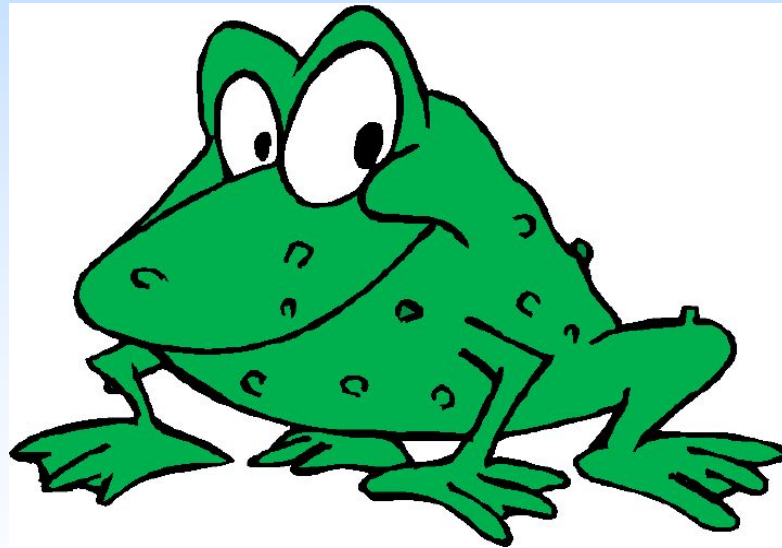
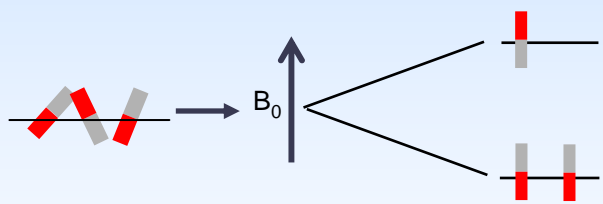
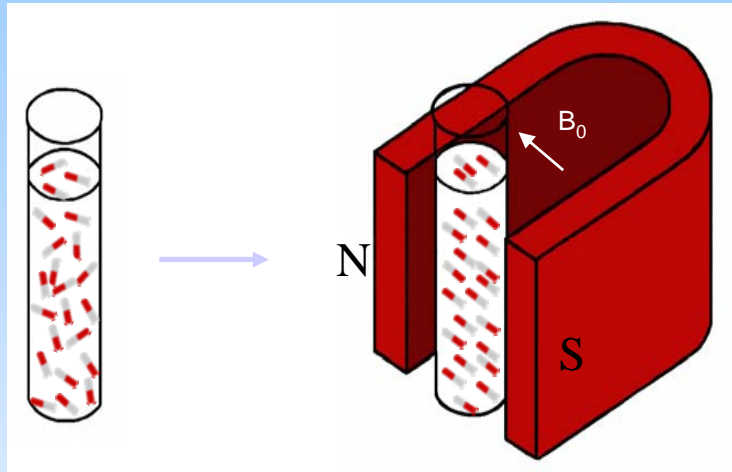


Danseed 20.marts 2007

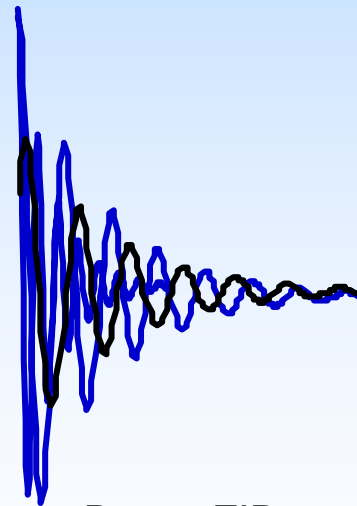
Når der går frø i Nuclear Magnetic Resonance (NMR)



