

Relaxation – Rückkehr zum Gleichgewicht

Relaxation ist für die NMR-Spektroskopie wichtig, weil die Messung durch **Störung** des **Gleichgewichts** erfolgt.

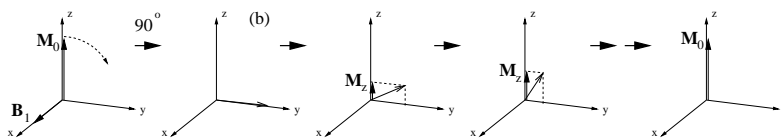
- Ist die Relaxation **schnell**, so darf man z.B. 1024 FIDs in **kürzer** Zeit messen (keine extra Zeit zwischen den Pulsen) bzw. wird das in einer bestimmten Zeit erreichbare Signal/Rausch-Verhältnis (S:N) **groß**.
- Umgekehrt, wenn die Relaxation **langsam** ist, so sollte man mehr Zeit zwischen den einzelnen Pulsen lassen (z.B. 1-5 sek.). Die gesamte Messung dauert **länger**.

Weil das NMR-Experiment zylindrische Symmetrie besitzt (B_0 entlang der z-Achse und xy-Ebene senkrecht dazu), gibt es **zwei** Arten von Relaxation:

- Entlang das B_0 -Feld: die „longitudinale“ oder „Spin-Gitter“-Relaxation mit Zeitkonstante T_1 (wichtig für die **Messgeschwindigkeit**).
- In der xy-Ebene: die „transversale“ oder „Spin-Spin“-Relaxation mit Zeitkonstante T_2 (wichtig für die **Linienbreite/Auflösung**).

Longitudinale Relaxation: T_1

Wenn ein 90° -Puls entlang der x-Achse die Magnetisierung auf die y-Achse bringt, ist die z-Komponente M_z danach gleich **null** (b).



Der Gleichgewichtswert $M_z = M_0$ stellt sich exponentiell wieder ein (nach $5T_1$ ist $M_z = 0.99M_0$). Die Konstante T_1 ist die „**longitudinale** Relaxationszeit“.

$$\frac{dM_z}{dt} = \frac{M_0 - M_z}{T_1} \quad \text{bzw.} \quad M_z = M_0(1 - e^{-t/T_1})$$

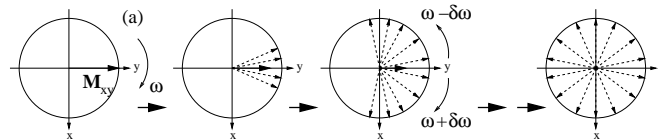
Die Bezeichnung „Spin-Gitter“-Relaxation bezieht sich auf die Wechselwirkung zwischen Spin und Kristall-Umgebung (Festkörper NMR).

Typische T_1 -Zeiten für ^1H -Kerne liegen zwischen **0.5 s** und **5 s**; für ^{13}C zwischen **1 s** und **100 s**. Wenn man sicher sein will, dass das System wieder im Gleichgewicht ist, muss man jedesmal **$5T_1$** zwischen den Pulsen warten!!

Transversale Relaxation: T_2

Die Gesamtmagnetisierung M ist die Summe der einzelnen Kernmagnete und liegt nach einem 90° -Puls entlang der y-Achse als M_{xy} vor. Die einzelnen Kernmagnete zeigen alle in die gleiche Richtung (Phasenkohärenz) und ihre Vektorsumme ist groß (a).

Würde auf alle Kerne das gleiche Magnetfeld B_0 wirken, bliebe M_{xy} für immer gleich groß. Aber die Kerne spüren den Einfluß ihrer magnetischen Nachbarn. Diese verursachen kleine lokale Magnetfelder, die mal mit und mal gegen B_0 gerichtet sind.

