

## Manual de utilização

### Índice:

1. Informações Gerais;
2. Regras de agendamento;
3. Envio de resultados;
4. Preparação da amostra;
5. Realização de medidas;
  - 5.1. Medida Básica - Pulso Simples em  $^1\text{H}$ ;
  - 5.2. Pulso simples em  $^{13}\text{C}$ ;
    - 5.2.a.  $^{13}\text{C}$  por DEPT  $^{13}\text{C}$ ;
  - 5.3. COSY (Correlated Spectroscopy);
  - 5.4. TOCSY (TOtal Correlation Spectroscopy);
  - 5.5. HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence);
  - 5.6. HSQC\_TOCSY;
  - 5.7. 1D selective:  
COSY/NOESY/TOCSY/ROESY/Solvent-Supression;
    - 5.7.1. 2D band selective HSQC e HMBC;
  - 5.8. HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation) - correlação  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ ;
  - 5.9. HMBC - Correlação  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$ ;
  - 5.10. Linha de comando para realização de um experimento realizado anteriormente:

### Anexos:

- A1. Comandos úteis:
- A2. Outras Metodologias:

# Manual de utilização

## 1. INFORMAÇÕES GERAIS

O espectrômetro de RMN Bruker Avance Neo 600 MHz, bem como sua infraestrutura de instalação, foi adquirido via Programa de Equipamentos Multiusuários (EMU) FAPESP (projeto 2022/11550-0). Trabalhos divulgados/publicados que utilizaram o RMN devem citar nos agradecimentos projeto **"FAPESP 2022/11550-0"**.

Professores Responsáveis: Thiago Branquinho, Roberto Serra e Álvaro Takeo Omori

Contato emergencial: Prof. Thiago Branquinho - 11-982149-6269

## 2. REGRAS DE AGENDAMENTO

As solicitações de agendamentos para este equipamento devem ser realizadas através do site da CEM (<https://cem.propes.ufabc.edu.br/>) via link disponível na agenda do equipamento.

### TIPOS DE RESERVAS

i. Os agendamentos durante o dia devem ser realizados para medidas rápidas, de até 2 horas, das 9:00-18:00; Preferencialmente, tente agendar as seguintes janelas: 09:00-09:59, 10:00-11:59, 12:00-14:59, 15:00-17:59. No momento não vamos restringir as janelas, para que os usuários tenham maior flexibilidade;

ii. Os agendamentos longos (overnight) devem ser realizados das 18:00 às 9:00. O(A) usuário(a) pode reservar o período completo e deve se certificar que suas medidas serão salvas às 09:00 do dia seguinte e sua amostra será retirada, ainda que seja por outro(a) usuário(a);

iii. Somente poderão ser agendados dois horários vigentes, i.e., o(a) usuário(a) só poderá ter dois agendamentos "pendurados" no equipamento;

iv. Os finais de semana podem ser reservados para um ou dois dias, à partir de 18:00 na sexta-feira até 09:00 da segunda-feira seguinte;

v. O agendamento excepcional do equipamento para medidas que não se enquadram nos itens anteriores pode ser realizado. O usuário deve enviar mensagem para o responsável do equipamento (thiago.branquinho@ufabc.edu.br) com cópia para a Equipe CEM (cem@ufabc.edu.br) e o orientador(a) com as datas pretendidas e a justificativa.

### **3. ENVIO DE RESULTADOS (FIDs)**

Os resultados deverão ser gravados na pasta `c:/dados/orientador/nome_do_usuario`, inseridos no drive "rmnbrukerufabc" e coletados. Importante: os dados devem ser excluídos do drive tão logo coletados pelo usuário. O login do e-mail e drive é [rmnbrukerufabc@gmail.com](mailto:rmnbrukerufabc@gmail.com) e senha nmr@Varian2024.

### **4. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA**

A preparação da amostra é essencial para a realização de boas medidas, o que usualmente é negligenciado. Primeiramente, o solvente deve ser de boa qualidade e ter preservadas as suas propriedades. Solventes utilizados e armazenados de maneira inapropriada podem conter contaminantes ou podem ter evaporado consideravelmente. Quando o solvente evapora, os contaminantes e TMS permanecem, o que gera um ambiente de alta concentração o que prejudica a mobilidade molecular da amostra e reduz consideravelmente a resolução dos espectros. Além disso, amostras que não são solubilizadas não aparecem nos espectros. Isto é muito importante quando se tem amostras compostas por entidades distintas. Ex.: A amostra tem o composto A e B. O composto A é solúvel e o B não. Os seus espectros vão mostrar somente o composto A, o que não significa que o composto B não esteja presente.

Usualmente, para moléculas pequenas e médias, a utilização de ~4-10 mg de amostra em 500 uL de solvente é uma boa condição para preparação de tubos em boa concentração. Utilize bons tubos e sempre tampe o tubo, para evitar evaporação no equipamento, o que o danifica. A Bruker vende ótimos tubos para 600 MHz por valores aproximados de 100 tubos por ~ R\$ 3.000,00. O contato é Marco.Sugamele@bruker.com.

## **5. REALIZAÇÃO DE MEDIDAS**

**INSTRUÇÕES BÁSICAS** - Entrar na área de trabalho:

**USER: liquids**    **SENHA: liquids**

### **5.1. Medida Básica - Pulso Simples em 1H:**

Para realizar a medida de próton o(a) usuário(a) vai criar um experimento na sua pasta já com o setup PROTON, em seguida deve inserir a amostra, realizar o lock, fazer sintonia, o shimming, carregar a calibração dos pulsos, regular o ganho e em seguida realizar a medida. Esses passos são feitos de forma razoavelmente automática, conforme descrito abaixo:

#### **i. Inserindo a amostra:**

Sua amostra deverá ser inserida no spinner azul (temperatura entre 0 e 80oC) ou de cerâmica branca (-150oC até 180oC) e nivelada conforme a (Fig. 1).



**CEM**

CENTRAIS EXPERIMENTAIS MULTIUSUÁRIO  
Universidade Federal do ABC

**RMN Bruker 600 MHz**  
**Estado Líquido**  
(Janeiro 2026)

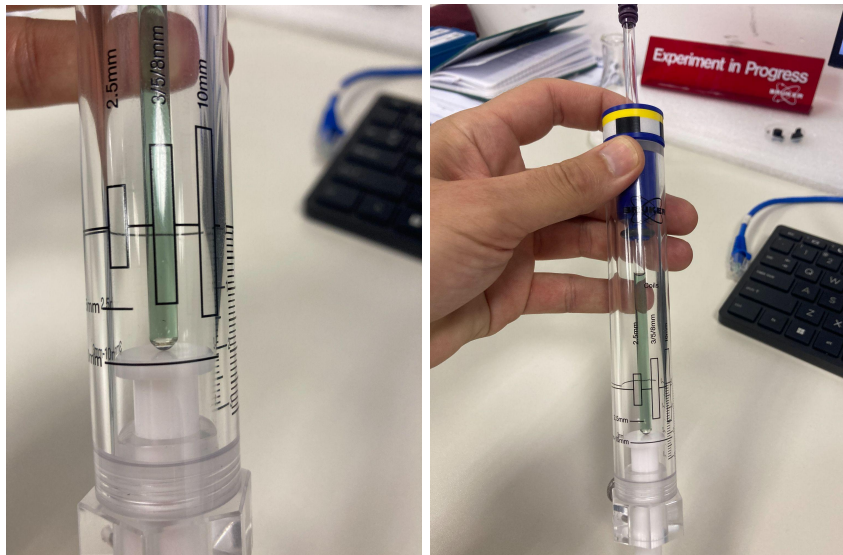


Fig. 1. a) Altura adequada de amostra no spinner. Note que a quantidade de solvente no tubo está exagerada, o que não é um problema em si para a medida. A quantidade mínima de solvente, no entanto, deve estar contida no retângulo frontal da Figura à esquerda.

Em seguida coloque o spinner na posição vacante de menor numeração (mais à esquerda) do amostrador automático (Fig. 2). No arquivo `usuar.txt`, presente no desktop, insira as informações:

posição - amostra - solvente - usuário (Fig. 2).

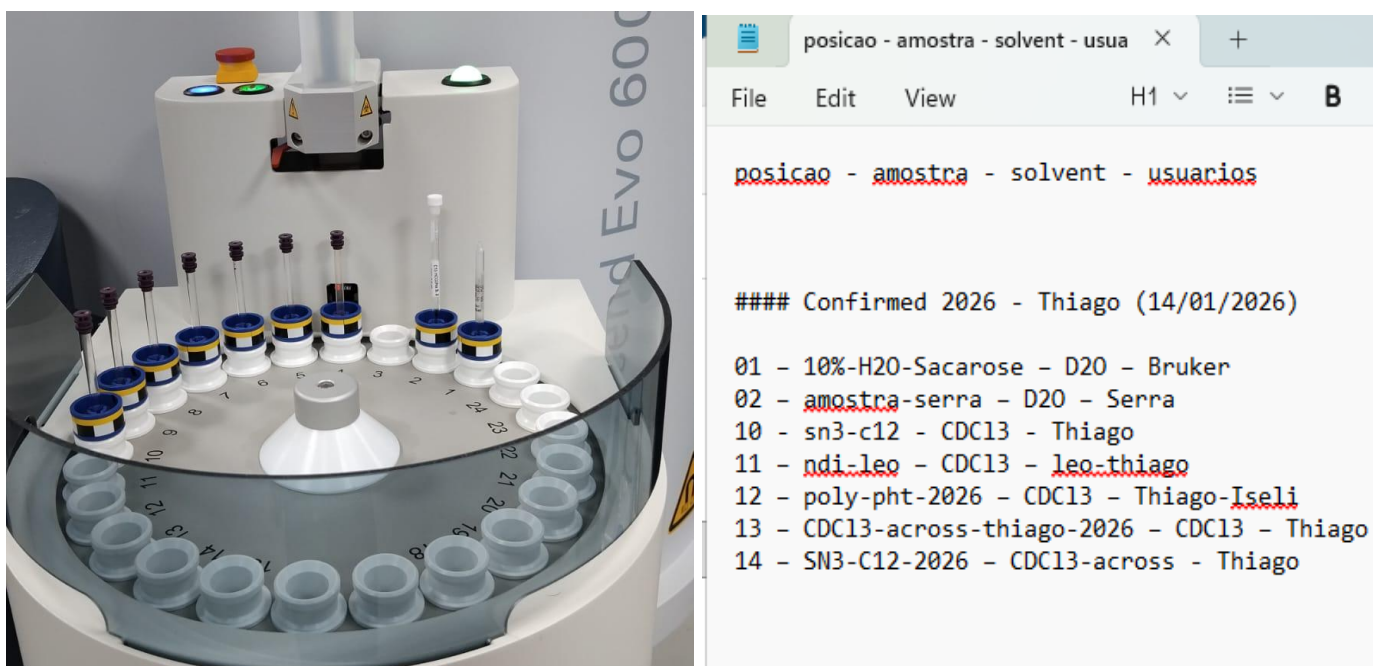


Fig. 2. a) Amostrador automático e b) índice das amostras no arquivo Desktop/usuar.txt.

