

# AVANCE NEO Guida per principianti

● Guida per l'utente

Version 001



© Bruker Corporation

Le informazioni contenute in questo manuale potrebbero essere modificate senza preavviso. BRUKER non si assume alcuna responsabilità per atti compiuti a seguito della lettura di questo manuale. BRUKER non si assume alcuna responsabilità per qualunque errore contenuto nel manuale che possa arrecare danno durante installazioni o interventi sullo strumento. Sono vietate riproduzioni non autorizzate del contenuto del manuale, senza permesso scritto dell'editore, o traduzioni in altre lingue anche parziali.

© agosto 21, 2018 Bruker Corporation

Numero del documento: 10000061274

T/N: H171804IT

---

# Sommaro

<b>1</b>	<b>Introduzione .....</b>	<b>5</b>
1.1	Fonti di pericolo.....	5
1.2	Versione software e sintassi dei comandi.....	5
<b>2</b>	<b>Sicurezza .....</b>	<b>7</b>
2.1	Sicurezza magnetica.....	7
2.1.1	Sicurezza criogenica.....	7
2.2	Sicurezza elettrica.....	8
2.3	Sicurezza chimica.....	8
2.4	Certificazione CE.....	8
<b>3</b>	<b>Teoria e terminologia introduttive .....</b>	<b>9</b>
3.1	Analisi NMR del cloroformio.....	11
3.2	Composti di riferimento, Hertz, ppm .....	13
3.3	NMR del protone. Chemical shift .....	14
3.4	Spettro del protone del benzene.....	15
3.5	Spettro dell'acetato di benzile .....	16
3.6	Spettro del protone dell'etilbenzene con accoppiamento spin-spin.....	18
3.7	Disaccoppiamento .....	20
3.8	FID e spettro .....	22
<b>4</b>	<b>Descrizione del sistema .....</b>	<b>23</b>
4.1	Panoramica della struttura di AVANCE .....	24
4.1.1	Console dell'operatore e collegamenti.....	24
4.2	Console.....	25
4.3	Collegamento tra il computer host e l'AQS .....	26
4.4	Magnete, shim system e sonda .....	26
4.5	Magnete e contenitore Dewar del magnete .....	27
4.5.1	Cavità del magnete a temperatura ambiente.....	28
4.5.2	Serbatoio di elio .....	29
4.5.3	Serbatoio di azoto.....	29
4.6	Introduzione al sistema di lock.....	29
4.7	Sonde.....	30
4.8	Sonda a banda larga.....	32
4.9	iProbe.....	33
4.10	Sostituzione di una sonda.....	33
<b>5</b>	<b>Procedure basilari .....</b>	<b>35</b>
5.1	La finestra TopSpin.....	35
5.1.1	Creazione di un nuovo set di dati.....	36
5.1.2	Preparazione del campione .....	38
5.2	Inserire il campione con il rotore nel magnete .....	39
5.3	Lock .....	39
5.4	Tuning e matching della sonda .....	41
5.4.1	Sonde munite di ATM, con uso della routine di sintonizzazione automatica .....	41

5.4.2	Sonde munite di ATM, con uso della routine di sintonizzazione manuale .....	41
5.5	Rotazione del campione .....	44
5.6	Shimming .....	44
5.6.1	Shimming di routine tramite la funzione TopShim .....	44
5.7	Impostazione dei parametri dipendenti dalla sonda/dal solvente .....	45
5.8	Regolazione dell'amplificazione del ricevitore .....	45
5.9	Avvio dell'acquisizione dati. ....	45
5.10	Trattamento dei dati .....	45
<b>6</b>	<b>Ottimizzazione dei parametri di acquisizione e relativi alla frequenza .....</b>	<b>47</b>
6.1	Frequenza .....	47
6.2	Spiegazione numerica delle frequenze trasmesse, di base e offset.....	48
<b>7</b>	<b>Il campione NMR.....</b>	<b>51</b>
7.1	Selezione del solvente .....	51
7.2	Tubo NMR.....	52
7.3	Preparazione del campione .....	53
<b>8</b>	<b>Spettro del protone .....</b>	<b>55</b>
8.1	Impostazione dell'esperimento .....	56
8.2	Acquisizione .....	59
8.3	Elaborazione .....	60
8.4	Integrazione .....	61
8.5	Tracciare il grafico dello spettro protonico 1D.....	64
8.6	Ottimizzazione della finestra spettrale .....	65
<b>9</b>	<b>Spettro<sup>13</sup>C con disaccoppiamento protonico .....</b>	<b>67</b>
9.1	Impostazione dell'esperimento .....	68
9.2	Acquisizione .....	70
9.3	Elaborazione .....	70
9.4	Selezione del picco .....	72
9.5	Tracciare lo spettro del carbonio 1D .....	73
<b>10</b>	<b>Contatti .....</b>	<b>75</b>
	<b>Figure.....</b>	<b>77</b>
	<b>Tabelle .....</b>	<b>79</b>
	<b>Glossario .....</b>	<b>81</b>
	<b>Indice .....</b>	<b>83</b>

# 1 Introduzione

L'obiettivo di questo manuale è descrivere i componenti di base di uno spettrometro Bruker, la loro funzionalità e il modo in cui vengono gestiti dal software TopSpin per acquisire i dati NMR, in modo da consentire a un utente relativamente inesperto di eseguire una serie di esperimenti NMR di base ad alta risoluzione (HR) 1-D. Come esempio è stato selezionato il mentil antranilato. Saranno descritti sia osservazioni del protone che del carbonio con disaccoppiamento protonico. Per assistere l'utente, vengono utilizzati set di parametri standard che sono inclusi in ogni pacchetto software TopSpin. Questo approccio riduce al minimo il tempo speso sullo spettrometro stesso, in particolare nel caso in cui la formazione interessi un numero relativamente elevato di studenti. In questo scenario, l'elaborazione può essere facilmente effettuata su una stazione di lavoro separata utilizzando i tutorial forniti con la documentazione dello spettrometro.

Ai fini delle istruzioni contenute in questo manuale, l'utente deve avere i seguenti requisiti:

- Conoscenza di base del pacchetto software TopSpin;
- Disponibilità di una o più sonde in grado di osservare il protone e il carbonio con disaccoppiamento protonico;
- Conoscenza di base su come utilizzare le schede e i pulsanti di flusso all'interno della finestra TopSpin.

Sebbene sia stato fatto ogni sforzo per fornire una descrizione graduale, i nuovi utenti avranno sicuramente delle domande e, come tali, avranno bisogno di assistenza occasionale da parte di un utente più esperto. L'obiettivo di questo manuale è, ove possibile, consentire agli utenti di lavorare in modo indipendente e acquisire una conoscenza di base su come utilizzare il sistema. Si spera che il tempo necessario per la formazione dei nuovi utenti venga ridotto in modo significativo dall'uso di questo manuale.

## 1.1 Fonti di pericolo

---

Il capitolo dedicato alla sicurezza affronterà più dettagliatamente questo tema, ma al momento è indicato evidenziare i potenziali pericoli risultanti dall'utilizzo di uno spettrometro NMR in questa fase introduttiva. Con un sistema così sofisticato sono sorprendentemente poche le possibilità di danneggiare l'apparecchio da parte di utenti inesperti, per cui vale la pena di citare solo i casi più rilevanti. Con un utilizzo normale le cause più probabili di danno sono le seguenti:

- rimozione di un campione dal magnete con la cavità del magnete ancora chiusa dal tappo metallico.
- inserimento di un campione nel magnete senza che sia presente un cuscinetto ad aria di supporto
- trasmissione di corrente RF lungo cavi non collegati o sonde male abbinata.

Si consiglia ai nuovi utenti di acquisire familiarità con questi potenziali rischi prima di iniziare. Ai gestori del sistema si consiglia di assicurarsi che qualsiasi nuovo utente comprenda le questioni sopra menzionate.

## 1.2 Versione software e sintassi dei comandi

---

Questo manuale è stato scritto per TopSpin versione 4.0. Nel manuale verranno descritte le procedure per inserire vari comandi.



## 2 Sicurezza

In termini di sicurezza la presenza di un magnete relativamente forte è ciò che contraddistingue gli spettrometri NMR dalla maggior parte dell'attrezzatura di laboratorio. Quando si allestisce un laboratorio NMR o si addestra il personale che dovrà lavorare o avrà a che fare con il laboratorio, nessun'altra caratteristica è più importante. Purché vengano rispettate le procedure corrette, lavorare in prossimità di magneti superconduttori è completamente sicuro e non comporta effetti collaterali medici dannosi noti. La negligenza, tuttavia, può avere come conseguenza incidenti gravi.

Il magnete è potenzialmente pericoloso a causa dei seguenti fattori:

- la grande forza di attrazione che esercita su oggetti ferromagnetici.
- il grande contenuto di azoto e di elio allo stato liquido.

### 2.1 Sicurezza magnetica

---

Un campo magnetico circonda il magnete in tutte le direzioni. Questo campo (noto come campo di dispersione) è invisibile e gli addetti alla sicurezza sono tenuti ad esporre segnali di avvertimento nei luoghi appropriati. Gli oggetti in materiale ferromagnetico, quale per esempio il ferro, l'acciaio, ecc. vengono attratti dal magnete. Se un oggetto ferromagnetico viene avvicinato eccessivamente, può essere attratto improvvisamente dal magnete con forza sorprendente. Ciò rischia di danneggiare il magnete o di causare lesioni alle persone presenti!

È importante che le persone che lavorano in prossimità del magnete comprendano completamente i potenziali pericoli. È fondamentale vietare alle persone con pacemaker cardiaci o impianti metallici di avvicinarsi al magnete.

Considerato che la forza del campo di dispersione diminuisce in modo significativo via via che ci si allontana dal magnete, è importante trattare il tema della sicurezza sul posto di lavoro in prossimità di magneti con l'addetto alla sicurezza.

#### 2.1.1 Sicurezza criogenica

---

Il magnete contiene quantità relativamente elevate di elio e di azoto allo stato liquido. Questi liquidi, denominati criogenici, servono a tenere il nucleo del magnete ad una temperatura molto bassa.

A causa delle temperature molto basse, occorre sempre indossare **guanti**, una **camicia a maniche lunghe o un camice da laboratorio** e **occhiali protettivi** quando si maneggiano sostanze criogeniche. Il contatto diretto con questi liquidi può causare congelamento. Il gestore del sistema è tenuto ad effettuare controlli regolari per assicurarsi che i gas evaporanti possano fuoriuscire liberamente dal magnete, vale a dire che le valvole di scarico non devono essere bloccate. Non cercare di riempire il magnete di elio o di azoto se non si è stati addestrati per eseguire correttamente questa procedura.

L'elio e l'azoto sono gas non tossici. Tuttavia occorre sempre provvedere all'adeguata aerazione, poiché a causa di una possibile **quench del magnete** i gas evaporati potrebbero riempire improvvisamente la stanza.

## 2.2 Sicurezza elettrica

---

L'hardware dello spettrometro non è più o meno pericoloso di qualsiasi hardware elettronico o pneumatico comune e deve essere trattato di conseguenza. Evitare di rimuovere i pannelli di protezione dalle varie unità. Essi servono a proteggere l'utente e dovrebbero essere aperti esclusivamente da personale di servizio qualificato. Il pannello principale, sul retro della console, può essere rimosso usando due viti a sblocco rapido e anche in questo caso la rimozione dovrebbe essere effettuata unicamente da personale addestrato. Si noti che le ventole di raffreddamento sul pannello posteriore continuano a funzionare anche dopo la rimozione del pannello, a meno che non vengano disattivate.

## 2.3 Sicurezza chimica

---

Gli utenti dovrebbero essere completamente consapevoli dei rischi associati ai campioni con cui lavorano. I composti organici possono essere altamente infiammabili, corrosivi, cancerogeni, ecc.

## 2.4 Certificazione CE

---

Tutte le principali unità hardware contenute nella console AVANCE, nonché le unità periferiche quali l'HPPR, i sistemi di shim e la sonda sono conformi alla CE Dichiarazione di conformità CE. Ciò include il livello di qualsiasi radiazione elettromagnetica dispersa che può essere emessa, nonché il rischio elettrico standard. Si noti che per ridurre al minimo la fuga di radiazioni elettromagnetiche, gli sportelli della console devono essere chiusi e il pannello posteriore deve essere montato.



---

**Nota:** ulteriori informazioni sulla sicurezza per i sistemi AVANCE sono disponibili nel manuale *Considerazioni generali sulla sicurezza dei sistemi AVANCE* (P/N Z31836) disponibile sul DVD BASH.

---

### 3 Teoria e terminologia introduttive

L'NMR è una tecnica utilizzata per analizzare la struttura di molte molecole chimiche, in primo luogo composti organici. Un composto tipico potrebbe essere costituito da atomi di carbonio, idrogeno e ossigeno.

Nella sua forma più semplice, un esperimento NMR consiste di tre passaggi:

1. Porre il campione in un campo magnetico statico.
2. Eccitare i nuclei nel campione con un impulso di radiofrequenza.
3. Misurare la frequenza dei segnali emessi dal campione.

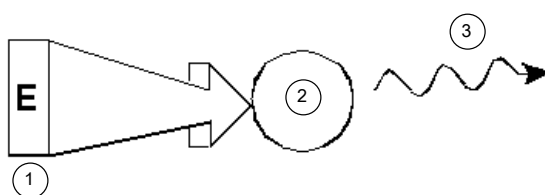


Figura 3.1: Eccitazione e risposta

1.	Impulso di eccitazione	2.	Atomo
3.	Segnale emesso		

Dalle frequenze emesse gli analisti possono dedurre informazioni sul legame e sulla disposizione degli atomi nel campione. I nuclei NMR attivi nel campione risuonano a frequenze diverse, chiamate **frequenze di risonanza**. Queste frequenze sono emesse dai nuclei quando sono eccitati dall'impulso di radiofrequenza. Il valore di una frequenza di risonanza dipende da due fattori:

#### 1) Tipo di nucleo:

Il nucleo di ogni isotopo è costituito da una particolare combinazione di protoni e neutroni. La struttura nucleare determina in larga misura il valore della frequenza di risonanza. Quindi ogni isotopo visualizza una **frequenza di risonanza di base**. I nuclei di  $^{13}\text{C}$  avranno una frequenza di risonanza di base diversa rispetto a quella di  $^1\text{H}$ , ecc. Si noti la sensibile differenza nelle frequenze di risonanza di base tra diversi isotopi come elencato nella seguente tabella:

Nucleo	NMR attivo	Frequenza di risonanza di base (approssimata) [MHz]	Abbondanza naturale [%]
$^1\text{H}$	sì	500	99.98
$^2\text{H}$	sì	77	0.015
$^3\text{H}$	sì	533	Tracce (ca. $10^{-18}$ )
$^{12}\text{C}$	no	---	98.89
$^{13}\text{C}$	sì	126	1.11
$^{35}\text{Cl}$	sì	49	75.77
$^{37}\text{Cl}$	sì	41	24.23

Tabella 3.1: Tabella di dati per vari isotopi (frequenze riferite a un magnete di 11,7 T)

## 2) Intorno atomico locale:

Alla frequenza di risonanza di base si somma l'effetto dell'intorno atomico in cui è situato un isotopo. Il valore preciso della frequenza di risonanza di un nucleo di  $^1\text{H}$  in un particolare composto dipenderà dagli atomi a cui è legato e da cui è circondato. Il nucleo è circondato da elettroni che possono essere considerati come cariche elettriche in movimento con campi magnetici associati. Questi elettroni agiscono come una schermatura magnetica per il nucleo. L'entità di questa schermatura dipende dal preciso intorno atomico locale. L'entità delle variazioni del campo locale (che determinano una variazione della frequenza) dipenderà dall'isotopo e dall'intensità del campo magnetico in cui è posto il campione. La tabella che segue riporta la variazione tipica della frequenza per due dei nuclei NMR più usati,  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . È chiaro che l'intorno atomico locale ha un effetto relativamente limitato sulla frequenza di risonanza di base.

Nucleo	Variazione tipica della frequenza di risonanza di base dovuta all'intorno atomico locale.
$^1\text{H}$	6 kHz
$^{13}\text{C}$	30 kHz

Tabella 3.2: Variazioni di frequenza (riferite a un magnete di 11,7 T)

I segnali NMR sono generalmente presentati come spettri e analizzati in base a due caratteristiche: **frequenza** e **intensità**. Nell'NMR è convenzione tracciare la frequenza sull'asse orizzontale e crescente verso sinistra.

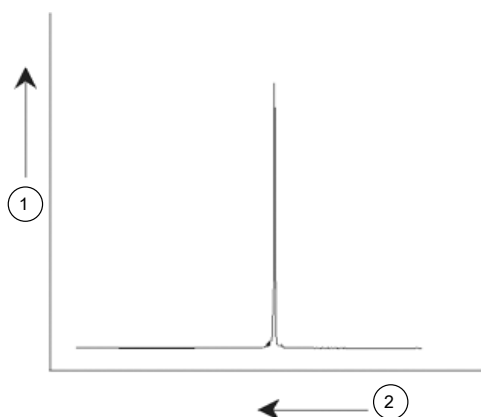


Figura 3.2: Spettro NMR

1.	Intensità
2.	Frequenza

Come accennato in precedenza, la frequenza fornisce informazioni qualitative sull'intorno atomico locale. L'intensità **integrata intensità** di un segnale è una **misura della forza del segnale** e si determina integrando l'area sottostante il picco. L'integrale è direttamente proporzionale al numero di nuclei che danno origine a un segnale a un particolare frequenza (a parità di eccitazione dei nuclei), fornendo quindi informazioni quantitative sulla struttura chimica.

Per eccitare un dato nucleo in un esperimento NMR, la frequenza dell'impulso di eccitazione deve coincidere con la frequenza di risonanza del nucleo. Questa frequenza è detta **frequenza portante**. Pertanto, se gli esperimenti vengono effettuati utilizzando un magnete di 11,7 T, i nuclei  $^1\text{H}$  richiedono una frequenza portante di circa 500 MHz, mentre i nuclei di  $^{13}\text{C}$  una frequenza portante di circa 126 MHz. La frequenza portante è definita dal parametro SFO1. Il nucleo che viene eccitato da questa frequenza portante è denominato **nucleo osservato**.

Si noti che esistono esperimenti in cui vengono eccitati più nuclei, per esempio durante il trasferimento di polarizzazione o disaccoppiamento. In questi casi ci sono più frequenze portanti, ma una sola frequenza di osservazione.

Non tutti gli **isotopi** risponderanno a impulsi di radiofrequenza, cioè non tutti sono **NMR attivi**. In natura esistono tre isotopi dell'elemento idrogeno:  $^1\text{H}$  (idrogeno),  $^2\text{H}$  (deuterio) e  $^3\text{H}$  (trizio, radioattivo!). L'abbondanza naturale di questi isotopi è rispettivamente pari a 99,98%, 0,015% e 0,005%. Tutti e tre sono NMR attivi, anche se, come si può vedere nella tabella 3.1, mostrano una grande variazione nella frequenza di risonanza. Per analizzare un campione contenente idrogeno, viene eccitato l'isotopo  $^1\text{H}$ , in quanto è di gran lunga il più abbondante. Di tutti gli isotopi di carbonio presenti in natura, solo uno è NMR attivo. Purtroppo l'isotopo più abbondante, il  $^{12}\text{C}$  (98,89% di abbondanza naturale) è inattivo. Quindi, l'analisi NMR di composti organici per il carbonio si basa sui segnali emessi dall'isotopo  $^{13}\text{C}$ , che ha un'abbondanza naturale solo dell'1,11%. Ovviamente, l'analisi NMR per il carbonio è più difficile di quella, per esempio, di  $^1\text{H}$  (ci sono altri fattori che influiscono sulla sensibilità, che saranno discussi nei prossimi paragrafi di questo capitolo).

Sulla base della breve introduzione all'NMR descritta sopra, è un buon esercizio vedere in che modo può essere utilizzata la tecnica per analizzare la composizione del cloroformio ( $\text{CHCl}_3$ ).

### 3.1 Analisi NMR del cloroformio

È possibile condurre tre esperimenti separati, come indicato nella figura che segue, corrispondenti ai tre possibili nuclei di osservazione  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{35}\text{Cl}$ .

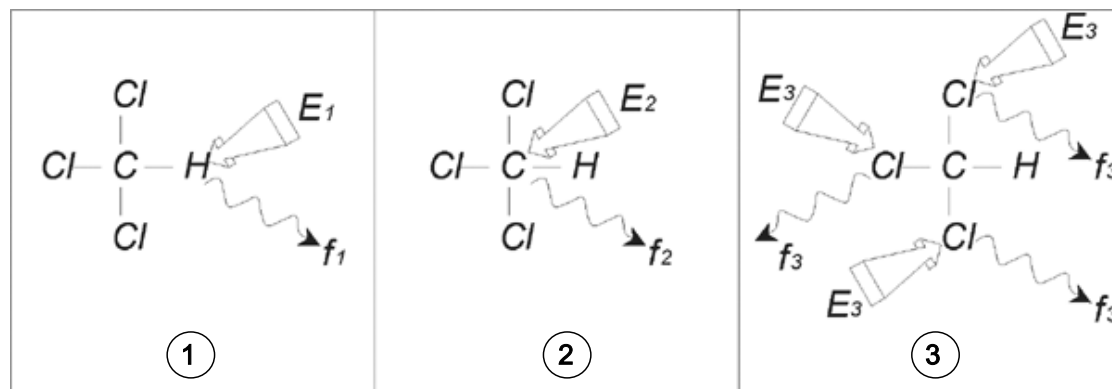


Figura 3.3: Analisi NMR del  $\text{CHCl}_3$

1	Eccitazione $E_1$
2	Eccitazione $E_2$
3	Eccitazione $E_3$

Al campione vengono inviati tre impulsi di eccitazione ( $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_3$ ) alle appropriate frequenze portanti.  $E_1$  corrisponde alla frequenza di risonanza di  $^1\text{H}$ ,  $E_2$  alla frequenza di  $^{13}\text{C}$  ed  $E_3$  alla frequenza del  $^{35}\text{Cl}$ . Nell'ipotesi che i tre isotopi vengano eccitati in modo efficiente, il campione emetterà segnali alle tre frequenze  $f_1$ ,  $f_2$  ed  $f_3$  che vengono registrate su tre spettri separati. Se i segnali emessi vengono visualizzati in un singolo grafico, l'utente può aspettarsi uno spettro simile a quello nella figura sottostante (si noti che le frequenze del segnale illustrate sono relative a un magnete da 11,7 T e che tutti i segnali sono rappresentati come singoletti, ovvero picchi singoli).

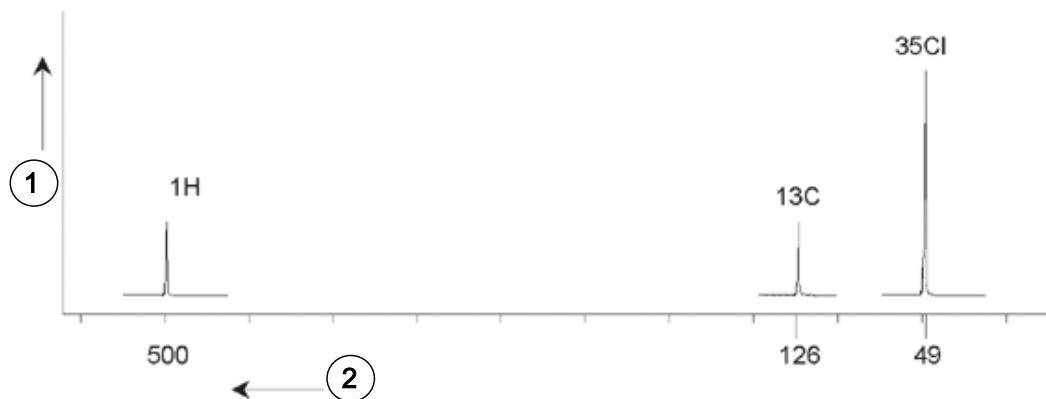


Figura 3.4: Segnali NMR emessi da  $\text{CHCl}_3$

1	Intensità
2	Frequenza (MHz)

Questo spettro artificiale mostra tre picchi che corrispondono ai tre isotopi. Tenendo conto dei numeri relativi dei tre isotopi, ci si potrebbe aspettare che il rapporto dell'intensità dei picchi di cloro, idrogeno e carbonio fosse 3:1:1. Tuttavia, deve essere tenuta in considerazione anche l'abbondanza naturale dei tre isotopi, che comporta un rapporto di 227:100:1. L'utente può verificare che i rapporti dell'intensità dei picchi determinata sperimentalmente non è in accordo con questi valori. Il motivo di questa discrepanza è la sensibilità intrinseca alla tecnica NMR di ciascun isotopo. L' $^1\text{H}$  è 63 volte più sensibile all'NMR del  $^{13}\text{C}$ . Questo significa che se anche un campione contenesse lo stesso numero di nuclei  $^1\text{H}$  e di nuclei  $^{13}\text{C}$ , l'intensità dei segnali  $^1\text{H}$  sarebbe 63 volte superiore a quella dei segnali  $^{13}\text{C}$ .

Con un grafico come quello della figura di sopra, si perderebbe ogni informazione dettagliata e non sarebbe possibile determinare in modo preciso il valore della frequenza. Si direbbe che lo spettro mostra una scarsa risoluzione (la risoluzione orizzontale di uno spettro è una misura di quanto gli spettri di due segnali vicini in frequenza siano ben definiti).

Un'ulteriore complicazione è l'enorme intervallo nella scala verticale. La variazione nella sensibilità intrinseca all'NMR, abbinata alle variazioni nell'abbondanza naturale, spesso rende improponibile riportare su un unico grafico i segnali di isotopi diversi. Di fatto, la risoluzione verticale dello spettro sarà molto scarsa (la risoluzione verticale, cioè il rapporto tra segnale e rumore di uno spettro è una misura della sensibilità).

Se la nostra analisi del cloroformio si dimostra piuttosto complicata, è perché stiamo tentando di confrontare i segnali di tre nuclei diversi osservati su un unico spettro (trascurando per il momento qualsiasi considerazione su limiti hardware ed elettronici). Pertanto, in pratica gli esperimenti NMR vengono eseguiti osservando un solo nucleo. Sebbene sia possibile eccitare simultaneamente più di un isotopo, usando più di una frequenza portante (per esempio in esperimenti con disaccoppiamento), osserviamo solo i segnali di un singolo isotopo. Questo semplifica enormemente l'analisi dello spettro.

In precedenza abbiamo detto che le variazioni nella frequenza di risonanza di base determinate dall'intorno atomico locale tendono ad essere relativamente piccole. Quindi, non si avranno ampi intervalli spettrali. Inoltre, l'abbondanza naturale e la sensibilità intrinseca saranno sempre le stesse per ciascun isotopo. Quindi, l'intensità relativa diciamo di due segnali emessi dagli isotopi  $^1\text{H}$  su un singolo spettro dipenderà esclusivamente dal numero di atomi che contribuiscono al segnale. Questo semplifica notevolmente l'analisi degli spettri per ottenere informazioni quantitative. Prima di procedere ulteriormente con una descrizione più dettagliata di NMR, il lettore deve acquisire familiarità con il concetto di misurazione dei segnali in *ppm* (parti per milione) rispetto a un segnale di riferimento.

