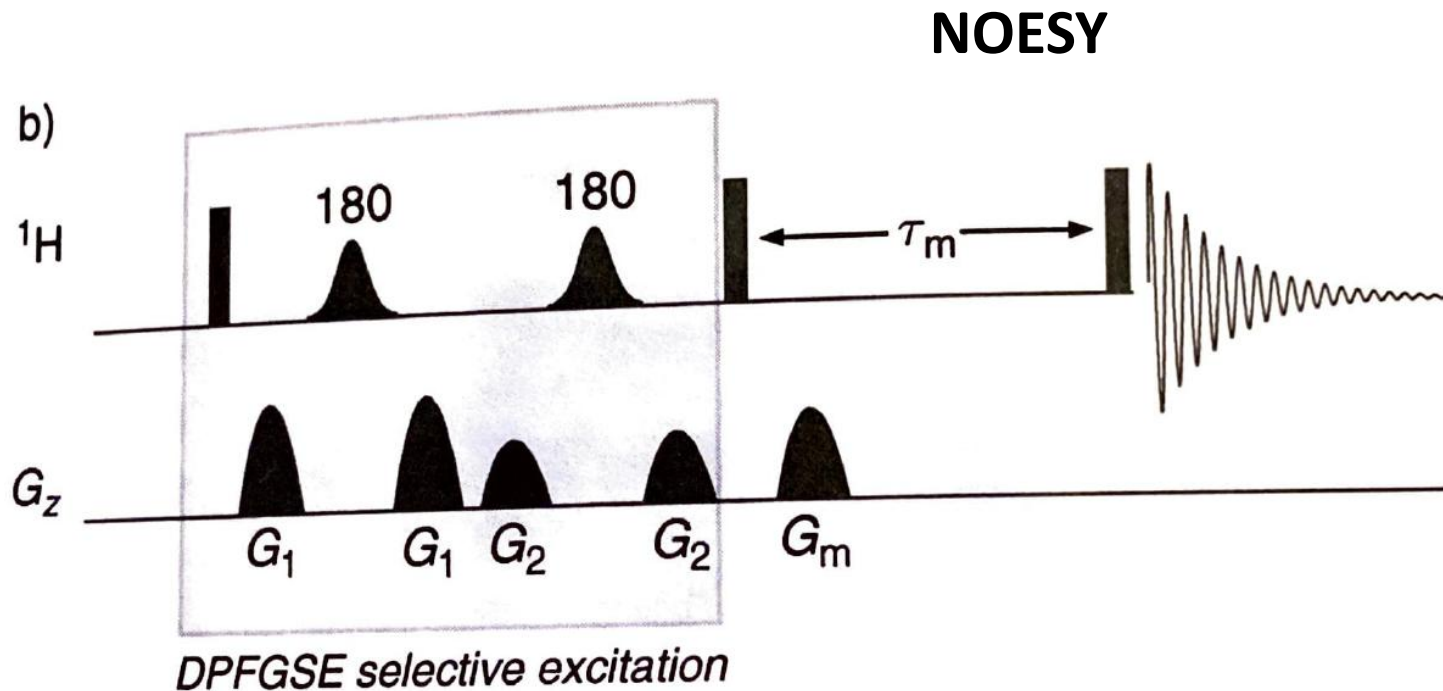
# Esperimenti con i gradienti

*gCOSY e DQF-COSY*

*gTOCSY*

*gHSQC or HMQC*

*gNOESY....*



# VANTAGGI

Qualità dello spettro: Per ogni scansione si rilevano solo i segnali desiderati.

Si evitano addizioni/sottrazioni di spettri implicate nei cicli di fase che portano ad artefatti. Si riduce il noise

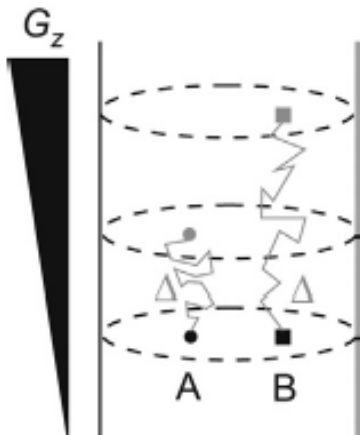
Velocità: Non c'è necessità di completare i cicli di fase, si può utilizzare qualsiasi numero di scansioni/incremento