No menu superior do topspin clique em "Acquire->Sample" e clique em "Insert sample with sample changer (sx)" (Fig. 3). Alternativamente, escreva o comando "sx #", onde # é a posição da amostra no amostrador automático (Fig. 3). Aguarde a amostra ser marcada como inserida no espectrômetro e confira que a temperatura escolhida está estável (parte inferior do topspin - Fig. 3).



**CEM**

CENTRAIS EXPERIMENTAIS MULTIUSUÁRIO  
Universidade Federal do ABC

**RMN Bruker 600 MHz**  
**Estado Líquido**  
(Janeiro 2026)

Bruker TopSpin 4.4.1 on DESKTOP-GBO6KH6 as Liquids

The screenshot shows the Bruker TopSpin 4.4.1 interface. On the left, the 'Sample' menu is open, displaying options such as 'Eject sample with sample changer (sx ej)', 'Insert sample with sample changer (sx)', 'Eject sample manually (ej)', 'Insert sample manually (ij)', 'Sample List (sxd)', 'Control sample temperature (vtudisp)', and 'Prodigy Display (cppdisp)'. Below the menu is a search bar and a list of sample names including '3 - zg30 - SH', '4 - cosygpm', '1 - SH', '5 - cosygpm', '1 - SH', 'sn3-c12-2026-5-1 C:\dados', 'leonardo', 'luiza-iseli-oligoptz', 'NO1', 'r3-templates', and 'renan'. On the right, a 'Status Message' log displays the following entries:

Time	Status Message
10:01:05	abs1: started
10:01:05	abs1: in progress
10:01:06	abs1: 2D processing finished
10:01:06	abs2: started
10:01:06	abs2: in progress
10:01:06	abs2: 2D processing finished
10:02:26	Automatic time calculation
10:02:26	End of automatic time calculation
10:02:26	finished
10:02:26	expt finished

Below the log, a text input field contains 'sx 14'. At the bottom right, the 'Spectrometer Status' is shown as 'On' with a checkmark, and the 'Amplif' status is represented by a black square.

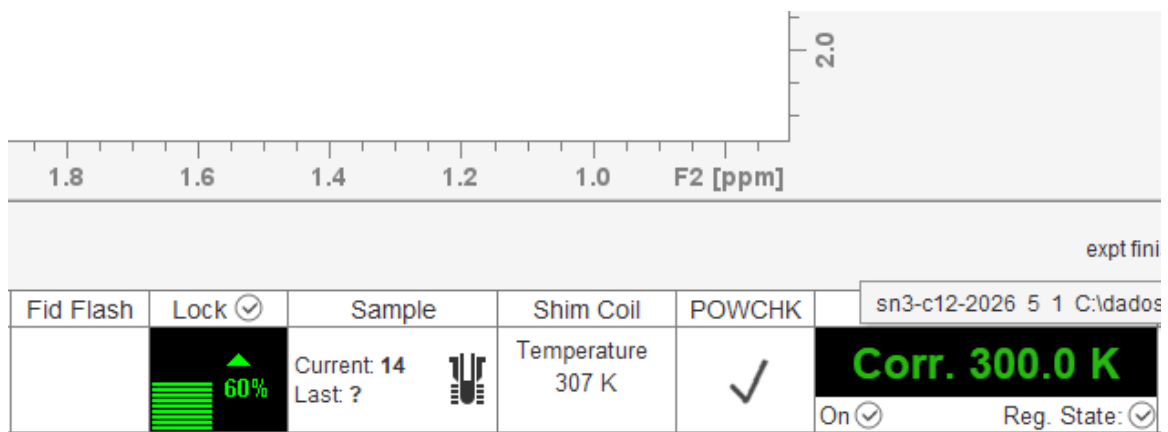


Fig. 3. a) Menu de inserção do spinner com amostra, b) indicação de linha de comando de inserção da amostra na posição 14 e c) indicação de que a amostra está inserida no espectrômetro corretamente - lock em 60%, Sample -> Current 14 - , temperatura da amostra em 300.0 K, estável (indicada em verde). Quando inserida a amostra, o lock pode oscilar entre 15 e 100%.

## ii. Preparando o experimento:

Em seguida clique no menu **"#Create dataset"** (ou usando o comando **#edc** - Fig. 4) e adicione o nome da amostra e diretório apropriado (C:/dados/orientador/usuario). Em seguida, escolha a opção **"PROTON"** em **"Parameters -> Read Parameter -> Select"** e selecione o solvente deuterado em **"Set solvent"**. A seleção da ação adicional **"Execute getprosol"** já carrega a calibração dos pulsos automaticamente. Caso essa ação adicional não seja selecionada, é necessário realizá-la após o Shim (etapa v descrita abaixo).

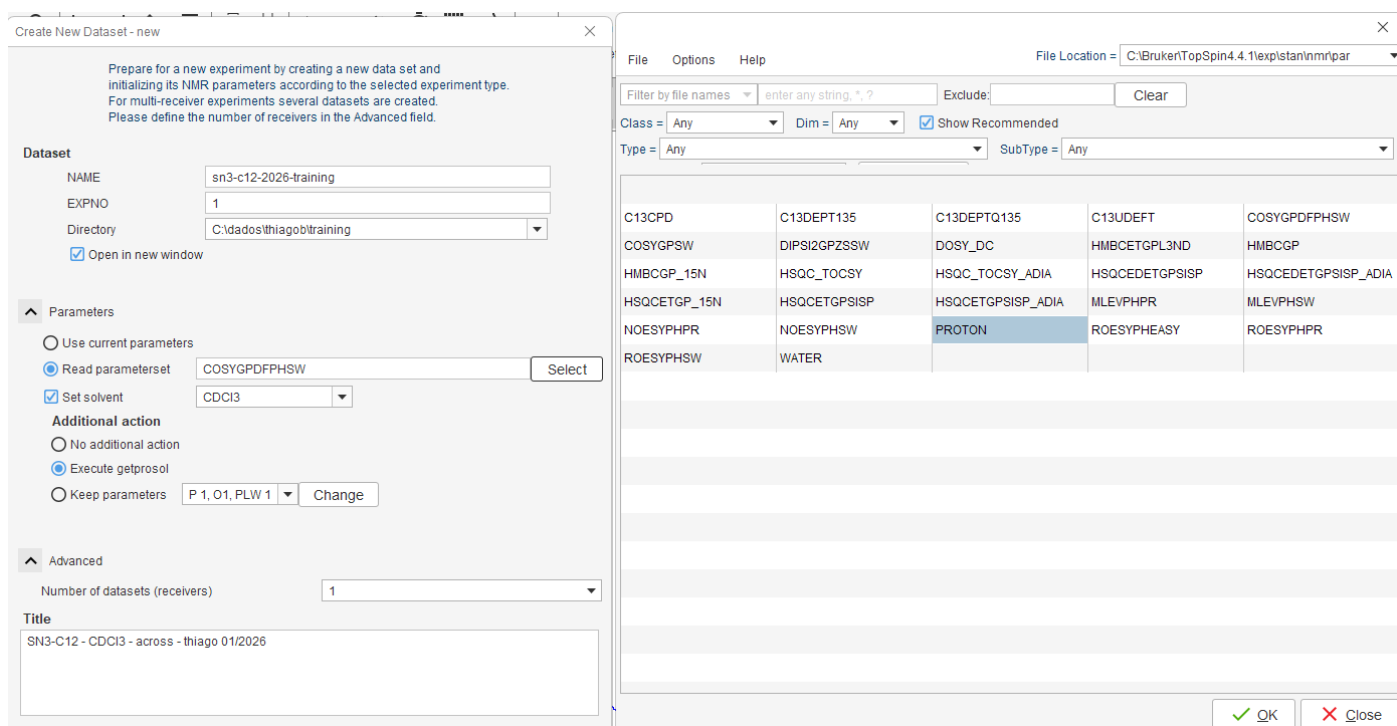


Fig. 4: Menu "Create Data Set" à esquerda e "select" à direita (com o experimento de PROTON selecionado).

Você pode também copiar o experimento anterior marcando "parameters -> use current parameters" Outra opção é usar o comando **#wrpa** que copia todos os parâmetros, inclusive o espectro.

### iii. LOCK:

Após criar o experimento, faça o **"LOCK"** (ou digite o comando **#lock**) selecionando o solvente deuterado da amostra na aba que será aberta (Fig. 5). Observe que o indicador

graduado do lock na parte de baixo da tela, em verde, deve ter um valor “mensurável”, entre 10-100%.