## 3.2 Composti di riferimento, Hertz, ppm

È già stato affermato che i segnali NMR vengono analizzati in base a due caratteristiche, intensità e frequenza. Le frequenze assolute vengono misurate in Hertz (Hz - cicli al secondo) o Mega Hertz (MHz). L'analisi dei segnali misurati è semplificata se tutte le frequenze vengono misurate rispetto a un riferimento. Per la spettroscopia NMR  $^1\text{H}$  il riferimento consigliato è una sostanza chimica chiamata tetrametilsilano (TMS). Quando si acquisisce uno spettro  $^1\text{H}$  o uno spettro  $^{13}\text{C}$ , la presenza di TMS dà luogo a un singolo picco facilmente identificabile. Questo picco è posto a zero e le frequenze di tutti gli altri picchi vengono determinate relativamente alla frequenza del TMS. Quindi, si può dire che un segnale è 2,5 kHz *sopra* il picco del TMS. Questo è preferibile a riportare la frequenza assoluta del segnale che potrebbe essere qualcosa del tipo 500,1325 MHz.

Riferire i segnali al picco del TMS chiaramente riduce il numero di cifre necessarie per descrivere la frequenza di un segnale. Tuttavia, questo potrebbe essere ulteriormente semplificato se si usassero come unità di misura le ppm anziché gli Hertz. L'unità di misura ppm rappresenta le frequenze come una frazione della frequenza di risonanza assoluta che dipenderà dalla forza del magnete. Il vantaggio dell'unità di misura ppm è che le misurazioni della frequenza sono indipendenti dalla forza del magnete. Questo semplifica enormemente il confronto tra spettri acquisiti su spettrometri differenti.

Nel diagramma che segue sono riportati i fattori di conversione da usare per passare da Hertz a ppm e viceversa.

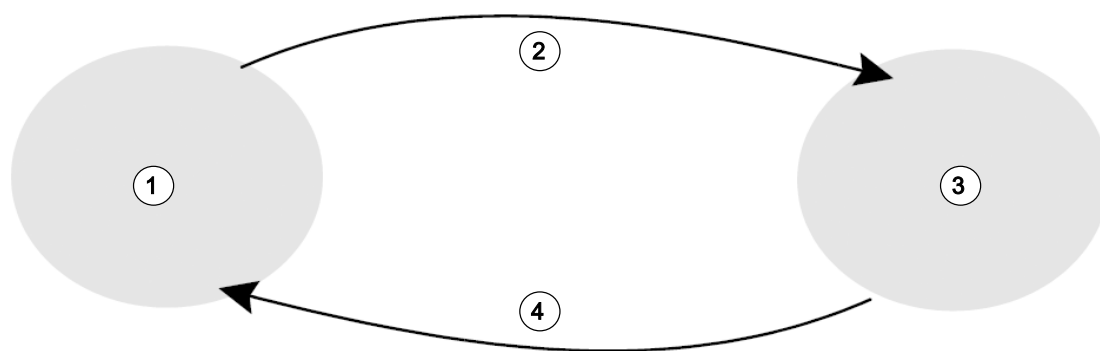


Figura 3.5: Conversione di Hertz e ppm

1	Hertz	3	ppm
2	Dividere per la frequenza portante (SFO1) in MHz	4	Moltiplicare per la frequenza portante (SFO1) in MHz

I vantaggi di usare le ppm come unità di misura sono illustrati in modo migliore con un esempio pratico.

Supponiamo di osservare un segnale  $^1\text{H}$  a 2,5 kHz sopra il picco del TMS usando una frequenza portante (SF01) di 500 MHz. La frequenza di qualsiasi segnale NMR emesso è direttamente proporzionale alla forza del magnete. Lo stesso segnale apparirebbe a 3,0 kHz sopra il picco del TMS su uno spettrometro a 600 MHz e a 2,0 kHz sopra il picco del TMS su una macchina a 400 MHz. Una singola conversione potrebbe non rappresentare un grande inconveniente, ma deve essere eseguita per tutti i picchi di ciascun sistema. Ora consideriamo lo stesso segnale espresso in ppm.

Frequenza in Hertz divisa per SF01 = Frequenza in ppm

Esempi:

$$2500 \text{ Hz} / 500 \text{ MHz} = 5 \text{ ppm}$$

$$3000 \text{ Hz} / 600 \text{ MHz} = 5 \text{ ppm}$$

$$2000 \text{ Hz} / 400 \text{ MHz} = 5 \text{ ppm}$$

Il segnale  $^1\text{H}$  può ora essere descritto come situato a 5 ppm *sopra* (cioè a campi più bassi) il picco del TMS indipendentemente dalla frequenza dello spettrometro.

Utenti esperti usano sempre le ppm e gli spettri riportati nelle pubblicazioni scientifiche mostrano la scala orizzontale graduata in ppm e non in Hertz.

Il lettore deve sapere che nell'esempio sopra riportato sono state fatte alcune semplificazioni. Il valore della frequenza portante di  $^1\text{H}$  su uno spettrometro a 500 MHz non sarà esattamente 500 MHz. La frequenza portante da usare nel calcolo delle ppm deve essere il valore preciso assegnato al parametro SF01. Analogamente per gli spettrometri a 600 MHz e 400 MHz, le frequenze portanti di  $^1\text{H}$  non saranno esattamente 600 MHz e 400 MHz, rispettivamente.

Si noti inoltre che un valore ppm positivo denota una frequenza superiore a quella del TMS ed è definita come *a campi più bassi* rispetto al TMS.

### 3.3 NMR del protone. Chemical shift

Dal momento che l'isotopo  $^1\text{H}$  è quello più comunemente osservato negli esperimenti NMR, questo isotopo verrà ora trattato in maggiore dettaglio. Un nucleo di  $^1\text{H}$  contiene un singolo protone e gli spettri in cui  $^1\text{H}$  rappresenta il nucleo osservato sono normalmente denominati spettri protonici.

In precedenza è stato affermato che un protone in un magnete di 11,7 T esibirà una frequenza di risonanza di base di circa 500 MHz, ma l'esatta frequenza di risonanza dipenderà dall'intorno atomico locale. Un protone in una molecola di cloroformio risuona a una frequenza leggermente diversa da quella di un protone in una molecola di benzene ( $\text{C}_6\text{H}_6$ ). Pertanto, la frequenza emessa funge da etichetta che fornisce agli analisti informazioni qualitative sul vicinato atomico locale in cui si trova un protone. Questa è la base dell'NMR.

La variazione nella frequenza di risonanza precisa è detta *spostamento chimico*. La frequenza di risonanza viene spostata per effetto degli atomi adiacenti e dell'entità della schermatura magnetica degli elettroni locali, come discusso in precedenza. L'entità dello spostamento è normalmente misurata in ppm rispetto al picco del TMS che è posto come riferimento a 0 ppm.

La maggior parte dei protoni, indipendentemente dal composto organico a cui sono legati, presenta spostamenti chimici entro 14 ppm dal TMS. La figura che segue rappresenta un'illustrazione dei tipici spostamenti chimici di protoni nei composti organici.

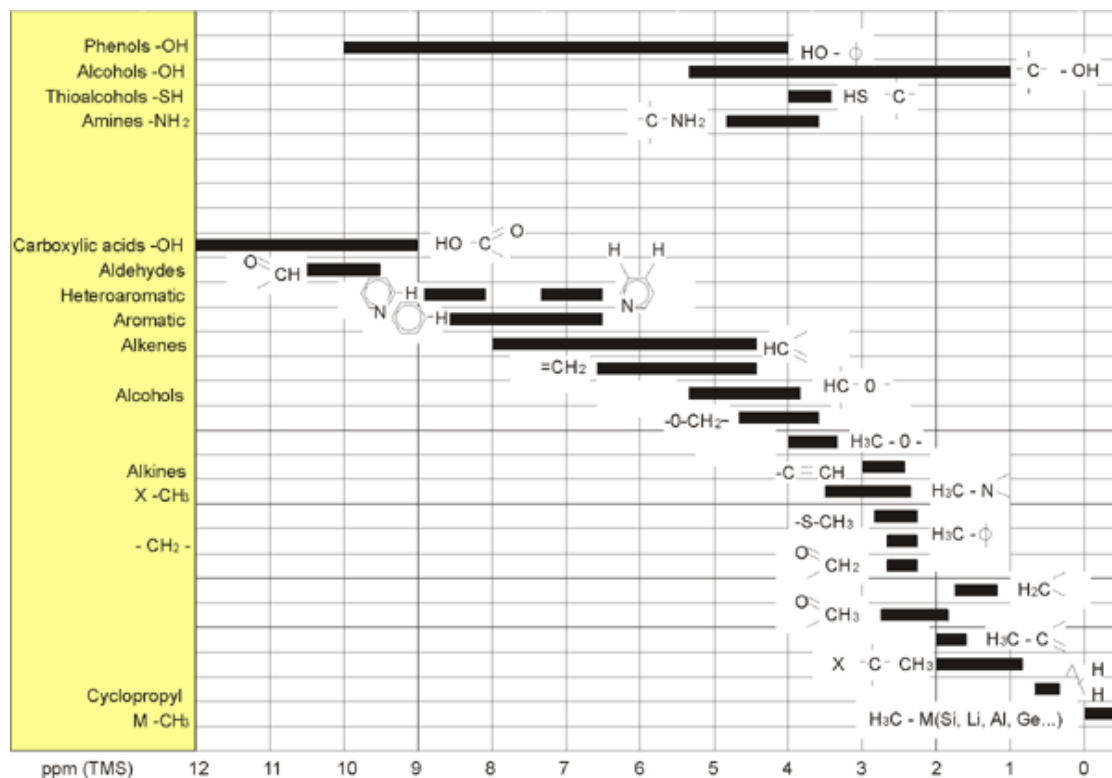


Figura 3.6: Spostamenti chimici di  $^1\text{H}$  nei composti organici

### 3.4 Spettro del protone del benzene

La struttura dell'anello benzenico è riportata nella figura seguente:

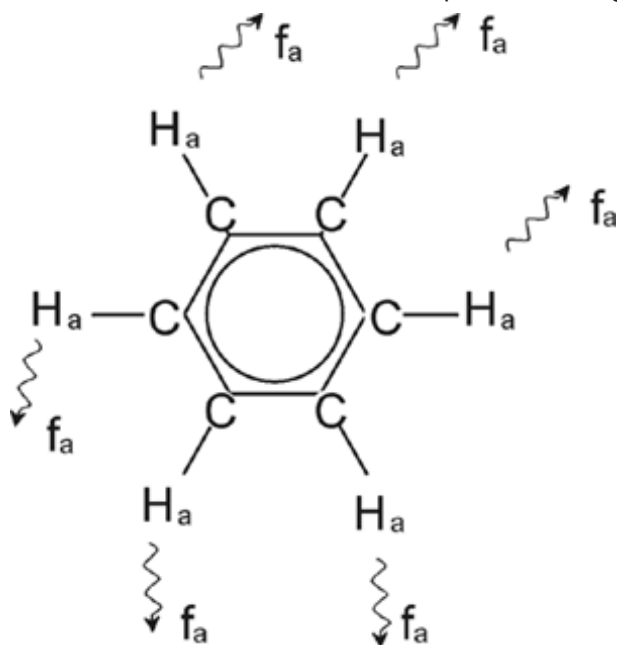


Figura 3.7: Anello benzenico

Tutti i sei protoni (denominati  $H_a$ ) possono essere considerati identici. Ciascuno di essi è legato mediante legame singolo a un atomo di carbonio. Ogni atomo di carbonio a sua volta forma due legami aromatici con gli atomi di carbonio più vicini. Quindi ciascuno dei sei protoni si trova in un intorno chimico identico ed è detto *chimicamente equivalente*, e in questo caso anche *magneticamente equivalente*. Tutti i sei protoni risuoneranno esattamente alla stessa frequenza  $f_1$  senza mostrare un profilo di accoppiamento. Pertanto, per il benzene puro possiamo aspettarci un singolo segnale. La figura che segue riporta uno spettro del benzene in acetone- $d_6$  e mostra che il segnale è posto a 7,5 ppm.

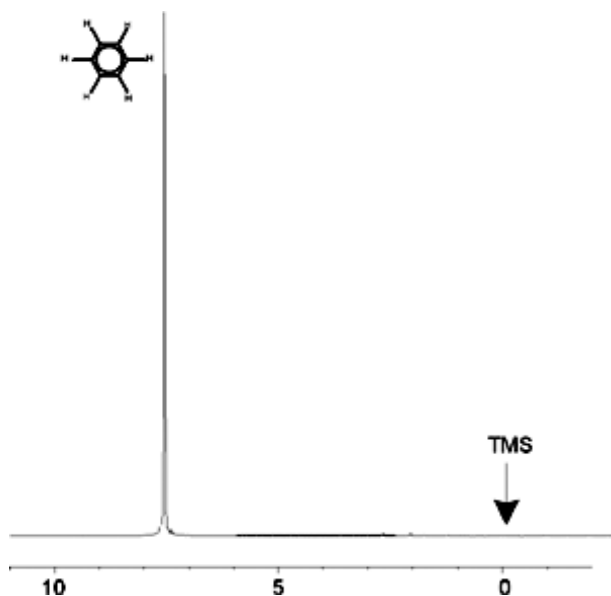


Figura 3.8: Spettro del benzene

## 3.5 Spettro dell'acetato di benzile

Il benzilacetato ( $C_6H_5 - CH_2 - O - CO - CH_3$ ) è una molecola organica più complicata la cui struttura è illustrata nella figura seguente:

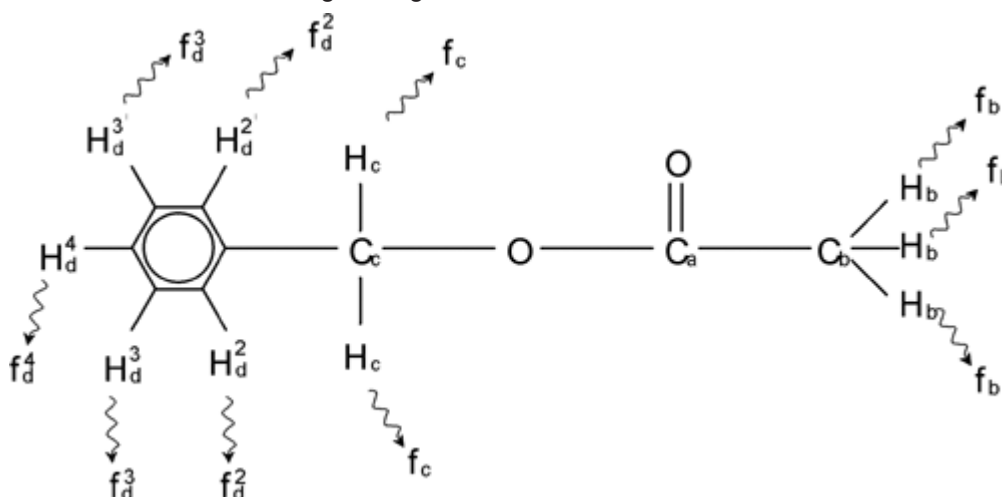


Figura 3.9: Benzilacetato

Ora possiamo distinguere tre diversi gruppi di protoni che sono stati denominati in modo diverso. Ad esempio, i tre protoni denominati  $H_b$  si trovano chiaramente in un intorno atomico diverso da quello dei due protoni denominati  $H_c$ .

I tre protoni  $H_b$  sono legati al carbonio  $C_b$  che è legato mediante legame singolo a un altro atomo di carbonio  $C_a$ . I due protoni  $H_c$  sono legati al carbonio  $C_c$  che a sua volta è legato mediante legame singolo all'anello benzenico e a un atomo di ossigeno. Il terzo gruppo di protoni comprende i cinque protoni  $H_d$  dell'anello benzenico stesso. La figura che segue è uno spettro protonico del benzilacetato in acetone- $d_6$ . In questo spettro ci aspettiamo tre segnali che corrispondono ai tre gruppi di protoni.

Si noti che la posizione dei segnali dai protoni dell'anello benzenico è stata spostata leggermente da 7,5 ppm (mostrata nella figura dello spettro del benzene) a circa 7,2 ppm (mostrata nella figura che segue).

I protoni dell'anello benzenico non sono più magneticamente equivalenti, in una certa misura non sono nemmeno chimicamente equivalenti e sono stati denominati di conseguenza. Dalla figura 3.10 risulta chiaro che il segnale derivante dai protoni  $H_d$  è un multipletto, ma tale dettaglio sarà trascurato fino al prossimo paragrafo. I tre picchi protonici mostrati in questa figura hanno intensità chiaramente diverse.

L'analisi quantitativa dello spettro è relativamente semplice, poiché tutti i segnali sono emessi dallo stesso isotopo  $^1H$ , cioè l'abbondanza naturale e la sensibilità intrinseca alla tecnica NMR sono uguali per ciascun picco. Pertanto il rapporto dell'area sottostante i picchi del benzene, del  $CH_2$  e del  $CH_3$  deve essere pari a 5:2:3 rispettivamente, in accordo con il numero di protoni.

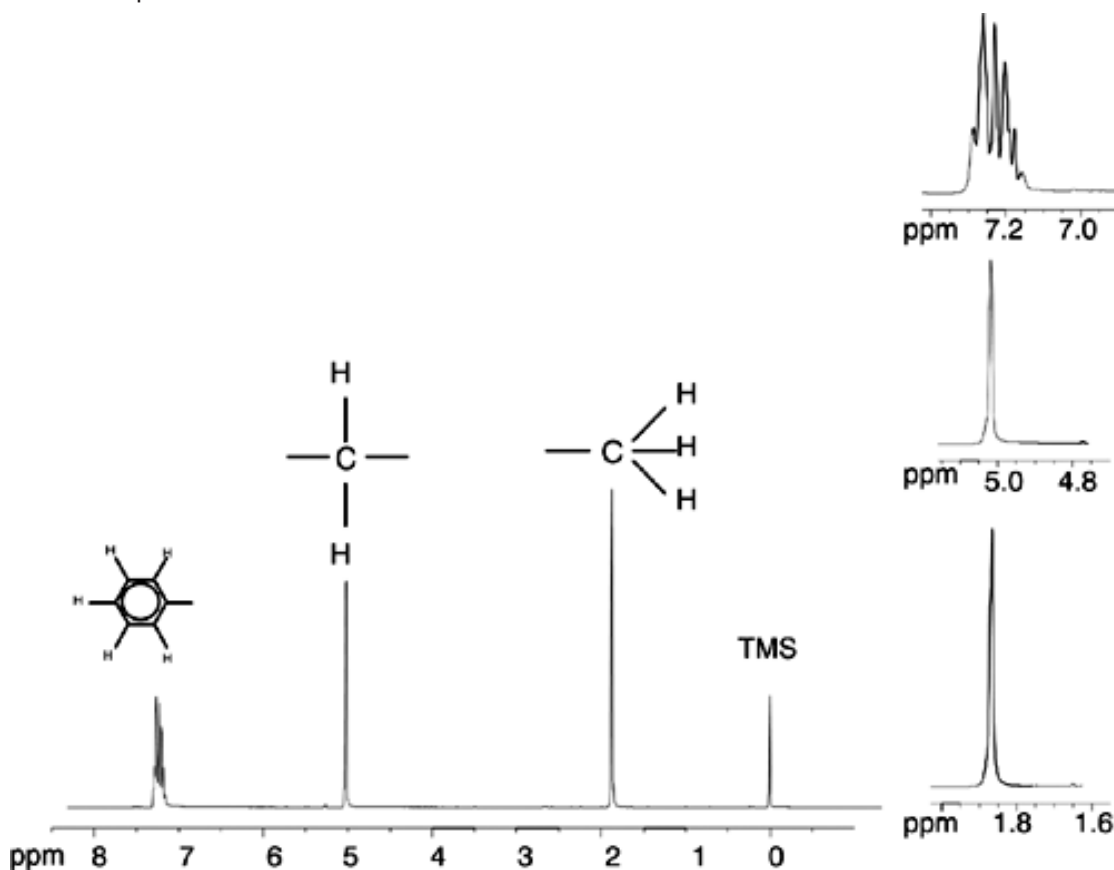


Figura 3.10: Spettro protonico del benzilacetato

### 3.6 Spettro del protone dell'etilbenzene con accoppiamento spin-spin

La descrizione degli spettri protonici NMR finora è stata notevolmente semplificata in quanto tutti i segnali, ad eccezione di quelli derivati dall'anello benzenico del benzilacetato, sono stati singoletti. La struttura del composto organico etilbenzene e il corrispondente spettro protonico sono illustrati rispettivamente nella figura dell'etilbenzene e nella figura dello spettro dell'etilbenzene. Come prima, i protoni sono stati denominati secondo tre gruppi distinti corrispondenti ai tre intorni atomici di base.

La differenza più evidente tra i segnali di questo spettro e quelli del benzilacetato è lo splitting in **multipletti**. Il segnale emesso dai protoni CH<sub>3</sub> è un **tripletto** e il segnale emesso dai protoni CH<sub>2</sub> è un **quartetto**. Si noti inoltre che le posizioni dei segnali non coincidono. I protoni CH<sub>3</sub> nel benzilacetato emettono un segnale a 1,85 ppm, mentre i corrispondenti protoni CH<sub>3</sub> nell'etilbenzene emettono il segnale tripletto a 1,25 ppm. Ciò non sorprende, perché i due gruppi CH<sub>3</sub> si trovano in diversi intorni chimici.

La causa dello splitting in un multipletto è dovuta a un effetto noto come accoppiamento spin-spin. Un'esauriente spiegazione di questo effetto va oltre lo scopo di questo manuale e il lettore dovrebbe consultare un testo NMR standard per i dettagli. Per il nostro scopo, è sufficiente una breve descrizione dell'accoppiamento spin-spin.

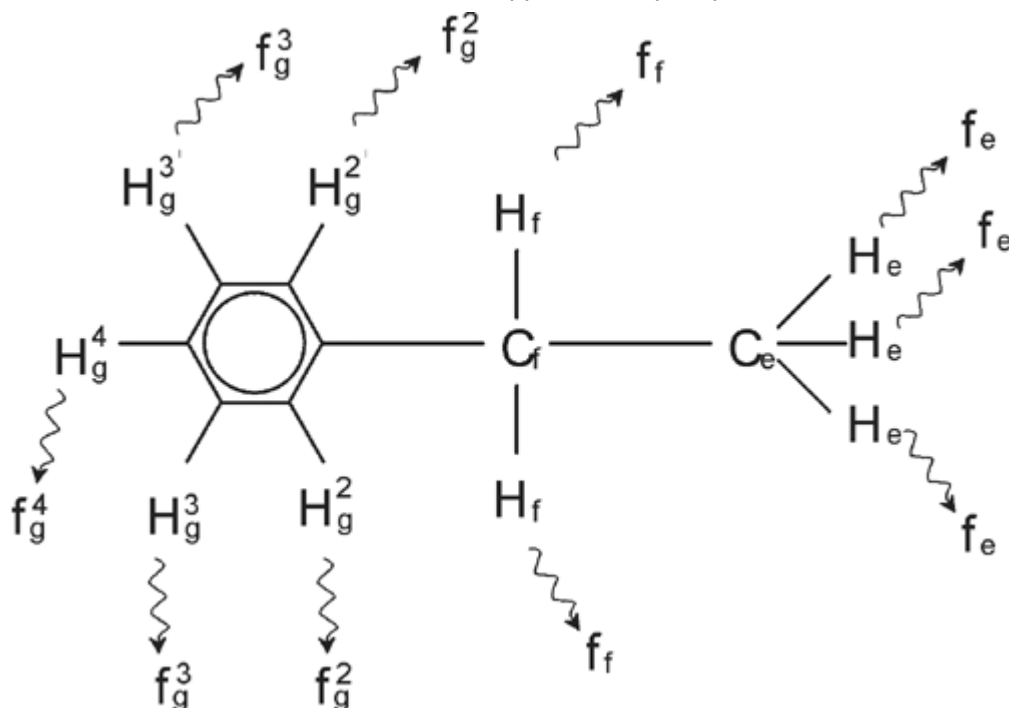


Figura 3.11: Etilbenzene

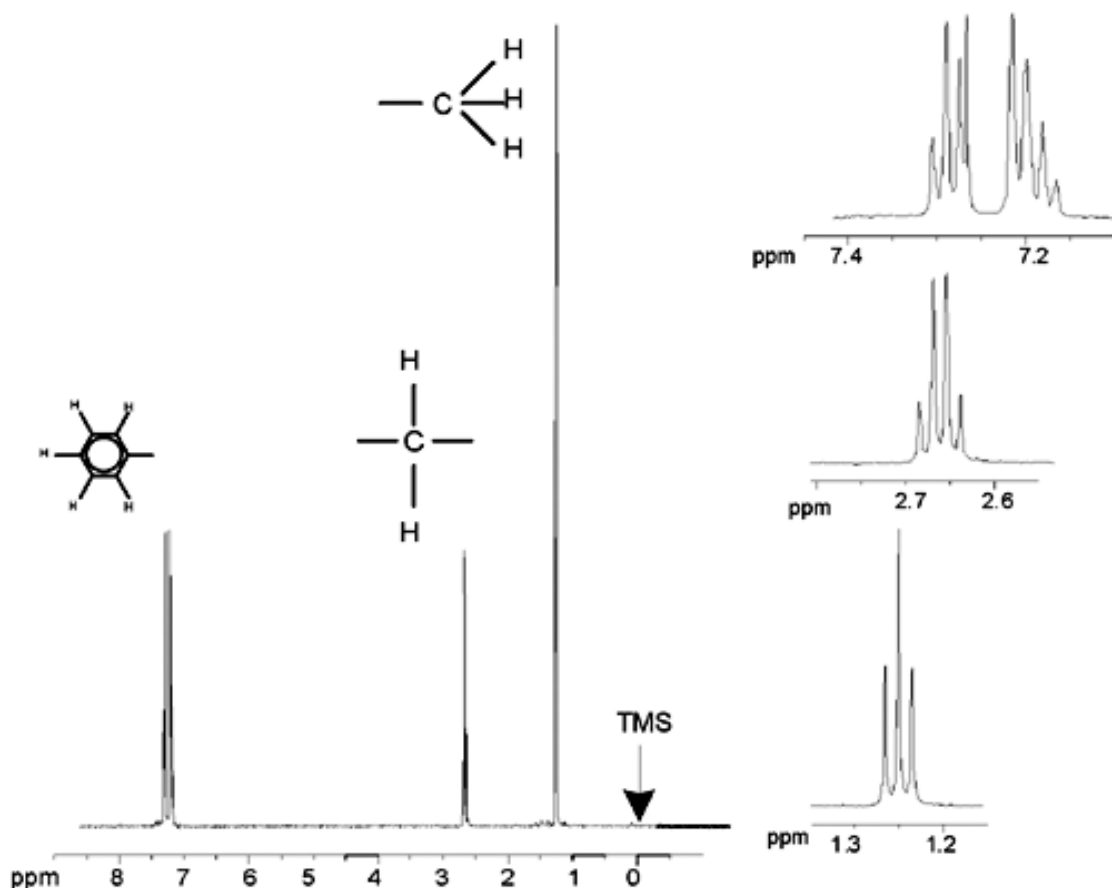


Figura 3.12: Spettro dell'etilbenzene

Lo splitting dei segnali NMR nella figura dell'etilbenzene deriva da un'interazione magnetica tra protoni vicini. I due protoni H<sub>f</sub> sono magneticamente equivalenti e non interagiscono tra loro. Allo stesso modo, i tre protoni H<sub>e</sub> sono magneticamente equivalenti e non hanno alcun effetto reciproco. Tuttavia, i due protoni H<sub>f</sub> e i tre protoni H<sub>e</sub> sono posti in ambienti locali diversi e sono "accoppiati" tra loro tramite i loro elettroni di legame. Il risultato netto di questo accoppiamento è che i due gruppi di protoni interagiscono tra loro e causano lo splitting dei segnali NMR.

