

5. Experimente und Anwendungen

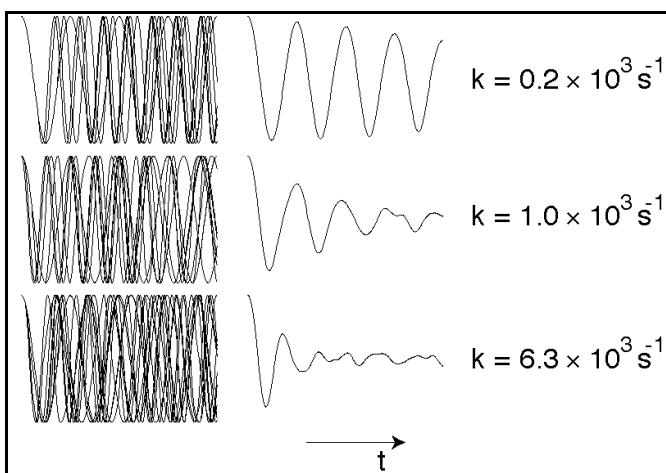
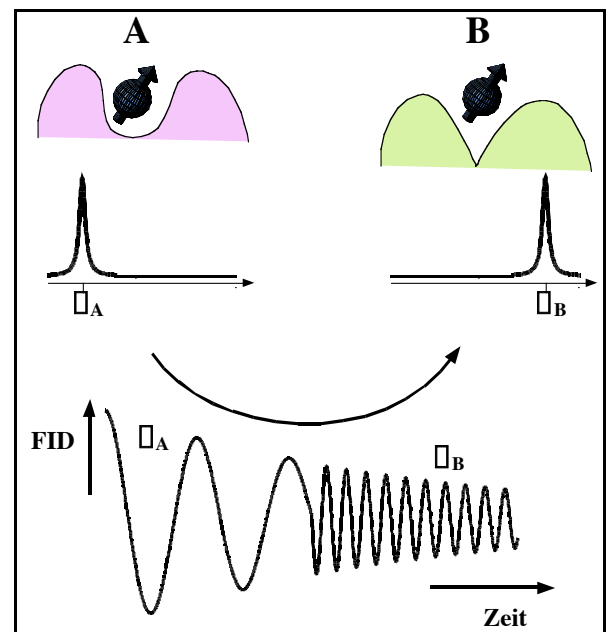
5.1 Austausch und Sprungprozesse

5.1.1 Motivation und Phänomenologie

Wie bereits diskutiert sind die Resonanzfrequenzen der NMR empfindlich auf die Details der Umgebung eines Kernspins. Die Beeinflussung kann über die chemische Verschiebung oder über die Quadrupolwechselwirkung geschehen. Man kann dies nicht nur dazu verwenden, die einzelnen Resonanzlinien einem bestimmten Kern zuzuordnen, sondern man kann damit auch beobachten wenn sich die Umgebung eines Kerns ändert. Dies kann wiederum dadurch geschehen dass in der Umgebung Bewegungsprozesse ablaufen, aber es kann auch auf einen Bewegungsprozess des Kerns selber zurückzuführen sein.

Wir betrachten zunächst einen einzelnen Spin, der zwischen zwei Positionen mit unterschiedlicher chemischer Verschiebung hin- und her springen kann. Wenn die Aufenthaltszeit an einem bestimmten Ort lang ist verglichen mit der transversalen Relaxationszeit, so wird sich während jeder Messung ein Teil der Spins an der einen Position befinden, ein Teil an der anderen, und mit ihrer jeweiligen Resonanzfrequenz zum Signal beitragen. Handelt es sich um einen Gleichgewichtsprozess, sind in der Probe also beide Positionen mit der zugehörigen Wahrscheinlichkeit besetzt, so findet man im Spektrum zwei Linien, deren Amplitude durch die Besetzungswahrscheinlichkeit der beiden Plätze gegeben ist.

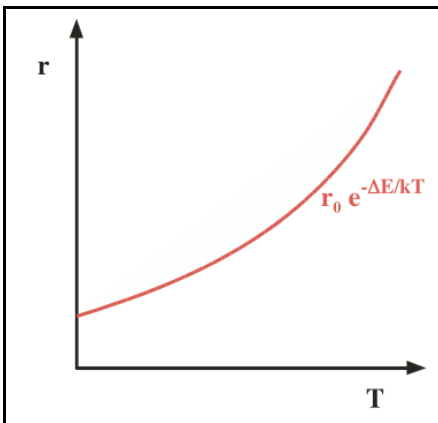
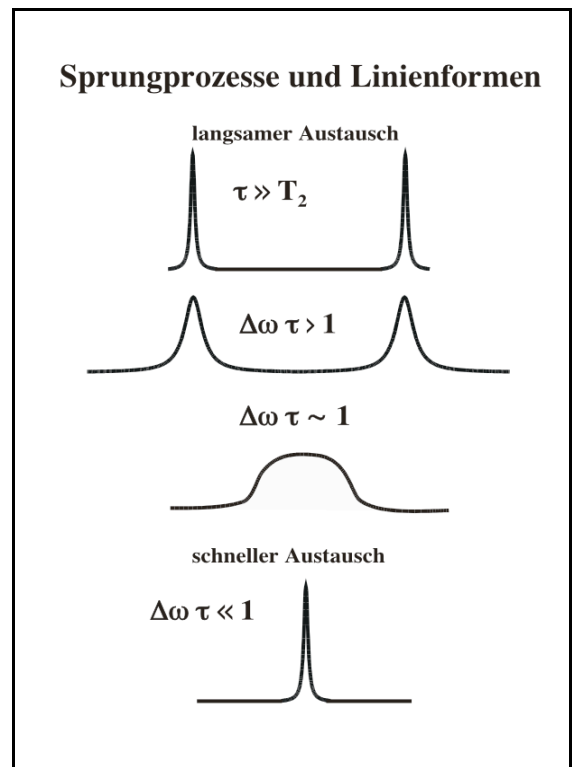
Könnte man den FID eines einzelnen Spins beobachten, so würde man sehen wie beim Sprung die Larmorfrequenz ändert. Dies ist natürlich nicht möglich und man beobachtet statt dessen eine Überlagerung der Frequenzen, welche für ein System im Gleichgewicht stationär ist.



In der Figur werden drei solche Überlagerungen und die dazu gehörige Summe dargestellt, jeweils für unterschiedliche Austauschraten. Mit zunehmender Austauschrate wird der gemittelte FID kürzer, was einer breiteren Resonanzlinie entspricht.

5.1.2 Linienformen

So lange der mittlere Abstand τ zwischen zwei Sprüngen lang ist im Vergleich zur transversalen Relaxationszeit wird das Spektrum durch die Sprünge nicht beeinflusst. Wird der Austausch schneller so ist jedoch die Kohärenzzeit durch die Sprünge limitiert und die Linie wird breiter. Nähert sich die Austauschrate $1/\tau$ der Differenz $\Delta\omega$ der beiden Larmorfrequenzen, so können die beiden Plätze nicht mehr einzeln beobachtet werden; statt der beiden einzelnen Resonanzlinien findet man eine einzelne in der Mitte zwischen den beiden. Diese ist stark verbreitert, weil die Präzession noch beide Frequenzen enthält. Erst wenn die Sprungrate weiter steigt und dadurch die Mittelung auf einer sehr kurzen Zeitskala abläuft wird die Linie wieder schmaler.



Austauschprozesse sind normalerweise thermisch aktiviert, d.h. das System muss eine Energiebarriere überwinden. Solche Prozesse werden bekanntlich mit zunehmender Temperatur exponentiell schneller, d.h. die Austauschrate r zeigt das Verhalten

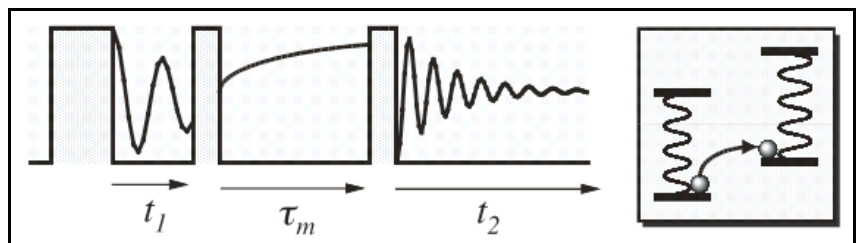
$$r = 1/\tau = r_0 e^{-\Delta E/kT}$$

Hier stellt τ die mittlere Aufenthaltszeit an einem Platz dar.

5.1.3 2D Austausch

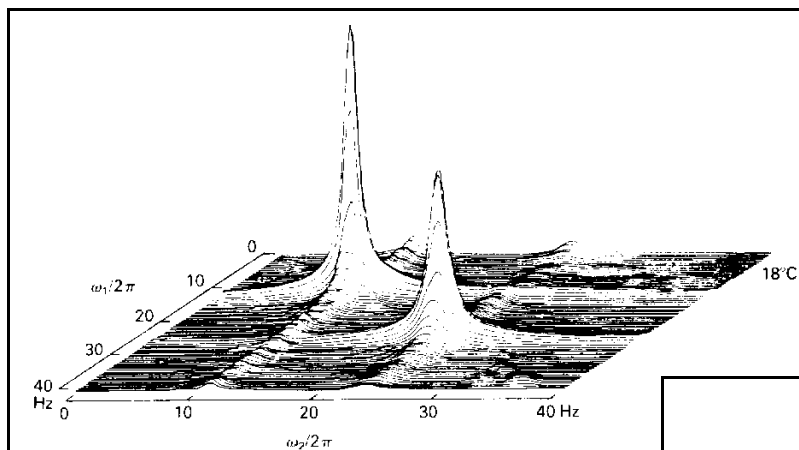
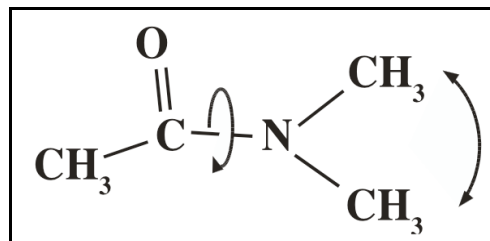
Eine besonders nützliche Methode zur Verfolgung solcher Austauschprozesse ist die 2D Spektroskopie. Sie erlaubt eine direkte Korrelation der Positionen zwischen denen Austausch stattfindet; dies ist insbesondere dann nützlich wenn es sich um einen Austausch zwischen mehr als zwei Plätzen handelt. Es steht dafür ein Zeitfenster zur Verfügung, welches nach unten durch die relevanten Frequenzdifferenzen, nach oben durch die Lebensdauer T_1 der Spins beschränkt wird.

Dabei markiert man die Präzessionsfrequenz der Spins und speichert diese Information in den Populationen der Spins. Man wartet anschließend eine gewisse Zeit, Mischzeit genannt, welche nicht wesentlich länger als die longitudinale Relaxationszeit der Spins sein darf, und fragt anschließend die Präzessionsfrequenz nochmals ab. Hat in dieser Zeit ein Austausch stattgefunden, so äußert sich dies in einer Resonanzlinie im 2D Spektrum, welche nicht auf der Diagonalen liegt: sie zeigt an, dass für einen Teil der Spins die Larmorfrequenz sich während der Mischzeit geändert hat.



Hat in dieser Zeit ein Austausch stattgefunden, so äußert sich dies in einer Resonanzlinie im 2D Spektrum, welche nicht auf der Diagonalen liegt: sie zeigt an, dass für einen Teil der Spins die Larmorfrequenz sich während der Mischzeit geändert hat.

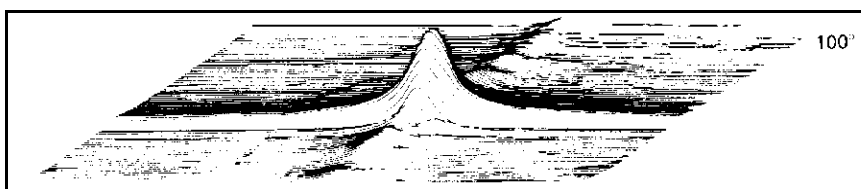
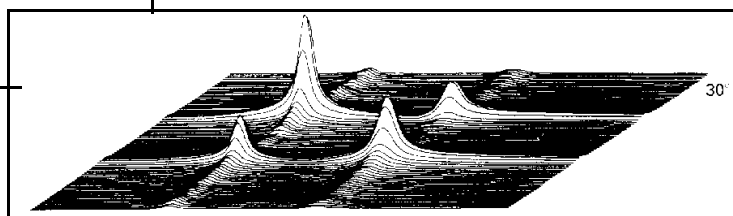
In der Figur die Rotation eines Molekülteils gegen ein anderes beobachtet. Amidbindungen (wie sie z.B. in Proteinen vorkommen) zeigen eine behinderte Rotation, welche in der Nähe der Raumtemperatur etwa einmal pro Sekunde rotieren. Die Protonen der beiden Methylgruppen haben unterschiedliche chemische Verschiebung, können also im NMR Spektrum getrennt beobachtet werden.



Bei niedrigen Temperaturen ist der Austausch langsam und man kann beide Linien getrennt beobachten. Im 2D Spektrum findet man unter diesen Bedingungen das 1D Spektrum entlang der Diagonalen und keine Linien außerhalb der Diagonalen.

Steigt die Temperatur so wird der Austausch schneller.

Man kann dann während der Mischzeit einen Austausch beobachten, welcher zu Kreuzpeaks mit $\omega_1 \neq \omega_2$ führt.



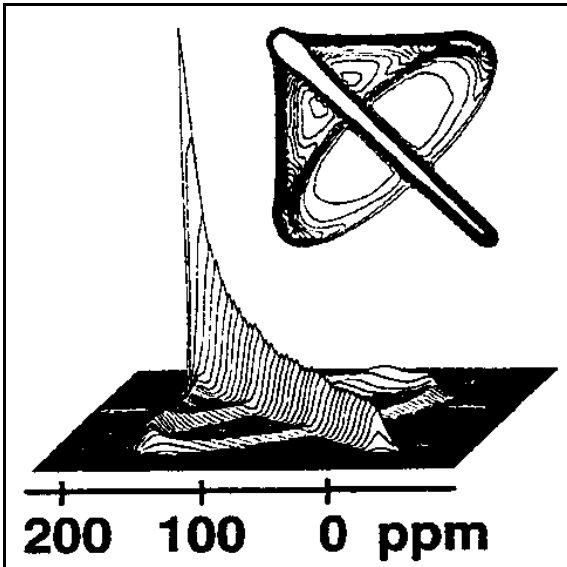
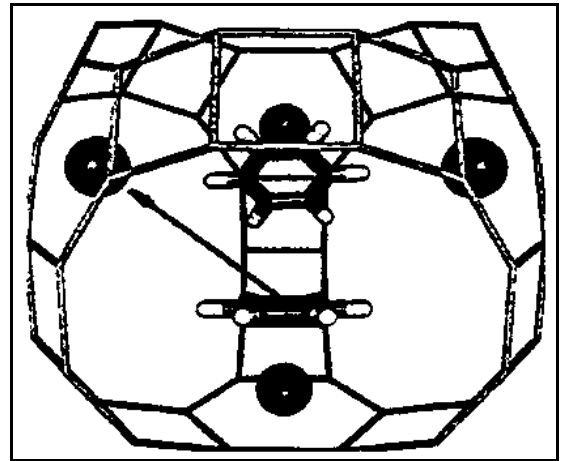
Ist der Austausch sehr schnell, d.h. ist die mittlere Aufenthaltszeit kurz im Vergleich zur Larmorperiode, so beobachtet man im Spektrum (1D und 2D) nur eine gemittelte Resonanzfrequenz. Im Zwischenbereich verbreitern sich

die Linien. Mittels Variation der Temperatur kann man deshalb in vielen Systemen sowohl den Bereich des langsamen Austausches, wie auch den Bereich des schnellen Austausches und den Übergangsbereich untersuchen.

5.1.4 Sprungprozesse in Festkörpern

Solche Prozesse können auch in Festkörpern beobachtet werden. Am direktesten sind die Beobachtungsmöglichkeiten bei molekularen Festkörpern.

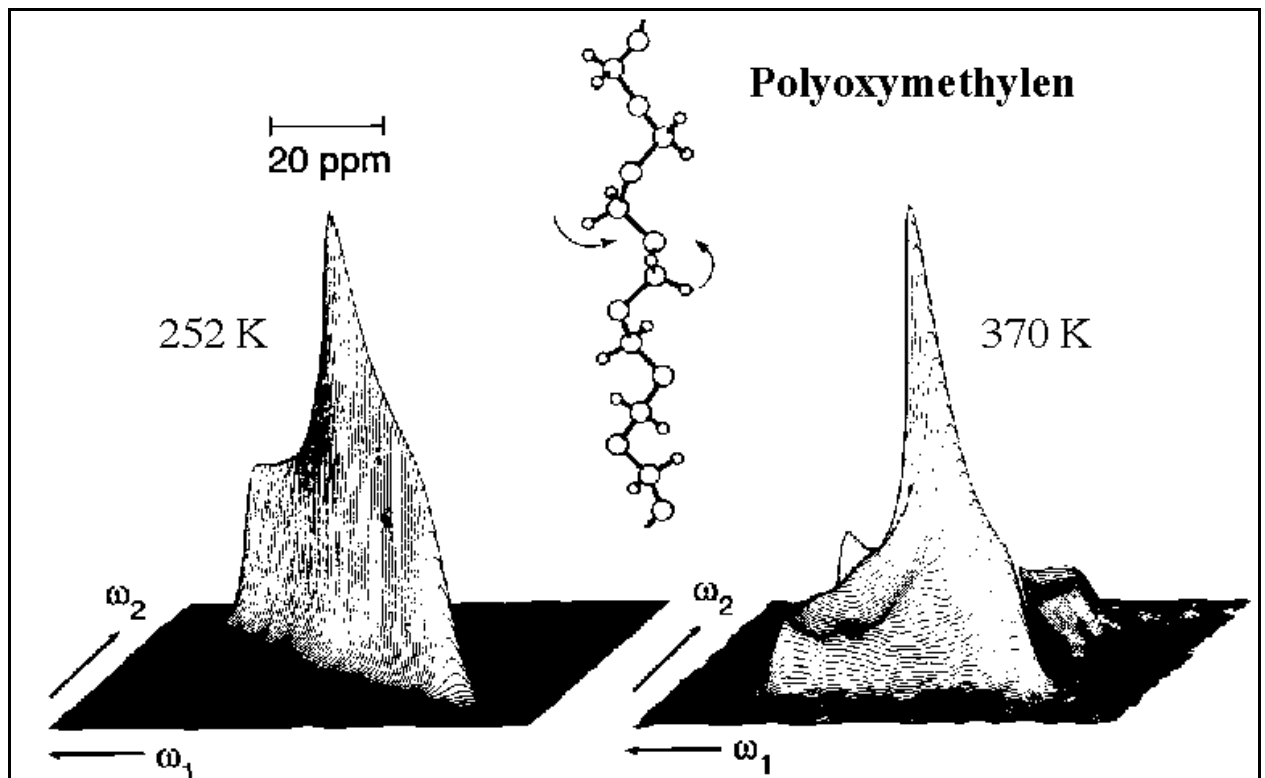
In diesem Beispiel wurde die Bewegung von Molekülen in Zeoliten untersucht. Zeolite sind kristalline Festkörper, welche Käfigstrukturen bilden, wobei die Größe dieser Käfige im Bereich von etwa < 1 nm liegt. Sie haben eine große wirtschaftliche Bedeutung erhalten u.a. weil sie in der chemischen Synthese als Katalysatoren verwendet werden.



