



Avance Beginners • Guide

Guía de usuario

Versión española

Version 005

© Bruker Corporation

La información contenida en este manual puede alterarse sin previo aviso. BRUKER no acepta responsabilidades por acciones realizadas como resultado del uso de este manual. Bruker no acepta ninguna responsabilidad por las erratas que pueda contener este manual y sus consecuencias, bien durante la instalación del equipo o durante su uso. Está prohibida, sin nuestra autorización escrita, la reproducción, completa o en partes, del contenido de este manual o su traducción a cualquier otro idioma.

Este manual ha sido escrito y traducido al Español por:

Bruker BioSpin GmbH

© miércoles, 03 de agosto de 2011 Bruker Corporation

Rheinstetten, Alemania

T/N: Z31633S

DWG-Nr: 1344005

Para asistencia técnica adicional, por favor no dude en contactar a su distribuidor Bruker más cercano o contacte con nosotros directamente:

Bruker Corporation

am Silberstreifen

D-76287 Rheinstetten

Germany

Télefono: + 49 721 5161 0

FAX: + 49 721 5171 01

Email: service@bruker.de

Internet: <http://www.bruker.com>

Contenido

1	Introducción	7
1.1	Fuentes de peligro	7
1.2	Versión del software y sintaxis de comandos	8
2	Seguridad	9
2.1	Seguridad magnética	9
2.1.1	Precauciones de seguridad dentro de la zona interior	11
2.1.2	Precauciones de seguridad dentro de la zona exterior	11
2.2	Seguridad criogénica	11
2.3	Seguridad eléctrica	12
2.4	Seguridad química	12
2.5	Certificación CE	12
3	Introducción: Teoría y terminología	13
3.1	Análisis de RMN del Cloroformo	15
3.2	Compuestos de referencia, Hz, ppm	17
3.3	RMN de protón – Desplazamientos químicos	19
3.4	Espectro de protón del benceno	20
3.5	Espectro de protón del acetato de bencilo	21
3.6	Espectro de protón del etilbenceno con acoplamiento espín /espín	23
3.7	Desacoplamiento	25
3.8	FID y espectro	26
4	Descripción del sistema	29
4.1	Consola del operador y conexiones	29
4.2	Consola	29
4.3	Conexión entre el ordenador anfitrión y e IPSO	30
4.4	Imán, sistema de homogeneización, preamplificador HPPR y sonda	31
4.5	Imán y dewar del imán	33
4.5.1	Apertura a temperatura ambiente	34
4.5.2	Tanque de helio	34
4.5.3	Tanque de nitrógeno	36
4.6	Introducción al sistema de referencia (Lock)	36
4.7	Sondas	37
4.8	Sonda dual ¹³ C ¹ H	40
4.9	Cambio de la sonda	41
5	Procedimientos básicos	43
5.1	Ventana de control de ajuste BSMS	43
5.2	Guardar el conjunto de valores de homogeneidad (Comando Write Shim)	45
5.2.1	Leer un archivo de homogeneidad almacenado (Comando Read Shim)	45
5.2.2	Funciones de la ventana de control de ajuste BSMS	45
5.2.3	Funciones de control de muestra	46
5.2.4	Funciones de referencia (Lock) manual	46
5.2.5	Funciones de homogeneización (Shim) manual	47
5.2.6	Funciones de nivel de Helio	47
5.3	Insertar una muestra en el rotor	48
5.4	Insertar la muestra más el rotor en el imán	48
5.5	Giro de muestra	50

5.6	Sintonización y ajuste de la impedancia de la sonda	50
5.6.1	Sintonización y ajuste usando una rutina automática	51
5.6.2	Sintonización y ajuste usando una rutina Manual	51
5.6.3	Sintonización y ajuste usando sondas antiguas	53
5.6.4	Sintonización y ajuste usando los LEDS HPPR	53
5.6.5	Sintonización y ajuste de más de un núcleo	55
5.7	Referenciar la muestra	55
5.7.1	Procedimiento para referenciar la muestra	56
5.8	Homogeneización	58
5.8.1	Homogeneización inicial	59
5.8.2	Homogeneización de rutina	59
5.9	Teclado BSMS	60
6	Preparación para comandos de adquisición, conjuntos de datos, edasp/eda	61
6.1	Conjuntos de datos	61
6.2	Creación de un conjunto de datos	63
6.3	Parámetros edasp del espectrómetro	64
6.3.1	Esquema de la ventana edasp	65
6.3.1.1	Frequency (Frecuencia)	65
6.3.1.2	Logical Channel (Canal lógico)	66
6.3.1.3	FCU's	66
6.3.1.4	Amplifier (amplificador)	67
6.3.1.5	Preamplifier (Preamplificador)	68
6.3.2	Algunas prestaciones de la ventana edasp	68
6.4	Parámetros básicos de adquisición: La tabla "eda"	68
6.4.1	Explicación numérica de las frecuencias transmitidas, básica y compensación	75
7	Espectro de protón	79
7.1	Creación de un nuevo conjunto de datos	79
7.2	Lectura del conjunto de parámetros estándar	80
7.2.1	La tabla " getprosol"	80
7.3	Ajuste de la ganancia del receptor	81
7.4	Iniciación de la adquisición	82
7.5	Transformada de Fourier y corrección de fase del espectro	83
7.6	Procesamiento básico: Transformación de Fourier	83
7.7	Corrección de fase	84
7.8	Calibración del espectro	85
7.8.1	Procedimiento para expandir el espectro horizontalmente	86
7.8.2	Procedimiento de calibración	86
7.9	Ajuste de la anchura espectral con la función SW-SFO1	87
7.9.1	Ajuste de la anchura espectral (SW) para el espectro del acetato de colesterilo	87
7.10	Incremento del número de barridos	89
8	La muestra en NMR	91
8.1	Selección del disolvente	91
8.2	Tubo de muestra	92
8.3	Manipulación de muestra	94
9	Espectro de ¹³C sin desacoplamiento	95
9.1	Procedimiento	95
10	Espectro de ¹³C con desacoplamiento	99

10.1	Procedimiento.....	99
10.2	Establecimiento de la frecuencia de desacoplamiento.....	100
10.3	Ajuste de los parámetros de desacoplamiento.....	101
10.4	Programa de pulso zgpg30	102
11	Programas de pulsos / Comandos as/ased	105
11.1	Los Programas de pulsos “zg” y “zg30”.....	105
11.2	Detalles del programa “zg30”	105
11.3	Comandos “as” y “ased”	108
12	Resolución de problemasbásicos.....	109
12.1	Encendido y apagado del espectrómetro	110
12.2	Encendido del espectrómetro.....	110
12.3	Apagado del espectrómetro	113
13	Contact.....	115
	Figuras.....	117
	Tablas.....	119
	Índice	121

1 Introducción

El objetivo de este manual es permitir a un usuario con poca experiencia realizar una serie de experimentos básicos de RMN de Alta Resolución (HR) 1-D. Se ha elegido como ejemplo el acetato de colesterilo. Se describirá lo que se observa en ambos espectros de protón y carbono (con y sin desacoplamiento de protón). Para ayudar al usuario se usarán los ajustes de parámetros estándares suministrados con cada paquete de software Topspin. No obstante, en lugar de una simple lectura de los ajustes de los parámetros estándares, se ha realizado un esfuerzo importante para ayudar al usuario a comprender la relevancia de los distintos parámetros. En particular, este manual se concentrará en describir el procedimiento de adquisición, que será extenso, a expensas del procesado de los datos adquiridos. Este énfasis minimiza el tiempo de uso real del espectrómetro mismo, particularmente importante en los casos en los que se están entrenando un gran número de estudiantes. En este escenario, el procesado puede realizarse fácilmente en otra PC utilizando los tutorial suministradas con la documentación del espectrómetro.

Para el propósito de formación de este manual se asume que el usuario tiene:

1. Un conocimiento básico del paquete de software Topspin.
2. Una sonda o sondas capaces de observar protón, carbono y carbono con desacoplamiento de protón.
3. Un conocimiento básico de cómo funciona el teclado táctil del BSMS o el panel de control del BSMS.

Si bien se ha hecho un esfuerzo para proporcionar, sin lugar a dudas, una descripción paso a paso, los nuevos usuarios tendrán invariablemente algunas preguntas, y como tales necesitarán asistencia ocasional de un usuario con más experiencia. El objetivo de este manual, es por tanto donde fuera aplicable, permitir a los usuarios trabajar con independencia y adquirir un conocimiento básico de cómo trabajar con el sistema. Esperamos que con el uso de este manual, el tiempo necesario para entrenar nuevos usuarios se reduzca significativamente.

1.1 Fuentes de peligro

El capítulo de seguridad tratará con detalle la seguridad, pero de momento, en esta etapa introductoria, solo remarcar los peligros potenciales que se presentan cuando se trabaja con un espectrómetro de RMN. A pesar de la sofisticación del sistema, hay pocas posibilidades de que los usuarios sin experiencia dañen el equipo, así que solo unos pocos, los más importantes, son dignos de mención.

Con un funcionamiento normal, las causas más comunes de daño son:

1. Retirar la muestra del imán con la apertura todavía tapada;
2. Insertar una muestra en el imán sin la presencia del colchón de aire de soporte;
3. Emitir pulsos RF que sean demasiado largos, demasiado intensos o ambos;
4. Transmitir potencia RF a lo largo de cables desconectados o con sondas pobremente ajustadas.

Los nuevos usuarios serán advertidos, antes de comenzar, de que se percaten ellos mismos de estar al corriente de estos peligros potenciales. Los encargados del sistema estarán informados para asegurar que cualquier nuevo usuario comprenda los puntos mencionados anteriormente.

1.2 Versión del software y sintaxis de comandos

A lo largo de este manual se esbozarán los procedimientos para introducir los distintos comandos. Los comandos se escribirán utilizando comillas simples con los textos `Code`. Por ejemplo, introducir `'eda'`

significa escribir el comando `'eda'` en la línea de comando y presionar el botón **RETURN** o **ENTER**.

2 Seguridad

En términos de seguridad la presencia de un imán relativamente potente es lo que diferencia a los espectrómetros de RMN de la mayoría de los equipos de laboratorio. Cuando se diseña un laboratorio de RMN, o se entrena al personal que trabajará en él o en sus alrededores, ninguna otra característica es de mayor relevancia. Mientras se cumplan los procedimientos correctos, trabajar en las cercanías de imanes superconductores es totalmente seguro y no tiene efectos secundarios médicos peligrosos conocidos. Las negligencias, sin embargo, pueden provocar accidentes serios. Es importante que las personas que trabajen en la vecindad del imán conozcan completamente los peligros potenciales. Es de crítica importancia que las personas que llevan marcapasos cardíacos o implantes metálicos nunca permanezcan cerca del imán.

El imán es potencialmente peligroso debido a:

1. La gran fuerza de atracción que ejerce sobre los objetos ferromagnéticos.
2. El gran contenido de nitrógeno y helio líquido.

2.1 Seguridad magnética

El campo magnético circunda al imán en todas las direcciones. Este campo (conocido como campo disperso) es invisible y por tanto necesita el empleo de signos de advertencia en las ubicaciones adecuadas. Los objetos de materiales ferromagnéticos, como hierro, acero, etc. serán atraídos por el imán. Si un objeto ferromagnético se pone demasiado cerca, este puede ser repentinamente atraído por el imán con una fuerza sorprendente. ¡Esto puede dañar el imán, o causar daños personales a cualquier persona que encuentre en el camino!

Debido a que la fuerza del campo disperso cae significativamente según uno se mueve hacia fuera desde el imán, es usual hablar de seguridad en términos generales de dos regiones definidas, la zona interior y la exterior. En términos de organizar un laboratorio, así como de decidir las buenas prácticas de trabajo, el concepto de zona interior y zona exterior es particularmente usado.

La extensión física de estas dos zonas dependerá del tamaño del imán. A mayor imán, mayor es la fuerza de los campos magnéticos dispersos y por tanto mas grande debe ser la extensión de las dos zonas. La Figura 2.1 muestra el concepto de las dos zonas (no está dibujado a escala). Detalles de los campos dispersos para distintos imanes se pueden encontrar en la Guía de planificación de locales (Site Planning Guides) suministrada con el CD BASH.

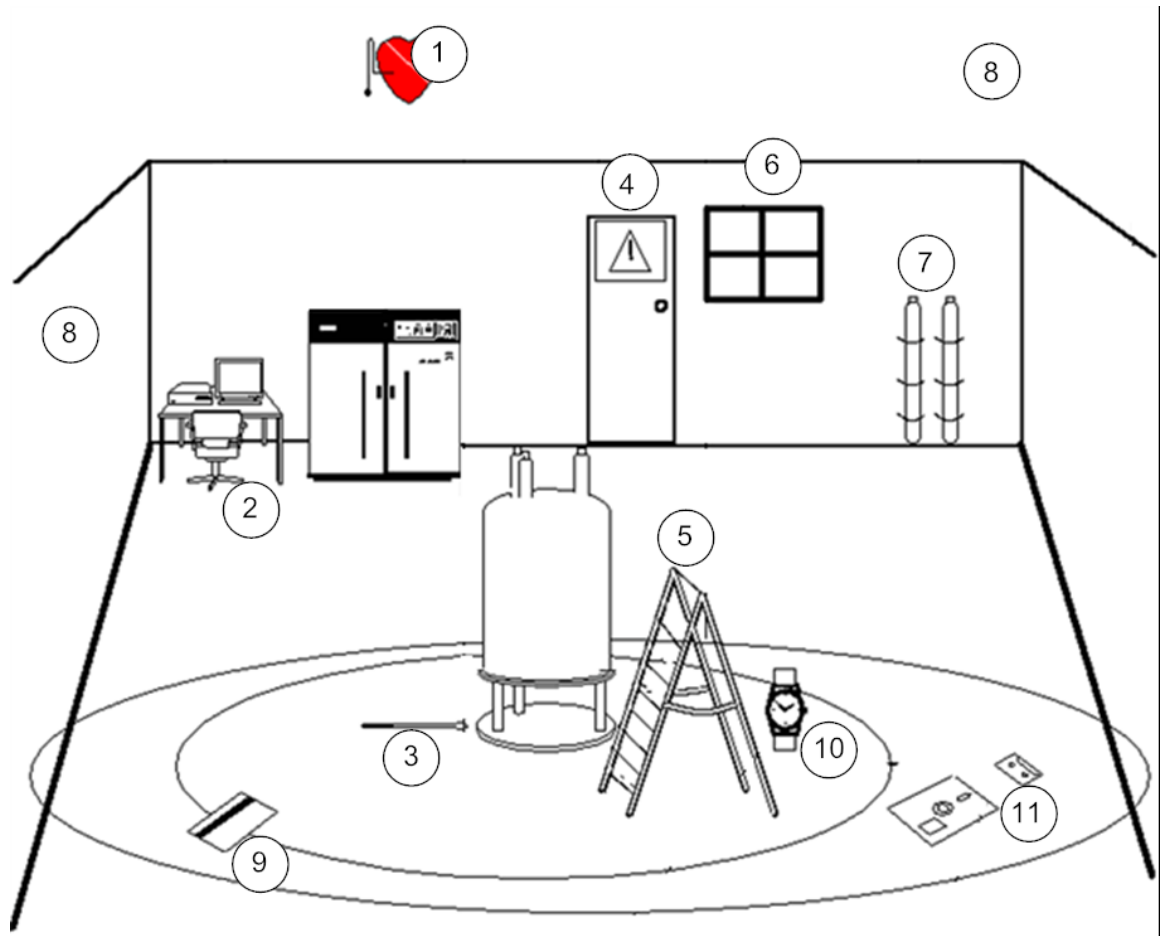


Figura 2.1: Precauciones de seguridad en las zonas interior y exterior.

1.	Las personas con marcapasos no deben permanecer cerca del imán.
2.	No usar sillas metálicas en la sala del imán.
3.	No deje destornilladores o tornillos cerca del imán.
4.	Senalice las áreas afectadas por el imán.
5.	No use escaleras de hierro o acero.
6.	Es necesaria una buena ventilación.
7.	Sujete las balas de gases de helio y nitrógeno a la pared. Limite 0,5 mT.
8.	El campo magnético puede atravesar las paredes, use las mismas precauciones en las habitaciones colindantes incluyendo las de arriba y las de abajo.
9.	Tarjetas de crédito o bancarias.
10.	Dispositivos mecánicamente sensibles, como relojes.
11.	Cintas y disquetes.

2.1.1 Precauciones de seguridad dentro de la zona interior

La zona interior se extiende desde el centro del imán a la línea de 1mT (10 Gauss). Los objetos dentro de esta zona, pueden ser fuertemente atraídos hacia el centro del imán. La fuerza de atracción del imán puede variar de apenas perceptible a incontrolable en el radio de una pequeña distancia.

Bajo ninguna circunstancia deben colocarse o moverse objetos ferromagnéticos pesados dentro de esta zona.

Cualquier escalera utilizada para trabajar en el imán debe estar realizada de un material no magnético como el aluminio. Los dewars de helio y nitrógeno que se usan para rellenar los niveles de líquido dentro del imán, deben estar hechos de un material no magnético.

No deje que pequeños objetos metálicos (destornilladores, tornillos, etc.) permanezcan en el suelo cerca del imán. Pueden causar daños serios si entran dentro de la apertura del imán, especialmente cuando no hay ninguna sonda insertada en el mismo.

Los relojes mecánicos pueden dañarse si se usan dentro de la zona interna. Los relojes digitales pueden usarse con seguridad. Por supuesto, las precauciones de la zona exterior que se discutirán a continuación también deben seguirse dentro de la zona interior.

2.1.2 Precauciones de seguridad dentro de la zona exterior

La zona exterior se extiende desde la línea de 1mT a la de 0.3mT. El campo disperso del imán no se bloquea por paredes, suelos o techos, y la zona exterior puede abarcar habitaciones adyacentes. El campo magnético disperso puede borrar la información guardada en cintas o discos magnéticos. Pueden dañarse las tarjetas bancarias, pases de seguridad o cualquier dispositivo que contenga una banda magnética. No se dañarán los CD aunque los controladores de los mismos contienen partes magnéticas. Cuando se utilizan balas de gas presurizadas fabricada en acero inoxidable deben colocarse fuera de la zona exterior (preferiblemente fuera de la sala del imán) y siempre deben estar debidamente fijadas a la pared. La pantallas de color de los ordenadores pueden sufrir alguna distorsión cuando se sitúan demasiado cerca del imán, aunque es poco probable que se dañen permanentemente. Una vez fuera de la zona exterior no son necesarias precauciones especiales relacionadas con el campo disperso del imán.

2.2 Seguridad criogénica

El imán contiene cantidades relativamente grandes de helio y nitrógeno líquido. Estos líquidos, de los que se habla como criogénicos, sirven para mantener el núcleo del imán a temperaturas muy bajas.

Cuando se manipulan materiales criogénicos deben usarse siempre, **guantes, camisas de manga larga o bata de laboratorio** y gafas de seguridad, debido a las bajas temperaturas involucradas. El responsable del sistema debe comprobar regularmente y asegurarse de que los gases de evaporación pueden liberarse libremente del imán, esto es, las válvulas de liberación no están bloqueadas. No intente rellenar el imán con helio o nitrógeno, a menos de que haya recibido entrenamiento sobre el procedimiento correcto.

El helio y el nitrógeno no son gases tóxicos. Sin embargo, debido a un posible **quench del imán**, después del cual la sala puede llenarse rápidamente con gases evaporados, debe siempre disponerse de la ventilación adecuada.

2.3 Seguridad eléctrica

El hardware del espectrómetro no es más o menos peligroso que cualquier otro hardware electrónico o neumático normal y debe tratarse como tal. No retire ninguno de los paneles de protección de cualquiera de las unidades. Los paneles de protección están puestos para protegerle y únicamente deben abrirse por personal de servicio técnico autorizado.

El panel principal en la parte posterior de la consola está diseñado para poder ser retirado usando los dos tornillos de liberación rápida, pero de nuevo, esto solo debería hacerse por personal entrenado. Por favor, observe que, a menos que esté desconectado, los ventiladores de refrigeración situados en el panel posterior continuarán funcionando incluso cuando se retira el panel.

2.4 Seguridad química

Los usuarios deberían estar informados de cualquier peligro asociado con las muestras con la que están trabajando. Los compuestos orgánicos pueden ser altamente inflamables, corrosivos, cancerígenos, etc.

2.5 Certificación CE

Todas las unidades principales de hardware instaladas en las consolas AVANCE AV, así como las unidades de periféricos tales como HPPR, sistemas de homogeneización, sondas y teclado táctil BSMS cumplen con la Declaración de conformidad CE. Esto incluye el nivel de cualquier radiación electro magnética dispersa que puede emitirse así como los peligros eléctricos estándares.

Observe que para minimizar la fuga de radiación electromagnética, las puertas de la consola deben estar cerradas y el panel posterior montado.

3 Introducción: Teoría y terminología

La RMN es una técnica utilizada para analizar la estructura de muchas moléculas químicas, principalmente compuestos orgánicos. Un compuesto típico estaría formado por átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno.

De un modo simplificado, un experimento de RMN consta de tres etapas:

1. Colocar la muestra en un campo magnético estático.
2. Excitar los núcleos de la muestra con un pulso de radiofrecuencia.
3. Medir la frecuencia de las señales emitidas por la muestra.

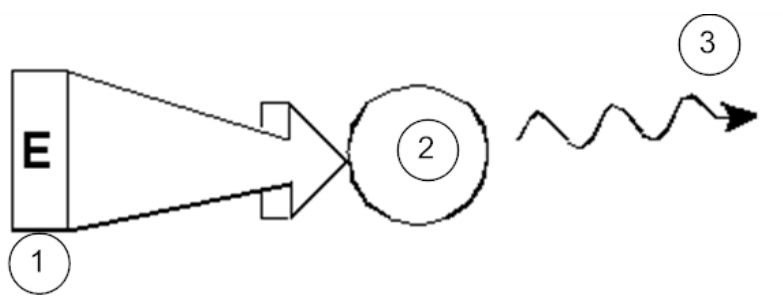


Figura 3.1: Excitación y respuesta

1.	Pulso de la excitación
2.	Átomo
3.	Señal emitida

De las frecuencias emitidas, los analistas pueden deducir información acerca de los enlaces y disposición de los átomos en la muestra. Los núcleos activos a la RMN en la muestra resuenan a diferentes frecuencias que son llamadas “frecuencias de resonancia”. Estas son las frecuencias emitidas por los núcleos cuando se excitan por el pulso de radio frecuencia de excitación. El valor de una frecuencia de resonancia depende de dos factores:

Nucleo	Activo en RMN	Frecuencia de resonancia Básica (aprox.) [MHz]	Abundancia natural [%]
¹ H	si	500	99.98
² H	si	77	0.015
³ H	si	533	0.005
¹² C	no	---	98.89
¹³ C	si	126	1.11
³⁵ Cl	si	49	24.47
³⁷ Cl	si	41	24.47

Tabla 3.1: Tabla de datos para varios isótopos (Frecuencias expresadas para un imán de 11.7T)

1) Tipo de núcleo:

Cada isótopo tiene una combinación particular de protones y neutrones en su núcleo. La estructura nuclear determina, en gran parte, el valor de la frecuencia de resonancia. Así cada isótopo muestra una "frecuencia de resonancia básica". El núcleo de ^{13}C tendrá una frecuencia de resonancia básica diferente en comparación con la del núcleo ^1H etc. Observe la gran variación en las frecuencias de resonancia básicas entre los distintos isótopos según se muestra en la Tabla 3.1.

2) Entorno atómico local:

La superposición de las frecuencias de resonancia básicas es un efecto debido al entorno atómico local en que está situado el isótopo. El valor exacto de la frecuencia de resonancia de un núcleo de ^1H en un compuesto en particular depende de los átomos con los que esté enlazado y de los que le rodean. El núcleo está rodeado de electrones que pueden representarse como cargas eléctricas en movimiento con campos magnéticos asociados. Estos electrones actúan como una fuente de apantallamiento magnético para los núcleos. La extensión del apantallamiento dependerá del entorno atómico local exacto. La magnitud de las variaciones del campo local normal (que resultarán en una variación de frecuencia) dependerán del isótopo y de la intensidad del campo magnético en el que se coloca la muestra. La tabla siguiente muestra las variaciones de frecuencias usuales para los dos núcleos más comúnmente utilizados en RMN, ^1H y ^{13}C . Es claro que el entorno atómico local tiene un efecto relativamente pequeño en la frecuencia de resonancia básica.

Núcleo	Variaciones usuales en frecuencia de resonancia básica debidas al entorno atómico local.
^1H	6 kHz
^{13}C	100 kHz

Tabla 3.2: Variaciones de frecuencia (expresadas para un imán de 11.7 T)

Las señales de RMN se representan normalmente como espectros y se analizan con respecto a dos características: frecuencia e intensidad. Convencionalmente en RMN se representa la frecuencia en el eje horizontal aumentando hacia la izquierda.

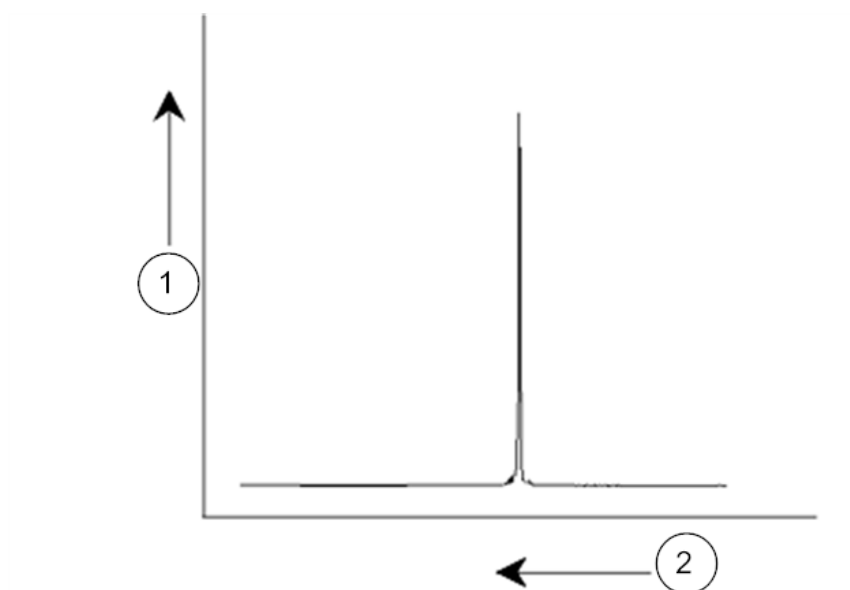


Figura 3.2: Espectro de RMN

1.	Intensidad
2.	Frecuencia

Como se mencionaba anteriormente, la frecuencia proporciona información cualitativa con respecto al entorno atómico local. **La intensidad integrada** de una señal es una medida de **la intensidad de la señal** y se determina integrando el área bajo el pico de la señal. La integral será directamente proporcional al número de núcleos que contribuyen a esa señal a una frecuencia particular (si todos los núcleos son igualmente excitados) y por tanto proporcionará información cuantitativa con respecto a la estructura química.

Para excitar un núcleo dado en un experimento de RMN, la frecuencia del pulso de excitación debe igualar exactamente la frecuencia de resonancia del núcleo. Esta frecuencia se denomina como **frecuencia transmitida**. Así, si el experimento se lleva a cabo utilizando un imán de 11.7 T, el núcleo de ^1H debería necesitar una frecuencia transmitida de aproximadamente 500 MHz, mientras que el núcleo de ^{13}C necesitará una frecuencia transmitida cercana a 126 MHz. La frecuencia transmitida se especifica por el parámetro SFO1. El núcleo que se excita por esta frecuencia transmitida se denomina **núcleo observado**.

Tenga en cuenta que hay experimentos en los que más de un núcleo consigue excitarse. Por ejemplo, durante la transferencia de polarización o desacoplamiento. En estos casos se tiene más de una frecuencia transmitida pero sin embargo solo una frecuencia observada.

No todos los **isótopos** responderán a pulsos de radiofrecuencia, esto es, no todos son **activos en RMN**. En la naturaleza se pueden encontrar tres isótopos del hidrógeno: ^1H (hidrógeno), ^2H (deuterio), y ^3H (tritio, ¡radioactivo!). La abundancia natural de estos isótopos es 99.98%, 0.015%, y 0.005% respectivamente. Los tres son activos en RMN, si bien, según se puede ver en la Tabla 3.1, muestran una gran variación en sus frecuencias de resonancia. Para analizar una muestra para hidrógeno, se excita el ^1H , porque este isótopo de lejos es el más abundante. De los isótopos del carbono que se encuentran en la naturaleza, solo uno es activo en RMN. El isótopo más común, ^{12}C (abundancia natural 98.89%) es inactivo. Por tanto, el análisis de RMN de compuestos orgánicos para carbono se basa en las señales emitidas por el isótopo ^{13}C , que tiene una abundancia natural de solo un 1.11%. Obviamente, el análisis de RMN para el carbono es más difícil que para, por ejemplo, ^1H . (Existen otros factores que afectan a la sensibilidad. Estos se discutirán en la siguiente sección de este capítulo).

Usando la breve introducción a la RMN realizada anteriormente, es un buen ejercicio considerar como puede utilizarla el técnico para analizar la composición del cloroformo (CHCl_3).

3.1 Análisis de RMN del Cloroformo

Pueden llevarse a cabo tres experimentos diferentes, según se esboza en la figura siguiente, de acuerdo con los tres núcleos que se pueden observar ^1H , ^{13}C and ^{35}Cl .

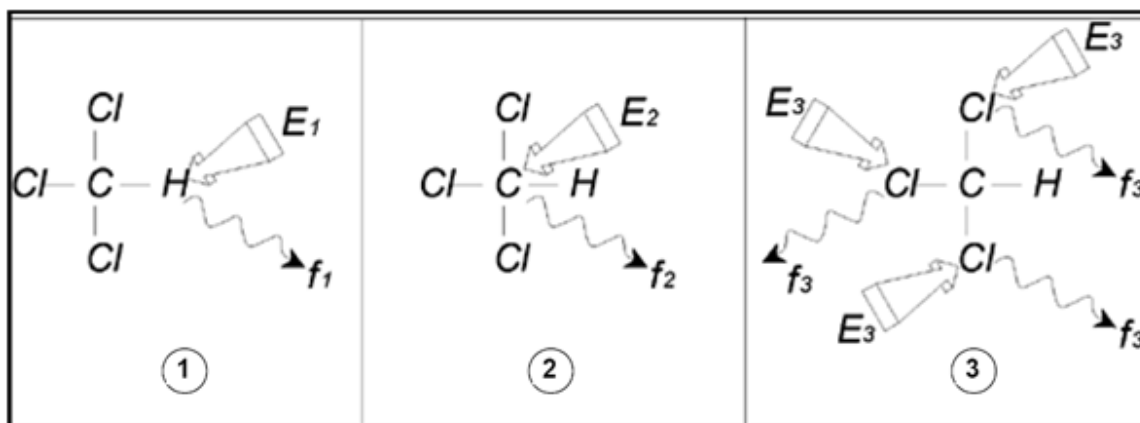


Figura 3.3: Análisis de RMN del CHCl_3

1.	Excitation E_1
2.	Excitation E_2
3.	Excitation E_3

Deben dirigirse a la muestra tres pulsos de excitación (E_1 , E_2 , E_3) a la frecuencia de transmisión. E_1 debería corresponder a la frecuencia de resonancia del ^1H , E_2 para la frecuencia del ^{13}C y E_3 para la frecuencia del ^{35}Cl . Asumiendo que se consiga la excitación de los tres isótopos, la muestra emitirá señales a tres frecuencias f_1 , f_2 y f_3 que deben registrarse en tres espectros diferentes. Si las señales emitidas se registraran en una sola representación, el usuario podría esperar un espectro similar al de la Figura 3.4. (observe que las señales de frecuencia representadas son para un imán de 11.7 T y que todas las señales se han planteado como singletes, esto es, picos únicos).

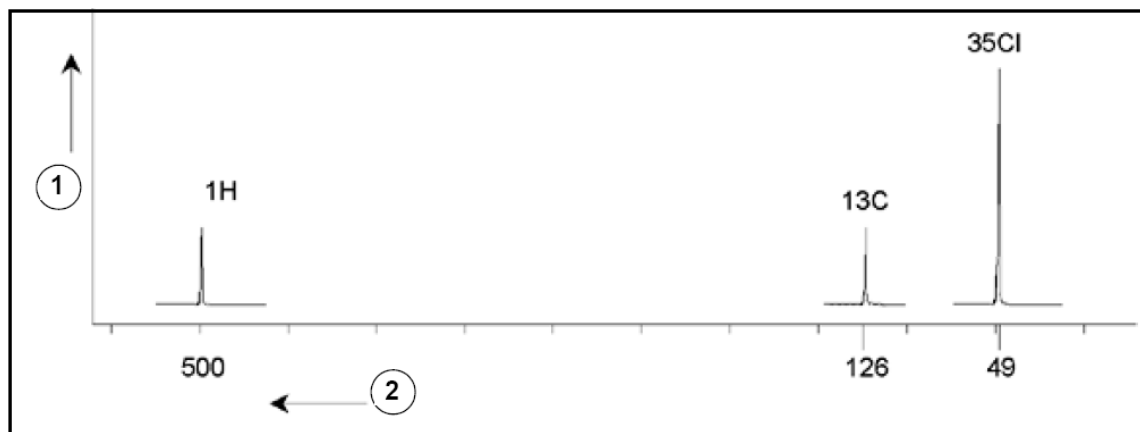


Figura 3.4: Señales de RMN emitidas por CHCl_3

1.	Intensidad
2.	Frecuencia (MHz)

Este espectro ficticio muestra tres picos correspondientes a los tres isótopos. Teniendo en cuenta el número de átomos relativo de los tres isótopos, uno debería esperar que la intensidad de los picos del cloro, hidrógeno y carbono estuviera en la relación de 3:1:1. Sin embargo, también

debe tenerse en cuenta la abundancia natural de los tres isótopos (ver Tabla 3.1) resultando en una relación de 227:100:1. El usuario encuentra que la relación de intensidades de los picos determinados experimentalmente no está de acuerdo con estos valores.

La razón es que cada isómero tiene una sensibilidad inherente a la técnica de RMN. El ^1H es 63 veces más sensible a la RMN que el ^{13}C . Así, incluso si una muestra contiene exactamente el mismo número de núcleos de ^1H que de ^{13}C , la intensidad de las señales de los ^1H sería 63 veces mayor que las señales de ^{13}C .

Con un espectro como el de la Figura 3.4, se perdería cualquier información detallada y sería imposible una determinación precisa de una frecuencia particular. Se diría que el espectro tiene muy poca resolución. (La resolución horizontal de un espectro es una medida de lo bien que un espectro diferencia entre dos señales que están próximas en frecuencia).

Una complicación adicional es el amplio rango del escalado vertical. La variación en la sensibilidad inherente a la RMN junto con las variaciones en abundancia natural hacen a menudo poco fiable el representar las señales de diferentes isótopos en un solo espectro. De hecho, la resolución vertical del espectro sería muy pobre. (La resolución vertical, esto es, la relación señal ruido del espectro es una medida de la sensibilidad).

Si nuestro análisis del cloroformo está demostrando ser complicado, es debido a que estamos intentando comparar las señales de los tres núcleos que pueden observarse en un solo espectro. (Aquí estamos ignorando cualquier restricción del hardware/electrónica). Por lo tanto, en la práctica, los experimentos de RMN se realizan observando un solo núcleo. Aunque simultáneamente se puede excitar más de un isótopo usando más de una frecuencia de transmisión (p. ej., en los experimentos de desacoplamiento), solo observaremos igualmente la señal de un único isótopo. Esto simplifica en gran medida el análisis del espectro.

Como se mencionaba anteriormente, las variaciones en la frecuencia de resonancia básica debido al entorno atómico local tienden a ser relativamente pequeñas. Por tanto, no se encontrarán rangos espectrales grandes. Además la abundancia natural y la sensibilidad inherente será siempre la misma para un isótopo particular. De aquí que la intensidad relativa de dos señales dadas emitidas por isótopos de ^1H en un espectro sencillo dependerá únicamente del número de átomos que contribuyen a esa señal. Esto simplifica ampliamente el análisis de espectros para obtener información cuantitativa.

Antes de continuar con una descripción más detallada de la RMN, el lector debe familiarizarse con el concepto de señales medidas en ppm (partes por millón) con respecto a la señal de referencia.

3.2 Compuestos de referencia, Hz, ppm

Las señales de RMN, como ya ha sido expuesto, se analizan con respecto a dos características, intensidad y frecuencia. Las frecuencias absolutas se miden en Hercios (Hz – ciclos por segundo) o Megahercios (MHz). El informe de las señales medidas se simplifica si todas las medidas de frecuencia se hacen con respecto a una referencia. Para RMN de ^1H la referencia recomendada es el compuesto químico llamado tetrametilsilano (TMS). Cuando se adquiere un espectro de ^1H o de ^{13}C , la presencia de TMS da un único pico fácilmente identificable. Este pico se referencia como cero y las frecuencias de todos los demás picos se dan en términos de sus frecuencias relativas con respecto a la frecuencia del TMS. Así, podemos hablar de una señal que aparece a 2.5 kHz “por encima” del pico del TMS. Esto es preferible a expresar la frecuencia absoluta de la señal que sería 500.1325 MHz.

Referir las señales al pico del TMS reduce claramente el número de dígitos necesarios para describir la frecuencia de una señal. Sin embargo, esto se puede simplificar aún más, si se usan unidades ppm en lugar de Hercios. Las unidades ppm representan las frecuencias como una

fracción de la frecuencia de resonancia absoluta que dependerá de la fuerza del imán. La ventaja de las unidades ppm es que las medidas de frecuencia son independientes de la fuerza del imán.

Esto simplifica en gran medida la comparación de los espectros adquiridos en distintos espectrómetros. Los factores de conversión que se usan para cambiar de Hercios a ppm y viceversa, se muestran en el diagrama siguiente.

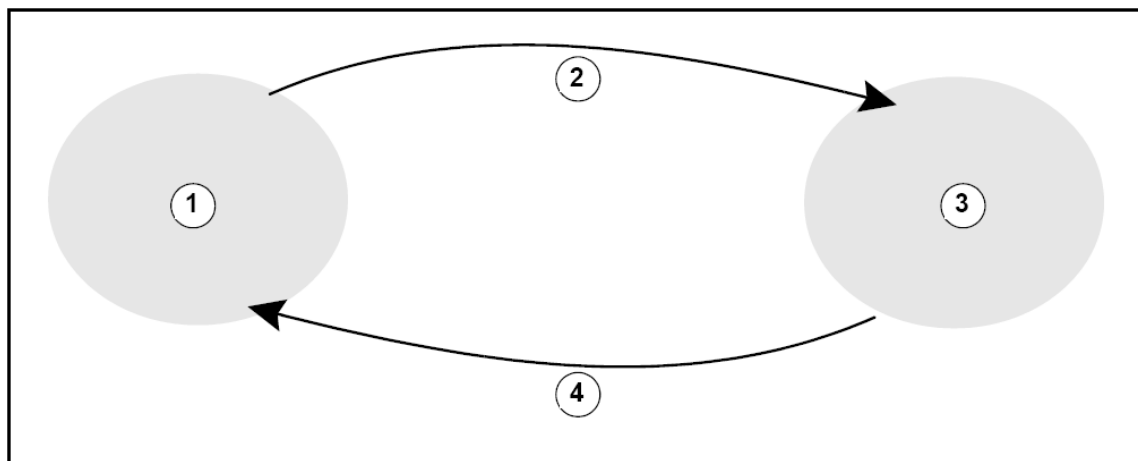


Figura 3.5: Conversión entre Hercios y ppm

1.	Hercios
2.	Divide por la frecuencia transmitida (SFO1) en MHz
3.	Multiplica por la frecuencia transmitida (SFO1) en MHz
4.	ppm

La ventaja de la utilización de ppm se ilustra mejor con un ejemplo práctico.

Supongamos que se observa una señal de ^1H a 2.5 kHz por encima del TMS utilizando una frecuencia transmitida (SF01) de 500 MHz. La frecuencia emitida de cualquier señal de RMN es directamente proporcional a la potencia del imán. La misma señal debería aparecer a 3.0 kHz por encima del TMS en un espectrómetro de 600 MHz y a 2.0 kHz por encima del TMS en un equipo de 400 MHz. Una única conversión no sería un gran inconveniente, pero esto debe hacerse para cada pico de cada sistema. Ahora consideremos la misma señal pero expresada en unidades ppm.

Frecuencia en Hz dividida por SFO1 = Frecuencia en ppm

Ejemplos:

$$2500 \text{ Hz} / 500 \text{ MHz} = 5 \text{ ppm}$$

$$3000 \text{ Hz} / 600 \text{ MHz} = 5 \text{ ppm}$$

$$2000 \text{ Hz} / 400 \text{ MHz} = 5 \text{ ppm}$$

La señal del ^1H puede describirse ahora como situada a 5 ppm “por encima”, esto es a “campo más bajo”, del pico del TMS, independientemente de la frecuencia del espectrómetro.

Los usuarios experimentados hablarán siempre en ppm, y los espectros reproducidos en revistas científicas siempre tendrán la escala horizontal graduada en ppm y no en hercios. El lector debe ser consciente de las simplificaciones que se han hecho en el ejemplo anterior. El valor de la frecuencia transmitida para ^1H en un espectrómetro de 500 MHz no es exactamente 500 MHz. La frecuencia de emisión utilizada en el cálculo de ppm debe ser el valor exacto asignado al parámetro SF01. De igual modo, para los espectrómetros de 600MHz y 400 MHz, la expresión de la frecuencia transmitida no será exactamente 600 MHz y 400 MHz, respectivamente.

Observe también que un valor positivo de ppm denota una frecuencia mayor con respecto al TMS y es definido como “un campo menor” con relación al TMS.

3.3 RMN de protón – Desplazamientos químicos

Ya que el ^1H es el isótopo normalmente más observado en experimentos de RMN, se tratará ahora en mayor detalle. Un núcleo de ^1H contiene un único protón y los espectros en los que se observa el núcleo de ^1H se denominan normalmente como espectros de protón.

Como ya se ha indicado previamente un protón en un imán 11.7 T mostrará una frecuencia de resonancia básica de 500 MHz aproximadamente, pero la frecuencia de resonancia exacta dependerá del entorno atómico local del mismo. Un protón de una molécula de cloroformo resonará a una frecuencia ligeramente diferente en comparación a un protón en una molécula de benceno (C_6H_6). Por tanto, la frecuencia emitida actúa como una etiqueta que da al analista información cualitativa de la vecindad atómica local en la que está situado el protón. Esta es la base de la RMN.

La variación de la frecuencia de resonancia exacta se denomina como “desplazamiento químico”. La frecuencia de resonancia se desplaza por efecto de los átomos vecinos y en particular por la extensión del apantallamiento magnético de los electrones cercanos, según se ha visto anteriormente. El tamaño del desplazamiento se mide normalmente en ppm con relación a la señal del TMS, que se referencia como 0 ppm.

La mayoría de los protones, independientemente del compuesto orgánico al que estén enlazados, muestran desplazamientos químicos entre 0 y 14 ppm con respecto al TMS.

