

Historias de la RMN

Jorge Santoro

12. RMN mediante transformada de Fourier

Una gran parte de los experimentos de RMN que se hicieron durante los primeros años desde su descubrimiento se realizaron siguiendo el patrón inicial: barriendo el campo magnético mientras se aplicaba una radiofrecuencia fija. Poco a poco los estudios fueron cambiando al uso de un campo magnético de intensidad constante y de un barrido de la frecuencia de excitación. En ambos casos se trata de experimentos conocidos como de onda continua, puesto que la radiofrecuencia está presente durante todo el experimento. Sin embargo, Felix Bloch había sugerido desde el principio (1) que existe un modo alternativo de observar la inducción nuclear, el nombre que daba él a la RMN: *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.* La diferencia entre ambos tipos de experimentos estriba en que en el de onda continua se detecta la inducción nuclear forzada, mientras que en la excitación mediante un pulso se detecta una inducción nuclear libre que se va atenuando debido a la relajación; la *free induction decay* o fid. En ambos casos la precesión de la magnetización alrededor del campo magnético estático, B_0 , tiene lugar a la misma frecuencia, $\nu = \gamma B_0 / 2\pi$. A pesar de la sugerencia de Bloch, tan solo en algunos casos se utilizaba esta alternativa, fundamentalmente en aquellos en que el interés era el estudio de los tiempos de relajación o de la difusión traslacional.

En 1956 Irving Lowe estaba estudiando la fid, los ecos de espín y los tiempos de relajación del flúor en teflón en función de la temperatura con objeto de determinar los porcentajes de regiones amorfas y cristalinas. A baja temperatura, 77 K, observó que la fid no decrecía monótonamente, sino que mostraba ciertos batidos. Realizó el mismo experimento con varios compuestos y observó el mismo tipo de batidos a baja temperatura. Con objeto de explicarlos derivó, inducido por su director de tesis Richard Norberg, una fórmula para la forma general de una fid en el caso de núcleos de espín $I = 1/2$ en una red rígida, algo que años antes había hecho John Van Vleck para las señales de absorción en los espectros de onda continua (2). En el desarrollo (3) demostró que la señal de absorción, $g(\nu)$, y la fid, $f(t)$, son pares de Fourier. Esto implica que, no solo $g(\nu)$ y $f(t)$ incluyen la misma información, sino que la una puede obtenerse a partir de la otra. Lowe y Norberg utilizaron este hecho para comparar la transformada de Fourier inversa de datos de onda continua con la fid correspondiente. Este resultado, crucial para el desarrollo de la técnica, tardaría diez años en ser aprovechado para incrementar la sensibilidad de la espectroscopía de RMN.

Uno de los problemas a los que se enfrentaba la espectroscopía de RMN en los años 60 del siglo pasado era el de su baja sensibilidad, lo que obligaba a trabajar con líquidos netos o disoluciones muy concentradas. Varios investigadores (4-7) propusieron en 1963, casi simultáneamente, una solución idéntica al problema, consistente en sumar la señal de varios experimentos iguales realizados secuencialmente y promediar el resultado. La idea no era nueva. Se había aplicado en