I due protoni H<sub>f</sub> possono combinarsi per esistere in tre possibili stati magnetici (questo è il risultato dell'orientazione degli spin, da cui il termine accoppiamento spin-spin). Come risultato dell'accoppiamento, i segnali NMR emessi dai protoni H<sub>e</sub> risuonano a tre frequenze possibili e si osserva un tripletto.

Allo stesso modo, l'effetto dei protoni H<sub>e</sub> è quello di separare i segnali H<sub>f</sub>. I tre protoni H<sub>e</sub> possono combinarsi per esistere in quattro possibili stati magnetici. Di conseguenza, i protoni H<sub>f</sub> risuonano a quattro frequenze possibili, quindi il segnale viene suddiviso in un quartetto.

Anche i segnali dei protoni del benzene sono stati separati a causa della non equivalenza magnetica e del conseguente accoppiamento spin-spin. A questo punto sorge la domanda perché i protoni CH<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub> dell'etilbenzene interagiscono tra loro mentre i due analoghi gruppi di protoni del benzilacetato non interagiscono. La risposta risiede nel numero di legami che separano i due gruppi. Nell'etilbenzene i due gruppi protonici sono legati ad atomi di carbonio adiacenti e ci si può aspettare che interagiscano a sufficienza tra loro. Tuttavia, nel benzilacetato i due atomi di carbonio C<sub>α</sub> e C<sub>β</sub> sono connessi mediante due ulteriori legami con l'ossigeno e con un altro atomo di carbonio. Di conseguenza, i gruppi protonici sono troppo distanti tra loro per mostrare un accoppiamento spin-spin significativo.

### 3.7 Disaccoppiamento

L'effetto dell'accoppiamento spin-spin possono essere rimossi con una tecnica detta "disaccoppiamento". L'effetto del disaccoppiamento è quello di mascherare la presenza di un particolare gruppo protonico, ad esempio i protoni  $H_e$  nella figura dell'etilbenzene. Si acquisisce uno spettro come se i protoni  $H_e$  fossero assenti. Questo si ottiene trasmettendo una sequenza di impulsi di disaccoppiamento alla frequenza di risonanza  $f_e$  dei protoni  $H_e$ , quindi modificando in modo permanente l'orientazione di spin di questi protoni. Per lo spettro illustrato nella figura dello spettro dell'etilbenzene la frequenza di disaccoppiamento sarebbe 1,25 ppm sopra il picco del TMS.

Gli impulsi di disaccoppiamento tendono a essere più lunghi e di potenza inferiore rispetto agli impulsi di eccitazione. La figura che segue è una rappresentazione di un esperimento di disaccoppiamento, mentre la figura dello spettro dell'etilbenzene con disaccoppiamento omonucleare mostra lo spettro disaccoppiato. Il quartetto  $CH_2$  ora è diventato un **singoletto**. Gli spettroscopisti dicono che il quartetto è collassato in un singoletto. Inoltre, l'area sottostante il singoletto deve essere uguale a quella del quartetto originale (confrontare le altezze relative dei picchi del  $CH_2$  e dell'anello benzenico nelle due figure). Il segnale relativo al gruppo  $CH_3$  a 1,25 ppm non compare nello spettro disaccoppiato, in quanto gli impulsi di disaccoppiamento eliminano proprio gli effetti della presenza dei protoni  $CH_3$ .

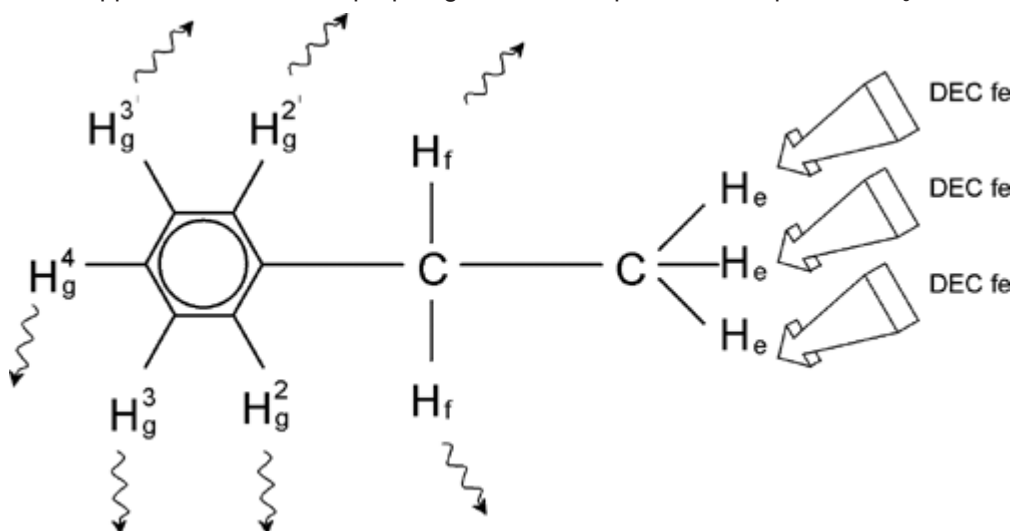


Figura 3.13: Esperimento di disaccoppiamento

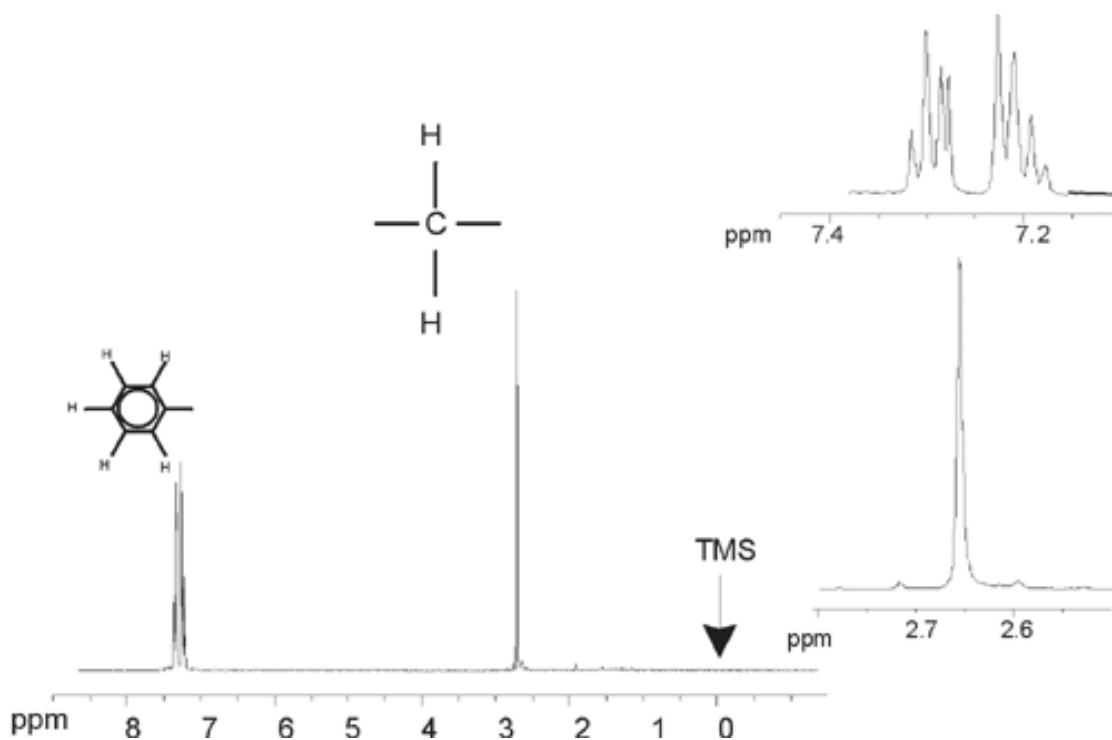


Figura 3.14: Spettro dell'etilbenzene con disaccoppiamento omonucleare

L'esperimento appena descritto è un esempio di disaccoppiamento omonucleare in quanto lo stesso isotopo,  $^1\text{H}$  in questo caso, è osservato e disaccoppiato. Si parla di disaccoppiamento eteronucleare quando l'isotopo osservato è diverso da quello disaccoppiato. Nel capitolo [Spettro  \$^{13}\text{C}\$  con disaccoppiamento protonico \[p. 67\]](#) di questo manuale si eseguirà un esperimento di disaccoppiamento eteronucleare dove si osserva  $^{13}\text{C}$  e si disaccoppia  $^1\text{H}$ . Gli spettrometri AVANCE sono in grado di eseguire tipi di esperimenti molto complicati a seconda del numero di canali installati. Uno spettrometro a quattro canali può essere utilizzato per osservare un nucleo e disaccoppiarne altri tre. Avendo fino a otto canali indipendenti, il ventaglio dei possibili esperimenti si apre a dismisura. L'utente deve sapere che attualmente il fattore limitante non è la generazione degli impulsi di radiofrequenza per eccitare e disaccoppiare, ma è il trasferimento di questi impulsi al campione attraverso le sonde e in una certa misura attraverso i preamplificatori. Il routing del segnale dell'esperimento da eseguire viene impostato utilizzando il menu "edasp". Per ulteriori dettagli, consultare il manuale "Comandi e parametri di acquisizione" (P/N H9775SA3).

### 3.8 FID e spettro

I segnali emessi dagli atomi eccitati del campione vengono ricevuti dallo spettrometro e trasformati (mediante trasformata di Fourier) dal software della data station. Il processo di ricezione dei segnali NMR viene chiamato acquisizione. Si dice pertanto che i dati vengono acquisiti. Occorre a questo punto fare una distinzione tra i due termini "FID" (time domain ovvero dominio del tempo) e lo "spettro" associato (frequency domain, ovvero dominio di frequenza).

Quando viene effettuata un'acquisizione, vengono acquisiti i dati "grezzi" e il segnale ricevuto viene denominato FID (Free Induction Decay, ovvero decadimento libero dell'induzione ). Nella figura sottostante è illustrato un tipico FID.

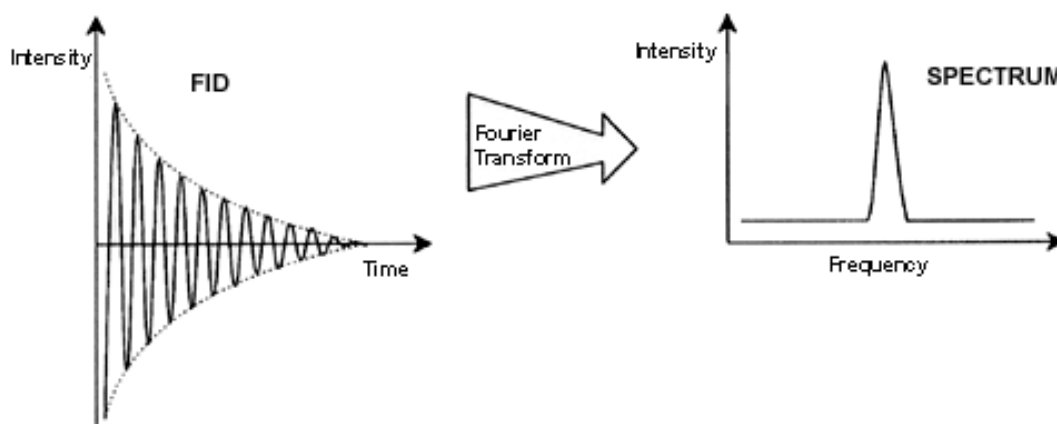


Figura 3.15: Trasformata di Fourier

Prima di poter analizzare in modo utile un FID, esso deve essere trasformato in un dominio di frequenza. Ciò si ottiene applicando una trasformata di Fourier. Una **trasformata di Fourier** è un'operazione matematica che converte il FID in uno spettro di frequenza. Un **FID** è un segnale la cui intensità varia nel tempo, mentre uno spettro raffigura la variazione dell'intensità in base alla frequenza. La trasformata di Fourier è la più importante di molte operazioni di trattamento dei dati eseguite normalmente sui dati grezzi.

## 4 Descrizione del sistema

Lo spettrometro è costituito dalle seguenti sottunità:

- **Consolle dell'operatore** che include computer host, monitor e tastiera.
- **Consolle** contenente l'hardware elettronico.
- **Sistema del magnete** che include il sistema di shim e la sonda.



Figura 4.1: Consolle AVANCE NEO e magnete Ascend

## 4.1 Panoramica della struttura di AVANCE

L'immagine che segue mostra una panoramica dell'architettura semplificata di un sistema AVANCE NEO. Utilizzare il manuale per l'assistenza avanzata BASH (Bruker Advanced Service Handbook) per ulteriori informazioni sul sistema e sull'hardware AVANCE.

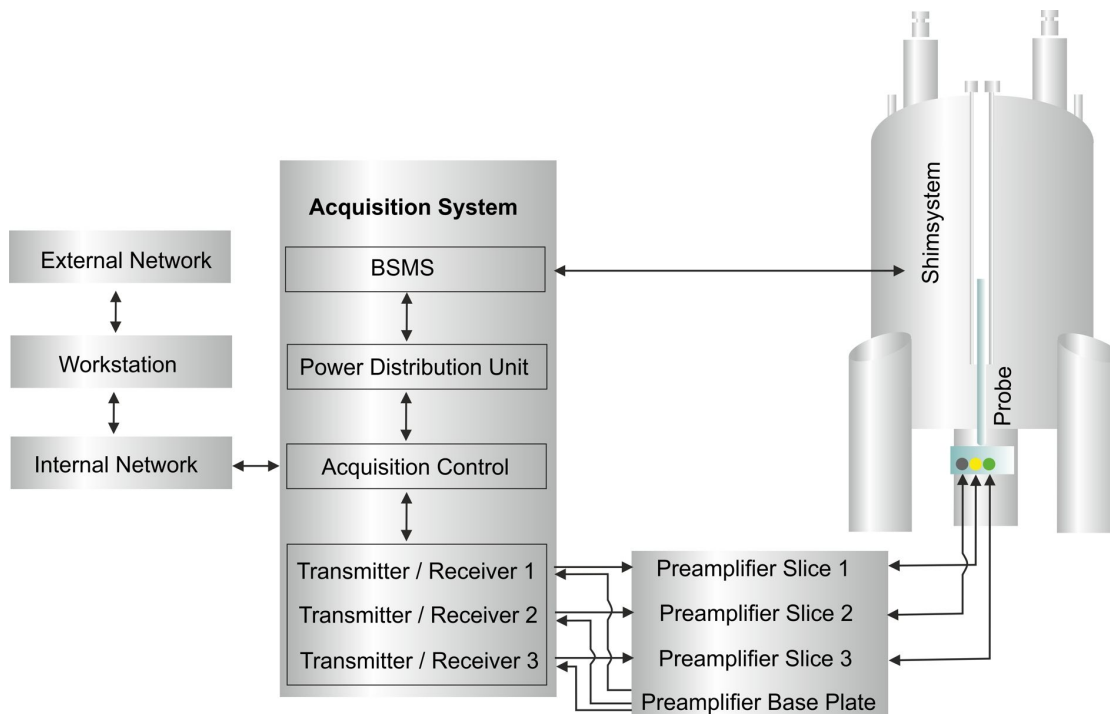


Figura 4.2: Panoramica dell'architettura AVANCE NEO

### 4.1.1 Console dell'operatore e collegamenti

La console dell'operatore controlla tutte le funzioni dello spettrometro. La progettazione e l'implementazione degli esperimenti e l'analisi dei dati sono controllate dai comandi digitati dall'operatore sulla console. Le sottounità della console dell'operatore sono le seguenti:

**Computer Host:** si tratta di un Personal Computer. Il computer host esegue il programma TopSpin e gestisce le analisi e l'archiviazione dei dati. Tutte le operazioni importanti per l'acquisizione dei dati sono controllate da un secondo sistema di elaborazione chiamato AQS sito all'interno della console stessa.

**Connessione Ethernet dal computer host all'AQS:** utilizzata per trasferire dati e istruzioni tra il computer host e l'AQS.

## 4.2 Console

Questa unità può essere una NanoBay, OneBay o TwoBay a seconda del sistema e ospita la maggior parte dell'hardware elettronico associato a uno spettrometro digitale moderno. Le unità principali sono l'**AQS**, il **BSMS** (Bruker Smart Magnet System), nonché vari amplificatori e amplificatori di gradiente (nel caso di micro imaging o diffusione).

**AQS:** le varie unità all'interno dell'AQS generano gli impulsi di radiofrequenza utilizzati per eccitare il campione e per ricevere, amplificare e digitalizzare i segnali NMR emessi dal campione. Per ogni canale RF, è presente un ricetrasmittitore (**TRX 1200**) che interpreta il programma di impulsi, lo trasforma in segnali RF e include un ricevitore, un digitalizzatore e il filtraggio digitale dei dati. Ciò significa che una consolle AVANCE è un vero sistema multi-ricezione che, per progettazione, ha tanti ricevitori quanti canali di eccitazione a impulsi. I gradienti di campo pulsato sono generati da un'unità aggiuntiva detta **GTU** (Unità di gradiente e temporizzazione). Questa unità genera anche trigger in tempo reale utilizzati per sincronizzare altre unità e riceve ingressi di trigger (ad esempio, il trigger del rotore MAS). Un segnale di clock comune per tutti i canali è fornito dalla scheda REF (Riferimento). Pertanto, tutte le frequenze nella catena RF derivano da un oscillatore al quarzo ad alta precisione per garantire il sincronismo complessivo e bassi livelli di rumore. L'AQS ospita anche l'**EPU**. Questo è un potente computer che gestisce lo spettrometro AVANCE, invia le informazioni del programma di impulsi alle unità TRX e GTU, fornisce il controllo dell'acquisizione e comunica con le workstation di elaborazione dati esterne. L'ultima fase del filtraggio digitale viene eseguita nell'EPU insieme all'accumulo dei dati FID. Quindi, le informazioni vengono trasferite tramite Ethernet a un computer host esterno per elaborazione e archiviazione ulteriori. È importante sottolineare che l'EPU ha il controllo totale sul funzionamento dello spettrometro entro la durata di un esperimento. Questo serve a garantire un funzionamento ininterrotto e l'integrità dell'acquisizione.

**BSMS:** Questo sistema è controllato tramite software usando il comando "bsmsdisp" e viene utilizzato per azionare il sistema di blocco e di shim e per controllare l'espulsione e la rotazione del campione. Anche l'unità **BSVT** è incorporata nel BSMS. La sua funzione è quella di variare la temperatura del campione in modo controllato o mantenerla a un valore costante. Inoltre, nell'unità BSMS possono essere inseriti fino a tre **GAB/3**, che forniscono i gradienti di campo pulsato per le sonde ad alta risoluzione e sono controllati dal **GTU**.

**Amplificatori**, conosciuti anche come **Trasmittitori**. Per eccitare il campione NMR sono spesso necessari segnali di ampiezza relativamente grande e, di conseguenza, è necessario amplificare i segnali RF provenienti dalle unità TRX. Gli amplificatori possono essere interni (incorporati nell'unità AQS) o esterni (unità autonome separate). L'uscita degli amplificatori è collegata direttamente all'**HPPR** (Preamplificatore ad alte prestazioni) mediante dei cavi e consente di inviare segnali RF al campione. Sebbene esista un'ampia gamma di amplificatori disponibili (compresi gli amplificatori a stato solido), le due categorie principali sono:

**Amplificatori selettivi**, ad esempio, gli amplificatori selettivi  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{13}\text{C}$  o  $^{31}\text{P}$  sono progettati in modo specifico per amplificare le frequenze più alte associate a  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{13}\text{C}$  o  $^{31}\text{P}$ .

**Amplificatori a banda larga** (anche conosciuti come amplificatori X) sono progettati per amplificare un'ampio intervallo di frequenze. Vengono usati per l'eccitazione dei cosiddetti nuclei X (cioè, tipicamente tutto eccetto  $^{19}\text{F}$  e  $^1\text{H}$ ).

Notare che i nuovi amplificatori a banda larga coprono anche il nucleo  $^{19}\text{F}$  fino a 600 MHz, il che semplifica l'uso di sonde SMART e sonde BBFO in cui la bobina X a banda larga può essere accordata fino a  $^{19}\text{F}$ .

**PDU:** Un'unità di distribuzione dell'alimentazione sul retro della consolle viene utilizzata per alimentare lo spettrometro in modo controllato. È possibile accendere/spegnere lo spettrometro AVANCE tramite un'istruzione software di TopSpin. La PDU fa in modo che tutte le unità siano accese/spente nell'ordine corretto e che le unità di potenza elevata siano accese con ritardi adeguati per limitare la corrente di spunto del sistema.

## 4.3 Collegamento tra il computer host e l'AQS

Sebbene durante una sessione tipica di TopSpin questo collegamento sia permanentemente attivo e trasparente all'utente, il collegamento viene interrotto ogni volta che il computer host o la consolle vengono spenti e deve essere ristabilito quando sono riaccesi. Questa operazione viene effettuata automaticamente.

## 4.4 Magnete, shim system e sonda

Il **magnete** genera il campo magnetico necessario per indurre le transizioni NMR. Per mantenere un sistema superconduttore, la bobina del magnete viene raffreddata a temperature molto basse usando azoto ed elio liquidi (per maggiori dettagli vedere il paragrafo [Magnete e contenitore Dewar del magnete](#) [▶ 27]).

Il **sistema di shim** a temperatura ambiente, montato sull'estremità inferiore del magnete, è un insieme di bobine di trasporto della corrente (note come shim) utilizzate per massimizzare l'omogeneità del campo compensando eventuali disomogeneità presenti. Le correnti in queste shim a temperatura ambiente (così chiamate perché non vengono raffreddate mediante immersione in un bagno di elio liquido) sono controllate dal BSMS e possono essere modificate dal display del BSMS per ottimizzare il segnale NMR. Ciò ha un effetto importante sulla risoluzione e la sensibilità del segnale. Questa azione di regolazione delle correnti nelle shim a temperatura ambiente viene definita **shimming** del magnete.

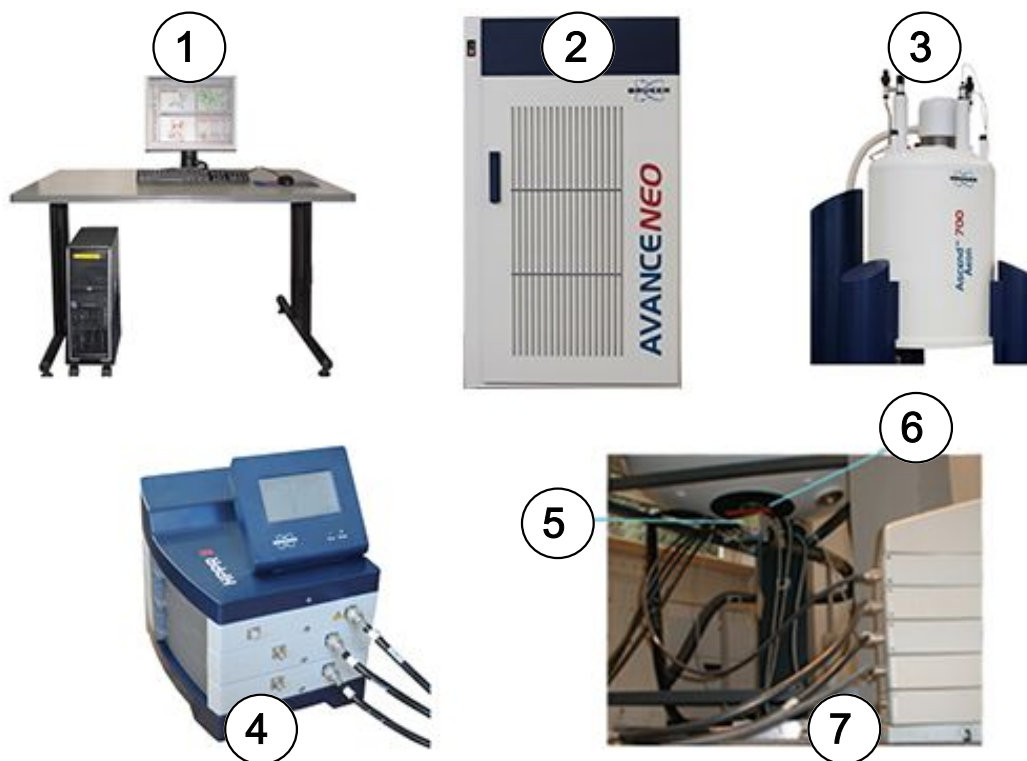


Figura 4.3: Foto del magnete, del sistema di shim, della sonda e dell'HPPR

1	Consolle dell'operatore	5	Sonda
2	Consolle	6	Sistema di shim
3	Magnete	7	Sonda e sistema di shim
4	Modulo di copertura dell'HPPR/2 con collegamenti alla sonda		

Anche se l'**HPPR/2** (Preamplificatore ad alte prestazioni) trasporta il segnale trasmesso *al* campione, la sua funzione primaria è quella di amplificare i segnali relativamente deboli emessi *dal* campione. È situato alla base del magnete per amplificare il segnale NMR alla prima opportunità e così ridurre al minimo le perdite lungo il cavo. Una volta che il segnale è stato amplificato con l'HPPR/2, eventuali perdite successive lungo il cablaggio sono meno critiche. L'HPPR/2, inoltre, trasmette e riceve i segnali di lock del deuterio (o fluoro) e viene utilizzato nella routine di oscillazione. È possibile configurare fino a 8 (**HPPR/2**) moduli individuali (escluso il modulo di copertura che è sempre presente). Una configurazione molto comune è composta da tre moduli individuali: **protone**, **X-BB** e **2H** oltre al modulo di copertura.

La sonda è inserita nel sistema di shim alla base del magnete ed è composta essenzialmente da varie bobine utilizzate per trasmettere gli impulsi di eccitazione al campione e per ricevere il segnale emesso. La sonda trasmette e riceve anche il segnale di lock.

## 4.5 Magnete e contenitore Dewar del magnete

---

Sono disponibili una vasta gamma di magneti a diverse intensità. L'**intensità del magnete** è misurata in funzione della frequenza dei segnali NMR emessi dagli atomi di idrogeno. Più intenso è il campo magnetico, più alta è la frequenza dell'idrogeno. Ad esempio, con un magnete di 500 MHz (11,7 T) si intende che quando un campione chimico viene inserito nel magnete per essere analizzato, gli atomi di  $^1\text{H}$  del campione emetteranno segnali con una frequenza molto vicina a 500 MHz. I magneti Bruker sono disponibili nell'intervallo di frequenze di 300-1000 MHz.

**I magneti superconduttori** sono **elettromagneti** e come tali si avvalgono di una corrente elettrica per generare un campo magnetico. La **bobina del magnete** è costituita da un grande avvolgimento di filo conduttore di corrente a forma di solenoide. Al centro dell'avvolgimento esiste un campo magnetico statico molto intenso. Il campione da analizzare è inserito in questo campo magnetico.

