

SCHEDA LABORATORIO SCIENTIFICO n. 34

TITOLO: GRANDI ATTREZZATURE: RISONANZA MAGNETICA NUCLEARE – NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE

Responsabili: LUIGI RUSSO, MONICA SCOGNAMIGLIO

Settori Scientifico-Disciplinari di riferimento:

CHIM/03; CHIM/06

RADoR: BRIGIDA D'ABROSCA, ROBERTO FATTORUSSO, ANTONIO FIORENTINO, CARLA ISERNIA, GAETANO MALGIERI, LUIGI RUSSO, MONICA SCOGNAMIGLIO

Tipologia: CHIMICO/TECNOLOGICO

Gruppi afferenti: CHIMICA STRUTTURALE, STRUTTURA E FUNZIONE DI PEPTIDI, PROTEINE ED ACIDI NUCLEICI, STRUTTURA E BIOATTIVITÀ DI SOSTANZE ORGANICHE NATURALI

LOCALIZZAZIONE E DESCRIZIONE

Il Laboratorio di Spettroscopia di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR) è situato nel corpo F del DiSTABiF e si estende su una superficie di 100 m². Il Laboratorio è equipaggiato con quattro spettrometri NMR per liquidi, tutti dotati di magneti superconduttori, con frequenze di risonanza dei nuclei ¹H di 400, 500 (2) e 600 MHz. Si riporta, di seguito, una descrizione dettagliata delle caratteristiche tecniche di ogni strumento utili ai fini della sicurezza.

NMR.1: Spettrometro NMR Bruker Avance II con magnete superconduttore "Oxford" operante a 9,4 T (frequenza di risonanza del protone 400 MHz) ed equipaggiato con: probe di misure specifiche (carbonio, idrogeno, azoto, fluoro, fosforo; equipaggiato con hardware e software per la realizzazione di esperimenti multidimensionali, omonucleari ed eteronucleari inversi. Il Magnete presenta una linea dei 5 Gauss di 1,5 m assiale dal centro del magnete.

NMR.2: Spettrometro NMR Bruker Avance III HD con magnete superconduttore di nuova generazione "Ascend" operante a 14,09 T (frequenza di risonanza del protone 600 MHz) ed equipaggiato con: crio-probe "prodigy" a tre canali (1H, 13C e 15N) con gradienti Z, sistema di sintonizzazione automatico; hardware e software per la realizzazione di esperimenti multidimensionali, omonucleari ed eteronucleari inversi. Il magnete è dotato di sistema antivibrante, misuratori di livello dei liquidi criogenici (elio e azoto). Il magnete è ultraschermato con linea dei 5 Gauss di 0,7m assiale dal centro del magnete.

NMR.3: Spettrometro NMR Bruker Avance III con magnete superconduttore "Oxford" operante a 11,7 T (frequenza di risonanza del protone 500 MHz) ed equipaggiato con: probe a tre canali per sistemi biologici, probe a due canali con gradienti Z; probe per HR-MAS; hardware e software per la realizzazione di esperimenti multidimensionali, omonucleari ed eteronucleari inversi. Il magnete è dotato di sistema antivibrante, misuratore di livello dell'elio. Il magnete è schermato con linea dei 5 Gauss di 1,4 m assiale dal centro del magnete.

NMR.4: Spettrometro NMR Bruker NEO con magnete superconduttore di nuova generazione "Ascend" operante a 11,7 T (frequenza di risonanza del protone 500 MHz) ed equipaggiato con: crio-probe "prodigy" a tre canali (1H, 13C e 15N) con gradienti Z, sistema di sintonizzazione automatico; campionatore automatico, hardware e software per la realizzazione di esperimenti multidimensionali, omonucleari ed eteronucleari inversi. Il magnete è dotato di sistema antivibrante, misuratori di livello dei liquidi criogenici (elio e azoto). Il magnete è ultraschermato con linea dei 5 Gauss di < 0,7m assiale dal centro del magnete.

