

5 2D NMR

5.1 Motivation und Grundlagen

5.1.1 Korrelation

Wir betrachten als ein Beispiel ein System, in dem zwei Arten von Molekülen mit je 2 Spins sich in einem Probenröhrchen befinden.

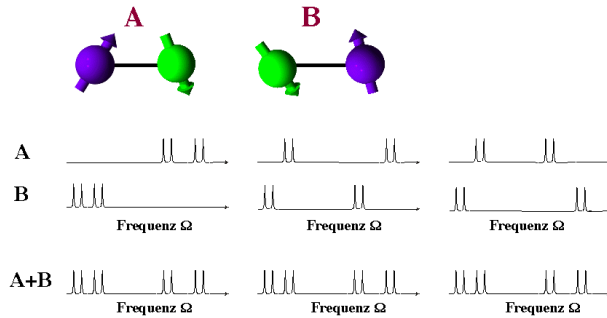


Abbildung 5.1: Spektrum von 2 Molekülen mit je 2 gekoppelten Spins. Die Summenspektren sind identisch, obwohl die einzelnen Spektren unterschiedlich sind.

Wir nehmen an, dass jedes der beiden Moleküle jeweils ein Spektrum mit vier Linien ergibt. Das Spektrum der Probe besteht deshalb aus 8 Linien. Allerdings gibt es drei unterschiedliche Arten, wie die Spektren der einzelnen Moleküle aussehen können, welche alle das gleiche Gesamtspektrum ergeben. Somit ist es unmöglich, aus dem gemessenen Spektrum die Spektren der einzelnen Moleküle zu bestimmen.

Eine Möglichkeit, diese drei Fälle zu unterscheiden, liegt in der Nutzung von zweidimensionaler Spektroskopie. Bei einem solchen Experiment (Details siehe später) wird im Prinzip zuerst die Resonanzfrequenz eines Spins gemessen, danach wird die Magnetisierung auf einen anderen (oder den gleichen) Spin übertragen, und anschließend die Resonanzfrequenz nochmals gemessen. Die beiden Frequen-

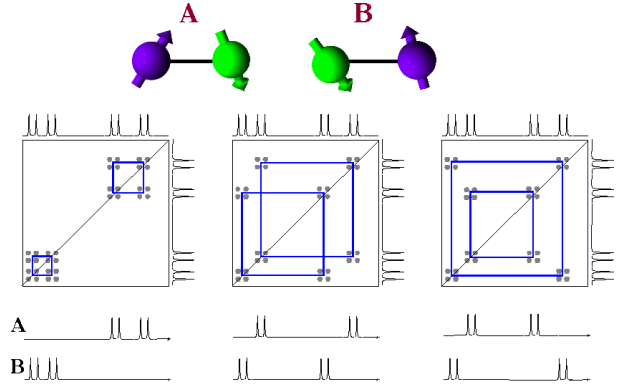


Abbildung 5.2: 2D Spektren des gleichen Systems. Die Spektren für die drei Fälle sind unterschiedlich.

zen werden dann in einem zweidimensionalen Raster aufgetragen: Ein Signal ist hier mit zwei Koordinaten definiert, welche der Resonanzfrequenz vor-, resp. nach dem Transfer entsprechen. In jeder Dimension findet man deshalb 8 Frequenzpositionen (4 Linienpaare). Im gesamten 2D Spektrum findet man jedoch nicht 64 Linien, sondern nur 32. Ein Magnetisierungstransfer findet nur zwischen Spins im gleichen Molekül statt. In den 2D Spektren sind die Linien, welche zum gleichen Molekül gehören, durch die blauen Linien verbunden.

Zweidimensionale (2D) Spektroskopie wurde in den 70er Jahren entwickelt und hat sich rasch zu einer Standardtechnik entwickelt. Etwa 20 Jahre lang wurden zweidimensionale Spektren nur in der Kernspinresonanz genutzt, danach auch in der Elektronenspinresonanz, und schließlich in der Optik.

Es gibt inzwischen vermutlich hunderte von etwas unterschiedlichen Techniken, welche das Prinzip verwenden und etwas unterschiedliche Zielsetzungen haben. Allgemein bieten zweidimensionale Spektren Möglichkeiten für die Verbesserung der Auflösung oder um Informationen zu erhalten, welche auf andere Weise nicht zugänglich sind. In den

meisten Fällen ist das Ziel eines 2D Experimentes die Verteilung der Information in eine Ebene statt auf einer Achse wie bei einem 1D Spektrum. Dadurch erhält man die Möglichkeit

- die vorhandene Information leichter zu analysieren und / oder
- mehr Information ins Spektrum zu bringen.

5.1.2 Prinzip

Wenn man spektrale Information als Funktion von zwei unabhängigen Frequenzvariablen darstellt, erhält man ein zweidimensionales oder 2D Spektrum.

Zweidimensionale Spektren werden praktisch ausschließlich im Zeitbereich aufgenommen. Man misst in diesem Fall das Signal zunächst als Funktion von zwei unabhängigen Zeiten und führt dann eine zweidimensionale Fouriertransformation bezüglich dieser beiden Zeiten durch, um das entsprechende Spektrum im Frequenzbereich zu erhalten.

Um zu sehen wie ein 2D Spektrum entsteht betrachten wir zunächst ein abstraktes quantenmechanisches System mit stationären Zuständen welche mit den Indizes i, k, r, s bezeichnet werden.

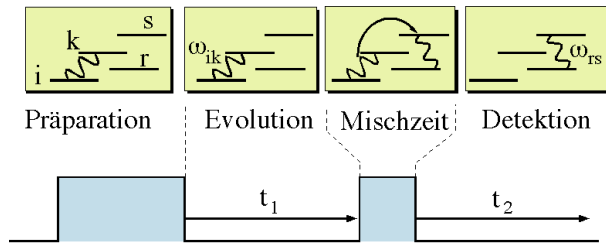


Abbildung 5.3: Grundschema für die zweidimensionale Spektroskopie im Zeitbereich.

Man unterscheidet bei 2D Experimenten unterschiedliche Zeiten. Zunächst wird während der Präparationszeit im System eine Kohärenz erzeugt, also z.B. eine transversale Magnetisierung. Dies beinhaltet i. A. zunächst auch eine Relaxationszeit, während der durch Spin-Gitter Relaxation eine longitudinale Magnetisierung erzeugt wird. Anschließend wird

durch einen RF Puls transversale Magnetisierung erzeugt, d.h. Kohärenz zwischen den Zuständen i, k, \dots . In der Figur ist eine solche Kohärenz zwischen den Zuständen i und k mit einer Wellenlinie bezeichnet.

In der anschließenden Evolutionszeit entwickelt sich diese Kohärenz während einer Zeit t_1 unter dem Einfluss des Hamiltonoperators \mathcal{H}_E . Die Kohärenz zwischen den Zuständen i und k erwirbt dabei einen Phasenfaktor

$$\rho_{ik}(t_1) = \rho_{ik}(0) e^{-i\omega_{ik}t_1}.$$

Hier ist die Präzessionsfrequenz ω_{ik} gegeben durch die Energiedifferenz

$$\omega_{ik} = \frac{\mathcal{E}_i - \mathcal{E}_k}{\hbar}.$$

Berücksichtigen wir auch die Relaxation so ist die Kohärenz am Ende der Evolutionszeit

$$\rho_{ik}(t_1) = \rho_{ik}(0) e^{-(i\omega_{ik} + \gamma_{ik}t_1)}.$$

Würde man während der Evolutionszeit ein Signal aufnehmen, so würde man einen FID messen. Im 2D Experiment kann die Kohärenz aber auch Komponenten enthalten, welche nicht der Auswahlregel $\Delta m = \pm 1$ gehorchen und damit nicht beobachtbarer Magnetisierung entsprechen. Unabhängig davon wird diese Kohärenz nicht direkt gemessen.

