

Historias de la RMN

Jorge Santoro

19. Pulsos de gradiente del campo magnético

La historia de los gradientes de campo magnético en RMN se remonta a 1950 con el artículo de Erwin Hahn en el que describía los ecos de espín (1). En él refería el uso de los ecos de espín para la medida de tiempos de relajación, así como la influencia de la difusión molecular debida a la variación espacial del campo magnético B_0 . La medición del tiempo de relajación T_2 se mejoró mediante la modificación efectuada por Herman Carr y Edward Purcell en el modo de producir los ecos de espín (2), $90^\circ-\tau-180^\circ-\tau$ en lugar de $\theta-\tau-\theta-\tau$, lo que da lugar a señales más intensas. Estos autores, además, efectuaban un análisis de los efectos de la difusión y de la convección en la medida y daban claves de cómo medir la difusión molecular o de minimizar sus efectos en la medida de T_2 . La minimización de los efectos de difusión se conseguía utilizando la secuencia $90^\circ-[\tau-180^\circ-\tau]_n$ en lugar de $90^\circ-n\tau-180^\circ-n\tau$. El caso contrario, en el que el interés fuera la medida de la difusión, requería la utilización de un único eco y la existencia de un gradiente de campo magnético intenso para que el efecto de T_2 fuera despreciable frente al de la difusión. La forma que idearon Carr y Purcell para conseguirlo fue la de colocar simétricamente a cada lado de la muestra dos cables lineales largos o dos espiras que condujeran una corriente eléctrica. La dirección de la corriente debía ser opuesta en los dos componentes. Este es, posiblemente, el primer dispositivo experimental utilizado en espectroscopía de RMN para la creación de gradientes de campo, aunque Rabi había utilizado un diseño equivalente en sus experimentos con haces moleculares.

La modificación posterior de Saul Meiboom y David Gill (3) consistente en utilizar pulsos coherentes con fases diferenciadas en 90° entre el pulso inicial y los de 180° perfeccionó aún más el método de medida de T_2 con ecos de espín. La eliminación de los efectos de difusión en la medida de T_2 requería utilizar una secuencia $90^\circ-[\tau-180^\circ-\tau]_n$, con un valor pequeño de τ y grande de n . En esas condiciones los pequeños errores en el pulso de 180° podían ser acumulativos. Sin embargo, con la modificación de Meiboom y Gill los pulsos de 180° pares corrigen el error debido a los impares, por lo que resulta posible la medida de tiempos de relajación transversal largos sin efectos apreciables de la difusión.

Aunque los ecos de espín resultaban muy adecuados para medir los coeficientes de difusión traslacional, presentaban un grave problema. La medida requería la existencia de un gradiente del campo magnético y este gradiente debía ser considerable si se querían medir coeficientes de difusión pequeños. En esas condiciones, que se aplicaban durante todo el experimento, se produce un incremento de la anchura de línea. Esto da lugar a una disminución de la anchura del eco como resultado del incremento en la velocidad de relajación aparente, T_2^* , lo que complica la medida de su intensidad. Además, la aplicación de pulsos de radiofrecuencia en presencia del gradiente de campo obliga a incrementar la potencia de la radiofrecuencia con la que se aplican, puesto que aumenta la anchura espectral a cubrir. La situación cambió drásticamente en 1965 con la sustitución de los gradientes de campo permanentes por gradientes de campo pulsados realizada por Edward Stejskal y John Tanner (4). La aplicación de dos gradientes de campo durante un corto periodo de tiempo, el primero entre el pulso de 90° y el de 180° y el segundo entre el pulso de 180° y el eco,

permitía trabajar con campos magnéticos homogéneos y eliminaba la mayoría de los inconvenientes del método de ecos de espín. En su artículo Stejskal y Tanner derivaron expresiones teóricas de la atenuación del eco debido a la difusión y las comprobaron experimentalmente obteniendo los coeficientes de difusión del agua y del glicerol a partir de la medida de la amplitud del eco.

