

# 5 2D NMR

Bisher haben wir Spektren verstanden als eine Darstellung von Absorption (oder Dispersion) als Funktion einer Frequenz. In diesem Kapitel soll gezeigt werden, wie man Absorption auch als Funktion von mehr als einer Frequenz messen kann, und was man daraus lernen kann. Man bezeichnet diese Form der Spektroskopie als 2D-NMR (oder 3D, 4D ...).

## 5.1 Motivation und Grundlagen

Bevor wir die Methodik im Detail betrachten, soll hier kurz dargestellt werden, wozu das ganze prinzipiell genutzt werden kann.

### 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.

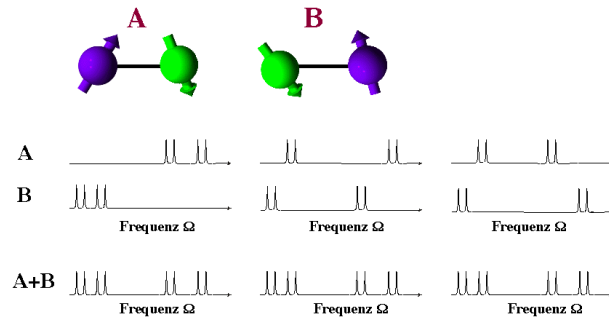


Abbildung 5.1: Spektrum von 2 Molekülen mit je 2 gekoppelten Spins. Die Summenspektren sind identisch, obwohl die einzelnen Spektren unterschiedlich sind.

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 des gleichen Moleküls übertragen, und anschliessend die Resonanzfrequenz nochmals gemessen. Die beiden Frequenzen werden dann in einem zweidimensionalen Raster aufgetragen: Ein Signal ist hier mit zwei Koordinaten definiert, welche der Resonanzfrequenz vor-, resp. nach dem Transfer entsprechen.

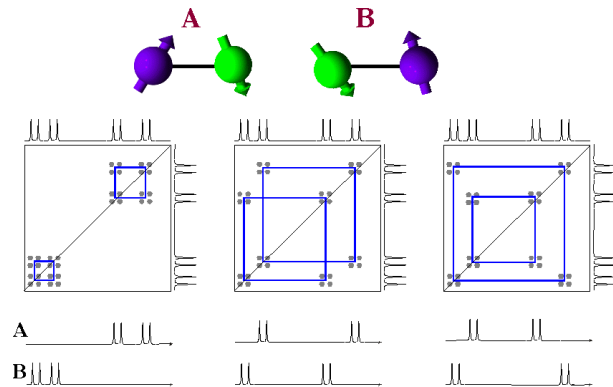


Abbildung 5.2: 2D Spektren des gleichen Systems. Die Spektren für die drei Fälle sind unterschiedlich.

Das 2D Spektrum stellt die Signalamplitude als Funktion beider Frequenzen dar,  $S(\omega_1, \omega_2)$ . Maxima, d.h. Resonanzlinien müssen jeweils die Resonanzbedingung für beide Koordinaten,  $\omega_1$  und  $\omega_2$  erfüllen. In unserem Beispiel haben wir für beide Frequenzachsen 8 mögliche Resonanzbedingungen; im 2D Spektrum erhält man somit  $8 \times 8 = 64$  Paa-

re von Resonanzfrequenzen. Man findet jedoch nicht 64, sondern nur 32 Linien. Dies liegt daran, dass ein Magnetisierungsantransfer nur zwischen Spins im gleichen Molekül stattfindet. 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.

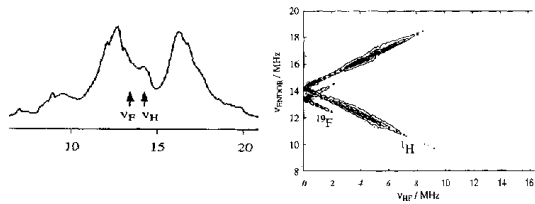


Abbildung 5.3: Beispiel eines zweidimensionalen ENDOR (Elektron-Kern Doppelresonanz) Spektrums. Die linke Seite zeigt das konventionelle (1D) Spektrum, in dem zwei Signalkomponenten von  $^{19}\text{F}$  und  $^1\text{H}$  sich überlagern. Im zweidimensionalen Spektrum sind sie klar unterscheidbar. (Jeschke und Schweiger, Chem. Phys. Lett. 246, 431 (1995).)

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.

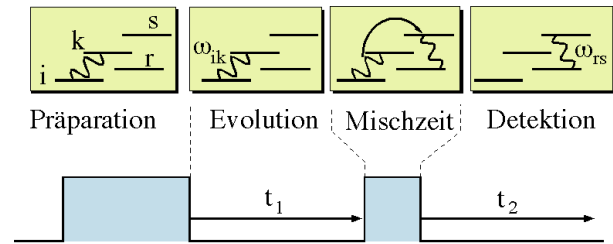


Abbildung 5.4: Grundschematische Darstellung der zweidimensionalen Spektroskopie im Zeitbereich.

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  $\omega_{ik}$  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 Dichteperelement 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 der Evolutionszeit bezeichnet. Man erhält eine zweidimensionale Datenmatrix, indem man für eine Reihe von unterschiedlichen Evolutionszeiten jeweils einen FID misst.

In Abb. 5.5 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, während der die Datenaufnahme läuft.

Für dieses Beispiel wurden nur zwei Übergänge berücksichtigt, nämlich  $lm$  und  $pq$ . Wir nehmen außerdem an, dass die transversale Relaxation für beide Übergänge identisch ist und schreiben dafür die Relaxationsrate  $\gamma_0$ .

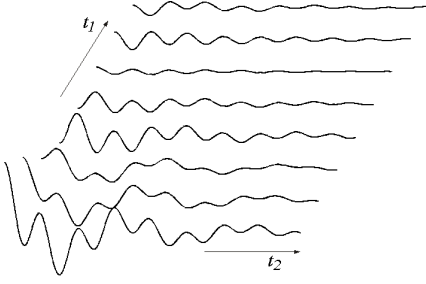


Abbildung 5.5: 2D Signal als Funktion der Evolutionszeit  $t_1$  (schräge Achse) und  $t_2$  (horizontale Achse).

Der FID ist dann

$$s_{fid}(t_1, t_2) = e^{-\gamma(t_1+t_2)} \left[ \eta_{pq,lm} a_{pq} \cos(\omega_{lm} t_1) \cos(\omega_{pq} t_2) + \eta_{pq,pq} a_{pq} \cos(\omega_{pq} t_1) \cos(\omega_{pq} t_2) + \eta_{lm,lm} a_{lm} \cos(\omega_{lm} t_1) \cos(\omega_{lm} t_2) + \eta_{lm,pq} a_{lm} \cos(\omega_{pq} t_1) \cos(\omega_{lm} t_2) \right].$$

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  $t_1$ :

$$s_f(t_1, \omega_2) = e^{-\gamma t_1}$$

$$\left[ (\eta_{pq,lm} e^{i\omega_{lm} t_1} + \eta_{pq,pq} e^{i\omega_{pq} t_1}) a_{pq} g(\omega_2 - \omega_{pq}) + (\eta_{lm,lm} e^{i\omega_{lm} t_1} + \eta_{lm,pq} e^{i\omega_{pq} t_1}) a_{lm} g(\omega_2 - \omega_{lm}) \right].$$

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

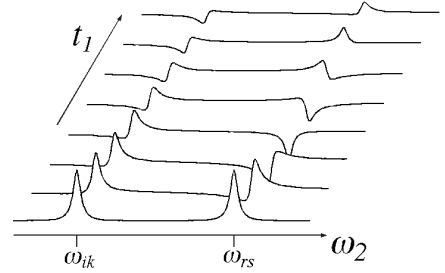


Abbildung 5.6: Zweidimensionaler Datensatz nach der ersten Fouriertransformation.

Abb. 5.6 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  $\omega_2$ , welches Resonanzlinien bei den beiden Frequenzen  $\omega_{ik}$  und  $\omega_{rs}$  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.

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

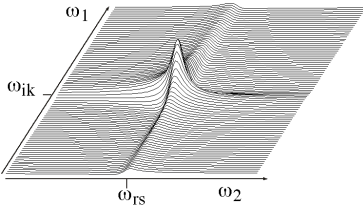


Abbildung 5.7: Zweidimensionale Lorentzlinie

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

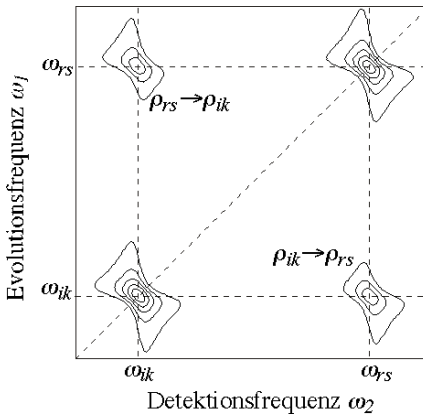


Abbildung 5.8: 2D Austausch-Spektrum von 2 Spins in Höhenkurvendarstellung.

Figur 5.8 zeigt das zweidimensionale Spektrum in Höhenkurvendarstellung. Die beiden Resonanzfrequenzen  $\omega_{ik}$ ,  $\omega_{rs}$  ergeben im zweidimensionalen Spektrum vier Linienpositionen. Die Linien auf der Diagonalen ( $\omega_1 = \omega_2$ ) 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 ( $\omega_1 = \omega_{ik}$ ,  $\omega_2 =$

$\omega_{rs}$ ) 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:  $S(\omega_1, \omega_2) = S(\omega_2, \omega_1)$ .

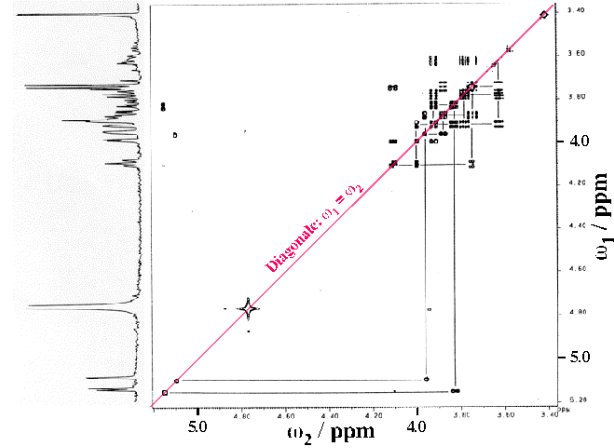


Abbildung 5.9: COSY Spektrum einer Zuckerverbindung.

Abbildung 5.9 zeigt als Beispiel ein Proton-Proton COSY Spektrum von Galactose-1-2-methylmannoside 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 in Höhenkurvendarstellung. 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

Das Konzept der 2D Spektroskopie ist praktisch beliebig erweiterbar auf 3 und mehr Dimensionen. Für jede zusätzliche Dimension muss eine zusätzliche Evolutionszeit eingeführt werden, sowie ev. eine dazu gehörende Mischzeit.

