

Gruppo Interdivisionale
Risonanze Magnetiche



DOSY, ma a cosa serve? (prima parte)

DOSY è l'acronimo di Diffusion Ordered Spectroscopy: come suggerisce il nome si tratta di un esperimento NMR basato sulle proprietà di diffusione molecolare.

Le proprietà della intera molecola non sono in genere rappresentate negli esperimenti NMR (anche 2D o 3D), in quanto le interazioni di spin hanno carattere locale. In questo senso l'introduzione di una dimensione che dipende da una proprietà molecolare, che quindi ha lo stesso effetto su tutti i nuclei della molecola, rappresenta una vera e propria svolta nelle tecniche NMR. Nell'esperimento DOSY la proprietà utilizzata è il coefficiente di diffusione D , correlato al coefficiente di attrito f a cui la particella è sottoposta, dall'equazione di Nernst-Einstein:

$$D = \frac{k_B T}{f}$$

Il coefficiente di attrito f per una particella sferica di raggio idrodinamico ρ , immersa in un solvente di viscosità h , è ricavabile dall'equazione di Stokes:

$$f = 6\pi\eta\rho$$

L'idea è la stessa alla base di qualsiasi esperimento bidimensionale: si incrementa una variabile che modula il segnale osservato e poi si trasforma il segnale in funzione di tale variabile, ottenendo uno spettro ad essa correlato. Nel caso specifico è possibile correlare i dati NMR al moto traslazionale attraverso l'impiego dei gradienti. In particolare l'intensità del segnale PFG-echo mostra una dipendenza gaussiana dal quadrato dell'area del gradiente applicato, secondo l'equazione di Stejskal-Tanner:

$$S(G_{zi}) = S(0)\exp\left\{-D_1\bar{a}^2\bar{a}^2G_{zi}^2\left(\bar{A} - \frac{\bar{a}}{3}\right)\right\}$$

Il procedimento è abbastanza semplice: si registrano spettri PFG-echo incrementando l'area dei gradienti applicati, dopo di che il fitting esponenziale del decadimento dell'altezza di ciascun picco in funzione del quadrato dell'area gradiente fornisce il coefficiente di diffusione e l'errore standard. Si costruisce quindi uno spettro bidimensionale, con chemical shift lungo un asse (che corrisponde alla dimensione di osservazione) e i coefficienti di diffusione lungo l'altro asse. Questa seconda dimensione viene costruita ponendo una gaussiana in corrispondenza di ciascun picco, centrandola sul coefficiente di diffusione ricavato con il fitting (la larghezza è invece proporzionale all'errore standard, anch'esso calcolato con il fitting mentre il volume è proporzionale all'altezza iniziale). Poiché tutti i segnali di una stessa molecola devono avere lo stesso

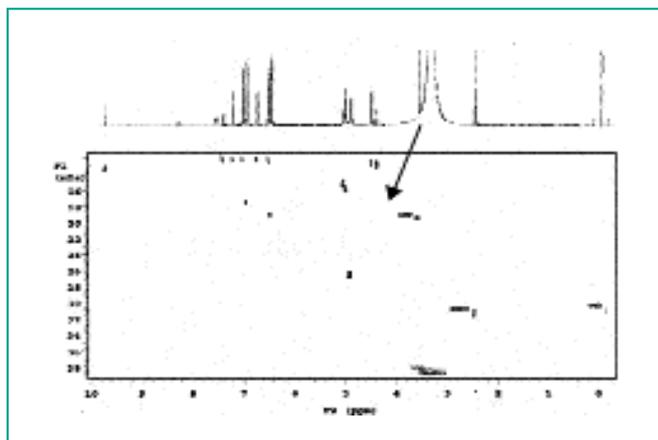


Figura 1 - Spettro DOSY di una miscela costituita da un prodotto principale e da alcune impurezze