A temperature molto basse, alcuni materiali mostrano la straordinaria proprietà di superconduttività. Un filo superconduttore trasporta elettricità senza la necessità di energia motrice (ovvero, batteria o alimentazione di rete). Una volta che si instaura una corrente in un circuito superconduttore, questa continuerà a fluire per sempre. I magneti Bruker sono costituiti da un tale circuito superconduttore. L'unica manutenzione necessaria sul magnete è quella di assicurarsi che la bobina sia tenuta immersa nell'elio liquido.

Il magnete è formato da diverse sezioni. L'involucro esterno del magnete è sottovuoto e le superfici interne sono argentate (questo è lo stesso principio usato nei termos). Segue una vasca di azoto che riduce la temperatura a 77,35 K (-195,8 °C) e infine un serbatoio di elio nel quale è immersa la bobina superconduttiva. Questo serbatoio è isolato termicamente rispetto alla vasca di azoto da una seconda sezione sottovuoto (vedere l'immagine in basso).

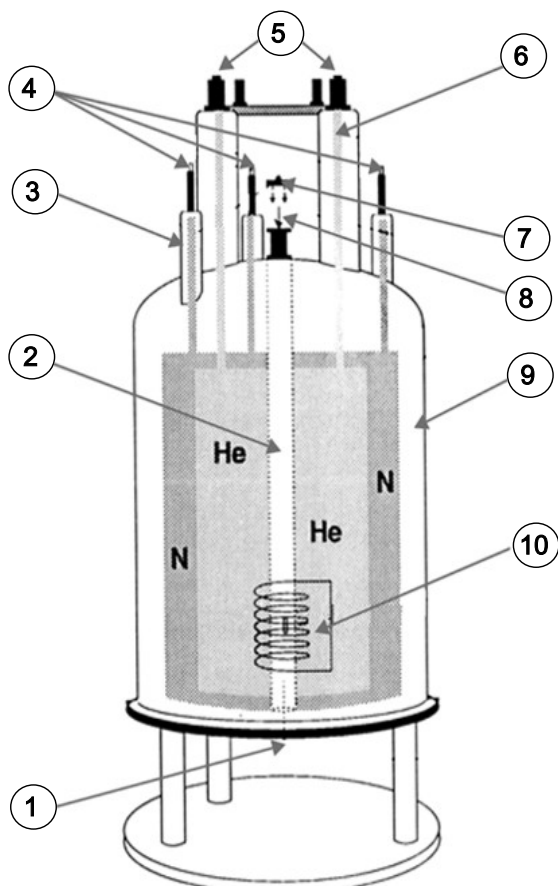


Figura 4.4: Magnete superconduttore

1	Inserire la sonda qui	6	Torretta dell'elio
2	Apertura	7	Tappo di metallo
3	Torretta dell'azoto	8	Inserire il campione qui
4	Porte dell'azoto	9	Camera del vuoto
5	Porte dell'elio	10	Magnete

### 4.5.1 Cavità del magnete a temperatura ambiente

I serbatoi di elio e azoto sono avvolti attorno a una colonna centrale conosciuta come apertura del magnete. Un tappo di metallo normalmente chiude la parte superiore dell'apertura. I magneti sono disponibili con apertura standard (54 mm) o apertura larga (89 mm). I campioni da analizzare vengono introdotti nel magnete dalla parte superiore dell'apertura. Le sonde che ospitano il campione e trasportano i segnali al e dal campione, vengono inserite dalla parte inferiore.

### 4.5.2 Serbatoio di elio

---

In un magnete standard il serbatoio di elio è sospeso a due sottili colonne che si estendono al di sopra del magnete. L'accesso al serbatoio di elio è possibile mediante due punti di accesso. Uno di tali punti accesso permette il rabbocco del serbatoio con elio liquido ed è anche il punto di entrata del  **sensore del livello dell'elio** . L'altro punto accesso viene usato solo quando il magnete viene energizzato o disenergizzato. Sulla sottile colonna di elio possono essere applicate varie valvole, per tenere sotto controllo l'emissione delle piccole quantità di elio che evaporano inevitabilmente.



**Nota:** La manipolazione delle valvole ed il rabbocco del magnete con elio liquido dovrebbe essere effettuato unicamente da personale addestrato.

---

### 4.5.3 Serbatoio di azoto

---

Le tre sottili colonne al di sopra del magnete permettono l'accesso al serbatoio di azoto.

## 4.6 Introduzione al sistema di lock

---

Questa sezione è stata inclusa per fornire all'utente una comprensione basilare dei principi del sistema di stabilizzazione (lock system). Aspetti pratici, quali il lock sul campione, verranno trattati nella sezione Fare il Lock sul campione.

Scopo del sistema di lock è assicurare che l'intensità del campo magnetico circostante il campione non si alteri durante l'esperimento ovvero che il campo magnetico non venga modulato da disturbi esterni. L'analisi NMR riguarda la misurazione della frequenza precisa dei segnali emessi dal campione. Le frequenze di tali segnali sono direttamente proporzionali all'intensità del campo magnetico, per cui, se l'intensità del campo magnetico varia, anche la frequenza emessa varierà di conseguenza. Pertanto, l'utente deve essere sicuro che l'intensità del campo magnetico venga sempre mantenuta esattamente allo stesso livello, questa stabilizzazione viene indicata come "locking" del campione". Il **sistema di lock** è essenzialmente uno spettrometro separato studiato per osservare il deuterio. Occorre menzionare che i segnali emessi dal deuterio normalmente sono ben lontani da frequenze interessanti. Tuttavia, se la frequenza del deuterio è inadatta, è possibile usare una stabilizzazione del **fluoro** (19F). Considerato che è molto più popolare, in questa sede verrà trattata solo la stabilizzazione del deuterio, pur facendo presente al lettore che il principio di stabilizzazione del deuterio è identico a quello del fluoro.

Nei sistemi AVANCE, il BSMS fornisce l'hardware necessario per attuare il lock, mentre un modulo separato di deuterio nell'HPPR trasmette e riceve i segnali di lock. Ovviamente occorre introdurre del deuterio nei campioni sottoposti ad analisi. Ciò è possibile utilizzando semplicemente un solvente deuterato per disciogliere il campione. Un *solvente deuterato* è un solvente con una grande percentuale di atomi di idrogeno sostituiti dal deuterio. I solventi deuterati comunemente usati sono l'acetone d6, il benzene d6, il cloroformio d e il DMSO-d6 (dimetilsolfossido), anche se sono disponibili molti altri solventi. Il campione usato in questo manuale per illustrare alcune tecniche NMR basilari è l'antranilato di mentile in DMSO-d6.

La frequenza dei segnali emessi dal deuterio per un magnete di dimensioni specifiche è precisamente nota. Pertanto, se l'intensità del campo magnetico è corretta, qualsiasi nucleo di deuterio del campione dovrebbe emettere esattamente questa frequenza. Se l'intensità del campo magnetico varia, anche la frequenza emessa varierà di conseguenza. Il sistema di lock fa uso di un ricevitore (contenuto nel rack del BSMS) per monitorare la frequenza del deuterio e adatta di conseguenza l'intensità del campo magnetico.

Il ricevitore del sistema di lock è studiato in modo tale che, quando il campo magnetico è corretto (es. quando viene rilevata la frequenza corretta del deuterio), non vengono effettuati adattamenti al campo magnetico. Tuttavia, qualora l'intensità del campo magnetico dovesse variare (drift), viene modificata la corrente in una speciale bobina (bobina H0) situata nel sistema di shimming del magnete, con l'effetto di riportare l'intensità del campo magnetico al valore corretto. La frequenza del deuterio viene misurata varie migliaia di volte al secondo. Pertanto, finché il sistema è stabilizzato, l'utente può essere sicuro che il campo magnetico viene mantenuto ad una intensità costante durante l'acquisizione dei dati.

### 4.7 Sonde

La sonda è progettata per ospitare il campione, trasmettere i segnali di radiofrequenza che eccitano il campione e ricevere la risposta emessa. La trasmissione e la ricezione avvengono mediante apposite bobine RF.

La sonda viene inserita nella parte inferiore del magnete e alloggia all'interno delle shim a temperatura ambiente. I cavi coassiali trasportano i segnali di eccitazione dagli amplificatori della consolle alla sonda e il segnale NMR di ritorno dal campione al ricevitore. I cavi vengono instradati mediante i preamplificatori (l'HPPR) situati in prossimità della base del magnete o su sistemi NanoBay integrati nella consolle. I **preamplificatori** sono necessari per aumentare l'intensità dei segnali NMR che in genere è molto debole.

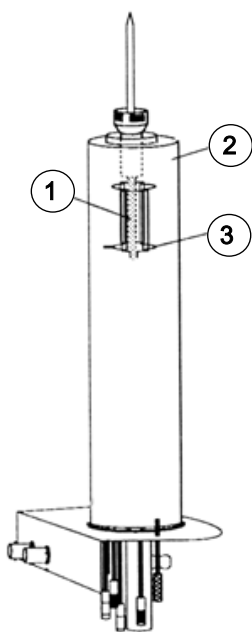


Figura 4.5: Campione nella sonda

1	Volume del campione	3	Bobine
2	Sonda		

Le sonde sono disponibili in varie dimensioni e diversi tipi. La dimensione della sonda è espressa in termini di dimensioni della provetta del campione che può ospitare; i diametri più frequenti delle provette di campione sono compresi tra 5 mm e 10 mm. Vengono utilizzati diversi tipi di sonde a seconda del tipo di esperimento. **Le sonde selettive** sono appositamente progettate per osservare nuclei specifici, ad esempio  $^{13}\text{C}$ , mentre le sonde multinucleari (X-BB o a banda larga) possono essere utilizzate per analizzare un'ampia gamma di nuclei. I tipi di sonde si differenziano fisicamente tra loro, in base al numero e al tipo di bobina interna. Inoltre, il diametro esterno e la lunghezza della sonda dipendono dalle specifiche dei vari magneti (apertura larga o standard, lunghezze differenti dalla base al centro del campo magnetico a seconda dell'intensità del campo).

I segnali entrano ed escono dalle bobine della sonda tramite connettori chiaramente etichettati e situati alla base della sonda stessa. Lo stesso cavo viene utilizzato sia per portare il segnale alla sonda che per riceverlo. Ogni sonda ha una bobina interna (la **bobina di osservazione**). Questa bobina è situata il più possibile vicino al volume del campione per massimizzare la sensibilità. La codifica a colori del BNC della bobina interna segue una semplice regola: ha sempre lo stesso colore della striscia rettangolare posizionata direttamente sopra i connettori BNC. La figura che segue mostra l'etichettatura di una sonda multinucleare. In questo caso la bobina a banda larga è la bobina interna.

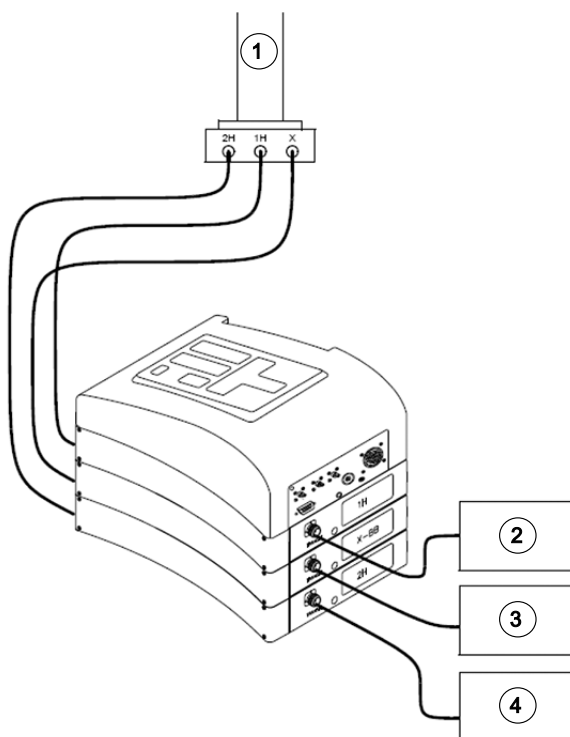


Figura 4.6: Tipico cablaggio dell'HPPR

1	Sonda	3	Connessione all'amplificatore X
2	Connessione all'amplificatore protonico	4	Connessione al trasmettitore BSMS 2H

### 4.8 Sonda a banda larga

Un tipo di sonda, che verrà qui descritta come esempio, è la sonda BBO Smart da 5 mm. Come suggerisce il nome, questa sonda è progettata per gli utenti che sono interessati ad analizzare campioni di vari nuclei. L'intervallo di frequenze X va in genere da  $^{15}\text{N}$  a  $^{31}\text{P}$  incluso  $^{19}\text{F}$ .

Il BNC di sinistra è etichettato  $^2\text{H}$  (vedere la figura in basso) e viene utilizzato per trasportare il segnale di lock. Gli altri due connettori sono per i segnali dei nuclei  $^1\text{H}$  e X e sono etichettati di conseguenza. I cavi che escono dai connettori BNC di  $^1\text{H}$ , X e  $^2\text{H}$  sono collegati ai preamplificatori.



Figura 4.7: Esempio di una sonda a banda larga

Le sonde sono progettate per consentire il controllo della temperatura del campione NMR. Un **riscaldatore** viene utilizzato in combinazione con una linea di trasferimento aria/**N2** per controllare la temperatura del campione. Una **termocoppia** funge da termometro per monitorare la temperatura del campione. Tutti questi dispositivi sono collegati alla base della sonda e sono facilmente accessibili. L'unità di temperatura variabile (**VTU**) che si trova all'interno della console monitora costantemente la lettura della termocoppia e apporta regolazioni nella potenza del riscaldatore per mantenere la temperatura richiesta.

Solo poche sonde ad alta risoluzione sono dotate di bobine di gradiente e il connettore si trova sul lato della base della sonda.

Infine, la scatola nera sul lato inferiore della base della sonda ospita i dispositivi di sintonia e adattamento d'impedenza. Questi sono utilizzati per apportare regolazioni fini alla sonda per ottimizzare le prestazioni. L'analisi di un composto viene effettuata eccitando il composto con segnali di una determinata frequenza (la frequenza di risonanza). Nuclei diversi saranno eccitati da frequenze diverse e la sintonia comporta la regolazione del circuito all'interno della sonda in modo che sia più sensibile alla frequenza di interesse. Per ridurre al minimo la riflessione, ossia lo spreco, dei segnali di eccitazione e del FID viene anche adattata l'impedenza della sonda. Sia la sintonia che l'adattamento d'impedenza sono interattive in quanto non possono essere regolate indipendentemente l'una dall'altra.

La sonda deve essere sintonizzata e adattata ogni volta che viene cambiato il campione nel magnete. Ogni bobina nella sonda è sintonizzata e adattata separatamente usando la routine "atma" o "atmm" come descritto in [Tuning e matching della sonda \[ 41\]](#).

Per cambiare una sonda è necessario ricollegare la sonda ai preamplificatori.

## 4.9 iProbe

Un altro tipo di sonda è la nuova piattaforma iProbe, una SmartProbe™ di nuova generazione per il rilevamento NMR. Questa innovativa architettura di sonda NMR consente non solo un aumento del rapporto tra segnale e rumore e una sintonia RF più rapida e accurata, ma offre anche un design più flessibile che consente una più facile personalizzazione delle sonde NMR per applicazioni dedicate. Le prime sonde introdotte su questa piattaforma includono le iProbe SmartProbe leader del settore, disponibili ora da 400-600 MHz, che offrono un aumento della sensibilità fino al 10%.



Figura 4.8: La piattaforma iProbe Bruker

## 4.10 Sostituzione di una sonda

Quando si cambia la sonda, è necessario seguire la procedura riportata di seguito. Le sonde sono fragili e costose, quindi è necessario informare il responsabile del sistema prima di provare a cambiare la sonda. Il magnete, e in particolare le correnti parassite, influenzano notevolmente il movimento meccanico della sonda. Quando si rimuove la sonda dal magnete, bisogna aspettarsi un'improvvisa accelerazione al raggiungimento dell'estremità inferiore dell'apertura del magnete. Occorre inoltre aspettarsi una certa resistenza quando si inserisce la sonda nel magnete.

### Procedura per il cambio di sonda:

1. Assicurarsi che non vi sia nessuna acquisizione in corso facendo clic sul pulsante STOP nella barra degli strumenti superiore della finestra di TopSpin o digitando stop nella riga di comando.
2. Spegnerne qualsiasi sistema di **riscaldamento** o **raffreddamento**. Utilizzare il comando "edte" per spegnere il riscaldatore. Lasciare che la sonda si stabilizzi a temperatura ambiente. Non spegnere il sistema.
3. Rimuovere la connessione aria/N<sub>2</sub> che è collegata alla base della sonda.
4. Dopo essersi assicurati che l'apertura del magnete non sia tappata, rimuovere l'eventuale campione presente nel magnete attivando il pulsante **LIFT** nella finestra del BSMS.
5. Spegnerne il LIFT.
6. Scollegare tutti i cavi BNC dalla base della sonda.
7. Scollegare la termocoppia, il riscaldatore e qualsiasi ulteriore collegamento di gradiente o PICS.
8. Con il cacciavite in dotazione, allentare le due viti che fissano la sonda nel magnete.
9. Abbassare la sonda ed estrarla dal magnete.
10. Inserire la nuova sonda e fissarla usando le due viti.
11. Ricollegare i cavi coassiali, la termocoppia, il riscaldatore, le linee di raffreddamento e qualsiasi ulteriore collegamento a seconda dei casi.
12. Riaccendere il riscaldatore.

Sul sito web di Bruker è disponibile un video che mostra questa [procedura](#).

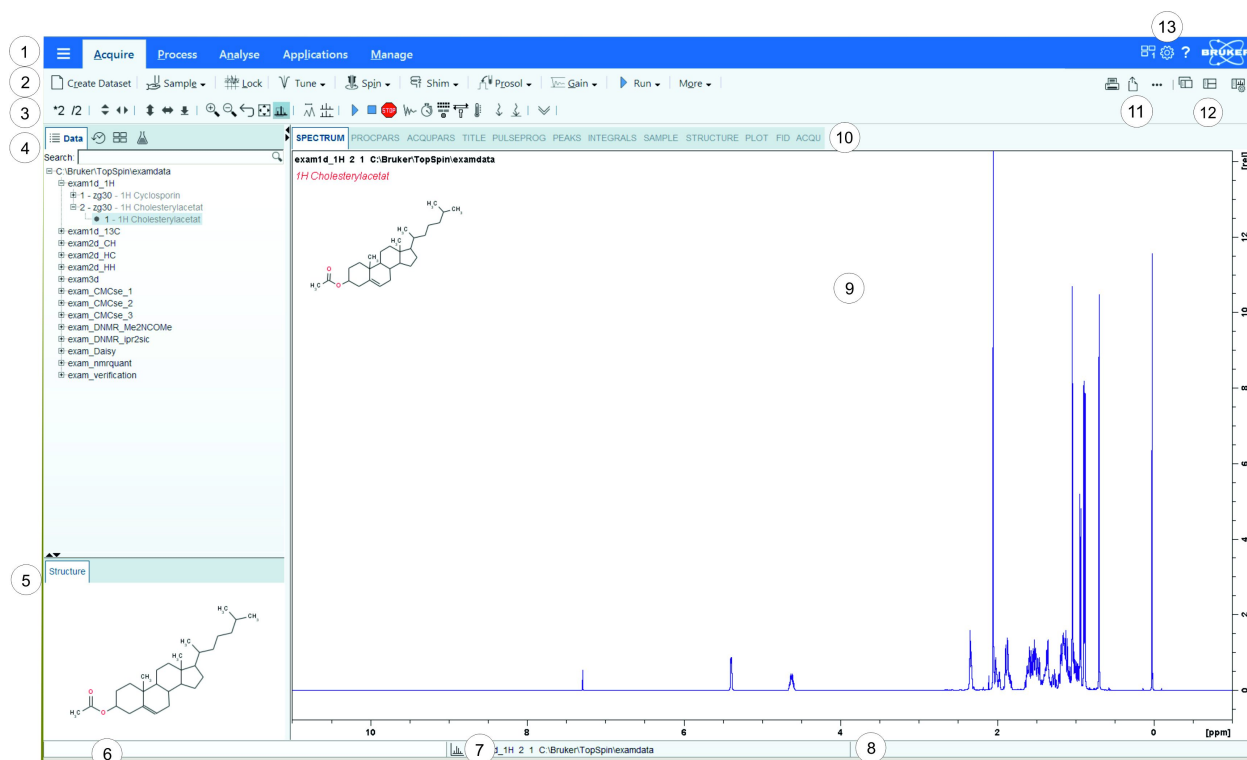
# 5 Procedure basilari

Questo capitolo descriverà le operazioni di base che vengono utilizzate ogni volta che si acquisisce uno spettro. Il software TopSpin ha un'interfaccia basata sul flusso di lavoro di facile utilizzo che guida l'utente attraverso tutti i passaggi necessari per ottenere uno spettro. Tutte le operazioni sono controllate dal software e possono essere selezionate con un clic del mouse sulle schede del flusso di lavoro (vedere la voce 1. nella figura dell'interfaccia di TopSpin), che apre una riga di pulsanti di flusso di lavoro (vedere la voce 2. nella figura dell'interfaccia di TopSpin).

I lettori possono saltare questo capitolo se hanno già familiarità con queste operazioni.

## 5.1 La finestra TopSpin

L'immagine che segue mostra il layout dell'interfaccia di base di TopSpin.



1	Barra del menu	8	Barra di visualizzazione dello stato
2	Barra dei pulsanti del flusso di lavoro	9	Finestra dei data set
3	Barra degli strumenti	10	Schede della finestra dei data set
4	Finestra di navigazione e ricerca	11	Stampa, esporta e pubblica
5	Finestra della struttura	12	Opzioni di visualizzazione
6	Riga di comando	13	Commutatore di finestra, preferenze di configurazione e guida
7	Barra del data set corrente		

### 5.1.1 Creazione di un nuovo set di dati.

L'uso regolare di uno spettrometro comporta un rapido accumulo di grandi quantità di dati. Gli utenti avranno bisogno di archiviare i dati in file opportunamente denominati in modo che possano facilmente accedere ai loro dati in seguito. Questo è particolarmente importante in un ambiente multiutente. Quando viene acquisito un set di dati, può essere archiviato in quello che viene chiamato **Data set**. Ogni Data set deve avere un descrittore univoco (identificatore) in modo da poter distinguere diversi Data set. La descrizione completa di un data set richiede l'utilizzo di tre parametri: NAME, EXPNO e directory.

- Sulla barra del menu, fare clic su **Acquire | Create Dataset** per aprire la finestra Create New Dataset.

Prepare for a new experiment by creating a new data set and initializing its NMR parameters according to the selected experiment type. For multi-receiver experiments several datasets are created. Please define the number of receivers in the Options.

**Dataset**

NAME: Proton\_exp  
EXPNO: 1  
Directory: C:\Data  
 Open in new window

**Parameters**

Use current parameters  
 Read parameterset [Select]  
 Set solvent: DMSO  
**Additional action**  
 Do nothing  
 Execute getprosol  
 Keep parameters: P 1, O1, PLW 1 [Change]

**Advanced**

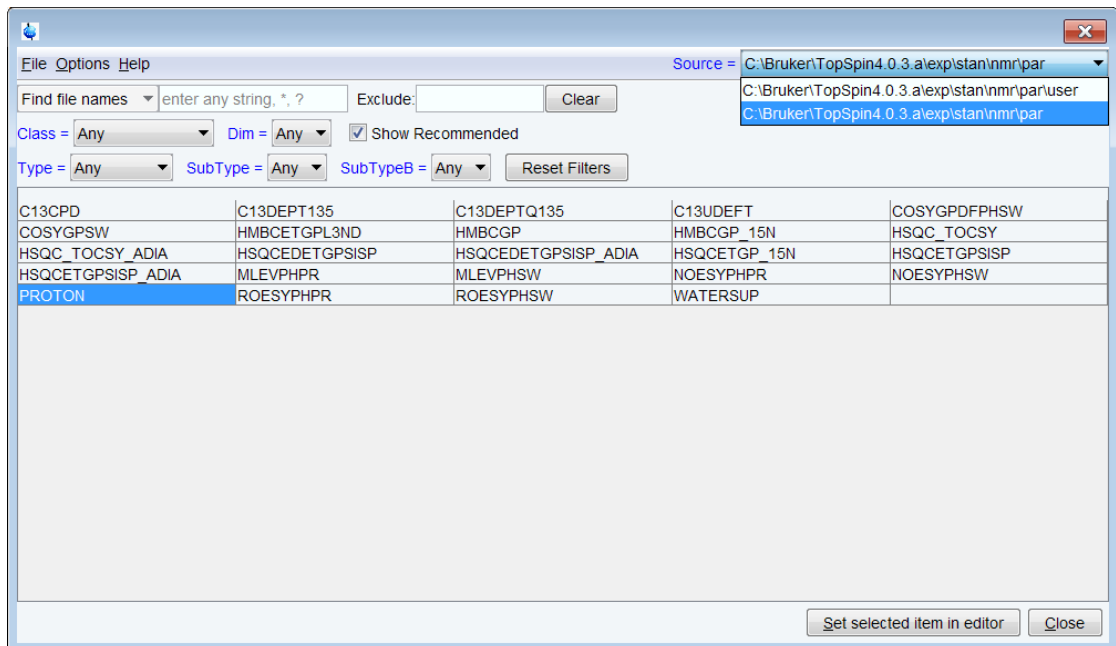
Number of datasets (receivers): 1

**Title**  
Menthyl Anthranilate in DMSO  
Proton

OK Cancel More Info... Help

- Ora è possibile creare il proprio Data set. Nel campo NAME è possibile inserire una stringa composta da un massimo di 13 caratteri. Nel campo EXPNO inserire "1" o qualsiasi numero adatto. Selezionare il percorso della directory (ad esempio: C:\Data).

- Nel gruppo Parameter fare clic su **Read parameterset** e **Select** per aprire la finestra rpar.



- Abilitare **Show Recommended** per ottenere l'elenco degli esperimenti sulle molecole piccole più comuni.
- Verificare che la directory di origine sia:  
`<Topspin>\exp\stan\nmr\par`  
 e non:  
`<Topspin>\exp\stan\nmr\par\user`
- Selezionare l'esperimento (ad esempio, Proton) e fare clic su **Set selected item in editor**.
- Nella finestra Create New Dataset, selezionare **Set solvent** e nell'elenco a discesa selezionare il solvente del campione, ad es. DMSO.
- Fare clic su **OK**.



**Nota:** il data set appena creato ora è il data set corrente e i dettagli del descrittore verranno archiviati sul disco rigido nella cartella: DIR\NAME\EXPNO, dove ogni EXPNO corrisponde a un data set completamente indipendente. In questo esempio, i dati verranno archiviati nella posizione: **C:\Data\Proton\_exp\1**. Questo percorso apparirà anche nella barra del titolo della finestra dei dati di TopSpin.

## 5.1.2 Preparazione del campione

- Utilizzare provette per campioni pulite e asciutte.
- Utilizza provette per campioni di qualità medio-alta.
- Filtrare sempre la soluzione campione.
- Utilizza sempre lo stesso volume di campione o altezza di soluzione.
- Il volume di riempimento di una provetta da 5 mm è 0,6 ml o 5 cm.
- Il volume di riempimento di una provetta da 10 mm è 4 ml o 5 cm.
- Utilizzare l'indicatore di profondità del campione per regolare la profondità del campione.