ATTIVITÀ SVOLTE NEL LABORATORIO

Nel laboratorio NMR del DiSTABiF vengono principalmente svolte attività di ricerca e didattica. In particolare, nel laboratorio vengono acquisiti esperimenti mono-, bi- e multi-dimensionali per: i) la caratterizzazione strutturale e dinamica di biomolecole (es. proteine e acidi nucleici); ii) studi di interazione proteina-proteina e proteina-ligando; iii) la determinazione della struttura e della conformazione di specie chimiche di nuova sintesi o naturali; iv) la caratterizzazione di matrici vegetali complesse. Inoltre, il funzionamento delle apparecchiature NMR richiede la ricarica (refill) di elio e azoto liquido ai criomagneti presenti nel laboratorio NMR. L'operazione di refill di azoto viene eseguita ogni 15 giorni per ogni magnete mentre quella di elio viene fatta ogni 5 mesi ad eccezione dello spettrometro NMR.1 che richiede una ricarica di elio ogni 80 giorni.

RELAZIONE SINTETICA DESCRITTIVA DEL CICLO DI LAVORO E DELLE MODALITÀ OPERATIVE

1. Acquisizione degli esperimenti NMR

L'utilizzo degli apparecchi NMR è consentito solo agli operatori autorizzati. A seguito dell'inserimento del campione (preparato presso il laboratorio di Biochimica o di Chimica Organica del DiSTABiF), l'operatore effettuerà tutte le procedure necessarie alla preparazione dell'acquisizione degli spettri NMR (locking tuning e matching, shimming) e successivamente programmerà gli esperimenti NMR. Su tutti gli strumenti presenti in laboratorio è installato il software *Bruker Topspin* che permette la completa gestione di tutte le operazioni in remoto, limitando la presenza dell'operatore in prossimità dell'apparecchio solo per il tempo necessario all'introduzione del campione all'interno del campo magnetico.

Nei locali dove sono posizionati gli apparecchi NMR sono presenti campi magnetici più o meno intensi. In base alla normativa specifica (D.Lg 81/2008, Linee Guida ICNIRP, D. Lg. 159/2016) vengono individuate le seguenti zone:

- Zone in cui è di norma interdetto l'accesso della popolazione e dei lavoratori particolarmente a rischio: le aree in cui il campo disperso di induzione magnetica supera i Valori di Azione (VA), cioè è pari o superiore a 0.5 mT (5 Gauss);
- Zone in cui sono rispettati i Valori Limite di Esposizione (VLE) per i lavoratori, cioè nelle condizioni di lavoro normali le aree interessate da valori di campo disperso di induzione magnetica esterna fino a 2T (20000 Gauss), e fino a 8T (80000 Gauss) per l'esposizione localizzata degli arti o in condizioni di lavoro controllate.

Tutte le aree in cui i livelli di campo elettromagnetico superano il VA di 0.5mT (5 Gauss) sono opportunamente segnalate e delimitate. In queste aree è vietato introdurre oggetti che potrebbero essere danneggiati dal campo magnetico (carte magnetiche, orologi...) ed oggetti ferromagnetici che potrebbero accidentalmente essere attratti dal magnete; in tali zone potrà accedere solo il personale debitamente autorizzato.

In particolare la zona ad accesso controllato è interdetta a lavoratori particolarmente a rischio quali, ad es:

- Possessori di dispositivi elettrici impiantati, ad esempio: pacemaker, defibrillatori, protesi metalliche
- Soggetti con gravi alterazioni di organi ed apparati ritenuti bersaglio delle radiazioni non ionizzanti
- Soggetti in gravidanza
- Minorenni
- Soggetti affetti da anemia falciforme.

Agli ingressi alle zone controllate ed al locale che ospita l'apparecchiatura è affissa idonea segnaletica permanente. Nella zona ad accesso controllato non possono essere allestite postazioni di studio o di lavoro, ovvero svolte attività che comportano permanenze prolungate nel tempo. È necessario sostare nelle vicinanze dei magneti soltanto per il tempo necessario all'attività lavorativa (inserimento di campioni, ottimizzazione dei parametri).

Ogni operatore è preventivamente visitato dal medico competente affinché sia attestata, in maniera specifica, la sua idoneità sanitaria allo svolgimento delle mansioni assegnate che comportano l'esposizione

ai campi magnetici dello spettrometro NMR. Tutto il personale classificato come idoneo è inserito in apposito elenco.

L'accesso al laboratorio NMR da parte di ospiti e visitatori è permesso solo previa autorizzazione. Gli ospiti ed i visitatori devono essere preventivamente autorizzati e informati sui rischi e sulle norme di sicurezza. In caso di "quench" di un magnete l'impianto di aspirazione forzata, di cui è dotato il laboratorio, partirà automaticamente. In ogni caso, è buona norma abbandonare il locale il più velocemente possibile. In ogni caso non toccare la strumentazione NMR.

