

LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR Y SU IMPACTO SOBRE LA VIDA DEL HOMBRE

Hacia fines de febrero de 2012, con poco más de 91 años, nos dejó VALDEMAR JORGE KOWALEWSKI. Doctor en Físico-Matemáticas, recorrió todo el camino desde Jefe de Trabajos Prácticos hasta Profesor Titular Emérito, condición que no perdió jamás. Desde temprano se interesó por el electromagnetismo que le permitió volcarse a la Resonancia Magnética Nuclear, campo en el que llegó a ser uno de los expertos más destacados nacional e internacionalmente.

Sus numerosas contribuciones al tema le valieron que la Academia Nacional de Ciencias Exactas Físicas y Naturales le otorgara en 1970 el primer Premio Teófilo Isnardi. Su labor la describió él mismo de manera simple en un capítulo de la *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*.

Por otra parte, siempre preocupado por lograr que este tema fuese accesible a interesados, y aún a legos, escribió el artículo que hoy se publica y que constituye el mejor homenaje a quién, con su proverbial sencillez y modestia, fue uno de los grandes físicos de nuestro país.

■ Valdemar Jorge Kowalewski

■ LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Pocos han sido los descubrimientos científicos que hayan dado lugar a tantos y tan benéficos resultados para la vida del hombre como la resonancia magnética nuclear. Inventada poco tiempo después de la segunda guerra mundial su utilidad en la física, la química y la medicina ha dado lugar nada menos que a seis premios Nobel: dos en física, dos en química y dos en medicina.

Como es lógico, deberíamos empezar por explicar que es eso de la resonancia magnética y porque nuclear.

Ya antes de los años cuarenta, sabían los científicos que la materia está constituida por átomos y que cada átomo consta de un núcleo relativamente pesado alrededor del cual gira un conjunto de electrones (mucho más livianos) y que ese núcleo está formado por un conjunto de partículas que son, a su vez, de dos tipos. Unas, llamados protones,

que poseen una cierta carga eléctrica, igual en valor absoluto, a la del electrón pero de signo contrario al mismo y otras que, aunque de masa casi igual a la de los protones, no poseen carga eléctrica alguna por lo cual son llamadas neutrones.

Los diversos núcleos poseen diferente cantidad de esas partículas constitutivas y sus propiedades químicas dependen exclusivamente del número de protones que contienen. Ese número es llamado

comúnmente “número atómico”. Un átomo es de carbono o de sodio o de lo que sea según la cantidad de protones en su núcleo. Así, por ejemplo: El átomo de carbono tiene seis protones, el de sodio once y el del uranio 92. El átomo de hidrógeno es el más sencillo de todos los átomos porque su núcleo consta de un solo protón y hay un solo electrón que gira alrededor de ese protón.

En todos los átomos, la cantidad de electrones que rodean al núcleo es, en condiciones normales, exactamente igual a la cantidad de protones del núcleo. La cantidad de neutrones es, a menudo, algo mayor que la de los protones y la suma de las masas de todas las partículas de un núcleo es lo que se denomina su “peso atómico”. Como caso particular, existe un átomo cuyo núcleo tiene, además del protón, un neutrón. Ese átomo tiene todas las propiedades químicas del hidrógeno (porque tiene un solo electrón, que es el que define sus propiedades químicas) pero difiere un poco del hidrógeno común en sus propiedades físicas. Se lo llama deuterio y el agua (H₂O) hecha con deuterio (D₂O) es algo más pesada que ésta y se la denomina, por esa razón, agua pesada.

Cuando un núcleo de un compuesto posee más neutrones que protones, suele ocurrir que esa cantidad extra no es siempre la misma. Cuando eso ocurre decimos que ese compuesto tiene varios “isótopos”. Como ejemplo, el carbono común: ¹²C tiene seis protones y seis neutrones mientras que el isótopo: ¹³C tiene seis protones y siete neutrones. El uranio tiene varios isótopos. De éstos, uno es de peso atómico 235 y otro de peso atómico 238. El primero es poco abundante, apenas el 0,7 %, pero es éste el que sirve para producir energía atómica (hay otro, de peso 233, pero es muy poco abundante).

La mayoría de los núcleos giran sobre sí mismos a semejanza de los cuerpos del mundo estelar. Pero a diferencia de esos últimos, la velocidad de esa rotación no tiene un valor cualquiera, como ocurre con los cuerpos celestes, sino que tiene valores de magnitud bien definida y, además, sólo ciertos valores de esa velocidad de rotación son posibles (“permitidos” como dicen los físicos teóricos). Esta propiedad recibió el nombre inglés de spin (to spin = girar, spinning wheel = rueda) y éste fue el nombre con el que se quedó al final esa propiedad física: el spin. Expresada esa propiedad en unidades patrón especiales sólo puede tener valores enteros, como ser 0, 1, 2, etc. o semi-enteros, como 1/2, 3/2, 5/2, etc.

Se descubrió que tienen un spin igual a cero los núcleos que tienen un número par de protones y un número también par de neutrones. Esos núcleos no giran sobre sí mismos y no tienen campo magnético propio. Es el caso del ¹²C, del ¹⁶O, del ²⁸Si, del ³²S, etc. Esto es, desde nuestro punto de vista, un pequeño inconveniente ya que no son observables mediante la resonancia magnética nuclear.

Los núcleos que tienen un número impar, tanto de protones como de neutrones, tienen un spin igual a 1. Este es otro pequeño inconveniente, ya que, aunque se pueden observar mediante la resonancia magnética, sus señales son poco nítidas y no suelen dar detalles de interés.

Todo los demás núcleos (los “par e impar”) tienen spin 1/2, ó 3/2, ó 5/2, etc. y son los que se pueden observar, con mayor o menor dificultad. El átomo más utilizado en la espectroscopía de resonancia magnética nuclear es el hidrógeno común, que tiene un spin = 1/2, por ser el más fácilmente observable

(porque da una señal intensa) y es, además, muy importante desde el punto de vista de la química. Su isótopo, el deuterio con spin 1, no tiene un interés directo pero es muy útil en la RMN como elemento auxiliar, como lo veremos en su oportunidad.

Los átomos “mejores”, desde el punto de vista de la resonancia magnética nuclear (RMN, para abreviar), son los que tienen un spin de 1/2 porque son los más fáciles de observar y los que dan señales más nítidas y, por lo tanto, más útiles.

El hecho de que el spin sólo puede tener valores especiales, bien definidos para cada núcleo, se describe diciendo que el spin está cuantificado. Es decir, obedece a la “teoría de los cuantos”. (quantum = cantidad, en latín).

Ahora bien, el electromagnetismo nos muestra que toda corriente eléctrica que recorre un círculo cerrado o anillo produce un campo magnético parecido al de un imán permanente en forma de barra. De modo que no es de extrañar que el protón posea un campo magnético ya que hay una carga en su interior que se mueve (permanentemente) en círculo, equivalente a una corriente eléctrica. Eso ocurre en todos los núcleos salvo en los que tienen spin cero (porque no giran).

Curiosamente, los neutrones poseen un campo magnético pese a tener una carga eléctrica neta nula. Pues ocurre que los neutrones tienen en su interior ambas cargas, una positiva y otra negativa, en cantidades iguales. La negativa en la periferia y la positiva en el interior que es la que decide acerca de sus propiedades magnéticas.

■ EN LA FÍSICA:

Establecido el hecho de que los

núcleos poseen (generalmente) un campo magnético, el hombre quiso saber algo más acerca de ese campo magnético nuclear como ser: ¿Cuán intenso es? ¿Cómo se porta frente a los demás núcleos? ¿A qué se puede deber la eventual diferencia entre uno y otro?

Entre los que se dedicaron a este problema figuran I.I. Rabi y K.C. Ramsey quienes utilizaron un método llamado de haces moleculares (o sea un chorro de átomos), generalmente de hidrógeno, que se hace pasar por entre campos magnéticos de diversa forma y diversa variación temporal. Con esto se obtuvieron algunos valores de la magnitud de las propiedades magnéticas de ciertos núcleos.

Pero Ramsey tenía problemas con la poca precisión en la medición de los campos magnéticos que utilizaba, cosa que preocupó a un tal Felix Bloch que trabajaba con él y que era ya un físico de renombre. (Fue el primero que propuso aprovechar las propiedades magnéticas de los neutrones para estudiarlos mejor, dando lugar a todo un campo de la física).

Pero lo que más interesaba a los físicos era ver el campo magnético de los protones en una materia al estado corriente, no en un chorro de átomos sueltos, volando en el vacío. Por ejemplo en el agua o en algún sólido, etc. El primero que intentó hacer algo de eso fue el holandés C.J. Gorter quien, en 1936, intentó observar algún efecto del campo magnético de átomos de fluor en un sólido mediante un puente eléctrico. (Un puente es el nombre genérico que se da a toda una serie de circuitos eléctricos que permiten medir con sensibilidad y precisión casi cualquier parámetro eléctrico por comparación con algún otro elemento eléctrico patrón).

Lamentablemente la experiencia de Gorter fracasó. Hoy se sabe que eso se debió a una elección infeliz de la muestra utilizada (en aquel momento se sabía muy poco de las propiedades físicas del magnetismo de los núcleos).

Después de la guerra este problema era uno de los temas pendientes que interesaba a más de un físico. Unos eran E.M. Purcell, H.C. Torrey y R.V. Pound en Harvard y los otros F. Bloch, W.W. Hansen y M.E. Packard en Stanford en 1946.

Felix Bloch y Edward Purcell fueron los primeros premios Nobel debido a su calidad de pioneros de la Resonancia Magnética Nuclear. El segundo de éstos, aprovechando la experiencia en electrónica adquirida durante la guerra, decidió estudiar (con un puente adecuado) lo que le pasaba a una cavidad resonante en función de la frecuencia, estando la misma llena de un material sólido con mucho hidrógeno: la parafina.

El primero (Bloch) utilizando simplemente agua común.

Y, según cuenta la leyenda, fue en un viaje en tren que se le ocurrió a Bloch que un método adecuado para medir bien un campo magnético sería usar para eso un imán nuclear, dado que, según todo lo sabido y considerado, sus propiedades magnéticas, por ser una propiedad nuclear, no debían depender para nada de factores externos como por ejemplo la temperatura, etc.

La idea era hacer bailar un protón o, mejor dicho, un conjunto de ellos simultáneamente en un campo magnético. Haciendo eso, lo más natural era esperar que un protón, situado en un campo magnético intenso, trataría de orientarse (cual una brújula) en la dirección del mismo. Pero el núcleo de hidrógeno tiene "spin" o

sea que gira sobre sí mismo. Entonces, como todo buen trompo, debe presentar también el llamado en mecánica efecto giroscópico lo que haría que, en vez de alinearse en la dirección del campo se pondría a bailar alrededor de la dirección del mismo. Tal cual lo hace un trompo de juguete que baila alrededor de la vertical por efecto de la gravedad.

En la faz inicial de tal experiencia los diversos trompos-hidrógeno, sacudidos por la agitación térmica, se encontrarían con sus ejes orientados en cualquier dirección al azar. La resultante magnética de todo ese conjunto sería entonces nula. Pero si ahora le aplicamos a esos trompos una fuerza oscilante, vibrante, en una dirección transversal a la del campo magnético exterior (mediante unas bobinas auxiliares) y ajustamos la frecuencia de esa vibración de modo que coincida con la de la precesión (que así se llama en la física el baile del trompo), quizás podríamos hacer que todos (o casi todos) los núcleos se alineen entre sí con el campo magnético actuando como si se tratase de un solo gran imán que gira alrededor de la dirección del campo magnético.

Si ahora miramos a ese trompo magnético desde otro lado o sea en una dirección perpendicular tanto al campo magnético exterior como al campo vibrante quizás podríamos ver ese trompo (utilizando una bobina sensora). Pero es evidente que el fenómeno sólo sería visible si la frecuencia del campo magnético vibrante exterior fuera exactamente igual a la frecuencia del baile de nuestro trompo. Esto es lo que se llama la "resonancia magnética nuclear".

La experiencia se hizo así con éxito y Bloch llamó a esa experiencia: inducción nuclear. Pero la gente prefirió llamarla resonancia magnética.

tica nuclear y así quedó.

Lo anecdótico: Acerca del día en que se observó por vez primera la resonancia magnética nuclear se cuenta que un cierto estudiante de apellido Packard estaba buscando algún grupo de trabajo que lo aceptase como tesista y alguien le recomendó que vea a un tal Bloch que estaba haciendo algo interesante. Pues ocurrió que fue aceptado y un cierto día, cuando ya se iban después de numerosos fracasos, se le ocurrió a Packard hacer un último ensayo y tomando el control del reóstato que regulaba la corriente del electroimán usado para orientar los protones lo llevó al fondo de la escala y así se vio, por vez primera, la resonancia magnética nuclear.

Ocurrió que los expertos utilizaban la lectura de la intensidad de la corriente del electroimán como medida de la intensidad del campo magnético pero se habían olvidado que el proceso no es lineal y que para llegar a un determinado valor del campo magnético hacía falta cada vez más y más corriente de la esperada para obtener un determinado valor del mismo por encima de lo que indicaba el amperímetro. Por lo tanto, había que subir la corriente más de lo estimado.

De más está decir que su nombre figuró entre los descubridores de la resonancia magnética nuclear.

Pero el mérito de Bloch no fue solamente el haber ideado el experimento sino, además, de haber hecho la teoría del fenómeno que explica todo lo observado. (Era un brillante físico teórico).

Cabe aclarar que, en rigor, una teoría física no explica nada: describe y es correcta si describe el fenómeno correctamente y no, si no lo hace. Para ello hace uso de expresiones matemáticas y de parámetros apropiados. Es el hombre el que, haciendo uso de los parámetros, de las expresiones que la matemática le da y de la forma de esas expresiones, explica el fenómeno físico. El hecho importante es que la teoría de Bloch, expuesta en un conjunto de ecuaciones no muy complicadas (o muy sencillas, diría un físico teórico) ha dado lugar a conceptos nuevos, como ser (aparte de la resonancia) el de la saturación, del tiempo de relajación longitudinal: T1 y del tiempo de relajación transversal: T2, que describen fenómenos nucleares de los que no se tenía antes ni idea y que le permiten a los físicos ver lo que le hacen otros núcleos al que está bajo estudio.

Bloch hizo aparte (en colaboración con Wangness) una teoría detallada y completa de todos esos parámetros físicos, del significado físico de las constantes T1 y T2. Por suerte, con las ecuaciones básicas de Bloch en general alcanza.

Como es natural, después de Bloch muchos físicos se dedicaron a estudiar en forma sistemática que es lo que ocurría con los demás núcleos dado que la primera experiencia se hizo con agua porque era la que tenía abundante hidrógeno o sea, protones.

Es natural, en el experimento de Bloch, que la frecuencia a la que se observa el fenómeno sea proporcional a la intensidad del campo magnético utilizado. Es decir que entre el campo y la frecuencia hay una relación directa y constante. Esta constante recibió el nombre de relación giro-magnética. Con el tiempo esta constante fue determinada con especial precisión en varios laboratorios dedicados a la creación y medición de patrones físicos y hoy se la conoce, en el caso del hidrógeno, con una precisión de cinco cifras y

es con esa precisión que se miden hoy los campos magnéticos.

Estudios sistemáticos determinaron que cada núcleo tiene su relación giro-magnética que es medida por comparación de su frecuencia de resonancia con la del agua bajo un mismo campo magnético. Lo difícil en este proceso es encontrar la frecuencia a la que aparece la señal de resonancia de un núcleo dado, que puede estar en cualquier parte. Además, salvo el caso del hidrógeno y el del flúor la señal suele ser muy débil, lo que hace aún más difícil el problema.

