

Historias de la RMN

Jorge Santoro

14. Rotación al ángulo mágico

Tras el descubrimiento de la RMN en materia condensada el grupo liderado por Edward Purcell se interesó fundamentalmente por el estudio de sólidos. Un procedimiento de análisis era la determinación del momento de orden dos de la línea de absorción, puesto que, de acuerdo con la teoría desarrollada por John van Vleck (1), su valor en el caso de redes cristalinas está relacionado con los acoplamientos dipolares. Proporciona, por tanto, un método para determinar o validar parámetros estructurales a partir de las formas de línea experimentales. Durante estos estudios Herbert Gutowsky y George Pake comprobaron que en ocasiones la anchura de la señal de resonancia se afinaba al alcanzarse determinada temperatura con la consiguiente reducción del segundo momento de la señal (2). Para explicar este comportamiento efectuaron un tratamiento teórico en el que consideraban el efecto de una rotación sobre las interacciones dipolo-dipolo. El término $P_2 = (3\cos^2\theta - 1)/2$ que aparece en dichas interacciones, siendo θ el ángulo entre el eje internuclear y el campo magnético, debía sustituirse por su valor promedio en el caso de movilidad molecular, lo que tenía como consecuencia la disminución observada en la anchura de línea y en el momento de orden dos. Estos cambios, por tanto, podían proporcionar información sobre las barreras de potencial de rotaciones impedidas en sólidos.

Las observaciones de Gutowsky y Pake planteaban un problema, puesto que según la teoría de van Vleck el momento de orden dos de la señal debía permanecer invariante, aunque no necesariamente la forma de la señal. O la teoría de van Vleck era incorrecta (o incompleta) o las observaciones experimentales estaban viciadas de algún modo. Puesto que con posterioridad al trabajo inicial de Gutowsky y Pake se habían encontrado casos con un comportamiento similar resultaba necesario resolver el problema, de modo que los estudios de este tipo dispusieran de una base teórica sólida. La solución la encontró Raymond Andrew. Reexaminó la evolución temporal del término $(3\cos^2\theta - 1)$ en el caso de una rotación alrededor de un eje, llegando a la expresión (3):

$$3\cos^2(\theta_{ij}) - 1 = [3 \cos^2(\beta_{ij}) - 1] \cdot [3 \cos^2(\eta) - 1] / 2 \\ + 3 \sin^2(\eta) \sin^2(\beta_{ij}) \cos(2\omega_r t) / 2 \\ + 3 \sin(2\eta) \sin(2\beta_{ij}) \cos(\omega_r t) / 2$$

donde η es el ángulo que forma el eje de rotación con el campo B_0 , β_{ij} el ángulo que forma el eje internuclear r_{ij} con el eje de rotación y ω_r la velocidad angular de rotación. El término independiente del tiempo, que era el promedio que habían considerado Gutowsky y Pake en (2), da cuenta de la reducción en la anchura de la señal. La parte dependiente del tiempo debía generar señales satélite (líneas de rotación) a ambos lados de la señal principal. La inclusión de los términos dependientes del tiempo en el tratamiento teórico mantenía la invariancia del momento de orden dos deducida por van Vleck. Sin embargo, la observación experimental de las señales asociadas con estos términos era complicada puesto que debían de ser muy débiles al tener la rotación interna un amplio espectro de velocidades y, por lo tanto, extenderse sobre un amplio intervalo de frecuencias. El siguiente paso dado por Andrew fue el de confirmar experimentalmente la presencia de las señales laterales

predichas como consecuencia de la rotación. La rotación macroscópica de una muestra en la que no se hubiera observado movilidad podría simular el efecto del movimiento de rotación molecular. Puesto que en este caso todos los pares nucleares giran a la misma velocidad angular las señales laterales de todas las moléculas parecerían a la misma frecuencia, con lo que serían más intensas; por lo tanto, observables. Efectuado el experimento con un monocristal de cloruro sódico girándolo alrededor de un eje perpendicular al campo magnético B_0 a velocidades entre 100 y 800 Hz se confirmó el estrechamiento de la señal central de RMN de ^{23}Na , la presencia de las señales laterales de rotación y la invariancia del momento de orden dos (4).