otros campos (por ejemplo, en el estudio de potenciales evocados del cerebro o en medidas de tiempo de vuelo de neutrones), primero efectuando las sumas a mano y posteriormente mediante dispositivos digitales, *Computer Average of Transients* o CAT. La comercialización de estos dispositivos digitales (por ejemplo, el Mnemotron CAT 400B, que fue el primero de ellos y que disponía de 400 canales) impulsó su uso en RMN. Oleg Jardetzky publicó un trabajo (4) en el que mediante la suma de 500 barridos obtenía el espectro de protón del nucleótido de difosfopiridina con una concentración 2 milimolar. Melvin Klein y George Barton, en un trabajo más extenso (5), en el que también aplicaban el método a espectros de EPR, mostraban la obtención del espectro de RMN de deuterio con una muestra de 0,5 cm³ de agua del grifo, para lo que llegaban a acumular 4.000 barridos de 0,4 segundos de duración. Pierre Laszlo y Paul von Ragué Schleyer, por su parte, aplicaban el método a la observación de los satélites de ¹³C en muestras en abundancia natural (6) con objeto de determinar varias constantes de acoplamiento en moléculas simétricas. Por último, Leland Allen y LeRoy Johnson mostraban un espectro de etilbenceno al 0,2% en CCl₄ obtenido con cien barridos (7), si bien comentaban que habían llegado a hacer acumulaciones durante 14 horas sin problemas de estabilidad del campo magnético. Todos estos autores se habían limitado a estudiar tan solo una pequeña parte del espectro. El problema, tal como pusieron en evidencia Allen y Johnson (7), es que en aquella época un espectro típico de ¹H cubría de 500 a 1000 Hz por lo que para estudiarlo con un CAT de 400 canales con buena resolución había que dividirlo en varias secciones. Afortunadamente pronto empezaron a estar disponibles CATs de 4096 canales que permitirían analizar todo el espectro. Realizando un barrido a una velocidad de uno o dos hercios por segundo (suficientemente lenta como para no distorsionar la forma de línea) se podían acumular del orden de cien barridos durante una noche, con una mejora de la relación señal/ruido de un orden de magnitud.

Richard Ernst analizó matemáticamente la ganancia esperada con la acumulación de espectros para diversas funciones de correlación del ruido (8) llegando a la conclusión de que la dependencia de la relación señal/ruido con la raíz cuadrada del número de acumulaciones se cumple estrictamente para el ruido blanco y es una aproximación razonable para las formas de ruido más comunes. En un segundo artículo (9) analizaba la posibilidad de utilizar un barrido de velocidad "intermedia" en el promediado de espectros. Ernst concluía que la mejora de la relación señal/ruido mediante el uso de un barrido intermedio en el promediado de espectros podía ser bastante significativa, siempre que la distorsión en la forma de línea no fuera excesiva. Consideraba además que puesto que los CATs trabajan en una base digital e inherentemente tienen una resolución restringida la pérdida de resolución provocada por dicha distorsión no debía constituir un problema grave. La utilización de CATs, que permitía sumar repeticiones del espectro con facilidad, parecía una solución prometedora a los problemas de sensibilidad de la RMN.

En la empresa Varian, en la que Ernst realizaba su formación posdoctoral, se había empezado a considerar una forma alternativa de incrementar la sensibilidad (10). La idea original se debía al fundador de la empresa, Russell Varian, que la había patentado años antes (R. H. Varian, US Pat. 3 109 138, presentada el 29 de agosto de 1956; aceptada el 29 de octubre de 1963). El procedimiento que proponía era peculiar: excitar simultáneamente todas las líneas en el espectro con una fuente de ruido de banda ancha; heterodinar las señales resultantes hasta el rango de audiofrecuencia y grabar el resultado en una cinta magnética; pegar el final de la cinta al principio; reproducir la cinta sin fin resultante muchas veces, cada vez mezclándola con una frecuencia de prueba diferente; dirigir la salida del mezclador a un filtro de banda estrecha. El resultado final proporcionaría la intensidad

del espectro a la frecuencia de prueba. Básicamente se trataba de un análisis de Fourier, realizado de un modo muy peculiar. El sistema, que parece que nunca llegó a intentarse, no trabajaba en tiempo real. Su ventaja, sin embargo, residía en que se excitaban todas las frecuencias del espectro simultáneamente.