Soppressione di segnali: Sono molto efficaci. Ad esempio soppressione di segnali di solventi, ma anche selezione di segnali in frammenti  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  (INADEQUATE)

Facilità di uso: Non servono calibrazioni precise come per gli rf pulses



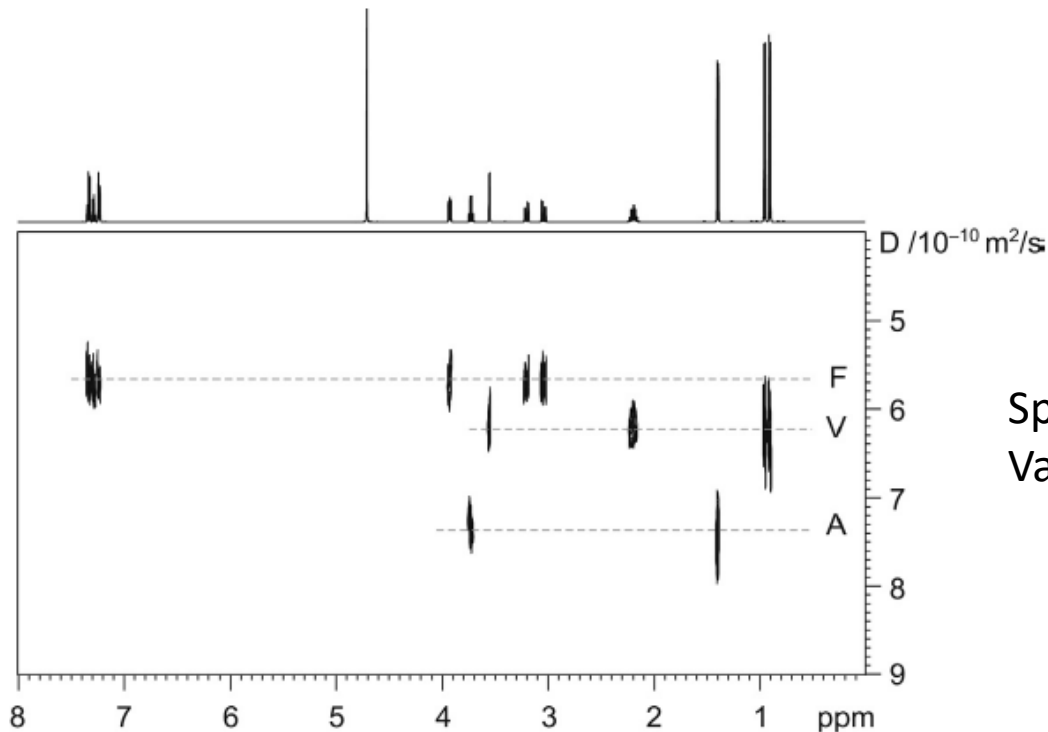
# DOSY (DIFFUSION ORDER SPECTROSCOPY)



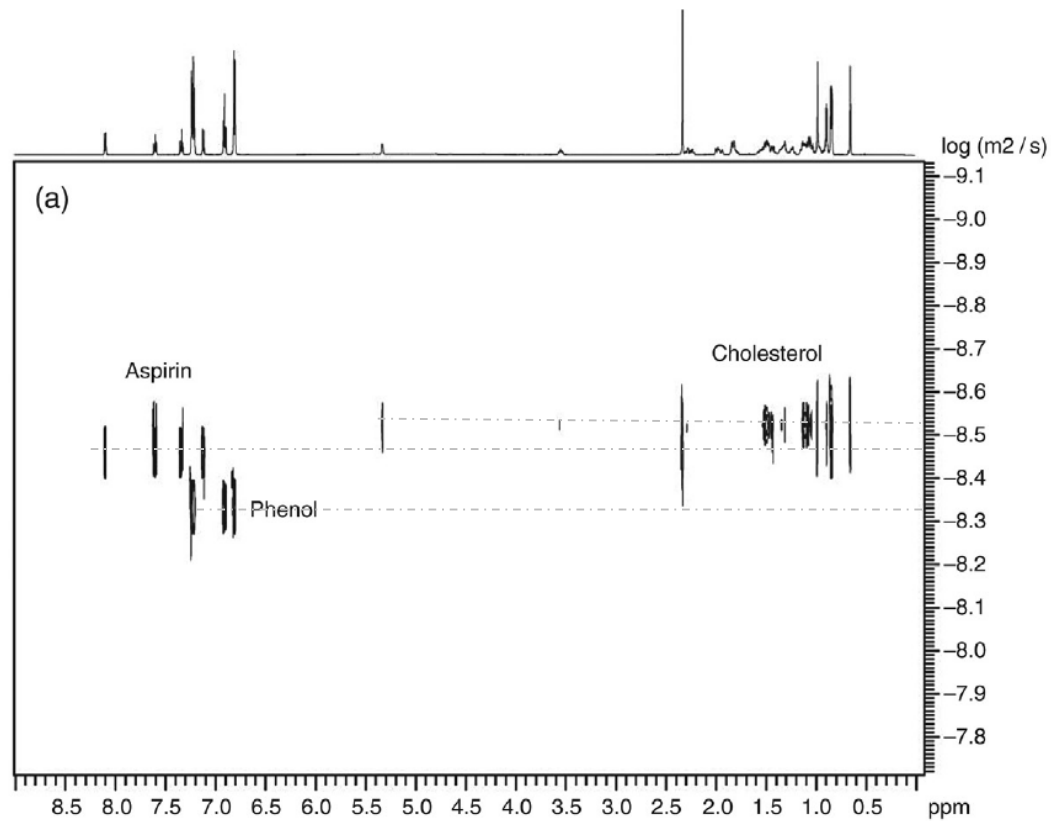
Vengono analizzate miscele di molecole diverse sulla base del loro coefficiente di diffusione. Richiede l'applicazione di gradienti di campo.