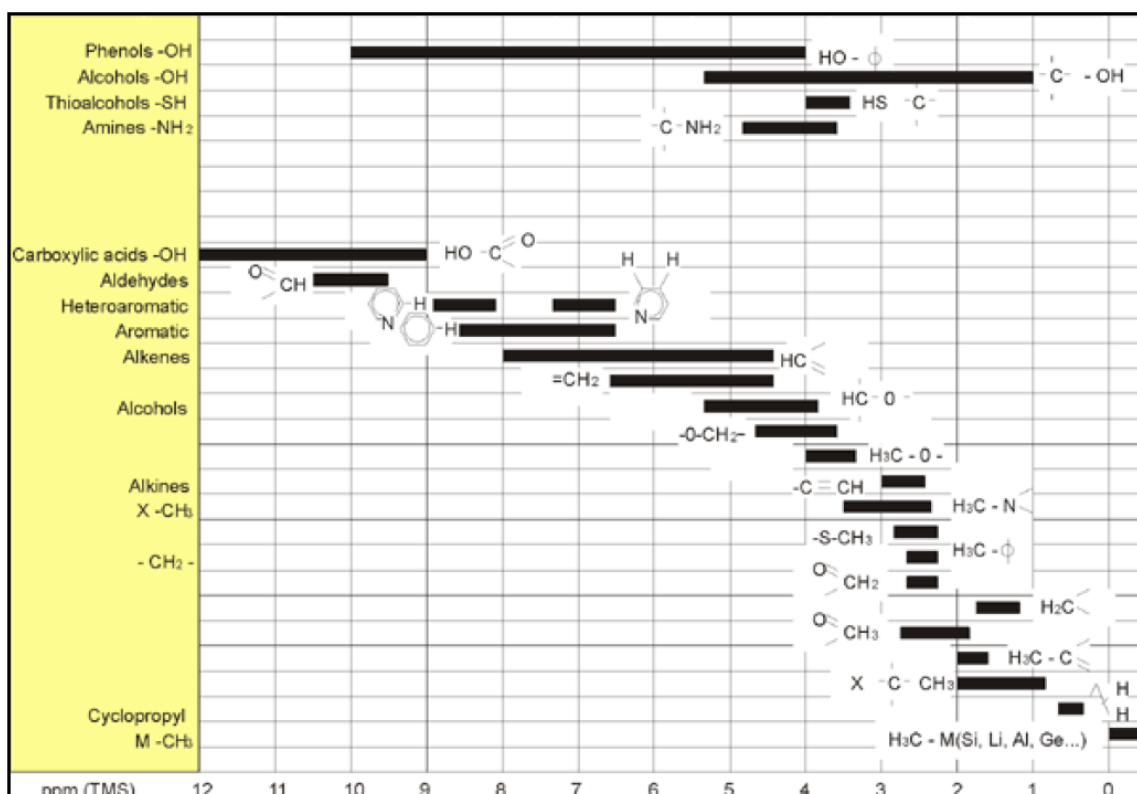


Figura 3.6: Desplazamientos químicos de ^1H en compuestos orgánicos

La Figura 3.6 es una Ilustración de los desplazamientos químicos de protones normales de compuestos orgánicos.

3.4 Espectro de protón del benceno

La estructura del anillo del benceno se ilustra en la siguiente figura:

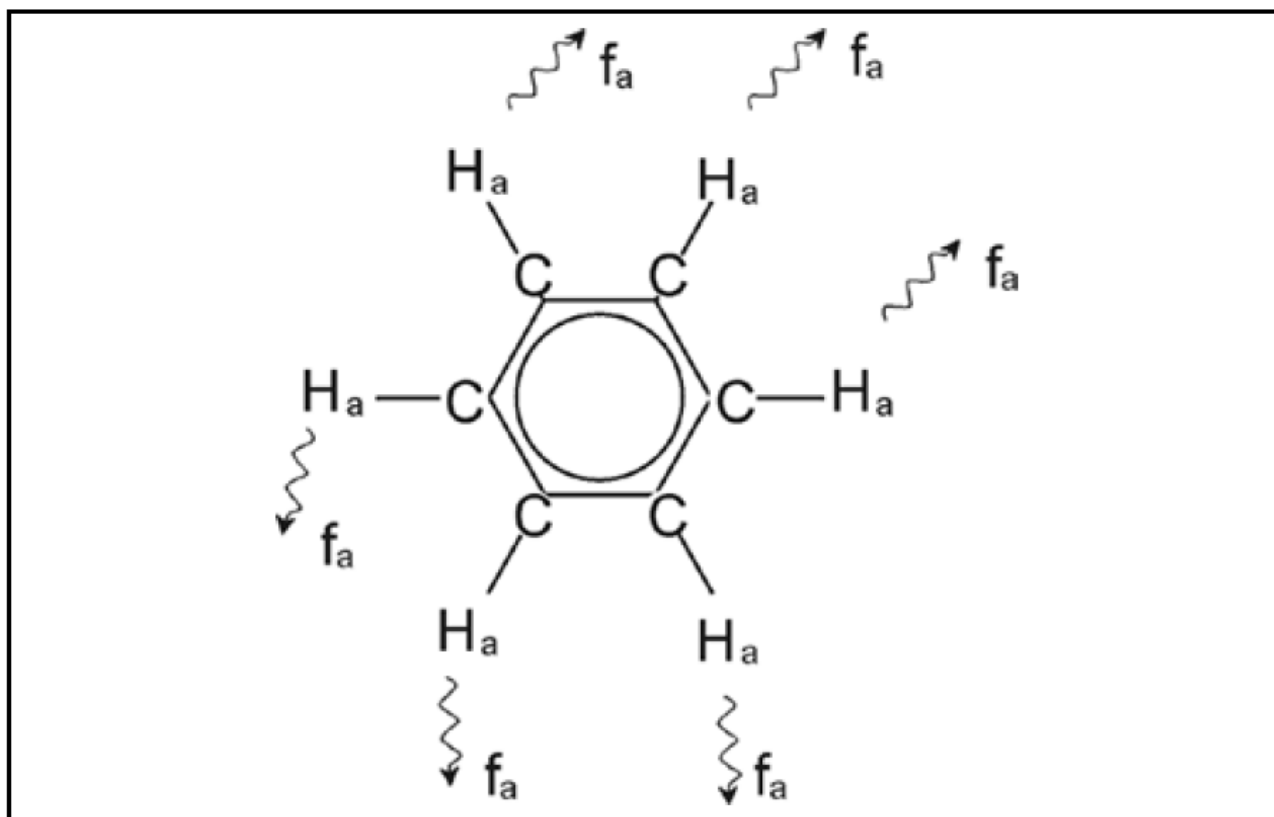


Figura 3.7: Anillo del benceno

Los seis protones (etiquetados como H_a) pueden considerarse idénticos. Cada uno de ellos tiene un enlace sencillo con un átomo de carbono. Cada átomo de carbono forma dos enlaces aromáticos con los átomos de carbono vecinos contiguos. Por lo tanto, cada uno de los seis protones tienen un entorno químico idéntico y se dice que son “químicamente equivalentes”, y en este caso, incluso, “magnéticamente equivalentes”. Todos resonarán a la misma frecuencia exacta f_1 sin acoplarse con los otros. Por lo tanto, para el benceno puro, podemos esperar una única señal. La figura siguiente es un espectro del benceno en acetona - d_6 y muestra que la señal está situada a 7.5 ppm.

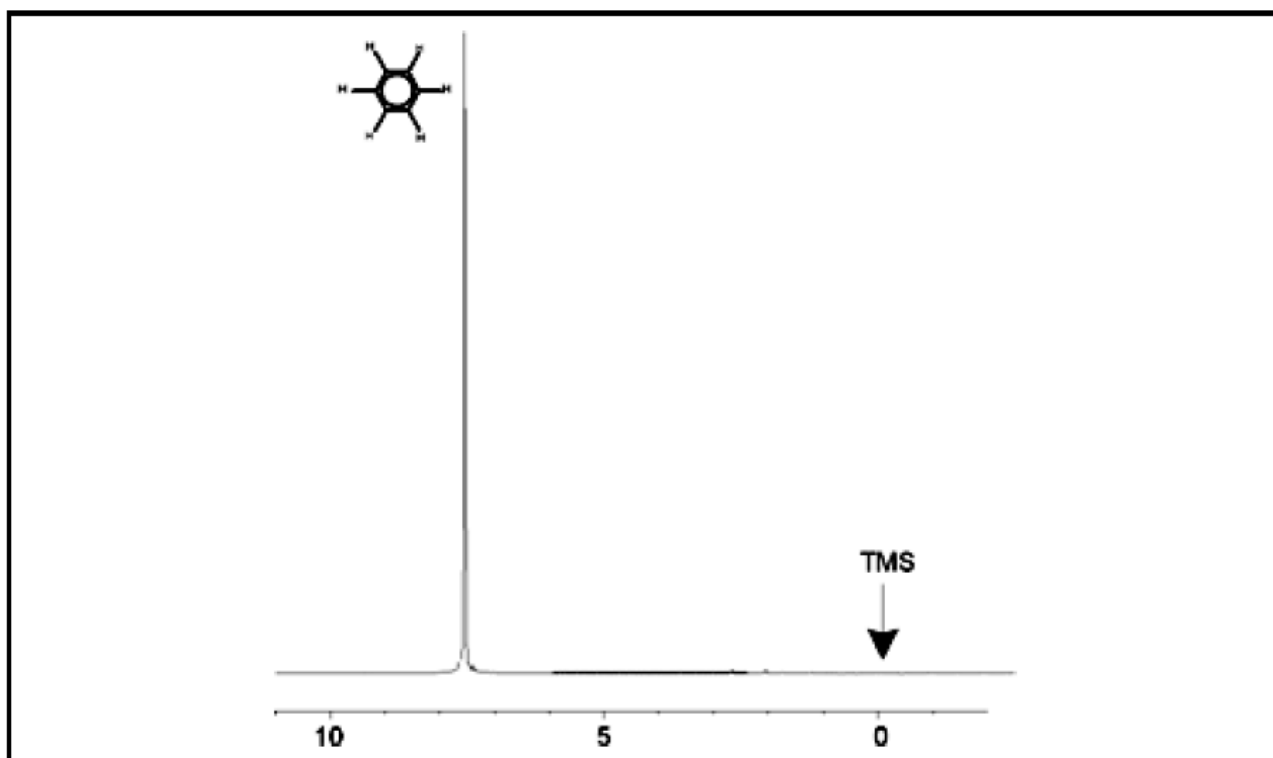


Figura 3.8: Espectro del benceno

3.5 Espectro de protón del acetato de bencilo

El acetato de bencilo ($C_6H_5 - CH_2 - O - CO - CH_3$) es una molécula orgánica más complicada, cuya estructura se muestra en la siguiente figura:

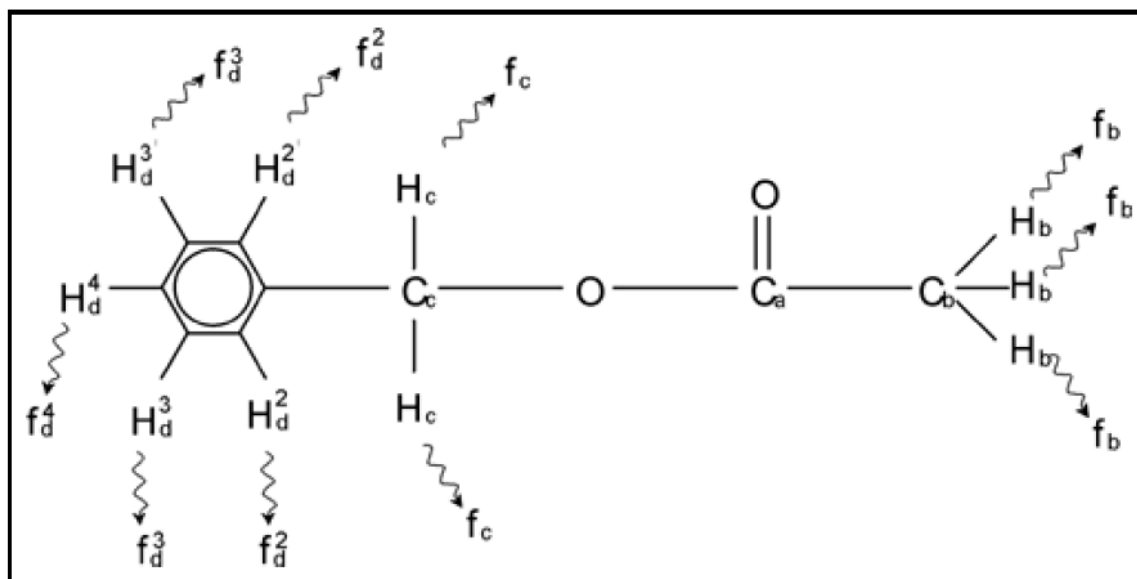


Figura 3.9: Acetato de bencilo

Ahora podemos distinguir entre tres grupos diferentes de protones que han sido acordemente etiquetados. Por ejemplo, los tres protones etiquetados como H_b se encuentran claramente en un entorno atómico diferente que los dos protones etiquetados como H_c .

Los tres protones H_b están enlazados al carbono C_b que está unido con un enlace sencillo con el átomo de carbono C_a . Los dos protones H_c están enlazados al átomo de carbono C_c el cual está asimismo unido, con un enlace sencillo, al anillo de benceno y a un átomo de oxígeno. El tercer grupo de protones está formado por los cinco protones H_d del anillo de benceno. La Figura 3.10 muestra un espectro de protón del acetato de bencilo en acetona - d_6 . En este espectro esperamos tres señales correspondientes a los tres grupos de protones.

Observe que la posición de las señales de los protones del anillo de benceno se han desplazado ligeramente de 7.5 ppm (Figura 3.8) a aproximadamente 7.2 ppm (Figura 3.10).

Los protones del anillo del benceno ya no són magnéticamente equivalentes, incluso no son de algú modo químicamente equivalentes y han sido etiquetados adecuadamente. Está claro en la Figura 3.10 que la señal resultante de los protones H_d es un multiplete, pero este detalle se omitirá hasta la siguiente sección. Los tres picos de los protones mostrados en esta figura, tienen claramente intensidades distintas.

El análisis cuantitativo del espectro es relativamente sencillo, ya que todas las señales se emiten por el mismo isótopo 1H , esto es, la abundancia natural y la sensibilidad inherente a la técnica de resonancia es la misma para cada pico. Por lo tanto, el área bajo los picos del benceno, CH_2 y CH_3 debe tener la relación 5:2:3 respectivamente, en correspondencia con el número de protones que contribuyen a las mismas.

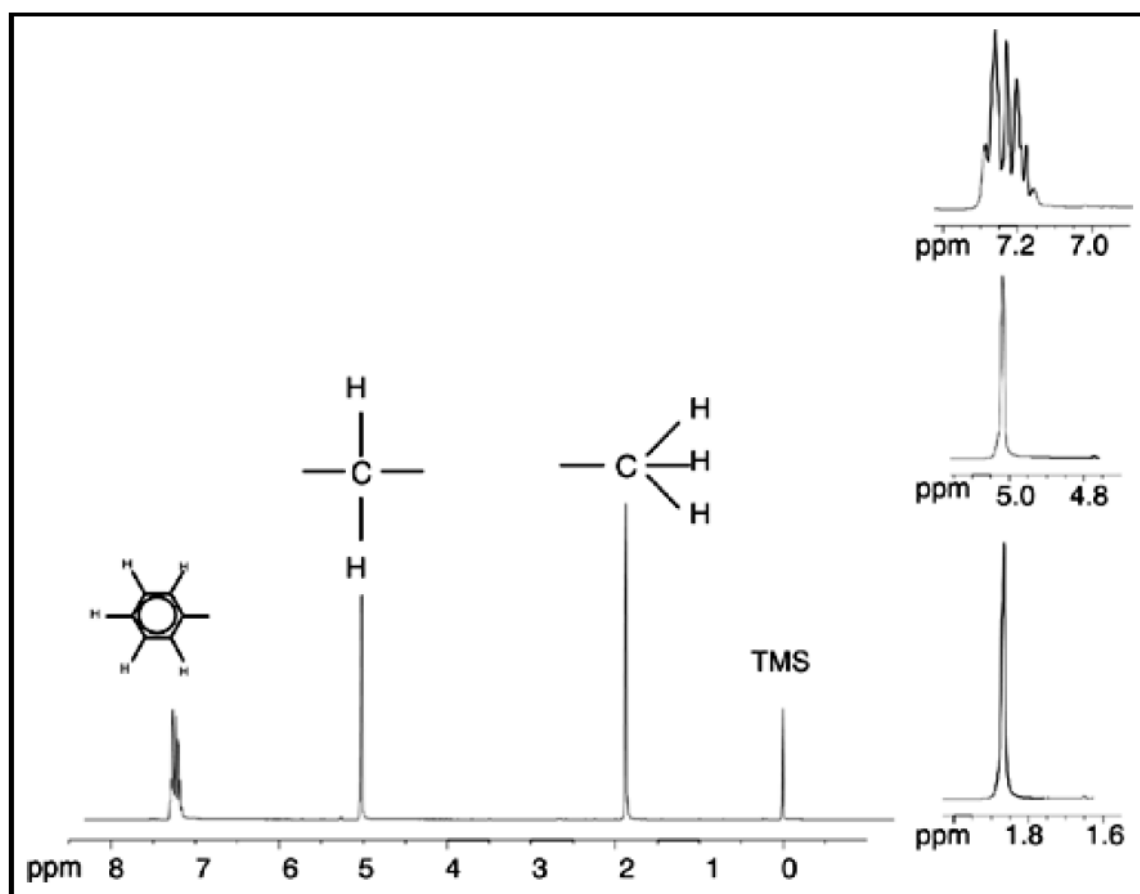


Figura 3.10: Espectro de protón del acetato de bencilo

3.6 Espectro de protón del etilbenceno con acoplamiento espín / espín

Hasta aquí, la descripción del espectro de RMN de protón, ha sido muy sencilla, por el hecho de que todas las señales, con excepción de las del anillo del benceno en el acetato de bencilo, han sido singletes. La estructura del compuesto orgánico etilbenceno y el espectro de protón correspondiente se ilustra en la Figura 3.11 y en la Figura 3.12 respectivamente. Como anteriormente, los protones se han etiquetado como tres grupos distintos correspondientes a los tres entornos atómicos básicos.

La diferencia más obvia entre las señales de este espectro y las del espectro del acetato de bencilo es la división en **multipletes**. La señal emitida por los protones del CH₃ es un **tripleto** y la señal de los protones del CH₂ es un **cuartete**. Observe también, que las posiciones de las señales no coinciden. Los protones del CH₃ en el acetato de bencilo emiten una señal a 1.85 ppm, mientras que los protones correspondientes al CH₃ en el etilbenceno emiten la señal del tripleto a 1.25 ppm. Esto no es una sorpresa, ya que los dos grupos CH₃ tienen entornos químicos diferentes.

El origen de la división en multiplete es debido a un efecto conocido como acoplamiento espín-espín. La justificación completa de este efecto está fuera del alcance de este manual y el lector debe remitirse, para más detalles, a un texto estándar de RMN. Para nuestro propósito una breve introducción, del acoplamiento espín-espín, será suficiente.

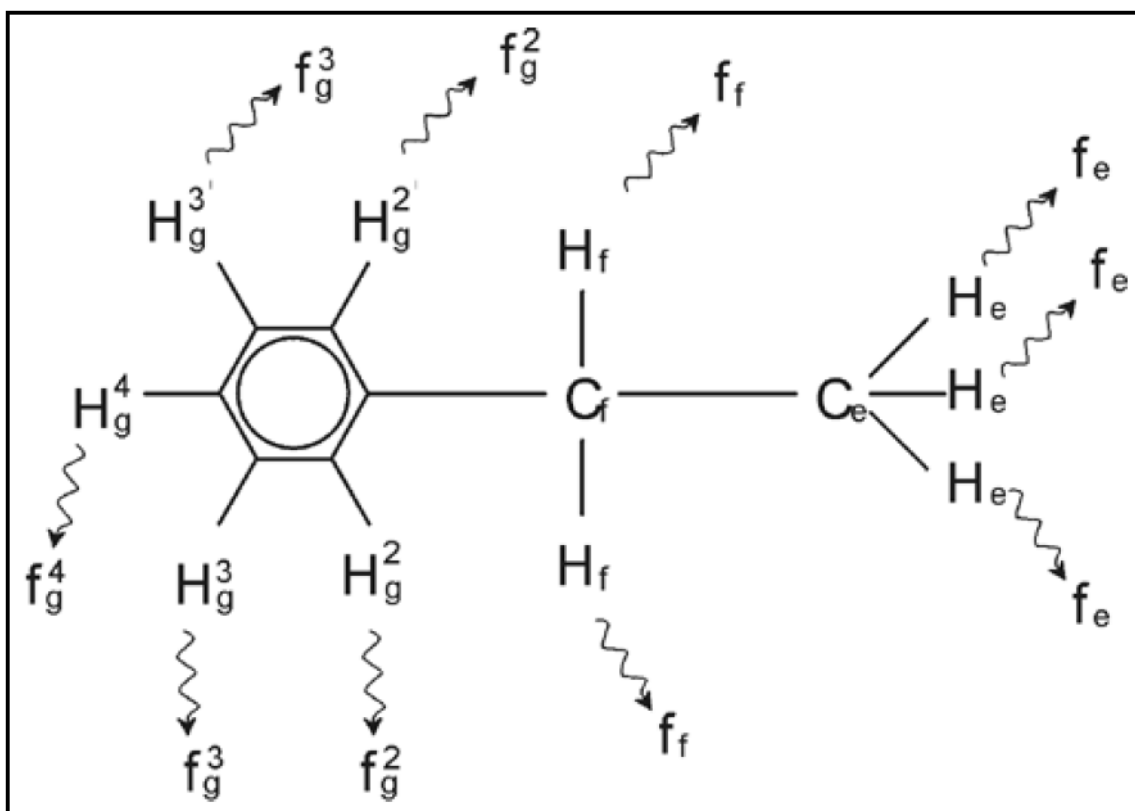


Figura 3.11: Etilbenceno

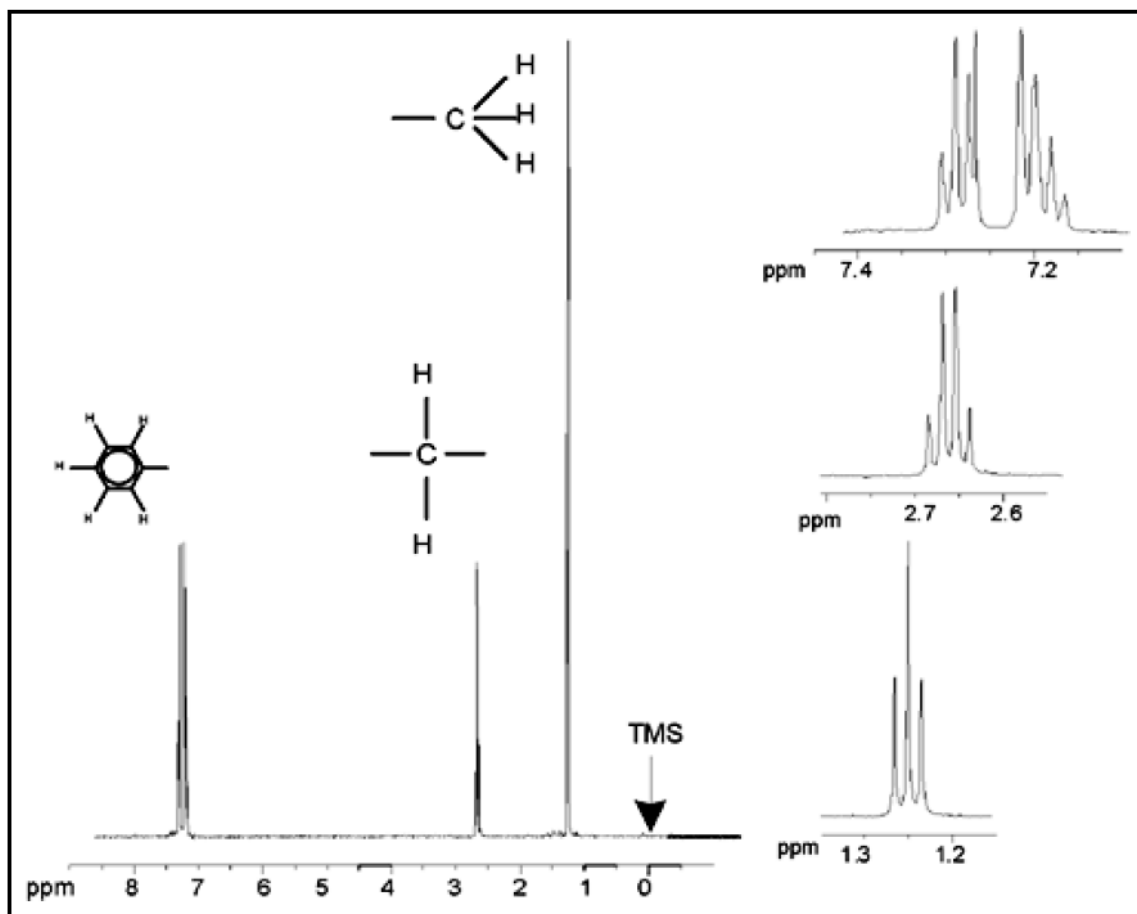


Figura 3.12: Espectro del etilbenceno

La división de las señales de RMN observada en la Figura 3.11 es el resultado de una interacción magnética entre los protones vecinos. Los dos protones H_f son magnéticamente equivalentes y no interactúan entre sí. Del mismo modo, los tres protones H_e son magnéticamente equivalentes y no influyen entre ellos. Sin embargo, los dos protones H_f y los tres protones H_e están en un entorno local diferente y, se “acoplan” unos con otros por medio de sus electrones de enlace. El resultado final de este acoplamiento es que los dos grupos de protones interactúan entre sí y provocan la división de las señales de RMN.

Los dos protones H_f pueden combinarse para existir en tres estados magnéticos distintos (Esto es resultado de la orientación de los espines y de ahí el término acoplamiento espín-espín) Como resultado del acoplamiento, las señales de RMN emitidas por los protones H_e resuenan a las tres frecuencias posibles y se observa un triplete.

Del mismo modo, por efecto de los protones H_e se dividen las señales de H_f . Los tres protones H_e pueden combinarse para existir en cuatro estados magnéticos posibles. Consecuentemente los protones H_f resonarán a las cuatro frecuencias posibles, de modo que la señal se divide en un cuartete.

Las señales de los protones del benceno, también se dividen como resultado de su no-equivalencia magnética y se traducen en un acoplamiento espín-espín. La pregunta resultante es por qué los protones del CH_2 y del CH_3 del etilbenceno interactúan entre sí mientras que los dos grupos de protones comparables en el acetato de bencilo no lo hacen? La respuesta está en el número de enlaces que separan los dos grupos. En el etilbenceno (Figura 3.11) Los dos grupos de protones están unidos a átomos de carbono adyacentes y puede esperarse que interactúen suficientemente entre sí. Sin embargo, en el acetato de bencilo (Figura 3.9), los dos átomos

de carbono C_c y C_b están conectados a través de dos enlaces extra, entre el oxígeno y el otro átomo de carbono. Por lo tanto, los grupos de protones están demasiado lejos entre sí para mostrar un acoplamiento espín-espín significativo.

3.7 Desacoplamiento

El efecto del acoplamiento espín-espín puede eliminarse con una técnica llamada “desacoplamiento”. El efecto del desacoplamiento es enmascarar la presencia de un grupo de protones en particular, por ejemplo, los protones H_e en la Figura 3.11. ¡Se adquiere un espectro como si los protones H_e no estuvieran! Esto se logra transmitiendo una secuencia de pulsos de desacoplamiento a los H_e , a su frecuencia de resonancia ν_e y de este modo, se cambia permanentemente la orientación de espín de estos protones. Para el espectro mostrado en la Figura 3.12 la frecuencia de desacoplamiento debe ser de 1.25 ppm por encima del pico de TMS.

Los pulsos de desacoplamiento tienden a ser más largos y de menor intensidad que los pulsos de excitación. La Figura 3.13 es una representación de un experimento de desacoplamiento, mientras que la Figura 3.14 muestra el espectro desacoplado. El cuartete del CH_2 se transforma en un **singlete**. Los espectroscopistas lo expresan diciendo que el cuartete colapsa a un singlete. Además, el área bajo el singlete debe ser igual al área bajo el cuartete original. (Compare las alturas relativas de los picos del CH_2 y del anillo de benceno en las dos figuras). La señal del grupo CH_3 a 1.25 ppm no aparece en el espectro con desacoplamiento, ya que los pulsos de desacoplamiento eliminan eficazmente los efectos de la presencia de los protones del CH_3 .

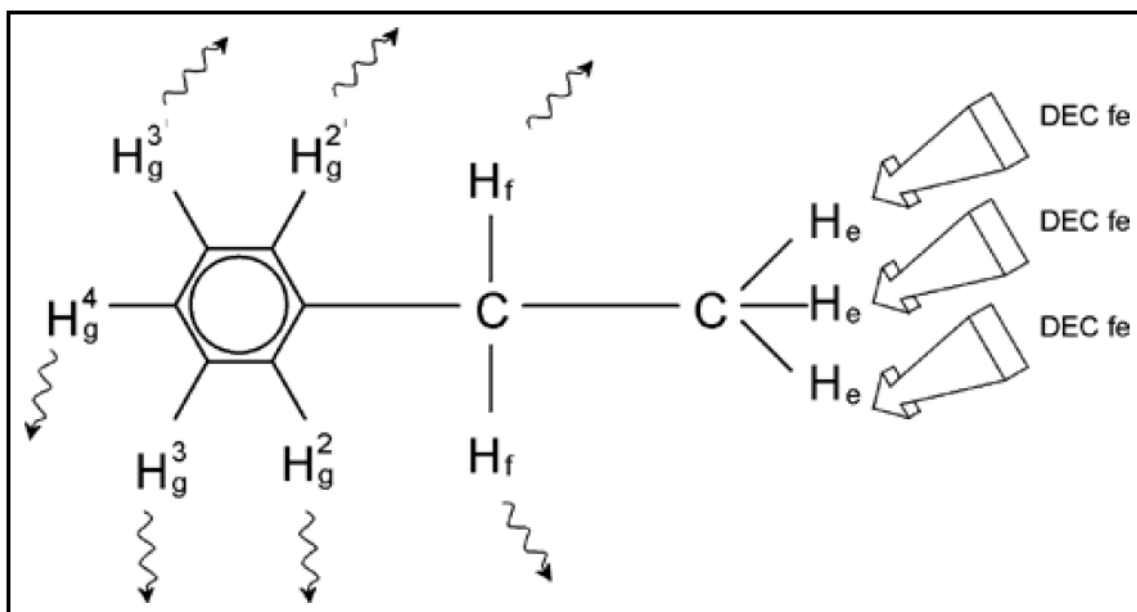


Figura 3.13: Experimento de desacoplamiento

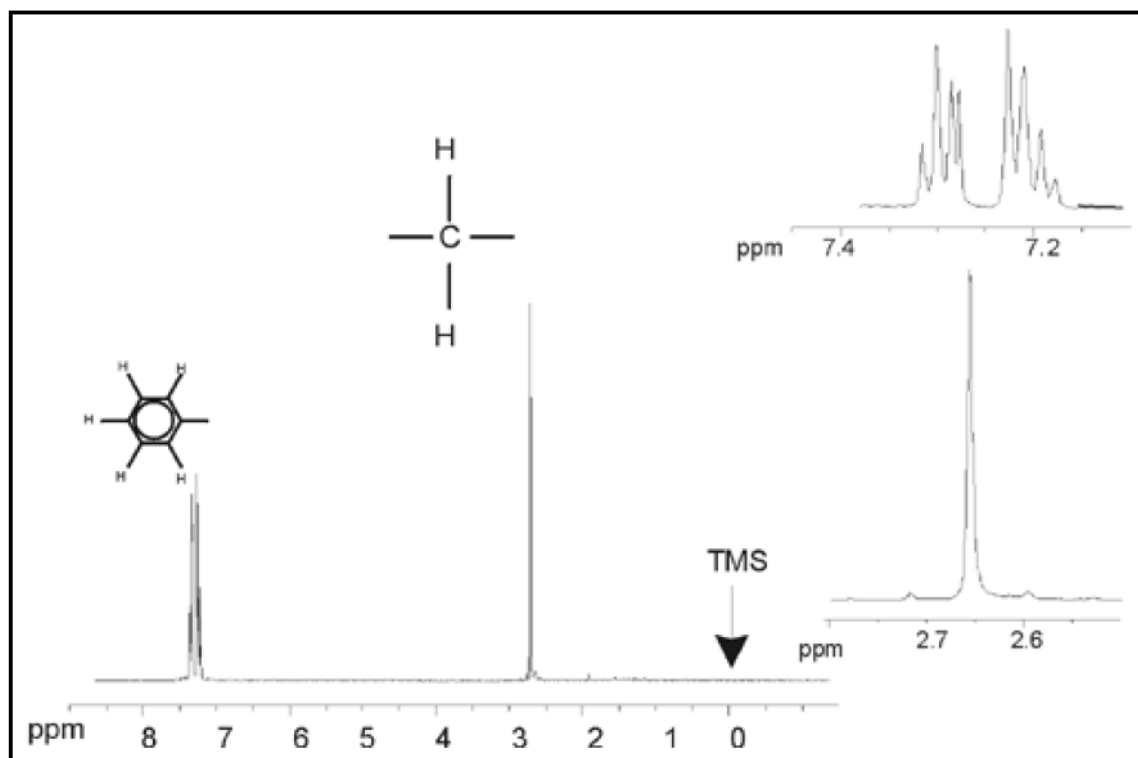


Figura 3.14: Espectro del etilbenceno con homodesacoplamiento

El experimento descrito anteriormente es un ejemplo de homodesacoplamiento en el que el mismo isótopo, esto es el ^1H , se observa y desacopla. El heterodesacoplamiento es cuando el isótopo a observar es diferente al que se desacopla. En el capítulo de este manual "Espectro de ^{13}C con desacoplamiento [99]" realizaremos un experimento de heterodesacoplamiento donde se observa ^{13}C y se desacopla ^1H .

Los espectrómetros AVANCE AV tienen la capacidad para llevar a cabo tipos de experimentos muy complicados en función del número de canales instalados. Un espectrómetro de cuatro canales puede usarse para observar un núcleo y desacoplar otros tres tipos de núcleos. Con hasta ocho canales independientes el rango de experimentos posibles es bastante asombroso. El usuario debe saber que, actualmente, el factor limitante no está en la generación de pulsos de RF de excitación y desacoplamiento, sino en transmitir estos pulsos a la muestra vía las sondas y hasta cierto punto en los preamplificadores.

El recorrido de la señal del experimento a realizar se ajusta utilizando el menú "edasp", que se tratará en la sección Spectrometer Parameters edasp [64].

3.8 FID y espectro

Las señales emitidas por los átomos excitados en la muestra, se reciben por el espectrómetro y se realiza la transformada de Fourier. El proceso de recibir las señales de RMN se llama adquisición. Se dice que los datos se adquieren. Debe hacerse una distinción entre los términos "FID" (dominio del tiempo) y su "espectro" asociado (dominio de frecuencia).

Cuando se realiza una adquisición, se adquieren los datos "originales" y la señal recibida se llama FID (caída libre de la inducción). Una FID típica se muestra en la siguiente figura Transformación de Fourier.

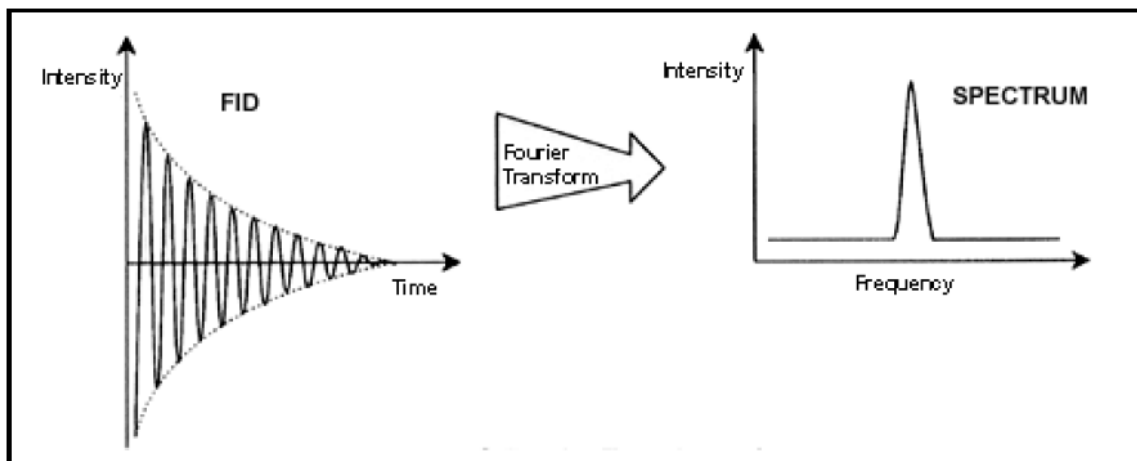


Figura 3.15: Transformación de Fourier

Para que una FID pueda analizarse provechosamente, debe transformarse primero en un dominio de frecuencia. Esto se logra aplicando una transformación de Fourier utilizando el comando '`ft`'. Una **transformación de Fourier** es una operación matemática que convierte la FID en un espectro de frecuencias. Una **FID** es una señal cuya intensidad varía con el tiempo, mientras que un espectro muestra como la intensidad varía con la frecuencia. La transformación de Fourier es el proceso más importante, de las distintas operaciones de procesamiento que se realizan normalmente con los datos originales.

4 Descripción del sistema

El espectrómetro consta de las siguientes subunidades:

Consola del operador incluyendo el ordenador anfitrión, monitor, teclado táctil opcional BSMS.

Consola conteniendo el hardware de la electrónica.

Sistema del imán incluyendo el sistema de homogeneización, los preamplificadores (HPPR) y la sonda.



Figura 4.1: Consola del operador, consola e imán

4.1 Consola del operador y conexiones

Todos los aspectos del funcionamiento del espectrómetro se controlan desde la consola del operador. El diseño y la realización de los experimentos, así como el análisis de los datos se controlan por comandos introducidos por el operador en la consola. Los subcomponentes de la consola del operador son los siguientes:

Ordenador anfitrión: Es un ordenador personal PC. El ordenador anfitrión corre el programa Topspin y maneja todos los datos de análisis y su almacenamiento. Todas las operaciones relevantes para adquirir datos se controlan por un segundo computador llamado IPSO (Organizador de secuencia de pulso inteligente) instalado dentro de la consola misma.

Conexión Ethernet desde el ordenador anfitrión a AQS: Se usa para transferir datos e instrucciones entre el ordenador anfitrión e IPSO.

Teclado táctil BSMS: Este dispositivo (opcional) permite al usuario controlar el sistema de referencia y homogeneización así como las operaciones básicas tales como introducir, hacer girar y retirar la muestra de RMN.

Conexión del teclado táctil BSMS al CPU BSMS: El teclado táctil está conectado a la CPU BSMS alojada en la consola. Si se desconecta la BSMS, debe restablecerse la conexión.

4.2 Consola

Esta unidad puede ser una columna sencilla o doble, dependiendo principalmente del sistema y de las cajas del hardware electrónico asociado con un espectrómetro digital moderno. Las unidades principales son **IPSO** (Organizador de secuencia de pulso inteligente), la **BSMS** (Sistema de imán inteligente Bruker) **VTU** (Unidad de temperatura variable), así como diversos amplificadores.

IPSO: Las diversas unidades dentro del IPSO generan los pulsos de radiofrecuencia usados para excitar la muestra y reciben, amplifican y digitalizan las señales de RMN emitidas por la muestra. Una vez que se reciben y digitalizan los datos, la información se transfiere al ordenador anfitrión para transformaciones posteriores y almacenamiento. La conexión principal con el

ordenador anfitrión es vía Ethernet. Es importante resaltar que IPSO tiene el control total sobre el funcionamiento del espectrómetro a lo largo de la duración del experimento. Esto es para asegurar un funcionamiento ininterrumpido y de este modo garantizar la integridad de la adquisición. El rack contiene un conjunto de tarjetas tipo ranuras de entrada digital y analógica, que preparan la señal para ser transmitida y también reciben, amplifican y digitalizan la señal de RMN. Una descripción detallada de estas tarjetas escapa del objetivo de este manual.

BSMS: Este sistema se controla vía software (comando ,bsmsdisp) o por el teclado táctil BSMS y se usa para hacer funcionar el sistema de referencia y homogeneización, así como para controlar la sustentación y el giro de la muestra.

VTU: Dependiendo del modelo la VTU puede ser una unidad separada y autónoma o puede estar incorporada en la BSMS. Su función es variar la temperatura de la muestra de una forma controlada o mantenerla en un valor constante.

Amplificadores (conocidos también como transmisores). A menudo, para excitar la muestra de RMN, se requieren señales de una amplitud relativamente grande y de ahí la necesidad de amplificadores. Los amplificadores pueden ser internos (incorporados en el rack IPSO) o externos (unidades separadas y autónomas). Los cables van directamente desde las salidas del amplificador al preamplificador HPPR transportando la señal RF a la muestra. Aunque existe un amplio rango de amplificadores disponibles (incluyendo amplificadores para sólidos), las dos categorías principales son:

Amplificadores selectivos (conocidos también como amplificadores ^1H o de protón) específicamente diseñados para amplificar las altas frecuencias asociadas con ^1H y ^{19}F .

Amplificadores de banda ancha (conocidos también como amplificadores X) diseñados para amplificar un amplio rango de frecuencias (excluyendo ^1H y ^{19}F).

La potencia RF entra en el amplificador vía un conector tipo SMA etiquetado como "RF in".

Es una señal débil con una amplitud máxima de $1V_{pp}$. Sin embargo, la calidad de esta señal es crítica ya que tiene la frecuencia, duración, forma y fase de la señal final. Los usuarios más experimentados pueden querer monitorizar esta señal en un osciloscopio. La función del amplificador es tomar la señal de entrada y aplicar una cantidad fijada de amplificación. Cualquier control de la amplitud por medio de los parámetros pl0-pl31 se realiza antes del amplificador en la SGU. La señal RF que sale del amplificador puede ser de varios cientos de voltios y no es recomendable su visualización sin atenuación.

4.3 Conexión entre el ordenador anfitrión y e IPSO

Aunque durante una sesión normal de Topspin esta conexión está permanentemente en funcionamiento y no es realmente visible por el usuario, algunas veces se pierde la conexión, al apagar el ordenador anfitrión o el IPSO y debe restablecerse cuando se encienden de nuevo. Esto se hará automáticamente.

IPSO tiene un controlador anfitrión que es un PC IBM compatible con todas las interfaces estándares. Así es accesible el conjunto completo del hardware y software estándar. El controlador anfitrión arranca el OSS (software del sistema operativo) vía Ethernet desde el PC-TopSpin (Ordenador anfitrión). La comunicación con este PC también funciona vía Ethernet. Además el controlador anfitrión se conecta vía las interfaces estándares con los controladores de RX y Tx así como con cualquier otro equipamiento (ver el manual de IPSO en el CD-Bash).

En el capítulo Resolución de problemas básicos [109] se describen los procedimientos para encender y apagar los diversos elementos del espectrómetro.

4.4 Imán, sistema de homogeneización, preamplificador HPPR y sonda

El **imán** genera el campo magnético necesario para inducir las transiciones RMN. Para mantener un sistema superconductor, el núcleo del imán se enfría a temperaturas muy bajas utilizando nitrógeno y helio líquido (para más detalles, ver la sección Imán y dewar del imán [►33]).

El **sistema de homogeneidad** a temperatura ambiente, instalado en el extremo inferior del imán, es un conjunto de bobinas de transporte de corriente (conocido como homogeneizador) utilizado para maximizar la homogeneidad del campo compensando cualquier no homogeneidad existente. La corriente en estos homogeneizadores a temperatura ambiente (llamados así porque no se refrigeran por inmersión en un baño de helio líquido) se controla por la BSMS y puede ajustarse desde el teclado BSMS para optimizar la señal de RMN. Esto tiene un efecto fundamental en la resolución y sensibilidad de la señal. Esta acción de ajustar la corriente en el homogeneizador a temperatura ambiente se refiere como **homogeneización** (shimming) del imán.



Figura 4.2: Imagen del imán, sistema de homogeneización, sonda y amplificador HPPR

1.	Consola del sistema	5.	BSMS
2.	Consola	6.	Sonda
3.	Magnet	7.	Sistema de homogeneidad
4.	BSMS/2	8.	Sonda y sistema de homogeneidad

Aunque el **HPPR** (Preamplificador de altas prestaciones) transporta la señal transmitida **hacia** la muestra, está principalmente relacionado con la amplificación de las señales relativamente débiles emitidas **desde** la muestra. Está situado en la base del imán para amplificar la señal de RMN tan pronto como sea oportunamente posible y así minimizar las pérdidas a lo largo del

cable. Una vez que se ha amplificado la señal con el HPPR, cualquier pérdida posterior en el cable es menos crítica. El HPPR también transmite y recibe las señales de referencia del deuterio (o fluor) y se usa en la rutina de oscilación (wobble).