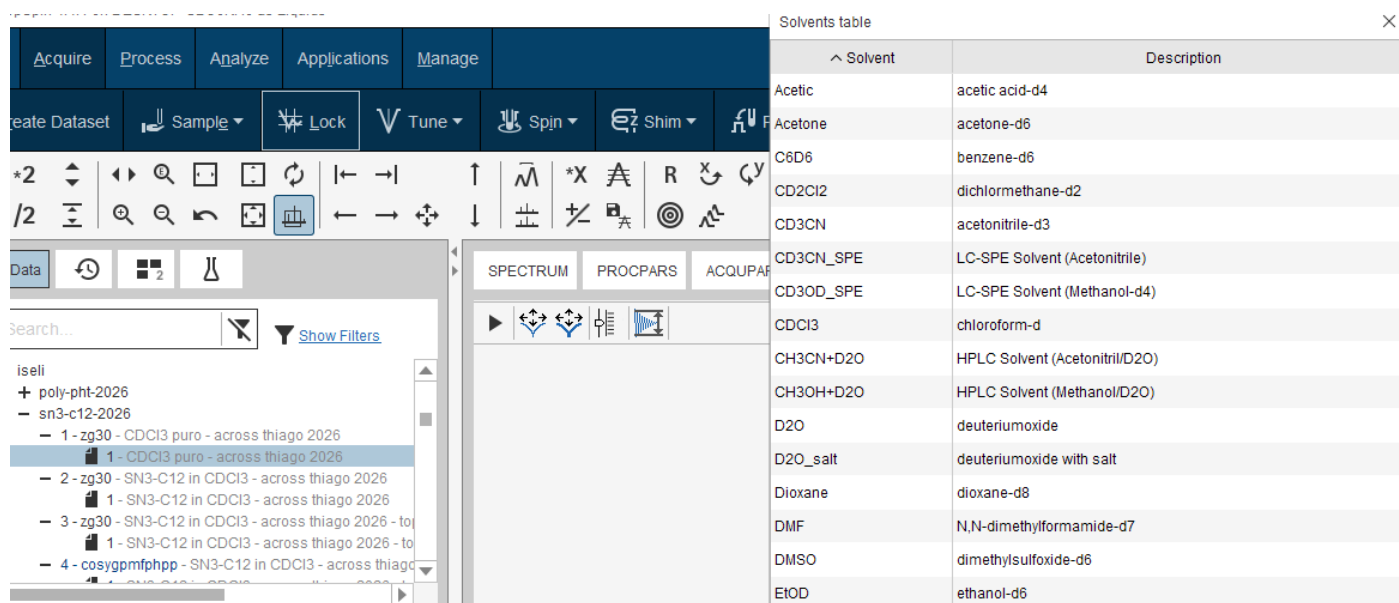


Fig. 5: Aba de seleção de solvente para execução do lock.

#### iv: TUNE:

Fazer a sintonia do núcleo de hidrogênio clicando na setinha da aba **TUNE** (Fig. 6) e seleccione a opção “**Tune/match ATM probe automatically**” (ou digite o comando **#atma**);

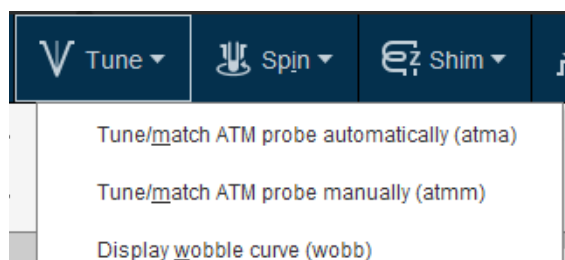


Fig. 6: Aba do TUNE.

#### v: SHIM:

Em seguida, para fazer o SHIM (Fig. 7), na aba do shim, selecione a opção “**Autoshim sample using TopShim**” (ou digite o comando **#topshim**). Note que ao final do processo a escala do lock deve aumentar;

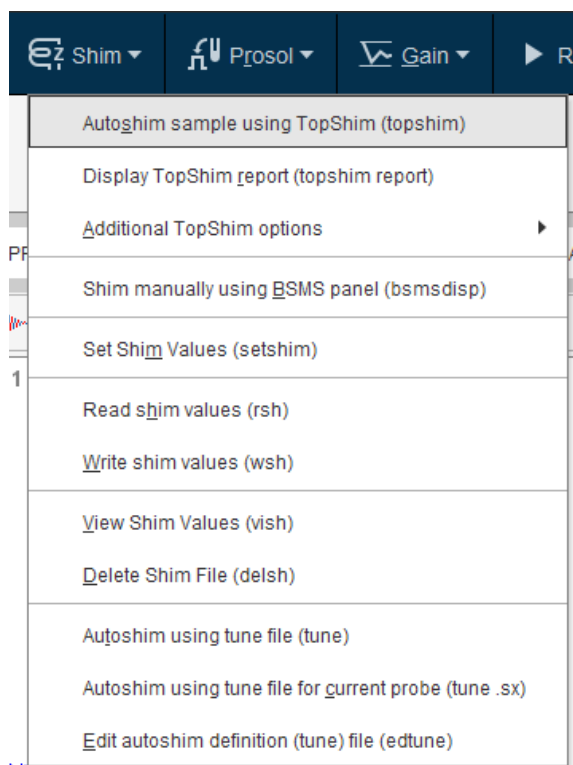


Fig. 7: Aba do SHIM.

#### vi: PROSOL:

Caso a opção “**Execute getprosol**” não tenha sido selecionada durante a criação do dataset (ver item i), entre na aba PROSOL (Fig. 8) e selecione a opção “**Update ‘prosol’ parameters**” (ou digite o comando **#getprosol**);

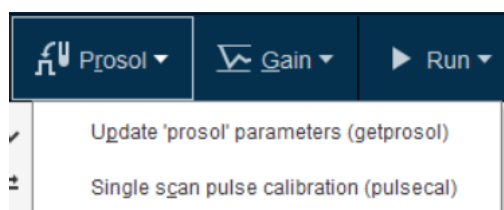


Fig. 8: Aba PROSOL

**vii: GAIN:**

Execute o GAIN (Fig. 9) selecionando a opção **“Receiver gain adjustment”** (ou digite o comando **#rga**);

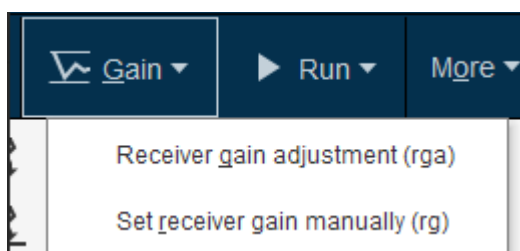
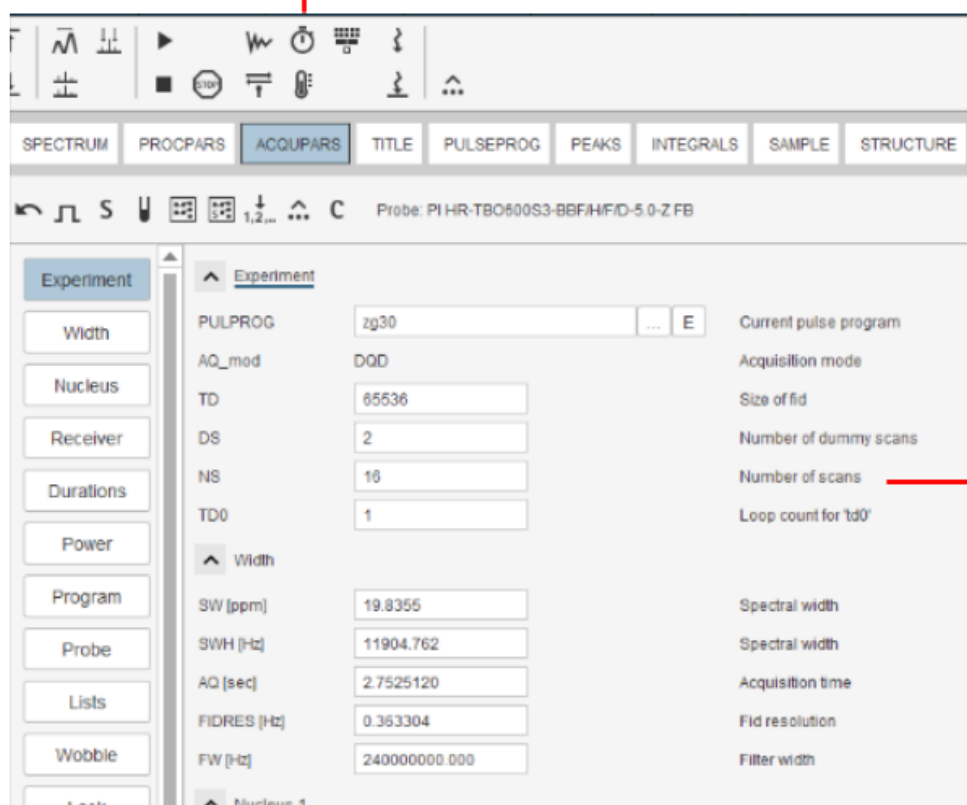


Fig. 9: Aba GAIN

Após ajuste do receiver gain, o valor será automaticamente atualizado. Por fim, na aba **“ACQPARS”** do experimento, é possível ajustar o número de scans desejado para o experimento, conforme ilustrado na figura 10. Você pode também verificar o tempo total do experimento clicando no relógio do menu, conforme ilustrado na Fig. 10.

Tempo do experimento



Sequência de pulso do experimento PROTON

Número de Scans

Fig. 10. Aba do experimento de próton.

### vii: RUN:

Para dar início ao experimento, ir para aba RUN (Fig. 11) e selecione "Start Aquisition" (ou digite o comando **#zg**).

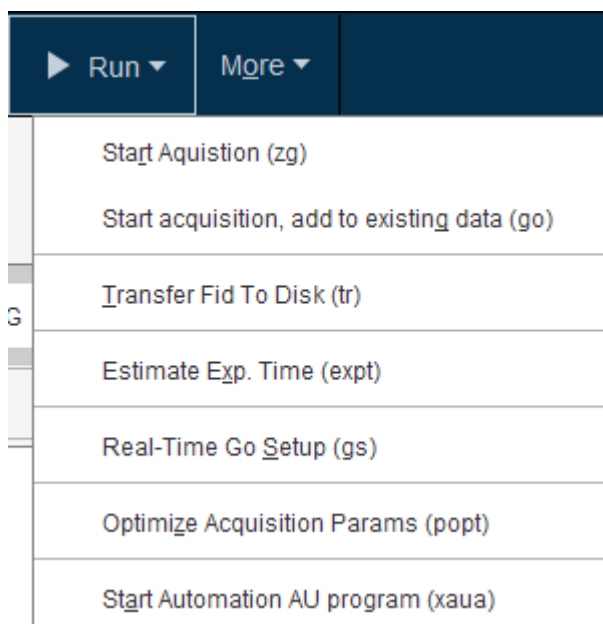


Fig. 11: Aba RUN.