Dada la dependencia de la señal principal con el ángulo que forma el eje de rotación con B_0 , Andrew se dio cuenta de que para un valor tal que $\cos^2(\eta) = 1/3$ el efecto de las interacciones dipolares se anularía en el caso del término independiente del tiempo, eliminándose por completo el ensanchamiento dipolar de la señal central. Si además la velocidad de rotación fuera suficientemente grande las señales laterales aparecerían lejos de la central y con poca intensidad, pudiendo ser incluso nulas (promedios de $\cos(\omega_r t)$ y de $\cos(2\omega_r t)$ en el tiempo típico de la interacción dipolar aproximadamente nulos). Confirmadas sus expectativas experimentalmente publicó el artículo correspondiente (5). Pero no fue el único. Irwing Lowe también llegó a la conclusión de que la modulación de la señal de resonancia debida al movimiento de rotación tenía el doble efecto de estrechar la señal y producir bandas laterales. Razonó, al igual que Andrew, que una rotación macroscópica de la muestra debía dar lugar a bandas laterales estrechas a frecuencias relacionadas con la de rotación. Sin embargo, no conseguía diseñar un dispositivo para girar la muestra a una velocidad suficiente como para observar el efecto. La inspiración le llegó tras una visita al dentista (6) en la que éste le atendió con un torno en el que la fresa giraba a gran velocidad impulsada por aire, un nuevo tipo de torno que se empezaba a utilizar en los tratamientos odontológicos. Diseñó una turbina impulsada por aire comprimido con la que logró velocidades de rotación de 7 kHz, lo que le permitió confirmar experimentalmente su predicción teórica con una muestra de fluoruro cálcico (7). En el trabajo mostraba también que para un eje de rotación que forma un ángulo de $54,7^\circ$ con el campo magnético se producía un gran estrechamiento de la línea central ($\cos^2(54,7^\circ) = 1/3$). Sin embargo, a diferencia de Andrew, no comentaba nada acerca de las ventajas que podía tener este hecho para la obtención de los espectros de sólidos. Como dato a resaltar, Lowe trabajaba con un espectrómetro de pulsos y obtenía el espectro mediante la transformada de Fourier de la fid, puesto que un par de años antes había demostrado (8) que la fid y el espectro en frecuencia son pares de Fourier. Sin embargo, no fue consciente de la ventaja que suponía este modo de obtener el espectro, que se adquiere en un tiempo experimental mucho menor que mediante la onda continua.

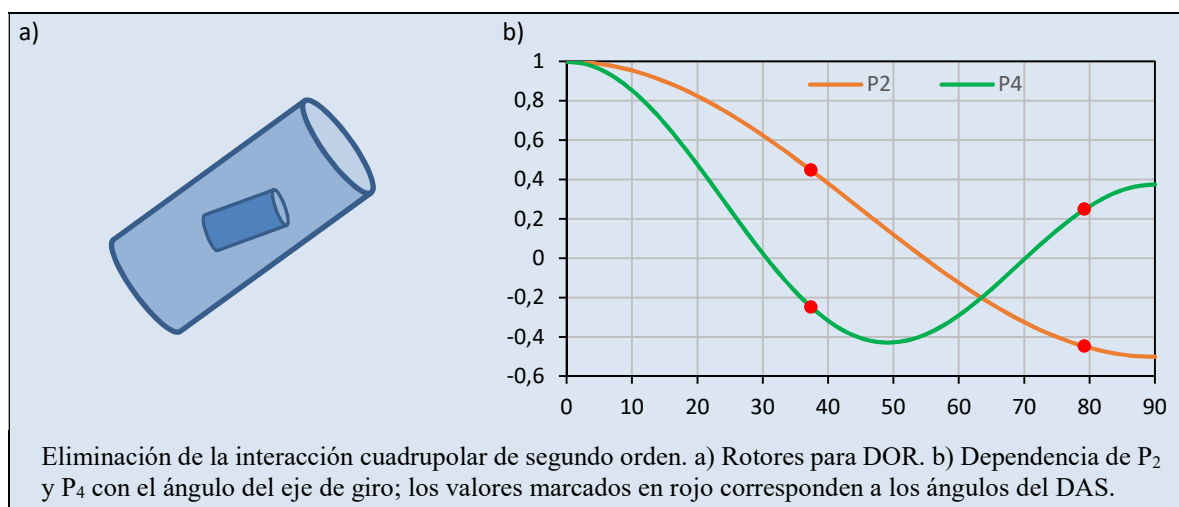
Cuando Andrew presentó sus resultados en un congreso en 1960 Cornelis Gorter comentó que la desaparición del ensanchamiento dipolar era mágica (9), de modo que Andrew comenzó a denominar a la técnica "*Magic Angle Spinning*", MAS, un nombre que ha perdurado. Su siguiente contribución consistió en efectuar un análisis más profundo de las consecuencias de la rotación al "ángulo mágico". En la publicación correspondiente (10) mostraba que dicha rotación era capaz de eliminar también los efectos de la anisotropía del desplazamiento químico y del desdoblamiento cuadrupolar de primer orden. Por tanto, resultaba teóricamente posible obtener espectros de sólidos con anchuras de línea similares a las de los espectros de líquidos y disoluciones. La disminución de la anchura de línea requería que la velocidad de rotación fuera comparable con la anchura de línea en la muestra estática. En el caso del protón, con anchuras de línea en el caso de sólidos de decenas de kilohercios, esto no resultaba posible experimentalmente. Sin embargo, Danica Doskočilová y

