



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

FACOLTÀ DI INGEGNERIA

Corso di Laurea in Ingegneria Informatica

**AUTOMAZIONE “VS” INFORMATIZZAZIONE DI UN
REATTORE CHIMICO PER APPLICAZIONI
INDUSTRIALI**

Relatore

ROBERTA BERTANI

Laureando

STEFANO ORLANDO

Co-relatore

EUGENIO SCHIARANTE



ANNO ACCADEMICO 2009-2010

*Le parole hanno il potere di distruggere e di
creare, quando le parole sono sincere e gentili
possono cambiare il mondo.
(Gautama Buddha 566 a.C. - 486 a.C.)*

*A tutti i miei cari
che mi hanno sempre incoraggiato e sostenuto in
quest'avventura*

Sommario:

| | | |
|----------|--|----|
| 1 | Introduzione | 1 |
| 2 | Tecnologie Odierne | 5 |
| | 2.1 Spettroscopia | 5 |
| | 2.1.1 Spettroscopia ultravioletta/visibile | 8 |
| | 2.1.2 Spettroscopia infrarossa | 10 |
| | 2.1.3 Spettroscopia di assorbimento atomico (AAS) | 13 |
| | 2.1.4 Spettroscopia di emissione atomica (AES) | 14 |
| | 2.2 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR) | 16 |
| 18 | 2.2.1 Descrizione Quantistica della Risonanza Magnetica Nucleare | |
| | 2.2.2 Eccitazione e Rilassamento | 22 |
| | 2.2.3 Rilassamento spin-reticolo (Longitudinal Relaxation) | |
| 25 | 2.2.4 Rilassamento spin-spin (Transverse Relaxation) | 26 |
| | 2.2.5 Spostamento Chimico | 26 |
| | 2.2.6 NMR in Trasformata di Fourier | 30 |
| | 2.2.7 Decadimento ad induzione libera (FID) | 31 |
| | 2.2.8 Componenti degli spettrometri NMR a FFT | 33 |
| | 2.3 Esperimenti NMR nel "dominio del tempo" | 35 |
| | 2.3.1 The Minispec | 35 |
| | 2.3.2 Basi Teoriche dell'NMR nel "Dominio dei Tempi" | 36 |
| | 2.3.2.1 Misure di T1 | 37 |
| | 2.3.2.2 Misure di T2 | 38 |
| | 2.3.3 Componenti del Minispec MQ | 39 |
| | 2.3.3.1 Caratteristiche Intrinseche dello Strumento | 40 |
| | 2.3.4 The Minispec Mouse | 41 |
| | 2.3.4.1 Caratteristiche Intrinseche dello Strumento | 43 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4 Spettroscopia Raman | 48 |
| 2.5 Spettrometria di massa | 51 |
| 2.6 Cromatografia | 53 |
| 2.6.1 Cromatografia liquida ad alta prestazione o pressione (HPLC) | 55 |
| 2.6.2 Gascromatografia-spettrometria di massa (GC/MS) | 57 |
| 3 Reattore Chimico Automatizzato | 59 |
| 3.1 Modello del Reattore Automatizzato | 60 |
| 4 Nuove Tecnologie in evoluzione | 65 |
| 4.1 NMR-Mouse | 65 |
| 4.1.1 L'esperimento Spin-Echo | 68 |
| 5 Grado di Fattibilita' | 73 |
| 5.1 Non Scalabilita' | 73 |
| 5.2 Impossibilita' di Astrazione | 74 |
| 5.3 Ingresso di Nuove Tecnologie | 75 |
| 5.4 Conclusione | 76 |
| 6 Informatizzazione Laboratorio Chimico | 77 |
| 6.1 Specifiche della base informatica | 78 |
| 6.2 NSB and SpagoBI | 82 |

Bibliography

1 Introduzione

La chimica computazionale ha compiuto progressi enormi negli ultimi due decenni grazie allo sviluppo di metodi avanzati per la determinazione della struttura elettronica di solidi, liquidi e molecole, di algoritmi di calcolo parallelo efficienti nonché all'aumentata potenza di elaborazione. Oggi, la chimica computazionale si affianca a pieno titolo ad altre discipline per l'interpretazione e la comprensione di dati sperimentali e per la progettazione di nuovi sistemi con proprietà ben definite. La chimica è sicuramente una scienza antichissima e il suo sviluppo è intimamente connesso a quello del genere umano, anche se per molto tempo la possibilità di controllare la trasformazione di sostanze in altre sostanze non è stata percepita in modo chiaro dall'uomo. Per molti secoli la chimica, o meglio l'alchimia, è stata vista come una sorta di magia in grado di trasformare gli elementi gli uni negli altri, come dimostrato dai tanti cercatori della pietra filosofale che si sono cimentati in questa improbabile impresa. Comunque la si veda, non c'è alcun dubbio che da quando l'homo sapiens si è affermato come specie dominante, tutte le attività connesse con la chimica (dalla cottura dei cibi alla fusione dei metalli e delle leghe, dalla messa a punto di medicinali e tisane, alla tintura dei tessuti ecc.) sono state di natura esclusivamente empirica, basate su tentativi ripetuti più volte, che oggi si definiscono sperimentali. Al punto che nel suo trattato "Corso di Filosofia Positiva" del 1830, il filosofo francese Auguste Comte scriveva che "ogni tentativo di utilizzare metodi matematici nello studio di problemi chimici deve essere considerato profondamente irrazionale e contrario allo spirito della chimica. Se l'analisi matematica dovesse un giorno assumere un ruolo prominente nella chimica – una aberrazione che fortunatamente è quasi impossibile – ciò produrrebbe una rapida e generale degenerazione di questa scienza". Questo la dice lunga su come era visto l'uso di strumenti matematici per lo studio di problemi chimici in un secolo, l'Ottocento, che pure ha prodotto profonde e importantissime rivoluzioni in questo campo, basti pensare alle leggi di Faraday sull'elettrolisi, alla formulazione della termodinamica, al sistema periodico di Mendeléeu o ai composti organici ottica-

1 Introduzione

mente attivi di Pasteur ecc.. In effetti, molti di questi sviluppi, su cui si basano le conoscenze attuali, sono stati raggiunti senza sapere che esistessero gli atomi e le molecole ne' come queste fossero fatte in realta'. Questa, infatti, e' una conquista relativamente recente nella storia della scienza, che risale ai primi tre decenni del 1900, quelli che George Gamow defini' con una felice espressione "i trent'anni che sconvolsero la fisica". Nei tre decenni che vanno dal 1900 al 1930, infatti, vennero poste le basi matematiche della teoria dei quanti su cui si basa l'attuale comprensione dei fenomeni atomici e molecolari, ossia della chimica e della fisica della materia. Al punto che il grande fisico inglese Paul A. M. Dirac nel 1929, ossia un secolo dopo la frase di Compton, riferendosi alle leggi della meccanica quantistica recentemente scoperte, poteva dichiarare che "le leggi fisiche necessarie per una teoria matematica di tutta la chimica e di parte della fisica sono note completamente, e l'unica difficolta' e' che l'applicazione esatta di queste leggi porta a equazioni troppo complicate per poter essere risolte". E' interessante notare che in questa famosa affermazione Dirac parlava consapevolmente del fatto che le leggi della teoria dei quanti spiegano solo parte della fisica, in quanto esistono fenomeni che possono essere interpretati solo con la teoria della relativita'. Dirac riteneva, erroneamente, che i fenomeni relativistici non avessero alcun effetto sui processi chimici, da cui l'affermazione per cui la meccanica quantistica spiegherebbe "tutta la chimica" e solo parte della fisica. In realta', oggi si sa che anche molti fenomeni chimici sono strettamente legati a effetti relativistici. Un aspetto interessante della affermazione di Dirac resta, comunque, che la teoria matematica che e' alla base delle trasformazioni chimiche, la teoria dei quanti, e' si' completamente formulata, ma anche talmente complessa che le equazioni che andrebbero risolte per arrivare a dei risultati pratici sono di fatto troppo complicate. Se nel corso del 1900 non ci fosse stata la scoperta del transistor (avvenuta nel 1947) e il successivo sviluppo della elaborazione elettronica, la frase di Dirac avrebbe costituito una sorta di suggello definitivo allo sviluppo di una teoria formale per la spiegazione dei fenomeni naturali atomici e molecolari elegante, ma di scarsa rilevanza pratica. Le cose non sono andate cosi' e i circa settant'anni che sono seguiti alla formulazione della meccanica quantistica hanno visto da una parte, lo sviluppo vorticoso e continuo della potenza di elaborazione dei calcolatori elettronici, dall'altra la messa a punto di metodi e algoritmi sempre piu' avanzati ed efficienti volti alla soluzione delle equazioni di cui parlava Dirac. La combinazione di questi due fattori ha portato alla nascita di una nuova importante disciplina, la chimica computazionale. La

definitiva consacrazione di questo campo e' avvenuta verso la fine del secolo appena trascorso con l'assegnazione del Premio Nobel per la chimica 1998 a due "padri" di questa disciplina, John Pople e Walter Kohn. Da notare che Pople di formazione e' un matematico e Kohn un fisico, a dimostrare una volta di piu' la natura interdisciplinare della scienza moderna e il ruolo fondamentale che la matematica e la fisica hanno nei fondamenti della chimica. Cos'e' allora la chimica computazionale o chimica al computer? E' semplicemente una branca di un settore piu' ampio in rapida evoluzione che va sotto il nome di simulazioni al calcolatore o scientific computing. Questa nuova disciplina sta affiancando sempre di piu' l'approccio tradizionale alla soluzione di problemi scientifici e tecnologici basati sulla sperimentazione diretta (senza comunque sostituirla). La simulazione al calcolatore e il calcolo scientifico non vanno confusi con le aree piu' generali della chimica o della fisica teoriche. Gli esperimenti producono nuovi fatti e nuove scoperte e dischiudono all'uomo i segreti della natura. Il ruolo della teoria e' quello di fornire un quadro di riferimento generale di spiegazione dei fenomeni osservati tramite un insieme di leggi matematiche. Il celebre Lord Kelvin diceva nel lontano 1900 che "quando si puo' misurare cio' di cui si parla ed esprimerlo in numeri se ne sa qualcosa; ma quando non si puo' esprimerlo in formule o numeri allora la nostra conoscenza e' scarna e insoddisfacente". Il calcolo scientifico e' qualcosa a meta' tra teoria ed esperimento: e' basato su teorie e formalismi ben definiti e sviluppati ma e' usato per produrre nuovi fatti e risultati, in un modo sempre piu' simile a quello in cui vengono svolti gli esperimenti. L'uso combinato di software e algoritmi avanzati e di potenza di calcolo elevata permette, oggi, di simulare un esperimento al computer prima di effettuarlo, con costi piu' bassi e risposte piu' rapide. Ovviamente, la capacita' predittiva di questi calcoli e' molto legata agli algoritmi utilizzati e alle approssimazioni introdotte e, quindi, al livello di affidabilita' della simulazione. Dopo alcuni decenni in cui i progressi in questa direzione sono stati piuttosto lenti, si e' assistito nell'ultima decade del secolo scorso a una definitiva affermazione della chimica computazionale, al punto che oggi una parte consistente dei lavori originali che appaiono sulla letteratura scientifica internazionale si basano su questo metodo. Nelle pratica gli ambiti in cui la chimica computazionale viene utilizzata possono essere cosi' schematizzate:

- Analisi della struttura elettronica di molecole o sistemi molecolari anche complessi al fine di comprendere, spiegare e prevedere la reattivita' per realizzarne una.

1 Introduzione

- Ottimizzazione di processi e prodotti.
- Analisi di dati strumentali raccolti su un ampio numero di campioni per trarre conclusioni in senso di ottimizzazione/precisione di processo.

2 Tecnologie Odiere

Nel corso degli anni si sono via via sviluppate e sempre piu' perfezionate nuove tecnologie, grazie alle quali si e' agevolato di molto il lavoro in un laboratorio chimico. Infatti si e' sempre lavorato, e per alcune misurazioni lo si fa ancora, tramite prelievi di campioni fatti manualmente per poi essere analizzati.

Questo portava ad un notevole allungamento dei tempi di produzione in piu' bisognava anche considerare qualche errore umano. Per migliorare questo passaggio si e' pensato bene di utilizzare delle macchine le quali offrivano tempi piu' rapidi di lavorazione, piu' accuratezza e la quasi mancanza di errori.

Col passare del tempo questi strumenti si sono fatti sempre piu' precisi e indispensabili in un laboratorio di ricerca come: gascromatografi, spettrometri di massa, elettrocromatografia ...ecc.

2.1 Spettroscopia

La misura e lo studio di uno spettro è chiamato spettroscopia. In origine uno spettro era la gamma di colori che si osserva quando della luce bianca viene dispersa per mezzo di un prisma. Con la scoperta della natura ondulatoria della luce, il termine spettro venne riferito all'intensità della luce in funzione della lunghezza d'onda o della frequenza.

Oggi il termine spettro è stato generalizzato ulteriormente, ed è riferito a un flusso o un'intensità di radiazione elettromagnetica o particelle (atomi, molecole o altro) in funzione della loro energia, lunghezza d'onda, frequenza o massa. Uno strumento che permette di misurare uno spettro viene chiamato spettrometro, spettrografo o spettrofotometro. Quest'ultimo termine si riferisce ad uno strumento per la misura dello spettro elettromagnetico.

È noto che la luce emessa da una sorgente si propaga nello spazio in ogni direzione. Se essa incontra un corpo "opaco" (in cui le radiazioni non possono propagarsi), si genera un cono d'ombra. Se la superficie è levigata, i raggi possono subire

2 Tecnologie Odiere

una riflessione, se non è levigata possono subire una diffusione. Se invece penetrano in un corpo trasparente ma vengono deviati, allora si ha il fenomeno della rifrazione, che provoca la scomposizione della luce policromatica in radiazioni di diverso colore (lunghezza d'onda) che possono essere raccolte su uno schermo dando origine alle spettro. L'esperimento di scindere la luce nei suoi colori componenti fu effettuato da Newton nel 1666, ponendo le basi della spettroscopia.

Esistono 3 tipi di spettri:

- Ad emissione continua: studiando la radiazione ottenuta scaldando un corpo nero si otterrà uno spettro continuo che contiene tutte le onde elettromagnetiche esistenti, poiché in esso non vi sono interruzioni tra una radiazione e l'altra.
- Ad emissione a righe o bande: si ottiene usando come sorgente un gas rarefatto (a bassa densità e pressione) ad elevata temperatura. Lo spettro che ne deriva non è continuo ma a righe o bande (caratteristiche di specie poliatomiche). Gas con diversa composizione danno diversi insiemi di righe caratteristiche, per questo motivo esso è utile per identificare la composizione chimica di un gas.
- Ad assorbimento: quando la luce emessa da una sorgente, passa per un gas a bassa pressione. L'assorbimento avviene quando una sostanza posta a contatto con radiazione elettromagnetica, essa è in grado di assorbire energia dalla radiazione stessa.

Tale assorbimento è funzione non solo della natura della materia, ma anche della radiazione e in particolare della sua lunghezza d'onda. Se si considera per semplicità un elettrone, si deve pensare che questo può trovarsi in diversi livelli energetici e che per passare da un livello E_1 ad uno ad energia superiore E_2 , ha bisogno di assorbire una quantità di energia esattamente pari ad $E_{ass} = E_2 - E_1$. Per una radiazione elettromagnetica l'energia è definita dalla relazione di Planck:

$$E = hv$$

dove v è proprio la frequenza della radiazione elettromagnetica e h è la costante di Planck. La capacità di un mezzo di assorbire la luce dipende dal materiale

di cui è composto. Se la lunghezza d'onda della radiazione è tale che $E = E_{\text{ass}}$ esattamente, allora la radiazione potrà essere assorbita.

L'analisi spettrale dunque, non solo è utile per analizzare le stelle, ma anche per studiare qualsiasi altro corpo che assorba e rifletta radiazioni elettromagnetiche.

Per eseguire un'analisi spettrofotometrica si misura l'entità dell'assorbimento di una radiazione luminosa con un campione posto davanti ad una sorgente di radiazioni. Per interpretare i fenomeni che avvengono è necessario conoscere le caratteristiche delle sorgenti luminose e la struttura della materia. L'assorbimento della radiazione provoca un aumento dell'energia interna della sostanza che assorbe. Ciò implica una eccitazione delle particelle componenti (elettroni, atomi, molecole, ecc.), che produce fenomeni caratteristici per ogni sostanza. Secondo la meccanica quantistica l'energia delle particelle costituenti la materia è quantizzata, può cioè assumere solo certi valori discreti. In condizioni normali una particella si trova nello stato di minima energia. Quando una radiazione colpisce una particella, se l'energia dei fotoni è uguale alla differenza fra l'energia dello stato eccitato della particella e quella di uno stato fondamentale, la radiazione viene assorbita e la particella passa dallo stato fondamentale a quello eccitato. Poiché ad ogni sistema molecolare è associata una distribuzione caratteristica dei livelli energetici (elettronici, vibrazionali, rotazionali) l'assorbimento di una data radiazione è una proprietà caratteristica di quel sistema e non di altri. La meccanica quantistica consente di spiegare perché l'assorbimento di una determinata radiazione è specifico per ogni sostanza e dà luogo ad un caratteristico spettro di assorbimento. Essa inoltre, mediante lo sviluppo delle regole di selezione, permette di stabilire quali transizioni siano proibite e quali invece siano permesse.

Le tecniche basate sullo studio delle radiazioni assorbite che trovano maggior applicazione nei laboratori di analisi sono suddivise in base alle caratteristiche delle radiazioni utilizzate in:

- Spettroscopia ultravioletta/visibile
- Spettroscopia infrarossa
- Spettroscopia di assorbimento atomico (AAS)
- Spettroscopia di emissione atomica (AES)
- Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare

2 Tecnologie Odierne

Tutte le tecniche spettrografiche consentono un'analisi quantitativa perché si basano sulla legge di Lambert-Beer che mette in relazione l'assorbanza con la concentrazione della sostanza assorbente:

$$A = \epsilon bc$$

dove A è l'assorbanza, b il cammino ottico, cioè la lunghezza del percorso eseguito dalla luce nella soluzione contenente la sostanza assorbente, c la concentrazione di tale sostanza, ed ϵ un parametro caratteristico della sostanza per la lunghezza d'onda esaminata.

2.1.1 Spettroscopia ultravioletta/visibile

La spettroscopia ultravioletta/visibile o spettroscopia UV-Vis è una tecnica spettroscopica di assorbimento normalmente utilizzata nel campo della chimica analitica.

Quando un fotone ultravioletto o visibile viene assorbito da una molecola, questa passa dal suo stato elettronico fondamentale ad uno stato elettronico eccitato.

In un tipico spettro ultravioletto/visibile in ascissa viene riportata la lunghezza d'onda e in ordinata la percentuale di trasmittanza o di assorbanza. Se un materiale non è completamente trasparente si verificheranno degli assorbimenti e quindi delle transizioni tra livelli energetici elettronico. In questo secondo caso lo spettro registrato sarà caratterizzato da una serie di picchi di altezza variabile per ciascuna transizione, in relazione all'intensità dell'assorbimento stesso.

Sfruttando questa tecnica spettroscopica è possibile compiere analisi sia quantitative che qualitative, inoltre è possibile effettuare studi cinetici (determinazioni biochimiche di enzimi o applicazioni più generiche di cinetica chimica) e titolazioni.

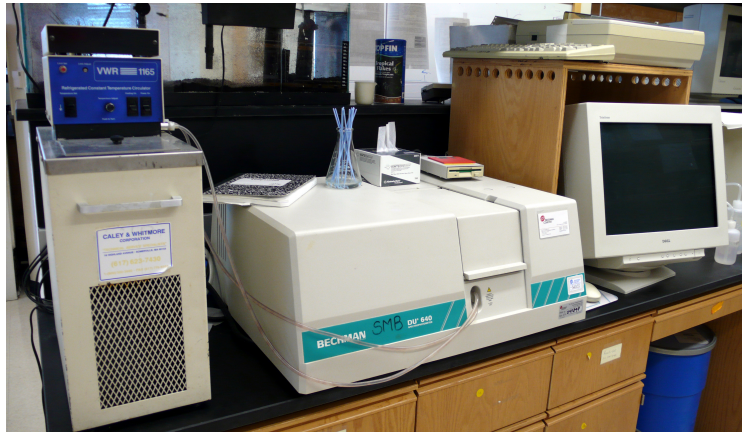


Figure 2.1.1: Spettrofotometro UV/Vis

Uno spettrofotometro UV-Vis si può schematicamente suddividere nei seguenti componenti principali:

- La sorgente di energia raggianti, che ha lo scopo di fornire le lunghezze d'onda che coprono lo spettro ultravioletto-visibile;
- Il monocromatore, il cui scopo è quello di isolare una singola lunghezza d'onda di interesse;
- L'alloggiamento del campione;
- Rivelatore.

Le sorgenti principalmente utilizzate sono le lampade a incandescenza (al tungsteno) per la parte visibile, le lampade al deuterio e quelle allo xenon per l'UV. Le ultime due tipologie di lampade consentono di coprire più efficacemente anche l'ultravioletto; le lampade allo xenon sono utilizzate negli spettrofluorimetri. I monocromatori principalmente utilizzati sono costituiti da specchi concavi e da reticoli in riflessione. Il campione da analizzare viene posto in cellette che devono essere trasparenti alla lunghezza d'onda alla quale si lavora. Queste cellette hanno forma di parallelepipedo, spessore differente (solitamente 1 cm) e sono costituite da vetro o materiale plastico nel caso di analisi condotte nel visibile, mentre il quarzo è un materiale irrinunciabile nell'ultravioletto. I rivelatori tipicamente utilizzati sono dei dispositivi fotosensibili che sfruttano l'effetto fotoelettrico; vengono utilizzate fotocelle a vuoto e a gas, fotomoltiplicatori, celle fotovoltaiche, celle fotoconduttive e fotodiodi (es. PDA).

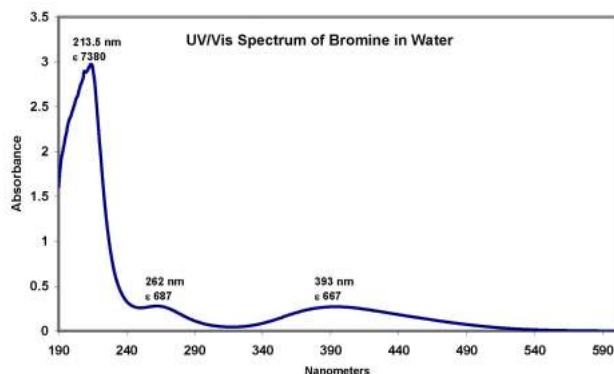


Figure 2.1.2: Spettro UV-Vis del Bromo in acqua

Lo schema ottico può essere a singolo raggio se il raggio percorre un cammino unico dalla sorgente al rivelatore, ovvero a doppio raggio. Il sistema a doppio raggio può essere a doppio raggio nello spazio o a doppio raggio nel tempo: il primo utilizza specchi semiriflettenti per sdoppiare il raggio proveniente dal monocromatore e dirigerlo contemporaneamente all'analita e al riferimento, oltre a ricombinare i raggi prima dell'arrivo al rivelatore, mentre il secondo sistema utilizza un chopper posto in rotazione e che alterna due fasi riflettenti a due trasparenti.

2.1.2 Spettroscopia infrarossa

La spettroscopia infrarossa o spettroscopia IR è una tecnica spettroscopica di assorbimento normalmente utilizzata nel campo della chimica analitica e della caratterizzazione dei materiali, oltre che in chimica fisica per lo studio dei legami chimici.

Quando un fotone infrarosso viene assorbito da una molecola, questa passa dal suo stato vibrazionale fondamentale ad uno stato vibrazionale eccitato. In un tipico spettro infrarosso in ascissa troviamo una scala di frequenze espresse in numero d'onda, ovvero quantità di onde per centimetro, e in ordinata la percentuale di trasmittanza. Se un materiale è trasparente alla radiazione infrarossa il suo spettro si presenterà come una linea parallela all'asse delle ascisse. Se un materiale non è completamente trasparente si verificheranno degli assorbimenti e quindi delle

transizioni tra livelli energetici vibrazionali. In questo secondo caso lo spettro registrato sarà caratterizzato da una serie di picchi di altezza variabile per ciascuna transizione.



Figure 2.1.3: Spettrometro IR

Schematicamente un classico spettrofotometro IR è essenzialmente costituito da una sorgente il cui fascio di luce viene convogliato verso il campione e il riferimento, quest'ultimo costituito ad esempio dal liquido in cui tale campione è disciolto. Segue il monocromatore la cui funzione è quella di ridurre la luce diffusa e un chopper (sistema ottico a forma di semidisco che negli strumenti a doppio raggio è posto anche dopo la sorgente per sdoppiare il raggio di luce) che indirizza alternativamente al rivelatore la radiazione proveniente rispettivamente dal campione e dal riferimento. Il rivelatore è il componente finale che genera un segnale in funzione della concentrazione di analita presente.