### vii. O espectro:

Você pode visualizar o espectro ao final realizando a transformada de Fourier do FID com o comando **#efp**. A correção de fase automática é realizada com o comando **#apk**. É possível também ajustar a fase manualmente através da aba **“process -> adjust Phase -> interactive phase correction”** (Fig. 12). A correção automática de base pode ser realizada pelo comando **#abs** (automatic baseline correction). Você pode também aumentar a resolução do seu espectro reduzindo o cutoff de line broadening do espectro, que vem de padrão em 0.3 Hz para 0.1 Hz. Digite o comando **#lb** para mudar o parâmetro e refaça a transformada de Fourier (**#efp**). Usualmente você ganha resolução mas perde sinal/ruído, e pode ser que isto gere uma certa “deformação” no espectro, principalmente na linha de base (pois a o espectro real é menos simétrico que a assíntota Lorentziana forçada com line broadening). Outra forma de adicionar “resolução de visualização ao espectro” é realizando o “zero filling”. Você pode realizar isso adicionando pontos no parâmetro **#si**. Use tipicamente

**#si** = 2x **#td**. **#si** é o número de pontos utilizados para a transformada de Fourier e **#td** é o número de pontos coletados para registrar o FID.

Se o seu solvente tem TMS você pode forçar que o pico do TMS seja deslocado para exatamente 0 ppm com o comando **#sref**. Caso queira retornar à referência do solvente (original) dirige o comando **#sr** e retorne o parâmetro para 0. Em seguida faça outra transformada de Fourier com **#efp**.

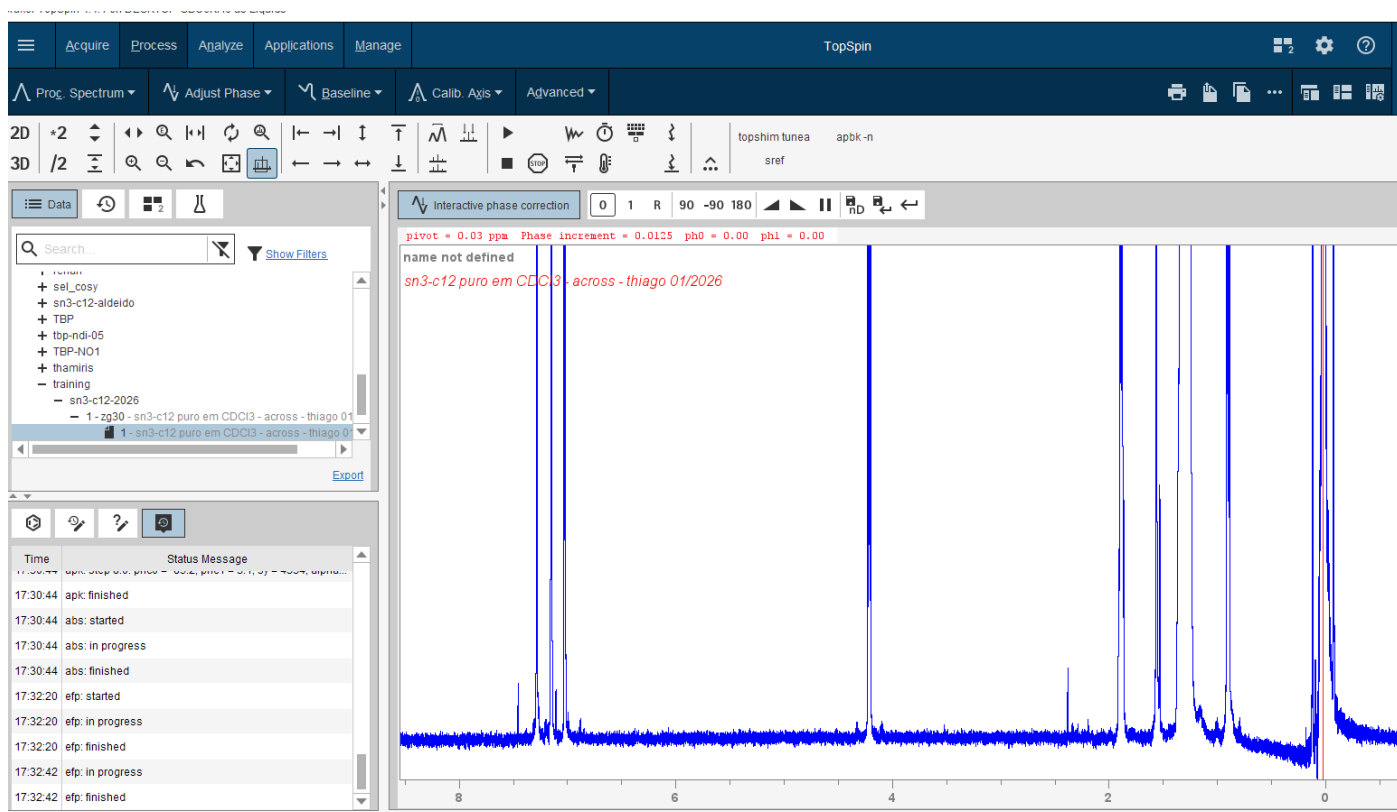


Fig. 12: Tela de ajuste manual da fase do espectro.

Outra forma de observar se o seu solvente está em boas condições, é notar se o pico do TMS está alargado. Faça o comando **#peakw** para encontrar a largura do TMS (Fig. 13). Caso a largura esteja entre 0.6 e 1.0 Hz, seu solvente está bom, acima disso o solvente está

moderado ou ruim. No caso da Fig. 13 o TMS tem largura de 1.499 Hz, portanto o solvente está médio/ruim.

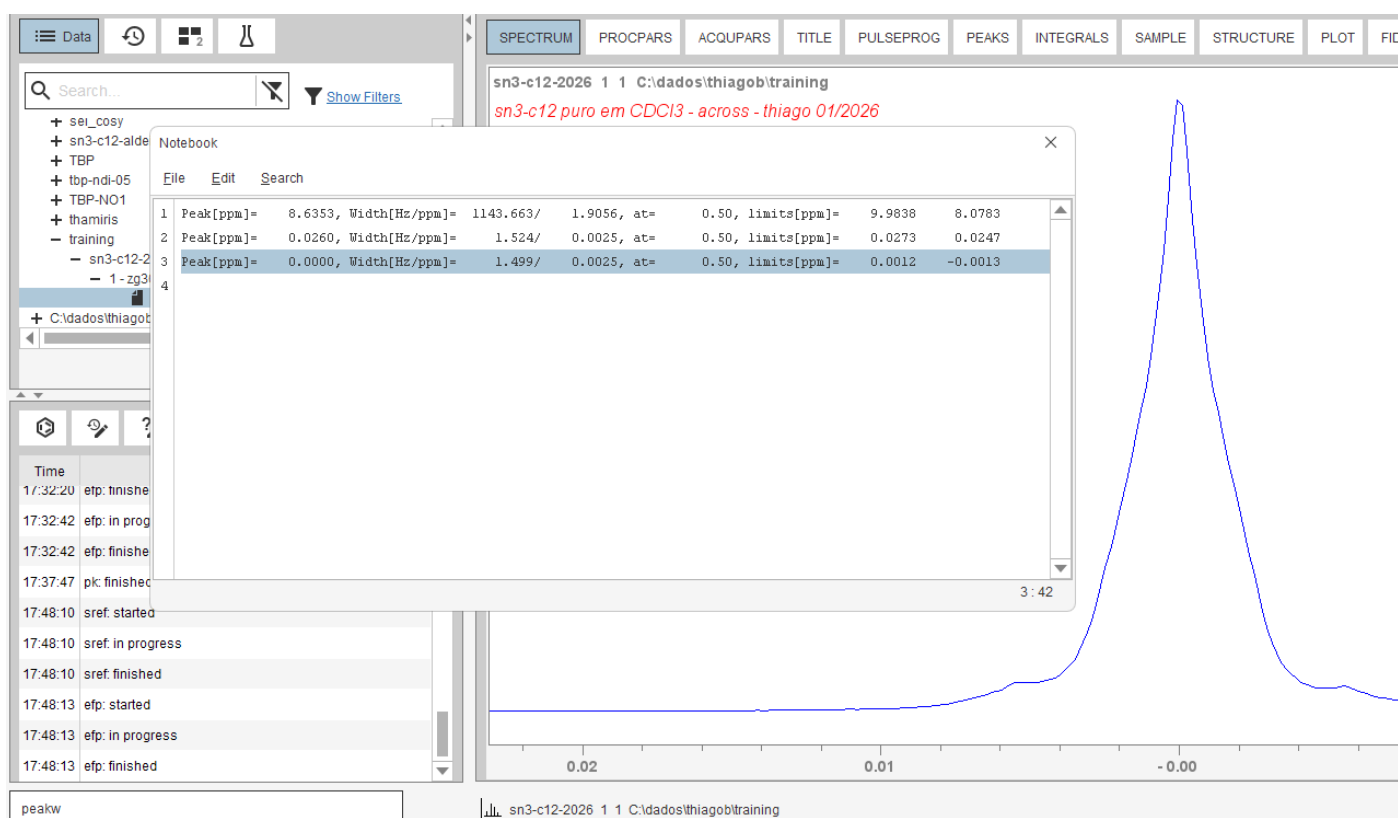


Fig. 13: Detalhe do sinal do TMS e resultado do comando **#peakw**. A largura de linha do pico em 0 ppm (TMS) tem largura de linha à meia altura de 1.499 Hz.