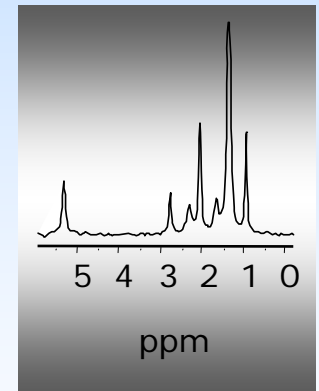
Princippet bag NMR



RF puls



FT



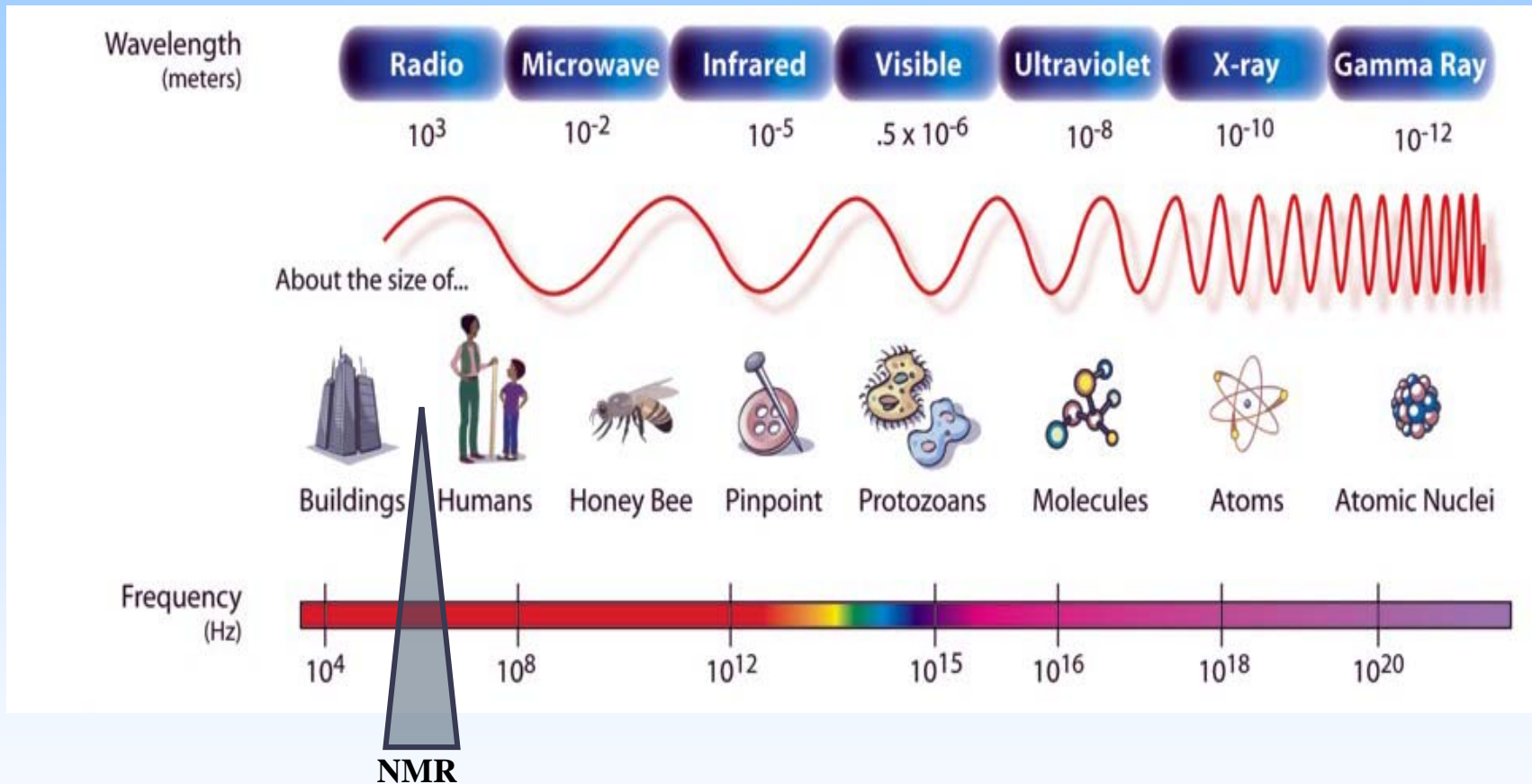
Prøve

Magnet

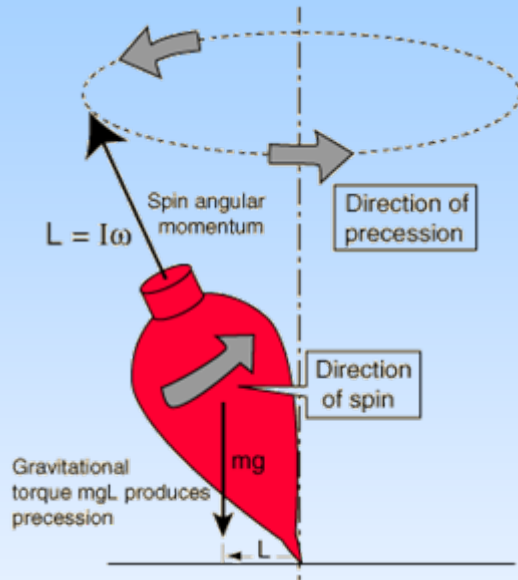
Data - FID

Data - spektrum

NMR spektroskopi og imaging



Spin og magnetisk moment



Lamor frekvens: $\omega = \gamma \cdot B_0$

Unik for alle spin-kerner

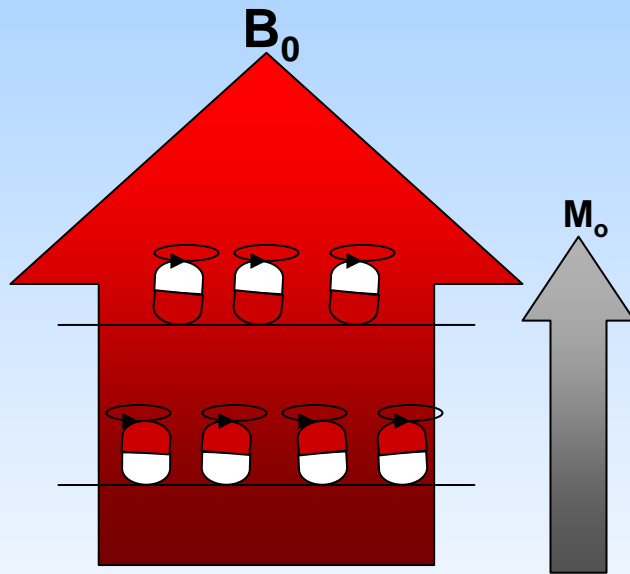
400 MHz apparat = 9,4 T.