5.1.3 Informationstransfer

Statt dessen schließt an die Evolutionszeit eine Mischzeit an, während der Kohärenz zwischen unterschiedlichen Übergängen ausgetauscht werden kann. Die Kohärenz kann während dieser Zeit auch als longitudinale Magnetisierung gespeichert werden, welche z.B. durch chemischen Austausch zwischen verschiedenen Spins übertragen werden kann. Die Mischzeit kann stark unterschiedliche Länge haben: sie kann von der Länge Null sein, wenn die Information nicht übertragen werden muss, oder sie kann mehrere Sekunden betragen, wenn für die Informationsübertragung viel Zeit benötigt wird. Entscheidend ist in allen Fällen, dass die Frequenzinformation, welche das System in Form des Phasenfaktors $e^{-i\omega_{ik}t_1}$ akkumuliert hat, erhalten bleibt.

Im gezeichneten Beispiel nehmen wir an, dass die Kohärenz während der Mischzeit vom Übergang $i - k$ zum Übergang $r - s$ übertragen wird. Dabei bleiben sowohl der Absolutbetrag wie auch die Phaseninformation $e^{-i\omega_{ik}t_1}$ erhalten, resp. werden in den anderen Übergang übertragen. Somit hat die Kohärenz im Übergang $r - s$ zu Beginn der Detektionszeit die Form

$$\rho_{rs}(t_1; 0) = \sum_{ik} \eta_{rs,ik} \rho_{ik}(0) e^{-(i\omega_{ik} + \gamma_{ik})t_1}.$$

Die Übertragung von Kohärenz zwischen unterschiedlichen Übergängen während der Mischzeit wird hier durch die Matrix $\eta_{rs,ik}$ zusammengefasst.

Während der Detektionszeit findet wiederum eine freie Evolution unter dem entsprechenden Hamiltonoperator statt.

$$\rho_{rs}(t_1; t_2) =$$

$$\sum_{ik} \eta_{rs,ik} \rho_{ik}(0) e^{-(i\omega_{ik} + \gamma_{ik})t_1} e^{-(i\omega_{rs} + \gamma_{rs})t_2}.$$

Während dieser Zeit wird das Signal gemessen. Jedes Dichtepoperatorelement trägt dabei mit einem bestimmten Gewicht zum gesamten Signal bei. Wir schreiben für dieses Gewicht a_{rs} . Das Gesamtsignal ist somit

$$s(t_1, t_2) = \sum_{rs} a_{rs} \rho_{rs}(t_1; t_2) =$$

$$\sum_{rs} a_{rs} \sum_{ik} \eta_{rs,ik} \rho_{ik}(0) e^{-(i\omega_{ik} + \gamma_{ik})t_1} e^{-(i\omega_{rs} + \gamma_{rs})t_2}.$$

Dies ist das Signal, welches in einem 2D Experiment als Funktion der beiden Zeiten t_1 , t_2 gemessen wird.

5.1.4 Datensatz

Das Signal hängt somit von beiden Zeiten t_1 und t_2 ab. Dabei bezeichnet t_2 die Zeit während der das Signal effektiv gemessen wird, während t_1 die Dauer

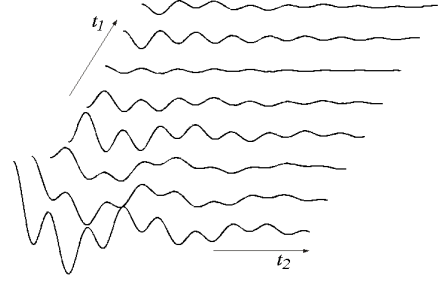


Abbildung 5.4: 2D Signal als Funktion der Evolutionszeit t_1 (schräge Achse) und t_2 (horizontale Achse).

der Evolutionszeit bezeichnet. Man erhält eine zweidimensionale Datenmatrix indem man für eine Reihe von unterschiedlichen Evolutionszeiten jeweils einen FID misst.

In der Figur ist ein Beispiel für eine solche Datenmatrix gezeigt. Jede Spur entspricht dem FID für eine bestimmte Evolutionszeit t_1 , welche von vorn nach hinten zunimmt. Die horizontal verlaufende Variable t_2 ist die Zeit, welche während der die Datenaufnahme läuft.

Für dieses Beispiel wurden nur zwei Übergänge berücksichtigt, nämlich ik und rs . Wir nehmen außerdem an, dass die transversale Relaxation für beide Übergänge identisch ist und schreiben dafür die Relaxationsrate γ_0 .

Der FID ist dann

$$\begin{aligned} s_{fid}(t_1, t_2) = & e^{-\gamma_0(t_1+t_2)} \\ & [\eta_{rs,ik} a_{rs} \cos(\omega_{ik}t_1) \cos(\omega_{rs}t_2) + \\ & \eta_{rs,rs} a_{rs} \cos(\omega_{rs}t_1) \cos(\omega_{rs}t_2) + \\ & \eta_{ik,ik} a_{ik} \cos(\omega_{ik}t_1) \cos(\omega_{ik}t_2) + \\ & \eta_{ik,rs} a_{ik} \cos(\omega_{rs}t_1) \cos(\omega_{ik}t_2)]. \end{aligned}$$

Der erste Term entspricht einer Kohärenz, welche während der Evolutionszeit im Übergang ik lokalisiert war, während der Detektionszeit im Übergang rs . Der zweite Term befand sich während beiden Perioden im Übergang rs . Der dritte blieb im Übergang ik und der vierte wurde von rs nach ik übertragen.

5.1.5 2D Fouriertransformation

Um diese Daten zu analysieren führt man eine zweidimensionale Fourier-Transformation bezüglich der beiden Variablen t_1 und t_2 durch:

$$f(\omega_1, \omega_2) = \int_{-\infty}^{\infty} dt_1 e^{i\omega_1 t_1} \int_{-\infty}^{\infty} dt_2 e^{i\omega_2 t_2} s(t_1, t_2)$$

$$= \int_{-\infty}^{\infty} dt_1 e^{i\omega_1 t_1} s f(t_1, \omega_2).$$

Die innere Transformation $t_2 \rightarrow \omega_2$ ist identisch zur Transformation der einzelnen FID's in eindimensionale Spektren. Wir erhalten damit Spektren zu jedem Wert der Evolutionszeit t_1 :

$$s f(t_1, \omega_2) = e^{-\gamma_0 t_1} [(\eta_{rs,ik} e^{i\omega_{ik} t_1} + \eta_{rs,ik} e^{i\omega_{rs} t_1}) a_{rs} + (\eta_{ik,ik} e^{i\omega_{ik} t_1} + \eta_{ik,rs} e^{i\omega_{rs} t_1}) a_{ik} g(\omega_2 - \omega_{ik})].$$

Hier stellt $g(\omega_2 - \omega_{\alpha\beta})$ eine komplexe Lorentzlinie dar, welche um die Frequenz $\omega_{\alpha\beta}$ zentriert ist.

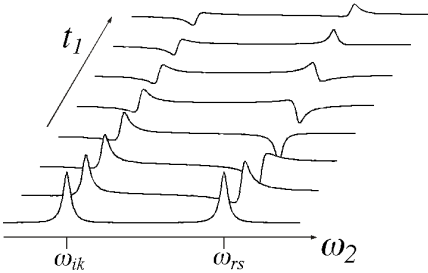


Abbildung 5.5: Zweidimensionaler Datensatz nach der ersten Fouriertransformation.

Die Figur stellt den Realteil des Signals nach der ersten Fouriertransformation $t_2 \rightarrow \omega_2$ dar. In horizontaler Richtung bildet es ein Spektrum als Funktion der Variablen ω_2 , welches Resonanzlinien bei den beiden Frequenzen ω_{ik} und ω_{rs} enthält. Amplitude und Phase dieser beiden Resonanzlinien ändern als Funktion der Evolutionszeit t_1 , wobei das Verhalten für die beiden Linien unterschiedlich ist. Dies zeigt bereits dass die beiden detektierten Kohärenzen unterschiedliche Entwicklungen während der Evolutionszeit erfahren haben.

Das zweidimensionale Spektrum erhalten wir nach einer zweiten Fouriertransformation $t_1 \rightarrow \omega_1$. Die vier Signalkomponenten können jeweils durch eine zweidimensionale Linienform der Art

$$s(\omega_1, \omega_2) = g_2(\omega_1 - \omega_{ik}, \omega_2 - \omega_{rs})$$

beschrieben werden. g_2 ist eine zweidimensionale Lorentzlinie, welche um die Position $(\omega_1 = \omega_{ik}, \omega_2 = \omega_{rs})$ zentriert ist.