Le sorgenti IR comunemente utilizzate sono del tipo a incandescenza e sono rappresentate dai filamenti di Nernst costituiti da ossidi sinterizzati, le globar formate da bacchette di carburo di silicio e che richiedono un raffreddamento esterno, mentre negli strumenti a minor costo vengono utilizzate anche comuni resistenze al nichel-cromo.

I campioni solidi per essere analizzati necessitano di essere sottoposti a uno dei seguenti trattamenti:

- Ridotti in strati sottili di pellicola;
- Portati in fine sospensione macinando in apposito mortaio con nujol (olio minerale);

2 Tecnologie Odierne

- Macinati finemente con KCl o KBr in modo da ottenere poi, grazie a una apposita pastigliatrice, un dischetto omogeneo.

I liquidi vengono iniettati direttamente in una apposita cella a parallelepipedo formata da materiali trasparenti alla radiazione infrarossa (es. cloruro di sodio), così come i gas sono direttamente campionati in apposite celle cilindriche con finestre trasparenti all'IR.

I rivelatori sono costituiti da dispositivi in grado di convertire il contenuto termico della radiazione infrarossa in segnale. A questo scopo comunemente diffusi sono le termocoppie e i termistori: le termocoppie generano una differenza di potenziale a seguito della differenza di temperatura che si stabilisce tra due giunti sensibili, mentre i termistori sono dei componenti resistivi che costituiscono uno dei quattro rami di un ponte di Wheatstone che viene sbilanciato al variare della loro resistenza in funzione della temperatura. Il rivelatore di Golay è un dispositivo molto sensibile e praticamente insostituibile nel lontano IR; esso sfrutta l'aumento di pressione di un gas all'interno di una microcella provocato da un aumento di temperatura. Tale aumento di pressione deforma una parete elastica speculare e la luce prodotta da una sorgente ausiliare che colpisce questa parete viene riflessa su una fotocellula, la quale genera una corrente elettrica che varia al variare della deformazione. I rivelatori fotoelettrici possono essere utilmente impiegati solamente nel vicino IR, in particolare vengono adoperate le celle fotoconduttive.

2.1.3 Spettroscopia di assorbimento atomico (AAS)

La spettrofotometria di assorbimento atomico è una tecnica analitica impiegata per la determinazione sia quantitativa che qualitativa di ioni metallici in soluzione.

Il principio chimico-fisico su cui si basa questa tecnica è il fatto che i livelli energetici atomici sono discreti, pertanto le transizioni elettroniche permesse per eccitazione radiativa ($h\nu$) sono caratteristiche per ogni atomo. A differenza delle molecole però, gli atomi non contengono sottostrutture rotazionali o vibrazionali e pertanto l'assorbimento di una radiazione elettromagnetica per eccitazione ad un livello energetico superiore non avviene in una banda di frequenze ma ad una e una sola frequenza e lunghezza d'onda.



Figure 2.1.4: Strumento di laboratorio per misure di assorbimento atomico

Uno spettrometro di assorbimento atomico si compone di 5 componenti fondamentali:

- La sorgente di radiazione elettromagnetica è data da una lampada a catodo cavo (Hollow Cathode Lamp, HCL) la quale emette con uno spettro molto ristretto e caratteristico dell'elemento di cui è fatto il catodo stesso. Queste lampade possono essere selettive per una sola specie quando il catodo è rivestito di un solo metallo (sodio, cromo, litio, ...) oppure possono essere lampade composite adatte all'analisi di più specie analitiche quando il catodo è rivestito di più metalli. Naturalmente le lampade specifiche offrono una maggiore affidabilità, stabilità e durata rispetto alle lampade composite.
- Il sistema di atomizzazione è il sistema mediante il quale il campione in analisi e quindi, i metalli da ricercare, viene ridotto allo stato di gas monoatomico, condizione necessaria per la misura in quanto questa avviene misurando la differenza di intensità della radiazione elettromagnetica prima e dopo il passaggio attraverso il campione atomizzato il quale assorbe energia mediante gli elettroni del guscio più esterno. Esistono vari tipi di sistemi di atomizzazione:
 - **Atomizzazione mediante fiamma**, che sfrutta la temperatura di una fiamma aria-acetilene oppure protossido di azoto-acetilene, molto più calda oppure aria-idrogeno, in cui viene nebulizzato il campione.
 - **Atomizzazione mediante fornetto di grafite**, che sfrutta le alte temperature raggiunte da un tubicino di grafite alle cui estremità viene applicata una forte differenza di potenziale.

- **Atomizzazione mediante vapori freddi**, ovvero mediante la reazione del campione con determinati reagenti che formano idruri volatili che vengono poi posti sul cammino della radiazione elettromagnetica.
- Il sistema ottico e il monocromatore, è un sistema di lenti e specchi che serve per collimare, indirizzare e gestire la radiazione proveniente dalla lampada e in uscita dal campione. In particolare, il monocromatore è di fondamentale importanza ai fini analitici; questo serve per rendere la radiazione elettromagnetica il più possibile monocromatica (ovvero con un campo spettrale molto ridotto) prima di inviarla al rivelatore. Svolge la sua funzione sfruttando i principi di diffrazione della luce.
- Il rivelatore, è l'organo sensoriale dell'apparecchio; si tratta, solitamente, di un fotoelettrodo che sfrutta la proprietà particellare della luce (vedi dualismo della luce) per evidenziare una radiazione incidente su un elettrodo mediante una differenza di potenziale; talvolta però, le differenze possono essere minime perciò si ricorre ad un fotomoltiplicatore che moltiplica di molte volte il segnale originale permettendo una migliore interpretazione (a discapito di parte dell'accuratezza analitica)
- Il sistema di elaborazione, che serve per l'interpretazione, il calcolo e il salvataggio dei dati. Oggigiorno il PC è usato praticamente in ogni campo analitico.

2.1.4 Spettroscopia di emissione atomica (AES)

La spettroscopia di emissione atomica, spesso indicata con l'acronimo AES dall'inglese Atomic emission spectroscopy, è una tecnica spettroscopica di emissione utilizzata in analisi chimica. Essa sfrutta la somministrazione di energia relativamente elevata, tanto da provocare la dissociazione in atomi e l'eccitazione di quest'ultimi. In base alla lunghezza d'onda emessa è possibile risalire alla specie incognita, dato che gli spettri di ciascuna sostanza sono caratteristici, mentre misurando l'intensità dell'emissione si può effettuare anche l'analisi quantitativa.

In relazione alla sorgente utilizzata per produrre l'eccitazione degli atomi, si hanno diverse varianti strumentali. Le sorgenti utilizzate sono l'arco elettrico, la scintilla, la fiamma e il plasma.



Figure 2.1.5: Spettrometro ICP-AES

Il bruciatore è il dispositivo che genera la fiamma e immette contemporaneamente la soluzione contenente l'analita in forma nebulizzata. Esistono due tipi di bruciatori: bruciatori a regime turbolento e bruciatori laminari. I bruciatori a regime turbolento, gli unici che consentono l'utilizzo di ossigeno puro quale comburente, realizzano la miscelazione di combustibile, comburente e analita direttamente al momento stesso di reagire in prossimità dell'ugello. Tra i vantaggi figurano la sicurezza d'uso (manca di ritorno di fiamma) e il totale utilizzo della soluzione in esame. Di contro, la fiamma è piuttosto disomogenea e ricca di disturbo ottico, mentre il diverso volume delle gocce prodotte nell'aerosol porta ad atomizzazione non completa con conseguente abbassamento della sensibilità. I bruciatori laminari attuano invece una premiscelazione dei tre componenti destinati alla fiamma, selezionando solo le gocce più fini (centesimi di nanolitro) che evaporeranno in fiamma rapidamente e in modo omogeneo dando origine a una ben definita zona di atomizzazione. L'inconveniente consiste nell'abbassamento di sensibilità dovuto all'immissione di una piccola quantità di soluzione (meno del 10%).

I moderni spettrometri utilizzati permettono di lavorare sia in emissione che in assorbimento; un monocromatore permette di isolare la riga analitica, mentre il rivelatore è costituito da un fotomoltiplicatore. Se l'emissione è di tipo fluorescente, si può realizzare la spettroscopia di emissione atomica in fluorescenza apportando piccole modifiche strumentali che consentano il rilevamento del segnale in posizione ortogonale rispetto alla direzione in cui avviene l'eccitamento e la separazione del segnale di fluorescenza dovuto all'analita da quello emesso dalla fiamma.

2.2 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR)

La spettroscopia di risonanza magnetica nucleare, detta anche spettroscopia NMR (dall'inglese nuclear magnetic resonance), è un metodo spettroscopico basato sulle proprietà magnetiche dei nuclei di alcuni atomi/isotopi.

La rotazione dei nuclei atomici su sé stessi è capace di procurare un momento magnetico μ ad alcuni di essi. Il più semplice tra gli elementi aventi momento magnetico nucleare, ed il più importante a fini pratici, è l'idrogeno. Si può grossolanamente visualizzare l'unico protone di cui è composto l'atomo di idrogeno come una palla in rotazione su sé stessa e uniformemente carica: le porzioni infinitesime di carica generano un campo magnetico in funzione della loro distanza dall'asse di rotazione.

Le proprietà di spin dei protoni e dei neutroni che compongono gli atomi più pesanti si combinano per definire lo spin totale dei nuclei di elementi più pesanti, da cui il loro eventuale momento magnetico. Solo nuclei con numero atomico e/o massa atomica dispari mostrano proprietà magnetiche: si dice che il loro numero quantico di spin I è $\pm 1/2$.

La direzione del momento magnetico così prodotto è, per un protone nel vuoto, assolutamente casuale: tra un'orientazione e l'altra non v'è differenza.

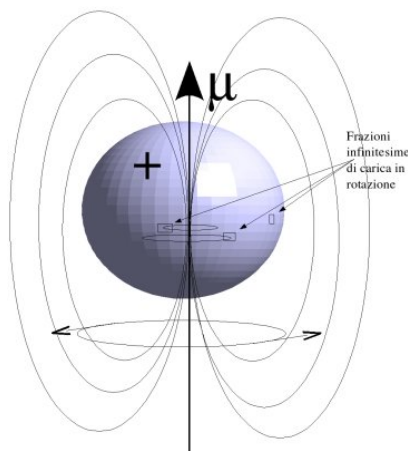


Figure 2.2.1: Rappresentazione della rotazione del nucleo dell'idrogeno

Lo scopo dell'NMR è sostanzialmente ricavare informazioni sulla frequenza di risonanza dei nuclei attivi. I più usati sono l'idrogeno, il carbonio-13 e l'azoto-15.

Esistono due metodi per ricavare quest'informazione. Nella spettroscopia NMR ad onda continua, un elettromagnete genera il campo magnetico necessario ad in-

2.2 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR)

durre lo splitting tra i livelli energetici degli atomi attivi nel campione in esame. Contemporaneamente, un emettitore di onde elettromagnetiche lo bombarda ad una frequenza ben precisa. Il campo magnetico della calamita viene quindi incrementato passo passo: un rivelatore registra l'assorbanza del campione ad ogni intensità di campo, ovvero quanta parte della radiazione incidente si perde al passaggio attraverso il mezzo.

La frequenza di risonanza di un nucleo attivo è direttamente proporzionale al campo applicato: mano a mano che il campo aumenta, crescono anche le frequenze di risonanza. Quando le frequenze di risonanza diventano pari a quella incidente (che invece è costante), allora tutti gli atomi capaci di farlo assorbiranno quanti di energia, e l'assorbanza misurata sarà più alta.

Il secondo metodo, usato dagli spettrometri più moderni, consiste nel mantenere costante il campo, incrementando invece la frequenza della radioonda incidente.

Dal punto di vista pratico, il risultato è sempre un grafico con l'assorbanza sull'asse delle y, ed una quantità utile a definire l'energia fornita sull'asse delle x (torneremo sull'unità di misura dell'ascissa in seguito).

Per quanto detto finora, l'NMR sarebbe un metodo analitico alquanto inutile. Ogni nucleo attivo entrerebbe in risonanza con il campo esterno alla sua frequenza, e tutti gli isotopi uguali si comporterebbero allo stesso modo.

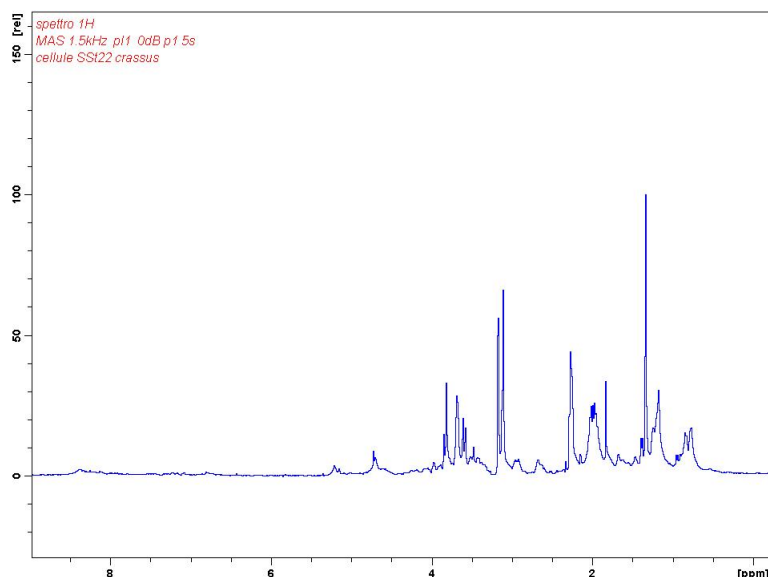


Figure 2.2.2: Esempio di spettro NMR

2.2.1 Descrizione Quantistica della Risonanza Magnetica Nucleare

Poiché ogni nucleo è assimilabile a una particella sferica rotante caricata positivamente, ad esso saranno associati un momento angolare (causato dal moto di rotazione) e un momento magnetico (causato dalla presenza della carica in movimento). Il valore del momento magnetico risultante μ è dato da:

$$\mu = \gamma I \quad \{\mu \propto p\}$$

dove γ è il rapporto giromagnetico del nucleo (caratteristico di ogni nucleo), I è il suo momento angolare e p è il momento magnetico. γ è una costante e la sua unità di misura nel SI è : [rad / (T*s)].

“ I ” dipende dal numero quantico di spin I e dalla costante di Planck secondo

$$I = \frac{h}{2\pi} \quad (I = 0, 1/2, 1, 3/2, \text{ ecc.})$$

I è maggiore di zero solo per nuclei che hanno massa dispari (es. ^1H e ^{13}C) oppure massa pari ma carica nucleare dispari (es. ^2H e ^{14}N); in tutti gli altri casi $I = 0$, per cui anche m risulta nullo. Sia la lunghezza che l'orientazione del momento angolare sono quantizzati e, di conseguenza, lo sarà anche il momento magnetico; la proiezione di “ I ” lungo uno degli assi di riferimento, ad es. z , è data da $(h/2\pi) \bullet m_I$, dove $m_I = I, I - 1, I - 2, \dots, -I$, detti stati quantici.

Nel caso dei due nuclei più comuni: ^1H e ^{13}C , il numero quantico di spin I è $\frac{1}{2}$ e saranno quindi possibili due orientazioni, e quindi due “stati di spin”, corrispondenti ai valori di momento magnetico che si ottengono con $m_I = \frac{1}{2}$ e $m_I = -\frac{1}{2}$, come si vede nella parte sinistra.

2.2 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR)

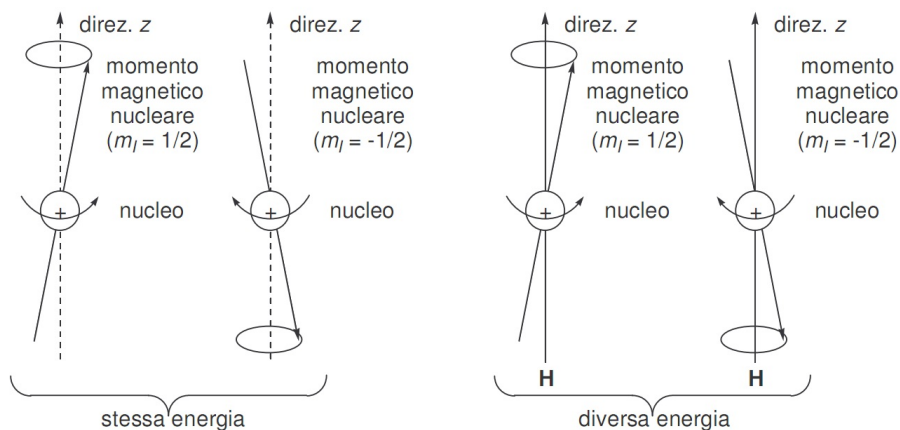


Figure 2.2.3: Momento Magnetico

Si può dimostrare che in assenza di campo magnetico esterno i due stati di spin sono degeneri, cioè hanno la stessa identica energia, mentre quando il nucleo viene posto all'interno di un campo magnetico H (Fig. 2.8, parte destra) i due stati differiscono di un valore di energia ΔE che cresce al crescere del campo applicato (Fig. 2.9). Quando un nucleo con spin $\frac{1}{2}$ è posto in un campo magnetico B_0 , il suo momento magnetico si orienta a seconda dello stato quantico, in una delle due possibili direzioni rispetto al campo esterno.

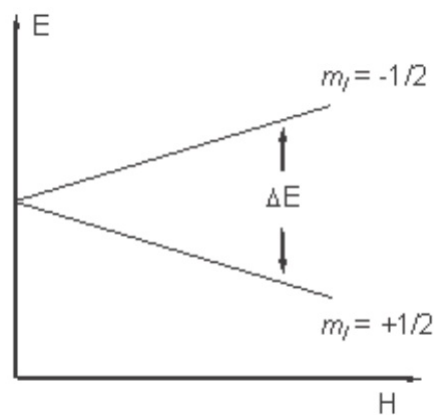


Figure 2.2.4:

L'energia potenziale E del nucleo in queste due orientazioni è:

$$E = -\frac{\gamma m \hbar}{2\pi} B_0$$

2 Tecnologie Odierne

dove possiamo dividere i due contributi per $m = \frac{1}{2}$ ed $m = -\frac{1}{2}$:

$$E_{+\frac{1}{2}} = -\frac{\gamma h}{4\pi} B_0 \quad E_{-\frac{1}{2}} = \frac{\gamma h}{4\pi} B_0$$

In Figura 2.10, è possibile vedere i Momenti Magnetici (a) ed il livelli energetici (b) di un nucleo con numero quantistico di spin $\pm \frac{1}{2}$:

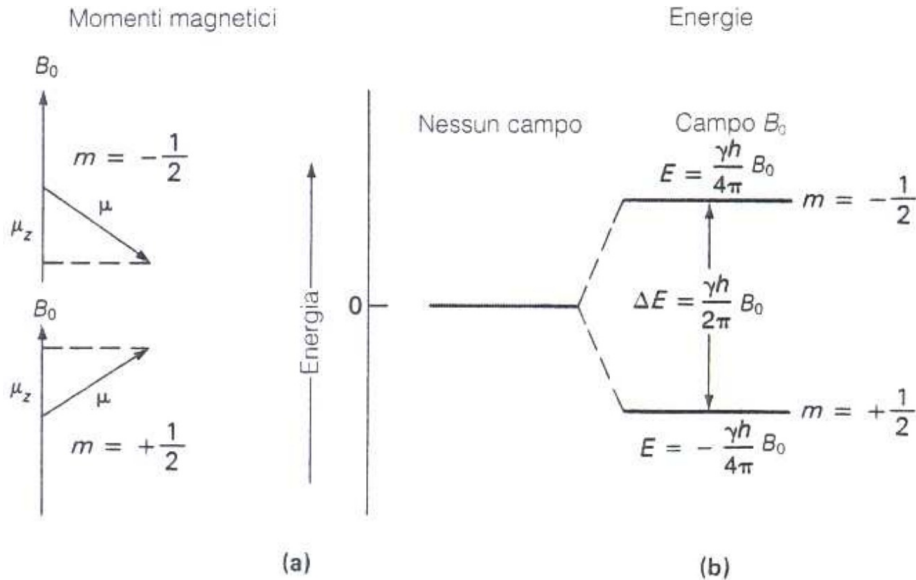


Figure 2.2.5: Momenti Magnetici

La situazione a più bassa energia è quella in cui la proiezione del momento magnetico di spin lungo la direzione del campo magnetico è allineata col campo stesso. Il passaggio da uno stato all'altro si verifica quando è soddisfatta la “*condizione di risonanza*”, cioè quando il nucleo assorbe un'energia di frequenza, detta “*Frequenza di Larmor*” (o di precessione) del nucleo, ν pari a:

$$\nu = \frac{\gamma N H}{2\pi}$$

La tecnica NMR si basa proprio sull'assorbimento (o emissione) di energia legato a questa differenza tra i due stati di spin: inserendo il campione contenente la molecola in esame in un opportuno campo magnetico esterno e fornendo contemporaneamente energia al campione, si va a misurare l'assorbimento (o emissione) di energia effettuata dai nuclei della sostanza per disallineare (o riallineare) i loro spin col campo magnetico. A seconda del metodo di funzionamento dello strumento, si

osservano l'emissione o l'assorbimento.

I valori di campo magnetico (H) usati nei più comuni strumenti moderni vanno da circa 2 [T] circa 19 [T] (≈ 20000 - 190000 Gauss), mentre quelli della frequenza (ν) vanno da 100 a 600 [MHz] (campo delle frequenze radio); le energie in gioco sono ovviamente molto piccole: nel caso del protone (1H) una transizione richiede meno di 0.1 [cal/mol] ($<10^{-4}$ [kcal/mol]).

In linea di principio, la condizione di risonanza può essere soddisfatta sia mantenendo costante il campo magnetico e variando la radiofrequenza oppure facendo il contrario e andando a misurare, al variare di H, la quantità di radiofrequenza assorbita.

Gli strumenti moderni lavorano ora con un sistema ancora diverso, chiamato a *trasformata di Fourier*, che consiste nel mantenere costante il campo magnetico e nel produrre, con una tecnica a impulsi, tutte le frequenze contemporaneamente: si produce così un'eccitazione complessiva di tutti i nuclei e si vanno poi a misurare le frequenze prodotte dal loro decadimento. In Fig.2.11, è riportato lo schema generale di uno strumento NMR.

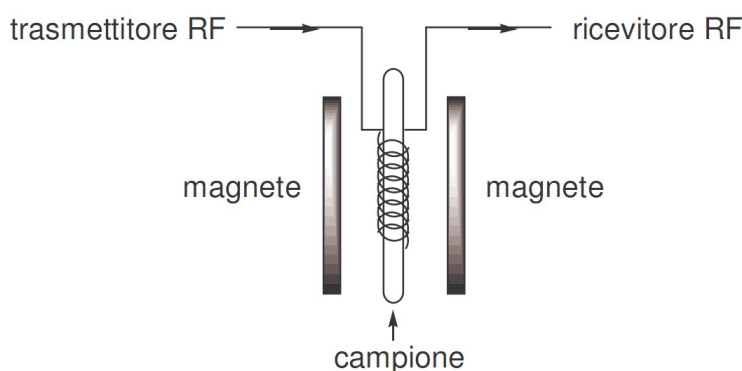


Figure 2.2.6: Strumento NMR

Il campione per uno spettro al protone (1H NMR) consiste in una soluzione (1-5%) della sostanza in esame in un solvente deuterato, i cui segnali non vanno quindi ad interferire con quelli dei protoni della sostanza; il solvente è quasi sempre cloroformio deuterato ($CDCl_3$) ma in casi particolari si possono usare anche esadeuteroacetone (CD_3COCD_3), dimetilsolfossido (CD_3SOCD_3), acqua deuterata (D_2O), ecc.. La soluzione viene introdotta in un tubo speciale ben calibrato che viene fatto ruotare velocemente all'interno del campo magnetico per mediare

eventuali piccole disomogeneità del campo.

Tutti gli spettri NMR sono dei grafici che riportano in ordinata l'intensità del segnale (proporzionale all'assorbimento o all'emissione di energia) e in ascissa la frequenza dell'energia corrispondente alla transizione che ha dato origine a quel segnale. I valori delle ascisse, detti valori di δ , sono numeri che indicano non la frequenza di risonanza *assoluta*, bensì quella *relativa* rispetto a uno standard: tale standard è quasi sempre il tetrametilsilano (Me_4Si o TMS), la cui frequenza di risonanza viene posta per convenzione uguale a zero.

Questi numeri sono inoltre numeri puri e indipendenti dal tipo di strumento utilizzato, in quanto la differenza di frequenza con lo standard viene divisa per la frequenza operativa dello strumento. I valori di δ si ricavano quindi dalla relazione

$$\delta = \frac{\text{differenza di frequenza con TMS (Hz)} \times 10^6}{\text{frequenza dello strumento (Hz)}}$$

e sono espressi in ppm (parti per milione).

2.2.2 Eccitazione e Rilassamento

Consideriamo la Fig.2.12, in cui sono evidenti i moti di rotazione di due nuclei atomici rispettivamente con numero quantistico spin $+\frac{1}{2}$ e $-\frac{1}{2}$.