La espectroscopía de RMN mediante excitación con pulsos y posterior transformada de Fourier de la respuesta había sido propuesta por Richard Ernst y Weston Anderson (5) en 1965, el mismo año de la propuesta de Stejskal y Tanner, aunque su generalización tardaría unos años. Robert Vold cuenta (6) que, en 1967, durante su estancia posdoctoral en el Instituto Tecnológico de Massachusetts (MIT), estaba discutiendo con unos colegas la espectroscopía FT-NMR y qué ocurriría si dos pulsos de medida sucesivos se aplicaran tan próximos que no hubiera tiempo para la recuperación total de la magnetización de equilibrio. Se dieron cuenta entonces de que si el primer pulso era de inversión, de 180° , se podía medir el tiempo de relajación T_1 de cada línea del espectro mediante la transformada de Fourier de la respuesta usando experimentos $180^\circ\text{-}\tau\text{-}90^\circ$. John Waugh, el jefe de Vold, comprendió las implicaciones de esta idea y convenció a Melvin Klein, que en el Laboratorio Lawrence Berkeley tenía uno de los pocos sistemas FT existentes, un Varian HR 60 modificado, para intentar el experimento. En el experimento los errores en la duración del pulso de 180° inicial producían una magnetización transversal que persistía el tiempo suficiente como para interferir con la señal que se deseaba medir. La solución consistió en destruir la magnetización transversal mediante un pulso de gradiente de campo magnético aplicado entre el pulso de 180° nominales y el pulso de medida de 90° (7). Se trata de la primera aplicación de un pulso de gradiente de campo que no tiene que ver con la difusión traslacional. El gradiente de campo elimina toda la magnetización macroscópica excepto aquella que resulta relevante en el experimento, por lo que en este tipo de aplicaciones se suele hablar de un gradiente de purga. La publicación finalizaba con la propuesta de combinar los ecos de espín con el método de transformada de Fourier, lo que permitiría acceder a la determinación del tiempo de relajación T_2 o de coeficientes de difusión en sistemas complejos. Quiénes fueron los colegas de Vold con los que se llegó a la secuencia $180^\circ\text{-}\tau\text{-}90^\circ$ es algo que no está claro, puesto que en (6) Vold cita a Joseph Noggle y Karl Kuhlman, mientras que en la nota 8 de su artículo (7) indica: *This experiment has been proposed by J. H. Noggle and by H. Sternlicht (private communications)*. También es de resaltar que el método $180^\circ\text{-}\tau\text{-}90^\circ$ para la determinación de T_1 había sido propuesto años antes por Carr y Purcell, si bien sin inclusión de la transformada de Fourier y a partir del valor de τ que hace nula la fid (2), en lugar de estudiar la dependencia de la intensidad con el tiempo τ , tal y como proponía Vold.

El siguiente avance en el tema se debe a Alexander Wokaum y Richard Ernst, que en un artículo de 1977 describieron la relación existente entre el orden de coherencia y los efectos de los gradientes de campo (8). En el artículo describían también el método de ciclado de fases para eliminar las coherencias no deseadas. En cuanto a la aplicación de gradientes proponían el uso de un gradiente para suprimir todas las coherencias excepto la de cuanto nulo en experimentos bidimensionales de correlación entre una coherencia de cuanto múltiple y una coherencia de cuanto sencillo. De nuevo se trataba de un gradiente de purga. En un artículo posterior (9) describían los "ecos de transferencia de coherencia" que se forman en experimentos del tipo anterior debido a la inhomogeneidad del campo magnético B_0 . En experimentos bidimensionales del tipo citado una coherencia de cuanto múltiple de orden n que evoluciona durante un tiempo τ da lugar a un eco durante la evolución de la posterior coherencia de cuanto sencillo a un tiempo $n\tau$. Los autores se limitaron a considerar la inhomogeneidad estática, sin hacer uso, por tanto, de pulsos de gradiente

de campo. Poco después Ad Bax introduciría el uso de pulsos de gradiente de campo para seleccionar el orden de la coherencia de cuanto múltiple en experimentos de este tipo (10). A diferencia del uso de un gradiente de purga, aquí se desenfoca toda la magnetización y posteriormente solo se reenfoca la magnetización relevante. Se trata en este caso de un eco de gradiente.