Otra razón de esas dificultades se debía al hecho de que muchas sustancias poseen varios isótopos, cada uno con su propio valor de spin y su propia relación giro-magnética. Por ejemplo, el carbono posee, como ya se dijo, un isótopo ^{12}C el que, por ser del tipo par-par, no posee momento magnético alguno y por lo tanto no es observable y otro, el ^{13}C que, sí, posee momento magnético y tiene spin $\frac{1}{2}$ pero que, lamentablemente, tiene una abundancia relativa de apenas 1 %. Además, como su frecuencia de resonancia es apenas un cuarto de la del hidrógeno y como según las leyes de la física, la señal eléctrica inducida en el aparato detector es proporcional a la frecuencia con que uno trabaja, su señal resulta mucho más pequeña que la del agua. Así que fue necesario, por parte de los físicos, mucho trabajo de desarrollo de la parte técnica de la espectroscopía de RMN hasta que fue posible incluir el carbono entre los núcleos útiles, (casi deberíamos decir imprescindibles) para la química orgánica.

■ EN LA QUÍMICA

Ya las primeras experiencias realizadas en diversos laboratorios, dada la novedad del fenómeno, (incluso

en nuestro país) mostraron que el fenómeno se veía tanto mejor cuanto mejor era el imán utilizado (que es generalmente un electroimán). Cuanto mas intenso era el campo magnético tanto mas grande era la señal y cuanto más grande en tamaño era el electroimán, más uniforme y más homogéneo (en el centro del mismo) era el campo magnético que producía la señal que se obtenía y, además, era más linda, más delgada y más alta.

El Prof. Dr. Ricardo Gans era director del Instituto de Física de la Universidad de La Plata (fue el segundo director del mismo después de Bose) y un día le dijo al autor: "Aquí hay un trabajo interesante de un tal Felix Bloch y ya es hora de empezar a estudiar el magnetismo nuclear". Y así se armó un dispositivo cuyo resultado puede verse en la figura 1.

Al autor le resultó sorprendente y por mucho tiempo incomprensible que le fuera finalmente posible observar ese fenómeno en la Universidad de La Plata con un electroimán de unas dimensiones que hoy se diría que son absurdamente pequeñas. Solo al escribir estas líneas, descubrió el porqué.

Es, además, anecdótico (como única semejanza con el trabajo de Bloch) que la misma fuera observada por vez primera en La Plata (en 1952) por un visitante: el Dr. Julio Iribarne, profesor de físico-química, quien vio el fenómeno por vez primera al estar cerca del osciloscopio de rayos catódicos (una especie de televisor) quien le preguntó al autor: Che, y eso, qué es?

La sorpresa vino para los químicos cuando se empezó a probar si había diferencia en la señal de resonancia de diferentes líquidos, todos con hidrógeno. Si era un sólido la señal era apenas visible, muy ancha y muy baja. Un tapón de goma da una señal bastante ancha, pero no tanto como un sólido. Pero ¿qué pasa si se usa otro líquido, con abundante hidrógeno que no sea agua? El primer resultado era que la frecuencia a la que aparecía la señal no era exactamente la misma que la del agua. Caso, por ejemplo, el del benceno, que tiene mucho hidrógeno y cuya señal suele aparecer a la izquierda de la del agua.

Pero lo grave fue que se descubrió que algunas sustancias (a diferencia del benceno) no presentaban una sino varias señales de resonancia. Por ejemplo, el alcohol común

(o etílico, como se lo llama en química) presenta no una sino tres señales de resonancia. Además, las señales no eran de igual intensidad sino que estaban en una relación de intensidades de, aproximadamente, como 1: 2: 3. Esto fue lo observado, por primera vez por Arnold, Dharmati y Packard en 1951.

La respuesta la dio inmediatamente la química: porque el alcohol etílico tiene el hidrógeno agrupado en varias partes: un grupo de tres átomos, (CH₃), otro de dos (CH₂) y un hidrógeno "solito", el del (OH). Es muy simple: cada grupo tiene su propia frecuencia de resonancia, ya que los hidrógenos de cada grupo tienen una "atmósfera electrónica propia la que, por ser un conductor eléctrico perfecto, hace un poco de pantalla al campo magnético del electroimán. Eso altera la frecuencia de la señal, la que se corre como se dice en inglés: "Chemical shift y cada grupo da su propia señal y la intensidad de la misma es proporcional a la cantidad de hidrógenos de cada una (fig. 3).

Como es lógico, los químicos pusieron rápidamente "manos a la obra" y verificaron que la frecuencia de la resonancia de un hidrógeno en la molécula depende de la función

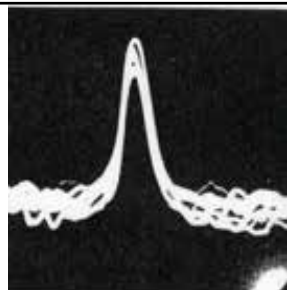


Figura 1: Señal de la resonancia magnética nuclear obtenida por el autor en 1953 en el Departamento de Física de la Universidad de La Plata a cargo, en ese entonces del Prof. Dr. Ricardo Gans, por indicación del mismo.

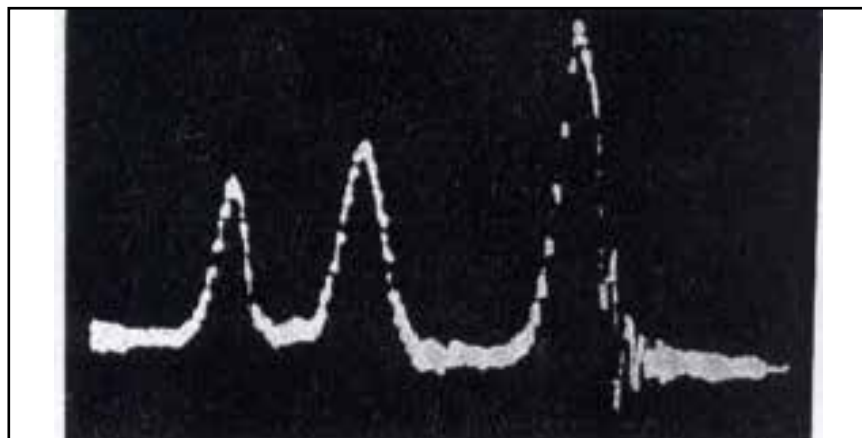


Figura 2: Señal de la resonancia magnética nuclear del etanol (alcohol etílico CH₃CH₂OH) obtenida por Arnold y colaboradores en 1951.

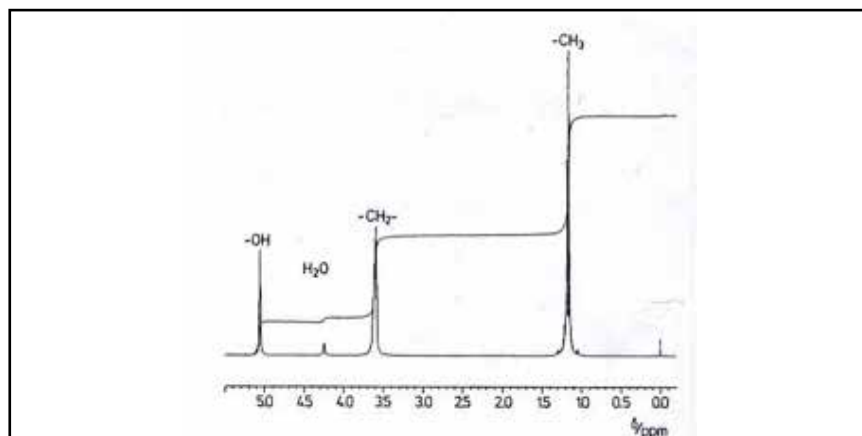


Figura 3: Señal de la resonancia magnética nuclear del mismo compuesto de la figura anterior pero obtenida a 500MHz con un campo de 11,5 Tesla del espectrógrafo superconductor del LANAIS RMN 500 que muestra la gran sensibilidad y poder separador de un instrumento moderno.

química que un hidrógeno dado o un grupo de los mismos desempeña en una molécula. Este fenómeno del corrimiento de las señales de los diversos hidrógenos se lo denominó simplemente corrimiento químico y es de mucha importancia para el químico porque le permite saber la función de ese hidrógeno en esa molécula con sólo determinar la posición que tiene en el espectro (que es como se llama, hoy en día, un registro de las resonancias que produce una cierta molécula).

Algo parecido ocurre con todos los otros núcleos, en particular con el ^{13}C tan importante para la química. Además, el corrimiento químico relativo es mucho más grande para el carbono que para el hidrógeno (como veinte veces mayor).

El proceso no es, en realidad, muy crítico y hay gráficos que muestran las zonas donde aparece la mayoría de las resonancias de un tipo dado. Puede haber un cierto traslape de las zonas entre diversas resonancias pero eso no es muy grave ya que hay, como veremos, otros procesos que ayudan a aclarar situaciones de duda.

Volviendo a la física: Los imanes que se usan en el laboratorio, generalmente, son electroimanes y son de diverso tamaño. Se observó que la señal de resonancia era tanto mejor cuanto mejor era el electroimán. Pronto se vio que esto era debido a que el imán, con piezas polares habitualmente cilíndricas, crea un campo que es máximo en su centro pero que decae rápidamente hacia fuera, tanto más rápido cuanto más chico es. De modo que se utilizaron imanes cada vez más grandes con

piezas polares más grandes (de dos o más toneladas con piezas polares de 30 cm) para tener, siempre en el centro, un campo lo más fuerte, uniforme y homogéneo. Sin embargo, eso no era suficiente.

Nuevamente vinieron en auxilio los físicos que inventaron un sistema de bobinas planas, de diferentes formas, que se aplican a las caras de las piezas polares de los electroimanes y que ajustando con cuidado las corrientes en esas bobinas se podían compensar las imperfecciones de los mismos. Con este dispositivo se vio que una línea de resonancia de un líquido (no viscoso) presenta señales muy, pero muy delgadas. La señal moderna de la resonancia presenta habitualmente un semiancho o ancho a media altura inferior a 0.5 Herz y, a veces, menor que un décimo de Herz independientemente de la intensidad del campo magnético.

Se vio, entonces, que cada una de esas tres señales del alcohol eran algo más complejas ya que cada una (salvo la más débil) era, en rigor, un conjunto de picos, tres en la señal de la derecha y cuatro en la de la izquierda. ¿A qué se debería eso?

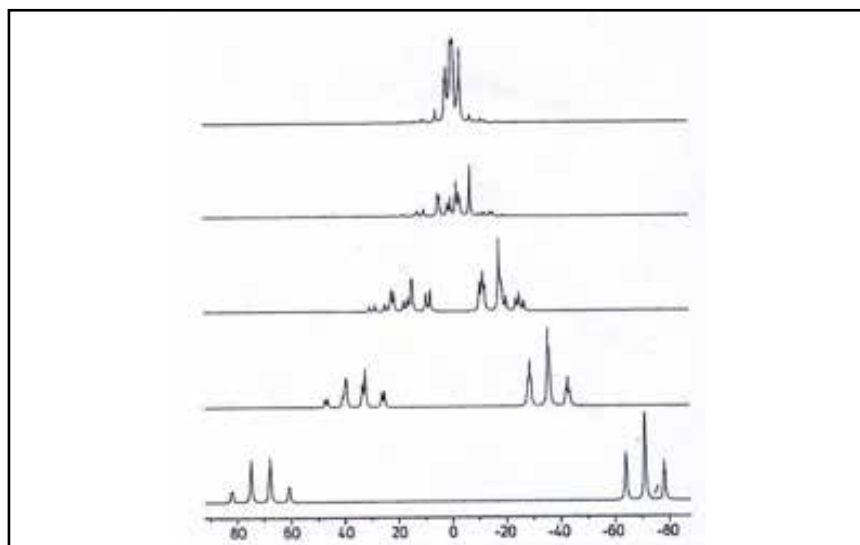


Figura 4: Esta figura muestra en detalle como se verían las dos señales de la derecha del etanol, vistas (de arriba abajo) a las frecuencias de 3, 6, 15, 30 y 60 MHz, calculados con el programa estándar.

Vinieron en auxilio los físicos. Encontraron que esas señales complicadas tenían una buena explicación: el "efecto J."

Ocurre que la mecánica cuántica afirma (y tiene razón) que los protones tienen dos posibilidades en un campo magnético a saber: pueden ceder al campo magnético y orientarse a lo largo del mismo u oponerse al mismo alineándose en contra. Pero, mientras que en la física clásica, el estado en que el protón cede al campo magnético es un estado estable (por ser el de menor energía) el otro estado que está en oposición al mismo, donde para llegar al mismo tuvo que recibir energía de algún lado, es inestable como una pelota en la cima de una colina. En la física atómica y según la teoría cuántica todos esos estados de energía son perfectamente estables salvo que algo intervenga e.g. la ionización.

Para comprender lo que pasa en estas condiciones consideremos el caso de sólo dos protones (dos hi-

drógenos situados en una misma molécula) y llamémoslos H_A y H_B . Cada uno de ellos puede estar en un momento dado en un estado alto de energía: "a" o a uno bajo: "b" (orientado con o contra el campo) ambos estables. Si por alguna razón un protón cambia de estado decimos que sufre una transición. Pues ocurre que, debido a que ambos hidrógenos están en una misma molécula, o sea, en un ambiente electrónico común, un hidrógeno dado se entera en que posición está el otro y, en consecuencia, se corre un poco, hacia un lado o al otro de su posición normal. Este proceso ocurre en un momento dado en unas moléculas de la muestra y el otro en otras y, como uno las observa simultáneamente, lo que uno ve es un par de líneas.

Lo que le pasa al hidrógeno "A" también le pasa al otro "B" y en igual medida de modo que la separación entre las líneas de uno es igual a la del otro. Esto nos permite identificar, dado un grupo de hidrógenos que

puede presentar varios partimientos, cual es el otro hidrógeno responsable de un partimiento dado. Y de ahí averiguar algo sobre la estructura de la molécula.

Esto es lo que se llama, en la jerga de la RMN, un caso AB y la separación o el partimiento de las líneas es lo que se llama el "acoplamiento J", que se mide directamente en el gráfico, en Herz.

Tenemos entonces un cuádruplete AB. Pero es importante observar que el aspecto de ese caso depende mucho de la intensidad del campo magnético utilizado, como lo muestra la figura 5, que representa el aspecto de un caso AB calculado mediante la teoría correspondiente para valores crecientes de la intensidad del campo. Se puede observar que las intensidades de las líneas exteriores son (siempre) menores que las de las interiores pero que esa diferencia disminuye a medida que el campo aumenta y, en el límite (ver fig. 5), todas las intensidades son iguales.

Por otro lado, este límite puede ocurrir cuando los dos núcleos son de diferente naturaleza, por ejemplo cuando uno sea un hidrógeno y el otro un carbono, en cuyo caso todas las líneas tienen la misma intensidad. Eso suele denominarse un caso AX.

Si en lugar de un caso AB tuviéramos, por ejemplo, un solo hidrógeno en A y dos hidrógenos en B (lo que se llama un caso AB₂) no es muy difícil demostrar que, mientras el grupo B₂ sigue siendo un doblete, el A se convierte en un triplete con la intensidad de sus picos en una relación de 1:2:1.