## 5.2. Pulso simples em 13C:

CASO TENHA FEITO UM EXPERIMENTO DE HIDROGÊNIO COM A MESMA AMOSTRA, NÃO É NECESSÁRIO FAZER OS PASSOS LOCK (item iii) e SHIM (item v). No entanto, **é fundamental fazer o passo TUNE (#atma)**, pois inicialmente o sistema não realiza a sintonia para o canal que não foi utilizado.

### **i. PREPARANDO O EXPERIMENTO:**

Clique no menu **"#Create dataset"** (Fig. 4) e escolha a opção **"C13CPD"** em **"Parameters"**, escolha **"Read parameterset"** e selecione o solvente deuterado em **"Set solvent"**. A seleção da ação adicional **"Execute getprosol"** já carrega a calibração dos pulsos automaticamente. Caso essa ação adicional não seja selecionada, é necessário realizá-la após o Shim.

Lembre-se: Você pode também copiar o experimento anterior marcando **"parameters -> use current parameters"** Outra opção é usar o comando **#wrpa** que copia todos os parâmetros, inclusive o espectro.

### **ii. LOCK:**

Após criar o experimento, faça o **LOCK** (ou digite o comando **#lock**) selecionando o solvente deuterado da amostra na aba que será aberta (Fig. 4);

### **iii. TUNE:**

Fazer a sintonia do núcleo de carbono clicando na setinha da aba TUNE (Fig. 5) e selecione a opção **"Tune/match ATM probe automatically"** (ou digite o comando **#atma**);

### **iv. SHIM:**

Em seguida, para fazer o SHIM (Fig. 6), na aba do shim, selecione a opção **"Autoshim sample using TopShim"** (ou digite o comando **#topshim**);

### **v. PROSOL:**

Caso a opção **"Execute getprosol"** não tenha sido selecionada durante a criação do dataset (ver item i), entre na aba PROSOL (Fig. 7) e selecione a opção **"Update 'prosol' parameters"** (ou digite o comando **#getprosol**);

**vi: GAIN:**

Execute o GAIN (Fig. 8) selecionando a opção **“Receiver gain adjustment”** (ou digite o comando **#rga**);

Após ajuste do receiver gain, o valor será automaticamente atualizado. Por fim, na aba **“ACQUPARS”** do experimento, é possível ajustar o número de scans desejado para o experimento, conforme ilustrado na figura 14. Para estimativa de número de scans, lembre-se que a medida em  $^{13}\text{C}$  tem relação sinal/ruído aproximadamente 400 vezes menor que o  $^1\text{H}$ .

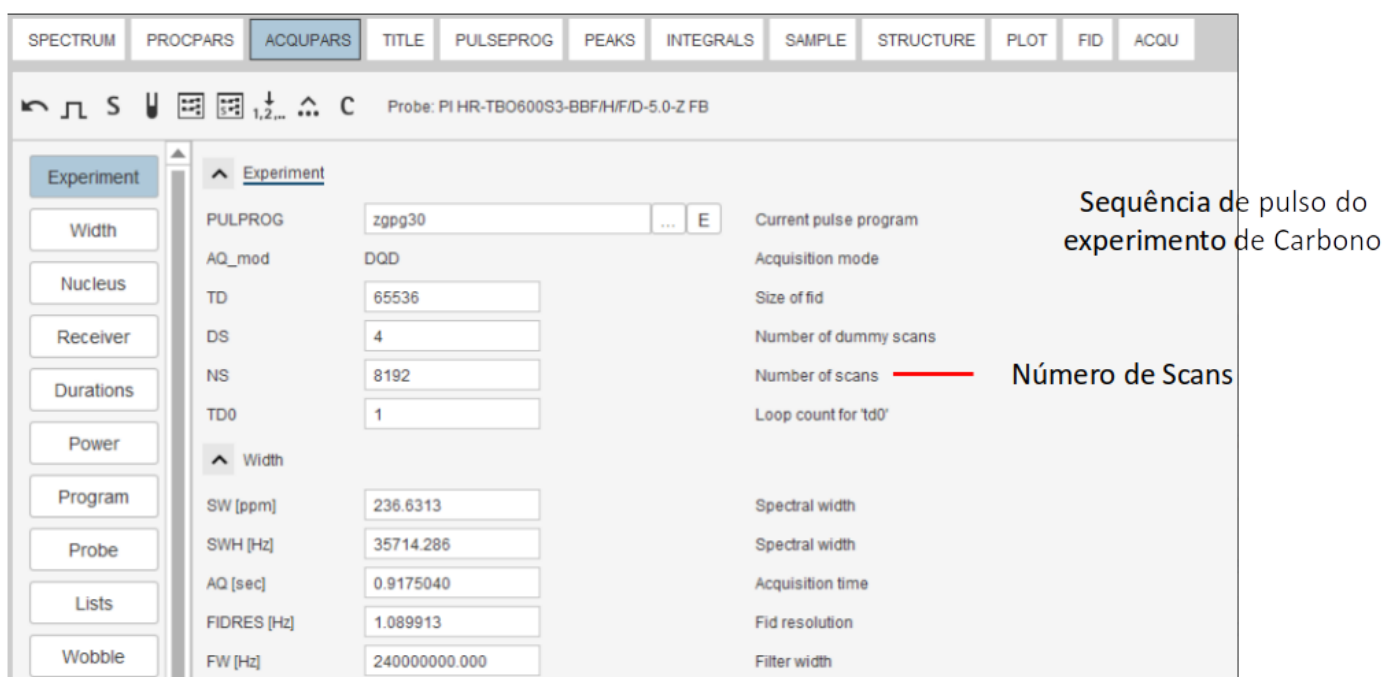


Fig. 14: Aba do experimento de pulso simples em  $^{13}\text{C}$  com desacoplamento em  $^1\text{H}$ .

Na Fig. 15 temos o contraste entre uma medida de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  na mesma amostra, SN3-C12 em  $\text{CDCl}_3$  (ruim, com muito TMS). A concentração do soluto está boa, i.e., a intensidade do sinal do  $^1\text{H}$   $\text{CDCl}_3$  está próxima dos sinais da amostra. O espectro de  $^1\text{H}$  foi realizado com 16 scans, AQ de 1.3 s e D1 de 3s (total de 1 min e 8 s). O espectro de  $^{13}\text{C}$  foi realizado com 3k scans, AQ de 1 s e D1 de 2s (total de 2h e 30 min).

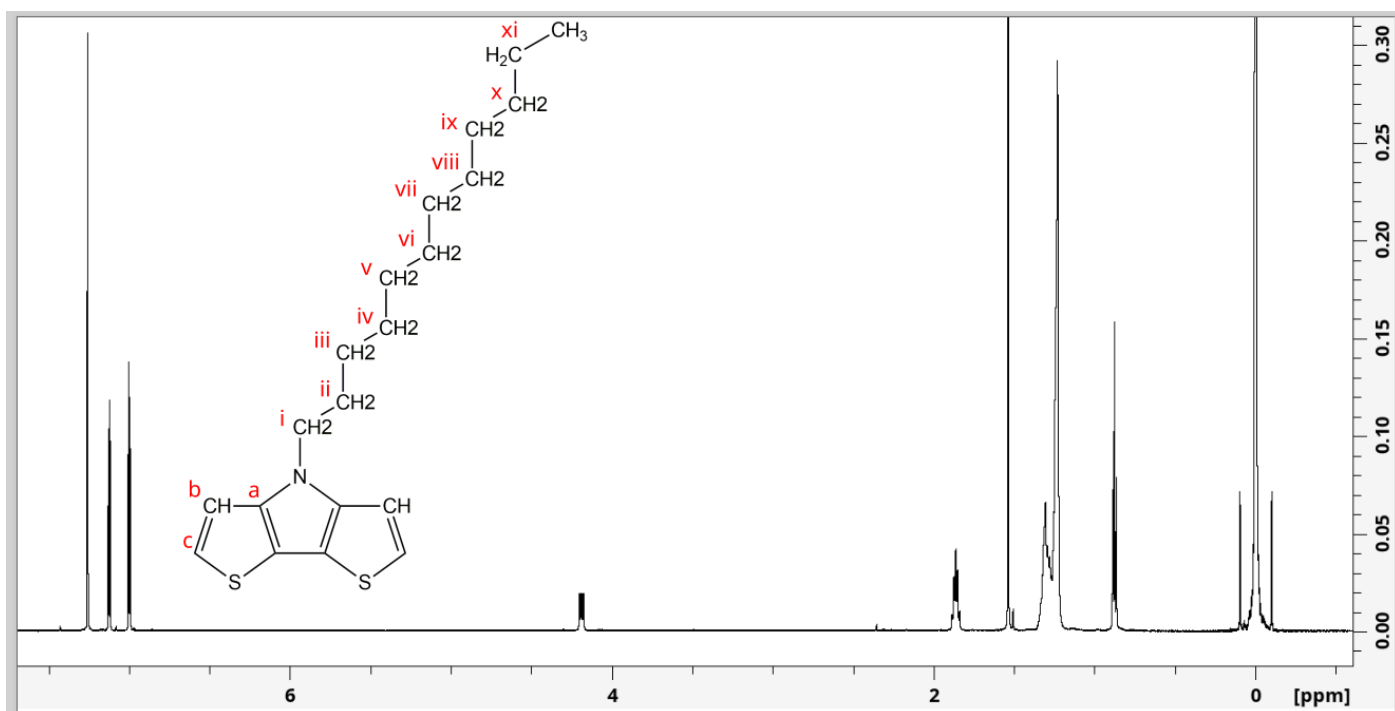


**CEM**

CENTRAIS EXPERIMENTAIS MULTIUSUÁRIO  
Universidade Federal do ABC

**RMN Bruker 600 MHz**  
**Estado Líquido**  
(Janeiro 2026)

Caso queira fazer um espectro de  $^{13}\text{C}$  quantitativo, sem acoplamento NOE, use a parametrização "C13IG" e aumente o D1 para algo em torno de 40 s. Note que essa medida é de baixa sensibilidade, portanto sua amostra deve estar em alta concentração para você obter bons resultados.