Tipo di provetta per campione	Sonde criogeniche	Sonde RT	Sonde RT precedenti
Provetta campione standard da 5 mm con estremità arrotondata.	19 mm	20 mm	18 mm
Provetta Bruker Shigemi.	17 mm	20 mm	18 mm

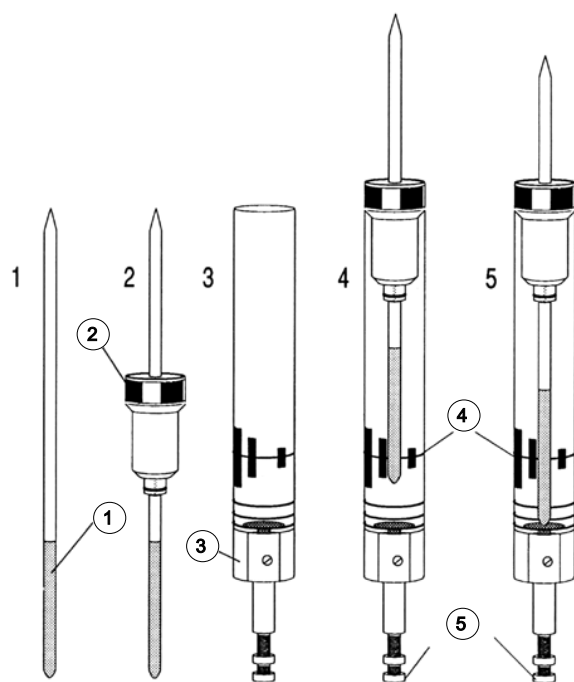


Figura 5.1: Inserimento del campione nello spinner

1	Campione	4.	Linea centrale
2	Spinner	5.	Vite di regolazione della profondità
3	Misuratore della profondità		

- La provetta di campione deve alloggiare fermamente all'interno dello spinner.
- Pulire la provetta del campione prima di inserirla nel magnete.

## 5.2 Inserire il campione con il rotore nel magnete

---

L'inserimento e l'espulsione del campione sono controllati da un flusso di aria compressa. Prima di posizionare un campione sulla parte superiore dell'apertura, accertarsi che il flusso d'aria sia presente (udibile facilmente) e rimuovere l'eventuale campione che emerge dall'apertura.

- Sulla barra del menu, fare clic su **Acquire**.
- Sul pulsante **Sample**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Eject sample manually (ej)**. Viene attivato l'espulsore del campione.



---

Attendere fino all'attivazione del flusso d'aria di espulsione del campione e rimuovere il campione eventualmente presente nel magnete.

---

- Posizionare il campione e lo spinner sopra l'apertura del magnete.
- Sul pulsante **Sample**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Insert sample manually (ij)**.

## 5.3 Lock

---

I solventi deuterati sono utilizzati per generare il segnale che il sistema di lock deve rilevare e monitorare. La frequenza e l'intensità di tale segnale dipenderanno dal solvente utilizzato. La caratteristica principale della routine di lock di TopSpin è l'impostazione di parametri quali potenza di lock, guadagno e frequenza su valori appropriati al solvente. Con questi valori predefiniti impostati come previsto per tale solvente, il BSMS può localizzare il segnale ed effettuare il "lock" sul solvente rapidamente in un intervallo di frequenze o di intensità del campo magnetico. I parametri dipendenti dal solvente sono estratti dalla tabella di "edlock".

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Lock**.
- Nell'elenco della tabella dei solventi, selezionare **DMSO** e fare clic su **OK**.

Solvent	Description
Acetic	acetic acid-d4
Acetone	acetone-d6
C6D6	benzene-d6
CD2Cl2	dichloromethane-d2
CD3CN	acetonitrile-d3
CD3CN_SPE	LC-SPE Solvent (Acetonitrile)
CD3OD_SPE	LC-SPE Solvent (Methanol-d4)
CDCl3	chloroform-d
CH3CN+D2O	HPLC Solvent (Acetonitril/D2O)
CH3OH+D2O	HPLC Solvent (Methanol/D2O)
D2O	deuteriumoxide
D2O_salt	deuteriumoxide with salt
Dioxane	dioxane-d8
DMF	N,N-dimethylformamide-d7
<b>DMSO</b>	<b>dimethylsulfoxide-d6</b>
EtOD	ethanol-d6
H2O+D2O	90%H2O and 10%D2O
H2O+D2O_salt	90%H2O and 10%D2O with salt
HDMSO	90%DMSO and 10%DMSO-d6
Juice	fruit juice
MeOD	methanol-d4
Plasma	blood plasma
Pyr	pyridine-d5
T_H2O+D2O+Me4NCI	(CD3)4NCl in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+NaAc	sodium acetate in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+Pivalate	pivalate-d9 in 90% H2O and 10% D2O, for NMR thermometer
T_MeOD	methanol-d4, for NMR thermometer
TFE	trifluoroethanol-d3
THF	tetrahydrofuran-d8
Tol	toluene-d8
Urine	urine

Lock nucleus: 2H

Figura 5.2: Tabella dei solventi



**Nota:** se il segnale di lock è già agganciato, la forma dello stesso dovrebbe essere una linea orizzontale associata a rumore irregolare (vedere la figura che segue). L'altezza di questa linea è detta livello del lock.

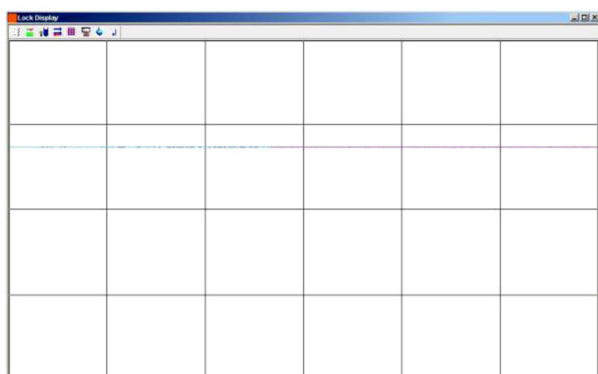


Figura 5.3: Visualizzazione del lock effettuato sul campione

## 5.4 Tuning e matching della sonda

---

La sensibilità di un probe varia con la frequenza del segnale ad esso trasmesso ed esiste una frequenza di massima sensibilità del campione. Inoltre, questa frequenza può essere regolata entro una certa gamma usando i sintonizzatori incorporati nello schema elettrico della sonda. **La sintonizzazione** (tuning) implica la regolazione dello schema elettrico della sonda, in modo che la frequenza di massima sensibilità sia la frequenza rilevante di trasmissione (SFO1, SFO2 etc.) Ciascuna bobina della sonda viene sintonizzata (e accordata in impedenza) separatamente. Se la sonda è stata sostituita o la frequenza di trasmissione è stata alterata in modo significativo, può essere necessario sintonizzarla nuovamente. Nel lavoro di routine con solventi organici in cui si usano sonde selettive, è improbabile che il valore delle frequenze trasmesse possa variare notevolmente. Pertanto, dopo la sintonizzazione iniziale della sonda, leggere variazioni di frequenza non richiederanno una nuova sintonizzazione. Per farlo, la frequenza trasmessa deve essere alterata normalmente di almeno 100kHz. Tuttavia, per le sonde a banda larga le frequenze trasmesse variano notevolmente da nucleo a nucleo, per cui sarà necessario sintonizzare la sonda ogni volta che il nucleo selezionato viene cambiato. Ogni volta che viene sintonizzata, la sonda deve essere anche accordata in impedenza. **Il matching** implica la garanzia che la quantità massima di potenza diretta alla base della sonda venga trasmessa fino alla bobina situata verso la sommità della sonda. Ciò assicura che la quantità minima di potenza diretta alla sonda venga riflessa di ritorno agli amplificatori (e vada di conseguenza dispersa).



**Nota:** L'azienda Bruker offre due tipi diversi di funzioni di Tuning e matching. Oltre alla regolazione manuale, le sonde possono essere munite di un modulo sintonizzazione automatica (Automatic Tuning Module, ATM). Seguire le istruzioni sotto riportate per ciascuna delle opzioni.

---

### 5.4.1 Sonde munite di ATM, con uso della routine di sintonizzazione automatica

---

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Tune**.

Il display passerà automaticamente alla finestra di acquisizione e visualizzerà la curva di oscillazione. La sintonia e l'adattamento d'impedenza vengono eseguiti automaticamente. Se si utilizzano più frequenze in un set di parametri come C13CPD, ecc., l'ATMA inizierà a regolare prima la frequenza più bassa e proseguirà automaticamente nel senso crescente delle frequenze.

### 5.4.2 Sonde munite di ATM, con uso della routine di sintonizzazione manuale

---

- Sul pulsante **Tune**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Tune/match ATM probe manually**.



**Nota:** si apriranno la finestra Sintonia/adattamento d'impedenza della sonda ATMM (figura in basso) e una finestra che mostra la curva di oscillazione.

---

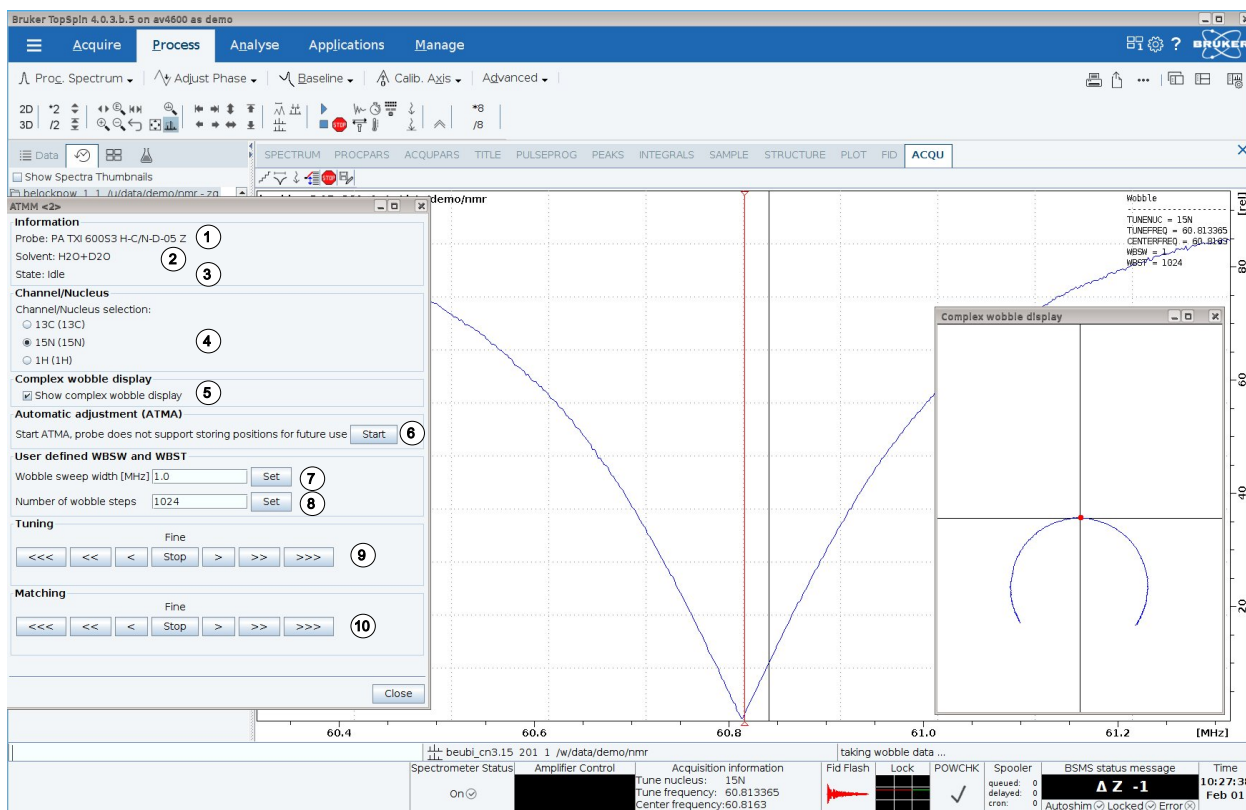


Figura 5.4: Finestra di sintonia/adattamento d'impedenza della sonda ATMM

1.	Tipo di sonda.
2.	Solvente utilizzato.
3.	Stato corrente.
4.	Selezione di canale/nucleo
5.	Selezionare per mostrare il display dell'oscillazione complessa.
6.	Fare clic per avviare l'ATMA e memorizzare le posizioni ottimali per usi futuri.
7.	Larghezza della curva di oscillazione definita dall'utente.
8.	Numero di passi di oscillazione definito dall'utente.
9.	Pulsanti per spostare e visualizzare la curva di oscillazione centrata.
10.	Pulsanti per regolare l'inclinazione della curva di oscillazione nella posizione più bassa.

- Nella finestra di controllo ATMM, fare clic sui pulsanti di **Tuning** per spostare e visualizzare la curva di oscillazione centrata.
- Nella finestra di controllo ATMM, fare clic sui pulsanti **Matching** per regolare l'inclinazione della curva di oscillazione sulla posizione più bassa.

È molto pratico osservare il display dell'oscillazione complessa. Se il cerchio con il punto rosso è troppo grande o troppo piccolo, regolare prima l'adattamento d'impedenza. Una volta che il cerchio attraversa il centro del sistema di coordinate, portare il punto rosso al centro regolando la sintonia. In sostanza, la curva informa sull'ordine di regolazione necessario per la sintonia e l'adattamento d'impedenza.

**Nota:** le impostazioni S/A verranno salvate facendo clic sul pulsante **Start**.



Poiché le regolazioni di sintonia e adattamento d'impedenza interagiscono tra loro, è necessaria una ripetizione di tutti i passaggi per una sintonia e un adattamento perfetti. Se si utilizzano più frequenze in un set di parametri come C13CPD, utilizzare i pulsanti di opzione **Nucleus Selection** nella finestra di controllo ATMM per passare a un altro nucleo e ripetere la sintonia e l'adattamento d'impedenza.

La routine di **oscillazione** funziona mediante la trasmissione alla sonda di un segnale debole e confrontando l'impedenza dei cavi e della sonda con un riferimento di 50 Ohm all'interno dell'HPPR. La frequenza di trasmissione è quella di SFO1, SFO2, ecc. ma oscillante per un valore determinato dal parametro WBSW (vedere l'immagine che segue). La curva risultante è quella tipica di un circuito risonatore ed è semplicemente data dalla misura dell'ampiezza del segnale riflesso (asse verticale) in relazione alla frequenza (asse orizzontale).

L'**adattamento d'impedenza** della sonda è ottimizzato cercando di far toccare la parte più bassa della curva di oscillazione con la linea dell'asse orizzontale (asse delle frequenze). Questo rappresenta la minima riflessione del segnale trasmesso.

La **sintonia** si effettua facendo in modo che questo punto si trovi al centro della scala orizzontale dello schermo che corrisponde alla frequenza di trasmissione. Si osserva, comunque, che entrambe le regolazioni interagiscono fra loro, quindi andranno determinate in coppia. Quando il minimo della curva di oscillazione è centrato alla base dello schermo, la sonda è sintonizzata e adattata in modo ottimale.

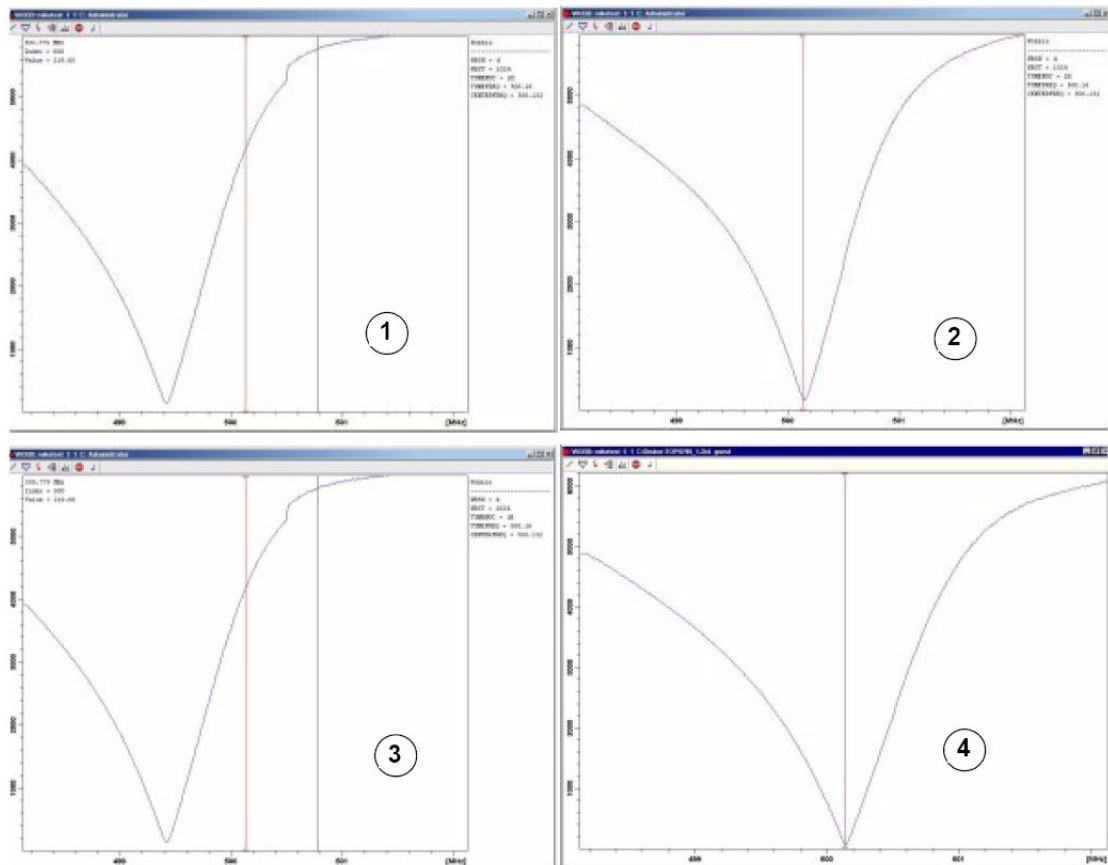


Figura 5.5: Esempi di curve di oscillazione con diversi valori di sintonia e adattamento d'impedenza

1.	Adattamento e sintonia non ottimali.	3.	Adattamento ottimale, sintonia non ottimale.
2.	Adattamento non ottimale, sintonia ottimale.	4.	Adattamento e sintonia ottimali.

Se si desidera ottimizzare la sonda per diversi nuclei (ad esempio, per esperimenti di disaccoppiamento), è possibile scegliere il nucleo successivo nella finestra di sintonia/adattamento d'impedenza della sonda ATMM.

### 5.5 Rotazione del campione

---

Un'altra funzione dell'aria compressa è quella di fare ruotare il campione. La rotazione del campione serve per mediare alcune disomogeneità del campo magnetico che potrebbero esserci al centro del magnete.



**Nota:** solitamente non si fanno ruotare i campioni quando si usano esperimenti quali 2-D, 3-D, SELECTIVE, NOEDIFF, T1 e tutte le sonde di misura inverse.

---

**Le velocità suggerite di rotazione sono:**

- 20 Hz per le sonde da 5 mm
- 12 Hz per le sonde da 10 mm
  
- Sul pulsante **Spin**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Turn sample rotation on (ro on)**.

### 5.6 Shimming

---

**Lo shimming** è un processo in cui vengono effettuati piccoli adattamenti al campo magnetico fino ad aver ottimizzato l'omogeneità di campo. Il miglioramento dell'omogeneità comporterà una migliore risoluzione spettrale. Sarà necessario ripetere lo shimming ogni volta che si sostituisce la sonda o il campione. Il gestore del sistema ha memorizzato i valori di shimming appropriati per ogni tipo di sonda (in cosiddetti shim files), per cui i tempi di shimming quando viene sostituita una sonda verranno notevolmente ridotti.

#### 5.6.1 Shimming di routine tramite la funzione TopShim

---

Questo è lo shimming di routine e deve essere eseguito all'inizio di ogni sessione NMR, e ogni qualvolta viene cambiato il campione nel magnete. Lo shimming di routine comporta regolazioni fini delle shim Z, Z<sup>2</sup>, Z<sup>3</sup>, Z<sup>4</sup> e Z<sup>5</sup>. Alcuni magneti con intensità di campo più elevate possono richiedere shim Z di ordine superiore. L'amministratore di sistema ha programmato TopShim per ottenere la migliore omogeneità su ciascun campione, ed è completamente automatico.

Il metodo principale di TopShim è lo shimming di gradiente. Un criterio di qualità per la forma della linea finale garantisce i migliori risultati in tutte le situazioni.

TopShim utilizza il metodo dello shimming di gradiente <sup>2</sup>H per tutti i solventi deuterati, e per altri solventi, in particolare H<sub>2</sub>O, il metodo dello shimming di gradiente <sup>1</sup>H.

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Shim**.

Lo shimming inizierà subito e di solito richiede meno di un minuto.

## 5.7 Impostazione dei parametri dipendenti dalla sonda/dal solvente

---

I parametri, quali  $90^\circ$  o la durata dell'impulso del disaccoppiatore con livelli di potenza associati possono essere memorizzati per qualsiasi nucleo specifico su qualsiasi canale disponibile. Questi valori sono stati inseriti dal tecnico installatore o dall'amministratore di sistema e vengono caricati automaticamente utilizzando il pulsante Prosol.

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Prosol**.

## 5.8 Regolazione dell'amplificazione del ricevitore

---

Il guadagno del ricevitore è un parametro molto importante che è usato per adattare l'ampiezza del FID al range dinamico del digitalizzatore. Il guadagno viene impostato automaticamente con il pulsante Gain.

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Gain**.

La regolazione del guadagno del ricevitore inizierà subito e di solito richiede meno di un minuto.

## 5.9 Avvio dell'acquisizione dati.

---

Il processo di ricezione dei segnali NMR è chiamato un'acquisizione. Si dice che i dati siano acquisiti. Quando viene eseguita un'acquisizione, i dati "grezzi" vengono acquisiti e il segnale ricevuto viene chiamato un FID (Free Induction Decay). La dimensione del punto digitale del FID si chiama TD, Time Domain (Dominio del tempo).

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Run**.

Come impostazione predefinita dell'esperimento selezionato, lo spettrometro esegue un numero di scansioni fittizie prima di avviare il numero effettivo di scansioni.

## 5.10 Trattamento dei dati.

---

Per convertire il FID in uno spettro di frequenze viene usata una trasformata di Fourier. Il numero di punti che compongono lo spettro è definito dal parametro SI, size (dimensioni). Il FID è trasformato in uno spettro composto da un numero SI di punti nella componente reale e da un numero SI di punti nella componente immaginaria. L'impostazione normale per SI è  $SI = TD/2$ . Se è stato caricato il set di parametri "PROTON" è possibile verificare facilmente che  $TD = 64 K$  e  $SI = 32 K$ .

- Sulla barra del menu, fare clic su **Process**.
- Sul pulsante **Proc Spectrum**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Configure Standard Processing (proc1d)**.

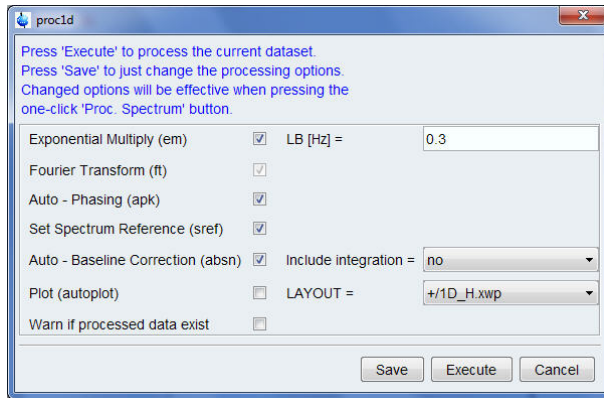


Figura 5.6: La finestra proc1d

- Nella finestra proc1d, selezionare le opzioni:
  - Exponential Multiply (em)**
  - Auto – Phasing (apk)**
  - Set Spectrum Reference (sref)**
  - Auto – Baseline Correction (absn)**
- Nella finestra proc1d, fare clic su **Execute**.
- Nella finestra proc1d, fare clic su **Save** per salvare le impostazioni di elaborazione selezionate.

## 6 Ottimizzazione dei parametri di acquisizione e relativi alla frequenza

In questo capitolo vengono spiegati due dei parametri più importanti nell'osservazione di uno spettro NMR. Prima di assegnare dei valori ai diversi parametri, è importante che l'utente capisca il concetto di data set, in quanto i gruppi di parametri vi sono legati in modo intrinseco.

### 6.1 Frequenza

---

Le frequenze dei segnali trasmessi sui canali uno, due e tre vengono fornite rispettivamente da SFO1, SFO2, SFO3, ecc. Tuttavia, queste frequenze non possono essere impostate direttamente (si noterà che non possono essere evidenziate usando il mouse).

Le frequenze trasmesse vengono controllate impostando gli offset rispetto alle frequenze di base BF1, BF2, BF3, ecc.

Per il canale di osservazione:

- $SFO1 = BF + \text{offset} (O1)$

La frequenza trasmessa viene impostata automaticamente dall'utente.

Analogamente, per gli altri due canali di disaccoppiamento:

- $SFO2 = BF2 + \text{offset} (O2)$
- $SFO3 = BF3 + \text{offset} (O3)$

Quando viene selezionato un nucleo specifico, viene impostata automaticamente la frequenza di base appropriata. Dopo la lettura di un'impostazione standard dei parametri, la frequenza di base verrà impostata correttamente e dovranno essere adattati unicamente i valori offset.

Si ricordi che SFOX è il parametro più rilevante e che è la frequenza che viene trasmessa di fatto al campione. Si noti inoltre che gli offset possono essere impostati a zero, nel qual caso SFOX sarà uguale a BFX. Una descrizione più dettagliata viene fornita nella prossima sezione.

## 6.2 Spiegazione numerica delle frequenze trasmesse, di base e offset

Nel caso di uno spettrometro a 600 MHz usato per osservare l'idrogeno, lo spettrometro è configurato per avere un BF1 di 600,13 MHz (uno spettrometro a 500 MHz ha normalmente un BF1 di 500,13 MHz, uno spettrometro a 400 MHz ha un BF1 di 400,13 MHz, ecc.).

Se O1 è impostato su zero allora:  $SFO1 = 600,13 + 0 = 600,13$  MHz

Quindi il centro dello spettro si troverebbe a 600,13 MHz. Se SWH era impostato su 20 kHz, lo spettro potrebbe essere simile a quello della figura che segue.