Lo que pasa en el etanol es eso mismo, aunque un poco más complicado por tratarse de caso A₂B₃ y

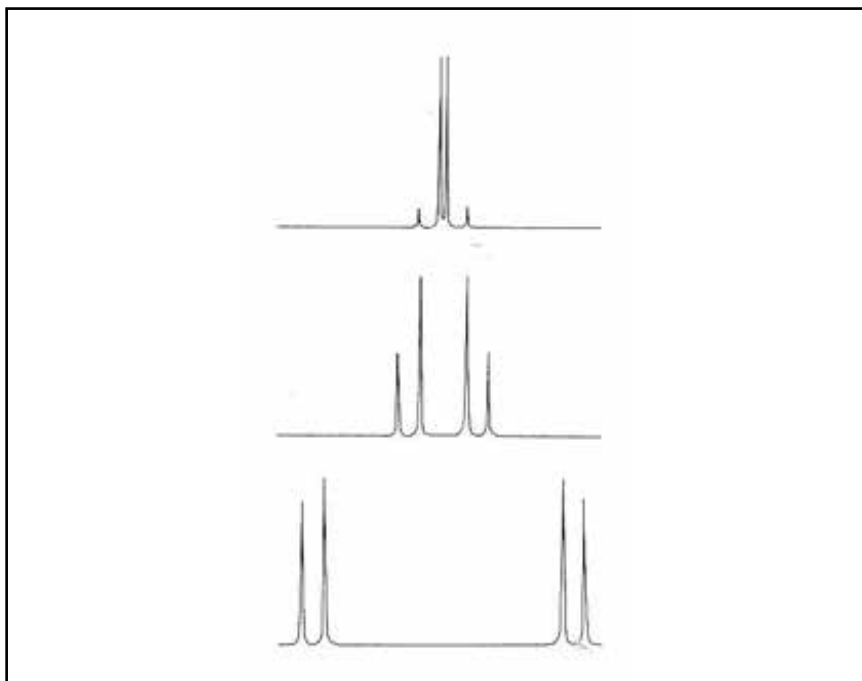


Figura 5: Aspecto de un caso AB en función de la intensidad del campo del espectrómetro, creciente de arriba hacia abajo (simulado con el programa estándar).

así, mientras el grupo B2 presenta como en el caso anterior un triplete el A3 presenta un cuadruplete.

Además, suelen aparecer también unas señales extra, algo más débiles pero molestas, cuyo origen no les era posible a los químicos justificar. Pero los físicos los tranquilizaron inmediatamente explicándoles que esos picos molestos no eran sino efectos de segundo orden y que los mismos dejarían de molestar si se utilizaban campos magnéticos suficientemente intensos, bajo los cuales esos efectos desaparecían naturalmente (como se puede ver en la figura 4). Cosa que ocurre con los instrumentos más modernos. Todos estos espectros de la RMN se pueden calcular teóricamente con toda exactitud, (incluso los picos raros), mediante lo que se llama la mecánica de matrices o mecánica matricial. Cuando el duque P.A.M. Dirac inventó la mecánica matricial para estudiar los espectros atómicos (luminosos, etc.), los físicos teóricos se vieron sorprendidos por esos métodos matemáticos raros que usaba Dirac y se dirigieron a un tal Hilbert que era considerado como el último matemático que sabía todas las matemáticas. Su reacción fue muy simple: Pero si eso son matrices.

Lo anecdótico: Hoy se sabe que esa misma matemática tan rara no es tan rara ya que se la puede utilizar para ver como resuena un conjunto de sistemas oscilantes mecánicos acoplados (masas colgadas de resortes) o eléctricos (bobinas unidas con capacitores), etc. etc.

La mecánica matricial permite calcular perfectamente cualquier espectro de RMN. En general, para utilizarla se requiere una computadora electrónica modesta. En algunos casos ni siquiera eso, como ser el caso AB o, simplificando el problema, mediante una aproximación

X que consiste en suponer que uno de los núcleos del caso es de naturaleza diferente de los demás, o sea, que su frecuencia natural de resonancia está muy alejada de la de los hidrógenos. Esto es solo una aproximación al caso real, pero hace posible un cálculo bastante aproximado a mano.

La teoría matricial ofrece, además, la posibilidad de representar un espectro de RMN mediante una elegante figura geométrica (llamada diagrama de niveles de energía) como una composición de dibujos de cuadrados, de cubos e hipercubos (cubos de un espacio de cuatro dimensiones, en perspectiva) que facilitan mucho el análisis de los espectros.

Un ejemplo de esto se refiere a un problema que apareció cuando se descubrió el acoplamiento J. Tratándose de una cierta energía se lo consideró como un elemento eminentemente positivo. Pero hubo

quien sospechó que en algunos casos podría, quizás, ser negativo. Pero ¿qué significa un coeficiente negativo de energía? Que podía existir un acoplamiento J negativo lo permitía la mecánica matricial. Pero, en ¿qué caso se puede observar un J negativo? Para esto podían ayudarnos quizás los efectos de segundo orden.

Hay un compuesto, usado a veces como solvente, llamado dimetil formamida ($\text{OHC-N}(\text{CH}_3)_2$), que presenta un espectro que puede considerarse como un caso ABX3 y que puede (por ser un caso X) calcularse a mano, eso fue en 1959 cuando aun no existía un software para hacerlo a máquina (ref. 1).

Lo que interesaba era la parte X3 del espectro que presenta un montón de efectos de segundo orden y que era calculable a mano (con regla de cálculo) que, en este caso, resultaron muy útiles. Sospechando la posible existencia de un J negativo, se calculó toda una serie de espec-

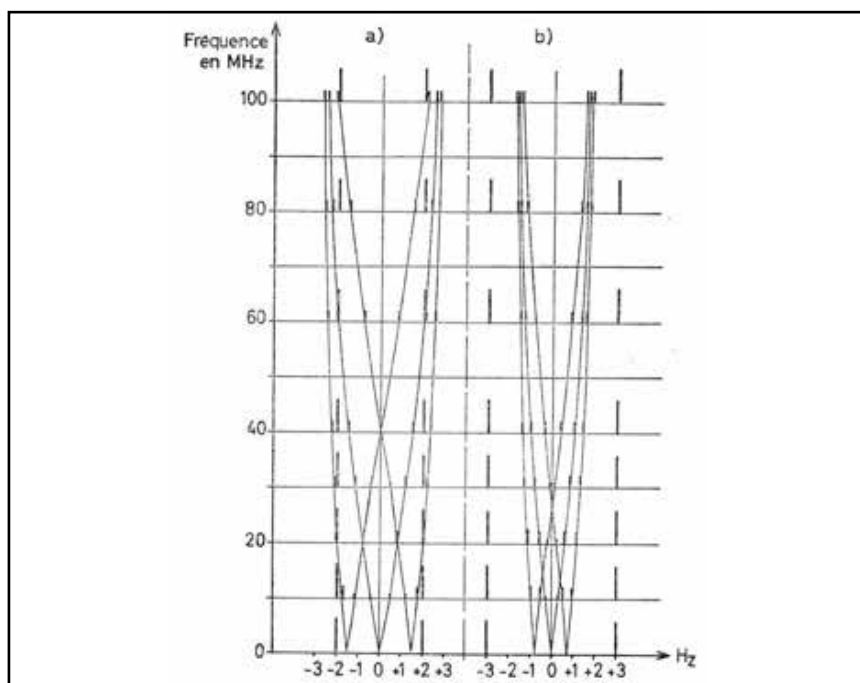


Figura 6: Parte X de un espectro del tipo ABX3 calculado en función de la frecuencia del espectrómetro según el signo de la constante J-BX, una vez con $J < 0$ (izq) y otra con $J > 0$.

tros para diferentes frecuencias de espectrómetro y para dos casos posibles: uno suponiendo que todos los J's presentes eran positivos y otro suponiendo que uno de ellos (el J-BX) era negativo. Se obtuvo así el gráfico de la figura 6.

Resultaba evidente que la figura calculada del grupo X3 dependía mucho del signo de esa J y mostraba que había ahí realmente una $J < 0$, la J-BX. Lamentablemente, los cálculos hechos suponiendo que J-AX era la negativa daban idénticos resultados, de modo que el problema no quedó resuelto del todo. Hacía falta otra técnica. (Como se verá más tarde).

Cabe observar que el gráfico de la figura 6 llega hasta los 100 MHz de frecuencia del supuesto espectrógrafo, cuando el instrumento comercial de ese entonces trabajaba a 40 MHz y 60 era la meta del futuro inmediato. Hoy en día, en la época en que en el país existen instrumentos de 400, 500 y 600 Mhz, el autor del gráfico lo habría calculado hasta 1000 MHz, dado que ya existen instrumentos de 900 MHz. Y habría visto que todos los multipletes de segundo orden habrían colapsado a esas frecuencias hasta constituir una única señal de resonancia conforme a la predicción de los teóricos acerca de la desaparición de esos dichos efectos de segundo orden.

Actualmente, nadie calcula un espectro. Lo que se hace es primero: determinar su posición relativa, lo que se llama "chemical shift". Luego: verificar que existe una cierta interacción entre núcleos, finalmente se determina, mediante un cierta técnica, de que núcleos se trata y, a lo sumo, se mide la J, en Herz.

Pronto se vio que esa interacción J entre los grupos de núcleos era tanto más grande cuanto más próximos estaban entre sí los hidrógenos

de la molécula bajo estudio. Ahora los químicos podían saber cuantos hidrógenos había en una molécula dada, qué función química desempeñaba en la misma cada uno de esos grupos, cual hidrógeno estaba acoplado con cual y, de ahí, cuan cerca estaban unos de otros. ¿Qué más podían pedir?

Como ejemplo de lo que puede deducir un químico experimentado de un espectro de RMN de hidrógeno veamos el caso de un compuesto, ya conocido, denominado acrilamida, cuya fórmula expandida muestra la figura 7.

Para empezar, lo primero que haría el químico sería pedirle al espectrómetro que saque una integral (como la de la figura 3) para hallar el área de cada grupo del espectro con lo que sabrá, de inmediato, cuantos hidrógenos tiene cada uno de esos grupos de señales de resonancia.

Lamará luego su atención la pre-

sencia, a la izquierda, de dos picos muy anchos y de otros, a la derecha, muy finos. Lo primero le muestra que existe un grupo NH₂ (unido al carbono C1) que da lugar a las dos señales anchas. Es eso un efecto típico del nitrógeno, que es el culpable del ensanchamiento de los hidrógenos unidos al mismo por un efecto denominado cuadrupolar (que no viene al caso explicar aquí) que es muy característico de este grupo. El hecho de estar esas dos señales separadas le indica que la ligadura del nitrógeno con el carbono C1 es muy rígida, de otro modo el grupo giraría libremente y esas dos señales colapsarían en una sola, el doble de grande.

A la derecha se ve un conjunto de doce líneas finas que dan lugar a tres cuádrupletes. Uno, a la izquierda, bien claro y dos a la derecha, no resueltos en este gráfico (o apenas visibles) pero bien claros en la ampliación de la figura 8. La experiencia del químico le dice que se

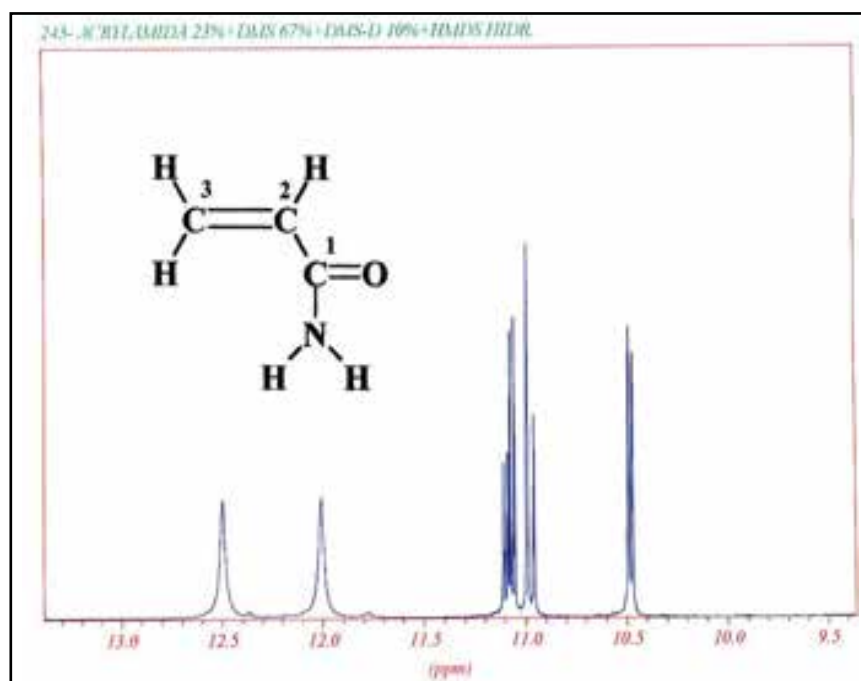


Figura 7: Espectro de RMN de la acrilamida y un ejemplo del tipo de información que es posible deducir del mismo: los dos picos de la izquierda son muy anchos pero de igual intensidad.

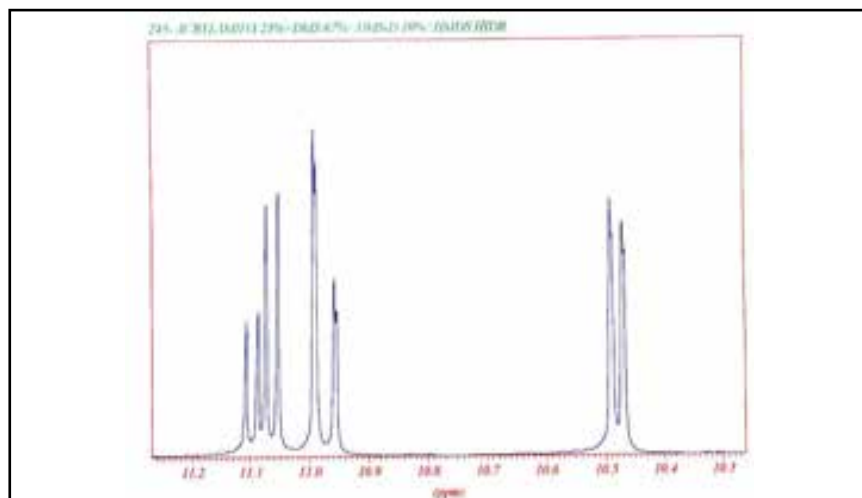


Figura 8: Detalle del ABC de la acrilamida, ampliación del grupo de la derecha de la figura anterior.

trata de un típico caso ABC y que el primer cuadruplete, (el bien visible, debido a un acoplamiento J más bien grande), es debido al hidrógeno de abajo del carbono C3. El segundo es debido al hidrógeno de arriba del mismo carbono mientras que el cuadruplete de extrema derecha es debido al tercer hidrógeno, el del carbono C2. Además, el hecho de que los dos hidrógenos del carbono C3 dan señales separadas, le muestra que la unión entre los carbonos C2 y C3 es rígida o sea que es una unión doble.

Al principio los aparatos utilizados eran construidos por los mismos interesados pero luego, visto el gran interés de los químicos, aparecieron aparatos construidos industrialmente que utilizaban campos magnéticos cada vez más intensos. Como ejemplo, el primer aparato construido comercialmente en Europa trabajaba a una frecuencia de 25 MHz mientras que el primero construido, con los mismos fines, en los E.E.U.U. trabajaba a 40 MHz siendo sustituido, al poco tiempo, por uno que trabajaba a 60 MHz. Un aparato semejante, adquirido por el CONICET, fue el primero en llegar al país.

La primera experiencia de este tipo que fue hecha en el país por el autor en la Universidad de La Plata en 1952 fue realizada a 15 MHz.

La demanda de equipos más y más poderosos fue en aumento y llegar a los 100 MHz no fue muy difícil. Pero los químicos pedían más y más. Sus demandas eran muy lógicas porque, en primer lugar, con mayores campos, más grandes serían las moléculas que se podría estudiar pues se separarían mejor las señales de los diversos grupos de átomos de hidrógeno. Además, la sensibilidad de la espectroscopía de RMN es bastante baja. La relación señal/ruido de la RMN es bastante mala puesto que la magnitud de las señales eléctricas que se obtienen es proporcional a la relación giromagnética, a la abundancia isotópica y a la cantidad de compuesto habitualmente disponible (que no siempre es mucha). Pero la señal crece mucho con la intensidad y la frecuencia del campo magnético, al duplicar el campo la señal que se obtiene es casi cuatro veces mayor. Por todo lo cual, con mayores campos sería posible obtener espectros de RMN de otros núcleos, especialmente de ^{13}C , el de mayor interés para los quími-

cos después del hidrógeno. Además, desaparecerían las molestas señales de segundo orden.

El electroimán clásico es un dispositivo de hierro de calidad y de forma especial, con un par de bobinas de alambre de cobre por las que circula una corriente eléctrica. Ésta produce bastante calor que debe ser disipado mediante abundante agua corriente de temperatura muy constante, para lo cual lo ideal es utilizar agua de pozo.