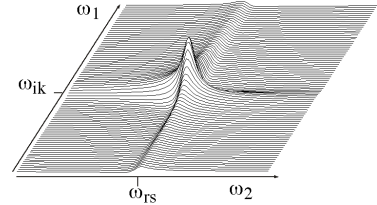


Abbildung 5.6: Zweidimensionale Lorentzlinie

Eine solche Resonanzlinie ist in der Figur dargestellt. Die Details der Linienform werden durch die Relaxation bestimmt. Allerdings kann man auch andere Varianten der Fouriertransformation verwenden. Bei der hier verwendeten "gewöhnlichen" Fouriertransformation entstehen lange "Rücken" entlang der beiden Frequenzachsen, welche anzeigen dass hier Absorption und Dispersion gemischt werden. Reine Absorptionslinien sind kreisförmig und führen zu besser aufgelösten Spektren. Man erhält sie durch eine geeignete Linearkombination von \sin , resp., \cos transformierten Spektren.

5.1.6 Informationsgehalt der Spektren

Das zweidimensionale Spektrum ist in der Figur in Höhenkurvendarstellung gezeigt. Die beiden Resonanzfrequenzen ω_{ik} , ω_{rs} ergeben im zweidimensionalen Spektrum vier Linienpositionen. Die Linien auf der Diagonalen rühren von Kohärenzen her, welche während der Evolutionszeit und der Detektionszeit in den gleichen Übergängen waren. Diese sogenannten Diagonalpeaks enthalten die gleiche Information wie die Linien im eindimensionalen Spektrum.

Die Linien außerhalb der Diagonalen, die sogenannten Kreuzpeaks an den Positionen $(\omega_1 = \omega_{ik}, \omega_2 =$

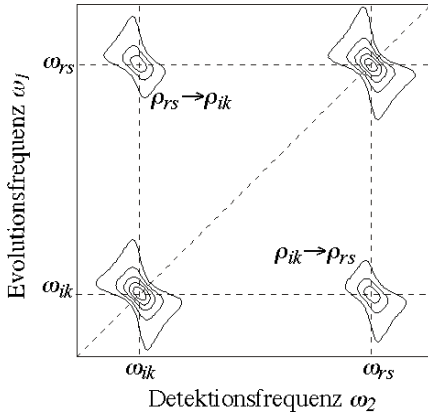


Abbildung 5.7: 2D Austausch-Spektrum von 2 Spins in Höhenkurvendarstellung.

ω_{rs}) und ($\omega_1 = \omega_{rs}, \omega_2 = \omega_{ik}$) zeigen an, dass hier ein Austausch von Kohärenz stattgefunden hat. Die Amplituden der Kreuzpeaks sind ein Maß für die Elemente $\eta_{\alpha\beta,\nu\mu}$ der Austauschmatrix. Im Allgemeinen ist der Austausch in beide Richtungen gleich stark, $\eta_{\alpha\beta,\nu\mu} = \eta_{\nu\mu,\alpha\beta}$, so dass beide Kreuzpeaks gleich hoch sind und das Spektrum bezüglich der Diagonale symmetrisch ist.

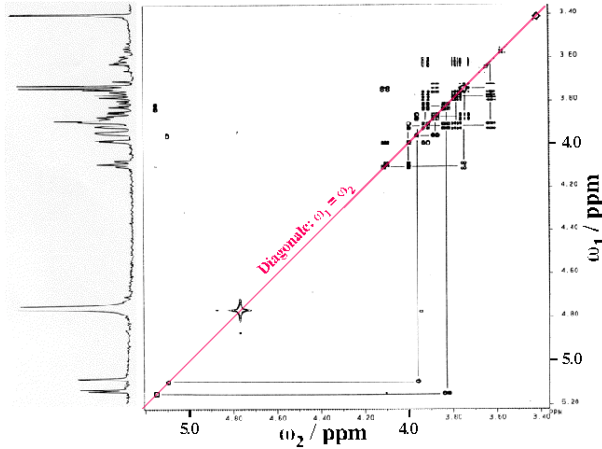


Abbildung 5.8: COSY Spektrum einer Zuckerverbindung.

Hier ist als Beispiel ein Proton-Proton COSY Spektrum von galactose- 1-2-methyl-mannoside dargestellt (S. W. Homans: A Dictionary of Concepts in NMR, Oxford University Press 1989. Stichwort: Correlated Spectroscopy (COSY)). Links ist das

eindimensionale NMR-Spektrum zu sehen, rechts daneben das zweidimensionale als Kontourplot.

Die geraden Striche im 2D-Spektrum deuten an wie man, ausgehend von den aufgelösten Protonenresonanzen der beiden Monosaccharid-Ringe, die Identifizierung der skalar gekoppelten Protonen vornehmen kann.

5.1.7 Spektren mit mehr als 2 Dimensionen

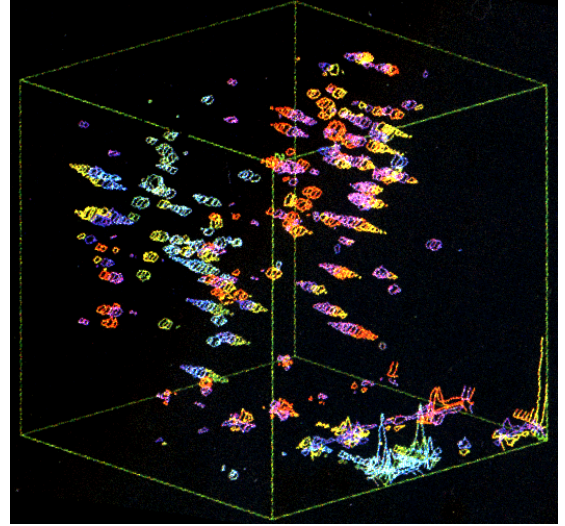


Abbildung 5.9: 3D Spektrum

Natürlich ist das Konzept der 2D Spektroskopie praktisch beliebig erweiterbar auf 3 und mehr Dimensionen. Bei der Spektroskopie der Proteine sind 3 Dimensionen heute sehr wichtig, während mehr Dimensionen aus Gründen der Messzeit praktisch nicht verwendet werden.

Für 3D Spektren kombiniert man typischerweise die Frequenzen von drei unterschiedlichen Spinsorten, z.B. NCH, also $^{15}\text{N}^{13}\text{C}^1\text{H}$. Andere Möglichkeiten sind z.B. zwei ^{13}C und eine ^1H Dimension.

5.2 Austausch

5.2.1 Motivation und Phänomenologie

Wie bereits diskutiert sind die Resonanzfrequenzen der NMR empfindlich auf die Details der Umge-

bung 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.

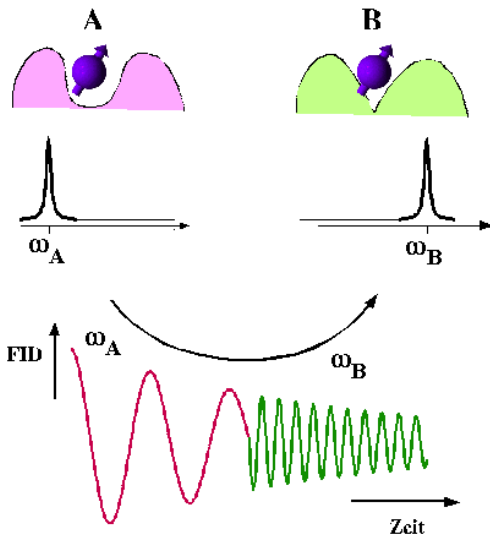


Abbildung 5.10: Sprungprozess in einem molekularen System: Die Resonanzfrequenz des Spins ändert sich mit der Umgebung.

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 Besetzungswahr-

scheinlichkeit 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.

