

Historias de la RMN

Jorge Santoro

6. Ecos de *spin*

Aunque durante los años siguientes a la detección de la señal de RMN en materia condensada (1,2) el modo habitual de obtener los espectros era el de onda continua, Felix Bloch en su segundo artículo sobre el tema apuntaba la posibilidad de la excitación mediante pulsos (3): *It is worth while, however, to point out that the observation of nuclear induction should be possible even without any use of the magnetic resonance. Not only a weak rf field, acting at resonance over very many Larmor periods, can produce an appreciable nuclear change of orientation, but also a strong field pulse, acting over only a few periods. Once the nuclear moments have been turned into an angle with the constant field, they will continue to precess around it and likewise cause a nuclear induction to occur at an instant when the driving pulse has already disappeared.*

El primero en tomar en consideración la propuesta de Bloch fue Henry Torrey. El modo de hacerlo fue, sin embargo, algo diferente al planteado por Bloch. En lugar de detectar la señal posterior al pulso estudió la nutación transitoria que se producía durante el mismo (4,5). Torrey utilizaba pulsos de larga duración, 10 milisegundos o más, por lo que para describir teóricamente la evolución temporal de la magnetización resolvió las ecuaciones de Bloch incluyendo los tiempos de relajación (a diferencia de cómo se considera el efecto de un pulso en la actualidad en el que la contribución de la relajación se desprecia al ser los pulsos varios órdenes de magnitud más cortos, de varios microsegundos). El resultado era que durante el pulso se produce una rotación alrededor del campo magnético efectivo que da lugar a una oscilación de las componentes x e y de la magnetización. Estas oscilaciones se atenúan por efecto de la relajación hasta llegar a un valor de la magnetización coincidente con la solución de estado estacionario. El método le permitía no solo determinar la frecuencia de resonancia, sino también determinar los tiempos de relajación T_1 y T_2 . Para la determinación de T_1 utilizaba un pulso intenso de duración suficiente como para saturar la magnetización ($M_z = 0$). Tras esperar un tiempo aplicaba un segundo pulso cuya respuesta indicaba la recuperación de la magnetización longitudinal de equilibrio gobernada por el tiempo de relajación T_1 , que actúa durante el tiempo entre pulsos. La determinación del tiempo de relajación T_2 la efectuaba teniendo en cuenta la amortiguación de las oscilaciones durante un pulso, amortiguación gobernada por una constante de tiempo T_0 que cumple $1/T_0 = (1/T_1 + 1/T_2)/2$. Conocido el tiempo de relajación T_1 podía determinar el valor de T_2 .

Al igual que Torrey, Erwin Hahn se había propuesto detectar la nutación de espines. Hahn estaba familiarizado con los pulsos de radiofrecuencia, puesto que había sido técnico e instructor de radar en la Armada estadounidense durante la Segunda Guerra Mundial, por lo que le pareció un tema muy adecuado para incluirlo en su tesis doctoral. Su primer logro fue el desarrollo de un método para la determinación del tiempo de relajación T_1 (6). Pronto averiguó que su método era similar al propuesto por Torrey, así como que éste había detectado ya la nutación de espines. En vista de eso modificó su plan y, en lugar de la nutación durante el pulso, decidió detectar la respuesta al pulso, tal y como había propuesto Bloch. Poco después publicaba la primera observación de la respuesta a un pulso, la *free induction decay* o fid (7). En el artículo indicaba que resultaba posible medir T_1 con un método de recuperación de la saturación equivalente al que había propuesto previamente en el