Pueden configurarse y se mostrarán automáticamente en la ventana "edasp", hasta 5 (HPPR) u 8 (**HPPR/2**) módulos individuales (excluyendo el módulo de la cubierta que siempre está presente). Una configuración muy normal formada por tres módulos individuales, protón, X-BB y ^2H junto con el módulo de cubierta, es la que se muestra en la n Figura 4.3. El módulo ^2H se usa para transmitir y recibir la señal de referencia. En la Figura 4.6. se muestra como conectar los módulos HPPR a la sonda y amplificadores. Gran parte de la tecnología HPPR está basada en lo que se conoce como **conmutación transmitir / recibir**. Efectivamente, la señal que va hacia la sonda se transmite sin necesidad de ninguna acción. Una vez que la señal ha pasado, se altera la ruta de la señal a fin de amplificar la señal recibida por 30dB normalmente. La estrategia es hacer esta conmutación tan rápida como sea posible y suprimir la fuga, de modo que la señal transmitida no inunde la señal recibida.



Figura 4.3: HPPR con tres módulos y el módulo de cubi

1.	Pantalla de la cubierta
2.	Módulo de cubierta
3.	Módulos individuales

La sonda se inserta en el sistema de homogeneización en la base del imán y esencialmente está formada por varias bobinas utilizadas para transmitir los pulsos de excitación a la muestra, así como para recibir la señal emitida. La sonda también transmite y recibe la señal de referencia.

4.5 Imán y dewar del imán

Están disponibles un rango de imanes con intensidades diferentes. La **intensidad del imán** se clasifica de acuerdo con la frecuencia de las señales de RMN emitidas por los átomos de hidrógeno. Cuanto más potente es el imán mayor es la frecuencia del hidrógeno. Por ejemplo, para un imán de 500 MHz (11.7 T), esto significa que cuando una muestra química se pone en el imán para analizarla, los átomos de ^1H en la muestra emitirán señales con una frecuencia muy próxima a 500 MHz. Bruker dispone de imanes en el rango de 200-900 MHz.

Los imanes superconductores son electroimanes, y como tales hacen uso del hecho de que una corriente eléctrica produce un campo magnético. El **núcleo del imán** está formado por una gran bobina de un cable que transporta corriente con la forma de un solenoide. En el centro de la bobina existe un campo magnético estático muy intenso. La muestra a analizar se coloca dentro de este campo magnético.

A temperaturas muy bajas ciertos materiales muestran marcadas propiedades de superconductividad. Un cable superconductor transporta la electricidad sin necesidad de ningún suministro de energía (esto es, sin batería o alimentación de corriente). Una vez que la corriente se introduce en un circuito cerrado superconductor, esta permanecerá allí para siempre. Los imanes de Bruker contienen este tipo de bucle superconductor. Cuando el imán se instala por primera vez, se introduce la corriente en la bobina conductora. Esto se conoce como "cargar" el imán. Una vez cargado, el imán debe permanecer operativo por muchos años, ya que la corriente, una vez iniciada, nunca parará. El único mantenimiento requerido por el imán, es asegurarse de que la bobina conductora se mantiene a una temperatura suficientemente baja.

La temperatura de 4K (-269°C) es el punto de ebullición del helio. En condiciones normales, a una temperatura por encima de 4K, es un gas. A una temperatura por debajo de 4K es un líquido. Por lo tanto, si la bobina se mantiene sumergida en helio líquido, estaremos seguros de que la temperatura es de 4K o inferior. Esta es una temperatura lo suficientemente fría para asegurar que la bobina del imán mantiene su superconductividad. Sin embargo, si se evapora bastante helio líquido, de modo que una gran parte de la bobina superconductora no esté cubierta por He líquido, la temperatura de la bobina se incrementará y en algún momento puede llegar a no ser superconductora. La resistencia en la bobina produce la caída súbita del campo magnético, acompañado de la generación de calor, que muy rápidamente conduce a la evaporación de grandes cantidades de helio y nitrógeno líquido. La sala del imán puede llenarse rápidamente de gas evaporado y se dice que el imán "quenched". Esto puede dañar permanentemente, o no, el imán. En cualquier caso, recargar el imán es consumo de tiempo y dinero y debe evitarse bajo cualquier circunstancia.

La mayor parte de la tecnología de imanes, se encuentra con la difícil tarea de asegurar la mínima evaporación posible del helio líquido que cubre la bobina del imán. Esto se logra minimizando el flujo de calor desde el laboratorio de RMN (temperatura ambiente) al núcleo del imán (4K). El imán consta de varias secciones. La cubierta exterior del imán tiene vacío y la superficie interior es plateada (se usa el mismo principio que en los termos, excepto en que se trata de evitar que el calor entre, en lugar de evitar que salga). A continuación hay un baño de nitrógeno que reduce la temperatura a 77.35K (-195.8°C) finalmente un tanque de helio, en el que está inmersa la bobina superconductora, y que está térmicamente aislado del baño de nitrógeno por una segunda sección a vacío (ver la Figura 4.4).

4.5.1 Apertura a temperatura ambiente

Los tanques de helio y nitrógeno están envolviendo una columna central conocida como el núcleo del imán. Un tapón metálico cierra normalmente la parte superior de la apertura. Los imanes están disponibles con una apertura estándar o con una ancha. Las muestras a analizar se introducen en el imán por la parte superior del núcleo. Las sondas que sustentan la muestra y transmiten las señales hacia y desde la muestra, se insertan en la parte inferior.

4.5.2 Tanque de helio

En un imán estándar, el tanque de helio está suspendido de dos mástiles que se prolongan muy por encima del imán. El acceso a los tanques de helio puede hacerse por dos puertos: Uno de estos puertos permite rellenar con helio líquido y también la entrada para un **sensor de nivel de helio**. El otro puerto, solo se usa cuando se está cargando o descargando el imán. El mástil del helio puede soportar varias válvulas que controlan la liberación de pequeñas cantidades de helio que se evaporarán inevitablemente. El responsable del sistema debe comprobar que estas válvulas funcionan adecuadamente, esto es, que no están bloqueadas por hielo.



Nota

Nota: Es importante no dejar abiertos los puertos de helio, por un periodo largo de tiempo (por ejemplo, >30 segundos).

El nivel de helio puede comprobarse, bien manualmente o electrónicamente. La comprobación manual implica introducir una varilla larga en el tanque de helio por uno de los puertos de acceso (¡únicamente usuarios experimentados!). La monitorización electrónica del nivel de helio se realiza utilizando el teclado BSMS y se estudiará en la sección Ventana de control de ajuste BSMS [▶43].

Descripción del sistema

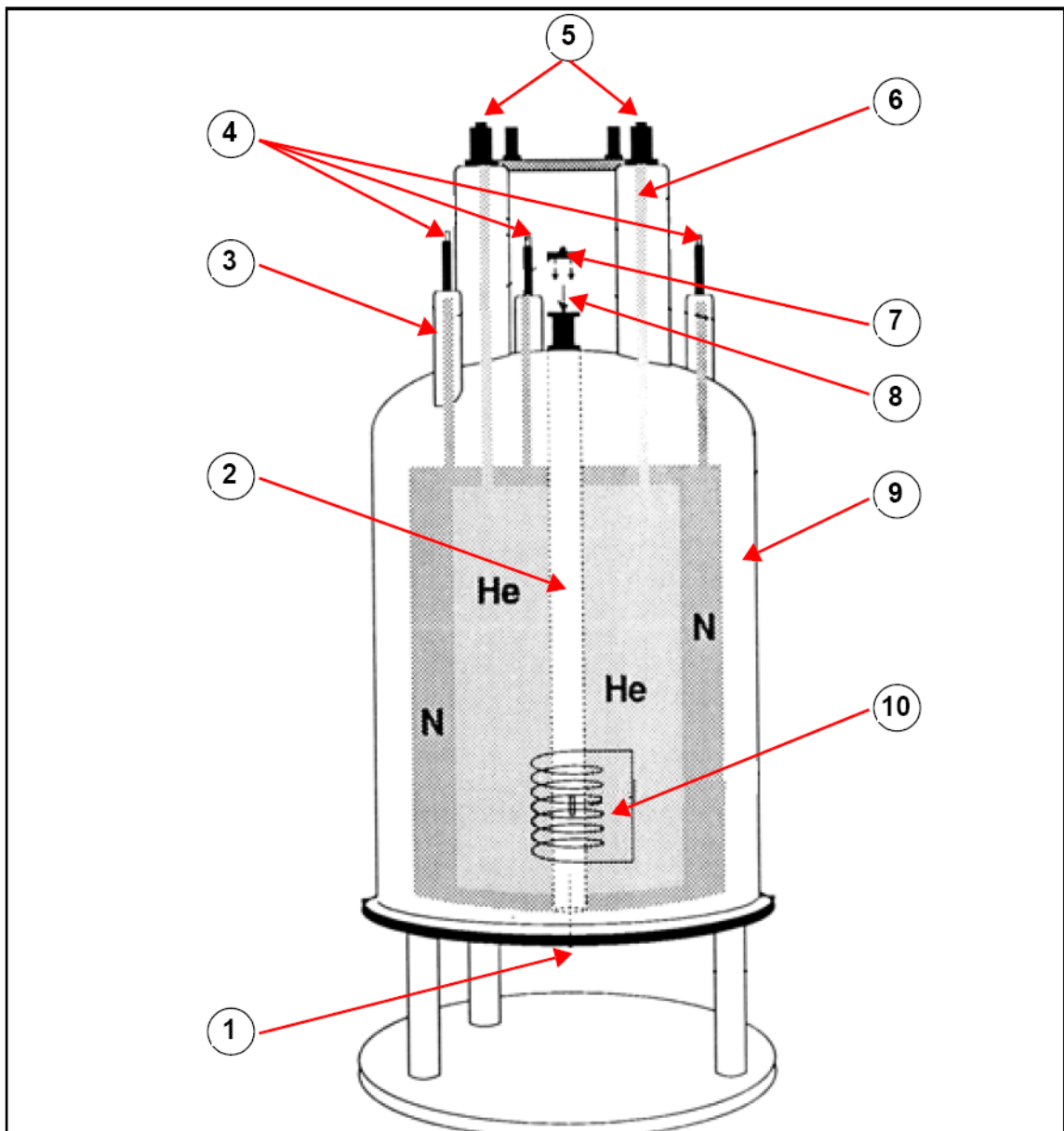


Figura 4.4: Imán superconductor

1.	Inserte la punta de prueba aquí	6.	Torre del helio
2.	Alesaje	7.	Enchufe del metal
3.	Torre del nitrógeno	8.	Inserte la muestra aquí
4.	Puertos del nitrógeno	9.	Compartimiento de vacío
5.	Puertos del helio	10.	Imán

4.5.3 Tanque de nitrógeno

Los tres mástiles más cortos que se prolongan por encima del imán, permiten acceder al tanque de nitrógeno. Puede usarse cualquiera de los tres puertos, para comprobar el nivel de nitrógeno con una varilla idónea (¡únicamente usuarios experimentados!!!) y rellenar el nivel si es necesario. De nuevo, el responsable del sistema debe comprobar regularmente que cualquier válvula insertada en los puertos de nitrógeno no se bloquee con hielo.

Como ya se ha mencionado anteriormente, los imanes están diseñados para minimizar la evaporación de líquido. Durante el funcionamiento normal, cada día se evaporará una pequeña cantidad de nitrógeno. Esto es perfectamente normal de hecho, la ausencia de **evaporación de nitrógeno** indica que el puerto de nitrógeno se ha bloqueado. Del tamaño y del diseño del imán depende la frecuencia con que hay que rellenar los niveles de nitrógeno y helio. Una buena práctica es comprobar y rellenar el nivel de nitrógeno cada semana. También es una buena costumbre comprobar el nivel del helio a la vez y llevar un registro del mismo. Debido a que la **evaporación del helio** es mucho menor que la del nitrógeno, el intervalo de tiempo que transcurre entre las recargas del mismo es mucho mayor, (3-6 meses), por lo que la comprobación regular asegurará que no ha habido cambios en la evaporación del mismo.

4.6 Introducción al sistema de referencia (Lock)

Esta sección se ha incluido para proporcionar al usuario unos conocimientos básicos de los principios del sistema de referencia. Los aspectos prácticos de como realmente referenciar la muestra se tratarán en la sección Referenciar la muestra [▶ 55].

La finalidad del sistema de referencia es garantizar que la intensidad del campo magnético que rodea la muestra no varía durante un experimento o que el campo no está modulado por perturbaciones externas. El análisis de RMN implica la medida de la frecuencia exacta de las señales que emite la muestra. Las frecuencias de estas señales son directamente proporcionales a la intensidad del campo magnético, esto es, si la intensidad del campo varía, lo hará la frecuencia emitida. Por lo tanto, el usuario está seguro de que la intensidad del campo magnético se mantiene siempre en el mismo valor, lo que se refiere como "**referenciar**" la muestra. El **sistema de referencia** es esencialmente un espectrómetro independiente, diseñado para observar deuterio. Debe mencionarse que las señales emitidas por el deuterio, normalmente están muy alejadas de las frecuencias de interés. Sin embargo, si las frecuencias del deuterio no son adecuadas, entonces pueden utilizarse una **referencia de fluor** (19F) . Como que esto no es lo más frecuente, aquí solo se tratará la referencia de deuterio, pero el lector debe tener en cuenta que el principio de las referencia de deuterio y de fluor es idéntico.

En sistemas AVANCE AV, la BSMS proporciona el hardware necesario para implantar la referencia y un módulo independiente de deuterio en el HPPR transmite y recibe las señales de referencia. Por supuesto, debe introducirse algún deuterio en las muestras que se analizan. Esto se hace fácilmente disolviendo las muestras en un **disolvente deuterado**. Un disolvente deuterado es aquel en el que un alto porcentaje de sus átomos de hidrógeno se han sustituido por deuterio. Los disolventes deuterados utilizados normalmente son Acetona-d6, benceno-d6, y cloroformo-d6, aunque hay otros muchos disolventes disponibles. La muestra que usaremos para ilustrar, en este manual, algunas técnicas de RMN básicas es el acetato de colesterilo en cloroformo-d.

La frecuencia de las señales emitidas por el deuterio, para un tamaño de imán en particular, son conocidas con exactitud. Por lo tanto, si la intensidad del campo magnético es correcta, cualquier núcleo de deuterio en la muestra debe emitir esta frecuencia exacta. Si la intensidad del imán varía, variará la frecuencia del deuterio. El sistema de referencia utiliza un receptor (alocado en el rack BSMS) para monitorizar esta frecuencia de deuterio y hacer los ajustes, consecuentemente a la intensidad del campo magnético.

El receptor en el sistema de referencia está diseñado de modo que cuando la intensidad del campo es correcta (esto es, cuando se detecta la frecuencia de deuterio correcta), no se hacen ajustes en el campo. Sin embargo, si la intensidad del campo varía (deriva), se cambia la corriente en una bobina especial (la bobina H0), situada dentro del sistema de homogeneización del imán, lo que provoca el retorno de la intensidad del campo magnético al valor correcto. La frecuencia del deuterio se mide miles de veces por segundo. Por lo tanto, tan pronto como se referencia el sistema, el usuario puede estar seguro de que el campo se mantiene a una intensidad constante durante la adquisición.

4.7 Sondas

La sonda está diseñada para sustentar la muestra, transmitir las señales de radiofrecuencia que excitan la muestra y recibir la respuesta emitida. La transmisión y recepción se logra usando una bobinas RF especialmente diseñadas.

La sonda se inserta en la parte inferior del imán y se asienta dentro del homogeneizador de temperatura ambiente. Cables coaxiales llevan las señales de excitación desde los amplificadores de la consola a la sonda y la señal de RMN vuelve desde la muestra al receptor.

Los cables están dirigidos a un conjunto de preamplificadores (HPPR), que están situados cerca de la base del imán. Los **preamplificadores** son necesarios para aumentar las señales de RMN que normalmente son muy bajas.

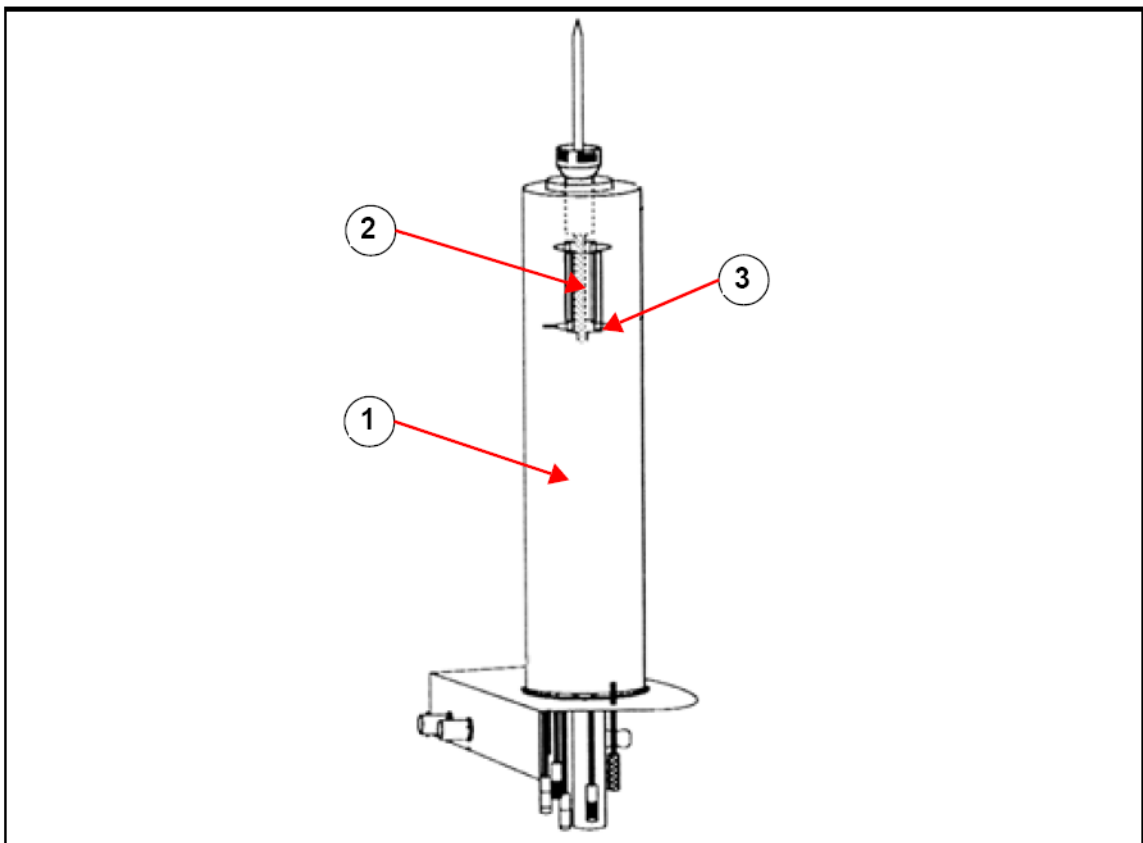


Figura 4.5: Muestra en la sonda

1.	Sonda	3.	Arrolla
2.	Volumen de muestra		

Hay sondas de diferentes tamaños y tipos. El tamaño de la sonda se da en términos del tamaño del tubo de muestra que puede sustentar, siendo los diámetros de tubo de muestra de 5mm y 10mm los más usados.. Los diferentes tipos de sonda se usan dependiendo del tipo de experimento. Las **sondas selectivas**, están especialmente diseñadas para observar un núcleo específico, por ejemplo, ^{13}C , mientras que las **sondas multinucleares** (X-BB o banda ancha) pueden utilizarse para analizar un amplio rango de núcleos. El número y el diseño de las bobinas internas es lo que distingue físicamente un tipo de sondas de otras. Además, el diámetro exterior y la longitud de la sonda se construye según las especificaciones de los distintos imanes (apertura ancha o apertura estándar; distinta longitud desde la parte inferior al centro del campo magnético, para imanes con distintas intensidades de campo).

Las señales entran y salen de las bobinas de la sonda por medio de conectores claramente etiquetados y situados en la base de la sonda. Se usa el mismo cable para transportar la señal hacia y desde la sonda. Cada sonda tiene una bobina interna (la **bobina de observación**). Esta bobina está situada muy próxima al volumen de muestra para maximizar la sensibilidad. El código de colores de la bobina interna BNC sigue una norma sencilla. Siempre tiene el mismo color que la banda rectangular situada directamente encima de los conectores BNC. La figura siguiente muestra el etiquetado de una sonda multinuclear. En este caso la bobina de banda ancha es la bobina interna.

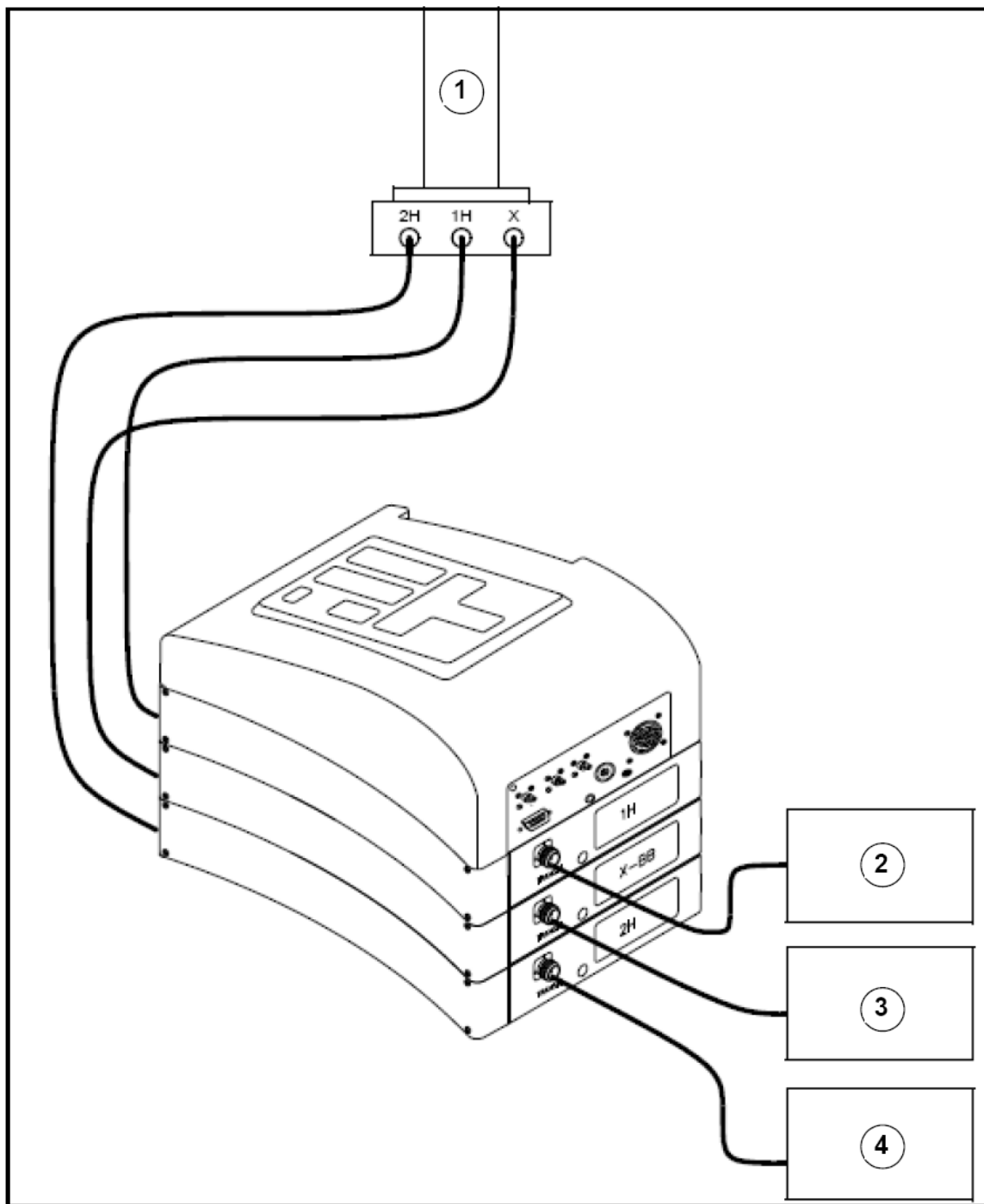


Figura 4.6: Cableado típico de HPPR

1.	Sonda	3.	Amplificador X
2.	Amplificador de Protón	4.	Transmisor BSMS 2H

4.8 Sonda dual ^{13}C | ^1H

El tipo de sonda que se describirá aquí, como ejemplo de una sonda típica, es la **sonda QNP**. Como su nombre indica, esta sonda está diseñada para aquellos usuarios especialmente interesados en analizar muestras para carbono, flúor, fosforo o carbono, fosforo, nitrógeno e hidrógeno.

La BCN izquierda, etiquetada como ^2H , (ver Figura 4.7) se usa para transportar la señal de referencia. Las otras dos conexiones son para las señales de ^1H y ^{19}F y están etiquetadas acordeamente. Para la sonda especial de la Figura 4.7, las conexiones para ^{31}P y ^{13}C no están disponibles. Los cables que salen de las BNC de ^1H , ^{13}C y ^2H , están conectados a los HPPR situados en la base del imán.



Figura 4.7: Sonda QNP

En la RMN moderna, las sondas están diseñadas para permitir el control de la temperatura de las muestras de RMN. Se puede insertar un calentador y usarse conjuntamente con una **línea de transferencia de aire / N₂** para controlar la temperatura de la muestra. Como termómetro, se utiliza un termopar, para monitorizar la temperatura de la muestra. Todos estos dispositivos se conectan a la base de la sonda y son fácilmente accesibles. La Unidad de Temperatura Variable (VTU) monitoriza constantemente la lectura del termopar y hace los ajustes en la potencia del calentador para mantener la temperatura necesaria.

Finalmente, en la caja negra de la base de la sonda está situado el equipamiento de sintonización y ajuste. Se usan para realizar ajustes finos en la sonda para optimizar las prestaciones. Cuando se analiza un compuesto, se excita con una señal a una frecuencia definida (la frecuencia de resonancia). Núcleos diferentes se excitarán por frecuencias diferentes y la sintonización implica ajustes en un circuito dentro de la sonda, de modo que esta esté a su mayor sensibilidad para las frecuencias de interés. También se ajusta la sonda, para garantizar que se reflejan (esto es, se pierden) las señales de excitación y de la FID lo más pequeñas posibles. Ambos, sintonización y ajustes son interactivos y no pueden ajustarse independientemente uno de otro.

Para trabajo de rutina en disolventes orgánicos, una vez que la sonda ha sido inicialmente sintonizada y ajustada, probablemente es suficiente comprobar los ajustes semanalmente o incluso mensualmente. Sin embargo para investigación de alto nivel, en la que deben optimizarse las prestaciones del espectrómetro la sonda debería sintonizarse y ajustarse cada vez que se

cambie la muestra en el imán. Cada bobina de la sonda, se sintoniza y ajusta de forma individual utilizando la rutina de oscilación "atma" o "atmm" que se describe en Sintonización y ajuste de la impedancia de la sonda [► 50].

Cambiar una sonda requiere volver a conectar la sonda a los amplificadores HPPR, sin embargo, el cableado que conecta los HPPR a la electrónica de la consola, no se cambia normalmente.

4.9 Cambio de la sonda

Si hay que cambiar la sonda, debe seguirse el procedimiento indicado a continuación. Las sondas son frágiles y caras y se debe consultar con el responsable del sistema antes de intentar cambiar la sonda. El imán, y particularmente los remolinos de corriente (eddy) afectan mucho al movimiento mecánico de la sonda. Cuando retire la sonda del imán, cuente con que esta se acelere súbitamente cuando alcance el extremo inferior de la apertura del imán. También esté preparado para encontrar cierta resistencia cuando inserte la sonda en el imán.

Procedimiento para cambiar la sonda:

1. Asegúrese de que no se está realizando una adquisición pulsando la tecla **HALT** o la tecla **STOP** en la línea de comando de la ventana principal de Topspin.
2. Apague cualquier **calefacción** o **refrigeración** del sistema. Utilice el comando 'edte' para apagar el calentador y ajustar el flujo de aire a cero. Deje que la sonda vuelva a la temperatura ambiente. ¡No corte el sistema bruscamente!
3. Si hay un flujo de aire / N₂ conectado a la base de la sonda, retírelo.
4. Después de asegurarse de que la apertura del imán no está tapada, retire cualquier muestra que pueda haber en el imán activando el botón en la ventana BSMS o en el teclado táctil BSMS.
5. Apague la tecla **LIFT**.
6. Desconecte todos los cables BNC de la base de la sonda.
7. Desconecte el termopar y el calentador si están conectados o cualquier otra conexión de gradiente o PICS.
8. Suelte los dos tornillos fresados (dorados) que aseguran la sonda en el imán.
9. Baje la sonda derecha y sáquela del imán.
10. Inserte la nueva sonda y asegúrela utilizando los dos tornillos (dorados).
11. Vuelva a conectar los cables coaxiales, el termopar, el calentador y las líneas de refrigeración y cualquier otra conexión apropiada.
12. Encienda de nuevo el calentador.

5 Procedimientos básicos

Este capítulo describirá las operaciones básicas que se usan cada vez que se adquiere un espectro. Estas incluyen el funcionamiento de la ventana de control de ajuste BSMS, la inserción y el giro de la muestra, la sintonización y ajuste de la sonda y finalmente la homogeneización. Todas las operaciones de la ventana de control de ajuste BSMS están controladas por el software.

El usuario puede saltarse este capítulo si realmente ya está familiarizado con estas operaciones.



Nota

Puede comprarse adicionalmente un teclado táctil BSMS capaz de controlar las mismas operaciones.

5.1 Ventana de control de ajuste BSMS

Para abrir la ventana de control de ajuste BSMS escriba "bsmsdisp" en la línea de comando y presiones "enter". En principio, la ventana de control de ajuste de control BSMS se usa para:

1. Hacer funcionar el sistema de referencia.
2. Controlar el giro y la elevación de la muestra.
3. Ajustar las corrientes en el sistema de homogeneización a temperatura ambiente (denominado "homogeneización" ("shimming")).
4. Monitorizar el nivel del helio en el interior del imán.

Nota:

Antes de empezar, debe conocer las dos teclas que deben manejarse con precaución.

- ▶ La tecla **HELIUM MEASURE** es mejor no pulsarla, por las razones que se indicarán más adelante (ver la sección Helium Level Functions [▶47]).
- ▶ Asegúrese de que la apertura del imán no está tapada antes de activar la tecla **LIFT**.

Antes de empezar a trabajar con la ventana de control de ajuste BSMS, puede necesitar guardar los valores de algunos parámetros importantes denominados como "**valores de homogeneidad** (shim)" ajustados por la unidad BSMS (ver la sección Guardar el conjunto de valores de homogeneidad (Comando Write Shim) [▶45]). De este modo cualquier ajuste que haya hecho puede cancelarse fácilmente en una etapa posterior. Los valores de homogeneidad se ajustan con los botones etiquetados etiquetadas algebraicamente (X, Y, XZ, X³ etc.) en el bloque de homogeneidad (Shim) de la "tabla principal".

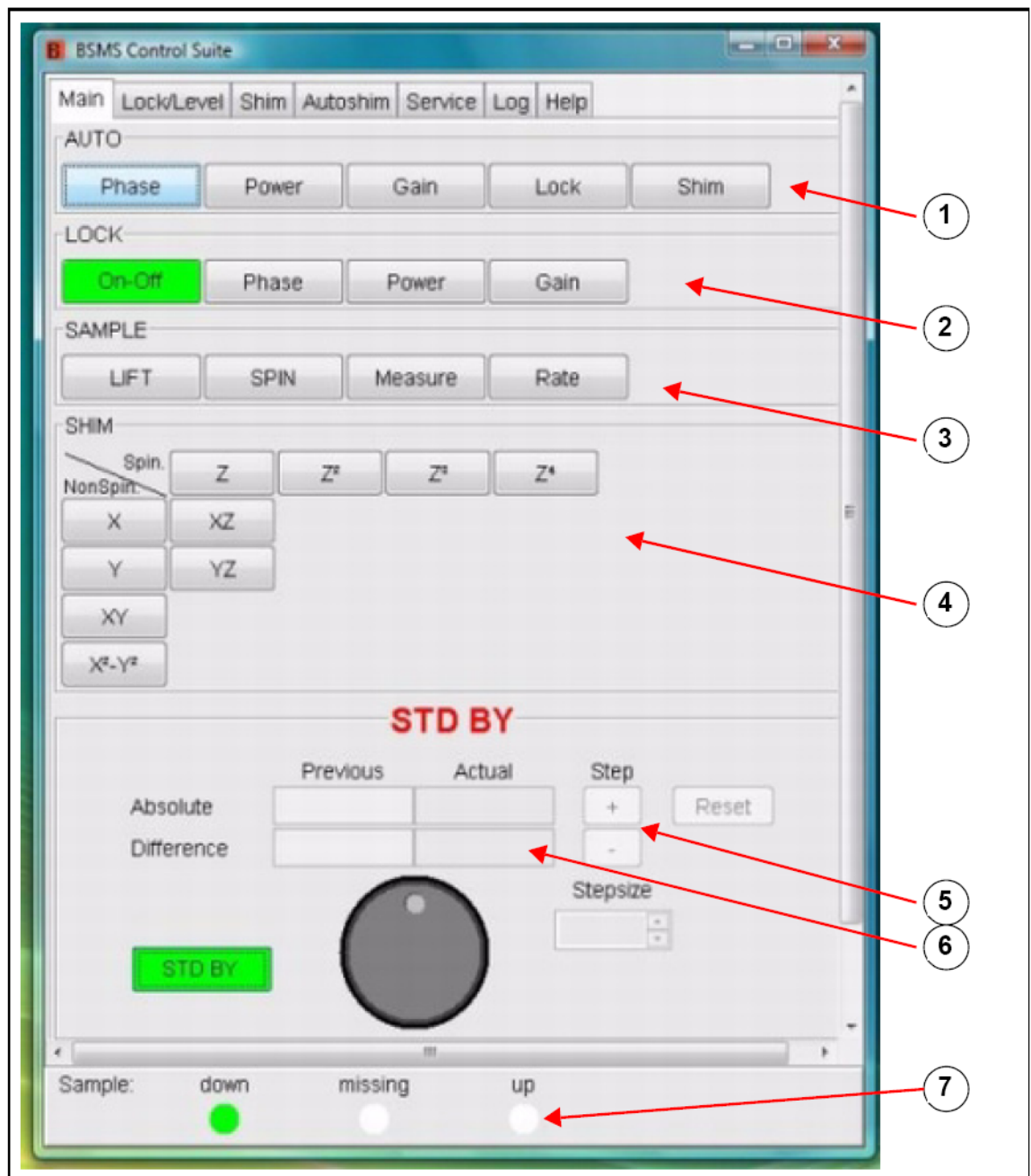


Figura 5.1: Ventana de control de ajuste BSMS "Tabla principal"

1.	Bloque con botones para funciones automáticas.
2.	Bloque con botones para funciones de referencia (Lock) manual.
3.	Bloque para control de giro y elevación de muestra.
4.	Bloque de parámetros de homogeneidad.
5.	Aquí se muestran los valores de los parámetros elegidos en los bloques anteriores.
6.	Pulsando el botón "STEP" se ajustaran los valores de acuerdo al tamaño de paso.
7.	Aquí se muestra el estado de muestra (en este ejemplo, la muestra está abajo en la sonda).

5.2 Guardar el conjunto de valores de homogeneidad (Comando Write Shim)

Para guardar los valores de homogeneidad actuales, escriba un archivo de homogeneidad usando el comando "wsh" (write shim file (escribir archivo de homogeneidad)).

1. Introduzca 'wsh' en la línea de comando de Topspin o haga clic en el botón Espectrómetro (**SPECTROMETER**) en la barra de menú principal. Elija "Shim control" y "Write shim values to file". Aparecerá una nueva pantalla con una lista de los archivos de homogeneidad previamente almacenados, una caja de diálogo **READ, WRITE, VIEW, DELETE** y **CLOSE** y una caja de diálogo para introducir opciones (sin comentarios, fecha, ID de sonda, información de sonda, información de pics).
2. Introduzca cualquier nombre que desee, por ejemplo lunes.
3. Pulse el botón **WRITE**.

Los valores de homogeneidad actuales se guardarán ahora en un archivo llamado "lunes".

Ahora puede manipular los valores de homogeneidad con la ventana de control de ajuste BSMS o con el teclado táctil BSMS BSMS, sabiendo que los valores anteriores, pueden ser fácilmente recuperados leyendo simplemente de nuevo los valores guardados en el archivo de homogeneidad titulado "lunes".

5.2.1 Leer un archivo de homogeneidad almacenado (Comando Read Shim)

1. Introduzca 'rsh' (read shim file (leer archivo de homogeneidad)) en la línea de comando de Topspin o marque el botón Espectrómetro (**SPECTROMETER**) en la barra de menú principal. Elija "Shim control" y "Write shim values to file". Aparecerá una nueva pantalla con una lista de los archivos de homogeneidad previamente almacenados, una caja de diálogo para introducir un nombre de archivo de homogeneidad „shim“, los botones **READ, WRITE, VIEW, DELETE** y **CLOSE** y una caja de diálogo para introducir opciones (sin comentarios, fecha, ID de sonda, información de sonda, información de pics).
2. Teclee „lunes“ (o su nombre de archivo) en la caja de diálogo o escoja el archivo de la lista de archivos y pulse el botón Read.

Cuando se complete la operación, aparecerá en la parte inferior de la pantalla el mensaje "rsh:finished". Ahora, se volverán a restaurar los antiguos valores de homogeneidad.

El usuario debe familiarizarse con el concepto de lectura y escritura de diferentes tipos de archivo, ya que esto es muy importante para manejar los conjuntos de parámetros Si quiere guardar un conjunto de parámetros, escríbalos en el disco. Los valores de los distintos parámetros se guardan en un archivo. El archivo tiene un nombre único (a elegir por el usuario) de modo que pueden distinguirse conjuntos de parámetros diferentes entre sí. Si en algún momento posterior, quiere usar esos parámetros, lea el archivo del disco adecuado.

5.2.2 Funciones de la ventana de control de ajuste BSMS

En términos generales, las funciones pueden agruparse en cuatro categorías: funciones de control de muestra (ver la tabla "Main" y "Lock /Level"), funciones de referencia (ver la tabla "Lock /Level"), funciones de homogeneidad (ver la tabla "Shim o Autoshim" y funciones de nivel de helio (ver tabla "Principal").

5.2.3 Funciones de control de muestra

LIFT: LIFT ON elevará la muestra hacia fuera de la apertura del imán. LIFT OFF bajará suavemente la muestra hacia la apertura del imán donde se colocará sobre la parte superior de la sonda.



Nota:

Nunca opere la función LIFT ON si la apertura superior del imán está tapada. Asegúrese siempre antes de poner una muestra en la apertura superior del imán, de que está encendido el flujo de aire, activando primero el botón LIFT.

SPIN: Arranca / para el giro de la muestra. El giro de muestra (si está activado) comenzará automáticamente 20 segundos después de haber activado LIFT OFF.

SPIN RATE: Permite ajustar la velocidad de giro. Se mide en Hz.

SPIN MEASURE: Muestra la velocidad de giro real en el campo "Actual" del bloque de valores y el nuevo ajuste en el campo "Previous". Los dos valores deben ser iguales.

5.2.4 Funciones de referencia (Lock) manual

La función del sistema de referencia se discutió en la sección Introducción al sistema de referencia (Lock) [▶36]. El espectrómetro se referencia en base a las señales de RMN emitidas por el deuterio en la muestra. Esto puede conseguirse barriendo (incrementando y disminuyendo) el campo dentro del imán. A una cierta intensidad del campo, los átomos de deuterio se excitan a su frecuencia de resonancia y se observa una señal en la pantalla de referencia.

En esta operación hay dos etapas. Primera, se "barre" el campo que rodea a la muestra y entonces, se "referencia" la muestra. Las teclas de la BSMS que controlan la acción de barrido del campo, así como las que controlan la referencia se describirán a continuación.

SWEEP RATE: Se puede cambiar la velocidad a la que se barre el campo.

SWEEP AMPLITUDE: La intensidad del campo magnético se rastrea continuamente dentro de un cierto rango. Con esta tecla puede controlarse el tamaño de este rango.

SWEEP On-Off: Conmuta entre encender y apagar el barrido del campo magnético. Esta tecla se desactiva automáticamente cuando el sistema está referenciado.

LOCK ON-OFF: Cuando se activa, el sistema intenta referenciar la muestra. En circunstancias normales solo deben adquirirse datos cuando el espectrómetro está referenciado.

LOCK POWER: Regula la potencia de la señal usada para excitar el deuterio en la muestra.

LOCK GAIN: Regula la ganancia (sensibilidad) del receptor de la señal de referencia.

Cuando se busca una señal de referencia pueden usarse dos métodos. Bien se mantiene constante la frecuencia de referencia y se varía la intensidad del campo magnético. A esto se denomina "**modo campo**" ("**field mode**"). O alternativamente, se mantiene constante la intensidad del campo magnético y se varía la frecuencia. A esto se denomina "**modo desplazamiento**" ("**shift mode**") (referenciar frecuencia).

FIELD: Durante la rutina de referenciar, puede barrerse el campo magnético hacia arriba y hacia abajo de una intensidad de campo central, variando la corriente en la bobina H0 del sistema de homogeneidad. Esta intensidad de campo central puede variarse usando la tecla **FIELD**. La función está operativa cuando está ajustado el modo "FIELD", que es el modo de funcionamiento por defecto. Sin embargo, si está ajustada el modo "SHIFT", se mostrará el valor del FIELD, en el bloque de valores, pero no podrá alterarse.

LOCK SHIFT: Durante la rutina de referenciar, puede barrerse la frecuencia de referencia hacia arriba y hacia abajo de un cierto valor central, por alteraciones en el circuito electrónico de la BSMS. Este valor central puede variarse usando la tecla **SHIFT**. La función solo está operativa cuando está ajustado el modo "SHIFT". Si no está en ese modo, se mostrará en el bloque de valores el valor del SHIFT, pero no podrá alterarse.

AUTO LOCK: Cuando se presiona, el espectrómetro intenta referenciarse automáticamente. Esta función se usa para automatización. El valor del "FIELD" se ajustará automáticamente durante la rutina AUTOLOCK para centrar la señal de referencia. Observe que presionando la tecla "Autolock" no se tendrán en cuenta los desplazamientos del FIELD, en función de los disolventes, listados en la tabla "edlock".

5.2.5 Funciones de homogeneización (Shim) manual

SHIM VALUES: Los ajustes de homogeneidad pueden realizarse utilizando las teclas algebraicas situadas debajo de la pantalla alfanumérica central. Estas teclas se usan para controlar los valores de las corrientes de homogeneización en el interior del imán, según se describe en Imán, sistema de homogeneización, preamplificador HPPR y sonda [►31]. Los ajustes de las corrientes de homogeneización son muy importantes para una buen resultado y sus ajustes se describirán en la sección Homogeneización [►58]. Se guarda un conjunto específico de valores de corriente de homogeneización siempre que se escribe en el disco un archivo de homogeneización.

AUTO SHIM: Puede usarse para ajustar automáticamente la configuración de homogeneización, para obtener el nivel más alto de referencia. Las corrientes de homogeneización seleccionadas para la rutina de homogeneización automática, son aquellas cuya amplitud de homogeneización es distinta de cero. La función AUTO SHIM es particularmente útil para automatización. Observe, que la homogeneización automática solo es efectiva, cuando se necesitan ajustes menores para los valores de homogeneización.