5.2.2 Signal im Zeitbereich

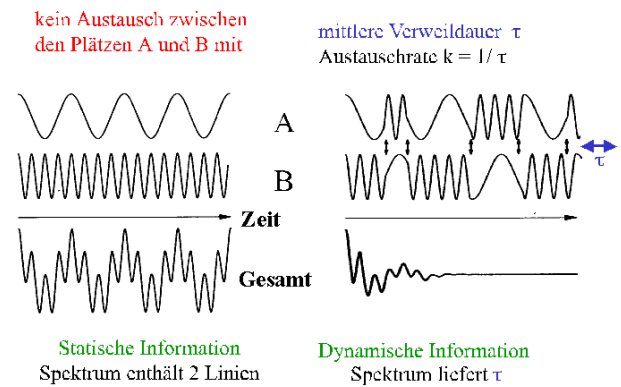


Abbildung 5.11: NMR Signal von zwei statischen Spins (links), resp. 2 Spins, die ihre Plätze tauschen (rechts).

Sind die beiden Positionen stabil, d.h. es findet kein Austausch statt, so ergibt sich das beobachtete Signal lediglich als Überlagerung der beiden Sinusschwingungen. Findet hingegen ein Austausch statt, so springt die Frequenz jedes Mal, wobei die Phase durch die gesamte Vorgeschichte des Spins gegeben und damit zufällig ist. Mittelt man über ein Ensemble von springenden Spins, so zerfällt die Kohärenz, der beobachtbare FID wird kürzer. Im Spektrum beobachtet man dies als Verbreiterung der Resonanzlinie.

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.

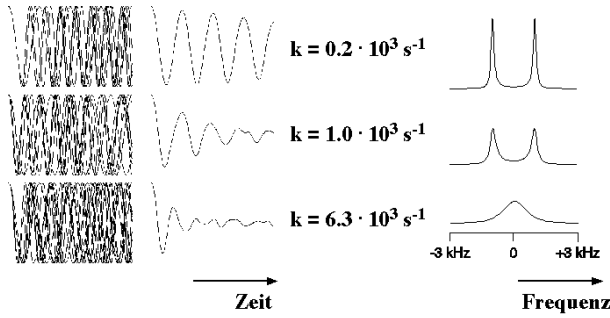


Abbildung 5.12: Entstehung des FID Signals durch Überlagerung der Signale von einzelnen Spins, deren Präzessionsfrequenz sich sprunghaft ändert (links). Rechts sind die dazugehörigen Spektren gezeigt, dies sich durch Fouriertransformation ergeben.

5.2.3 Linienformen

Wenn 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.

Die Linienform kann für den gesamten Bereich geschrieben werden als

$$M_y \propto \frac{\tau(\Delta\omega_A - \Delta\omega_B)^2}{(\Delta\omega_A + \Delta\omega_B)^2 + \tau^2 \Delta\omega_A^2 \Delta\omega_B^2}$$

Hier stellen $\Delta\omega_{A,B} = \omega_{A,B} - \omega_{rf}$ die Resonanzfrequenzen der beiden Spins im rotierenden Koordinatensystem dar.

In der Figur ist ein experimentelles Beispiel dargestellt: Hier sind Protonen-Austauschspektren des Di-

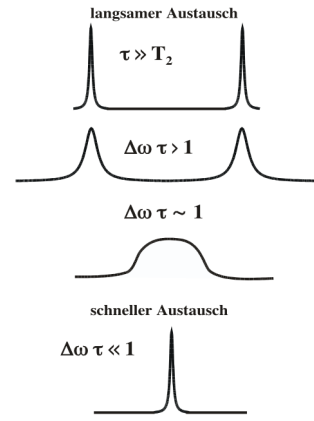


Abbildung 5.13: Linienformen für unterschiedliche Austauschgeschwindigkeit.

methylnitrosaminmoleküls zu sehen, das in der flüssigen Phase eine interne Rotation um die N-N-Achse ausführen kann. Bei niedriger Temperatur sind die beiden Methylgruppen als getrennte Resonanzlinien erkennbar. Mit zunehmender Temperatur wird die Rotation um die N-N Bindung schneller, welche die beiden Positionen ineinander überführt. Dadurch werden die Linien zunächst breiter und gehen dann ineinander über. Wird die Austauschfrequenz sehr hoch so wird die Linie wieder schmaler. In diesem Beispiel wird die Austauschrate über die Temperatur gesteuert.

Bei dieser eindimensionalen Messung des Austausches steht ein Zeitfenster zur Verfügung, das auf der einen Seite durch die Frequenzdifferenz zwischen den beiden Resonanzfrequenzen begrenzt wird, auf der anderen Seite durch die Linienbreite der Resonanzlinien: Ist der Austausch langsamer, so wird das 2-Linien Spektrum nicht beeinflusst. Ist die Austauschrate deutlich schneller als die Frequenzdifferenz, so findet man nur eine verschmälerte Linie.

In diesen einfachen Beispielen ist der Effekt des Austausches sehr leicht zu erkennen, In komplizierten Spektren, wo von z.B. 100 Linien nur 2 am Austausch teilnehmen, wird es sehr viel schwieriger.

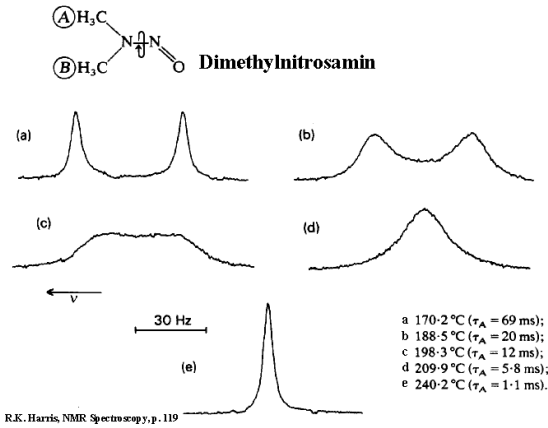


Abbildung 5.14: Spektren von Nitrosamin als Funktion der Temperatur: Übergang vom langsamen zum schnellen Austausch.

5.2.4 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.

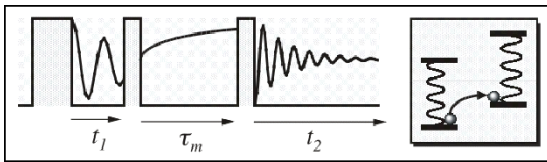


Abbildung 5.15: Prinzip der 2D Austauschspektroskopie

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 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.

Als Beispiel betrachten wir die Rotation eines Molekülteils gegen den Rest. Ein typisches Beispiel ist die Rotation der Amidbindung in Dimethylformamid. Die Protonen der beiden Methylgruppen haben unterschiedliche chemische Verschiebung, können also im NMR Spektrum getrennt beobachtet werden. Solche Bindungen spielen z.B. in Proteinen eine wichtige Rolle. Als einfaches Beispiel betrachten wir hier Dimethylformamid. Es zeigt eine behinderte Rotation, deren Rate in der Nähe der Raumtemperatur etwa einmal pro Sekunde beträgt.

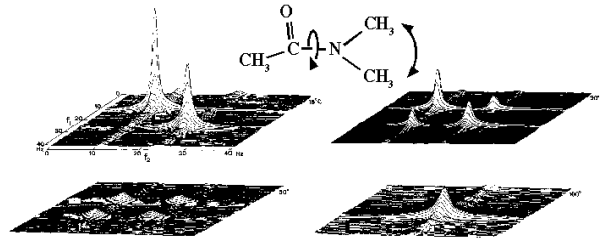


Abbildung 5.16: 2D Austauschspektren von Dimethylformamid.

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.

5.2.5 Spindiffusion

Ein Austausch von Kohärenz zwischen zwei unterschiedlichen Spins muss nicht unbedingt auf chemischen Austausch zurückzuführen sein. Es ist auch möglich, dass die Polarisation eines Spins auf einen anderen übertragen wird, ohne dass sie ihre Plätze tauschen.

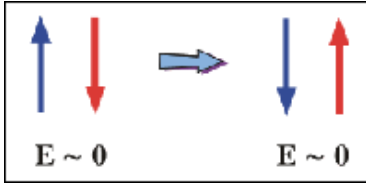


Abbildung 5.17: Polarisationsaustausch von 2 Spins.

Ein Mechanismus dafür ist die so genannte Spindiffusion, ein Prozess der durch den B-Term des Dipolalphabets getrieben wird: er entspricht einem doppelten Umlappen von zwei antiparallelen Spins. Da die Gesamtpolarisation des Systems sich dabei nicht ändert bleibt die gesamte Energie erhalten. Der Prozess benötigt deshalb keine thermische Aktivierung, sondern kann auch bei sehr niedrigen Temperaturen ablaufen.