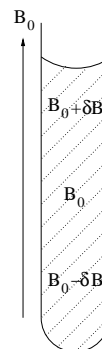


Die Kerne haben deshalb nicht alle die gleiche Larmor-Frequenz und verlieren ihre ursprüngliche „Phasenkohärenz“: M_{xy} wird immer kürzer. T_2 ist die „transversale Relaxationszeit“. Die Bezeichnung „Spin-Spin“-Relaxation bezieht sich auf die Wechselwirkung zwischen Spin-Nachbarn. In Flüssigkeiten sind die Zeiten T_1 und T_2 oft sehr ähnlich wenn nicht sogar gleich.

Die Kerne haben deshalb nicht alle die gleiche Larmor-Frequenz und verlieren ihre ursprüngliche „Phasenkohärenz“: M_{xy} wird immer kürzer. T_2 ist die „transversale Relaxationszeit“. Die Bezeichnung „Spin-Spin“-Relaxation bezieht sich auf die Wechselwirkung zwischen Spin-Nachbarn. In Flüssigkeiten sind die Zeiten T_1 und T_2 oft sehr ähnlich wenn nicht sogar gleich.

Linienbreite als Funktion von T_2^*

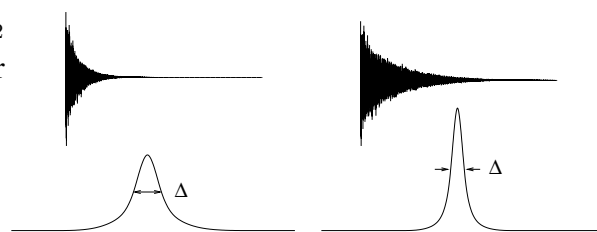
Die Kernmagnete fächern auseinander, weil ihre Nachbar-Spins fluktuierende Magnetfelder erzeugen und die Larmor-Frequenzen nicht alle identisch sind (T_2 -Relaxation). Ein ganz andere Grund, warum diese Frequenzen unterschiedlich sein können, ist eine Inhomogenität des angelegten Magnetfeldes B_0 . Diese instrumentelle Effekt überwiegt meistens. Beide Effekte summieren sich.



$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{2(\delta B)}}$$

Die Linienbreite $\Delta_{1/2}$ (Breite der Linie bei halber Höhe) hängt von T_2^* ab:

$$\Delta_{1/2} = \frac{1}{\pi T_2^*}$$



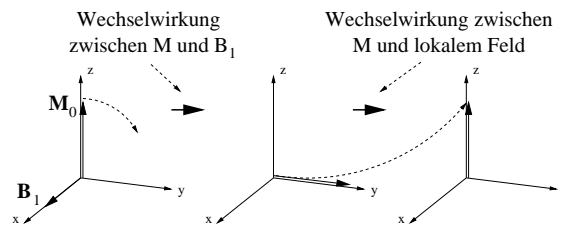
kürze T_2
schnelle Relaxation
breite Linien

lange T_2
langsame Relaxation
schmale Linien

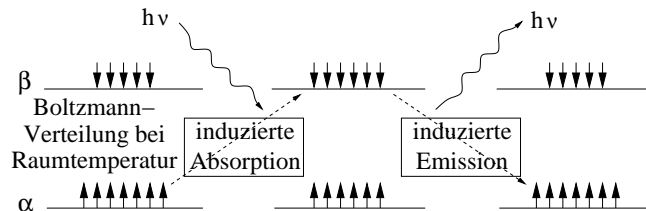
Relaxations-Mechanismen

1. „Spin-Gitter“-Relaxation

Der 90° -Puls fügt dem Spinsystem **Energie** zu. Nach dem Puls sind **genausoviel** Spins im β -Zustand wie im α -Zustand. Das Spinsystem versucht jetzt diese überflüssige Energie abzugeben.



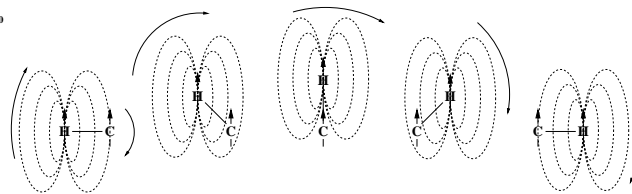
In der NMR-Spektroskopie findet diese Rückkehr **nur** über **induzierte** Emission statt. **Lokale** magnetische Felder, die mit der **Larmor**-Frequenz **fluktuieren**, haben eine ähnliche Wirkung auf den Spin wie das Magnetfeld B_1 und verursachen **Übergänge**, die eine Wiederherstellung des Gleichgewichts ermöglichen.