Weston Anderson, director de la sección de investigación de la empresa Varian, tuvo una idea que permitiría trabajar en tiempo real. Su propuesta consistía en una rueda dividida en segmentos cilíndricos. Cada segmento contenía una película fotográfica con bandas transparentes y bandas opacas. En el centro de la rueda había una luz que tras atravesar un segmento incidía en un detector fotoeléctrico. Al girar la rueda cada segmento cilíndrico cortaría la luz con una frecuencia ligeramente diferente, por lo que la salida del detector fotoeléctrico contendría un intervalo amplio de frecuencias. Esta señal se mezclaría luego con una frecuencia de *offset* adecuada y se transmitiría a la sonda para estimular simultáneamente todas las señales de resonancia del espectro. La detección podía hacerse en tiempo real mediante el proceso inverso: aplicando la señal del receptor a una segunda fuente de luz dirigida a un segundo detector fotoeléctrico colocado a 180° del primero. El dispositivo, que recibió el nombre de rueda de la fortuna o rueda de plegarias (en alusión a las ruedas de oración tibetanas), aunque se construyó no llegó a probarse, puesto que antes de hacerlo Anderson tuvo una idea mejor.

La nueva idea de Anderson no incluía nociones nuevas, pero conllevaba la genialidad de combinar tres conceptos preexistentes de un modo que revolucionaría la espectroscopía de RMN. La excitación de todas las frecuencias se realizaría mediante un pulso de radiofrecuencia. La respuesta estacionaria, el espectro, se obtendría mediante la transformada de Fourier de la respuesta transitoria, la fid. La acumulación de fids en un CAT incrementaría la relación señal/ruido. Anderson compartió su idea con Ernst, que se puso inmediatamente a la tarea de validarla teórica y experimentalmente. Para ello tuvo que ensamblar un espectrómetro de pulsos, puesto que Varian solo construía espectrómetros de onda continua. Los primeros experimentos los realizó durante el verano de 1964, meses en los que Anderson realizaba un largo viaje al extranjero. El 16 de septiembre de 1964 obtuvo los primeros resultados cuya gran calidad le sorprendió. Cuando Anderson volvió de su viaje también se mostró muy satisfecho con los resultados. Según Ernst, dado lo engorroso del tratamiento matemático, el entusiasmo por el nuevo método no fue completo. Tal como ha contado Ernst con cierto humor en varias oportunidades, el proceso consistió en lo siguiente (11): *The free induction decays were acquired in a time averaging computer and punched on paper tape. The paper tape had to be carried from Palo Alto to IBM in San Jose to transfer the data to a bunch of cards. With the cards we went to the Palo Alto Computer Service Center where the Fourier transformation and the plotting were done. The entire process took about 48 hours in comparison with a normal spectrum being run in just ten minutes! Nevertheless, we claimed in our paper a substantial time saving — and the readers believed it!* A pesar de estas "suspicias", Ernst y Anderson enviaron un artículo al *Journal of Chemical Physics*. El artículo fue rechazado dos veces, al considerarlo demasiado técnico y carente de suficiente originalidad (afortunadamente para ellos los nombres de los revisores permanecen en secreto). Lo enviaron después al *Review of Scientific Instruments* donde, tras una revisión, fue aceptado finalmente, apareciendo en el número de enero de 1966 (12).

El artículo de Ernst y Anderson analizaba el comportamiento de un sistema de espines sometido a una secuencia repetitiva de pulsos de radiofrecuencia, el procedimiento utilizado para acumular la señal. Este análisis les permitía determinar el ángulo de giro producido por el pulso que