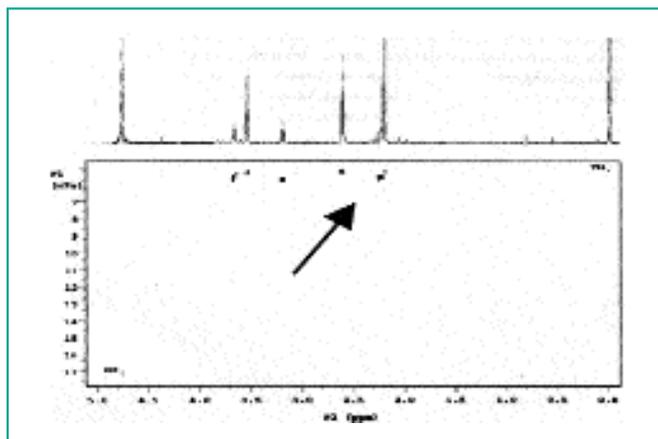


Figura 2 - Spettro DOSY di una miscela costituita da due componenti principali

coefficiente di diffusione, lo spettro di una miscela complessa viene risolto negli spettri dei singoli componenti, permettendo anche di correlare sistemi di spin isolati. Inoltre i picchi sono ordinati sulla base delle dimensioni molecolari e quindi l'esperimento può essere anche utilizzato per evidenziare stati di aggregazione in soluzione.

Per quanto riguarda l'impiego nell'analisi di miscele, nella nostra esperienza la maggiore utilità si riscontra nella soluzione di casi particolari, difficilmente risolvibili con altre tecniche, come ad esempio l'attribuzione di sistemi di spin isolati.

Ad esempio nel caso riportato in Figura 1 il problema era stabilire se il segnale del gruppo metilico a 3,6 ppm appartenesse o no al prodotto principale. Come si può ricavare dallo

Queste pagine nascono nella prospettiva di diventare un punto di incontro per scambi di esperienze nel campo delle risonanze magnetiche tra i colleghi specialisti e gli utenti "di tutti i giorni". Potete mettervi in contatto con il Girm all'indirizzo it_girm@gsk.com o cm5304@gsk.com





Non solo NMR

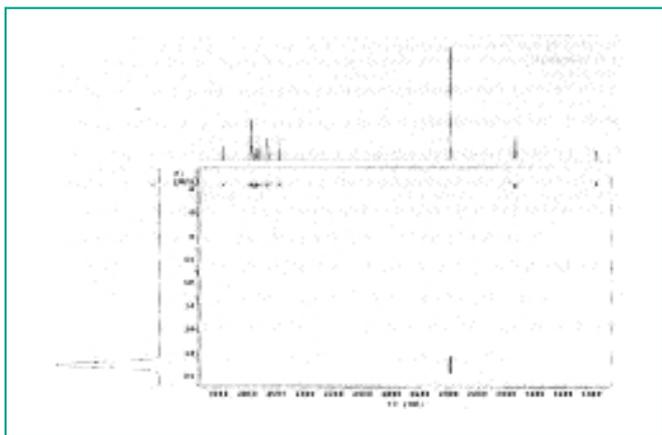


Figura 3 - Spettro DOSY del prodotto. $D=3,76 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$

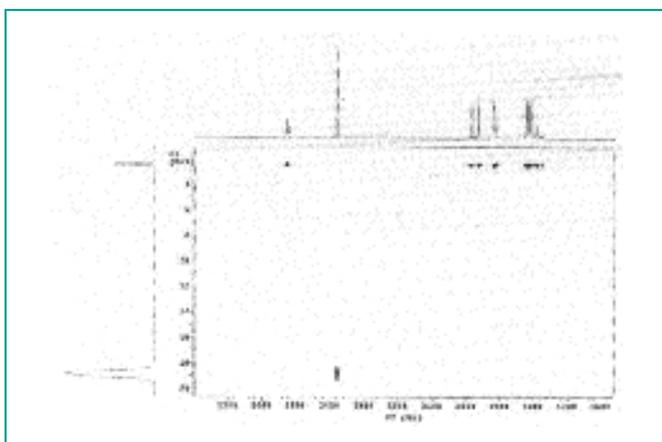


Figura 4 - Spettro DOSY della β -CD $D=2,56 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$