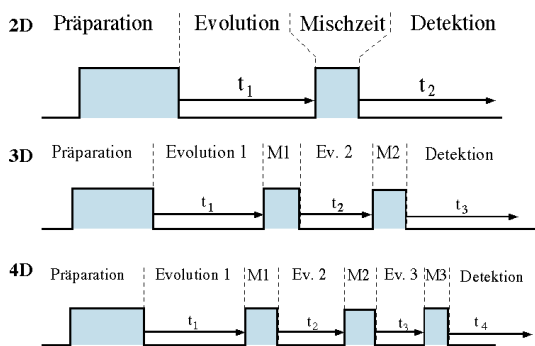


Abbildung 5.10: Einteilung der Zeitentwicklung bei mehrdimensionalen Experimenten.

Die bedeutet, dass bei der Datenaufnahme jeweils eine zusätzliche Variable inkrementiert werden muss. Bei einem typischen 2D Experiment werden z.B. 512 FIDs mit unterschiedlichen Werten von  $t_1$  aufgenommen. In einem 3D Experiment müsste man für jeden dieser FID's nochmals unabhängig die zweite Evolutionszeit variieren. Damit misst man  $512 \times 512 = 262144$  FIDs. Bei einer minimalen Wiederholrate von  $1 \text{ s}^{-1}$  bedeutet dies eine Messzeit von 72 Stunden. Bei einem 4D Experiment mit gleicher Anzahl Punkten in allen Dimensionen würde daraus eine Messzeit von über 4 Jahren. Solche Experimente sind deshalb nur durchführbar, wenn man die Anzahl Messpunkte entsprechend reduziert.

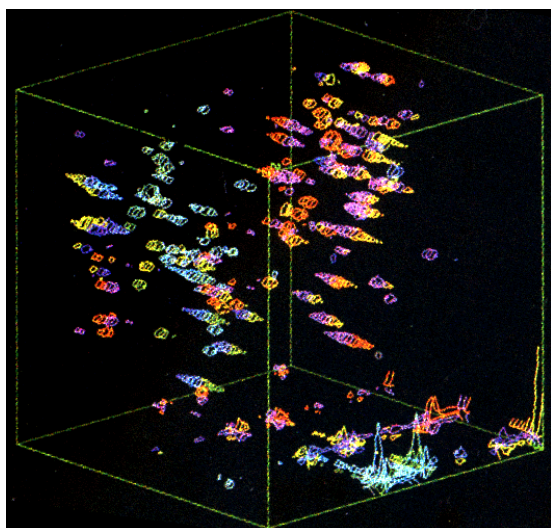


Abbildung 5.11: 3D Spektrum

Bei der Spektroskopie der Proteine sind 3 Dimensio-

nen 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  $^{13}\text{C}$  und eine  $^1\text{H}$  Dimension.

## 5.2 Austausch

### 5.2.1 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 ein Ensemble von identischen Spins, welche zwischen zwei Positionen mit unterschiedlicher chemischer Verschiebung hin- und her springen. Wenn die Aufenthaltszeit an einem der beiden Orte kurz 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



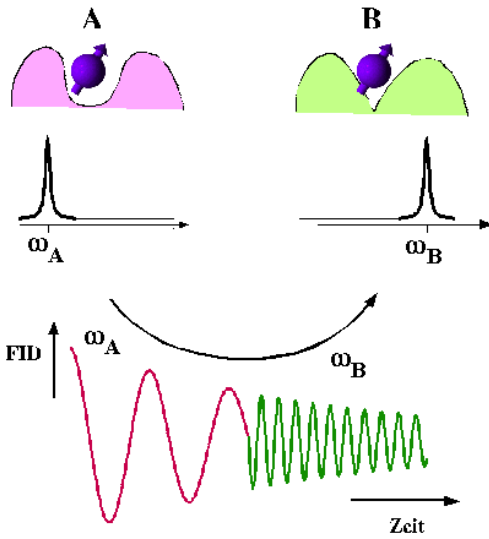


Abbildung 5.12: Sprungprozess in einem molekularen System: Die Resonanzfrequenz des Spins ändert sich mit der Umgebung.

der Frequenzen, welche für ein System im Gleichgewicht stationär ist.

### 5.2.2 Signal im Zeitbereich

Als nächstes betrachten wir den Einfluss der Austauschrate, resp. der Verweildauer auf das Signal.

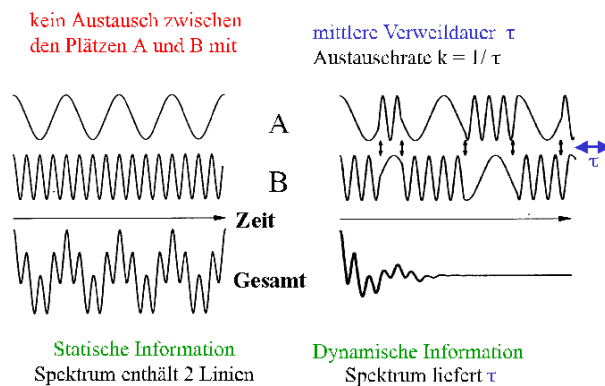


Abbildung 5.13: NMR Signal von zwei statischen Spins (links), resp. 2 Spins, die ihre Plätze tauschen (rechts).

Sind die beiden Positionen stabil, d.h. es findet kein Austausch statt, so ergibt sich das beobachtete Si-

gnal lediglich als Überlagerung der beiden Sinusschwingungen (linke Seite in Figur 5.13). Findet hingegen ein Austausch statt (rechte Seite in Figur 5.13), so springt die Frequenz jedes Mal. Die Phase des Spins zu einem Zeitpunkt  $t$  ist durch die gesamte Vorgeschichte des Spins gegeben

$$\varphi = \sum_i \omega^i \tau_i.$$

Hier bezeichnet  $i$  den Index einer Periode, während der die Frequenz konstant ist,  $\omega^i$  die Präzessionsfrequenz während dieser Periode, und  $\tau_i$  deren Dauer. Da die Dauer zufällig (und für jeden Spin unterschiedlich) variiert, laufen die verschiedenen Spins auseinander. Für das beobachtete makroskopische Ensemble zerfällt die Kohärenz und damit die beobachtbare Magnetisierung. Gegenüber dem statischen Ensemble wird der FID kürzer, im Spektrum beobachtet man dies als Verbreiterung der Resonanzlinie.

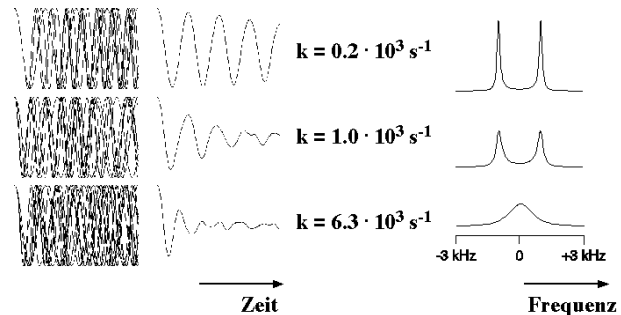


Abbildung 5.14: Entstehung des FID Signals durch Überlagerung der Signale von einzelnen Spins, deren Präzessionsfrequenz sich sprungartig ändert (links). Rechts sind die dazugehörigen Spektren gezeigt, die sich durch Fouriertransformation ergeben. Die Frequenzdifferenz zwischen den beiden Positionen beträgt  $\Delta\omega = 2$  kHz.

In Figur 5.14 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.

Wird jedoch die mittlere Aufenthaltsdauer  $\tau$  sehr kurz,  $\tau\Delta\omega \ll 1$ , mit  $\Delta\omega = |\omega_A - \omega_B|$  als Frequenzdifferenz der beiden Linien, dann erfährt der Spin während einer einzelnen Periode nur noch ein kleines Phaseninkrement. In diesem Grenzfall kann die Phase wiederum durch den Mittelwert

$$\varphi \approx \frac{\omega_A + \omega_B}{2} \sum_i \tau_i = \frac{\omega_A + \omega_B}{2} t$$

angenähert werden. Das Spektrum des Systems besteht hier nur noch aus einer einzelnen Linie bei der mittleren Frequenz (siehe unterste Zeile in Abb. 5.14).

### 5.2.3 Linienformen

Wenn der mittlere Abstand  $\tau$  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

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

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

In Figur 5.15 ist ein experimentelles Beispiel dargestellt: Hier ist das Protonenspektrum des Dimethylnitrosaminmoleküls zu sehen. Die beiden Methylgruppen haben unterschiedliche Umgebung (Distanz zum Sauerstoff) und dementsprechend unterschiedliche Resonanzfrequenzen. Das Molekül kann

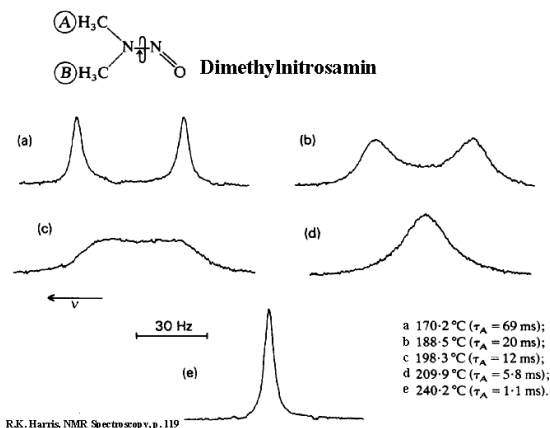


Abbildung 5.15: Spektren von Dimethyl-Nitrosamin als Funktion der Temperatur: Übergang vom langsamen zum schnellen Austausch.

jedoch in der flüssigen Phase eine interne Rotation um die N-N-Achse ausführen, welche die beiden Methylgruppen ineinander überführt. Bei niedriger Temperatur ist dieser Austausch sehr langsam und die beiden Methylgruppen sind 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. Die relevante Zeitskala wird somit durch die Frequenzdifferenz zwischen den beiden Resonanzlinien bestimmt.

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 Aus-



tausch teilnehmen, wird es sehr viel schwieriger.

### 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. Damit ist es sehr viel breiter als bei der Messung über das 1D Spektrum. Außerdem ist es sehr viel einfacher, die Austauschpartner zu identifizieren.