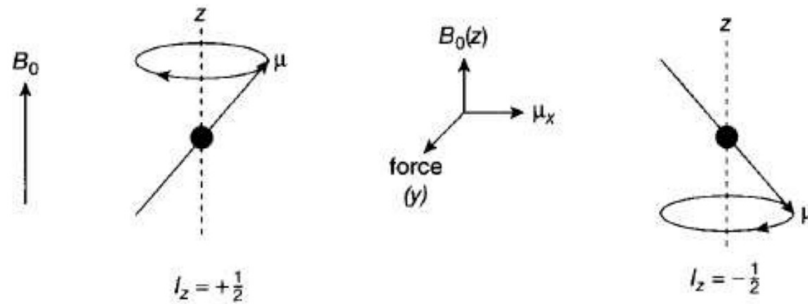


Figure 2.2.7: Moti di rotazione

All'equilibrio, possiamo osservare in Fig.2.12, che l'atomo con spin $+\frac{1}{2}$ ruota attorno all'asse $+z$ e il nucleo con spin $-\frac{1}{2}$ ruota attorno all'asse $-z$. Da osservare che il momento relativo agli assi x ed y risulta $M = 0$; il momento relativo all'asse z , risulta essere: $M = M_z$.

L'applicazione di un campo magnetico che oscilla alla frequenza di Larmor del

2.2 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR)

nucleo, provocherebbe una inversione di spin, facendo passare un nucleo da spin $+\frac{1}{2}$ a spin $-\frac{1}{2}$ e viceversa. La frequenza di Larmor è la cosiddetta “*frequenza di precessione*” del nucleo (frequenza ove si ha un cambiamento della direzione dell’asse di rotazione del nucleo). La precessione di Larmor è la precessione dei momenti magnetici dei nuclei atomici in un atomo, attorno alla direzione di un campo magnetico esterno.

Il campo magnetico esercita un momento torcente, producendo un moto giroscopico, come una trottola. La velocità angolare della precessione è:

$$\omega = -\gamma B_0$$

dove γ è il rapporto giromagnetico e B_0 è il campo magnetico esterno. Il rapporto giromagnetico è diverso per ogni tipo di nucleo atomico.

Supponiamo di applicare al nucleo con spin $-\frac{1}{2}$ un campo magnetico B_1 oscillante sull’asse x. Il campo B_1 si troverebbe sfasato di 90° rispetto al vettore momento magnetico M_Z , e la loro risultante sappiamo essere a sua volta perpendicolare ad entrambi seguendo la relazione:

$$F = B_1 \times M_Z$$

in quanto risulta essere un prodotto vettoriale.

In Fig.2.13 possiamo osservare un nucleo con spin $-\frac{1}{2}$ prima che venga applicato il campo magnetico B_1 , ed in Fig.2.14 possiamo osservare il nucleo subito dopo l’applicazione del campo.

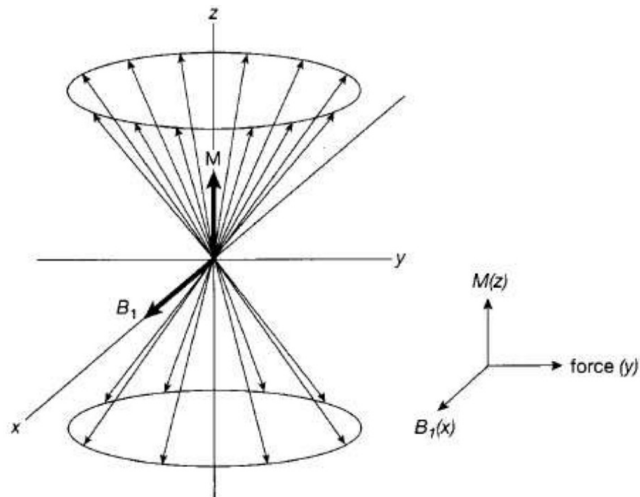


Figure 2.2.8: Nucleo con spin - $\frac{1}{2}$

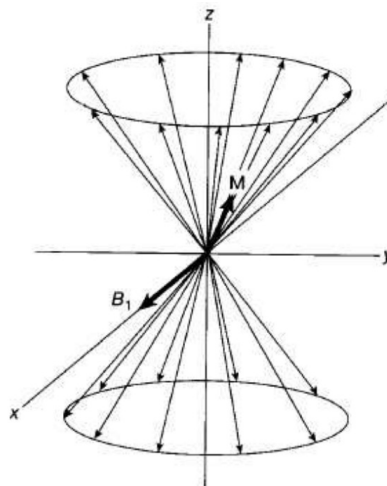


Figure 2.2.9: Nucleo dopo aver subito il campo

Quando dei nuclei introdotti in un intenso campo magnetico vengono investiti da una radiazione da radiofrequenza appropriata, avviene inizialmente un assorbimento perché sono presenti in leggero eccesso nello stato energetico più basso. Poiché l'eccesso è piccolo, vi è il rischio che il processo di assorbimento renda uguale il numero dei nuclei nei due stati, nel qual caso il segnale di assorbimento diminuirà fino ad annullarsi. Questa è la situazione in cui il sistema si dice a *spin saturo*.

Per evitare questa situazione, è necessario che la velocità di rilassamento del

nucleo eccitato verso lo stato ad energia più bassa sia uguale o superiore alla velocità di assorbimento dei fotoni di radiofrequenza.

Per ridurre la saturazione e produrre un segnale di assorbimento facilmente rilevabile, il rilassamento dovrebbe avvenire il più rapidamente possibile, ossia la vita media di uno stato eccitato dovrebbe essere breve. Ma il problema sorge nel fatto che più breve è la vita media di uno stato eccitato e più largo sarà lo spettro NMR. Lavorare quindi ad alte velocità di rilassamento non ci permetterebbe di ottenere spettri NMR ad alta risoluzione.

Un buon compromesso tra i tre fattori, ci porta a lavorare con tempi di rilassamento dell'ordine dei $0.1 \div 10$ [s].

Esistono due tipi di rilassamento nucleare. Il primo è chiamato *rilassamento spin-reticolo (o longitudinale)*, il secondo *rilassamento spin-spin (o trasversale)*.

Entrambi hanno comunque origine dal fatto che il campo B applicato potrebbe variare leggermente da nucleo a nucleo e in questo caso, verrebbe assorbita una banda di frequenza anziché una singola frequenza. Le cause di una sua possibile variazione possono essere la presenza nel campione di altri nuclei magnetici o la presenza di piccole disomogeneità nel campo stesso, inconveniente che può essere facilmente eliminato facendo ruotare rapidamente il campione nel campo magnetico.

2.2.3 Rilassamento spin-reticolo (*Longitudinal Relaxation*)

I nuclei che assorbono radiazioni in un esperimento NMR fanno parte di quell'insieme più esteso di atomi che costituisce il campione e che chiamiamo reticolo, indipendentemente che il campione sia un solido, un liquido o in gas. Proprio nel caso che il campione sia un fluido, il reticolo è costituito di nuclei in continuo movimento sia vibrazionale che rotazionale. Il reticolo è quindi costituito di un gran numero di componenti magnetiche e almeno alcune di queste vibreranno alla stessa frequenza del nucleo portandolo ad abbassarsi dal livello energetico più alto a quello più basso liberando una certa quantità di energia che andrà ad aumentare il livello di vibrazioni. Questo aumento porterà il campione ad aumentare sensibilmente la sua temperatura interna.

Il rilassamento spin-reticolo è un processo del primo ordine caratterizzato da un tempo di rilassamento T_1 che è una misura del tempo di vita medio del nucleo nello stato ad energia più alta. Il suo valore è strettamente legato alla mobilità del reticolo ed al rapporto giromagnetico. La relazione che lega il tempo T_1 alla

mobilità del reticolo presenza un punto di minimo.

Se nel campione sono presenti elettroni spaiati, si va a creare un campo magnetico fluttuante che va a diminuire ulteriormente il tempo di rilassamento spin-reticolo, cosa che sappiamo causare un allargamento delle righe NMR ed una conseguente perdita di risoluzione delle spettro. Un effetto analogo è prodotto dalla presenza di nuclei con spin superiore ad $\frac{1}{2}$ che producono un intenso campo fluttuante che fa sì che il nucleo ceda energia al reticolo.

2.2.4 Rilassamento spin-spin (*Transverse Relaxation*)

Vi sono molte altre cause che vanno a diminuire il tempo di rilassamento e che quindi vanno a provocare un allargamento delle righe di spettro NMR. Queste vengono condensate nella rilevazione di un nuovo parametro T_2 che prende il nome di tempo di rilassamento spin-spin.

Per molti liquidi i valori di T_1 e di T_2 sono molto simili; per i solidi cristallini e per liquidi particolarmente viscosi, T_2 risulta essere così bassa che rendere impossibile la rilevazione di spettri ad alta risoluzione costringendo l'operatore ad utilizzare tecniche speciali.

Il rilassamento spin-spin deriva dall'interazione tra nuclei vicini che hanno velocità di precessione identiche ma stati quantici magnetici diversi. Questo tipo di interazione porta ad uno scambio quantico tra i nuclei, portando quelli allo stato inferiore in quello più elevato e viceversa. In questo modo non c'è cambiamento di popolazione degli stati, ma la diminuzione della vita media dei nuclei eccitati nello stato quantico provoca un allargamento delle righe NMR.

2.2.5 Spostamento Chimico

Si definisce chemical shift (spostamento chimico) di un nucleo, focalizzandoci per adesso sul protone, la posizione della sua banda di assorbimento rispetto a quella dello standard di riferimento (TMS). Il chemical shift viene misurato in valori di δ (ppm), calcolati secondo la formula:

$$\delta = \frac{\text{differenza di frequenza con TMS (Hz)} \times 10^6}{\text{frequenza dello strumento (Hz)}}$$

Data la convenzione con la quale si misurano, i chemical shift sono indipendenti dal tipo di strumento usato e, a parità di solvente, sono abbastanza riproducibili da un'analisi all'altra.

2.2 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR)

L'esistenza del chemical shift è quello che rende l'analisi NMR così utile a scopi analitici, poichè i vari tipi di protoni presenti in una molecola ("magneticamente diversi") danno origine a bande differenziate: l'analisi di queste bande permette quindi di risalire alla presenza di determinate tipologie di protoni nel composto in esame. La Fig.2,15, mostra lo spettro ^1H NMR del 3,3-dimetil-2-butanone (pinacolone).

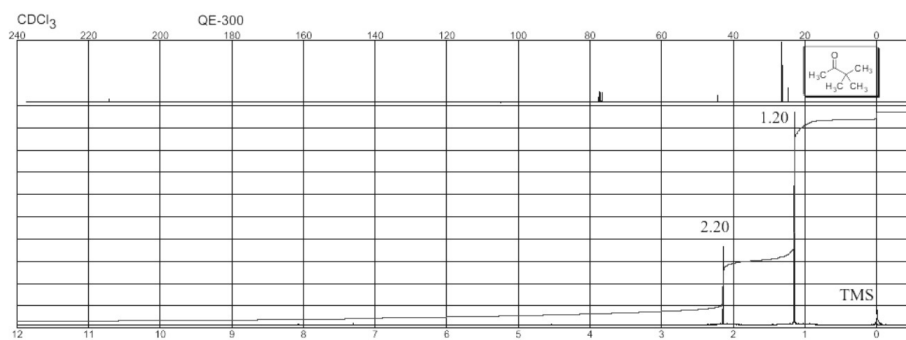


Figure 2.2.10: Spettro ^1H NMR del 3,3-dimetil-2-butanone

Come si può notare, lo spettro presenta tre segnali a 0, 1.20 e 2.20 ppm: il primo è quello dello standard (TMS, uguale a 0 per convenzione), il secondo è quello dovuto ai 9 protoni equivalenti del gruppo terz-butilico e infine il terzo è quello dovuto ai protoni del rimanente metile. I 9 protoni del secondo segnale cadono a 1.20 ppm, quindi a un valore di campo leggermente inferiore rispetto al TMS, perchè sono legati a un atomo di carbonio anzichè di silicio: essendo il carbonio più elettronegativo del silicio, il suo effetto di "allontanamento" di elettroni dai protoni dei metili è più forte che nel caso del TMS. Il terzo segnale cade ancora più in basso (valori maggiori di δ significano valori minori di energia di risonanza) perchè il carbonile ha un forte effetto elettrone-attrattore e quindi descherma il metile ad esso legato facendolo risuonare a campi ancora inferiori.

E' quindi evidente che l'effetto schermante o descherma dipende dall'elettronegatività degli atomi a cui i protoni sono legati (e anche, in misura minore, degli atomi vicini) e dagli effetti locali di campo magnetico indotti da legami π (carbonili, doppi legami $\text{C}=\text{C}$, anelli aromatici, ecc.). Si può pertanto definire per i vari tipi di protoni una scala approssimativa di chemical shift che è estremamente utile per capire quali tipologie di idrogeni sono presenti in una molecola incognita, come si può osservare negli esempi riportati in Tabella.

2 Tecnologie Odiere

| Composto | Tipo di H | δ (ppm) | Composto | Tipo di H | δ (ppm) |
|--------------------|------------------|----------------|--------------------|-------------|----------------|
| alch. primario | RCH_3 | 0.9 | cloroalcano | RCH_2Cl | 3.6 |
| alch. secondario | R_2CH_2 | 1.3 | etere | $ROCH_3$ | 3.4 |
| alch. terziario | R_3CH | 1.5 | estere | RCO_2CH_3 | 3.5-4.0 |
| comp. allilico | $R_2C=C(R)CH_3$ | 1.7 | alcol | RCH_2OH | 3.6 |
| comp. propargilico | $RC\equiv CCH_3$ | 2.0 | alchene terminale | $R_2C=CH_2$ | 4.6-4.9 |
| estere | CH_3CO_2R | 2.0-2.5 | alchene interno | $R_2C=CHR$ | 5.4-5.9 |
| alchilchetone | $RCOCH_3$ | 2.2 | aromatico | ArH | 6.0-8.5 |
| comp. benzilico | $ArCH_3$ | 2.4 | aldeide | $RCHO$ | 9-10 |
| alchino | $RC\equiv CH$ | 2.5 | acido carbossilico | RCO_2H | 10-12 |
| arilchetone | $ArCOCH_3$ | 2.7 | alcol | ROH | 2-8 (var.) |
| iodoalcano | RCH_2I | 3.2 | ammina | RNH_2 | 1-5 (var.) |
| bromoalcano | RCH_2Br | 3.4 | fenolo | $ArOH$ | 4-9 (var.) |

Figure 2.2.11: Tabella

Un ulteriore, importantissimo dato è che l'area sottesa dai picchi dei vari gruppi di protoni è direttamente proporzionale al numero dei protoni stessi. Quindi, integrando i segnali, è possibile conoscere i rapporti tra i diversi tipi di protoni. Per lo spettro del pinacolone (vedi Tabella), ad esempio, l'integrazione stabilisce che le aree dei due segnali a 1.20 e 2.20 ppm stanno in un rapporto rispettivamente di 3:1 (75:25): da questo dato è facile dedurre, sapendo che la formula bruta del composto prevede la presenza di 12 protoni, che il picco a 2.20 corrisponde a 3 protoni (un metile) mentre quello a 1.20 a 9 protoni (i 3 metili del terz-butile). E' evidente come anche questa sia un'informazione importantissima che lo spettro NMR fornisce ai fini dell'identificazione della molecola.

Un ultimo, fondamentale dato che occorre osservare in uno spettro 1H NMR è costituito dalla molteplicità dei segnali dovuta alle interazioni spin-spin. Nello spettro del pinacolone si è visto che ogni insieme di protoni equivalenti dava origine a un segnale costituito da un singolo picco. Se guardiamo lo spettro, ad esempio, del dietilere (vedi Fig.2.16), vediamo che adesso i due insiemi di protoni equivalenti a 1.20 (CH_3) e 3.45 ppm (CH_2) non si presentano più come picchi singoli, bensì rispettivamente come un tripletto (3 righe in rapporto 1:2:1) e un quartetto (4 righe in rapporto 1:3:3:1).

2.2 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR)

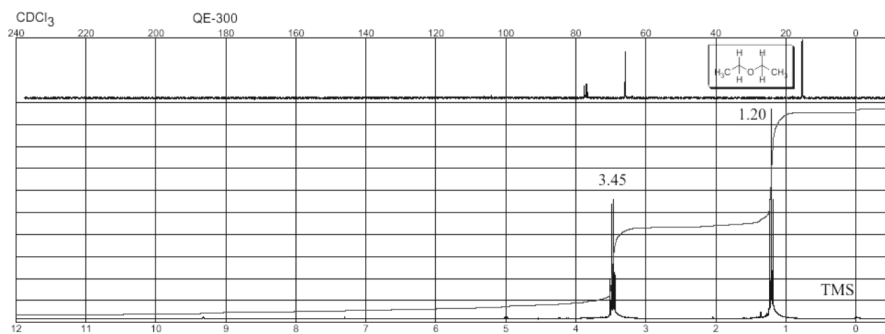


Figure 2.2.12: Dietilere

Questo è il risultato dell'interazione spin-spin, che riflette il fatto che gli spin nucleari di protoni adiacenti e non equivalenti ai protoni considerati, nel momento in cui si allineano o si disallineano col campo esterno, cambiano l'intensità del campo magnetico risentito localmente dai protoni in esame. Questa interazione è significativa per protoni vicini, cioè separati da sequenze di due (H-C-H) o tre (H-C-C-H) legami, mentre diventa molto piccola o nulla per protoni più lontani. Per spiegare il tipo di molteplicità che si ottiene consideriamo il caso di un metile (CH_3) che si trova vicino a un metilene (CH_2).

I tre protoni equivalenti del metile hanno di fianco altri due protoni, identici tra loro ma diversi dai primi, che in ogni momento possono avere il loro spin allineato o disallineato col campo magnetico esterno.

Quando i due spin nucleari sono entrambi allineati col campo H essi generano un campo locale che si somma a quello esterno e questo farà sì che i vicini protoni metilici risuonino a un'energia inferiore a quella "normale". Situazione opposta si avrà quando entrambi gli spin sono disallineati con H: in questo caso il campo locale sarà inferiore a quello applicato e la risonanza si avrà a un'energia superiore. La situazione intermedia con uno dei due spin allineato e l'altro disallineato non crea perturbazioni, poichè gli effetti dei due spin si annullano: in questo caso la risonanza si avrà pertanto allo stesso valore atteso in assenza dei due protoni metilenici. La presenza di queste tre possibili situazioni si traduce nello 'splittamento' del segnale dei protoni metilici in tre distinte bande, con quella centrale alta il doppio di quelle laterali perchè la situazione corrispondente (i due spin dei protoni metilenici che puntano in direzioni opposte) è doppiamente probabile rispetto alle altre due. Si può dimostrare in maniera del tutto analoga il motivo per cui i protoni metilenici "accoppiano" con quelli metilici per dare un quartetto.

In generale, si dice che il segnale dovuto a un insieme di protoni equivalenti viene splittato in $(n + 1)$ bande da un secondo insieme di n protoni tra loro equivalenti. Le intensità relative delle bande vengono definite dal triangolo di Tartaglia (1:1, 1:2:1, 1:3:3:1, 1:4:6:4:1, ecc.). La distanza tra i picchi in cui risulta splittato un segnale viene chiamata costante d'accoppiamento (J) e viene misurata in Hz. L'entità dell'accoppiamento (cioè il valore di J) fornisce utili informazioni sui tipi di protoni che interagiscono e il valore di J deve ovviamente essere identico per protoni che accoppiano tra di loro, il che vuol dire che, nello spettro del dietil etere, la separazione dei picchi del metile deve essere identica a quella dei picchi del metilene. L'integrale dei segnali è ancora una volta direttamente proporzionale al numero di protoni dell'insieme purchè si tenga conto della somma degli integrali di tutte le bande in cui risulta splittato il segnale corrispondente. Quindi, nel caso dell'etere etilico, l'integrale complessivo dei tre picchi del gruppo metilico sarà $3/2$ dell'integrale complessivo dei quattro picchi del gruppo metilenico. L'accoppiamento spin-spin viene difficilmente osservato nel caso dei protoni di alcoli e ammine poiché la loro acidità li porta a scambiarsi rapidamente da una molecola all'altra, mediando così gli stati di spin.

La molteplicità dei segnali è di estrema importanza analitica, poiché grazie ad essa uno spettro ^1H NMR può fornire utili indicazioni non solo sulla presenza di certi tipi di protoni in una molecola, ma anche sul numero di protoni equivalenti che si trovano vicini ad un altro dato protone: questa può essere un'informazione decisiva nel momento in cui si assemblano le informazioni strutturali complessive ricavate da questo e dagli altri metodi spettroscopici.

2.2.6 NMR in Trasformata di Fourier

In questo particolare processo di misurazioni spettrometriche, i nuclei immersi nel campo magnetico sono sottoposti periodicamente ad impulsi molto brevi di una intensa radiazione di radiofrequenza. La durata τ degli impulsi è generalmente inferiore a $10 [\mu\text{s}]$, mentre l'intervallo T tra gli impulsi può variare tra uno ed alcuni secondi.

Una schematizzazione del segnale d'ingresso per un NMR ad impulso è riportato in Fig.2.18

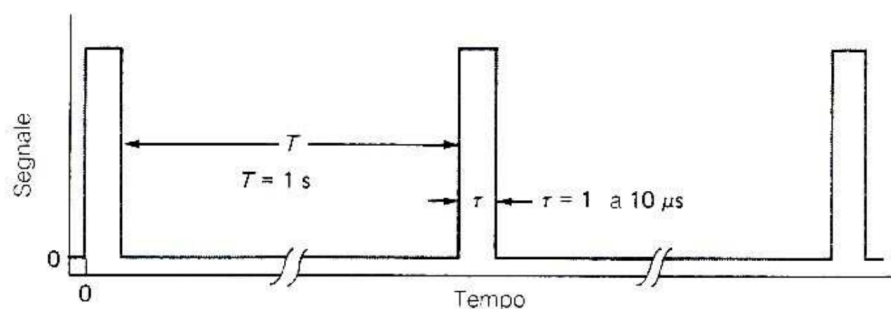


Figure 2.2.13: Segnale d'ingresso

Durante l'intervallo T , viene emesso un segnale di radiofrequenza nel dominio del tempo chiamato segnale di decadimento ad induzione libera (FID) non appena il nucleo torna al suo stato originale. Il segnale FID, viene rilevato dalla bobina del ricevitore di radiofrequenza posta perpendicolarmente rispetto al campo magnetico fisso.

Il segnale FID è un segnale nel dominio del tempo, viene quindi digitalizzato e rielaborato dal compilatore per generare la sua trasformata di Fourier ed ottenere la sua versione nel dominio della frequenza ottenendo uno spettro del tutto simile a quello ottenibile effettuando l'esperimento in onda continua.

2.2.7 Decadimento ad induzione libera (FID)

Il momento magnetico M ruota in senso orario attorno all'asse delle z alla frequenza di Larmor e questo movimento costituisce un segnale di radiofrequenza che può essere rilevato dalla bobina posta perpendicolarmente all'asse z lungo l'asse x .

Appena avviene il rilassamento, questo segnale diminuisce esponenzialmente tendendo a zero non appena il vettore magnetico si avvicina all'asse della z . Questo segnale che è un segnale nel dominio del tempo, viene poi trasformato tramite Fourier (FFT) per ottenere il corrispettivo nel dominio delle frequenze, seguendo la relazione matematica nota:

$$f(t) = \int_{-\infty}^{+\infty} F(f) \exp(-i2\pi ft) df$$

$$F(f) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) \exp(+i2\pi ft) dt$$

ricordando che si tratta di una relazione che sfrutta la perpendicolarità della funzione $\exp(-i2ft)$ e che $i^2 = -1$.

Alla “Trasformata di Fourier”, viene associato uno sviluppo in serie atto a calcolare la corrispondenza tra i punti della funzione nel dominio del tempo e i relativi nel dominio della frequenza, seguendo la relazione:

$$F_j = \frac{1}{N} \sum_{k=0}^{N-1} T_k \exp\left(\frac{-2\pi ijk}{N}\right)$$

dove F_j individua il punto j nel dominio della frequenza, T_k il punto k nel dominio del tempo ed N è il numero totale di punti. Il calcolo di questa espressione è integrato nel calcolatore.

Il segnale FID diventa molto complesso per i composti che hanno parecchie righe di assorbimento ma contiene comunque tutte le informazioni sulle frequenze necessarie per produrre uno spettro nel dominio delle frequenze.

Per meglio capire la natura di questi segnali, vediamo un esempio (Fig.2.19) di decadimento ad induzione libera dei nuclei ^{13}C del diossano quando vengono eccitati da un impulso che ha esattamente la frequenza di Larmor.