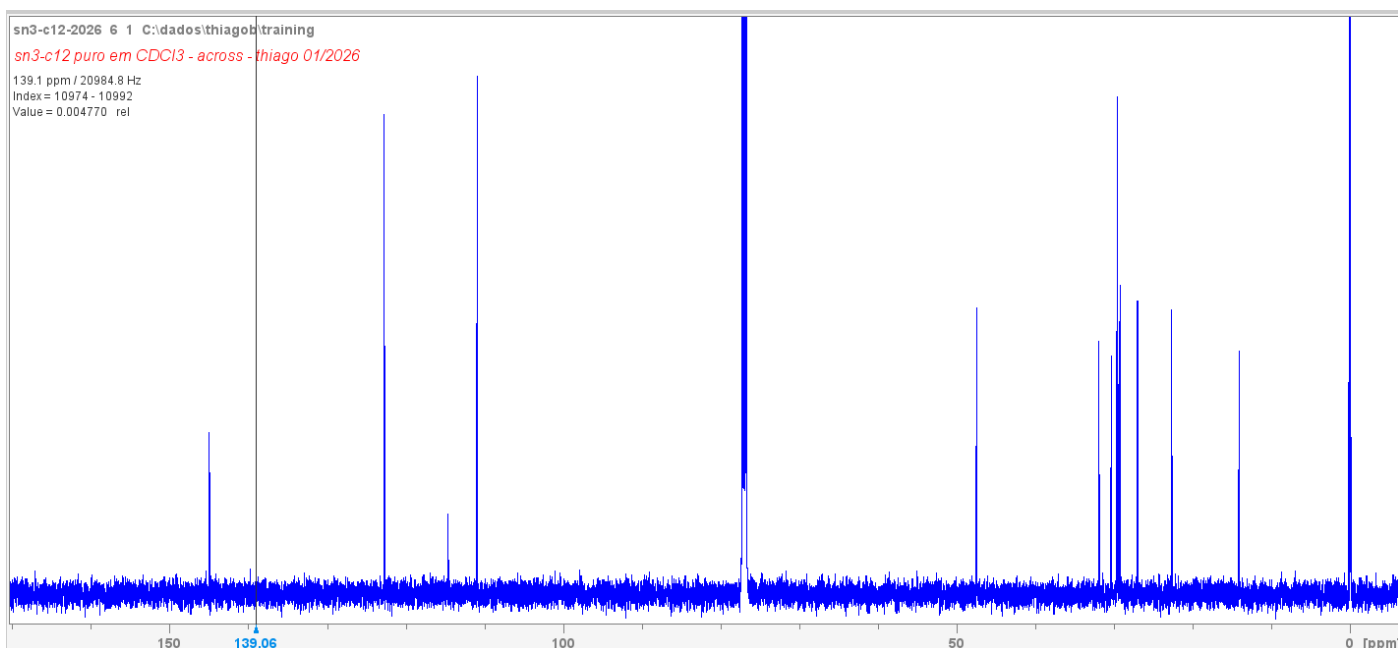


Fig. 15: Espectro de pulso simples em  $^1\text{H}$  (acima) e  $^{13}\text{C}$  (abaixo) do SN3-C12 (em detalhe) em  $\text{CDCl}_3$ .

### 5.2.a DEPT 135 em $^{13}\text{C}$ (Distortionless Enhancement by Polarization Transfer):

O DEPT é um espectro de  $^{13}\text{C}$  obtido por transferência de magnetização por  $^1\text{H}$ . Ele é editado por pulso final de  $135^\circ$ , portanto,  $\text{CH}$  e  $\text{CH}_3$  são obtidos em fase enquanto  $\text{CH}_2$  na outra fase. O DEPT é mais sensível que uma medida de  $^{13}\text{C}$  por pulso simples, mas ele não é quantitativo e negligencia os carbonos quaternários. A medida é obtida através da rotina:

“create dataset -> read parameterset -> select -> C13DEPT135”

### 5.3. COSY (Correlated Spectroscopy):

O espectro de correlação  $J_3$  ( $\text{H-C-C-H}$ ) homonuclear pode ser realizado nos seguintes passos:

“create dataset -> read parameterset -> select -> COSYGPSW”.

Os demais passos de preparação da medida são idênticos à medida de 1H. Na aba AQCQPARS (Fig. 16) você pode editar os seguintes valores:

SPECTRUM	PROCPARS	ACQPARS	TITLE	PULSEPROG	PEAKS	INTEGRALS	SAMPLE	STRUCTURE	PLOT	
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="font-size: 24px;"> <span>↶</span> <span>↷</span> <span>S</span> <span>U</span> <span>⌘</span> <span>⌘</span> <span>1,2...</span> <span>⌵</span> <span>C</span> </div> <div>Probe: PI HR-TBO600S3-BBF/H/F/D-5.0-Z FB</div> </div>										
<b>Experiment</b>		F2		F1		Frequency axis				
<ul style="list-style-type: none"> <li>Width</li> <li>Nucleus</li> <li>Receiver</li> <li>Durations</li> <li>Power</li> <li>Program</li> <li>Probe</li> <li>Lists</li> <li>NUS</li> <li>Wobble</li> <li>Lock</li> <li>Automation</li> <li>Miscellaneous</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>Experiment</li> <li>Width</li> </ul>								
		PULPROG		cosygpppqf		...		E		Current pulse program
		AQ_mod		DQD						Acquisition mode
		FnTYPE		traditional(planes)		▼				nD acquisition mode for 3D etc.
		FnMODE				QF		▼		Acquisition mode for 2D, 3D etc.
		TD		2048		128				Size of fid
		DS		16						Number of dummy scans
		NS		1						Number of scans
		TD0		1						Loop count for 'td0'
		TDav								Average loop counter for nD experiments
		SW [ppm]		13.0179		13.0179				Spectral width
		SWH [Hz]		7812.500		7812.500				Spectral width
		IN_F [µsec]				128.0000				Increment for delay
		AQ [sec]		0.1310720		0.0163840				Acquisition time
		FIDRES [Hz]		7.629395		61.035156				Fid resolution
		FW [Hz]		240000000.000						Filter width

Fig. 16: Default acquisition parameters do COSY.

AQ em F2 pode ser estendido para maior resolução na dimensão direta e AQ em F1 na indireta. No padrão temos AQ(F2) de 0.13 s e AQ(F1) em 0.016 s (TD = 128). A medida com NS = 4 dura 20 min.

Na maioria das vezes o(a) usuário(a) não precisa que a resolução do COSY seja excepcional, mas para uma resolução mais comparável ao espectro 1D você pode usar, por exemplo, AQ(F2) = 1s e TD(F1) = 256. Isso deixa a medida consideravelmente mais longa. A medida com NS = 4 leva 52 min.

Ao processar o espectro lembre-se sempre de aumentar o SI (na aba PROCPARS) em 4xTD (na aba ACQUPARS).

### **5.3.1. Dicas:**

#### **i. Use o espectro de pulso simples 1D na projeção do espectro 2D de correlação.**

Use o comando **#sref** em seu espectro 1H 1D e no COSY, ou deixe ambos com o mesmo valor de SR. Em seguida, no espectro do COSY, clique com o botão direito em cima do espectro na dimensão F2 e selecione "external projection". Então escolha o "expno" em que foi realizado o espectro 1D. Ele será projetado na dimensão F2, o que significa que você terá um espectro de muita qualidade com projeções de correlação e o deslocamento químico de ambos os espectros será correspondente, o que ajuda muito na assinatura dos espectros.

#### **ii. Faça o seu espectro na região de interesse.**

Antes de iniciar o experimento de COSY, clique no menu "acquire -> set limits". Então adicione o espectro 1D de 1H correspondente na tela e faça um zoom na região de interesse. Clique então em ok e a região selecionada será utilizada para a realização do COSY. Com isso você ganha resolução na região de interesse ou gasta menos tempo para uma medida ao igualar o parâmetro "ACQUPARS -> FIDRES [Hz], ou Fid resolution (F1)". Note que ao

selecionar o “set limits” os espectros projetados em F2 e F1 serão o que você usou para determinar a janela espectral do COSY.

Outra opção, até melhor, é fazer o espectro de correlação 1D e 2D seletivo (ver Seção 5.7).

### **iii. Simetrize o mapa de correlação.**

O COSY, a princípio, deveria ser simétrico com relação aos quadrantes superiores e inferiores. Nem sempre esse é o caso, por questões de distorções na medida (que sempre vão ocorrer a depender do quanto os pulsos se aproximam de perfeitos). Você pode então reduzir distorções e aumentar a relação sinal/ruído simetrizando o espectro através do comando “sym”. Caso queira desfazer, basta realizar a transformada 2D novamente do espectro através do comando “#xfb”.

### **iv. Retire o ruído de t1.**

O seu espectro pode estar com ruídos verticais (em F1) devido à variações experimentais de evolução durante t1, principalmente no deslocamento químico do solvente. Retire esse ruído através do comando “#t1noisereduction”;

v. Aumente a resolução topográfica dos seus espectros 2D.

O padrão do topspin é o uso de 8 curvas de nível de intensidade dos espectros. Aumente para 16 ou 32 usando o comando “#clev 32”.

## **5.4. TOCSY (TOtal Correlation Spectroscopy):**

O espectro de correlação por “spin lock” através das ligações pode ser realizado da mesma forma que o COSY, porém, através do comando:

```
“create dataset -> read parameterset -> select -> CMC_TOCSY”
```

Além dos parâmetros de NS, seleção de janela de interesse (caso seja relevante) e adequação dos parâmetros de TD em F2 e F1 (como no COSY), é interessante também indicar  $d_9$ , que é o tempo do “spin lock”. O valor padrão é 80 ms, que é o valor intermediário para médias ligações (aproximadamente até J4 ou J5). Caso você reduza esse valor para ~30 ms você reduz o “alcance” do TOCSY para aproximadamente J2 e J3, e caso você aumente para 120 ms, você leva o TOCSY para ligações mais distantes.