caso de la nutación de espines. Adelantaba, además, la existencia de ecos de espín, para los que la precesión libre en presencia de un campo magnético inhomogéneo era fundamental. El descubrimiento de los ecos de espín lo había realizado por azar. Según cuenta el propio Hahn (8), efectuando medidas de T_1 mediante el método de recuperación de la saturación decidió incrementar la potencia del campo B_1 y reducir la duración de los pulsos. Sorprendentemente observó una señal que no aparecía inmediatamente después del segundo pulso y que era extrañamente simétrica. Inicialmente adscribió la señal a un fallo de la electrónica. Una semana después, cuando volvió a utilizar pulsos de corta duración, de nuevo apareció la señal inesperada. Esta vez hizo diversas comprobaciones que le convencieron de que la señal era real. En vista de eso se puso a analizar el comportamiento de los espines sometidos a dos pulsos iguales, separados en el tiempo, utilizando las ecuaciones de Bloch y descubrió que si consideraba que el campo magnético no era homogéneo la teoría explicaba la aparición de la señal observada. Los primeros resultados los presentó en una reunión de la *American Physical Society* que tuvo lugar en Chicago en noviembre de 1949. El resumen de su presentación aparece reproducido en (9).

Unos meses después envió a publicación un extenso artículo en el que analizaba profusamente los ecos de espín (10). En el artículo utilizaba un modelo vectorial para explicar la aparición del eco en el caso de dos pulsos de 90° coherentes en fase. Seguidamente, puesto que los pulsos que se utilizaban entonces no eran coherentes (es decir, no guardaban una relación de fase definida), efectuaba un análisis general utilizando las ecuaciones de Bloch e incluyendo también los efectos de la inhomogeneidad del campo principal y de la difusión traslacional. El resultado obtenido era similar al del modelo anterior: se producía un reenfoque parcial de la magnetización, el eco, con un retraso respecto al segundo pulso igual al tiempo entre pulsos. La amplitud del eco, sin considerar efectos de relajación y de difusión, era la mitad de la señal inicial para pulsos de 90° y máxima ($3\sqrt{3}/8$ de la señal inicial) para pulsos de 120° . Mostraba a continuación que la dependencia de la amplitud de los ecos con el tiempo entre pulsos permitía determinar el tiempo de relajación transversal T_2 siempre que el efecto de la difusión fuera despreciable. Apuntaba también que el método de los ecos de espín resultaba prometedor para la medida de coeficientes de difusión traslacional. Indicaba además que el efecto del desplazamiento químico, descubierto unos meses antes, se observaba también en los ecos, puesto que daba lugar a una modulación de su envolvente. Finalmente describía la aparición de ecos secundarios cuando se aplica un tercer pulso idéntico a los dos anteriores. De los cuatro ecos que se producen en ese caso Hahn juzgaba de mayor interés uno de ellos al que denominó eco estimulado, puesto que permitía medir T_1 y verificar la existencia de difusión. La consideración de Hahn fue totalmente acertada, pues de los diversos ecos que describía en su artículo es el único que se sigue utilizando en la actualidad.

Edward Purcell se interesó por los ecos de Hahn (de hecho, el modelo geométrico usado por Hahn en su artículo fue una propuesta de Purcell) y sugirió a su alumno de doctorado Herman Carr que estudiara el fenómeno. Carr se dio cuenta de que la justificación de los ecos resultaba más sencilla considerando dos pulsos de diferente longitud, el primero de 90° y el segundo de 180° . Además, en esas condiciones el eco resultaba más intenso. A diferencia de lo que ocurre con los ecos de Hahn, en los que en el instante del eco tan solo parte de la magnetización es independiente de la frecuencia (la mitad, si se usan pulsos de 90°), los ecos de Carr y Purcell eliminan por completo el efecto del desplazamiento químico, por lo que se producen incluso en campos perfectamente homogéneos. Durante su tesis, Carr estudió diversos aspectos de su secuencia de eco de espín y tras finalizarla publicó junto con Purcell sus resultados en un artículo que sentaría las bases de los ecos

Eco de Hahn

$$\begin{array}{c|c|c|c|c|c|c|c|c} 0 & & 0 & & \sin(\omega\tau) & & \sin(\omega\tau) & & \sin(\omega\tau)\cos(\omega\tau) & & \sin(2\omega\tau)/2 \\ 0 & \xrightarrow{90^\circ_x} & -1 & \xrightarrow{\tau} & -\cos(\omega\tau) & \xrightarrow{90^\circ_x} & 0 & \xrightarrow{\tau} & \sin(\omega\tau)\sin(\omega\tau) & = & [1-\cos(2\omega\tau)]/2 \\ 1 & & 0 & & 0 & & -\cos(\omega\tau) & & -\cos(\omega\tau) & & -\cos(\omega\tau) \end{array}$$

La formación del eco requiere la presencia de una fuerte inhomogeneidad de campo de modo que las medias de $\sin(2\omega\tau)$ y $\cos(2\omega\tau)$ a lo largo de la muestra sean nulas.