900 MHz = 21,2 T.

Jordens magnetfelt: $5 \times 10^{-5} \text{T}$

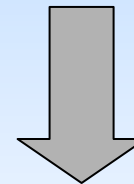
^1H , ^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{14}N , ^{17}O , ^{31}P , ^{19}F , ^{23}Na , ^{29}Si ,

Net magnetisering



Der vil altid være en større del af spinnen, som retter sig med det magnetiske felt =

Net magnetisering M_0

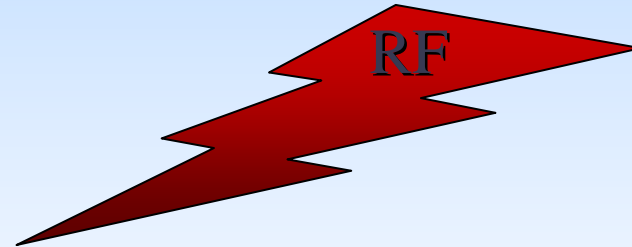
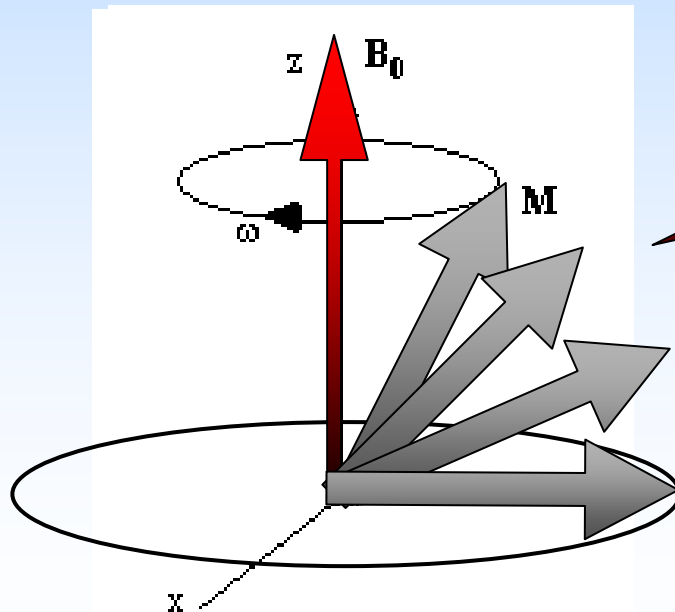


Det er M_0 som manipuleres i NMR

Manipulation af netmagnetiseringen

For at kunne se net magnetisering skal det skubbes væk fra ekvilibrium. Dette gøres ved at tilføre energi med en radiofrekvens (RF) svarende til Lamor frekvensen.