Bringt man ein Molekül wie Benzol in einen solchen Käfig, und misst man das NMR Spektrum einer polykristallinen Probe, so beobachtet man aufgrund der Orientierungsunordnung ein typisches Pulverspektrum. Finden Sprungprozesse statt, so ändert sich dadurch die Larmorfrequenz der Spins. Sind die Sprungprozesse beliebig, so können dadurch alle möglichen Resonanzfrequenzen entstehen. Experimentell beobachtet man aber, dass für eine bestimmte Ausgangsfrequenz nur diskrete „Zielfrequenzen“ angesprochen werden. Die beobachteten Spektren können exakt simuliert werden (in der Figur als Höhenkurvenplot) wenn man als Bewegungsmodell postuliert, dass die Moleküle

Sprünge zwischen vier Orientierungen durchführen, welche zueinander tetraedrisch angeordnet sind. Dies passt auch auf die Symmetrie des Kristalls. Man findet im Spektrum zu jeder Startfrequenz (ν_1) vier verschiedene Endfrequenzen (ν_2), welche den vier möglichen Orientierungen entsprechen.

Bewegungsprozesse spielen insbesondere für die Eigenschaften von Kunststoffen eine wichtige Rolle. Sie bestimmen unter anderem die mechanischen Parameter wie Steifigkeit, Flexibilität und Bruchfestigkeit, aber auch die Verarbeitungsfähigkeit. Die Untersuchung der molekularen Bewegungsprozesse kann mit verschiedenen NMR Methoden erfolgen. Für langsame Bewegungen eignet sich besonders die 2S Spektroskopie.

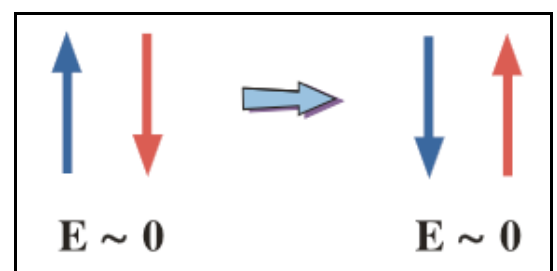


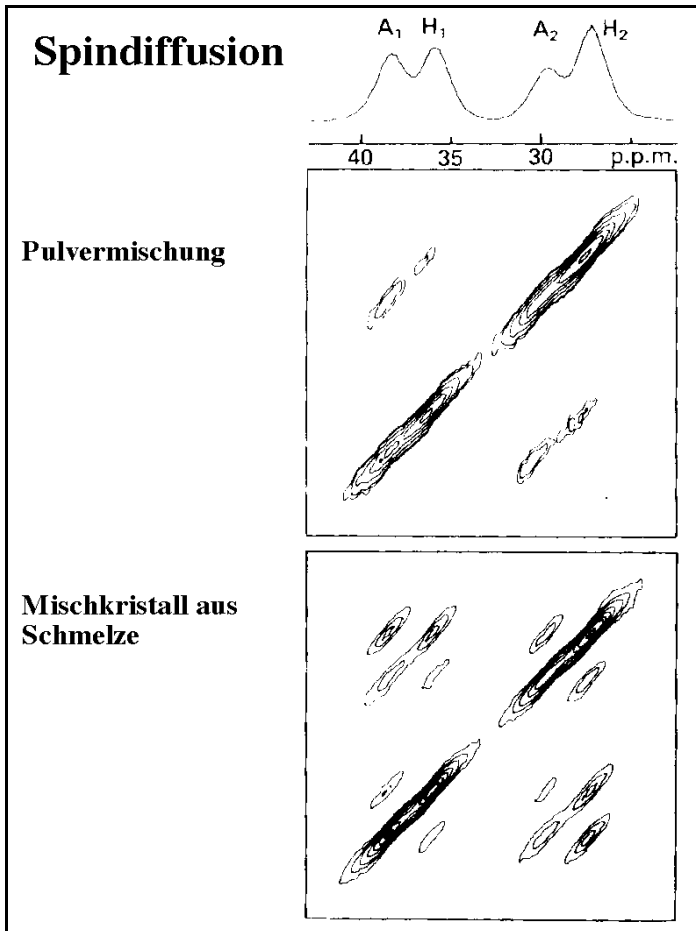
In diesem Beispiel wurden ^{13}C Austauschspektren verwendet, um die molekulare Bewegung in Polyoxymethylen zu untersuchen. Bei 252 findet man nur auf der Diagonale Signal, was andeutet, dass hier keine Bewegung stattfindet. Bei 370 K finden offensichtlich Austauschprozesse statt. Die diskrete Natur deutet darauf hin, dass die Sprünge um gut definierte Winkel erfolgen. Eine Simulation des Spektrums bringt gute Übereinstimmung wenn man von einem Sprungwinkel von 200 Grad ausgeht.

5.1.5 Spindiffusion

Ein Austausch von Kohärenz zwischen zwei unterschiedlichen Spins muss nicht unbedingt auf chemischen Austausch zurückzuführen sein.

Es gibt auch die so genannte Spindiffusion, einen Prozess der durch den B-Term des Dipolalphabeths getrieben wird: er entspricht einem doppelten Umklappen von zwei antiparallelen Spins. Auf diese Weise kann Spin-Ordnung sich diffusionsartig in einem Festkörper ausbreiten.

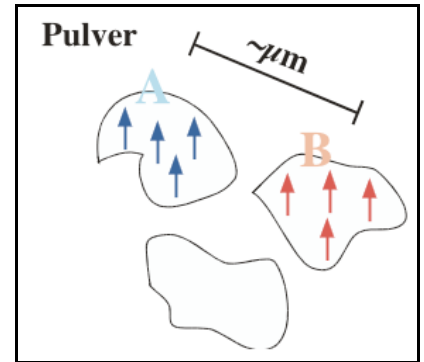




Die Diffusionslänge dieses Prozesses beträgt typischerweise einige wenige nm. Man kann ihn deshalb dazu verwenden, Nachbarschaft in einem Festkörper zu analysieren.

Hier wurde z.B. Spindiffusion in einem Mischkristall aus Adamantan und Hexamethylbenzol gemessen.

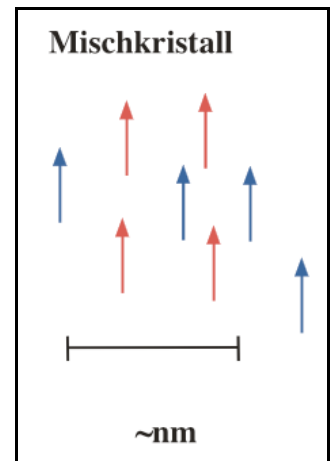
Für das obere Spektrum wurde eine Mischung von Pulvern der beiden Substanzen hergestellt und daran Spindiffusion gemessen. Jedes der beiden Mo-



leküle enthält zwei unterschiedliche ¹³C Kerne, trägt also zwei Linien zum Spektrum bei. Da sich beide Kerne in der gleichen Einheitszelle vorkommen ist die Distanz kürzer als die Diffusionslänge, es findet eine Übertragung statt. Wir sehen jedoch keine Übertragung von HMB nach Adamantan. Der Grund dafür ist, dass die Distanz zwischen Molekülen unterschiedlichen Typs zu groß

ist, so dass die Spindiffusion zu langsam wird.

Für das untere Spektrum wurde ein Mischkristall hergestellt, indem beide zusammen geschmolzen und daraus ein Pulver kristallisiert wurde. In diesem Fall befinden sich Moleküle von beiden Spezies in unmittelbarer Nachbarschaft und es findet Polarisationstransfer zwischen den beiden statt.



5.2 Spin Echo und Diffusionsmessungen

5.2.1 Dephasierung

Ein FID wird niemals durch einen einzelnen Spin erzeugt; statt dessen beobachtet man immer ein Ensemble. Das beobachtete Gesamtsignal eines Ensembles von Spins kann geschrieben werden als

$$S_{\text{tot}} = \sum_i s_x^{(i)}(t) = a_0 \sum_i \cos(\omega_0^{(i)} t) e^{-\lambda_2 t} ,$$

wobei wir angenommen haben dass alle Mitglieder des Ensembles identisch präpariert wurden mit ihrer Magnetisierung entlang der x-Achse des rotierenden Koordinatensystems. Die Observable sei ebenfalls die Magnetisierung in x-Richtung.

Die Resonanzfrequenzen $\omega_0^{(i)}$ der einzelnen Spins sind nicht exakt identisch, da verschiedene Wechselwirkungen einen Unterschied hervorrufen können. Im aktuellen Zusammenhang betrachten wir dazu lediglich ein inhomogenes Magnetfeld, welches eine entsprechende Verteilung der Larmorfrequenzen erzeugt. Der anfängliche Zustand

$$\rho(0) = \sum_i S_x^{(i)}$$

entwickelt sich deshalb unter freier Präzession zu

$$\rho(T) = \sum_i \rho \left(\cos(\omega_0^{(i)} T) S_x^{(i)} - \sin(\omega_0^{(i)} T) S_y^{(i)} \right) e^{-\lambda_2 T} .$$

Die Summe über die Spins kann am besten als Integral über die Spindichte in einem inhomogenen Feld geschrieben werden:

$$\rho(T) = e^{-\lambda_2 T} \int \left(S_x^{(i)} \cos(\omega_0 T) + S_y^{(i)} \sin(\omega_0 T) \right) p(\omega_0) d\omega_0 .$$

Man erhält somit einen „Spinfächer“, dessen Breite durch das Produkt ΔT gegeben ist, wobei Δ die Breite der Verteilung $p(\omega_0)$ darstellt. Ist dieses Produkt groß gegen eins, so sind die Phasen $\omega_0 T$ in der xy Ebene zufällig verteilt, der Mittelwert der Magnetisierung verschwindet.

In der Figur sind in der oberen Spur der Zerfall der transversalen Magnetisierung gezeigt; der Zerfall der Magnetisierung nach dem ersten Puls ist durch die Breite der Verteilung $p(\omega_0)$ im inhomogenen Feld bestimmt. In der unteren Spur ist die Zeitentwicklung der Phase von zwei unterschiedlichen Spins dargestellt.

Die Dephasierung der Spins kann mit dem Auseinanderfliegen von Gasmolekülen verglichen werden wenn ein Gefäß mit komprimiertem Gas geöffnet wird. Es ist in beiden Fällen prinzipiell denkbar, aber sehr unwahrscheinlich, dass die Moleküle, resp. Spins wieder in den Ausgangspunkt zurückkehren.

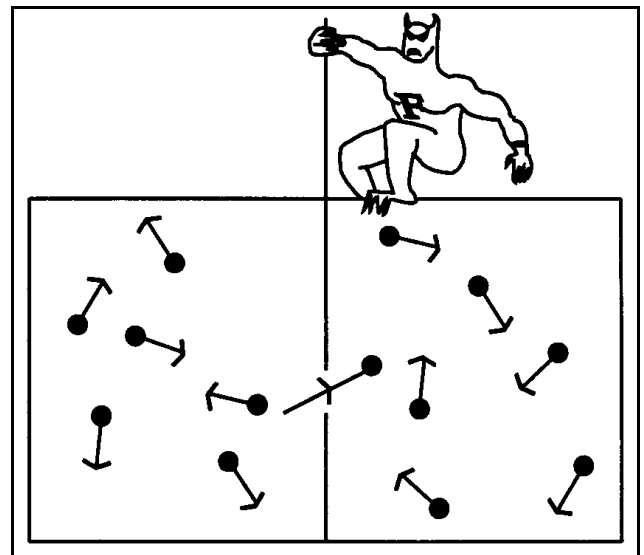
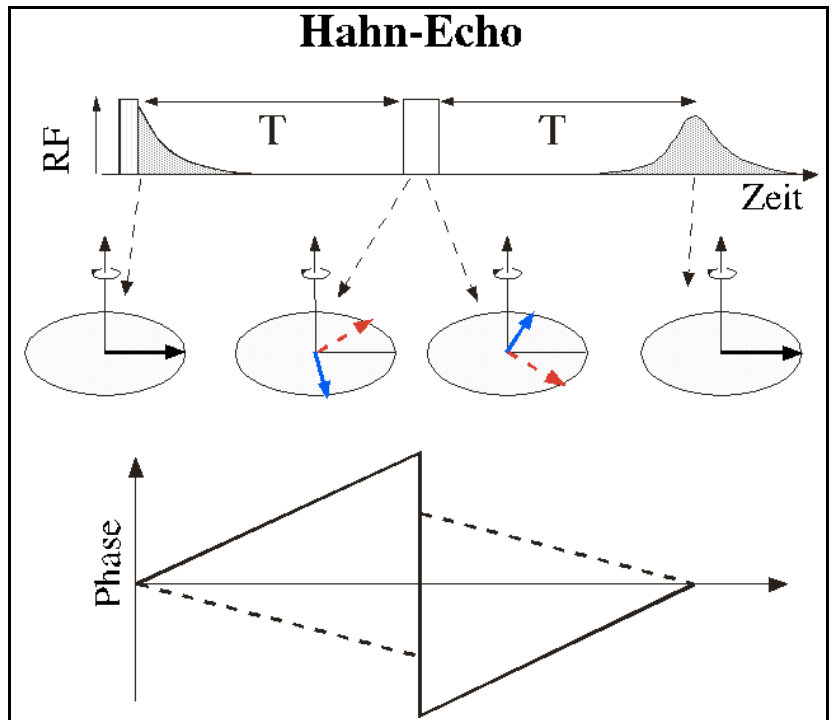
Wie von Maxwell porträtiert wäre dies auch möglich wenn ein Dämon, welcher die einzelnen Moleküle (Spins) beobachtet, deren Geschwindigkeiten (Präzessionsfrequenzen) alle gleichzeitig invertieren würde.

5.2.2 Hahn-Echo

Im Gegensatz zu einem molekularen Gas, wo kein Maxwell-Dämon existiert, welcher die Bewegung der Moleküle umdrehen kann, ist es im Falle eines Spinsystems möglich, die Phasen aller Spins zu invertieren, von $\exp(i\omega_0^{(i)}t)$ zu $\exp(-i\omega_0^{(i)}t)$. Dazu muss die gesamte Magnetisierung mit einem RF Puls in x-Richtung um π rotiert werden:

$$\begin{aligned} \rho(T_+) &= e^{-i\pi S_x} \prod_i \left(\cos(\omega_0^{(i)} T) S_x^{(i)} - \sin(\omega_0^{(i)} T) S_y^{(i)} \right) e^{-\lambda_2 T} e^{i\pi S_x} \\ &= \prod_i \left(\cos(\omega_0^{(i)} T) S_x^{(i)} + \sin(\omega_0^{(i)} T) S_y^{(i)} \right) e^{-\lambda_2 T} = \\ &= \prod_i \left(\cos(-\omega_0^{(i)} T) S_x^{(i)} - \sin(-\omega_0^{(i)} T) S_y^{(i)} \right) e^{-\lambda_2 T} . \end{aligned}$$

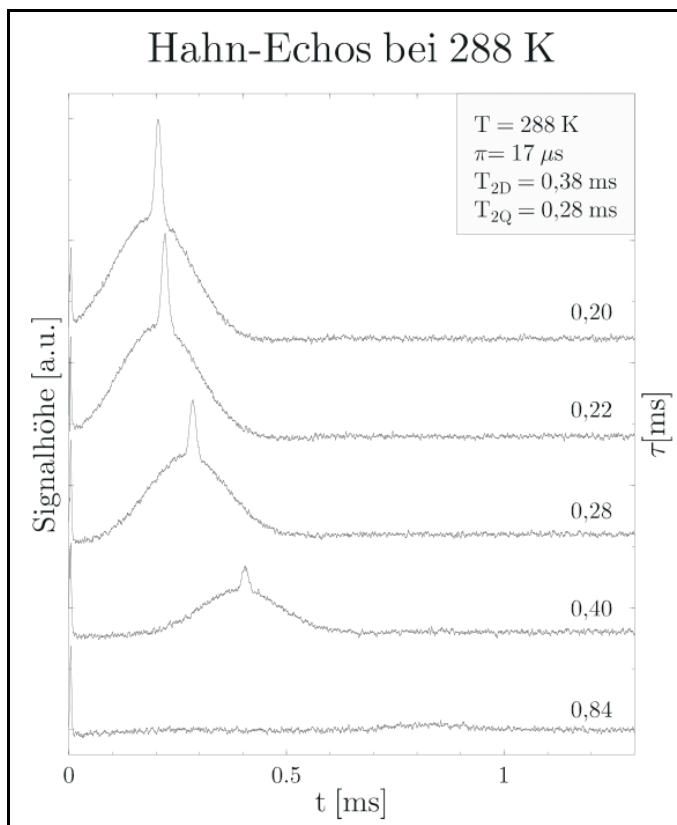
Der Zustand nach dem Puls ist somit der gleiche wie vor dem Puls, außer dass die Phase aller Spins invertiert wurde. Dies kann auch als Zeitumkehr $T \rightarrow -T$ interpretiert werden.



Nach dem Puls läuft die Evolution der Spins wieder wie vor dem Puls, d.h. die Phase wächst gemäß

$$\rho(T+t) = \prod_i [\cos(\omega_0^{(i)}(t-T)) S_x^{(i)} - \sin(\omega_0^{(i)}(t-T)) S_y^{(i)}] e^{-\Gamma_2(t+T)} .$$

Die Zeit t misst die Dauer der freien Präzession nach dem Refokussierungspuls. Wenn diese gleich lang wird wie die Dauer zwischen Anregung und Refokussierungspuls, $t=T$, verschwinden alle Phasen $\omega_0^{(i)}(t-T)$, da sich die negativen Werte aus der ersten Präzessionszeit gerade gegenüber den positiven aus der zweiten Periode aufheben, unabhängig von der Frequenz der einzelnen Spins. Damit ist die destruktive Interferenz aufgehoben, es entsteht "spontan" ein Signal, ein Echo. Dieses ist gegenüber dem ursprünglichen Signal lediglich um die Dämpfung $e^{-2\Gamma_2 T} = e^{-2T/T_2}$ reduziert. Diese Dämpfung ist für alle Spins vorhanden, auch in einem homogenen Feld und wird deshalb als homogener Beitrag zur Relaxation respektive zur Linienbreite bezeichnet.



nicht mehr auf und der entsprechende Spin trägt nicht mehr zum Echo bei: die Echohöhe wird kleiner.

In diesem Beispiel wurde der Zerfall der Kohärenz von ^7Li Spins untersucht.

5.2.3 Diffusionsmessungen im Magnetfeldgradienten

Voraussetzung für die Refokussierung der Magnetisierung ist dass die Spins während der ganzen Dauer der Messung mit der gleichen Larmorfrequenz präzedieren. Dies ist u.a. dann nicht der Fall wenn sie sich in einem Feldgradienten bewegen. Man kann deshalb Echo-Experimente verwenden, um Bewegungsprozesse, wie z.B. Diffusion zu messen. Eine gute Referenz zur Messung von Diffusionsbewegungen mit NMR ist (R. Kimmich, 'NMR Tomography, Diffusometry, Relaxometry', Springer, Berlin (1997).).