Bohdan Schneider (11) mostraron que era posible obtener un estrechamiento de la línea de ^1H en sólidos utilizando velocidades de rotación más moderadas si se cumplían determinadas condiciones. Si la muestra presenta movimientos internos aleatorios isótropos, no se cumple la condición necesaria y la rotación macroscópica no consigue reducir la anchura de línea salvo a velocidades de rotación extremadamente grandes. Sin embargo, si la movilidad interna es anisótropa y rápida, la rotación macroscópica es capaz de reducir la anchura de línea a velocidades de rotación que eran alcanzables experimentalmente. Por tanto, el giro al ángulo mágico era capaz de proporcionar información acerca de los tipos de movimiento de la muestra. Por otro lado, los autores ponían de manifiesto que en el caso de dispersiones líquido-sólido la rotación al ángulo mágico permitía obtener espectros con buena resolución, puesto que eliminaba el ensanchamiento dipolar. En su artículo (11), trabajando con un rotor capaz de girar a 10 kHz, presentaban resultados experimentales de ambos casos. En un segundo artículo mostrarían que la rotación al ángulo mágico también elimina el ensanchamiento debido a las diferencias en la susceptibilidad magnética que se dan en medios heterogéneos (12).

A pesar de estos avances, la rotación al ángulo mágico para el estudio de sólidos no alcanzó inicialmente gran difusión debido tanto a los pocos estudios que permitía, como al hecho de que no existían sondas comerciales que permitieran el giro al ángulo mágico. Varios hechos cambiaron este panorama algunos años después. Por un lado, el desarrollo de la excitación con un pulso seguida de la transformación de Fourier permitía incrementar de modo sustancial la sensibilidad mediante la acumulación de señales y estudiar con más facilidad el espectro de núcleos distintos del protón. Por otro, Alex Pines, M.G. Gibby y John Waugh (13) habían desarrollado un método, la polarización cruzada, que permitía transferir polarización de spines abundantes a spines diluidos en el caso de sólidos. En el caso de $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ en abundancia natural la ganancia teórica en sensibilidad alcanzaba los tres órdenes de magnitud. Estos avances abrían la puerta a investigar sólidos orgánicos. El último paso lo dieron Jacob Schaefer y Edward Stejskal al combinar la polarización cruzada con la rotación al ángulo mágico (14), lo que permitía obtener espectros de alta resolución de ^{13}C en abundancia natural en sólidos. Pronto las casas comerciales empezaron a ofrecer accesorios MAS para los espectrómetros de alta resolución (Por ejemplo, Varian en 1979 para el XL-200; Chemagnetics en 1979 ofrecía sondas CP-MAS, que posteriormente vendería Jeol para sus espectrómetros). En 1982 David Doty fundó la empresa Doty Scientific, Inc, (<http://dotynmr.com/>) que empezó a comercializar sondas de MAS de gran calidad, aprovechando diversos desarrollos en la tecnología de los rotores, lo que contribuyó a popularizar la técnica. Desde entonces se ha ido mejorando la tecnología de los rotores, llegándose en la actualidad a velocidades de rotación que superan los 100 kHz (ver, por ejemplo, <https://www.nmri.eu/> donde se anuncian velocidades de 200 kHz). Un sencillo cálculo muestra lo extraordinario de estos logros de la ingeniería. La velocidad periférica de un rotor de 2,5 mm que gire a 35 kHz es de 275 m/s y la correspondiente aceleración centrípeta de 6×10^6 g. Esta última obliga a que los materiales de los rotores sean tremendamente resistentes.

