

Espectros de protón con desacoplamiento de carbono trece

Noviembre 2013

El acoplamiento escalar ^1H - ^{13}C da lugar a un doblete en el espectro de protón. Debido a que la abundancia del ^{13}C es de un 1.1%, la intensidad de cada uno de los componentes del doblete es sólo de un 0.55 % de la señal central (correspondiente a los protones unidos a carbono doce). Por esta razón, la presencia de los denominados satélites de ^{13}C suele pasar desapercibida en los espectros de protón, excepto en señales de gran intensidad. No obstante, los satélites de ^{13}C pueden interferir en la definición de las zonas de integración para efectuar una cuantificación o dificultar la detección de señales minoritarias próximas a otras de mayor intensidad en mezclas complejas. La adquisición del espectro de protón con desacoplamiento de ^{13}C es la solución a estos problemas.

En el desacoplamiento de banda ancha de ^{13}C o ^{31}P , el amplio rango de desplazamientos obliga a la utilización de potencias elevadas durante el tiempo de adquisición. La conjunción de potencias elevadas y su utilización durante un tiempo relativamente prolongado puede poner en riesgo la sonda y la muestra debido al calor que se genera. Para reducir estos problemas es necesario:

- Ajustar previamente la sintonía.
- Utilizar un modo de desacoplamiento muy eficiente. Por ejemplo, adiabático y emplear la menor potencia posible (aunque sea a costa de reducir la ventana de desacoplamiento).
- Reducir el tiempo de adquisición a menos de un segundo. Incrementar el tiempo de espera entre pulsos ($\approx 10\text{s}$) para que la temperatura se recupere.

A modo de ilustración se ha probado el desacoplamiento de ^{13}C en BB con una muestra de heparina en D₂O, problemática por su elevado contenido en sales. A pesar de adoptar todas las precauciones, la eficacia del desacoplamiento es menor que con muestras en disolventes orgánicos y con una fuerza iónica menor.

En los equipos Varian de la Unitat hay dos procedimientos para realizar este experimento:

Opción 1. Utilización de la secuencia **Bilevel decoupling**¹, disponible en los equipos Varian con VNMRJ3 o superior. La secuencia permite el desacoplamiento de los satélites de ^{13}C utilizando dos niveles de potencia y unas condiciones poco agresivas con la sonda y muestra. De este modo, se evita que la muestra y las bobinas de la sonda se calienten, afectando al lock y a la calidad del espectro. En el ensayo con la muestra de heparina se utilizó dof=0, que corresponde aproximadamente al centro de la ventana de ^{13}C , el rango de desacoplamiento se fijó en 150 ppm. El tiempo entre pulsos fue de 8 s y el tiempo de adquisición de 1s.

En la figura 1 se comparan las ampliaciones de la zona de los N-acetilos de la heparina de los espectros con y sin desacoplamiento. Se observa la desaparición total de los satélites de ^{13}C , destacándose claramente la señal de acetato, antes oculta por el satélite. En las muestras de heparina esta zona es muy crítica ya que a 2.15ppm es donde puede aparecer la señal de la contaminación de OSCS que invalidaría la muestra. Aunque a 500 MHz hay una pequeña separación entre la señal del satélite y la contaminación, el registro del espectro con desacoplamiento BB de ^{13}C es una buena opción en caso de duda.

¹ ERIKS KUPC^ˆE, RAY FREEMAN, GERHARD WIDER, AND KURT WÜTHRICH, Suppression of Cycling Sidebands Using Bi-level Adiabatic Decoupling, JOURNAL OF MAGNETIC RESONANCE, Series A 122, 81–84 (1996)

