

NMR-Grundlagen

Einleitung

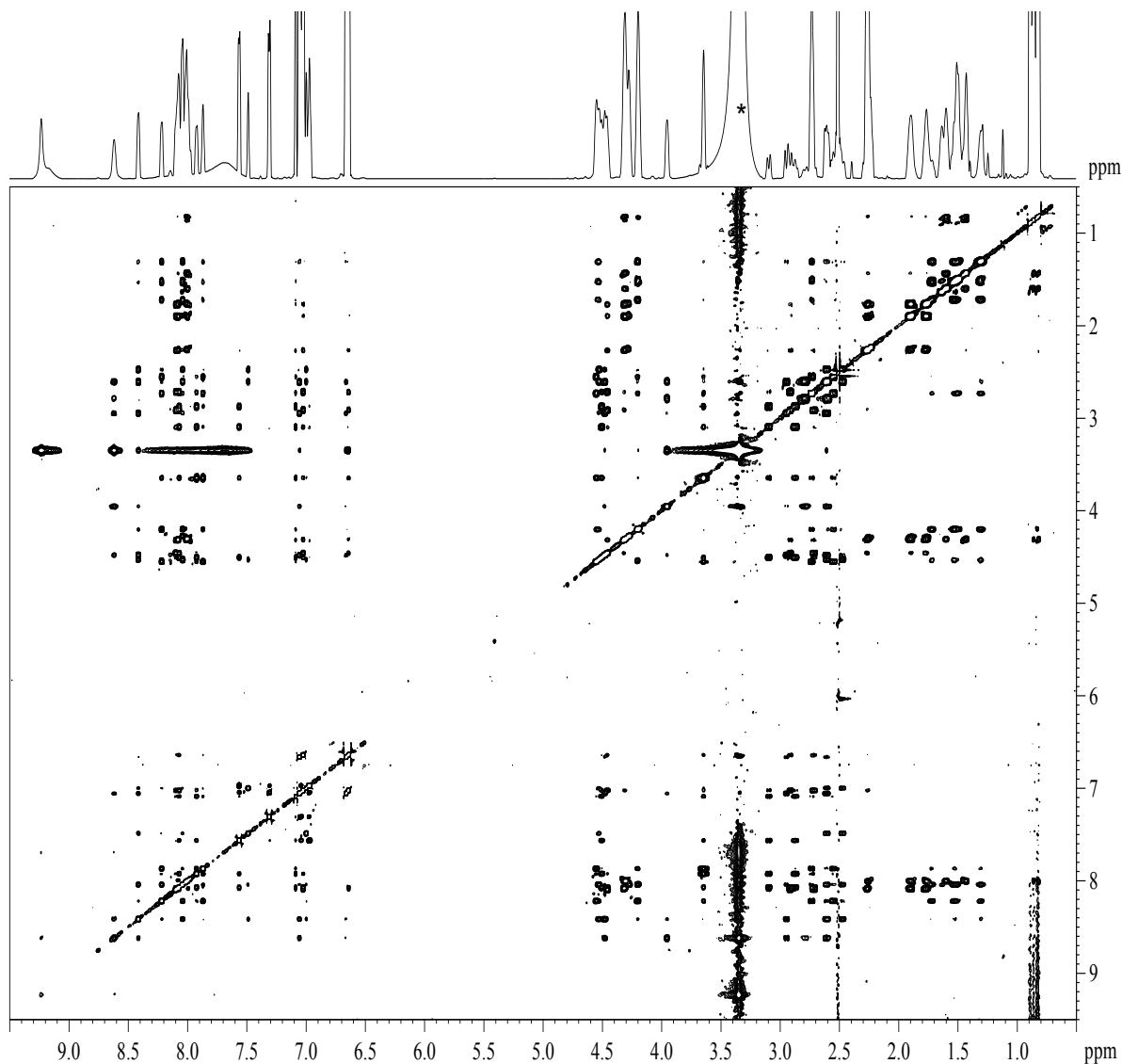


Abbildung 0: NOESY Spektrum eines Peptides, als Projektion ist ein normales $1D-^1H$ -Spektrum gezeigt; der Stern markiert das Signal der Wasserprotonen

Das nachfolgende Kapitel gibt einen ersten Überblick über das weite Feld der NMR Spektroskopie. Zu Beginn wird das Konzept des Kernspins anhand der Experimente von Stern, Gerlach und Rabi eingeführt. Nach einer phänomenologischen Einführung in die Spinquantenmechanik folgt die Vorstellung zweier Modelle mittels derer NMR Experimente verstanden, neu erdacht und die beobachtbaren Parameter analysiert werden können.

Weshalb NMR?

In tabellarischer Form sollen einige der Bereiche, in denen NMR eine Rolle spielt, aufgelistet werden:

- 1.) Analytik: Konstitutionsnachweis und Konformationsanalyse von kleinen und mittelgroßen Molekülen, die synthetisiert und die isoliert wurden.
- 2.) Dynamik: Dynamische Prozesse können im Gleichgewicht und fern ab vom Gleichgewicht untersucht werden. Dabei können sehr unterschiedliche Zeitskalen der Dynamik untersucht werden.
- 3.) Strukturbestimmung von Proteinen, Oligonukleotiden, Komplexen, Polysacchariden
- 4.) Ligand-Protein-Wechselwirkung zur Aufklärung des Mechanismus von Reaktionen, zur Findung von allosterischen Wechselwirkungen, zum Screenen von Liganden
- 5.) Untersuchung von Proteinen in der Zelle
- 6.) Funktionale Untersuchungen am Menschen zum Beispiel zur Untersuchung von Hirnaktivität (fMRI= functional Magnetic Resonance Imaging); Diagnostik z.B. von Krebs.

Viele Grundlagen der magnetischen Resonanzspektroskopie beruhen auf der Quantenmechanik. Diese soll hier nicht im Vordergrund stehen. Stattdessen sollen an einigen Versuchen und uns bekannten Phänomenen die Prinzipien der NMR-Spektroskopie näher gebracht werden, um dann mit den für die Aufklärung von Struktur und Dynamik wichtigen Messgrößen umgehen und sie in ihrer Aussagekraft einschätzen zu können. Die Erklärungen zum Stern-Gerlach-Versuch und zum Rabi-Versuch sind dem Lehrbuch von Feynman (Lectures on Physics, Band II, Kapitel 35) nachempfunden.

Das Stern-Gerlach-Experiment

Der Umstand, dass Elektronen und Kerne einen Eigendrehimpuls besitzen, ist erstaunlich. Die Welt wurde darüber von Frankfurt aus in Atem geschlagen: Stern und Gerlach wiesen 1922 den Eigendrehimpuls von Silberatomen nach. Abbildung 1 zeigt die Versuchsanordnung, die Stern und Gerlach im Physikalischen Institut aufgebaut haben:

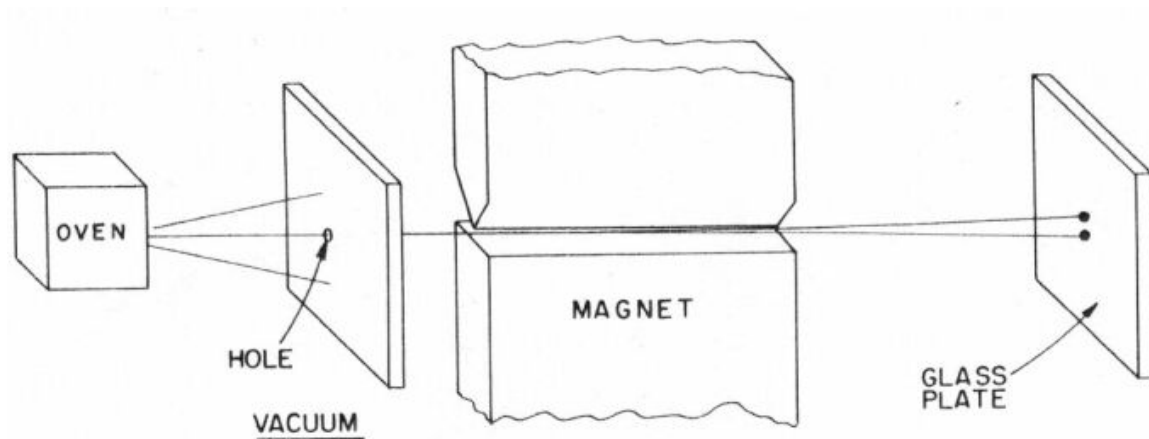


Abbildung 1: Das Experiment von Stern und Gerlach

In dieser Apparatur konnten die magnetischen Momente von Silberatomen gemessen werden. In einem Ofen wurde durch Verdampfung von Silber ein Atomstrahl von Silberatomen erzeugt. Einige dieser Silberatome wurden durch ein Loch herausgelassen. Dieser Strahl von Silberatomen wird dann durch die Pole eines Magneten gelenkt. Wenn ein Silberatom ein magnetisches Moment μ besitzt (mit dem griechischen Buchstaben μ werden Magnete benannt), dann ist die Energie dieses magnetischen Moments klassisch gegeben durch das Produkt des magnetischen Moments μ und der Stärke des Magnetfelds, für eine Richtung z also $-\mu_z B$. Für alle beliebigen Richtungen ergibt sich die Energie ΔE im Magnetfeld zu $\Delta E = -\mu B \cos\theta$, wobei θ den Winkel zwischen dem Magnetfeld und der Orientierung des magnetischen Dipols beschreibt.