Otra aplicación interesante de los gradientes, aunque prácticamente no ha sido utilizada, fue la propuesta de Bax y Freeman de emplearlos para incrementar la resolución de los espectros (11). La idea para conseguirlo es sencilla: utilizar un volumen reducido de la muestra. La inhomogeneidad del campo magnético en ese volumen de la muestra será menor que en una muestra de mayor volumen, por lo que su contribución a la anchura de línea será menor. Para restringir el volumen efectivo de la muestra los autores emplearon una excitación selectiva en presencia de un gradiente de campo magnético, que se apaga durante la detección. De ese modo tan solo se excita una rodaja de la muestra, tanto menor cuanto mayor es el gradiente de campo (o más selectiva la excitación). En el artículo, los autores mostraron el potencial de la técnica con el espectro de uno de los protones del furfural (furan-2-aldehído). En condiciones normales la anchura de línea era de unos 0,6 Hz. Sin embargo, aplicando su técnica conseguían reducir ésta a 0,08 Hz resolviendo con ello todas las líneas del multiplete. Si bien el método de Bax y Freeman no se ha utilizado, sí que lo ha hecho la excitación de rodajas de la muestra mediante la aplicación de un pulso en presencia de un gradiente; por ejemplo, en la espectroscopía ultrarrápida o en métodos "pure shift".

Aunque las posibilidades que abrían los pulsos de gradiente de campo eran evidentes su aplicación se veía dificultada por diversas cuestiones. La principal era que no existían sondas comerciales que incorporaran la posibilidad de utilizar gradientes de campo. Debido a ello transcurrirían varios años antes de que se produjeran avances en el tema. El primero que merece reseñarse se debe a Peter Barker y Ray Freeman, que publicaron un artículo en el que mostraban las ventajas de los pulsos de gradiente de campo como alternativa a los ciclos de fase (12). En el artículo describían la sonda que habían fabricado y aplicaban el método de pulsos de gradiente de campo a la obtención de un espectro bidimensional COSY y al filtrado de una coherencia de cuanto múltiple.

En los primeros estudios, los beneficios potenciales del uso de gradientes pulsados a menudo se veían empañados por inconvenientes tales como largos tiempos de recuperación del gradiente, inestabilidad de la fase de las señales, distorsión de la forma de línea y perturbación del sistema de *lock*. El problema deriva de las corrientes de Foucault inducidas en materiales conductores por el encendido y apagado del gradiente. Los campos transitorios generados por estas corrientes parásitas (*eddy currents* en la literatura inglesa) pueden persistir durante segundos. Para evitar estos problemas Ernst propuso el uso de gradientes de radiofrecuencia (13). La idea inicial se debía a Freeman (14) que había demostrado que la combinación $90^{\circ}_x-\theta_y-90^{\circ}_x$ era equivalente a un giro de θ grados alrededor del eje z (con el criterio de signos actual, correspondiente a un sistema de coordenadas cartesianas dextrógiro, el sándwich de pulsos adecuado es $90^{\circ}_x-\theta_y-90^{\circ}_x$). Freeman utilizaba este "pulso z" para conseguir desplazamientos de fase de los pulsos de un experimento que no eran múltiplos de 90° , algo que en aquella época no permitía el hardware habitual. La forma consistía simplemente en aplicar un "pulso z" antes o después del pulso cuya fase se deseaba modificar. Ernst aprovechó la idea de un modo diferente (13). Si el pulso central nominal θ es mucho mayor de 360° , teniendo en cuenta la inhomogeneidad del campo de radiofrecuencias, el efecto es equivalente a la aplicación de un pulso de gradiente de campo, por lo que los pulsos de gradiente de campo se podían sustituir por un "pulso z" inhomogéneo. El método era prometedor para seleccionar

la ruta de transferencia de coherencia al ser más rápido que el ciclo de fases y causar menos dificultades técnicas que las que presentaba el uso de pulsos de gradiente del campo estático en aquellos años. Sin embargo, este método prácticamente no llegaría a aplicarse.