Además del ^{13}C , el otro núcleo cuyo estudio se benefició ampliamente de la técnica de CP/MAS fue el ^{29}Si , importante en el estudio de zeolitas. Mientras que MAS funcionaba bien con núcleos de spin 1/2, como los dos citados previamente, en el caso de núcleos con momento de cuadrupolo eléctrico los resultados resultaban pobres. Esto es debido a que la interacción cuadrupolar incorpora un efecto que depende del polinomio de Legendre de cuarto orden

$$P_4(x) = (35x^4 - 30x^2 + 3) / 8$$



No existe un valor de $x = \cos(\eta)$ para el que se anulen simultáneamente $P_2(x)$ y $P_4(x)$. A pesar de ello Alex Pines desarrolló métodos de rotación de la muestra que consiguen anular ambos polinomios. Uno (15) es el conocido como Doble Rotación (*Double Rotation* o DOR). Consiste en girar la muestra simultáneamente alrededor de dos ejes: un eje, al ángulo mágico de $54,74^\circ$ anula P_2 ; el otro, a un ángulo de $30,56^\circ$ o de $70,12^\circ$ anula P_4 . Para ello, la muestra se coloca en un rotor interno, que gira en el interior de un rotor externo. El otro método es denominado giro de ángulo dinámico (*Dynamic Angle Spinning* o DAS) (16). En él la muestra se gira secuencialmente alrededor de dos ejes que cumplan las condiciones

$$P_2(\cos\eta_1) = -P_2(\cos\eta_2) \text{ y } P_4(\cos\eta_1) = -P_4(\cos\eta_2)$$

Los ángulos que las cumplen son $\eta_1 = 37,38^\circ$ y $\eta_2 = 79,19^\circ$ y los tiempos de giro alrededor de cada eje deben ser iguales. Como el cambio del eje de rotación no se puede realizar instantáneamente, se debe preservar la magnetización transversal durante el período de cambio de ángulo. Esto puede conseguirse almacenando la magnetización en el eje z al final del primer periodo de giro y devolviéndola al plano tras el cambio de eje (16). Alternativamente, se puede usar un pulso de 180° en el centro del periodo de cambio de eje. Posteriormente se han propuesto otros experimentos capaces de anular los efectos dependientes de P_2 y P_4 . Lucio Frydman y John Harwood propusieron (17) el denominado MQMAS (*Multiple-Quantum Magic Angle Spinning*). Se trata de un experimento bidimensional que correlaciona una coherencia de cuanto múltiple con una de cuanto sencillo en el que el ensanchamiento debido a P_2 se elimina mediante la rotación de la muestra al ángulo mágico. Seleccionando la transferencia de coherencia $m(t_1) \rightarrow -1(t_2)$, se produce un eco isótropo (se compensan los efectos cuadrupolares) a los tiempos $t_2 = C(m)/C(-1) \cdot t_1$, donde $C(n)$ es la contribución del polinomio de orden cuatro para una coherencia de orden n. La transformada de Fourier del interferograma formado con los ecos proporciona un espectro carente de efectos anisótropos. Normalmente, sin embargo, se efectúa la transformada bidimensional y se realiza una rotación del espectro, puesto que esto permite determinar tanto el desplazamiento químico isótropo como los efectos cuadrupolares. El método de Frydman utiliza las transiciones $m/2 \leftrightarrow -m/2$ (coherencias de orden $\pm m$) y la central $1/2 \leftrightarrow -1/2$ (coherencias de orden ± 1). Zhehong Gan mostró posteriormente (18) que es posible obtener un efecto similar seleccionando una transición satélite de cuanto sencillo ($n \leftrightarrow n+1$) y la central. Su método se conoce con el nombre STMAS (*Satellite Transition Magic Angle*

Spinning). En todos los casos, salvo en el DAS, se efectúa un giro al ángulo mágico que se complementa con otro mecanismo que anula el efecto de la interacción cuadrupolar.