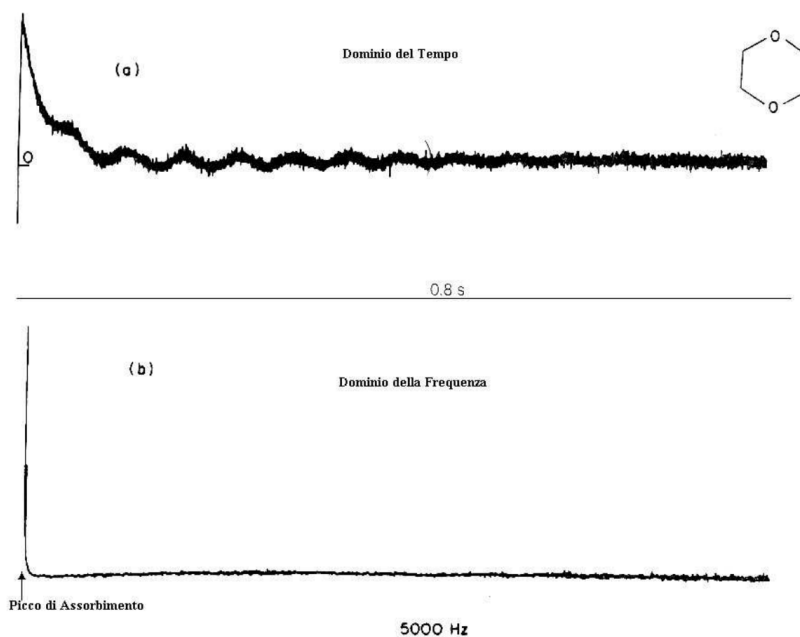


Figure 2.2.14: Decadimento induzione libera

2.2 Spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR)

Quando la frequenza di irradiazione differisce molto poco dalla frequenza di Larmor (il che avviene normalmente), il decadimento esponenziale risulta modulato da un'onda sinusoidale di frequenza: $|v - \omega_0/2\pi|$, effetto osservabile in Fig.2.20 dove la differenza tra le frequenze è di 50 [Hz].

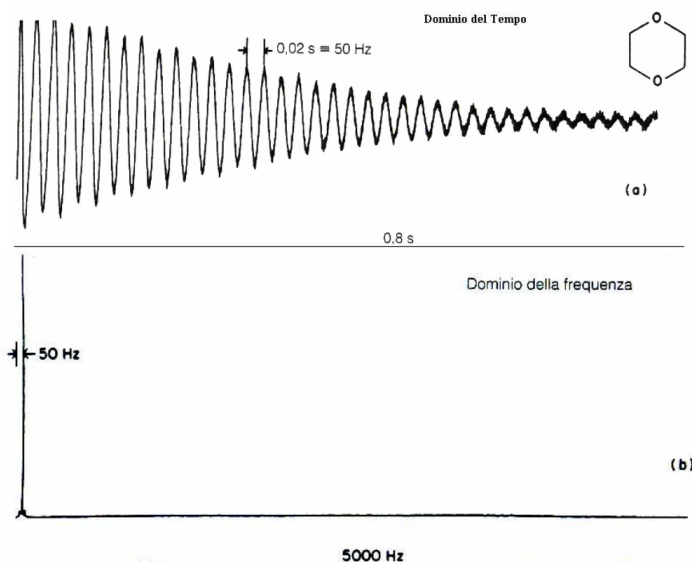


Figure 2.2.15: Decadimento modulato

La frequenza della radiazione di radiofrequenza assorbita da un dato nucleo è fortemente influenzata dal suo intorno chimico, ossia dagli elettroni e dai suoi nuclei vicini; di conseguenza anche dalle molecole semplici si ottiene una quantità di informazioni spettrali utili per chiarire la loro struttura chimica.

2.2.8 Componenti degli spettrometri NMR a FFT

Vi sono in commercio due tipi principali di spettrometri di risonanza magnetica nucleare, quelli ad onda continua e quelli ad alta risoluzione. I primi hanno magneti con intensità di pochi decimi di tesla e sono considerevolmente più semplici e meno costosi dei secondi che possono avere magneti con intensità varianti tra 1.4 e 14 [T], che corrispondono a frequenze protoniche da 60 a 600 [MHz].

La principale ragione per cui gli strumenti in trasformata di Fourier sono diventati così popolari ed utilizzati è che essi permettono di ottenere agevolmente un segnale medio affidabile aumentando così notevolmente la sensibilità.

Il componente essenziale dello strumento è un magnete molto stabile in cui viene introdotto il campione, circondato da una bobina trasmettitrice/ricevitrice.

In Fig.2.21, possiamo vedere una schema a blocchi che ci illustra tutte le parti essenziali che compongono uno spettrometro NMR a Trasformata di Fourier.

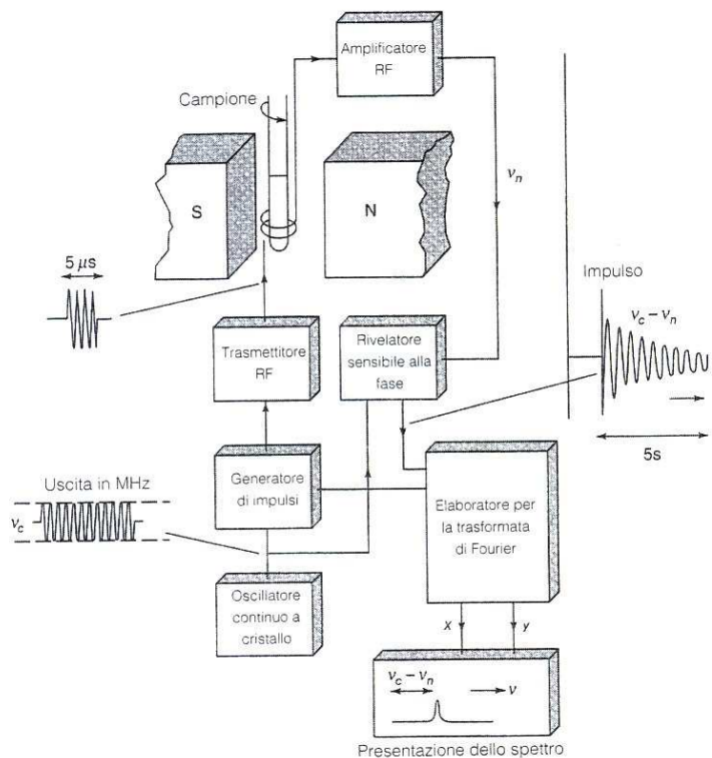


Figure 2.2.16: Schema a blocchi

All'uscita dell'oscillatore continuo a cristallo, abbiamo un impulso intenso e riproducibile di una radiazione a radiofrequenza (a volte regolabile dall'operatore), che entra sia nel generatore di impulsi che nel rivelatore sensibile alla fase.

Quest'ultimo calcola la differenza tra i segnali nucleari ν_n e la frequenza di uscita ν_c dell'oscillatore a cristallo ed emette un segnale di bassa frequenza nel dominio del tempo. Questo segnale verrà poi digitalizzato ed inviato all'elaboratore per analisi delle frequenze mediante un programma di trasformata di Fourier, ottenendo così lo spettro finale.

2.3 Esperimenti NMR nel “dominio del tempo”

Gli esperimenti NMR nel “dominio del tempo” si possono seguire utilizzando due tipi di strumenti:

- Il Minispec
- Il Mouse

2.3.1 The Minispec

Il principio di funzionamento di questa strumentazione deriva da un fenomeno di risonanza causato da uno spin nucleare dopo l'applicazione di un campo magnetico.

Come da Fig.2.23, consideriamo un nucleo atomico che ruota attorno al proprio asse e che possiede quindi un certo momento angolare I . la rotazione della carica elettrica provoca una corrente circolare che da origine ad un momento del dipolo magnetico μ . I due momenti sono paralleli.

Il nucleo di un atomo che possiede queste caratteristiche, può essere visto come se fosse un normale magnete con la sua distribuzione di flusso.

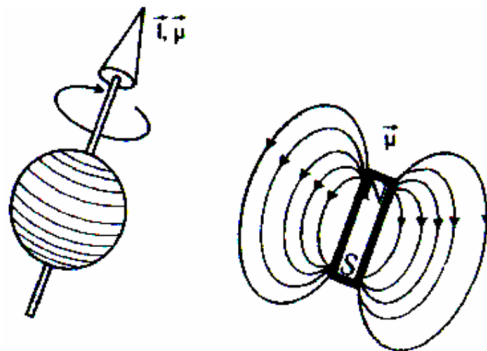


Figure 2.3.1: Nucleo atomico

Supponiamo di avere un luogo dello spazio circoscritto in cui sono contenuti più atomi liberi tutti considerabili come il modello precedentemente introdotto. Se venissero investiti da un campo magnetico B_0 , i dipoli tenderebbero ad allinearsi con lui ed il processo di magnetizzazione assumerebbe un movimento conico attorno la direzione del campo magnetico, come possiamo vedere in Fig.2.24:

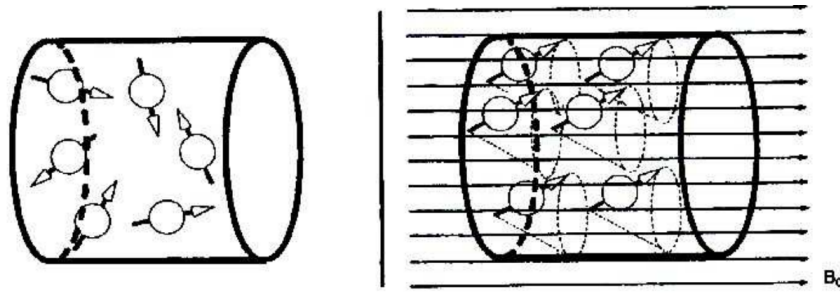


Figure 2.3.2:

Il Minispec sfrutta la proprietà fino ad ora viste sia teoricamente che praticamente nell’NMR a trasformata di Fourier, unendole ad una serie di particolarità che lo rendono uno strumento più che utile in un laboratorio per la risonanza nucleare, come il fatto che lavorando a 60 [MHz], le analisi dei tempi di rilassamento che mi restituisce sono comparabili con i valori generati da altre strumentazioni MRI.

Il Minispec serie MQ da noi utilizzato può essere configurato, grazie all’avanzato programma computerizzato di gestione, per differenti tipologie di misurazioni. Con l’aggiunta di accessori innovativi e la predisposizione per il cambiamento della componentistica interna, questo strumento è considerabile come una completa postazione per le misurazioni NMR a bassa risoluzione.

2.3.2 Basi Teoriche dell’NMR nel “Dominio dei Tempi”

Grandissima differenza tra il Minispec MQ, il Minispec Mouse e gli strumenti NMR visti fino ad ora, sta nel fatto che questi due lavorano nel dominio dei tempi (come l’NMR a Trasformata di Fourier) ma restituiscono un grafico nel dominio dei tempi, e non nel dominio della frequenza, che era invece il nostro riferimento progettuale iniziale.

In sintesi, i nuclei ^1H del campione sono eccitati mediante un impulso di radiofrequenza di lunghezza d’onda opportuna e della durata di pochi microsecondi, che sposta la magnetizzazione dalla sua posizione di equilibrio su di un piano perpendicolare al campo magnetico statico, dove inizia a precessere attorno all’asse z . Questa precessione genera un segnale oscillante noto con l’acronimo di FID (*Free Induction Decay*) che viene registrato dal ricevitore.

Il segnale, osservabile per un periodo che varia da millisecondi [ms] a secondi

[s], ha un'intensità iniziale che dipende dalla quantità di nuclei ^1H presenti nel campione, che sono normalmente associati ad una fase liquida (olio o acqua) e ad una fase solida. Il segnale relativo a nuclei che appartengono a fasi diverse decade a velocità diversa, con una proprio costante detta “*tempo di rilassamento*”; ne deriva che il segnale osservato è in realtà la sovrapposizione di più segnali.

In un solido il segnale decade più velocemente che nei liquidi a causa dei moti molecolari più lenti e della maggior vicinanza tra le molecole.

Il rilassamento trasversale e longitudinale dei protoni delle molecole, è stato a lungo studiato per descrivere la compartimentazione dell'acqua nei tessuti, nei semi e in vari tipi di alimenti. Le molecole d'acqua più mobili e meno mobili sono distinte grazie alle loro differenti velocità di rilassamento e la loro relativa quantità può essere calcolata mediante un'opportuna interpolazione dei dati.

2.3.2.1 Misure di T_1

Il tempo di rilassamento longitudinale (T_1) è un parametro molto importante perché correlato alle proprietà dinamiche delle molecole e perché indispensabile per definire il tempo di rilassamento (RD) tra una sequenza e la successiva qualora si utilizzano più scansioni.

Ci sono due metodi per analizzare questo tempo di rilassamento: *saturation recovery* ed *inversion recovery*.

- ***Saturation Recovery***

Consiste nell'applicare una sequenza simile a quella precedente, ma di questo tipo:

$$\{ \text{RD} - \text{impulso } 90^\circ - \tau - \text{impulso } 90^\circ - \text{FID} \}$$

L'impulso a 90° porta la magnetizzazione netta dall'asse z al sistema di assi del piano xy . Dopo un tempo τ , si manda un altro impulso a 90° che prende il vettore di magnetizzazione che giace adesso sul piano xy e lo manda nella direzione negativa dell'asse z . La magnetizzazione dei nuclei già rilassati viene invece adesso a giacere sul piano xy e viene quindi rilevata. È una tecnica molto adatta soprattutto per i campioni solidi, dove il relativamente basso T_2 permette di eseguire più scansioni ed effettuare una misura di T_1 molto veloce.

- ***Inversion Recovery***

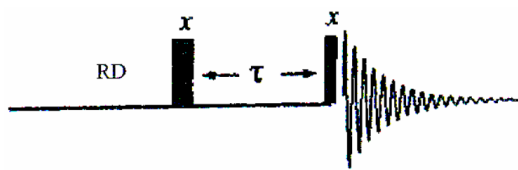


Figure 2.3.3: Inversion Recovery

Consiste nell'applicare un primo impulso a 180° , un tempo τ , un secondo impulso 90° e la rivelazione del segnale. Il tempo che separa i due impulsi, τ appunto, viene incrementato negli N esperimenti successivi.

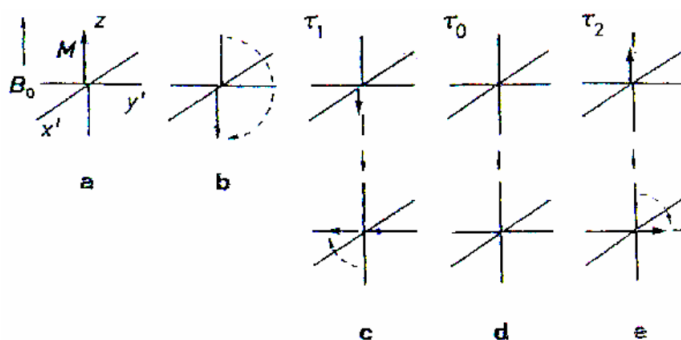


Figure 2.3.4: Rilassamento sin-reticolo

In Fig.2.26, possiamo vedere l'effetto del rilassamento spin-reticolo sul vettore magnetizzazione M . Quando τ è sufficientemente lungo ($> 5 \cdot T_1$), si può dire che il rilassamento è completato e si registra un segnale di intensità positiva.

L'intensità del vettore magnetizzazione sull'asse z , è esprimibile con la seguente formula: $M_z = M_0 (1 - 2 \cdot e^{-\tau/T_1})$.

Questa tecnica di indagine è soprattutto adatta nel caso di campioni liquidi.

2.3.2.2 Misure di T_2

Il tempo rilassamento trasversale (T_2), può essere ottenuto in linea di principio solo se il contributo della disomogeneità del campo magnetico può essere rimossa, intento può essere raggiunto mediante la già descritta tecnica di spin-echo, o mediante la tecnica CPMG (Carr-Purcell-Meiboom-Gill).

2.3.3 Componenti del Minispec MQ

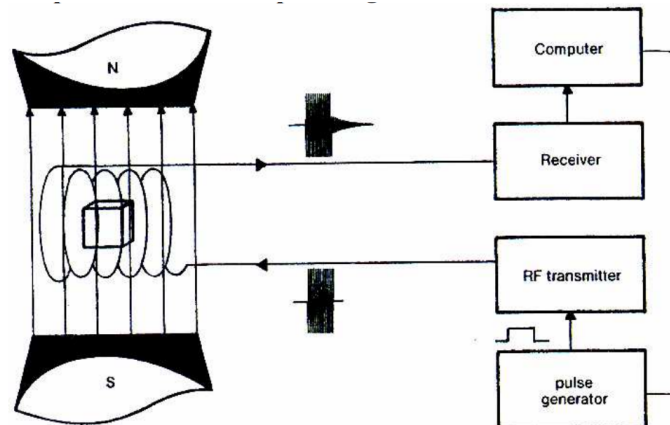


Figure 2.3.5: Struttura Minispec MQ

Dal punto di vista dello schema logico, il Minispec MQ è del tutto simile ad un NMR a Trasformata di Fourier.

Il generatore di impulsi (pulse generator), genera un impulso in radiofrequenza che sollecita il magnete a produrre un campo che va ad eccitare il nucleo. Lo spin del nucleo risponde alla sollecitazione generando un segnale NMR della stessa natura dell'impulso uscito dal generatore.

Questo segnale, viene ricevuto ed analizzato da un calcolatore che dopo diverse procedure di campionamento è in grado di generare a schermo il grafico nel dominio del tempo del rilassamento della sostanza analizzata.

Un trasmettitore lineare converte gli impulsi attenuati in digitale per renderli leggibili al calcolatore. È un blocco interno che lavora in concomitanza con un rivelatore per l'ottimizzazione del segnale.

Il programma inserito nell'unità di calcolo, è poi capace, almeno virtualmente, di generare un numero illimitato di impulsi e di eco.

Nonostante la somiglianza, vi sono delle differenze notevoli di cui tener conto, rispetto allo NMR a Trasformata di Fourier. Nel caso del Minispec, infatti, non lavoriamo con magneti solenoidali a superconduttore ma con dei magneti permanenti, che sono fortemente influenzati dalla temperatura. È infatti necessario monitorarne la temperatura di lavoro. Se si supera una certa soglia, le misure effettuate non sono più garantite come corrette.

Un'altra particolarità dello strumento è il fatto che non restituisce un diagramma

nel dominio della frequenza, ma ne restituisce uno nel dominio del tempo, come già accennato prima. Il grafico che si va a visualizzare a schermo, è infatti il diagramma temporale del rilassamento dei protoni della sostanza che si è andati ad analizzare.

La nostra grande problematica, sta di fatto nel garantire il mantenimento della temperatura di lavoro e, soprattutto, interpretare in modo corretto il grafico che ci viene visualizzato.

2.3.3.1 Caratteristiche Intrinseche dello Strumento



Figure 2.3.6: The Minispec MQ

Generalmente, il Minispec MQ è composto di; una “Magnetic Unit” (la prima a sinistra di Fig.2.28) che contiene il sistema di magneti e la testa della sonda, una “Electronic Unit” (la prima a destra di Fig.2.28) che contiene il sistema di controllo elettronica, e una “Gradient Unit” (il blocco centrale di Fig.2.28) che permette di modificare il campo magnetico nello spazio e renderlo disomogeneo in maniera controllata.. La “Gradient Unit” svolge anche il compito di: bilanciatore elettronico; è il campionatore dei segnali da analizzare e contiene il sistema di controllo della temperatura.

2.3 Esperimenti NMR nel “dominio del tempo”

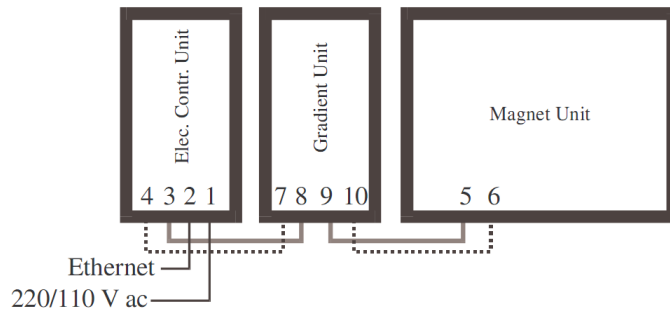


Figure 2.3.7: Composizione Minispec

2.3.4 The Minispec Mouse

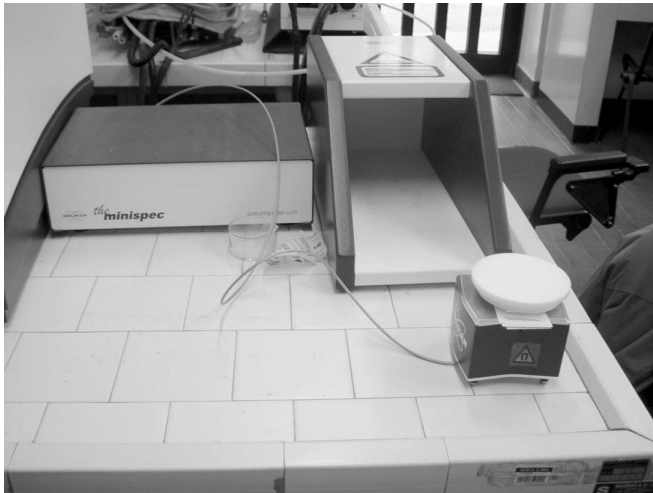


Figure 2.3.8: Mouse



Figure 2.3.9: Particolare del Mouse

Questo strumento NMR è stato progettato per effettuare misure di superficie su volumi di arbitraria grandezza. Grazie al gradiente del campo magnetico da Lui generato, gli aggiustamenti sugli spessori di penetrazione sono possibili cambiando la frequenza di risonanza dello strumento. La correlazione frequenza / profondità è unica per ogni cuore magnetico ma può variare leggermente in base alle caratteristiche dell'oggetto che stiamo analizzando. Anche la frequenza e la lunghezza degli impulsi è stata determinata dalla Bruker come uno standard dello strumento, ed è specifica per ogni cuore magnetico.

Attualmente il massimo spessore di penetrazione è di circa 4 – 5 [mm], ma il Mouse da noi utilizzato ha uno spessore di penetrazione di 2 [mm] come massimo.

Lo strumento lavora con un magnete permanente che può essere caricato con uno specifico valore di campo magnetico, che ha come massimale 3.8 [kG] (circa 0.35 [T]). Il valore della radiazione magnetica cala in rapporto con il quadrato della distanza.

Ad estrema differenza della “Magnetic Unit” del Minispec MQ, il campo di radiazione magnetica del “Mouse” è molto diverso, come vediamo infatti Fig.2.32.

La linea tratteggiata indica la soglia dei 5 [G] (500 [μ T]) in tutte le direzioni, mantenuta in rispetto al centro di gravità del magnete. Il valore è esattamente la soglia prevista dalla norma.

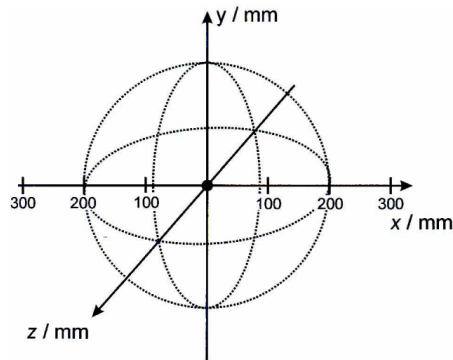


Figure 2.3.10: Differenza di radiazione magnetica

Se il sistema non è in uso, il Mouse deve essere riposto nel suo specifico box, costruito appositamente per imprigionarvi il campo magnetico costantemente generato dal magnete permanente dello strumento. Il campo misurato sulla superficie esterna del box è quasi nullo, sicché la possibilità che vengano eccitati gli oggetti ferromagnetici nelle vicinanze quando lo strumento vi è contenuto, è quasi nulla.

Per quanto più basso del campo magnetico irradiato dalla “Magnetic Unit” del Minispec MQ, comunque siamo alla presenza di uno strumento che genera un forte campo magnetico. Al fine di non falsificare la misure, bisogna comunque prendere tre precauzioni principali:

1. non avvicinare magneti alla macchina;
2. non avvicinare personale con impianti chirurgici metallici;
3. non avvicinare personale con pace-makers;

Ovviamente devono essere presenti i cartelli previsti dalla normativa che avvisino sulle precauzioni da prendere in prossimità della macchina.

2.3.4.1 Caratteristiche Intrinseche dello Strumento

In accordo con le inomogeneità del campo generato dal cuore magnetico del Mouse, il segnale NMR (detto FID: induzione di decadimento libera) generato dopo l'impulso di eccitazione a 90° , decade estremamente velocemente e raggiunge lo zero in circa $5 - 10 [\mu s]$. Per prevalere su questa estrema restrizione, gli echo vengono generati e misurati contemporaneamente. Ogni sequenza di echo è conseguenza della precedente echo - sequenza. Per determinare quindi il rilassamento longitudinale, le

2 Tecnologie Odierne

sequenze devono variare in accordo con un impulso di rifocalizzazione e in accordo con la frequenza di lavoro del rilevatore di echo. In aggiunta, nella maggioranza dei casi, soprattutto se il tempo di echo è molto corto ($< 100 [\mu s]$), vengono usati dei cicli di fase per eliminare i possibili problemi dovuti alle oscillazioni coerenti. È un metodo raccomandato dalla Bruker stessa, per quando si usano tempi di echo così bassi.