Das Messprinzip besteht darin, dass das Echo nur dann zustande kommt wenn die Spins wirklich die gleiche Präzessionsfrequenz vor und nach dem Echopuls besitzen. Ändert sich die Frequenz, so heben sich die beiden Phasen

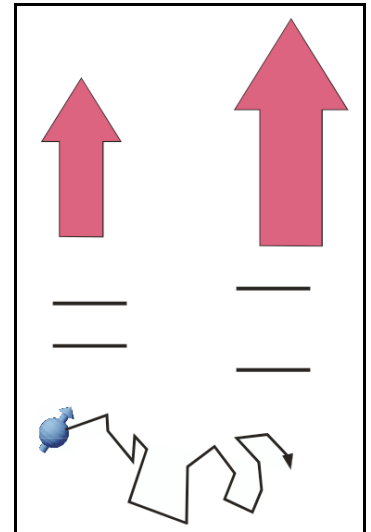
Eine solche Änderung der Larmorfrequenz kommt z.B. dann zustande wenn der Spin sich in einem inhomogenen Magnetfeld

$$B(z) = B_0 + G z$$

bewegt, wobei G den Gradienten darstellt. Diffusion um einen Betrag Δz ändert dann die Larmorfrequenz um

$$\Delta \omega = \Delta z G \gamma$$

Wenn wir der Einfachheit halber annehmen dass diese Bewegung durch einen Sprung während des Refokussierungspulses zustande kommt, so wird die gesamte Phase dieses Spins zum Zeitpunkt des Echos nicht mehr 0, sondern $\Delta z G \gamma T$. Hier stellt γ das gyromagnetische Verhältnis des Spins dar.



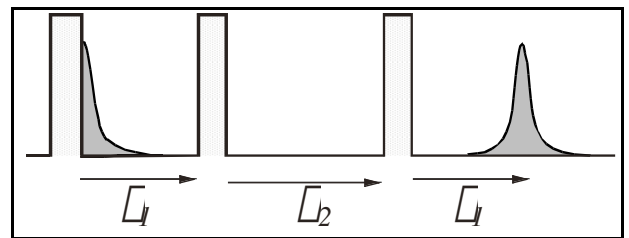
Die Änderung der Echo-Amplitude ergibt sich über eine Integration des Signal über alle Spins, also über die Spindichte im Gradienten. Die Distanz Δz , um die sich die einzelnen Spins bewegen, ist durch die Diffusions

Bei einem Hahn-Echo Experiment wird die Höhe des Echos um den Faktor

$$\exp(-2/3 \gamma^2 G^2 D T^3)$$

abgeschwächt. Hier stellt D die Diffusionskonstante und T den Pulsabstand dar. Die Messung der Echo-Abschwächung erlaubt somit die Bestimmung der Diffusionskonstante (siehe auch Praktikumsversuch).

In der Praxis verwendet man häufig eine Dreipuls-Sequenz. Hier wird die Magnetisierung zwischen dem zweiten und dritten Puls entlang der Magnetfeldrichtung gespeichert. Dies ist vor allem in Experimenten in Festkörpern interessant, wo die Relaxation für longitudinale Magnetisierung meist deutlich langsamer ist als für transversale. Das Echo wird in diesem Fall um den Faktor



$$\exp(-2/3 \gamma^2 G^2 D T_1^3 (2/3 + T_2/T_1))$$

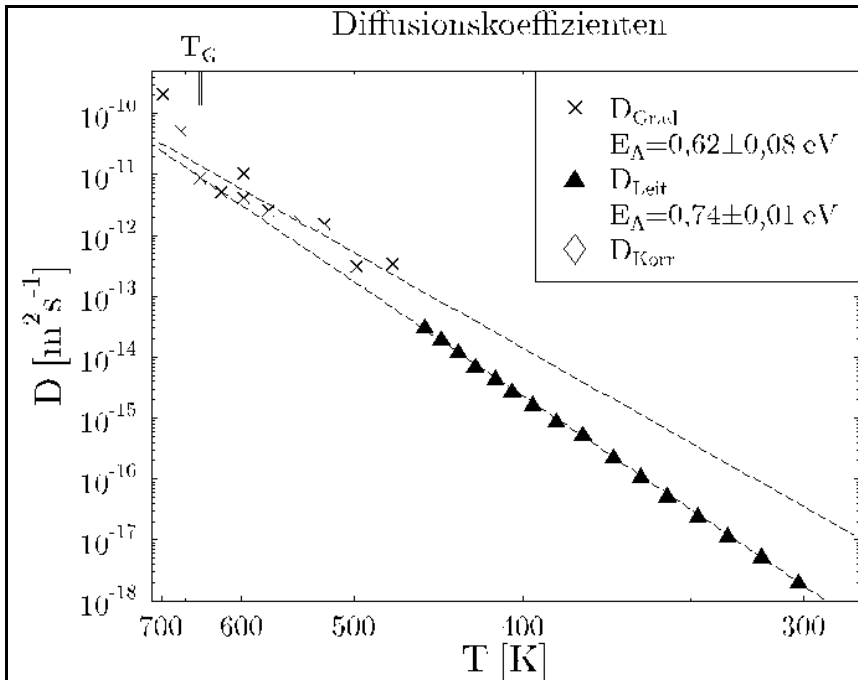
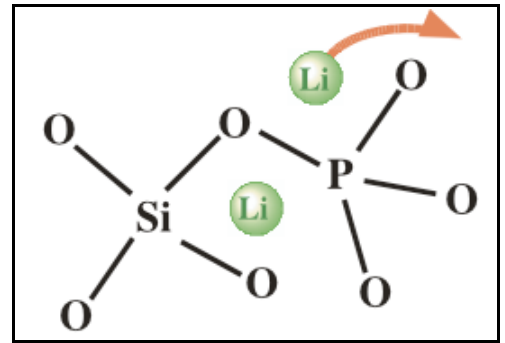
abgeschwächt. Hier stellt T_1 die Zeit zwischen den ersten beiden Pulsen dar, T_2 die Zeit zwischen dem zweiten und dritten Puls. Diese ist im Allgemeinen wesentlich länger als T_1 . Der Grund ist dass während T_1 die Magnetisierung mit der transversalen Relaxationszeit T_2 zerfällt, während T_2 aber mit der longitudinalen Relaxationszeit T_1 . Wenn T_1 länger ist als T_2 , was meistens der Fall ist, kann die Diffusionszeit bei einem Dreipuls experiment deshalb länger gemacht werden als bei einem Zweipuls experiment.

5.2.4 Diffusion in Ionenleitern

Man verwendet diese Methode z.B. zur Untersuchung der Ionendiffusion in sogenannten schnellen Ionenleitern. Dabei handelt es sich um eine Klasse von Materialien, in denen die Ionen relativ schnell diffundieren können. Solche Materialien werden u.a. in Batterien und

Brennstoffzellen verwendet, wo die Ionen den Ladungsausgleich zwischen den beiden Halbzellen herstellen.

Ein Beispiel für Ionenleiter sind Gläser, welche ein Gerüst aus Si-O und P-O Bindungen enthalten, sowie Li-Ionen, welche sich durch das Gerüst bewegen.



In diesem Beispiel wurde der Diffusionskoeffizient von Li in einem Lithium-Silikat-Phosphat Glas gemessen. Die Kreuze stellen die Resultate der Diffusionsmessungen in einem Magnetfeldgradienten dar, die Dreiecke Resultate von Messungen mit dielektrischer Spektroskopie. Die beiden Messmethoden decken unterschiedliche Temperaturbereiche ab, da sie etwas unterschiedliche Größen messen. Ein wichtiger Unterschied ist dass nur bei der

NMR klar ist welcher Kern transportiert wird. Die Diffusionskonstante hängt stark von der Temperatur ab; im hier betrachteten Temperaturbereich variiert sie um sieben Größenordnungen.

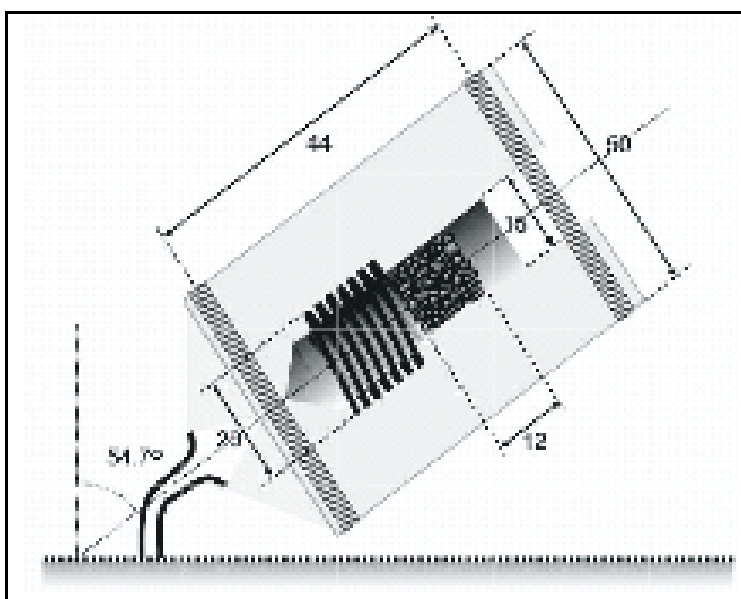
Es gibt nur wenige andere Messmethoden, die geeignet sind, die Diffusion in solchen Systemen zu untersuchen. Die einzige, welche direkt die gleiche Messgröße liefert, ist die Messung der Diffusion von radioaktiven Isotopen durch Aufbringen auf einer Oberfläche und schichtweises Abtragen nach einer gewissen Zeit. Ihr gegenüber hat die NMR unter anderem auch den Vorteil, dass sie das Material nicht zerstört oder auch nur verändert.

5.3 MAS

5.3.1 Prinzip

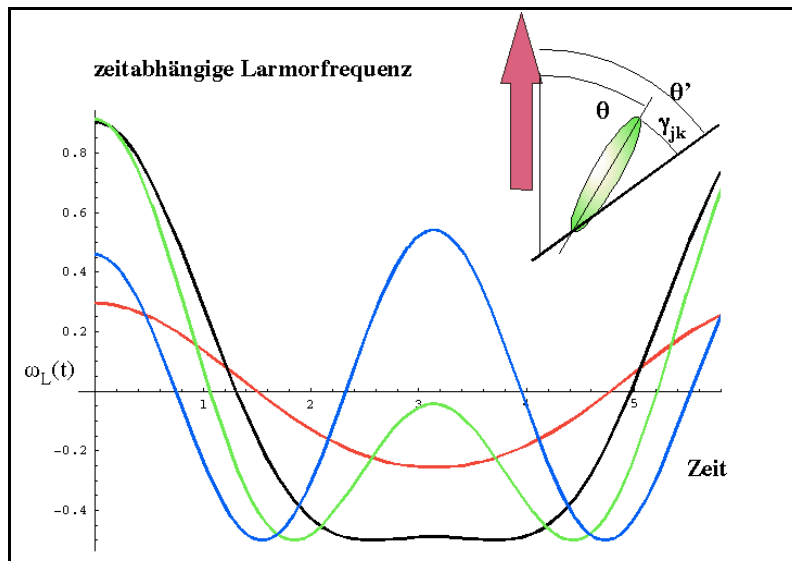
In nichtkristallinen Proben liegen unterschiedliche Orientierungen der Moleküle und Kristallite vor. Da prinzipiell alle Wechselwirkungen der magnetischen Resonanz orientierungsabhängig sind führt dies dazu, dass die entsprechenden NMR Spektren inhomogen verbreiterte Pulverlinien enthalten. Sie sind deshalb zum einen wenig empfindlich, zum andern sind sie schwierig zu interpretieren. Es ist deshalb von großer Wichtigkeit, Techniken zu verwenden, welche diese inhomogene Verbreiterung eliminieren.

Die wichtigste Methode dafür ist die magisch Winkel Rotation (MAS; Magic Angle Spinning). Sie basiert darauf, dass bei einer Rotation (molekulare oder Probenrotation) um eine Achse die Anisotropie der Wechselwirkungen ausmittelt. Im Bild ist ein MAS Probenkopf dargestellt; das Magnetfeld zeigt senkrecht nach oben, während die Rotationsachse schräg nach oben zeigt.



Das Prinzip einer MAS Turbine ist in der Figur schematisch dargestellt. Ein Gas wird unter Druck in den Stator eingeblasen und so auf den Rotor gerichtet, dass

es einerseits die Rotation antreibt, andererseits den Rotor in einer stabilen Lage hält. Die RF Spule ist um den Rotor gewickelt und damit ebenfalls im magischen Winkel zum statischen Feld orientiert. Rotationsgeschwindigkeiten liegen im Bereich von einigen kHz bis zu maximal 50 kHz.



Die Rotation führt dazu, dass der Winkel θ zwischen der Hauptachse des Tensors und der Magnetfeldrichtung zeitabhängig wird. In der Figur ist die Larmorfrequenz von vier Spins als Funktion der Zeit dargestellt. Die Spins unterscheiden sich durch die Orientierung ihres Tensors gegenüber der Rotationsachse. Je nach dem Winkel γ_{jk} zwischen der Tensor-Hauptachse und der Rotationsachse variiert die Larmorfrequenz unterschiedlich stark. Für diese vereinfachte Darstellung wurde angenommen dass alle Hauptachsen bei $t=0$ in der Bildebene liegen; in einer dreidimensionalen Probe ist dies nicht der Fall und die

einzelnen Kristallite zeigen unterschiedliche Phasen.

Die zeitlich gemittelte Larmorfrequenz, d.h. die Wechselwirkungsstärke eines Tensors zweiter Stufe wird statt mit dem Faktor $(1-3\cos^2\theta)$ mit Faktor

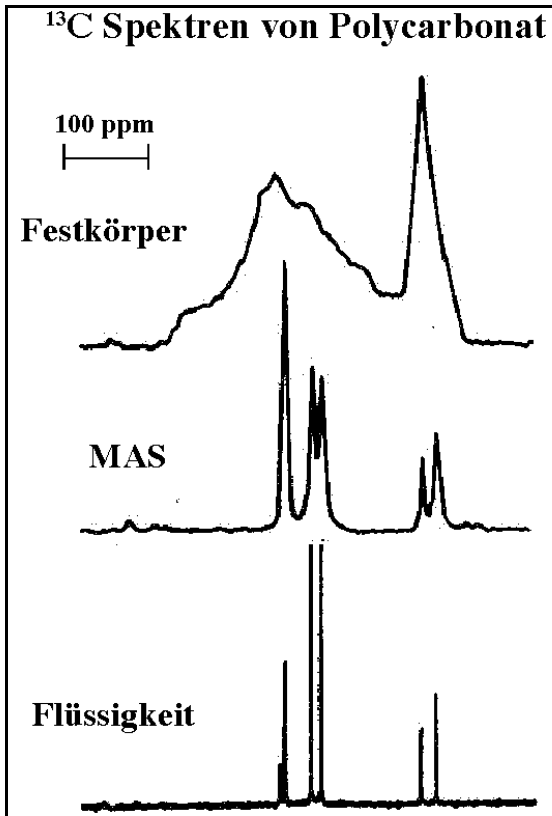
$$\langle 1-3\cos^2\theta \rangle = (1-3\cos^2\theta) (3\cos^2\gamma_{jk}-1)/2$$

gewichtet. Hier stellt θ den Winkel zwischen der Tensor-Hauptachse und dem Magnetfeld dar, γ_{jk} den Winkel zwischen der Tensor-Hauptachse und der Rotationsachse und θ' den Winkel zwischen der Rotationsachse und der Richtung des Magnetfeldes dar. Somit ist es möglich, die zeitlich gemittelte Wechselwirkungsstärke für alle Orientierungen γ_{jk} auf Null zu skalieren wenn man die Rotationsachse auf den Winkel

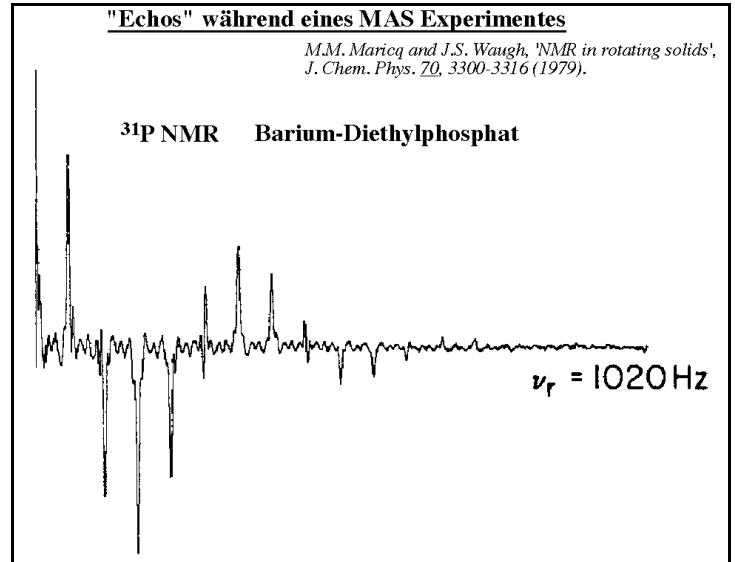
$$\theta_m = \cos^{-1} \frac{1}{\sqrt{3}} \approx 54.7^\circ$$

einstellt. Dieser Winkel wird als magischer Winkel bezeichnet. In der obigen Figur wurde die Rotationsachse auf den magischen Winkel gelegt; wie man erkennen kann ist hier die mittlere Larmorfrequenz für alle Spins identisch.

Auf diese Weise kann insbesondere die Anisotropie der chemischen Verschiebung ausgemittelt werden. Da die mittlere Frequenz für alle Spins identisch wird erhält man schmale Linien, d.h. hoch aufgelöste Spektren, welche praktisch einem Flüssigkeitsspektrum entsprechen.

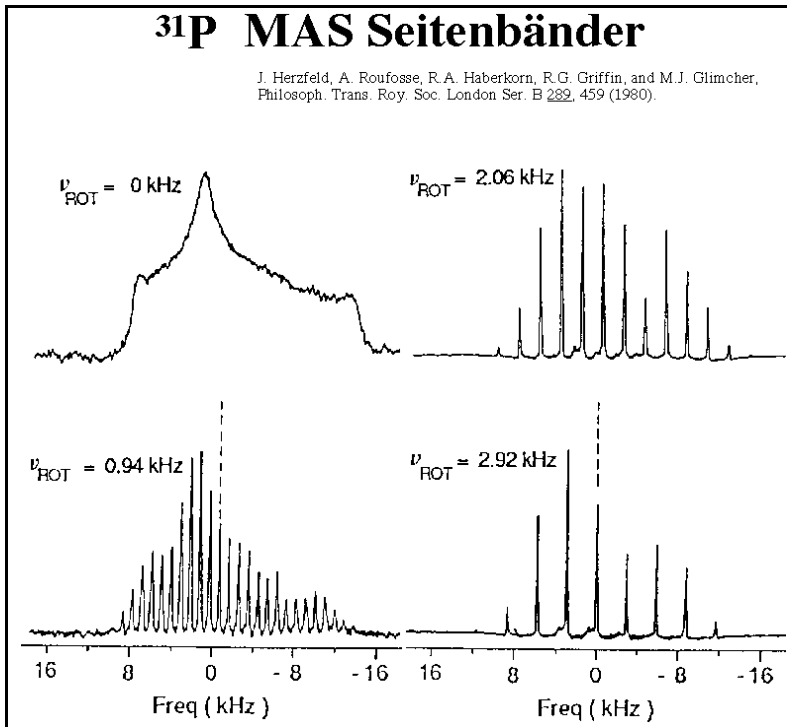


5.3.2 FID, Spektrum



Im Zeitbereich zerfällt der FID auf kurzen Zeiten wie bei einem statischen Experiment. Nach einer vollen Umdrehung kompensiert sich jedoch der Zerfall aufgrund der Orientierungsanisotropie, da zu diesem Zeitpunkt die mittlere Frequenz (und damit die akkumulierte Phase) für alle Orientierungen identisch ist.