La aplicación de MAS a la obtención de espectros de ^1H , deseable por motivos de sensibilidad, se vio dificultada inicialmente por la presencia de interacciones dipolares ^1H - ^1H intensas. Puesto que el estrechamiento de las líneas espectrales solo es posible si la velocidad de rotación es mayor que las interacciones dipolares, los espectros de ^1H requerían velocidades mucho mayores que las que alcanzaban los primeros dispositivos MAS. La solución a este problema consistió en combinar métodos multipulso, que dan lugar a un desacoplamiento dipolar homonuclear, con el giro al ángulo mágico. La combinación de ambas técnicas no está exenta de problemas y se han propuesto por ello multitud de esquemas experimentales (19). Un enfoque más simple consiste en aumentar la velocidad de giro, porque la anchura de la señal de protón disminuye linealmente con ella. La llegada de sondas con frecuencias de giro de 50 kHz a principios de este siglo permitió obtener espectros de ^1H usando exclusivamente MAS. En el caso de proteínas, que presentan una extensa red de interacciones dipolares, esto no resultaba suficiente y la solución consistió en sustituir por deuterio todos los protones no intercambiables (20,21). Más recientemente, con rotores que superan los 100 kHz, ha sido posible obtener el espectro de proteínas totalmente protonadas (22).

Como hemos visto previamente, Doskočilová y Schneider habían puesto de manifiesto en 1970 que el giro al ángulo mágico permitía promediar el gradiente de susceptibilidad magnética y eliminar los acoplamientos dipolares residuales presentes en muestras heterogéneas (11, 12). Resultaba posible obtener espectros de calidad comparable a los de estado líquido en muestras semisólidas, tales como geles, tejidos celulares, lípidos, etc. Sin embargo, hasta los años 90 del siglo pasado prácticamente no hubo estudios en los que se aprovechara esta posibilidad. La situación cambió drásticamente cuando las casas comerciales se interesaron en el tema (23, 24) y la técnica, conocida como HR-MAS (*High Resolution Magic Angle Spinning*), pasó a formar parte de los métodos de la espectroscopía de RMN, ampliando su campo de aplicación.

Referencias

1. J.H. Van Vleck, *The Dipolar Broadening of Magnetic Resonance Lines in Crystals*, Phys. Rev., 74, 1168-1182, 1948.
2. H.S. Gutowsky, G.E. Pake, *Structural Investigations by Means of Nuclear Magnetism. II. Hindered Rotation in Solids*, J. Chem. Phys. 18, 162-170, 1950.
3. E.R. Andrew, R.E. Newig, *The Narrowing of Nuclear Magnetic Resonance Spectra by Molecular Rotation in Solids*, Proc. Phys. Soc, 72, 959-972, 1958.
4. E.R. Andrew, A. Bradbury, R.G. Eades, *Nuclear Magnetic Resonance Spectra from a Crystal rotated at High Speed*, Nature, 182, 1659, 1958.
5. E.R. Andrew, A. Bradbury, R.G. Eades, *Removal of Dipolar Broadening of Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Solids by Specimen Rotation*, Nature, 183, 1802-1803, 1959.
6. I.J. Lowe, *My Life in the Rotating Frame*, en *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* (D.M. Grant, R.K. Harris, eds), Vol 1: *Historical Perspectives*, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, 1996.
7. I.J. Lowe, *Free Induction Decays of Rotating Solids*, Phys. Rev. Lett., 2, 285-287, 1959.
8. I.J. Lowe, R.E. Norberg, *Free-Induction Decays in Solids*, Phys. Rev., 107, 46-61, 1957.