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r_s} \quad \text{Coefficiente di diffusione}$$

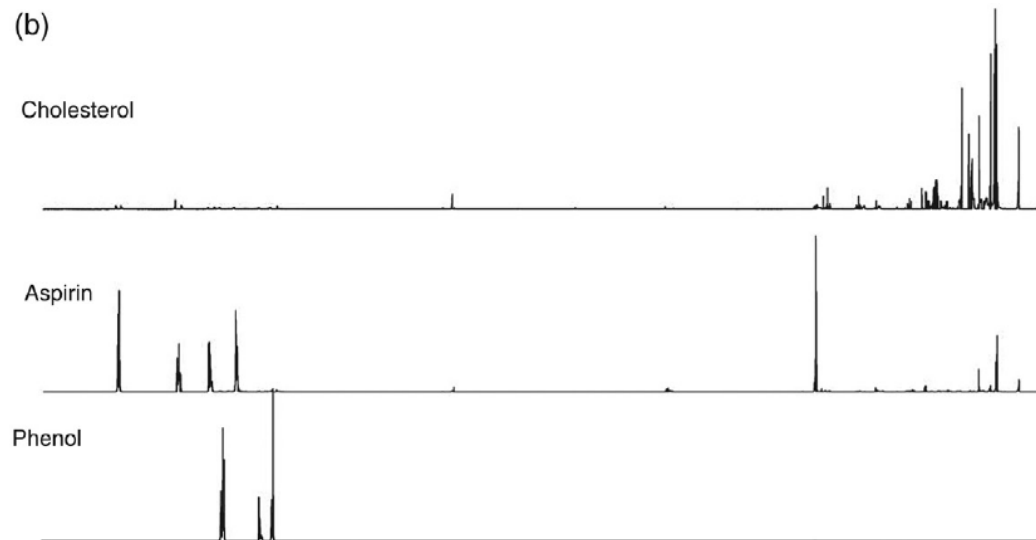
$\eta$  Viscosità  
 $r_s$  raggio idrodinamico



Spettro DOSY di una miscela di Fenilalanina, Valina, Alanina



Spettro DOSY di una miscela di  
Colesterolo, Aspirina, Fenolo.