Durante la década de 1980 la formación de imágenes mediante Resonancia Magnética Nuclear, en la que los gradientes de campo magnético tienen una presencia ineludible, estaba recibiendo mucho interés, por lo que se dedicaron esfuerzos para eliminar los inconvenientes que generaba su uso, fundamentalmente las derivadas de la generación de corrientes parásitas. La primera mejora fue el uso de preénfasis, de modo que la respuesta al voltaje en la bobina de gradientes fuera un gradiente de la forma e intensidad deseadas. También se produjeron mejoras en la electrónica correspondiente. El gran paso fue la introducción de sistemas de gradiente apantallados activamente (15). Dichos sistemas de gradiente están formados por una bobina primaria interna, que suministra la mayor parte del gradiente del campo, rodeada por una bobina de "pantalla", diseñada para cancelar exactamente el campo creado por la bobina primaria fuera de la pantalla. En el artículo, dedicado a la formación de imágenes, se sugería que las sondas utilizadas en espectroscopía de RMN también podían beneficiarse de este avance. La adaptación de algunos de estos desarrollos a la espectroscopía de RMN la llevó a cabo Ralph Hurd en 1990 (16). Hurd trabajaba en la división de espectroscopía de RMN de *General Electric* (que había adquirido la división correspondiente de *Nicolet* en 1983), por lo que tenía acceso a los desarrollos que se habían hecho en dicha compañía para los tomógrafos de Resonancia Magnética. Hurd ilustra las ventajas de los pulsos de gradiente de campo con espectros DQF-COSY y TOCSY de gran calidad. En un segundo artículo (17) mostraba la utilidad en la espectroscopía bidimensional heteronuclear ilustrándola con un experimento HMQC de ^{13}C en abundancia natural. La eliminación de los errores de sustracción que se producen con los ciclos de fase desaparecían al utilizar una selección con gradientes, dando lugar a espectros extraordinariamente limpios. Casi inmediatamente, en 1991, las principales casas comerciales de RMN, *Bruker*, *Varian* y *Jeol*, incorporarían los pulsos de gradiente de campo magnético a sus espectrómetros. *General Electric*, sin embargo, abandonaría el negocio de la espectroscopía de RMN en 1992 y vendería su tecnología a *Bruker*. En muy poco tiempo los pulsos de gradiente de campo se convertirían en un componente habitual de los espectrómetros de RMN.

Durante algún tiempo se contempló una alternativa a los pulsos de gradiente de campo, los gradientes de radiofrecuencia. Daniel Canet los utilizó inicialmente para la medida de tiempos de difusión traslacional (18) y más adelante mostró su utilidad en experimentos bidimensionales (19). Puesto que la inhomogeneidad del campo de radiofrecuencia de las sondas convencionales es pequeña, para sus experimentos añadió a la sonda una bobina, que era la encargada de proporcionar los pulsos de gradiente de radiofrecuencia. El funcionamiento de estos pulsos de gradiente es fácil de describir: se producen desfases o reenfoques en el plano perpendicular al campo inhomogéneo (en el plano xy en el caso de los pulsos de gradiente de campo y en el plano yz en el caso de un pulso de gradiente de radiofrecuencia aplicado en el eje x). Por lo tanto, con los gradientes de radiofrecuencia se pueden conseguir, en principio, los mismos efectos que con los gradientes de campo. Los gradientes de radiofrecuencia presentaban inicialmente algunas ventajas sobre los gradientes de campo. Por ejemplo, no crean corrientes parásitas y no afectan al *lock*. También algunos inconvenientes: se necesita una bobina de gradiente de radiofrecuencia para cada núcleo; resulta difícil obtener gradientes intensos. Es evidente que al menos la empresa *Bruker* se interesó por los gradientes de radiofrecuencia (20,21). Sin embargo, el desarrollo de los gradientes de campo

magnético eliminó la mayor parte de sus inconvenientes y los gradientes de campo se han impuesto como única alternativa.