9. E.R. Andrew, *Spinning the Spins: A Lifetime in NMR*, en *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* (D.M. Grant, R.K. Harris, eds), Vol 1: *Historical Perspectives*, John Wiley and Sons Ltd, Chichester, 1996.
10. E.R. Andrew, R.G. Eades, *Possibilities for High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Crystals*, *Discuss. Faraday Soc.*, 34, 38-42, 1962.
11. D. Doskočilová, B. Schneider, *Narrowing of Proton NMR Lines by Magic Angle Rotation*, *Chem. Phys. Lett.*, 6, 381-384, 1970.
12. D. Doskočilová, B. Schneider, *Studies of Polymers by Nuclear Magnetic Resonance at Magic Angle Rotation. II. Characterization of Ion-Exchange Resins by High Resolution Nuclear Magnetic Resonance*, *Macromolecules*, 5, 125-127, 1972.
13. A. Pines, M.G. Gibby, J.S. Waugh, *Proton-enhanced NMR of dilute spins in solids*, *J. Chem. Phys.*, 59, 569-590, 1973.
14. J. Schaefer, E.O. Stejskal, *Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance of Polymers Spinning at the Magic Angle*, *J. Am. Chem. Soc.*, 98, 1031-1032, 1976.
15. A. Samoson, E. Lippmaa, A. Pines, *High Resolution Solid-State N.M.R. Averaging of Second-Order Effects by Means of a Double-Rotor*, *Mol. Phys.*, 65, 1013-1018, 1988.
16. K.T. Mueller, B.Q. Sun, G.C. Chingas, J.W. Zwanziger, T. Terao, A. Pines, *Dynamic-Angle Spinning of Quadrupolar Nuclei*, *J. Magn. Reson.*, 86, 470-487, 1990.
17. L. Frydman, J.S. Harwood, *Isotropic Spectra of Half-Integer Quadrupolar Spins from Bidimensional Magic-Angle Spinning NMR*, *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 5367-5368, 1995.
18. Z. Gan, *Isotropic NMR Spectra of Half-Integer Quadrupolar Nuclei Using Satellite Transitions and Magic-Angle Spinning*, *J. Am. Chem. Soc.* 122, 3242-3243, 2000.
19. E. Vinogradov, P.K. Madhu, S. Vega, *Strategies for High-Resolution Proton Spectroscopy in Solid-State NMR*, *Top. Curr. Chem.*, 246, 33-90, 2005.
20. J.R. Lewandowski, J.-N. Dumez, Ü. Akbey, S. Lange, L. Emsley, H. Oschkinat, *Enhanced Resolution and Coherence Lifetimes in the Solid-State NMR Spectroscopy of Perdeuterated Proteins under Ultrafast Magic-Angle Spinning*, *J. Phys. Chem. Lett.*, 2, 2205-2211, 2011.
21. V. Agarwal, S. Penzel, K. Szekely, R. Cadalbert, Emilie Testori, A. Oss, J. Past, A. Samoson, M. Ernst, A. Böckmann, B.H. Meier, *De Novo 3D Structure Determination from Submilligram Protein Samples by Solid-State 100 kHz MAS NMR Spectroscopy*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 53, 12253-12256, 2014.
22. S. Penzel, A. Oss, M.-L. Org, A. Samoson, A. Böckmann, M. Ernst, B.H. Meier, *Spinning Faster: Protein NMR at MAS Frequencies up to 126 kHz*, *J. Biomol. NMR*, 73, 19-29, 2019.
23. P.A. Keifer, L. Baltusis, D.M. Rice, A.A. Tymiak, J.N. Shoolery, *A Comparison of NMR Spectra Obtained for Solid-Phase-Synthesis Resins Using Conventional High-Resolution, Magic-Angle-Spinning, and High-Resolution Magic-Angle-Spinning Probes*, *J. Magn. Reson. Ser. A*, 119, 65-75, 1996.
24. W.E. Maas, F.H. Laukien, D.G. Cory, *Gradient, High Resolution, Magic Angle Sample Spinning NMR*, *J. Am. Chem. Soc.*, 118, 13085-13086, 1996.