In Fig. 2.33, è possibile osservare le 6 parti principali in cui è suddiviso il Minispec Mouse:

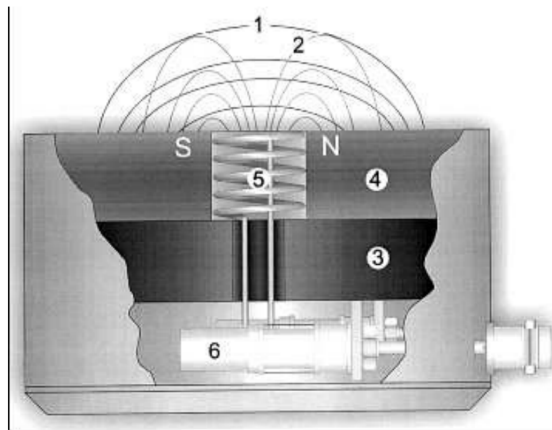


Figure 2.3.11: Minispec Mouse

1. linee di campo magnetico statico B_0 ;
2. linee di campo magnetico RF, B_1 (che è un'onda elettromagnetica);
3. blocco di ferrite, considerata come parte integrante del circuito magnetico;
4. magnete permanente;
5. solenoide multistrato e multilivello;
6. accoppiamento capacitivo (circuito RF).

Il valore del campo B_0 determina la frequenza di risonanza cui lavora il circuito RF ed il suo valore nominale è direttamente proporzionale alla potenza ed alla grandezza del magnete. Dopo accurate misurazioni dei campi magnetici generati dal Minispec Mouse, la frequenza di risonanza misurata in [Hz] cui lavora il circuito RF può essere inversamente calcolata dalla relazione:

2.3 Esperimenti NMR nel “dominio del tempo”

$$\omega_0 = \gamma B_0$$

dove B_0 è il campo magnetico statico superficiale misurato in Tesla [T] che diminuisce col quadrato della distanza e γ è il rapporto giromagnetico caratteristico del nucleo de Mouse in utilizzo.

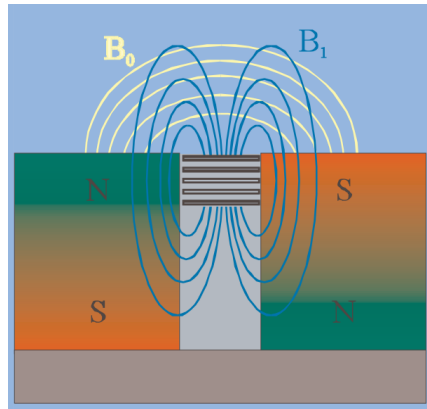


Figure 2.3.12: Campo Magnetico

In Fig. 2.34, è possibile vedere nel dettaglio il comportamento del campo magnetico generato dal Mouse.

Diamocene un'idea ancora migliore osservando le Fig. 2.35 e Fig. 2.36. Nella prima è possibile osservare la decrescente intensità dell'onda elettromagnetica B_1 a mano a mano che ci si allontana dalla superficie ($B_1(x = \text{const}, y, z)$).

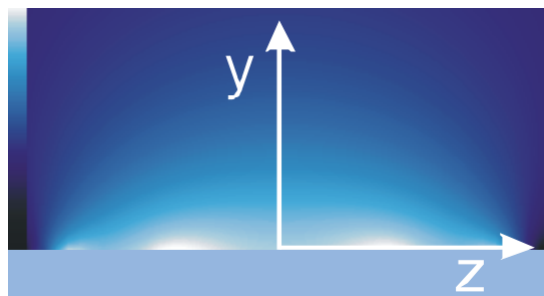


Figure 2.3.13:

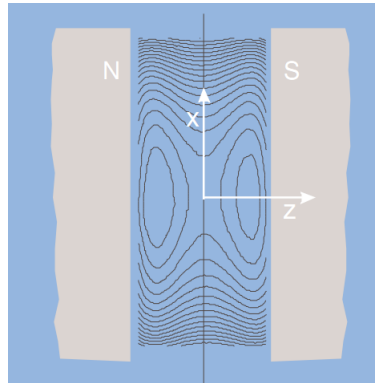


Figure 2.3.14:

Nella seconda figura, è interessante osservare come si propagano le onde del campo magnetico statico B_0 non sulla superficie dello strumento, ma tra i due magneti ($B_0(x, y = \text{const}, z)$). Per darci una rappresentazione bidimensionale di come avviene l'incontro del campo magnetico B_0 con l'onda B_1 , osserviamo Fig. 2.37 che non è altri che il risultato sul piano X-Z del prodotto vettoriale: $B_0 \times B_1 \neq 0$. Per la precisione, l'immagine è in riferimento al 1° echo.

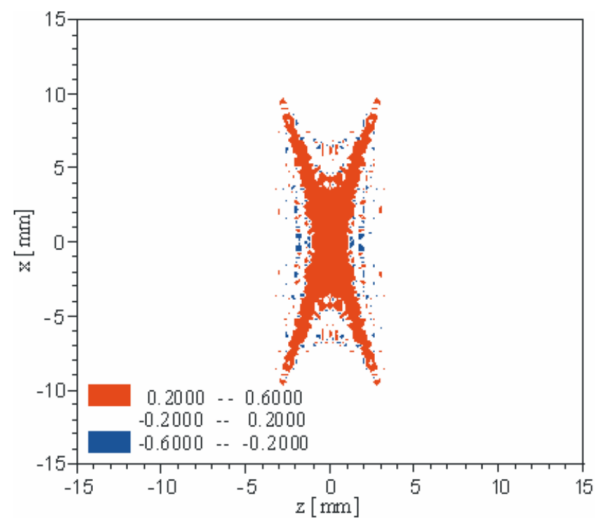


Figure 2.3.15:

Nello spazio che separa i due magneti, c'è un solenoide multilivello e multistrato. Per sfruttare la meglio le ridotte dimensioni costruttive, il solenoide occupa tutto lo spazio tra i due magneti e il circuito di accoppiamento capacitivo è così stato

2.3 Esperimenti NMR nel “dominio del tempo”

posto sotto lo strato di ferrite.

Grazie quindi alla geometria cui è stato costruito, siamo sicuri che il campo magnetico B_0 ed il campo RF B_1 , siano approssimativamente ortogonali tra di loro e saranno ortogonali anche alla superficie cui il Mouse sarà posto per le rilevazioni, come possiamo vedere dalle Fig.2.38.

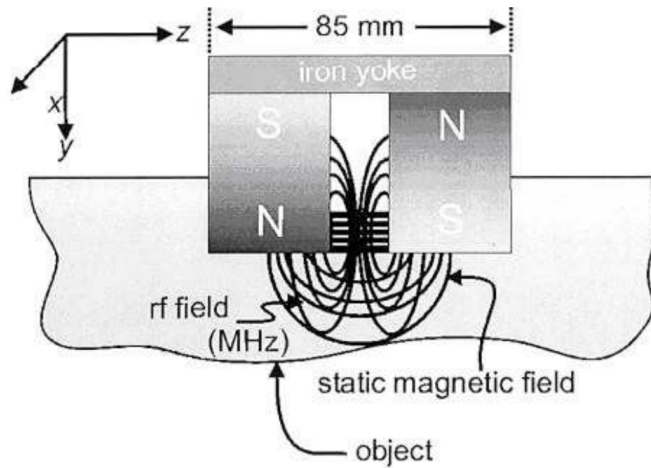


Figure 2.3.16:

Da notare l'orientamento delle coordinate cui viene fatto lavorare il campo magnetico. In Fig. 2.39, possiamo invece vedere quanto velocemente decresce l'ampiezza del campo a mano che ci si allontana dal magnete.

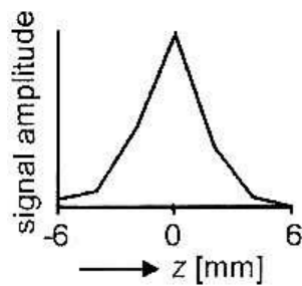


Figure 2.3.17:

Le caratteristiche d'ampiezza del segnale dipendono fortemente dal rapporto tra B_0 e B_1 , dalla grandezza e dalla geometria del magnete. Lo spessore di penetrazione del campo nel volume da analizzare, è una caratteristica intrinseca del Mouse.

2.4 Spettroscopia Raman

La spettroscopia Raman è una tecnica spettroscopica basata sull'effetto Raman. Per le sue caratteristiche, è considerata complementare alla spettroscopia infrarossa e rappresenta una tecnica comunemente utilizzata in analisi chimica e in studi sulla struttura dei composti chimici. In questo modo è possibile indagare anche molecole quali N₂, inattive all'infrarosso.

L'effetto Raman consiste nella diffusione anelastica di fotoni e fu descritto per la prima volta dal fisico indiano C.V. Raman.

In genere un fascio di luce che incide su un campione lo attraversa senza subire modifiche o viene assorbito (a seconda della lunghezza d'onda della luce e della natura del campione). Una piccola parte del fascio incidente (solitamente meno dell'1%) viene diffusa elasticamente, ossia con la medesima frequenza (effetto Rayleigh). Una percentuale di luce ancora minore (meno di 1 ppm) subisce diffusione anelastica (effetto Raman): viene cioè diffusa con una frequenza più alta o più bassa di quella originaria.

La differenza di energia tra i fotoni incidenti e quelli diffusi anelasticamente corrisponde ai livelli energetici vibrazionali della molecola diffondente: l'analisi dello spostamento delle righe spettrali dovuto ad effetto Raman può dunque fornire informazioni sulla composizione chimica, la struttura molecolare, le interazioni intermolecolari del campione.

Il fenomeno di diffusione anelastica può essere descritto in termini di scambio di energia tra il fotone incidente e la molecola colpita. Un fotone di energia $h\nu$ eccita la molecola dal suo stato fondamentale ("0" in figura) ad un livello energetico virtuale. Se la molecola diseccitandosi torna allo stato fondamentale viene riemesso un fotone con frequenza ν (diffusione elastica). Se invece la molecola si rilassa su un livello vibrazionale eccitato (p.es. il livello "1" in figura) il fotone riemesso avrà un'energia pari a $h(\nu - \nu_1)$, minore di quella della luce incidente: in questo caso, analogamente al caso della fluorescenza si parla di diffusione Stokes Raman. Se invece la molecola originariamente si trovava su un livello eccitato (p.es. il livello "1" in figura) e in seguito all'eccitazione passa dal livello virtuale al livello fondamentale, il fotone riemesso avrà energia $h(\nu + \nu_1)$, maggiore di quella della luce incidente (in questo caso si parla di diffusione anti-Stokes Raman). In condizioni standard la diffusione Stokes è più intensa di quella anti-Stokes, principalmente perché gli stati vibrazionali più bassi sono popolati secondo la distribuzione di

Boltzmann:

$$\frac{I_{Stokes}}{I_{anti-Stokes}} = \left(\frac{\nu - \nu_1}{\nu + \nu_1} \right)^4 \cdot e^{\frac{h\nu_1}{kT}}$$

Nella spettroscopia Raman si utilizza tipicamente una luce laser nel campo visibile, del vicino infrarosso o nel vicino ultravioletto. In questo modo è possibile eccitare i livelli energetici vibro-rotazionali delle molecole, osservando nel relativo spettro transizioni che sottostanno alla regola di selezione $\Delta J=0, \pm 1, \pm 2$ per vibro-rotori lineari e $\Delta J=0, \pm 1, \pm 2$ per vibro-rotori simmetrici. Devono essere soddisfatte le regole di Pauli: non tutte le rotazioni saranno permesse dal momento che i bosoni devono mantenere invariato il segno della loro funzione d'onda durante la rotazione e i fermioni devono cambiarla. Affinché si abbia l'eccitazione dei livelli vibrazionali la regola di selezione implica $\Delta v=\pm 1$.

La spettroscopia Raman è una spettroscopia di scattering dove si fa incidere sul campione la radiazione elettromagnetica monocromatica iniziale di intensità e frequenza nota e viene misurata la radiazione diffusa tramite rivelatore posto a 90° rispetto al cammino ottico lungo il campione. La radiazione può essere diffusa in tre modi: Stokes, anti-Stokes e Rayleigh (scattering elastico). La radiazione Stokes possiede energia minore rispetto alla radiazione originaria incidente, visto che una parte di tale energia è utilizzata per promuovere una transizione a un livello superiore. La radiazione anti-Stokes riceve invece un contributo energetico dallo stato eccitato quando passa a un livello inferiore, per cui è caratterizzata da maggiore energia. La radiazione Rayleigh risulta invece da scattering elastico e possiede la stessa energia della radiazione incidente.

La condizione necessaria affinché si verifichi la risonanza con la radiazione elettromagnetica è che la molecola sia anisotropicamente polarizzabile nel caso di transizione rotazionale, ovvero la vibrazione deve implicare una variazione della polarizzabilità nel caso di transizione vibrazionale. La cosiddetta "regola di esclusione" stabilisce che se una molecola possiede un centro di simmetria nessun modo vibrazionale può essere contemporaneamente Raman-attivo e attivo all'infrarosso: ad esempio, nel caso della molecola CO₂ le transizioni Raman sono legate allo

stretching simmetrico del legame C-O, mentre tale modo, non producendo variazione del momento di dipolo molecolare, non è invece attivo all'infrarosso. Per le altre molecole in generale è necessario ricorrere alla teoria dei gruppi per effettuare tale differenziazione dell'attività dei modi vibrazionali.

Per molecole allo stato gassoso, analogamente al caso degli spettri infrarossi, è possibile ottenere uno spettro vibrorotazionale caratterizzato da tre rami spettrali: O ($\Delta J=-2$), Q ($\Delta J=0$, non sempre osservabile) ed S ($\Delta J=+2$).

Analizzando, con l'ausilio di un filtro polarizzante, l'intensità della polarizzazione delle linee Raman ottenute è possibile risalire agevolmente al livello di simmetria dei modi vibrazionali implicati. La misura quantitativa dello stato di polarizzazione viene espressa tramite il rapporto di depolarizzazione, ρ , definito dalla relazione

$$\rho = \frac{I_{\perp}}{I_{\parallel}}$$

dove I_{\perp} e I_{\parallel} sono rispettivamente le intensità della luce Raman polarizzata perpendicolarmente e parallelamente. Se tale rapporto risulta minore a 0,75 la linea viene classificata come polarizzata; mentre le vibrazioni totalmente simmetriche mantengono lo stato di polarizzazione originario del fascio incidente, quelle che presentano un certo grado di asimmetria danno origine a linee depolarizzate in quanto la radiazione incidente produce anche una componente perpendicolare.

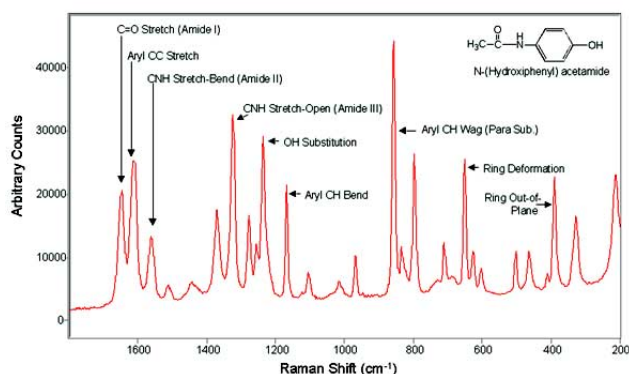


Figure 2.4.1: Spettro Raman dell'acetamidofenolo

2.5 Spettrometria di massa

La spettrometria di massa è una tecnica analitica applicata sia all'identificazione di sostanze sconosciute, sia all'analisi in tracce di sostanze. Viene comunemente usata in combinazione con tecniche separative, quali la gascromatografia e la cromatografia in fase liquida (HPLC) o, più recentemente, con tecniche quali il plasma a induzione.

Il principio su cui si basa la spettrometria di massa è la possibilità di separare una miscela di ioni in funzione del loro rapporto massa/carica generalmente tramite campi magnetici statici o oscillanti. Tale miscela è ottenuta ionizzando le molecole del campione, principalmente facendo loro attraversare un fascio di elettroni ad energia nota. Le molecole così ionizzate sono instabili e si frammentano in ioni più leggeri secondo schemi tipici in funzione della loro struttura chimica.

Il diagramma che riporta l'abbondanza di ogni ione in funzione del rapporto massa/carica è il cosiddetto spettro di massa, tipico di ogni composto in quanto direttamente correlato alla sua struttura chimica ed alle condizioni di ionizzazione cui è stato sottoposto.

La risoluzione è la capacità dello strumento di distinguere tra due picchi adiacenti. La risoluzione necessaria a separare A e B si calcola come $M/\Delta M$ dove:

- M è il valore di m/z del picco A
- ΔM è la differenza tra i valori di m/z di due picchi contigui picco B e picco A

(Per maggior precisione $M/\Delta M$ dovrebbe chiamarsi potere risolvente, mentre ΔM risoluzione). L'altezza della valle non deve essere maggiore del 10% dell'altezza del picco perché i due picchi possano considerarsi risolti. Un modo più recente di calcolare la risoluzione è quello di fare il rapporto tra il valore m/z del picco e la sua larghezza a metà altezza.

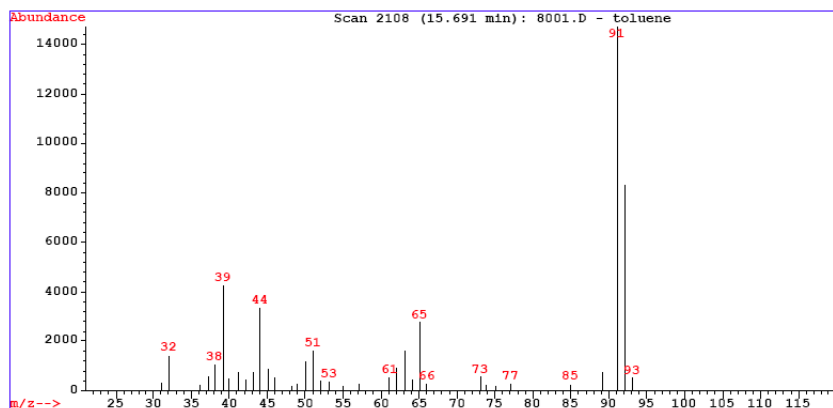


Figure 2.5.1: Spettro di massa del toluene; il picco base è il 91, il picco genitore è il 92

In applicazioni di routine, gli spettri vengono normalmente rappresentati come istogrammi che riportano l'abbondanza di ogni ione in funzione della sua massa, ipotizzando ragionevolmente che tutti gli ioni prodotti dall'analisi abbiano carica singola. Le abbondanze vengono riportate come rapporto rispetto al picco base, che è il picco più abbondante osservato nello spettro. Tale normalizzazione permette di avere spettri che sono funzione solamente dell'analita e delle condizioni di analisi. Il picco base non sempre coincide con il picco molecolare o picco genitore, che è invece il picco che corrisponde alla molecola ionizzata (ione molecolare) e che consente di stabilire quindi il peso molecolare dell'analita. In genere, più uno ione molecolare è stabilizzato (per effetto induttivo o per risonanza), maggiore è la sua probabilità di giungere intatto al rivelatore, maggiore quindi sarà la sua abbondanza. Dall'abbondanza del picco genitore è possibile già ipotizzare a quale classe di composti appartenga l'analita. Nel caso della ionizzazione da impatto a medie energie si ha:

- dallo 0 al 10% circa: alcani lineari, alogenuri alchilici, esteri, alcoli, acidi carbossilici
- dal 10% al 50% circa: alcheni, polieni coniugati, aldeidi, chetoni, eteri
- dal 50% circa al 100%: composti aromatici, cicloalcani, mercaptani

Qualora si desideri aumentare l'abbondanza del picco genitore, occorre o ridurre l'energia impiegata nella ionizzazione da impatto o ricorrere a tecniche di ionizzazione più soft quali la ionizzazione chimica o di campo.

Inoltre esistono alcune regole empiriche per aiutare nell'identificazione della composizione elementare dell'analita, come ad esempio la regola dell'azoto.

2.6 Cromatografia

La cromatografia, nata come tecnica separativa e sviluppatasi in seguito anche come tecnica analitica, si basa sul fatto che i vari componenti di una miscela tendono a ripartirsi in modo diverso tra due fasi, in funzione della loro diversa affinità (che dipende strettamente dalla temperatura) con ciascuna di esse.

Mentre una fase rimane fissa (la fase stazionaria), ed è generalmente un solido o un gel, un'altra fase, liquida o gassosa, (la fase mobile) fluisce su di essa trascinando con sé in quantità maggiore i componenti della miscela che più risultano affini ad essa.



Figure 2.6.1: Un apparato per FPLC (fast protein liquid chromatography) esposto al Science Museum di Londra

Quando il rivelatore posto in fondo all'apparecchio registra il passaggio di una sostanza eluita, elabora i dati su di un "cromatogramma", un grafico che rappresenta la quantità di sostanza rilevata in funzione del tempo. Ogni volta che una sostanza viene rivelata, il cromatogramma registra un picco più o meno alto a seconda della sua concentrazione. Perché un cromatogramma possa essere ritenuto accettabile deve avere una buona risoluzione. Per risoluzione si intende un parametro che mette in relazione l'efficienza, la selettività ed il fattore di ritenzione. Oltre che considerazioni quantitative, dal cromatogramma si possono trarre anche considerazioni qualitative in base ai diversi tempi in cui compaiono i picchi.

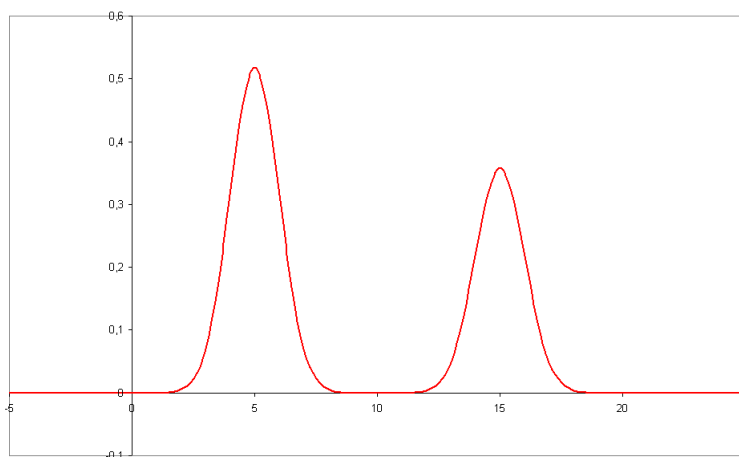


Figure 2.6.2: Esempio di cromatogramma

Per capire meglio come funziona devono essere focalizzati alcuni concetti.

- **Fattore di capacità:** è un parametro che mette in relazione il tempo di ritenzione di un analita col "tempo morto", ovvero il tempo impiegato da una sostanza non trattenuta dalla fase stazionaria per attraversare la colonna. Per tempo di ritenzione di una sostanza si intende il tempo impiegato dall'eluente (ovvero la fase mobile) per trascinarla via dalla fase fissa. Matematicamente esso è determinato dal rapporto delle moli di analita presenti nella fase stazionaria e quelle presenti nella fase mobile, ovvero:

$$k' = n(s)/n(m)$$

Con opportune considerazioni si arriva alla formula seguente:

$$k' = t'(r)/t(0)$$

che risulta molto più semplice da applicare in quanto il tempo di ritenzione corretto $t'(r)$, ovvero la differenza tra tempo di ritenzione e tempo morto, ed il tempo morto $t(0)$ sono direttamente ricavabili dal cromatogramma.

- **Selettività:** per avere una buona selettività i picchi del cromatogramma devono essere il più distanti possibili, ovvero sostanze di specie diversa devono avere tempi di ritenzione diversi. È possibile migliorare la selettività diminuendo la temperatura di lavoro. Da un punto di vista matematico, la selettività è definita come il rapporto dei fattori di capacità di due diverse sostanze sullo stesso cromatogramma, quindi:

$$\alpha = t'(r2)/t'(r1)$$

Quanto più la selettività è maggiore di 1, tanto migliore sarà la separazione cromatografica.

- **Efficienza:** avere una buona selettività non basta. Infatti, anche se i picchi sono ben distanziati, è possibile che siano talmente larghi che si sovrappongano fra loro. Per questo è necessario che particelle di una stessa specie vengano eluite con la stessa velocità, di modo che la banda all'interno della colonna cromatografica sia il più stretta possibile. Ci sono varie teorie su come sia possibile migliorare l'efficienza. La più comune viene chiamata "Teoria dei piatti teorici". Questa si rifà al metodo della distillazione frazionata, nel quale un maggior numero di piatti permette una migliore separazione fra sostanze con diverso punto di ebollizione

Oggi esistono vari tipi di cromatografie, generalmente classificate in funzione della natura delle fasi stazionaria e mobile.

| tipo | fase stazionaria | fase mobile |
|---|---------------------------------------|-------------|
| gascromatografia (GC) | solida o liquida supportata su solido | gas |
| cromatografia liquida (LC) | solida o liquida supportata su solid | liquida |
| cromatografia su strato sottile (TLC) | solida | liquida |
| cromatografia a scambio ionico (IEC) | solida | liquida |
| Cromatografia di esclusione molecolare (EC) | solida | liquida |

Table 2.1: Alcune cromatografie

Dal punto di vista industriale le due tecniche piu' utilizzate sono l'HPLC e il GC/MS

2.6.1 Cromatografia liquida ad alta prestazione o pressione (HPLC)

La cromatografia liquida ad alta pressione (High Pressure Liquid Chromatography), più semplicemente nota con l'acronimo inglese HPLC è un tipo di cromatografia liquida.