➔ RF skal være i ræsonans



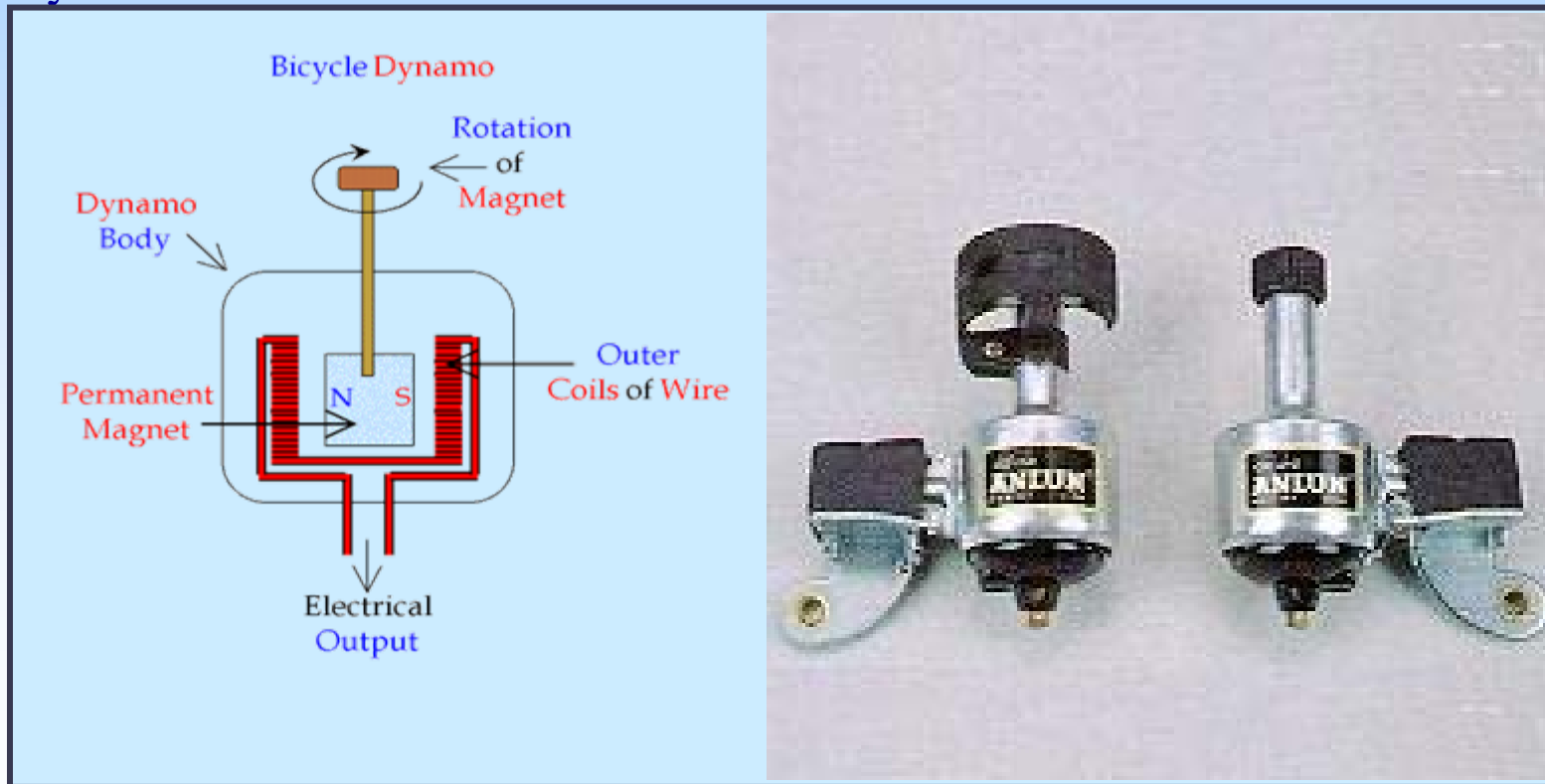
B_0 : Magnetisk felt

M : Netmagnetisering

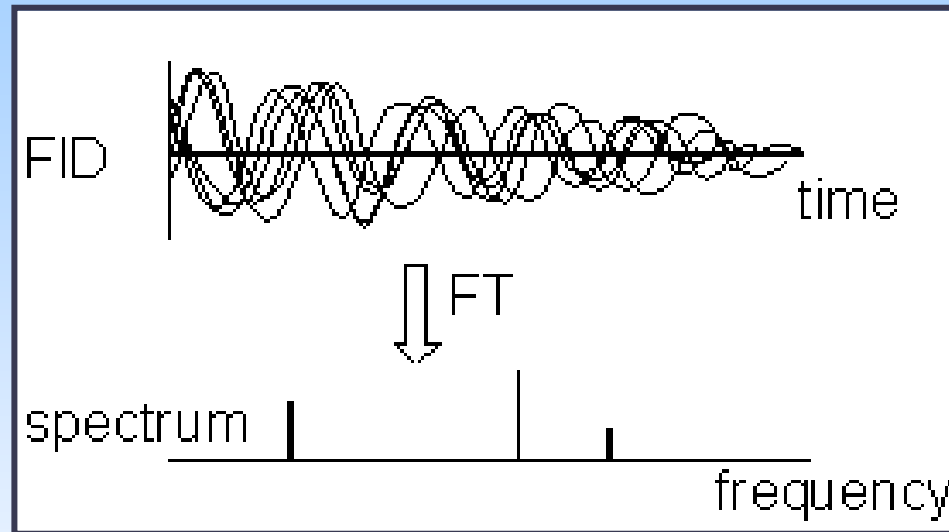
ω : Lamor frekvens

Manipulation af netmagnetiseringen II

Magnetiseringen i xy-planet roterer med en bestemt frekvens. Denne frekvens kan bestemmes og optages som et signal i en modtager langs xy-aksen.



Fra signal til spektrum

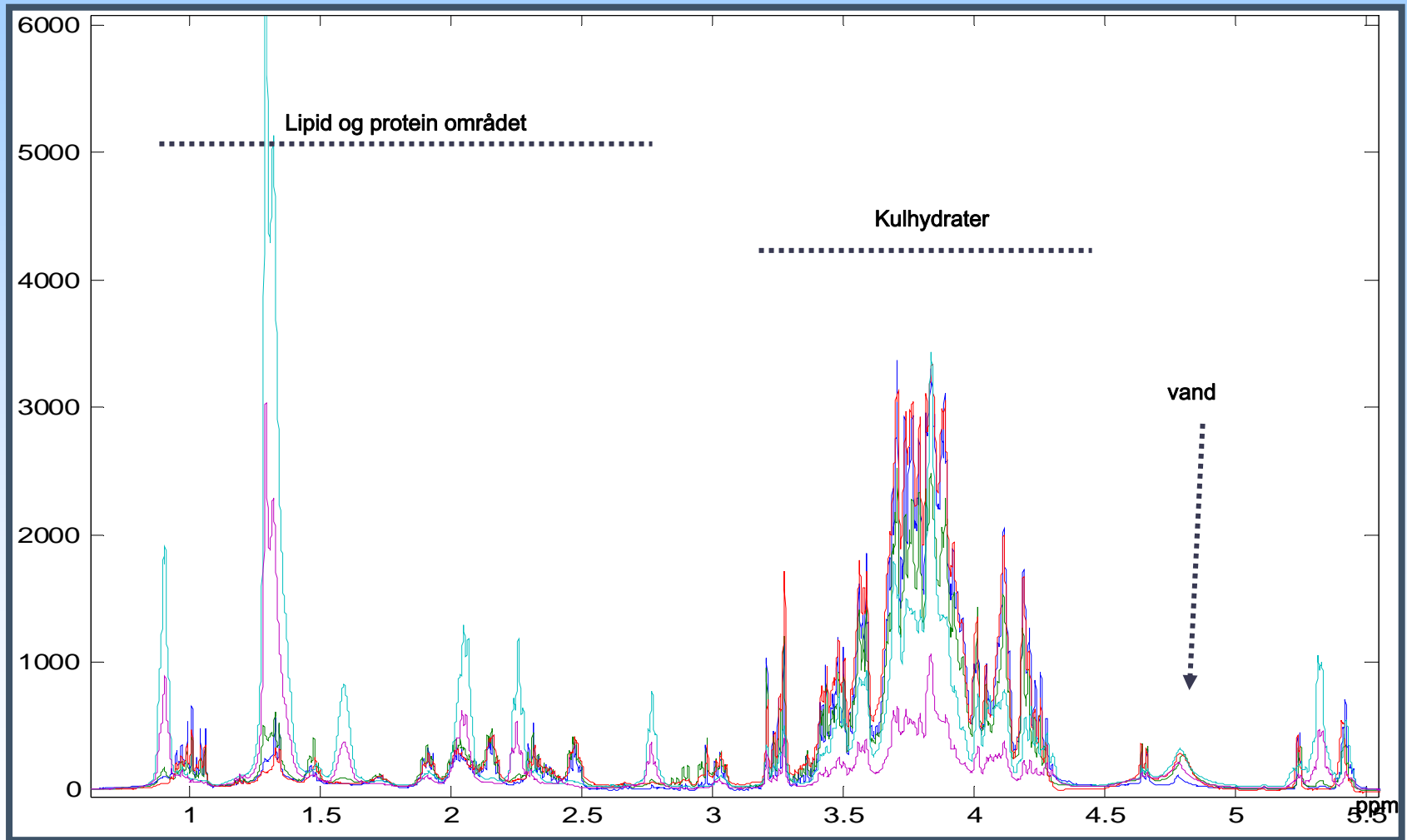


Fourier Transformation (FT):