Eco de Carr-Purcell

$$\begin{array}{c|c|c|c|c|c|c|c|c} 0 & & 0 & & \sin(\omega\tau) & & \sin(\omega\tau) & & \sin(\omega\tau)\cos(\omega\tau) & & 0 \\ 0 & \xrightarrow{90^\circ_x} & -1 & \xrightarrow{\tau} & -\cos(\omega\tau) & \xrightarrow{180^\circ_x} & \cos(\omega\tau) & \xrightarrow{\tau} & -\cos(\omega\tau)\sin(\omega\tau) & = & 1 \\ 1 & & 0 & & 0 & & 0 & & \cos(\omega\tau)\cos(\omega\tau) & & 0 \\ & & & & & & & & +\sin(\omega\tau)\sin(\omega\tau) & & 0 \end{array}$$

El eco es independiente de la frecuencia de Larmor. Se produce incluso en el caso de un campo magnético perfectamente homogéneo.

de espín tal y como se generan en la actualidad (11). En el artículo empezaban por describir el eco de espín que se produce con la secuencia $90^\circ-\tau-180^\circ-\tau$ en presencia de un campo inhomogéneo para a continuación proponer dos métodos para la medida de T_2 . El primero, método A, similar al de Hahn, consistía en realizar varios experimentos de un eco, incrementando cada vez el tiempo τ entre pulsos. En el segundo método, método B, en lugar de incrementar el tiempo τ proponían repetir la secuencia $\tau-180^\circ-\tau$ un número de veces, de modo que se generaran múltiples ecos. La atenuación de ecos sucesivos permitía determinar T_2 . Pasaban a continuación a considerar el efecto de la difusión traslacional sobre los ecos utilizando un modelo de paseo aleatorio. Considerando un gradiente de campo lineal, G , y un coeficiente de difusión traslacional, D , la atenuación de la magnetización en el eco producido al tiempo t resultaba

$$M = M_0 \exp\left[-t/T_2 - (\gamma^2 G^2 D t^3 / 12 n^2)\right]$$

siendo n el número de ecos (de secuencias $\tau-180^\circ-\tau$) generados en el tiempo t . Un par de años después Henry Torrey obtendría el mismo resultado a partir de las ecuaciones de Bloch modificadas para incluir la difusión (12). De acuerdo con la ecuación obtenida, Carr y Purcell concluían que en ausencia de difusión ($D = 0$) los dos métodos de medida de T_2 debían dar el mismo resultado. En presencia de difusión, por el contrario, el método B permitía la medida de T_2 utilizando valores pequeños de τ (por tanto un valor elevado de n , el número de ecos), mientras que el método A se vería fuertemente contaminado por la difusión. El método A, sin embargo, resultaba útil para determinar el coeficiente de difusión traslacional. Para ello resultaba necesario que el término de atenuación debido a la difusión fuera dominante. Una forma de conseguirlo era que el gradiente de campo, G , fuera intenso. Para ello proponían colocar simétricamente a cada lado de la muestra dos cables lineales largos que llevaran corriente eléctrica o dos espiras. La dirección de la corriente debía ser opuesta en los dos componentes. Con este dispositivo experimental y utilizando un gradiente de 0,28 gauss/cm determinaron el coeficiente de difusión del agua a 25 °C. Se trata de la primera aparición en la bibliografía de la espectroscopía de RMN con gradientes de campo. Puesto que la