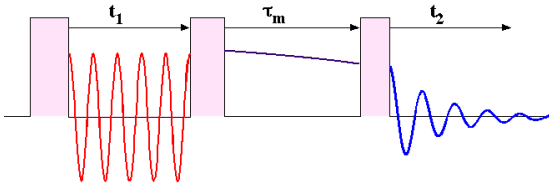


Abbildung 5.16: Prinzip der 2D Austauschspektroskopie

Figur 5.16 zeigt die verwendete Pulssequenz. Der erste Puls, angewendet auf das System im Gleichgewicht, erzeugt aus der longitudinalen Magnetisierung transversale Magnetisierung, z.B.

$$I_z \rightarrow I_x.$$

Während der anschließenden freien Präzessionszeit entwickelt sich der Zustand des Systems zu

$$\rho(t_1) = I_x \cos(\omega_A t_1) - I_y \sin(\omega_A t_1).$$

Durch den zweiten Puls wird eine Komponente davon entlang der  $z$ -Achse gespeichert, z.B.

$$\rho(t_1, 0) = I_z \cos(\omega_A t_1) - I_y \sin(\omega_A t_1).$$

Die Mischzeit  $\tau_m$  wird so lang gewählt, dass die transversale Komponente zerfällt. Gleichzeitig kann

während der Mischzeit ein Austausch von Magnetisierung oder eine chemische Umwandlung stattfinden. Wenn z.B. ein Teil  $\eta$  der Moleküle sich so verändert, dass die Resonanzfrequenz am Schluss nicht mehr  $\omega_A$ , sondern  $\omega_B$  ist, so können wir den Zustand am Ende der Mischzeit schreiben als

$$\rho(t_1, \tau_M) = ((1 - \eta)I_z^A + \eta I_z^B) \cos(\omega_A t_1).$$

Durch den dritten Puls wird daraus wieder transversale Magnetisierung,

$$\rho(t_1, \tau_M, 0) = ((1 - \eta)I_x^A + \eta I_x^B) \cos(\omega_A t_1),$$

welche sich während der Detektionszeit entwickelt:

$$\begin{aligned} \rho(t_1, \tau_M, t_2) = & \cos(\omega_A t_1) \\ & [(1 - \eta)I_x^A \cos(\omega_A t_2) + (1 - \eta)I_y^A \sin(\omega_A t_2) \\ & + \eta I_x^B \cos(\omega_B t_2) + \eta I_y^B \sin(\omega_B t_2)]. \end{aligned}$$

Für diesen einfachen Fall erwarten wir somit, dass im 2D Spektrum eine Resonanzlinie bei den Frequenzen ( $\omega_1 = \omega_A, \omega_2 = \omega_A$ ) und eine bei ( $\omega_1 = \omega_A, \omega_2 = \omega_B$ ) auftaucht. Die erste Linie gehört zu denjenigen Molekülen, die sich während der Mischzeit nicht verändert haben, die zweite zu denjenigen, die sich geändert haben. Das Amplitudenverhältnis  $\eta/(1 - \eta)$  gibt an, wie groß der Anteil der Moleküle ist, welche ihren Zustand gewechselt haben.

### 5.2.5 Beispiel : DMF

Als einfaches 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. Das Dimethylformamid dient hier als stark vereinfachtes Modellsystem. Es zeigt eine behinderte Rotation, deren Rate in der Nähe der Raumtemperatur etwa einmal pro Sekunde beträgt.

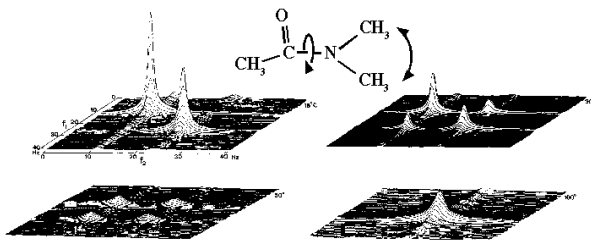


Abbildung 5.17: 2D Austauschspektren von Dimethylformamid.

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 ( $\omega_1 = \omega_2$ ) 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 inversen Frequenzdifferenz,  $\Delta\omega\tau \ll 1$ , 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.

Weitere Beispiele und eine detailliertere Auswertung werden wir im Kapitel "Biomoleküle" diskutieren.

### 5.2.6 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.

Ein Mechanismus dafür ist die so genannte Spindiffusion, ein Prozess der durch den B-Term des Dipol-

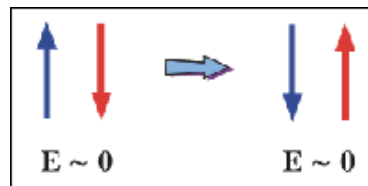


Abbildung 5.18: Polarisationsaustausch von 2 Spins.

alphabetisch getrieben wird:

$$\mathcal{H}_{dd}^B = -\omega_d \frac{1 - 3 \cos^2 \theta}{4} (I_{1+} I_{2-} + I_{1-} I_{2+}).$$

Dieser Operator entspricht einem gleichzeitigen, entgegengesetzten Umklappen 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  $10^{-10}$  m. 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  $\delta$ , über welche dieser Prozess effektiv ist, kann abgeschätzt werden als

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

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

### 5.2.7 Anwendungsbeispiel

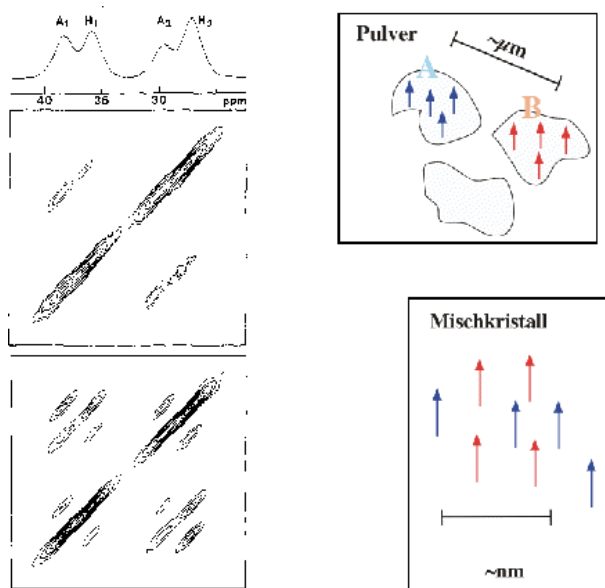


Abbildung 5.19: Austauschspektren einer Mischung aus Adamantan und Hexamethylbenzol. Oben: Pulvermischung, unten Mischkristalle.

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  $^{13}\text{C}$  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.

### 5.2.8 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. Es ist damit eng verwandt mit dem oben beschriebenen Spindiffusionsexperiment. Allerdings handelt es sich hier um ein Experiment an Molekülen in Flüssigkeiten. In diesen bewegen sich die Moleküle und die molekulare Bewegung kann Energie mit den Spins austauschen. Dadurch werden auch Prozesse möglich, bei denen die Spin-Energie nicht erhalten bleibt.

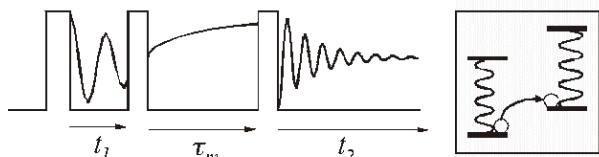


Abbildung 5.20: Pulsfolge für das NOESY Experiment. Alle drei Pulse sind  $\pi/2$  Pulse.

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:

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

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  $\tau_m$  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

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

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

$$\begin{aligned} \rho(t_1, \tau_m) = & -A_z [(1 - \eta) \cos(\omega_A t_1) + \eta \cos(\omega_X t_1)] \\ & - X_z [(1 - \eta) \cos(\omega_X t_1) + \eta \cos(\omega_A t_1)]. \end{aligned}$$

Der dritte Puls erzeugt daraus

$$\begin{aligned} \rho(t_1, \tau_m, 0) = & -A_y [(1 - \eta) \cos(\omega_A t_1) + \eta \cos(\omega_X t_1)] \\ & - X_y [(1 - \eta) \cos(\omega_X t_1) + \eta \cos(\omega_A t_1)]. \end{aligned}$$

Dieser Zustand präzediert während der Detektionszeit 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.

### 5.2.9 Signale

Wir erhalten somit insgesamt vier Linien:

$\omega_1$	$\omega_2$	Amplitude
$\omega_A$	$\omega_A$	$1 - \eta$
$\omega_A$	$\omega_X$	$\eta$
$\omega_X$	$\omega_A$	$\eta$
$\omega_X$	$\omega_X$	$1 - \eta$

Der Koeffizient  $\eta$  gibt an, wie viel Austausch stattgefunden hat. Die Linien auf der Diagonalen ( $\omega_1 = \omega_2$ ) haben die Amplitude  $1 - \eta$ , d.h. sie besitzen die maximale Amplitude wenn kein Austausch stattfindet ( $\eta = 0$ ), während die Außerdiagonalpeaks ( $\omega_1 \neq \omega_2$ ) erst für  $\eta > 0$  erscheinen.

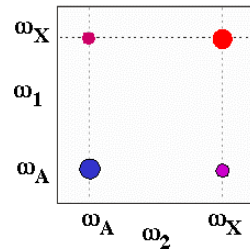


Abbildung 5.21: Resonanzlinien im NOESY Spektrum

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  $k \propto d^{-6}$ .

### 5.2.10 Austauschmechanismen

Während der Mischzeit ist der Dichteoperator diagonal in der Eigenbasis des Hamiltonoperators, d.h. nur die Populationen der Zustände spielen eine Rolle. Der Austauschprozess kann deshalb auch als Übertragung von Population zwischen unterschiedlichen Spinzuständen verstanden werden.

Voraussetzung ist immer die Existenz einer Dipolkopplung zwischen den beteiligten Kernspins. Der Betrag der Kopplungskonstante  $\omega_d$  bestimmt, wie schnell der Austausch abläuft, während die Operatoren bestimmen, zwischen welchen Zuständen der Austausch stattfindet.

Im Fall des NOESY Experimentes können zwei Terme im Dipoloperator den Austausch treiben. In der üblichen Schreibweise des Dipoloperators (Dipolalphabet) handelt es sich um den "B-Term"  $A_+X_- + A_-X_+$  (Nullquantenterm, flip-flop Term) und den E- und F-Term  $A_+X_+ + A_-X_-$  (Doppelquantenterm, flop-flop Term). Die dazugehörigen Raten erhält man 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. Hier stellt  $\mathcal{H}_1$  den Störoperator dar, in diesem Fall somit einen Term des Dipoloperators, und  $|i\rangle$  und  $|j\rangle$  sind die Eigenzustände des Hamiltonoperators, zwischen denen der Austausch stattfindet.

Die spektrale Leistungsdichte  $J(\omega)$  gibt an, wieviel Bewegungsenergie im entsprechenden Frequenzband von der molekularen Bewegung zur Verfügung

steht. Mathematisch erhält man die spektrale Leistungsdichte aus der Fouriertransformierten der Autokorrelationsfunktion,

$$J(\omega) = 2 \int_0^\infty G(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau.$$

Hier stellt  $G(\tau)$  die Autokorrelationsfunktion

$$G(\tau) = \langle A(0)A(\tau) \rangle$$

der Kopplungsstärke  $A$  dar. Bei Molekülen in Flüssigkeit kann die Kopplungsstärke durch molekulare Reorientierung (d.h. über die Winkel  $\theta, \phi$  variieren, oder über den Abstand  $r$ . Je schneller die molekularen Bewegungsprozesse sind, desto schneller zerfällt die Korrelationsfunktion. In vielen Fällen kann sie durch eine Exponentialfunktion

$$G(\tau) = \langle A(0)^2 \rangle e^{-\tau/\tau_c}$$

dargestellt werden. Die Zeitkonstante  $\tau_c$  wird als Korrelationszeit bezeichnet.