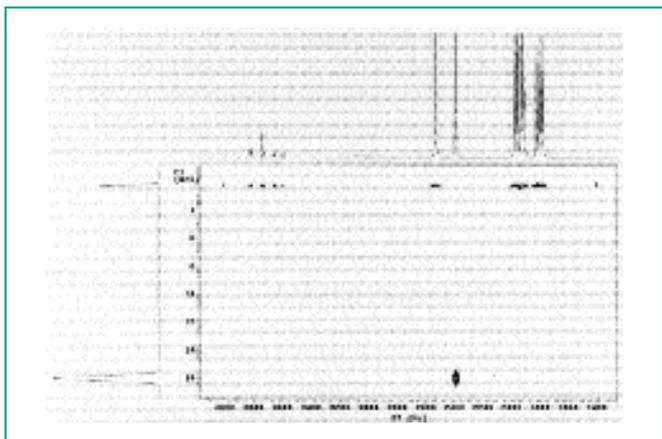


Figura 5 - spettro DOSY della miscela prodotto/ β -CD (circa 1/1): $D=2,58 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$

spettro, tale segnale ha un coefficiente di diffusione diverso da quello dei segnali del prodotto di interesse, pertanto è possibile concludere che il metile appartiene all'impurezza. Nel caso riportato in Figura 2 era invece necessario stabilire se entrambi i componenti della miscela possedessero un gruppo metilico (segnali a 2,25 ppm). Poiché nello spettro DOSY sono presenti due segnali corrispondenti allo stesso chemical shift ma con diverso coefficiente di diffusione, anche in questo caso l'esperimento ha fornito una soluzione univoca al problema.

Vediamo ora un altro tipo di applicazione. Come già accennato la tecnica DOSY può essere utilizzata anche per evidenziare la formazione di stati di aggregazione in soluzione, fornendo indicazioni sulla dimensione molecolare. Ad esempio può essere utilizzata per dimostrare la formazione di complessi di inclusione, come nel caso riportato nelle Figure 3 e 5 per l'inclusione con β -ciclodestrine (β -CD). Il primo passaggio consiste nella determinazione dei coefficienti di diffusione del prodotto e della ciclodestrina separatamente, in D_2O , alla stessa concentrazione. Come si può ricavare dalle figure riportate, i due valori sono notevolmente diversi, e riflettono la differenza di massa molecolare fra i due composti.

Successivamente una miscela equimolecolare di prodotto e β -CD viene analizzata nelle stesse condizioni sperimentali: come si può osservare da Figura 5, il coefficiente di diffusione del prodotto risulta notevolmente variato mentre quello della ciclodestrina rimane pressoché inalterato. Poiché si misura un unico valore per tutti i segnali della miscela l'esperimento ha dimostrato in questo caso l'effettiva formazione del complesso di inclusione (le proprietà di diffusione del complesso sono simili a quelle del componente a massa maggiore, cioè in questo caso a quelle della β -CD isolata).

Silvia Davalli

CONVEGNI

Anche quest'anno si svolgeranno le Sapio Conferences. Tali giornate (sei eventi) rappresentano ormai un momento di incontro per gli spettroscopisti italiani. Per informazioni potete accedere al sito www.sapio.it/Gruppo_it/eventi/eventi.htm

Dal 19 al 22 Settembre 2001 si svolgerà a Parma il XXXI Congresso Nazionale Risonanze Magnetiche.

Lo Scopo principale del Congresso, organizzato dal Gruppo Italiano Discussione Risonanze Magnetiche GIDRM e con la partecipazione del Gruppo Interdivisionale di Risonanze Magnetiche della SCI (Girm), è quello di favorire lo scambio di idee e promuovere la discussione sui recenti sviluppi della Spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare e dell'Imaging. Quest'anno verrà dato un particolare risalto all'utilizzo di questa tecnica nell'analisi della qualità degli alimenti. Si intende inoltre agevolare e promuovere la partecipazione di giovani ricercatori, offrendo loro l'opportunità di incontrare altri scienziati esperti nello stesso settore di ricerca. Il programma completo è visibile al seguente indirizzo: www.chimorg.unifi.it/gidrm.htm.

Intermeeting

Borgo al Collegio Maria Luigia, 15 - 43100 Parma

Tel. 0521 231123 - fax 0521 228981 - e-mail intermeeting@tin.it

Vi segnaliamo che presso il

Centro Risonanze Magnetiche dell'Università di Firenze ci sarà un'attività di "Formazione Permanente NMR".

Informazioni reperibili alla pagina:

www.cerm.unifi.it/NMRcourse/NMR.htm