In caso di emergenza:

- Abbandonare immediatamente l'edificio chiudere le porte (ma non a chiave), procedendo lungo le più brevi vie di evacuazione
- Raggiungere il punto di raccolta all'esterno dell'edificio;
- Attendere le istruzioni del PERSONALE DI EMERGENZA, fino al segnale di cessato allarme per poter rientrare nell'edificio

2. Operazioni di trasferimento dei liquidi criogenici (refill)

Le operazioni di refill dei liquidi criogenici vengono eseguite dal personale specializzato addetto al laboratorio. Durante le operazioni di refill l'accesso al laboratorio è consentito solo al personale autorizzato. I liquidi criogenici generalmente impiegati sono azoto ed elio. Per quest'ultimo è necessario l'utilizzo di elio gas per pressurizzare il dewar (vedi sotto) e consentire il corretto trasferimento di elio liquido al magnete.

La movimentazione dei liquidi criogenici deve essere effettuata con l'ausilio di contenitori isolanti idonei e omologati (Dewar). Se i contenitori sono pesanti è necessario usare dei carrelli. Indossare comunque gli occhiali e guanti di protezione speciali per le basse temperature, e scarpe chiuse.

Ai fini dell'applicazione delle procedure di sicurezza è obbligatorio:

- evitare il contatto accidentale con liquidi criogenici o gas evaporati, utilizzando dispositivi di protezione individuale quali guanti, camici e maschere protettive;
- mantenere i contenitori dei liquidi criogenici in aree ben ventilate.

LISTA DELLE ATTREZZATURE PRESENTI:

1. Spettrometro NMR.1: Console strumento, Magnete, computer di gestione dello strumento.
2. Spettrometro NMR.2: Console strumento, Magnete, cryo-platform, pre-amplificatore, computer di gestione dello strumento.
3. Spettrometro NMR.3: Console strumento, Magnete, pre-amplificatore, computer di gestione dello strumento.
4. Spettrometro NMR.4: Console strumento, Magnete, cryo-platform, pre-amplificatore, campionatore automatico, computer di gestione dello strumento.
5. 2 Gruppi di continuità (UPS) da 8000 W
6. 1 Gruppo di continuità (UPS) da 5000 W
7. 3 Banchi da laboratorio
8. Strumento DLS (Dynamic light Scattering) con relativo computer
9. 3 scale per consentire le operazioni di refill
10. 2 Armadi
11. Transfer line per le operazioni di refill di elio

LISTA DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE GENERALE (DPG):

1. Uscite di sicurezza
2. Estintori
3. Cassette di pronto soccorso
4. Segnali d'allarme
5. Sistema di aspirazione forzata collegato a 4 Misuratori di O₂ (vedi sotto)

6. 4 sensori di O₂ gestiti da una centralina per segnalare eventuali fuoriuscite di gas (azoto e elio) dai magneti.
7. Sistemi di monitoraggio della temperatura e dell'umidità relativa

LISTA DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALI (DPI) AD USO PERSONALE DEGLI OPERATORI:

- Camice antiacido
- Occhiali di protezione
- Guanti in nitrile e in lattice (varie misure)
- Visiera per liquidi criogenici
- Guanti per liquidi criogenici
- Grembiule per liquidi criogenici

Categorie ISI WEB di riferimento:

Chemistry Inorganic & Nuclear; Chemistry Multidisciplinary, Chemistry Organic, Spectroscopy, Biophysics, Instruments & instrumentations.

Categorie ERC di riferimento:

- **PE4 Physical and Analytical Chemical Sciences**
 - ✓ PE4_2 Spectroscopic and spectrometric techniques
 - ✓ PE4_5 Analytical chemistry
 - ✓ PE4_7 Chemical instrumentation
 - ✓ PE4_9 Method development in chemistry
- **PE5 Synthetic Chemistry and Materials**
 - ✓ PE5_14 Macromolecule Chemistry
 - ✓ PE5_17 Organic chemistry
- **LS1 Molecules of Life: Biological Mechanisms, Structures and Functions**
 - ✓ LS1_4 Protein biology
 - ✓ LS1_8 Structural biology
 - ✓ LS1_11 Chemical biology
 - ✓ LS1_9 Structural biology and its methodologies
- **LS2 Integrative Biology: from Genes and Genomes to Systems**
 - ✓ LS2_9 Metabolomics
 - ✓ LS2_11 Bioinformatics and computational biology

[SCHEDE DI SICUREZZA](#)