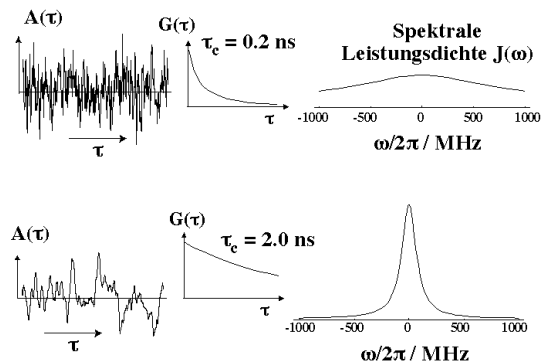


Abbildung 5.22: Fluktuation der Kopplungskonstanten (links), Korrelationsfunktion (Mitte) und spektrale Leistungsdichte (rechts) für schnelle Bewegungsprozesse (oben), resp. langsame (unten).

Eine schnelle Bewegung führt zu einem schnellen Abfall der Korrelationszeit (d.h. das Molekül "vergisst" schnell seine frühere Orientierung) und deshalb nach der Fouriertransformation zu einer breiten Verteilung der spektralen Leistungsdichte. Eine langsame Bewegung führt entsprechend zu einer

schmalen Verteilung der Leistungsdichte. Für eine exponentielle Korrelationsfunktion ist die spektrale Leistungsdichte eine lorentzförmige Verteilung, mit einer Breite  $\sim 1/\tau_c$ .

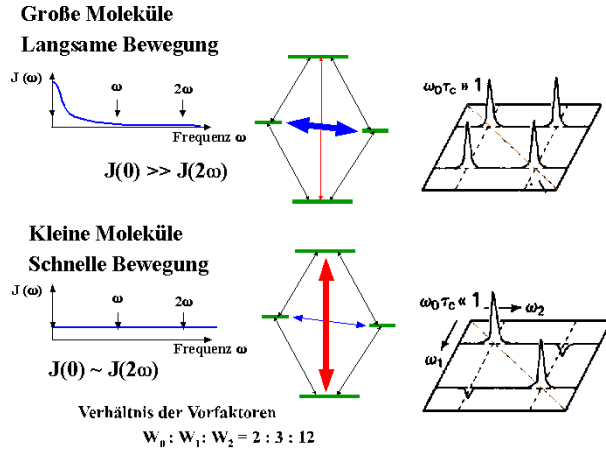


Abbildung 5.23: Vorzeichen der Kreuzpeaks: bei großen Molekülen sind die Kreuzpeaks positiv, bei kleinen negativ.

Bei großen Molekülen mit entsprechend langen Korrelationszeiten ist die spektrale Leistungsdichte bei der Frequenz 0 deutlich höher als bei  $2\omega$ , 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.

### 5.2.11 Zeitabhängigkeit

Die Austauschamplitude  $\eta$  ist abhängig von der Mischzeit  $\tau_m$ . 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. Diese Form gilt für den Fall, dass der Nullquantenprozess dominiert; dominiert der Doppelquantenprozess, so wechselt das Vorzeichen:

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

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

Die beobachtete Zeitabhängigkeit enthält somit zwei Raten, resp. Zeitkonstanten.

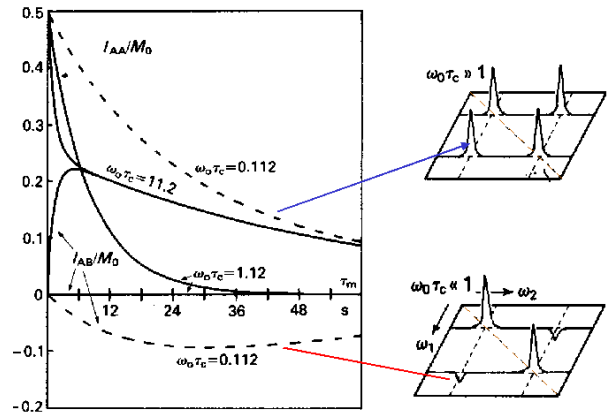


Abbildung 5.24: Amplitude von Kreuz- und Diagonalpeaks als Funktion der Mischzeit.

Der Austauschprozess führt mit der Rate  $k$  zum Aufbau der Kreuzpeaks und gleichzeitig zu einer Reduktion der Diagonalpeaks - dieser Prozess dominiert z.B. in Figur 5.24. 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.

In Figur 5.25 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



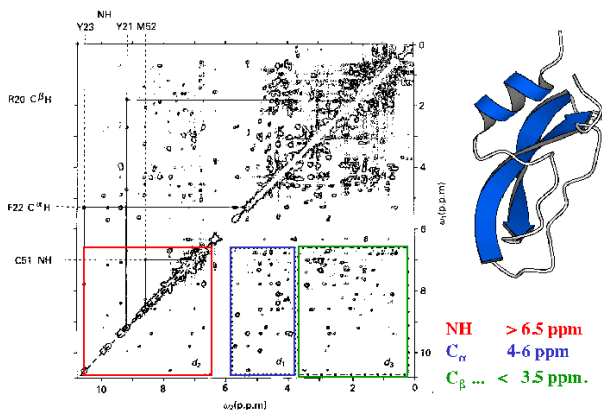


Abbildung 5.25: NOESY Spektrum von BPTI.

die Bereiche an, in denen die wichtigsten Kreuzpeaks für die Zuordnung liegen: Die Amidprotonen NH liegen im Bereich  $> 6.5$  ppm, die  $C_\alpha$  Protonen im Bereich 4-6 ppm und die  $C_\beta$  Protonen unterhalb 3.5 ppm. Die Rechtecke bezeichnen somit den Austausch NH-NH, NH- $C_\alpha$  und NH- $C_\beta$ .

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 Kopplungen in NMR Spektren

Eine weitere 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. Während im NOESY Experiment Dipolkopplungen gemessen werden (und damit räumliche Distanzen), welche im Spektrum nicht sichtbar sind, werden beim COSY Experiment skalare Spin-Spin Kopplungen, welche im Spektrum zu Aufspaltungen führen, verwendet, um zu klären, zwischen welchen Kernen chemische Bindungen bestehen.

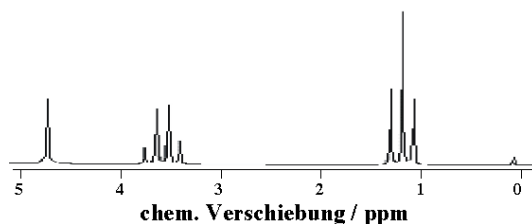
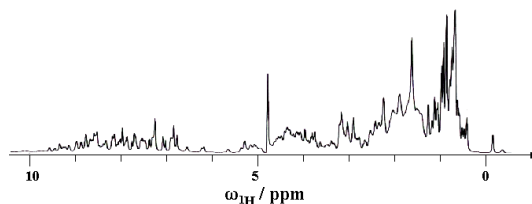


Abbildung 5.26:  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von Ethanol. Die Kopplung zwischen der  $\text{CH}_2$ -Gruppe bei 3,5 ppm und der  $\text{CH}_3$ -Gruppe bei 1,1 ppm ist klar erkennbar.

Bei einfachen Spektren kann man die Kopplung im Spektrum direkt erkennen und die Kopplungspartner einander zuordnen. Im Beispiel von Ethanol besteht eine Kopplung zwischen den Protonen der  $\text{CH}_2$ - und der  $\text{CH}_3$ -Gruppe. Das zeigt sich dadurch, dass die Linien um den gleichen Betrag aufgespalten sind und die Anzahl der Linien durch die Anzahl der Protonen in der anderen Gruppe bestimmt ist: Kerne, die an 3 identische Protonen gekoppelt sind, zeigen ein Quartett mit dem Amplitudenmuster 1:3:3:1. Kerne, die an zwei identische Protonen gebunden sind, werden dagegen im Verhältnis 1:2:1 aufgespalten.

Abbildung 5.27:  $^1\text{H}$ -NMR Spektrum von Ubiquitin.

Betrachtet man dagegen ein Spektrum eines etwas größeren Moleküls, wie z.B. des (relativ kleinen) Proteins Ubiquitin (76 AS, 8564 Da), so wird es schwierig, einzelne Linien zuzuordnen, und Aufspaltungsmuster sind nicht mehr erkennbar.

### 5.3.2 COSY

Im einfachsten Fall verwendet man dafür eine Folge aus zwei RF Pulsen, welche alle Spins anregen. Die Evolutionszeit und die Detektionszeit sind hier nur

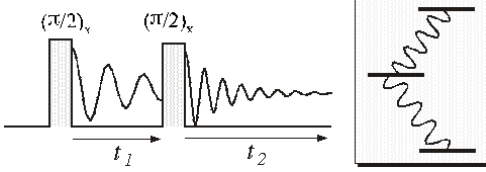


Abbildung 5.28: Pulsfolge für Korrelationsspektroskopie (COSY). Damit erhält man Spektren, in denen gekoppelte Übergänge als Kreuzpeaks sichtbar werden.

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 für die Larmorpräzession

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

und für die Kopplung

$$\begin{aligned} e^{-i2\pi J A_z X_z t} A_x e^{i2\pi J A_z X_z t} &= \\ A_x \cos(\pi J t) + 2A_y X_z \sin(\pi J t), \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} e^{-i2\pi J A_z X_z t} 2A_y X_z e^{i2\pi J A_z X_z t} &= \\ 2A_y X_z \cos(\pi J t) - A_x \sin(\pi J t). \end{aligned}$$

### 5.3.3 Zeitentwicklung

Damit erhalten wir für die Zeitentwicklung während der Evolutionszeit  $t_1$

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

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

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

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

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

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

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

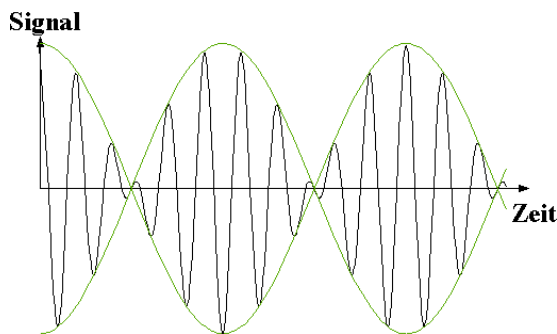


Abbildung 5.29: Signalbeitrag der  $A_y$  Komponente.

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.

### 5.3.4 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

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

$$[(2A_z X_y \cos(\omega_X t_2) + 2A_z X_x \sin(\omega_X t_2)) \cos(\pi J t_1)$$

$$- (X_x \cos(\omega_X t_2) - X_y \sin(\omega_X t_2)) \sin(\pi J t_1)].$$

Mit der Observablen  $X_y$  wird das Signal im Zeitbereich

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

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, welches den Kern enthält.

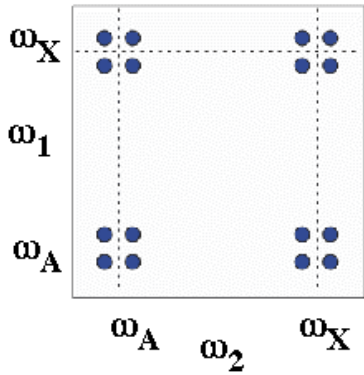


Abbildung 5.30: Resonanzlinien im COSY Spektrum.