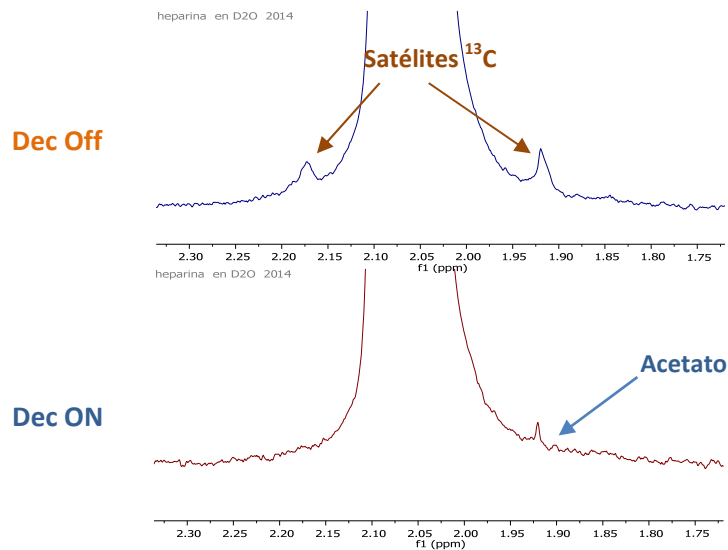


Figura 1

Opción 2. Aplicación del desacoplador de modo análogo al utilizado en los experimentos de heterocorrelación HSQC. Las condiciones utilizadas para la muestra de heparina son: AT=0.6s; d1=10s; dn=C13; dof=-7800; dpwr=40; dmf=32258, decwave = **W40_one**.

En este caso el sistema es más “fácil” pero menos efectivo. Por las características de la muestra, a diferencia de otros ensayos realizados con muestras disueltas en cdcl3, el valor de dof tuvo que ajustarse de modo que estuviera situado en las proximidades de los ^{13}C a desacoplar. Así, se observa la desaparición total de los satélites para dof comprendidos entre -7000 y -9000. En el caso de dof entre -1000 y -7000 el desacoplamiento es parcial, con una disminución progresiva de la J_{CH} residual (figura-2).

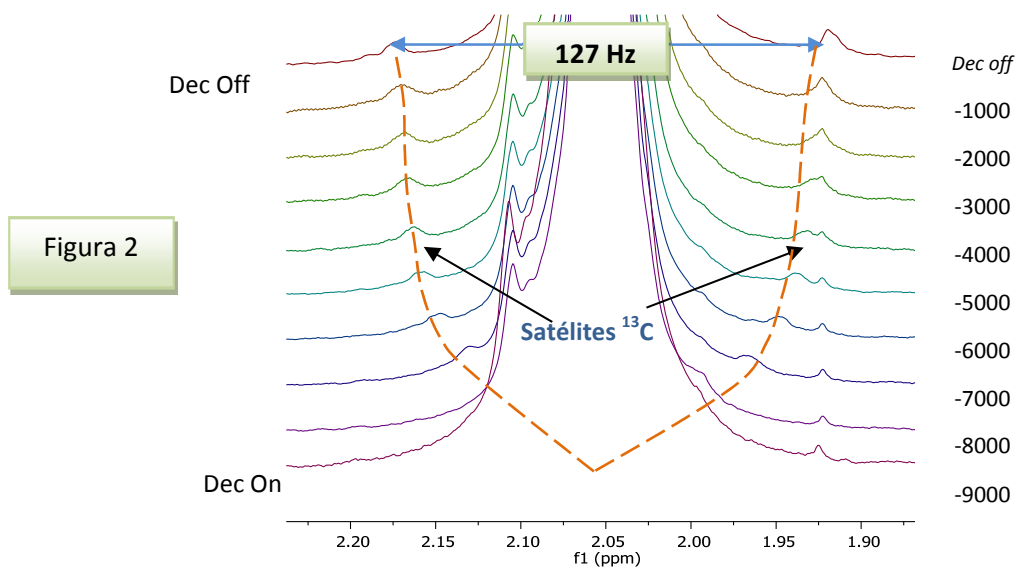


Figura 2

Todos los espectros han sido realizados en el equipo VNMR500S, La utilización de tiempos de adquisición pequeños ocasiona una disminución de la resolución en el espectro que se traduce en un ensanchamiento de las señales en relación al espectro convencional.