5.2.6 Funciones de nivel de Helio

HELIUM LEVEL: El espectrómetro medirá automáticamente cada 24 horas los niveles de helio del imán y registrará el resultado en un registro predefinido. Por defecto esta entrada está situada en los siguientes directorios:

Windows XP o 7.0- C:\Bruker\topspin\prog\logfiles

LINUX - /opt/topspin/prog/logfiles

El nivel se muestra en porcentaje (esto es 100 =lleno). Cuando se presiona la tecla se muestran, durante cinco segundos, los dos últimos registros de nivel (el nivel más reciente a la derecha). No se hace una nueva medida.

Cuando el nivel de Helio cae por debajo de cierto valor (en función del tipo de imán) aparecerá un mensaje de advertencia y la recarga de helio líquido no puede retrasarse por más tiempo.

HELIUM MEASURE: Inicia una medida que dura alrededor de 12 segundos. El usuario debe tener en cuenta, que el proceso de medida del nivel de helio producirá, en si mismo, alguna evaporación. Por lo tanto la función HELIUM MEASURE no debe usarse con demasiada frecuencia.

5.3 Insertar una muestra en el rotor

El tubo de vidrio que contiene la muestra a analizar se introduce en un rotor de plástico. Se dispone de un **calibrador de profundidad de muestra** para controlar la profundidad a la que se introduce el tubo de muestra en el rotor. Esto es para asegurar que la muestra está correctamente alineada con las bobinas del interior de la sonda. El calibrador de profundidad tiene una escala graduada que puede usarse para ajustar la profundidad de la muestra.

1. Utilizando la escala graduada, ajuste la parte superior de la base de plástico blanca entre 18mm y 20mm por debajo de la línea central (línea 0mm), para las sondas de 5mm. Para las sondas de 10 mm ajuste la parte superior de la base de plástico blanca a 20mm por debajo de la línea central. Estas son solo profundidades de muestra recomendadas, y se debe consultar con el responsable del sistema, la profundidad adecuada para un imán y una sonda en particular. Una vez que haya establecido la profundidad de muestra correcta, siempre debe utilizar esta profundidad, para minimizar la necesidad de volver a homogeneizar siempre que se cambie la muestra.
2. Sujetando la muestra por la parte superior, coloque el tubo de muestra en el rotor y este en el calibrador de profundidad.
3. Empuje suavemente el tubo de muestra hacia abajo, hasta que la profundidad de la muestra por encima y por debajo de la línea central sea la misma. Si hay suficiente volumen de muestra, entonces introduzca la muestra hasta que justo toque la base de plástico blanca.
4. **Retire el calibrador de altura antes de insertar la muestra y el rotor en el imán.**

5.4 Insertar la muestra más el rotor en el imán

La elevación y la introducción de la muestra se controla por una corriente de aire presurizado. Tenga cuidado de no elevar nunca la muestra, con el tapón todavía insertado en la parte superior de la apertura del imán. Los sistemas de homogeneización BOSS-2 más nuevos, están diseñados para no poder activar la función LIFT si la apertura del imán está todavía tapada. Además, asegúrese de que hay flujo de aire (es bastante audible) antes de colocar una muestra en la parte superior de la apertura del imán.

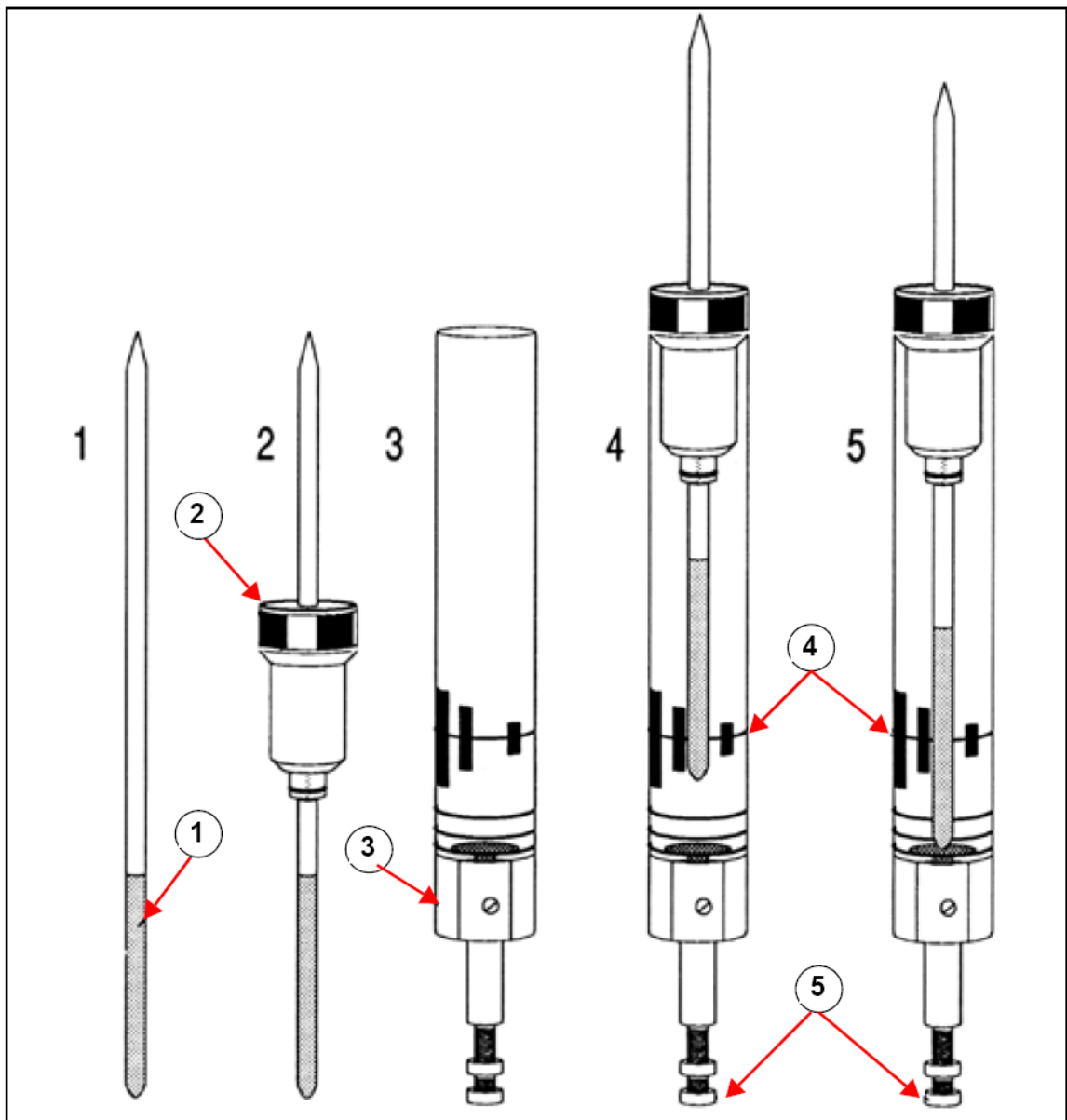


Figura 5.2: Inserción de la muestra en el rotor

1.	Muestra	4.	Línea de centro
2.	Hiladero	5.	Tornillo de ajuste de la profundidad
3.	Calibrador de la profundidad		

Para insertar la muestra más el rotor en el imán, use el siguiente procedimiento:

1. Si está puesto, retire el tapón de la parte superior de la apertura del imán.
2. Active el botón **LIFT** en la “tabla Sample & Level”. Se oirá el flujo de aire y si la muestra estaba ya en el imán, se elevará y suspenderá en un colchón amortiguador de aire en la parte superior de la apertura del imán.
3. Retire la muestra antigua y coloque la nueva muestra en el colchón amortiguador de aire.
4. Presione de nuevo el botón **LIFT**. La muestra entrará suavemente en el imán y se colocará en una posición precisa dentro de la sonda.

5. Vuelva a poner el tapón en la parte superior de la apertura del imán (esto es importante para evitar que entren dentro del imán partículas metálicas).

5.5 Giro de muestra

La segunda función del aire presurizado es permitir el giro de la muestra. El giro de la muestra sirve para "igualar" algunas de las no homogeneidades que pueden existir en el campo magnético en el centro del imán. Tenga en cuenta que las muestras a investigar usando sondas inversas normalmente no se hacen girar.

Ajuste la velocidad de giro utilizando el procedimiento siguiente:

1. Presione el botón **RATE** en el bloque de giro de muestra (Sample Spin) de la "tabla Sample & Level".
2. Use el bloque de valores para ajustar la velocidad.
3. Para comenzar el giro active el botón **SPIN**.

Las velocidades de giro recomendadas son:

- 20 Hz para sondas de 5 mm
- 12 Hz para sondas de 10 mm

5.6 Sintonización y ajuste de la impedancia de la sonda

La sensibilidad de cualquier sonda variará con la frecuencia de la señal que se le transmite y existe una frecuencia a la que la sonda es más sensible. Además esta frecuencia puede ajustarse sobre un cierto rango, utilizando los capacitores de sintonización incorporados en los circuitos de la sonda. La **sintonización (tuning)** implica el ajuste de los circuitos de la sonda, de modo que la frecuencia a la que esta es más sensible, sea la frecuencia de transmisión apropiada (SFO1, SFO2 etc.). Cada bobina en la sonda se sintonizará (y ajustará) independientemente.

Si se ha cambiado la sonda o si se altera significativamente la frecuencia de transmisión, puede ser necesario resintonizar la sonda. Para trabajos de rutina en disolventes orgánicos con sondas selectivas, el valor de las frecuencias transmitidas es poco probable que varíe mucho. Por lo tanto, una vez que se ha sintonizado inicialmente la sonda, ligeras variaciones en la frecuencia no justificarán una resintonización. Normalmente, necesita cambiarse la frecuencia de transmisión en al menos 100kHz para justificar una resintonización. Sin embargo, en las sondas de banda ancha, la frecuencia transmitida varía ampliamente de un núcleo a otro y estas sondas necesitan sintonizarse cada vez que se cambia el núcleo seleccionado.

Siempre que se sintonice una sonda, también tiene que ajustarse. El **ajuste (matching)** implica asegurar que la máxima cantidad de la potencia que llega a la base de la sonda, se transmite hasta la bobina situada hacia la parte superior de la sonda. Esto asegura que se refleje de nuevo hacia los amplificadores, la mínima cantidad de la potencia que llega a la base de la sonda (y por consiguiente se pierda). Todos los amplificadores de Bruker BioSpin están diseñados para tener una potencia de salida de impedancia de 50 Ohms. Por lo tanto, el ajuste óptimo se produce cuando la impedancia de la sonda a lo largo del cable es también de 50 Ohms.

TopSpin permite una rutina de sintonización y ajuste automática o manual.

5.6.1 Sintonización y ajuste usando una rutina automatica

Escriba 'atma' en la línea de comando o haga clic en el botón "SPECTROMETER" en la barra de menú principal y seleccione "Adjustments" (ajustes) y "Automatic tuning" (sintonización automática) Se inicia una sintonización y ajuste de la sonda automático.

5.6.2 Sintonización y ajuste usando una rutina Manual

Escriba 'e' en la línea de comando o haga clic en el botón "SPECTROMETER" en la barra de menú principal y seleccione "Adjustments" (ajustes) y "Motor controlled tuning". Se abre la ventana ATMM de sintonización y ajuste de sonda (Figure 5.3) incluyendo las curvas wobble.

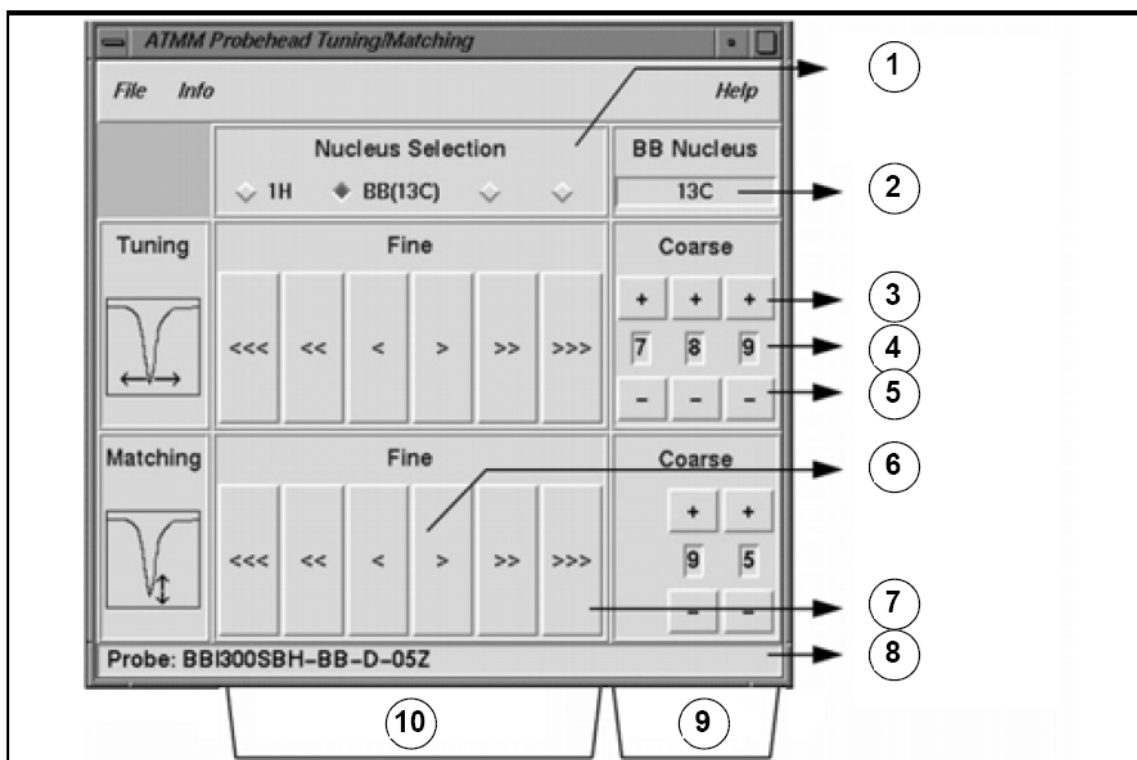


Figura 5.3: ATMM Probe Tuning/Matching Window

1.	Seleccione los siguientes núcleos para mostrar la curva wobble (solo se muestran los canales en línea).
2.	Núcleo seleccionado en el canal de banda ancha.
3.	Aumentar.
4.	Posición de núcleo.
5.	Disminuir.
6.	Mover lento (rojo, botón inactivo, indica que no se puede cambiar mas en esta dirección).
7.	Mover rápido.
8.	Tipo de sonda.
9.	Sintonización y ajuste fino de todas las sondas.
10.	Sintonización y ajuste fino de todas las sondas.

Elija un núcleo adecuado para su experimento y haga clic el botón con la flecha. Empiece siempre con el ajuste.

La rutina wobble (oscilación) funciona transmitiendo una señal débil a la sonda y comparando la impedancia de la sonda y el cable con una referencia de 50 Ohm dentro del HPPR. La frecuencia transmitida se centra en SFO1, SFO2 etc, pero se "swept" (barre) sobre un rango determinado por el valor del parámetro WBSW (ver mas adelante). La curva resultante La curva resultante es la familiar curva de respuesta de un circuito de resonancia y simplemente es una medida de la amplitud de la señal reflejada (eje vertical) frente a la frecuencia (eje horizontal).

El ajuste implica simplemente regular la sonda, de modo que el mínimo de la curva wobble (oscilación) esté en la base de la pantalla (esto es, tocando el eje horizontal de frecuencia). Esto representa la mínima reflexión de la señal transmitida. La sintonización implica asegurar que esto ocurra a la frecuencia de transmisión, que estará en el centro de la escala horizontal de la pantalla. El ajuste alterará generalmente la posición vertical del mínimo de la curva wobble, mientras que la sintonización alterará su posición horizontal. Como puede verse, la sintonización y el ajuste interactúan entre sí y deben ajustarse conjuntamente. Cuando el mínimo de la curva wobble está centrado y en la base de la pantalla, la sonda está óptimamente sintonizada y ajustada.

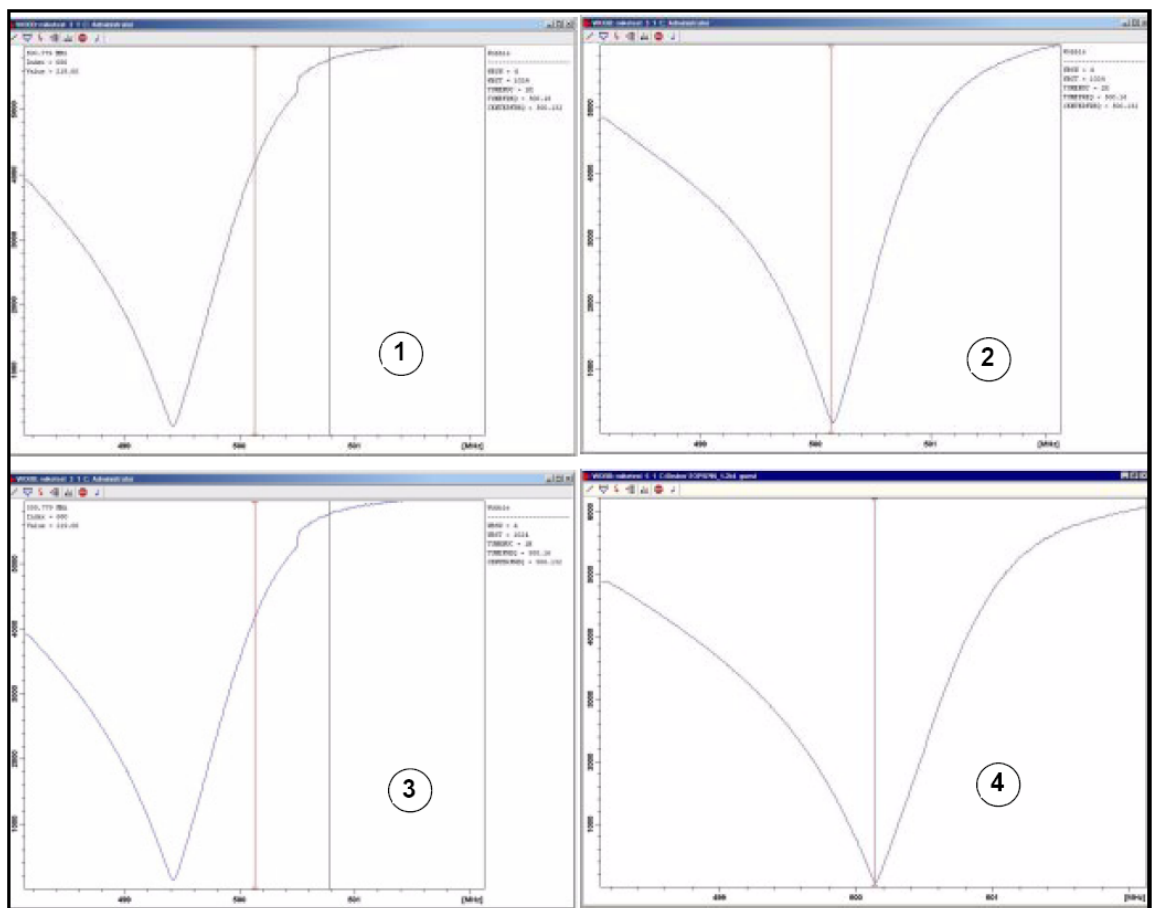


Figura 5.4: Ejemplos de curvas Wobble con diferentes sintonizaciones y ajustes

1.	Mal ajuste y sintonización.	3.	Mal ajuste, buena sintonización.
2.	Buen ajuste, mala sintonización.	4.	Buen ajuste y sintonización.

Si quiere optimizar la sonda para varios núcleos (p.ej. experimentos de desacoplamiento), puede elegir el siguiente núcleo en la ventana ARMM de sintonización / ajuste de sonda.

5.6.3 Sintonización y ajuste usando sondas antiguas

La sintonización y ajuste puede llevarse a cabo observando bien:

- La curva wobble en la ventana wobb de Topspin (para abrir esta ventana, teclee “wobb” en la línea de comando o haga clic en el botón Espectrómetro en la barra de menú principal y elija “Adjustement” (Ajustes) bajo ‘Manual Probe head tuning’ (Sintonización de cabeza de sonda manual”))

o

- Los LED verde y rojo de la pantalla de la cubierta del HPPR.

Ambos métodos se describirán a continuación, pero a menos que no sea posible observar la pantalla del monitor, el primer método es el más conveniente y por tanto se describirá en primer lugar.

El ajuste se realiza usando los dos tornillos etiquetados como T y M situados en la base de la sonda con la herramienta especial suministrada. Los tornillos tienen un código de colores en la etiqueta frontal de la sonda para su identificación, y hay un par de tornillos distintos para cada bobina de la sonda. El ajuste alterará generalmente la posición vertical del mínimo de la curva wobble, mientras que la sintonización alterará su posición horizontal.

La rutina wobble se inicia usando el comando "wobb". Cuando realice la rutina wobble puede modificar dos parámetros:

WBST (número de pasos de oscilación):

El valor por defecto es 1024 bites, aunque el valor no es crítico.

WBSW anchura del barrido de oscilación en MHz:

El valor por defecto es 4 MHz. Cuanto más cerca este de la sintonización óptima, más pequeño puede ser este valor. Si sospecha, sin embargo, que la sonda está sintonizada incorrectamente o está mal ajustada, o si tiene dificultades al observar la curva típica de resonancia, comience entonces por un valor de WBSW alto (por ejemplo 32, 64 MHz) y redúzcalo a 8 ó 4 MHz cuando alcance la sintonización y ajuste óptimos.

Procedimiento:

1. Asegúrese de que SFO1 está ajustada próxima a la frecuencia de transmisión final. Haga clic en ACQU.
2. Introduzca “wobb” en la línea de comando o haga clic en el botón Espectrómetro en la barra de menú principal y elija “Adjustement” (Ajustes) bajo ‘Manual Probe head tuning’ (Sintonización de cabeza de sonda manual”).
3. Observe la curva wobble y regule los tornillos de sintonización y ajuste adecuadamente.
4. Cuando termine, pulse el botón **STOP** o introduzca ‘stop’.

Esto puede hacerse con los botones de la barra de herramientas de la ventana wobb (o tecleando directamente en la línea de comandos). Si es necesario puede ajustar el parámetro WBST a 1K y WBSW a 4 MHz si no está así configurado. Esto puede hacerse por medio de los botones de la barra de herramientas de la ventana wobb (o escribiendo directamente en la línea de comando).

5.6.4 Sintonización y ajuste usando los LEDS HPPR

Este método solo es necesario si por la situación del monitor, este no puede verse mientras se regulan los tornillos de sintonización y ajuste. En este método, la única diferencia es que los ajustes se hacen en base a los LED verde y rojo del módulo de visualización del panel superior de la cubierta del HPPR.

La línea horizontal de los LED representa la sintonización y la línea vertical el ajuste. El ajuste se realiza en el sentido en que se reducen el número de LED que se iluminan en ambas direcciones. Como con la rutina wobble, la sintonización y ajuste deben regularse en tandem. Cuando la sonda esté sintonizada y ajustada solo tienen que estar encendidos uno o dos LED en ambas direcciones (observe que un LED representa sintonización y ajuste óptimo).



Nota:

Para maximizar la velocidad de refresco cuando se usa este método, debe abrirse la ventana wobb y no la ventana de adquisición..

Procedimiento:

1. Asegurese de que la ventana wobb está en la pantalla.
2. Ajuste el parámetro WBST a 1K y WBSW a 4MHz.
3. Introduzca 'wobb'.
4. Observe los LED del HPPR y regule los tornillos de sintonización y ajuste adecuadamente.
5. Cuando termine, pulse el botón **STOP** o introduzca "stop".

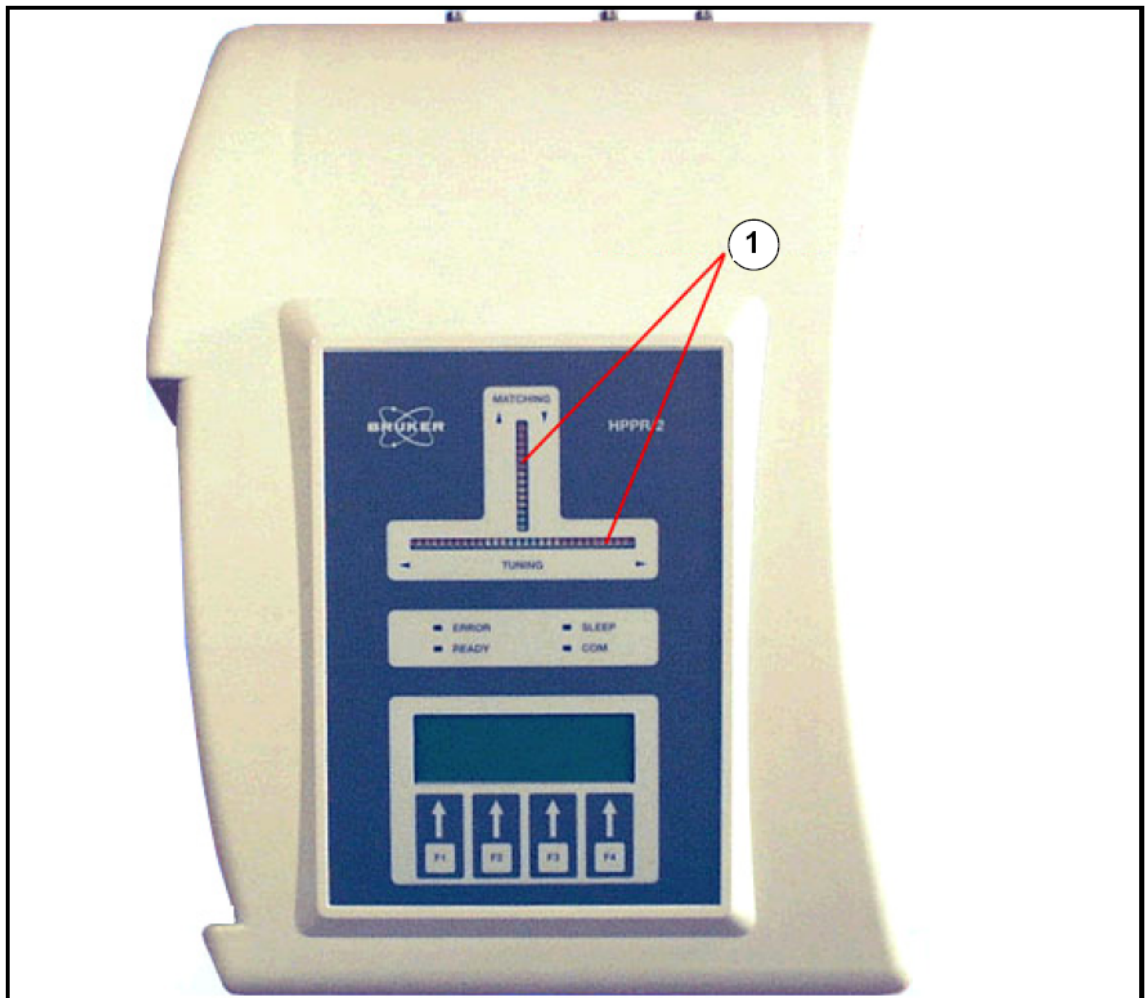


Figura 5.5: Pantalla de la cubierta de HPPR/2

1.	LED de sintonización y ajuste		
----	-------------------------------	--	--

5.6.5 Sintonización y ajuste de más de un núcleo

El software permite al usuario cambiar el núcleo (esto es, la frecuencia) seleccionado, sin parar la rutina wobble. Esto es particularmente útil para los experimentos de desacoplamiento, en los que hay que sintonizar y ajustar la sonda para más de un núcleo y frecuencia. Obviamente para cada núcleo hay que ajustar un circuito de la sonda diferente. Primero debe configurarse un núcleo y su frecuencia correspondiente, utilizando el comando "edasp", ya que ahí es donde la rutina wobble obtiene esta información.

Para alterar el núcleo y la frecuencia durante una rutina wobb bien:

1. Haga clic en el botón **SWITCH NUCLEUS** en la barra de tareas de la ventana wobb o introduzca 'wbchan' en la Línea de comando de Topspin.

o, si utiliza la pantalla de la cubierta del HPPR:

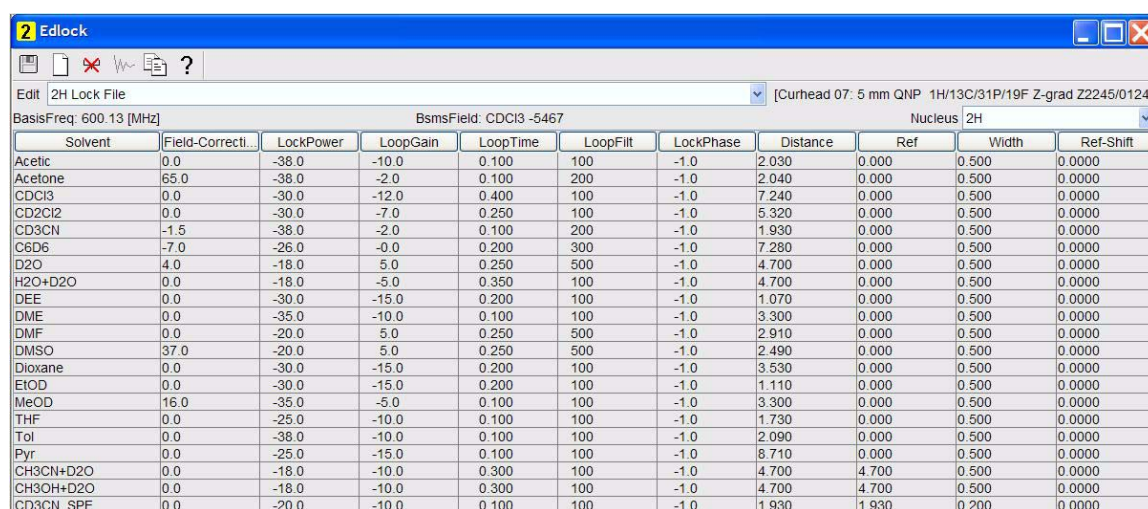
1. Haga clic en CHANNEL SELECT para el HPPR1
2. Use el submenú de la pantalla de la cubierta para el HPPR2.

En cada caso se selecciona el núcleo en función del incremento de frecuencia.

5.7 Referenciar la muestra

Todos los aspectos de la referencia pueden ajustarse manualmente desde el teclado BSMS, pero para usuarios relativamente nuevos, se recomienda usar una rutina de referencia iniciada introduciendo 'lock' en la línea de comando de Topspin. Esto ajustará automáticamente ciertos parámetros de referencia para optimizar la rutina de entrar en la referencia.

Como se explicó en la sección Introducción al sistema de referencia (Lock) [▶36] se usan disolventes deuterados para generar la señal a detectar y monitorizar por el sistema de referencia. La frecuencia y la intensidad de esta señal dependerá del disolvente utilizado. La característica principal de la rutina de referencia de Topspin, es que este ajusta los parámetros tales como potencia, ganancia y frecuencia de referencia, a un valor adecuado para el disolvente. Con este conjunto de valores por defecto, próximo al que se esperaría para ese disolvente, la BSMS puede localizar y "referenciar" rápidamente la señal del disolvente, haciendo un barrido en un rango de frecuencias o de campo magnético. Los parámetros dependientes del disolvente se toman de la tabla "edlock".



Solvent	Field-Correcti...	LockPower	LoopGain	LoopTime	LoopFlit	LockPhase	Distance	Ref	Width	Ref-Shift
Acetic	0.0	-38.0	-10.0	0.100	100	-1.0	2.030	0.000	0.500	0.0000
Acetone	65.0	-38.0	-2.0	0.100	200	-1.0	2.040	0.000	0.500	0.0000
CDCI3	0.0	-30.0	-12.0	0.400	100	-1.0	7.240	0.000	0.500	0.0000
CD2CI2	0.0	-30.0	-7.0	0.250	100	-1.0	5.320	0.000	0.500	0.0000
CD3CN	-1.5	-38.0	-2.0	0.100	200	-1.0	1.930	0.000	0.500	0.0000
C6D6	-7.0	-26.0	-0.0	0.200	300	-1.0	7.280	0.000	0.500	0.0000
D2O	4.0	-18.0	5.0	0.250	500	-1.0	4.700	0.000	0.500	0.0000
H2O+D2O	0.0	-18.0	-5.0	0.350	100	-1.0	4.700	0.000	0.500	0.0000
DEE	0.0	-30.0	-15.0	0.200	100	-1.0	1.070	0.000	0.500	0.0000
DME	0.0	-35.0	-10.0	0.100	100	-1.0	3.300	0.000	0.500	0.0000
DMF	0.0	-20.0	5.0	0.250	500	-1.0	2.910	0.000	0.500	0.0000
DMSO	37.0	-20.0	5.0	0.250	500	-1.0	2.490	0.000	0.500	0.0000
Dioxane	0.0	-30.0	-15.0	0.200	100	-1.0	3.530	0.000	0.500	0.0000
EtOD	0.0	-30.0	-15.0	0.200	100	-1.0	1.110	0.000	0.500	0.0000
MeOD	16.0	-35.0	-5.0	0.100	100	-1.0	3.300	0.000	0.500	0.0000
THF	0.0	-25.0	-10.0	0.100	100	-1.0	1.730	0.000	0.500	0.0000
Tol	0.0	-38.0	-10.0	0.100	100	-1.0	2.090	0.000	0.500	0.0000
Pyr	0.0	-25.0	-15.0	0.100	100	-1.0	8.710	0.000	0.500	0.0000
CH3CN+D2O	0.0	-18.0	-10.0	0.300	100	-1.0	4.700	4.700	0.500	0.0000
CH3OH+D2O	0.0	-18.0	-10.0	0.300	100	-1.0	4.700	4.700	0.500	0.0000
CD3CN_SPE	0.0	-20.0	-10.0	0.100	100	-1.0	1.930	1.930	0.200	0.0000

Figura 5.6: La tabla edlock, por defecto

Observe que ciertos valores necesitan ser optimizados por el administrador.

La BSMS puede usar dos métodos cuando busca una señal de disolvente.

En el modo "**Field**" el campo magnético que rodea a la muestra (y por tanto la frecuencia de resonancia del deuterio) puede ajustarse de modo que, independientemente del disolvente, la frecuencia de referencia sea constante. La tabla edlock proporciona la información acerca del disolvente según los ajustes de intensidad del campo. **Este es el modo de funcionamiento por defecto.**

En el modo "**Shift**" puede ajustarse la frecuencia de referencia misma, teniendo en cuenta la variación con el disolvente. Si se elige el modo "Shift", este debe seleccionarse explícitamente desde dentro de un menú BSMS.

El usuario dispone de tres modos para referenciar la muestra:

1. Introduzca '**lock**' en la línea de comando Topspin según se describe anteriormente y haga clic en el disolvente adecuado. Esto cambiará en primer lugar el valor del CAMPO (FIELD) magnético a un valor determinado de antemano por el administrador del sistema, que es igual para todos los disolventes. Cuando se ha referenciado el sistema, se mostrará el mensaje 'lock: finished'.
2. Presione AUTOLOCK en el teclado BSMS. Esto no tiene en cuenta el disolvente, pero alterará el valor del CAMPO (FIELD) magnético de modo que la señal de referencia detectada esté centrada dentro del barrido, ayudando así a alcanzar la referencia.
3. Presione LOCK-ON en el teclado BSMS. Esto no alterará el valor de FIELD, por lo tanto, solo referenciará el sistema, si ya se encuentra dentro del rango barrido una señal de referencia suficientemente intensa. Este método solo se recomienda si se ha sustituido una muestra por otra con el mismo disolvente, o si ya se conoce que los diversos parámetros de referencia son idóneos.

5.7.1 Procedimiento para referenciar la muestra

La señal de referencia puede visualizarse pulsando el botón LOCK DISPLAY en la línea de tareas superior o introduciendo el comando '**lockdisp**'. La pantalla de referencia también puede abrirse pulsando dos veces el campo de referencia en la barra de estado de adquisición.

Asumiendo que no se ha conseguido la referencia, la señal de la pantalla representa dos espectros de onda continua (cw) del deuterio solapándose, uno escanea de izquierda a derecha, el otro de derecha a izquierda. La velocidad de barrido puede ajustarse usando la función SWEEP RATE en el teclado BSMS. En la Figura 5.7 se ilustra un espectro de buena calidad CW.

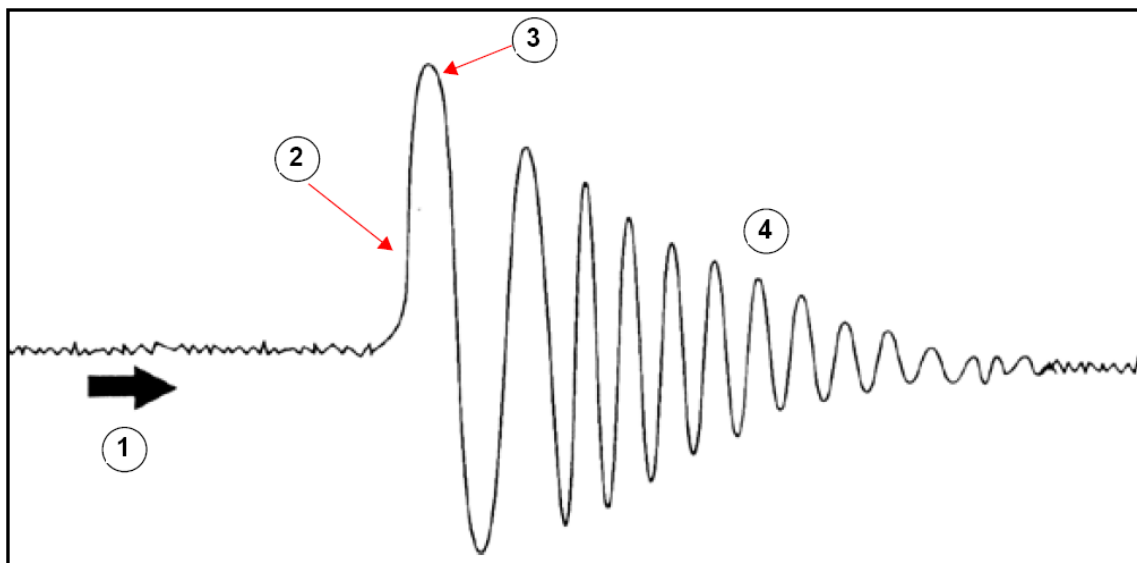


Figura 5.7: Señal de referencia típica

1.	Dirección de exploración	3.	Pico principal
2.	Borde delantero positivo	4.	Sonando

Si ya se ha conseguido la referencia, la señal debe tener la forma de una línea horizontal con algún ruido u onda asociados (ver la Figura 5.8). La altura de esta línea se llama nivel de referencia.

Procedimiento:

1. Pulse el botón **LOCK DISPLAY** de la barra de tareas o introduzca 'lockdisp' para visualizar la señal de referencia.
2. Introduzca 'lock'.
3. Seleccione el disolvente adecuado del menú (para la muestra utilizada para los experimentos descritos en este manual, seleccione CDCl_3).
4. Si el nivel de referencia es inestable (debido a saturación) puede ser necesario ajustar la potencia de la referencia manualmente, la ventana de control de ajuste BSMS. (Para evitar que vuelva a repetirse el problema, la mejor solución es cambiar el ajuste de potencia en la tabla edlock para este disolvente. Si esto es verdaderamente necesario, es importante consultar con el responsable del sistema para comprobar que los tres parámetros edlock "LPower", "LGain" and "LTime" están optimizados).
5. Si es necesario, ajuste la fase de la referencia (LOCK PHASE) para maximizar el nivel de referencia.

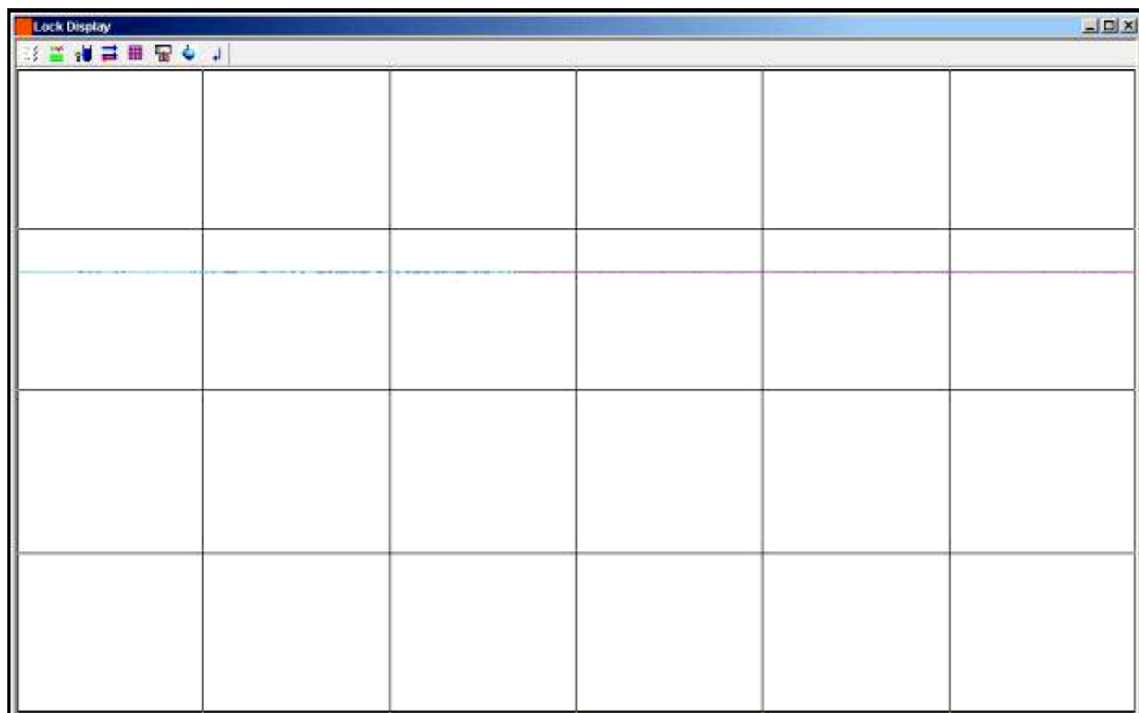


Figura 5.8: Visualización de referencia después de referenciar la muestra

5.8 Homogeneización

La homogeneización (Shimming) es un proceso en el que se realizan ajustes menores en el campo magnético hasta que se optimiza la homogeneidad del campo (uniformidad). La mejora de la homogeneidad resultará en una mejor resolución espectral. Este proceso será necesario para volver a homogeneizar cada vez que se cambie la sonda o la muestra. Guardar los valores de homogeneidad (en los correspondientes archivos shim), adecuados para cada sonda, reducirá ampliamente el tiempo de homogeneización necesario siempre que se cambie una sonda (ver la sección Guardar el conjunto de valores de homogeneidad (Comando Write Shim) [►45]).

La homogeneidad se controla por un conjunto de bobinas de homogeneización, en el sistema de homogeneización de temperatura ambiente, insertadas en la apertura del imán. Puede ajustarse la ventana de control de ajuste BSMS, la corriente en las bobinas y, por tanto, el campo dentro del imán. El número de bobinas dependerá del tipo de sistema BSMS. Todas ellas tienen nombres algebraicos Z, Z², X, Y, etc. y sus teclas correspondientes se encuentran en la "Main table" de la ventana de control de ajuste BSMS. El campo magnético es tridimensional y los nombres de las homogeneidades intentan reflejar las funciones algebraicas correspondientes en el sistema de coordenadas XYZ.

Una medida de la homogeneidad del campo es la altura en la pantalla de la señal de referencia (nivel de referencia), a una potencia y ganancia de referencia constante. A mayor nivel de referencia, mayor la homogeneidad del campo. Un método de homogeneización, por tanto, implica observar la visualización de la referencia y ajustar la corriente de homogeneización hasta que no se pueda conseguir mejorar la altura de la señal. (Nota: el nivel de referencia no es la única medida de la homogeneidad del campo que puede usarse para homogeneizar. También pueden usarse la forma y el área de la FID).