Dabei wird zwar keine Energie übertragen, aber Polarisation. Sind z.B. Spins in einem Bereich im Zustand $|\uparrow\rangle$ und in einem benachbarten Bereich im Zustand $|\downarrow\rangle$, so können solche flip-flop Prozesse die Polarisation der beiden Bereiche angleichen. Bei einem Elementarschritt wird dabei Polarisation über eine Strecke übertragen, welche dem Abstand zwischen zwei Spins entspricht, d.h. typischerweise einige Å. Die Zeit, welche dafür benötigt wird, entspricht der inversen Kopplungskonstante, $\tau_{dd} \approx \frac{1}{\omega_{dd}}$.

In einem typischen Festkörper besitzt jeder Spin viele Nachbarn, an die er über Dipol-Dipol Wechselwirkung gekoppelt ist. Er kann prinzipiell mit jedem Nachbarn Magnetisierung austauschen. Magnetisierung ist deshalb meistens nicht lokalisiert, sondern breitet sich diffusionsartig durch den gesamten Festkörper aus. Man kann diesen Prozess durch eine Diffusionsgleichung beschreiben, wobei die Diffusionskonstante durch den mittleren Abstand zwischen den Spins und die mittlere Kopplungsstärke gegeben ist.

Die Distanz δ , über welche dieser Prozess effektiv ist, kann abgeschätzt werden als

$$\delta \approx \sqrt{D\tau}.$$

Hier stellt D die Diffusionskonstante dar und τ die Messzeit. Typische Werte für δ betragen wenige nm. Man kann ihn deshalb dazu verwenden, Nachbarschaft in einem Festkörper zu analysieren.

5.2.6 Anwendungsbeispiel

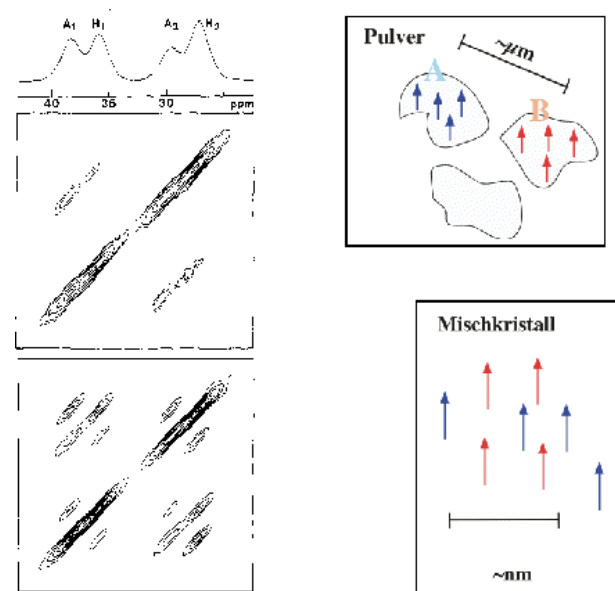


Abbildung 5.18: Austauschpektren einer Mischung aus Adamantan und Hexamethylbenzol. Oben: Pulvermischung, unten Mischkristalle.

Hier wurde z.B. Spindiffusion in einem Mischkristall aus Adamantan und Hexamethylbenzol (HMB) gemessen. Für das obere Spektrum wurde eine Mischung von Pulvern der beiden Substanzen hergestellt und daran Spindiffusion gemessen. Jedes der beiden Moleküle enthält zwei unterschiedliche ^{13}C Kerne, trägt also zwei Linien zum Spektrum bei. Da sich beide Kerne in der gleichen Einheitszelle befinden 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 lange dauert.

Für das untere Spektrum wurde ein Mischkristall hergestellt, indem beide Komponenten 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.

5.2.7 NOESY: Prinzip

Eines der wichtigsten zweidimensionalen NMR Experimente 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. Physikalisch ist es damit eng verwandt mit dem oben beschriebenen Spindiffusions-Experiment.

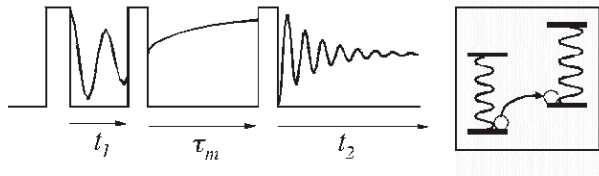


Abbildung 5.19: Pulsfolge für das NOESY Experiment. Alle drei Pulse sind $\pi/2$ Pulse.

Das NOESY Experiment verwendet eine Dreipulsfolge. Wir betrachten ein Zweispinsystem und bezeichnen die beiden Spins mit A und X. Im thermischen Gleichgewicht sind die beiden Spins entlang der z-Achse polarisiert,

$$\rho_0 = A_z + X_z.$$

Der erste RF Puls dreht die Spins um 90 Grad um

die x-Achse und wir erhalten

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

Während der Evolutionszeit präzedieren die Spins um die z-Achse:

$$\begin{aligned} \rho(t_1) &= A_y \cos(\omega_A t_1) - A_x \sin(\omega_A t_1) \\ &+ X_y \cos(\omega_X t_1) - X_x \sin(\omega_X t_1) \end{aligned}$$

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

$$\begin{aligned} \rho(t_1; 0) &= -A_z \cos(\omega_A t_1) - A_x \sin(\omega_A t_1) \\ &- X_z \cos(\omega_X t_1) - X_x \sin(\omega_X t_1). \end{aligned}$$

Die transversalen Terme A_x und X_x zerfallen während der Mischzeit τ_m und werden nicht mehr berücksichtigt. Die longitudinalen Terme sind jetzt mit einer Amplitude moduliert (=markiert), welche ihre Präzessionsfrequenz enthält.

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

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

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 $|\alpha\beta\rangle \leftrightarrow |\beta\alpha\rangle$ resp. $|\alpha\alpha\rangle \leftrightarrow |\beta\beta\rangle$ anregen. 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

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

Dieser Zustand präzediert während der Evolutionszeit weiter. Dadurch erhält der erste Term eine Phase $e^{-i\omega_A t_2}$ und der zweite entsprechend $e^{-i\omega_X t_2}$. Das Signal im Zeitbereich enthält somit Terme, die mit $\cos(\omega_A t_1)\cos(\omega_A t_2)$, $\cos(\omega_A t_1)\cos(\omega_X t_2)$, $\cos(\omega_X t_1)\cos(\omega_A t_2)$ und $\cos(\omega_X t_1)\cos(\omega_X t_2)$ moduliert sind.

5.2.8 Signale

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 | $1-x$ |

Der Koeffizient x gibt an, wie viel Austausch stattgefunden hat.

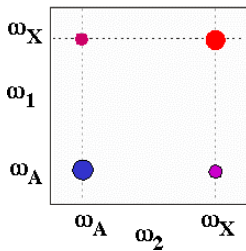


Abbildung 5.20: Resonanzlinien im NOESY Spektrum

Die Diagonale enthält wie üblich die Information des 1D Spektrums, während die Außerdiagonalelemente

anzeigen welche Spins Magnetisierung ausgetauscht haben. Die Existenz dieser Linien ist somit ein Hinweis drauf, dass die entsprechenden Kerne geometrisch benachbart sind.

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

5.2.9 Austauschmechanismen

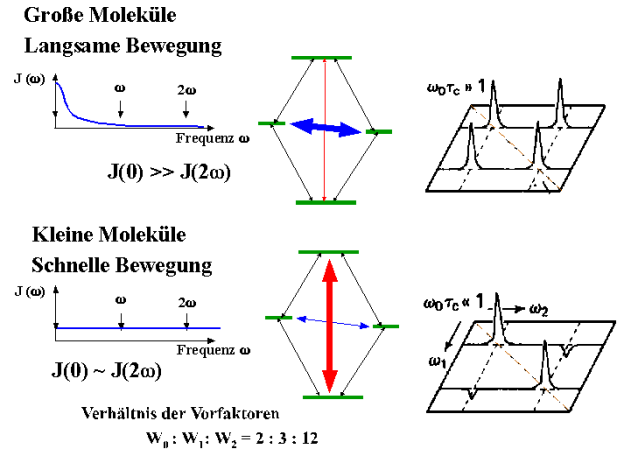


Abbildung 5.21: Vorzeichen der Kreuzpeaks: bei großen Molekülen sind die Kreuzpeaks positiv, bei kleinen negativ.