proporciona la mayor sensibilidad, el conocido posteriormente como ángulo de Ernst. Deducían además que, al depender la intensidad de cada línea de su valor de T_1 , el procedimiento daba lugar a inexactitudes en las intensidades relativas a no ser que el tiempo de repetición del experimento básico (pulso-fid) fuera largo en comparación con T_1 y T_2 . Pasaban después a analizar la sensibilidad del método en comparación con el de onda continua. Puesto que en el tiempo necesario para obtener el espectro mediante onda continua es posible acumular un gran número de fids, la ganancia resultaba proporcional a la raíz cuadrada de la relación entre la anchura espectral y la anchura de línea. Un último problema que abordaron fue el de la corrección de fase. Como consecuencia de la perturbación que introduce el sistema electrónico de detección la fase de las señales no es la adecuada y varía de unas señales a otras, afortunadamente de modo lineal con la frecuencia. La corrección de fase para obtener señales de absorción pura puede hacerse fácilmente combinando adecuadamente la transformada coseno (parte real de la FT en la nomenclatura actual) y la transformada seno (parte imaginaria de la FT). Dado el método de procesado que utilizaban, que dependía de cálculos en un ordenador externo, es obvio que no resultaba eficiente hacer la corrección de fase tras observar el resultado de la transformada de Fourier. Propusieron, entonces, un método de corrección de fase automático que realizaba su programa de cálculo de modo que el resultado final se obtenía en un solo paso por el ordenador. En el artículo exponían la teoría básica del experimento. Para ilustrar la utilidad del método comparaban el espectro de 1% de etilbenceno disuelto en hexafluorobenceno registrado mediante onda continua en 350 segundos con el obtenido mediante la acumulación de 25 fids. Considerando la diferencia de tiempo entre ambos espectros, el segundo mostraba una relación señal/ruido seis veces mayor. Mostraban, además, que este resultado podía mejorarse multiplicando la fid por una exponencial decreciente. Incluían un segundo ejemplo, el espectro de una solución de progesterona 11 mM obtenido en 500 segundos. La calidad del espectro obtenido mediante la acumulación de 500 fids permitía observar claramente la señal del único protón del doble enlace de la progesterona.

La difusión del método de pulsos se beneficiaría de otros avances que se habían producido casi simultáneamente con la propuesta de Ernst y Anderson. En 1965 James Cooley y John Tukey desarrollaron un nuevo algoritmo para llevar a cabo la transformada de Fourier de una manera muy eficiente (13), lo que se conocería como *Fast Fourier Transform* o FFT. Con este avance, un ordenador podía llevar a cabo una transformada de Fourier de 4096 puntos de datos en "tan solo" unos minutos. El otro avance fue la incorporación al mundo de los ordenadores del PDP-8, que Digital Equipment Corporation introdujo en 1965. El PDP-8 (*Programmed Data Processor-8*) fue el primer miniordenador exitoso comercialmente y es considerado como el más importante en la década de 1960. Era "relativamente económico" (la primera versión costaba unos 20.000 dólares, aunque el precio disminuyó rápidamente) y se vendieron más de 50.000 unidades de las diferentes versiones.

A pesar de que todo estaba a favor, la respuesta inmediata a la propuesta de Ernst y Anderson en general no fue entusiasta. Varian desarrolló un accesorio de pulsos para el espectrómetro HR-100 que, según Ernst, no funcionaba adecuadamente. Posteriormente, su siguiente espectrómetro, el XL-100, se diseñó con un sistema de modulación del campo que impedía la implementación de la espectroscopía por transformada de Fourier, si bien posteriormente se modificaría para permitirlo. En última instancia, fue la empresa alemana Bruker Analytische Messtechnik la que demostró y vendió el primer equipo de transformada de Fourier diseñado en 1969. Tony Keller, encargado de Bruker en Estados Unidos, estaba construyendo un espectrómetro de RMN multinuclear y decidió que valía la pena probar también la espectroscopía de Fourier (14). El principal inconveniente era

¿Son equivalentes los espectros FT y los de onda continua?

En un experimento de onda continua la intensidad de una transición r_s es proporcional a la diferencia de población entre los estados E_s y E_r que conecta. Más concretamente

$$L_{rs} \propto (P_s - P_r) |F_{y,rs}|^2$$

donde F_y es el operador de espín total, $F_y = \sum I_y$. La frecuencia a la que aparece la señal en el espectro viene dada por $\nu_{rs} = (E_s - E_r)/h$.