Las siguientes secciones tratan sobre las dos amplias categorías de homogeneización que pueden establecerse.

5.8.1 Homogeneización inicial

Cuando se carga un imán por primera vez, debe ser homogeneizado inicialmente por el ingeniero responsable de la instalación. Se optimiza la magnitud de corriente en cada bobina de homogeneización individual. El procedimiento es complicado, por el hecho de que muchas de las homogeneizaciones son interdependientes y el ajuste de una de ellas, puede significar el ajuste de algunas otras. El imán debe ser homogeneizado para cada sonda diferente que se use. Los valores de homogeneización para una sonda en particular, pueden guardarse en el archivo de homogeneidad (shim file) de modo que si se cambia la sonda del imán, puedan cargarse, fácilmente, los valores de homogeneización óptimos correspondientes. Consulte con el responsable del sistema para conocer que archivo de homogeneidad debe cargarse para una sonda en particular.

5.8.2 Homogeneización de rutina

Una vez que se ha realizado la homogeneización inicial, la operación se simplifica ampliamente y llega a ser cuestión de realizar ajustes finos en las bobinas de homogeneidad más importantes, siempre que la altura de llenado del tubo de muestra sea constante. Esta es la homogeneización de rutina y debe realizarse al comienzo de cada sesión de RMN y siempre que se cambie la muestra en el imán. La homogeneización de rutina implica realizar ajustes finos en las bobinas de homogeneidad Z y Z² (y posiblemente para X y Y). El procedimiento, en términos generales, es el que se indica a continuación:

1. Si se ha cambiado la sonda, primero debe leer el archivo de homogeneidad correcto en la unidad BSMS. Esto configura los valores de homogeneidad para ajustar la sonda. Introduzca 'rsh' y se mostrará una lista de los archivos de homogeneidad almacenados. Haga clic en el archivo adecuado y en unos pocos segundos aparecerá en la pantalla el siguiente mensaje:

```
rsh: finished
```

2. Asegúrese de que está activada la tecla LOCK, de la ventana de control de ajuste BSMS, (esto es, la muestra está referenciada. Si la muestra tiene que girar, ajuste la velocidad de giro a 20 Hz para sondas de 5mm y a 12 Hz para sondas de 10 mm).
3. Ajuste LOCK PHASE para maximizar el nivel de referencia.
4. Ajuste LOCK POWER, si es necesario, de modo que tenga un valor de 6 dB por debajo de la saturación. El comienzo de la saturación es el nivel de LOCK POWER, en el que el nivel de referencia llega a ser inestable y tiende a ser "errático" ("wander").
5. Active la tecla Z ("on-axis" + "Z1") en el bloque 'SHIM' de la tabla 'MAIN' de la ventana de control de ajuste BSMS. Ajuste el valor de la bobina de homogeneidad Z de modo que se maximice el nivel de referencia, utilizando el bloque 'VALUE'.
6. Active la tecla Z². Ajuste la bobina de homogeneidad Z² para maximizar el nivel de referencia. (Puede tener que reducir LOCK GAIN para mantener la señal en la pantalla).
7. Repita los pasos 5 y 6 hasta que no pueda conseguirse mejorar la señal.
8. Finalmente, ajuste LOCK PHASE para maximizar LOCK LEVEL.
9. Apague el giro de muestra y ajuste las bobinas de homogeneidad X y Y ("X"/"Y" + "Z0") para maximizar el nivel de referencia.

**Nota:**

Durante un periodo de tiempo pueden cambiar ligeramente las condiciones dentro y fuera del imán y para un óptimo resultado, puede ser necesario ajustarlas bobinas de homogeneidad de orden superior, tal como Z^3 , Z^4 y Z^5 . Además, para muestras en H_2O/D_2O , puede ser necesario una homogeneización más amplia, para conseguir una óptima eliminación de la señal del agua.

El nivel de referencia no es el mejor criterio para evaluar la homogeneidad del imán. Aunque su descripción está lejos del alcance de este manual, la forma del contorno de la señal (anchura y simetría), es de hecho la mejor indicación de la homogeneidad del campo. Según adquiera más experiencia, podrá estudiar con el responsable del sistema la necesidad de optimizar las bobinas de homogeneidad de orden superior, utilizando la forma del contorno de la señal.

Por favor, observe que existe un procedimiento, llamado que puede usarse para protones y deuterio. Debería consultar con el responsable del sistema, si esta opción está disponible, ya que simplifica ampliamente el procedimiento de homogeneización.

En el capítulo 6 del manual de usuario de BSMS, suministrado en el CD BASH, hay una descripción más detallada de la homogeneización.

5.9 Teclado BSMS

Puede comprarse adicionalmente un teclado táctil BSMS que permite controlar las mismas operaciones. Algunos equipos anteriores también utilizan un teclado bsms.

Una descripción detallada de todas las funciones del teclado táctil BSMS y su manipulación/funcionamiento está disponible en el Manual de usuario de BSMS suministrado en el CD de BASH. En este manual se asume que el usuario tiene unos conocimientos básicos de cómo funciona el teclado táctil BSMS. Para ayudarle, en la sección Funciones de la ventana de control de ajuste BSMS [p. 45] se describe una lista de las funciones más importantes del teclado táctil BSMS.

Solo las funciones más importantes se describen a continuación. Para una lista más exhaustiva remítase al Capítulo 2 del Manual de usuario del BSMS en el CD de BASH.

Existen diversas versiones del teclado, pero sus diferencias no son relevantes aquí.

6 Preparación para comandos de adquisición, conjuntos de datos, edasp/eda

Este capítulo explicará dos de los grupos más importantes de los parámetros invocados por los comandos "eda" y "edasp". Aunque hay un tercer grupo de comandos "edsp", muy similares a "edasp", aquí solo se describirá "edasp", ya que es más versátil. Antes de asignar valores a los distintos parámetros, es importante que el usuario conozca el concepto de conjuntos de datos, ya que los grupos de parámetros están intrínsecamente ligados a esto.

6.1 Conjuntos de datos

El uso regular de un espectrómetro conducirá rápidamente a la acumulación de grandes cantidades de datos: Los usuarios querrán almacenar los datos en archivos convenientemente nombrados de modo que posteriormente puedan acceder con facilidad a los mismos. Esto es particularmente importante en un entorno multiusuario. Cuando se adquiere un conjunto de datos, este puede guardarse en lo que se llama un **data set**. Cada conjunto de datos debe tener un descriptor único (identificador) de modo que puedan distinguirse los distintos conjuntos de datos. Un descriptor completo, para un conjunto de datos, necesita el uso de cinco parámetros: DIR, USER, NAME, EXPNO, y PROCNO. Estos parámetros se explican a continuación.

1. **DIR** (Directorio de alto nivel): En sistemas con una gran cantidad de usuarios puede ser necesario disponer de más de un disco duro. Esta posibilidad se registra usando el parámetro DIR, que es la partición de disco donde está situado el conjunto de datos.
2. **USER**: Diferentes usuarios pueden tener acceso al mismo espectrómetro, por lo tanto la entrada del ID del usuario que adquiere los datos debe formar parte del descriptor del conjunto de datos. Cada descriptor de un conjunto de datos debe incluir un USER (usuario). Normalmente, solo los usuarios que pertenecen a un mismo grupo, pueden manipular o borrar los conjuntos de datos del grupo.
3. **NAME**: Incluso, si solo adquiere datos un único usuario, probablemente analizará muchas muestras diferentes. Para distinguir entre las diferentes muestras, se usa el parámetro NAME (nombre), para definir el descriptor del conjunto de datos. El usuario puede elegir libremente cualquier NAME, pero normalmente se debería elegir uno que este asociado con la muestra. Por ejemplo, a un conjunto de datos perteneciente a una muestra de gramicidina puede asignarse el NAME de "gram", mientras que a un conjunto de datos adquiridos de una muestra de acetato de colesterilo puede dársele el NAME de "cholac".

Antes de explicar los dos siguientes parámetros de conjunto de datos, debe hacerse una distinción entre **datos originales (raw data)** y **datos procesados (processed data)**.

Si se inserta una muestra en el imán y se lleva a cabo una adquisición, el conjunto de datos que se obtiene se llama **conjunto de datos originales**. Esto es bien una FID para experimentos 1D o una serie de FIDS para experimentos 2D. Son datos originales, en el sentido de que no han sido procesados todavía.

Las FID se procesan aplicando una transformada de Fourier que convierte los datos de un dominio de tiempo a un dominio de frecuencia y normalmente por medidas que incluyen funciones de ventana y corrección de fase. El conjunto de datos resultante se denomina

conjunto de datos procesados.

Un único conjunto de datos originales puede procesarse de modos muy diferentes y esto debe tenerse en cuenta en los descriptores del conjunto de datos. Para estas distinciones se utilizan dos parámetros: EXPNO y PROCNO. A diferencia de los parámetros USER y NAME, a los parámetros EXPNO y PROCNO se les asigna valores numéricos.

4. **EXPNO** (Número de experimento): A cada conjunto de datos **originales** diferentes se le da un EXPNO único. Por ejemplo, una muestra química debe analizarse varias veces usando diferentes parámetros de adquisición. Para distinguir entre los distintos conjuntos de datos originales, se le asigna a cada uno un EXPNO diferente.
5. **PROCNO** (Número de procesado): PROCNO se usa para diferenciar entre distintos conjuntos de datos **procesados** a partir de un mismo conjunto de datos originales.

El uso correcto de los parámetros de conjunto de datos puede ilustrarse mejor utilizando un ejemplo, Sin embargo, no se hará referencia a los parámetros USER o DIR ya que, probablemente, estos no cambiarán durante una sesión de RMN.

Ejemplo:

Supongamos que se van a analizar dos muestras de gramicidina. Podemos distinguir entre las dos muestras creando dos conjuntos de datos NAMES distintos, llamados "grama" y "gramb". Se puede decidir analizar y adquirir las FID (datos originales) de cada muestra en distintas condiciones, por ejemplo, si se quiere analizar cada muestra a tres temperaturas diferentes T_x , T_y , y T_z . Acordemente, se puede distinguir entre los diferentes experimento, asignándole a cada uno una EXPNO distinta.

Esto conduce a un total de seis conjuntos de datos originales, según se listan en la tabla siguiente:

NAME	EXPNO	COMENTARIO
grama	1	T _x
grama	2	T _y
grama	3	T _z
gramb	1	T _x
gramb	2	T _y
gramb	3	T _z

Tabla 6.1: Conjuntos de datos con diferentes NAME y EXPNO

En este punto, cada conjunto de datos originales puede ser inequívocamente identificado usando los parámetros NAME y EXPNO.

El usuario puede ahora decidir procesar cada conjunto de datos originales de dos modos diferentes, por ejemplo con y sin multiplicación exponencial. Para distinguir entre los dos métodos de procesado y los espectros correspondientes, debe usarse el parámetro PROCNO. Cada conjunto de datos originales se procesa dos veces, por lo tanto deben usarse dos PROCNOs diferentes. Esto lleva a un total de doce conjuntos de datos procesados, que se pueden representar como se muestra en la tabla siguiente.

NAME	EXPNO	PROCNO	COMENTARIO
grama	1	1	Temperatura T _x sin multiplicación exponencial.
grama	1	2	Temperatura T _x con multiplicación exponencial.
grama	2	1	Temperatura T _y sin multiplicación exponencial.
grama	2	2	Temperatura T _y con multiplicación exponencial.

NAME	EXPNO	PROCNO	COMENTARIO
grama	3	1	Temperatura Tz sin multiplicación exponencial.
grama	3	2	Temperatura Tz con multiplicación exponencial.
gramb	1	1	Temperatura Tx sin multiplicación exponencial.
gramb	1	2	Temperatura Tx con multiplicación exponencial.
gramb	2	1	Temperatura Ty sin multiplicación exponencial.
gramb	2	2	Temperatura Ty con multiplicación exponencial.
gramb	3	1	Temperatura Tz sin multiplicación exponencial.
gramb	3	2	Temperatura Tz con multiplicación exponencial.

Tabla 6.2: Conjuntos de datos con diferentes NAME, EXPNO y PROCNO

Nota: Al usar los parámetros NAME, EXPNO y PROCNO, cada conjunto de datos tiene un descriptor distinto, esto es, están definidos inequívocamente.

6.2 C reacción de un conjunto de datos

Cualquier conjunto de datos adquirido con el espectrómetro se guarda automáticamente en el llamado conjunto de datos "actual" ("current"). Los detalles del conjunto de datos actual se encuentran siempre en la barra de título de la ventana de datos de la pantalla de Topspin.

Antes de adquirir cualquier dato nuevo, debe crear siempre un conjunto de datos nuevo en el que puedan almacenarse. Esto evitará que se escriba encima de datos ya existentes.

El término "creación de un nuevo conjunto de datos" puede ser un poco confuso. En este punto, aún no se ha adquirido ningún dato, sin embargo al crear un conjunto de datos nuevo, el ordenador prepara un conjunto de archivos en los que se almacenarán los datos.

Para crear un conjunto de datos nuevos, puede pulsar *File-New*, pulsar Ctrl-n, pulsar el botón NEW en la barra de tareas superior, o introducir „new“ en la línea de comandos. (El comando 'edc' también funcionará). Se mostrarán los detalles del conjunto de datos actual según se ilustra en la Figura 6.1, donde el conjunto de datos actual es:

C:\Bruker\TOPSPIN3.0\examdata\hydrogen\1\1

Ahora puede crear su propio conjunto de datos. Para NAME puede introducir una línea de hasta 13 caracteres. Para EXPNO y PROCNO introduzca '1'. Elija el solvente de su muestra y el experimento que quiere correr. Observe que su conjunto de datos recién creado, es ahora el conjunto de datos actual y los detalles de los parámetros descriptores aparecerán en la barra de título de la ventana de datos de Topspin.

Un aviso final respecto a los distintos parámetros asignados al nuevo conjunto de datos. Los parámetros tales como los parámetros de adquisición que se ajustaron para el ejemplo C:\Bruker\TOPSPIN\guest\hydrogen\1\1 se traspasan al nuevo conjunto de datos si no elige algún experimento. Ahora pueden cambiarse estos valores.

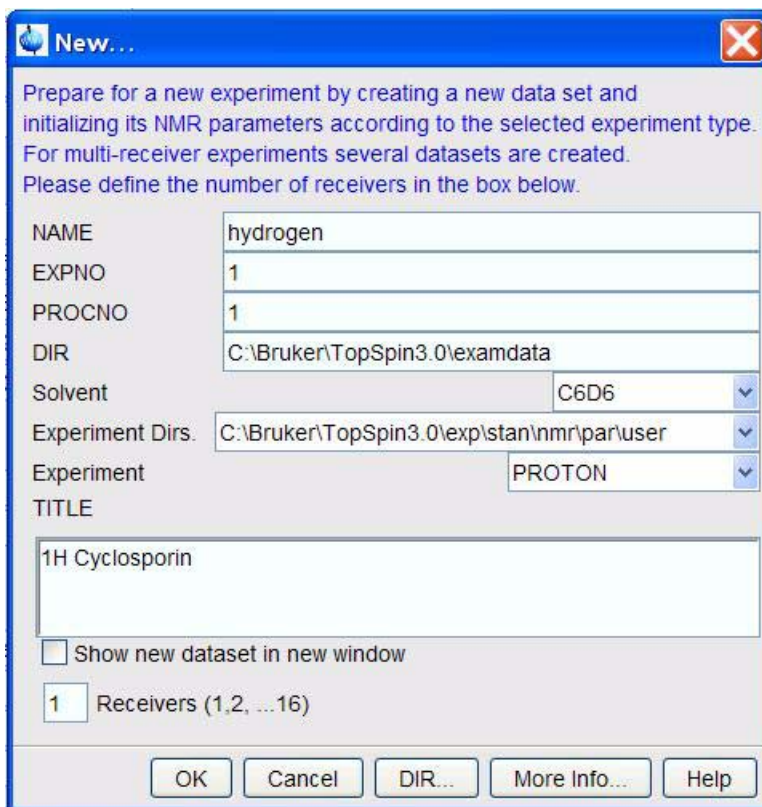


Figura 6.1: Pantalla edc

6.3 Parámetros edasp del espectrómetro

El comando “**edasp**” es la abreviatura de **edición de los parámetros de adquisición del espectrómetro (edit acquisition spectrometer parameters)**. Estos parámetros del espectrómetro sirven para configurar el espectrómetro para un experimento particular. Por ejemplo, cuando se ajustan, se preparan los dispositivos como el direccionador (router) para suministrar la señal correcta al amplificador adecuado. El comando “**edasp**” permite al usuario diseñar un experimento en función de los distintos núcleos a investigar, así como seleccionar los amplificadores adecuados, las salidas de amplificador y los módulos HPPR.

Cuando se prepara un experimento, el primer paso es leer en un conjunto de parámetros con el comando “**rpar**” y editar la ventana “**edasp**”. Es importante, que los parámetros del espectrómetro se configuren **antes** correctamente, utilizando el comando “**eda**” para ajustar los parámetros de adquisición. El usuario debe tener en cuenta que:

1. Cualquier ajuste realizado en el conjunto de parámetros del espectrómetro (vía la ventana “**edasp**”) se traspasará siempre al conjunto de datos de adquisición (tabla “**eda**”).
2. Cualquier cambio en el conjunto de datos de adquisición (por ejemplo compensaciones de frecuencia) solo se traspasará al conjunto de parámetros del espectrómetro, si “**edasp**” (pero no “**edsp**”) se introduce a continuación. Esto es así asumiendo que los cambios realizados en la tabla “**eda**” ya se habían salvado.
3. Si después de hacer los ajustes en los parámetros de adquisición, se introduce el comando “**edsp**” (pero no “**edasp**”), se perderán los cambios y se restablecerán los parámetros previos del espectrómetro.

El usuario debe saber que cuando se carga un conjunto de parámetros estándar, se ajustan los parámetros de adquisición y los del espectrómetro.

Ya se ha mencionado anteriormente que el comando “**edasp**” es más versátil que el “**edsp**” y es recomendable que el usuario llegue a familiarizarse con su funcionamiento. Observe que se llama a “**edasp**” y no a “**edsp**” cuando se hace clic en NUCLEI en la tabla “**eda**”.

Asumiendo que el hardware (FCU, Routers, SGU etc.) se ha cableado y configurado correctamente, los usuarios pueden diseñar cualquier experimento que deseen y mientras que esté disponible en la ventana **edasp**. El software tendrá en cuenta el cableado físico entre FCU y los amplificadores así como cualquier requisito de conmutación interna dentro de los direccionadores o amplificadores (ver 6.2). Por ejemplo, si están seleccionados protones, como núcleos a observar (Canal 1), entonces la segunda FCU2 se seleccionará como por defecto, ya que esto es consistente con el cableado físico. Observe sin embargo, que el software no puede controlar las conexiones entre cualquier salida amplificador dada y el HPPR. Aunque en la ventana **edasp** se muestra la conexión al HPPR, realizar cambios en la conexión HPPR no tendrá efectos físicos en el hardware. El usuario debe asegurarse de que están presentes los cables de conexión correspondiente. (Nota: Los módulos HPPR se visualizan para permitir al software detectar el destino último del canal F1 ya que este módulo se seleccionará como el módulo OBS).

El usuario debe experimentar para conseguir familiarizarse por si mismo con la ventana “**edasp**”. Realizar cambios en la ventana “**edasp**” no tiene ningún efecto sobre cualquier hardware del espectrómetro, hasta que no se transmite el comando “**ii**” (inicializar interfase (initialize interfaces)). Incluso después de inicializar todas las interfases, la transmisión de pulso real, no arrancará hasta que se introduzcan comandos como “**zg**”, “**gs**”, o “**go**”.

Si ha cambiado los parámetros del espectrómetro, puede restablecer fácilmente los parámetros estándar, cargando un conjunto de parámetros estándar. Por ejemplo:

- Introduzca '**rpar PROTON**' (haga clic en copy y elija acqu).

para reajustar los parámetros del espectrómetro para observar 1H

- Introduzca '**rpar C13CPD**' (haga clic en copy y elija acqu).

para reajustar los parámetros del espectrómetro para observar 13C con desacoplamiento CPD.

6.3.1 Esquema de la ventana **edasp**

El software del espectrómetro AVANCE con está diseñado de tal modo que la configuración del espectrómetro personalizará automáticamente la ventana “**edasp**” De este modo, el usuario solo ve el hardware que está realmente instalado en su espectrómetro en particular. La ventana “**edasp**” se organiza en diversas columnas verticales que se describen a continuación.

6.3.1.1 Frequency (Frecuencia)

Las frecuencias de las señales transmitidas en el canal uno, dos y tres se dan por SFO1, SFO2 y SFO3, etc., respectivamente. Sin embargo, estas frecuencias no pueden ajustarse directamente (observará que no se sobreiluminan usando el ratón).

Las frecuencias transmitidas se controlan compensando (offset) los ajustes de las frecuencias básicas. BF1, BF2 y BF3 etc.

Para el canal observado:

$$\text{SFO1} = \text{BF} + \text{offset}$$

(frecuencia transmitida) (ajustado automáticamente) (ajustado por el usuario)

Igualmente para los dos canales de desacoplamiento siguientes

$$\text{SFO2} = \text{BF2} + \text{offset}$$

$$\text{SFO3} = \text{BF3} + \text{offset}$$

Las compensaciones se etiquetan como OFSH1, OFSX1, OFSF1 etc. Según los convenios de nombre listados en la sección Algunas prestaciones de la ventana edasp [▶ 68]. Observe que estos parámetros no se pueden recuperar desde la línea de comando.

Cuando se selecciona un núcleo específico, la frecuencia básica adecuada se ajusta automáticamente. Después de leer un conjunto de parámetros estándar, se ajustará correctamente la frecuencia básica y solo necesitan ajustarse los valores de compensación (offset).

Recuerde que SFOX es el parámetro más relevante ya que esta, es la frecuencia que realmente se transmite a la muestra. Observe también que las compensaciones pueden ajustarse a cero en cuyo caso SFOX = BFX. En la sección section Explicación numérica de las frecuencias transmitidas, básica y compensación [▶ 75] se da una descripción más detallada.

6.3.1.2 Logical Channel (Canal lógico)

En esta columna se selecciona el núcleo a investigar. El canal lógico F1 o NUC1 es siempre el núcleo a observar. Si un canal no está en uso, debería apagarse. La lista de núcleos que pueden seleccionarse se toma del archivo:

```
TopspinHome/conf/instr/<instrument name>/nuclei
```

Los usuarios más experimentados pueden querer editar este archivo para personalizar la lista de núcleos disponibles.

Observe que un efecto inmediato del cambio del tipo de núcleo en el canal lógico es que la frecuencia básica en la columna de frecuencias se ajusta automáticamente.

6.3.1.3 FCU's

Las conexiones a las FCU adecuadas se realizan automáticamente y los usuarios poco experimentados deben de estar advertidos de no alterar estas conexiones por defecto.

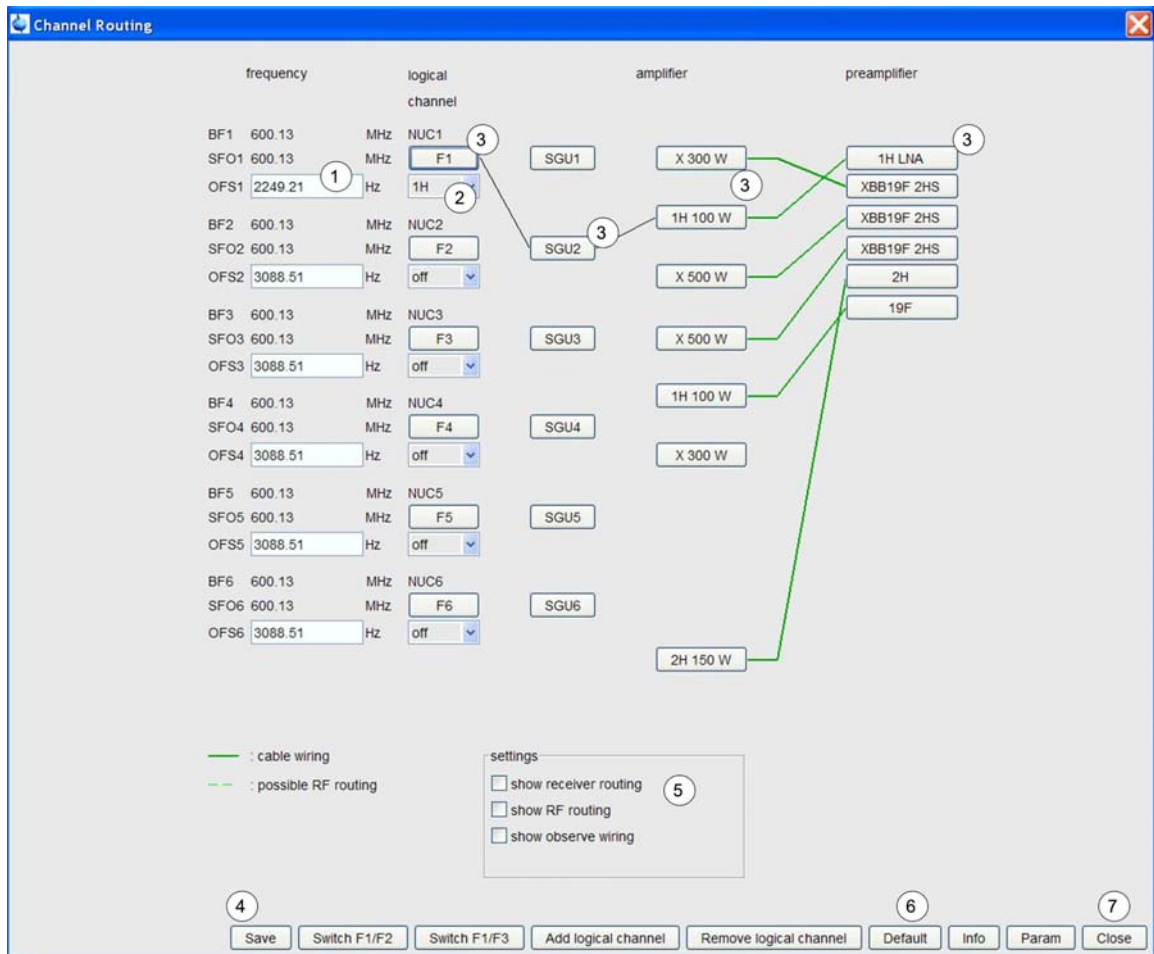


Figura 6.2: Ventana "edasp"

(apres chargement de l'ensemble de parametres PROTON standard)			
1.	Introducir compensaciones.	5.	El receptor de las demostraciones y observa el canal.
2.	Marcar aqui paravisulizar la lista de todos los núcleos disponibles.	6.	Configurar las pautas por defecto.
3.	Marcar en diversos campos para configurar el experimento.	7.	Salir sin salvar los cambios.
4.	Salir salvandos los cambios.		

6.3.1.4 Amplifier (amplificador)

De nuevo, las conexiones al amplificador adecuado se realizan automáticamente. Las salidas de amplificador se identifican fácilmente ya que están situadas en el lado derecho del amplificador y están etiquetadas como "X", "19F" y "1H" etc. La pantalla "edasp" cambiará en función de los tipos de amplificadores instalados.

Para sistemas con amplificadores internos:

Con BLA2BB, la salida de ^1H está conectada al ^1H HPPR, y la salida X está conectada al módulo X-BB HPPR. Estas conexiones son inequívocas y no hay posibilidad de error. Si el sistema también contiene un BLAX300 interno, Hay dos amplificadores X posibles. Solo debe asegurarse, sin tener en cuenta que amplificador X está seleccionado en el canal de observación, que un cable conecta la salida de este amplificador al módulo HPPR X-BB.

Para sistemas con amplificadores externos:

Existen distintas posibilidades de configuraciones de amplificador, algunos amplificadores tienen tres salidas posibles etiquetadas normalmente como: "X", " ^{19}F " y " ^1H ". Independientemente de la configuración, se aplican los mismos principios básicos. Cuando se elige un amplificador en la Enter offsets ventana "edasp", asegúrese de que la salida del amplificador seleccionada esté, o físicamente conectada al módulo HPPR adecuado, o directamente conectada a la sonda.

6.3.1.5 Preamplicifier (Preamplificador)

Dependiendo del sistema pueden configurarse hasta 5 módulos HPPR. En muchos sistemas hay una correspondencia una a una entre las salidas de amplificador y los módulos HPPR. Cualquier salida de amplificador que se use para transmitir los pulsos de observación debe estar conectada vía un módulo HPPR. Los canales de desacoplamiento se conectan normalmente vía un módulo HPPR module, aunque también pueden conectarse directamente a la sonda.

6.3.2 Algunas prestaciones de la ventana edasp

Cuando use la ventana "edasp", debe tener en cuenta lo siguiente:

1. El canal lógico F1 es siempre el canal OBS (observación), todos los demás canales (F2, F3 etc.) son canales de desacoplamiento.
2. El software tiene en consideración distintas configuraciones de cableado estándar, por ejemplo, si se va a observar protón, por defecto es FCU2. Esto es porque la salida del direccionador (router) 2 (no mostrada en la pantalla "edasp") está conectada a la entrada del amplificador de protón.
3. En cuanto a las agrupaciones de los núcleos, se aplica el siguiente convenio:

H = Núcleo de hidrógeno, esto es, ^1H

F = ^3H , ^{19}F ,

X = Todos los demás núcleos

6.4 Parámetros básicos de adquisición: La tabla "eda"

Junto con los parámetros del espectrómetro, cliqueando el tabulador „AcquPars“ en la ventana de datos, o con el conjunto de parámetros llamados con el comando "eda" (edit acquisition parameters) (edición de parámetros de adquisición) son los más importantes cuando se prepara una adquisición. La siguiente sección es un breve resumen de los parámetros relevantes mas importantes. Cualquier nuevo usuario debe llegar a familiarizarse con ellos. Detalles adicionales de estos y otros parámetros están disponibles en el "Manual de referencia de adquisición

Topspin o en el "Manual de referencia de procesamiento Topspin". A continuación se dan detalles suficientes para usar con este manual. Si el usuario solo está interesado en la obtención del espectro, puede decidir saltar hasta el capítulo "Proton Spectrum" on page 77 [79], y usar el conjunto de parámetros estándar titulados "PROTON". Esto ajustará automáticamente los parámetros de adquisición idóneos. La desventaja de este método, es que no se alcanzará un conocimiento genuino de los procesos básicos, de modo que el usuario no tendrá los conocimientos necesarios para realizar las modificaciones apropiadas. Los parámetros más importantes se presentan aquí en el orden que aparecen en la tabla "eda" de la ventana de datos.

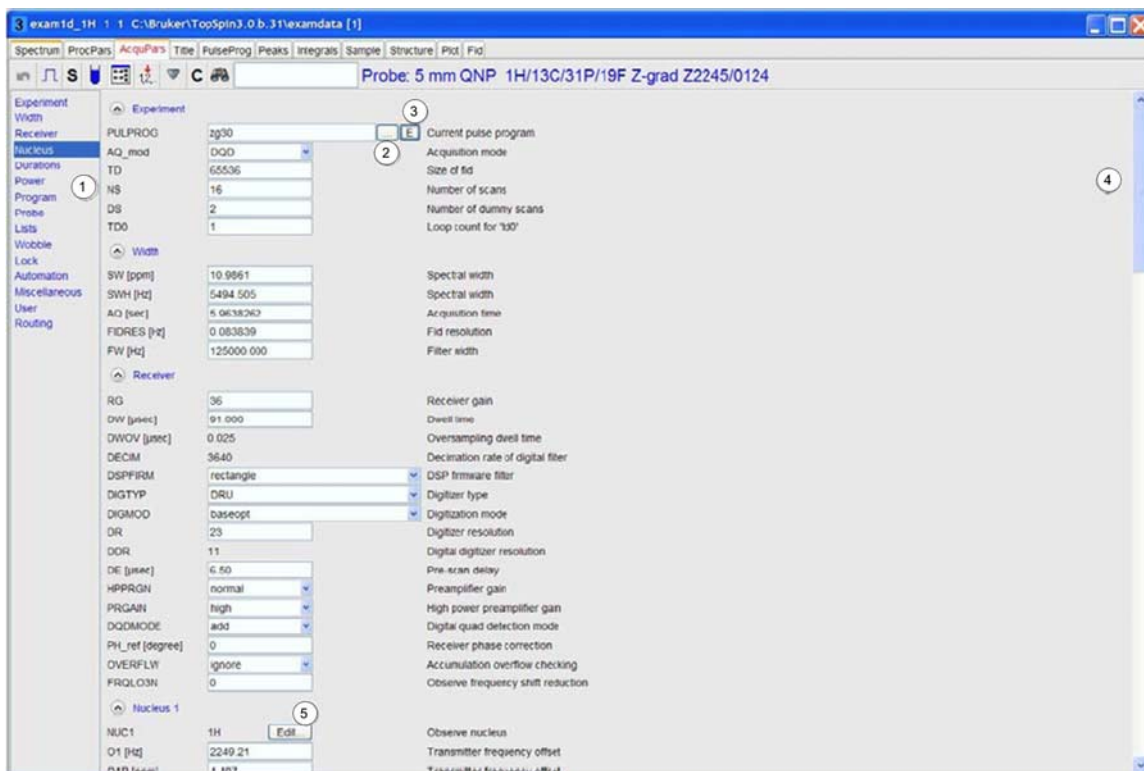


Figura 6.3: Primera página de parámetros "eda"

(após carregament de l'ensemble de parametres PROTON standard)	
1.	Haga clic aquí para seleccionar una parte determinada de la tabla.
2.	Haga clic en ... para visualizar una lista de todos los programas de pulsos disponibles.
3.	Haga clic en E para editar el programa de pulso elegido.
4.	Haga clic aquí para ajustar parámetros individuales dentro de un conjunto.
5.	Marque y arrastre aquí para desplazarse a través de los parámetros.

Un experimento de RMN implica excitar la muestra con una secuencia definida de pulsos RF exacta. La secuencia se define por un programa de pulso y normalmente es un conjunto de pulsos con intervalos de retardo. Para distinguir entre los diferentes programas, a cada uno se le da un nombre distinto. El nombre se introduce en el parámetro PULPROG. El programa de pulso "zg30" que es el que se usará en este manual se usa a menudo, para experimentos de RMN 1D sencillos si se requiere acumulación de señal.

Experiment

PULPROG: El programa de pulso (pulse program) usado para la adquisición. Se ejecuta usando cualquiera de los siguientes comandos: 'zg', 'rga', 'gs', 'go'.

AQ_mod: Acquisition Mode (Modo adquisición)

Determinan como se comparten los datos adquiridos entre los dos canales de recepción. Selecciona DQD para sistemas AVANCE con sistema SGU.

TD: Time Domain Data Size (Tamaño de datos de dominio de tiempo)

La señal emitida por la muestra de RMN se digitaliza antes de realizar cualquier procesado. El valor asignado para TD es el número de puntos a muestrear y digitalizar para formar la FID (ver figure 6.4). Normalmente TD se ajusta a 16, 32 o 64K para FID 1D estándares. Aunque incrementar el valor de TD mejora la resolución de la FID, es a expensas de tiempos de adquisición muy largos.

NS: Number of Scans (Número de escanes)

En RMN la acumulación de un número de barridos (escanes) se realiza a menudo para mejorar la calidad del espectro. (El tiempo de duración del experimento, desde luego se incrementa). El número de adquisiciones se especifica con el parámetro NS. Normalmente NS debe ser un múltiplo de 8 para ajustarse al ciclado de fase estándar que se incorpora en los Programas de pulsos. Cuando se configura un experimento, por primera vez, ahorra tiempo ajustar NS = 1 y trabajar en la optimización de otros diversos parámetros antes que ajustar NS a un valor más alto.

DS: Number of Dummy Scans (Número de escanes de prueba)

Algunas veces se transmiten a la muestra varios conjuntos de pulsos idénticos a los utilizados para la adquisición antes de que se permita entrar en el receptor ninguna señal emitida por la muestra. Esto permite que la muestra alcance un estado de estabilidad o equilibrio. Las series de pulsos se denominan "escanes de prueba" ("dummy scans") ya que no se adquieren datos. El número de estos escanes de prueba dependen del tiempo de relajación de la muestra y de su susceptibilidad al calentamiento y se ajustan con DS. Los valores normales para experimentos estándar son 4 ó 8.

PARMODE: Parameter Set Mode (Modo de conjunto de parámetros)

Puede ajustarse a 1D, 2D o 3D dependiendo del tipo de experimento de RMN a realizar. Selecciona 1D para cualquiera de las adquisiciones descrita en este manual.

Width

SW: Spectral Width (Anchura espectral)

Algunas veces denominado como **anchura de barrido**, es una medida de la anchura del espectro de frecuencias a analizar: Normalmente, una muestra emitirá a un rango de frecuencias, más que a una frecuencia única y todas deberían estar dentro de la anchura espectral.

Las señales, cuya frecuencia esté dentro de este ancho espectral, se detectarán, mientras que las que queden fuera de este rango se eliminarán. Si tiene una idea aproximada de las frecuencias de resonancia de su muestra, puede ajustar una SW pequeña (esto tiene algunas ventajas). Por otro lado, cuando analice una muestra desconocida, comience usando una SW grande. La SW, ajustada en ppm, puede ser considerada como la anchura de la ventana en la que se observará el espectro. Para espectros de protón, una SW de 20 ppm será suficientemente grande como para capturar cualquier señal, mientras la frecuencia de transmisión alrededor de la que está centrada (SFO1) la SW sea correcta. El conjunto de parámetros estándar "PROTON", que se usa a lo largo de este manual, tiene una SW de 20.6ppm.

Una función útil cuando se ajusta la SW es la función SW - SF01 que puede encontrarse en el submenú de utilidades. Esta función ajusta la SW de modo que tenga el mismo valor que la región visualizada en la pantalla y ajusta SFO1 en el centro.

SWH: Spectral Width in Hertz (Anchura espectral en Hercios)

Igual que SW, pero medida en Hercios en lugar de ppm (ver la sección Compuestos de referencia, Hz, ppm [17]). Cambiando el valor asignado a SW se cambiará automáticamente SWH y viceversa. Cuando se introduce un valor arbitrario de SWH o SW, el software automáticamente, lo ajustará ligeramente para asegurar que el tiempo interno del digitalizador tiene un valor discreto. El valor máximo que puede asignarse a SWH depende del tipo de digitalizador.

AQ: Acquisition Time (Tiempo de adquisición)

El tiempo de adquisición es el tiempo (en segundos) necesario para adquirir un escán. Se ajusta automáticamente y está basado en los valores asignados a TD y SW. Sin embargo, puede ajustarse manualmente y provocará el ajuste correspondiente del valor asignado para TD.

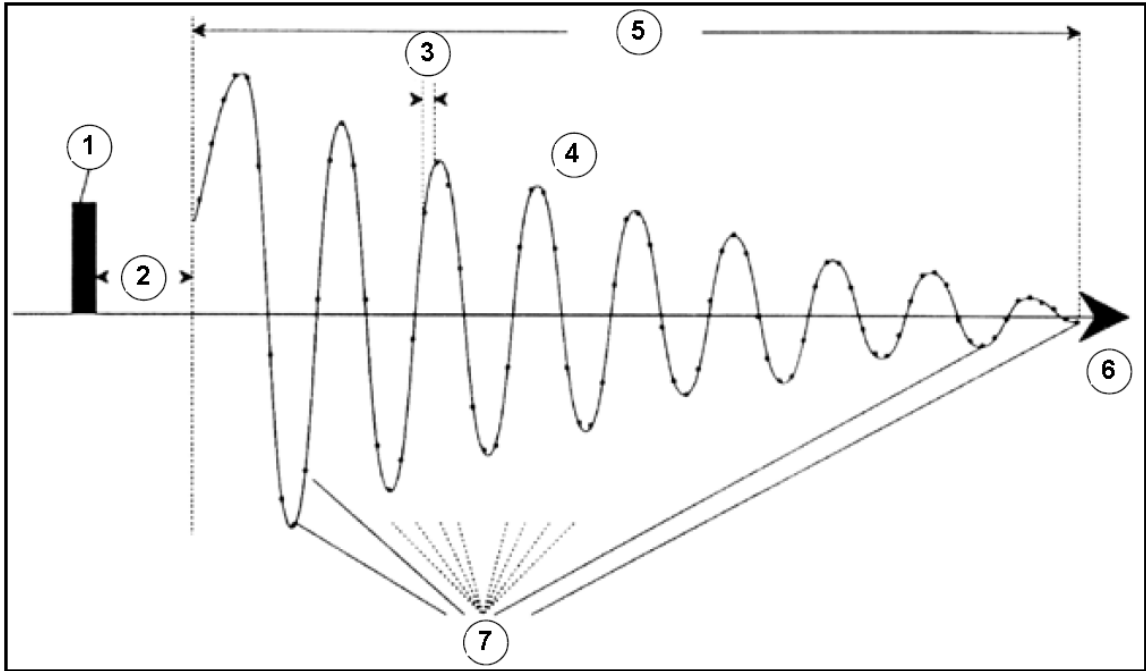


Figura 6.4: Representación básica de algunos parámetros de adquisición

1.	Pulso de la excitación	5.	AQ
2.	DE	6.	Tiempo
3.	DW	7.	Número total de puntos de muestra = TD
4.	FID		

FIDRES: FID Resolution en Hercios (Resolución de la FID) (por punto)

Se ajusta automáticamente de acuerdo con los valores asignados a SWH y TD. Tiene el valor de SWH/TD. El espectro que aparece en la pantalla es realmente un conjunto de puntos unidos por líneas rectas. Cada punto de este modo representa un rango de frecuencia y se denomina resolución de la FID. A menor valor de FIDRES, más exacta la representación del espectro.

FW: Filter Width (Anchura de filtro)

Generalmente, el filtro analógico se ajusta automáticamente en función del valor de SW y SWH. Se ajusta para filtrar (eliminar) cualquier señal recibida fuera de la anchura espectral. Ya que el filtrado digital es ahora estándar, solo se necesitan filtros analógicos gruesos. Dependiendo del digitalizador, puede esperar ver un número limitado de valores posibles en la tabla "eda", tal como 20 KHz, 90 KHz, 125 KHz, 625 KHz, etc.

Receiver

RG: Receiver Gain (Ganancia del receptor)

La ganancia del receptor es un parámetro muy importante que se usa para ajustar la amplitud de la FID al rango dinámico del digitalizador. El ajuste correcto de la ganancia puede determinarse examinando la FID. Si la FID está "recortada" en la parte superior o inferior de la pantalla de visualización, entonces, debería reducirse la ganancia. Por el contrario, si la ganancia es demasiado baja y no utiliza una parte adecuada (25-50%) del rango dinámico completo del digitalizador debería aumentarse. Cuando se visualiza la amplitud de la FID en la pantalla se asegura que la escala vertical está a su valor por defecto. La ganancia puede ajustarse automáticamente con el comando rga" lo que está ampliamente recomendado para los usuarios nuevos.

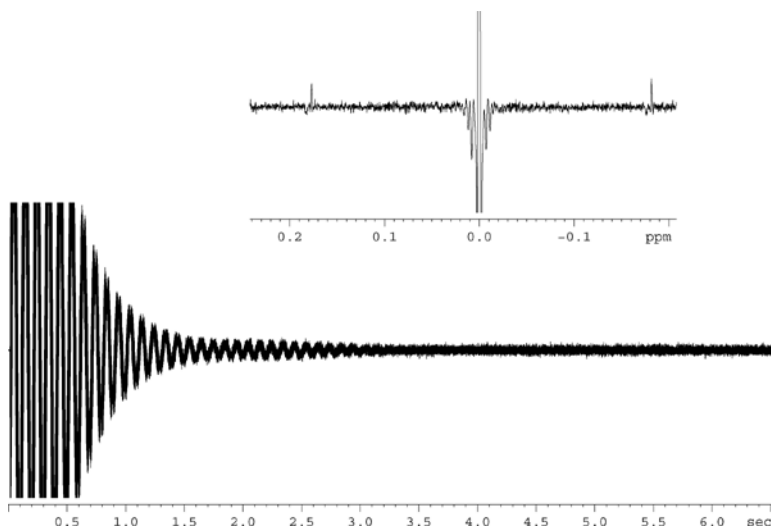


Figura 6.5: FID recortado como resultado de un ajuste RG demasiado alto

DW: Dwell Time (Tiempo interno)

Desde la implantación del filtrado digital y del sobremuestreo (oversampling), este parámetro es menos significativo. Representa el intervalo de tiempo teórico, en microsegundos, entre la digitalización de dos puntos de muestreo de la FID que satisface el criterio Nyquist. Se ajusta automáticamente, se calcula en microsegundos utilizando la fórmula $DW = 10^6/2 \cdot SWH$.