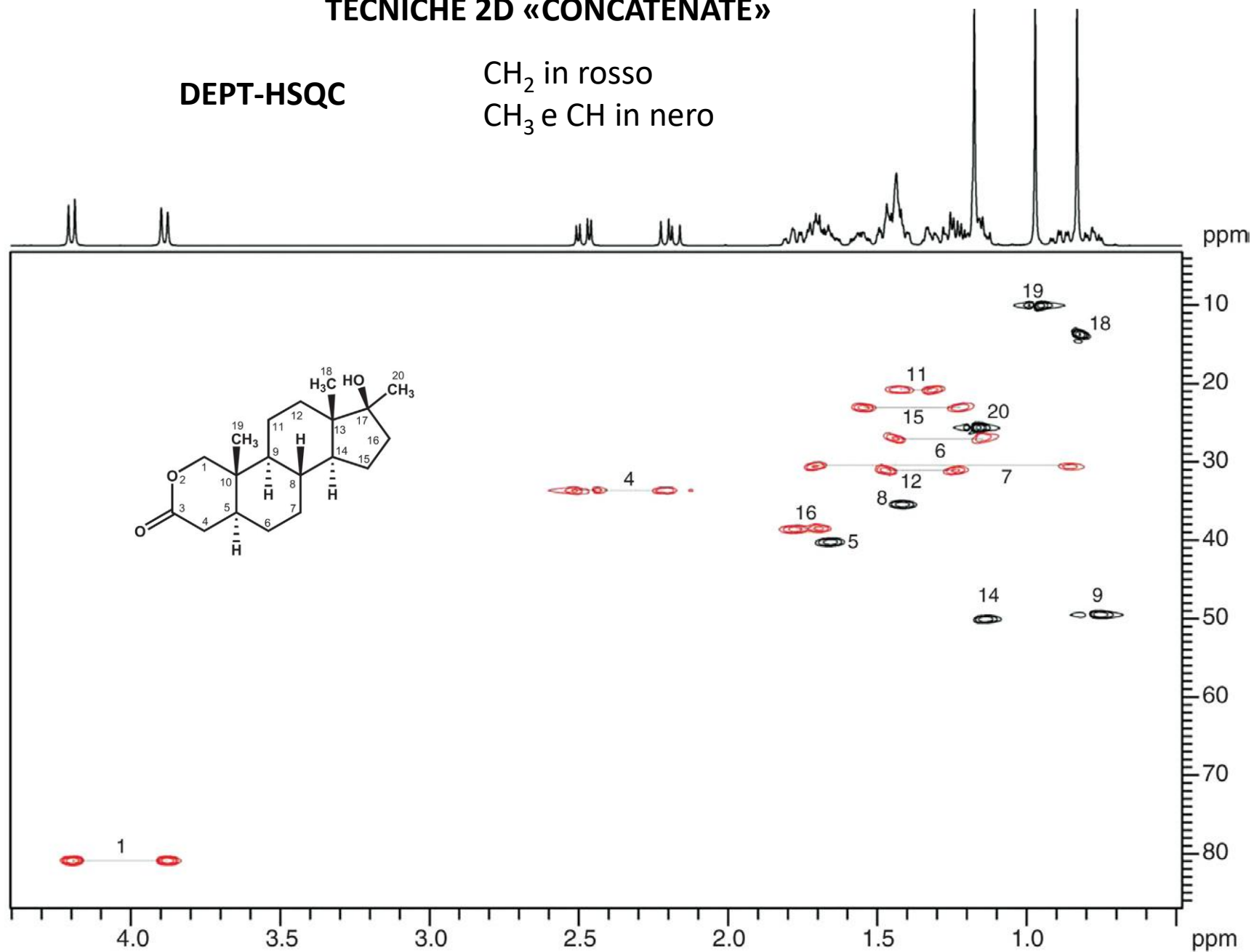


# TECNICHE 2D «CONCATENATE»