Man erhält deshalb einen FID der aus einer Reihe von Echos besteht, wobei die Envelope die gleiche Zerfallszeit besitzt wie der isotrope FID. Die Modulation der Echos mit einer Frequenz von 150 Hz zeigt dass die RF Frequenz um diesen Betrag von der Mitte der Linie entfernt ist. Die Rotationsfrequenz von 1 kHz war damals recht hoch; heute kommt man bis auf 50 kHz.



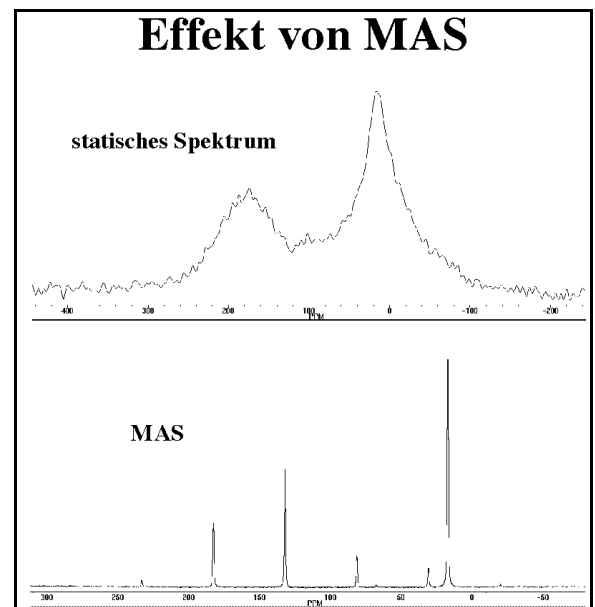
Die Technik ist besonders dann nützlich wenn eine große Zahl von Linien im Spektrum vorhanden ist, welche in einem statischen Spektrum so stark überlappen dass sie nicht getrennt werden können. In diesem Beispiel erhöht die bessere Auflösung des MAS Spektrums in Kombination mit der höheren Empfindlichkeit gegenüber dem statischen Spektrum die Nützlichkeit um Größenordnungen.

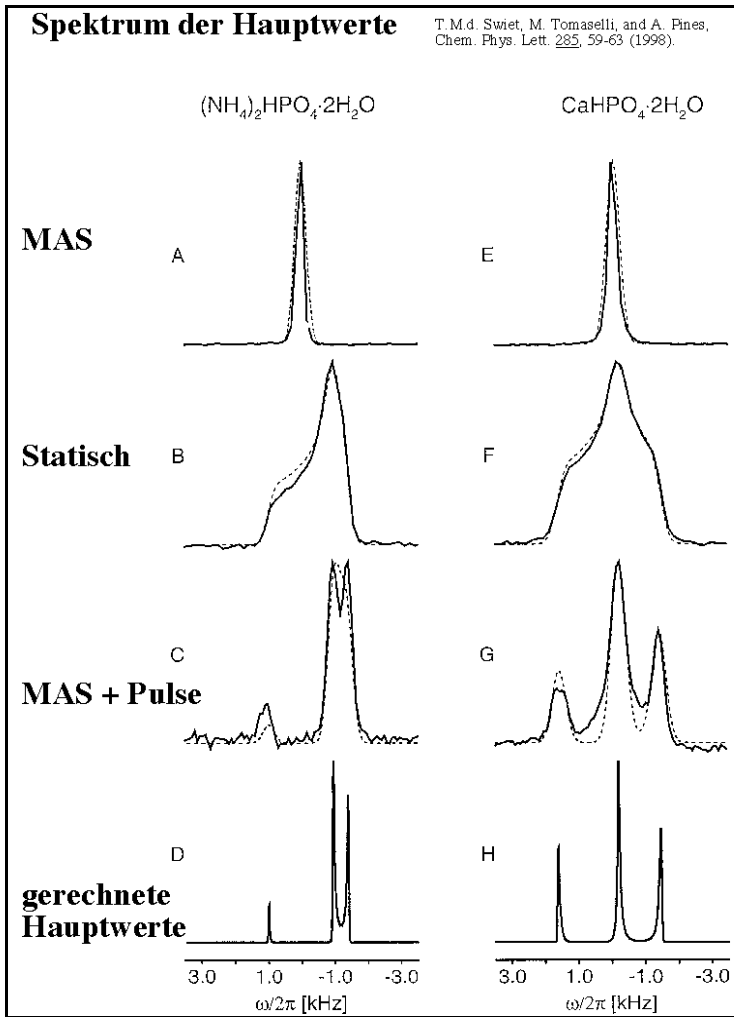
5.3.3 Erweiterungen

Ein MAS Spektrum eliminiert die Anisotropie und liefert eine einzelne Linie, welche dem isotropen Mittelwert entspricht. Für die chemische Verschiebung ist damit die Resonanzfrequenz gegeben durch

$$1/3 (\sigma_{xx} + \sigma_{yy} + \sigma_{zz}) .$$

Die wiederkehrenden Echos entsprechen einer Modulation des FID's, welche sich auch im Spektrum niederschlagen muss. Man erhält deshalb im Spektrum nicht eine einzelne Resonanzlinie, sondern so genannte Seitenbänder, deren Abstand von der Zentrallinie mehrfachen der Rotationsfrequenz entspricht. Die Einhüllende der Seitenbänder ist in erster Näherung durch das Pulverspektrum gegeben. Um die Spektren zu vereinfachen wählt man heute gerne sehr hohe Rotationsfrequenzen, so dass praktisch keine Seitenbanden mehr entstehen. Gleichzeitig wird dadurch auch die Linienbreite geringer.





Es gibt auch die Möglichkeit, die Anisotropie nicht wegzumitteln, sondern Spektren zu erzeugen, welche an den Hauptwerten des Pulverspektrums Linien zeigen und damit Zugang zu den Werten σ_{xx} , σ_{yy} und σ_{zz} einzeln bieten. Dies ist deshalb attraktiv weil die Anisotropie interessante Informationen enthält, welche für die Untersuchung von Materialeigenschaften verwendet werden können. Diese Anwendung benötigt einen doppelten Mittelungsprozess, bei dem korrelierte Rotationen der räumlichen Koordinaten (MAS Rotation) und der Spinkoordinaten (mit Pulsen) durchgeführt werden.

5.3.4 Tensoren höherer Stufe

Magisch Winkel Rotation mittelt Tensoren zweiter Stufe aus, d.h. Tensoren, deren Winkelabhängigkeit durch das zweite Legendrepolynom

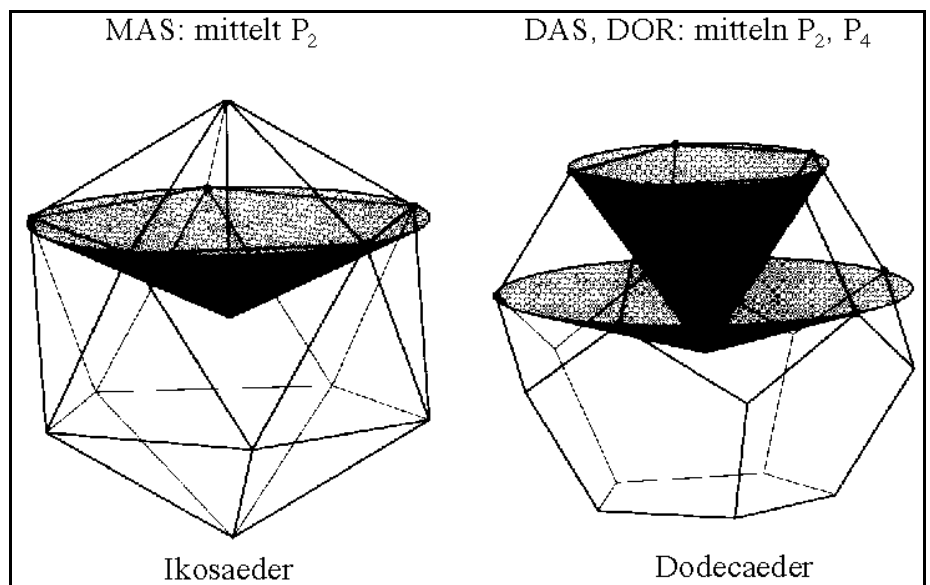
$$P_2(\cos \vartheta) = \frac{1}{2}(3\cos^2\vartheta - 1)$$

gegeben ist.

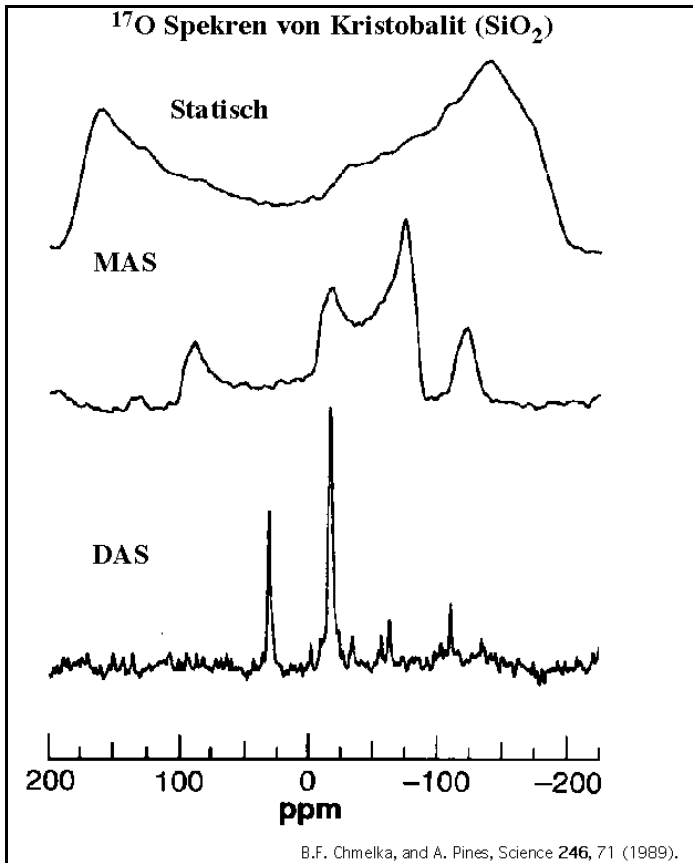
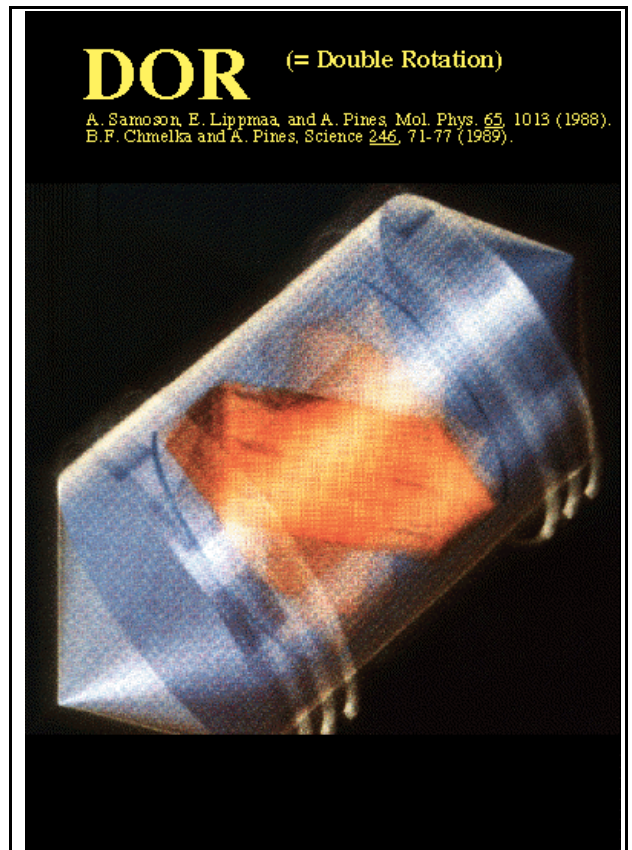
Eine Wechselwirkung, welche eine andere Orientierungsabhängigkeit aufweist ist die Quadrupolwechselwirkung zweiter

Ordnung, welche den Zentralübergang von halbzahligem Spins $I > 1/2$ verbreitert. Diese Linien bleiben deshalb auch unter MAS Bedingungen verbreitert.

Um diese Verbreiterung zu eliminieren muss man die Probe um zwei Achsen gleichzeitig rotieren um andere Wechselwirkungen zu eliminieren, welche eine andere Orientierungsabhängigkeit zeigen. Für die Eliminierung dieser Wechselwirkungen höherer Ordnung ist es notwendig, um mehr als eine Achse zu rotieren. Man kann die beiden Mittelungsprozesse in reguläre Polyeder einfügen.



Die gleichzeitige Rotation um zwei verschiedene Achsen ist experimentell nicht einfach zu realisieren. Es gibt dazu verschiedene Verfahren, z.B. DAS (=Dynamic Angle Spinning) oder DOR (=Double Rotation). In diesem Fall sind zwei Spinner ineinander geschachtelt, welche um unterschiedliche Achsen rotieren.



Ein Kern, welcher relativ starke Quadrupolwechselwirkung zweiter Ordnung zeigt ist ^{17}O – das einzige Isotop von Sauerstoff, welches in der NMR verwendet werden kann. Wie die Figur zeigt ist der Zentralübergang der statischen Spektren durch die Quadrupolwechselwirkung zweiter Ordnung stark verbreitert. MAS reduziert die Linienbreite etwas und ermöglicht die Trennung der

Hauptwerte, ergibt jedoch immer noch eine Pulver-Linienform. Erst mit DAS erhält man scharfe Linien.

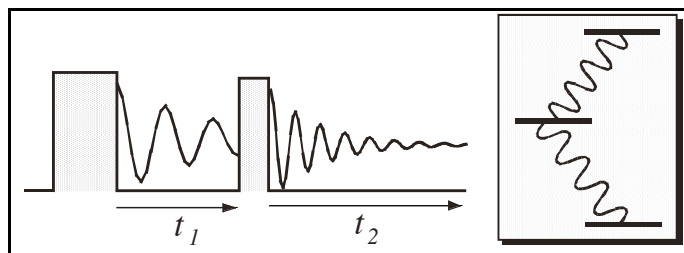
5.4 Strukturbestimmung in Proteinen

Strukturelle und dynamische Eigenschaften von Proteinen gehören zu den wichtigsten Anwendungen der magnetischen Resonanz. Da Proteine relativ komplexe Moleküle sind ist es hier in den meisten Fällen nicht möglich, eindimensionale Spektren überhaupt zuzuordnen. Man verwendet für diese Untersuchungen unterschiedliche mehrdimensionale Experimente (meist 2D, 3D). Hier sollen die beiden wichtigsten (und ältesten) kurz diskutiert werden.

5.4.1 COSY

Eine wichtige Anwendung der 2D Spektroskopie ist das COSY (=Correlation Spectroscopy) Experiment, welches dazu dient, Verknüpfungen zwischen Kernspins zu finden.

Im einfachsten Fall verwendet man dafür eine Folge aus zwei RF Pulsen, welche alle Spins anregen. Wir diskutieren hier den Fall eines homonuklearen, schwach gekoppelten Zweispinsystems AX mit einem Hamiltonoperator



$$\mathcal{H} = \omega_A A_z + \omega_B B_z + J A_z X_z .$$

Die Gleichgewichtsmagnetisierung

$$\rho_0 = A_z + X_z$$

wird durch den ersten $(\pi/2)_x$ Puls in transversale Magnetisierung

$$\rho(0) = A_y + X_y$$

umgewandelt. Während der Evolutionszeit t_1 wird daraus

$$\begin{aligned} \rho(t_1) = & (A_y \cos(\omega_A t_1) - A_x \sin(\omega_A t_1) + X_y \cos(\omega_X t_1) - X_x \sin(\omega_X t_1)) \cos(J t_1 / 2) \\ & + (-A_x X_z \cos(\omega_A t_1) - A_y X_z \sin(\omega_A t_1) - X_x A_z \cos(\omega_X t_1) - X_y A_z \sin(\omega_X t_1)) \sin(J t_1 / 2) . \end{aligned}$$

Der zweite $(\pi/2)_x$ Puls erzeugt daraus

$$\begin{aligned} \rho(t_1, 0) = & (-A_z \cos(\omega_A t_1) - A_x \sin(\omega_A t_1) - X_z \cos(\omega_X t_1) - X_x \sin(\omega_X t_1)) \cos(J t_1 / 2) \\ & + (-A_x X_y \cos(\omega_A t_1) + A_z X_y \sin(\omega_A t_1) - X_x A_y \cos(\omega_X t_1) + X_z A_y \sin(\omega_X t_1)) \sin(J t_1 / 2) . \end{aligned}$$

Von diesen Termen stellen nur die Komponenten A_x , X_x , $A_z X_y$ und $X_z A_y$ beobachtbare Magnetisierung dar.

Während der Detektionszeit t_2 entwickelt sich die relevanten Komponenten des Dichteoperators wie

$$\begin{aligned} A_x \sin(\omega_A t_1) \cos(J t_1 / 2) \rightarrow & \sin(\omega_A t_1) \cos(J t_1 / 2) [(A_x \cos(\omega_A t_2) + A_y \sin(\omega_A t_2)) \cos(J t_2 / 2) \\ & + (A_y X_z \cos(\omega_A t_2) - A_x X_z \sin(\omega_A t_2)) \sin(J t_2 / 2)] . \end{aligned}$$

Beobachten wir z.B. die y-Komponente der Magnetisierung, so erhalten wir davon einen Signalbeitrag

$$s(t_1, t_2) = \sin(\omega_A t_1) \cos(J t_1/2) \sin(\omega_A t_2) \cos(J t_2/2).$$

5.4.2 Form und Interpretation des Spektrums

Eine zweidimensionale Fouriertransformation erzeugt daraus vier Linien bei den Frequenzen $[\omega_1 = \omega_A \pm J/2, \omega_2 = \omega_A \pm J/2]$. Einen entsprechenden Signalbeitrag bei der Frequenz $[\omega_1 = \omega_X \pm J/2, \omega_2 = \omega_X \pm J/2]$ liefert der Term $X_X \sin(\omega_X t_1) \cos(J t_1/2)$.