Uno de los problemas que presentaban los experimentos iniciales con gradientes en el caso de experimentos bidimensionales es que daban lugar a una modulación de la fase. Consecuentemente, tras la transformada de Fourier, la forma de línea era una mezcla de absorción y de dispersión (*phase-twist* o fase trenzada). Dada esta forma de línea resultaba preciso presentar los espectros en el modo conocido como de magnitud o de valor absoluto. Estos espectros de valor absoluto muestran una pérdida de sensibilidad y de resolución en comparación con los espectros que presentan forma de línea de absorción pura y además se pierde toda la información sobre los signos de los picos.

El problema de la forma de línea derivaba del hecho de que con gradientes tan solo se selecciona una de las dos coherencias de signo contrario presentes durante el tiempo de evolución. Adrian Davies intentó encontrar una solución al problema. Inicialmente propuso conservar ambas rutas de coherencia, para lo que resultaba preciso no aplicar un gradiente en el intervalo de evolución. Mostró esa posibilidad con espectros DQF-COSY (22) y HNC0 (23). En ambos casos, sin embargo, la intensidad de la señal era la mitad de la del experimento equivalente con ciclado de la fase. Bax propuso una serie de elementos que utilizan gradientes de campo, que permiten obtener espectros de absorción pura, pero que no dan lugar a una pérdida de sensibilidad (24). Al igual que en el caso de Davis la estrategia propuesta consistía en no utilizar gradientes durante el tiempo de evolución. En su lugar proponía usar gradientes de puga y parejas de gradientes flanqueando a los pulsos de 180° con objeto de eliminar los efectos causados por la imperfección del pulso. Previamente a la publicación de Bax, Davis había encontrado y enviado a publicar (26) un procedimiento que permitía aplicar gradientes durante el tiempo de evolución y obtener señales de absorción pura. La idea, realmente sencilla, consiste en combinar dos experimentos en los que se seleccionan durante el tiempo de evolución coherencias de signo contrario, positivo en un caso y negativo en el otro. El método, denominado eco-antieco, da lugar a una reducción de la relación señal/ruido de $2^{1/2}$ en comparación con un experimento con ciclado de la fase de igual duración

El Método Eco-Antieco

La fid correspondiente al experimento 2D en el que se selecciona una coherencia negativa durante t_1 ($I_A^- \rightarrow I_B^-$) es

$$S_P(t_1, t_2) = A/2 \exp(i\omega_A t_1) \exp(t_1/T_{2A}) \exp(i\omega_B t_2) \exp(t_2/T_{2B})$$

y la correspondiente al experimento en el que se selecciona una coherencia positiva ($I_A^+ \rightarrow I_B^+$)

$$S_N(t_1, t_2) = A/2 \exp(-i\omega_A t_1) \exp(t_1/T_{2A}) \exp(i\omega_B t_2) \exp(t_2/T_{2B})$$

A partir de ambas fids se generan las combinaciones

$$S_C = S_P(t_1, t_2) + S_N(t_1, t_2) = A [\exp(i\omega_A t_1) + \exp(-i\omega_A t_1)]/2 \exp(t_1/T_{2A}) \exp(i\omega_B t_2) \exp(t_2/T_{2B}) \\ = A \cos(\omega_A t_1) \exp(t_1/T_{2A}) \exp(i\omega_B t_2) \exp(t_2/T_{2B})$$

y

$$S_S = -i[S_P(t_1, t_2) - S_N(t_1, t_2)] = -Ai [\exp(i\omega_A t_1) - \exp(-i\omega_A t_1)]/2 \exp(t_1/T_{2A}) \exp(i\omega_B t_2) \exp(t_2/T_{2B}) \\ = A \sin(\omega_A t_1) \exp(t_1/T_{2A}) \exp(i\omega_B t_2) \exp(t_2/T_{2B})$$

Obtenidas las combinaciones S_C y S_S , se pueden procesar mediante la transformada de Fourier hipercompleja (conocida habitualmente como método States) para obtener señales de absorción pura en ambas dimensiones.