Si tratta di una tecnica cromatografica che permette di separare due o più composti presenti in un solvente sfruttando l'equilibrio di affinità tra una "fase stazionaria" posta all'interno della colonna cromatografica e una "fase mobile" che fluisce attraverso essa. Una sostanza più affine alla fase stazionaria rispetto alla fase

2 Tecnologie Odierne

mobile impiega un tempo maggiore a percorrere la colonna cromatografica (tempo di ritenzione), rispetto ad una sostanza con bassa affinità per la fase stazionaria ed alta per la fase mobile.

Il campione da analizzare è iniettato all'inizio della colonna cromatografica dove è "spinto" attraverso la fase stazionaria dalla fase mobile applicando pressioni dell'ordine delle centinaia di atmosfere. Per ottenere un'elevata efficienza nella separazione è necessario che le dimensioni delle particelle del riempimento siano molto ridotte (di solito hanno diametri compresi da 3 a 10 μm), per questo motivo è indispensabile applicare un'elevata pressione se si vuole mantenere una ragionevole velocità di flusso dell'eluente e quindi un tempo di analisi adeguato.

Alla fine della colonna è applicato un rilevatore (IR, UV-VIS, spettrofluorimetrico, spettrometro di massa) e un calcolatore che permettono una analisi in continuo dell'uscita della colonna e quindi di poter quantificare e/o identificare le sostanze iniettate.

I vantaggi principali di questa tecnica sono: la dimensione ridotta della colonna che evita problemi di deviazioni longitudinali (movimenti della fase mobile longitudinali) e di percorsi alternativi; velocità di eluizione (passaggio della fase mobile attraverso la colonna) costante e regolabile; velocità di esecuzione ridotta; piccole quantità di composto necessaria all'analisi (nell'ordine dei 5-10 microgrammi di campione solubilizzato in apposito solvente) tutto a favore di una maggiore accuratezza e precisione.



Figure 2.6.3: Un HPLC

A causa delle elevate pressioni di esercizio, la strumentazione per HPLC è di norma più complessa rispetto a quella per altre tecniche cromatografiche. I componenti principali dell'apparecchiatura per HPLC sono:

- Contenitori per la fase mobile
- Pompe
- Sistemi di introduzione del campione
- Colonna
- Riempimento della colonna
- Rilevatori

Lo svantaggio principale degli apparecchi per HPLC è il costo molto più elevato rispetto ad una cromatografia su colonna tradizionale (circa 20-30 mila euro per uno strumento completo dalle medie prestazioni), anche se non è possibile paragonare le due metodiche poiché presentano campi di applicazione diversi.

2.6.2 Gascromatografia-spettrometria di massa (GC/MS)

La metodologia analitica del gas massa (GC/MS) combina la tecnica gas-cromatografica (GC) con le potenzialità della spettrometria di massa (MS) per la determinazione qualitativa e quantitativa di una ampia gamma di sostanze, prevalentemente organiche, a bassa polarità e basso peso molecolare accomunate da una temperatura di ebollizione sempre inferiore a 300°C.

Le caratteristiche di questa tecnica sono: velocità, semplicità, sensibilità, richiesta di poco campione e grande potere di separazione. Il processo di separazione si basa sulla distribuzione dei componenti tra due fasi: una fase fissa (stazionaria) ed una in movimento (mobile). La miscela viene introdotta nella fase mobile all'inizio del sistema di separazione in modo tale che i componenti hanno l'opportunità di interagire con la fase stazionaria. La GC è applicabile a campioni che hanno un'elevata tensione di vapore alla massima temperatura operativa della colonna. Dopo che il campione è stato iniettato, la fase mobile lo trasporta attraverso il sistema cromatografico. I componenti in esso presenti possono interagire con la fase stazionaria verso la quale avranno differente affinità. Il trasporto degli analiti avverrà solo nel momento in cui essi saranno presenti nella fase mobile. All'uscita della colonna di separazione i diversi componenti della miscela sono inviati al rivelatore a spettrometria di massa DSQ (Quadrupolo a Doppio Stadio) dove possono essere riconosciuti grazie alla frammentazione in ioni più leggeri secondo schemi tipici

2 Tecnologie Odierne

funzione della loro struttura chimica. Il diagramma risultante che riporta l'abbondanza di ogni ione in funzione del rapporto massa/carica è il cosiddetto spettro di massa, tipico di ogni composto in quanto direttamente correlato alla sua struttura chimica ed alle condizioni di ionizzazione cui è stato sottoposto.



Figura 2.6.4: GC/MS

I principali vantaggi che si ottengono utilizzando lo spettrometro di massa come rivelatore dopo la separazione cromatografia dei componenti, consistono in una sensibilità maggiore rispetto ai detectors comunemente usati dai GC e nella possibilità di identificare la sostanza analizzata. Le due tecniche associate possiedono quindi una capacità analitica notevolmente superiore rispetto alle singole metodologie usate separatamente. Il GC sfrutta le differenti proprietà delle varie specie chimiche presenti in una miscela gassosa per la loro separazione. Una volta che i singoli componenti la miscela sono stati separati, questi passano all'interno del MS dove vengono sottoposti a ionizzazione e conseguente frammentazione.

3 Reattore Chimico Automatizzato

Nel campo dei sistemi di controllo di un processo chimico, la parte di verifica di qualità e purezza dei componenti riveste una particolare importanza vista la criticità dell'impiego dei principi attivi in campo umano e animale. Il controllo dei parametri di reazione durante il processo è alquanto difficoltoso perché le maestranze sono costrette a continui prelievi per saggiare lo stato della massa in lavorazione, interagendo con il sistema di produzione "Reattore" e operando con una tecnica che si può denominare "Start-Stop".

I campioni devono essere portati in laboratorio per le analisi di controllo lasciando che la reazione nel frattempo continui con il rischio di degradare il principio attivo o nei casi più malaugurati, di entrare in una fase di reazione non controllata. Alcune aziende chimiche per ovviare a questi problemi si sono dotate con il passare del tempo di impianti pilota in grado di simulare le fasi del processo di produzione. Questi impianti sono una copia in scala degli impianti di produzione più grandi. Nonostante questi accorgimenti le differenze di scala tra i sistemi "pilota" e i sistemi di "produzione" producono delle differenze che in fase di produzione definitiva possono portare a non ottenere un prodotto ottimale. Un' altro parametro da controllare assieme alla curva di reazione è la temperatura di "reazione". La massa per aver una reazione ottimale deve ricevere una giusta quantità di energia termica che non deve protrarsi oltre l'avvenuta reazione chimica di trasformazione, pena il degrado del principio attivo in produzione.

Altri parametri da tenere in considerazione sono: la conducibilità elettrica, la pressione, le misurazioni HPLC, la Gascromatografia, le curve RAMAM ecc. . Gli standard di controllo fino ad ora avevano privilegiato dei controlli non in "Sito", la stessa F.D.A. (Food and Drug Administration) solo di recente, ha concesso di realizzare dei sistemi controllo e di misura posti nelle immediate vicinanze del "Reattore di processo", è chiaro che portare un intero complesso di strumentazioni altamente sofisticate nelle immediate vicinanze di un sistema produttivo è assai costoso , per non parlare poi del personale Tecnico che deve essere formato e

mantenuto per realizzare le analisi di controllo.

Per risolvere questo problema si è pensato di realizzare un reattore in grado di effettuare delle misurazioni che agevolino e snelliscano i prelievi necessari per il controllo del prodotto. Già' ora infatti esistono molti reattori in grado di tener sotto controllo dati come temperatura, pressione, velocità, flussi ecc. tramite alcune sonde a rilevamento continuo inserite nel reattore stesso, però' ancora oggi le maggiori e più' critiche tecniche di analisi si svolgono in laboratorio per cui la sostanza deve essere prima prelevata e poi portata in queste strutture per analizzarle.

A questo punto si è pensato se non si potessero avvicinare queste strumentazioni per velocizzare il processo, una possibile soluzione trovata è' quella di utilizzare per i prelievi dal reattore dei campionatori automatizzati che a intervalli prestabiliti e programmabili estraggano dal reattore un campione di sostanza e che poi possa essere analizzato direttamente in situ da alcune strumentazioni come NMR, IR, UV-Vis.

3.1 Modello del Reattore Automatizzato

A causa delle innumerevoli misurazioni necessarie per la realizzazione e il controllo dei prodotti desiderati, viene sprecato molto tempo. Infatti molto spesso i macchinari predisposti per le misurazioni sono addirittura in luoghi diversi dal reattore, per cui le persone sono costrette a fare dei prelievi dal reattore e portare in seguito il composto ad analizzare questo consegue che le misurazioni non sono in tempo reale quindi non rispecchiano esattamente la realtà' perché' nel frattempo che si è' analizzato il composto la reazione è' continuata e gli enzimi che si sono trovati nelle analisi magari ora non sono più' presenti nel reattore.

Esistono diverse tipologie di reattore chimico, in funzione della reazione da svolgere e della natura chimica e delle sostanze coinvolte, nonché dalla modalità di conduzione della reazione: continua o discontinua (a lotti o batch).

I processi chimici e quindi i reattori sono divisibili in due famiglie:

- **Processi continui:** ogni unità che compone l'impianto chimico, quindi anche il reattore, opera 24 ore al giorno, 7 giorni su 7, a condizioni praticamente sempre costanti. Normalmente si effettuano fermate dell'impianto solo per operazioni di manutenzione e solo ogni due o più anni.

3.1 Modello del Reattore Automatizzato

- **Processi discontinui:** nei processi discontinui alcune unità, normalmente i reattori batch, operano secondo dei cicli tipo carico-reazione-svuotamento.



Figure 3.1.1: Reattore Chimico

La progettazione di un reattore chimico tiene conto di numerosi aspetti chimici ed ingegneristici. Deve garantire che la reazione abbia luogo con la migliore resa e con la minore spesa possibile. Deve inoltre essere presa in considerazione la pericolosità della reazione e la tossicità di reagenti e prodotti coinvolti.

Tra i normali costi di un reattore rientrano quelli per l'acquisto delle materie prime, per l'energia da fornire (ad esempio come agitazione o riscaldamento), per l'energia da rimuovere (qualora sia necessario raffreddare la reazione) nonché quelli del lavoro umano legato alla conduzione della reazione.

In un reattore chimico è necessario che vengano assicurate:

- La miscelazione dei reagenti
- Condizioni termiche ottimali.

La miscelazione dei reagenti può essere ottenuta tramite l'utilizzo di miscelatori statici o agitatori. Le condizioni termiche ottimali (temperatura, pressione) pos-

3 Reattore Chimico Automatizzato

sono essere mantenute mediante l'uso di scambiatori di calore, condensatori, compressori etc.

Sempre mantenendo queste condizioni necessarie per la progettazione di un reattore, tramite l'utilizzo di alcuni campionatori automatizzati possiamo prelevare il contenuto del reattore e trasportarlo con dei canali direttamente ai sensori dedicati al controllo e classificazione del prodotto come NMR, IR, Uv-Vis.



Figure 3.1.2: Campionatore Automatico

Infatti possiamo programmare questi campionatori di fare dei prelievi a intervalli regolari per tenere sott'occhio la reazione chimica che e' in atto, poi in base a che tipo di misurazioni ci servono, possiamo attraverso una serie di canali far passare il prodotto tra dei sensori in grado di registrare le specifiche del composto appena passato.

Poi tutti questi dati si possono riorganizzare tramite un software che legge i dati che ogni macchina fa uscire e li riorganizza per far si che sul monitor potremmo avere in tempo quasi reale l'evoluzione della reazione chimica.

3.1 Modello del Reattore Automatizzato



Figure 3.1.3: Reattore CVI/CVD

Ad esempio se in una reazione chimica una caratteristica della buona evoluzione del composto sia una variazione della colorazione si può pensare di inserire nel reattore una lente di quarzo grazie alla quale puoi vedere il contenuto e tramite un lettore Uv-Vis o IR dall'altra parte si può mantenere sotto controllo l'evoluzione del colore e sapere in quale momento è avvenuta la reazione.

Come in questo esempio in tutte le reazioni esistono dei parametri chiave grazie ai quali si riesce a controllare l'evoluzione di ogni reazione unico problema sta solo nel capire quale siano nella nostra reazione e capito questo selezionare che strumento abbiamo a disposizione migliore per analizzarli.

4 Nuove Tecnologie in evoluzione

Nel campo sensoristico in questi anni si sta cercando di sviluppare apparecchiature sempre piu' sensibili e precise, in grado di sostituire l'intervento umano. Per raggiungere questi obiettivi si stanno investendo molte risorse nell'ambito della ricerca e noi se ci prefiggiamo di realizzare un reattore chimico automatizzato dobbiamo conoscere molto bene quale direzione la ricerca sta prendendo per cercare di sfruttarla nel maggior modo possibile.

Nel corso degli anni si sono distinte due branche di ricerca chimica che proseguivano di pari passo, una si basa sullo sfruttamento di nuovi algoritmi complessi in grado di prevedere date le sostanze iniziali l'evoluzione della reazione. L'altra puntava alla miniaturizzazione della strumentazione d'analisi per rendere tali strumenti portatili. La prima grazie alla rapida evoluzione di calcolatori sempre piu' potenti in un primo momento sembro' la strada migliore, ma ben presto ci si dovette rendere conto che per prevedere una reazione entrano in gioco troppe variabili e persino se si prova una reazione conosciuta dopo migliaia di sperimentazione non si ha certezza assoluta della riuscita dell'esperimento, per cui questa strada oggi come oggi è un pò abbandonata.

Al contrario la miniaturizzazione della strumentazione ha preso sempre più piede tanto che una delle ricerche piu' prestigiose in questo campo è l'NMR-Mouse.

4.1 NMR-Mouse

Quindici anni fa, Bernhard Blümich e il suo allievo di dottorato Peter Blümler, concepirono un apparecchio di risonanza magnetica nucleare (RMN) di dimensioni estremamente ridotte ed avviarono lo studio per la sua realizzazione. L'idea nasceva dall'aver osservato, nella messa a punto di dispositivi per l'analisi di polimeri, che non era necessario impiegare gli enormi e costosi magneti in uso per ottenere buone immagini. I ricercatori, infatti, si resero conto che il campo magnetico disomogeneo prodotto da magneti permanenti di ridotte dimensioni e costi, era sufficiente per ottenere una distinzione fra aree di qualità diverse presenti in vari materiali

esaminati. L'ambizioso progetto si prefiggeva di realizzare un apparecchio delle dimensioni di un mouse di computer, per questo i suoi ideatori coniarono, per il dispositivo in cantiere, l'acronimo NMR-MOUSE (da Nuclear Magnetic Resonance – Mobile Universal Surface Examiner).

Un aspetto particolarmente stimolante riguardava il fatto che il nuovo apparecchio, per le sue dimensioni e il tipo di impiego, si sarebbe potuto spostare a piacimento e non avrebbe avuto limiti di grandezza circa le superfici da esplorare (Bernhard Blümich, *The Incredible Shrinking Scanner*. *Scientific American* 299 (5), 68-73, November 2008). Una tale prospettiva faceva immediatamente pensare ad un'evoluzione tecnologica che avrebbe rivoluzionato l'applicazione più importante della RMN in medicina, ossia la MRI (Magnetic Resonance Imaging), che si realizza con apparecchi grandi come una stanza, con un magnete di dimensioni tali che il diametro della sua struttura anulare consenta il passaggio del corpo della persona da esaminare. Però, l'impiego per l'esplorazione del cervello e ogni altro distretto corporeo, si scontrava col problema della grande disomogeneità di campo prodotta dai piccoli magneti; infatti, secondo le conoscenze di quegli anni, in quel modo non sarebbe stato possibile ottenere un'analisi chimica dei tessuti. Un aiuto alla realizzazione dell'NMR-MOUSE venne dal rilievo che la costante metrica temporale T_2 , impiegata nelle procedure standard di NMR, poteva essere misurata in campi magnetici non uniformi. In realtà, già nel 1949 il fisico Erwin L. Hahn aveva scoperto che risposte a stimoli NMR possono essere rilevate anche quando si impiegano campi disomogenei, per il sorgere di particolari segnali detti "echi". In questi campi, il segnale originato dagli impulsi a radio frequenza (RF) rapidamente decade, ma può essere recuperato successivamente, applicando un secondo impulso. Se si aggiungono impulsi in successione, si genera una serie di echi, che costituiscono ciò che convenzionalmente si definisce un "treno di echi". L'ampiezza degli echi che costituiscono un treno, decade con il tempo di rilassamento T_2 , che varia caratteristicamente secondo il tipo di materia e materiale. Il valore di T_2 riflette la mobilità delle molecole osservate: la materia molle (soft matter), in cui le molecole si muovono facilmente, ha un lungo T_2 , mentre la materia dura (hard matter), caratterizzata da scarsa mobilità molecolare, ha un T_2 breve. La mobilità molecolare dei costituenti cambia quando si verificano reazioni chimiche o transizioni di fase. In tal modo, dai diversi valori di T_2 si possono ricavare informazioni sulla fisica e la chimica di ciò che si osserva ed ottenere caratterizzazioni dei tessuti.

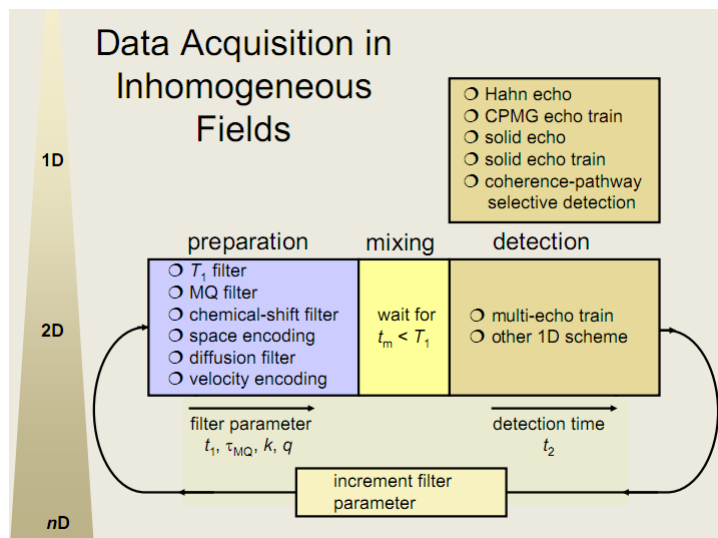


Figure 4.1.1: Aquisizione dati

Dopo vari anni di studi, con il contributo decisivo di Federico Casanova e Juan Perlo, Blümich, Blümmler e gli altri collaboratori del gruppo RWTH dell'Università di Aachen in Germania, realizzarono un NMR-MOUSE delle dimensioni di una borsetta, in grado di funzionare con un consumo di corrente paragonabile a quello di una lampadina.

Confrontando le apparecchiature classiche con quelle portatili, si può riconoscere questa differenza sostanziale: negli apparecchi tradizionali un campo magnetico omogeneo consente di generare un segnale T2 con un singolo impulso RF, mentre nei nuovi dispositivi la disomogeneità del campo magnetico richiede impulsi RF multipli che generano treni di echi la cui ampiezza è assemblata in modo da produrre un segnale T2.

Recentemente, il perfezionamento della “risonanza in miniatura” ha avuto un’accelerazione importante e decisiva. Federico Casanova e Juan Perlo sono riusciti ad aumentare l’omogeneità del campo magnetico prodotto dal magnete permanente, con il conseguente miglioramento della risoluzione nell’analisi e nelle immagini che ne derivano: il loro NMR-MOUSE è in grado di rivelare la composizione chimica di una soluzione in un beaker posto in cima al dispositivo. Questo risultato ha aperto la porta alla realizzazione di prodotti tecnologici per l’analisi molecolare. Sono, infatti, attualmente allo studio vari arrangiamenti per magneti che consentano la realizzazione di saggi chimici con dispositivi della dimensione di una tazza da caffè. La composizione strutturale di questi apparecchi portatili si può ridurre a quella

4 Nuove Tecnologie in evoluzione

di un telefono cellulare con l'aggiunta di un magnete, sicché è facile prevedere che nel giro di pochi anni, con la produzione in larga scala e il crescere della domanda, si potrà disporre di analisi mediante risonanza magnetica a costi molto bassi. Per ciò che concerne il nostro maggiore interesse, già si parla di dispositivi a foglia di casco per la risonanza magnetica cerebrale, che potrebbero far parte della dotazione delle autoambulanze per l'uso in condizioni di emergenza. A nostro avviso, tuttavia, in questa fase è saggio condividere la prudenza degli specialisti in diagnostica per immagini e dei ricercatori che impiegano metodiche di neuroimaging, i quali non si lasciano contagiare dall'entusiasmo per l'innovazione tecnologica in sé e per i minori costi previsti, ma suggeriscono uno studio attento e rigoroso per la comprensione esatta delle potenzialità e dei limiti di una metodica che, per molti aspetti, deve considerarsi nuova.

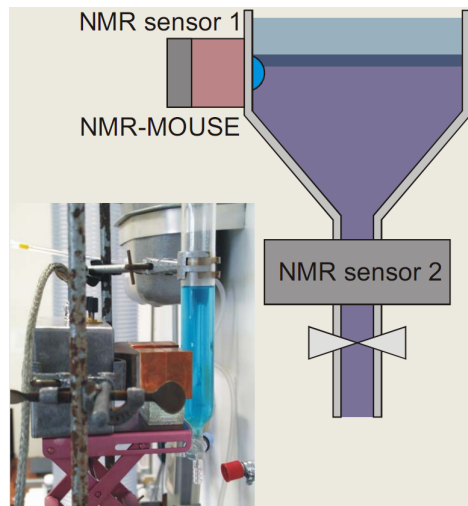


Figure 4.1.2: NMR-Mouse

4.1.1 L'esperimento *Spin-Echo*

Per poter spiegare le dinamiche dell'esperimento, e' meglio fare riferimento alla Fig.4.3.

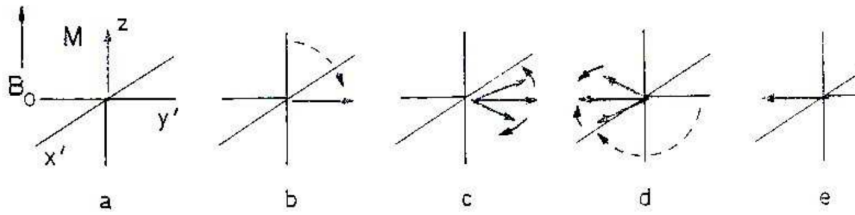


Figure 4.1.3: Esperimento Spin-Echo

Nella parte (a) della figura, possiamo osservare il caso noto del vettore di magnetizzazione M che si sviluppa sull'asse z . Se sull'asse x venisse mandato un impulso, a causa dello sfasamento di 90° , M andrebbe a riportarsi sull'asse y , come avviene su (b). A causa della non omogeneità di B_0 , il campo dei singoli nuclei andrebbe a ripartirsi non più solo sull'asse x ma su tutto il piano che ne contiene l'asse (c). Oltre un certo tempo τ viene applicato un altro impulso; questi si andrebbe a trovare a 180° rispetto ad M (diviso nelle sue componenti su tutto il piano x) causandone un'inversione di direzione (d). Dopo un tempo 2τ , le componenti verranno rifocalizzate in una sola componente adagiata ora sull'asse $-y$. In Fig. 4.4 vediamo una rappresentazione segnalistica del fenomeno.

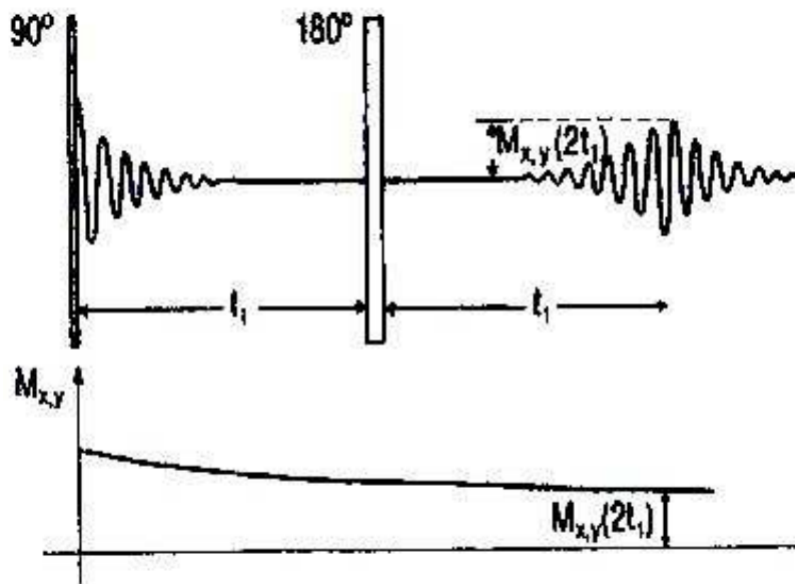


Figure 4.1.4: Rappresentazione dei segnali

La risultante della magnetizzazione trasversale, può essere individuata e mis-

urata dalla bobina ricevitrice, ed il segnale che riceve prende il nome di *spin-echo*.