En la espectroscopía FT la fid corresponde al valor esperado de la magnetización en el plano (por simplicidad vamos a considerar que se detecta la magnetización en el eje y , M_y)

$$\langle M_y(t) \rangle = \gamma \hbar \text{Tr}(\sigma(t) \cdot F_y)$$

donde σ es la matriz densidad. Los elementos de la matriz densidad evolucionan en el tiempo como

$$\sigma_{rs}(t) = \sigma_{rs}(0) \cdot \exp[i(E_s - E_r)t/\hbar]$$

El elemento σ_{rs} , asociado a la transición r_s , oscila a la misma frecuencia que en el caso de onda continua. Su intensidad, sin embargo, depende de $\sigma_{rs}(0)$. Si la matriz densidad previa al pulso, $\sigma(-0)$, tan solo contiene términos diagonales (poblaciones de estados) se cumple

$$\sigma_{rs}(0) = \sum_t U_{rt} \sigma_{tt}(-0) U_{ts}^{-1}$$

donde U es la matriz correspondiente al pulso de excitación, $\exp(-i\theta F_x)$. La intensidad de la línea r_s depende de la población de todos los niveles de energía. En principio las intensidades relativas de las líneas espectrales serán distintas en ambos tipos de espectros, aunque hay casos en los que ambos espectros son equivalentes. Para ilustrar las características de los espectros FT vamos a usar un sistema de tres espines acoplados débilmente, AMX. Tras un pulso θ que afecte a todos los espines las coherencias de cuanto sencillo asociadas al espín A son:

- Coherencia $\beta\alpha\alpha, \alpha\alpha\alpha$: frecuencia $\nu_A + (J_{AM} + J_{AX})/2$; intensidad proporcional a $(P_{\alpha\alpha\alpha} - P_{\beta\alpha\alpha}) s(1+2c+c^2) + (P_{\alpha\beta\alpha} - P_{\beta\beta\alpha}) s(1-c^2) + (P_{\alpha\alpha\beta} - P_{\beta\alpha\beta}) s(1-c^2) + (P_{\alpha\beta\beta} - P_{\beta\beta\beta}) s(1-2c+c^2)$ donde $s = \sin(\theta)$ y $c = \cos(\theta)$.
- Coherencia $\beta\beta\alpha, \alpha\beta\alpha$: frecuencia $\nu_A + (-J_{AM} + J_{AX})/2$; intensidad proporcional a $(P_{\alpha\alpha\alpha} - P_{\beta\alpha\alpha}) s(1-c^2) + (P_{\alpha\beta\alpha} - P_{\beta\beta\alpha}) s(1+2c+c^2) + (P_{\alpha\alpha\beta} - P_{\beta\alpha\beta}) s(1-2c+c^2) + (P_{\alpha\beta\beta} - P_{\beta\beta\beta}) s(1-c^2)$
- Coherencia $\beta\alpha\beta, \alpha\alpha\beta$: frecuencia $\nu_A + (J_{AM} - J_{AX})/2$; intensidad proporcional a $(P_{\alpha\alpha\alpha} - P_{\beta\alpha\alpha}) s(1-c^2) + (P_{\alpha\beta\alpha} - P_{\beta\beta\alpha}) s(1-2c+c^2) + (P_{\alpha\alpha\beta} - P_{\beta\alpha\beta}) s(1+2c+c^2) + (P_{\alpha\beta\beta} - P_{\beta\beta\beta}) s(1-c^2)$
- Coherencia $\beta\beta\beta, \alpha\beta\beta$: frecuencia $\nu_A + (-J_{AM} - J_{AX})/2$; intensidad proporcional a $(P_{\alpha\alpha\alpha} - P_{\beta\alpha\alpha}) s(1-2c+c^2) + (P_{\alpha\beta\alpha} - P_{\beta\beta\alpha}) s(1-c^2) + (P_{\alpha\alpha\beta} - P_{\beta\alpha\beta}) s(1-c^2) + (P_{\alpha\beta\beta} - P_{\beta\beta\beta}) s(1+2c+c^2)$

En el equilibrio térmico se cumple $(P_{\alpha\alpha\alpha} - P_{\beta\alpha\alpha}) = (P_{\alpha\beta\alpha} - P_{\beta\beta\alpha}) = (P_{\alpha\alpha\beta} - P_{\beta\alpha\beta}) = (P_{\alpha\beta\beta} - P_{\beta\beta\beta}) = \gamma B_0 \hbar / kT \cdot N/8$ y las cuatro líneas del espectro tienen la misma intensidad, proporcional a la diferencia de población entre los estados que conectan, independientemente de cual sea el pulso de excitación. El espectro FT y el de onda continua son equivalentes.