DWOV: Oversampling Dwell Time (Tiempo interno de sobremuestreo)

Es el tiempo DW real usado por el digitalizador, asumiendo que se ha activado el filtrado digital y el sobremuestreo (oversampling)ajustando el parámetro DIGMOD (ver más adelante) bien a "digital" o a "homodecoupling-digital" ("homodesacoplamiento digital". El valor de DWOV se calcula automáticamente.

DECIMATION: Decimation Rate of Digital Filter (Velocidad de decimalización del filtro digital)

Es la relación entre DW y DWOV, y representa el factor por el que se sobremuestra (oversampled) la FID. Se ajusta automáticamente utilizando la fórmula $DECIMATION = DW/DWOV$.

DSPFIRM: Digital Signal Processing Firmware (Firmware de procesado de señales digitales)

Se ajusta a "sharp (standard)" ("fino" (estándar).

DIGTYP: Type of Digitizer (Tipo de digitalizador)

El tipo de digitalizador usado en el espectrómetro. Puede ser SADC, HADC+, FADC etc. Este parámetro está disponible para espectrómetros con más de un digitalizador en memoria. En la tabla "eda" solo se ofrecen para seleccionar los digitalizadores disponibles en un espectrómetro específico. Si ha seleccionado DIGTYP durante la rutina "expinstall", se ajustará automáticamente siempre que se cargue un conjunto de parámetros estándar.

DIGMOD: Digitizer Mode (Modo digitalizador)

Para sistemas AVANCE AV debe seleccionarse el modo "digital". Si se va a realizar un experimento de homodesacoplamiento, debe usarse el modo "homodecoupling-digital". Si se usa un modo "analógico" ("analog"), no estará disponible el filtrado digital.

DE: Prescan Delay (Retardo previo al escán)

El retardo previo al escán es el tiempo de retardo antes de comenzar la adquisición de datos. Este retardo, ajustado automáticamente en microsegundos, asegura que se ha transmitido completamente el pulso de excitación antes de comenzar la adquisición de datos. Durante la rutina "expinstall", se le solicita al usuario la introducción de un valor DE. Leyéndolo en el conjunto de parámetros estándar "PROTON", este valor se ajustará automáticamente a 6 μ s, lo que es idóneo para los experimentos descritos en este manual.

Duration

P (μ s): Pulse P0 - P63 (Pulso)

Una serie de 64 posibles anchuras de pulsos pueden incorporarse a un programa de pulso. Las unidades por defecto son microsegundos (escriba "u" para " μ "). Escribiendo "m" o "s" se cambiarán las unidades a milisegundos o segundos respectivamente. La anchura de pulso "P1" es casi siempre la utilizada como pulso de excitación de 90 grados estándar. Aunque las anchuras de pulso aparecen en la tabla "eda" con mayúsculas, cuando se introducen en un programa de pulsos o se teclean explícitamente en la línea de comandos del Topspin, se deben usar letras minúsculas.

Cuando configure la anchura del pulso, el usuario debe saber que pulsos demasiado largos pueden causar que la sonda produzca arcos eléctricos o se sobrecaliente, particularmente si el nivel de potencia no se atenúa suficientemente. Los pulsos de observación normales (al contrario de los de desacoplamiento) son de 6-15 μ s de duración.

D (s)*: Delay D0 - D63 (Retardo)

Marcando en este parámetro en la tabla "eda" obtendrá un serie de 64 retardos etiquetados de D0 o D63. Cada uno de estos 64 retardos pueden ajustarse independientemente e incorporarse a un programa de pulso. Observe que si el retardo se introduce como un número sin unidades, por defecto serán segundos. Sin embargo esto puede cambiarse escribiendo "u" para microsegundos o "m" para milisegundos, antes de presionar "enter". El retardo "D1" se usa casi siempre como retardo de relajación. Es normalmente más rápido ajustar explícitamente el retardo tecleando en la línea de comandos que usando el array de la tabla "eda". Aunque los retardos aparecen en la tabla "eda" con mayúsculas, cuando se introducen en un programa de pulsos o se teclean explícitamente en la línea de comandos del Topspin, se deben usar letras minúsculas.

Power

PL (dB): Power Level in W (Nivel de Potencia en W) o

PL (dBW): Power Level in dBW (Nivel de Potencia en dBW)

Marcando aquí se obtiene una serie de 64 niveles de potencia, etiquetados de PL0 - PL63. Cada uno de estos 64 niveles puede ajustarse independientemente e incorporarse a un programa de pulso. Los valores PLW[W] incluyen un rango desde 0W a la potencia máxima del amplificador (por ejemplo, 100W). Los valores PL[dBW] describen los niveles de potencia como la atenuación del nivel de potencia máximo del amplificador esto es una escala logarítmica que se calcula de los valores de PLW[W]. Esto es una escala absoluta con:

$$1 \text{ W} = 0 \text{ dB}$$

El efecto de cualquier valor de potencia asignado depende del tipo de amplificador utilizado, así el mismo valor de PLW tendrá efectos muy diferentes si se aplica a dos tipos de amplificadores distintos.

Los niveles de potencia se pueden asignar explícitamente a cualquiera de los ocho canales de un programa de pulso. Si el nivel de potencia no se asigna explícitamente, PLx se asignará por defecto al canal "Fx". Para el objetivo de este manual el nivel de potencia principal es "pl1" que se usa para ajustar la atenuación en el canal F1 (observación).

Como en todos los **arrays**, a menudo es más conveniente introducir el valor PLW o PL explícitamente en el comando de línea Topspin en lugar de introducir el valor en la tabla "eda". De nuevo, aunque los niveles de potencia aparecen en la tabla "eda" en letras mayúsculas, cuando se introducen en un programa de pulsos o se teclean explícitamente en la línea de comandos del Topspin, se deben usar letras minúsculas.

El máximo de potencia (atenuación mínima) para cualquier canal es la potencia máxima (y por tanto, el valor de dBW calculado) del amplificador. Para minimizar los cambios para los usuarios con experiencia en TopSpin 3.0, esto se ha mantenido la reducción del nivel de potencia incrementando en valor de la atenuación PL [dBW].

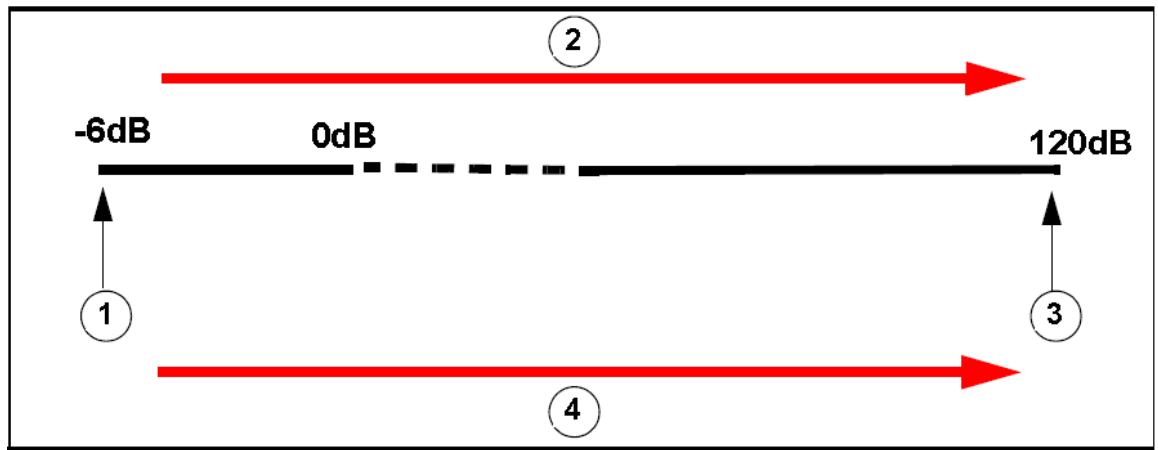


Figura 6.6: Relación entre potencia y atenuación

1.	Potencia mín.	3.	Potencia máx.
2.	Disminución de atenuación	4.	Incremento de potencia

Los usuarios deben saber que el modo más simple de dañar la sonda es usar un nivel de potencia demasiado alto. Por este motivo, los valores asignados, por defecto, para los conjuntos de parámetros estándar es siempre de 0W, que representa la potencia mínima, esto es potencia cero. Los usuarios deben consultar con el responsable del sistema los niveles de potencia adecuados para las distintas sondas, o bien usar la rutina "getprosol". La rutina "getprosol" se describe en la sección La tabla " getprosol" [80].

Nucleus 1

NUC1: Name of Observe **Nucleus** (Nombre del núcleo a observar)

EL nombre del núcleo a observar. El núcleo a estudiar se ajusta normalmente en un menú diferente (edasp) que se escribe encima de la entrada "eda". Para información del usuario, los núcleos a observar se listan en la tabla de menú "eda".

O1: Transmitter Frequency **Offset** (Compensación de frecuencia del transmisor) para el Canal F1 en Hz.

SFO1: Transmitter frequency (Frecuencia del transmisor)

Esta es la frecuencia usada para excitar el núcleo observado (canal lógico F1) y estará en el centro del espectro. Se puede considerar como la frecuencia central de la ventana en la que se observa el espectro.

O1P: Transmitter frequency offset (Compensación de frecuencia del transmisor) para el Canal F1 en ppm.

BF1: Basic transmitter frequency (Frecuencia del transmisor básica) para el canal F1 en Her-cios.

Esta frecuencia se ajusta automáticamente en función del núcleo (por ejemplo, ^{13}C , ^1H) que se va a estudiar.

Ahora se explicará el uso correcto de los tres parámetros SFO1, BF1 y O1. El lector debe co-nocer que convencionalmente en espectroscopia de RMN la frecuencia se expresa en el eje horizontal y se incrementa hacia la izquierda.

Los tres parámetros SFO1, BF1 y O1 se expresan por:

$$\text{SFO1} = \text{BF1} + \text{O1}.$$

Existen los parámetros correspondientes para hasta ocho canales lógicos, de modo que para el canal X el núcleo de elección es NUCX y:

$$\text{SFOX} = \text{BFX} + \text{OX}$$

El usuario debe conocer la relevancia de estos parámetros que se explican en la sección 7.5.1 utilizando ejemplos prácticos.

Lock

LOCNUC: Name of **Lock Nucleus** (Nombre del núcleo de referencia)

Normalmente es ^2H (deuterio), aunque algunas veces se usa ^{19}F (fluor) en los casos en los que las señales de deuterio pueden interferir con las señales “genuinas” de la muestra. La referen-cia de ^{19}F necesita un hardware especial.

6.4.1 Explicación numérica de las frecuencias transmitidas, básica y compen-sación

Consideremos un espectrómetro de 600 MHz utilizado para observar hidrógeno. El espectró-metro se configura para tener una BF1 de 600.13 MHz (Un espectrómetro de 500 MHz tiene normalmente una BF1 de 500.13 MHz, uno de 400 MHz una BF1 de 400.13 etc.).

Si O1 se ajusta a cero, entonces:

$$\text{SFO1} = 600.13 + 0 = 600.13 \text{ MHz}$$

Así el centro del espectro debe estar situado a 600.13 MHz. Si SWH se ha ajustado a 20 kHz, el espectro debe parecerse al siguiente.

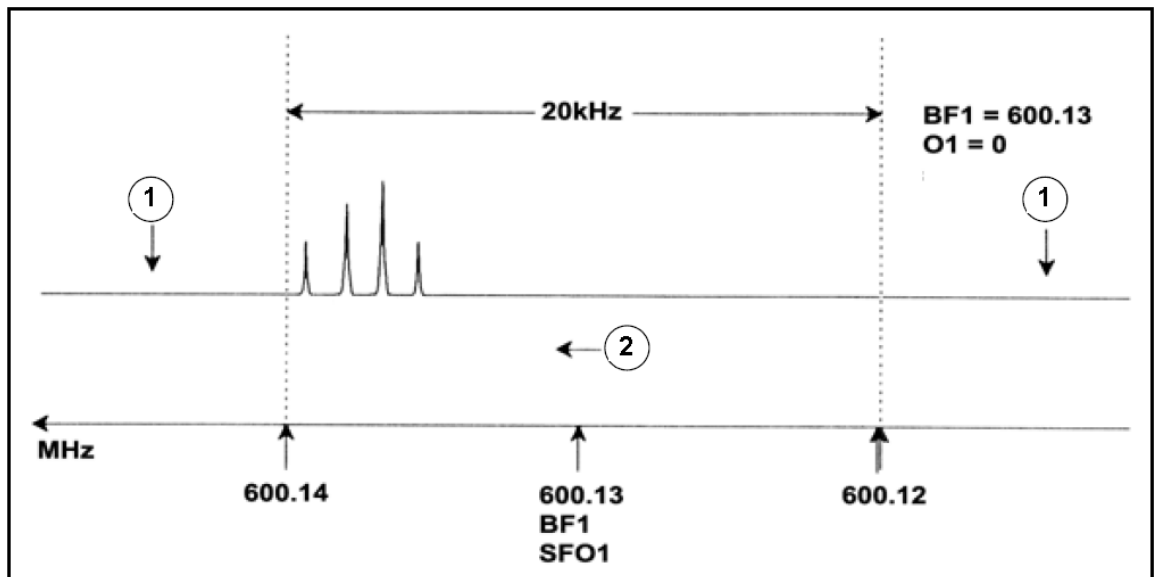


Figura 6.7: Espectro con $BF1=600.13$ MHz, $O1=0$ Hz

1.	Las señales filtraron hacia fuera	2.	Frecuencia
----	-----------------------------------	----	------------

Es claro en nuestro hipotético espectro, que las señales de RMN se encuentran desplazadas hacia frecuencias altas de la anchura espectral. Además, es posible que algunas señales puedan estar situadas por encima de 600.14 MHz y como se han filtrado las señales situadas fuera de la ventana espectral, estas no se observen. Para comprobar la presencia de esas señales se dispone de dos opciones:

- Puede aumentarse la anchura espectral para abarcar cualquier hipotética señal. Sin embargo, esto tiene la desventaja de incrementar la resolución de la FID (a menor valor de FIDRES, mejor resolución).
- La opción preferida debería ser no cambiar la anchura espectral, y asignar un valor a O1 para desplazar el centro de la ventana.

En nuestro espectro, Todas las señales detectadas están situadas en la región de 600.138 MHz y queremos centrar el espectro a esta frecuencia.

$$\Rightarrow SFO1 = 600.138 = BF1 + O1$$

$$\Rightarrow 600.138 = 600.13 + O1$$

$$\Rightarrow O1 = 0.008 \text{ MHz} = 8 \text{ kHz}$$

Por tanto si O1, frecuencia de compensación (offset), se ajusta a 8 kHz, la ventana se desplaza a la que se muestra en Figure 6.8.

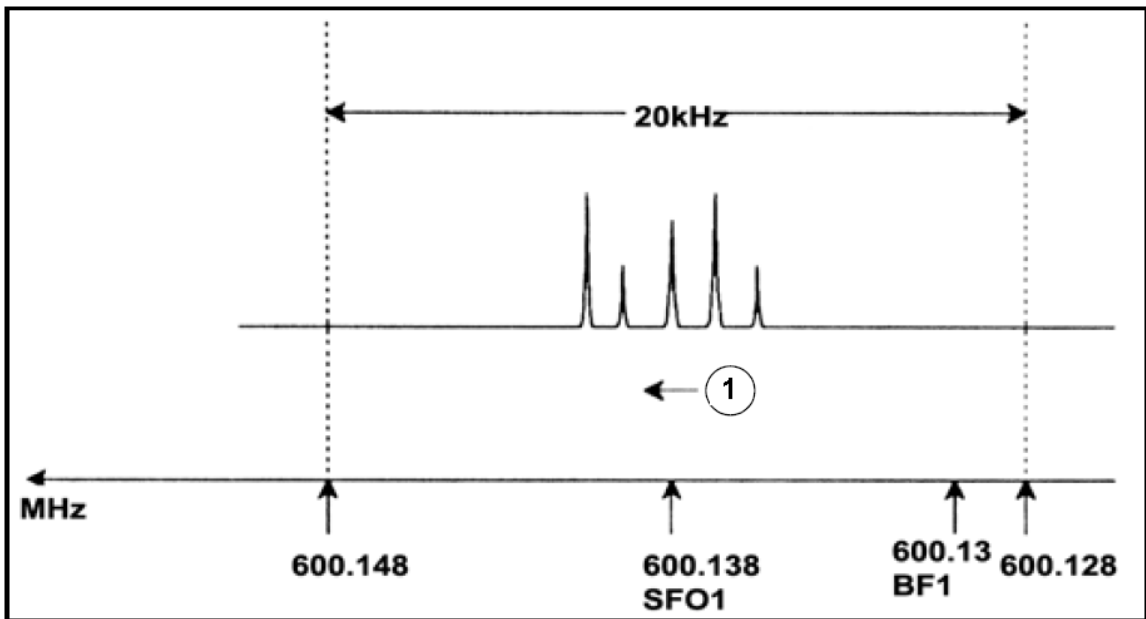


Figura 6.8: Espectro con BF1 =600.13 MHz, O1= 8 kHz

1.	Frecuencia		
----	------------	--	--

Finalmente, es claro de la figura anterior que las señales de RMN emitidas por protones en nuestra hipotética muestra ocupan solo una parte de la anchura espectral. Por lo tanto esta puede reducirse sin pérdida de datos relevantes. Una ventaja de reducir SW es que se mejora la resolución espectral (con la desventaja de que el tiempo necesario para adquirir los datos se incrementa proporcionalmente).

En Introducción: Teoría y terminología [13], se expuso que los desplazamientos químicos de los protones raramente exceden de 14 ppm. Esto corresponde a 8.4 kHz en un espectrómetro de 600 MHz. La Figure 6.9 muestra un nuevo trazado del hipotético espectro con el valor de SW reducido de 20 kHz a 8.4 kHz.

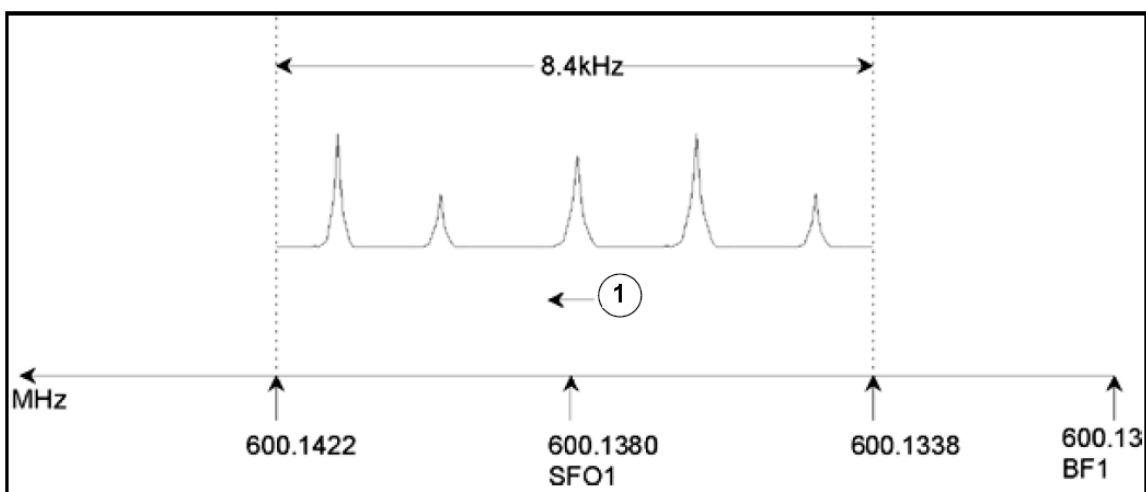


Figura 6.9: Espectro con BF1=600.13 MHz, O1=8 kHz, SWH = 8.4 kHz

1.	Frecuencia		
----	------------	--	--

Debe observarse que el valor de SWH utilizado en cualquier experimento dado, se determina únicamente en función de la muestra a analizar y de la resolución espectral requerida. El valor de 14 ppm para los espectros de hidrógeno asegura que se detecten la mayoría de las señales.

Sin embargo, para un estudio detallado de una señal en particular, se usan valores de SWH mucho más pequeños.

La figura siguiente ilustra los principios generales de cómo interactúan SFO1, BF1 y O1 (con una muestra nueva).

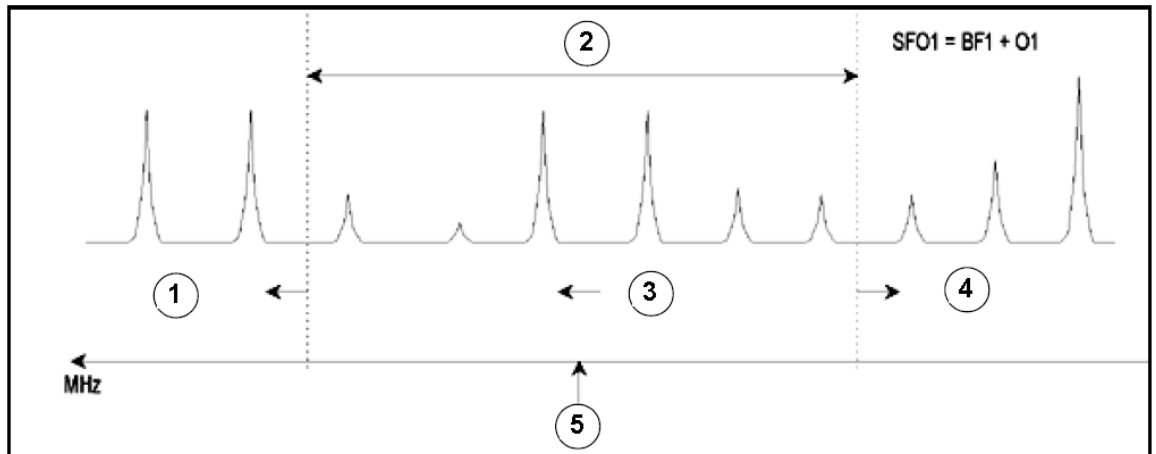


Figura 6.10: Interacción entre SFO1, BF1 y O1.

1.	Setting O1 to a positive value shifts the window to higher frequencies.
2.	SW determines the width of the window.
3.	Frequency.
4.	Setting O1 to a negative value shifts the window to lower frequencies.
5.	SFO1 is the center of the spectrum.

Para ayudarle a ajustar una anchura espectral (barrido) idónea, se ha incorporado al software, en el submenú de utilidades, la función especial SW-SFO1. Para más detalles "Adjusting the Spectral Width with the SW-SFO1 function" on page 86 [87].

7 Espectro de protón

Esta sección describe el procedimiento a seguir para adquirir un espectro de protón. La muestra a utilizar es de 100 mg de acetato de colesterilo en cloroformo-d con un 0.5% TMS. Los pasos principales a seguir son:

1. Inserte la muestra y si lo desea inicie el giro.
2. Referencie el espectrómetro (remítase a la sección Referenciar la muestra [p. 55]).
3. Sintonice y ajuste, si es necesario.
4. Optimice las bobinas de homogeneidad Z y Z².
5. Cree un conjunto de datos nuevo, por ejemplo hidrógeno 1.
6. Lea un conjunto de parámetros estándar y ajuste los parámetros "p1" y "p11".
7. Lea en el archivo „prosol“ con „getprosol“.
8. Ajuste la ganancia del receptor con "rg" o "rga".
9. Reduzca NS de 16 a 1, si quiere adquirir un espectro de un único escán (opcional).
10. Pulse el botón **START ACQUISITION** en la barra de herramientas de Topspin o introduzca 'zg' para iniciar la adquisición.
11. Elija Processing de la barra menu y pulse **Fourier Transformation**. Aparecerá una ventana donde marcar la transformada de fourier estándar y luego pulse el botón OK. Ahora elija **Processing** de la barra menu y pulse **Phase Correction** (Corrección de fase). En la nueva ventana que aparece elija la corrección de fase automática y luego pulse el botón OK. También puede introducir 'ft' y 'apk' para transformar y corregir la fase automáticamente del espectro.

Se describirán a continuación, otras técnicas de procesamiento distintas, como la corrección de fase manual y la calibración.

En las secciones anteriores ya se han descrito los pasos 1, 2, 3 y 4, de modo que comenzaremos por el paso 5.

7.1 Creación de un nuevo conjunto de datos

Antes de ajustar los parámetros de adquisición adecuados, se recomienda crear un conjunto de datos nuevo. En la descripción siguiente, se crea un conjunto de datos con NOMBRES (NAMES) específicos, aunque se puede elegir cualquier otro NOMBRE que desee. Siempre se avisa al usuario para que cree un nuevo conjunto de datos, antes de ajustar los parámetros de adquisición. De este modo, siempre puede observarse el efecto de las modificaciones comparando los dos conjuntos de datos. El método más sencillo para definir un nuevo conjunto de datos es incrementar simplemente el parámetro EXPNO.

1. Creación de un nuevo conjunto de datos.
2. Para crear el siguiente conjunto de datos puede pulsar el botón EDC elegir File y New de la barra de menu o introducir 'new'.
NAME: hydrogen
EXPNO: 1
PROCNO: 1
Experiment: PROTON
3. Marcar en 'OK'.

7.2 Lectura del conjunto de parámetros estándar

Si no ha elegido un experimento cuando ha creado un conjunto de datos nuevo, cargue el conjunto de parámetros estándar titulado "PROTON" introduciendo:

```
'rpar proton'
```

Cuando se le solicite, haga clic en "acqu" y "proc", y luego en "copy".

Independientemente de cualquier ajuste previo realizado en "edasp", ahora se ajustará para "observar protón", una vez que se ha cargado el conjunto de parámetros titulado "PROTON". Esto puede comprobarse fácilmente introduciendo 'edasp'. Todos los demás núcleos de ajustan a "apagado" ("off").

7.2.1 La tabla "getprosol"

La tabla "prosol", que puede visualizarse pulsando el botón GET PROSOL en la barra de herramientas de la tabla AcquPars en la ventana de datos o con el comando "edprosol", es una lista de parámetros específicos del espectrómetro y de la sonda. Los parámetros como pulsos de 90 grados o longitud del pulso de desacoplamiento asociados con los niveles de potencia, pueden almacenarse para cualquier núcleo especificado en cualquier canal disponible. Si el archivo "prosol" se ha configurado correctamente, el usuario debe poder acceder fácilmente a estos valores. Estos valores se cargan automáticamente utilizando el comando "getprosol". El software reconoce que núcleo se ha seleccionado para cada canal y carga los valores adecuados. Es importante observar que la rutina "prosol" solo funcionará correctamente si se ha usado el comando "edhead" para definir la sonda actual, para ajustarla en el imán. Observará en la siguiente tabla que el comando "getprosol" se propone como un modo sencillo de ajustar valores para los parámetros tales como "p1" y "p11".

Elija la tabla Acqupars de la barra de herramientas en la ventana de datos o introduzca 'eda' y observe los parámetros de adquisición que se han ajustado según se lista en la siguiente Tabla 7.1. Aquí solo se comentarán los parámetros más relevantes. Debe saber que algunos parámetros dependen mucho de cada sistema particular, y por tanto no hay un valor "ideal" posible para el conjunto de parámetros estándar. Puede usar los comandos "as" o "ased" para comprobar convenientemente si los parámetros se han ajustado correctamente.

Parametro	Valor	Comentario
PULPROG	zg30	Para una descripción de este programa de pulsos ver la sección 11.2
TD	65536	No crítico. 64K es bastante grande. Puede reducirlo a 16K puntos si quiere ganar tiempo si la FID decae suficientemente rápida o si "d1" es suficientemente largo.
NS	16	Hasta que se hayan optimizado otros parámetros, hay poco que ganar invirtiendo tiempo en un gran número de escanes. Si quiere inicialmente ahorrar tiempo puede reducirlo a 1.
DS	2	Dos escanes de prueba es lo más estándar.
SW	20.6 ppm	Para espectros de protón es un poco alto. Sin embargo es mejor una anchura espectral grande cuando se analiza por primera vez una muestra. Observe que es más fácil trabajar con el parámetro SW en comparación con SWH.
NUC1	1H	Este parámetro solo da información al usuario.
SFO1		Ver O1P

Parametro	Valor	Comentario
O1P	6.175 ppm	Determina el valor de la frecuencia de transmisión y por tanto del centro del espectro en ppm. Con la frecuencia centrada a 6.175 ppm y una anchura espectral de 20.6 ppm, se cubre el rango de desplazamientos químicos comprendidos entre - 4.125 ppm y +16.475 ppm. A mayor SW, menos crítico el valor de compensación (offset).
BF1	Dependiente del sistema	Automáticamente ajustado.
D (s)	d1=1-2 s	Las unidades, por defecto, para los retardos (delay) son segundos. Simplemente introduciendo '2', se ajustará un retardo de 2 segundos. En el programa de pulsos "zg30", d1 es el único retardo que se usa. Su propósito es dar a la muestra tiempo de relajación suficiente y es menos crítico que su valor sea largo que no demasiado corto. Con la presente muestra es adecuado , 1 o 2 segundos..
P (µs)	p1= 10 µs	El parámetro "p1" es el valor de un pulso de excitación de 90 grados y un pulso de duración $p1 \cdot 0.33$, es el único pulso utilizado en el programa "zg30". Debe consultar con el responsable del sistema como ajustar "p1". El método más sencillo es usar el comando "getprosol". El valor de 10 µs ajustado por el conjunto de datos estándar es solamente un valor típico. Recuerde que si ajusta 10 µs, entonces el pulso realmente transmitido será 3.33 µs. Si está familiarizado con el procedimiento "paropt" puede querer usarlo para optimizar "p1". Finalmente, el experimento funcionaría aunque no se haya optimizado "p1", sin embargo se perderá sensibilidad
PLW (W)	pl1 = 0W	De nuevo puede querer consultar con el responsable del sistema sobre como ajustar "pl1". Como antes, el método más sencillo es usar el comando "getprosol". El valor optimo para "pl1" dependerá de cada sistema particular. Recuerde que "p1" y "pl1" están ligados. Para proteger la sonda, el valor de "pl1" en el conjunto de parámetros estándares está ajustado a 0 W. Este valor es demasiado alto y necesitará reducirlo.
RG	4	El valor óptimo dependerá de cada sistema particular, aunque 4 es bastante bajo. Use "rga" para optimizar automáticamente la ganancia del receptor.

Tabla 7.1: Los parámetros "eda" después de cargar el conjunto de parámetros estándar "Proton"

7.3 Ajuste de la ganancia del receptor

Introduzca 'rga'.

El espectrómetro llevará a cabo varias adquisiciones para encontrar la ganancia óptima. El valor de RG se cargará automáticamente en la tabla "eda" y se usa en las distintas adquisiciones posteriores.

7.4 Iniciación de la adquisición

Para iniciar la adquisición, pulse el botón START ACQUISITION de la barra de herramientas superior o introduzca 'zg'.

Durante la adquisición, puede observar la acumulación de la FID en la ventana de adquisición haciendo clic en el botón ACQUISITION o introduciendo 'acqu' en la línea de comando. Si $NS > 1$, puede observar la acumulación de las sucesivas FID. Observe que la información de la ventana de adquisición es una actualización a tiempo real de la situación del contador de escaneos y en el ejemplo siguiente se ilustra esta operación (vea la figure 7.1).

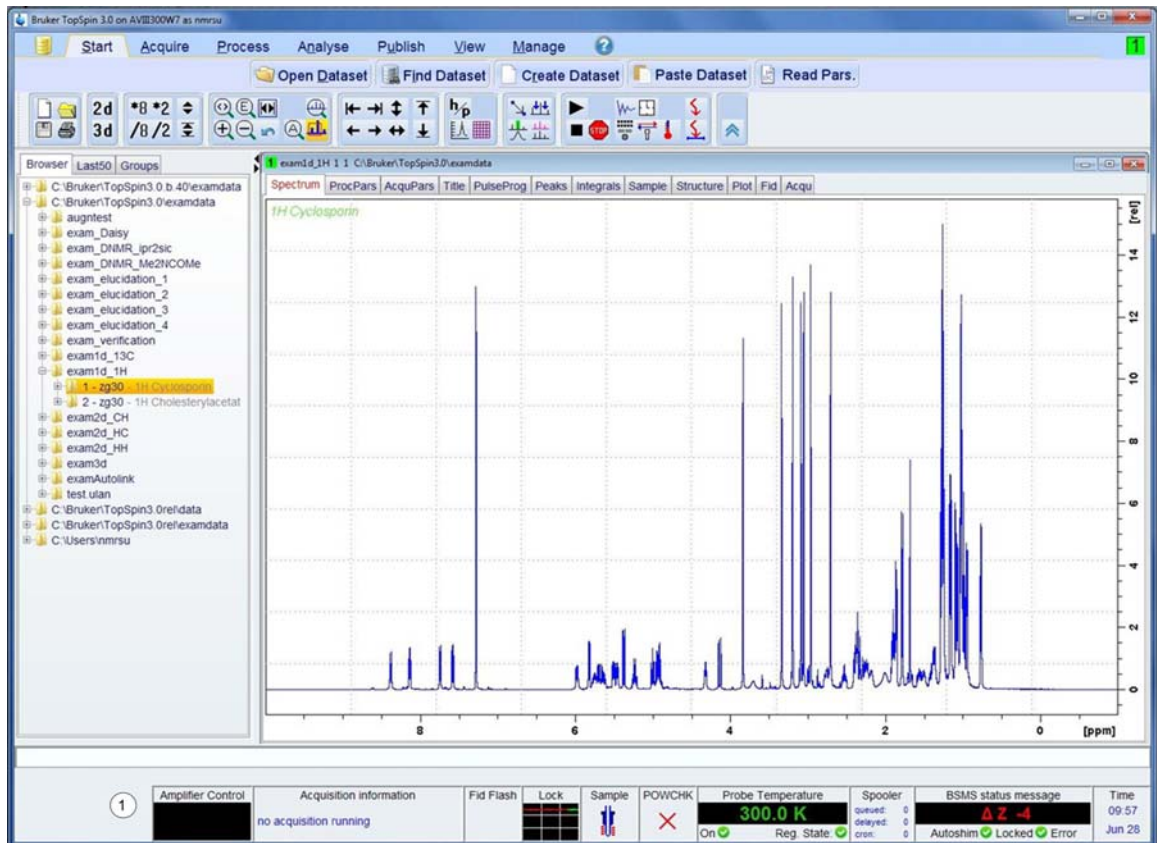


Figura 7.1: Ventana de adquisición - Estado del contador de escaneos

- | | |
|----|----------------------------------|
| 1. | Estado del contador de escaneos. |
|----|----------------------------------|

Scan -2/16 significa que el espectrómetro ha realizado otros dos escaneos de prueba antes de comenzar con los 16 escaneos del experimento.

Cada escaneo tiene lugar en cuestión de segundos. Puede repetir esto tan a menudo como quiera para familiarizarse con las distintas pantallas. Simplemente introduzca 'zg', cada vez, para adquirir una FID. En cada caso la nueva FID(s) sobre-escribirá a la anterior(es), (asumiendo que no haya incrementado el parámetro EXPNO).

7.5 Transformada de Fourier y corrección de fase del espectro

Elija Processing de la barra menu y pulse Fourier Transformation. Aparecerá una ventana donde marcar la transformada de fourier estándar y luego pulse el botón OK. Ahora elija Processing de la barra menu y pulse Phase Correction (Corrección de fase). En la nueva ventana que aparece elija la corrección de fase automática y luego pulse el botón OK.

Esto lleva a cabo una transformación de Fourier, seguida de una corrección de fase automática. El espectro resultante debe ser más o menos el mismo que el que se muestra a continuación:

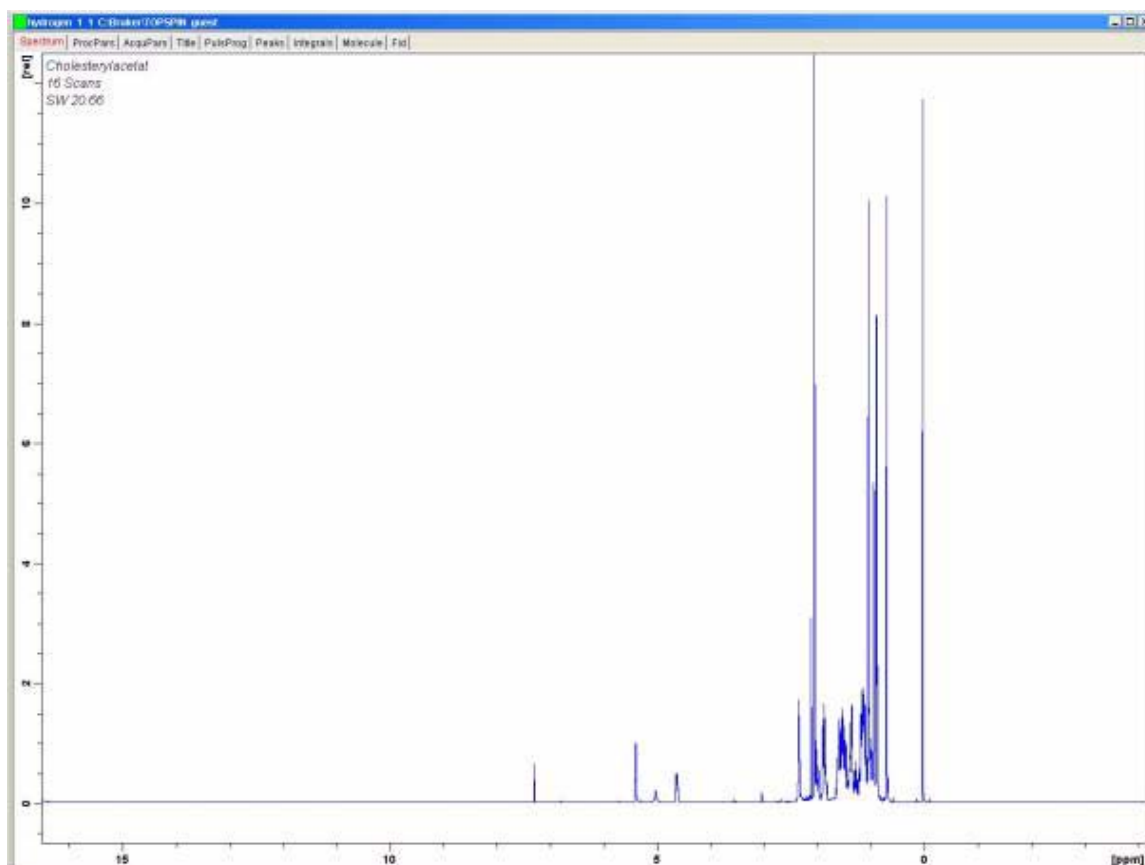


Figura 7.2: Espectro de protón del acetato de colesterol. 16 escaneos escanes. SW = 20.66

Antes de pasar a la siguiente sección, es instructivo describir algunas técnicas de procesado básicas.

7.6 Procesamiento básico: Transformación de Fourier

La transformación de Fourier se usa para convertir la FID en un espectro de frecuencia. Se lleva a cabo pulsando a través del menú **Processing** o introduciendo el comando "ft". El número de puntos utilizados para formar el espectro resultante, se determina por el parámetro SI (size-tamaño). La FID se transforma en un espectro formado por SI puntos de datos en la parte real y SI puntos de datos en la parte imaginaria. El ajuste normal de SI es $SI = TD/2$. Si ha cargado el conjunto de parámetros "PROTON", puede verificar fácilmente que $TD = 64K$ y $SI = 32K$.

Haciendo clic en el menú Processing o introduciendo el comando 'ft', la pantalla se vuelve automáticamente a la ventana de datos. Si quiere volver a entrar en la pantalla de adquisición, introduzca 'acqu'.

Si en alguna etapa los datos desaparecen de la ventana de visualización, haga clic en las funciones de escalado mostradas en la Figura 7.3 para restablecer los datos en la ventana de la pantalla.

Tenga en cuenta que el espectro puede aparecer distorsionado después de usar el comando 'ft', pero esto puede corregirse usando las técnicas de corrección de fase descritas a continuación.

7.7 Corrección de fase

Las distorsiones de fase de cualquier señal transmitida o recibida, dentro del hardware del espectrómetro, son inevitables y deben corregirse inicialmente. Una vez que se ha realizado esta corrección, y asumiendo que no se han modificado las condiciones o los parámetros de adquisición, la corrección de fase debe permanecer constante y por tanto se puede guardar y volver a aplicar de nuevo fácilmente. La figura siguiente es un ejemplo del efecto de la corrección de fase.

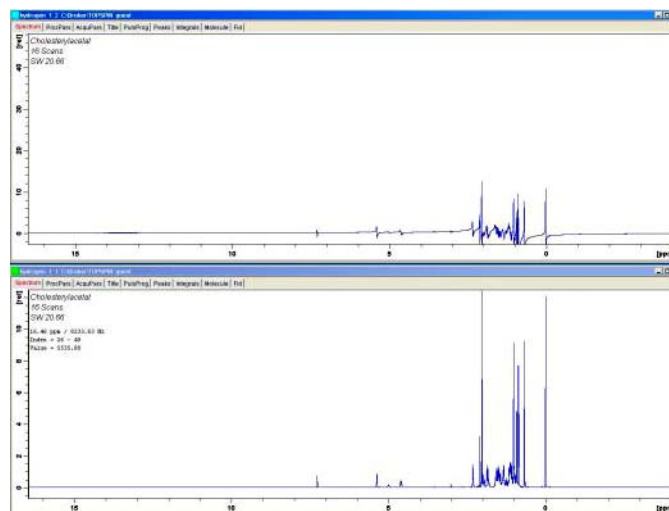


Figura 7.3: Ejemplo de un espectro con corrección de fase (abajo) y sin corrección (arriba)

El usuario necesita entender la diferencia entre correcciones de fase de orden cero y de primer orden. Los valores numéricos de estas dos correcciones se guardan utilizando los parámetros phc0 y phc1, respectivamente. Los valores de estos dos parámetros pueden inspeccionarse introduciéndolos en la línea de comando o bien llamando la tabla de parámetros de procesamiento. Pulse el tabulador ProcPars en la ventana de datos o introduzca el comando "edp".

La corrección de fase de orden cero aplica la misma corrección de fase al espectro completo. Con esto se tiene en cuenta cualquier distorsión de fase que pueda haberse producido independientemente de la frecuencia de la señal.

La corrección de fase de primer orden aplica la corrección de fase proporcionalmente a la frecuencia de la señal. Esto es porque las distorsiones de fase normalmente contienen un componente dependiente de la frecuencia.

Para corregir la fase de un espectro, normalmente, es necesario aplicar los dos tipos de corrección de fase, de orden cero y de primer orden. Para realizarlo hay varias opciones disponibles. El procedimiento más sencillo es la corrección de fase automática que se lleva a cabo eligiendo Processing de la barra menu y pulsando **Phase Correction** o usando el comando 'apk'.

La tabla siguiente resume algunos de los procedimientos de corrección de fase más usados. El usuario puede experimentar fácilmente con las diversas opciones. Los datos originales no se ven afectados por cualquier tipo de procesamiento aplicado.