2. Dipol-Dipol-Wechselwirkung

Die Voraussetzung für einen erfolgreichen Energietransfer zwischen Spins und Umgebung ist ein **zeitabhängiges** Magnetfeld, das sich mit der **Larmor**-Frequenz fluktuiert. Es gibt mehrere Quellen für die lokalen Felder, aber am wichtigsten für Kerne wie ^1H und ^{13}C ist die Wechselwirkung mit magnetischen **Dipolen** in der **Nachbarschaft**. Die Zeitabhängigkeit kommt von der

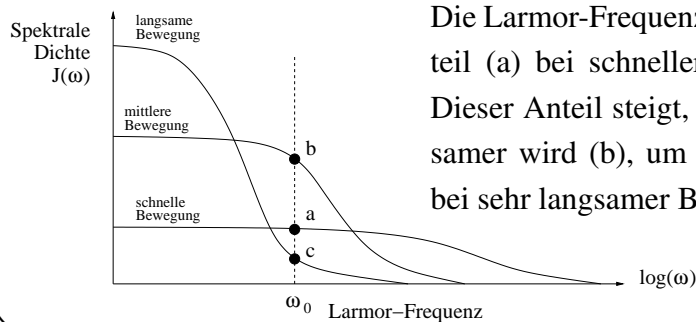
Brownsche Bewegung der Moleküle. Als Beispiel nehmen wir eine CH-Bindung in



einem rotierenden Molekül. Beide Kerne verhalten sich wie kleine Magnete, die sich im Feld B_0 ausrichten. Wenn das Molekül rotiert, sieht der C-Kern die Wechselwirkung mit dem H-Kern als ein **lokales Feld**, das mit der Rotationsgeschwindigkeit des Moleküls **moduliert** ist. Dieses Feld ist zu $\gamma_{\text{H}} r_{\text{CH}}^{-3}$ proportional; r_{CH} ist der Abstand zwischen C und H.

3. Die Zeitabhängigkeit

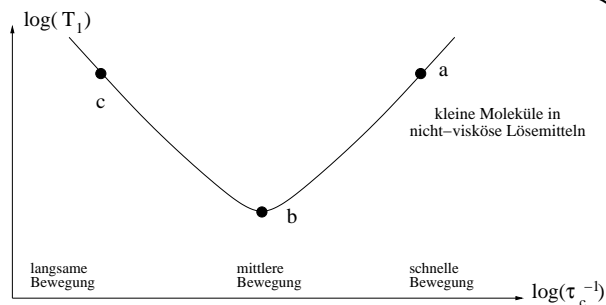
Übergänge können nur erzeugt werden, wenn die **lokalen** Felder mit der richtigen **Larmor**-Frequenz fluktuieren. Die zufällige Brownsche Bewegung der Moleküle streckt sich über einen breiten Frequenzbereich; diese Bewegung kann von einer **Korrelationszeit** τ_c beschrieben werden. τ_c ist etwa die Zeit, die ein Molekül braucht, um sich zu drehen. **Kurze** τ_c bedeutet **schnelle** Bewegung (kleine Moleküle/nicht-viskose Flüssigkeit) und **lange** τ_c das **Gegenteil** (große Moleküle/viskose Lösung). Die „spektrale Dichte“ $J(\omega)$ stellt die Frequenz-Streuung der Bewegung dar: wie die Bewegung auf verschiedenen Frequenzen **verteilt** wird.