Importante: O  $d_9$  é um pulso longo e portanto não pode exceder 120 ms, pois pulsos mais longos em alta potência podem danificar a sonda. Aqui valem as mesmas dicas listadas na Seção 5.3.1.

### **5.5. HSQC (Heteronuclear Single Quantum Coherence):**

O HSQC sem multipletos editados é chamado no comando:

```
“create dataset -> read parameterset -> select -> HSQCETGPSISP”
```

O HSQC com multipletos editados, onde CH e CH3 estão fora de fase em relação ao CH2, é chamado no comando:

```
“create dataset -> read parameterset -> select -> HSQCEDETGPSISP”
```

Caso tenha adquirido um espectro de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  anteriormente, você pode também selecionar a janela de interesse (item i. do experimento de COSY). Caso faça a seleção da janela (item ii. do experimento de COSY) e rode o experimento, você terá um ganho de resolução. Caso a resolução do espectro padrão seja suficiente, você pode adequar os parâmetros de TD em F2 e F1 para reproduzirem os valores de FIDRES[Hz] anteriores e assim

o seu tempo de medida será reduzido. Aqui valem as mesmas dicas listadas na Seção 5.3.1, exceto pela simetrização do espectro.

### **5.6. HSQC\_TOCSY:**

Um experimento interessante é o de HSQC com transferência de polarização via TOCSY (por spin lock entre os subseqüentes 1H). Assim é possível ir avançando nas correlações 1H-...-13C). O experimento é acessado pelo comando:

```
"create dataset -> read parameterset -> select -> HSQC_TOCSY"
```

O parâmetro importante a ser otimizado para o seu objetivo é novamente o d9 (similar ao descrito para o TOCSY).

Aqui valem as mesmas dicas listadas na Seção 5.3.1, exceto pela simetrização do espectro.

### **5.7. 1D selective COSY/NOESY/TOCSY/ROESY/Solvent-Supression:**

Experimentos 1D seletivos são ferramentas poderosas e rápidas para a determinação de correlação à sítios de interesse. A preparação dos experimentos no topspin é contraintuitiva, e deve ser feita pelos seguintes passos:

Adicione à tela um experimento de pulso simples em 1H.

Vá ao menu "Acquire -> more (setinha) -> Setup Selective 1D Expts" (Fig. 17).

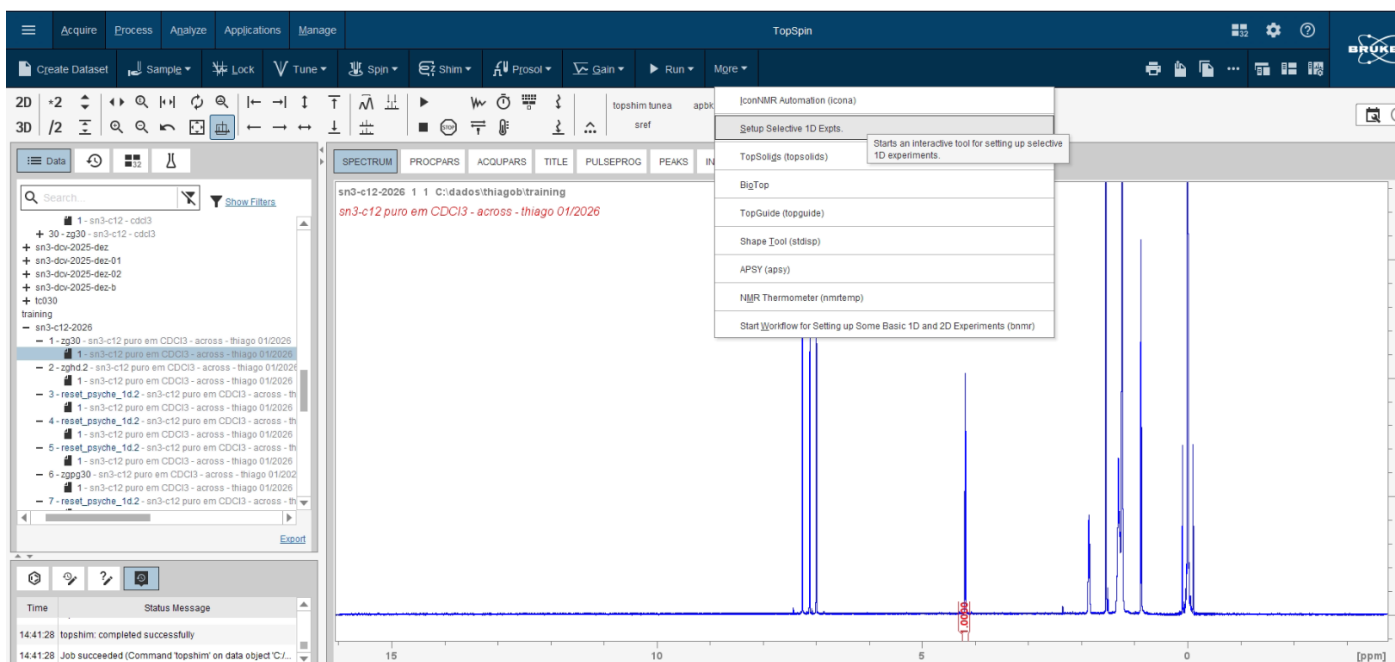



Fig. 17: Tela de preparação de um experimento 1D com excitação seletiva.

Clique em “Define Regions” e escolha a integração no pico que quer fazer excitação seletiva (botão ) destacado em azul na Fig. 18).

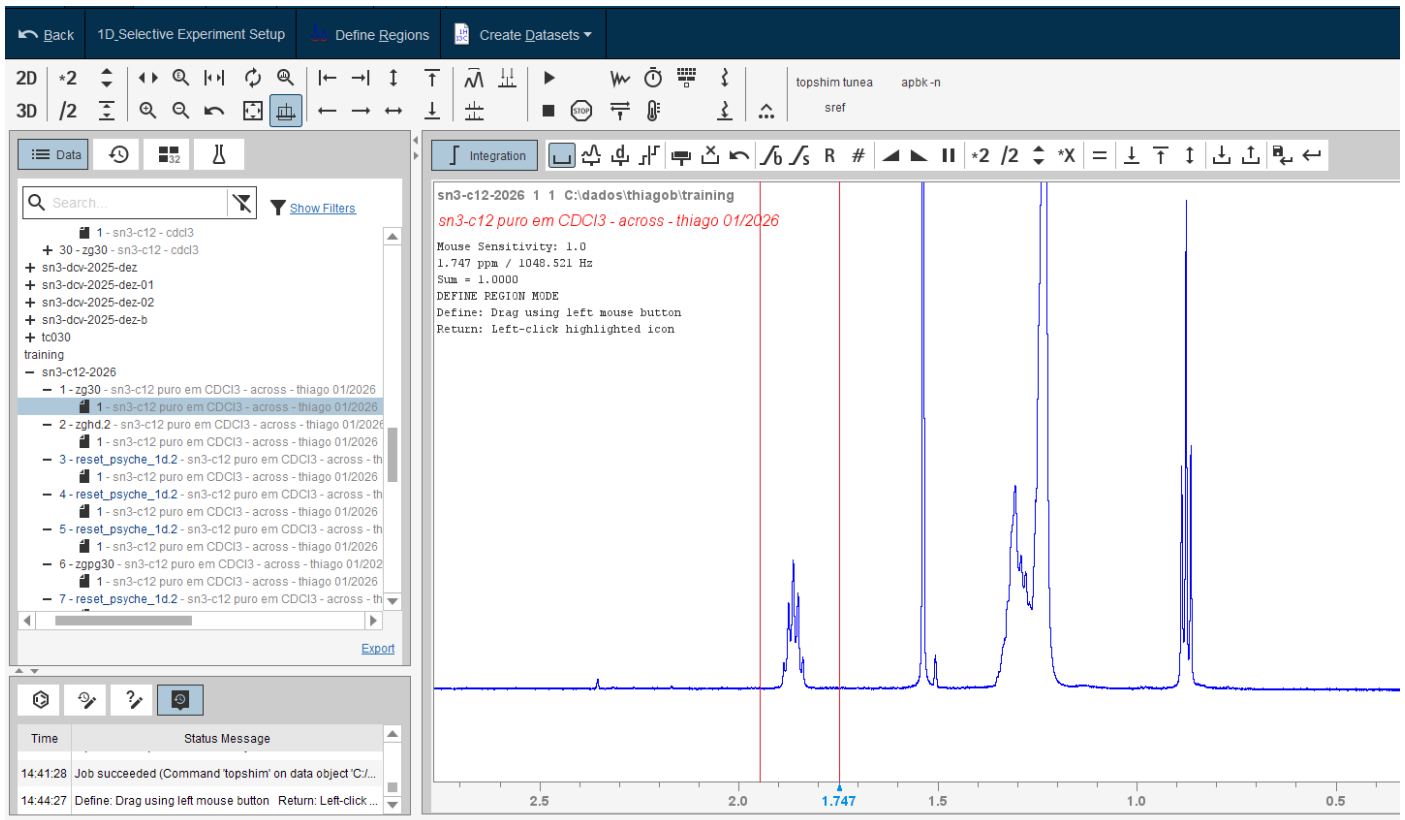
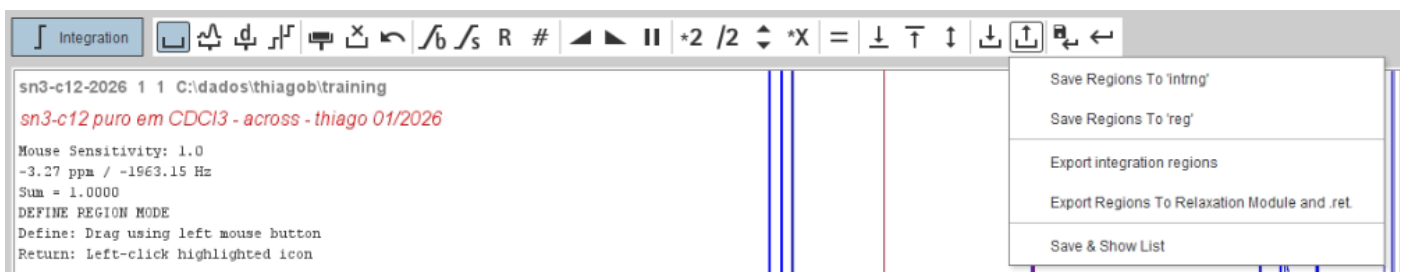
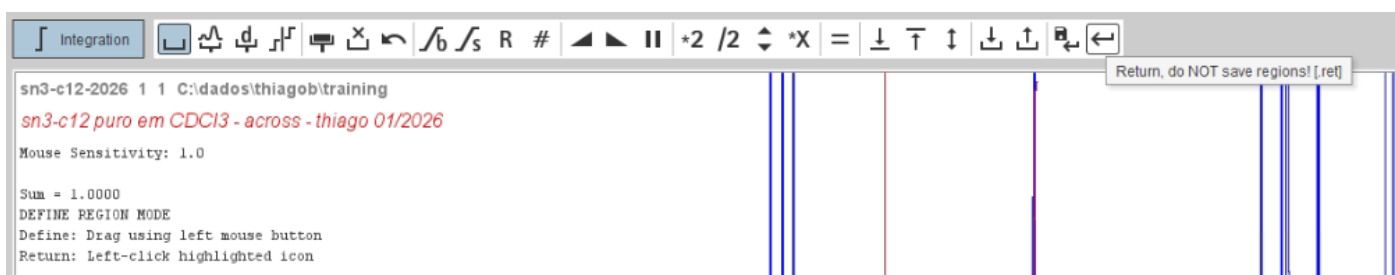