Wenn die Atome aus dem Ofen geschleudert werden, dann zeigen sie in alle Richtungen, θ ist also nicht bestimmt. Wenn wir annehmen, dass das Magnetfeld in dem Versuch sehr schnell in der z -Richtung variiert, mit anderen Worten, wenn das Magnetfeld sehr inhomogen ist, dann hängt die magnetische Energie ΔE von der Position des Atoms im Magnetfeld ab. Je nachdem, ob $\cos\theta$ positiv oder negativ ist (also ob θ größer oder kleiner als 90° ist), werden die Atome entweder nach oben oder nach unten gezogen.

Im Versuchsaufbau von Stern und Gerlach wurde ein stark inhomogenes Magnetfeld aufgebaut. Ein Silberatom, dessen magnetischer Dipol genau horizontal zur Richtung der Inhomogenitätslinien eingerichtet ist ($\cos\theta=0$), würde keine Kraft verspüren, ein Atom, das genau vertikal orientiert ist ($\cos\theta = +1$ oder -1), würde nach oben oder nach unten gezogen. Die Atome, die aus dem inhomogenen Magnetfeld herausfliegen, sollten eigentlich gemäß ihrer Orientierung in alle Richtung verteilt aus dem Magnetfeld herausfliegen, man sollte auf dem auffangenden Bildschirm einen Punkt beobachten, dessen Intensitätsabfall etwas mit $\cos\theta$ zutun haben sollte, da klassisch alle Orientierungen θ gleich wahrscheinlich sind.

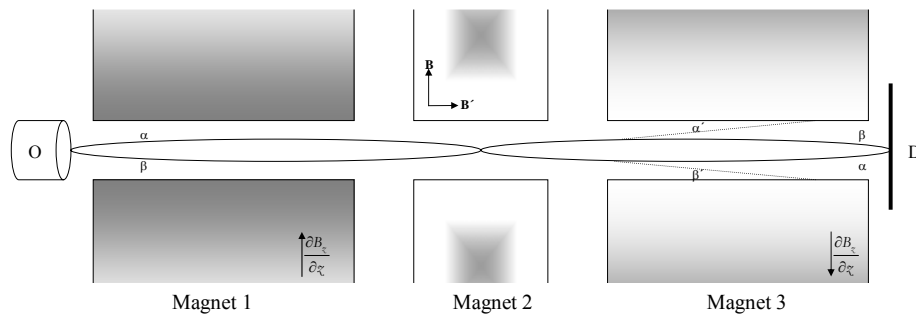
Statt eines Punkts fanden Stern und Gerlach *zwei* Punkte. Der Abstand der Punkte hängt von der Stärke des Magnetfeld B ab. Dieses Experiment war überraschend: Woher wissen die Atome, dass sie nur zwei Richtungen einnehmen dürfen? Das Experiment stellt den ersten Nachweis der Quantisierung der magnetischen Momente dar. Es ist ein experimenteller Fakt, dass die Energie eines Atoms eine Reihe von Werten annehmen kann, es ist experimenteller Fakt, dass es halbzahlige und ganzzahlige *Spins* gibt.

Dass Spins existieren, ist erstaunlich, und nicht erklärlich. Aber wir haben uns schon lange daran gewöhnt. Die Elemente in unserem Periodensystem klassifizieren wir nach ihren Hauptquantenzahlen ($n=1,2,3, \text{ etc}$), nach Nebenquantenzahlen (oder auch Bahndrehimpulsquantenzahlen) ($s,p,d,f, \text{ etc}$) sowie den magnetischen Spinquantenzahlen ($m_s=\pm 1$), wir haben das als Eigendrehimpuls des Elektrons um die eigene Trägheitsachse akzeptiert und nach der Hundschen Regel wissen wir, dass sich Elektronen zumindest in ihrer magnetischen Spinquantenzahl unterscheiden müssen.

Auch Atomkerne besitzen eine solche magnetische Spinquantenzahl, sie besitzen ein magnetisches Moment (experimentell auch von Stern, nicht aber Gerlach, in den 30er Jahren das erste Mal genau nachgewiesen). Die Energieunterschiede zwischen den Energieniveau von Spins nehmen diskrete Werte. Das ist zwar erstaunlich, aber daran haben wir uns nach der Formel $\Delta E = h\nu$ schon gewöhnt. Isaac Rabi ist es 1943 an der Columbia-University in New York zum ersten Mal gelungen, Übergänge zwischen den Energieniveau anzuregen und damit genau einen Wert für ΔE zu bestimmen.

Das Rabi-Experiment

Wie im Stern-Gerlach-Experiment baut Rabi eine Apparatur mit einem Ofen auf, von dem aus Atome ausströmen (Abbildung 2).



$$\text{O: Ofen; D: Detektor; } \alpha: \alpha = +\frac{\hbar}{2}; \beta: \beta = -\frac{\hbar}{2}$$

Abbildung 2: Die Rabi-Versuchsanordnung zur Messung des energetischen Übergangs α - β .

Diese Atome fliegen nun durch drei verschiedene Magnete. Magnet 1 ist ein Magnet, wie ihn Stern und Gerlach gebaut hatten. Nehmen wir an, dieser Magnet 1 besitzt ein inhomogenes Magnetfeld, das positiv orientiert ist (wie in Abbildung 2 angenommen). Die magnetischen Momente der Atome werden also im magnetisch inhomogenen Feld aufspalten. Der Magnet 2 ist homogen und kommt gleich ins Spiel. Keine Kräfte wirken auf die Atome und sie fliegen weiter wie bisher. Magnet 3 ist genauso inhomogen wie Magnet 1, nur genau umgekehrt gepolt. Das inhomogene Magnetfeld ist hier dann negativ orientiert. Magnet 1 und 3 werden so justiert, dass die Intensität an dem Detektor aufgenommenen Atomen maximal ist.

Im Magnetfeld 2 befindet sich eine Spule, mit deren Hilfe ein kleines transversales (also zur z-Richtung orthogonales) Magnetfeld erzeugt werden kann. Die Frequenz des elektromagnetischen Feldes kann variiert werden. Zwischen den Polen des Magnetfelds 2 befindet sich ein starkes konstantes vertikales Magnetfeld B_0 und ein schwaches, oszillierendes und horizontales Magnetfeld B' . Abbildung 3 zeigt die Detektion des Atomstrahls in Abhängigkeit der Frequenz des transversalen Feldes B' . Bei einer gewissen Frequenz wird die Resonanzbedingung für den Übergang zwischen α und β getroffen. Also

werden Übergänge zwischen den beiden Niveaus angeregt. Tritt Resonanz auf, dann werden die Atome aus ihrer Bahn geworfen, damit werden bei der Resonanzfrequenz weniger Atome detektiert als sonst (Abbildung 3). Mit anderen Worten kann die Energie, die nötig ist, um ein atomares magnetisches Moment anzuregen, gemessen werden.

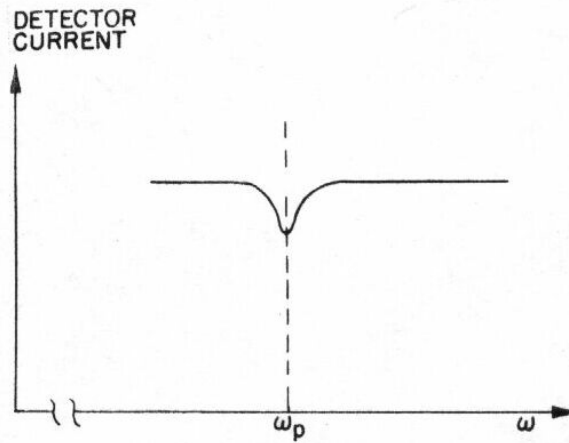


Abbildung 3: Die auf dem Detektor registrierten Atomkerne als Funktion der Frequenz des transversalen Magnetfelds.

Ein wenig Spinquantenmechanik

Der Spin von Atomen, Elektronen und Atomkernen ist zunächst ein experimentelles Faktum. Wir bezeichnen den Spin mit dem Zeichen \vec{I} . Man kann mathematisch zeigen, dass der Spin \vec{I} dem magnetischen Moment $\vec{\mu}$ proportional ist. D.h., dass Spin \vec{I} und $\vec{\mu}$ entweder parallel oder antiparallel zueinander stehen. Es gibt eine Proportionalitätskonstante γ , das gyromagnetische Verhältnis (eigentlich müsste man magnetogyrisches Verhältnis sagen):

$$\vec{\mu} = \gamma \hbar \vec{I}$$

Das magnetische Moment von Spins orientiert sich ähnlich wie eine Magnetfeldnadel entlang einem Magnetfeld. γ kann entweder größer (parallele Ausrichtung von \vec{I} und $\vec{\mu}$) oder kleiner (antiparallele Ausrichtung von \vec{I} und $\vec{\mu}$) als null sein. Im weiteren gehen wir davon aus, dass γ größer als null ist. Dann ist die parallele Orientierung von $\vec{\mu}$ und \vec{I} energetisch bevorzugt. Im Gegensatz zu einer Magnetfeldnadel, die jede beliebige Orientierung in bezug auf das einwirkende Magnetfeld einnehmen kann, haben wir von Stern und Gerlach gelernt, dass Spins nur eine limitierte Zahl von Zuständen einnehmen können. Es gibt Kerne mit halbzahligem und Kerne mit ganzzahligem Spin (das ist die merkwürdige Beobachtung von

Stern und Gerlach). Es gibt $2I+1$ Zustände, also für $I=1/2$ zwei Zustände ($m_z=\pm 1/2$), für $I=1$ drei Zustände ($m_z=-1,0,1$).