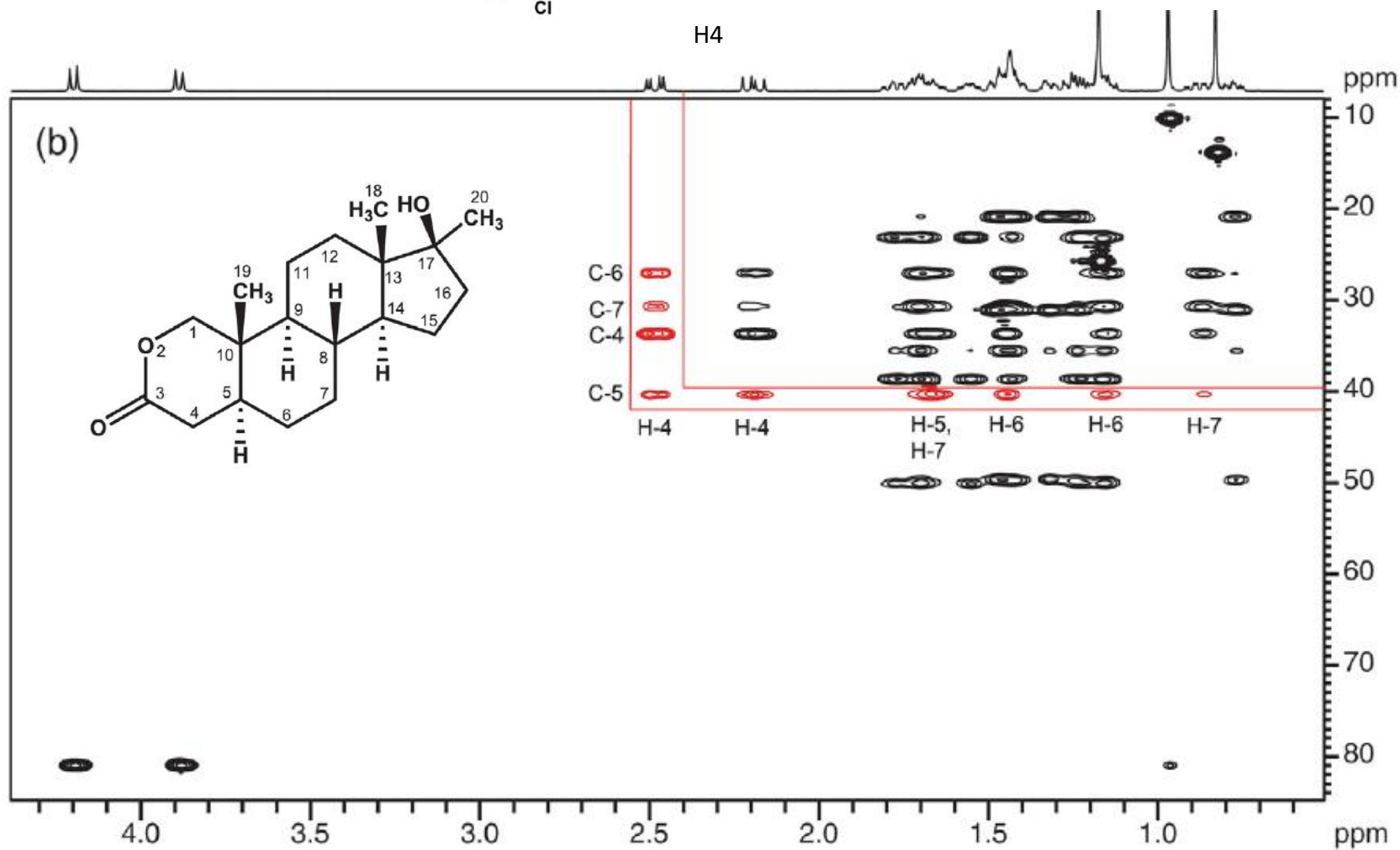
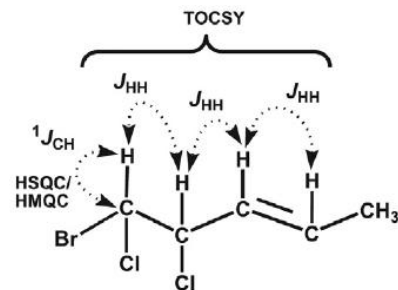
DEPT-HSQC