Einen weiteren Signalbeitrag erhält man von den Termen $(A_Z X_Y \sin(\omega_A t_1) \sin(J t_1/2)$ und $X_Z A_Y \sin(\omega_X t_1) \sin(J t_1/2)$. Der erste entwickelt sich während der Detektion wie

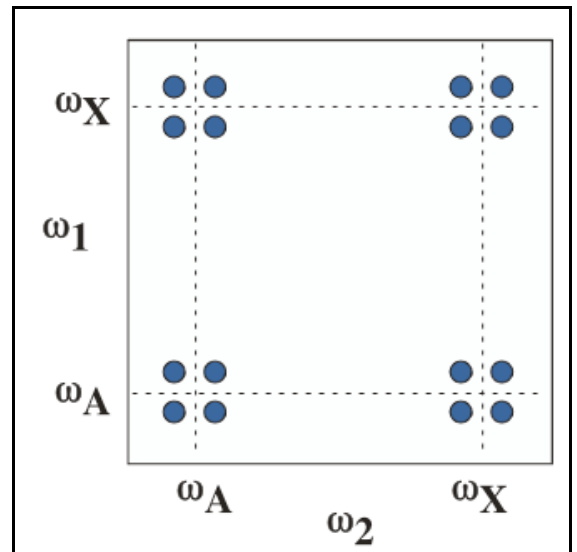
$$A_Z X_Y \sin(\omega_A t_1) \sin(J t_1/2) \rightarrow \sin(\omega_A t_1) \sin(J t_1/2)$$

$$[(A_Z X_Y \cos(\omega_X t_2) - A_Z X_X \sin(\omega_X t_2)) \cos(J t_2/2) - (X_X \cos(\omega_X t_2) + X_Y \sin(\omega_X t_2)) \sin(J t_2/2)].$$

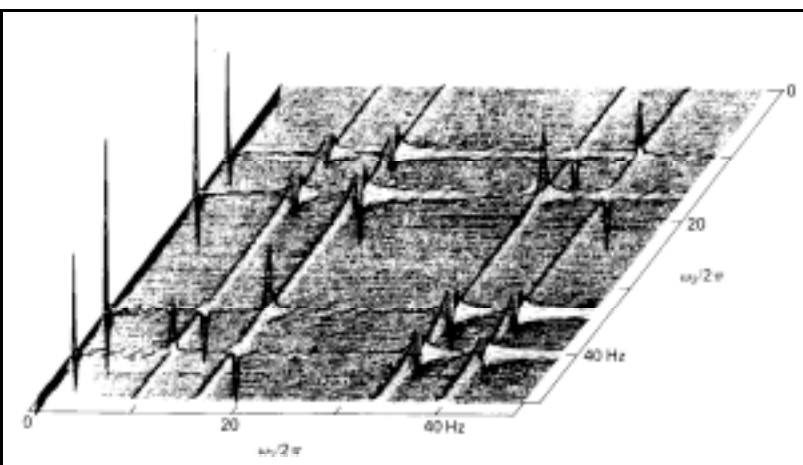
Mit der Observablen X_Y wird das Signal im Zeitbereich $\sin(\omega_A t_1) \sin(J t_1/2) \sin(\omega_X t_2)$

$\sin(J t_2/2)$ und im Frequenzbereich erhalten wir vier Linien bei $[\omega_1 = \omega_A \pm J/2, \omega_2 = \omega_X \pm J/2]$. Der Term $X_Z A_Y \sin(\omega_X t_1) \sin(J t_1/2)$ erzeugt dementsprechend Linien bei $[\omega_1 = \omega_X \pm J/2, \omega_2 = \omega_A \pm J/2]$.

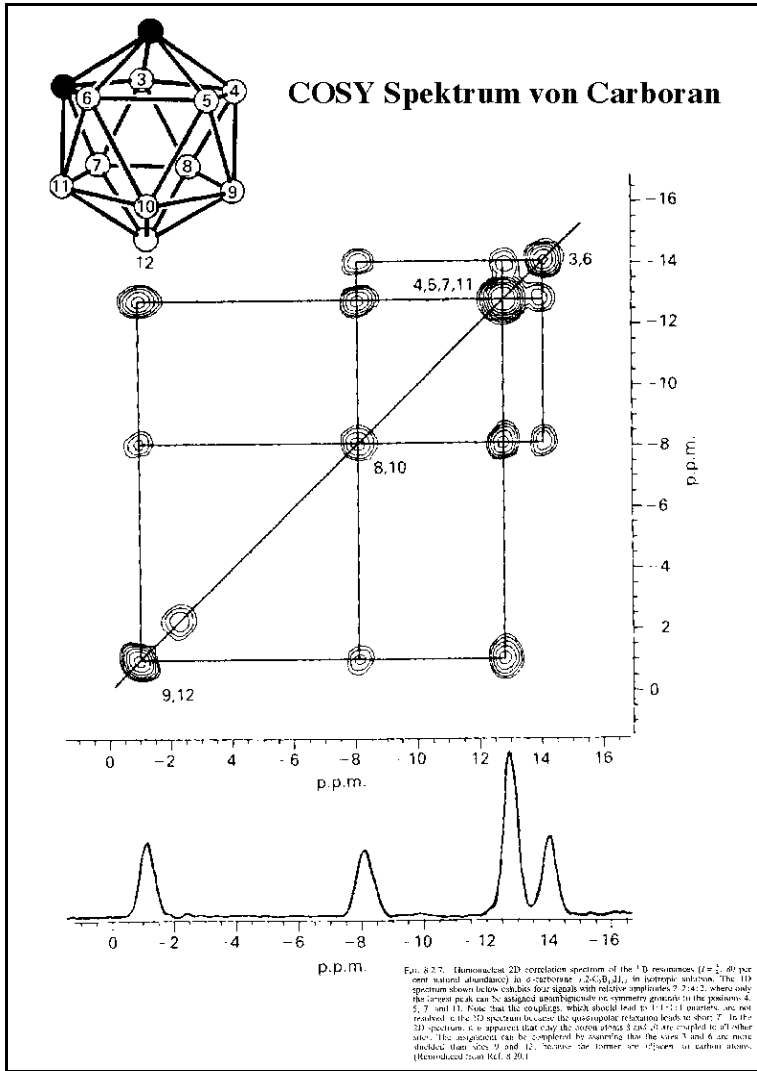
Das gesamte Spektrum besteht somit aus vier Gruppen zu je vier Linien. Die Quartette in der Nähe der Diagonalen enthalten die gleiche Information wie das eindimensionale Spektrum; die Kreuzpeaks hingegen zeigen, dass die beiden aneinander gekoppelt sind. Da solche Kopplungen immer über chemische Bindungen (eine oder mehrere) laufen erlauben sie Rückschlüsse auf die Struktur des Moleküls, welches den Kern enthält.



In der Figur ist eines der ältesten COSY Spektren dargestellt, welches die beiden Protonen in Dibromthiophen dargestellt. Die zusätzlichen Resonanzlinien bei $\omega_1 = 0$ stammen von Magnetisierungsbeiträgen, welche während der Evolutionszeit durch Relaxation entstanden sind. Sie werden in den meisten Experimenten



durch Phasenzyklen eliminiert.



In diesem Beispiel wurde das COSY Spektrum von ^{11}B in *o*-Carboran gemessen. Das Molekül enthält 10 B Atome, welche aufgrund der Symmetrie des Moleküls in drei zweier- und einer Viergruppen äquivalent sind.

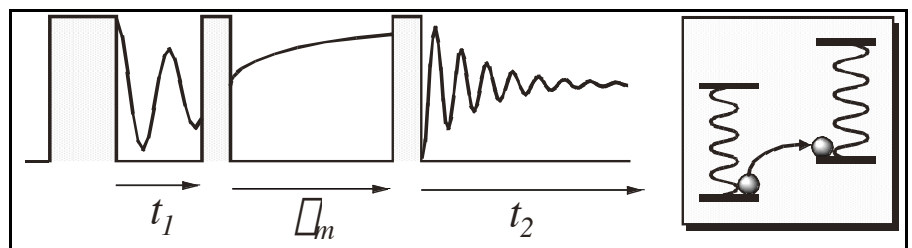
Die verschiedenen Atome sind über skalare Kopplungen mit ihren nächsten Nachbarn gekoppelt. Dies kann dazu verwendet werden, die Resonanzlinien zuzuordnen. So sind die Atome 3 und 6 nicht an die Atome 9 und 12 gekoppelt, während die Atome an den Positionen 8, 10, 4, 5, 7, 11 an alle anderen Positionen gekoppelt sind.

Die einzelnen Liniengruppen sind hier nicht aufgelöst weil die Relaxation durch das Quadrupolmoment ($I=3/2$) relativ schnell und dadurch die Linienbreite größer ist als die Kopplungen.

5.4.3 NOESY

Das zweite wichtige Experiment für die Untersuchung von Biomolekülen wird als NOESY (für Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) bezeichnet. In diesem Experiment misst man den Austausch von Polarisation über Dipol-Dipol Wechselwirkung und damit den geometrischen Abstand zwischen den entsprechenden Spins. Dieser Austausch wird durch die (zeitabhängige) Dipolkopplung getrieben, welche u.a. Spinoperatoren $A_+ X_-$ enthält, welche (longitudinale) Polarisation zwischen A und X tauschen.

Das NOESY Experiment verwendet eine Dreipulsfolge. Wir betrachten wiederum ein Zweispinsystem, welches aber nicht gekoppelt ist ($J=0$). Wie beim COSY Experiment beginnt man mit einer Evolutionszeit. Danach der das Spinsystem durch den Dichteoperator



$$\rho(t_1) = A_y \cos(\omega_A t_1) - A_x \sin(\omega_A t_1) + X_y \cos(\omega_X t_1) - X_x \sin(\omega_X t_1).$$

beschrieben wird. Der zweite Puls, welcher die Evolutionszeit abschließt erzeugt daraus

$$\rho(t_1, 0) = -A_z \cos(\omega_A t_1) - A_x \sin(\omega_A t_1) - X_z \cos(\omega_X t_1) - X_x \sin(\omega_X t_1).$$

Die transversalen Terme A_x und X_x zerfallen während der Mischzeit τ_m und werden nicht mehr berücksichtigt.

Sind die beiden Spins geometrisch benachbart, so spüren sie eine Dipolwechselwirkung

$$\begin{aligned} \mathcal{H}_{dd} = & \tau_d \left\{ (1-3\cos^2\theta) (A_{1z} X_{2z} - \frac{1}{4}(A_{1+}X_{2-} + A_{1-}X_{2+})) \right. \\ & - \frac{3}{2} \sin\theta \cos\theta [(A_{1z}X_{2+} + A_{1+}X_{2z}) e^{-i\theta} + (A_{1z}X_{2-} + A_{1-}X_{2z}) e^{i\theta}] \\ & \left. - \frac{3}{4} \sin^2\theta [A_{1+}X_{2+} e^{-2i\theta} + A_{1-}X_{2-} e^{2i\theta}] \right\}. \end{aligned}$$

Aufgrund der molekularen Bewegung in einer Flüssigkeit verschwindet die Kopplung im zeitlichen Mittel. Die Terme $(A_{1+}X_{2-} + A_{1-}X_{2+})$ und $(A_{1+}X_{2+} + A_{1-}X_{2-})$ können jedoch, gerade aufgrund der Zeitabhängigkeit, Übergänge zwischen den Zuständen $|00\rangle \leftrightarrow |11\rangle$ respektive $|00\rangle \leftrightarrow |1-1\rangle$ erzeugen. In beiden Fällen wird Zeeman-Polarisation zwischen den gekoppelten Spins ausgetauscht, wobei im zweiten Fall das Vorzeichen gedreht wird.

Findet ein Austausch statt, so ist der Zustand am Ende der Mischzeit

$$\rho(t_1, \tau_m) = -A_z [(1-x) \cos(\omega_A t_1) + x \cos(\omega_X t_1)] - X_z [(1-x) \cos(\omega_X t_1) + x \cos(\omega_A t_1)].$$

Der dritte Puls erzeugt daraus

$$\rho(t_1, \tau_m, 0) = -A_y [(1-x) \cos(\omega_A t_1) + x \cos(\omega_X t_1)] - X_y [(1-x) \cos(\omega_X t_1) + x \cos(\omega_A t_1)].$$

Wir erhalten somit insgesamt vier Linien:

ω_1	ω_2	Amplitude
ω_A	ω_A	$1-x$
ω_A	ω_X	x
ω_X	ω_A	x
ω_X	ω_X	$1-x$

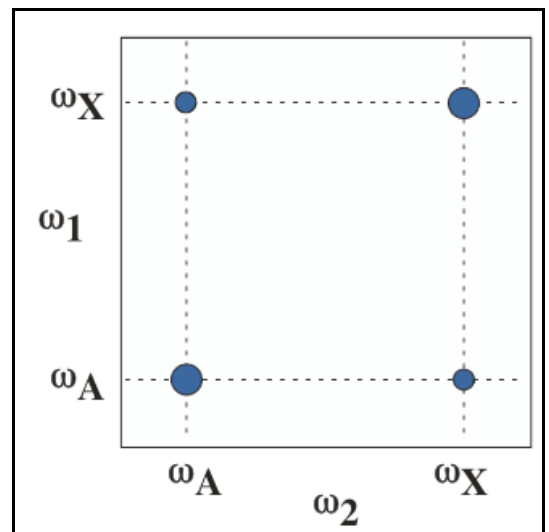
Die Diagonale enthält wie üblich die Information des 1D Spektrums, während die Außerdiagonalelemente anzeigen welche Spins geometrisch benachbart sind.

Der Austausch wird durch die Dipolwechselwirkung getrieben; in zweiter Ordnung Störungsrechnung kann man die Rate berechnen, welche proportional zum Quadrat der Kopplungskonstante ist und damit $\sim d^{-6}$.

Die Austauschamplitude x ist abhängig von der Mischzeit τ_m . Der Austausch kann beschrieben werden durch ein lineares Differentialgleichungssystem

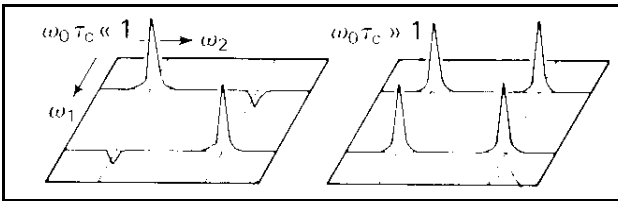
$$d/dt A_z = -w(A_z - X_z) - A_z/T_1$$

$$d/dt X_z = -w(X_z - A_z) - X_z/T_1,$$

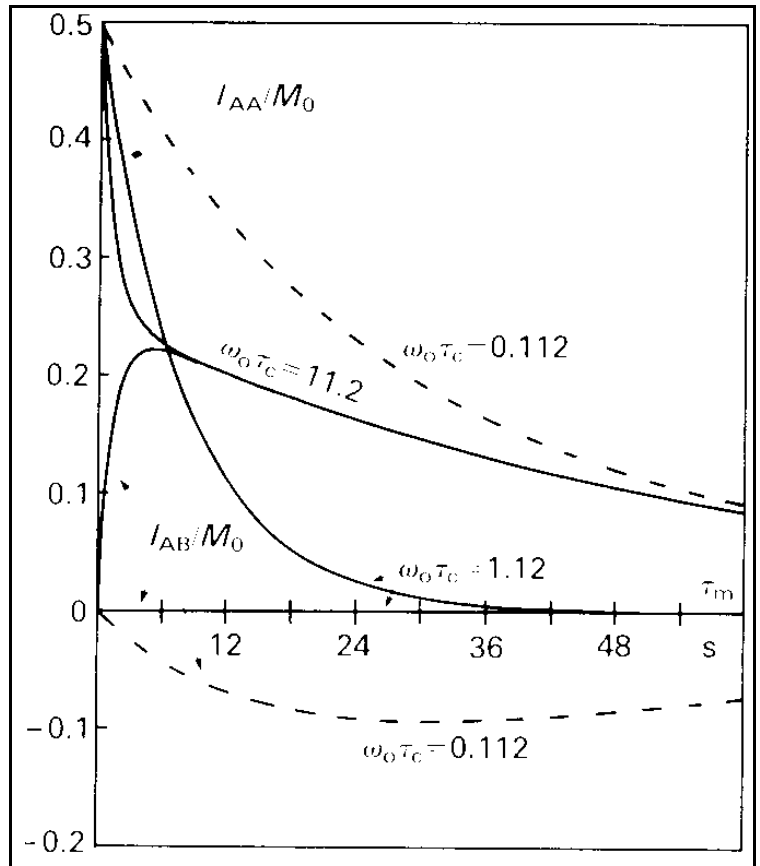


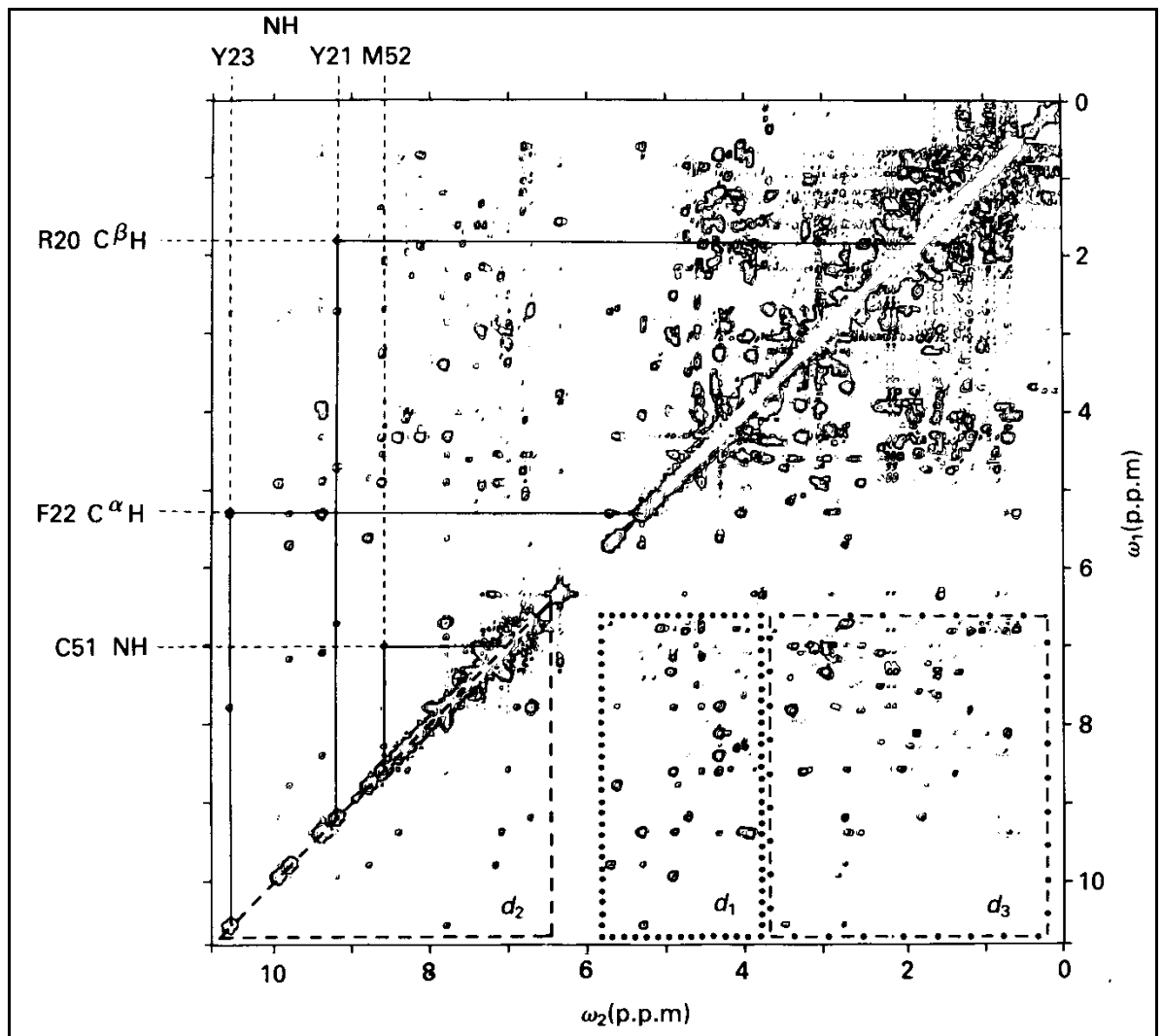
wobei T_1 die Spin-Gitter Relaxationszeit beschreibt, w die Austauschrate durch die d-d Wechselwirkung.