La sua intensità, dipende solo dalla velocità del rilassamento trasversale, tenendo conto dell'irreversibile perdita di magnetizzazione trasversale durante il tempo 2τ , anche se il contributo di perdita dovuto alla non omogeneità del campo durante il processo di divisione delle componenti di M viene quasi del tutto eliminata grazie al processo di rifocalizzazione. Alla luce di quanto osservato, l'ampiezza del segnale di echo dovrebbe essere proporzionale ad:

$$\exp(-2\tau/T_2)$$

perché:

$$M(\text{echo a } 2t) \propto \exp((-2t/T_2) - 2(\gamma^2)(G^2)D(t^3)/3)$$

dove M è correlato con il tempo di rilassamento spin-spin (T_2) e alla diffusione molecolare (D) in un gradiente di campo magnetico (G). In pratica, il processo di diffusione complica la situazione cambiando posizione agli spin nel campo magnetico per mezzo dell'incremento nello spargimento della frequenza di Larmor. Questa complicazione può essere elegantemente eliminata utilizzando un unico impulso già sfasato di 180° rispetto ad M , e facendolo durare per tutto il tempo τ , come descritto in Fig. 4.5.

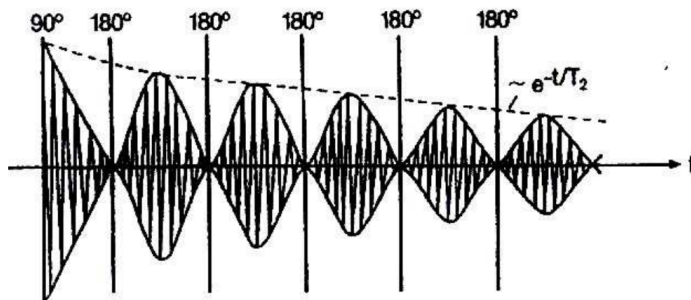


Figure 4.1.5: Impulso sfasato di 180°

Una sequenza di impulsi del tipo: $\tau, 3\tau, 5\tau, \dots$, viene detta “treno di impulsi di Carr-Purcell”. Il decremento dell'ampiezza dello spin-echo, avviene invece in accordo con una sequenza del tipo: $2\tau, 4\tau, 6\tau, \text{etc} \dots$

Utilizzando questa tecnica, l'ampiezza del segnale di echo risulta essere proporzionale ad:

$$\exp(-t/T_2)$$

e l'effetto della diffusione diventa insignificante se la distanza tra gli impulsi è breve.

La tecnica che sfrutta la sequenza di Carr-Purcell, viene anche detta CPMG (Carr- Purcell-Maiboom-Gill) e risulta essere più veloce della tecnica di spin-echo, ma conviene utilizzarla solo quanto il valore di T_2 non è troppo breve.

5 Grado di Fattibilita'

Considerato il modello di reattore automatizzato che si e' proposto proviamo ora ad analizzare nel dettaglio le problematiche in cui si puo' incappare nella realizzazione di esso. Dobbiamo tener conto oltre alla difficolta' di realizzazione i costi necessari e l'effettivo utilizzo nel campo produttivo.

Tenuto in considerazione tutto cio' si sono riscontrati alcuni problemi che potremmo schematizzare cosi':

- Non scalabilita'
- Impossibilita' di Astrazione
- Ingresso di nuove Tecnologie

5.1 Non Scalabilita'

Come abbiamo gia' accennato il nostro sistema automatizzato andrebbe a interagire con un reattore pilota quindi di una capienza non superiore ai 50 litri. Questi piccoli sistemi rispetto ai piu' grandi reattori industriali con capienza di centinaia di migliaia di litri sono molto usati nel campo della ricerca chimica poiche' grazie a questi riusciamo a renderci un'idea di come presumibilmente si svolgera' la reazione e soprattutto risparmiamo moltissime materie prime ed energia, inoltre se la reazione non andasse a buon fine avremo da smaltire meno materiale.



Figure 5.1.1: Reattore Pilota

Queste previsioni ahime' non sono mai sicure al cento per cento poiche' ogni singolo reattore possiede caratteristiche diverse l'uno dall'altro per la varieta' del materiale di composizione, diverso modo in cui si agita la sostanza, la differenza di tempistica in cui raggiungono la temperatura critica per la nostra reazione. Tutto cio' rende le previsioni da reattore di limitate capacita' ad un reattore industriale di assai difficile interpretazione.

Per il nostro sistema automatizzato questo e' un grave problema perche' se riusciamo a trovare una sequenza di strumenti adatti a visionare la buona uscita di una reazione in un sistema pilota e' impossibile che questa strumentazione sia efficace in altri reattori non solo di dimensioni diversi ma anche in reattori pilota della stessa capacita' ma costruiti da case diverse.

Per ovviare a cio' saremmo costretti a realizzare un sistema automatizzato con specifiche caratteristiche per ogni singolo reattore con l'impossibilita' di far interagire tra di loro i dati.

5.2 Impossibilita' di Astrazione

Ogni singola reazione chimica che vogliamo eseguire possiede caratteristiche uniche che possono essere temperatura, velocita' di flusso, colore ecc. Quindi se vogliamo creare un sistema automatizzato per il controllo dell'evoluzione del processo chimico dobbiamo conoscere ogni singola caratteristica evolutiva che differenzia le

reazioni.

Tutto cio' da un lato e' un bene dall'altro non tanto poiche' con tutta l'esperienza di analisi in laboratorio che abbiamo alle spalle conosciamo molto bene tutte le caratteristiche specifiche di ogni composto che vogliamo realizzare quindi siamo in grado di selezionare la strumentazione piu' adatta alla rilevazione migliore di tale caratteristica distintiva della reazione.

Al contrario dal punto di vista dell'astrazione del sistema automatico che ci prefiggiamo di realizzare cio' e' male perche' non possiamo realizzare un sistema in grado di controllare la maggior parte delle reazioni, ma dobbiamo studiare ogni singola reazione per trovare la caratteristica critica ed evidenziarla grazie alla strumentazione che abbiamo a disposizione e poi costruire il sistema piu' performante. Per cui e' impossibile realizzare un sistema di base che sia in grado di controllare la maggior parte delle reazioni.

Per risolvere cio' potremmo inserire in questo sistema tutte le strumentazioni che il mercato ci offre cosi' da coprire tutte le possibili reazioni, pero' questo sarebbe uno spreco senza senso delle risorse perche' molti strumenti utili in alcune reazioni sarebbero inutili in altre quindi non necessari.

5.3 Ingresso di Nuove Tecnologie

Analizziamo ora le nuove tecnologie che sono in fase di sviluppo e vediamo se possiamo modificare il nostro sistema per far si che un domani si possano integrare bene con esso.

Come gia' accennato si sta sviluppando un progetto mirato alla miniaturizzazione di un sensore NMR, attualmente la ricerca e' giunta al punto in cui riesce a misurare in percentuale la presenza di acqua in un composto a distanza di pochi millimetri, ma confidiamo nel fatto che nel giro di pochi anni questa tecnologia possa essere perfezionata.

Se questo tipo di risonanza magnetica risultera' effettivamente efficace molti sensori di altro genere spariranno perche' con una rapida lettura della risonanza magnetica si puo' gia' identificare la sostanza, quindi a questa tecnologia bisognerebbe solo affiancare sensori basilari come temperatura, pressione, flussi per tenere sotto controllo la reazione.

Cio' non gioverebbe molto al nostro sistema automatizzato poiche' grazie a un unico sensore si riuscirebbe a fare il lavoro di molti altri che diventerebbero super-

flui. Inoltre con questa nuova tecnologia risolveremo il problema dell'impossibilita' di astrazione.

5.4 Conclusioni

Considerando le problematiche che abbiamo appena esaminato possiamo ora trarre alcune conclusioni sul reale valore a livello industriale della realizzazione di un sistema automatizzato applicabile a un reattore chimico.

Con il nostro sistema sicuramente non riusciamo a porre soluzione alla non scalabilita' e all'impossibilita' di astrazione dell'impianto poiche' non dipendono direttamente dal tipo di sensori che noi utilizziamo. Inoltre dobbiamo valutare che nel giro di pochi anni la nostra tecnologia potrebbe essere superata da progetti tipo NMR-MOUSE.

Per cui se ci mettiamo nei panni di un'azienda che voglia investire sul nostro progetto dobbiamo analizzare i costi/ricavi che dovremmo investire/ricevere. Analizzando il tutto si puo' pensare che una tecnologia simile sicuramente avrebbe un ruolo determinante infatti grazie a essa riusciremmo a diminuire di molto i tempi di lavorazione e realizzazione dei prodotti con una percentuale molto piccola di materiale scaricato e un risparmio sostanziale nei costi di materie prime e di energia.

D'altro lato questo sistema avrebbe un'utilita' decisamente limitata perche' con previsione massima di 10 anni si consolideranno nuove tecnologie come NMR-MOUSE che renderanno superfluo il nostro sistema.

Quindi concludendo si pensa che il costo iniziale per la ricerca e la realizzazione del sistema automatizzato non possa venire ammortizzato dall'incremento di produttivita' che avremmo negli anni che rimangono fino all'ingresso di tecnologie all'avanguardia come l'NMR-MOUSE.

6 Informatizzazione Laboratorio Chimico

In un laboratorio chimico una delle cose che salta subito all'occhio e' la quantita' di materiale cartaceo che viene usata e il quasi assente impianto informatico che hanno a disposizione. Da questo punto di vista, un laboratorio chimico e' rimasto molto arretrato perche' ormai in ogni ambiente di ricerca la parte informatica ricopre ormai un ruolo importante della quale non si puo' piu' farne ammendo.

Tutto questo materiale cartaceo e' causato dalle numerosissime analisi che in un laboratorio sono dovute per controllare le sostanze che si producono, inoltre ogni tipo di sostanza che si realizza deve dimostrare la propria provenienza e la propria composizione senza tralasciare la minima quantita' di materia di scarto. Esempio se un'azienda alimentare deve realizzare un prodotto non puo' analizzare sommariamente il prodotto che vogliono vendere perche' essendo riservato a uso umano devi rispettare alcune percentuali d'erro-re piccolissime proprio per garantire la sicurezza al consumatore.

A tutela delle persone esistono alcuni enti che sono proposti proprio al controllo delle sostanze prodotte prima di essere immesse sul mercato e anche durante la commercializzazione del prodotto. Le maggiori in questo campo sono FDA, EMA e in Italia AIFA.

Il Food and Drug Administration (Agenzia per gli Alimenti e i Medicinali, abbreviato in FDA), è l'ente governativo statunitense che si occupa della regolamentazione dei prodotti alimentari e farmaceutici. L'FDA ha come scopo la protezione della salute dei cittadini attraverso regolamenti che controllino la messa sul mercato dei prodotti che sono sotto la sua giurisdizione, tra cui i farmaci, gli alimenti, gli integratori alimentari e gli additivi alimentari, i mangimi e farmaci veterinari, le attrezzature mediche, il sangue e gli emoderivati per trasfusioni e i cosmetici. Tra gli strumenti di controllo sono previsti sia valutazioni prima della messa sul mercato che il monitoraggio post-commercializzazione.

L'Agenzia Europea del Farmaco (EMA, precedentemente chiamata EMEA) è un'agenzia dell'Unione Europea il cui scopo è quello di proteggere e promuovere la

salute pubblica attraverso la valutazione e la supervisione dei farmaci che vengono immessi in commercio.

L'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) è un organismo sanitario preposto a promuovere le conoscenze dei farmaci. Lo scopo principale dell'agenzia è quello di coordinare le informazioni relative ai farmaci e vaccini, tra le aziende farmaceutiche, i medici e gli informatori scientifici, gli ospedali e le strutture sanitarie locali e nazionali.

Altra responsabilità è quella di provvedere «al governo della spesa farmaceutica in un contesto di compatibilità economico-finanziaria e competitività dell'industria farmaceutica», ossia individuare i prezzi di riferimento dei farmaci a carico del Servizio sanitario nazionale italiano, tali da garantire alle aziende farmaceutiche un guadagno adeguato ai loro bilanci e cercando di contenere la spesa pubblica sanitaria. In particolare per i farmaci ex generici, oggi detti equivalenti, le aziende che non fossero disposte ad accettare il prezzo di riferimento imposto dal Ministero ed indicato dall' AIFA, hanno due alternative: ritirare il farmaco dalla prescrivibilità oppure chiedere al cittadino di pagare la differenza tra quello che rimborsa il SSN e la cifra richiesta dall'Azienda Farmaceutica.

Per rispettare quello che si propongono di fare questi enti per cui periodicamente inviano nelle aziende produttrici, del personale il quale e' proposto al ritiro del materiale prodotto dalle numerose analisi per poi essere valutato secondo i parametri di sicurezza che vengono stabiliti.

Proprio per la presenza numerosa di materiale cartaceo capita spesso che in molte grandi aziende partano addirittura furgoni pieni di plichi di carte nella quali sono presenti tutte le varie misurazioni fatte, questo fa sì che sia un tempo di attesa lungo a causa delle minuziose valutazioni che questi enti devono effettuare.

Per tentare di risolvere questa situazione si e' pensato di realizzare una base informatica forte che indipendentemente dalla strumentazione che si usa tutt'oggi o che si usera' nel corso degli anni sia in grado di agevolare e di ridurre tutta questa mole di carta. Per cui ci dobbiamo prefiggere di realizzare una struttura molto forte data la criticita' dei dati che andremo a registrare, ma allo stesso tempo molto semplice da implementare con nuove misurazioni date da nuovi strumenti.

6.1 Specifiche della base informatica

In un laboratorio sono presenti numerosi strumenti i quali riescono a fornirci

con tempistiche variabili dati che ci sono necessari per la caratterizzazione della sostanza che si sta analizzando. Questa diversita' di strumenti pero' sta a indicare che ognuno di questi dispositivi ci fornisce un output di informazioni che non sono tra loro interfacciate quindi le specifiche che ci vengono rilasciate sono completamente slegate le une dalle altre e sta alle persone stesse collegare il tutto magari riportando il tutto su computer.

Si e' pensato per cui di tentare di legare tra di loro questi dispositivi per poi riunire in un sola serie di informazioni tutti gli output che riusciamo ad avere, per fare cio' abbiamo usato alcune schede National per l'acquisizione di dati analogici al fine poi di trasformarli in digitale . Queste schede di largo uso vengono fornite con un ampio supporto in ambiente Win9x, dove i driver forniti permettono l'utilizzo completo di tutte le caratteristiche hardware delle schede stesse, gestendo sia l'interrupt che il trasferimento in DMA. Purtroppo il supporto in ambiente Linux è molto scarso perchè non sono state rese pubbliche le specifiche hardware delle schede, e quindi sono state implementate solo alcune funzioni elementari, comunque sufficienti per le nostre necessità.



Figure 6.1.1: Scheda National

La scheda di acquisizione input/output analogica/digitale è un dispositivo hardware che consente la raccolta automatizzata di segnali analogici e digitali. Il suo compito è quello di trasferire nel modo più adatto e veloce i segnali esterni al PC, in modo tale da poterli elaborare e analizzare. In particolare, essa si adopera a “catturare” i segnali analogici e digitali uscenti da una qualsiasi sorgente e a

salvarlo in un file riconoscibile e utilizzabile dal PC, preservandone naturalmente tutte le caratteristiche. Allo stesso modo questo dispositivo permette, nella maggior parte dei casi, il processo contrario. Inoltre, una scheda di acquisizione può presentare anche delle uscite controllate tramite degli appositi algoritmi. Il suo impiego, nel laboratorio, è relativo alla possibilità di fornire al PC fisso o portatile i dati da esaminare, poiché si collega al personal computer tramite l'interfaccia USB, normalmente presente su tutti i personal computer. Grazie all'utilizzo di queste schede di facile reperibilità siamo in grado di far comunicare tra di loro la strumentazione di analisi e i PC connessi, un problema che ci dobbiamo porre sta nel fatto che ogni singolo dispositivo comunica in modo diverso col PC che dipende sia dal tipo di dispositivo sia da quale casa produttrice è stato fabbricato lo strumento. In aiuto a questo ci giungono i manuali che sono stati redatti dai produttori di strumentazione analitica che alla vendita del dispositivo sono costretti a lasciare al cliente e grazie a questi siamo in grado di capire le varie interconnessioni presenti nello strumento per cui siamo in grado di decifrare i dati che producono. Giunti a questo punto ricevuta tutta questa mole di dati non ci resta altro che organizzarli tramite l'utilizzo di database per poi essere di facile consultazione da ogni singolo utente. Uno schema della possibile architettura che si vuole sviluppare può essere riassunto come in figura.

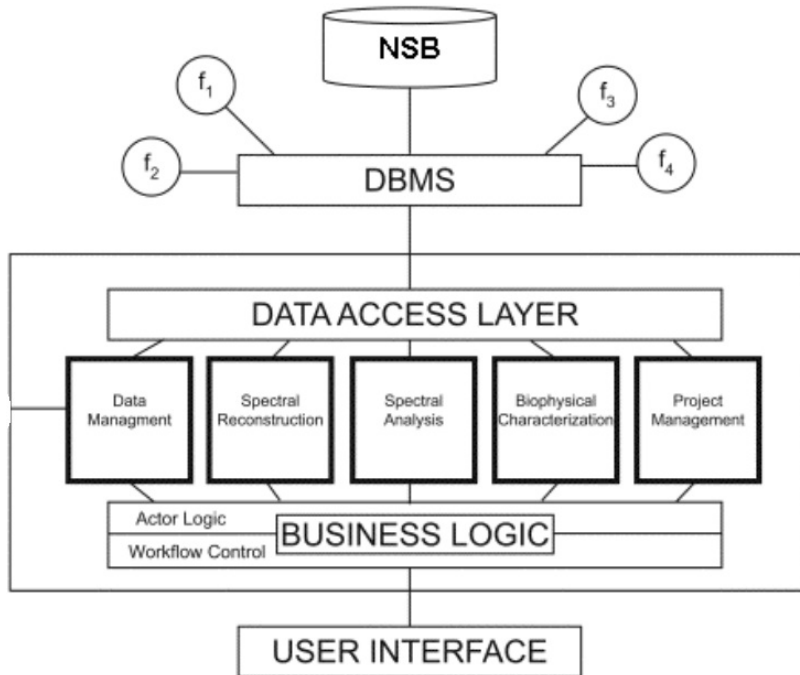


Figure 6.1.2: Architettura Informatica

Come potete vedere in figura abbiamo vari ingressi ($f_1, f_2, f_3, f_4 \dots$) stanno a indicare i dati che arrivano tramite le Schede National A/D direttamente dalla strumentazione di analisi. Queste informazioni vengono immagazzinate in un DBMS e amministrare grazie all'utilizzo di un software di nome *SpagoBI* (che andremo a caratterizzare nel paragrafo successivo).

Tali dati una volta sistemati vengono rapportati con alcuni dati sperimentali di soglia decisi dal cliente per far si di conoscere come si sta evolvendo la reazione e magari intervenire su di essa.

Con questo controllo continuo delle analisi fa si che l'utente sia in grado in tempo reale dicertificare la qualita' del prodotto e inoltre garantire sicurezza a tutto l'impianto e alle persone che ci lavorano. Infatti tramite il controllo continuo dei dati conosco con un certo anticipo se la reazione sta diventando pericolosa ed intervenire evitando cosi' numerosi incidenti.

Dall'altro lato posso garantire una maggior sicurezza industriale infatti si possono creare utenti con privilegi diversi in grado di poter vedere solo alcune caratteristiche del composto e non nella sua interezza.

6.2 NSB and SpagoBI

La NSB e' un network di innovazione tecnologica per le aziende manifatturiere, ha sempre perseguito la logica del software open source, come motore propulsivo di progetti ed opportunità. NsB opera principalmente nel campo dell'automazione industriale, dell'elaborazione dei dati nelle sue forme più ampie (tra cui datawarehouse, data mining, olap e gestionale) e della realizzazione di procedure personalizzate attraverso strumenti open source e diverse piattaforme.

Attualmente NsB è un "laboratorio di ricerca" privato per applicazioni industriali su processi produttivi per automazione, robotica, chimica industriale, sistemi di tracciatura RFID e Datawarehouse.

Proprio per questa sua voglia di promuovere software open source si e' pensato di realizzare l'architettura sopra presentata tramite l'utilizzo del software SpagoBI.

SpagoBI è la piattaforma libera per lo sviluppo di progetti di Business Intelligence in un ambiente integrato ed estremamente flessibile. Grazie alla sua ampia offerta di strumenti analitici e alla nuova ed intuitiva interfaccia grafica, SpagoBI è un importante supporto ai processi decisionali del proprio business quotidiano e strategico, tanto a livello direzionale che operativo.



Figure 6.2.1: Marchio

SpagoBI offre molteplici soluzioni per la reportistica, l'analisi multidimensionale, i cruscotti semplici ed interattivi, le analisi geografiche e grafiche, la gestione e visualizzazione dei KPI, l'interrogazione libera, il data mining, la collaborazione e l'arricchimento informativo.

Settori come il Business Process Reengineering o Business Intelligence sino ad ora sono stati dominio incontrastato di colossi informatici che dominano la scena

con software proprietario come SAS o SPSS. Con SpagoBI l'open source irrompe in un settore completamente nuovo ed apre prospettive inaspettate per la gestione aziendale.

Questi sistemi informativi hanno lo scopo di sopperire ad una esigenza fondamentale per le società di oggi, costrette a competere in un mercato sempre più agguerrito e affollato; reperire in tempo reale informazioni utili per decisioni e strategie di business e marketing.

Entrando più in dettaglio, software di Business Intelligence hanno il compito di rendere accessibili tutte le informazioni dei vari settori di una azienda. Ogni reparto dell'azienda stessa infatti "immagazzina" le proprie informazioni (che possono essere di tipo contabile, produttivo, esecutivo ecc) in un unica base dati strutturata in maniera tale da correlare tra loro tutte le informazioni inserite, anche se di diversa natura.

La chiave della Business Intelligence è proprio in queste correlazioni; la piattaforma di BI è in grado non solo di analizzare ed interpretare ogni dato e restituirlo in tempo reale al richiedente ma anche di estrarre "paradossalmente" più dati di quelli che sono stati inseriti attraverso operazioni di data mining.

Un altro fondamentale aspetto delle applicazioni Business Intelligence è determinato dal fatto di essere "platform-independent", ovvero di essere accessibili da qualsiasi computer in azienda a prescindere dal sistema operativo in quanto l'applicazione vera e propria gira su un server a cui si collegano i client aziendali che richiedono le informazioni con protocolli multiplatforma, generalmente gestiti da comuni browsers (MS Explorer in genere).

L'avvento dell'open source in questo campo è a nostro avviso un punto di svolta dell'impatto che l'open source stesso può avere nell'IT aziendale che sino ad ora era stato gestito solo ed esclusivamente da software proprietario.

Un altro fondamentale aspetto delle applicazioni Business Intelligence è determinato dal fatto di essere "platform-independent", ovvero di essere accessibili da qualsiasi computer in azienda a prescindere dal sistema operativo in quanto l'applicazione vera e propria gira su un server a cui si collegano i client aziendali che richiedono le informazioni con protocolli multiplatforma, generalmente gestiti da comuni browsers (MS Explorer in genere).

L'avvento dell'open source in questo campo è a nostro avviso un punto di svolta dell'impatto che l'open source stesso può avere nell'IT aziendale che sino ad ora era stato gestito solo ed esclusivamente da software proprietario. SpagoBI

SpagoBI è la prima piattaforma open source di Business Intelligence, quindi del tutto gratuita ed a sorgente aperto. E' stata rilasciata da Engineering Ingegneria Informatica ed ha una architettura modulare con i componenti principali programmati in Java. Si installa su qualsiasi sistema operativo che supporti java e l'accesso alla piattaforma da parte dei client avviene con un normale browser.

Ha una gestione integrata di utenti (amministratori / sviluppatori / utenti comuni) ed è compatibile con i seguenti DB: Oracle, MySQL e postgresql. E' possibile creare autonomamente modalità di accesso ed estrazione dei dati nonché differenti tipi di reporting. Le procedure di elaborazione ed estrazione dei dati possono essere restrittive o strutturate in maniera tale da fornire all'utente la possibilità di personalizzare le query (e scegliere ovviamente il tipo di report per la presentazione).

SpagoBI offre la più ampia copertura analitica completamente Open Source, con la seguente gamma di soluzioni:

- **REPORTING:** SpagoBI consente di realizzare report strutturati, che permettono di presentare l'informazione in varie forme (lista, tabella, crosstab, grafici...) e con possibilità di export multiformato (HTML, PDF, XLS, XML, TXT, CSV, RTF). SpagoBI integra differenti motori di reportistica: BIRT, JasperReport, BusinessObjects 6.5.