medida del coeficiente de difusión requiere que no exista convección analizaron también el efecto de ésta en presencia de un gradiente de campo. Considerando la fase que alcanzan las señales en presencia de la convección llegaron a la conclusión de que los ecos impares en el método B debían ser menos intensos que los ecos pares. Además, estos segundos ecos debían ser igual de intensos que en ausencia de convección. Disponían, por tanto, de un método para detectar la presencia de convección y para medir el coeficiente de difusión traslacional sin interferencias de aquella. El artículo terminaba con una propuesta para la medida de T_1 . Si se utiliza la secuencia $180^\circ-\tau-90^\circ$ la magnetización longitudinal invertida por el primer pulso relaja para alcanzar su valor de equilibrio. El pulso de 90° transforma la magnetización longitudinal en magnetización transversal. De acuerdo con la ecuación de relajación al tiempo $\tau = T_1 \ln 2$ la magnetización es nula y también lo es la respuesta al pulso final de 90° , lo que permite determinar el valor de T_1 . Años después Robert Vold, trabajando ya con la transformada de Fourier de la fid, redescubriría esta secuencia para la medida de T_1 (13).

Carr y Purcell habían mostrado en el estudio citado previamente (11) que el transporte de un elemento de volumen en un líquido en presencia de un campo magnético no homogéneo afecta la fase que adquieren los espines en la precesión de Larmor. Erwin Hahn utilizaría este hecho para proponer el uso de ecos de espín en presencia de un gradiente de campo como método para medir la velocidad de flujo en líquidos (14). Actualmente la citada dependencia de la fase es la base de los métodos que se usan en la resonancia magnética de imagen para la determinación de velocidades de flujo en los vasos sanguíneos.

La aplicación del método de Carr y Purcell para la medida de T_2 presentaba un problema, puesto que resultaba muy sensible a errores en el pulso de 180° , bien debido al calibrado bien a la inhomogeneidad del campo de radiofrecuencia B_1 . Una desviación del pulso de 180° lleva la magnetización fuera del plano xy y los pulsos de 180° sucesivos, en general, la alejan más del plano. El problema se manifestaba especialmente en la medida de T_2 largos, puesto que para eliminar el efecto de la difusión resulta necesario utilizar un número elevado de pulsos de 180° . La solución a este inconveniente la encontraron Saul Meiboom y David Gill incorporando dos modificaciones al esquema de Carr y Purcell (15). Se dieron cuenta de que para poder gobernar el comportamiento de la magnetización en los experimentos era necesario que las fases relativas de los pulsos estuvieran bien determinadas, esto es que fueran coherentes. Una vez que dispusieron de la electrónica adecuada para ello comprobaron que, de acuerdo con su predicción teórica, si todos los pulsos se aplicaban con la misma fase las desviaciones producidas por pulsos de 180° de longitud incorrecta eran acumulativas. Por el contrario, y esta fue la contribución fundamental al método de Carr y Purcell, si la fase de los pulsos de 180° difiere de la del pulso inicial en 90° la desviación producida en un eco es compensada en el eco siguiente. Consecuentemente, con su modificación se puede utilizar un número grande de ecos de espín sucesivos sin que haya una degradación del resultado.

En 1963 Meiboom mostró otra posible utilidad de los ecos de espín (16). En el caso de intercambio entre dos sitios, la atenuación que se observa en los experimentos que utilizan el método B de Carr y Purcell es dependiente del de la velocidad de intercambio y del tiempo entre los pulsos de 180° , τ_{CP} . Se abrió con ello un nuevo camino para el estudio del intercambio químico.

Una de las complicaciones que presentan los ecos de espín deriva del hecho de que cuando el pulso de 180° afecta a una pareja de espines acoplados el acoplamiento entre ellos no se reenfoca, produciendo modulaciones en la amplitud del eco cuando simplemente se observa la amplitud de

éste, como se hacía antes de la incorporación de la FT-NMR, o una modulación de la fase de las señales tras la transformada de Fourier de la fid. Sin embargo, Herbert Gutowsky (17) y Adam Allerhand (18) mostraron que resulta posible eliminar esta modulación si se cumple la condición $2\pi\nu_{AB}\tau \ll 1$, donde ν_{AB} es la diferencia entre las frecuencias de resonancia de los dos núcleos acoplados. Por el contrario, Ray Freeman se sirvió años después de esta modulación para obtener espectros que permiten determinar las constantes de acoplamiento escalar con una precisión limitada tan solo por la anchura natural de línea (19). Para ello efectuaba la transformada de Fourier de la envolvente de un experimento de ecos múltiples, $(\tau-180^\circ-\tau)_n$, en la que tan solo se considera la señal en el instante del eco. Puesto que el espectro únicamente contiene frecuencias correspondientes a combinaciones de constantes de acoplamiento, denominó al mismo espectro J.