En casos descritos por una matriz densidad diagonal en un sistema que no se encuentre en equilibrio termodinámico interno (por ejemplo, en experimentos SPI o CIDNP) podemos distinguir las siguientes posibilidades:

- Si el ángulo θ es pequeño, $\cos(\theta)$ tiende a 1 y el término dominante en cada caso es el correspondiente a las poblaciones de los dos niveles asociados a la coherencia. El espectro FT y el de onda continua son similares, tanto más parecidos cuanto menor sea θ .
- Si el pulso es de 90° , $\cos(\theta)=0$ y las cuatro líneas tienen la misma intensidad, $\sin(\theta)$, independientemente de cual sea la distribución de poblaciones. El espectro FT no refleja la diferencia de población entre los dos estados asociados a cada coherencia.
- Para valores intermedios del pulso de medida las intensidades relativas de las señales dependen de las poblaciones de todos los niveles de energía y de la longitud del pulso.

Las conclusiones obtenidas se cumplen también para sistemas de espines con acoplamiento fuerte.

Las consideraciones anteriores se refieren al caso en que el pulso de excitación afecta a todos los espines. Si el pulso tan solo afecta al espín A, las intensidades de las coherencias son las descritas previamente considerando $c=1$. En ese caso el espectro FT es equivalente al de onda continua.

que el procesado debía hacerse externamente en un ordenador central. Afortunadamente en esa época la empresa Fabritek (denominada posteriormente Nicolet), que suministraba CATs a Bruker,

había combinado su procesador de adquisición con miniordenadores PDP-8. Incorporada esta combinación al espectrómetro los resultados con protón no eran satisfactorios, puesto que el lock de ^{19}F se veía afectado por los pulsos. Keller decidió entonces probar con ^{13}C , núcleo para el que obtuvo muy buenos resultados. Con una clara visión de futuro Bruker introdujo en 1972 en el mercado la primera serie de espectrómetros que trabajaba exclusivamente en el modo de transformada de Fourier, serie denominada WH (*Work Horse*). Casi inmediatamente el resto de casas comerciales efectuaron el salto definitivo a la tecnología FT. La incorporación a los espectrómetros de miniordenadores que efectuaban tanto la adquisición de la fid como su posterior procesado (por ejemplo, el Bruker BNC-12 o el Varian 620) facilitó grandemente la tarea de obtención de los espectros y contribuyó a la rápida aceptación del nuevo método.