Jetzt berechnen wir die Energie eines Spins im Magnetfeld. Wir hatten weiter oben schon eingeführt:

$$E = -\vec{\mu}\vec{B} = -\gamma\hbar\vec{I}\vec{B} = -\gamma\hbar I_z B_{0z}$$

Das äußere Magnetfeld B_0 ist hier parallel zur z-Achse orientiert. Für Spins mit $I=1/2$ heisst der energetisch günstigere Zustand $\langle I_z \rangle = m_z = +1/2$ α -Zustand und der energetisch ungünstigere Zustand $\langle I_z \rangle = m_z = -1/2$ β -Zustand (Abbildung 4).

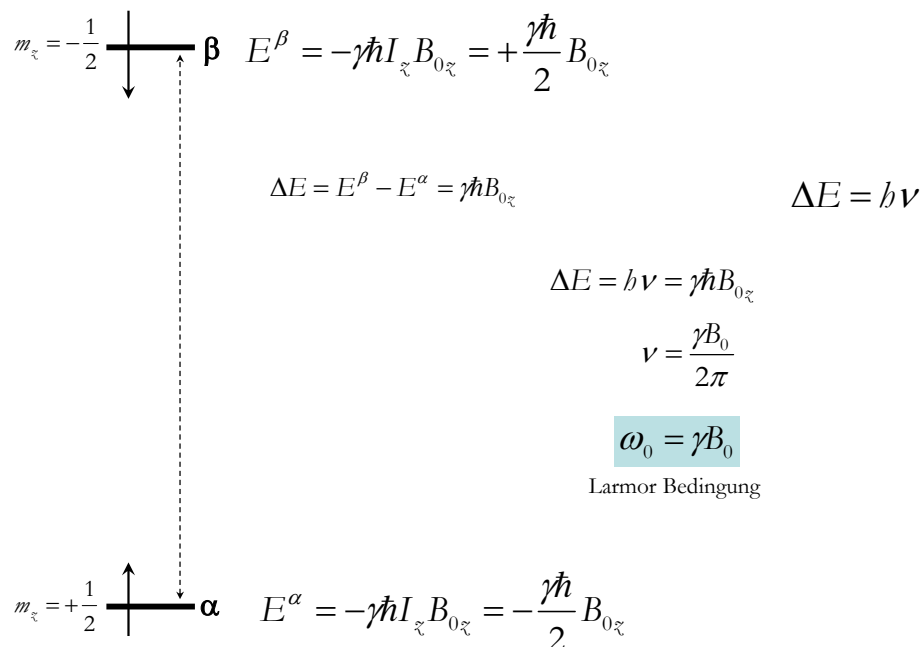


Abbildung 4: Energieniveau für ein Spin $1/2$ -Teilchen

Wir rechnen nun die Energien für die beiden Niveaus aus, die Energiedifferenz zwischen beiden Niveaus (und lassen irgendwann den Subskript z wegfallen):

$$E^\alpha = -\gamma\hbar\left(\frac{1}{2}\right)B_{0z}; E^\beta = -\gamma\hbar\left(-\frac{1}{2}\right)B_{0z}$$

$$\Delta E = E^\beta - E^\alpha = \gamma\hbar B_0$$

Wir wollen jetzt die Energiedifferenz zwischen α - und β -Niveau in der Kreisfrequenz ω ausrechnen:

$$\Delta E = h\nu = \gamma \hbar B_0; \nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi}; 2\pi\nu = \omega_0 = \gamma B_0$$

Die Gleichung $\omega_0 = \gamma B_0$ nennt man die Larmorgleichung der NMR-Spektroskopie. Sie gibt an, bei welcher Kreisfrequenz Resonanz, also Energieübergänge zwischen dem α -Zustand und dem β -Zustand, erreicht werden kann. Diese Kreisfrequenz wurde von I. Rabi in New York 1943 gemessen.

An dieser Stelle soll auch die Energiedifferenz zwischen dem α -Zustand und dem β -Zustand eines Protons ($\gamma_H = 2.675 \cdot 10^8 \text{ Hz T}^{-1}$) bei einem Magnetfeld von $T = 14.09 \text{ T}$ berechnet werden:

$$\Delta E = N_L \gamma \hbar B_0 = 240 \text{ mJ / mol}$$

Die thermische Energie bei Raumtemperatur ist gegeben durch $RT = 2.3 \text{ kJ/mol}$ (!). D.h., dass der Energieunterschied der beiden NMR-Zustände bei Raumtemperatur 10^{-4} kleiner ist als die thermische Energie, die beiden Spinniveaus sind bei Raumtemperatur nahezu gleich besetzt.

Wichtige Kernspins

Atome mit einem Kernspin von $I = 1/2$ sind die wichtigsten Kerne für die NMR-Spektroskopie. Eigenschaften, die man kennen muss, sind das gyromagnetische Verhältnis γ und die natürliche Häufigkeit in % eines Isotopen. Es gibt Reinelemente (z.B. ^{31}P und ^{19}F) und Elemente, für die es mehrere verschiedene Isotope gibt. Die bekannten Isotope des Wasserstoffs sind ^1H (99% natürliche Häufigkeit, NMR-Spektroskopiker nennen das fälschlicherweise Proton) und ^2H , das Deuteron. Für „Biomakromoleküle“ sind noch wichtig ^{15}N (0.4% natürliche Häufigkeit) und ^{13}C (1.1% Häufigkeit).

OZ	Isotop	Spin I	nat. Häufigk.	$\gamma [10^8 \text{ Hz T}^{-1}]$
1	^1H	$\frac{1}{2}$	99.99	2.675
1	^2H	1	0.01	0.411
6	^{13}C	$\frac{1}{2}$	1.11	0.673
7	^{15}N	$\frac{1}{2}$	0.37	-0.724
9	^{19}F	$\frac{1}{2}$	100	2.518
15	^{31}P	$\frac{1}{2}$	100	1.084
8	^{17}O	$\frac{5}{2}$	0.04	-0.363

OZ: Ordnungszahl

Für ^1H ergibt sich für ein Magnetfeld B_0 von 14.09T eine Resonanzfrequenz $\nu = 14.09\text{T} \cdot 2.675 \cdot 10^8 \text{HzT}^{-1} \sim 600\text{MHz}$, wir sprechen also bei der Klassifizierung unserer NMR-Spektrometer von Frequenzen (und nicht Kreisfrequenzen ω und nicht Magnetfeldstärken).

Das Vektormodell

(Die folgenden Dinge können vertieft in Malcolm Levitt's Buch: Spin Dynamics sowie in Peter Hore's Buch: Nuclear Magnetic Resonance nachgelesen werden).

Der Drehimpuls eines rotierenden Objekts ist ein Vektor. Die Richtung des Vektors ist entlang der Achse, um die das Objekt rotiert. Klassisch kann ein solcher Vektor in alle Richtungen zeigen. Der Drehimpuls eines Spins ist auch ein Vektor. Der Drehimpulsvektor des magnetischen Moments des Spins und des Spins selbst sind wie oben gesagt (aber nicht abgeleitet) parallel: $\vec{\mu} = \gamma \hbar \vec{I}$.

Aufgrund quantenmechanischer Überlegungen können wir zwei Dinge bez. eines Atomspins messen: Wir können die Länge des Vektors messen und die Projektion des Vektors auf eine Achse, normalerweise die z-Achse (Abbildung 5):

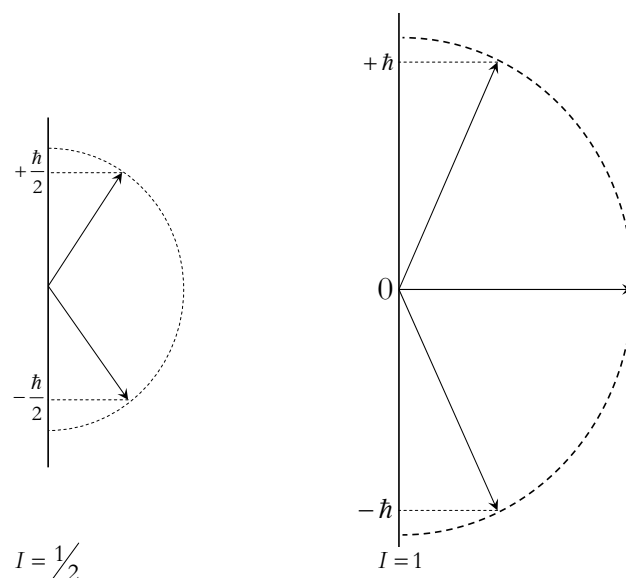


Abbildung 5: Die Beziehung zwischen dem magnetischen Feld B , dem magnetischen Moment $\vec{\mu}$ und der Komponente des magnetischen Moments entlang der z-Achse μ_z .

Aufbauend auf diesen quantenmechanisch korrekten Aussagen kann man ein anschauliches Modell entwickeln, das Vektormodell, mit dessen Hilfe eine Menge NMR verstanden werden kann. Das Modell darf man nicht überstrapazieren, denn gewisse Eigenschaften der Spins, z.B. die skalare J-Kopplung zwischen Spins, können nicht wirklich erklärt werden.

Spin-1/2-Teilchen existieren im starken magnetischen Feld in zwei möglichen Orientierungen mit gleichen, aber entgegengesetzten Projektionen auf die Quantisierungsachse z. Bezüglich der beiden anderen Achsen x und y sind die Phasen der individuellen magnetischen Momente unbestimmt, zufällig, ihre Vektorsumme verschwindet. Dies kann man in zwei Kegeln symbolisieren, die sich dadurch auszeichnen, dass die Projektion auf die z-Achse konstant ist und dass die Lage des Vektors in der x,y-Achse unbestimmt ist (Abbildung 6). Nun interessiert uns für die Durchführung eines Experiments nur die Überschußmagnetisierung im thermischen Gleichgewicht, wir können also einen Vektor M_z „erzeugen“, der die Überschußmagnetisierung symbolisiert und gegeben ist durch $M^\beta - M^\alpha = M_z$. Die Magnetisierung einer großen Zahl von Spins in einer NMR-Probe ist eine durch die Boltzmann-Verteilung (s.o.) gegebene Größe, M_z . Auch wenn die einzelnen Spins quantenmechanische Größen sind, kann man die Summe aller Spins über die NMR-Probe, das Ensemble der Spins, für einfache Experimente (1D, T_1 -Relaxation, T_2 -Relaxation) mit Regeln der klassischen Mechanik beschreiben, deshalb ist das Vektormodell anschaulich und ein guter Einstieg in das Verständnis von NMR-Experimenten.