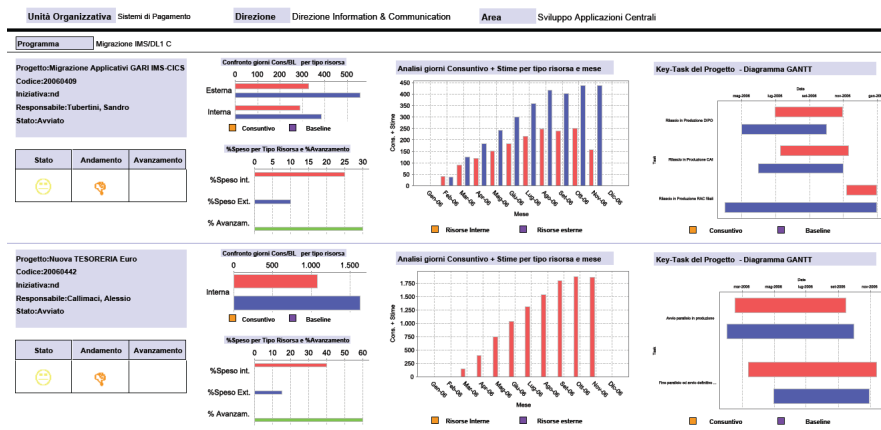


Figure 6.2.2: Reporting

- **OLAP:** SpagoBI permette l'analisi multidimensionale attraverso motori OLAP che forniscono un maggior grado di libertà e flessibilità rispetto ai report strutturati. Dopo aver definito gli assi di analisi con le gerarchie e le misure

osservate, è possibile infatti esaminare i dati a diversi livelli di dettaglio e da diverse prospettive attraverso le classiche operazioni di drill-down, drill-across, slice-and-dice, drill-through. SpagoBI integra differenti motori OLAP: JPivot/Mondrian, JPalo/Mondrian, JPivot/XMLA Server (ex. MS Analysis Services).

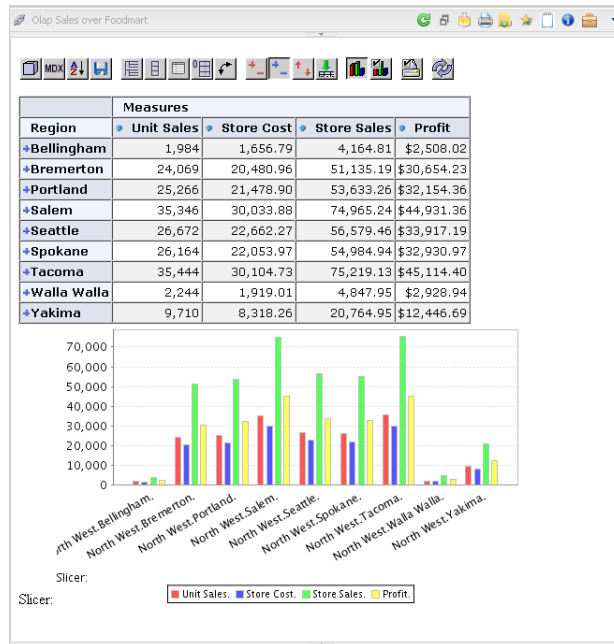


Figure 6.2.3: OLAP

- **CHART:** SpagoBI offre uno specifico motore grafico basato su JFreeChart, che consente di produrre singoli widget grafici preconfezionati (istogrammi, grafici a torta, grafici a barra, grafici ad area, scatter, grafici a linea, grafici a bolla, grafici a dispersione, semafori e molto altro ancora) ed interattivi (slider temporale, possibilità di aggiungere/togliere serie), da utilizzare singolarmente settandone le proprietà o da includere in un report per ottenere una rappresentazione più ricca.

6 Informatizzazione Laboratorio Chimico

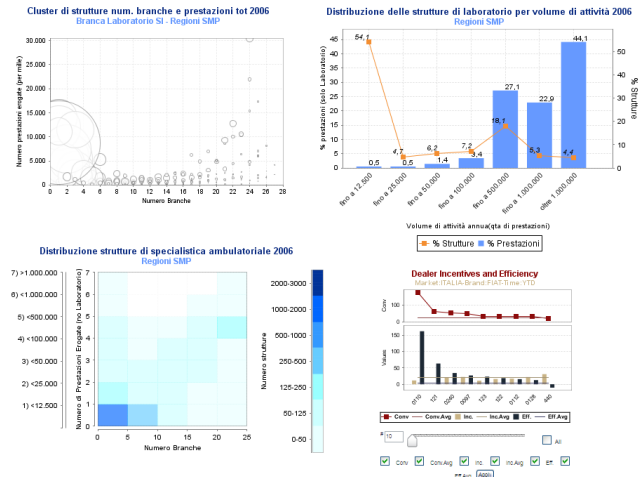


Figure 6.2.4: Chart

- **DASHBOARD:** SpagoBI offre un motore di visualizzazione grafica in formato SWF per la rappresentazione di singoli KPI (Key Performance Indicator) a real-time.

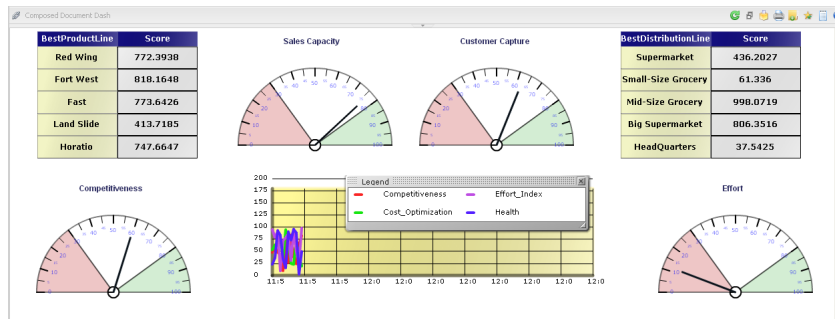


Figure 6.2.5: Dashboard

- **KPI:** SpagoBI offre tutti gli strumenti necessari a creare, gestire, visualizzare e navigare modelli gerarchici di KPI valutati con diverse possibili modalità e regole di calcolo, soglie e politiche di allarme.

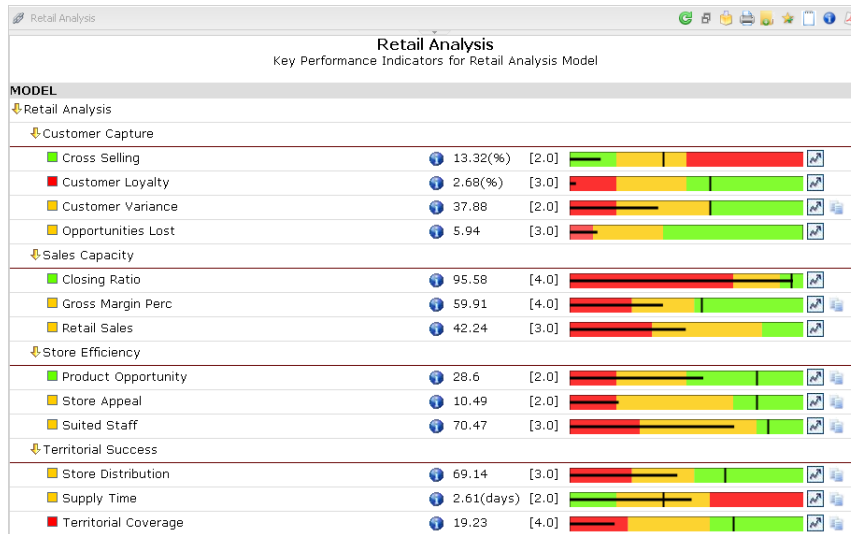


Figure 6.2.6: KPI

- **COCKPITS:** SpagoBI offre un motore specifico per la realizzazione di cockpit complessi che aggregano in un'unica vista più documenti, relazionandoli l'un l'altro per un uso interattivo ed intuitivo.

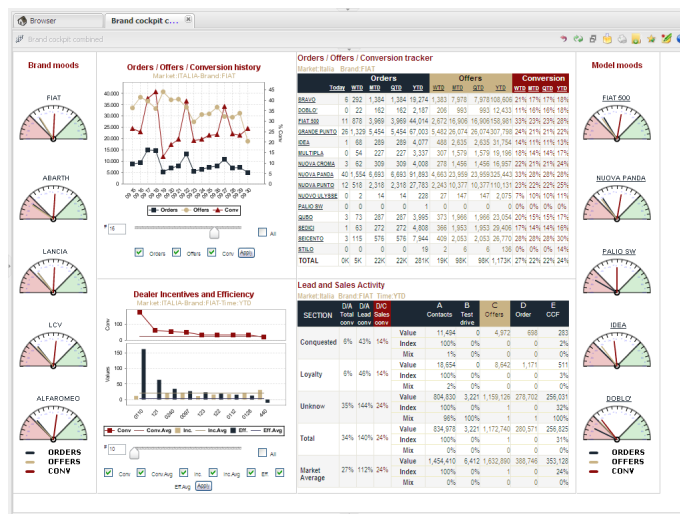


Figure 6.2.7: Cockpits

- **GEO/GIS:** SpagoBI offre motori geografici che consentono di relazionare a run-time i dati di business, memorizzati nel Data Ware House, con i dati geografici. SpagoBI rilascia due motori in questo dominio:

6 Informatizzazione Laboratorio Chimico

- un motore GEO che basa la sua presentazione su un catalogo statico di mappe e che consente di riaggregare dinamicamente le informazioni seguendo la gerarchia geografica (es. nazione, regione, provincia). Tale motore può essere utilizzato anche indipendentemente dal contesto geografico propriamente detto, per rappresentare la distribuzione di indicatori su qualsiasi struttura rappresentabile graficamente (es. diagramma di flusso di un processo, schema topologico di un'infrastruttura hardware, ecc.)
- un motore GIS che basa la sua presentazione interagendo con sistemi spaziali reali secondo gli standard WFS/WMS. Tale motore integra la soluzione open source GEOReport.

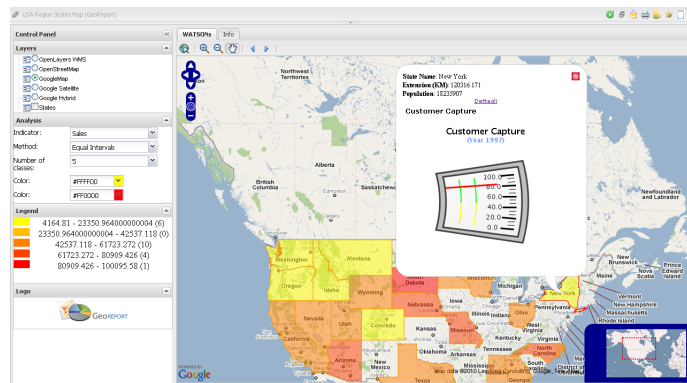


Figure 6.2.8: Geo/Gis

- **DATA MINING:** SpagoBI permette l'analisi evoluta dei dati secondo le tecniche del Data Mining, volte alla ricerca di pattern ed informazioni nascoste nei dati. SpagoBI integra Weka come strumento di Data Mining open source.

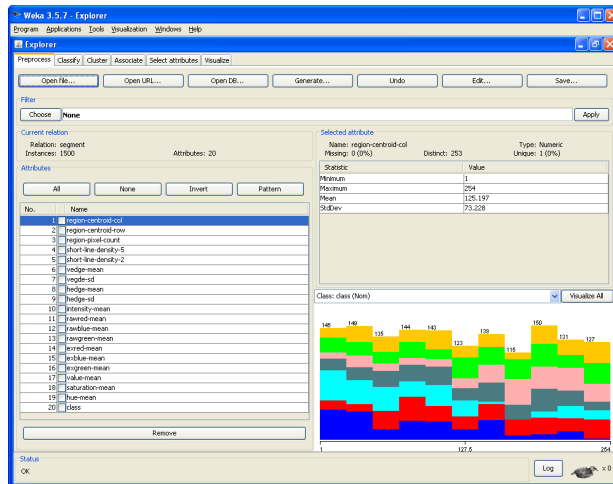


Figure 6.2.9: Data Mining

- **INTERROGAZIONE LIBERA (QbE):** SpagoBI offre il motore QbE (Query by Example) che permette di soddisfare tutti quei casi in cui l'interrogazione libera dei dati e la loro possibile estrazione è più importante della loro possibile forma grafica o del layout strutturato. L'utente può definire la propria interrogazione in modalità totalmente grafica, eseguirla, guardare i risultati, esportarli, salvare la richiesta per usi successivi o generare un template di reportistica.

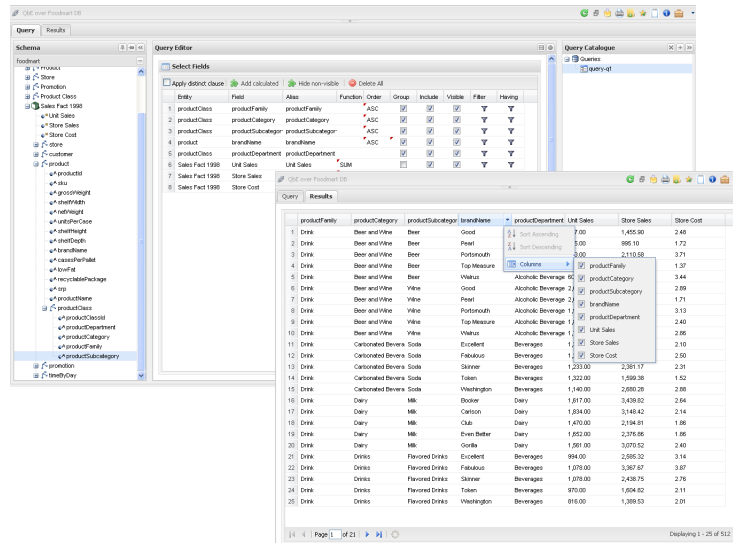


Figure 6.2.10: QbE

- **SMART FILTER:** SpagoBI offre un motore in grado di produrre form di interrogazione facilitati nei quali il dominio dei dati in esame è predeterminato, ma che l'utente potrà interrogare senza seguire la metafora della query, bensì quella più semplice ed intuitiva del filtro.

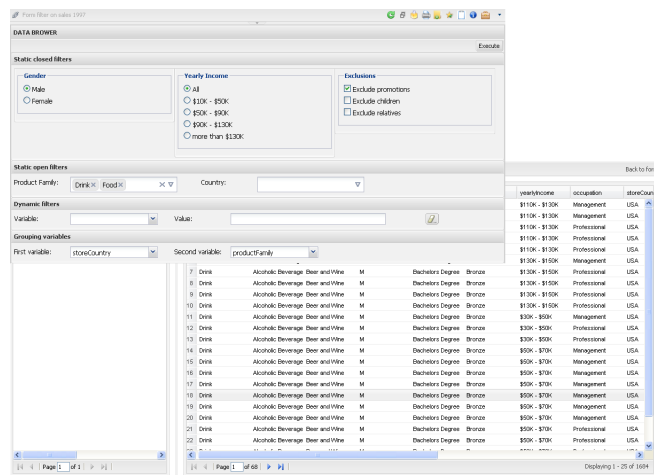
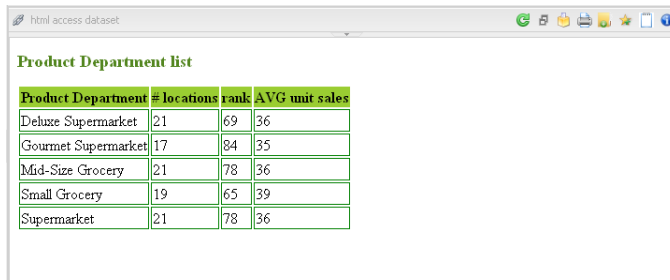


Figure 6.2.11: Smart Filter

- **ACCESSIBLE REPORTING:** SpagoBI offre un motore in grado di produrre report tabellari accessibili secondo le norme internazionali WCAG 2.0

e conforme anche alla legge nazionale italiana (legge n.4/2004, nota come legge Stanca).



| Product Department | # locations | rank | AVG unit sales |
|---------------------|-------------|------|----------------|
| Deluxe Supermarket | 21 | 69 | 36 |
| Gourmet Supermarket | 17 | 84 | 35 |
| Mid-Size Grocery | 21 | 78 | 36 |
| Small Grocery | 19 | 65 | 39 |
| Supermarket | 21 | 78 | 36 |

Figure 6.2.12: Accessible Reporting

- **RT CONSOLE:** SpagoBI offre un motore in grado di produrre console di monitoraggio real-time applicabili a contesti di Business, applicativi o di processo (BAM).

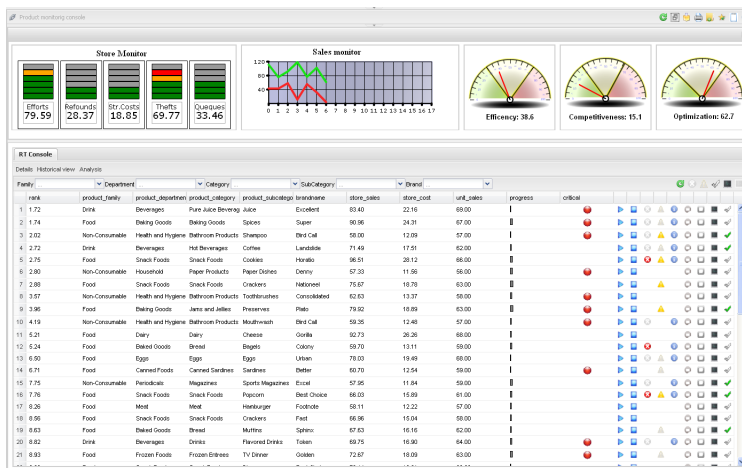


Figure 6.2.13: RT Console

- **DOSSIER:** SpagoBI offre un motore in grado di creare in automatico collezioni organizzate di report, corredati di annotazioni e informazioni aggiuntive prodotte dagli utenti per commentare i dati. Un workflow collaborativo gestisce le componenti del dossier che devono essere inviate ai diversi utenti per riceverne i commenti.

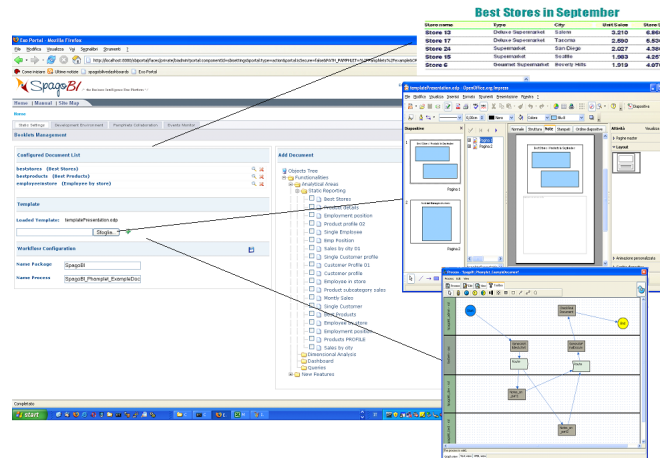


Figure 6.2.14: Dossier

- **ETL:** SpagoBI permette il caricamento dei dati secondo le logiche ETL tradizionali o secondo logiche di vitalizzazione del Data Ware House che abilitano ad esempio la gestione di dati simulati direttamente sul Data Ware House. Il motore ETL di SpagoBI integra il prodotto open source TOS (Talend Open Studio).

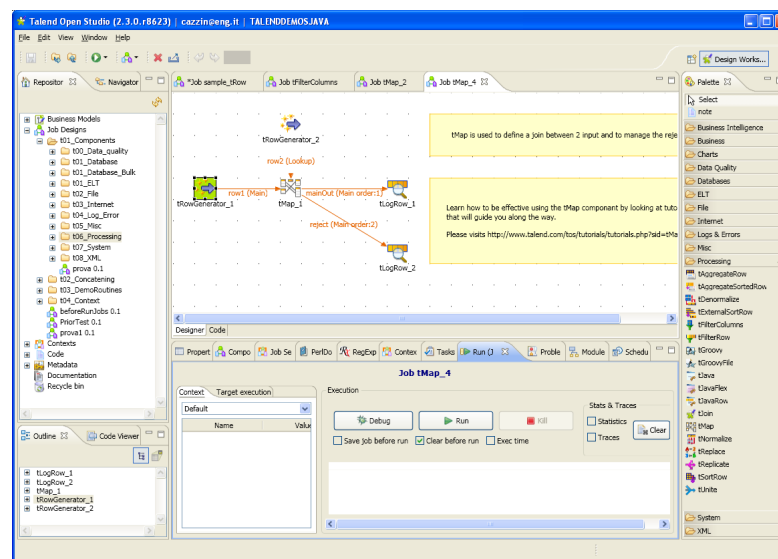


Figure 6.2.15: ETL

- **OFFICE:** SpagoBI offre un motore per la pubblicazione nell'ambiente di BI di documenti personali realizzati con gli abituali strumenti Office (Open

Office o MS Office).

SpagoBI e' certificato per essere installato nella maggior parte degli ambienti come riportato in figura.

| Sistema operativo | JDK | RDBMS | Application Server | Portal Server | Browser | SSO |
|--------------------------|-----|----------------|---|------------------|------------------------|---------|
| RHEL4 | 1.5 | MySQL 5 | Tomcat 6.0 | eXo Portal 1.1.4 | MS Internet Explorer 7 | CAS 3 |
| RHEL5 | 1.6 | PostgreSQL 8.2 | JBoss Enterprise Application Platform 4.2 | Liferay 5.2.3 | MS Internet Explorer 8 | SLES 11 |
| SUSE Linux Enterprise 11 | | Ingres II | JBoss Enterprise SOA Platform 4.3 | | Firefox 3 | |
| MS Windows XP | | Oracle 9 | WAS 7 | | | |
| MS Windows 7 | | Oracle 10g | | | | |
| | | Oracle 11 | | | | |

Figure 6.2.16: Ambienti Certificati

Bibliography

- [1] B. Blümich , J. Perlo, F. Casanova - Mobile single-sided NMR 2007
- [2] Christopher J. Cramer, Essential of Computational Chemistry: Theories and Models, Wiley, 2004
- [3] Warren McCabe; Julian Smith, Peter Harriott, Unit Operations In Chemical Engineering , 6a ed. (in inglese) Tata Mcgraw Hill Publishers, 2005
- [4] E. Mentasti, G. Saini, Analisi Chimica Cromatografica, Padova, Piccin Nuova Libreria
- [5] L. Mondello, A. Verzera, P. Previti, F. Crispo, and Giovanni Dugo Multidimensional Capillary GC–GC for the Analysis of Complex Samples. 5. Enantiomeric Distribution of Monoterpene Hydrocarbons, Monoterpene Alcohols, and Linalyl Acetate of Bergamot (Citrus bergamia Risso et Poiteau) Oils J. Agric. Food Chem
- [6] Douglas A. Skoog; Donal M. West; F. James Holler; Stanley R. Crouch, Chimica analitica, 2a ed. Napoli, Edises, 2005
- [7] Kenneth A. Rubinson; Judith F. Rubinson, Chimica analitica strumentale, 1a ed. Bologna, Zanichelli, luglio 2002
- [8] D.A. Skoog, J.J. Leary. Chimica analitica strumentale. Edises, 1995
- [9] Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, di Joseph B. Lambert e Eugene Mazzola, Casa Editrice Pearson (1999)
- [10] Complete Introduction to Nuclear Magnetic Resonance NMR Spectroscopy, di Roger Mocombre, Casa Editrice Wiley (1998)
- [11] NMR Spectroscopy, di H. Günther, Casa Editrice Wiley (1980)

Bibliography

- [12] New Technologies: nuclear quadrupole resonance, di Grechishkin V.S. e Phys Uspekhi (1997)
- [13] Seganali e Sistemi, di Cariolaro G., Pierobon G., Calcagno G, McGraw-Hill (2003)
- [14] Introduction to Algoritihm, di Cormen, Leiserson, Rivest, Stein, MIT Press-McGraw- Hill- (2001)
- [15] Algorithm Design, di Goodrich T., Tamassia R., Wiley & Sons (2002)
- [16] G. Amandola, V. Terreni, "Analisi chimica strumentale e tecnica", Masson Scuola, 1995
- [17] Analysis by Electromigration plus Chromatography Strain, H.H., Sullivan, .J. C., Anal.Chem
- [18] Electrochromatography of Proteins , Basak, S., A. Velayudhan, K. Kohlmann and M. R. Ladisch, Journal of Chromatography A
- [19] <http://it.wikipedia.org>
- [20] <http://www.NMR-MOUSE.de>
- [21] Robert Perry; Dow.W.Green, Perry's Chemical Engineers' Handbook, 8a ed. (in inglese) McGraw-Hill, 2007
- [22] John J. McKetta; William A. Cunningham, Encyclopedia of Chemical Processing and Design
- [23] Uniform-Penalty Inversion of Multiexponential Decay Data, di G.C.Borgia, R.J.S.Browa, P.Fantazzini, Journal of Magnetic Resonance 147 (2000)