De paso diremos que el problema que restaba era la falta de estabilidad del campo magnético debido al límite de la técnica de la electrónica para controlar la estabilidad de una corriente eléctrica (una parte en 10.000) que nunca puede ser suficiente para la espectroscopía de RMN (una en diez mil millones). Cabe notar que una de las primeras aplicaciones de la resonancia magnética nuclear fue la utilización de la misma precisamente para estabilizar un campo magnético. Esa misma idea fue aprovechada para estabilizar el campo del espectrómetro utilizando, en los primeros tiempos, la resonancia del hidrógeno de algún compuesto auxiliar, por ejemplo el solvente usado para las muestras. En la actualidad se utiliza para eso la resonancia del deuterio de algún solvente deuterado (que tiene deuterio en vez de hidrógeno) que se usa para preparar la muestra para no molestar el registro del espectro del hidrógeno y/o del carbono.

Pero vamos a hablar algo acerca de la intensidad de los campos magnéticos utilizados habitualmente para darnos una idea de la magnitud del problema que le planteaban los químicos a los físicos.

Un motor eléctrico corriente o un transformador hacen ambos uso de un campo magnético que, expre-

sado en las clásicas unidades Gauss, no pasa de los 10.000 Gauss. Últimamente se ha decidido llamar Tesla a un campo magnético de 10.000 Gauss.

Se ha mencionado ya la experiencia de resonancia magnética nuclear realizada en la Universidad de La Plata. Esa fue hecha a 15 Mhz lo que significa que fue realizada con un campo de unos 3.500 Gauss, o sea, 0,35 Tesla. Pues bien, los espectrómetros que trabajan a 100 MHz lo hacen con un campo de 2,35 T (Tesla). Eso era lo máximo que era dable esperar de un electroimán con hierro.

Entonces los físicos recurrieron a uno de los fenómenos físicos más curiosos de la naturaleza: La superconductividad. El fenómeno consiste en que algunos metales, no precisamente los mejores conductores como el cobre o el aluminio sino algunas aleaciones, cuando se las enfría a 269 grados centígrados bajo cero, a sólo cuatro grados del cero absoluto la habitual oposición (resistencia óhmica) que tienen los metales al pasaje de una corriente eléctrica, desaparece por completo. De modo que, utilizando una bobina de un material superconductor podemos, aún utilizando alambres de un diámetro muy, pero muy pequeño, hacerle pasar una corriente intensísima sin que se quemen, ni siquiera que se calienten. Dándole ahora a la bobina dimensiones adecuadas y sin hierro alguno, podremos conseguir el campo que queramos.

Además, podemos prescindir del uso permanente de la fuente de poder que debe proveer la intensa corriente eléctrica necesaria para producir el campo magnético pues lo más maravilloso de la superconductividad es que, si una vez que se ha logrado producir el campo deseado unimos los alambre de entrada de

la bobina entre sí con una llave de material superconductor y desconectamos la fuente de corriente, la corriente circulará en la bobina eternamente (mientras mantengamos la bobina a -269°C).

Hace unos años apareció un reporte de un laboratorio que decidió apagar su equipo superconductor después de doce años de funcionamiento continuo porque ya era anticuado.

Lamentablemente, existe otro pequeño problema y es que, a medida que aumentamos la corriente en la bobina, aumenta el campo magnético que se va creando pero, hay un límite: el llamado "campo crítico". Ya que la superconductividad desaparece si el campo magnético sobrepasa ese valor, característico de cada material superconductor (aunque algo dependiente de la temperatura). Por esa razón, mientras los físicos estudiaban como resolver este nuevo problema, la potencia de los espectrómetros fue creciendo paulatinamente (así como su precio) desde los 220, luego 300, 350, 400, 500 Mhz hasta los actuales 900 Mhz.

Nótese que cada aumento de 100 Mhz, que parece mucho, no lo es tanto porque cada vez disminuye el aumento porcentual. Pero es tanto el interés de los usuarios que, los que pueden, no se fijan en eso. El costo de un equipo de 900 es muy alto. Entre otros, porque prácticamente hace falta disponer, al lado del espectrómetro, de una fábrica de helio líquido ya que su bobina superconductora trabaja, no a 269 sino a 271 grados bajo cero. Para conseguir eso se utiliza el efecto llamado de Joule-Thompson, que consiste en evaporar el helio líquido por bombeo, con lo cual baja (dos grados) su temperatura.

Por eso no sería raro que no se llegue nunca (en opinión del autor) a fabricar un espectrómetro de 1.000 Mhz, ya que su mejora del diez por ciento restante no lo justificaría. A menos que se descubra algún nuevo material superconductor muy, pero muy especial. Ya existe uno, pero no pueden hacerse bobinas con el mismo porque es cerámico o sea rígido.

Las ventajas de un equipo más moderno (aunque ya un poco anticuado como el de 500 MHz del LANAIS RMN 500 del CONICET

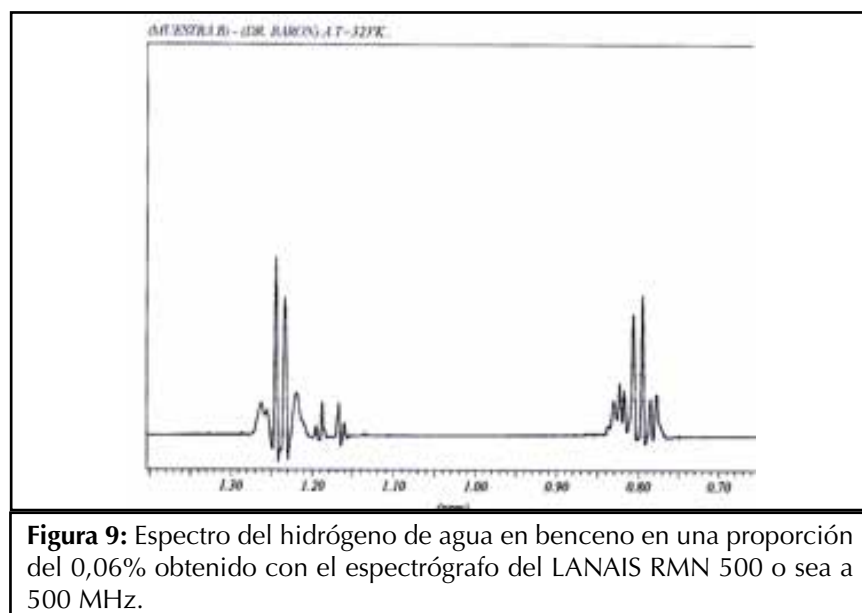


Figura 9: Espectro del hidrógeno de agua en benceno en una proporción del 0,06% obtenido con el espectrógrafo del LANAIS RMN 500 o sea a 500 MHz.

instalado en la Facultad de Ciencias Exactas) pueden verse en el espectro de la figura 9. Sólo con este equipo se pudo resolver lo que no fue posible hacer con un equipo de 200 MHz, de la misma facultad, por su mayor sensibilidad y su mayor poder resolutivo. El problema era el agua disuelta en benceno. Debido a que su concentración es de apenas el 0.06% (3).

Como casi todo el mundo sabe, la fórmula del agua es H_2O . Pero los teóricos afirman que para que se forme el agua, se debe unir una molécula a otra mediante lo que se llama una unión hidrógeno en la que el hidrógeno de una molécula se pega al oxígeno de otra y así otra y otra sucesivamente. Y calcularon la energía de unión para cada una de las sucesivas etapas.

La RMN demostró luego de un muy discutido análisis del espectro de la figura nueve que el agua llega al anillo bencénico ya como un dímero, o sea que vienen dos moléculas juntas, pegadas entre sí. Acerca de que el agua en la atmósfera es un dímero fue propuesto también por otros investigadores (ref. 6).

Veamos ahora otro problema: ¿cómo es posible comparar un espectro de RMN obtenido con un aparato con el espectro de otro, que trabaja a una frecuencia diferente? El asunto es sencillo: Dado que el valor de la frecuencia de resonancia es proporcional a la intensidad del campo magnético, la separación entre las señales también es proporcional a la intensidad del campo. En consecuencia, la posición relativa de las resonancias no varía, sino sólo su separación absoluta. Por eso se acostumbra hacer los registros utilizando una escala también relativa y, dado que las frecuencias son siempre del orden de millones de ciclos por segundo, se utiliza una escala

de partes por millón (ppm). Ésa, como es una escala "fraccionaria", es la misma para todos los aparatos.

Como ejemplo: El tamaño total de la zona donde aparecen las resonancias de los núcleos de hidrógeno es de unas 10-12 ppm mientras que la del ^{13}C es de unas 200 ppm, cualquiera que sea la frecuencia del espectrómetro utilizado.

Pero aparece ahora un problema práctico que es: ¿dónde está el cero de esa escala? Por consenso se ha elegido para el cero de la RMN del hidrógeno la señal de un compuesto llamado tetrametilsilano ($(Si(CH_3)_4)$) que aparece a la extrema derecha de casi todos los espectros conocidos de hidrógeno. Por conveniencia, también se ha adoptado para los espectros del carbono trece la señal del carbono de ese mismo compuesto.

El problema de la homogeneidad del campo magnético, problema que fue en aumento, se fue resolviendo progresivamente usando cada vez más cantidad de bobinas correctoras: hasta treinta y cuatro en los equipos más poderosos.

Lamentablemente, también fue en aumento la complejidad del proceso de ajuste de esas bobinas, tanto más difícil y laborioso cuanto más numerosas. Actualmente están en desarrollo métodos computacionales como por ejemplo el simplex, de la ingeniería, etc.

El problema de la extraordinaria estabilidad que se necesita (de una parte en 10^{10}) fue resuelto utilizando para ello, simplemente, la resonancia magnética nuclear de otro núcleo, el deuterio, con la cual se controla directamente el campo magnético. Hace falta controlarlo para evitar las variaciones del campo magnético ambiente en especial

del campo terrestre que es del orden de medio gauss y es variable. No hablemos de los trenes eléctricos que funcionan con corriente continua.

Un asunto muy importante, que también tuvo un desarrollo muy grande, fue el de como registrar ese conjunto de resonancias magnéticas nucleares que hoy se llama, por razones históricas, los espectros de RMN. Para la primera observación de este fenómeno, tal cual lo hizo Bloch y muchos otros investigadores (e.g. los de La Plata y los primeros equipos comerciales de 25, de 40 y de 60 MHz) era costumbre utilizar un generador de alta frecuencia ajustado a un valor fijo y se variaba la intensidad del campo magnético en busca de la resonancia, ajustando con un reóstato la corriente del electroimán (o barriendo el control de estabilidad del campo). Para saber cuando se estaba en resonancia, se modulaba ligeramente el campo magnético superponiéndole, mediante unas bobinas adosadas al efecto a las piezas polares del electroimán, una corriente alternada (la de la red urbana), variando así el campo magnético a un lado y a otro del valor nominal del campo aplicado. Se conecta luego la salida del amplificador de alta frecuencia, utilizado para detectar la resonancia, al eje "y" de un osciloscopio de rayos catódicos (el antecesor de los televisores) y al eje "x" del mismo la tensión alternada aplicada a las bobinas de modulación con lo que, al pasar el campo magnético por el valor necesario para la resonancia, se obtiene en la pantalla del osciloscopio una imagen del fenómeno (e.g. fig.1).

Pero este método sólo sirve para detectar, para ver la resonancia, mientras que a los químicos les interesa registrar, grabar las resonancias y medir el "chemical shift" de las mismas. Para eso los fabricantes

de instrumentos idearon un sistema para barrer el campo magnético entre un par de valores preestablecidos a una velocidad también prefijada. El resultado de ese barrido se dibujaba en un graficador ("plotter"). Con este método se obtiene el espectro pero con muy poca precisión. Se mejoró mucho la técnica cuando se optó por barrer la frecuencia de detección en vez del campo magnético, (mientras se mantenía éste muy estable mediante el enganche con la resonancia del deuterio). Se puede así obtener un registro con la escala del eje "x" muy bien definida, tanto en Herz como en ppm.

La introducción del método de registro de los espectros mediante el barrido de la frecuencia de excitación en vez del campo magnético aumentó notablemente la precisión con la que se obtenían los espectros, especialmente en la medición de los acoplamientos J. Además, trajo dos nuevas técnicas para realizar con mayor seguridad el análisis de los mismos una, llamada de doble resonancia y la otra, llamada INDOR (de Inter Nuclear Double Resonance, ref.3).

En aquel entonces, la publicación de un trabajo científico en el que se utilizaba los espectros de RMN exigía que el análisis de los mismos incluyera, como prueba de la corrección de su interpretación, la reproducción de los mismos mediante el cálculo matricial. Pero no era fácil interpretar los espectros porque eran muy complicados en parte por la cantidad de señales de hidrógeno de la molécula pero, más que nada, por la cantidad de efectos de segundo orden presentes.

Un método muy utilizado para simplificar un espectro de RMN es el llamado de doble resonancia o de desacople de uno de los núcleos, que se obtiene irradiando fuerte-

mente la señal de ese núcleo con un generador auxiliar, ajustando la frecuencia del mismo a la del núcleo molesto. Eso borra del mapa ese núcleo simplificando enormemente el espectro.

Con los espectrómetros modernos, e.g de 500 Mhz, se pueden obtener buenos espectros de carbono acoplado al hidrógeno, siendo éste todo un campo de acción para algunos investigadores. Pero la mayoría de los químicos prefiere que el hidrógeno no moleste, para lo cual se usa la técnica de desacople total para lo cual los espectrómetros modernos ya vienen bien preparados y con los mismos se pueden hacer desaparecer todos los hidrógenos de una muestra.

La técnica llamada INDOR también hace uso de un generador auxiliar de alta frecuencia que se para encima de una cierta línea del espectro (no sobre el grupo de líneas) con una baja potencia de RF, ajustada de tal modo que esa línea se satura parcialmente y su altura disminuye. Si ahora se barre sobre todo el espectro del modo habitual pero se registra la altura de esa señal, se observa que esta varía, sube o baja cuando el barrido pasa por encima de alguna línea del espectro que esté vinculada con la detectada por un acoplamiento J. De ahí se puede determinar el signo de ese J pues, al pasar por un doblete de ese otro núcleo, la señal detectada hace arriba-abajo o abajo-arriba según el signo de ese J.

A comienzos de la década de los años 60 ya existía en la Facultad de Ciencias Exactas de Buenos Aires un espectrógrafo de RMN de 60 MHz, adquirido por el CONICET, pero aún con barrido de campo. Este fue modernizado agregando al mismo un sistema de barrido de frecuencia construido en el mismo laboratorio.

Existía en ese entonces la duda de si una constante J podía o no ser negativa. Se dudaba porque la misma, siendo una energía, de ningún modo podía ser negativa. Ya se habían hecho elucubraciones al respecto y había quien insistía en la posibilidad de tal cosa. Ya mencionamos que el autor había demostrado que en caso ABX3 había ahí una J negativa, pero no podía deducir del análisis del mismo cuál era la J responsable, si la J-AX o la J-BX.

Lo anecdótico del caso fue que, en el Instituto Mellon, de Pittsburgh, E.E.U.U., un tal Dr. Castellano intentaba calcular, con ayuda de una computadora IBM 360, el espectro de la piridina. (Es un anillo algo parecido al anillo bencénico (C_6H_6) pero que tiene un carbono reemplazado por un nitrógeno y sólo cinco hidrógenos: C_5NH_5). Pero tenía un problema y era que la IBM insistía una y otra vez, que una de las Jotas era negativa, lo que no podía ser. El Dr.Castellano pasó casi un año buscando el error de su programa.

En ese entonces se pensaba, en el laboratorio de RMN de la facultad, en ensayar la técnica INDOR con el equipo allí construido para lo cual se decidió utilizar, para simplificar el problema, un derivado de la piridina que tenía uno de los hidrógenos reemplazado por un grupo CH_3 . Pero situado lejos del nitrógeno, ya que era allí donde había dudas acerca de la J que existía entre los hidrógenos situados a ambos lados del mismo pues era éste el que molestaba ensanchando las líneas de los hidrógenos haciendo que la identificación de las mismas (que eran ocho) fuera imposible.