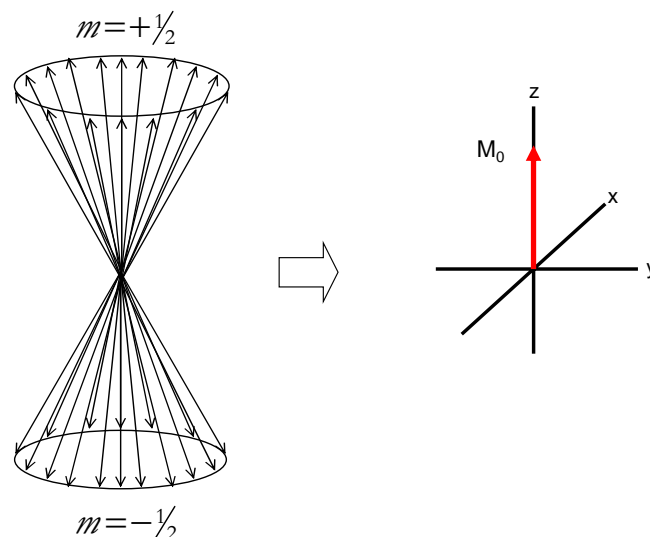


Abbildung 6: Vektormodell für ein Ensemble von Spin-1/2-Kernen im thermischen Gleichgewicht in einem Magnetfeld B_0 entlang der z-Achse.

Das 1D Experiment

Wir wollen ein 1D-NMR-Experiment erklären. Wir stellen uns vor, wir haben eine NMR-Probe, deren Protonenspektrum aus einem einzigen Spin besteht, z.B. Chloroform, CHCl_3 . Wir können die Resonanzfrequenz des Protons des Chloroforms schon ziemlich genau nach der Larmorfrequenzformel berechnen. Die Formel gibt die Frequenz der elektromagnetischen Strahlung an, mit der wir einen Übergang zwischen den beiden Spinzuständen induzieren können. Nach dem Vektormodell haben die Spins keine definierte Phase entlang der transversalen Achsen. Man sagt, die Spins präzidieren mit der Larmorfrequenz $\omega_0 = \gamma B_0$ um die z-Achse (dieses Bild ist quantenmechanisch wohl nicht ganz korrekt), d.h. also mit $\gamma B_0 / 2\pi$ Umdrehungen pro Sekunde. Je größer also das Feld B_0 und je höher das gyromagnetische Verhältnis γ , desto so schneller drehen sich die Spins. In einem NMR-Experiment reagieren die Spins auf die Wechselwirkung mit zwei magnetischen Felder, dem starken statischen Magnetfeld B_0 (z.B. 14T) und einem oszillierenden (also zeitlich abhängigen), senkrecht auf B_0 stehenden, transversalen Magnetfeld $B_1(t)$ (in der Größenordnungen einiger Millitesla). Das Gesamtfeld ist also gegeben durch die Vektorsumme von B_0 und $B_1(t)$.

Es ist nun schwierig, sich die Bewegung der Magnetisierung um ein Feld herum vorzustellen, das sich selbst bewegt. Deshalb vereinfachen wir die Betrachtung, indem wir uns selbst als mit der Larmorfrequenz bewegend vorstellen. Dies nennt man das rotierende Koordinatensystem (im Gegensatz zum Laborsystem, in dem wir nur starr zuschauen). Die Analogie ist die eines Karussells: Man kann entweder dem Treiben auf dem Karussell von außen zuschauen: dann drehen sich die Kinder und man sieht sie manchmal. Oder man kann auf dem Karussell mitfahren und Kind und Betrachter bewegen sich relativ zueinander nicht. Wie wird die Transformation ins rotierende Koordinatensystem tatsächlich bewerkstelligt? Dies soll in einer Nebenbetrachtung jetzt abgeleitet werden.

Transformation ins rotierende Koordinatensystem.

Das oszillierende transversale Magnetfeld $B_1(t)$ ist eine elektromagnetische Schwingung. Diese Schwingung ist linear polarisiert, d.h. die elektromagnetische bewegt sich in eine Richtung (sie propagiert) und schwingt senkrecht zu dieser Propagationsrichtung auf und ab. Die magnetische Komponente dieser Schwingung wird beschrieben durch:

$$\begin{aligned}
 B_1(t) &= 2B_1 \cos(\omega_{rf}t + \phi) \vec{i} \\
 &= B_1 \cos(\omega_{rf}t + \phi) \vec{i} + B_1 \sin(\omega_{rf}t + \phi) \vec{j} \\
 &\quad + B_1 \cos(\omega_{rf}t + \phi) \vec{i} - B_1 \sin(\omega_{rf}t + \phi) \vec{j}
 \end{aligned}$$

wobei B_1 die Amplitude der elektromagnetischen Schwingung ist, ω_{rf} die Kreisfrequenz, ϕ die Phase des Feld und \vec{i} und \vec{j} Einheitsvektoren entlang der x- und y-Achse darstellen. Die mathematische Umformung, die dem zweiten Teil der Gleichung zugrunde liegt, ist in Abbildung 7 noch einmal dargestellt. Man kann jede linear polarisierte elektromagnetische Schwingung in zwei zirkular polarisierte Schwingungen zerlegen, die beiden Darstellungen gehen durch Vektorsummenbildung ineinander über. Die beiden Vektoren, die die zirkular polarisierte Schwingung darstellen, rotieren mit entgegengesetzter Rotationsfrequenz. Die mit der richtigen Kreisfrequenz ω_{rf} rotierende Komponente tritt nun in Wechselwirkung mit Magnetisierung entlang z, während die in Gegenrichtung ($-\omega_{rf}$) rotierende Komponente die Spins nur mit $(B_1/B_0)^2$ in Wechselwirkung tritt, was eine sehr kleine Zahl darstellt. (Im Bild des Kreisel: Die Beobachter spalten sich auf, der eine läuft richtig rum mit der Drehrichtung des Kreisel, der andere läuft falsch rum; letzterer sieht noch weniger vom Kind).

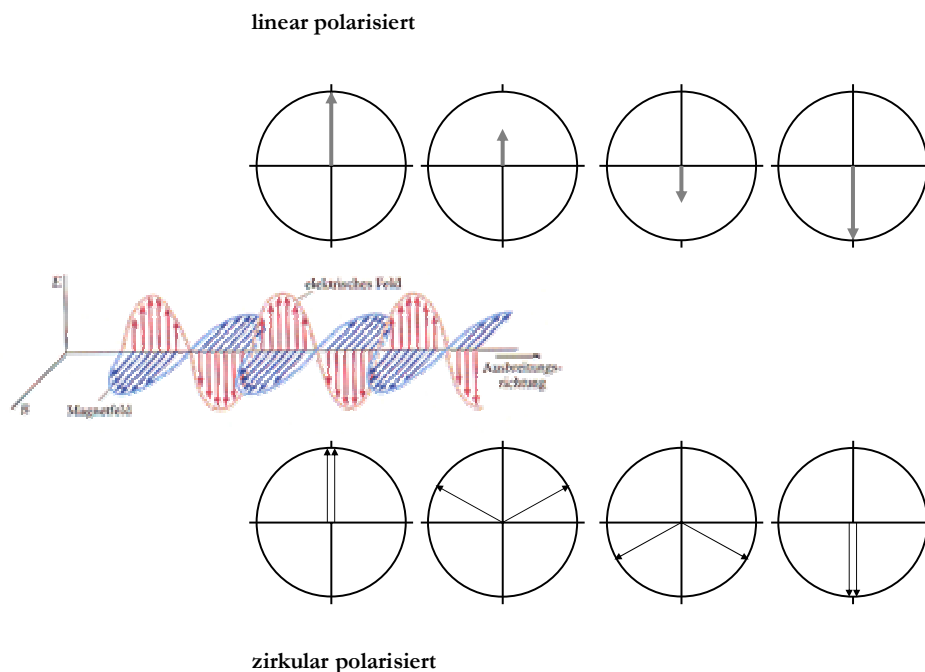


Abbildung 7: Die Zerlegung einer linear polarisierten Schwingung in zwei zirkular polarisierte Komponenten.

Durch die Transformation ins rotierende Koordinatensystem ist die Magnetisierung statisch, d.h. die Magnetisierungsvektoren und das elektromagnetische Feld besitzen keine Relativbewegung. Deshalb spürt im rotierenden Koordinatensystem die Magnetisierung nur das transversale B_1 -Feld. Die Magnetisierung M_z dreht sich unter der Einwirkung des transversalen B_1 -Feld aus der x -Richtung in der y,z -Ebene (Abbildung 8).

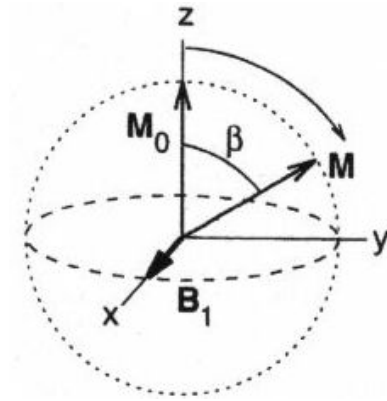


Abbildung 8: Die Wirkung eines Radiofrequenzpulses auf die Magnetisierung entlang z .