Der Austausch kann über Nullquanten- oder Doppelquantenprozesse erfolgen. Jede Rate ergibt sich als Produkt aus einem Vorfaktor

$$k_i = |\langle i | \mathcal{H}_1 | j \rangle|^2$$

und der spektralen Leistungsdichte $J(0)$, resp. $J(2\omega)$ für den entsprechenden Übergang. Bei großen Molekülen, mit entsprechend langen Korrelationszeiten ist die spektrale Leistungsdichte bei der Frequenz 0 deutlich höher als bei 2ω , so dass in diesem Fall der Nullquanten (=Flip-Flop) Prozess dominiert. Dieser Prozess überträgt Magnetisierung zwischen den beiden Spins, so dass die Außerdiagonalpeaks das gleiche Vorzeichen haben wie die Linien auf der Diagonalen.

Bei kleinen Molekülen sind jedoch die Korrelationszeiten so kurz, dass die spektralen Leistungsdichten vergleichbar sind. In diesem Fall dominiert, aufgrund der unterschiedlichen Vorfaktoren, der Doppelquantenprozess. Dieser tauscht das Vorzeichen der Magnetisierung bei der Übertragung und führt deshalb zu negativen Außerdiagonalpeaks.

5.2.10 Zeitabhängigkeit

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

$$\frac{d}{dt} A_z = -k(A_z - X_z) - A_z/T_1$$

$$\frac{d}{dt} X_z = -k(X_z - A_z) - X_z/T_1,$$

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

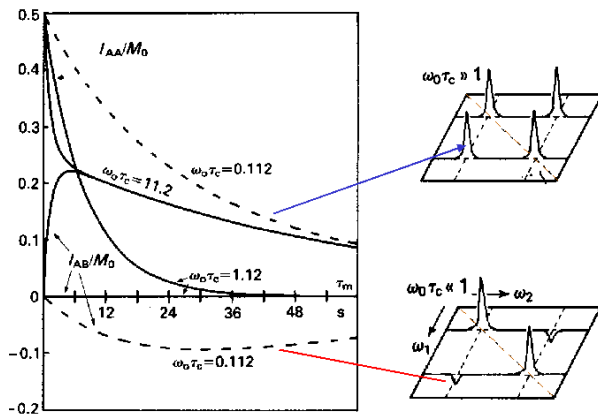


Abbildung 5.22: Amplitude von Kreuz- und Diagonalpeaks als Funktion der Mischzeit.

Der Austauschprozess führt mit der Rate k 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.

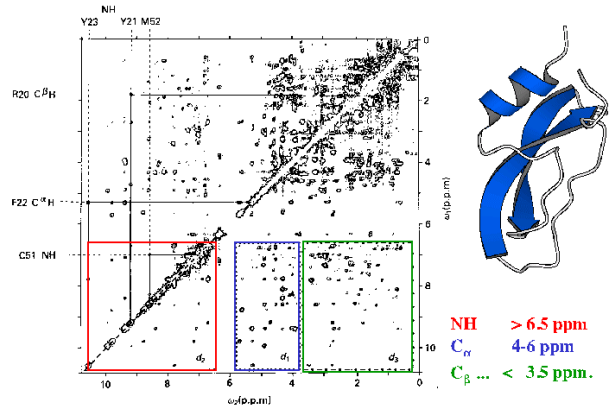


Abbildung 5.23:

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_α Protonen im Bereich 4-6 ppm und die $C_\beta \dots$ Protonen unterhalb 3.5 ppm. Die Rechtecke bezeichnen somit den Austausch NH-NH, NH- C_α und NH- C_β .

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.

5.3 Korrelationspektroskopie

5.3.1 COSY

Eine wichtige Anwendung der 2D Spektroskopie ist das COSY (=Correlation Spectroscopy) Experiment, welches dazu dient, Verknüpfungen zwischen Kernspins zu finden: man erhält Kreuzpeaks wenn zwei Kerne über eine (skalare) Kopplung aneinander gekoppelt sind.

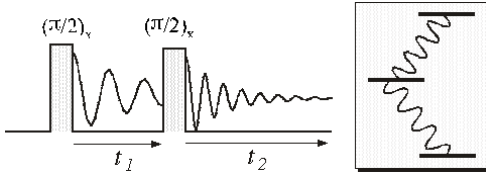


Abbildung 5.24: Pulsfolge für Korrelationsspektroskopie (COSY). Damit erhält man Spektren, in denen gekoppelte Übergänge als Kreuzpeaks sichtbar werden.

Im einfachsten Fall verwendet man dafür eine Folge aus zwei RF Pulsen, welche alle Spins anregen. Die Evolutionszeit und die Detektionszeit sind hier nur durch einen Radiofrequenzpuls getrennt. Im Folgenden soll für ein einfaches Modellsystem gezeigt werden, wie diese Verbindungen sichtbar gemacht werden können.

Wir diskutieren hier den Fall eines homonuklearen, schwach gekoppelten Zweispinsystems AX mit einem Hamiltonoperator

$$\mathcal{H} = \omega_A A_z + \omega_X X_z + 2\pi J A_z X_z. \quad (5.1)$$

Die Gleichgewichtsmagnetisierung

$$\rho_0 = A_z + X_z$$

wird durch den ersten $(\frac{\pi}{2})_x$ Puls in transversale Magnetisierung

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

umgewandelt.

Während der Evolutionszeit entwickelt sich die Magnetisierung unter dem Einfluss des Hamiltonoperators (5.1):

$$\rho(t_1) = e^{-i\mathcal{H}t_1} \rho(0) e^{i\mathcal{H}t_1}.$$

Da die einzelnen Terme miteinander vertauschen können wir ihren Einfluss getrennt berechnen, d.h.

$$e^{-i\mathcal{H}t_1} = e^{-i\omega_A A_z t_1} e^{-i\omega_X X_z t_1} e^{-i2\pi J A_z X_z t_1}.$$

Die wichtigsten Beziehungen sind

$$e^{-i\omega_A A_z t} A_x e^{-i\omega_A A_z t} = A_x \cos(\omega_A t) + A_y \sin(\omega_A t)$$

$$e^{-i\omega_A A_z t} A_y e^{-i\omega_A A_z t} = A_y \cos(\omega_A t) - A_x \sin(\omega_A t)$$

$$e^{-i2\pi J A_z X_z t} A_x e^{i2\pi J A_z X_z t} =$$

$$A_x \cos(\pi J t) + 2A_y X_z \sin(\pi J t),$$

$$e^{-i2\pi J A_z X_z t} =$$

$$2A_y X_z \cos(\pi J t) - A_x \sin(\pi J t).$$

5.3.2 Zeitentwicklung

Damit erhalten wir für die Zeitentwicklung während der Evolutionszeit t_1

$$\rho(t_1) = [A_y \cos(\omega_A t_1) - A_x \sin(\omega_A t_1)$$

$$+ X_y \cos(\omega_X t_1) - X_x \sin(\omega_X t_1)] \cos(\pi J t_1)$$

$$+ [-2A_x X_z \cos(\omega_A t_1) - 2A_y X_z \sin(\omega_A t_1)$$

$$- 2X_x A_z \cos(\omega_X t_1) - 2X_y A_z \sin(\omega_X t_1)] \sin(\pi J t_1)$$

Der zweite $(\frac{\pi}{2})_x$ Puls erzeugt daraus

$$\rho(t_1, 0) = [-A_z \cos(\omega_A t_1) - A_x \sin(\omega_A t_1)$$

$$(-X_z \cos(\omega_X t_1) - X_x \sin(\omega_X t_1)] \cos(\pi J t_1)$$

$$+ [-2A_x X_y \cos(\omega_A t_1) + 2A_z X_y \sin(\omega_A t_1)$$

$$- 2X_x A_y \cos(\omega_X t_1) + 2X_z A_y \sin(\omega_X t_1)] \sin(\pi J t_1)$$

Von diesen Termen stellen nur die Komponenten A_x , X_x , $A_z X_y$ und $X_z A_y$ beobachtbare Magnetisierung dar. Davon stellen der 3te und 4te Term sogenannte "Antiphasen-Magnetisierung" dar: das entsprechende Signal ist zunächst (zu Beginn des FIDs) Null, es entsteht daraus jedoch messbare Magnetisierung.