Los primeros espectrómetros FT usaban, al igual que su contraparte de onda continua, un único detector. Puesto que la transformada de Fourier de datos reales no permite distinguir el signo de la frecuencia, el pulso de excitación tenía que aplicarse a una frecuencia que correspondiera a un extremo del espectro (12). Pronto se hizo evidente que este procedimiento desperdiciaba la mitad de la potencia del pulso y disminuía la relación señal/ruido en raíz de dos, debido a que el ruido a un lado de la portadora se pliega sobre el otro lado. Para evitar este problema se plantearon varias soluciones. Alfred Redfield (15) y John Waugh (16) propusieron el uso de dos canales de detección cuyas señales de referencia diferían en fase en 90° , una detección de fase en cuadratura. Adam Allerhand (17) el empleo de filtros de cristal, que permiten discriminar las frecuencias positivas respecto a la portadora de las negativas. Más adelante Redfield formuló otra posibilidad (18) que podía adaptarse con facilidad a los espectrómetros existentes puesto que exigía modificaciones mínimas. La estrategia consistía en incrementar la fase de referencia de un único detector en 90° entre puntos sucesivos de la adquisición, una estrategia que se adaptaría años después a la espectroscopía bidimensional (19) con el nombre de TPPI (*Time Proportional Phase Incrementation*). Las distintas casas comerciales eligieron soluciones diferentes. Varian se inclinó por la detección en cuadratura, mientras que Bruker lo hizo por el procedimiento TPPI. Ambas soluciones originaban un nuevo problema. Imperfecciones en el hardware y variaciones inevitables en las fases daban lugar a la aparición de señales espurias que aparecían a la frecuencia de la señal real cambiada de signo (denominadas imágenes de cuadratura). La primera solución a este nuevo problema la plantearon Edward Stejskal y Jacob Schaefer (20) para la detección en cuadratura con un procedimiento que permitía corregir errores debidos al desajuste en la intensidad o en la fase entre los dos detectores, pero no ambos desajustes si se presentaban simultáneamente. La solución definitiva la proporcionaron David Hoult y Rex Richards (21). Su método consistía en incrementar en 90° la fase del pulso de excitación y la del receptor en adquisiciones sucesivas, lo que da lugar a un ciclo de fases de longitud cuatro. El ciclo de fases fue bautizado como CYCLOPS, *CYCLically Ordered Phase Sequence*, y fue utilizado en casi todos los espectrómetros de RMN desde mediados de los años setenta, puesto que eliminaba las imágenes de cuadratura tanto en la detección en cuadratura pura como en el procedimiento TPPI. Actualmente la digitalización de los espectrómetros ha llevado a que todas las casas comerciales utilicen una detección en cuadratura digital, lo que elimina los problemas de imágenes de cuadratura sin necesidad de recurrir a ciclos de fase.

Acostumbrados como estamos en la actualidad a obtener los espectros monodimensionales de RMN mediante la excitación con un pulso seguida de la transformada de Fourier de la respuesta, no resulta fácil percibir la enorme trascendencia que ha tenido esta modificación para el desarrollo de la RMN. Dejando aparte cuestiones de sensibilidad y las enormes posibilidades que presentan las

técnicas de pulsos para manipular los espines (la "coreografía de espines" en la atinada expresión que acuñó Ray Freeman), basta con considerar el tiempo necesario para obtener un espectro mediante la técnica de onda continua. Ernst y Anderson ilustraban su propuesta (12) con espectros obtenidos en un espectrómetro de 60 MHz. Cubrir las 10 ppm de un espectro de protón a una velocidad de 1 Hz/s, velocidad necesaria para no distorsionar las señales, requería 600 segundos. En un espectrómetro de 500 MHz, un instrumento relativamente habitual en la actualidad, el tiempo necesario sería de 5.000 segundos, casi hora y media. Si se tratara de un espectro de ^{13}C cubrir una anchura espectral de 200 ppm (25.000 Hz) requeriría siete horas. En todos los casos anteriores la obtención del espectro con una resolución de 1 Hz mediante la excitación con un pulso y posterior transformada de Fourier de la respuesta tan solo requiere (suponiendo que la relación señal/ruido es suficiente) detectar la fid durante un segundo. En esto radica la virtud del método FT: el tiempo requerido para registrar un espectro es independiente de la anchura espectral.

De no ser por la excitación mediante un pulso y posterior transformada de Fourier de la respuesta no solo no existiría el repertorio de técnicas actuales de la RMN, sino que, muy probablemente, el desarrollo de espectrómetros cada vez de mayor campo magnético se hubiera visto frenado por los largos tiempos que requeriría la obtención de los espectros mediante el método de onda continua.