CH<sub>2</sub> in rosso

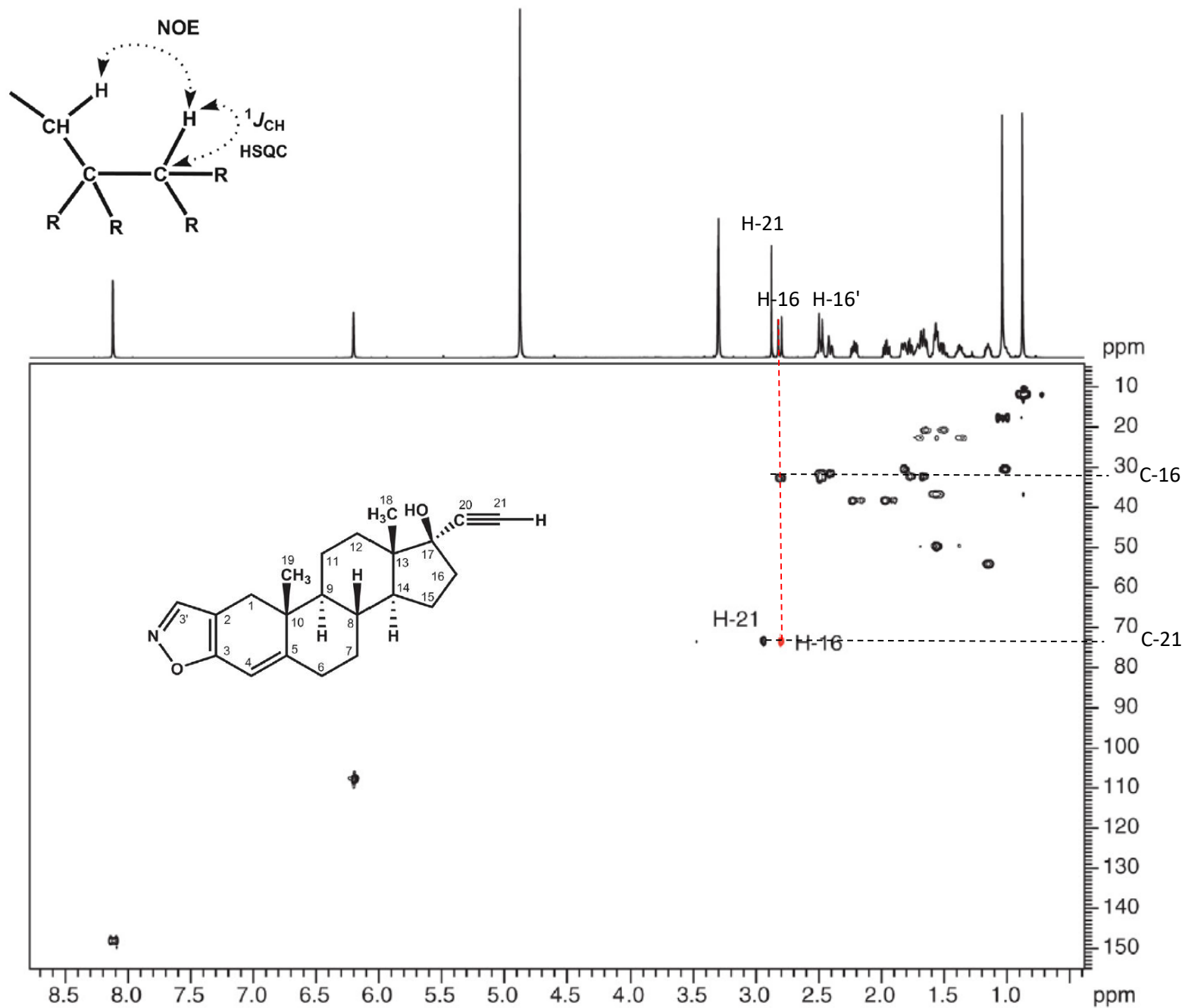
CH<sub>3</sub> e CH in nero



# TOCSY-HSQC

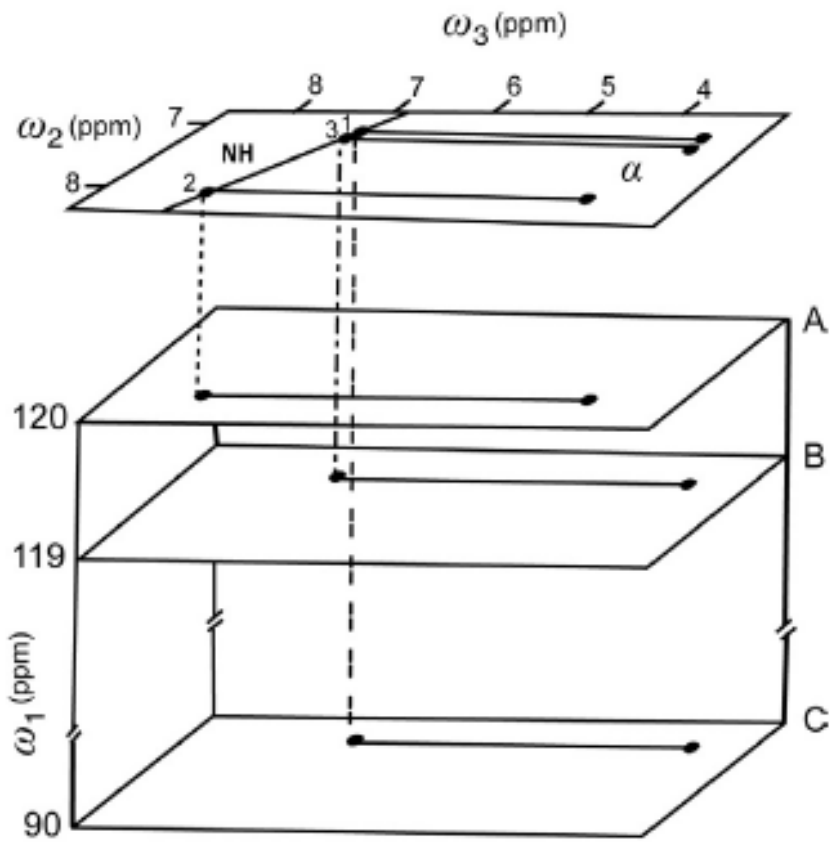
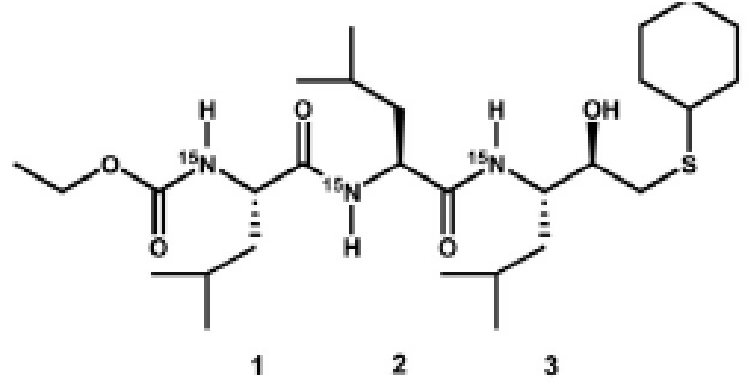