Ventana	Metodo	Resultado
edPrincipal	Elija Processing de la barra del menú y pulse en Phase Correction o introduzca el comando 'apk'	La corrección de fase se realiza automáticamente
Principal	Introduzca el comando 'pk'.	Aplica corrección de fase basada en los últimos valores de fase almacenados.
Principal	Introduzca el comando 'fp'.	Combina la transformada de Fourier y la corrección de fase basadas en los últimos valores de fase almacenados.
Modo Corrección de Fase	Por defecto, el punto de pivote de la fase se ajusta al pico mas grande de la región del espectro visualizada.	La fase del espectro está corregida ajustando la fase del pico mas intenso. La misma corrección de fase de orden cero se aplica automáticamente al espectro completo.
Modo Corrección de Fase	Pulse y mantenga pulsado el botón "0" (el botón se vuelve verde).	Permite al usuario aplicar manualmente la corrección de fase de orden cero usando el ratón.
Modo Corrección de Fase	Pulse y mantenga pulsado el botón "1" (el botón se vuelve verde).	Permite al usuario aplicar manualmente la corrección de fase de primer orden usando el ratón.
Modo Corrección de Fase	Pulse el botón derecho sobre la posición del punto de pivote deseado; elija Set pivot point del menú que aparece.	El usuario puede elegir el pico de referencia basándose en que corrección de fase de orden cero se ha aplicado al espectro completo. Esta es una alternativa al uso del pico mas intenso.

Tabla 7.2: Métodos de corrección de fase

7.8 Calibración del espectro

Convencionalmente en espectroscopia de RMN se calibra el espectro ajustando el pico del TMS a 0 ppm. Antes de calibrar puede ser útil expandir el espectro horizontalmente en la región a ambos lados de la señal del TMS, ya que esto ayuda a indicar con toda precisión la posición exacta del pico. La señal del TMS puede identificarse fácilmente ya que es la señal de frecuencia más baja (la mas a la derecha) del espectro.

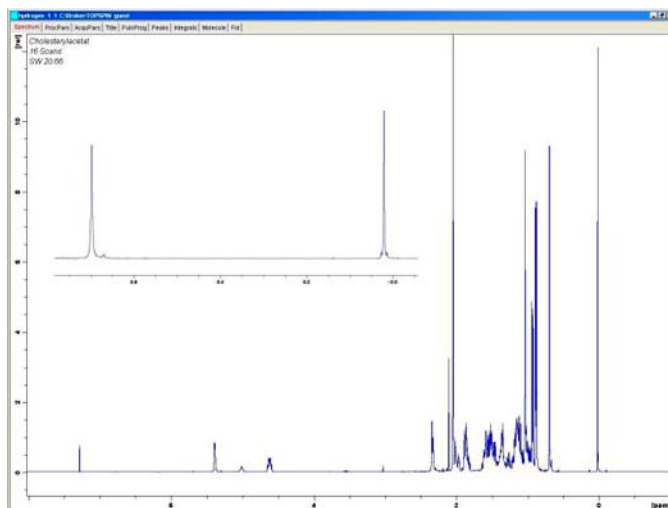


Figura 7.4: La representación gráfica identifica la situación del pico del TMS como el pico más a la derecha del espectro

7.8.1 Procedimiento para expandir el espectro horizontalmente

1. Asegúrese de que se muestra en la pantalla la ventana de datos Topspin.
2. Expanda la región de interés manteniendo pulsado el botón izquierdo del ratón y moviéndolo, luego suelte el botón del ratón.
3. Para volver a ajustar el espectro horizontalmente y visualizar el espectro completo, haga click en el botón de escalado como se indicó en la Figura 7.3.

7.8.2 Procedimiento de calibración

1. Si es necesario, marque en el botón **HP** de modo que el eje horizontal se muestre en ppm.
2. Pulse el botón **CAL** en la barra de herramientas superior o introduzca `cal`. La barra tabuladora de la pantalla de datos activa se sustituirá por una barra de herramientas.
3. Coloque la línea del cursor rojo en el pico de la referencia y pulse el botón izquierdo en esta posición. Una caja de diálogo aparecerá donde se puede meter la frecuencia deseada. Pulse OK y el espectro se calibrará y se volverá a mostrar.

El espectro se mostrará según aparece en la Figura 7.7:

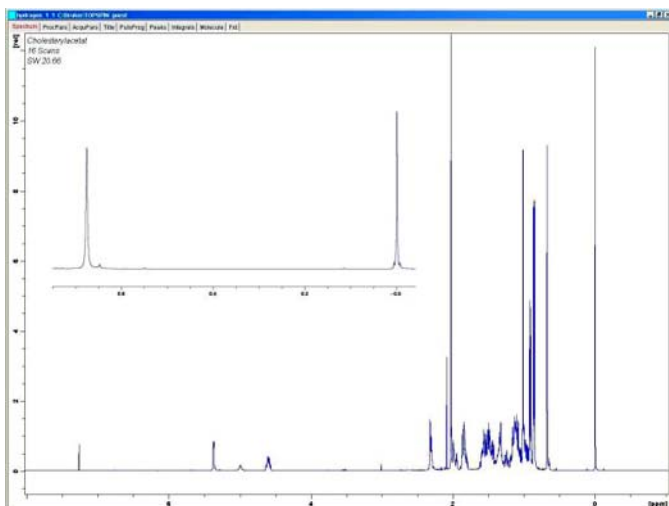


Figura 7.5: Espectro de protón del acetato de colesterol

Dieciséis escaneos. SW = 20.66 pm, Pico del TMS calibrado a 0 ppm.

Puede realizarse una calibración automática del espectro introduciendo el comando 'sref'. Se inicia un procedimiento en el que el software busca una señal en la región de 0 ppm y automáticamente ajusta su valor a 0 ppm exactamente. Para usar el procedimiento "sref", debe ajustarse correctamente la tabla "edlock" y elegir el disolvente adecuado en la rutina de referenciar.

7.9 Ajuste de la anchura espectral con la función SW-SFO1

Es evidente en la Figura 7.7 que todas las señales de RMN de protón del acetato de colesterol están comprendidas en la región 0-8 ppm no tiene ninguna ventaja usar un SW de 20.66 ppm. Según se ajusta con el conjunto de parámetros estándar "PROTON". (Se ajusta una SW de 20.66 ppm, en el conjunto de parámetros estándar, para abarcar un rango suficientemente amplio de señales de protón independientemente de la muestra o del disolvente utilizado). Una técnica útil para ajustar una SW adecuada es expandir el espectro horizontalmente de modo que solo se muestre la región de interés.

Marcando en el botón **SW-SFO1** que se encuentra en el submenú de "utilidades" ("utilities"), se producen dos efectos:

1. Se ajusta automáticamente SW para abarcar solo la región visualizada.
2. La frecuencia observada (SFO1) se ajustará al centro de la región mostrada, esto es la frecuencia observada (SFO1) estará en ese punto.

7.9.1 Ajuste de la anchura espectral (SW) para el espectro del acetato de colesterol

Como esto cambia los parámetros de adquisición básicos, puede decidir crear un nuevo conjunto de datos. El modo más sencillo de definir un nuevo conjunto de datos es simplemente incrementar el parámetro EXPNO.

Procedimiento

1. Pulse el botón EDC o introduzca 'new' y cree un conjunto de datos como el que se indica a continuación:

NAME: hidrogeno

EXPNO: 2

PROCNO: 1

Se crea un conjunto de datos nuevo "hidrogeno 2 1". Una rápida comprobación de la tabla "eda" muestra que el conjunto de parámetros de adquisición de "hidrogeno 1 1" se ha trasladado a un conjunto de datos nuevo. Así, no se escribe encima de los parámetros y datos de "hidrogeno 1 1".

2. Reduzca NS a 1, adquiera una FID y use el comando fp para transformar y corregir la fase. Observe que se utiliza la corrección de fase guardada, así como la calibración realizada para poner el pico TMS en 0 ppm.
3. Posicione la línea del cursor a 10 ppm (aproximadamente) y mantenga pulsado el botón izquierdo del ratón.
4. Posicione el cursor a - 1 ppm (aproximadamente) y suelte el botón del ratón.
5. Ahora se expande la región espectral de -1 a 10 ppm para abarcar el ancho de la pantalla completo.
6. Pulse el botón **SW-SFO1** izquierdo del ratón para liberar el cursor del espectro. SW se ajusta automáticamente para abarcar solo la región visualizada y la frecuencia observada (SFO1) se ajusta al centro de la misma. Esto se puede comprobar en la tabla eda donde se han ajustado los nuevos valores de SW (a 11 ppm aprox.), 01P y SFO1.
7. Adquiera una FID, realice la transformada de Fourier y corrija la fase.

Observe que el uso de "fp" no proporcionará probablemente una corrección de fase buena. Esto es consecuencia los nuevos valores de SW y SFO1. Puede usar el comando "apk" o ajustar la fase manualmente según se describe en la sección 7.7.

8. Incremente el número de escaneos a 16, adquiera el espectro, transforme y corrija la fase. El espectro debe ser ahora como el que se muestra en la figura siguiente.

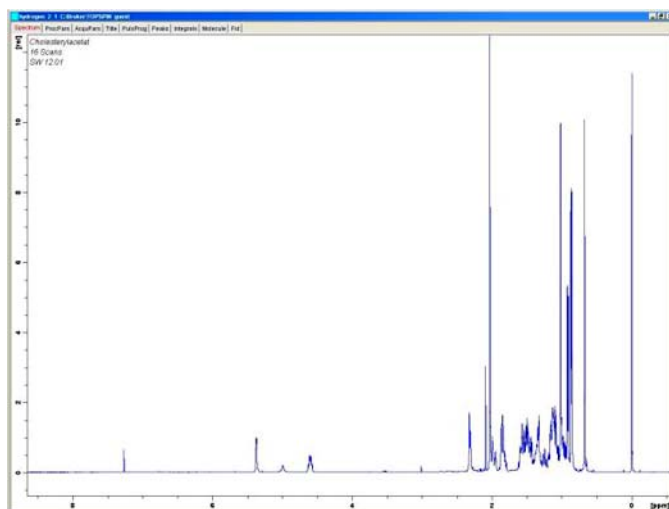


Figura 7.6: Espectro de protón del acetato de colesterilo

Dieciséis escaneos. SW = 11pm. Pico del TMS calibrado a 0 ppm.

7.10 Incremento del número de barridos

La relación señal / ruido de un espectro puede mejorarse acumulando señales. La mejora cuantitativa es proporcional a la raíz cuadrada del número de escanes., por ejemplo, 64 escanes incrementará la sensibilidad en un factor de 8, en comparación a un escán único, a costa de un incremento en el tiempo de adquisición. El número de escanes a realizar se ajusta por el valor asignado para NS.

1. Pulse el botón **EDC** o introduzca 'new'
2. Asigne el valor de "3" a EXPNO. El conjunto de datos actual es ahora "hidrogeno 3 1".
3. Pulse el tabulador AcqPars en la ventana de datos o introduzca 'eda' y ajuste NS a 64 (alternativamente introduzca 'ns' en la línea de comando y se le pedirá un valor para NS).
4. Pulse el botón **ACQUISITION** en la barra de herramientas superior o introduzca 'acqu' para ver la ventana de adquisición.
5. Pulse el botón **START ACQUISITION** en la barra de herramientas superior o introduzca 'zg'. Observe que en la ventana de adquisición se muestra ahora el progreso de los 64 escanes en tiempo real. También se muestra el tiempo residual del experimento.
6. Cuando se completa la adquisición, realice la transformación de Fourier y corrija la fase. El espectro mostrará ahora una mejoría (8 veces mejor) en la relación señal / ruido.

En este punto, el usuario puede querer explorar el programa SINO, que es muy útil para el cálculo automático de la relación señal / ruido. Aunque una descripción del programa SINO está fuera del alcance de este manual, este se describe en el Manual de referencia de procesamiento Topspin, disponible en el menú de ayuda.

La comparación de diversos espectros se realiza mejor utilizando la función Dual Display. Esta se describe también en el Manual de referencia de procesamiento Topspin. En este punto, el usuario puede querer explorar esta función.

8 La muestra en NMR

Cuando se investiga un **sólido** utilizando la técnica de RMN, las señales tienden a ser anchas, y no puede resolverse la estructura fina de las bandas, que son del mayor interés para los investigadores. Consecuentemente, las muestras sólidas normalmente se disuelven en un disolvente idóneo antes de la adquisición. Lo mismo ocurre con las **muestras líquidas**. En los disolventes orgánicos, pueden añadirse pequeñas cantidades de un compuesto de referencia. Sin embargo, para obtener los mejores resultados, la muestra debe ser tan pura como sea posible. Las señales de las **impurezas** pueden hacer el espectro innecesariamente complicado y enmascarar las señales genuinas. Debe ponerse un cuidado especial en asegurarse que la muestra este libre de **impurezas magnéticas**, ya que estas pueden distorsionar el campo magnético y por tanto degradar la resolución del espectrómetro. Las impurezas sólidas pueden eliminarse fácilmente por filtración. Para muestras en disolventes orgánicos, debe eliminarse el agua disuelta, todo lo posible, secando la muestra completamente, antes de su disolución.

8.1 Selección del disolvente

Una vez que la muestra se ha purificado y secado suficientemente, el paso siguiente es elegir un disolvente adecuado. Ya que el deuterio es de lejos el núcleo de referencia más popular, la muestra se disuelve normalmente en un disolvente deuterado (un disolvente deuterado es aquel, en el que una gran proporción, normalmente más del 99%, de los átomos de hidrógeno han sido sustituidos por deuterio). Los **disolventes deuterados** más comúnmente utilizados son benceno-d₆, acetona-d₆, y cloroformo-d, aunque hay muchos otros disolventes disponibles.

Los factores a considerar cuando se elige un disolvente son:

1. Solubilidad:

Claramente, cuanto más soluble es la muestra en el disolvente, mejor. Esto maximiza la cantidad de muestra en el volumen sensible lo que incrementa la sensibilidad del experimento. Una alta solubilidad es especialmente importante si se dispone únicamente de pequeñas cantidades de muestra.

2. Interferencias de las señales del disolvente con el espectro de la muestra:

El disolvente mismo producirá inevitablemente señales de RMN que pueden esconder regiones del espectro. Estos "picos residuales del disolvente" no deberían solapar con las señales de la muestra.

3. Dependencia de la temperatura:

Para experimentos por encima o por debajo de la temperatura ambiente, los puntos de fusión y ebullición de los disolventes son también factores importantes. Además, la solubilidad de las muestras varía dependiendo de la temperatura.

4. Viscosidad:

A menor viscosidad del disolvente, mejor resolución del experimento.

5. Coste:

Claramente, para RMN de rutina, donde es necesario analizar muchas muestras, el costo del disolvente es una consideración importante. Como regla empírica, el precio incrementa con el número de átomos deuterados.

6. Contenido en agua:

Casi todos los disolventes orgánicos contienen trazas de agua. Además, muchos son higroscópicos (absorben trazas de agua de la atmósfera) y por tanto, cuanto más tiempo están almacenados, más agua contienen. La presencia de un pico de agua (HDO) solo servirá para degradar la calidad del espectro de RMN. El nivel de agua en el disolvente puede reducirse ampliamente por filtración a través de un agente desecante o guardando el disolvente sobre tamiz molecular.

La elección del disolvente para una muestra en particular será el mejor compromiso entre las distintas ventajas y desventajas de cada uno de ellos. Para detalles exactos de los disolventes específicos, el lector deberá remitirse a un texto estándar de RMN.

8.2 Tubo de muestra

Cuando la muestra está siendo analizada, puede hacerse girar, dependiendo del tipo de sonda o experimento. **El giro** de la muestra tiene el efecto de anular la no homogeneidad del campo en la dirección X, y en la dirección Y, y por lo tanto mejorar la resolución espectral. Una desventaja del giro es que esto puede conducir a la presencia de **bandas laterales de rotación**. Estas son señales falsas (esto es, picos) que resultan de la modulación del campo magnético a la frecuencia de giro. Los picos siempre aparecen a ambos lados de cualquier pico original importante, a una separación igual a la de la velocidad de giro. La intensidad de estas bandas laterales será proporcional a la intensidad de los picos originales. Así, si la velocidad de giro es de 20 revoluciones / segundo (=20 Hz), deberíamos buscar las bandas laterales de rotación a frecuencias de 20 Hz por encima y por debajo de la frecuencia de resonancia de la señal original.

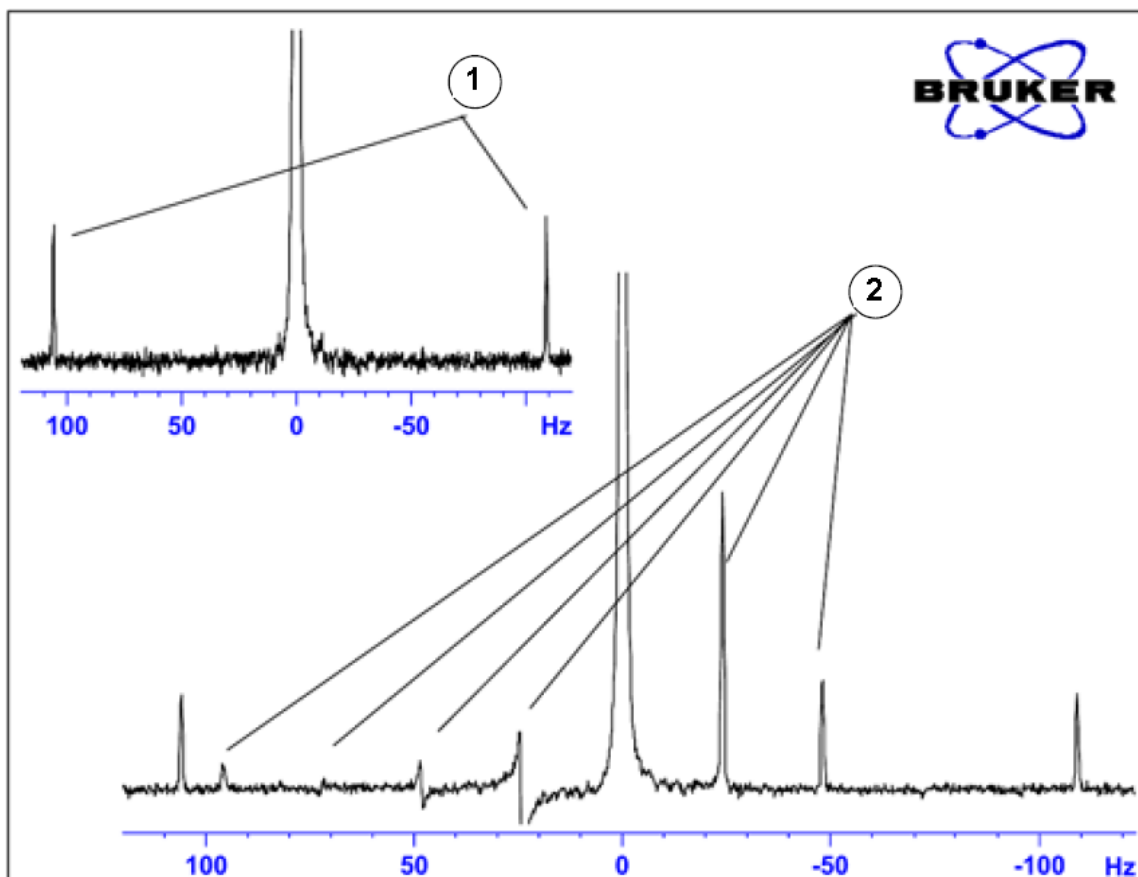


Figura 8.1: Espectro mostrando las bandas laterales de rotación

1.	¹³ C Satellites	2.	Spinning Sidebands
----	----------------------------	----	--------------------

Mientras que la presencia de bandas laterales de rotación puede ser inevitable, su tamaño a menudo depende de la calidad del tubo de muestra. Idealmente, el tubo de muestra debe tener una simetría cilíndrica perfecta. Bandas laterales inusualmente grandes, pueden sugerir que la **simetría del tubo** es inadecuada y pueden justificar el uso de tubos de unas especificaciones mejores (y desde luego de un mayor costo).

Los tubos de muestra siempre deben mantenerse limpios y libres de polvo y arañazos. No limpie los tubos con escobillas de limpiar tubos de ensayo. No suponga que los tubos de RMN nuevos tienen que estar limpios. Los tubos pueden limpiarse lavándolos con acetona o agua destilada. Puede usarse detergente líquido siempre que se enjuaguen durante unos minutos para evitar restos en el tubo. Los tubos también pueden limpiarse con ultrasonidos en una solución adecuada. Si fallan todas las medidas anteriores, los tubos pueden dejarse en remojo en AGUA REJIA durante un tiempo de hasta dos días y luego enjuagarlos abundantemente antes de secarlos. Los tubos de RMN pueden secarse en una estufa, pero no deben calentarse por encima de 100°C, ya que pueden deformarse y en consecuencia no girar como corresponde. El secado se consigue mejor pasando nitrógeno filtrado a través del tubo.

8.3 Manipulación de muestra

Es una buena práctica filtrar las soluciones de RMN directamente en el tubo de muestra, para mantener la solución libre de polvo y otras contaminaciones. Posibles filtros idóneos son el algodón, la fibra de vidrio* y la celita. ¡Recuerde que los tubos de muestra se tienen que sostener siempre por la parte superior!

Un procedimiento normal puede ser el siguiente:

1. Para una muestra sólida, utilizando un tubo de 5mm, disolver hasta 20 mg de muestra en alrededor de 0.6 cm^3 del disolvente elegido (para tubos de 10mm disolver 80 mg en 2.5 cm^3). Normalmente, para muestras líquidas y cuando se observe protón, disolver un 20% de muestra en un 80% de disolvente deuterado.
2. Añadir una pequeña cantidad ($\sim 0.1\%$) del compuesto de referencia Tetrametilsilano (TMS). Asegúrese de que la señal del TMS es menor que la señal más intensa de la muestra o del disolvente (de otro modo se pierde la relación señal –ruido, debido a la baja ganancia del receptor).
3. Filtre la solución en el tubo de muestra, a través de una pipeta Pasteur que contenga un relleno de lana de vidrio previamente secada en una estufa.
4. Filtre 0.2 cm^3 de solución, a través del filtro, en el tubo. La solución resultante debería tener una profundidad de tres o cuatro centímetros.
5. Cierre el tubo con un tapón, selle la parte superior con parafilm para reducir la evaporación y etiquete el tubo cerca de su parte superior. Tenga cuidado en asegurar que el tapón, el parafilm y la etiqueta estén concéntricos o de otro modo afectarán adversamente al giro de la muestra.

La inserción de la muestra en el rotor se describirá en la sección Insertar una muestra en el rotor [▶48].

*Tenga en cuenta que pueden surgir algunos problemas usando fibra de vidrio, cuando quiere medirse T_1 .

9 Espectro de ^{13}C sin desacoplamiento

Este capítulo describirá el análisis de una muestra de acetato de colesterilo para carbono. En primer lugar se usará el programa de pulsos "zg30", que no utiliza desacoplamiento. En el capítulo siguiente se describirá un experimento de estudio de carbono con desacoplamiento de protón que es mucho más idóneo. Sin embargo, para principiantes vale la pena realizar la adquisición sin desacoplamiento para ayudarles a comprender las ventajas del desacoplamiento. Si solo quiere obtener un espectro, pase al siguiente capítulo (después de realizar las etapas 1-4 siguientes). Si el imán tiene puesta una sonda que no es adecuada para observar carbono, es necesario cambiarla. El procedimiento para cambiar la sonda se indicó en la sección Cambio de la sonda [▶41], pero debe consultar con el responsable del sistema antes de realizarlo.

9.1 Procedimiento

1. Sustituya la muestra de 100 mg de acetato de colesterilo CDCl_3 , utilizada en la sección anterior, por una de 1 g de muestra en el mismo disolvente. La RMN es menos sensible para carbono que para protón, de modo que es aconsejable utilizar una muestra más concentrada.
2. La introducción de la nueva muestra provocará la pérdida de la referencia. Referencie la nueva muestra según se indicó en la sección Procedimiento para referenciar la muestra [▶56].
3. Reajuste las bobinas de homogeneización Z y Z^2 hasta optimizar el nivel de referencia (ver la sección Homogeneización de rutina [▶59]).
4. Si todavía no se ha realizado, sintonice y ajuste la sonda para observar ^{13}C según se indicó en la sección Sintonización y ajuste de la impedancia de la sonda [▶50].
5. Utilice el botón **EDC** o el comando 'new' para crear un nuevo juego de datos, por ejemplo carbon 1/1.
6. Lea el conjunto de parámetros C13CPD con el comando "rpar C13CPD all".
7. Introduzca 'edasp', ajuste el Canal F1 a ^{13}C , y ajuste todos los demás canales a "off".
8. Pulse el tabulador AcqPars en la ventana de datos o introduzca 'eda' y ajuste los valores de los parámetros como se muestra en la siguiente tabla. Puede usar los comandos "as" o "ased" para comprobar convenientemente si se han ajustado los parámetros correctamente.
9. Lea en el archivo 'prosol' usando el comando 'getprosol'.
10. Introduzca 'rga' para ajustar una ganancia del receptor (RG) adecuada.
11. Adquiera la FID pulsando el botón **START ACQUISITION** o introduzca 'zg'.
12. Introduzca 'si' y cuando se lo pida introduzca el valor de 8k.
13. Introduzca 'ft'.
14. Corrija la fase del espectro utilizando el ratón y guarde la corrección. Tenga en cuenta que la corrección de fase guardada, para el espectro de protón, no debe usarse para el espectro de carbono. Sin embargo, una vez que se ha corregido la fase para el espectro de ^{13}C , esta puede usarse para los siguientes espectros de ^{13}C . Alternativamente, introduzca 'apk' para

corregir la fase automáticamente.

El espectro resultante probablemente tiene mucho ruido y posiblemente muestre ningún pico o solo un pico significativo. Este pico más intenso proviene del cloroformo usado como disolvente. Expandir el espectro alrededor de este pico y verá que la señal del cloroformo es realmente un triplete debido a su acoplamiento con el deuterio (A diferencia de los protones, que tienen un espín de $1/2$, el deuterio tiene un espín de 1 , lo que conduce a diferentes desdoblamientos).

- Si la señal del CDCl_3 es visible, calibre el pico central del triplete a 77 ppm. De hecho, esto es equivalente a calibrar el pico del TMS a 0 ppm, pero el pico del TMS ahora ya no es visible.

Ahora, el usuario puede decidir que el ruido del espectro puede reducirse significativamente, aumentando el número de escaneos.

- Cree el conjunto de datos "carbón/2/1".
- Ajuste NS a 8, 16, 32 ó 64 u otro múltiplo de 16.
- Adquiera la FID, realice la transformación Fourier y corrija la fase.

Parámetro	Valor	Comentario
Pulprog	zg30	Comparables a los de espectro de protón previos.
TD	16k	
NS	16	
DS	0	
d1	2s	
SW	250ppm	
O1P	100ppm	
RG	8k	El espectro de carbono cubre un rango mayor que el espectro de ^1H .
P1	-	Este es el valor sugerido, que posteriormente puede optimizarse. El valor de desplazamiento normalmente utilizado en los conjuntos de parámetros estándar de carbono es de 100 ppm.
pl1	-	Alternativamente puede usar el comando "rga" para ajustar la ganancia del receptor.

Tabla 9.1: Valores de los parámetros "eda"

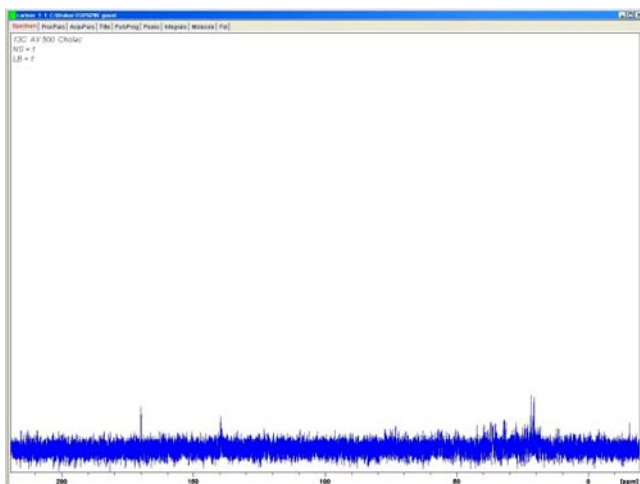


Figura 9.1: Espectro de ^{13}C del acetato de colesterilo. Un escaneo. Sin desacoplamiento

La siguiente figura es un espectro de ^{13}C típico del acetato de colesterilo, después de 96 escaneos.

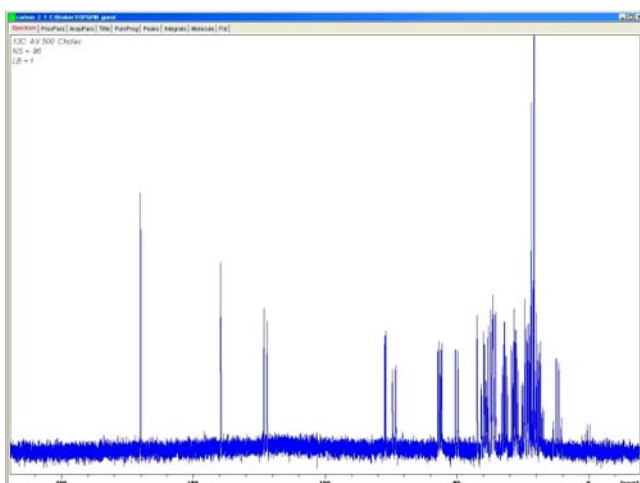


Figura 9.2: Espectro de ^{13}C del acetato de colesterilo. 96 escaneos. Sin desacoplamiento

El escaneo repetido, ciertamente incrementa drásticamente el número de picos significativos, pero el espectro todavía tiene demasiado ruido. El usuario, también puede ahora optimizar SW y la frecuencia observada utilizando la función SW-SFO1 descrita en la sección Ajuste de la anchura espectral con la función SW-SFO1 [► 87].

El paso siguiente no es incrementar el número de escaneos, sino más bien desacoplar las señales de ^{13}C de los protones. Esto se describe en el capítulo siguiente.

10 Espectro de ^{13}C con desacoplamiento

La descripción siguiente permite el uso del conjunto de parámetros estándar titulado C13CPD, que está específicamente diseñado para observar carbono mientras se desacoplan protones utilizando una secuencia CPD (Composite Pulse Decoupling) (Desacoplamiento de pulso compuesto). Se usará el canal 1 para transmitir un pulso de observación de carbono mientras que el desacoplamiento de protón se transmitirá por el canal 2, antes, durante y después de la adquisición. Una característica del programa de pulsos es que la potencia de desacoplamiento se ajusta inmediatamente antes del pulso de observación. Los detalles se incluyen en el programa de pulsos "zgpg30" que se describe en la sección Programa de pulso zgpg30 [102].

Los principales pasos a seguir son:

1. Establecer un nuevo conjunto de datos.
2. Leer el conjunto de parámetros estándar "C13CPD".
3. Establecer y ajustar la frecuencia de desacoplamiento.
4. Ajustar los parámetros "pl12", "pl13", y "pcpd2".

10.1 Procedimiento

1. A partir del conjunto de datos "carbon 2/1" cree un nuevo conjunto de datos "carbon /3/1". Así se asegura que se mantiene la frecuencia de compensación (offset) 01 del conjunto de datos "carbon 2/1". Si el valor de 01P no es de 100 ppm, debe anotar su valor, ya que si no, el conjunto de parámetros estándar C13CPD ajustará automáticamente la compensación (offset) a 100 ppm. Si no está empleando la rutina "prosol", anote también el valor de "pl1" y "p1" ya que también se sobrescribirán.
2. Introduzca '`rpar C13CPD all`' y cuando se le solicite haga click en "**acqu**".

La característica principal del conjunto de parámetros estándar C13CPD es que "edasp" se ajustará del siguiente modo:

Channel F1 = ^{13}C

Channel F2 = ^1H

También se cargará el programa de pulsos zgpg30 ya que forma parte de C13CPD. Este se explica en la sección Programa de pulso zgpg30 [102]. Su explicación se ha diferido al final del capítulo para no cortar el desarrollo del procedimiento. Si no está familiarizado con el programa debería remitirse a él, ahora.

Los principales parámetros a ajustar son "p1" y "pl1" para el pulso de observación junto con la frecuencia de desacoplamiento SF02, los niveles de potencia de desacoplamiento "pl12" y "pl13" y la duración del pulso pcpd2. Los valores de "p1" y "pl1" se han establecido ya en el experimento descrito en el capítulo anterior. Como establecer el valor SFO2 se describirá en la sección siguiente.

10.2 Establecimiento de la frecuencia de desacoplamiento

1. Abra '**hidrogeno 2 1**' pulsando en el archivo en el buscador del lado izquierdo de la ventana de Topspin.

Esto llama al conjunto de datos "hydrogen/2/1" que será similar al espectro de la Figura 7.7. Si ignoramos los picos producidos por el TMS y el cloroformo utilizado como disolvente, está claro que todas las señales de protón están comprendidas en la región de 0.5 - 5.5ppm. Por lo tanto, puede decidir centrar la frecuencia de desacoplamiento a 3 ppm. Únicamente tenga en cuenta que la naturaleza del desacoplamiento CPD es tal que se desacoplan un rango de señales de protón y por tanto es suficiente centrar la frecuencia de desacoplamiento en la región correcta, en comparación con la frecuencia exacta. El conjunto de parámetros estándar C13CPD ajustará "O2" a 4 ppm. Debe tener en cuenta, que solo se corregirán los valores ppm, si ha calibrado correctamente el espectro de protón, asignando al pico del TMS del valor de 0 ppm, según se describe en la sección Calibración del espectro [►85].

2. Abra '**carbón 3 1**' pulsando en el archivo en el buscador del lado izquierdo de la ventana de Topspin y ajuste 'O2P' en la tabla de parámetros de adquisición a 3 ppm.
3. Pulse el tabulador AcqPars en la ventana de datos o introduzca '**eda**' y ajuste los parámetros como se indica en la tabla siguiente.

Puede usar los comandos "**as**" o "**ased**" para comprobar adecuadamente que los parámetros se han ajustado correctamente.

4. Utilice el botón **START ACQUISITION** o introduzca '**zg**' para comenzar la adquisición.
5. Transforme y corrija la fase.

Parámetro	C13CPD Valor de parámetro ajustado	Nuevo valor	Comentario
PULPROG	zgpg30	zgpg30	Para una descripción de este programa de pulsos ver la sección 10.4
TD	65536	64k	No crítico. 64K es bastante grande.
NS	1K	96	1K es demasiado alto. Redúzcalo a 8.
DS	2	2	
SW	238 ppm	238 ppm	El carbono cubre un amplio rango espectral y es poco importante reducirlo en este momento.
O1P	100 ppm	-	Esta frecuencia se corresponde con la SFO1 de "carbon2/1" y puede ser necesario ajustarla.
O2P	4 ppm	3 ppm	No es crítico, ya que CPD desacopla alrededor de una cierta región.
p1	14 μ	-	El parámetro "p1" es el valor de un pulso de excitación de 90 grados y una pulso de duración p1*0.33, es el pulso utilizado en el programa zgpg30. Utilice el valor previamente ajustado en "carbon 2/1" o introduzca 'getprosol'.
pl1	0 W	-	Ajuste el valor previamente usado en "carbon 2/1" o introduzca 'getprosol'.
pl12	0 W	-	Debe consultar con el responsable del sistema como ajustar "pl12" o usar el comando "getprosol". Ver también la sección Ajuste de los parámetros de desacoplamiento [►101].

Parámetro	C13CPD Valor de parámetro ajustado	Nuevo valor	Comentario
pl13	0 W	-	Consulte con el responsable del sistema sobre como ajustar "pl12" o use el comando "getprosol". Ver también la sección Ajuste de los parámetros de desacoplamiento [101].
d11	30 ms	30 ms	
D*array*	d1=2	2 s	No crítico.

Tabla 10.1: Los parámetros eda después de cargar el conjunto de parámetros estándar C13CPD

La siguiente figura es un ejemplo de un espectro desacoplado. Observe que ahora no es visible el pico del TMS a 0 ppm.

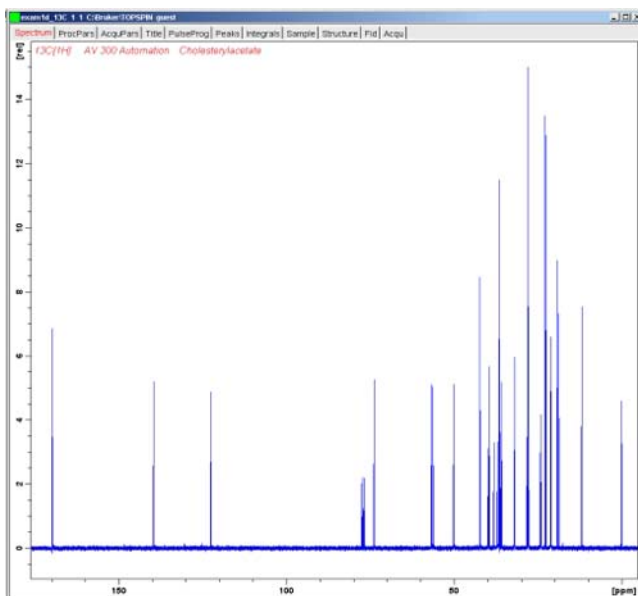


Figura 10.1: Espectro de ^{13}C del acetato de colesterol. 256 escanes con desacoplamiento.

Observe también, el gran incremento de la relación señal / ruido. El efecto del desacoplamiento es tan espectacular, que raramente cualquier usuario experimentado pierde tiempo realizando un espectro de ^{13}C sin desacoplamiento.

10.3 Ajuste de los parámetros de desacoplamiento

La calidad del desacoplamiento depende de dos factores:

1. La frecuencia de desacoplamiento ajustada para SF02.
2. La potencia de la secuencia de desacoplamiento ajustada por pl12 y pl13.

Ahora, el usuario puede querer comprobar el efecto de cambiar los valores asignados a estos dos parámetros. Por ejemplo, ajustar la frecuencia de desacoplamiento a valores tales como 3, 8, 13 ppm por encima del TMS. Observar también el efecto de ajustar "pl12" y "pl13" a distintos valores comprendidos entre 10 y 20 dB. Normalmente "pl13" se ajusta 3 dB por encima de "pl12" para mantener NOE. Consulte con un usuario experimentado antes de ajustar "pl12" o "pl13" a un valor por debajo de 5 dB, ya que esto puede sobrecalentar la sonda.

10.4 Programa de pulso zgpg30

Pulsando el tabulador PulsProg en la ventana de datos o introduciendo el comando '`edcpul`', puede verse en la pantalla una copia del programa de pulsos (mostrado en la Figura 10.2) Para la descripción que se da a continuación, a cada línea del programa se le ha asignado un número que realmente no aparece en la pantalla de Topspin sin embargo, el programa de pulsos puede mostrarse haciendo clic en tab PulProg.

Las primeras cuatro líneas son ejemplos de comentarios. La línea 1 da simplemente el nombre del programa de pulsos y la línea 2 la versión. La línea 3 sugiere que este programa de pulsos es idóneo para experimentos de RMN 1-D desacoplados y la línea 4 recuerda al usuario, que en lugar de un pulso de excitación de 90 grados, el programa está diseñado para usar un pulso de 30 grados (y de ahí el nombre del programa).

Línea 13/14

Estas líneas no son un comentario, sino más bien una inclusión estándar en relación con el texto de programación de pulsos definido en archivos distintos.

Líneas 17 and 20

Los dos retardos (delays) "d11" y "DELTA" que se explican al final de programa de pulsos se ajustan aquí a los valores de 30 m y d1-100m respectivamente. El conjunto de parámetros estándar C13CPD se ajusta a los mismos valores.

Línea 23: 1 ze

Esta línea no está precedida por un punto y coma y es realmente la primera línea propia del programa. Se puede numerar cualquier línea dentro de un programa para facilitar bucles y esta se numera naturalmente como línea 1. El comando "ze" (cero) es un comando que provoca que cualquier dato actualmente en memoria se sustituya por los datos adquiridos en el primer escán. Los datos que se adquieren en los escanes siguientes se sumarán a los que ya están en memoria. El comando "ze" borra efectivamente, o pone a cero, la memoria para prepararla para los datos que se adquieren durante un experimento.

Línea 24:d11 pl12:f2

Esta ajusta el nivel de potencia de desacoplamiento en el canal F2 al valor asignado a "pl13". El retardo "d12" asegura que hay tiempo suficiente para ajustar la potencia antes de comenzar el desacoplamiento.

Línea 25:2 30m do:f2

Esta línea está indicada como línea 2 del programa de pulsos e inicia un bucle (loop). La primera etapa de este bucle es una apagado del desacoplamiento durante 30 ms.

Línea 26:10u pl13:f2

Ajusta el nivel de potencia para el segundo desacoplamiento en el canal F2 a el valor asignado para "pl13". El retardo de "10 μ " asegura que hay tiempo suficiente para ajustar la potencia antes de comenzar el desacoplamiento.

```

zpgp30 (Bruker)
File Edit Search
Graphical Edit
1 ;zpgp30
2 ;avance-version (03/04/17)
3 ;1D sequence with power-gated decoupling
4 ;using 30 degree flip angle
5 ;
6 ;$CLASS=HighRes
7 ;$DIM=1D
8 ;$TYPE=
9 ;$SUBTYPE=
10 ;$COMMENT=
11
12
13 #include <Avance.incl>
14 #include <Delay.incl>
15
16
17 "d11=30m"
18
19
20 "DELTA=d1-100m"
21
22
23 1 ze
24 d11 p112:f2
25 2 30m do:f2
26 10u p113:f2
27 d11 cpd2:f2
28 DELTA
29 4u do:f2
30 10u p112:f2
31 100m cpd2:f2
32 p1*0.33 ph1
33 go=2 ph31
34 30m do:f2 p113:f2 mc #0 to 2 F0(zd)
35 exit
36
37
38 ph1=0 2 2 0 1 3 3 1
39 ph31=0 2 2 0 1 3 3 1
40
41
42 ;p11 : f1 channel - power level for pulse (default)
43 ;p112: f2 channel - power level for CPD/BB decoupling
44 ;p113: f2 channel - power level for second CPD/BB decoupling
45 ;p1 : f1 channel - 90 degree high power pulse
46 ;d1 : relaxation delay; 1-5 * T1
47 ;d11: delay for disk I/O [30 msec]
48 ;NS: 1 * n, total number of scans: NS * TD0
49 ;cpd2: decoupling according to sequence defined by cpdprg2
50 ;pcpd2: f2 channel - 90 degree pulse for decoupling sequence
51
52
53
54

```

Figura 10.2: El programa de pulsos “zpgp30”

Línea 27:d11 cpd2:f2

Esta línea inicia la secuencia de desacoplamiento definida por el programa “cpdprg2” en la tabla “eda”. Una comprobación rápida de la tabla “eda” revela que el conjunto de parámetros estándar ha ajustado cpdprg2 a waltz16. El desacoplamiento continuará con un nivel de potencia “p13” y una duración “d11”.

Línea 28:DELTA

Se inicia un retardo de la relajación de d1 – 100m para equilibración.

Línea 29:4μ do:f2

Apagado del desacoplamiento durante 4 μ.

Línea 30: 10μ p112:f2

Para preparar el desacoplamiento durante el pulso de excitación y la adquisición, el nivel de potencia del canal F2 se ajusta a “p12”. De nuevo, se incluye un retardo de 10 μ para facilitar el ajuste del nivel de potencia.

Línea 31: 100m cpd2:f2

Esta línea inicia la secuencia de desacoplamiento definida por el programa “cpdprg2” en la tabla “eda”. Una comprobación rápida de la tabla “eda” revela que el conjunto de parámetros estándar ha ajustado cpdprg2 a waltz16. El desacoplamiento continuará con un nivel de potencia “pl11” y una duración de 100 ms.

Línea 32: p1*0.33 ph1

Esta línea es un pulso de excitación estándar de 30 grados y se explicó en Detalles del programa “zg30” [▶105]. La diferencia ahora, es que el pulso se emite a la frecuencia de carbono y no a la frecuencia de protón. Acordemente la duración del pulso será diferente.

Línea 33: go=2 ph31

De nuevo, esta línea estándar se explicó en la sección Detalles del programa “zg30” [▶105].