Matematisk frekvens analyse.

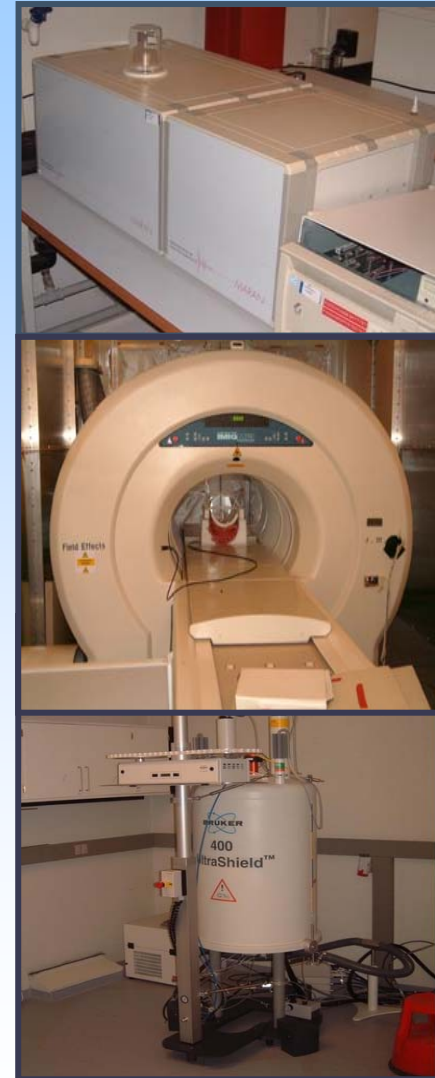
Hvert signal kan karakteriseres med en intensitet, en frekvens og en linestruktur.

^1H HR MAS NMR Spektrum af 5 bygkerner



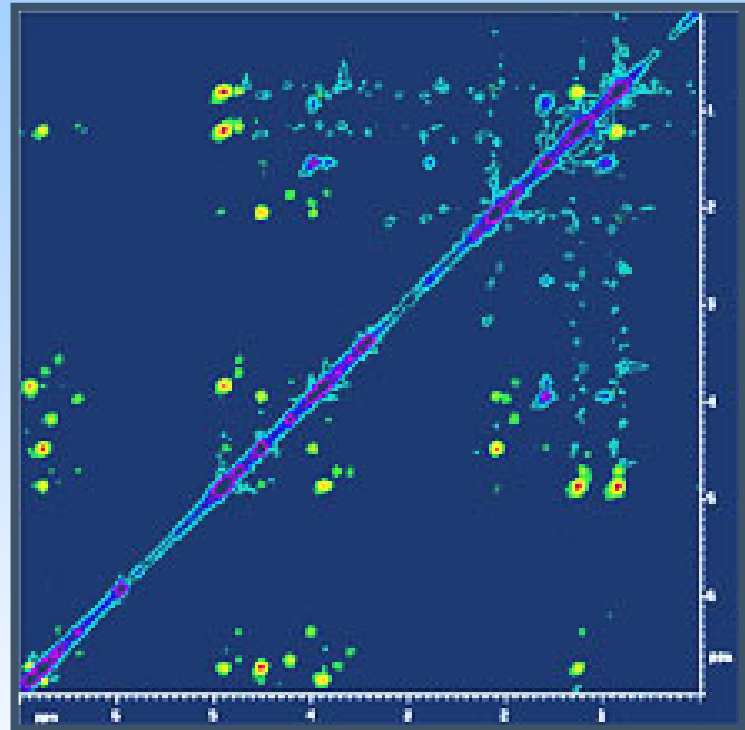
”NMR: En meget alsidig teknik

- **Lavfeldts-NMR:** Ofte ^1H NMR. Bord-model. Lave frekvenser (20-100 MHz).
- **NMR imaging:** Magnetiske gradienter skabes kontrast i billedet. Medicinsk kendes det som MR-scanninger
- **High-Resolution NMR:** Høj-feldts NMR. Ofte til strukturelle og kemiske analyser af opløste stoffer (100-900 MHz).
- **Solid-state NMR:** Spinning (MAS) og Cross-polarization (CP).