El nombre eco-antieco proviene del hecho de que en el experimento S_N , en el que la evolución durante t_1 y t_2 es de signo contrario, en presencia de una inhomogeneidad de B_0 se produce un reenfoque (un eco) de la magnetización al tiempo $t_2 = t_1 \cdot \gamma_A / \gamma_B$.

$(S/N_{\text{grad}} = (S/N_{\text{fase}})/2^{1/2})$, si bien en su publicación (25) Davis indica, equivocadamente, un factor de reducción de 2.

Además de posibilitar la selección de rutas de transferencia de coherencia de un modo más eficiente que mediante ciclos de fase, los gradientes de campo tienen otras utilidades interesantes. Un ejemplo es el uso de la secuencia grad-180°-grad, que logra una excitación selectiva muy eficiente si el pulso de 180° es selectivo o sirve para eliminar la señal del disolvente si el pulso es nulo a su frecuencia (26). Otra característica de los gradientes es que permiten crear imágenes, lo que es el fundamento de la imagen por RMN. En el caso de la espectroscopía el uso de gradientes permite generar mapas de fase de la señal que son imágenes de la falta de homogeneidad experimentada por la muestra. Los campos que generan las bobinas de *shim* también se pueden caracterizar mediante la medición de un conjunto de mapas (uno por bobina de *shim*) con intensidad de corriente conocida. La combinación de ambas informaciones puede usarse para determinar los voltajes a aplicar a las bobinas de *shim* que den lugar a un campo B_0 homogéneo (27,28). El procedimiento derivado, *gradient shimming*, ha liberado a los espectroscopistas de la tediosa labor del ajuste manual de la homogeneidad del campo magnético.

Una última cuestión sobre los gradientes de campo, realmente una curiosidad, es que el cambio brusco en el voltaje que se aplica a las bobinas de gradiente da lugar a vibraciones mecánicas de las mismas. Estas vibraciones, a su vez, generan ondas sonoras. Este es el origen de los ruidos que perciben los pacientes que se someten a "una resonancia" como prueba médica diagnóstica. En el caso de la espectroscopía la vibración de las bobinas de gradiente puede producir errores en la fase de las señales, por lo que conviene eliminarla o, al menos, atenuar su amplitud. La atenuación de la vibración se logra encapsulando las bobinas de gradiente de campo en un material no conductor, como un epoxi. Este encapsulado también es útil para disipar el calor que generan los experimentos con gradientes.

Referencias

1. E.L. Hahn, *Spin Echoes*, Phys. Rev., 80, 590-594, 1950.
2. H.Y. Carr, E.M. Purcell, *Effects of Diffusion on Free Precession in Nuclear Magnetic Resonance Experiments*, Phys. Rev., 94, 630-638, 1954.
3. S. Meiboom, D. Gill, *Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times*, Rev. Sci. Instrum., 29, 688-691, 1958.
4. E.O. Stejskal, J.E. Tanner, *Spin Diffusion Measurements: Spin Echoes in the Presence of a Time-Dependent Field Gradients*, J. Chem. Phys., 42, 288-292, 1965.
5. R.R. Ernst, W.A. Anderson, *Application of Fourier Transform Spectroscopy to Magnetic Resonance*, Rev. Sci. Instrum., 36, 1696, 1965.
6. R.L. Vold, *Reflections*, 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. 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.
8. A. Wokaun, R.R. Ernst, *Selective Detection of Multiple Quantum Transitions in NMR by Two-dimensional Spectroscopy*, Chem. Phys. Lett., 52, 407-412, 1977.
9. A.A. Maudsley, A. Wokaun, R.R. Ernst, *Coherence Transfer Echos*, Chem. Phys. Lett., 55, 9-14, 1978.