Con la técnica INDOR, al hacerle cosquillas a una línea apropiada (una de las no ensanchadas por el molesto nitrógeno) se ve que le responde una sola de las ocho del

montón. Barriendo por sobre todos los dobletes existentes, obnubilados por el nitrógeno¹⁴, se puede determinar, como lo indica el párrafo precedente, donde está cada una de esas ocho líneas y determinar así su posición y altura relativas. Lo que sucedió fue que, trabajando en eso, el operador del espectrómetro (un alumno) vino y le dijo al autor: pero doctor, estas señales dan al revés. Pues claro, se le contestó, porque esa *J* es negativa. Y eso es evidente del mencionado diagrama de niveles de energía porque el orden de las líneas vinculadas entre sí depende de los signos relativos de las *J*'s.

El problema de la energía negativa lo resolvieron los físicos teóricos: Simplemente, porque no hay tal. Ocurre que la atmósfera electrónica de una molécula no es uniforme, no es homogénea. Hay zonas donde hay más o menos electrones que se mueven en uno u otro sentido. Y eso depende, a su vez, de varios factores matemáticos que pueden ser positivos o negativos. La interacción de un núcleo de hidrógeno sobre otro desvía la posición del segundo en un sentido o en otro, con una mayor o menor magnitud según cual sea el factor preponderante produciendo, eventualmente, un cruce entre las líneas, que es lo que llamamos un *J* negativo.

Cuando el Dr. Castellano se enteró de nuestro resultado quedó muy contento y propuso a uno de los miembros de nuestro grupo (la Dra. Dora Genijóvich de Kowalewski, fue quien propuso el compuesto más adecuado para el caso) publicar un trabajo en colaboración, dado que estaban trabajando ambos en las mismas piridinas.

La teoría de los acoplamientos *J* interesa mucho a los físicos teóricos, pero poco o nada (que el autor sepa) a los químicos.

Es necesario destacar en este punto que la técnica del desacople total es hoy de rutina y se la usa habitualmente para sacar espectros de carbono ¹³, la técnica INDOR es solo de interés histórico.

Volviendo ahora a los métodos de barrido ocurre que ambos métodos (el del campo y el de la frecuencia) presentan dos importantes inconvenientes: El primero es que no se puede barrer muy rápido porque las líneas (o picos de resonancia) se deforman mucho si se pasa por encima de las mismas muy rápido. (La deformación es algo así como lo que ocurre si uno quiere determinar la nota de una cierta cuerda de un instrumento musical de cuerdas dándole un golpe con el arco en vez de pasar suavemente por el mismo).

Y si uno quería eliminar (o, por lo menos, limitar la deformación de las líneas del espectro) se debe barrer muy, pero muy despacio lo que lleva mucho tiempo.

Pero estos métodos de registrar un espectro tienen un defecto congénito en materia de eficiencia temporal ya que al barrer la mayor parte del tiempo transcurre pasando por zonas donde no hay resonancias. Si, por ejemplo, tenemos un instrumento que trabaja a 100 MHz, toda la zona a utilizar (en el caso del hidrógeno) es de 10 ppm, o sea, 1000 Hz. Si lo que buscamos es un espectro que presenta, por ejemplo, 20 líneas y cada una con un semiancho de 0,5 Hz, sólo nos son realmente útiles 10 de los 1000 Hz registrados. Esta es la razón principal de la pérdida de tiempo.

Este problema fue resuelto utilizando un procedimiento matemático que se denomina transformada de Fourier. Este procedimiento, mejorado ad hoc por los matemáticos Cooley y Tookey para su uso con

computadoras, produjo una revolución en la espectroscopía de RMN, por lo que no podemos evitar de explicar algo de lo que es o, mejor dicho, de que es lo que hace esa transformada. Para eso vamos a recurrir a otro campo de la física: La acústica.

Todo el que se ocupó algo de música sabe que una misma nota, digamos un *do*₃ que implica unas mil y pico vibraciones por segundo, no suena igual en un instrumento, e.g. el piano que en otro, e.g. el violoncello. ¿A qué se debe eso? Pues a que la nota tocada en un instrumento dado tiene un cierto timbre, un cierto sabor, que es característico de cada instrumento y que uno puede reconocer sin mucha dificultad. ¿A qué se debe ese timbre? A que esa nota no es una nota pura (de 1000 ciclos, en nuestro ejemplo) sino que contiene armónicos. Es decir que al tocar esa nota el instrumento produce no sólo la fundamental sino también otras notas, más agudas que la fundamental (generalmente un múltiplo de esta última). Ese conjunto es diferente para cada instrumento (incluso a veces para cada nota) que es característico del mismo. (Igual que nuestro espectro de RMN, que es diferente y característico de cada compuesto).

¿Cómo podemos saber, al tocar una nota, cuáles y cuántas son las notas armónicas? La respuesta nos la da la transformada de Fourier.

¿Cómo se puede hacer eso? Como primera medida necesitamos conocer la forma de la onda producida por el instrumento, obtener su gráfico y registrarlo en la memoria de una computadora. Obtener lo que se llama en matemática un gráfico de la función que representa ese sonido.

Otro ejemplo: Supongamos un carillón como el de la torre de Pisa,

que tiene siete campanas. Una escala completa. Si el encargado hace sonar una de las campanas es fácil decidir, a simple oído, cual es la campana que sonó pero, si el encargado del carillón, con ayuda de algunos ayudantes, hace sonar varias campanas al mismo tiempo, cómo podemos decidir cuántas y cuáles son las campanas que sonaron? Eso nos lo puede decir la transformada de Fourier.

Como anécdota vale recordar que durante la Segunda Guerra Mundial una esquirla de bomba golpeó una de las campanas del campanario de la Torre de Pisa produciéndole una rajadura. Esa campana no dio más la nota que le correspondía. El autor no sabe si eso fue arreglado o no.

La transformada de Fourier tiene dos aspectos: está la directa y la inversa. Una permite decidir como es la forma de la onda sonora producida por el bochínche que hicieron los campaneros y la otra, dada la forma del bochínche, decidir cuales fueron las campanas tocadas.

Esto es lo que nos ocurre con la RMN: El campanario es la molécula, que nos da un bochínche cuando le aplicamos una patada a la misma. Un pulso de alta frecuencia, bien intenso pero sólo de algunos microsegundos de duración. Eso da lugar al bochínche que, en la jerga de la RMN, se denomina el FID (de Free Induction Decay) que es lo detectado y almacenado en la memoria de una computadora. Hecho esto, la misma aplica (a pedido) la transformada de Fourier y nos da todos los picos de resonancia, uno por uno, a medida que van saliendo en el graficador que las dibuja.

Todo esto sería quizás una fantasía si no fuera porque estamos en la era de la digitalización. Entonces se digitaliza el fenómeno o sea: Se

lo mide periódicamente y cada vez, durante un instante muy breve (del orden de microsegundos) y grabando en un archivo electrónico una tabla de valores que, dibujada en un osciloscopio, nos da la forma de ese bochínche.

Hecho esto la transformada de Fourier de lo grabado en el archivo nos da todas las notas del espectro de RMN. También como un conjunto de puntos, muy próximos, tantos como queramos. Por ejemplo, diez

para cada Herz de la escala. (Puntos que el graficador no separa sino que une en una línea continua).

Un ejemplo de esto, realizado en el LANAIS RMN 500 a la frecuencia de RMN del ^{13}C , lo podemos ver en las figuras 10 y 11. La primera muestra el fid que se obtiene del instrumento. La segunda muestra el resultado de aplicar la transformada de Fourier.

Evidentemente se requiere para

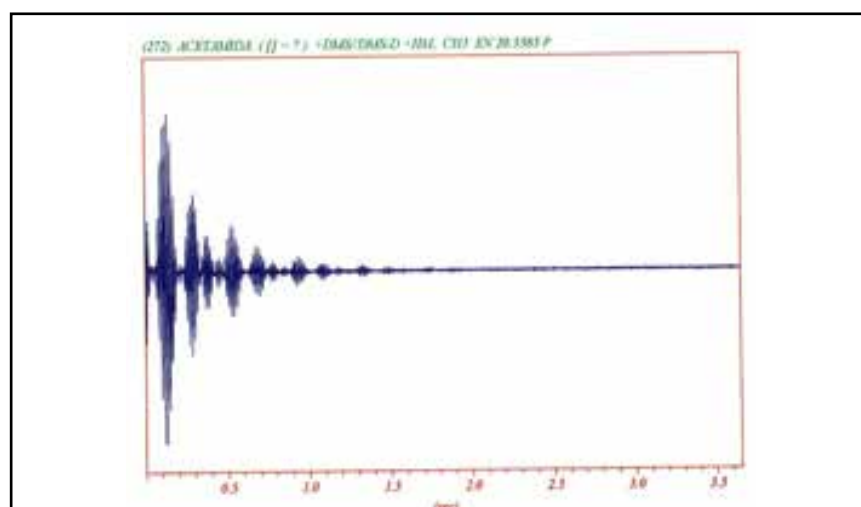


Figura 10: Ésta es la imagen de un fid (Free Induction Decay) de la resonancia magnética nuclear de un carbono 13 (^{13}C) acoplado a varios hidrógenos.

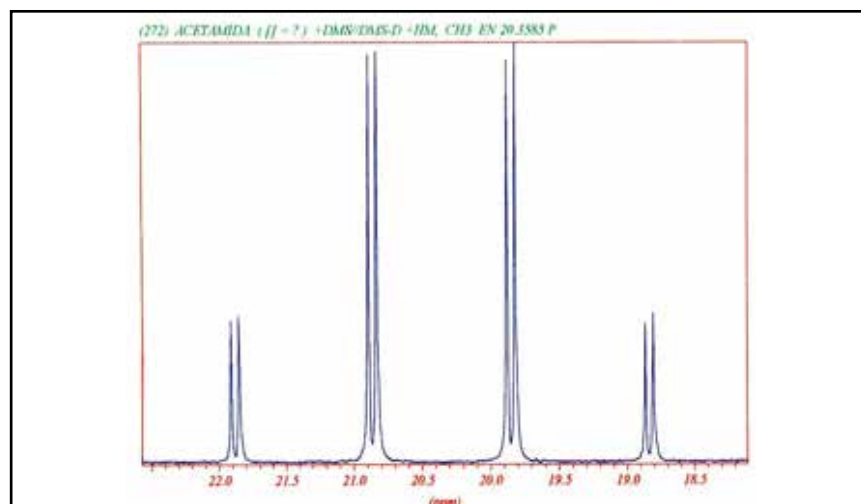


Figura 11: Éste es el resultado de aplicar la transformada de Fourier al fid de la figura anterior, que muestra un cuarteto de dobletes debidos, cada uno, a un acoplamiento relativamente lejano mientras que el cuádruplete en sí es debido a un grupo metilo (CH_3) próximo.

esto una computadora adecuada y un programa (software) también adecuado. Esto parecía una tarea muy difícil y larga para una computadora común hasta que unos matemáticos, Cooley y Tookey, hallaron que era fácil hacer rápidamente ese cálculo si la cantidad de puntos (datos) utilizados para la digitalización se hace numéricamente igual a 2^n (con n entero, e.g. 2^{10}) dado que entonces muchos parámetros se repiten, con lo que se ahorra mucho tiempo y trabajo).

Veamos ahora cuales son las ventajas de utilizar este método para sacar un espectro de R.M.N. Las razones son varias:

(1) La digitalización de la señal del bochínche nos da, en principio, todo el espectro en sólo algunos segundos, en vez de minutos, ya que registramos señales debidas únicamente a las resonancias y no al espacio intermedio vacío.

(2) Se puede repetir el proceso, aplicando otro pulso y otro y otro sucesivamente e ir archivando los datos de la digitalización en un mismo archivo, sumando punto a punto los datos que se van obteniendo.

Esto se realiza porque la señal eléctrica debida al conjunto de señales de la RMN se va sumando siempre, una a una, pero las señales del ruido intrínseco de la electrónica, que es débil pero que no se puede eliminar del todo, son aleatorias y, por lo tanto, de valor y aún de signo diferente en cada momento del registro. Por lo que no se acumula bien, como lo hace la señal, sino que lo hace a medias. (Una vez si, otra vez no, etc.). Con lo cual mejora mucho la relación señal/ruido.

Consecuencia: Hemos reducido el tiempo de registro de esa señal, que contiene toda la información

del espectro, a un centésimo (o un milésimo) del tiempo del método antiguo de registro. Y si ahora repetimos el experimento una y otra vez y acumulamos el conjunto de datos en un archivo único por un tiempo total igual a la suma de los tiempos de registro del método anterior, hemos aumentado en dos órdenes de magnitud sea la sensibilidad o más bien la eficiencia de nuestro instrumento. Si a eso agregamos que podemos, en rigor, acumular los fid 's todo el tiempo que queramos (e.g. todo un fin de semana) veremos que hemos aumentado la sensibilidad de nuestro espectrógrafo en varios órdenes de magnitud.

Esto hace posible trabajar cómodamente con el ^{13}C (el sueño de los químicos), así como también con ^{15}N , ^{17}O , ^{31}P , etc. Aun más si al mismo tiempo eliminamos (por doble irradiación) los efectos del hidrógeno de la molécula haciendo que cada señal, del carbono por ejemplo, quede convertida en un solo pico con la intensidad suma de todos los multipletes de cada uno de los espectros de los carbonos acoplados.

Otra ventaja muy importante: Que no se produce ninguna deformación por pasaje rápido sobre la línea de resonancia.

Una segunda revolución en la RMN la produjo un tal J. Jeener, quien, no siendo especialista en RMN pero si en matemáticas, en una reunión de especialistas en RMN planteó la cuestión de porque los NMR-istas utilizaban solamente la transformada de Fourier con una sola variable independiente, cuando ésta permite el uso simultáneo de dos (o más) variables independientes.

Quiere decir: La transformada de Fourier común se aplica a algo que,

como muchos otros tantos fenómenos, se puede representar simplemente en un gráfico plano con un par de ejes de coordenadas x e y que representa algo en función de algo. Por ejemplo, la intensidad de un sonido en función del tiempo. Pero podemos hacer también un gráfico, digamos, en perspectiva con tres ejes de coordenadas: x , y , z , los dos primeros en un plano y el tercero en la vertical, indicando como depende, por ejemplo, lo que representamos en el plano x,y de otro parámetro independiente, cuyo valor damos en el eje z . (por ejemplo, la temperatura o la frecuencia de resonancia de otro núcleo (e.g. ^{31}P)).

Fue toda una sacudida. De inmediato los NMR-istas pusieron manos a la obra y hoy se pueden contar más de un centenar de trabajos publicados con variaciones sobre ese tema (más de 100 variantes). En especial, Ray Freeman (un gran experto en RMN) fue quien mostró una de las primeras (y hermosas) aplicaciones de esta transformada de Fourier doble.

En un espectro de RMN complicado, sea por el tamaño de la molécula bajo estudio o por ser una mezcla de sustancias, un problema muy común, aún para los instrumentos más poderosos, es el traslapo o superposición parcial de grupos de líneas de diferentes hidrógenos, ya que la diferencia del corrimiento químico entre esos grupos es muy chica. Pues bien: Uno de los primeros programas que se hicieron utilizando una transformada de Fourier bidimensional (obra de Ray Freeman) permite hacer un gráfico en tres dimensiones en perspectiva, en el que los diversos multipletes debidos a los diversos grupos de hidrógeno aparecen, no uno al lado de otro, molestándose, como ocurre a menudo, sino uno detrás del otro, en fila india. De este modo resulta fácil

identificar que grupos de señales del hidrógeno presentan un mismo acoplamiento J determinando así qué hidrógeno está acoplado con cuál otro.

