

## Sensibilidad en $^{13}\text{C}$ con la sonda fría Prodigy

Tal como se observa en la expresión\* de la figura 1, la sensibilidad en RMN depende entre otros factores del campo magnético, abundancia natural del núcleo que se observa, razón giromagnética de los núcleos que intervienen en el experimento, etc.

$$\frac{S}{N} \propto NAT_s^{-1} B_0^{3/2} \gamma^{5/2} T_2^*(NS)^{1/2} \quad \text{Figura 1}$$

En base a estos parámetros y para un mismo campo magnético, se puede establecer la relación de sensibilidad entre diversos núcleos.

Relación de sensibilidades				
(se asigna al protón arbitrariamente valor 1)				
Protón	$^{19}\text{F}$	$^{31}\text{P}$	$^{13}\text{C}$	$^{15}\text{N}$
1	0,83	0,066	$1,76 \times 10^{-4}$	$3,84 \times 10^{-5}$

Para un mismo núcleo y experimento, la sensibilidad será más elevada cuanto mayor sea el campo magnético utilizado. No obstante, en esta afirmación hay una simplificación excesiva, ya que se ha dejado de lado un factor importante, como son las características y prestaciones de la sonda de detección. Con las criosondas y las sondas para volúmenes pequeños se obtiene un significativo aumento de sensibilidad, que compensa la utilización de equipos con un menor campo.

La criosonda multinuclear Prodigy, instalada en el Bruker 400, permite un aumento de sensibilidad de 2\_3 veces en comparación con una sonda estándar. Lo que supone una gran ventaja en la observación de los núcleos menos sensibles como el  $^{13}\text{C}$ . Para poner de manifiesto las posibilidades de esta sonda se han comparado los espectros de  $^{13}\text{C}$  adquiridos en tres de los equipos de la Unidad: Mercury 400 (ATB), VNMRS500 (Oneprobe) y B400 (Prodigy). Los espectros se han realizado con la misma muestra (26,8 mM de estradiol), parámetros de adquisición equiparables y con el mismo número de acumulaciones, obteniéndose un incremento significativo de la relación S/N con la sonda fría, tal como se puede ver en la figura 2.

Para  $^{13}\text{C}$ , la sensibilidad del B400 (Prodigy) es casi tres veces superior a la del Mercury400 y el doble que la del VNMRS500 con sonda BB. También se ha comprobado que el Bruker400 con criosonda tiene una sensibilidad mayor a la del Bruker 600 con una sonda multinuclear convencional.

**Ventajas.** La mayor sensibilidad, a efectos prácticos se traduce en tres posibilidades para el usuario.

- Poder obtener espectros con una mejor relación S/N, manteniendo el tiempo y la cantidad de muestra igual (figura 2).
- Reducir el tiempo para la obtención del espectro, manteniendo la cantidad de muestra (figura 3 y 4). Para una muestra con 26,8 mM se obtiene un espectro razonable en sólo 15-20 minutos.
- Poder obtener espectros con una menor cantidad de muestra. Ejemplo de una muestra de prednisolona de 1,3 mg/ml (figura 5)

\*TIMOTHY D W CLARIDGE High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry

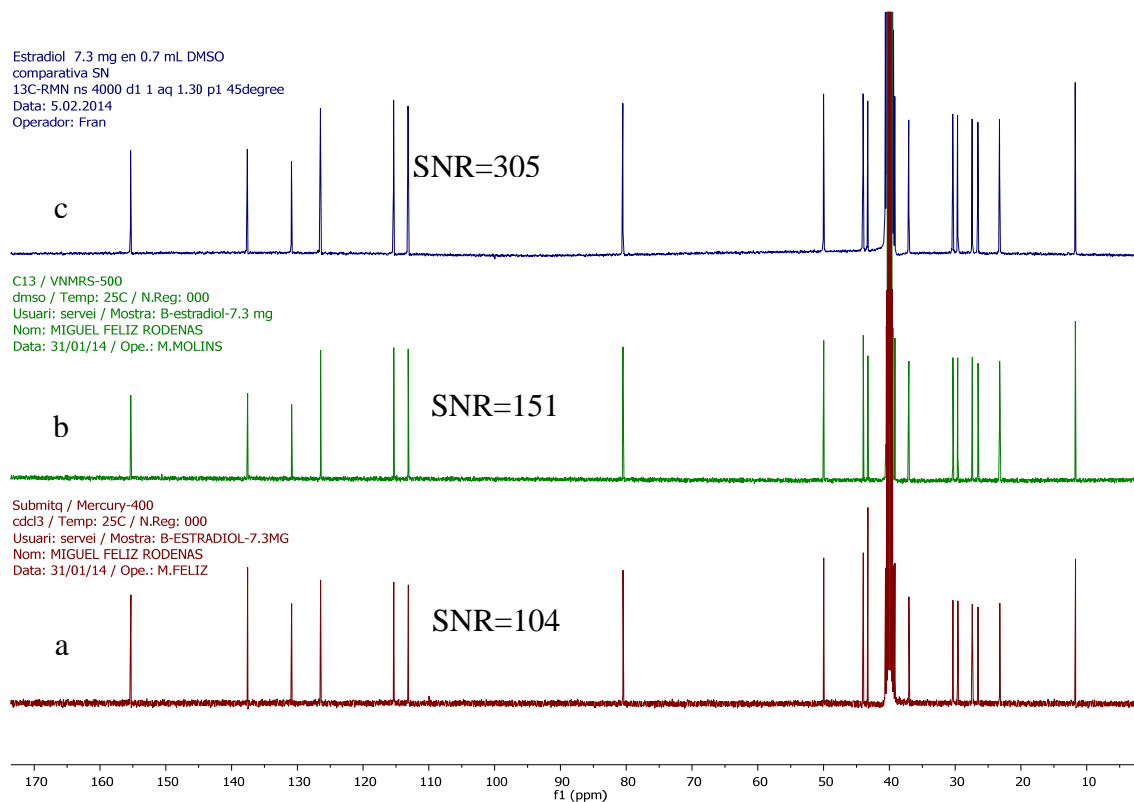


Figura 2 Espectros de 13C en M400 (a), V500 (b) y B400 (c), en todos los casos se realizaron 4000 acumulaciones

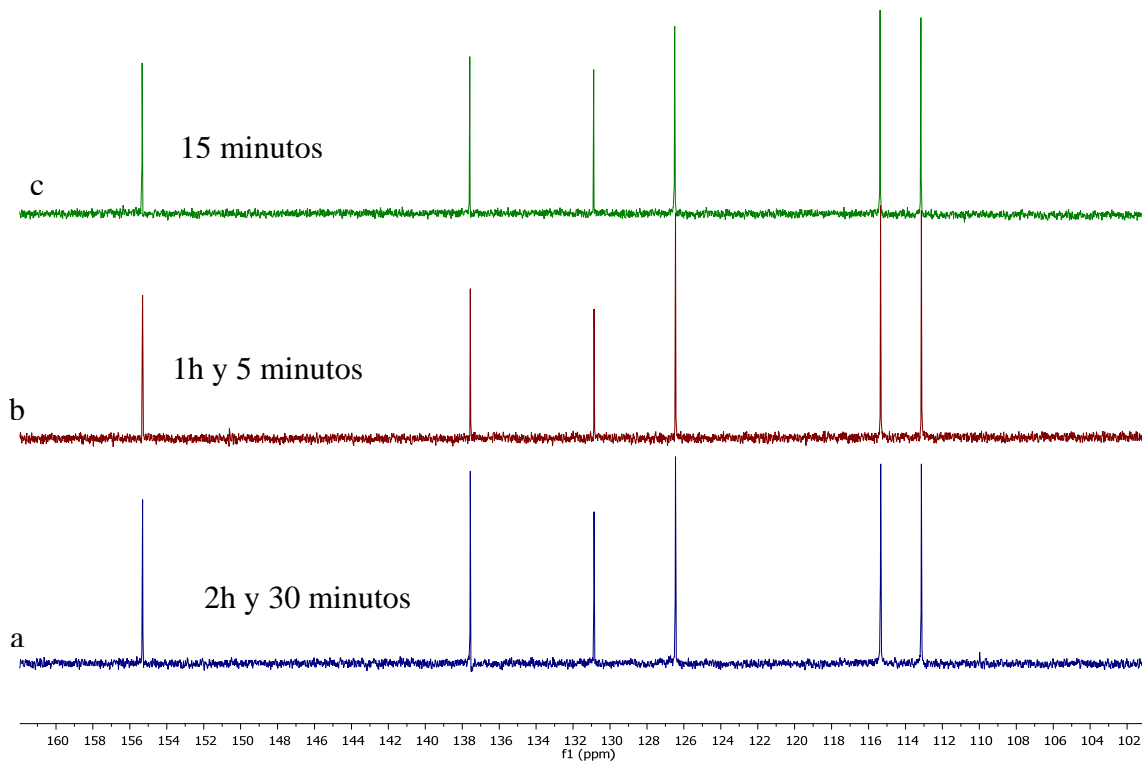


Figura 3 Espectros de 13C en M400 (a), V500 (b) y B400 (c) realizados para obtener una relación S/N igual

En las graficas de crecimiento de la relación S/N de la figura 4, se puede observar que la utilización de un equipo con una sensibilidad base (S/N<sub>i</sub>) más elevada, como el B400 con la sonda Prodigy, tiene ventajas significativas cuando la cantidad de muestra es limitada.