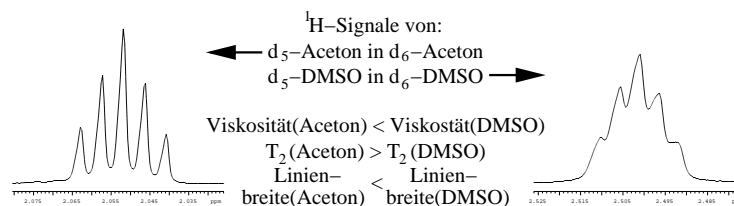
Die Larmor-Frequenz hat nur einen kleinen Anteil (a) bei schneller molekularer Bewegung. Dieser Anteil steigt, wenn die Bewegung langsamer wird (b), um nachher wieder zu sinken bei sehr langsamer Bewegung (c).

4. T_1 gegen τ_c

Die Relaxationszeit T_1 ist abhängig von der Korrelationszeit τ_c . Für kleine Moleküle in nicht-viskosen Lösemitteln ist T_1 ziemlich lang (Sekunden).



Wenn die Beweglichkeit **reduziert** wird z.B. durch **Erhöhung** der **Viskosität** oder Erniedrigung der Temperatur, wird die Relaxationszeit **kürzer**. Für Moleküle in diesem sogenannten „extreme narrowing limit“-Bereich sind die Relaxationszeiten T_1 und T_2 fast gleich. Eine Verkürzung von T_1 bzw. T_2 bedeutet u.a., dass die Linien breiter werden ($\Delta_{1/2} = 1/\pi T_2^*$).



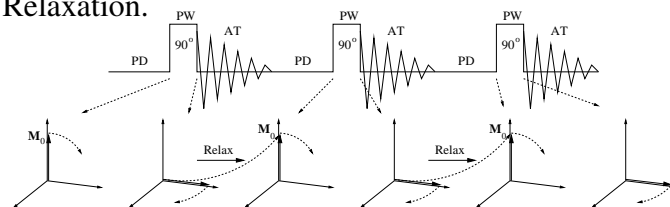
Auswirkungen der Relaxation

1. Einfluß der Relaxation auf die Meßdauer

- Messung mit **schneller** Relaxation.

Zwischen den Pulsen ist **genügend** Zeit für eine **vollständige** Rückkehr der Magnetisierung.

Jeder Puls bringt die **volle** Magnetisierung auf die xy-Ebene; das gemessene Signal ist ein Maximum und das S:N-Verhältnis ist **gut**.



- Messung mit **langsamer** Relaxation.

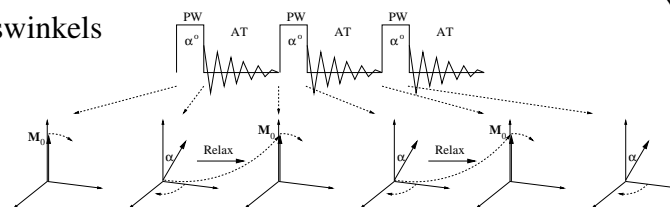
Um sicher zu gehen, dass die Magnetisierung vollständig entlang der z-Achse zurückgekehrt ist, könnte man eine längere Wartezeit PD wählen. Damit die Magnetisierung auf 99% zurückwächst, muss die Wartezeit $5T_1$ betragen. Für T_1 -Zeiten von einer Minute ist dies zu **lang**.

(z.B. Eine ^{13}C -Messung mit 1024 FIDs: $1024 \times 5 \times 1 \text{ Min.} = 85 \text{ Std.}$)

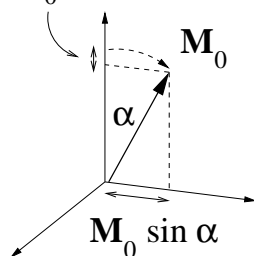
2. Wahl des geeigneten Pulswinkels

Eine bessere Methode ist eine **kurze** oder sogar **keine** Wartezeit zu benutzen und den

Pulswinkel zu verkleinern. Der optimale Winkel heißt „Ernst-Winkel“ α :



$$M_0 (1 - \cos \alpha)$$



$$\cos \alpha = \exp(-AT/T_1)$$

Vorteile:

- Die Relaxation geht **schnell**, weil der Verlust der z-Magnetisierung zu $(1 - \cos \alpha)$ proportional ist. Wenn α klein ist, ist $\cos \alpha \approx 1$.
- Das Meßsignal ist trotzdem vorhanden, weil für kleines α , $\sin \alpha \approx \alpha$ ist.