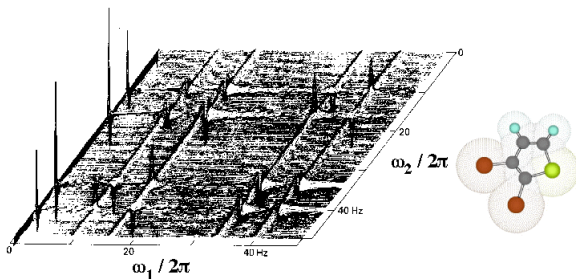


Abbildung 5.31: COSY Spektrum von Dibromthiophen.

### 5.3.5 Beispiele

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. Ihre Phase ist deshalb nicht von  $t_1$  abhängig und ihre Signale erscheinen nach der Fouriertransformation bei  $\omega_1 = 0$ . 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 die-

ser Phase. Subtrahiert man die beiden Experimente, so fallen die Komponenten, die nicht von der Phase abhängen heraus, während die gewünschten Signalbeiträge bleiben.

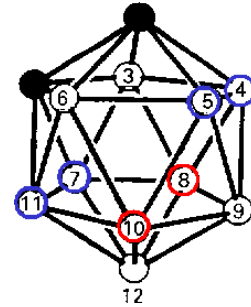


Abbildung 5.32: Struktur von Carboran.

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

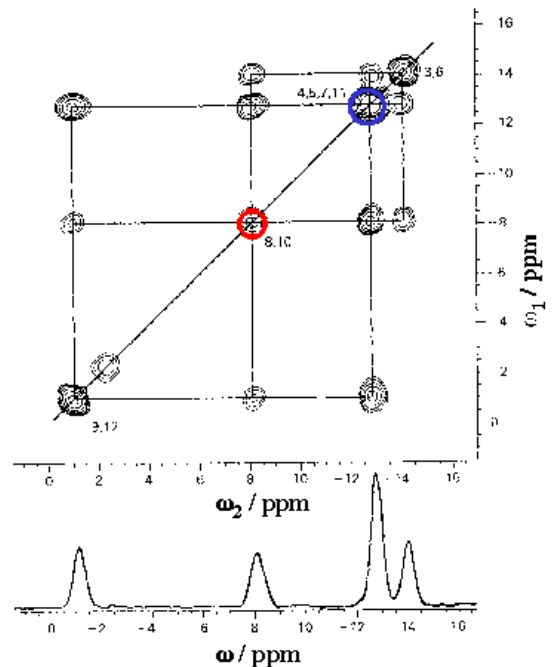


Abbildung 5.33: COSY Spektrum von o-Carboran

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.

### 5.3.6 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.  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ , oder  $^{13}\text{C}$ - $^{15}\text{N}$ . 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, da die Resonanzfrequenzen niedriger sind und teilweise die natürliche Häufigkeit sehr niedrig. Einen Teil der Empfindlichkeit kann man in heteronuklearen 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. Wir diskutieren es anhand eines einfachen Systems von zwei gekoppelten Spins. Der Hamiltonoperator dieses Systems lautet

$$\mathcal{H} = \omega_I I_z + \omega_S S_z + 2\pi J I_z S_z,$$

wobei  $I$  meist für Protonen steht,  $S$  z.B. für  $^{15}\text{N}$ .

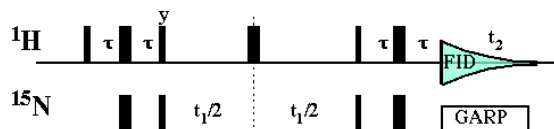


Abbildung 5.34: Pulsprogramm des HSQC Experimentes.

Im ersten Teil des Experiments wird Polarisation von den Protonen auf den Heterokern<sup>1</sup> (meist  $^{15}\text{N}$ , auch  $^{13}\text{C}$ ) übertragen. Nach dem ersten  $\pi/2$ -Puls ist der relevante Teil des Dichteoperators

$$\rho(0) = I_x.$$

Darauf folgt eine freie Evolutionszeit, wobei in der Mitte auf beiden Kernen ein  $\pi$ -Puls angelegt wird. Dieser refokussiert die chemische Verschiebung beider Kerne, lässt aber die Kopplung invariant, da beide Kerne invertiert werden,

$$I_z S_z \rightarrow (-I_z)(-S_z) = I_z S_z.$$

Damit wird aus dem Anfangszustand

$$\rho(2\tau) = I_x \cos(2\pi J \tau) + I_y S_z \sin(2\pi J \tau).$$

Wählt man  $\tau = 1/4J$ , so erhält man

$$\rho(1/2J) = -I_y S_z.$$

Zu diesem Zeitpunkt wird auf beiden Spins jeweils ein  $\pi/2$  Puls angelegt, so dass

$$\rho(1/2J+) = I_z S_y.$$

Dies ist die "Heteronukleare Einquantenkohärenz", welche der Methode den Namen gegeben hat: Der  $S$ -Spin ist als transversale Magnetisierung vorhanden, allerdings in "antiphase" bezüglich des  $I$ -Spins: Die Komponente, welche zum  $-1/2$  Zustand des  $I$ -Spins gehört hat positives Vorzeichen, diejenige, welche zur  $+1/2$  Komponente gehört negatives Vorzeichen.

Man kann dies so verstehen, dass die Magnetisierung in den beiden Übergängen (deren Frequenz

<sup>1</sup>Als Heterokern wird jeder Kern außer  $^1\text{H}$  bezeichnet.

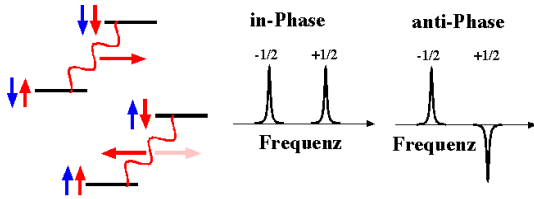


Abbildung 5.35: Anti-Phasen Magnetisierung.

sich um die Kopplungskonstante unterscheidet) unterschiedliches Vorzeichen hat. Würde man diesen Zustand als FID des  $S$ -Spins beobachten, so würde das Signal zuerst verschwinden (da sich die Beiträge der beiden Signalkomponenten auslöschen). Aufgrund der unterschiedlichen Frequenz geraten sie aber nach einer Zeit  $1/2J$  in Phase (als  $S_x$ ) und man erhält ein oszillierendes Signal. Über Fouriertransformation erhält man daraus ein Dublett, dessen Linien entgegengesetztes Vorzeichen besitzen.

Im HSQC Experiment wird dieses Signal jedoch nicht detektiert. Statt dessen lässt man das System frei evolvieren. Der Dichteoperator wird durch den  $I$ -Spin Zeemanterm nicht beeinflusst, aber durch den  $S$ -Spin Zeemanterm und den Kopplungsterm. Der letztere wird durch einen  $\pi$ -Puls auf den  $I$ -Spins in der Mitte der Evolutionszeit refokussiert. Zum Ende der Evolutionszeit ist deshalb der Zustand

$$\rho(t_1) = -I_z S_y \cos(\omega_S t_1) + I_z S_x \sin(\omega_S t_1).$$

Das zweite Paar von  $\pi/2$ -Pulsen erzeugt daraus

$$\rho(t_1+) = -I_y S_z \cos(\omega_S t_1) + I_y S_x \sin(\omega_S t_1).$$

Beim zweiten Term handelt es sich um Null- und Doppeltquantenkohärenz, welche nicht zum beobachtbaren Signal beiträgt; wir betrachten es hier nicht weiter. Der erste Term wird durch die Evolution unter der Kopplung während einer Zeit  $2\tau$  wieder aus anti-Phasen Magnetisierung zu in-Phasen Magnetisierung:

$$\rho(t_1, 0) = I_x \cos(\omega_S t_1).$$

Zu diesem Zeitpunkt beginnt man mit der Datenaufnahme. Während der Messung werden die Stickstoff-

fe entkoppelt (GARP). Die Protonen erhalten deshalb nur ihre Zeemanfrequenz,

$$\begin{aligned} \rho(t_1, t_2) = & I_x \cos(\omega_S t_1) \cos(\omega_I t_2) \\ & + I_y \cos(\omega_S t_1) \sin(\omega_I t_2). \end{aligned}$$

Das Signal enthält somit nur die Larmorfrequenzen der beiden Kerne, jedoch keine Kopplungen (Aufspaltungen). Dies vereinfacht das Spektrum und erhöht die Empfindlichkeit.

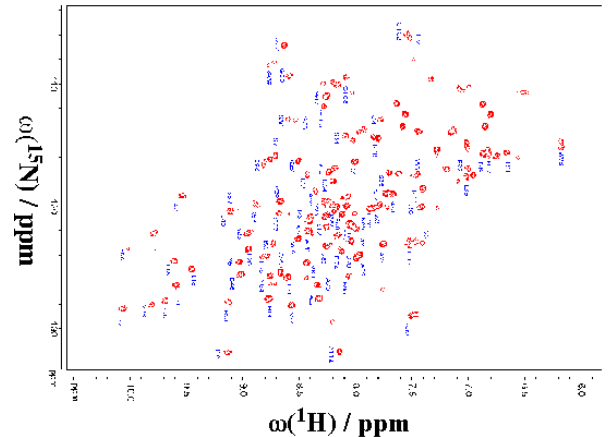


Abbildung 5.36: HSQC Spektrum.

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  $^1\text{H}$  und  $^{15}\text{N}$  übertragen werden. Dies erlaubt eine relativ rasche Zuordnung der einzelnen Aminosäuren und ist Bestandteil von vielen 3D Experimenten.

## 5.4 Multiquanten-NMR

Bisher haben wir Experimente diskutiert, bei denen die Erweiterung auf mehrere Dimensionen in erster Linie genutzt wurde, um mehr (oder genauere, oder leichter verwertbare) Informationen über die



Resonanzen zu erhalten, welche man auch bei den "normalen" eindimensionalen Experimenten beobachten kann. Hier soll nun eine grundsätzlich andere Möglichkeit diskutiert werden: mit Hilfe mehrdimensionaler Experimente können Prozesse oder spektroskopische Übergänge untersucht werden, die mit eindimensionalen Experimenten gar nicht beobachtet werden können. Die zweite Dimension ist hier also nicht einfach eine Wiederholung der ersten Dimension, sie ist eine "neue" Dimension.

### 5.4.1 Multiquanten Übergänge

Normalerweise beobachtet man in der NMR Übergänge, bei denen genau ein Spin seinen Zustand um  $\Delta m = \pm 1$  ändert. Dies sind die einzigen Übergänge, welche direkt beobachtbar sind.

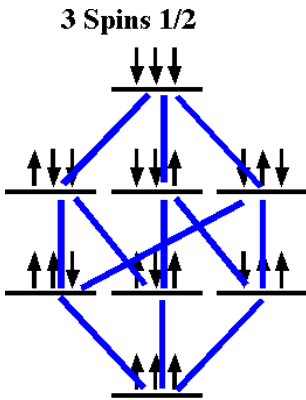


Abbildung 5.37: Erlaubte Übergänge in einem System von 3 Spins 1/2.