Information fra NMR

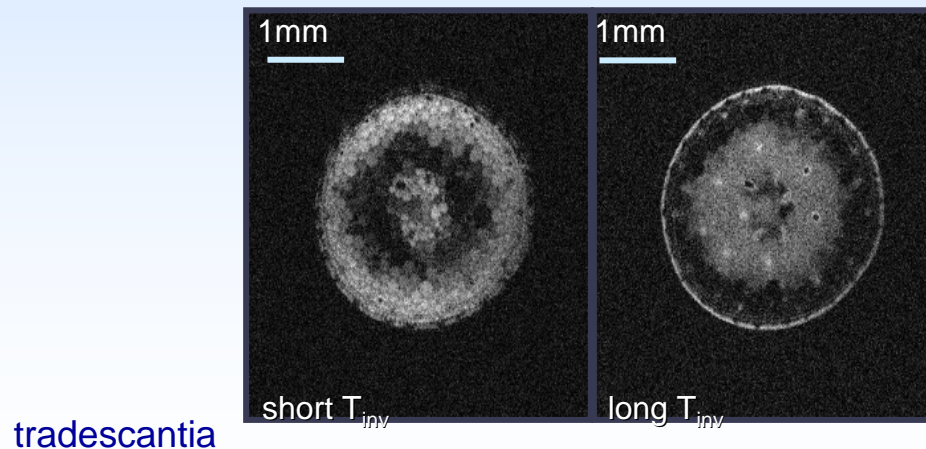
- Intensitet:
 - Kontrast vha relaxation
 - Information om strukturer
 - Mængde af pågældende spin
- Bevægelse:
 - Diffusion,
 - Flow dynamics
- Kemisk skift:
 - Kemisk sammensætning
 - Rummelig fordeling af stofferne
 - Mængde af stofferne
 - Molekyle struktur
- Stabile isotopes:
 - Markør for kinetiske studier



http://siggy.chem.ucla.edu/VOH/30C/TROESY_tiny.jpg

Relaxation og vand

- T_1 og T_2 er relateret til mobiliteten af vand.
- Relaxationstidernes længde er afhængig af mængden og størrelsen af molekyler samt deres mobilitet.
- Relaxationstider kan være med til at skabe kontrast.



NMR analyser på frø

- Frø opfugtning/udtørring (spiring, forarbejdelse etc)
- Frø vitalitet
- Fryseprocesser i frø
- Olie analyser samt fordelingen af olie
- Bestemmelse af stoffer udvundet af frø (hormoner, anti-fungale stoffer, olier)
- Profiling af transgene planter
- **Fedt/Olie og vandbestemmelser**



NMR og frø



Hjulkrone

Scening af olieindhold (1999)



Hørfrø

Scening af olieindhold (1999)



Sort valnød

MRI & NMR: Viability (1996)



Sesam

Karakterisering af sesamolind diglucosid (2006)



Raps

Relaxationsstudie og membran permabilitet under spiring (1997)

Scening af olieindhold (1999)

Frysningstolerance og udtørring af opfugtede frø (2006)

Fedtindhold af olie (2005)



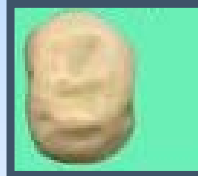
Olie plante (Castor bean)

Relaxationstudie af vandoptagelse (1990)



Black-eye bønner (cowpea)

Kinetik og vandoptagelse i forhold til anatomi (1992) og i vilde og dyrkede sorter (1993)



Ærter

MAS 13C NMR: Spektra af frø (1998)

Profiling af transgene ærter (2005)



Soya:

MRI: Diffusion i tør kerne. Olie og vandfordelingen (1994)

MRI: Visualisering af vandoptagelse (2002)

Prædikation af protein indhold bestemt via olieindhold (2005)

NMR og Cerealier



Hvede

Diffusions koefficienter af vand i endosperm (1979).
MRI af vandcirkulation (1988)
Relaxationstider i spirende/ikke spirende kerner (2004)



Majs

MRI: Strukturelle ændringer gennem støbning (1992)
MRI: Bestemmelse af olie indhold (2005)



Havre

LF: Relaxationstider i kerner spiret i mørke (1991).
MRI: Vandoptagelse i modificerede kerner (1997)



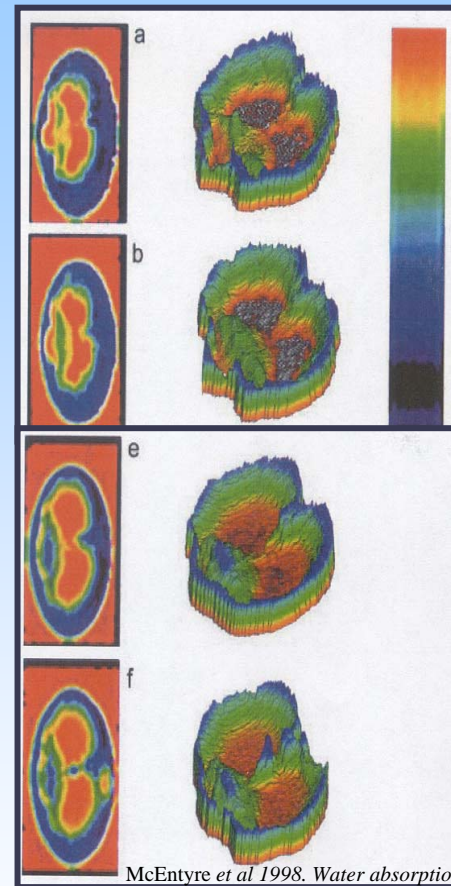
Ris

MRI: Fordeling af vand gennem kerneudviklingen (2001)
MRI: Tørring af ris efter modenhed (2004)
Relaxationstudie til bestemmelse af viabilitet (2005)