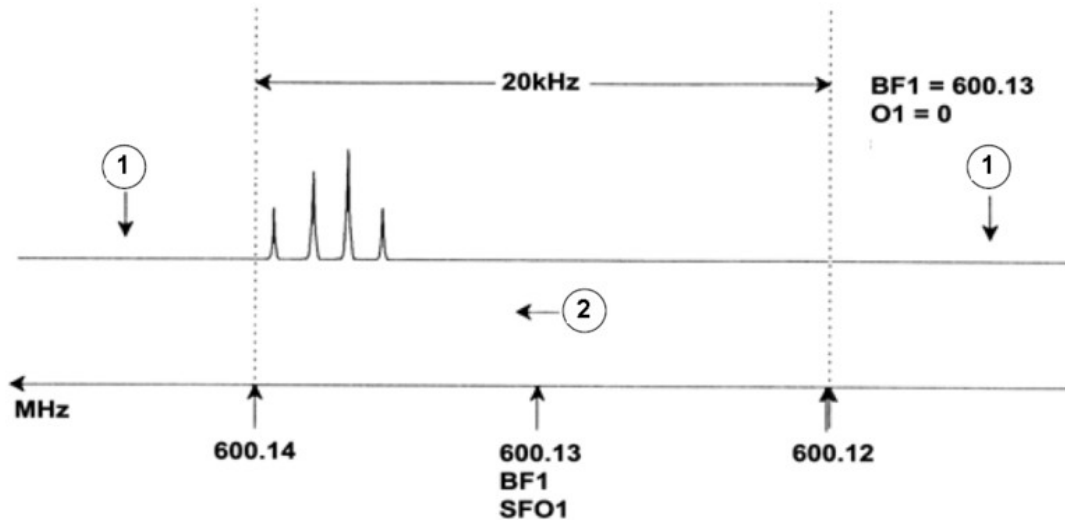


Figura 6.1: Spettro con  $BF1 = 600,13$  MHz,  $O1 = 0$  Hz

1.	Segnali filtrati	2.	Frequenza
----	------------------	----	-----------

È chiaro dal nostro spettro ipotetico che i segnali NMR appaiono tutti verso l'estremità delle alte frequenze della larghezza spettrale. Inoltre, è possibile che alcuni segnali si trovino oltre 600,14 MHz e poiché questi segnali sono esterni alla finestra spettrale, sono stati filtrati e non sono osservati. Per verificare la presenza di tali segnali sono disponibili due opzioni:

- La larghezza spettrale può essere aumentata per includere eventuali segnali persi. Tuttavia ciò presenta alcuni svantaggi, come la risoluzione FID (minore è il valore del FIDRES, migliore è la risoluzione).
- È preferibile lasciare la finestra spettrale inalterata e assegnare un nuovo valore a O1 in modo da spostare il centro della finestra.

Nel nostro esempio, i segnali rilevati si trovano tutti nella regione dei 600,138 MHz e desideriamo centrare lo spettro a questa frequenza.

$$\Rightarrow SFO1 = 600,138 = BF1 + O1$$

$$\Rightarrow 600,138 = 600,13 + O1$$

$$\Rightarrow O1 = 0,008 \text{ MHz} = 8 \text{ kHz}$$

Quindi se O1, la frequenza di offset, è impostata su 8 kHz, la finestra viene spostata e sarà come quella nella figura sottostante.

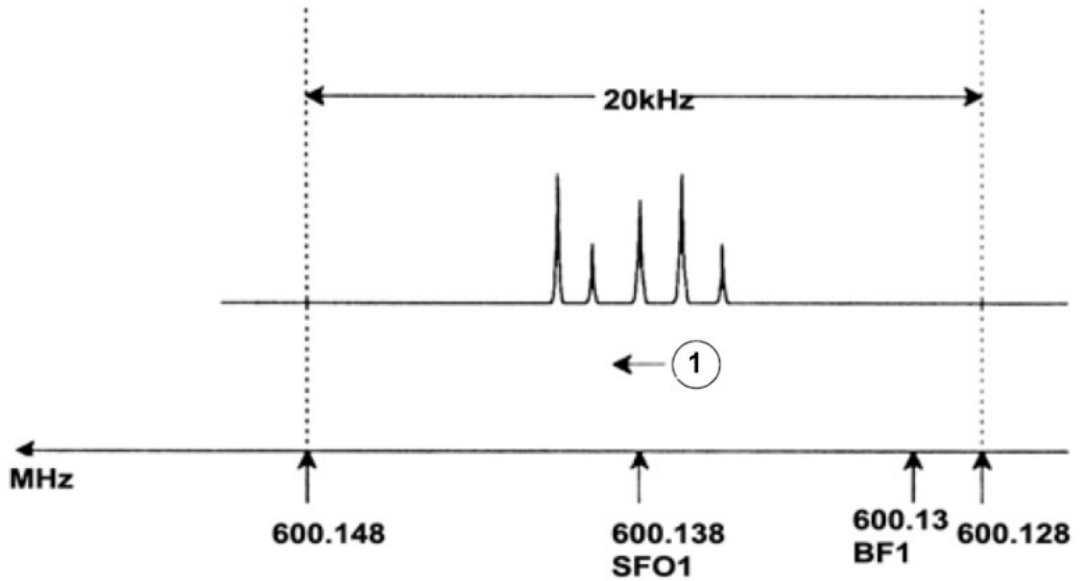


Figura 6.2: Spettro con  $BF1 = 600,13$  MHz,  $O1 = 8$  kHz

1.	Frequenza		
----	-----------	--	--

Infine, è chiaro dalla figura precedente che i segnali NMR emessi dai protoni nel nostro ipotetico campione occupano solo una frazione della larghezza spettrale. Pertanto, la larghezza spettrale può essere ridotta senza perdere dati significativi. Un vantaggio della diminuzione di SW è che la risoluzione spettrale migliora. Lo svantaggio è che il tempo necessario per acquisire i dati aumenta proporzionalmente.

Nel capitolo [Teoria e terminologia introduttive \[ 9\]](#), è stato affermato che gli spostamenti chimici dei protoni raramente superano il valore di 14 ppm. Ciò corrisponde a 8,4 kHz in uno spettrometro a 600 MHz. La figura seguente mostra lo spettro ipotetico ridisegnato con il valore assegnato a SWH ridotto da 20 kHz a 8,4 kHz.

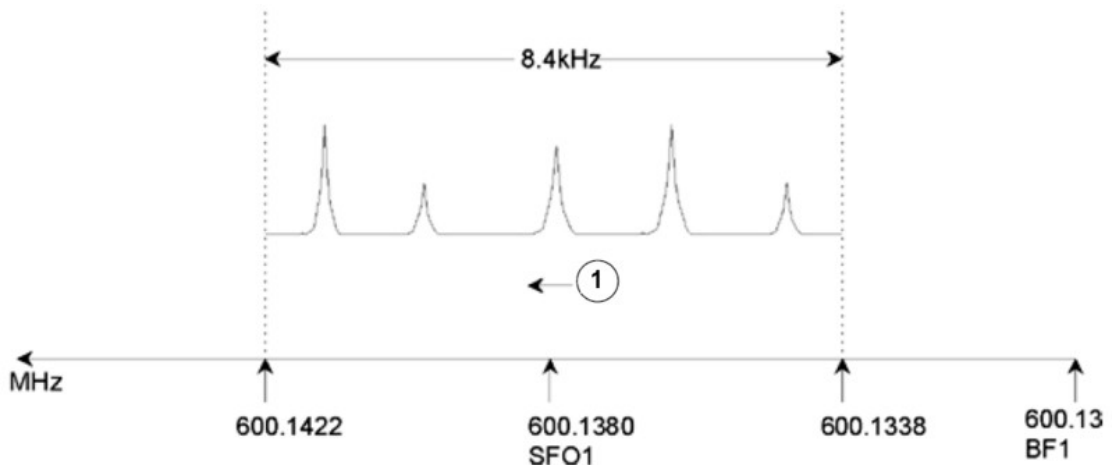


Figura 6.3: Spettro con  $BF1 = 600,13$  MHz,  $O1 = 8$  kHz,  $SWH = 8,4$  kHz

1.	Frequenza		
----	-----------	--	--

Bisogna notare che il valore di SWH usato per ogni esperimento è determinato solo dal campione analizzato e dalla risoluzione spettrale richiesta. Il valore di 14 ppm per gli spettri di idrogeno assicura che la maggior parte dei segnali protonici siano osservati. Tuttavia, per uno studio dettagliato di un segnale particolare, vengono usati valori molto inferiori di SWH.

La figura che segue illustra i principi generali sulla modalità di interazione di SFO1, BF1 e O1 (qui mostrati per un campione diverso).

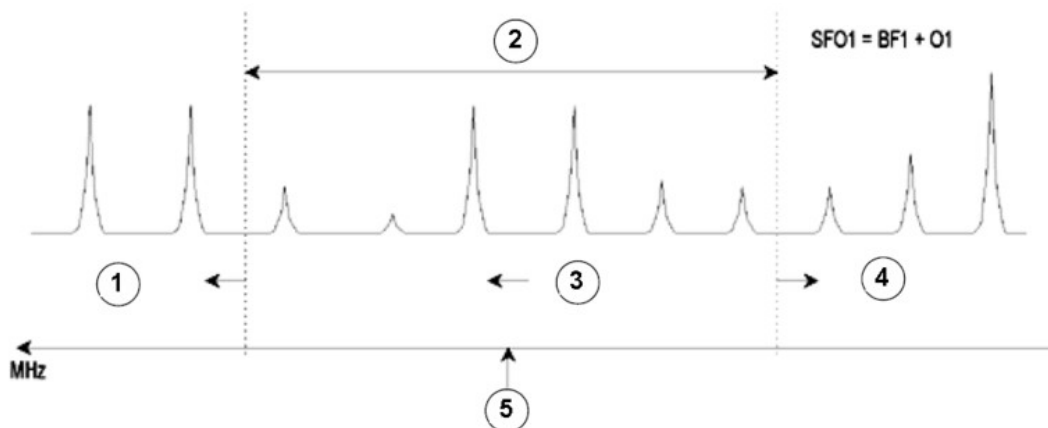


Figura 6.4: Interazione di SFO1, BF1 e O1

1.	Impostando O1 su un valore positivo si sposta la finestra a frequenze maggiori.
2.	SW determina la larghezza della finestra.
3.	Frequenza.
4.	Impostando O1 su un valore negativo si sposta la finestra a frequenze minori.
5.	SFO1 indica il centro dello spettro.

# 7 Il campione NMR

Quando si analizza un campione **solido** mediante la tecnica NMR, i segnali tendono a essere larghi e non si riesce a risolvere la struttura fine, che è quella che maggiormente interessa il ricercatore. Di conseguenza, i campioni solidi sono generalmente sciolti in opportuni solventi prima dell'acquisizione. Lo stesso vale per i **campioni liquidi**. Piccole quantità del composto di riferimento si possono aggiungere in solventi organici. Ad ogni modo, per ottenere i migliori risultati il campione deve essere il più possibile puro. I segnali delle **impurezze** infatti, nella migliore delle ipotesi complicano lo spettro, e nella peggiore mascherano i segnali veri. In particolare bisogna fare molta attenzione che il campione sia privo di **impurezze magnetiche** in quanto queste distorcono il campo magnetico e quindi peggiorano la risoluzione dello spettrometro. Le impurezze solide si possono facilmente eliminare per filtrazione. Per campioni in **solventi organici**, l'acqua disciolta può essere eliminata il più possibile disidratando il campione prima della dissoluzione.

## 7.1 Selezione del solvente

---

Una volta che il campione è stato sufficientemente purificato e disidratato, il passaggio successivo è quello della scelta del solvente adatto. Dal momento che il deuterio è decisamente il nucleo più comune per il canale di lock il campione è generalmente sciolto in un solvente deuterato (un solvente deuterato è un solvente in cui un'elevata percentuale, di solito il 99%, degli atomi di idrogeno è sostituita da deuterio). **solventi deuterati** comunemente utilizzati sono acetone-d<sub>6</sub>, benzene-d<sub>6</sub> e cloroformio-d, sebbene siano disponibili molti altri. Quando si sceglie un solvente bisogna tenere conto dei seguenti fattori:

1. **Solubilità:** ovviamente più il campione è solubile meglio è. Questo rende massima la quantità di campione all'interno del volume attivo aumentando la sensibilità dell'esperimento. L'elevata solubilità è particolarmente importante se sono disponibili solo piccole quantità di campione.
2. **Interferenza dei segnali del solvente nello spettro del campione:** il solvente stesso produce inevitabilmente segnali NMR che oscurano parzialmente lo spettro. Questi "picchi residui del solvente" non dovrebbero sovrapporsi con segnali del campione.
3. **Dipendenza della temperatura:** per esperimenti eseguiti al di sotto o al di sopra della temperatura ambiente bisogna tenere conto dei punti di congelamento e di ebollizione del solvente. Inoltre, è molto probabile che la solubilità cambi con la temperatura.
4. **Viscosità:** minore è la viscosità del solvente, migliore è la risoluzione dell'esperimento.
5. **Costo:** chiaramente, per utilizzo di routine dell'NMR quando è necessario misurare molti campioni, il costo del solvente è un aspetto importante da considerare. Come regola empirica il prezzo aumenta all'aumentare del numero di atomi deuterati.
6. **Contenuto di acqua:** Quasi tutti i solventi NMR contengono tracce d'acqua. Molti di questo sono anche igroscopici (cioè assorbono acqua dall'atmosfera), quindi più a lungo vengono conservati, più acqua contengono. La presenza di un picco d'acqua (HDO) servirà solo a peggiorare la qualità degli spettri NMR. Il livello d'acqua può essere enormemente ridotto filtrandolo con un agente disidratante o conservando il solvente su setacci molecolari.

La scelta del solvente per un determinato campione sarà il miglior compromesso tra i vantaggi e gli svantaggi di ciascuno. Per i dettagli precisi di solventi specifici, il lettore deve fare riferimento a una ricerca nel web.

## 7.2 Tubo NMR

Quando il campione viene analizzato, esso può essere ruotato a seconda del tipo di sonda o di esperimento. **La rotazione** del campione ha l'effetto di annullare le disomogeneità nella direzione X e Y, migliorando di conseguenza la risoluzione spettrale. Uno svantaggio della rotazione è la possibile presenza di **bande laterali di rotazione** (spinning sidebands). Si tratta di segnali spuri (vale a dire di picchi) risultanti dalla modulazione del campo magnetico alla frequenza di rotazione. I picchi compaiono sempre su entrambi i lati di un picco autentico, ad una distanza pari alla velocità di rotazione. L'intensità di queste bande laterali sarà proporzionale all'intensità del picco autentico. Pertanto, se la velocità di rotazione è di 20 giri al secondo (= 20 Hz), si cercheranno bande laterali di rotazione alle frequenze di 20 Hz al di sopra e al di sotto delle frequenze di risonanza dei segnali autentici.

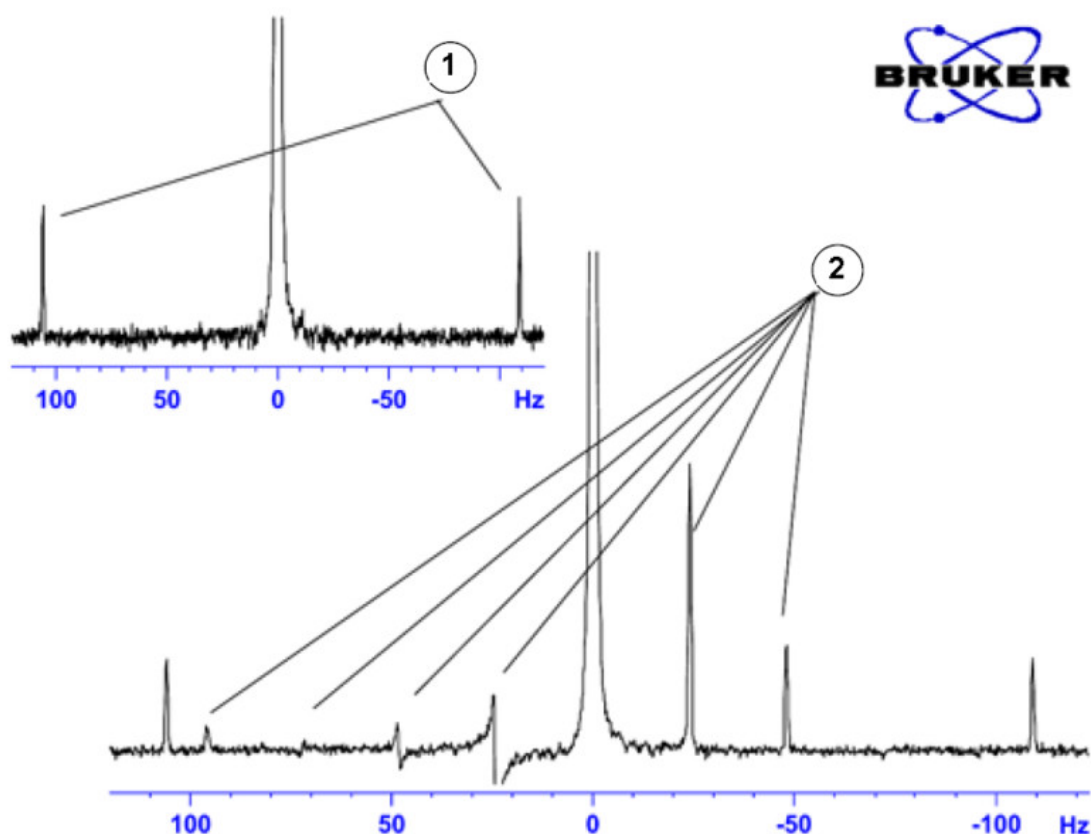


Figura 7.1: Spettro che illustra le bande laterali di rotazione

1.	Satelliti $^{13}\text{C}$	2.	Bande laterali di rotazione
----	---------------------------	----	-----------------------------

Mentre la presenza di bande laterali di rotazione può essere inevitabile, la loro dimensione dipende spesso dalla qualità del tubo del campione. Il tubo del campione dovrebbe avere idealmente una perfetta simmetria cilindrica. Bande laterali di rotazione atipicamente larghe possono implicare che la **simmetria del tubo** non sia adeguata e possono giustificare l'uso di tubi con maggiori specifiche (e naturalmente costi superiori).

I tubi per il campione devono essere sempre tenuti puliti e privi di polvere e graffi. Evitare di strofinare i tubi con spazzole per tubi. Bisogna essere consapevoli del fatto che tubi NMR nuovi non sono necessariamente puliti. I tubi possono essere puliti mediante lavaggio in acetone o in acqua distillata. È possibile ricorrere ad un detergente liquido, a condizione che venga risciacquato entro pochi minuti per prevenire un attacco chimico del tubo. I tubi possono essere inoltre puliti ad ultrasuoni in soluzione idonea. In mancanza delle misure sopra indicate, i tubi dovrebbero essere immersi in ACQUA REGIA per un massimo di due giorni ed essere risciacquati accuratamente prima di essere asciugati. I tubi NMR possono essere essiccati in forno, tuttavia a temperature non superiori ai 100°C, per evitare che si deformino e di conseguenza non ruotino come richiesto. Il metodo di essiccazione migliore è l'immissione di idrogeno filtrato nel tubo.

### 7.3 Preparazione del campione

---

È buona norma filtrare le soluzioni NMR direttamente nella provetta del campione in modo da evitare polvere o altri inquinanti.



**Nota:** la provetta con il campione dovrebbe essere sempre tenuta dalla parte superiore.

---

Una procedura tipica per la preparazione del campione NMR è la seguente:

1. Per un campione solido da misurare in una provetta da 5 mm, sciogliere fino a 20 mg di campione in circa 0,6 cm<sup>3</sup> del solvente scelto (per provette da 10 mm sciogliere 80 mg in 2,5 cm<sup>3</sup>). Tipicamente, per un campione liquido e per osservare i protoni, sciogliere il 20% di campione in 80% di solvente deuterato.
2. Aggiungere una piccola quantità (~0,1%) di composto di riferimento, tetrametilsilano (TMS). Assicurarsi che il segnale del TMS sia inferiore a quello più intenso del campione o del solvente (altrimenti si perde in rapporto segnale/rumore a causa del basso guadagno del ricevitore).
3. Filtrare la soluzione nella provetta del campione mediante una pipetta Pasteur contenente un filtro di fibra di vetro.
4. Filtrare 0,2 cm<sup>3</sup> di solvente attraverso il filtro nella provetta. La soluzione così ottenuta dovrebbe avere un'altezza di 3 o 4 cm.
5. Chiudere la provetta con un tappo, sigillare il tappo con parafilm per limitare l'evaporazione e porre un'etichetta in prossimità della parte superiore della provetta. Fare attenzione che tappo, parafilm ed etichetta siano concentrici, altrimenti ostacoleranno la rotazione del campione.



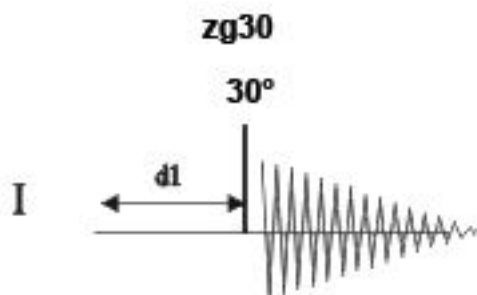
**Nota:** possono presentarsi problemi quando si usa la fibra di vetro per filtrare il campione, in particolare quando si desidera misurare T<sub>1</sub>.

---



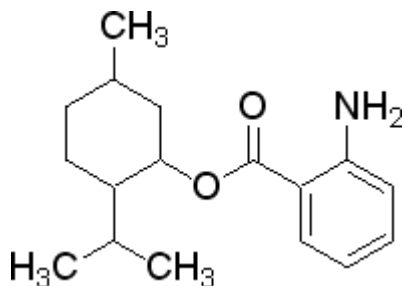
## 8 Spettro del protone

Questo capitolo descrive l'acquisizione ed il trattamento di uno spettro  $^1\text{H}$  monodimensionale usando il set di parametri standard Bruker **PROTON**. La sequenza degli impulsi **zg30** (vedi figura sottostante) consiste in recycling delay (tempo di riciclo), impulso di radiofrequenza (RF) e tempo di acquisizione durante il quale viene registrato il segnale. Secondo l'illustrazione, l'angolo dell'impulso è  $30^\circ$ . I due parametri **d1** e **p1** corrispondono rispettivamente alla lunghezza del ritardo di riciclo e alla lunghezza dell'impulso RF di  $90^\circ$ .



Gli intervalli di tempo raffigurati nei diagrammi della sequenza di impulsi non sono in scala. Ad esempio, d1 ha tipicamente una lunghezza di pochi secondi, mentre p1 ha una lunghezza di pochi microsecondi.

Il campione da usare è una quantità di **30 mg di antranilato di mentile in DMSO-d6**.



## 8.1 Impostazione dell'esperimento

### Creare un nuovo data set

- Sulla barra del menu, fare clic su **Acquire | Create Dataset** per aprire la finestra Create New Dataset.

Prepare for a new experiment by creating a new data set and initializing its NMR parameters according to the selected experiment type. For multi-receiver experiments several datasets are created. Please define the number of receivers in the Options.

**Dataset**

NAME: Proton\_exp  
EXPNO: 1  
Directory: C:\Data  
 Open in new window

**Parameters**

Use current parameters  
 Read parameterset [Select]  
 Set solvent: DMSO  
Additional action:  
 Do nothing  
 Execute getprosol  
 Keep parameters: P 1, O1, PLW 1 [Change]

**Advanced**

Number of datasets (receivers): 1  
Title: Menthyl Anthranilate in DMSO Proton

OK Cancel More info... Help


- Nella finestra Create New Dataset, inserire o selezionare:  
NAME = **Proton\_exp**  
EXPNO = **1**  
Directory = ad es. *C:\Data*

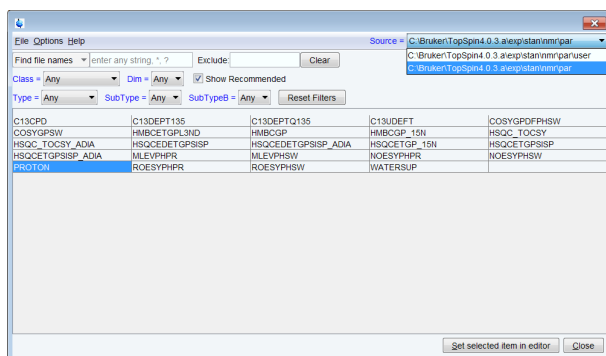
**Directory**, **NAME** ed **EXPNO** definiscono dove verrà archiviato il nuovo data set dell'esperimento sul computer:



Directory/NAME/EXPNO/ Nell'esempio: *C:\Data\proton\_exp\1*

**Directory** può essere selezionata nell'elenco a discesa oppure è possibile digitare una nuova posizione nel campo di testo. **NAME** è una sottodirectory di **Directory** ed **EXPNO** è una sottodirectory di **NAME**. **EXPNO** deve essere un numero intero positivo. Fornisce un modo per archiviare più data set correlati sotto lo stesso **NAME**.

- Nel gruppo dei parametri  **Parameters** fare clic su **Read parameterset** e **Select** per aprire la finestra rpar.



- Abilitare **Show Recommended** per ottenere l'elenco degli esperimenti sulle molecole piccole più comuni.
- Verificare che la directory di origine sia  
`<Topspin>\exp\stan\nmr\par`  
e non  
`<Topspin>\exp\stan\nmr\par\user`
- Nella tabella selezionare **PROTON** come esperimento e fare clic su **Set selected item in editor**.
- Nella finestra Create New Dataset, selezionare **Set solvent** e nell'elenco a discesa selezionare **DMSO**.
- Nel campo TITLE inserire un testo che indichi l'esperimento, il campione, il solvente e qualsiasi altra informazione utile. Le informazioni sul titolo possono essere utilizzate per cercare un data set.
- Nella finestra New Dataset, fare clic su **OK**.
- Sulla barra del menu, fare clic su **Acquire**.

Per acquisire uno spettro, utilizzare i pulsanti del flusso di lavoro nella barra dei pulsanti del flusso di lavoro da sinistra a destra (vedere i passaggi che seguono). In alternativa, i comandi visualizzati tra parentesi delle varie finestre a comparsa possono essere anche digitati al prompt dei comandi di TopSpin (ad es. **ej**, **ij**, **edte**, ecc.).

- Sul pulsante **Sample**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Eject sample manually (ej)**.



Attendere fino all'attivazione del flusso d'aria di espulsione del campione e rimuovere il campione eventualmente presente nel magnete.

### Caricare il campione

- Posizionare il campione e lo spinner sulla parte superiore del magnete.
- Sul pulsante **Sample**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Insert sample manually (ij)**.



Attendere fino a che il campione viene abbassato nella sonda e il flusso d'aria d'espulsione è disattivato. Si può sentire uno scatto.

## Effettuare il lock del solvente

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Lock**.
- Nella finestra della tabella dei solventi, selezionare il solvente, ad es. **DMSO**. Fare clic su **OK**.

Solvent	Description
Acetic	acetic acid-d4
Acetone	acetone-d6
C6D6	benzene-d6
CD2Cl2	dichloromethane-d2
CD3CN	acetonitrile-d3
CD3CN_SPE	LC-SPE Solvent (Acetonitrile)
CD3OD_SPE	LC-SPE Solvent (Methanol-d4)
CDCI3	chloroform-d
CH3CN+D2O	HPLC Solvent (Acetonitril/D2O)
CH3OH+D2O	HPLC Solvent (Methanol/D2O)
D2O	deuteriumoxide
D2O_salt	deuteriumoxide with salt
Dioxane	dioxane-d8
DMF	N,N-dimethylformamide-d7
<b>DMSO</b>	<b>dimethylsulfoxide-d6</b>
EtOD	ethanol-d6
H2O+D2O	90%H2O and 10%D2O
H2O+D2O_salt	90%H2O and 10%D2O with salt
HDMSO	90%DMSO and 10%DMSO-d6
Juice	fruit juice
MeOD	methanol-d4
Plasma	blood plasma
Pyr	pyridine-d5
T_H2O+D2O+Me4NCl	(CD3)4NCl in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+NaAc	sodium acetate in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+Pivalate	pivalate-d9 in 90% H2O and 10% D2O, for NMR thermometer
T_MeOD	methanol-d4, for NMR thermometer
TFE	trifluoroethanol-d3
THF	tetrahydrofuran-d8
Tol	toluene-d8
Urine	urine

Lock nucleus: 2H

## Sintonizzare e adattare l'impedenza della sonda

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Tune**.