Dies äußert sich im Spektrum so, dass das Integral dieses Signalbeitrags verschwindet (entspricht dem Anfangswert des FIDs) und man erhält zwei Resonanzlinien mit entgegengesetztem Vorzeichen.

In beiden Fällen hat der zweite Puls die Rollen der beiden Spins vertauscht: vor dem Puls bestehen die beiden Terme aus transversaler Magnetisierung des A-Spins (A_y), anti-Phase bez. des X-Spins (X_z). Nach dem Puls bestehen die beiden Terme aus transversaler Magnetisierung des X-Spins (X_y), anti-Phase bez. A-Spin (A_z). Man spricht deshalb von einem Magnetisierungstransfer. Diese Art des Kohärenztransfers wird häufig benutzt, um

- Signale einer Spin-Sorte mit kleinem gyromagnetischem Verhältnis zu verstärken
- Kohärenz für die Detektion auf Protonen zu übertragen, wo die Empfindlichkeit höher ist
- Gekoppelte Spins zu korrelieren.

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

$$A_y \cos(\omega_A t_1) \cos(\pi J t_1) \rightarrow \cos(\omega_A t_1) \cos(\pi J t_1)$$

$$[(A_y \cos(\omega_A t_2) - A_x \sin(\omega_A t_2)) \cos(\pi J t_2)$$

$$- (2A_x X_z \cos(\omega_A t_2) - 2A_y X_z \sin(\omega_A t_2)) \sin(\pi J t_2)]$$

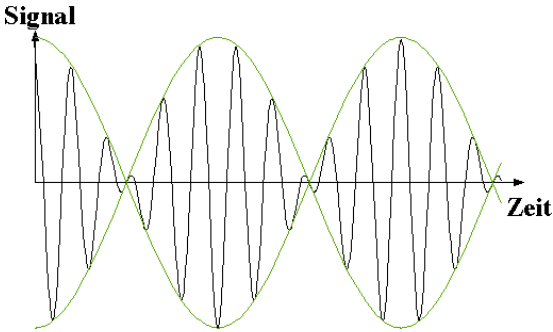


Abbildung 5.25: Signalbeitrag der A_y Komponente.

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

$$s(t_1, t_2) = \cos(\omega_A t_1) \cos(\pi J t_1) \cos(\omega_A t_2) \cos(\pi J t_2)$$

Mit Hilfe der trigonometrischen Beziehung

$$\cos \alpha \cos \beta = \frac{1}{2} [\cos(\alpha + \beta) + \cos(\alpha - \beta)]$$

sieht man, dass ein moduliertes Signal $\cos(\omega_A t_1) \cos(\pi J t_1)$ ein Spektrum mit zwei Linien bei der Frequenz $\omega_A \pm \frac{J}{2}$ ergibt. In zwei Dimensionen erhalten wir somit vier Linien, welche jeweils um die Kopplungskonstante getrennt sind.

5.3.3 Form und Interpretation des Spektrums

Eine zweidimensionale Fouriertransformation erzeugt daraus vier Linien bei den Frequenzen $[\omega_1 = \omega_A \pm \pi J, \omega_2 = \omega_A \pm \pi J]$. Einen entsprechenden Signalbeitrag bei der Frequenz $[\omega_1 = \omega_X \pm \pi J, \omega_2 = \omega_X \pm \pi J]$ liefert der Term $X_x \sin(\omega_X t_1) \cos(\pi J t_1)$. Einen weiteren Signalbeitrag erhält man von den Termen $A_z X_y \sin(\omega_A t_1) \sin(\pi J t_1)$ und $X_z A_y \sin(\omega_X t_1) \sin(\pi J t_1)$. Der erste entwickelt sich während der Detektion wie

$$2A_z X_y \sin(\omega_A t_1) \sin(\pi J t_1) \rightarrow \sin(\omega_A t_1) \sin(\pi J t_1)$$

$$[(2A_z X_y \cos(\omega_X t_2) + 2A_z X_x \sin(\omega_X t_2)) \cos(\pi J t_2)$$

$$- (X_x \cos(\omega_X t_2) - X_y \sin(\omega_X t_2)) \sin(\pi J t_2)]$$

Mit der Observablen X_y wird das Signal im Zeitbereich

$$\sin(\omega_A t_1) \sin(\pi J t_1) \sin(\omega_X t_2) \sin(\pi J t_2)$$

und im Frequenzbereich erhalten wir vier Linien bei $[\omega_1 = \omega_A \pm \pi J, \omega_2 = \omega_X \pm \pi J]$. Der Term $X_z A_y \sin(\omega_X t_1) \sin(\pi J t_1)$ erzeugt dementsprechend Linien bei $[\omega_1 = \omega_X \pm \pi J, \omega_2 = \omega_A \pm \pi J]$.

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, welchen Kern enthält.

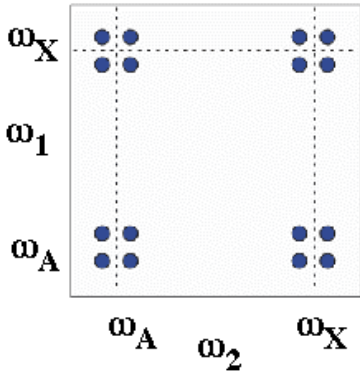


Abbildung 5.26: Resonanzlinien im COSY Spektrum.

5.3.4 Beispiele

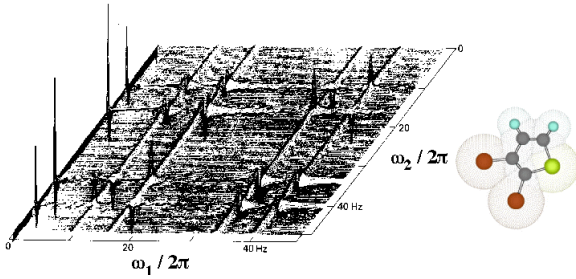


Abbildung 5.27: COSY Spektrum von Dibromthiophen.

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.

Ein Phasenzyklus ist eine Kombination von zwei oder mehr Experimenten, die sich durch die Phase der RF Pulse unterscheiden. In diesem Beispiel kann man z.B. die Phase des ersten Pulses zwischen x und $-x$ ändern. Dabei ändert sich das Vorzeichen aller relevanten Teile des Dichteoperators und damit des berechneten Signals. Eine Komponente, die durch Relaxation entsteht, ist jedoch unabhängig von dieser Phase. Subtrahiert man die beiden Experimente, so fallen die Komponenten, die nicht von der Phase

abhängen heraus, während die gewünschten Signalbeiträge bleiben.

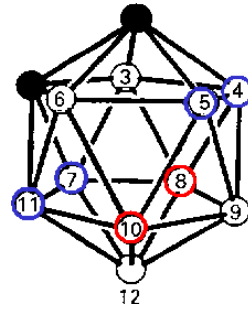


Abbildung 5.28: Struktur von Carboran.

Als weiteres Beispiel betrachten wir das COSY Spektrum von ^{11}B in o-Carboran. Das Molekül enthält 10 B Atome, welche aufgrund der Symmetrie des Moleküls in drei Zweier- und einer Vierergruppen äquivalent sind.

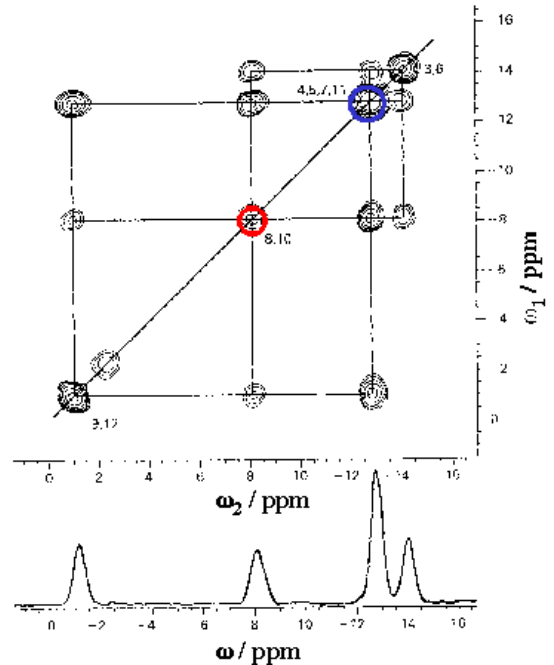


Abbildung 5.29: COSY Spektrum von o-Carboran

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 und 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.