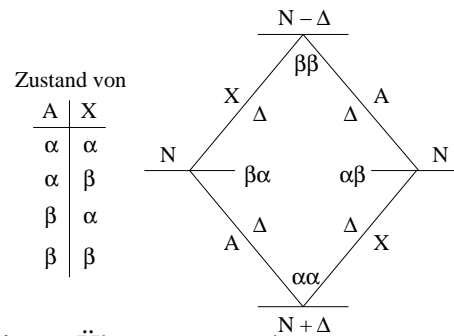
Weil T_1 nicht für alle Kohlenstoffe gleich ist, sind ^{13}C -Intensitäten nicht quantitativ. Signale von quartären Kohlenstoffe sind **schwach**, weil sie eine **längere** T_1 -Zeit haben.

3. Nuclear Overhauser Effect (NOE)

Den Kern-Overhauser-Effekt (NOE) definiert man als die Intensitätsänderung eines Signals in Folge der Einstrahlung auf ein anderes Signal.

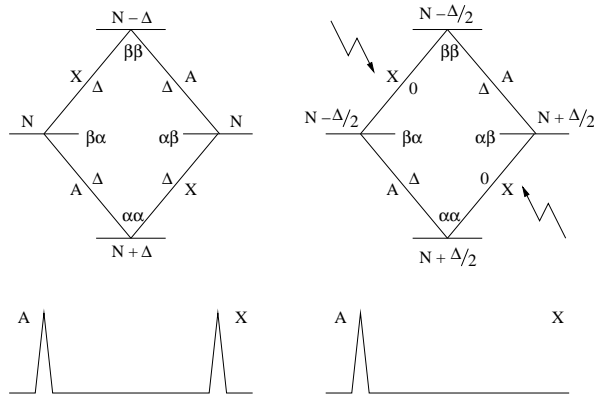
Wählen wir ein AX-System ($J_{AX} = 0$). Beide Kerne können **parallel** oder **antiparallel** zu B_0 gerichtet sein; also entweder in Zustand α oder β . Das System hat deswegen vier mögliche Zustände: $\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\alpha$ und $\beta\beta$.

Wenn $4N$ solche Systeme vorhanden sind, sehen das Energieniveauschema und die Besetzungszahlen so aus wie nebenan. Es gibt **4 Übergänge**, die paarweise entartet sind: $\alpha\beta \rightarrow \beta\beta$ und $\alpha\alpha \rightarrow \beta\alpha$ für A bzw. $\beta\alpha \rightarrow \beta\beta$ und $\alpha\alpha \rightarrow \alpha\beta$ für X.



Die **Intensitäten** der Signale, die zu diesen Übergängen gehören, entsprechen den **Differenzen** der Besetzungszahlen: $(N + \Delta) - N$ bzw. $N - (N - \Delta)$. Man erhält zwei Signale, A und X, mit **gleicher** Intensität

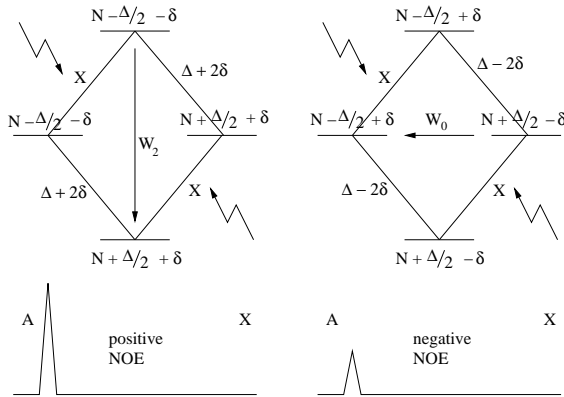
Wenn auf die X-Übergänge **eingestrahlt** wird (wie bei der Spin-Entkopplung, aber mit weniger Leistung), werden die Spins dazugebracht, immer hin und her zwischen **unterem** und **oberem** Energieniveau zu wechseln. Diese „Sättigung“



setzt die Besetzungszahlen beider Niveaus gleich. Wenn nichts dazwischen käme, hätten die X-Signale die Intensität **null** (weil die untere und obere Besetzungszahlen gleich sind) und die A-Signale hätten die **gleiche** Intensität wie vorher.