Wir wollen das Gesagte nochmal zusammenfassen: Die Magnetisierung kann also mit drei kartesischen Komponenten M_x , M_y , and M_z beschrieben werden. Kurze Radiofrequenzimpulse (die kurze Einwirkung einer elektromagnetischen Schwingung) kann senkrecht zum externen Magnetfeld angelegt werden.

Im Gleichgewicht ist die Magnetisierung entlang der z -Achse. Anwendung eines rf-Feldes der Länge τ_p und der Stärke γB_1 entlang der x -Achse induziert eine Präzessionsbewegung der Magnetisierung in der y,z Ebene mit einer Kreisfrequenz $\omega_1 = -\gamma B_1$. Wir führen einen Flipwinkel $\beta_p = 2\gamma B_1 \tau_p$ ein, wobei τ_p die Dauer des Pulses in Sekunden ist und β_p in Radian gemessen wird. Die gebräuchlichsten Pulse sind 90° - und 180° -Pulse. Ein 90° -Puls aus x macht aus M_z -Magnetisierung $-M_y$ -Magnetisierung, ein 180° -Puls macht aus M_z -Magnetisierung $-M_z$ -Magnetisierung (siehe Abbildung 8, in der Abbildung wurde ein $-x$ -Puls angewendet). Der Flipwinkel hängt also von der Amplitude B_1 des transversalen Impulses ab, typischerweise hat ein 90° -Puls eine Länge von $10\mu s$.

Eine wichtige Voraussetzung für die Fourier-Transform-NMR-Spektroskopie ist die Möglichkeit, einheitlich und gleichzeitig Kerne mit unterschiedlicher chemischer Verschiebung anzuregen. Für eine Dispersion von 6 kHz (Die Protonen kommen über 10ppm

zur Resonanz und 1ppm ist gerade 600 Hz bei 600 MHz) muss eine Feldstärke $\gamma B_1/2\pi \gg 6\text{kHz}$ erreicht werden.

Nach der Anwendung eines 90° -Puls aus x-Richtung ist die Magnetisierung entlang der $-y$ -Achse. Wir wollen im folgenden zunächst verstehen, was man mit $-M_y$ -Magnetisierung eigentlich erzeugt hat im Sinne des Vektorbilds. Dann gehen wir darauf ein, wie wir mathematisch diese Magnetisierung beschreiben können.

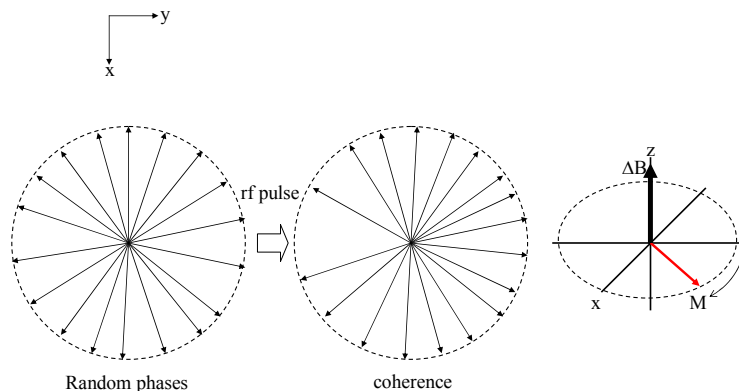


Abbildung 9: Der Effekt eines Radiofrequenzpulses auf die magnetischen Momente der einzelnen Spins einer NMR-Probe (Wir sehen von z aus auf die Probe).

Im Gleichgewicht ist die Phase der einzelnen Vektoren in der x,y -Ebene unbestimmt. Die Gleichgewichtsmagnetisierung ist entlang der z -Achse. Ein Puls erzeugt eine Ungleichgewichtssituation. Die Phase der einzelnen Vektoren wird in der x,y -Ebene ‚gebündelt‘, diese Bündelung – alle Vektoren zeigen in eine Richtung –, d.h. die Korrelation der einzelnen Phasen nennt man Kohärenz. Ausserdem ist nach einem 90° -Puls die M_z -Komponente der Magnetisierung verschwunden. Der Wiederaufbau einer Gleichgewichtssituation, die Relaxation der Spins, wird weiter unten beschrieben, es handelt sich um sogenannte T_1 - (longitudinale) und T_2 - (transversale) Relaxation.

Jetzt wird beschrieben, wie sich die Magnetisierung ‚entwickelt‘ nach Abschalten des Pulses. Wir haben transversale Magnetisierung erzeugt. Das einzige Magnetfeld, das nach Abschalten des Pulses noch vorhanden ist, ist das statische Magnetfeld B_0 . Die transversale Magnetisierung $-M_y$ steht senkrecht zur z-Richtung des statischen Magnetfeld B_0 . D.h. die Magnetisierung wird im Laborsystem mit der Larmorfrequenz beginnen zu oszillieren, im rotierenden Koordinatensystem mit einer Frequenz, die wir chemische Verschiebung nennen und deren Ursprung unten eingeführt wird.

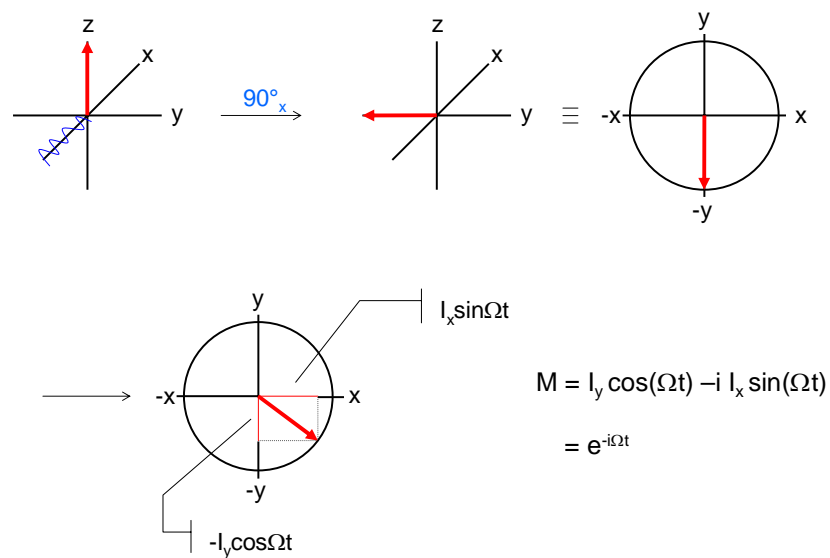


Abbildung 10: Die Magnetisierung präzediert um die z-Achse. Nach einer Zeit kann die Magnetisierung in ihre Komponenten entlang x und y zerlegt werden. Ein phasenempfindlicher Detektor (aus zwei orthogonalen Richtungen) detektiert die beiden Komponenten der Magnetisierung.

Ein phasenempfindlicher Detektor (siehe Abbildung 10) detektiert die beiden Komponenten der Magnetisierung und speichert diese getrennt ab. Danach wird ein komplexes Signal der Form $\exp(i\Omega t) = \cos(\Omega t) + i\sin(\Omega t)$ durch Addition der Komponente des ersten Detektors A und der mit i multiplizierten Komponente des zweiten Detektors B abgespeichert. Ein solches Signal kann Fourier-transformiert werden.

Fouriertransformation

Wenn wir nur die Komponente des ersten Detektors A anschauen, dann detektieren wir ein oszillierendes Signal $M_y(t) = A \cos \Omega t$ (A ist die Amplitude der Schwingung). Die Fouriertransformation wird durch folgendes Integral beschrieben:

$$I(\omega) = \int_0^{\infty} M_y(t) \cos(\omega t) dt$$

Dieses mathematisch abschreckende Integral kann man sich eigentlich einfach verständlich machen (Abbildung 11). Wir multiplizieren das oszillierende Signal $M_y(t) = A \cos \Omega t$ mit cos-Funktionen: $\cos \omega t$. Somit erhalten wir $A \cos \Omega t \cdot \cos \omega t$. Für $\omega \neq \Omega$ gilt: die Funktion oszilliert zwischen negativen und positiven Werten. Wenn man von $0 \leq t \leq \infty$ integriert, ist das Integral gleich null. Für $\omega = \Omega$ erhält man $A \cos^2 \Omega t$, diese Funktion ist immer positiv und normiert, so dass das Integral $I(\omega)$ proportional zur Amplitude A ist. Die Fouriertransformation unserer von einem Detektor aufgenommenen Komponente $A \cos \Omega t$ ist, da wir von 0 bis ∞ integrieren, überall ausser für $\pm \Omega$ null. Dass man neben einem Wert für $+\Omega$ auch einen Wert bei $-\Omega$ erhält, liegt an dem Umstand, dass die Cosinusfunktion eine gerade Funktion ist, für die gilt: $f(x) = f(-x)$. Hätten wir die Komponente des zweiten Detektors aufgenommen, dann hätten wir eine Sinusfunktion erhalten. Sinusfunktionen sind ungerade für die gilt $f(x) = -f(-x)$. Kombination beider Komponenten zu einem komplexen Signal $e(i\Omega t)$ liefert die Vorzeichenunterscheidung.