Ein Beispiel für erlaubte Übergänge in einem 3-Spin System ist in Abbildung 5.37 dargestellt.



Abbildung 5.38: Spektrum eines 3-Spin Systems.

In diesem Fall sind 12 Übergänge erlaubt: für jeden Spin existieren 4 Übergänge, welche den Zuständen  $|\uparrow\uparrow\rangle$ ,  $|\uparrow\downarrow\rangle$ ,  $|\downarrow\uparrow\rangle$ ,  $|\downarrow\downarrow\rangle$  der beiden anderen Spins zugeordnet werden können.

Insgesamt hat das System aber wesentlich mehr

Übergänge: Das System besitzt insgesamt  $2^3 = 8$  Zustände, zwischen denen

$$\frac{7 \cdot 8}{2} = 28$$

Übergänge stattfinden können.

Das gleiche Resultat erhält man auch wenn man die Elemente des Dichteoperators betrachtet: von den 64 Elementen sind 8 Populationen, es bleiben also 56 Außerdiagonalelemente. Diese entsprechen jeweils 28 Übergängen von unten nach oben und von oben nach unten.

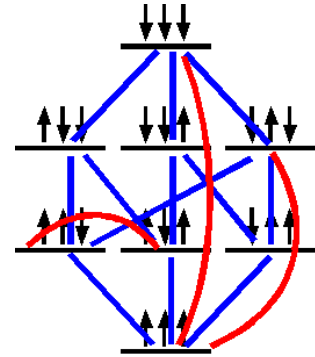


Abbildung 5.39: 3 Beispiele für nicht beobachtbare Übergänge.

Die zusätzlichen 16 Übergänge können jedoch weder direkt angeregt noch beobachtet werden, da das magnetische Dipolmoment, welche für die Kopplung an das Radiofrequenzfeld verantwortlich ist, in diesen Übergängen keine Matrixelemente enthält. Kohärenzen in diesen Übergängen sind deshalb "unsichtbar". Obwohl diese Übergänge nicht an ein magnetisches Dipolmoment koppeln können sie trotzdem angeregt werden, d.h. es ist möglich, Kohärenzen in diesen Übergängen zu erzeugen. Diese auch zu messen ist in unterschiedlichen Zusammenhängen wichtig; es gibt spektroskopische Anwendungen (siehe Ende des Kapitels); in anderen Fällen, wie z.B. in der Quanteninformation, möchte man den gesamten Zustand des Systems kennen, und dies beinhaltet auch die nicht direkt beobachtbaren Übergänge.

Es darf hier nicht der Eindruck entstehen, dass ein Mehrquantenübergang gleich einer Abfolge von

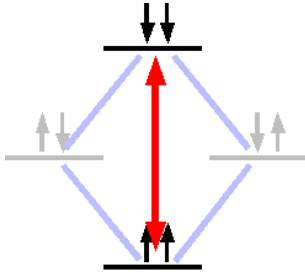


Abbildung 5.40: Eine 2QT ist nicht das gleiche wie 2 1QT !

Einquantenübergängen sei. So absorbieren bei einem 2-Quantenübergang zwei Spins gleichzeitig 2 Photonen. Die Zustände  $|\uparrow\downarrow\rangle$  und  $|\downarrow\uparrow\rangle$ , welche bei aufeinanderfolgenden 1QTs zwischenzeitlich besetzt würden, werden bei einem 2QT nie bevölkert.

### 5.4.2 CW MQ-NMR

Mehrquantenübergänge sind "verboten", d.h. die Matrixelemente des magnetischen Dipoloperators in diesen Übergängen verschwinden. Allerdings können sie in höherer Ordnung Störungsrechnung trotzdem angeregt werden.

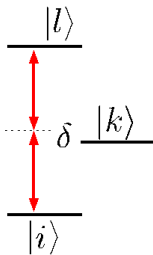


Abbildung 5.41: Anregung eines Mehrquantenübergangs ist in höherer Ordnung Störungsrechnung möglich.

Die Anregungsamplitude ist dabei gegeben durch ein Produkt aus zwei Matrixelementen,

$$\omega_2 \propto \frac{\langle i|\mu|k\rangle\langle k|\mu|l\rangle}{\delta}.$$

Hier stellt  $\delta$  die Differenz zwischen der Energie des Zwischenzustandes  $|k\rangle$  und dem virtuellen Zwischenzustand dar, dessen Energie durch den Mittelwert der Energien von  $|i\rangle$  und  $|l\rangle$  gegeben ist. Da die

beiden Matrixelemente im Zähler meist kleiner sind als das im Nenner spielen diese Übergänge erst bei starken RF-Feldern eine Rolle.

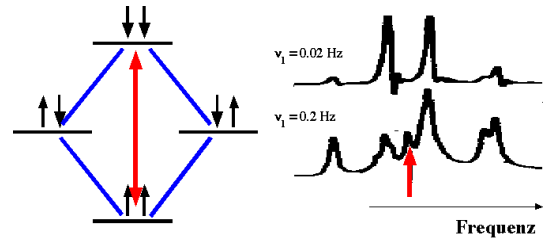


Abbildung 5.42: Anregung von Doppelquantenübergängen bei hoher Leistung.

Erste Messungen wurden von Anderson et al. durchgeführt (Anderson et al., J. Chem. Phys. 39 1518–1531 (1963)). Im oberen (Teil-)spektrum sieht man die 4 Linien eines AB-Spinsystems, welche mit niedriger Leistung gemessen wurden. Erhöht man die Leistung, so erhält man eine zusätzliche Linie im Zentrum des Spektrums. Die normalen (1QT) Linien werden gleichzeitig durch die höhere RF Feldstärke verbreitert.

### 5.4.3 Zeitaufgelöste MQ-NMR

Heute werden Mehrquanten-NMR Experimente praktisch nur noch mit gepulster Anregung aufgenommen. Da die Mehrquantenübergänge nicht direkt beobachtbar sind, benötigt man dafür eine indirekte Detektionsmethode, d.h. ein zweidimensionales Experiment.

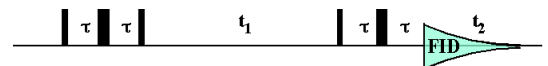


Abbildung 5.43: Pulssequenz für Multiquanten-NMR.

Wir betrachten dafür ein einfaches Zweispinsystem,

$$\mathcal{H} = \omega_I I_z + \omega_S S_z + 2\pi J I_z S_z.$$

Der erste  $\pi/2$ -Puls erzeugt aus dem Gleichgewicht den Zustand

$$\rho(0) = I_x + S_x.$$

Während der darauf folgenden Zeit entwickelt sich das System unter dem Hamiltonoperator  $\mathcal{H}$ . Dabei refokussiert der  $\pi$ -Puls die Zeeman-Wechselwirkung, lässt aber die Kopplung unverändert, so dass der Propagator als

$$U(2\tau) = e^{-4\pi\tau i I_z S_z}$$

geschrieben werden kann. Wird die Zeit  $\tau$  geeignet gewählt ( $\tau = 1/4J$ ), so ist der Zustand danach

$$\rho(2\tau) = I_y S_z + S_y I_z.$$

Der zweite  $\pi/2$ -Puls ist wiederum ein y-Puls, so dass

$$\rho(2\tau, 0) = I_y S_x + I_x S_y.$$

Dieser Zustand kann mit Hilfe von

$$I_x = \frac{1}{2}(I_+ + I_-) \quad I_y = \frac{i}{2}(-I_+ + I_-)$$

auch geschrieben werden als

$$\rho(2\tau, 0) = \frac{i}{2}[-I_+ S_+ + I_- S_-].$$

Dieser Operator beschreibt eine Kohärenz zwischen den beiden Zuständen  $|\uparrow\uparrow\rangle$  und  $|\downarrow\downarrow\rangle$ , also eine reine Doppelquantenkohärenz.

Während der folgenden Evolutionszeit  $t_1$  entwickelt sich dieser Zustand unter dem Einfluss des Hamiltonoperators. Dabei spielt der Kopplungsterm keine Rolle, der Endzustand ist

$$\begin{aligned} \rho(2\tau, t_1) &= \frac{i}{2}[-I_+ S_+ e^{-i(\omega_I + \omega_S)t_1} \\ &\quad + I_- S_- e^{i(\omega_I + \omega_S)t_1}] \\ &= (I_y S_x + I_x S_y) \cos(\omega_I + \omega_S)t_1 \\ &\quad + (I_x S_x + I_y S_y) \sin(\omega_I + \omega_S)t_1. \end{aligned}$$

Die Evolutionszeit wird durch einen weiteren  $(\pi/2)_y$ -Puls abgeschlossen. Danach ist der Zustand

$$\begin{aligned} \rho(2\tau, t_1) &= (I_y S_z + I_z S_y) \cos(\omega_I + \omega_S)t_1 \\ &\quad + (I_z S_z + I_y S_y) \sin(\omega_I + \omega_S)t_1. \end{aligned}$$

Der Term  $I_z S_z$  stellt hier Populationen dar, der Term  $I_y S_y$  enthält 0- und 2-Quantenkohärenzen. Beide sind somit nicht beobachtbar. Der Term  $(I_y S_z + I_z S_y)$  stellt Antiphasenmagnetisierung dar, welche durch die darauf folgende Verzögerungszeit der Länge  $2\tau$  wieder in beobachtbare Magnetisierung umgewandelt wird. Der  $\pi$ -Puls dient wiederum der Refokussierung der Zeeman-Wechselwirkung.

Wie in der 2D-NMR üblich, misst man einen 2D-Datensatz. Nach der 2D-FFT findet man in der  $\omega_2$ -Richtung das normale Spektrum, in  $\omega_1$ -Richtung das Mehrquantenspektrum. In unserem idealisierten Beispiel wurde hier nur der Zweiquantenübergang bei der Frequenz  $\omega_I + \omega_S$  angeregt.

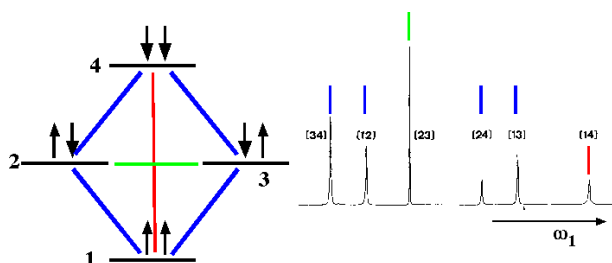


Abbildung 5.44: Mehrquantenspektrum eines Zweispinsystems. Es ist nur die indirekte Dimension dargestellt.