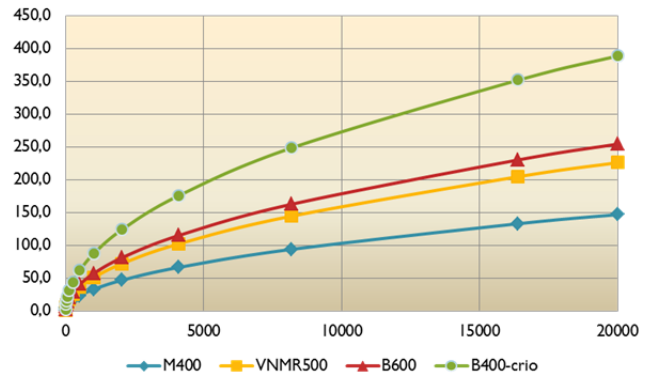
Debe tenerse en cuenta que la relación S/N evoluciona según la expresión

$$S/N_x = S/N_i \sqrt{vnt_x}$$

Por lo que para tener el doble de relación señal/ruido deben realizarse cuatro veces más de acumulaciones.

Figura 4 Curvas de crecimiento de la relación S/N calculadas en base a la relación SN del test de sensibilidad

Estimación de la mejora de la SN en <sup>13</sup>C vs acumulaciones



Si el tiempo de acumulación en el equipo de 400 con sonda estándar no supera la hora, concentraciones de unos 70 mM, el diferencial no es tan elevado y pueden primar otras consideraciones de orden logístico.

**¿Dónde está el límite?** A pesar de no haber realizado una comprobación exhaustiva, podemos indicar que en el B400-Crio el límite para la obtención de un espectro de <sup>13</sup>C en una noche (12-14h) está en una concentración proxima a 1mM. En el equipo de 500 para obtener un espectro similar se precisarían dos días y en Mercury400 no es viable. Con concentraciones proximas a 3-4 mM, se pueden obtener espectros de <sup>13</sup>C con una relación S/N aceptable en sólo unas 1-3 horas en el B400-Crio y 12 horas en el 500.

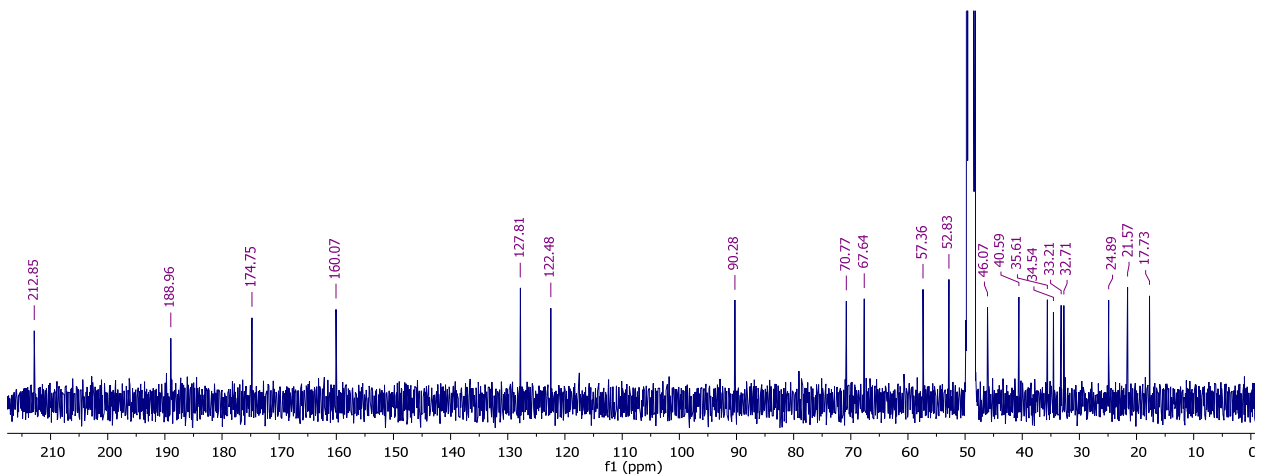


Figura 5 Espectro de <sup>13</sup>C, prednisolona 1.3 mg /ml en cd3od (1,7 mM), 2.000 acumulaciones (1,2 h)

Los tiempos y relaciones S/N pueden cambiar de modo significativo en función de la pureza de la muestra analizada