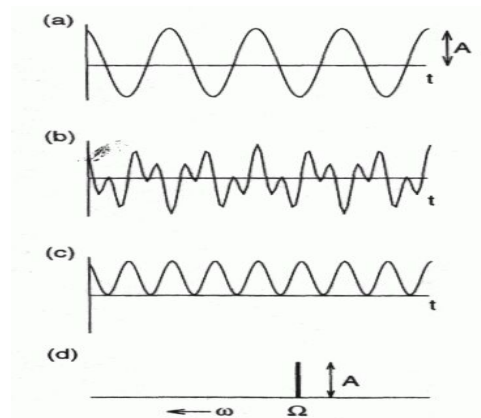


Abbildung 11: Eine bildliche Darstellung der Fouriertransformation. (a) Die oszillierende Schwingung, wie sie in Detektor 1 aufgezeichnet wird. (b) Das Produkt des detektierten Signals mit einer $\cos \omega t$. Für $\omega \neq \Omega$ gilt: Das Integral ist null. (c) Das Produkt des detektierten Signals mit einer $\cos \omega t$. Für $\omega = \Omega$ findet man Signale bei den Frequenzen $\omega = \pm \Omega$, die Intensität des Signals ist proportional zur Amplitude, die im Detektor 1 aufgezeichnet wurde.

Bisher sind wir immer von einem Spin ausgegangen. Nun wollen wir einen zweiten Spin einführen. Dieser zweite Spin soll eine andere chemische Verschiebung haben, d.h. er kommt an einer anderen Stelle in unserem Spektrum zur Resonanz. Wir werden dann also in unserem ersten Detektor eine Überlagerung (die Summe) zweier Cosinusfunktionen detektieren, die wir daraufhin Fourier-transformieren müssen, um die einzelnen Frequenzen zu rekonstituieren.

Die Fouriertransformation ist eine lineare Operation. D.h. es gilt:

$$FT[f(t) + g(t)] = FT[f(t)] + FT[g(t)]$$

Mit anderen Worten heißt das, jedes Signal $A_i \cos \Omega_i t$ gibt eine Linie mit der Amplitude A_i bei der Frequenz Ω_i .

Weshalb Fouriertransformation?

Spektroskopie wird häufig so eingeführt, dass man mit einer einzigen Wellenlänge in den Energieunterschied einstrahlt. So wurde auch bei der NMR-Spektroskopie angefangen. Man strahlt mit sogenannter kontinuierlicher Einstrahlung (continuous wave=CW) das gesamte Spektrum ab. Nehmen wir an, wir hätten zehn verschiedene Spins, dann muss man 10 verschiedene Experimente machen.

Prof. Ernst hat den Nobelpreis dafür bekommen, diesem mit einer steigenden Anzahl von Spins etwas umständlichen Verfahren ein besseres entgegenzustellen. Man regt mit einem kurzen und starken Puls (hohes B_1 -Feld, siehe oben) das ganze Spektrum an und misst mit zwei Detektoren die Überlagerung aller Spins. Die Fouriertransformation extrahiert dann die einzelnen Schwingungen heraus. Dieser Vorteil der gleichzeitigen Anregung aller Resonanzen nennt man den Multiplex- oder Fellgett-vorteil.

Relaxation

Wir wollen jetzt diskutieren, wie die Ungleichgewichtsmagnetisierung, die man durch die Anwendung eines Pulses erzeugt hat, wieder zurück ins Gleichgewicht kommt. Hier unterscheidet man zwei unterschiedliche Prozesse: Longitudinale Relaxation und transversale Relaxation.

Longitudinale Relaxation

Longitudinale Relaxation (T_1 -Relaxation, Spin-Gitter-Relaxation) beschreibt den (Wieder)aufbau der z-Magnetisierung, also der Magnetisierung, die parallel zum äußeren B_0 -Feld ist. Man beobachtet T_1 -Relaxation, wenn man eine Probe in ein Magnetfeld hinein bringt und nach der Anregung transversaler Magnetisierung, also Auslenkung der Magnetisierung von der z-Achse. Diskutieren wir erst den ersten Fall: Nehmen wir an, wir haben eine Ensemble von Atomkernen, von denen jeder ein magnetisches Moment μ besitzt. Ohne externes Magnetfeld sind alle magnetischen Momente der Kerne zufällig orientiert. Wenn man nun die Probe ins Magnetfeld einbringt, dann richten sich die Kerne in Richtung des Magnetfelds aus. Diese Ausrichtung wird durch die zufällige Bewegung der Kerne induziert. Aufgrund dieses Zufallsprozesses folgt der Aufbau von Gleichgewichtsmagnetisierung einer

Kinetik erster Ordnung (Abbildung 12). $M_z(t) = M_{z0} \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}}\right)$

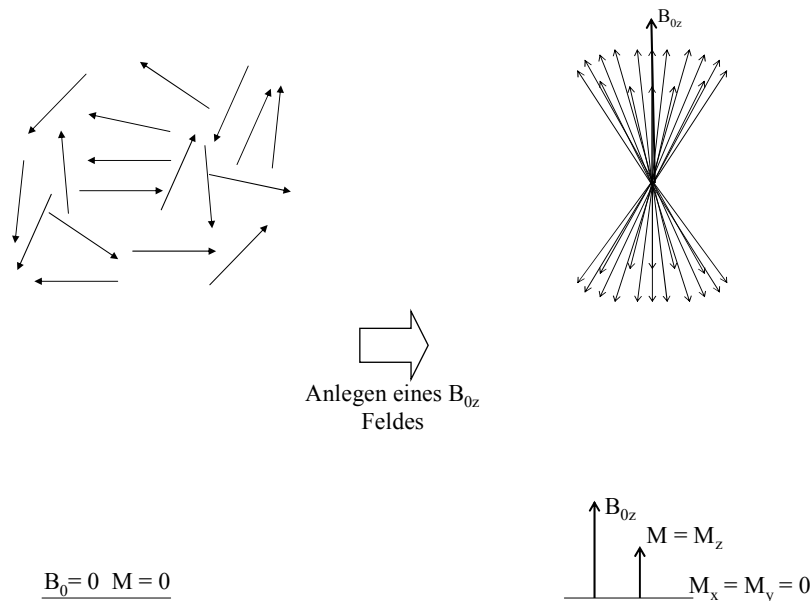


Abbildung 12: Orientierung der anfänglich zufällig angeordneten magnetischen Momente in einem externen Magnetfeld. Das externe Feld H_z (B_{0z}) verursacht eine Nettomagnetisierung M entlang der z-Achse.

Genauso können wir durch Anwendung eines 180° -Pulses M_z -Magnetisierung in $-M_z$ -Magnetisierung überführen. Diese relaxiert zurück zur Gleichgewichtsmagnetisierung M_z . Longitudinale Relaxation kann man einfach messen mit folgender Pulssequenz: 180° - τ_{var} - 90° -Detektion. Was dabei passiert, ist in Abbildung 13 zusammengefasst.

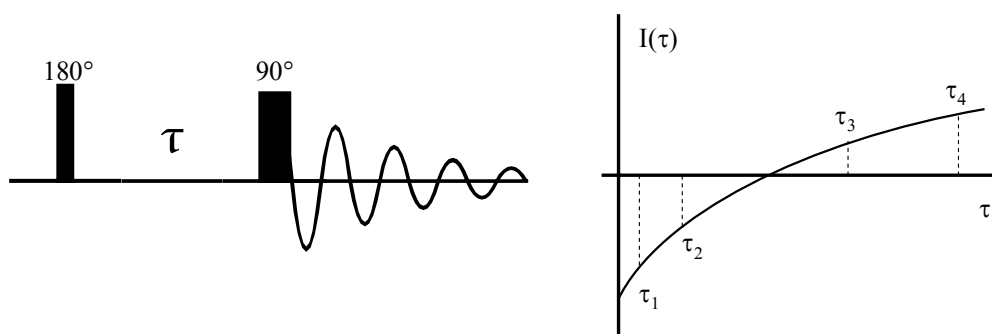
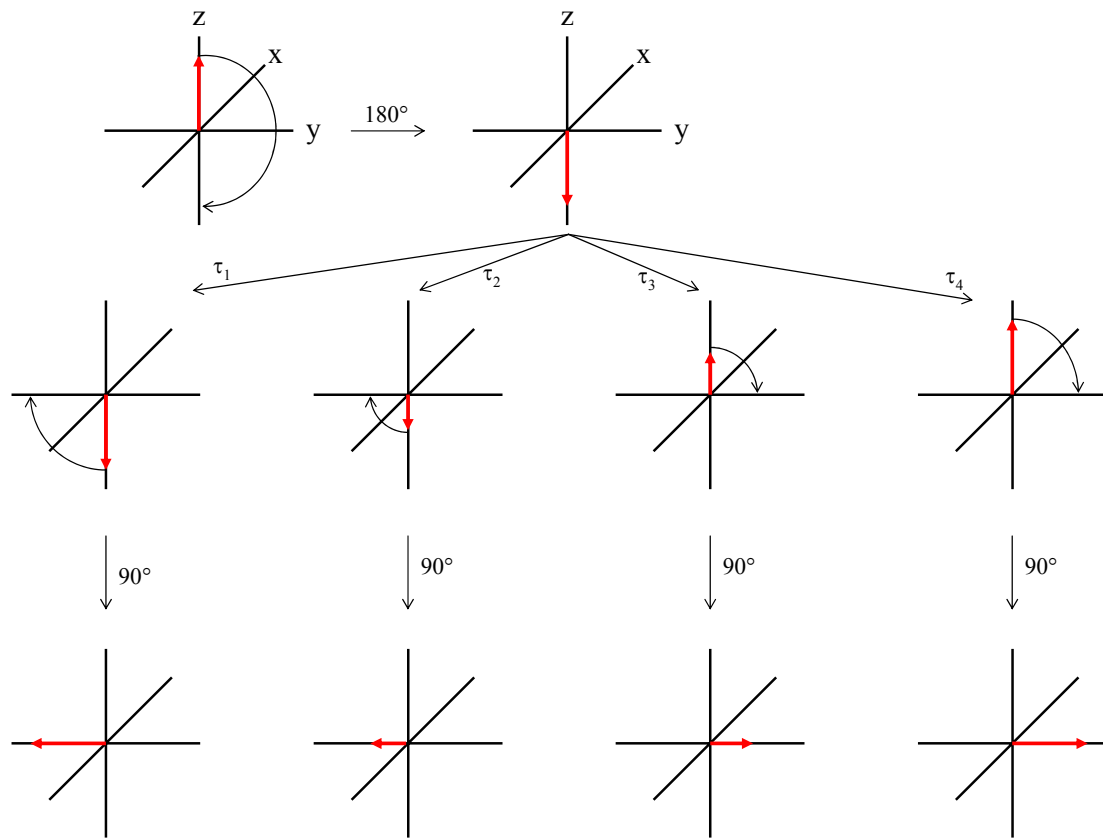


Abbildung 13: Pulssequenz zur Bestimmung von T_1 -Zeiten. Diese Pulssequenz nennt man Inversion-Recovery.