Referencias

1. F. Bloch, *Nuclear Induction*, Phys. Rev., 70, 460-474, 1946.
2. J.H. Van Vleck, *The Dipolar Broadening of Magnetic Resonance Lines in Crystals*, Phys. Rev., 74, 1168-1183, 1948.
3. I.J. Lowe, R.E. Norberg, *Free-Induction Decays in Solids*, Phys. Rev., 107, 46-61, 1957.
4. O. Jardetzky, N.G. Wade, J.J. Fisher, *Proton Magnetic Resonance Investigation of Enzyme-Coenzyme Complexes*, Nature, 197, 183-184, 1963.
5. M.P. Klein, G.W. Barton, *Enhancement of Signal-to-Noise Ratio by Continuous Averaging: Application to Magnetic Resonance*, Rev. Sci. Instr., 34, 754-759, 1963.
6. P. Laszlo, P. von R. Schleyer, *Ring Size Effect on cis-Olefinic Coupling Constants of Cycloalkenes. Use of ^{13}C Patterns*, J. Am. Chem. Soc., 85, 2017-2018, 1963.
7. L.C. Allen, L.F. Johnson, *Chemical Applications of Sensitivity Enhancement in Nuclear Magnetic Resonance and Electron Spin Resonance*, J. Am. Chem. Soc., 85, 2668, 1963.
8. R.R. Ernst, *Sensitivity Enhancement in Magnetic Resonance. I. Analysis of the Method of Time Averaging*, Rev. Sci. Instrum., 36, 1689-1695, 1965.
9. R.R. Ernst, W.A. Anderson, *Sensitivity Enhancement in Magnetic Resonance. II. Investigation of Intermediate Passage Conditions*, Rev. Sci. Instrum., 36, 1696-1706, 1965.
10. W.A. Anderson, *Early NMR Experiences and Experiments*, en *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* (D.M. Grant, R.K. Harris, eds), Vol 1: *Historical Perspectives*, John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 1996.
11. R.R. Ernst, *This Week Citation Classic*, Current Contents, 27, 24, 1983.
12. R.R. Ernst, W.A. Anderson, *Application of Fourier Transform Spectroscopy to Magnetic Resonance*, Rev. Sci. Instrum., 37, 93-102, 1966.
13. J.W. Cooley, J.W. Tukey, *An algorithm for the machine calculation of complex Fourier series*, Math. Comp., 19, 297-301, 1965.

14. T. Keller, *The Development of the First Multinuclear Fourier NMR Spectrometers*, en *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* (D.M. Grant, R.K. Harris, eds), Vol 1: *Historical Perspectives*, John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 1996.
15. A.G. Redfield, R.K. Gupta, *Pulsed-Fourier-Transform Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer*, en *Advances in Magnetic Resonance* (J.S. Waugh, ed.), Vol 5, 81-115, Academic Press, New York/London, 1971.
16. J.D. Ellett Jr., M.G. Gibby, U. Haeberlen, L.M. Huber, M. Mehring, A. Pines, J.S. Waugh, *Spectrometers for Multiple-Pulse NMR*, en *Advances in Magnetic Resonance* (J.S. Waugh, ed.), Vol 5, 117-176, Academic Press, New York/London, 1971.
17. A. Allerhand, R.F. Childers, E. Oldfield, *Carbon-13 Fourier Transform NMR at 14.2 kG in a 20 mm Probe*, *J. Magn. Reson.*, 11, 272-218, 1973.
18. A.G. Redfield, S.D. Kunz, *Quadrature Fourier NMR Detection: Simple Multiplex for Dual Detection and Discussion*, *J. Magn. Reson.*, 19, 250-254, 1975.
19. D. Marion, K. Wüthrich, *Application of Phase Sensitive Two-dimensional Correlated Spectroscopy (COSY) for Measurements of ^1H - ^1H Spin-spin Coupling Constants in Proteins*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 113, 967-974, 1983.
20. E.O. Stejskal, J. Schaefer, *Data Routing in Quadrature FT NMR*, *J. Magn. Reson.*, 13, 249-251, 1974.
21. D.I. Hoult, R.E. Richards, *Critical Factors in the Design of Sensitive High Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectrometers*, *Proc. R. Soc. London*, A344, 311-340, 1975.