Aunque esto permite resolver

el problema del traslape de las señales de los grupos de resonancias, no elimina el trabajo de determinar, en base a la igualdad de los valores de los partimientos, cuales son los hidrógenos acoplados entre sí. Por eso pronto apareció toda una serie

de técnicas bidimensionales que no se preocuparon de la intensidad de las líneas sino de la interconexión de las mismas, en un simple plano.

Creemos que lo mejor para ver este método es mostrar una aplicación del mismo a un compuesto relativamente sencillo, como es el crotonato de etilo. (Es éste un ejemplo muy didáctico de un excelente texto sobre el tema: ref. 3).

Veamos primero como es el espectro de NMR de hidrógeno de este compuesto (fig. 13) y luego el de carbono de la misma, desacoplado del hidrógeno (fig. 14). Nuestro problema es determinar, primero, cuales son los núcleos de hidrógeno acoplados entre sí y luego a que núcleos de carbono están acoplados los mismos.

La figura 15 nos muestra el espectro bi-dimensional de ese compuesto. Lo primero que vemos es que, en vez de mostrar algo en perspectiva (como en la figura 12) vemos aquí una serie de manchas o de picos, vistos a vuelo de pájaro. Además de las escalas (en ppm) en los ejes horizontal y vertical se ha dibujado, al lado de cada eje, el espectro de hidrógeno del compuesto, a ambos lados del mapa cuadrado.

Es fácil ver que, en la diagonal que va de la izquierda-abajo hacia la derecha-arriba, se puede identificar el espectro del compuesto visto a vuelo de pájaro. Pero lo más importante son las manchas a ambos lados de la diagonal ya que, si trazamos líneas horizontales y verticales a partir de la misma y a ambos de sus lados, se puede ver que debemos pasar por algunas de las manchas exteriores. Eso ocurre simétricamente, por igual, tanto a la izquierda como a la derecha de la diagonal.

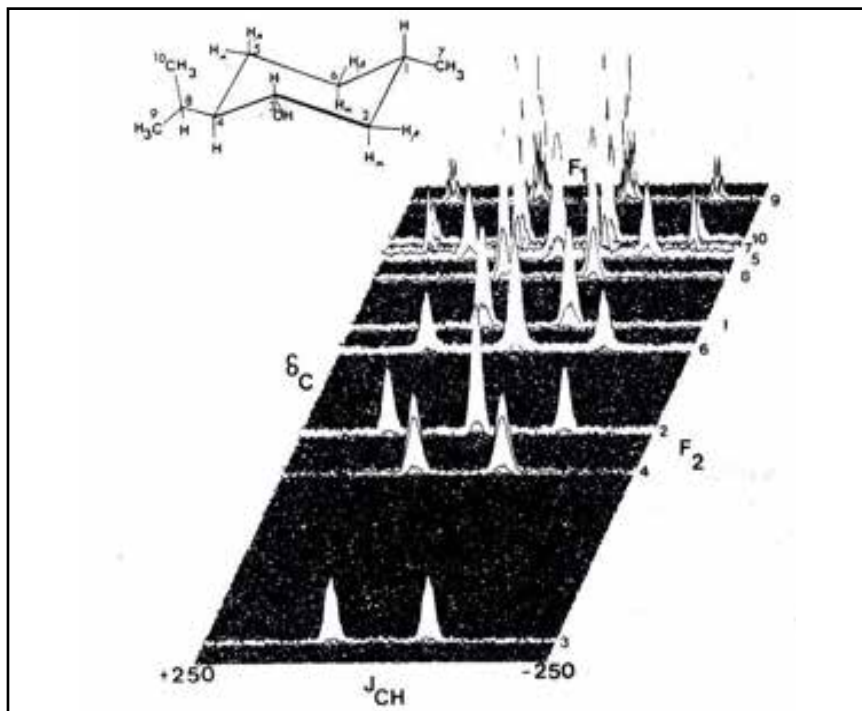


Figura 12: Espectro bidimensional del mentol en el que los partimientos figuran en el (clásico) eje x y los corrimientos o desplazamientos químicos en el eje y mientras que el eje z da, simplemente, la intensidad de las líneas.

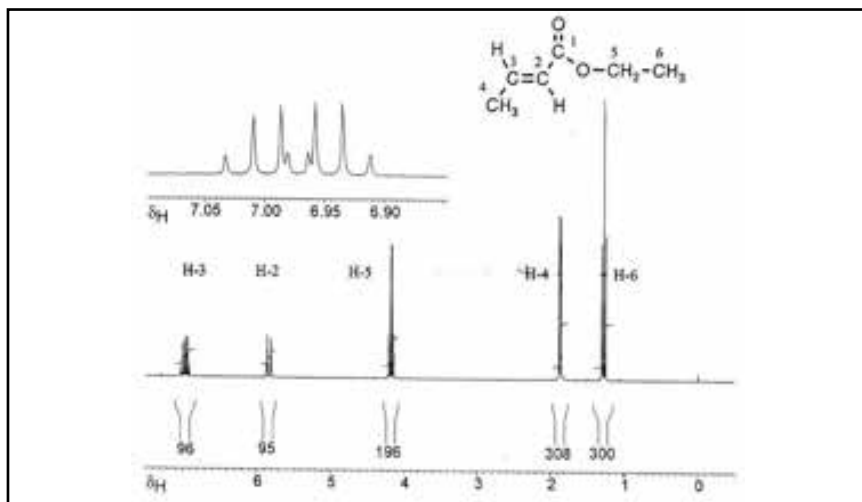


Figura 13: Espectro del hidrógeno del crotonato de etilo (cuya fórmula puede verse más arriba) obtenido a 300 MHz. En la parte superior izquierda, para más detalle, se puede ver la ampliación del espectro del H-3.

Se puede verificar (por el método clásico, por comparación de los partimientos, a veces visibles en el mismo espectro 2D) que las dos trazas hechas a partir de las manchas no diagonales, tanto la vertical como la horizontal, nos indican directamente cuales son los hidrógenos acoplados entre sí.

Naturalmente, el método de Freeman, pese a que es tan bonito, pasó

a la historia.

Probablemente el más importante, el más útil de estos métodos bidimensionales (2D) es uno en el cual, en vez de tener en cada eje el registro del espectro del hidrógeno, utiliza un eje para el hidrógeno y el otro para el carbono. De este modo se puede ver, de inmediato, a qué carbono está acoplado un cierto hidrógeno de la molécula bajo estu-

dio. Un ejemplo de esto puede verse en la figura 16. (Aquí no aparece, naturalmente, ninguna señal en la diagonal).

Es fácil ver que es éste un resultado de una importancia sencillamente extraordinaria para los químicos. Tan es así que, como se dijo ya, se fueron desarrollando diversas variantes de esa transformada bidimensional, con diversas mejoras, cada una de las cuales recibió un acrónimo tal como COSY, NOESY, ROESY, etc.

Esto parece ser el sùmmum de la información que es dable obtener mediante la RMN acerca de la estructura de una molécula. Pero, aún así, los químicos (y especialmente los biólogos) no estaban satisfechos sino que inventaron, además, los espectros 3D, en tres dimensiones. Un tal registro 3D aparece como un cubo transparente lleno de manchitas en el cual uno de los ejes es para el hidrógeno, otro para el carbono y el tercero una manchita en el espacio para el nitrógeno o el fósforo o lo que sea, a una cierta altura del eje *z*. De ahí, mediante proyecciones matemáticas sobre el plano *x,z* o el *y,z*, se obtiene la serie de los acoplamientos entre los diversos núcleos.

(Hay quien ha hecho incluso registros de RMN a cuatro dimensiones).

Mucha gente trabajó en este asunto. Los que más hicieron fueron R.R. Ernst y K.Wüthrich, Estos fueron los premios Nobel de química.

■ ADDENDA:

Puede haber llamado la atención de algún lector que, en todo lo anterior, sólo se habla de muestras líquidas y nada de muestras sólidas (la que en 1936 le hizo fracasar a Gorter). La razón es que, mientras que

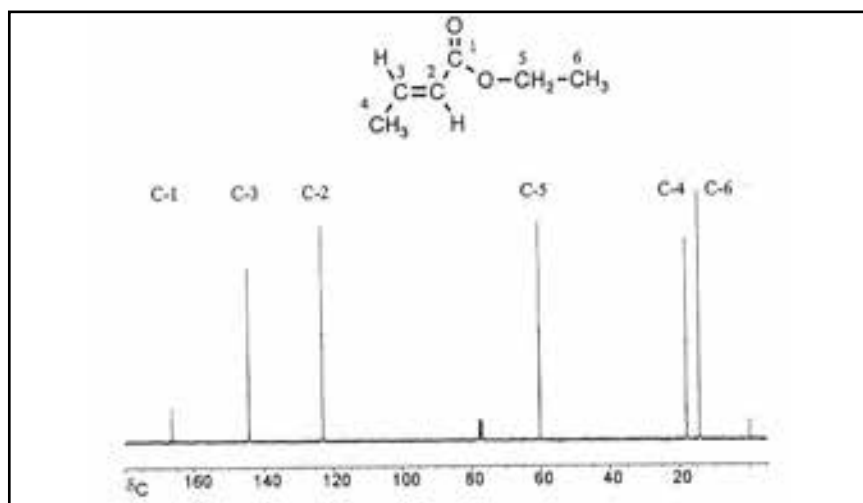


Figura 14: Espectro del carbono del mismo compuesto de la Fig. 13 en la que, para simplificarlo, se han eliminado los acoplamientos J de todos los hidrógenos mediante una fuerte irradiación de todo el espectro del hidrógeno.

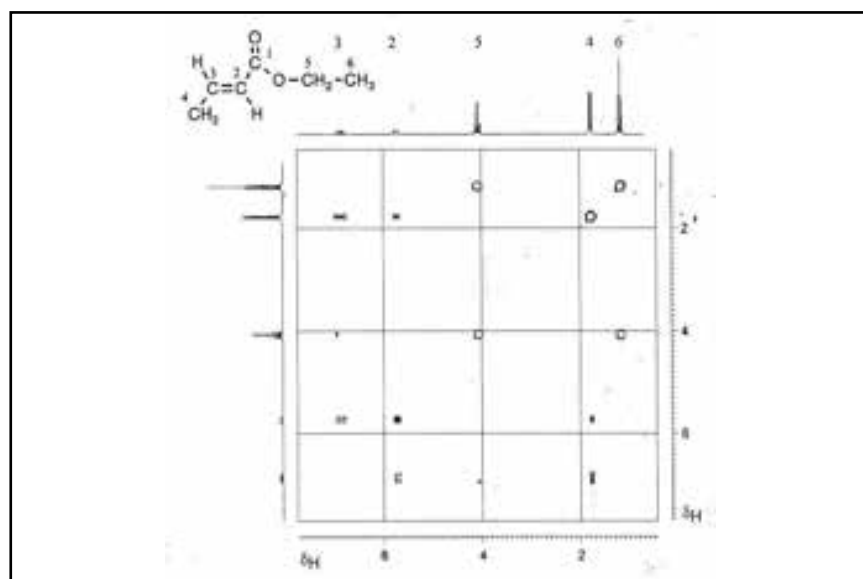


Figura 15: Espectro 2D (bidimensional) del hidrógeno del compuesto de la Fig. 13. Hay más detalles en el texto.

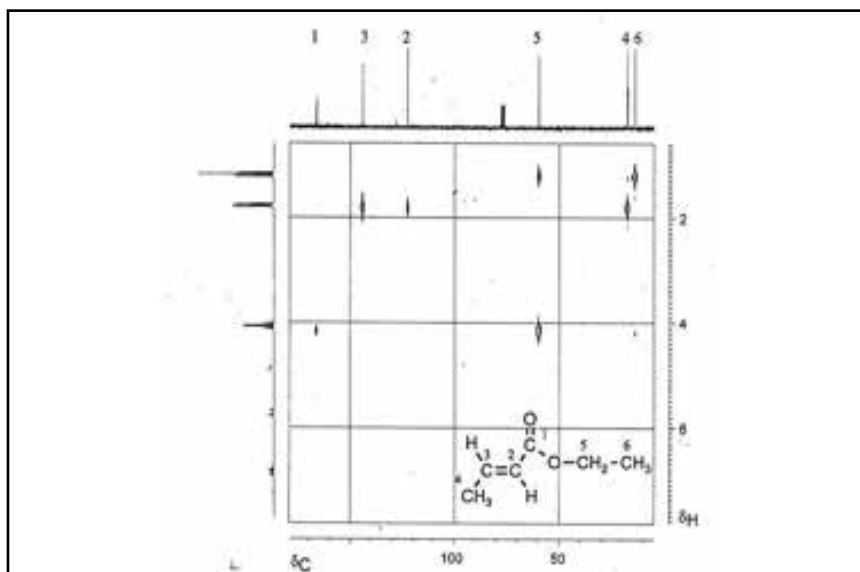


Figura 16: Espectro 2D (bidimensional) del mismo compuesto. Pero ahora completo mostrando la relación entre los espectros del hidrógeno y del carbono.

las muestras líquidas o soluciones de sólidos en solventes adecuados presentan mucha información por ser sus resonancias muy angostas (0.5 Hz o menos) los sólidos dan señales de resonancia pero de un ancho del orden de centenares o miles de Hz.

Sin embargo, hubo quien se interesó mucho por el tema, como por ejemplo E.R. Andrew, en Gales y J.S. Waugh en el M.I.T., quienes desarrollaron métodos que permiten reducir el ancho de las señales de sólidos a las decenas de Hz. Pero estos resultados, aunque de mucho interés para los dedicados a la física del estado sólido, no han tenido la trascendencia de la RMN de alta resolución. Por eso no los tratamos aquí.

■ LA MEDICINA:

Pero la más extraordinaria, una casi increíble aplicación práctica de la resonancia magnética nuclear fue en la medicina. Tan es así que dio lugar a dos premios Nobel. Nos

referimos a la producción de imágenes del interior del cuerpo humano mediante la RMN.

Naturalmente, ya existían otras técnicas para estos fines. En primer lugar los así llamados Rayos X. (Se los llamó así porque, al descubrirlos no se tenía idea de su naturaleza física). Se los utilizaba ya a principios del siglo pasado (e.g. María Curie se dedicó a sacar radiografías de heridos en el frente durante la Primera Guerra Mundial). Esta técnica permite ver una especie de sombra del interior pero sin definir la profundidad a la que están situados los órganos que producen esas sombras, una sobre otra. Es de gran utilidad para la visualización de los huesos y, a veces, de algunos órganos. Como curiosidad, no sirve para nada en problemas del cráneo ya que una radiografía del mismo lo muestra como si fuera la cáscara de un huevo (de avestruz) pero sin contenido alguno. Sin embargo, esto no quita que estos rayos permiten ver, por ejemplo, el estado de los pulmones.

Esta técnica fue, no hace mucho, superada por una variante de la misma denominada tomografía computada de rayos X. La misma consiste en el empleo de un aparato, bastante complicado, que posee un generador de rayos X especial que produce un haz muy delgado de rayos (a diferencia de un equipo clásico, que produce un haz amplio de los mismos). Este fino haz atraviesa el cuerpo humano y es detectado no por una placa fotográfica sino por un detector electrónico (CCD, una especie de célula fotoeléctrica). Luego el conjunto generador de los rayos X y detector giran ambos, uno frente al otro, alrededor del cuerpo humano (que está quieto) registrando lo que detecta el sistema y lo envía a una computadora. Un programa matemático adecuado transforma esos datos en una imagen plana que es una especie de rebanada del cuerpo humano. Y esto avanzando en espiral a lo largo del cuerpo humano, girando así unas diez o veinte veces. Así es posible localizar bien la parte del organismo que interesa al médico (e.g.. la nariz del autor con motivo de un accidente).

(Los autores de esta técnica recibieron, a su debido tiempo, el premio Nobel de medicina).

La segunda guerra mundial dio lugar a la visualización del cuerpo humano mediante un método derivado del sonar, dispositivo que se desarrolló para detectar submarinos sumergidos mediante ecos de ultrasonido (un sonido tan agudo que el ser humano no lo oye, pero los perros sí). Hoy en día es el método que permite ver un bebé en el seno de su madre o el estado de la válvula mitral de un corazón funcionando (Cosa que experimentó el suscrito, que tuvo la oportunidad de ver su propia válvula mitral, funcionando).