Línea 34: 30m do:f2 pl13:f2 mc #0 to 2 F0(zd)

Ver la sección Detalles del programa “zg30” [▶105].

Línea 35: EXIT

11 Programas de pulsos / Comandos as/ased

11.1 Los Programas de pulsos “zg” y “zg30”

Como se ha mencionado en la sección de parámetros de adquisición (Parámetros básicos de adquisición: La tabla “eda” [p. 68]), los programas de pulsos se usan para definir la secuencia de pulsos con que se va a excitar la muestra. Un espectrómetro AVANCE AV nuevo, ya tiene instalada una “librería” de programas de pulsos estándar. Puede visualizar la lista de programas de pulsos instalada introduciendo el comando ‘`edpul`’. Desplácese a través de la lista hasta encontrar el programa “zg30”. Haga clic en “zg30” y se mostrará el programa reproducido en la Figura 11.1.

Una descripción detallada de la programación pulsos escapa del alcance de este manual, si bien algunos comentarios sobre el programa “zg30” pueden ayudar al usuario a comprender que parámetros son importantes y por qué. Un experimento estándar 1-D usaría un pulso de 90 grados para excitar la señal de resonancia para maximizar la señal emitida. Sin embargo, esto también maximiza el tiempo que debe transcurrir entre pulsos sucesivos para que la muestra relaje. Esto se puede ver en el caso de excitación repetida de la muestra, el método más eficaz es excitar la muestra con un pulso de 30 grados y reducir acordeamente el retardo (delay) de relajación. Aunque cada señal individual emitida es más débil, la mayor acumulación de datos que permite el pulso de 30 grados resulta en un incremento general de la sensibilidad. Los dos programas estándar son “zg” para un pulso de excitación de 90 grados y “zg30” para uno de 30 grados. Para una información más detallada de la nomenclatura convencional utilizada para los niveles de potencia, pulsos, retardos (delay) y contadores de bucle (loop) en todas las series de programas de pulso de Bruker remítase al archivo de texto **\$TopspinHome/exp/stan/nmr/lists/pp/Param.info**. Para una información más detallada de la nomenclatura convencional utilizada en los nombres de los programas de pulsos de Bruker, remítase al archivo:

\$TopspinHome/exp/stan/nmr/lists/pp/Pulprog.info.

Finalmente un archivo útil para comprobar los cambios en el último software publicado es:

\$TopspinHome/exp/stan/nmr/lists/pp/update.info.

\$TopspinHome representa el nombre del directorio en el que está instalado el programa Topspin (C:\Bruker\Topspin para Windows y /opt/Topspin para Linux).

11.2 Detalles del programa “zg30”

Cualquier entrada en un programa de pulso que esté precedida por un punto y coma es simplemente un comentario incluido para ayudar al usuario. El compilador del programa ignorará el contenido de cualquier línea que comience por punto y coma. Para la descripción que se da a continuación, a cada línea del programa “zg30” se le ha asignado un número que sin embargo no aparecerá en la pantalla de Topspin cuando se visualiza el programa de pulsos.

Las primeras cuatro líneas son ejemplos de comentarios. La línea 1 da simplemente el nombre del programa de pulsos y la línea 2 la versión. La línea 3 sugiere que este programa de pulsos es idóneo para experimentos de RMN 1-D y la línea 4 recuerda al usuario, que en lugar de un pulso de excitación de 90 grados, el programa está diseñado para usar un pulso de 30 grados (y de ahí el nombre del programa).

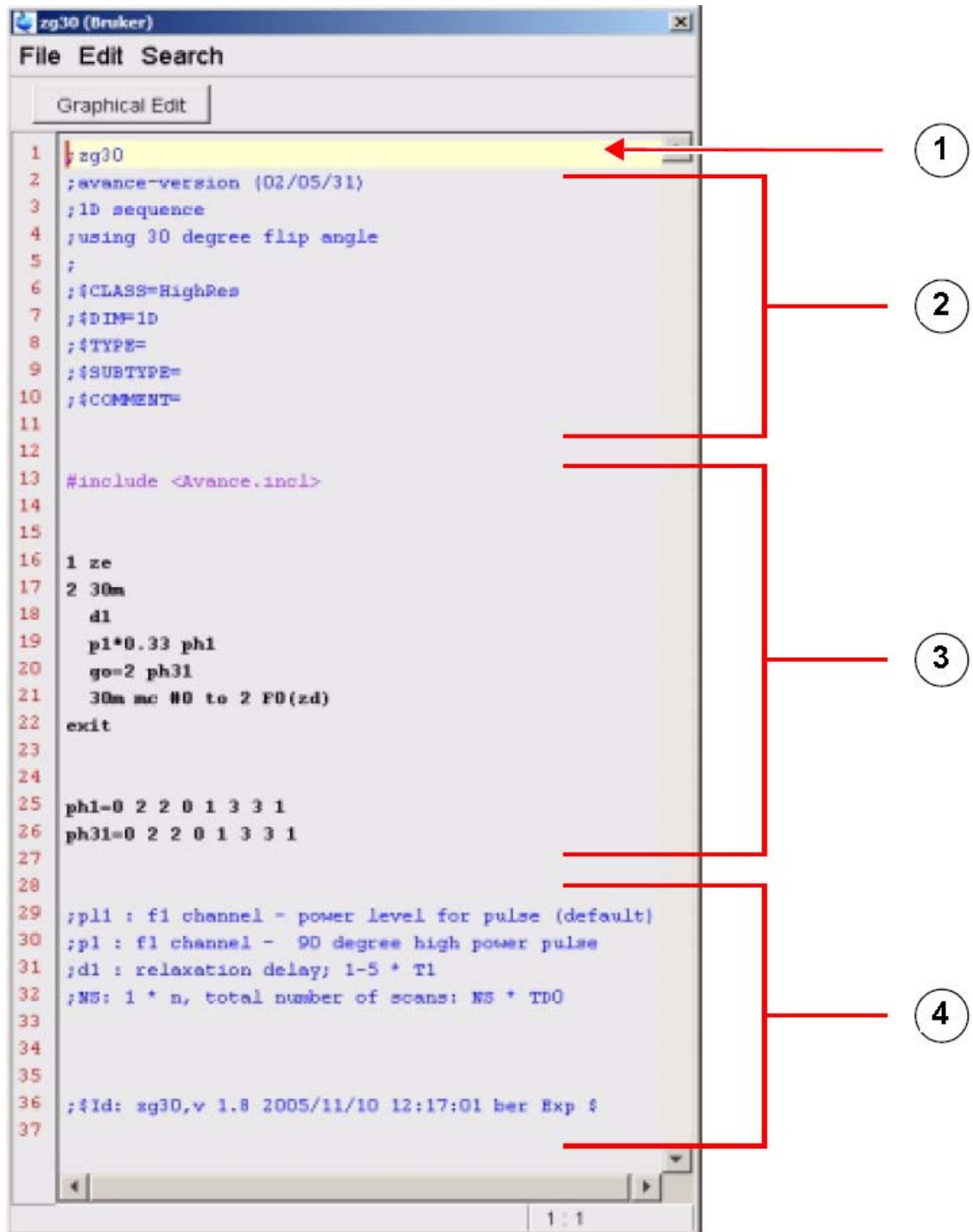


Figura 11.1: El programa de pulsos “zg30 “

1.	Título	3.	Programa de pulsos real
2.	Comentarios	4.	Comentarios

La línea 13 no es un comentario, sino más bien una inclusión estándar en relación con el texto de programación de pulsos definido en archivos distintos.

Línea 16: 1 ze - Esta línea no está precedida por un punto y coma y es realmente la primera línea propia del programa. Se puede numerar cualquier línea dentro de un programa para facilitar bucles y esta se numera naturalmente como línea 1. El comando "ze" (cero) es un comando que provoca que cualquier dato actualmente en memoria se sustituya por los datos adquiridos en el primer escán. Los datos que se adquieren en los escanes siguientes se sumarán a la memoria. El comando "ze" borra efectivamente, o pone a cero, la memoria para prepararla para los datos que se adquieren durante un experimento.

Línea 17: 2 30m - hay una según línea de inicio de programa con un retardo de 30 minutos.

Línea 18: 2 d1 - Esta línea es un comando de retardo (delay). El retardo se denomina "d1". Un retardo es simplemente una pausa durante la que no se transmiten pulsos. La duración de d1 puede especificarse introduciendo un valor adecuado en la tabla de retardos del menú "eda".

Línea 19: p1*0.33 ph1 - El comando p1*0.33 da instrucciones al espectrómetro para emitir un pulso de una duración p1 multiplicada por 0.33. Este es el pulso de excitación de 30 grados, ya que convencionalmente p1 es un pulso de excitación de 90 grados. Cualquier pulso tiene tres características principales 1) duración, 2) amplitud, y 3) fase.

La **longitud (length)** o la duración de un pulso puede ajustarse introduciendo un valor adecuado de p1 en la tabla de retardos del menú "eda".

La **amplitud (amplitude)** del pulso se refiere a menudo como el nivel de potencia. En este caso, no se ha especificado la potencia, por lo que el espectrómetro asignará el valor, por defecto, de p1. El valor de "p1" puede ajustarse introduciendo un valor adecuado en la tabla de retardos del menú "eda".

También debe mencionarse, que cuando no se ha especificado canal para un pulso en particular, el pulso se envía automáticamente al canal de observación (esto es el canal F1). La línea 19 también asigna la **fase** del pulso con el comando "ph1".

Línea 20: go=2 ph31 - este único comando inicia una serie de procesos que incluyen la apertura del receptor y la digitalización de las señales de RMN. Cuando se ha completado la adquisición, esto es, después que se han digitalizado los puntos TD, el programa hace un bucle hacia atrás a la línea que comienza "2", que es la línea 17. El proceso completo se repite NS veces (asumiendo que DS=0). Si NS=8 entonces, las líneas 17, 18, y 19 se enlazarán 8 veces. La línea 19 también ajusta la fase del receptor con el comando ph31.

La necesidad del retardo "d1" en la línea 18 es ahora más aparente. La excitación de una muestra de RMN con una serie de pulsos y un retardo de relajación insuficiente provoca su saturación. En otras palabras, que absorba más energía que la que puede liberar. Para dar tiempo a la muestra a liberar más energía, el retardo "d1" precede a cada pulso. Esto se refiere a como permitir a la muestra tiempo de relajación suficiente.

Línea 21: 30m mc#0 to 2 F0(zd) - Este comando da instrucciones al ordenador para guardar, en el disco duro, los datos adquiridos. Los datos se guardan en el conjunto de datos actual definido por los parámetros NAME, PROCNO, EXPNO, etc.

Línea 22: Exit - Este comando le indica al ordenador que ha finalizado el programa de pulsos.

Líneas 25 and 26: Estas dos líneas definen la secuencia de ciclado de fase del transmisor (ph1) y del receptor (ph31).

La descripción anterior se incluye para dar al usuario una idea de los parámetros que deben ajustarse cuando se ejecuta el programa de pulsos "zg30", esto es "d1", "p1", y "pl1". Observe que las últimas tres líneas del programa de pulsos son comentarios que se usan para explicar al usuario el significado de estos tres parámetros. El valor exacto asignado a "p1", "d1", y "pl1" dependerá de la muestra a analizar y del tipo de sonda utilizada.

El usual programa de pulsos titulado "zg", es idéntico a "zg30" excepto en que se transmite un pulso de 90 grados en lugar de un pulso de 30 grados.

La Figure 11.1 es una representación gráfica del programa de pulsos "zg", con NS=4 y DS = 0.

En este punto, el lector debe ya haber adquirido unos conocimientos básicos de los principales elementos involucrados en la adquisición. El resto de este manual tratará de explicar paso a paso como se adquiere realmente un espectro.



Figura 11.2: El programa pulso “zg” donde $NS=4$ y $DS=0$

11.3 Comandos “as” y “ased”

Ahora que ya está más familiarizado con el software de adquisición, y con algún programa de pulsos básico puede ser oportuno introducir un comando adicional: ‘ased’. El comando se puede usar para ajustar los parámetros de adquisición para un programa de pulsos en particular, por ejemplo pulsos, retardos, etc.

El comando remite al programa de pulsos actual, esto es el programa introducido por el comando PULPROG en la tabla “eda”. Habiéndose asegurado de que el programa de pulsos actual es “zg30”, elija el tabulador „AcquPars“ de la ventana de datos y pulse el botón **PULSE PROGRAM**.

La pantalla cambia a una tabla tipo “eda”. Sin embargo, observe, que la tabla “eda” presenta series completas de retardo y pulsos y que la tabla “ased” contiene simplemente “p1” y “d1”. Esto es debido a que el programa de pulsos “zg30” no utiliza otros pulsos o retardos. Los parámetros de la tabla “ased” pueden ahora modificarse para adecuarlos al experimento. Cualquier cambio que se realice aquí se traspasará a la tabla “eda”. Haga click en SAVE para volver a la tabla „AcquPars“. Por lo tanto “ased” es un comando útil, ya que concentra todos los parámetros relevantes para un experimento específico.

Finalmente, no olvide que puede ajustar cualquier parámetro individual directamente desde la línea comando de Topspin. Esto es particularmente útil cuando se necesita una “sintonización fina” para un experimento.

12 Resolución de problemas básicos

En una guía para principiantes, no es factible describir un nivel avanzado de resolución de problemas. Sin embargo, todos los usuarios deben ser capaces de ejecutar, al menos, el encendido y apagado del sistema completo.

En caso de producirse algún problema con el ordenador, debería también conocerse, porque el PC controla el servidor DHCP (que es el responsable del direccionamiento de red y de la mayoría de las tarjetas) del Sistema Operativo Diskless de IPSO.

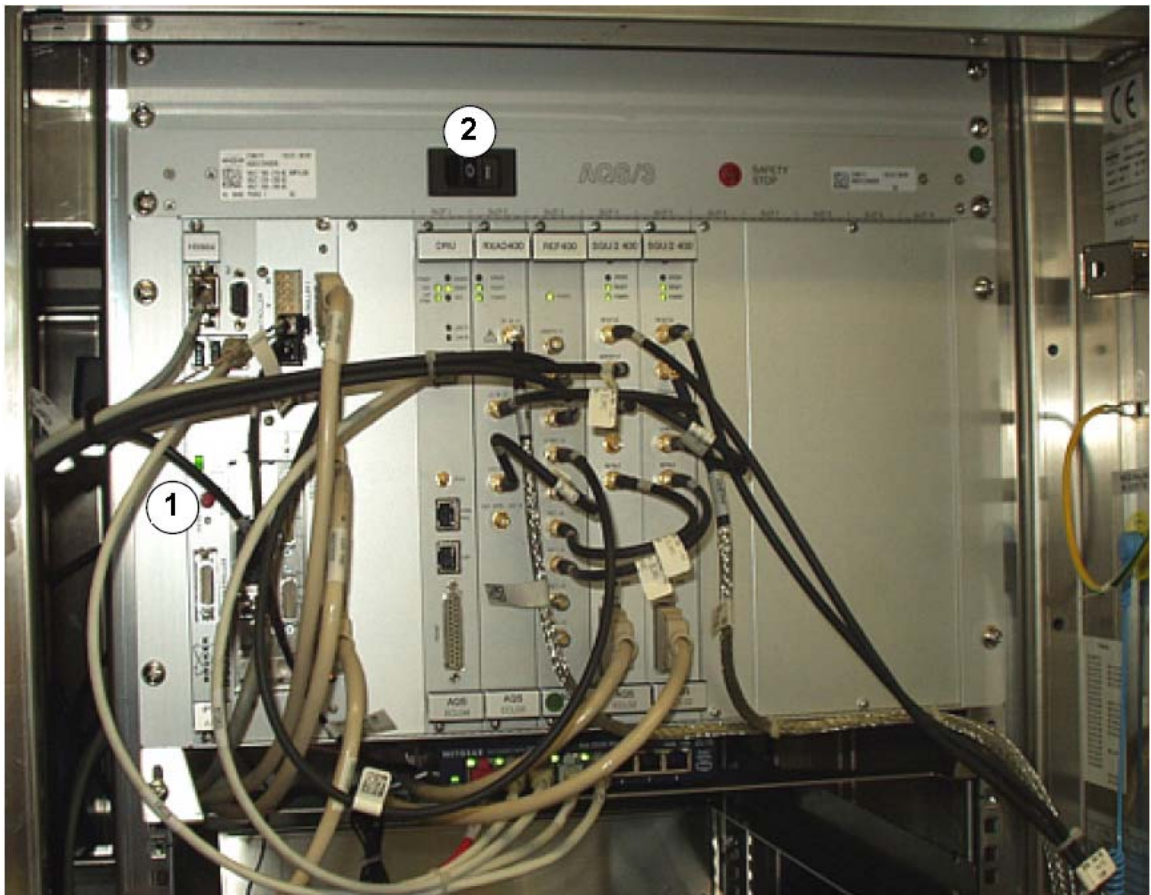


Figura 12.1: Localización de los interruptores de corriente en la consola, AQS e IPSO

1.	Interruptor de las cañerías IPSO	2.	Interruptor de las cañerías AQS
----	----------------------------------	----	---------------------------------

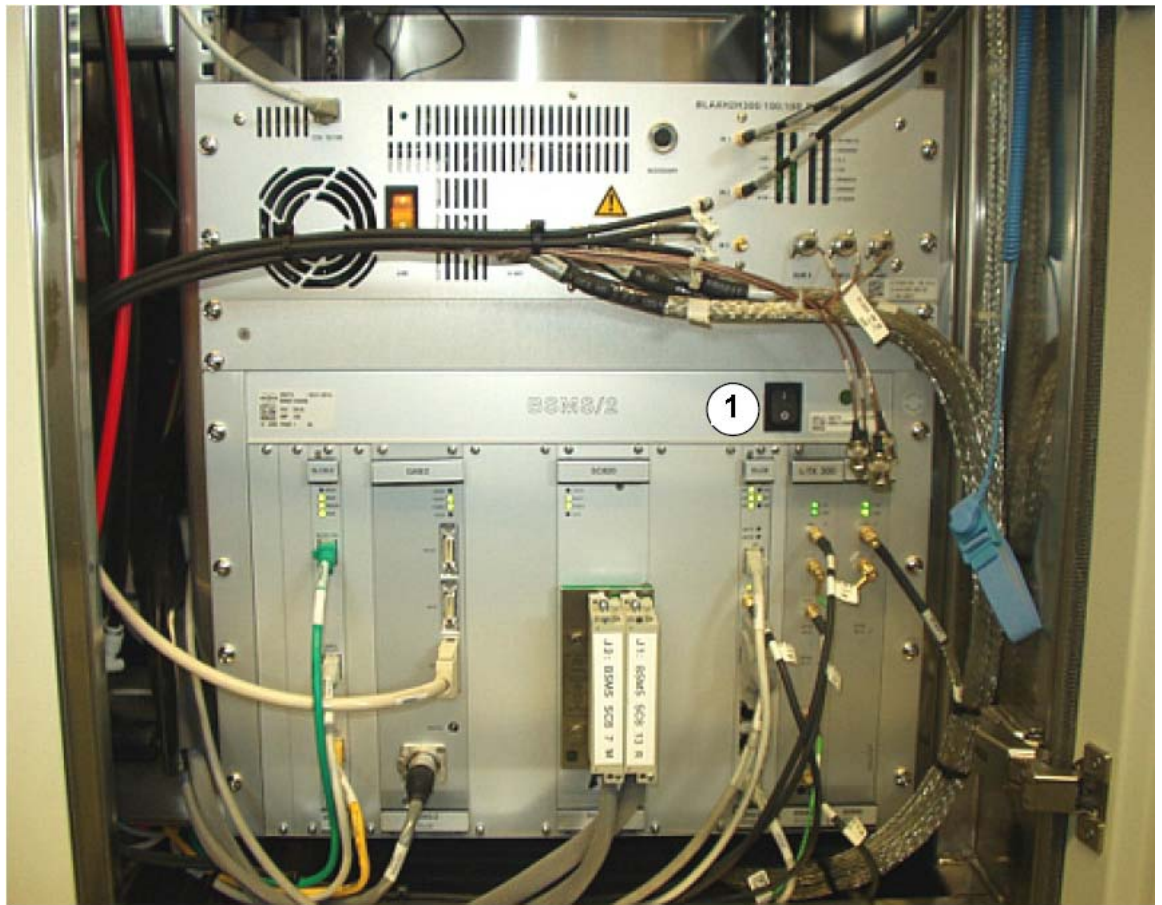


Figura 12.2: Localización de los interruptores BSMS

1.	Interruptor de las cañerías BSMS		
----	----------------------------------	--	--

12.1 Encendido y apagado del espectrómetro

Durante un funcionamiento normal, la corriente de la consola, las subunidades y el ordenador anfitrión permanecen encendidos, incluso si no se están realizando experimentos. Si debe cambiarse una unidad individual de AQS o BSMS, es suficiente con apagar el rack AQS o el rack BSMS que corresponda. No es necesario cortar la corriente del sistema completo.

12.2 Encendido del espectrómetro

Procedimiento:

Para llevar a cabo un “encendido” (“**power on**”) completo del espectrómetro entero, (por ejemplo, para instalación de un nuevo equipamiento, cambiar el PC o un problema general) siga los siguientes pasos:

1. Arranque el PC.
2. Conecte el cable de red del espectrómetro.

3. Compruebe en Windows si la configuración de red en el PC es la correcta para la tarjeta Spect-network (dirección IP, cortafuegos). Puede encontrar información detallada en la guía de instalación de TopSpin. Para modificaciones de la configuración de la red, pregunte al administrador del sistema.
4. Debe encender el espectrómetro! Siga los siguientes pasos.
5. Reinicie el PC para iniciar todos los servicios importantes.
6. Después de finalizar el paso 5, encienda el espectrómetro completo (j).
7. Ahora encienda todos los componentes del espectrómetro. Empiece por el IPSO, continúe luego con AQS, el posible amplificador externo y el BSMS. Todas las tarjetas Ethernet deberán tener asignadas direcciones IP.

Después de encender en IPSO todos los otros componentes (AQS, amplificador y BSMS) debe encenderse en los siguientes 30 segundos.

8. Arranque TopSpin!

Para comprobar si todas las tarjetas Ethernet tienen una dirección IP, escriba "ha" en la línea de comando y presione introducir. Se mostrará una ventana con las direcciones IP asignadas. En la Figura 12.3, se muestra un ejemplo.

Las direcciones IP de su espectrómetro pueden ser diferentes a las que se muestran en la Figura 12.3. que son solo un ejemplo para mostrar esta ventana especial. Para todas las configuraciones del espectrómetro debe asignarse una dirección IP para IPSO, la unidad receptora digital, y el BSMS. Solo se mostrará una dirección para amplificador, si su sistema usa un amplificador externo. De otro modo este bloque permanecerá vacío.

Si se omite una dirección IP presione el botón "REFETCH ADRESSES". Después de comprobar las direcciones, cierre esta ventana.

9. Realice 'cf'.
10. Realice 'ii restart'.



Figura 12.3: Ventana de direcciones Ethernet del hardware

Ahora abra la ventana de adquisición haciendo clic en el botón **ACQUISITION** en la parte superior de la barra de herramientas o introduciendo “**acq**” en la línea de comando, compruebe la línea de estado de adquisición e inicie, p. ej. una adquisición de PROTÓN. Si la FID aparece como se espera, la referencia (Lock)) visualizada y la información de estado adicional se muestra correctamente, el equipo está listo para usar.

Si no es así, abra de nuevo la ventana de direcciones Ethernet del hardware.

1. Presione el botón “**Open**” de la unidad receptor digital (Digital Receiver Unit) para acceder a este dispositivo. Seleccione el servicio Web DRU, Configuración de dispositivo (Device setup) y configuración de adquisición (acquisition setup) para abrir la ventana que se muestra en la Figura 12.4. Presione el botón Reiniciar (Reset) para reiniciar la Unidad receptora digital.

El reinicio de la unidad receptora digital puede tardar un tiempo en completarse!

2. Cierre la ventana de búsqueda y vuelva a la ventana de las direcciones de Ethernet del hardware. Presione el botón “**OPEN**” para el dispositivo Lock/shim (referencia/homogeneización) BSMS. Elija la Web de servicio ELCB. La página de servicio abre la ventana mostrada en la figura Figura 12.5. Presione el botón “**RESET ELCB**” (reiniciar ELCB).

El reinicio de ELCB puede tardar un tiempo en completarse!

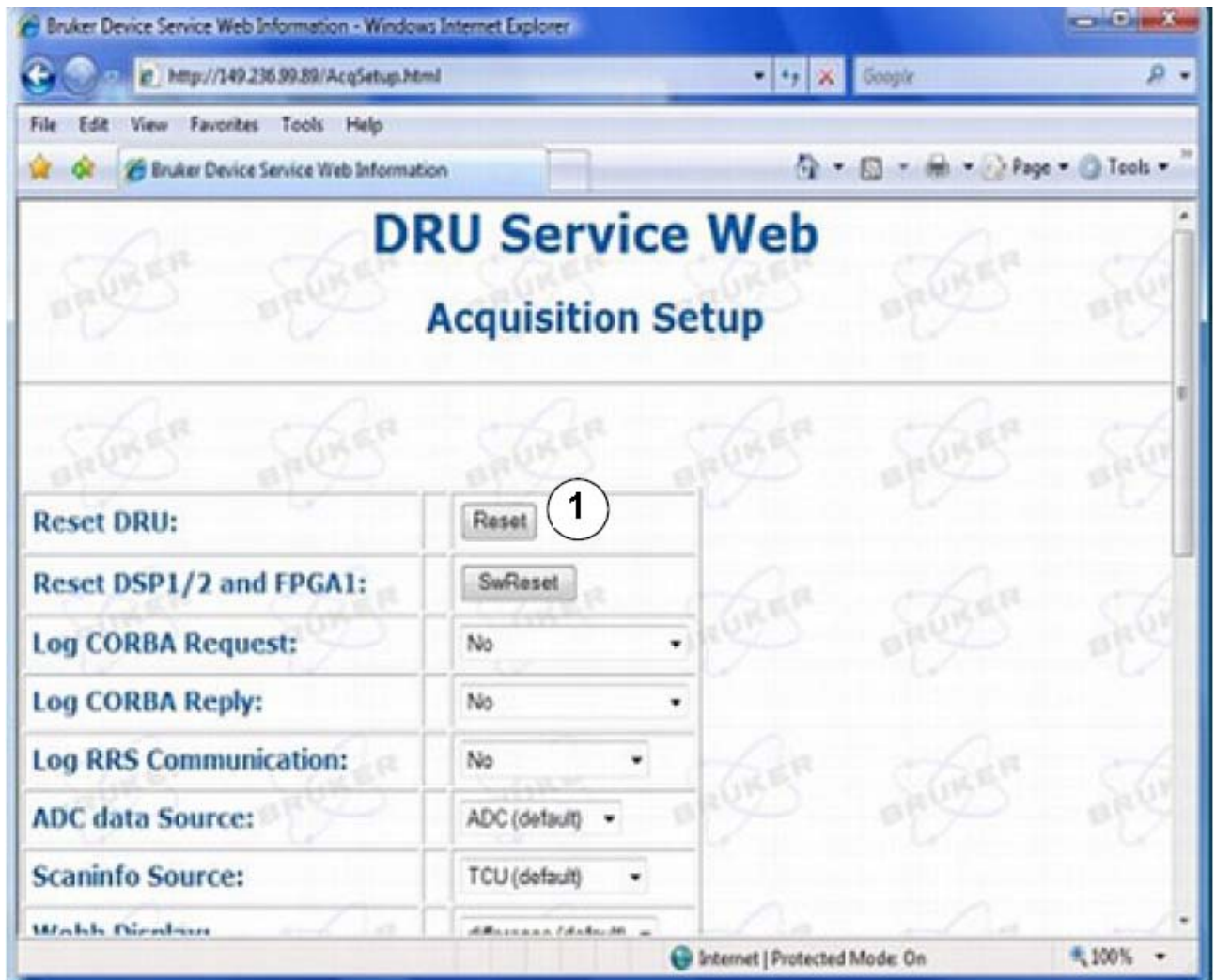


Figura 12.4: Página de información de la Web de servicio de dispositivos de Bruker

Resolución de problemas básicos

1.	Botón para reiniciar la unidad receptora digital.		
----	---	--	--

Ahora referencie de nuevo en la línea de estado de adquisición de la ventana de adquisición. El equipo estará listo para su uso.

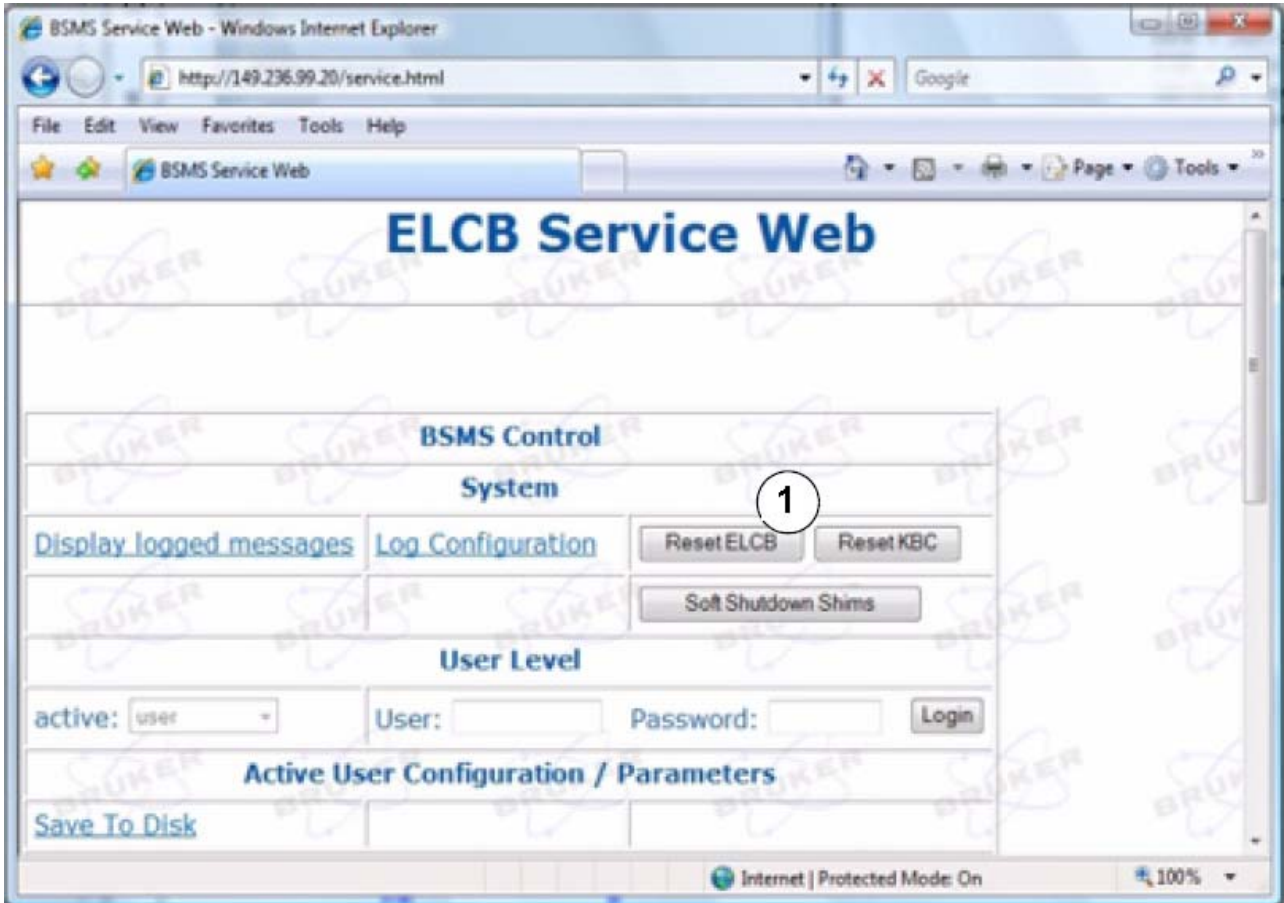


Figura 12.5: Ventana de la Web de servicio BSMS de Bruker

1.	Botón para reiniciar ELCB		
----	---------------------------	--	--

12.3 Apagado del espectrómetro

Para llevar a cabo un “**apagado**” (“**power off**”) completo del espectrómetro entero, siga los siguientes pasos:

1. Salga de Topspin.
2. Apague de uno en uno el BSMS, el amplificador, AQS e IPSO.
3. Apague el interruptor de corriente del espectrómetro.
4. Apague el PC.

13 Contacto

Fabricante:

Para asistencia técnica adicional, por favor no dude en contactar a sudistribuidor Bruker más cercano o contacte con nosotros directamente:

Bruker BioSpin NMR
am Silberstreifen
D-76287 Rheinstetten
Germany

Phone: +49 721-5161-0

<http://www.bruker-biospin.com>

NMR Hotlines

http://www.bruker-biospin.com/hotlines_nmr.html

Figura

Figura 2.1:	Precauciones de seguridad en las zonas interior y exterior.....	10
Figura 3.1:	Excitación y respuesta.....	13
Figura 3.2:	Espectro de RMN.....	14
Figura 3.3:	Análisis de RMN del CHCl ₃	16
Figura 3.4:	Señales de RMN emitidas por CHCl ₃	16
Figura 3.5:	Conversión entre Hercios y ppm.....	18
Figura 3.6:	Desplazamientos químicos de 1H en compuestos orgánicos.....	19
Figura 3.7:	Anillo del benceno.....	20
Figura 3.8:	Espectro del benceno.....	21
Figura 3.9:	Acetato de bencilo.....	21
Figura 3.10:	Espectro de protón del acetato de bencilo.....	22
Figura 3.11:	Etilbenceno.....	23
Figura 3.12:	Espectro del etilbenceno.....	24
Figura 3.13:	Experimento de desacoplamiento.....	25
Figura 3.14:	Espectro del etilbenceno con homodesacoplamiento.....	26
Figura 3.15:	Transformación de Fourier.....	27
Figura 4.1:	Consola del operador, consola e imán.....	29
Figura 4.2:	Imagen del imán, sistema de homogeneización, sonda y amplificador HPPR.....	31
Figura 4.3:	HPPR con tres módulos y el módulo de cubi.....	32
Figura 4.4:	Imán superconductor.....	35
Figura 4.5:	Muestra en la sonda.....	37
Figura 4.6:	Cableado típico de HPPR.....	39
Figura 4.7:	Sonda QNP.....	40
Figura 5.1:	Ventana de control de ajuste BSMS "Tabla principal".....	44
Figura 5.2:	Inserción de la muestra en el rotor.....	49
Figura 5.3:	ATMM Probe Tuning/Matching Window.....	51
Figura 5.4:	Ejemplos de curvas Wobble con diferentes sintonizaciones y ajustes.....	52
Figura 5.5:	Pantalla de la cubierta de HPPR/2.....	54
Figura 5.6:	La tabla edlock, por defecto.....	55
Figura 5.7:	Señal de referencia típica.....	57
Figura 5.8:	Visualización de referencia después de referenciar la muestra.....	58
Figura 6.1:	Pantalla edc.....	64
Figura 6.2:	Ventana "edasp".....	67
Figura 6.3:	Primera página de parámetros "eda".....	69
Figura 6.4:	Representación básica de algunos parámetros de adquisición.....	71
Figura 6.5:	FID recortado como resultado de un ajuste RG demasiado alto.....	72
Figura 6.6:	Relación entre potencia y atenuación.....	74
Figura 6.7:	Espectro con BF1=600.13 MHz, O1=0 Hz.....	76
Figura 6.8:	Espectro con BF1 =600.13 MHz, O1= 8 kHz.....	77
Figura 6.9:	Espectro con BF1=600.13 MHz, O1=8 kHz, SWH = 8.4 kHz.....	77
Figura 6.10:	Interacción entre SFO1, BF1 y O1.....	78
Figura 7.1:	Ventana de adquisición - Estado del contador de escaneos.....	82
Figura 7.2:	Espectro de protón del acetato de colesterilo. 16 escaneos escanes. SW = 20.66.....	83
Figura 7.3:	Ejemplo de un espectro con corrección de fase (abajo) y sin corrección (arriba).....	84

Figura 7.4:	La representación gráfica identifica la situación del pico del TMS como el pico más a la derecha del espectro	86
Figura 7.5:	Espectro de protón del acetato de colesterilo	87
Figura 7.6:	Espectro de protón del acetato de colesterilo	88
Figura 8.1:	Espectro mostrando las bandas laterales de rotación.....	93
Figura 9.1:	Espectro de 13C del acetato de colesterilo. Un escaneo. Sin desacoplamiento	97
Figura 9.2:	Espectro de 13C del acetato de colesterilo. 96 escaneos. Sin desacoplamiento	97
Figura 10.1:	Espectro de 13C del acetato de colesterilo. 256 escanes con desacoplamiento.....	101
Figura 10.2:	El programa de pulsos “zgpg30”	103
Figura 11.1:	El programa de pulsos “zg30 “	106
Figura 11.2:	El programa pulso “zg” donde NS=4 y DS=0	108
Figura 12.1:	Localización de los interruptores de corriente en la consola, AQS e IPSO.....	109
Figura 12.2:	Localización de los interruptores BSMS.....	110
Figura 12.3:	Ventana de direcciones Ethernet del hardware.....	111
Figura 12.4:	Página de información de la Web de servicio de dispositivos de Bruker	112
Figura 12.5:	Ventana de la Web de servicio BSMS de Bruker	113

Tabla

Tabla 3.1:	Tabla de datos para varios isótopos (Frecuencias expresadas para un imán de 11.7T).....	13
Tabla 3.2:	Variaciones de frecuencia (expresadas para un imán de 11.7 T).....	14
Tabla 6.1:	Conjuntos de datos con diferentes NAME y EXPNO	62
Tabla 6.2:	Conjuntos de datos con diferentes NAME, EXPNOy PROCNO	62
Tabla 7.1:	Los parámetros “eda” después de cargar el conjunto de parámetros estándar “Proton”	80
Tabla 7.2:	Métodos de corrección de fase	85
Tabla 9.1:	Valores de los parámetros “eda”	96
Tabla 10.1:	Los parámetros eda después de cargar el conjunto de parámetros estándar C13CPD	100



Índice

A

Abundancia natural	17
Acoplamiento espín-espín	
Efectos del	25
Amplificadores	30
Banda ancha	30
Externo	68
Interno	68
Selectivo	30
Apantallamiento magnético	14
AQ	71
AQ_mod	70
Auto Lock	47
Auto Shim	47
AUTOLOCK	56

B

Bandas laterales de rotación	92, 92
Barrido del campo magnético	46
BF	65
BF1	75
Bobina de observación	38
Bobinas de banda ancha	38
BSMS	30
BSMS Teclado	29
bsmsdisp	43

C

C onjunto de datos procesados	62
Calibrador de profundidad de muestra	48
Cambiar la sonda	41
Campos magnéticos dispersos	9
Canal lógico	
F	66
Canal lógicoNUC1	66
Comando de retardo	107
Comandos	
'getprosol'	80
'wsh'	45

acqu	83
cal	86
eda	61, 68
edasp	61
edc	63
edhead	80
ft	83
go	65, 70
gs	65, 70
rga	70, 81
rpar	64
Ventana 'edasp'	68
Ventana „edasp“	65
ze	107
zg	65, 70
Commandos	
rsh	45
Commands	
ased	108
Composite Pulse Decoupling	99
Conexión Ethernet	29
conjunto de datos	61
Conjunto de datos originales	61
Conmutación transmitir / recibir	32
Consola	29
Consola del operador	29
Contenido en agua	92
Corrección de fase	
'fp'	85
'pk'	85
'orden cero'	84
'primer orden'	84
apk	84
Corrección de fase de orden cero	84
Corrección de fase de primer orden	84
CPD	99
Creación de un nuevo conjunto de datos	63
cuartete	23

D

D (s)*	73
DE	73
Decimalización	72
Declaración de conformidad	12
Delay d1	107
Dependencia de la temperatura.....	91
desacoplamiento.....	25
Desacoplamiento de pulso compuesto	99
Desplazamiento químico.....	19
Dewar del imán	33
DIGMOD	73
DIGTYP.....	72
DIR.....	61
Disolvente	
Factores a considerar en su selección	91
Disolvente deuterado	36
Disolventes deuterados	91
Disolventes orgánicos.....	91
Distorsiones de fase	84
DS	70
DSPFIRM.....	72
DW	72
DWOV	72

E

Electroimanes	33
Espectro de protón.....	19, 79
Evaporación de nitrógeno	36
Evaporación del helio.....	36
EXPNO	61

F

FADC	72
FCU.....	66
FID	
Definición	27
FIDRES.....	71
Field	46
FIELD	
Camp	47
Forma del contorno de la señal	60

Frecuencia de desacoplamiento.....	99, 101
Frecuencia transmitida	15
Frecuencias absolutas.....	17
Frecuencias de resonancia.....	13
FW	71

G

Giro de muestra	43, 92
Guía de planificación de locales	9

H

HADC.....	72
Helio	
Punto de ebullición	33
Helium Level	47
Helium Measure	
(Medida de helio).....	47
Hercios.....	17
Hercios conversión	18
Heterodesacoplamiento.....	26
Homogeneidad del campo.....	58
Homogeneización	
Definición.....	31
HPPR.....	31, 68
Conexión de módulos.....	32
HPPR/2.....	32

I

Imán	
Campo disperso	11
Descripción del sistema.....	33
Quench	33
Imanes superconductores	33
implantes metálicos	9
impurezas	91
impurezas magnéticas.....	91
intensidad	
de una señal	15
intensidad de la señal	
Medida de.....	15
IPSO	29, 29
isótopos	15
Isótopos	

Criogénica.....	11	Spin Rate	46
Eléctrica	12	SW	70
Imanes	9	Sweep Amplitude.....	46
Precauciones en la zona exterior.....	11	Sweep ON-OFF	46
Precauciones en la zona interior.....	11	Sweep Rate	46
Quench del imán.....	33	SWH	70
Química.....	12		
Sensibilidad.....	17	T	
Sensor de nivel de helio.....	34	TD	70, 83
SFO1.....	65, 65, 74	Temperatura de las muestras	40
Shim Values	47	Termopar.....	40
SI puntos de datos	83	Transformación de Fourier	27, 83
Simetría del tubo.....	93	Transmisores	30
Singlete	25	triplete	23
SINO	89	Tubos de muestra	93
Sistema de homogeneidad	31		
Sistema de homogeneización.....	58	U	
Sistema de referencia		Unidad de temperatura variable	29
Finalidad	36	Unidad de Temperatura Variable	40
Receptor	37	USER.....	61
Sistema del imán	29		
Sistemas de homogeneización BOSS-2.....	48	V	
Sólido	91	V alores de homogeneidad.....	43
Solubilidad	91	Valores de homogeneidad	
Solvents		Guardar	45
Solubility.....	91	Viscosidad	91
Temperature dependence	91	VTU.....	29, 30, 40
Viscosity.....	91		
Sonda QNP.....	40	W	
Sondas		WBST	53
Bobina de observación	38	WBSW	53
Bobinas de banda ancha	38		
Calentador	40		
Sondas multinucleares.....	38		
Sondas selectivas.....	38		
X-BB	38		
Sondas de banda ancha			
Sintonización.....	50		
Sondas multinucleares.....	38		
SPIN			
On-Off	46		
Spin Measure	46		



End of Document

Bruker, your solution partner

Bruker provides a world class, market leading range of analytical solutions for your molecular and material research needs. Our solution-oriented approach enables us to work closely with you to identify your specific needs and determine the best solution package for you from our comprehensive range. Furthermore, we offer you the opportunity to collaborate with us on new developments.

Our ongoing efforts and substantial investment in research and development demonstrate our long term commitment to technological innovation on behalf of our customers. With 50 years of experience in meeting the needs of the scientific community across a range of specialist disciplines, Bruker has built a sound rapport with professionals from the community through understanding specific requirements.

This cooperative relationship with our customers allows us to provide them with effective solutions and a service of unmatched quality.



info@bruker.com
www.bruker.com