5.3.5 Weitere Anwendungen

Da COSY Spektren die chemischen Bindungen zwischen den Kernen reflektieren kann man sie z.B. benutzen, um unterschiedliche Aminosäuren zu unterscheiden. Die meisten Kopplungen, die man in COSY Spektren verwendet, sind Kopplungen über 3 Bindungen, also z.B. H-C-C-H. Somit erhält man vor allem Kreuzpeaks zwischen Protonen, die an den gleichen, oder einen benachbarten Kohlenstoff (oder Stickstoff) gebunden sind.

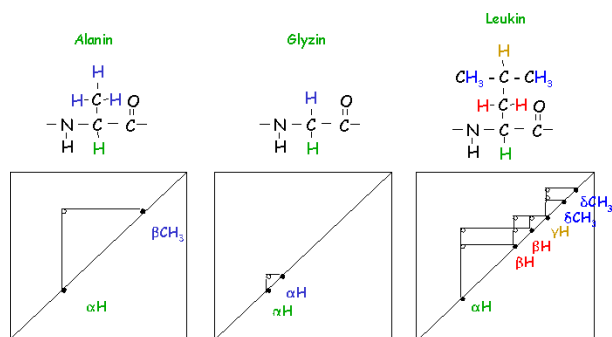


Abbildung 5.30: COSY Muster unterschiedlicher Aminosäuren.

In Figur 5.30 sind die resultierenden Muster für 3 unterschiedliche Aminosäuren gezeigt. Ausgangspunkt für die Zuordnung ist das α -CH Proton, welches entweder auf Grund seiner chemischen Verschiebung oder auf Grund einer Kopplung an ein N-H Proton identifiziert werden kann. Im Alanin ist das α -CH Proton an eine Methylgruppe gekoppelt, im Glyzin an ein weiteres α -CH Proton. Im dritten Beispiel (Leukin) ist die Seitenkette relativ lang. Das α -CH Proton ist hier an zwei unterscheidbare Protonen der β -CH₂ Gruppe gekoppelt, diese wiederum an ein einzelnes γ -CH und dieses wiederum an 2 CH₃ Gruppen.

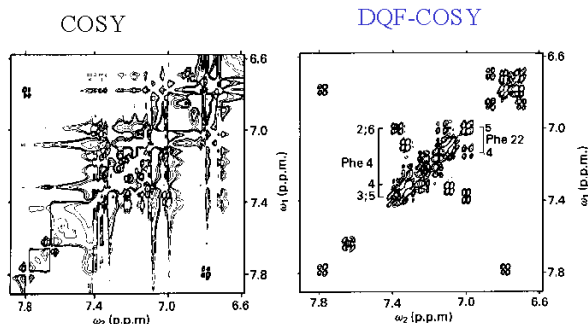


Abbildung 5.31: Vergleich eines gewöhnlichen COSY Spektrums (links) mit einem Doppelquanten-gefilterten COSY Spektrum (rechts).

Da die Spektren häufig zu voll sind verwendet man unterschiedliche Techniken, um den Überlapp der Signale zu reduzieren. Eine wichtige Technik, welche nur Signale von Gruppen von Spins (im Gegensatz zu isolierten Spins) übrig lässt, ist das Doppelquantenfilter. Wie hier am Beispiel von BPTI gezeigt werden damit die einzelnen Resonanzlinien getrennt sichtbar. Dargestellt ist der Bereich der NH-Protonen von BPTI.

5.3.6 Heteronukleare Korrelationsexperimente

Beim COSY werden Kopplungen zwischen Protonen verwendet, um Informationen über die Bindungsstruktur eines Moleküle zu erhalten. Genau so kann man Kopplungen zwischen unterschiedlichen Kernen verwenden, z.B. ^1H - ^{13}C , ^1H - ^{15}N , oder ^{13}C - ^{15}N . Experimente mit mehreren unterschiedlichen Kernen werden als "heteronukleare" Experimente bezeichnet, im Gegensatz zu "homonuklearen" Experimenten.

Heterokerne weisen typischerweise einen deutlich größeren Bereich chemischer Verschiebungen auf als Protonen. Dadurch liefern sie häufig mehr spektrale Information, besonders bei großen Molekülen. Allerdings ist auch die Empfindlichkeit deutlich geringer, das die Resonanzfrequenzen niedriger sind und teilweise die natürliche Häufigkeit sehr niedrig. Einen Teil der Empfindlichkeit kann man in hete-

ronuklearen Experimenten wieder gewinnen, indem man Polarisation von den Protonen auf die Heterokerne überträgt um das Signal zu verstärken und / oder für die Detektion die Protonen verwendet, da sie bei gegebener Polarisation ein größeres Signal liefern.

Das vielleicht wichtigste heteronukleare Experiment wird mit HSQC abgekürzt. Das Akronym steht für Heteronuclear Single Quantum Spectroscopy.

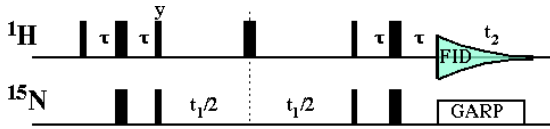


Abbildung 5.32: Pulsprogramm des HSQC Experimentes.

Im ersten Teil des Experiments wird Polarisation von den Protonen auf den Heterokern¹ (meist ¹⁵N, auch ¹³C) übertragen. Dort präzediert sie während der Evolutionszeit als "Heteronukleare Einquantenkohärenz". In Operatorschreibweise handelt es sich um $S_x I_z$ Kohärenz, also Einquantenkohärenz des Stickstoffs, wobei die beiden Linien des Dubletts (bezüglich des ¹H Spins) in Antiphase sind. Während der Evolutionszeit wird die Kopplung zu den Protonen durch den π -Puls auf den Protonen refokussiert. Danach wird die Kohärenz wieder auf die Protonen übertragen, wo sie detektiert wird. In diesem Beispiel werden während der Detektion die Stickstoffspins entkoppelt.

In einem heteronuklearen Spektrum entsprechen die beiden Dimensionen unterschiedlichen Kernen. Somit wird nur Kohärenz beobachtet, welche von einer Kernsorte auf eine andere übertragen wurde, und es existiert keine Diagonale ($\omega_1 = \omega_2$). Man beobachtet nur Signale, die einem Kohärenztransfer entsprechen.

In diesem Beispiel wird ein Protein untersucht, bei dem Signale zwischen ¹H und ¹⁵N übertragen werden. Dies erlaubt eine relativ rasche Zuordnung der einzelnen Aminosäuren und ist Bestandteil von vielen 3D Experimenten.

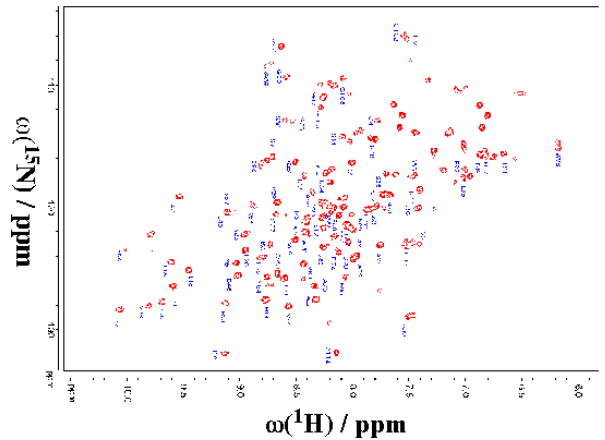


Abbildung 5.33: HSQC Spektrum.

¹Als Heterokern wird jeder Kern außer ¹H bezeichnet.