Fig. 18: Tela de demarcação de integração de picos para realização de experimentos 1D com excitação seletiva.

Em seguida clique em "Save/Export Integral Regions" e então "Save Regions To reg" (Fig. abaixo)




Então clique em "Return, do Not save regions! [reg]" e então vá para "Create Datasets" escolha o experimento desejado (essa é a parte menos intuitiva da preparação do experimento - ver Fig. abaixo).



Ajuste o parâmetro p15 de acordo com a distância de propagação do “spin lock”. O valor padrão é de 200 ms, que é um bom valor para moléculas pequenas e médias. Caso queira observar moléculas maiores ou interações intermoleculares, use até 800 ms. Note que o parâmetro está em us, portanto o valor padrão está escrito como 200000 us.

### 5.7.1 2D band selective HSQC e HMBC:

Experimentos 2D HSQC e HMBC de excitação em banda seletiva em  $^{13}\text{C}$  podem ser preparados da mesma forma que os 1D descritos acima. Porém, você deve selecionar um espectro de  $^{13}\text{C}$  e integrar na banda de excitação (usando o botão  destacado em azul na Fig. 18).

### 5.8. HMBC (Heteronuclear Multiple Bond Correlation)

O HMBC pode ser chamado através do comando:

“create dataset -> read parameterset -> select -> HMBCEGPL3ND”

Essa sequência de pulso tem apresentado alguns artefatos (questão a ser discutida com a Bruker).

### 5.9. HMBC - correlação 15N-1H

O HMBC de correlação 15N-1H pode ser chamado através do comando

```
"create dataset -> read parameterset -> select -> HMBCGP_15N"
```

Então faça os seguintes passos:

**iii: TUNE -> iv: SHIM -> v: PROSOL -> vi: GAIN -> zg**

Note que é fundamental você fazer o "tunning (**#atma**)" para a sonda ter o canal 2 sintonizado em 15H (60.8 MHz).

Note que a abundância natural do 15N é baixíssima, 0.38% (1/3 do 13C), e o gamma do 15N é 2.5x menor que o 13C. Logo, a medida de HMBC 15N-1H é pelo menos 7x menos intensa que a do 13C-1H. Portanto, você precisará utilizar uma boa quantidade de scans (usualmente NS = 300 para uma amostra moderadamente diluída, o que leva 24 h).



**CEM**

CENTRAIS EXPERIMENTAIS MULTIUSUÁRIO  
Universidade Federal do ABC

**RMN Bruker 600 MHz**  
**Estado Líquido**  
(Janeiro 2026)

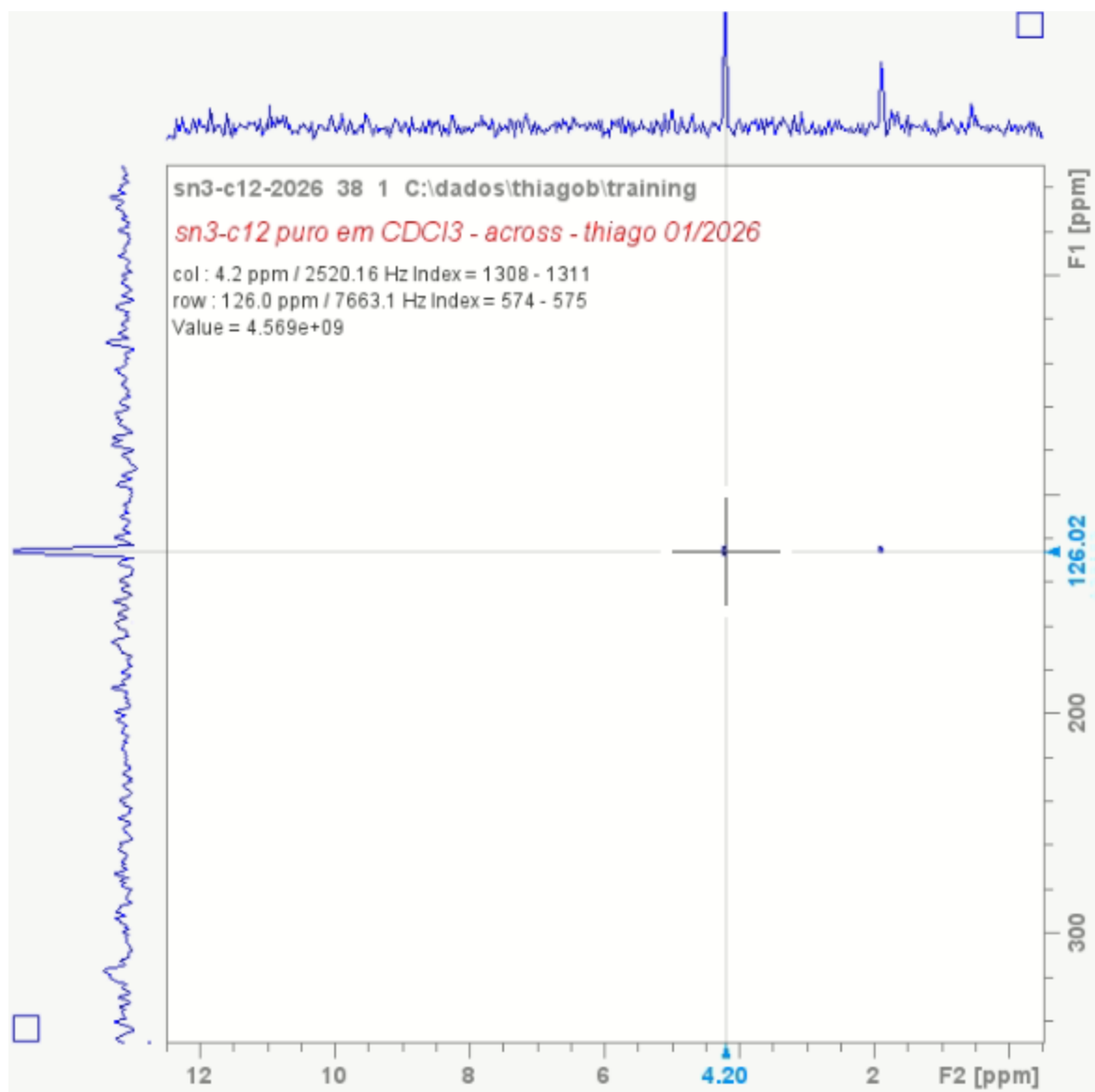


Fig. 19: Espectro de correlação HMBC em 15N-1H da amostra SN3-C12 em CDCl<sub>3</sub> cujo as medidas de 1H e 13C estão apresentadas na seção 5.2.

**5.10. Linha de comando para realização de um experimento realizado anteriormente:**

Note, se você pode copiar um experimento com o comando “edc” e rodá-lo usando a sequência de comandos:

#lock, #tune, #shim, #prosol, #gain e #run.

## **Anexos:**

### **A1. Comandos úteis:**

“tr” - salva o fid no meio do experimento;

“wrpa” - copia o experimento todo, inclusive o fid;

“gppp” - puxa os shapes dos pulsos de gradiente (comando avançado);

“edasp” - expõe as linhas de passagem dos canais (comando avançado);

“sym” - simetrização do cosy no processamento;

“clev 32” - aumenta os contornos do 2D;

“t1noisereduction” - retira o ruído vertical de solvente;

“sref” - o parâmetro SR é mudado para que o sinal do TMS vá a 0 ppm;

“topshim tunea” (também pode ser ativado por um botão no menu principal) - Shimming mais sofisticado que otimiza também a corrente das bobinas transversais de alta ordem (usualmente traz pouca contribuição para medidas de rotina);

“clev xx” - xx introduz o número de contornos do mapa 2D. O padrão é 8. Usualmente o comando “clev 32” deixa seu contorno 2D bem detalhado.

“peakw” - traz a largura à meia altura dos picos da tela.

“apk” - ajusta a fase automaticamente o espectro 1D.

“apk2d” - ajusta a fase automaticamente o espectro 2D.

“wsh” - abre a aba para salvar os valores de shim atual com o nome a ser definido.

### **A2. Outras Metodologias (consultar usuários avançados):**

1. non-uniform-sampling - metodologia de coleta de dados em espectros 2D para redução de tempo de experimento sem perdas consideráveis de relação sinal/ruído.