Der Austauschprozess führt mit der Rate w zum Aufbau der Kreuzpeaks und gleichzeitig zu einer Reduktion der Diagonalpeaks. Die Relaxationsprozesse führen zu einer Dämpfung aller Linien. In der Figur ist das Verhalten für Kreuzpeak und Diagonalpeak für unterschiedliche Austauschraten dargestellt.



Die verschiedenen Kurven stellen die Zeitabhängigkeit der Amplituden für unterschiedliche Korrelationszeiten dar. Für langsame Bewegung ($\omega_0 \tau_c \gg 1$) wird der Austausch durch den FlipFlop Term dominiert und die Kreuzpeaks haben positives Vorzeichen. Für kurze Korrelationszeiten ($\omega_0 \tau_c \ll 1$) dominiert der FlopFlop (2 Quanten) Term $A_+ X_+ + A_- X_-$ und das Vorzeichen der Außerdiagonalpeaks wird negativ.





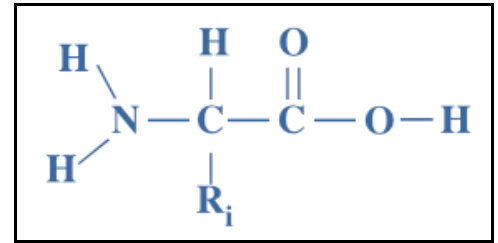
In der Figur ist das NOESY Spektrum von BPTI, einem kleinen Protein dargestellt. Auf der Diagonalen erscheint das 1D Spektrum, welches sehr wenig Auflösung zeigt. Die gestrichelten Linien geben die Bereiche an, in denen die wichtigsten Kreuzpeaks für die Zuordnung liegen: Die Amidprotonen NH liegen im Bereich > 6.5 ppm, die C^β Protonen im Bereich 4-6 ppm und die C^α ... Protonen unterhalb 3.5 ppm. Die Rechtecke bezeichnen somit den Austausch NH-NH, NH - C^β und NH - C^α .

Da die Stärke der Wechselwirkung mit $1/r^3$ skaliert verschwindet die Kreuzrelaxation mit $1/r^6$. Sie hängt damit sehr stark vom Abstand ab, ergibt also sehr genaue Messwerte für intramolekulare Distanzen. Für die Bestimmung der Raten muss eine Reihe von Spektren mit unterschiedlicher Mischzeit aufgenommen werden.

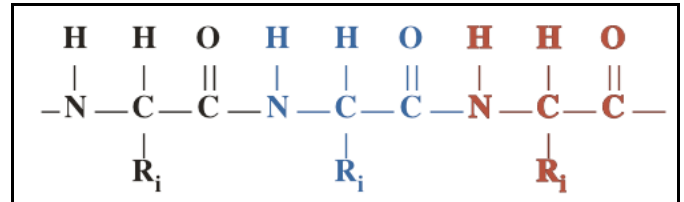
5.4.4 Proteine

Wahrscheinlich das wichtigste Beispiel für die Anwendung solcher Messungen sind Proteinnmoleküle. Proteine sind natürliche Polymere aus Aminosäuren.

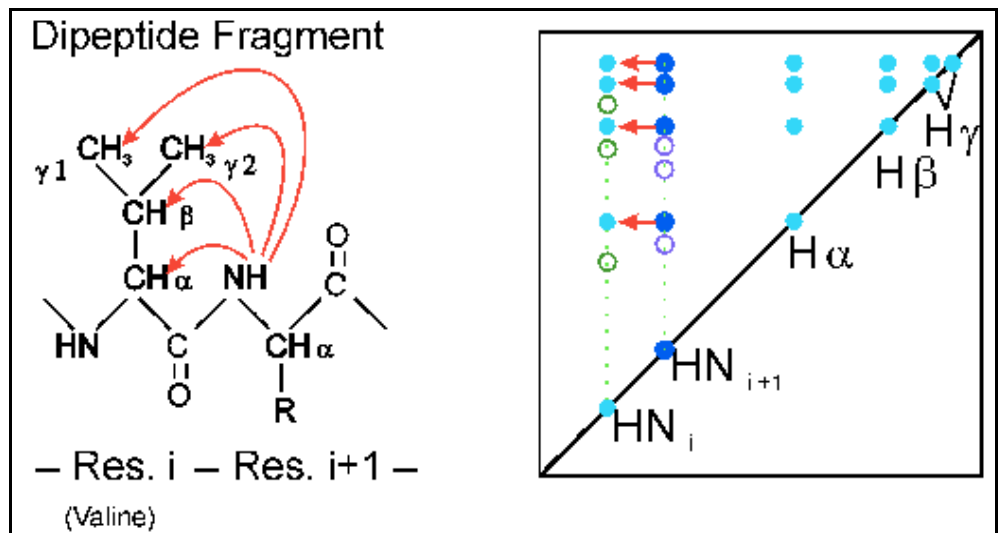
Aminosäuren haben grundsätzlich immer die gleiche Struktur: An einem zentralen Kohlenstoffatom sind eine Säuregruppe, eine Aminogruppe, ein Wasserstoffatom, sowie eine Seitenkette gebunden. Die verschiedenen Aminosäuren unterscheiden sich durch diese Seitenketten.



In einem Protein sind einige Dutzend bis einige Hundert Aminosäuren aneinander gebunden, wobei der Rückgrat des Moleküls immer aus der Wiederholung $\text{NH} - \text{CHR}_i - \text{CO}$ besteht. Diese Proteine bilden die Grundbausteine der meisten Lebewesen; sie sind z.B. für die Energieversorgung zuständig, oder für die Steuerung der meisten biochemischen Prozesse. Die Sequenz der Aminosäuren ist in den Genen codiert und kann u.a. durch die Sequenzierung der DNA bestimmt werden. Allerdings ist die Sequenz noch nicht direkt für die Funktion zuständig. Die Ketten der Aminosäuren falten sich und erst die daraus entstehende dreidimensionale Struktur bestimmt die biologische Funktion. Um die Struktur solcher Moleküle zu bestimmen ist die übliche Methode der Röntgenbeugung nicht immer geeignet, da es häufig nicht möglich ist, genügend gute Einkristalle zu ziehen. Außerdem ist es natürlich interessant, sie auch in ihrer "natürlichen" Umgebung, d.h. in wässriger Lösung zu untersuchen. Dies ist möglich mit Hilfe der NMR-Spektroskopie.



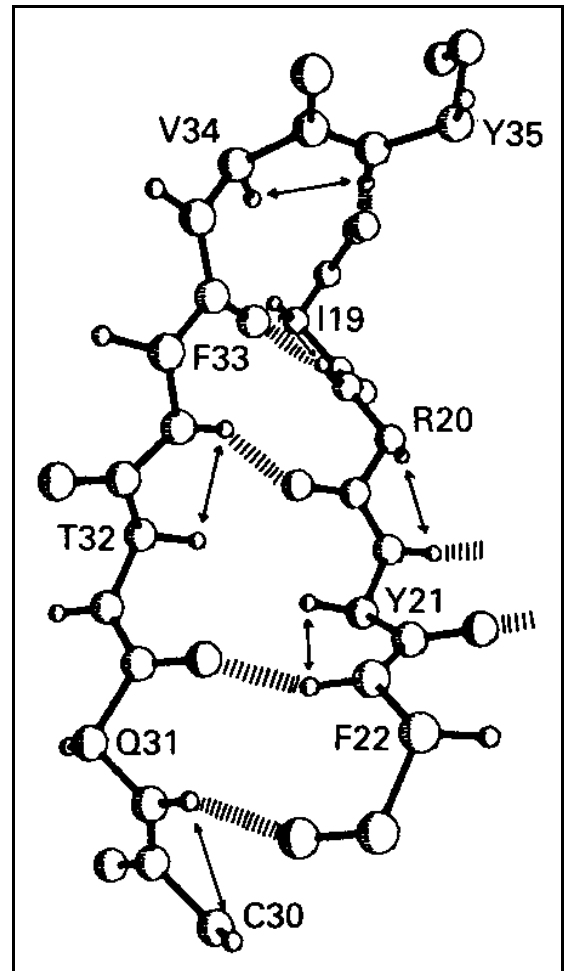
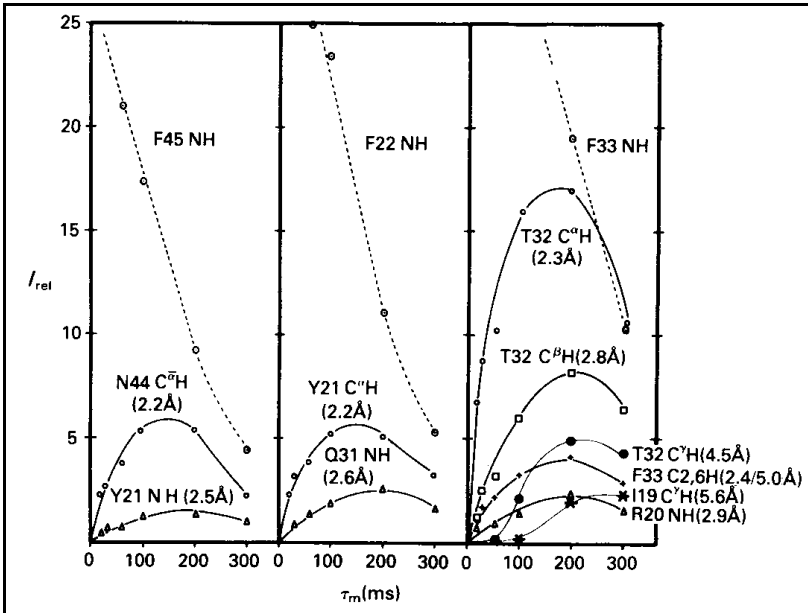
Bevor Struktur und Dynamik bestimmt werden können müssen die Linien in den Spektren einzelnen Kernen zugeordnet werden. Dazu können zum einen die gerechneten chemischen Verschiebungen benutzt werden, aber auch bereits Informationen aus zweidimensionalen Spektren. So können NOESY Kreuzpeaks verwendet werden, um ein Amidproton einer bestimmten Aminosäure zuzuordnen: Im gezeigten Beispiel werden dafür die Abstände zu einem benachbarten Valin verwendet.



Dabei benutzt man die oben skizzierte Abstandsabhängigkeit der Dipol-Dipol Wechselwirkung, aber zusätzlich auch so genannt indirekte Kopplungen, welche durch die Elektronen in chemischen Bindungen vermittelt werden. Dadurch kann man nicht nur feststellen, über wie viele chemische Bindungen die Atome aneinander gebunden sind, sondern auch wie die Substituenten gegeneinander verdreht sind.

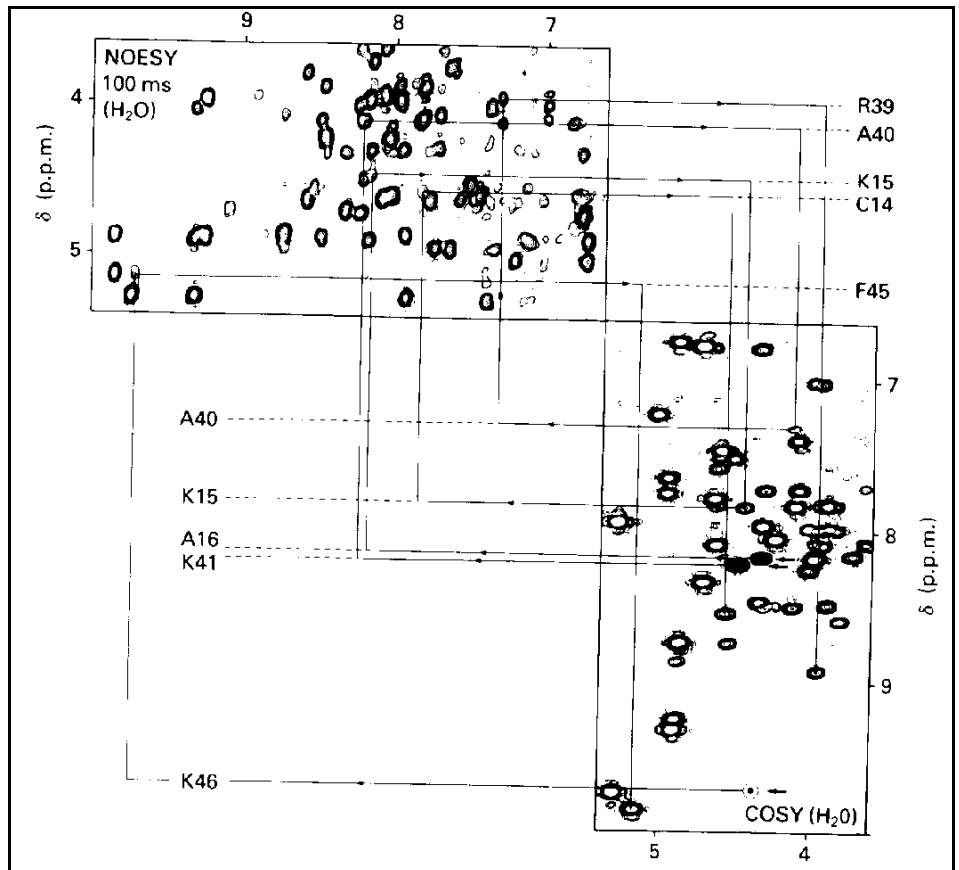
5.4.5 Beispiel: BPTI

In der Figur ist ein Teil des Proteins BPTI dargestellt. Die Pfeile geben an, wo jeweils ein N-H Proton einer Aminosäure zum C-H Proton der vorangehenden Aminosäure benachbart ist.



Die Distanzen können aus der Zeitabhängigkeit der Kreuzpeaks berechnet werden. In der Figur sind die gemessenen Zeitabhängigkeiten für einige Aminosäuren von BPTI dargestellt. In der dritten Kolonne sind auch einige Kurven sichtbar, die bei $\tau_m=0$ eine horizontale Tangente aufweisen. Dies ist ein Hinweis darauf, dass es sich hier um Prozesse höherer Ordnung handelt: die Magnetisierung wird von Spin A auf Spin M und erst von dort auf Spin X übertragen.

Hier ist als Beispiel die Bestimmung der Struktur von BPTI dargestellt. Links oben ist die Struktur des beta-Faltblattes dargestellt. Unten sind das COSY und das NOESY Spektrum in ein Spektrum kombiniert, wobei das linke obere Dreieck das NOESY Spektrum darstellt, das rechte untere das COSY Spektrum. Diese Darstellungsweise erlaubt eine relativ einfache Sequenzanalyse: wie durch die Linien markiert ist gelangt man jeweils über ein Viereck von einer Aminosäure zur nächsten. Die Figur oben rechts zeigt die Abhängigkeit der einzelnen Linienamplituden von der Mischzeit: die Diagonalpeaks haben die maximale Amplitude zu Beginn der Mischzeit, während die Kreuzpeaks mit Amplitude 0 beginnen, aufgrund der Kreuzrelaxation wachsen und schließlich aufgrund der Relaxation wieder verschwinden. Man erkennt zwei Arten von Kreuzpeaks: diejenigen welche für niedrige Mischzeiten linear anwachsen und andere die zunächst eine verschwindende Steigung aufweisen. Hierbei handelt es sich um Transferprozesse höherer Ordnung, d.h. mehrstufige Transferprozesse.



Kombiniert man das COSY und das NOESY Spektrum so kann man sich durch die Sequenz der Aminosäuren "durchhangeln": Im COSY Spektrum sind jeweils die 3-Bindungskopplungen H-C-N-H innerhalb einer Aminosäure sichtbar, während im NOESY Spektrum die räumliche Nachbarschaft zwischen den CH und NH Protonen aufeinanderfolgender Aminosäuren gemessen werden kann. Im Bereich von 7-10 ppm sind die Amid-Protonen im Spektrum zu finden, während die CH-Protonen im Bereich von 4-5 ppm zu finden sind. Die COSY und NOESY Spektren führen deshalb jeweils von einem Bereich in den anderen; jeweils zwei Kreuzpeaks verbinden eine Aminosäure mit der nächsten.

Die NMR Messungen werden immer mit Simulationsrechnungen (v.a. Molekuldynamik) kombiniert, um zuverlässige Aussagen zu erhalten. In vielen Fällen stellt man dann fest, dass nicht für das gesamte Molekül eine eindeutige Lösung erhalten wird. Dies deutet darauf hin, dass in der Lösung Teile des Moleküls relativ flexibel sind.

Neben den rein statischen Informationen sind auch dynamische Informationen sehr wichtig. So kann man nicht nur die Struktur untersuchen, sondern auch Bewegungsprozesse, z.B. als Antwort auf externe Stimuli wie z.B. chemische Substanzen oder Licht. Auch die Wechselwirkung zwischen unterschiedlichen Molekülen, z.B. zwischen Enzym und Substrat liefert wertvolle Informationen.



5.4.6 Festkörper

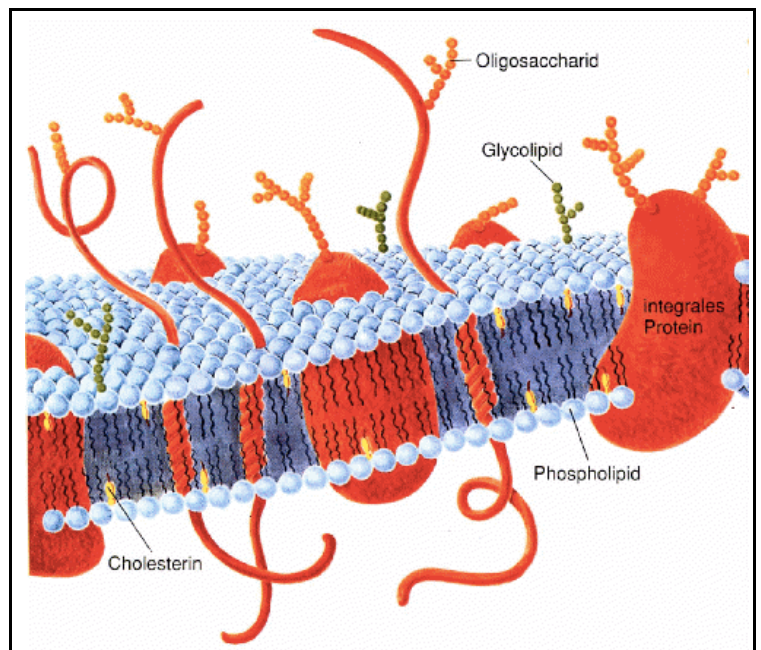
Die meisten NMR Experimente an Proteinen werden in Lösung durchgeführt, weil hier die spektrale Auflösung optimiert wird. Außerdem ist Wasser für die meisten interessanten Proteine die natürliche Umgebung.