Transversale Relaxation

Wir haben diskutiert, dass die Anwendung eines 90_x° -Pulses zur Erzeugung von Phasenkohärenz führt. Nach Anwendung des 90_x° -Pulses liegt der Magnetisierungsvektor entlang der $-y$ -Achse, die Komponente entlang der z -Achse ist 0. Beim Prozess der transversalen Relaxation (T_2 -Relaxation, Spin-Spin-Relaxation) wird die Phasenkohärenz verloren.

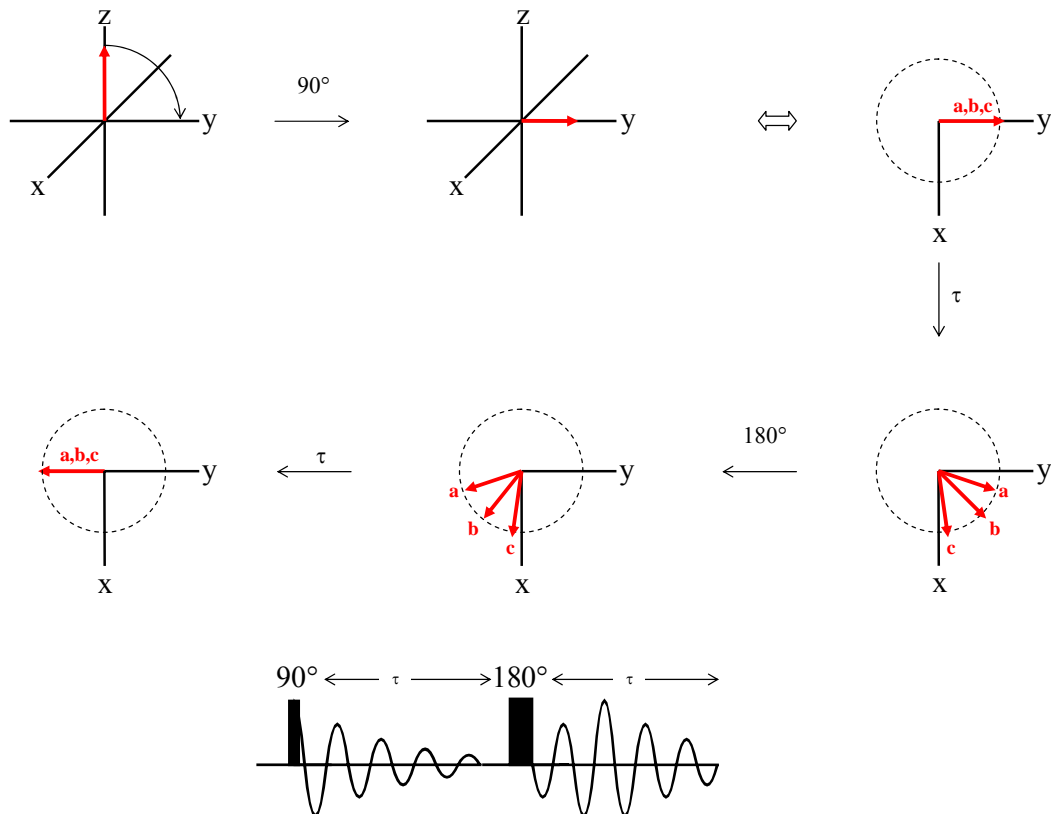


Abbildung 14: Pulssequenz zur Bestimmung von T_2 -Zeiten, diese Pulssequenz nennt man Spin-Echo.

Übergang vom Vektorformalismus zum Produktoperatorformalismus

Zur exakten Beschreibung von Spinsystemen, in denen Spins miteinander koppeln, kann man den Vektorformalismus streng nicht mehr gebrauchen. Deshalb muss man den quantenmechanischen Produktoperatorformalismus einführen. Dazu wird das folgende Korrespondenzprinzip angewendet: Die Magnetisierung \mathbf{M} , die von einem Ensemble von Spins erzeugt wird, muss ersetzt werden durch Operatoren \mathbf{I} . I_x^k steht für ein Ensemble von I^k Spins die x-Magnetisierung „besitzen“.

Beschreibung von skalarer (J) Kopplung im Vektorformalismus

Abbildung 15a zeigt das erste Spektrum von Ethanol. Dies hat die Neugierde von Chemikern angeregt: Es gibt drei verschiedene Atomsorten in Ethanol (CH_3 , CH_2 , OH) und offensichtlich sieht man drei unterschiedliche Resonanzen. Mit etwas Optimismus kann man auch erkennen, dass die Integrale über diese drei Atomgruppierung dem entsprechen, was man erwartet, nämlich 3:2:1.

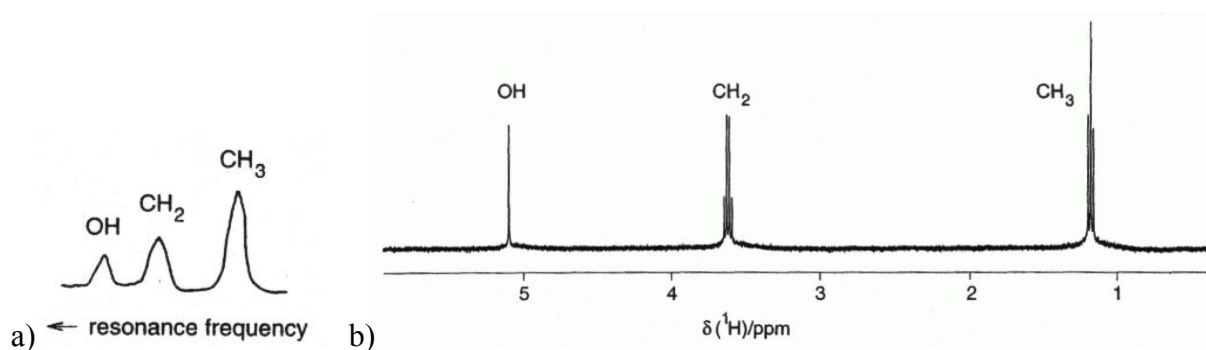


Abbildung 15: a. Das ^1H NMR Spektrum von flüssigem Ethanol, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$, publiziert 1951. b. Das ^1H NMR Spektrum von flüssigem Ethanol, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ auf einem modernen Spektrometer aufgenommen. (Die fehlende Aufspaltung der OH-Gruppe beruht auf intermolekularem Austausch).

Abbildung 15b ist noch spannender. Die Signale der CH_3 und CH_2 zeigen eine Aufspaltung, die NMR-Spektroskopiker skalare Kopplung nennen. Diese Kopplung zeigt an, dass die CH_3 - und CH_2 -Gruppe dem gleichen Spinsystem angehören, es zeigt also Konnektivität an! Die Multiplizität der aufgespaltenen Kerne und deren Intensität ergibt sich aus dem Pascalschen Dreieck (siehe Kapitel 3). Im folgenden werden wir die Ursache der skalaren Kopplung diskutieren. Nehmen wir zunächst an, wir würden ein ^1H 1D-Spektrum von unmarkiertem Formiat ($^1\text{H}^{12}\text{CO}_2^-$) aufnehmen. Das Protonenspektrum bestünde aus einer einzigen Linie (wir vernachlässigen das von 1.1% herrührende Satellitenspektrum). Das ^1H und das ^{13}C 1D-Spektrum von ^{13}C markiertem Formiat ($^1\text{H}^{13}\text{CO}_2^-$) enthält jeweils zwei Linien ($^1\text{H}^{13}\text{CO}_2^-$) der Intensität $\frac{1}{2}$, die beide um 195Hz aufgespalten sind. Es gibt zwei magnetisch aktive Kerne, ^1H und ^{13}C , beide haben Spin $\frac{1}{2}$ -Teilchen. Das ^1H -Spektrum ist aufgespalten, weil das magnetische Moment des ^{13}C die Quelle für ein kleines lokales Magnetfeld darstellt, dessen Richtung durch die magnetische Quantenzahl ($m=+1/2$ oder $-1/2$) des ^{13}C bestimmt wird. Wenn ^{13}C im $m=+1/2$ Zustand (hier mit $\text{C}\uparrow$ bezeichnet) ist, dann wirkt es dem externen Feld entgegen und induziert einen Hochfeldshift. Wenn ^{13}C im $m=-1/2$ Zustand (hier mit $\text{C}\downarrow$ bezeichnet) ist, dann verstärkt es das externe Feld und induziert einen Tieffeldshift. Da die Energiedifferenz zwischen $\text{C}\uparrow$ und $\text{C}\downarrow$ verschwindend klein ist im Vergleich zu kT , sind die beiden Zustände gleich wahrscheinlich und man beobachtet eine Dublettaufspaltung mit Multiplettlinien gleicher Intensität.