Allgemein kann man hier sämtliche möglichen Übergänge des Systems beobachten. In diesem Zweispinsystem wären dies zusätzlich die 4 Einquantenübergänge und der Nullquantenübergang. Bei der Bestimmung der Resonanzfrequenzen ist zu beachten, dass die Energien  $E_i$  im Laborsystem dargestellt sind, während die beobachteten Frequenzen  $\omega_{ij}$  im rotierenden Koordinatensystem dargestellt werden. Für Übergänge unterschiedlicher Quantenordnung  $\Delta m$  gilt

$$\omega_{ij} = \frac{E_j - E_i}{\hbar} - \Delta m \omega_{rf}.$$

#### 5.4.4 Beispiel

Als Beispiel betrachten wir das Spektrum von Di-Brom-Essigsäure.

Die 3 Protonen von Di-Brom-Essigsäure haben unterschiedliche chemische Verschiebungen und sind

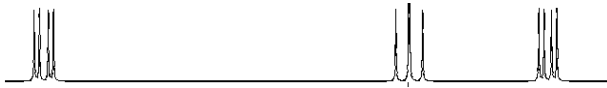


Abbildung 5.45: 1D NMR Spektrum von Di-Brom-Essigsäure (gerechnet).

über paarweise Kopplungen aneinander gekoppelt. Wir finden deshalb im normalen 1D-Spektrum drei Gruppen mit je vier Linien (jede der Resonanzlinien der drei Kerne ist durch die beiden Wechselwirkungen jeweils 2 mal aufgespalten).

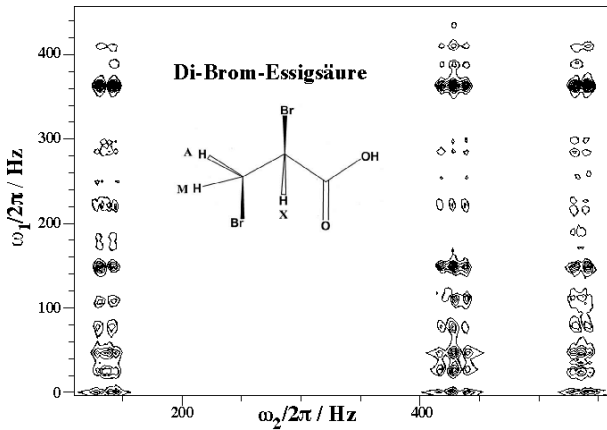


Abbildung 5.46: <sup>1</sup>H-MQT-NMR Spektrum vom Di-Brom-Essigsäure.

Im Mehrquantenspektrum findet man bei jeder der Linien im 1D Spektrum praktisch alle Linien des Mehrquantenspektrums. Es können insgesamt

$$n = \frac{N(N-1)}{2}$$

Linien auftreten, wobei  $N = 2^3 = 8$  die Anzahl der Zustände darstellt. Von den 28 möglichen Linien findet man nicht alle, da die Auflösung nicht hoch genug ist.

Interessiert man sich nicht für alle Linien oder ist das Spektrum zu voll, so gibt es die Möglichkeit, nur Spektren mit einer bestimmten Quantenzahl  $\Delta m$  aufzunehmen.

Dafür wird ein "Phasenzyklus verwendet, d.h. man wiederholt das Experiment mehrmals, wobei die Phase der RF Pulse in der Präparationszeit um einen

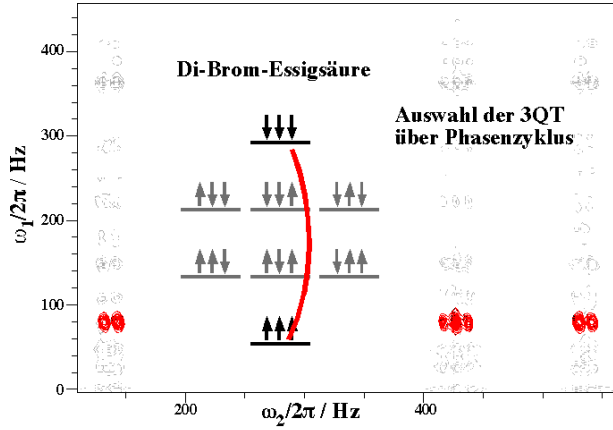


Abbildung 5.47: Reines 3-Quanten Spektrum.

Betrag  $\varphi$  verschoben wird. Die Kohärenzen der Ordnung  $\Delta m$  erhalten dann jeweils einen Phasenfaktor  $\Delta m \cdot \varphi$  und können so unterschieden werden.

### 5.4.5 Komplexität der Spektren

Mehrquantenspektren werden aus sehr unterschiedlichen Gründen eingesetzt. Vielleicht der einfachste Grund ist die Vereinfachung von Spektren. So ist in einem System aus  $N$  Spins  $1/2$  jeweils der Übergang mit der maximalen Quantenzahl  $\Delta m = N$  nicht entartet und nicht aufgespalten: es existiert nur ein Übergang

$$|\uparrow\uparrow \dots \uparrow\rangle \leftrightarrow |\downarrow\downarrow \dots \downarrow\rangle$$

zwischen dem niedrigsten (nicht entarteten) Zustand und dem höchsten (ebenfalls nicht entartet).

Figur 5.48 zeigt ein Beispiel eines Mehrquantenspektrums: hier handelt es sich um die 6 Protonen eines <sup>1</sup>H NMR Spektrums von Benzol in einem Flüssigkristall. Bei den niedrigen Quantenzahlen sieht man eine große Zahl von Übergängen, bei 5 Quanten nur noch 2, bei 6 Quanten nur noch einen.

### 5.4.6 Mehrquantenfilter

Ein ähnliche Anwendung ist die Verwendung von Multiquanten-Übergängen, um bestimmte Moleküle

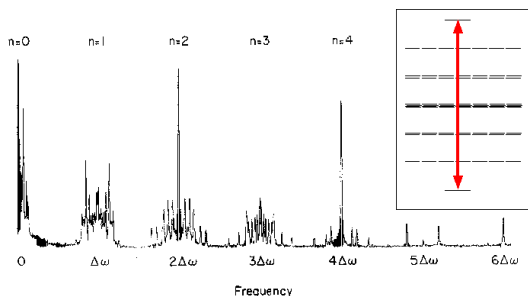


Abbildung 5.48:  $^1\text{H}$ -NMR Mehrquantenspektrum von Benzol in einem Flüssigkristall.

zu selektieren. Ein klassisches Beispiel ist das INADEQUATE Experiment: man misst ein vereinfachtes Mehrquantenspektrum, betrachtet aber nur das 1D Spektrum als Funktion von  $\omega_2$ , d.h. der Detektionsfrequenz, bei der Frequenz des Doppelquantenübergangs. Zu diesem Spektrum tragen offenbar nur Moleküle bei, welche zwei gekoppelte Spins enthalten.

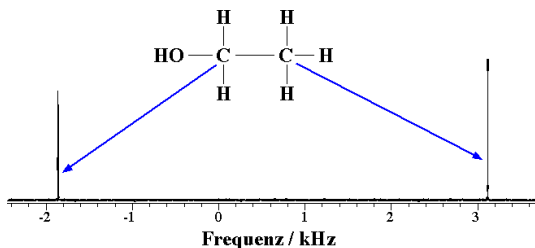


Abbildung 5.49:  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrum von Ethanol.

Das Spektrum in Figur 5.49 zeigt das normale 1D  $^{13}\text{C}$  NMR Spektrum von Ethanol. Die beiden Linien entsprechen den beiden Kohlenstoffatomen. Da  $^{13}\text{C}$  nur in ca. 1% natürlicher Häufigkeit vorhanden ist, enthalten die meisten Moleküle nur jeweils einen  $^{13}\text{C}$  Spin - die linke Linie gehört zur  $\text{CH}_2$ -Gruppe, die rechte zur  $\text{CH}_3$ -Gruppe.

Eine genauere Messung zeigt, dass in der Nähe jeder Linie jeweils noch 2 "Satelliten" auftreten. Diese Linien stammen von Molekülen, welche 2  $^{13}\text{C}$ -Kerne enthalten; diese sind über eine  $J$ -Kopplung aneinander gekoppelt. Sie machen einen Anteil von rund  $10^{-4}$  aller Moleküle in der Probe aus. Wegen der geringeren Häufigkeit und der Aufspaltung der Linie

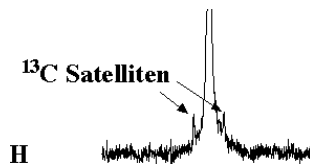


Abbildung 5.50:  $^{13}\text{C}$  Satelliten der rechten Linie ( $\text{CH}_3$ -Gruppe).

sind diese Satelliten etwa einen Faktor 200 kleiner als die Zentrallinie.

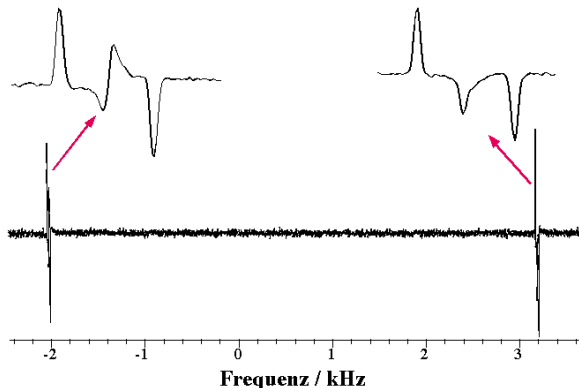


Abbildung 5.51: INADEQUATE Spektrum des Ethanols.

Betrachtet man anstelle des 1D Spektrums das INADEQUATE Spektrum, so wird die Zentrallinie stark unterdrückt; sie ist in diesen Spektren um rund einen Faktor 200 kleiner geworden, so dass die Satelliten deutlich besser sichtbar werden. Bei diesem Experiment misst man praktisch eine Zeile des 2-Quantenspektrums, welche dem Doppelquantenübergang entspricht. Da nur Moleküle hier beitragen können, welche 2  $^{13}\text{C}$  Kerne enthalten, werden die übrigen sehr effektiv unterdrückt.

Mehrquantenspektren können auch dazu benutzt werden, Linien in Spektren zuzuordnen, ähnlich wie COSY Spektren.

### 5.4.7 Zählen von Spins

Mehrquantenexperiment in Festkörpern können dazu verwendet werden, die Größe von "Clustern" zu bestimmen, also von Gruppen von räumlich benachbarten und damit gekoppelten Spins. Die Grundla-

ge dafür ist relativ einfach: die Größe des Cluster bestimmt die Zahl der möglichen Zustände und die maximale Quantenzahl, welche in dem System angeregt werden kann. Eine Messung der Signalamplituden der einzelnen Quantenordnungen kann somit die Größe des Spinsystems bestimmen.

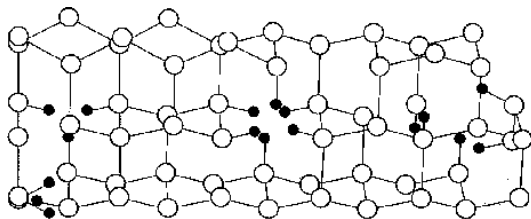


Abbildung 5.52: Wasserstoffatome in Si: bilden sie Cluster ?