Pero esta técnica exige que el

sistema observado esté inmerso en agua, y ninguna de estas extraordinarias técnicas permite ver, por ejemplo, el interior del cráneo: el cerebro, los globos oculares, los músculos que los mueven, la circulación sanguínea, etc. Y eso lo permite solamente la resonancia magnética nuclear.

A esta altura el lector de este trabajo se preguntará cómo puede ayudar aún más la RMN a la medicina. No le basta con haberle dado tanta información sobre la estructura de las complicadísimas moléculas biológicas. Pues no, porque a los médicos y a los biólogos les gustaría utilizar la RMN in vivo. Claro está, un ser vivo es algo muy complicado pero ¿no podría sacarse un espectro de RMN de sólo una porción, (o de un pedacito), del interior de un ser vivo, por ejemplo, del hígado?

En principio es posible delimitar una zona de una muestra y sacar un espectro de esa única zona. Y eso, en principio, no es muy difícil. Supongamos, por ejemplo, que tenemos un tubo porta-muestras standard de RMN, de cinco milímetros de diámetro, con dos o tres centímetros de agua. Si sacamos su espectro, como esa muestra está situada en un campo magnético uniforme, todas las porciones de la misma resuenan, como es de esperar, a la misma frecuencia, cosa que vemos en el espectro como un (único) pico muy angosto.

Pero que pasa si el campo magnético no es uniforme sino que tiene un gradiente vertical. Debemos aclarar primero que se entiende por un gradiente. Decimos que un cierto campo de fuerzas (de cualquier origen que sea) tiene un gradiente en una determinada dirección, si esa fuerza crece (o decrece) a lo largo de esa dirección. Decimos que el gradiente es constante si varía lineal-

mente, o sea, con la misma velocidad en cada punto del espacio. O, más simplemente, que tenemos un gradiente uniforme.

Supongamos ahora que, mediante bobinas adecuadas, creamos en el campo del espectrómetro un gradiente lineal, vertical. ¿Qué nos mostrará ahora un espectro de nuestra muestra? Pues, dado que, para cada altura de nuestra muestra el campo magnético es diferente, cada trozo horizontal de la muestra dará una señal a una frecuencia diferente y el registro es un montón de líneas una al lado de otra, como están todas muy juntas se traslapan, se unen entre sí y lo que veremos en el espectro es una simple línea horizontal. Si el gradiente es uniforme, esa línea horizontal será una recta o sea que podemos determinar a que altura del tubo portamuestra está cada trozo de nuestra muestra por la frecuencia a la que aparece su señal.

En principio, podemos producir un gradiente tanto vertical, (arriba-abajo), como horizontal (adelante-atrás) e incluso en la dirección del campo magnético (izquierda-derecha). Podemos definir así un punto en el espacio. Con un conjunto de tales gradientes creados cada uno en el momento oportuno y aplicando cada vez un pulso de alta frecuencia para crear su fid y aplicando su transformada de Fourier, es posible determinar que hay en cada punto de la muestra.

Esto es posible pero no parece ser nada útil, ya que un espectro de un pedazo de muestra así definido, al no tener un campo uniforme, no nos daría jamás un espectro clásico pues no tendría resolución no presentaría líneas. De todos modos, algo daría. Pero ¿qué y por qué? Pues una cierta señal, aunque no tuviera detalle daría algo ya que su intensidad dependería de otros parámetros de la

RMN, como por ejemplo, la cantidad de agua presente en ese punto, su tiempo de relajación, etc.

Con un programa adecuado en la computadora, (y hay casi tantos programas como fabricantes de aparatos, que son alrededor de una docena) es posible repetir la experiencia, una y otra vez, recorriendo todo el volumen de la muestra y, si hay diferencias de un registro a otro, de un punto a otro, pues deberíamos verlas. Este problema (que es bastante difícil) fue encarado casi simultáneamente por P.C. Lauterbur y por Sir P. Mansfield. Aunque no se obtenían espectros de RMN se obtenía una imagen por puntos de la muestra que, si no era homogénea, mostraba algo de su estructura. Este es, a grosso modo, la manera de crear, mediante la RMN, imágenes de un cuerpo cualquiera (a condición de que contenga hidrógeno).

Demostrada la eventual utilidad de este tipo de registro, comenzó una intensa (casi febril) labor de los físicos para mejorar la calidad de esos registros. Ya que, siendo los seres vivos hechos de materia con abundante hidrógeno, se vislumbraba la posibilidad de obtener imágenes del interior del cuerpo humano, de sus órganos, especialmente de los que no son visibles mediante las técnicas habituales.

Es, quizás, anecdótico notar que el procedimiento matemático utilizado para producir imágenes, tanto con este método como el de tomografía de rayos X, se debe a un geólogo, Radon, quien a principios del siglo pasado estudió como atravesaban la tierra los temblores sísmicos y juntando todos los datos existentes llegó matemáticamente a la conclusión de que el interior de la tierra no es homogéneo sino que había una parte esférica central, sólida, alrededor de la cual hay, como ya sabe-

mos, un mar de lava. Este método de cálculo fue utilizado en el caso de la RMN, pero sólo inicialmente, porque fue rápidamente superado por toda una serie de procedimientos más adecuados para el caso.

Pero ninguna de las técnicas anteriores permite ver, por ejemplo, el interior del cráneo, el cerebro. Lo permite la resonancia magnética nuclear, nos referimos a lo que se llama actualmente, entre los médicos: una IRM (Imagen por Resonancia Magnética) que literalmente ha revolucionado las técnicas de las imágenes médicas, pues las ha superado a todas, (especialmente en el costo). Como oyó el autor decir a un médico, cuando esa técnica fue presentada en una exposición: Pero esto es una clase de anatomía.

El primer nombre que le dio uno de sus autores a esta técnica fue, por curiosas y muy complejas razones, ZEUGMATOGRAFÍA pero como a nadie le gustó no se usó.

Todos los métodos anteriores se utilizan aun hoy porque son muy útiles en muchos casos. Por ejemplo los rayos X clásicos son los más adecuados para ver los huesos de un miembro o una cadera o una radiografía computada para ver bien los detalles. (Como el ya mencionado caso de los huesos de la nariz del autor). Pero las Imágenes por Resonancia Magnética son realmente increíbles pues permiten ver cosas anteriormente imposibles, impensadas. Por ejemplo, el cerebro humano, los globos oculares con sus músculos, la circulación de la sangre y, últimamente, todos los detalles músculos, tendones, en brazos, piernas, etc., anteriormente invisibles (salvo cirugía).

Veamos ahora una pequeña muestra de lo que se puede obtener, hoy en día (2005), con algunos de

los aparatos más modernos. Decimos modernos porque usan campos muy intensos. Nos referimos a

campos de 4 y aún 8 Tesla, mientras que los actuales usan alrededor de 1 Tesla.

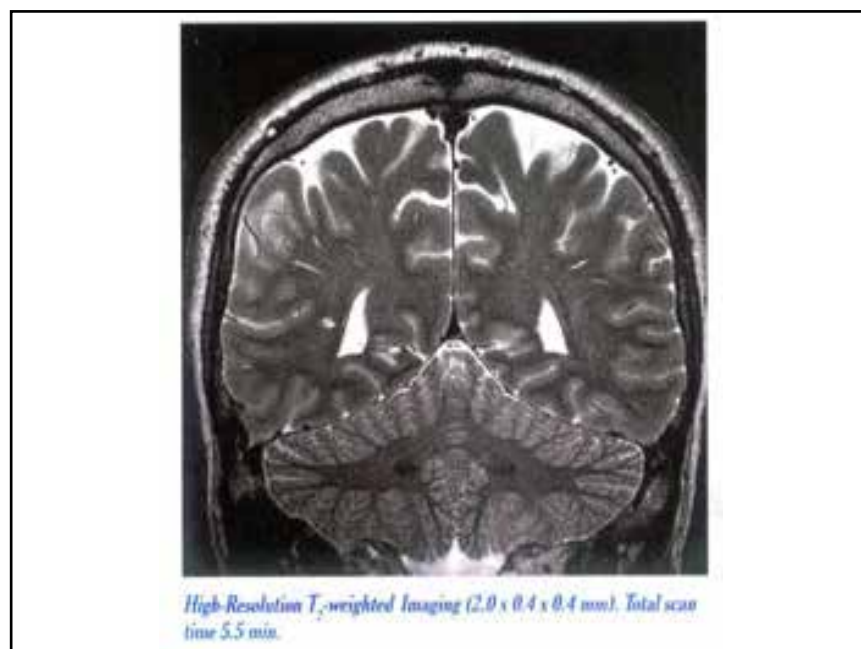


Figura 17: Imagen por resonancia magnética nuclear de una rebanada de un cerebro humano en vista sagital de adelante-atrás, obtenida con una resolución de 2,0x0,4x0,4 mm (volumen de la muestra detectada cada vez) con un campo de 4 Tesla. (Bruker, MedSpec@4T)

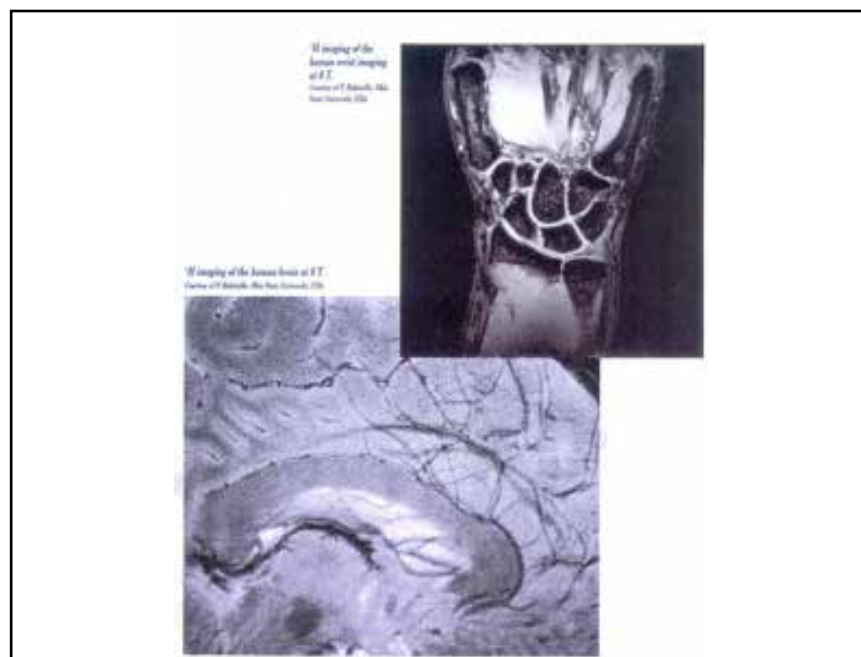


Figura 18: Esta es una muestra de lo que es posible obtener en una IRM utilizando campos cada vez más intensos. Estos fueron obtenidos con un campo de 8 T. La imagen superior es la de los tendones de una muñeca humana. (Nótese la ausencia de imágenes de huesos). La inferior es un detalle de un cerebro humano (Bruker, MedSpec@4T).

El problema del uso de campos más intensos no era un problema de los campos sino de la RMN en sí: el corrimiento químico, ya que el cuerpo animal no sólo contiene tejidos con agua sino también con lípidos y éstos dan una segunda imagen desplazada de la anterior por el chemical shift ensuciando la del agua.

El problema se resolvió utilizando campos bien intensos como para separar bien las dos imágenes y elegir luego la del agua. Veamos dos ejemplos, uno realizado a 4 Teslas y el otro a 8 Teslas. El primero muestra en la figura 17 una imagen sagital de una rebanada de 2 mm de espesor y con una resolución (detalle) de apenas 0,4 x 0,4 milímetros!

Uno de los problemas de la técnica de IRM era el problema de los

movimientos. Se requiere absoluta inmovilidad. El movimiento de los pacientes es controlable mediante apoyos adecuados. El movimiento del corazón, con sus latidos, es controlable sacando instantáneas en sincronismo con los latidos del corazón pero ¿el fluir de la sangre?

El movimiento de los fluidos era ya un problema en algunas aplicaciones industriales de la RMN pero a los médicos les interesaba la irrigación sanguínea, como siempre vinieron en ayuda los físicos y, convirtiendo defecto en virtud, desarrollaron un método para ver solamente la sangre circulando. Un ejemplo de esto puede verse en la figura 19, que muestra (en blanco y negro) la irrigación del cerebro (del autor, para variar) que, según los médicos, es muy buena.

■ EL EQUIPO DE IRM Y SU USO

Creemos que corresponde ahora dar una somera descripción de cómo es un equipo de Imágenes por Resonancia Magnética, de como lo ve un paciente y de como lo sufre.

Costó mucho trabajo desarrollar los métodos y el software utilizados hoy en día para producir las imágenes (tan es así que hoy hay casi tantos métodos cuantos fabricantes hay de equipos) así como para construir los aparatos adecuados para estos fines. Veamos, en primer lugar, el aparato:

Lo primero que se necesita es un campo magnético bastante intenso, bastante uniforme (aunque no tanto como el de un espectrógrafo) pero bien extenso, como para que quepa ahí un cuerpo humano. Esto se resuelve mediante un solenoide o sea una bobina de dimensiones adecuadas.

Es interesante hacer notar que en 1959 se comentaba entre los NMRistas de la Universidad de Uppsala, (Suecia) que algún día habrá solenoides grandes como para que quepa dentro un ser humano.

No es difícil hacer una tal bobina que recorrida por una corriente adecuada y provista por un generador suficientemente estable pudiese proveer el campo magnético necesario. Naturalmente haría falta, así mismo, un sistema de enfriamiento para mantener todo esto a una temperatura constante, etc. Quedaría el problema del enorme consumo de energía y de la estabilidad de ese campo magnético, igual que con los espectrógrafos de RMN (aunque no tan serio).

Se llegó a la conclusión de que la mejor solución era utilizar una bobina superconductora. Eso requie-

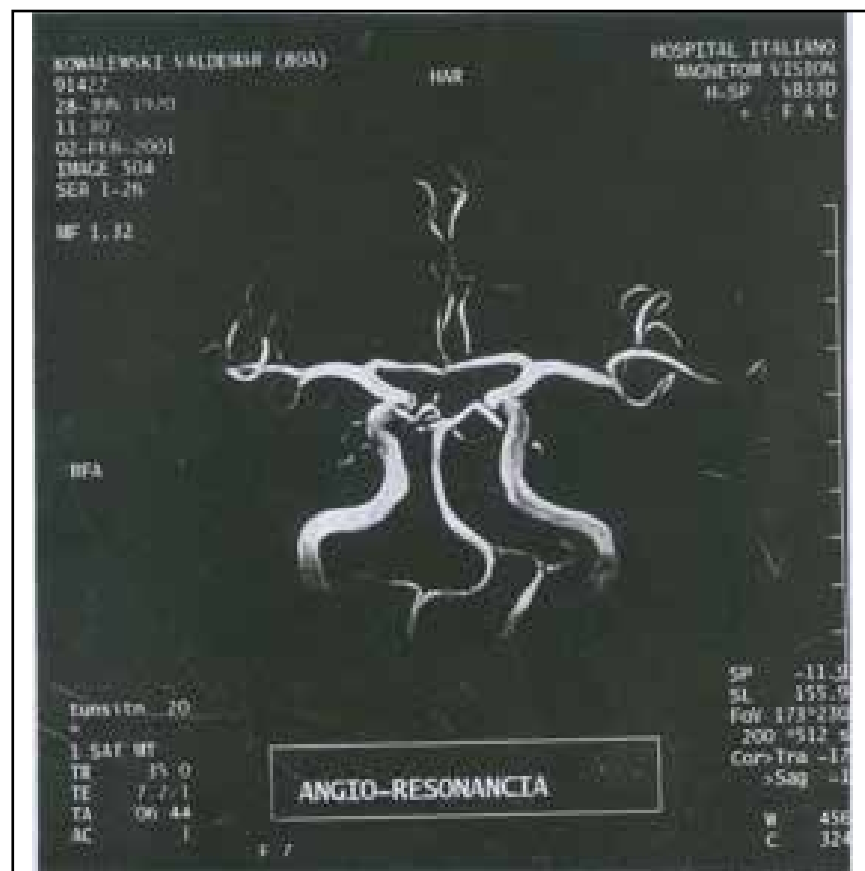


Figura 19: Imagen por resonancia magnética nuclear de la irrigación sanguínea de un cerebro humano.

riría un termo bien grande, pero eso ya no es un problema serio. Lo serio es la provisión del helio líquido porque el helio es muy caro debido al trabajo de su liquefacción. Además, no es muy abundante. Existe como parte del gas natural pero en nuestro gas natural hay sólo un cuatro por ciento de helio que no justifica (por ahora, creo) su extracción. Según informes del autor, el gas natural de Polonia tiene algo así como 15 a 18 por ciento.