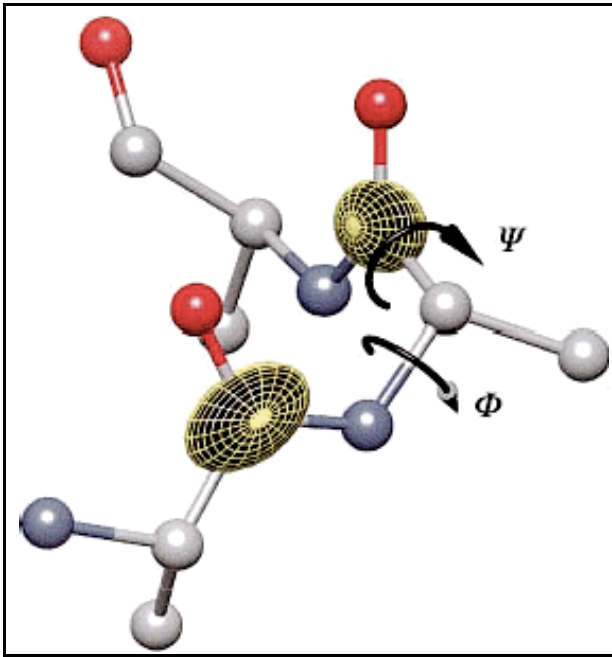
Dies trifft jedoch nicht für alle Proteine zu. Insbesondere Transmembran-Proteine, also Proteine, welche in eine biologische Membran eingebettet sind. Diese sind stark lipophil und lösen sich deshalb in Wasser nicht.

Solche Moleküle können mit den Methoden der Festkörper-NMR untersucht werden. Um eine genügend gute Auflösung zu erhalten wird hierbei fast immer mit MAS gearbeitet.

Es gibt auch Proteine, welche natürlicherweise in fester Form vorliegen. Dazu gehört z.B. Seide, welche als halbkristallines Material vorliegt. Seide ist eines der Materialien mit der größten Reißfestigkeit – wesentlich höher als Stahl.

Um diese besonderen Eigenschaften besser zu verstehen werden Daten über die Struktur benötigt.

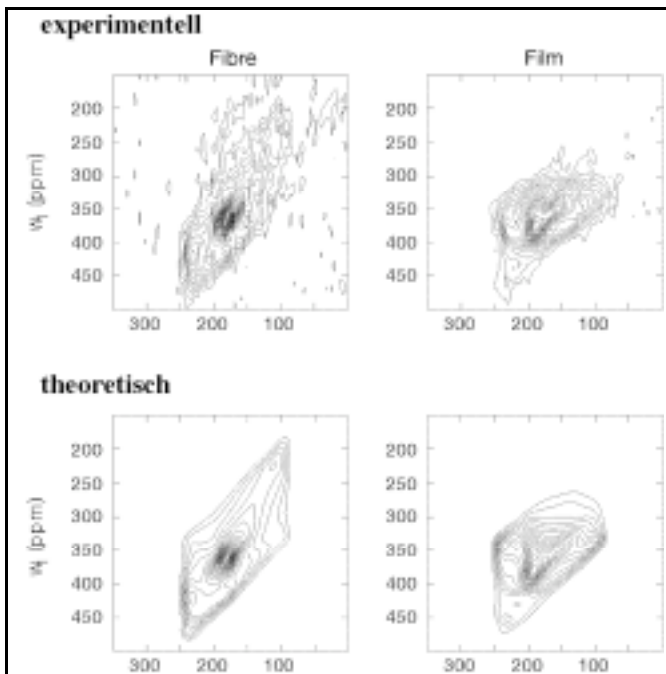
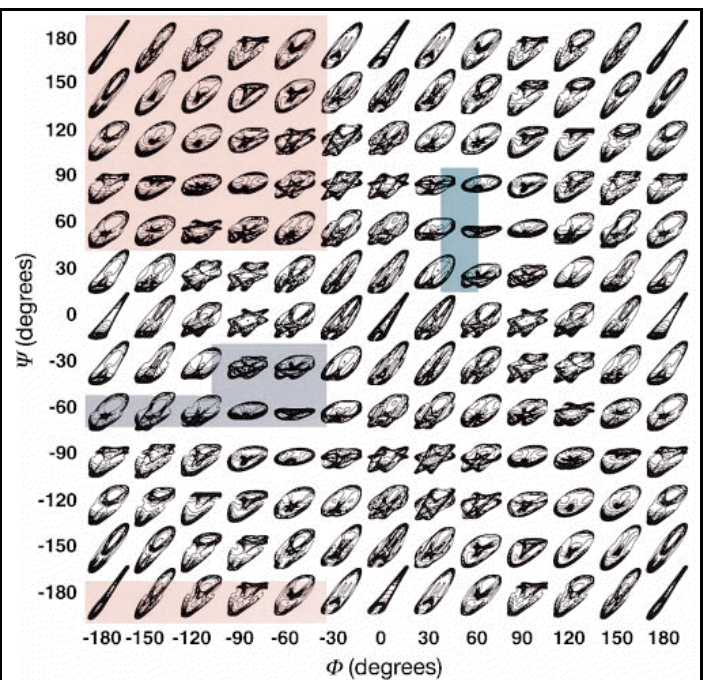




Die Figur zeigt die erwarteten Pulverspektren als Funktion der beiden Winkel ϕ und ψ . Die farbige unterlegte Bereiche sind energetisch günstig (gemäß MD-Simulationen).

Die Sequenz der Seide ist bekannt, nicht aber ihre sekundäre und tertiäre Struktur. Diese wird wesentlich durch die Rotation um C-C und C-N Bindungen bestimmt. Sie kann z.B. bestimmt werden, wenn man die relative Orientierung von benachbarten C=O Kohlenstoff bestimmt. Beugungsmethoden helfen wir kaum weiter, da die langreichweitige Ordnung sehr gering ist.

Hingegen ist es möglich, mit NMR die relative Orientierung der CSA-Tensoren zu bestimmen (J.D.v. Beek, L. Beaulieu, H. Schäfer, M. Demura, T. Asakura, and B.H. Meier, *Nature* **405**, 1077 (2000)). Da diese immer an die chemischen Bindungen gekoppelt sind erhält man daraus die gewünschte Information.



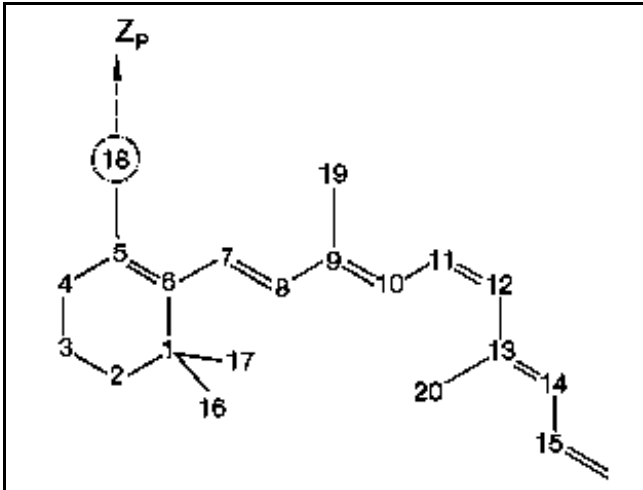
Vergleicht man die gemessenen Spektren mit Spektren, welche für bestimmte dihedrale Winkel gerechnet wurden, so kann man den Bereich der möglichen Winkel stark einschränken. In Kombination mit Kraftfeldrechnungen kann die vorliegende Orientungsverteilung bestimmt werden.

Die beste Übereinstimmung wird für die Wertepaare $(-140^\circ, 35^\circ)$ und $(-57^\circ, -47^\circ)$ erhalten.

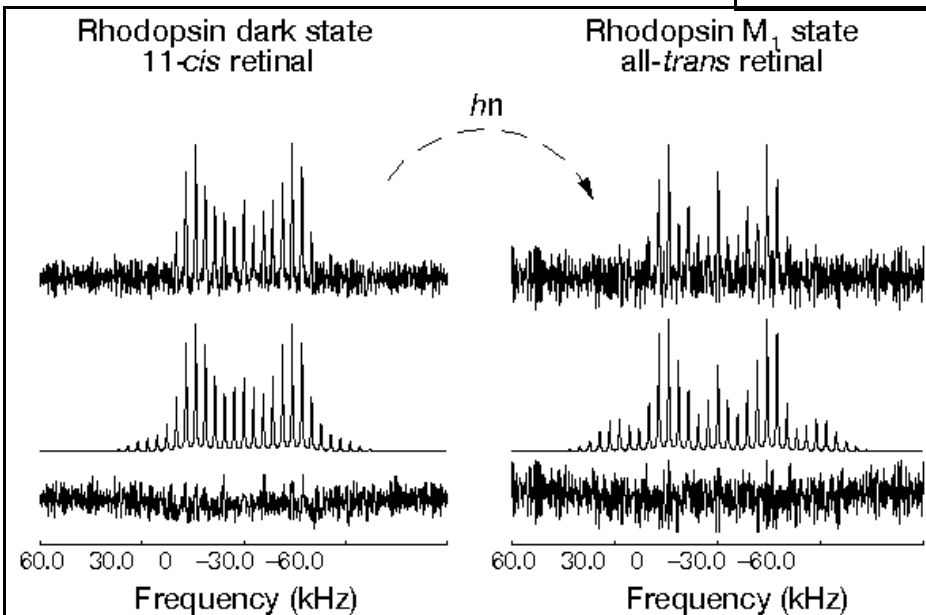
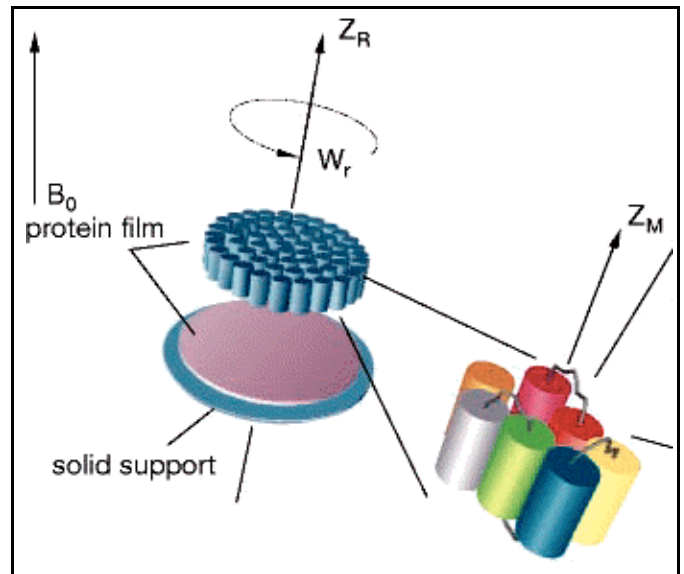
5.4.7 Lichtinduzierte Konformationsänderung

Ein weiteres Beispiel für die Möglichkeiten der Festkörper NMR für die Untersuchung von großen Biomolekülen ist die Untersuchung der Aktivierung von Retinal im photosynthetischen Komplex Rhodopsin. Hier wird nicht das Protein, sondern ein darin eingelagertes kleines Molekül, welches für die Funktion des Proteins eine entscheidende Bedeutung hat, untersucht.

Retinal weist eine Reihe von benachbarten Doppelbindungen auf, welche die planare Struktur stabilisieren und die Absorption von Licht ermöglichen. Es war bereits bekannt, dass sich das Molekül bei der Absorption bewegt.

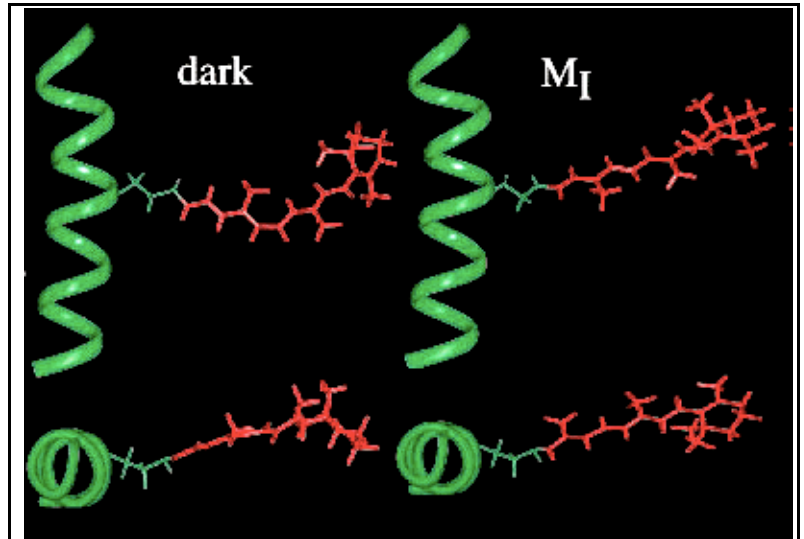


Um die Art der Umordnung zu bestimmen wurden orientierte Proben hergestellt, in der jeweils eine der Methylgruppen 18, 19 oder 20 deuteriert waren.



Das Muster der MAS Seitenbanden hängt von der Orientierung der C-C(²H)₃ Bindung bezüglich der Rotationsachse ab. Die gemessenen Spektren wurden verglichen mit Rechnungen.

Aus dem Vergleich der gerechneten mit den gemessenen Spektren können die Winkel bestimmt werden. In der Figur ist dargestellt wie die Spitze des Moleküls sich während der Belichtung bewegt.



5.5 Medizinische Anwendungen

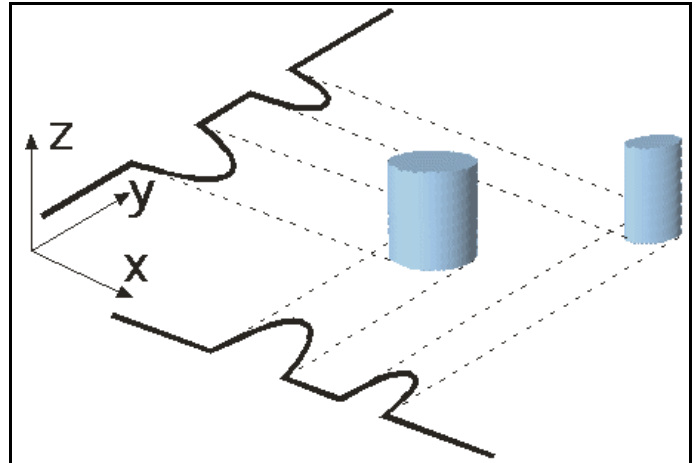
5.5.1 MRI: Grundlagen

Wenn man die Stärke der Resonanzabsorption als Funktion des Ortes misst, d.h. ein Dichtebild einer bestimmten Kernsorte, z.B. von ^1H (Protonen) aufnimmt, so gelangt man bereits zu der wohl einzigen Anwendung der magnetischen Resonanz, die außerhalb von Forschungslaboratorien betrieben wird, der Kernspin-Tomografie oder MRI (Magnetic Resonance Imaging).

Um räumliche Auflösung zu erhalten legt man ein ortsabhängiges Magnetfeld an. Da die Resonanzfrequenz der Kernspins proportional zur Stärke des Magnetfeldes ist wird dadurch die Resonanzfrequenz ortsabhängig. Für einen konstanten Gradienten $g_x = dB_0/dx$ variiert die Larmorfrequenz deshalb linear mit der Ortskoordinate,

$$\omega_L = \omega_0 + \omega_g x .$$

Im Folgenden werden wir $\omega_0 = 0$ setzen, d.h. die Spektrometer-Frequenz auf die Resonanz der Spins im Ursprung des Koordinatensystems setzen.



Misst man das Signal einer eindimensionalen Spindichteverteilung $\rho(x)$ erhält man

$$s(t) = \int \rho(x) e^{-i\omega_L t} dx = \int \rho(x) e^{-i\omega_g x t} dx ,$$

also die Fouriertransformierte der Spindichte. Die Spindichte selber erhält man somit durch die Fouriertransformation, d.h. das Spektrum entspricht der Spindichteverteilung.

$$\rho(x) = \mathcal{F}\{s(t)\} = \int s(t) e^{it} dt \dots$$

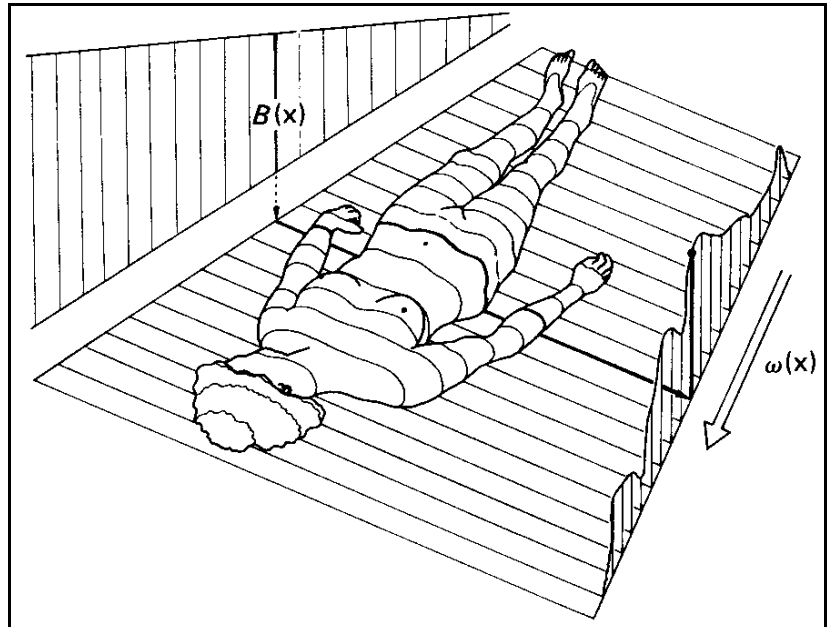
Bei einer dreidimensionalen Spindichte $\rho(x, y, z)$ ist das Signal gegeben als

$$s(t) = \iiint \rho(x, y, z) e^{-i\omega_L t} dx dy dz = \int \rho_x(x) e^{-i\omega_g x t} dx ,$$

wobei

$$\rho_x = \iint \rho(x, y, z) dy dz$$

die Projektion der Spindichte auf die x -Achse darstellt. Das resultierende Signal entspricht einer Projektion auf die Richtung in der das Magnetfeld variiert. Indem man eine Reihe von Projektionen aufnimmt kann man die Verteilung der Kernspins berechnen.

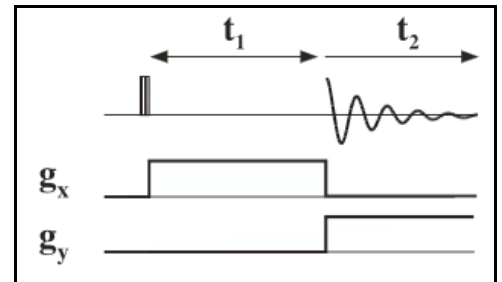


In der Praxis verwendet man heute jedoch nicht mehr die „Projection-Reconstruction“ Technik, sondern die Methode der Fourier-Bildgebung. Dafür wird ein 2D (3D) Experiment durchgeführt, bei dem während der Evolutionszeit ein Gradient g_x in x -Richtung geschaltet wird, während der Detektionszeit ein Gradient g_y in y -Richtung.