Questa operazione esegue un'**ATMA (sintonia e adattamento d'impedenza automatici)** e richiede una sonda dotata di un modulo di sintonia automatica. Per ulteriori opzioni, fare clic sulla freccia **a discesa** sul pulsante **Tune**.

## Ruotare il campione (opzionale)

- Sul pulsante **Spin**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Turn sample rotation on (ro on)**.



La rotazione può essere **DISATTIVATA** per sonde come **BBI, TXI, TBI** e per piccole sonde campione.

## Shim del campione

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Shim**.

Questa operazione esegue il comando **topshim**. Lo shimming inizia subito e di solito richiede meno di un minuto. Sul pulsante **Shim**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.

## Caricare i parametri prosol

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Prosol**.

Questa operazione caricherà i valori dell'ampiezza dell'impulso e i livelli della potenza nel set di parametri.

## 8.2 Acquisizione

---

### Impostare il guadagno del ricevitore

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Gain**.

oppure

- Sul pulsante Gain, fare clic sulla freccia a discesa per regolare il guadagno del ricevitore manualmente.

### Avviare l'acquisizione dei dati

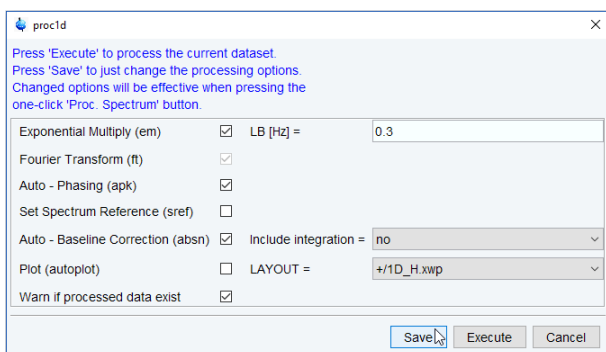
- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Run**.

oppure

- Sul pulsante **Run**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.

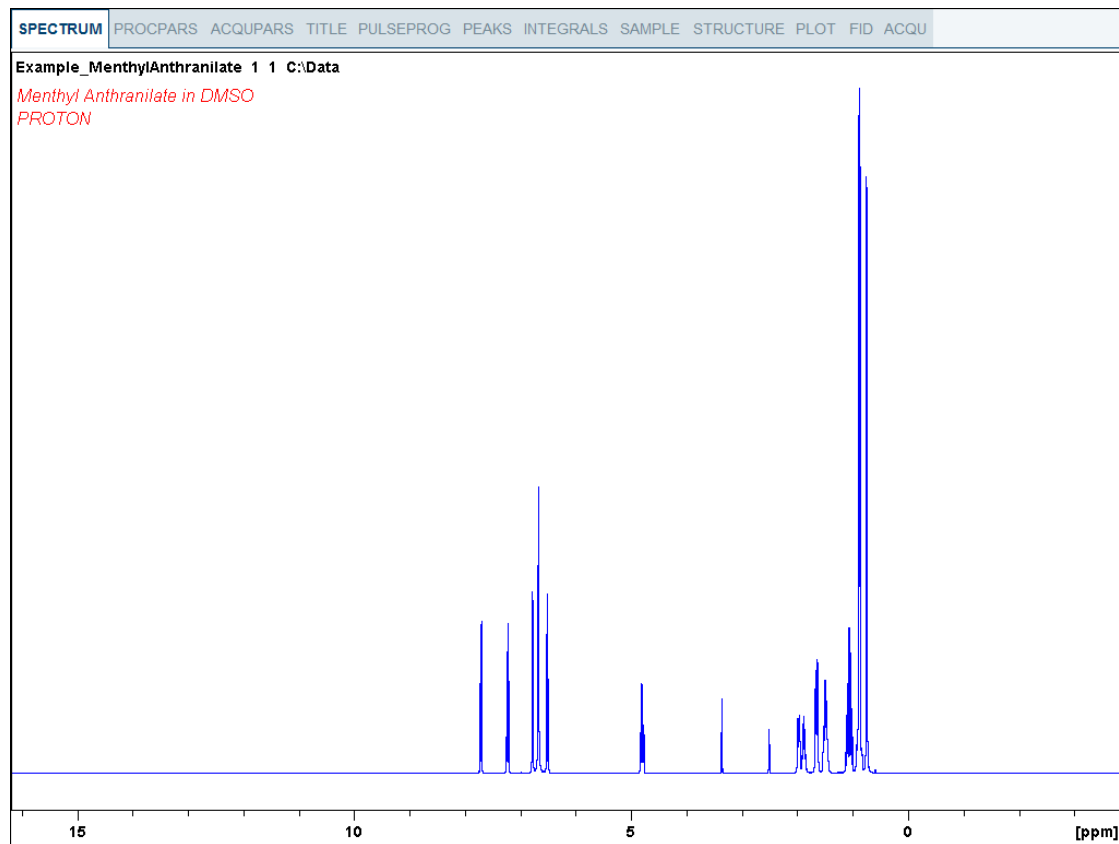
## 8.3 Elaborazione

- Al termine dell'acquisizione, fare clic su **Process** sulla barra del menu.
- Sul pulsante **Proc Spectrum**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Configure Standard Processing (proc1d)**.
- Nella finestra proc1d, attivare le seguenti opzioni:
  - Exponential Multiply (em)
  - Auto - Phasing (apk)
  - Auto - Baseline Correction (absn)



- Se il TMS viene aggiunto al campione come riferimento, attivare **Set Spectrum Reference**.
- Nella finestra proc1d, fare clic su **Execute**, quindi fare clic su **Save** per salvare le impostazioni di elaborazione selezionate.

Ora tutti i futuri data set possono essere elaborati con le azioni definite facendo clic su **Proc Spectrum**.

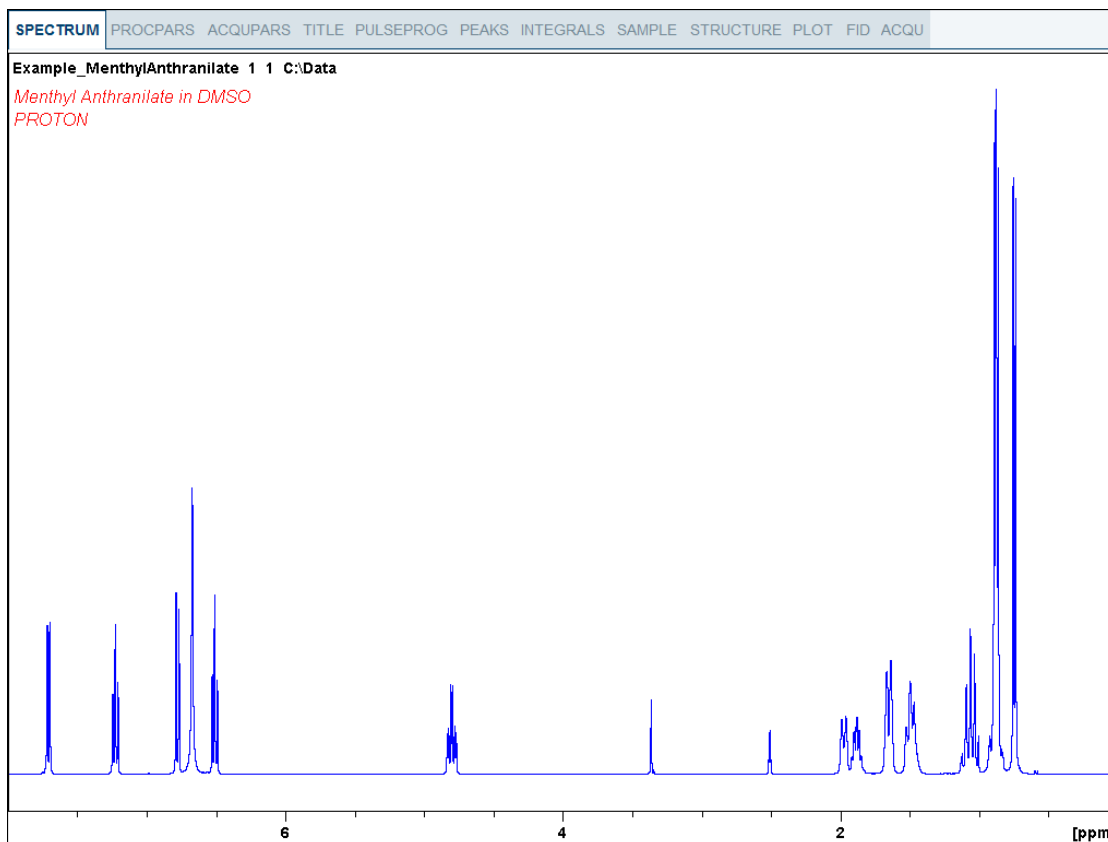


## 8.4 Integrazione

Per analizzare quantitativamente un segnale protonico osservato, viene confrontata l'intensità integrata dei picchi. È di prassi integrare uno spettro protonico per tenere conto del numero di protoni nella molecola analizzata.

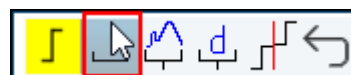
Per ottenere risultati di integrazione quantitativa più precisi, fare riferimento al manuale **NMR quantitativo**.

- Espandere lo spettro per includere tutti i picchi.

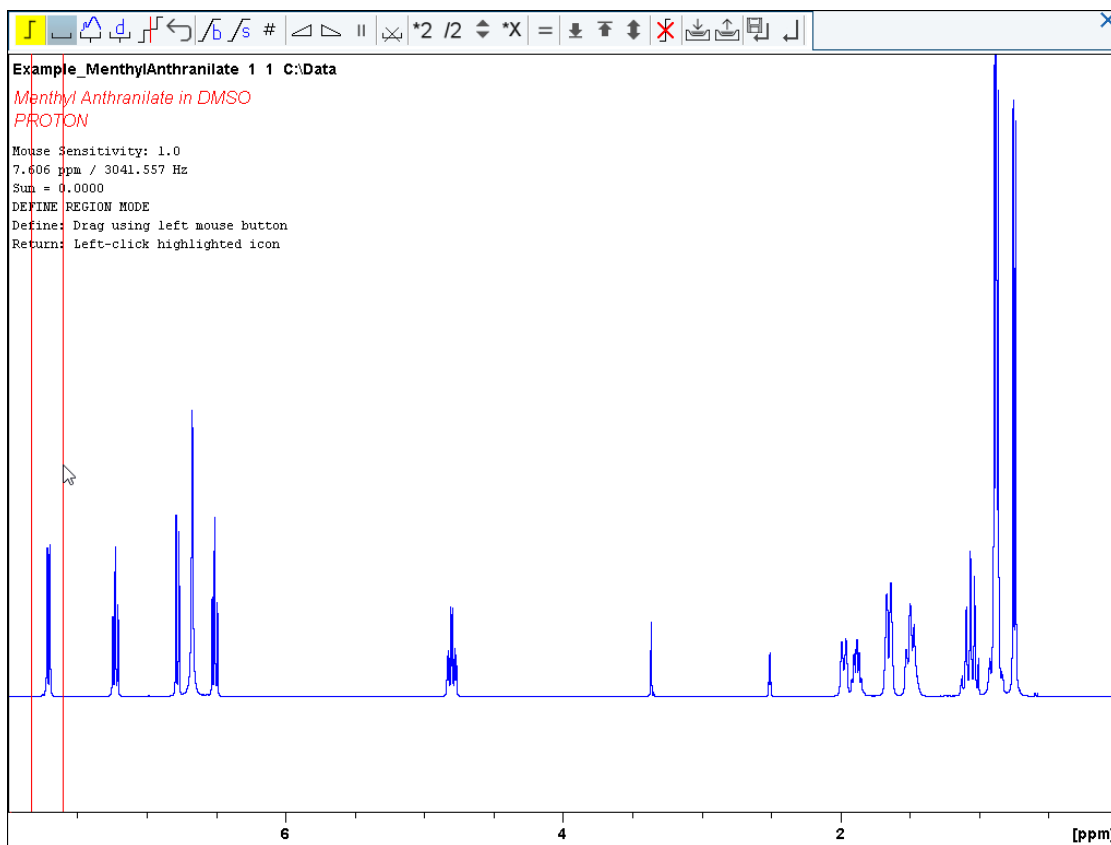


- Sulla barra del menu, fare clic su **Analyse | Integrate**.

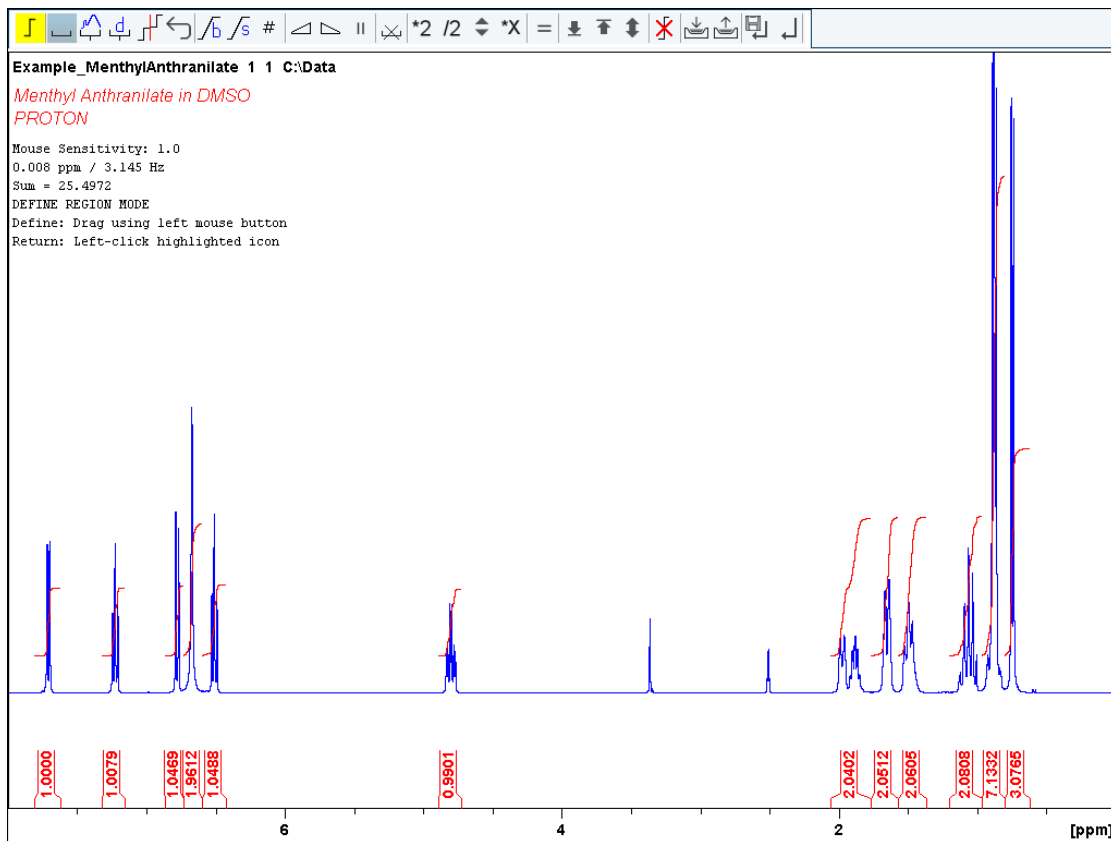
Con questa operazione si passa alla modalità di integrazione manuale. La barra delle schede dei **data set** viene sostituita dalla barra degli **strumenti di integrazione**.




- Selezionare il pulsante **Define new region using cursor**.
- Impostare la linea del cursore a sinistra del primo picco da integrare. Fare clic con il tasto sinistro del mouse e trascinare la linea del cursore a destra del picco, quindi rilasciare il tasto del mouse.



- Ripetere l'ultimo passaggio per tutti i picchi di interesse.




- Sulla barra degli strumenti di integrazione, fare clic su **Return, save region** per salvare le regioni di integrazione. 


### 8.5 Tracciare il grafico dello spettro protonico 1D

---



- Espandere lo spettro per includere tutti i picchi.
- Sulla barra degli strumenti, fare clic su **Retain expansion and scale**.



Lo spettro può essere stampato come viene visualizzato nella scheda SPECTRUM facendo clic su **Print active window** .

Lo spettro può essere stampato anche con un layout predefinito facendo clic su **Export active data or plot window as PDF** .

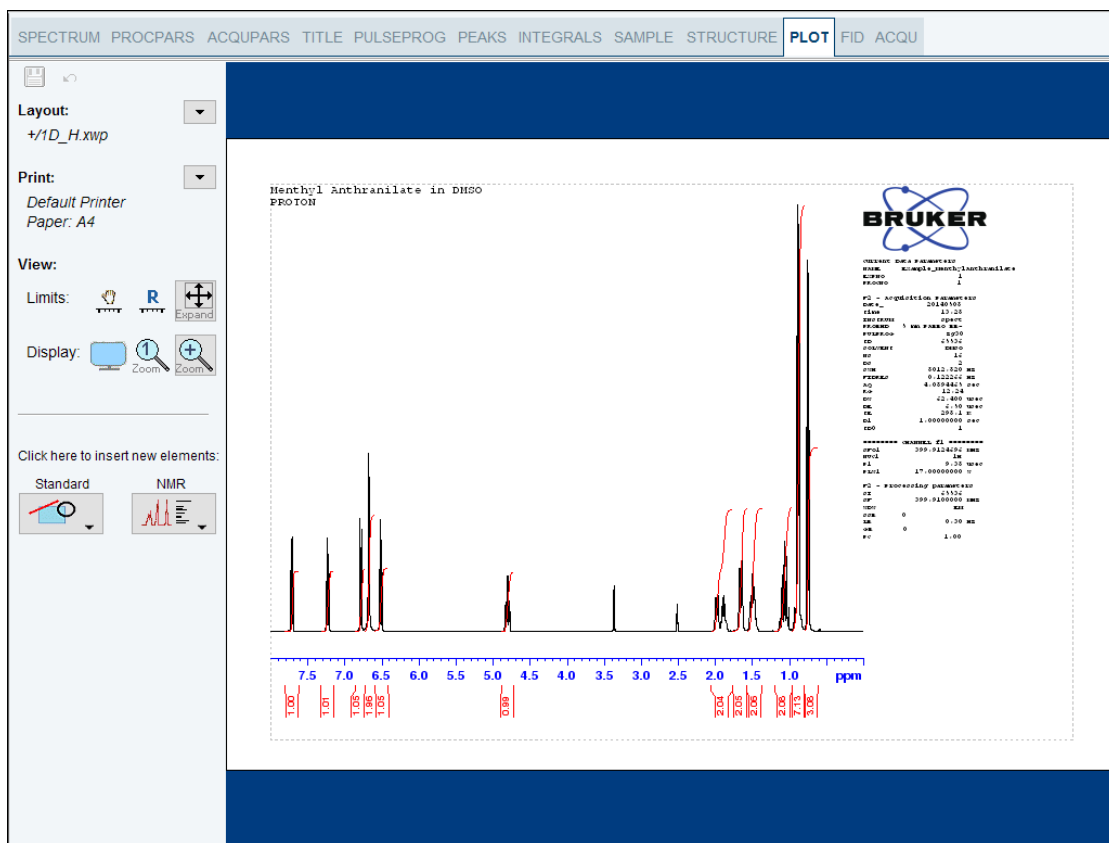
Sono disponibili ulteriori opzioni tramite il pulsante **Show more Publish Options** sulla barra

del menu  e passando all'editor del grafico . È anche possibile passare all'editor di stampa interattiva facendo clic sulla scheda **Plot** nella barra delle schede della finestra dei data set (vedere la figura che segue).



Per i dettagli sul funzionamento dell'editor di grafico e per modificare i layout, consultare il manuale **Pubblicazione dei dati** nel menu guida . Fare clic su **Help | Manuals | Automation and Data Publishing | Data Publishing**.

---

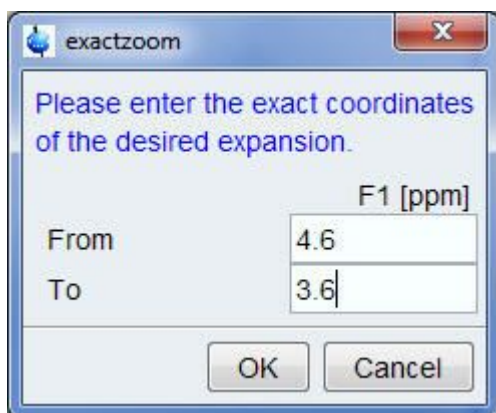


## 8.6 Ottimizzazione della finestra spettrale

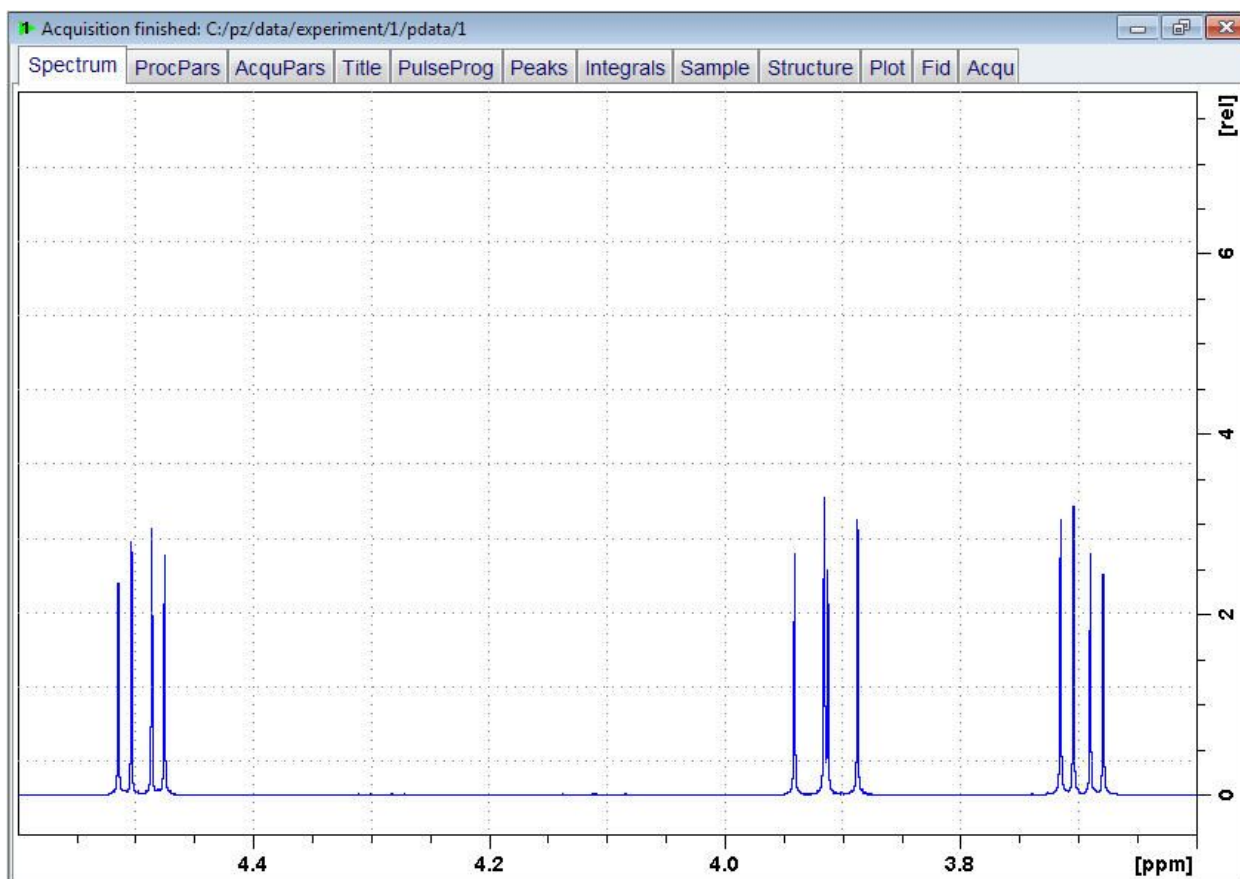
L'ottimizzazione della larghezza di scansione consente di ottenere una migliore risoluzione e separazione dei picchi nello spettro protonico.



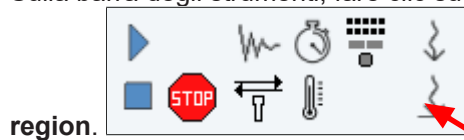
- Sulla barra degli strumenti, fare clic su **Exact Zoom**.
- Immettere i seguenti valori di F1 [ppm]:  
 Da = 4,6  
 A = 3,6



- Nella finestra Exact zoom, fare clic su **OK**.



- Sulla barra degli strumenti, fare clic su **Set sw to current region** e **SFO1 to center of**



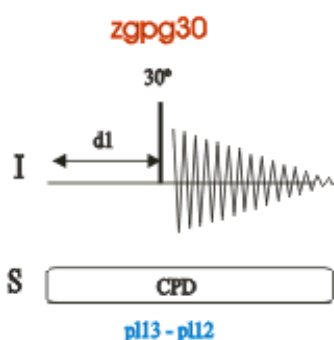
- Nella finestra New setting of SW, fare clic su **Close**.
- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Run**.
- Sulla barra del menu, fare clic su **Process**.
- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Proc Spectrum**.



**Nota:** con questa operazione si eseguono i parametri di elaborazione salvati della finestra proc1d.

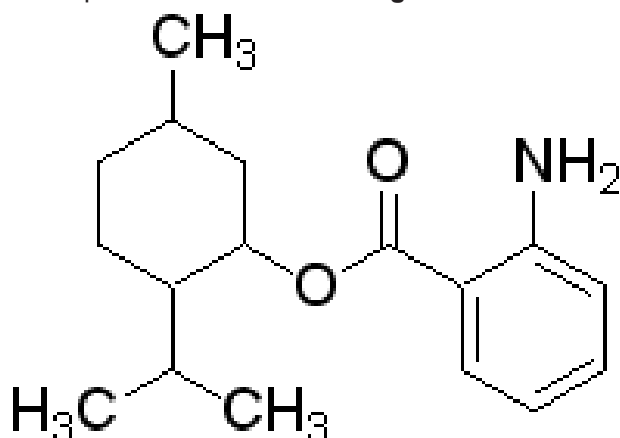
## 9 Spettro<sup>13</sup>C con disaccoppiamento protonico

Questo capitolo descrive l'acquisizione e l'elaborazione di uno spettro NMR <sup>13</sup>C unidimensionale. Il set di parametri standard Bruker **C13CPD** include la sequenza dell'impulso **zpgpg30** mostrata nella figura che segue. Il canale <sup>13</sup>C è costituito dal ritardo di riciclo, un impulso RF e il tempo di acquisizione durante il quale il segnale viene registrato. L'angolo dell'impulso è riportato pari a 30°. I due parametri, **d1** e **p1**, corrispondono rispettivamente alla lunghezza del ritardo di riciclo e alla lunghezza dell'impulso RF di 90°. Il canale <sup>1</sup>H è composto da due impulsi di disaccoppiamento che possono essere controllati in potenza. Il primo impulso, un impulso di accumulo NOE durante il ritardo di riciclo, può essere di potenza inferiore al secondo impulso durante l'acquisizione che è il vero impulso di disaccoppiamento. Questo può essere utile per evitare il riscaldamento RF su campioni o sonde salati in cui una potenza di disaccoppiamento superiore può costituire un problema.