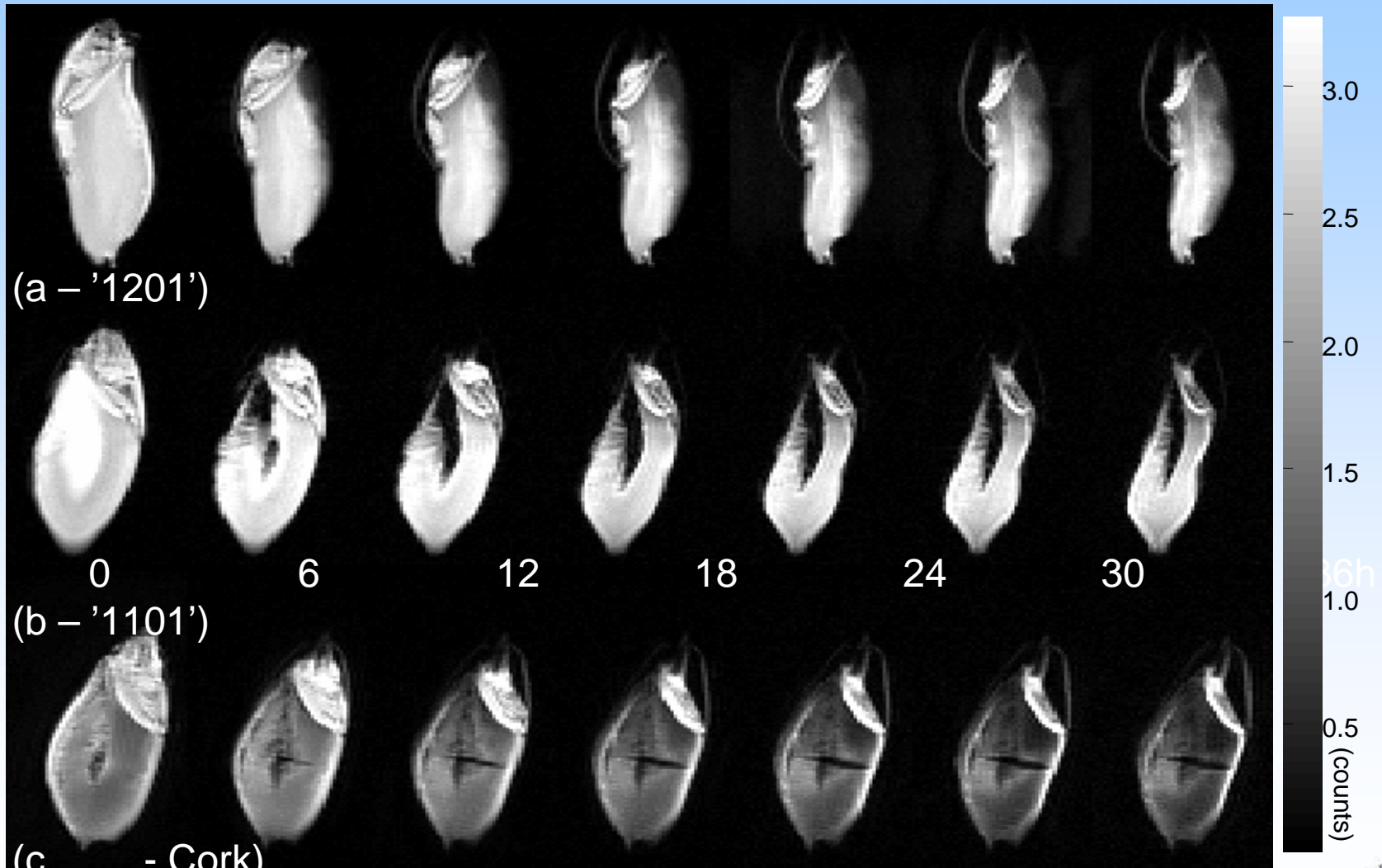
Byg

MRI: Visualisering af vandoptagelse (1988), diffusionsrater i spiring (1995), kerneudvikling (2006). Viscositetsmåling af vand i kernerne (2001)
MAS + MRI: Viabilitets studie vha relaxationstider (1996,2002) samt kernefyldning (2005)



McEntyre et al 1998. Water absorption in barley

Udtørring af opfugtede byg



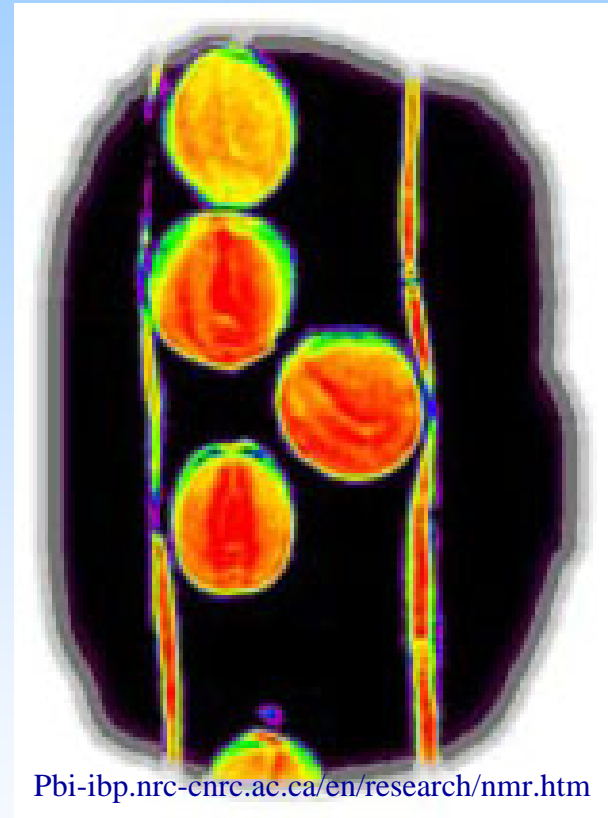
Seefeldt et al. 2007, Magnetic Resonance Imaging.