En suma, el helio hay que importarlo y traerlo ya licuado, a 269 grados bajo cero y, además, por vía aérea.

El helio se va evaporando, inexorablemente. En algunos lugares se recoge el helio gaseoso y se lo comprime en cilindros de acero como es costumbre con el oxígeno, etc. Se lo envía luego a empresas (que no son muchas) las que, previa purificación, proceden a licuarlo.

Resuelto el problema del campo magnético se requiere un complicado equipo electrónico: De alta frecuencia, de baja frecuencia y de computación. Esta maquinaria es mucho más complicada que la de los espectrógrafos de RMN. Requiere un amplificador de alta frecuencia de mucha potencia y un sistema electrónico y de computación de control para generar los pulsos. Se necesitan, además, gradientes controlables de campo magnético. Estos deben ser alimentados, a su vez, por pulsos de corriente muy intensa. La computadora también debe ser especial no sólo por su tamaño sino también por su velocidad.

El uso de esa maquinaria trae a veces problemas con algunos pacientes. A algunos les impresiona mucho verse metidos en ese tubo que les produce claustrofobia. Luego, la necesidad de que el paciente

no se mueva en absoluto hace necesario trabar sus movimientos con accesorios adecuados. Al cabo de todo eso se pone en marcha el aparato. En éste, las bobinas que producen los gradientes pulsados de campo magnético se sacuden a cada pulso. Se utilizan varias series de pulsos y cada serie produce un ruido como el de una ametralladora y todo eso dura alrededor de un cuarto de hora.

Evidentemente, todo esto impresiona un poco. Por suerte, el paciente no siente absolutamente nada (salvo el ruido). Aunque, en algunos casos, al estudiar la cabeza el paciente puede ver unos ligeros destellos de luz, totalmente inocuos.

Además de los equipos médicos y de los equipos de imágenes para estudios biológicos "in vivo" que son equipos más chicos y de mejor resolución (nitidez), existen los que llaman microscopios de RMN, que dan imágenes de rebanadas de un milímetro de espesor y resolución mejor que un décimo de milímetro.

Además, como las muestras para esos estudios son generalmente pequeñas, se los puede estudiar con campos muy intensos, de modo que no hay problemas de sensibilidad.

■ ANEXOS

Anexo I: Imágenes de RMN

Como una pequeña muestra el autor tiene el agrado de mostrar algunas imágenes de resonancia magnética de la cabeza del mismo que no tienen, en rigor, nada interesante porque no muestran nada anormal ya que, habitualmente, lo más visible es lo anormal como p.ej. un tumor el que, por tener un tiempo de relajación T1 mucho mayor de lo habitual, es bien visible.

La técnica presenta sus resultados también como una serie de rebanadas de algunos milímetros de espesor con una resolución del orden del milímetro (valores hoy superados). La IRM (Imagen por Resonancia Magnética) de la Fig. 1 es

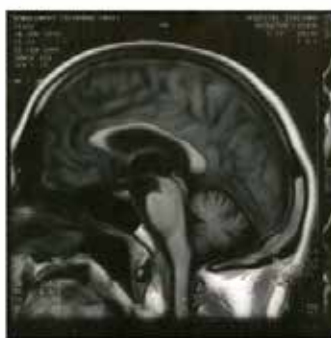


Fig. 1

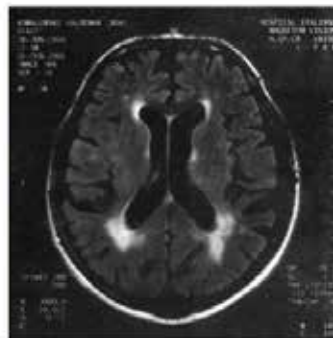


Fig. 2



Fig. 3

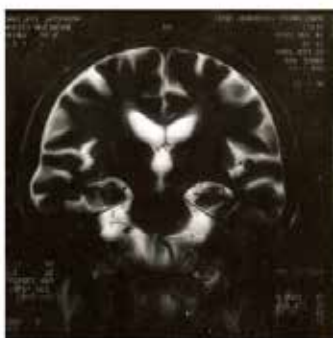


Fig. 4

la de una cabeza vista lateralmente. Las siguientes figuras 2, 3, 4 son de la misma en rebanadas horizontales a diferente altura. Las imágenes no son muy lindas en parte porque los equipos utilizados no son de último modelo pero, más que nada, por dificultades de reproducción gráfica. (Debe tenerse en cuenta que el médico ve estas imágenes mediante una "caja de luz", que no fue posible incluir en este trabajo). De todos modos son notables las imágenes de los ojos, absolutamente imposibles de ver por otras técnicas.

Y en la figura 5 tenemos la oportunidad de ver lo que es el sueño de los biólogos: Una laucha lista para ser NMR-ada "in vivo". Ya existen máquinas diseñadas para el estudio in vivo de animales más grandes, como por ejemplo, la clásica rata blanca y otros aun mayores. Los proveedores de equipos proveen también los accesorios necesarios para esta técnica.

También existen modelos especiales para objetos chicos que tienen una resolución del orden del centésimo de milímetro.

Anexo II. LISTA DE LOS PREMIOS NOBEL VNCULADOS A LA RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR, DIRECTA O INDIRECTAMENTE

1) En Resonancia Magnética Nuclear y / o aplicaciones de la misma:

Felix Bloch, Premio Nobel en Física en 1946

Edward M. Purcell, Premio Nobel en Física en 1946

Richar R. Ernst, Premio Nobel en Química en 1991

Kurt Wüthrich, Premio Nobel en Química en 1991

Paul C. Lauterbur, Premio Nobel en Medicina en 2003

Sir Peter Mansfield, Premio Nobel en Medicina en 2003

2.) En temas anexos a la misma:

Alxeij A. Abrikosow, Premio Nobel en Física (Teoría de la superconductividad).

Viytalij L. Ginzburg, Premio Nobel en Física (idem, idem).

Isador I. Rabi, Premio Nobel en Física en 1944 (Resonancia Magnética Nuclear en haces de hidrógeno).

■ REFERENCIAS:

1. Kowalewski V.J., Kowalewski D.G. de. (1960) J.Chem.Phys. 33, 1794.

2. Mavel G. et al. (1966) Théories Moléculaires de la Résonance Magnétique Nucléaire", Paris.

3. Kowalewski V.J., Emsley J.W., Feeney J., Sutcliffe, L.H. (Eds) (1969), Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, Vol 5, Pergamon Press.

4. Baron M., Kowalewski V.J. (2006) The Liquid-Water Benzene System, The Journal of Physical Chemistry, A, June.

5. Braun S., Kalinowski H.O., Berger S. (1996) 100 and More Basic NMR Experiments, Ed. VCH.

6. Pfeilsticker K., Lotter A., Petters C. Bösch H. (2003) Science, 300, 2078.

■ NOTA:

Varios de los gráficos y fotografías de esta obra son cortesía de Publicaciones VCH y de Bruker Biospin.



Recuperación de tecnologías ancestrales y sustentables en Jujuy

La vicuña como modelo de producción sustentable

Ciencia e historia se unen para preservar a la vicuña

*Cazando vicuñas anduve en los cerros
Heridas de bala se escaparon dos.*

*- No caces vicuñas con armas de fuego;
Coquena se enoja, - me dijo un pastor.*

*- ¿Por qué no pillarlas a la usanza vieja,
cercando la hoyada con hilo punzó ?
- ¿Para qué matarlas, si sólo codicias
para tus vestidos el fino vellón ?*

Juan Carlos Dávalos, Coquena

Lo primero es pedir permiso a la Pachamama. Porque a ella, en la cosmovisión andina, pertenecen las vicuñas que se extienden por el altiplano de Perú, Bolivia, Chile y Argentina. Una ceremonia ancestral, unida a la ciencia moderna, permite que comunidades y científicos argentinos exploten de manera sustentable un recurso de alto valor económico y social.

La vicuña es una especie silvestre de camélido sudamericano que habita en la puna. Hasta 1950-1960 estuvo en serio riesgo de extinción debido a la ausencia de planes de manejo y conservación. Desde la llegada de los españoles se comenzó con la caza y exportación de los cueros para la obtención de la fibra, que puede llegar a valer U\$S600 por kilo, lo que llevo a la casi desaparición de estos animales. Por ese entonces, la población de vicuñas en América era cercana a los 4 millones de ejemplares, en 1950 no eran más de 10.000.

A fines de la década del 70 Argentina, Bolivia, Chile, Perú y Ecuador firmaron un Convenio para la conservación y manejo de la vicuña que permitió recuperar su población hasta contar en la actualidad con más de 76 mil ejemplares en nuestro país.

En Santa Catalina, Jujuy, a 3.800 metros sobre el nivel del mar, investigadores de CONICET, junto a comunidades y productores locales, han logrado recuperar una tecnología prehispánica sustentable para la obtención de la fibra de vicuña. Se trata de una ceremonia ancestral y captura mediante la cual se arrean y esquilan las vicuñas silvestres para obtener su fibra. Se denomina chaku y se realizaba en la región antes de la llegada de los conquistadores españoles. Según Bibiana Vilá, investigadora independiente de CONICET y directora del grupo Vicuñas, Camélidos y Ambiente (VICAM) *"Hoy podemos pensar en volver a hacer ese chaku prehispánico sumado a técnicas que los científicos aportamos para que las vicuñas pasen por toda esa situación sufriendo el menor stress posible. Las vicuñas vuelven a la naturaleza, la fibra queda en la comunidad, y nosotros tomamos un montón de datos científicos."*

El chaku

El chaku es una práctica ritual y productiva para la esquila de las vicuñas. Durante el imperio inca, las cacerías reales o chaku eran planificadas por el inca en persona. En esta ceremonia se esquilaba a las vicuñas y se las liberaba nuevamente a la vida silvestre. La fibra obtenida era utilizada para la confección de prendas de la elite y su obtención estaba regulada por mecanismos políticos, sociales, religiosos y culturales. Se trata de un claro ejemplo de uso sustentable de un recurso natural. Hugo Yacobaccio, zooarqueólogo e investigador principal de CONICET, explica que *"actualmente el chaku concentra hasta 80 personas, pero durante el imperio inca participaban de a miles. Hoy las comunidades venden esa fibra a acopiadores textiles y obtienen un ingreso que complementa su actividad económica principal, el pastoreo de llamas y ovejas"*.

El proceso comienza con la reunión de todos los participantes, luego toman una sogá con cintas de colores reunidos en semicírculo y arrean lentamente a las vicuñas guiándolas hacia un embudo de red de 1 km de largo que desemboca en un corral. Cuando los animales están calmados se los esquila manipulándolos con sumo cuidado para reducir el stress y se los libera. Hoy, 1500 años después del primer registro que se tiene de esta ceremonia, la ciencia argentina suma como valor agregado: el bienestar animal y la investigación científica. En tiempo del imperio Inca, el chaku se realizaba cada cuatro años, actualmente se realiza anualmente sin esquila a los mismos animales *"se van rotando las zonas de captura para que los animales renueven la fibra"* explica Yacobaccio. Según Vilá *"es un proyecto que requiere mucho trabajo pero que demuestra que la sustentabilidad es posible, tenemos un animal vivo al cual esquilamos y al cual devolvemos vivo a la naturaleza. Tiene una cuestión asociada que es la sustentabilidad social ya que la fibra queda en la comunidad para el desarrollo económico de los pobladores locales."*

Yanina Arzamendia, bióloga, investigadora asistente de CONICET y miembro del equipo de VICAM, explica que se

esquilan sólo ejemplares adultos, se las revisa, se toman datos científicos y se las devuelve a su hábitat natural. Además destaca la importancia de que el chaku se realice como una actividad comunitaria *“en este caso fue impulsada por una cooperativa de productores locales que tenían vicuñas en sus campos y querían comercializar la fibra. Además participaron miembros del pueblo originario, estudiantes universitarios y científicos de distintas disciplinas. Lo ideal es que estas experiencias con orientación productiva tengan una base científica.”*

Paradojas del éxito.

La recuperación de la población de vicuñas produjo cierto malestar entre productores ganaderos de la zona. Muchos empezaron a percibir a la vicuña como competencia para su ganado en un lugar donde las pasturas no son tan abundantes. En este aspecto el trabajo de los investigadores de CONICET fue fundamental, según Arzamendia *“el chaku trae un cambio de percepción que es ventajoso para las personas y para la conservación de la especie. Generalmente el productor ve a las vicuñas como otro herbívoro que compite con su ganado por el alimento y esto causa prejuicios. Hoy comienzan a ver que es un recurso valioso y ya evalúan tener más vicuñas que ovejas y llamas. Nuestro objetivo es desterrar esos mitos”,* concluye.

Pedro Navarro es el director de la Cooperativa Agroganadera de Santa Catalina y reconoce los temores que les produjo la recuperación de la especie: *“Hace 20 años nosotros teníamos diez, veinte vicuñas y era una fiesta verlas porque habían prácticamente desaparecido. En los últimos años se empezó a notar un incremento y más próximamente en el último tiempo ya ese incremento nos empezó a asustar porque en estas fincas tenemos ovejas y tenemos llamas”.* Navarro identifica la resolución de estos problemas con el trabajo del grupo VICAM: *“Yo creo que como me ha tocado a mí tener que ceder en parte y aprender de la vicuña y de VICAM, se puede contagiar al resto de la gente y que deje de ser el bicho malo que nos perjudica y poder ser una fuente más productiva.”*

La fibra de camélido

Además de camélidos silvestres como la vicuña o el guanaco, existen otros domesticados como la llama cuyo manejo es similar al ganado, para impulsar la producción de estos animales y su fibra, el Estado ha desarrollado dos instrumentos de fomento. En la actualidad se encuentran en evaluación varios proyectos para generar mejoras en el sector productor de fibra fina de camélidos que serán financiados por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Se trata de dos Fondos de Innovación Tecnológica Sectorial destinados a la agroindustria y al desarrollo social que otorgarán hasta \$35.000.000 y \$8.000.000 respectivamente. Los proyectos destinados a la Agroindustria son asociaciones entre empresas y organismos del sector público con el objetivo de mejorar la calidad de la fibra de camélido doméstico a partir del desarrollo de técnicas reproductivas, mejoramiento genético e innovaciones en el manejo de rebaños; incorporar valor a las fibras a partir de mejoras en la materia prima o el producto final; permitir la trazabilidad de los productos para lograr su ingreso en los mercados internacionales y fortalecer la cadena de proveedores y generar empleos calificados.

La convocatoria Desarrollo Social tiene como fin atender problemas sociales mediante la incorporación de innovación en acciones productivas, en organización social, en el desarrollo de tecnologías para mejorar la calidad de vida de manera sostenible y fomentar la inclusión social de todos los sectores. Otorgará hasta \$8.000.000 por proyecto que mejore las actividades del ciclo productivo de los camélidos domésticos, la obtención y/o el procesamiento de la fibra, el acopio, el diseño y el tejido, el fieltro y la confección de productos.