# HSQC-NOESY

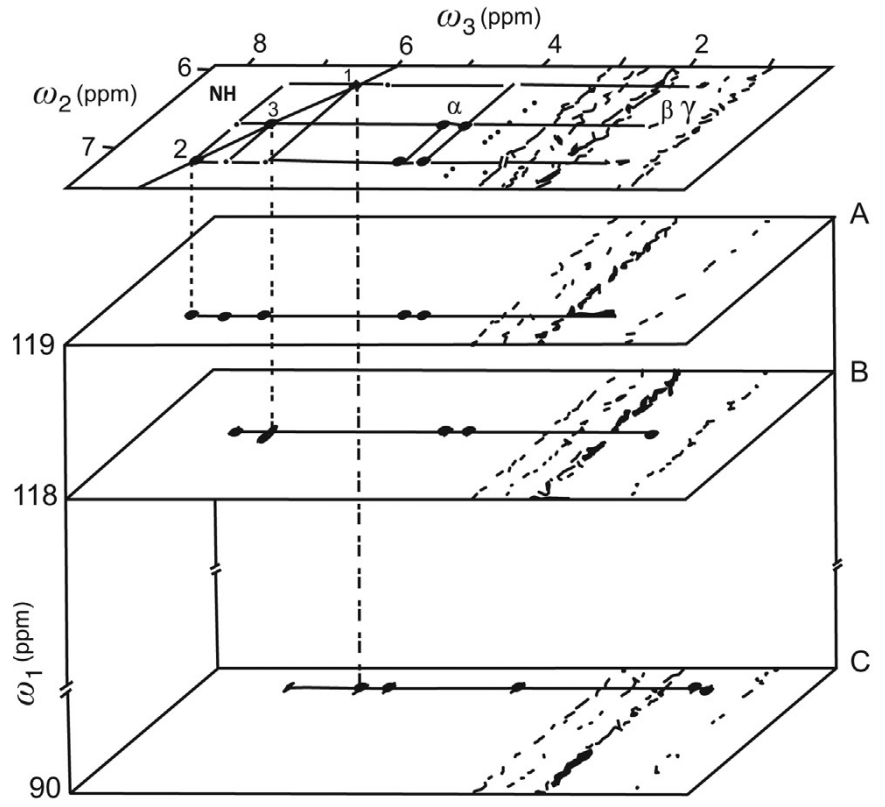


COSY-COSY  
NOESY-COSY  
NOESY-TOCSY  
HMQC-NOESY  
ROESY-TOCSY

# 3D NMR



HMQC-COSY  
 $\omega_1$ :  $^{15}\text{N}$   
 $\omega_2, \omega_3$ :  $^1\text{H}$



HMQC-NOESY  
 $\omega_1$ :  $^{15}\text{N}$   
 $\omega_2, \omega_3$ :  $^1\text{H}$