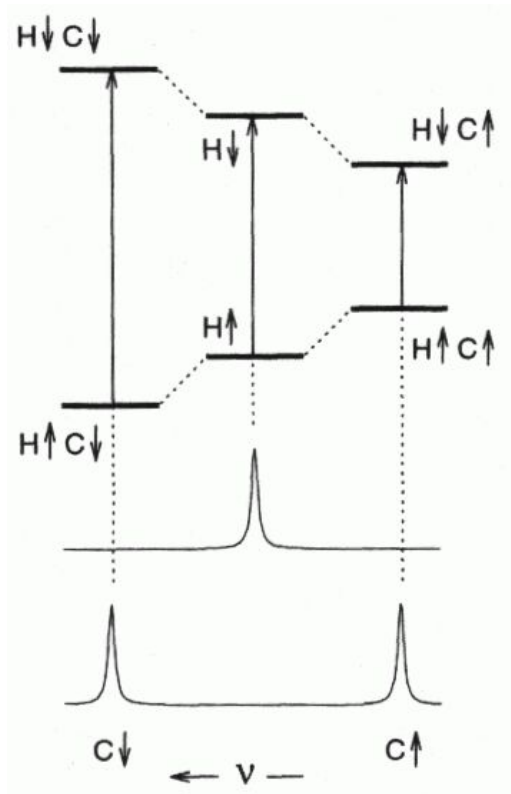
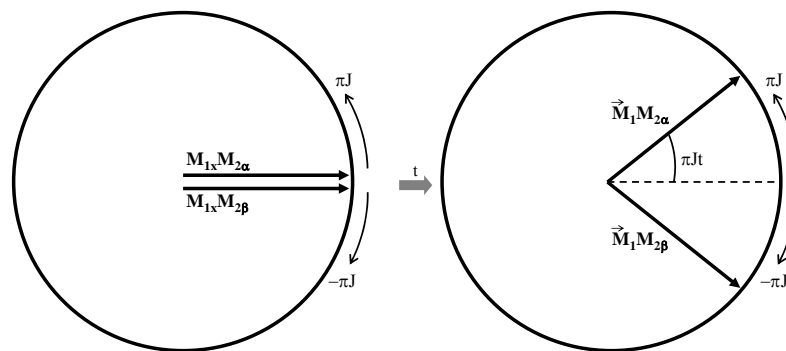


Abbildung 16: Schematische Darstellung des Effekts der parallelen oder antiparallelen Ausrichtung des passiven Spins ^{13}C auf das Spektrum des aktiven Spins ^1H . Die Energieniveaus, in denen die beiden Spins parallel orientiert sind, werden angehoben, die beiden, in denen die beiden Spins antiparallel orientiert sind, werden stabilisiert. Dies führt zu unterschiedlichen energetischen Unterschieden für die ^1H -Linien, je nachdem, ob der ^{13}C up oder down ist.

Im folgenden wollen wir annehmen: wir haben einen Spin, der mit einem zweiten Spin mit einer skalaren Kopplungskonstanten von $J = 10 \text{ Hz}$ koppelt. Wir wissen, dass das Spektrum eines solchen Spins wie oben diskutiert ein Dublett ergibt. Der FID eines solchen Spins wird oszillieren, das Signal wird nach 50ms verschwunden sein, aber nach 100ms wieder erscheinen.



$$M_{1x}M_{2\alpha} \cos \pi Jt + M_{1y}M_{2\alpha} \sin \pi Jt + M_{1x}M_{2\beta} \cos \pi Jt - M_{1y}M_{2\beta} \sin \pi Jt$$

nach Korrespondenzprinzip

$$I_{1x}I_{2\alpha} \cos \pi Jt + I_{1y}I_{2\alpha} \sin \pi Jt + I_{1x}I_{2\beta} \cos \pi Jt - I_{1y}I_{2\beta} \sin \pi Jt$$

Abbildung 17: Beschreibung eines koppelnden Spins im Vektormodell

Im Vektormodell wird das dadurch erklärt, dass man zwei Magnetisierungsvektoren hat, die in unterschiedlicher Richtung mit einer Frequenz von $\pm 5\text{Hz}$ oszillieren (Abbildung 14). Nach einem $\frac{1}{4}$ -Zyklus sind die Vektoren entweder antiparallel oder in Antiphase orientiert. Dieser Zustand besitzt keine Magnetisierung (man würde kein Signal messen). Aber dieser Zustand ist auch anders als ein Zustand, den man nach Einstrahlen und Sättigung erhalten würde. Denn Magnetisierung wird aus dem Antiphase-Zustand wieder erzeugt. Magnetisierung wird nach einem $\frac{1}{2}$ -Zyklus wieder erscheinen. Zustände mit Antiphasekohärenz und nicht detektierbarer Magnetisierung sind wesentlich für NMR-Experimente wie z.B. das COSY und haben zu dem Namen Produktoperatorformalismus geführt: Das Signal des Spins I^1 , der mit Spin I^2 (beide Spin-1/2-Teilchen) koppelt, erscheint als Dublett im Spektrum. Das Dublett des Spins I^1 rührt von zwei unterschiedlichen Molekülen her, einem in dem der Spin I^2 im α -Zustand ist und einem zweiten, in dem I^2 im β -Zustand sich befindet.

Die Frequenz der linken Linie des Spins I^1 , das von Molekülen mit I_2 im α -Zustand herrührt, ist gegeben durch $\Omega_1 + \pi J$, die rechte Linie des Spins I^1 , das von Molekülen mit I^2 im β -Zustand herrührt, ist gegeben durch $\Omega_1 - \pi J$. Beide Arten von Molekülen sind nahezu gleich häufig (geringe Energiedifferenz für NMR-Übergänge), so dass das Spektrum des I^1 Spins die Überlagerung der beiden Spektren für jedes Spinisomere des Spin I^2 ist. Die Positionen der beiden Kohärenzen in der x,y-Ebene kann wie folgt abgeleitet werden:

$$\begin{aligned}
 I_x^1 I_\alpha^2 &\xrightarrow{\Omega^1 I_z^1 t} I_x^1 I_\alpha^2 \cos(\Omega^1 + \pi J)t + I_y^1 I_\alpha^2 \sin(\Omega^1 + \pi J)t \\
 I_x^1 I_\beta^2 &\xrightarrow{\Omega^1 I_z^1 t} I_x^1 I_\beta^2 \cos(\Omega^1 - \pi J)t + I_y^1 I_\beta^2 \sin(\Omega^1 - \pi J)t
 \end{aligned} \tag{1}$$

Hierzu brauchen wir zwei Regeln:

$$\begin{aligned}
 I_{\alpha}^1 + I_{\beta}^1 &= 1; \\
 I_{\alpha}^1 - I_{\beta}^1 &= 2I_z^1
 \end{aligned}
 \tag{2}$$

Die erste Gleichung kommt daher, dass die Summe der Wahrscheinlichkeit, Spin 1 entweder im α - oder im β -Zustand zu finden, auf 1 normiert sein muss.

Die zweite Gleichung in (2.2) kann man dadurch erklären, dass eine Populationsdifferenz zwischen α - und im β -Zustand z-Magnetisierung ist. Der Faktor 2 ist ein Normalisierungsfaktor. D.h.: I^1 entwickelt die folgenden Operatoren unter der Wirkung von chemischer Verschiebung und skalarer J-Kopplung:

$$\begin{aligned}
 I_x^1 \xrightarrow{(\Omega I_z^1 + 2\pi J I_z^1 I_z^2)t} & I_x^1 \cos \Omega^1 t \cos \pi J t + 2I_y^1 I_z^2 \cos \Omega^1 t \sin \pi J t \\
 & + I_y^1 \sin \Omega^1 t \cos \pi J t - 2I_x^1 I_z^2 \sin \Omega^1 t \sin \pi J t
 \end{aligned}
 \tag{3}$$

Fragen zu diesem Kapitel:

- 1.) Erklären Sie das Stern-Gerlach-Experiment? Wie wirkt sich die Erhöhung der Stärke des inhomogenen Magnetfelds auf das detektierte Signal aus?
- 2.) Welche wichtige NMR-Größe kann man mit Hilfe des Rabi-Experiments messen?
- 3.) Woher kennen Sie die Bezeichnung Spins in der Chemie?
- 4.) In welchem funktionalen Verhältnis stehen das magnetische Moment von Kernen und deren Spin? Wie nennt man die Proportionalitätskonstante?
- 5.) Berechnen Sie die Larmorfrequenz für ^1H , ^{13}C , und ^{15}N bei einer Magnetfeldstärke von 21T.
- 6.) Wie groß ist der Energieunterschied zwischen α - und β -Zustand bei einer Magnetfeldstärke von 21T?
- 7.) Was ist linear polarisierte elektromagnetische Strahlung, was ist zirkular polarisierte Strahlung? Zum Verständnis welcher optischen Eigenschaft von Molekülen spielt zirkular polarisiertes Licht eine entscheidende Rolle?
- 8.) Erklären Sie das Prinzip der Fouriertransformation. Diskutieren Sie verschiedene Fälle?
- 9.) Diskutieren Sie den Unterschied zwischen CW-Spektroskopie und FT-Spektroskopie am Beispiel einer Gitarre. Neben einer Gitarre stehen Ihnen noch ein Mikrophon und ein Oszilloskop zur Verfügung. Das Oszilloskop hat eine eingebaute Fouriertransformationsroutine.
- 10.) Wieso braucht man zwei phasenempfindliche Detektoren (ADCs)?
- 11.) Welche Arten von Relaxation unterscheidet man und wie kann man die messen?
- 12.) Erklären Sie mit einem einfachen Bild, wie skalare Kopplung zustande kommt.