Con la llegada de la espectroscopía FT se empezaron a proponer diversos experimentos en los que se aplica más de un pulso al sistema de espines. En muchos de ellos el eco de espín juega un papel crucial. Un ejemplo paradigmático es el de la secuencia INEPT (20), diseñada inicialmente para incrementar la sensibilidad de núcleos de baja constante giromagnética e incorporada después en multitud de experimentos multidimensionales para transferir coherencia entre espines.

En la espectroscopía bidimensional muy pronto se aprovecharon las características de los ecos de espín. El grupo de Richard Ernst propuso un experimento basado en los ecos de espín, al que denominó 2D J-resuelto, para conseguir el desacoplamiento homonuclear de banda ancha (21). Previamente, en la primera publicación de espectroscopía bidimensional (22), había propuesto para el caso heteronuclear un experimento en el que aparecía en la dimensión directa el espectro del heteronúcleo desacoplado del protón y en la indirecta el acoplado. Poco después el grupo de Ray Freeman propundría para el caso heteronuclear dos esquemas experimentales basados en los ecos de espín, *proton-flip* y *gated decoupler*, más adecuados que el de Ernst para la medida de los acoplamientos escalares heteronucleares, puesto que en la dimensión directa aparecen los desplazamientos químicos y en la indirecta los acoplamientos escalares (23). Por lo tanto, la anchura espectral en la dimensión indirecta es mucho menor que en el experimento de Ernst y se obtiene una buena resolución en un tiempo mucho más breve.

La distorsión causada por el acoplamiento homonuclear es un problema importante en muchos experimentos basados en el eco de espín. Si bien esta distorsión puede eliminarse mediante un reenfoque rápido, tal y como se ha comentado antes, esta posibilidad presenta graves problemas cuando se trabaja con campos magnéticos intensos (de más de 300-400 MHz), puesto que ν_{AB} es grande. Por un lado, los pulsos de 180° deben ser intensos para cubrir adecuadamente toda la anchura espectral y por otro, el tiempo entre pulsos debe ser pequeño para cumplir con la condición $2\pi\nu_{AB}\tau \ll 1$. Consecuentemente la potencia de radiofrecuencia aplicada es extremadamente alta, lo que causa un calentamiento de la muestra, que puede incluso degradarse, y puede dañar a la sonda. Kiyonori Takegoshi encontró una solución al problema en el caso particular de un sistema de dos espines acoplados débilmente insertando un pulso de 90° entre dos ecos de espín consecutivos (24). La transferencia de coherencia que produce el pulso de 90° ($2I_xS_z \rightarrow -2I_zS_x$; $2I_zS_x \rightarrow -2I_xS_z$) es equivalente a invertir el efecto del acoplamiento generado durante el primer eco de espín, por lo que el segundo eco reenfoca este efecto. Se produce un "eco perfecto", ausente de la modulación que produce el acoplamiento escalar. Años después el procedimiento fue redescubierto para aplicarlo en estudios de difusión mediante ecos de espín con gradientes (25). Posteriormente Gareth Morris ha demostrado (26) que la secuencia, aunque no da lugar a un eco enteramente perfecto en el caso de

más de dos espines, suprime prácticamente la modulación J si se cumple la condición $2\pi J\tau \ll 1$. Incluso lo hace en el caso de acoplamiento fuerte. Este requisito es mucho menos severo que la condición $2\pi\nu_{AB}\tau \ll 1$, por lo que su aplicación no suele presentar problemas.