Ein Beispiel für ein System, wo sich die Frage nach der Clusterbildung stellt, ist amorphes Silizium. Da es amorph ist, enthält es viele Fehlstellen, wie z.B. Leerstellen. Es kann erhebliche Mengen an Wasserstoff binden kann, welche vermutlich in der Nähe der Fehlstellen akkumulieren. Es gibt Modelle, welche voraussagen, dass die Wasserstoffatome dabei Cluster bilden.

Um diese Modelle zu testen, kann man MQ-NMR messen. Dabei erzeugt man Mehrquantenkohärenz, aber praktisch nur um sie sogleich wieder zurück zu transformieren und nachzuweisen. Man bestimmt damit lediglich die Amplitude der erzeugten Mehrquantenkohärenz, ihre Präzessionsfrequenz ist nicht relevant.

Wie oben gezeigt benötigt man eine Zeit  $\tau$  in der Größenordnung von  $\tau \approx 1/J$ , um Mehrquantenkohärenzen zwischen Spins zu erzeugen, welche durch eine Kopplung mit Stärke  $J$  aneinander gekoppelt sind. Je länger die Zeit ist, die man dem System lässt, um Mehrquantenkohärenzen zu erzeugen, desto schwächere Kopplungen (d.h. größere Distanzen) tragen noch zu den Mehrquantenkohärenzen bei. Trägt man die Systemgröße (d.h. die maximale Quantenzahl) gegen die Zeit auf, so findet man in einem endlichen System, dass dieser Wert gegen einen endlichen Grenzwert strebt (die Anzahl der Spins im System), während sie bei einem unendlichen System ohne Grenzwert beliebig lange ansteigt.

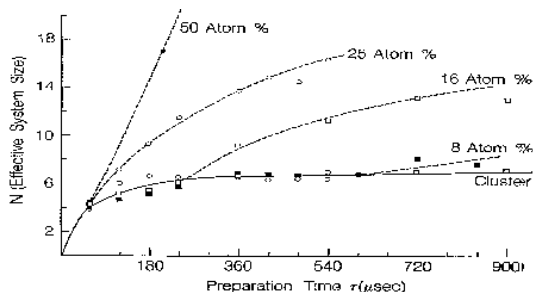


Abbildung 5.53: Effektive Größe des Spinsystems als Funktion der Anregungszeiten für verschiedene Konzentrationen von Wasserstoff in Si.

Im Fall von amorphem Silizium stellt man fest, dass bei kleinen Konzentrationen tatsächlich eine ausgeprägte Tendenz zur Clusterbildung besteht. Bei einer Belegung von 8% Wasserstoff beobachtet man eine Clustergröße von etwa 6 Spins. Bei größeren Belegungen werden die Cluster größer; gleichzeitig sind sie weniger gut isoliert, es gibt keine stationäre Größe mehr für die Clustergröße.

#### 5.4.8 Quadrupol-Kerne

Die letzte Anwendung von MQ-NMR, die hier noch diskutiert werden soll, betrifft Kerne mit  $I > 1/2$  in Festkörpern. Wie bereits diskutiert unterliegen diese der Quadrupolwechselwirkung, d.h. der Wechselwirkung zwischen dem Quadrupolmoment des Kerns und dem elektrischen Feldgradiententensor. Diese Kopplung kann sehr stark sein (im Bereich von kHz - MHz), und sie ist orientierungsabhängig.

Die Wechselwirkung kann nützlich sein, die kann aber auch stören, insbesondere in Pulvern, wo sie zu einer sehr starken Linieverbreiterung führt. Häufig ist dann nur noch der zentrale Übergang  $m = -1/2 \leftrightarrow m' = 1/2$  beobachtbar, welcher in erster Ordnung durch die Quadrupol-Wechselwirkung nicht beeinflusst wird. In 2ter Ordnung Störungsrechnung findet man aber auch auf diesem Übergang einen Einfluss der Quadrupolwechselwirkung.

In Figur 5.55 sind die  $^{87}\text{Rb}$  Spektren eines  $\text{RbClO}_4$  Einkristalls gezeigt, wenn man um drei unterschiedliche Achsen rotiert. Die unterschiedliche Fre-



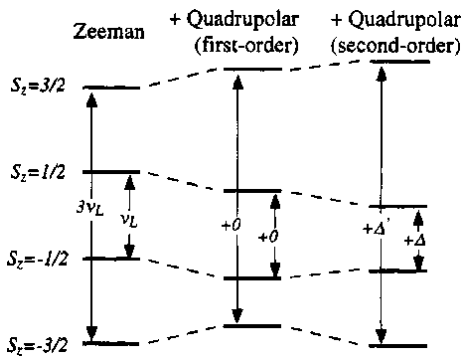


Abbildung 5.54: Quadrupolwechselwirkung bei einem Spin  $I=3/2$ : Effekt in 0ter, 1ter und 2ter Ordnung.

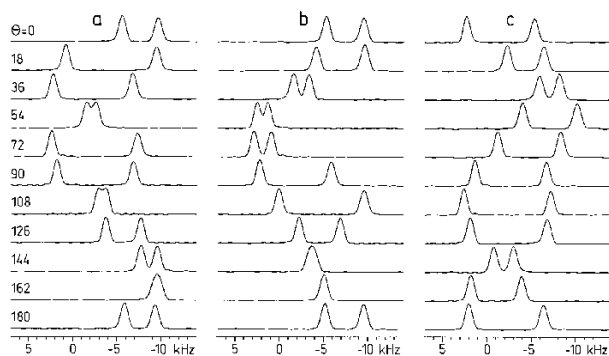


Abbildung 5.55: Rotationsplot eines  $\text{RbNO}_3$  Kristalls. Es sind nur die Zentralübergänge sichtbar.

Die Frequenz ist auf die Abhängigkeit der Quadrupol-Wechselwirkung von der Orientierung des Quadrupolens im Magnetfeld zurückzuführen.

Führt man die gleiche Messung nicht an einem Einkristall, sondern an einem Pulver durch, so entsteht das Signal als Mittelung über alle möglichen Orientierungen; anstelle von mehreren einzelnen Linien erhält man eine breite, gemittelte Linie.

Dies ist generell das gleiche Problem wie bei der anisotropen chemischen Verschiebung; allerdings ist hier die Winkelabhängigkeit etwas anders, da es sich um einen Effekt höherer Ordnung handelt.

Während man bei der anisotropen chemischen Verschiebung die Linienverbreiterung durch Magisch-Winkel-Rotation (MAS) eliminieren kann, ist dies bei der Quadrupolwechselwirkung 2ter Ordnung

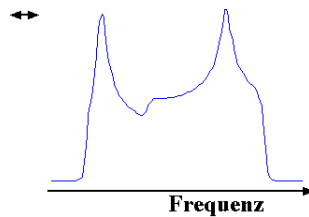


Abbildung 5.56: Pulverspektrum von  $^{87}\text{Rb}$  (gerechnet).

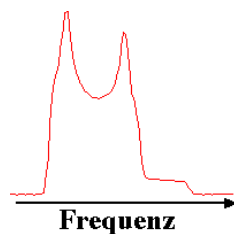


Abbildung 5.57: Pulvermittel der 2-Ordnung Quadrupol-WW unter MAS Bedingungen.

nicht möglich: man erhält auch unter MAS noch eine deutlich verbreiterte Linie.

## 5.4.9 Multiquanten-MAS

Eine Möglichkeit, dieses Problem zu lösen, liegt in der Mehrquanten-NMR: Neben dem  $m = -1/2 \leftrightarrow m' = 1/2$  Übergang wird auch der  $m = -3/2 \leftrightarrow m' = 3/2$  Übergang nur in zweiter Ordnung beeinflusst. Die Orientierungsabhängigkeit für diesen Übergang ist jedoch eine andere als für den 1-Quanten Übergang. Das kann man nutzen: man führt ein zeitaufgelöstes (zweidimensionales) NMR Experiment durch, in dem man die Kohärenz während  $t_1$  im 3-Quanten Übergang lässt, danach in den 1-Quanten Übergang transferiert und dort beobachtet. Damit kann man erreichen, dass zu einem bestimmten Zeitpunkt während der Detektion das Signal für alle Kristallorientierungen zusammenfällt.

In Figur 5.58 ist das so aufgenommene Multiquantenspektrum von  $^{87}\text{Rb}$  dargestellt. Auf der linken Seite ist das 2D Spektrum dargestellt, darüber das normale 1D Spektrum. Rechts davon ist die Projektion des 2D Spektrums auf die isotrope Achse dargestellt: es sind klar 3 Linien erkennbar. Diese gehören

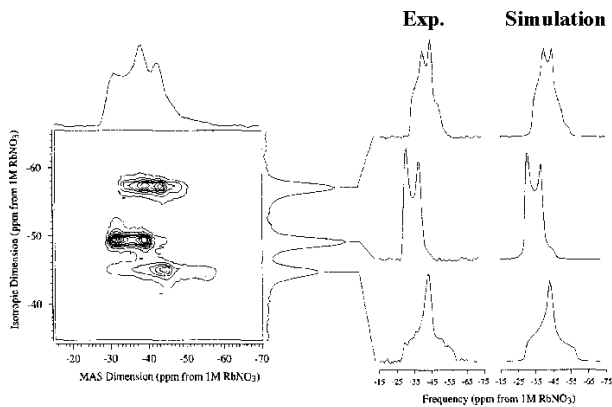


Abbildung 5.58: MQMAS Spektrum von  $^{87}\text{Rb}$ .

zu den drei kristallographisch nicht äquivalenten Positionen in  $^{87}\text{Rb}$ .

Rechts im Bild sind die Pulverspektren dargestellt, welche zu den drei Linien gehören (linke Kolonne Experiment, rechte Seite Theorie). Für die getrennten Linien ist es offenbar möglich, die Linienformen exakt zu berechnen.

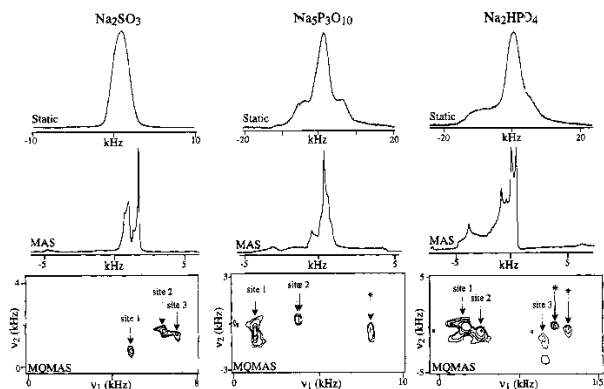


Abbildung 5.59: MQMAS Spektren von  $^{23}\text{Na}$  ( $I=3/2$ ).

Figur 5.59 zeigt ein weiteres Beispiel, diesmal für  $^{23}\text{Na}$ , ebenfalls einen Quadrupolkern mit  $I=3/2$ . Auch in diesem Fall bietet das 1D Spektrum keine verwertbaren Informationen. Im 2D MQMAS Spektrum kann man jedoch klar die einzelnen Sites für die verschiedenen Verbindungen unterscheiden.