Jedes Element $dA = dx dy$ trägt in diesem Experiment zum Signal mit der Amplitude

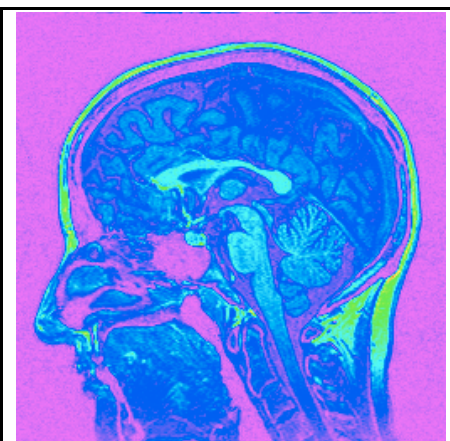
$$ds = \rho(x, y) e^{i\mathbf{g}_x x t_1} e^{i\mathbf{g}_y y t_2} .$$

Eine Fourier-Transformation des Signals ergibt deshalb an jedem Punkt im $(\xi_1, \xi_2) = (\mathbf{g}_x x, \mathbf{g}_y y) \sim (x, y)$ Raum direkt die Spindichte.



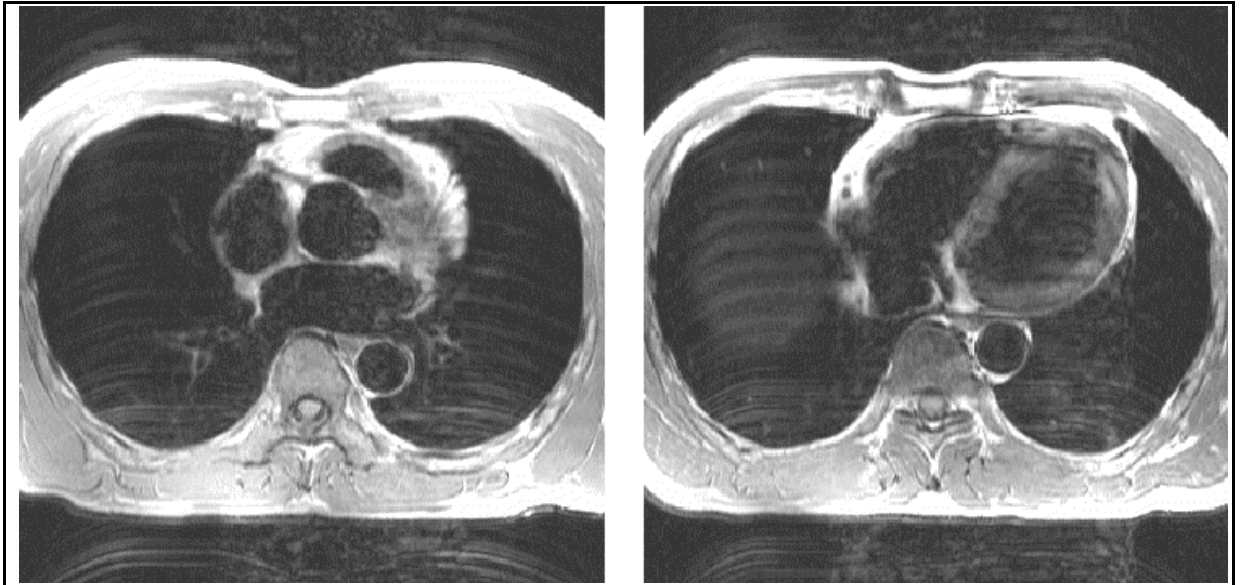
Für medizinische Bildgebung besitzen nur Protonen eine genügende Empfindlichkeit. Die Kernspintomographie bildet somit im Wesentlichen die Protonendichte ab. Der menschliche Körper besteht zu mehr als 50% aus Wasser (H_2O), enthält also einen sehr großen Anteil von Protonen. Neben Wasser ist Fett ($(-CH_2)_n$) einer der wichtigsten Wasserstoff enthaltenden Stoffe im Körper.

5.5.2 Beispiele



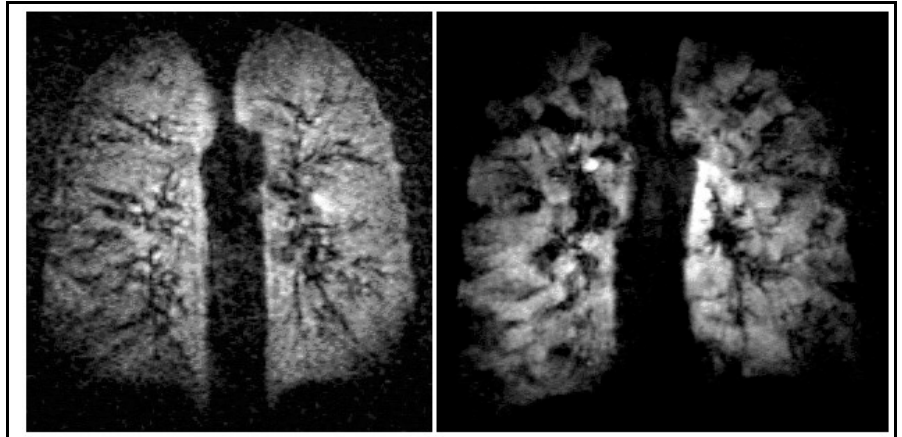
Auch das Gehirn besteht zu einem wesentlichen Teil aus Wasser und Fett. Da Wasserstoff durch Röntgen sehr schwer nachweisbar ist, ist das Gehirn sehr schwierig mit Röntgenlicht abzubilden: Die Röntgenstrahlen werden im Wesentlichen vom Schädel absorbiert, während die Weichteile kaum Kontrast ergeben. MRI hat deshalb insbesondere in der Hirnforschung ein großes Interesse gefunden.

Im Bild ist ein MRI Schnittbild eines Kopfes dargestellt. Was auffällt ist, dass hier, in direktem Gegensatz zur Röntgen-Bildgebung (auch Computer-Tomographie), der Schädel, also der Knochen, dunkel erscheint, während die Weichteile hell sind und gute Strukturen zeigen.



Ein Schnittbild durch den Brustraum zeigt die Lunge dunkel, da sie wenige Protonen (viel Luft) enthält. Im linken Bild sind die Herzkammern leer, rechts gefüllt. Für die Aufnahme eines solchen Bildes muss die Imaging-Sequenz auf den Herzschlag getriggert werden oder man muss das gesamte Bild in einem einzelnen Experiment aufnehmen.

Ein Bild des Rückens zeigt in erster Linie die Weichteile: die Bandscheiben sind besser abgebildet als die Rückenwirbel.

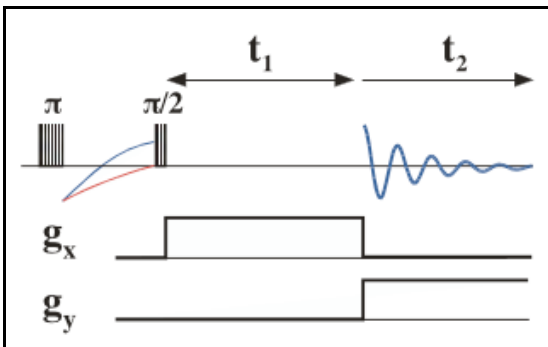
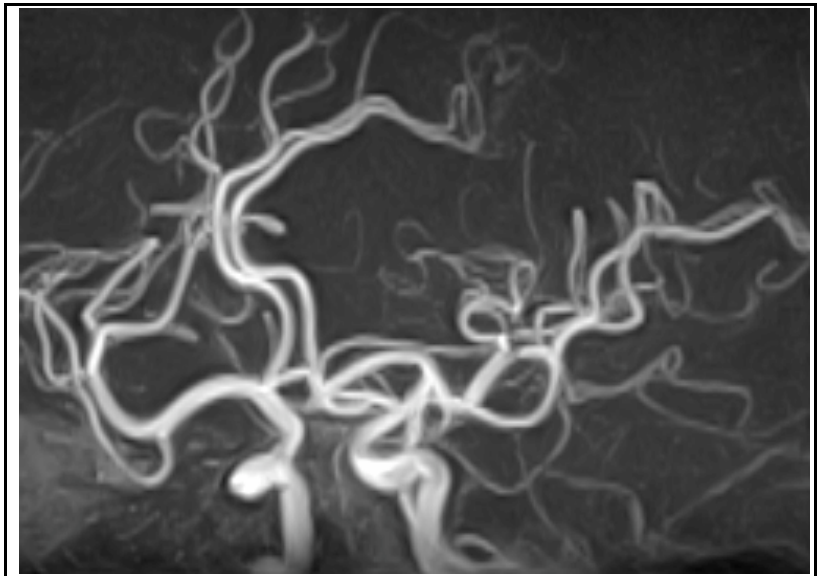


Das Bild vergleicht eine gesunde Lunge (links) mit der Lunge eines Rauchers. Hier wird das zugängliche Gasvolumen dargestellt, welches im rechten Bild stark eingeschränkt ist, da einzelne Teile der Lunge nicht mehr funktionieren. In diesem Fall wurden nicht die Protonen abgebildet, sondern die Lunge wurde mit ^3He gefüllt, und das Gas wurde abgebildet. Wegen der geringen Dichte von Spins in einem Gas ist es im Allgemeinen nicht möglich, NMR von Gasen zu messen. Für diese Anwendung wurde deshalb eine besondere Technik entwickelt: Die Kernspinpolarisation des He wurde über optisches Pumpen um einen Faktor 10^5 und damit die Empfindlichkeit entsprechend gesteigert.

5.5.3 Kontrast

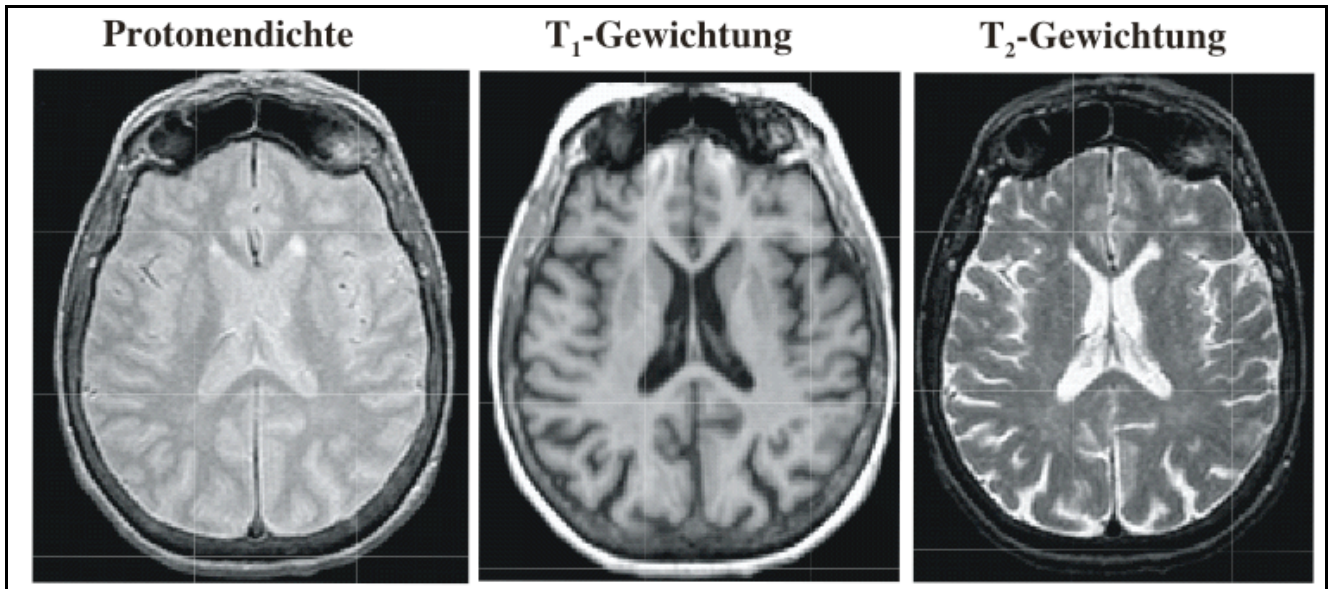
Geeignete Pulssequenzen können Kontrast erzeugen, der nicht nur die Spindichte darstellt. So wurde in diesem Beispiel der Kontrast auf Bewegung eingestellt, so dass der Blutfluss in Adern dargestellt wurde.

Eine weitere wichtige Möglichkeit ist die Kontrasterzeugung über Relaxation.

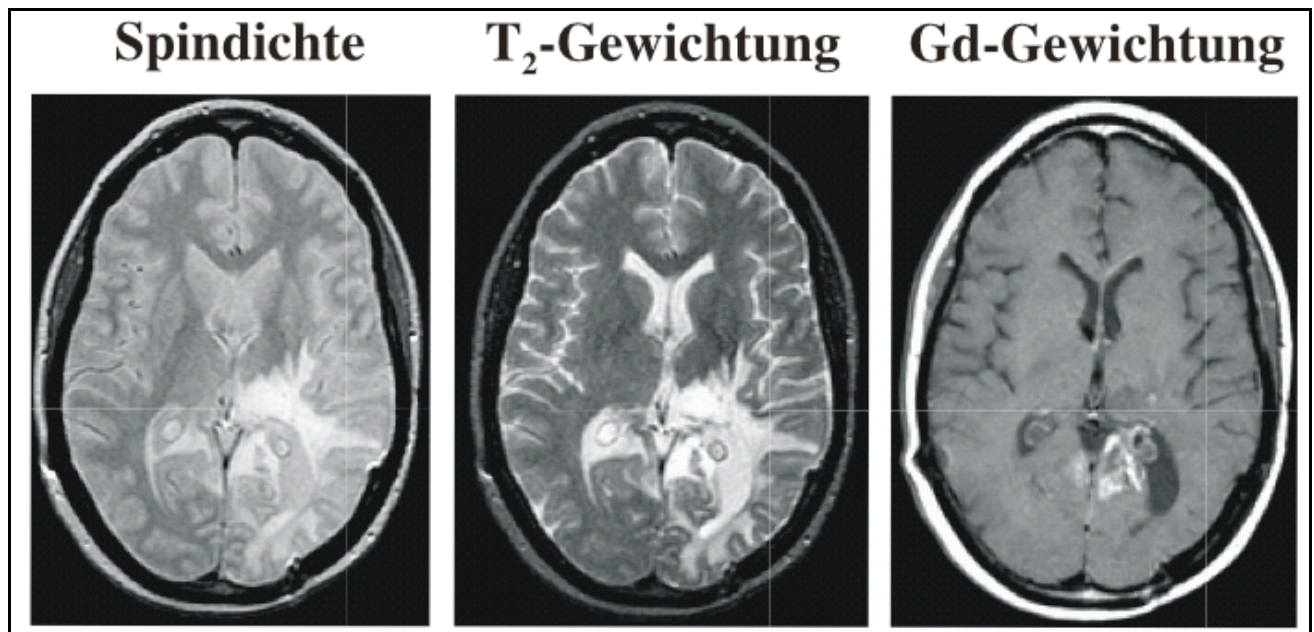


Dafür wird während der Präparationszeit eine Relaxationszeit eingebaut, wobei die Magnetisierung während dieser Zeit transversal ist (für T_2 -Kontrast), resp. longitudinal (für T_1 Kontrast). Im gezeigten Beispiel wird die Zeit zwischen dem Inversionspuls und dem Anregungspuls so gewählt, dass die langsam relaxierende Komponente nicht zum Signal beiträgt. T_1 Zeiten sind oft relativ unterschiedlich zwischen unterschiedlichen Gewebetypen und können so für die Unterscheidung zwischen Typen verwendet werden.

Es zeigt sich dass z.B. Tumore deutlich unterschiedliche Relaxationszeiten aufweisen, so dass Relaxationskontrast bei der Suche nach und Lokalisierung von Tumoren helfen kann.



Je nach Gewichtung werden unterschiedliche Details sichtbar gemacht.

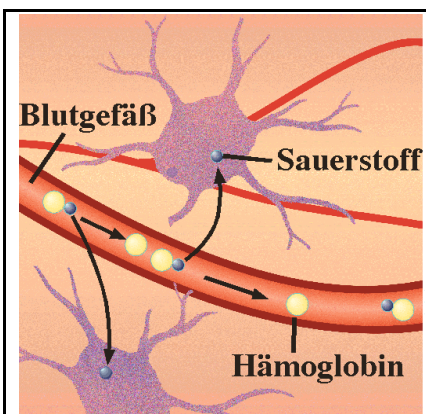


In diesem Beispiel sind Schnitte durch ein menschliches Gehirn gezeigt, in denen auf unterschiedliche Weise ein Hirntumor dargestellt wird. Zusätzlich zur NMR-spezifischen Gewichtung kann man auch kontrasterzeugende Chemikalien verwenden. Diese erzeugen den Kontrast im Wesentlichen über eine verstärkte Relaxation, d.h. es sind paramagnetische Moleküle. Mit der Verwendung dieser Substanzen geht zwar einer der Vorteile der MR Bildgebung verloren, sie wird stärker invasiv, doch man erhält z.T. wichtige Information, welche sonst nicht leicht zu erhalten ist.

In vielen Fällen wird die Bildgebung auch mit spektroskopischer Information kombiniert: so ist es möglich, anhand eines Bildes aus einer Region ein NMR Spektrum aufzunehmen um damit z.B. lokale Stoffwechselstörungen zu untersuchen. Beispiele sind Funktionsstörungen in einzelnen Organen.

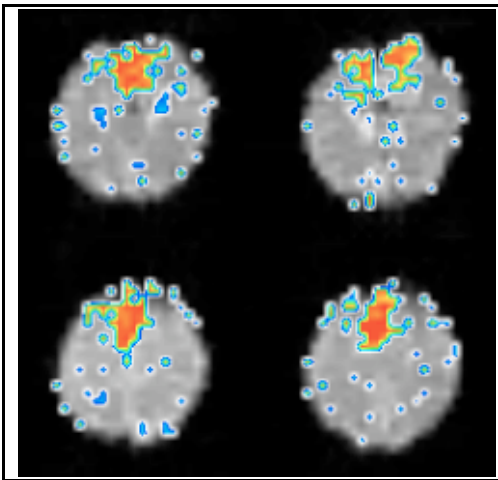
5.5.4 Funktionelle Bildgebung

Man kann dies natürlich weiter treiben und nicht nur statische Bilder aufnehmen, sondern zusätzlich z.B. Änderungen des Signals aufzeichnen, wenn der Proband bestimmte Tätigkeiten ausführen muss oder geeigneten Stimuli ausgesetzt wird, wie z.B. einer Sequenz von Lichtern, welche auf sein Auge projiziert werden. Diese Technik wird als funktionelle Bildgebung oder fMRI bezeichnet.



Man kann dann z.B. feststellen, welche Region des Gehirns durch diese äußeren Stimuli angeregt wird. Es ist davon auszugehen, dass diese Gehirnregionen für die Verarbeitung der Signale zuständig sind. Die Änderung der Gehirnaktivität kann hierbei direkt über den Sauerstoffverbrauch, resp. die erhöhte Sauerstoffzufuhr beobachtet werden.

Beim Sehprozess wird das Bild in der Netzhaut in Nervenimpulse umgewandelt, welche zum Sehzentrum in der Rückseite des Gehirns geführt und dort verarbeitet werden.



In diesem Beispiel wurde dem Probanden ein optisches Muster auf die Netzhaut projiziert und es wurde gemessen, wo sich die Gehirnaktivität am meisten ändert. Die stärkste Aktivität wurde wie erwartet im Sehzentrum festgestellt. Zusätzliche Aktivitäten sind vermutlich der Bewegungsverarbeitung und dem Signalfluss zuzuordnen.