Referencias

1. E.M. Purcell, H.C. Torrey, R.V. Pound, *Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid*, Phys. Rev., 69, 37-38, 1946.
2. F. Bloch, W.W. Hansen, M. Packard, *Nuclear Induction*, Phys. Rev., 70, 127, 1946.
3. F. Bloch, *Nuclear Induction*, Phys. Rev., 70, 460-474, 1946.
4. H.C. Torrey, *A Pulse Method for Nuclear Magnetic Resonance*, Phys. Rev., 75, 1326, 1949.
5. H.C. Torrey, *Transient Nutations in Nuclear Magnetic Resonance*, Phys. Rev., 76, 1059-1068, 1949.
6. E.L. Hahn, *An Accurate Nuclear Magnetic Resonance Method for Measuring Spin-Lattice Relaxation Times*, Phys. Rev., 76, 145-146, 1949.
7. E.L. Hahn, *Nuclear Induction due to Free Larmor Precession*, Phys. Rev., 77, 297-298, 1950.
8. E.L. Hahn, *Pulsed NMR - A Personal History*, en *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* (D.M. Grant, R.K. Harris, eds), Vol 1: *Historical Perspectives*, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, 1996.
9. E.L. Hahn, *Spin Echo*, Phys. Rev., 77, 746, 1950.
10. E.L. Hahn, *Spin Echo*, Phys. Rev., 80, 580-594, 1950.
11. H.Y. Carr, E.M. Purcell, *Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments*, Phys. Rev., 94, 630-638, 1954.
12. H.C. Torrey, *Bloch Equations with Diffusion Terms*, Phys. Rev., 104, 563-565, 1956.
13. R.L. Vold, J.S. Waugh, M.P. Klein, D.E. Phelps, *Measurement of Spin Relaxation in Complex Systems*, J. Chem. Phys., 48, 3831-3832, 1968.
14. E.L. Hahn, *Detection of Sea-Water Motion by Nuclear Precession*, J. Geophys. Res., 65, 776-777, 1960.
15. S. Meiboom, D. Gill, *Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times*, Rev. Sci. Instrum., 29, 688-691, 1958.
16. Z. Luz, S. Meiboom, *Nuclear Magnetic Resonance Study of the Protolysis of Trimethylammonium Ion in Aqueous Solution - Order of the Reaction with Respect to Solvent*, J. Chem. Phys., 39, 366-370, 1963.
17. E.J. Wells, H.S. Gutowsky, *NMR Spin-Echo Trains for a Coupled Two-Spin System*, J. Chem. Phys., 43, 3414-3415, 1965.
18. A. Allerhand, *Analysis of Carr-Purcell Spin-Echo NMR Experiments on Multiple-Spin Systems. I. The Effect of Homonuclear Coupling*, J. Chem. Phys., 44, 1-9, 1966.
19. R. Freeman, H.D.W. Hill, *High-Resolution Study of NMR Spin Echoes: "J Spectra"*, J. Chem. Phys., 54, 301-313, 1971.
20. G.A. Morris, R. Freeman, *Enhancement of Nuclear Magnetic Resonance Signals by Polarization Transfer*, J. Am. Chem. Soc., 101, 760-762, 1979.
21. W.P. Aue, J. Karhan, R.R. Ernst, *Homonuclear broad band decoupling and two-dimensional J-resolved NMR spectroscopy*, J. Chem. Phys., 64, 4226-4227, 1976.
22. L. Müller, A. Kumar, R.R. Ernst, *Two-dimensional Carbon-13 NMR Spectroscopy*, J. Chem. Phys. 63, 5490-5491, 1975.
23. G. Bodenhausen, R. Freeman, R. Niedermeyer, D.L. Turner, *High-Resolution NMR in Inhomogeneous Magnetic Fields*, J. Magn. Reson., 24, 291-294, 1976.

24. K. Takegoshi, K. Ogura and K. Hikichi, *A Perfect Spin Echo in a Weakly Homonuclear J-Coupled Two Spin-1/2 System*, J. Magn. Reson., 84, 611–615, 1989.
25. A.M. Torres, G. Zheng, W.S. Price, *J-compensated PGSE: an improved NMR diffusion experiment with fewer phase distortions*, Magn. Reson. Chem., 48, 129-133, 2010.
26. J.A. Aguilar, M. Nillson, G. Bodenhausen, G.A. Morris, *Spin echo NMR spectra without J modulation*, Chem. Commun., 48, 811-813, 2012.