10. A. Bax, P.G. de Jong, A.F. Mehlkopf, J. Smidt, *Separation of the Different Orders of NMR Multiple-Quantum Transitions by the Use of Pulsed Field Gradients*, Chem. Phys. Lett., 69, 567-570, 1980.
11. A. Bax, R. Freeman, *Enhanced NMR Resolution by Restricting the Effective Sample Volume*, J. Magn. Reson., 37, 177-181, 1980.
12. P. Barker, R. Freeman, *Pulsed Field Gradients in NMR. An Alternative to Phase Cycling*, J. Magn. Reson., 64, 334-338, 1985.
13. C.J.R. Counsell, M.H. Levitt, R.R. Ernst, *The Selection of Coherence-Transfer Pathways by Inhomogeneous z Pulses*, J. Magn. Reson., 64, 470-478, 1985.
14. R. Freeman, T.A. Frenkiel, M.H. Levitt, *Composite z Pulses*, J. Magn. Reson., 44, 409-412, 1981.
15. P. Mansfield, B. Chapman, *Active Magnetic Screening of Gradient Coils in NMR Imaging*, J. Magn. Reson., 66, 573-576, 1986.
16. R.H. Hurd, *Gradient-Enhanced Spectroscopy*, J. Magn. Reson., 87, 422-428, 1990.
17. R.H. Hurd, B.K. John, *Gradient-Enhanced Proton-Detected Heteronuclear Multiple-Quantum Coherence Spectroscopy*, J. Magn. Reson., 91, 648-653, 1991.
18. D. Canet, B. Diter, A. Belmajdoub, J. Brondeau, J.C. Boubel, K. Elbayed, *Self-diffusion Measurements Using a Radiofrequency Field Gradient*, J. Magn. Reson., 81, 1-12, 1989.
19. J. Brondeau, D. Boudot, P. Mutzenhardt, D. Canet, *The Equivalent of the DQF-COSY Experiment, with One Transient per t_1 Value, by Use of B_1 Gradients*, J. Magn. Reson., 100, 611-618, 1992.
20. W.E. Maas, F.H. Laukien, D.G. Cory, *Coherence Selection by Radiofrequency Gradients*, J. Magn. Reson. Ser. A, 103, 115-117, 1993.
21. D.G. Cory, F.H. Laukien, W.E. Maas, *Double-Quantum-Filtered-Cosy B_1 -Gradient Experiments*, J. Magn. Reson. Ser. A, 105, 223-229, 1993.
22. A.L. Davis, E.D. Laue, J. Keeler, D. Moskau, J. Lohman, *Absorption-Mode Two-Dimensional NMR Spectra Recorded Using Pulsed Field Gradients*, J. Magn. Reson., 94, 637- 644, 1991.
23. A.L. Davis, R. Boelens, R. Kaptein, *Rapid Acquisition of Three-Dimensional Triple-Resonance Experiments using Pulsed Field Gradient Techniques*, J. Biomol. NMR, 2,395-400, 1992.
24. A. Bax, S.S. Pochapsky, *Optimized Recording of Heteronuclear Multidimensional NMR Spectra Using Pulsed Field Gradients*, J. Magn. Reson., 99, 638-643, 1992.
25. A.L. Davis, J. Keeler, E.D. Laue, D. Moskau, *Experiments for Recording Pure-Absorption Heteronuclear Correlation Spectra Using Pulsed Field Gradients*, J. Magn. Reson., 98, 207-216, 1992
26. M. Piotto, V. Saudek, V. Sklenář, *Gradient-Tailored Excitation for Single-Quantum NMR Spectroscopy of Aqueous Solutions*, J. Biomol. NMR, 2, 661-665, 1992.
27. M.G. Prammer, J.C. Haselgrove, M. Shinnar, J. Leigh, *A New Approach to Automatic Shimming*, J. Magn. Reson., 77, 40-52, 1988.
28. P.C.M. van Zijl, S. Sukumar, M.O. Johnson, P. Webb, R.E. Hurd, *Optimized Shimming for High-Resolution NMR using ThreeDimensional Image-Based Field Mapping*, J. Magn. Reson. Ser. A, 111, 203-207, 1994