Helene Fast Seefeldt, Århus Universitet, Landbrugsfakultetet, Flakkebjerg



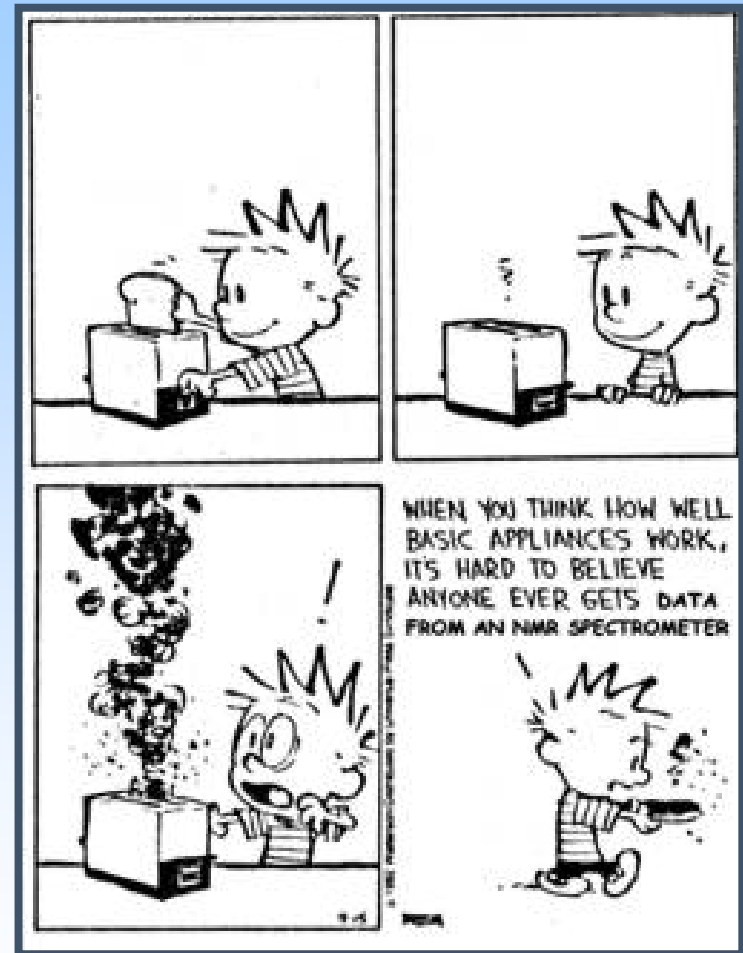
Fordele ved NMR

- Ødelægger ikke materialet
- Kan følge samme prøve over tid
- Giver fysiologisk viden
- Bestemmelse af kemisk sammensætning
- Bestemmelse af fysiske omgivelser
- Måler på "real sample", ingen kemi!
- Måler hele prøven, ikke kun overflade
- 'Metabolic fingerprint' af komplekse biologiske blandinger.



Ulemper ved NMR

- Signal styrke
- Resolution og kontrast
- Signal-til-støj ratioen
- Eksperiment varigheden
- Prøve størrelsen
- Koncentrationen af spin
- Dyrt udstyr
- Ikke nogen 'straight-forward' metode



Tak for opmærksomheden

Tak til:

Nanna Viereck, Kvalitet & Teknologi, KU-LIFE



Walter Köckenberger, Nottingham Magnetic Resonance Centre, Dept.
Physics, Nottingham University



Helene Fast Seefeldt

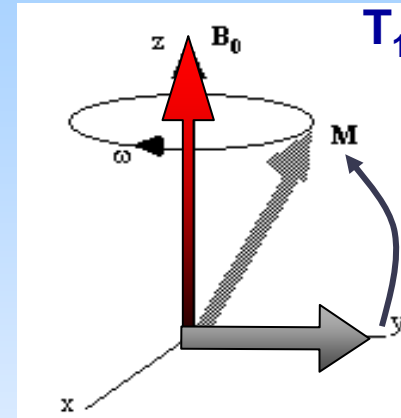
DJF-Flakkebjerg

4200 Slagelse

Email: helenef.seefeldt@agrsci.dk

Relaxation – eksponentielt henfald til ligevægt

- T1 spin - gitter relaxation
 - Netmagnetisering 'spinner' tilbage op og signalet aftager
 - termisk ligevægt
 - energi overføres til omgivelser
- T2 spin – spin relaxation
 - Der tabes signal som følge af interaktion mellem spinnene
 - energi udveksles mellem spin
 - Mekanismen kan være: dipol – dipol, CSA, (quadrapol, skalar kobling mv.)



Kontrolpanelet

- Forskellige pulsprogrammer
- Frekvenser
- Varigheden af pulserne
- RF-spolens størrelse
- Magnetens styrke
- Temperatur
- Spinning, cross-polarisation

NMR i plante biologi

Opbevaring

Sygdomme
Stress og beskadigelser
Kvalitet

Infektioner

Patogener
Mycorrhiza

Morfologi

Metabolisme

Olier
Anethole
Sukre
Stivelses nedbrydning
Alkaloider
xenobiotica

Vand balance og transport

Lys/mørke reaktioner i rødder
Transport i celler, mellem væv, i skud samt fjern transport
Flow i stængler og kar
Maltning
Nedtørring
Vandoptagelser

Vækst

Nedbrydning af reserver
Spirehvile
Fordeling af vand og olier

Stress

Salinitet
Frost og chilling
Høj temperature
Tørke