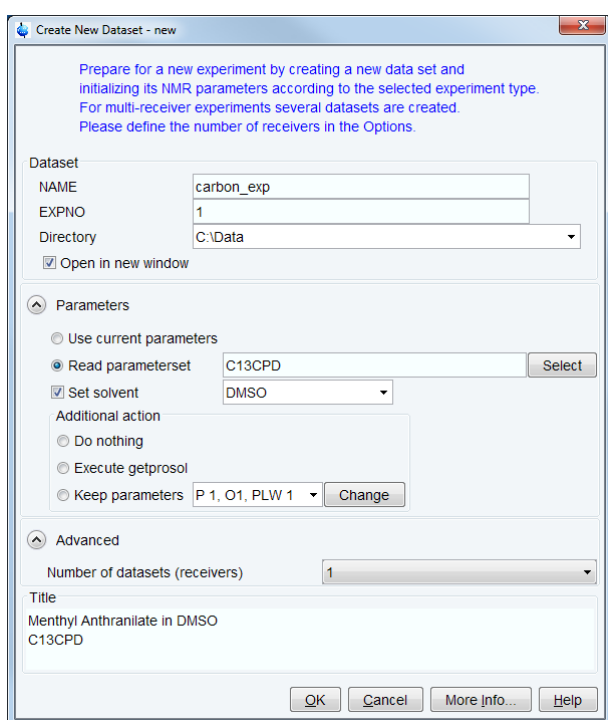
Gli intervalli di tempo illustrati nei diagrammi della sequenza dell'impulso non sono riportati in scala. Per esempio, **d1** è in genere di pochi secondi, mentre **p1** è in genere di pochi microsecondi di lunghezza.

Il campione da utilizzare è **30 mg di mentil antranilato in DMSO-d6**.



## 9.1 Impostazione dell'esperimento

- Sulla barra del menu, fare clic su **Acquire | Create Dataset** per aprire la finestra Create New Dataset.
- Nella finestra New Dataset, inserire o selezionare:  
NAME = **carbon\_exp**  
EXPNO = **1**  
Directory = ad es. *C:\Data*
- Nel gruppo dei parametri  **Parameters** fare clic su **Read parameterset** e selezionare l'esperimento **C13CPD**
- Nella finestra Create New Dataset, selezionare **Set solvent** e nell'elenco a discesa selezionare **DMSO**.



- Nel campo TITLE inserire un testo che indichi l'esperimento, il campione, il solvente e qualsiasi altra informazione utile. Le informazioni sul titolo possono essere utilizzate per cercare un data set.
- Nella finestra New Dataset, fare clic su **OK**.
- Nella finestra dei data set, selezionare la scheda **AcquPars**.
- Effettuare le seguenti modifiche:  
NS = **128**
- Sulla barra del menu, fare clic su **Acquire**.



Per acquisire uno spettro, utilizzare i pulsanti del flusso di lavoro da sinistra a destra.

- Sul pulsante **Sample**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Eject sample manually (ej)**. Viene attivato l'espulsore del campione.



Attendere fino all'attivazione del flusso d'aria di espulsione del campione e rimuovere il campione eventualmente presente nel magnete.

- Posizionare il campione e lo spinner sopra l'apertura del magnete.
- Sul pulsante **Sample**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Insert sample manually (ij)**.



Attendere fino a che il campione viene abbassato nella sonda e il flusso d'aria d'espulsione è disattivato. Si può sentire uno scatto.

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Lock**.
- Nell'elenco della tabella dei solventi, selezionare **DMSO** e fare clic su **OK**.

Δ Solvent	Description
Acetic	acetic acid-d4
Acetone	acetone-d6
C6D6	benzene-d6
CD2Cl2	dichloromethane-d2
CD3CN	acetonitrile-d3
CD3CN_SPE	LC-SPE Solvent (Acetonitrile)
CD3OD_SPE	LC-SPE Solvent (Methanol-d4)
CDCl3	chloroform-d
CH3CN+D2O	HPLC Solvent (Acetonitril/D2O)
CH3OH+D2O	HPLC Solvent (Methanol/D2O)
D2O	deuteriumoxide
D2O_salt	deuteriumoxide with salt
Dioxane	dioxane-d8
DMF	N,N-dimethylformamide-d7
<b>DMSO</b>	<b>dimethylsulfoxide-d6</b>
EtOD	ethanol-d6
H2O+D2O	90%H2O and 10%D2O
H2O+D2O_salt	90%H2O and 10%D2O with salt
HDMSO	90%DMSO and 10%DMSO-d6
Juice	fruit juice
MeOD	methanol-d4
Plasma	blood plasma
Pyr	pyridine-d5
T_H2O+D2O+Me4NCI	(CD3)4NCI in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+NaAc	sodium acetate in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+Pivalate	pivalate-d9 in 90% H2O and 10% D2O, for NMR thermometer
T_MeOD	methanol-d4, for NMR thermometer
TFE	trifluoroethanol-d3
THF	tetrahydrofuran-d8
Tol	toluene-d8
Urine	urine

Lock nucleus: 2H

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Tune**.



Questa operazione esegue un'**ATMA** (sintonia e adattamento d'impedenza automatici) e richiede una sonda dotata di un modulo di sintonia e adattamento automatici. La sintonia inizia sempre con la frequenza più bassa, in questo caso il carbonio, quindi passa a sintonizzare le frequenze più alte, in questo caso il protone. Sul pulsante **Tune**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.

- Sul pulsante **Spin**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Turn sample rotation on (ro on)**.



La rotazione può essere disattivata per sonde come **BBI**, **TXI**, **TBI** e per piccole sonde campione.

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Shim**.

Questa operazione esegue il comando **topshim**. Sul pulsante **Shim**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Prosol**.

Questa operazione caricherà i valori dell'ampiezza dell'impulso e i livelli della potenza nel set di parametri.

## 9.2 Acquisizione

- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Gain**.

oppure

- Sul pulsante **Gain**, fare clic sulla freccia **a discesa** per regolare il guadagno del ricevitore manualmente.
- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Run**.

oppure

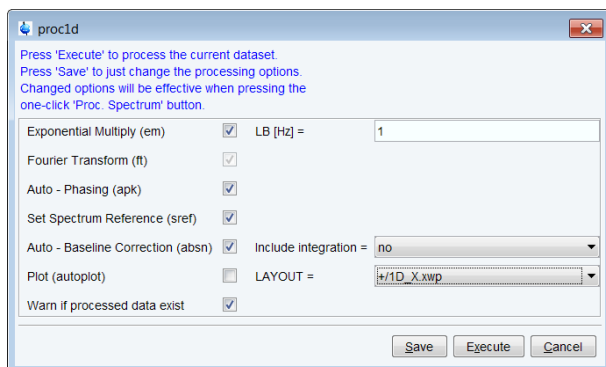
- Sul pulsante **Run**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.

## 9.3 Elaborazione

Al termine dell'acquisizione:

- Sulla barra del menu, fare clic su **Process**.
- Sul pulsante **Proc Spectrum**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.
- Nell'elenco, selezionare **Configure Standard Processing (proc1d)**.
- Nella finestra **proc1d**, selezionare le opzioni:
  - Exponential Multiply (em)
  - Auto - Phasing (apk)
  - Set Spectrum Reference (sref)

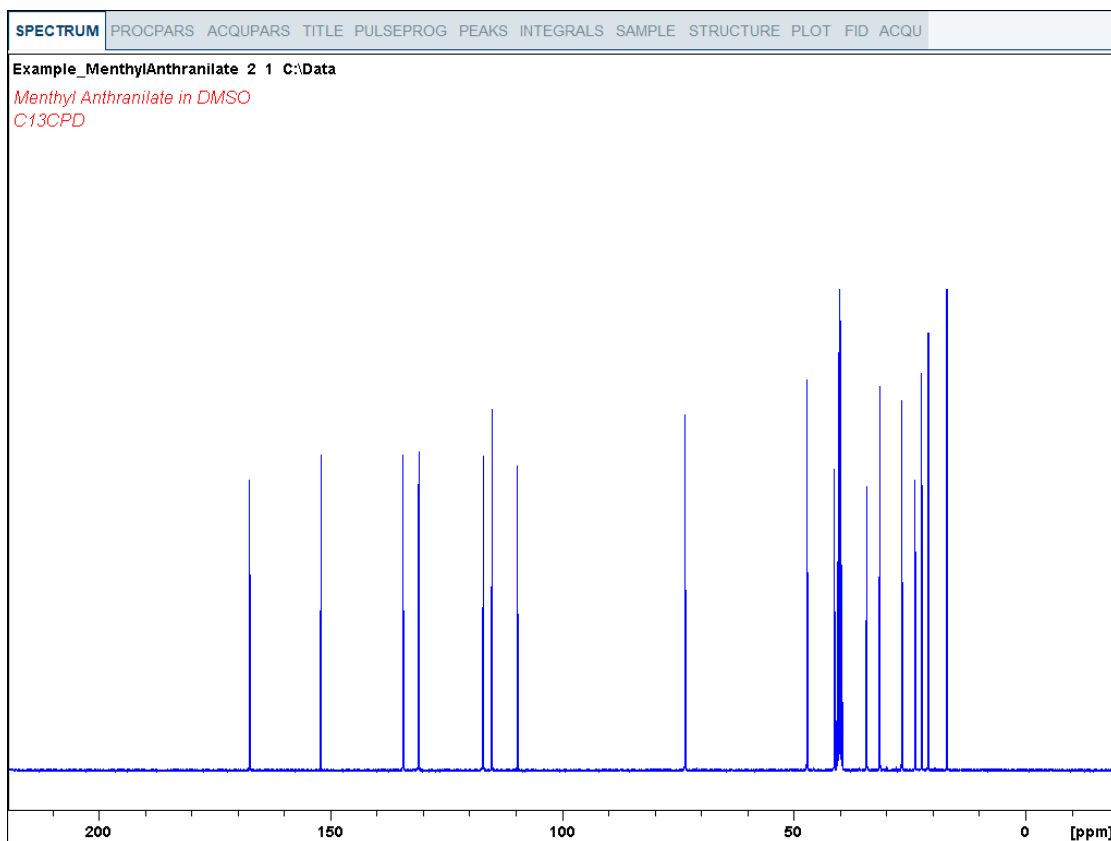
## Auto - Baseline Correction (absn)



- Nella finestra proc1d, fare clic su **Execute**.
- Nella finestra proc1d, fare clic su **Save** per salvare le impostazioni di elaborazione selezionate.

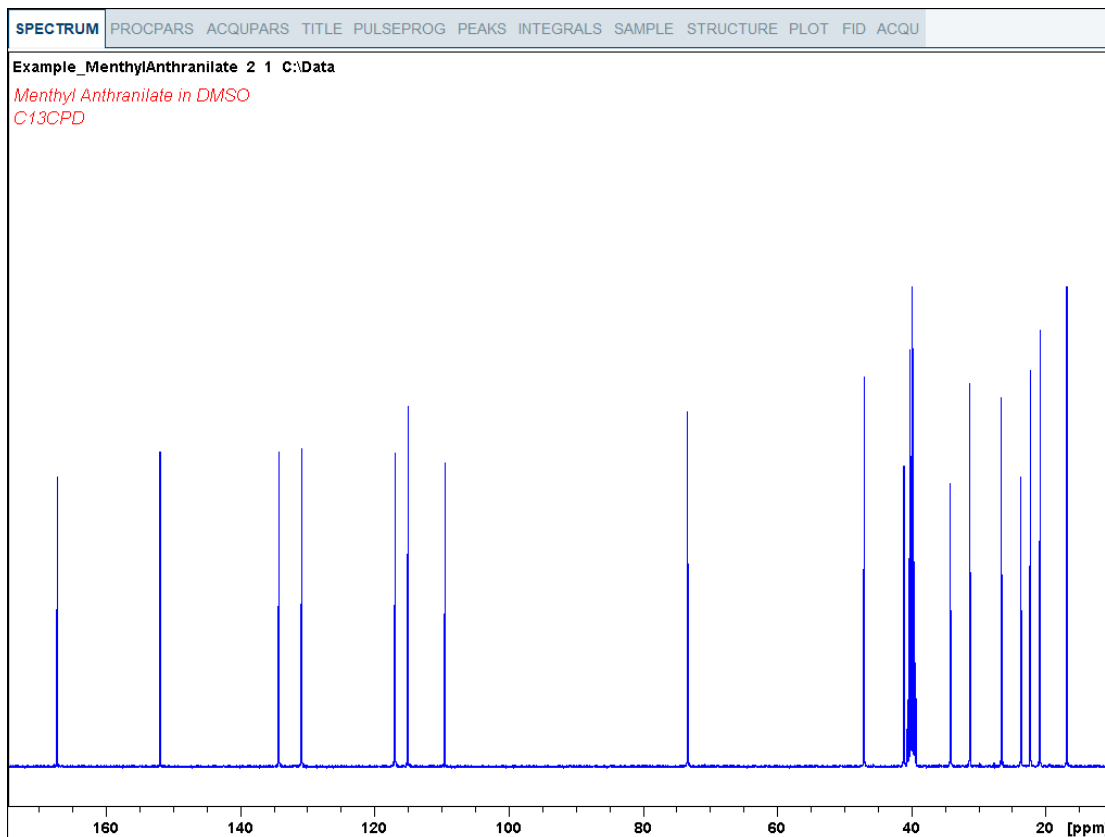


Ora tutti i futuri data set possono essere elaborati con le azioni definite facendo clic su **Proc Spectrum**.



## 9.4 Selezione del picco

- Espandere lo spettro per includere tutti i picchi.



- Sulla barra del menu, fare clic su **Analyse**.
- Sulla barra dei pulsanti del flusso di lavoro, fare clic su **Pick Peaks**.

oppure

- Sul pulsante **Pick Peaks**, fare clic sulla freccia **a discesa** per visualizzare ulteriori opzioni.

In questo modo si entra nella modalità di selezione del picco.

Le schede dei **data set** vengono sostituite dalla barra degli strumenti di **selezione del picco**.

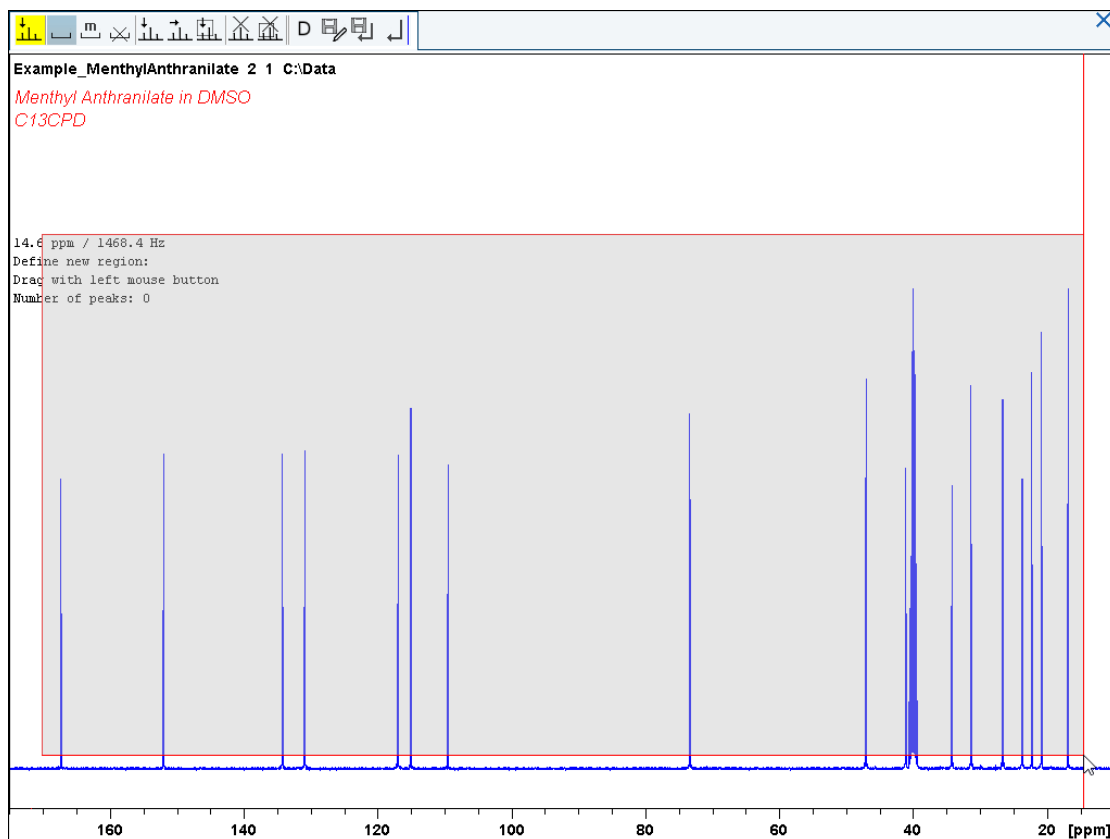



Per impostazione predefinita, il pulsante **Define new peak picking range** è attivato.

- Fare clic a sinistra e trascinare la linea del cursore dalla sinistra alla destra dello spettro, disegnando un riquadro rettangolare.



Il pulsante **Modify existing peak picking range** consente di sollevare la parte inferiore e/o abbassare la parte superiore del riquadro di selezione del picco per escludere il rumore o il solvente.



- Sulla barra degli strumenti di selezione del picco, fare clic su **Return, save region** per memorizzare i valori del picco. 
- Per visualizzare le etichette di selezione del picco, fare clic con il tasto destro del mouse nella finestra dello spettro e selezionare **Spectra Display Preferences**. Nei componenti dello spettro, attivare **Peak labels** e **Peak annotations**. Fare clic su **Apply** e **Close**.

## 9.5 Tracciare lo spettro del carbonio 1D

- Espandere lo spettro per includere tutti i picchi.
- Sulla barra degli strumenti, fare clic su **Retain expansion and scale**.



- Sulla barra del menu, fare clic su **Show more Publishing Options**.



- Selezionare **Switch to plot editor** (grafico).





# 10 Contatti

## Produttore:

Bruker BioSpin NMR  
Silberstreifen  
D-76287 Rheinstetten  
Germania  
Telefono: +49 721-5161-6155  
<http://www.bruker.com>  
WEEE DE43181702

## Hotline NMR

Contattare i nostri centri assistenza NMR.

Bruker BioSpin NMR offre hotline e centri assistenza dedicati, tramite i quali gli esperti possono rispondere rapidamente a ogni richiesta di assistenza, domanda su applicazioni e dubbi di carattere tecnico e sul software.

Selezionare il centro assistenza NMR o la hotline che si desidera contattare nell'elenco disponibile alla pagina:

<http://www.bruker.com/service/information-communication/helpdesk/magnetic-resonance.html>



# Figure

Figura 3.1:	Eccitazione e risposta .....	9
Figura 3.2:	Spettro NMR .....	10
Figura 3.3:	Analisi NMR del CHCl <sub>3</sub> .....	11
Figura 3.4:	Segnali NMR emessi da CHCl <sub>3</sub> .....	12
Figura 3.5:	Conversione di Hertz e ppm .....	13
Figura 3.6:	Spostamenti chimici di <sup>1</sup> H nei composti organici.....	15
Figura 3.7:	Anello benzenico .....	15
Figura 3.8:	Spettro del benzene.....	16
Figura 3.9:	Benzilacetato .....	16
Figura 3.10:	Spettro protonico del benzilacetato .....	17
Figura 3.11:	Etilbenzene .....	18
Figura 3.12:	Spettro dell'etilbenzene .....	19
Figura 3.13:	Esperimento di disaccoppiamento.....	20
Figura 3.14:	Spettro dell'etilbenzene con disaccoppiamento omonucleare.....	21
Figura 3.15:	Trasformata di Fourier .....	22
Figura 4.1:	Consolle AVANCE NEO e magnete Ascend .....	23
Figura 4.2:	Panoramica dell'architettura AVANCE NEO.....	24
Figura 4.3:	Foto del magnete, del sistema di shim, della sonda e dell'HPPR .....	26
Figura 4.4:	Magnete superconduttore.....	28
Figura 4.5:	Campione nella sonda .....	30
Figura 4.6:	Tipico cablaggio dell'HPPR.....	31
Figura 4.7:	Esempio di una sonda a banda larga .....	32
Figura 4.8:	La piattaforma iProbe Bruker.....	33
Figura 5.1:	Inserimento del campione nello spinner .....	38
Figura 5.2:	Tabella dei solventi .....	40
Figura 5.3:	Visualizzazione del lock effettuato sul campione.....	40
Figura 5.4:	Finestra di sintonia/adattamento d'impedenza della sonda ATMM .....	42
Figura 5.5:	Esempi di curve di oscillazione con diversi valori di sintonia e adattamento d'impedenza .....	43
Figura 5.6:	La finestra proc1d .....	46
Figura 6.1:	Spettro con BF1 = 600,13 MHz, O1 = 0 Hz.....	48
Figura 6.2:	Spettro con BF1 = 600,13 MHz, O1 = 8 kHz.....	49
Figura 6.3:	Spettro con BF1 = 600,13 MHz, O1 = 8 kHz, SWH = 8,4 kHz .....	49
Figura 6.4:	Interazione di SFO1, BF1 e O1 .....	50
Figura 7.1:	Spettro che illustra le bande laterali di rotazione .....	52



# Tabelle

Tabella 3.1: Tabella di dati per vari isotopi (frequenze riferite a un magnete di 11,7 T).....	9
Tabella 3.2: Variazioni di frequenza (riferite a un magnete di 11,7 T).....	10



# Glossario

## AQS

---

Sistema di acquisizione

## BSMS

---

Il Bruker Smart Magnet Control System (BSMS) fornisce il controllo computerizzato di varie funzioni associate al magnete, al campo magnetico e al campione.

## BSVT

---

Sistema intelligente di temperatura variabile Bruker

## EPU

---

Unità di elaborazione incorporata

## GAB/3

---

Scheda dell'amplificatore di gradiente 3

## GTU

---

Unità di gradiente e temporizzazione

## HPPR

---

High Performance Preamplifier  
(preamplificatore ad alta prestazione)

## ppm

---

parti per milione

## Solvente deuterato

---

Un solvente deuterato è un solvente con una grande percentuale di atomi di idrogeno sostituiti dal deuterio. I solventi deuterati comunemente usati sono l'acetone d<sub>6</sub>, il benzene d<sub>6</sub>, il cloroformio d e il DMSO-d<sub>6</sub> (dimetilsolfossido), anche se sono disponibili molti altri solventi.

## Spostamento chimico (chemical shift)

---

Variazione della precisa frequenza di risonanza.



# Indice

## A

a banda larga	
Amplificatori .....	25
Abbondanza naturale .....	12
accoppiamento spin-spin	
gli effetti dell' .....	20
Adattamento d'impedenza .....	43
Amplificatori .....	25
AQS .....	24
AVANCE NEO .....	24
Azoto	
Azoto liquido .....	7

## B

Banda larga	
bobina .....	31
Bande laterali	
Intensità di bande laterali .....	52
Bande laterali di rotazione .....	52
BASH .....	24
BF .....	47
Bobina del magnete .....	27
Bobina di osservazione	
I .....	31
Bobine RF .....	30
Bruker Smart Magnet System .....	25
BSMS .....	25, 26

## C

Campioni liquidi .....	51
Campo di dispersione .....	7
CE	
Dichiarazione di conformità .....	8
Chimicamente equivalente .....	16
Computer Host .....	24
Connessione Ethernet .....	24
Console .....	23
Console dell'operatore .....	23, 24

## D

Data set .....	36
Dichiarazione di conformità .....	8
Disaccoppiamento eteronucleare .....	21
Drift .....	30

## E

edlock .....	39
Elettromagneti .....	27

Elio	
Elio liquido .....	7
EXPNO .....	36

## F

FID	
Definizione .....	22
Fluoro stabilizzazione .....	29
Forza del segnale	
misura della .....	10
Frequenza .....	10
Frequenza di risonanza .....	32
Frequenza portante .....	10
Frequenze assolute .....	13
Frequenze di risonanza .....	9

## H

Hertz	
Conversione .....	13
HPPR .....	25, 27, 29
HPPR/2 .....	27

## I

Impianti metallici .....	7
Impulsi di disaccoppiamento .....	20
Impurezze .....	51
Impurezze magnetiche .....	51
Intensità .....	10
di un segnale .....	10
Intensità integrata .....	10
Isotopi .....	11
Isotopo	
Frequenza di risonanza di base .....	9

## L

Linea di trasferimento N2 .....	32
---------------------------------	----

## M

Magnete .....	26
Descrizione del sistema .....	27
Magneti superconduttori .....	27
Magnetica	
Sicurezza .....	7
Magneticamente equivalente .....	16
Multipletti .....	18

## N

NAME .....	36
NMR attivi .....	11
Nucleo osservato .....	10
Numero SI di punti .....	45

## O

Omogeneità di campo .....	44
---------------------------	----

## P

Pacemaker cardiaci .....	7
Parafilm .....	53
Parametro:SFO1 .....	10
PDU .....	25
ppm .....	12
Preamplificatore ad alte prestazioni .....	25
Preamplificatori .....	30

## Q

Quartetto .....	18
Quench del magnete .....	7

## R

Risoluzione orizzontale di uno spettro .....	12
--	----

## S

Schermatura magnetica .....	10
Selettive	
Sonde .....	31
selettivi	
Amplificatori .....	25
Sensibilità .....	12
sensore del livello dell'elio .....	29
SFO1 .....	47
Shimming .....	26, 44
Sicurezza .....	7
Campo magnetico .....	7
Chimica .....	8
Sicurezza chimica .....	8
Sicurezza elettrica .....	8
Simmetria del tubo .....	52
Singoletti .....	11
Singoletto .....	20
Sintonia .....	43
Sistema del magnete .....	23
Sistema di lock	
Ricevitore .....	29
Sistema di shim .....	26
Sistema di stabilizzazione	
Destinazione .....	29
Solidi .....	51
Solvente	
Fattori di scelta .....	51
Solvente deuterato .....	29
Solventi	
Contenuto di acqua .....	51
Dipendenza della temperatura .....	51
Solubilità .....	51
Viscosità .....	51

Solventi deuterati .....	51
Solventi organici .....	51
Sonda .....	30
Cambio di sonda .....	33
Sonda QNP .....	32
Sonde	
Bobina a banda larga .....	31
Bobina di osservazione .....	31
Riscaldatore .....	32
Spettrale risoluzione .....	44
Spettri protonici .....	14
Spinning .....	52
Spinning sidebands .....	52
Spostamento chimico .....	14
Stabilizzazione del campione .....	29

## T

TD .....	45
Temperatura del campione .....	32
Termocoppia .....	32
TopShim .....	44
Trasformata di Fourier .....	45
Trasmettitori .....	25
Tripletto .....	18
Tubi per il campione .....	53

## U

Unità di distribuzione dell'alimentazione .....	25
Unità di temperatura variabile .....	32

## V

VTU .....	32
-----------	----





**Bruker Corporation**

[info@bruker.com](mailto:info@bruker.com)  
[www.bruker.com](http://www.bruker.com)

Order No: H171804IT