Das System ist aber nicht mehr im Gleichgewicht und wird versuchen, über einen Schleichweg wieder dahin zu kommen. Die zwei Pfade, die sich anbieten, sind $\alpha\beta \rightarrow \beta\alpha$ mit Wahrscheinlichkeit W_0 (Nullquantum Übergang) und $\beta\beta \rightarrow \alpha\alpha$ mit Wahrscheinlichkeit W_2 (Doppelquantum Übergang).

Die zwei **Übergänge** $\alpha\beta \rightarrow \beta\alpha$ und $\beta\beta \rightarrow \alpha\alpha$ sind nicht sichtbar (Auswahlregel: $\Delta m = \pm 1$), aber wenn die Dipol-Dipol-Wechselwirkung als Störung auftritt, können die Spins unbeaufsichtigt die zwei Wege W_0 und W_2 benutzen.



W_2 führt zu einer **erhöhten** Intensität des A-Signals; W_0 zu einer **verringerten** Intensität des A-Signals. Die Frage ist nur: welcher Mechanismus wird stärker sein?

W_2 entspricht einem Doppel-Quantum-Übergang und wird bevorzugt, wenn die spektrale Dichte $J(\omega)$ einen **hohen** Anteil an hoch-frequenten Komponenten hat, d.h. die Korrelationszeit τ_c **kurz** ist (kleine Moleküle/nicht-viskose Lösung). W_0 dagegen entspricht einem Null-Quantum-Übergang und wird bevorzugt, wenn τ_c **lang** ist (große Moleküle/viskose Lösung).

4. NOE für kleine Moleküle

Eine nützliche Anwendung des NOEs ist die **qualitative** Bestimmung von **Entfernungen** in kleinen Molekülen. Die Ursache des NOEs ist die Relaxation durch Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen Nachbarn. Die Relaxationsgeschwindigkeit wird gegeben durch:

$$\frac{1}{T_1} \approx \gamma_A^2 \gamma_X^2 r_{AX}^{-6} \tau_c$$

Wegen der sehr starken Abhängigkeit des NOEs auf den **Abstand** zwischen A und X, kann man sehen, dass eine große Intensitätsänderung nur zu erwarten ist, wenn A und X **enge Nachbarn** sind.

Der Verstärkungsfaktor η lässt sich anhand der Intensitäten definieren mit:

$$I_{\text{mitNOE}}^A = I_{\text{ohneNOE}}^A (1 + \eta)$$

und die maximale Verstärkung wird gegeben als:

$$\eta_{\text{max}} = \frac{\gamma_X}{2\gamma_A}$$

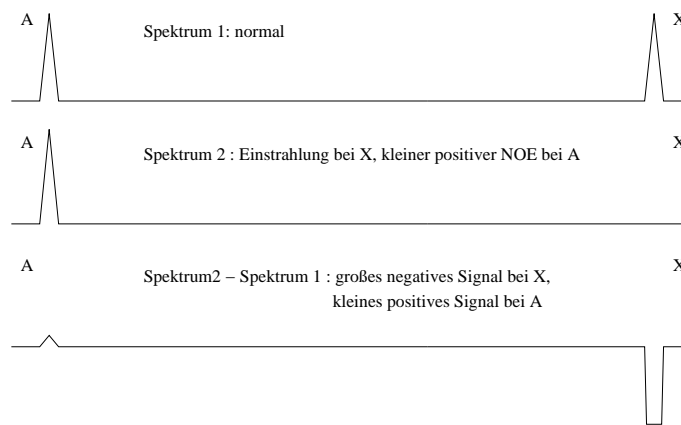
A	{X}	η_{max}
^1H	^1H	0.5
^{13}C	^1H	1.99
^{15}N	^1H	-4.93

für kurze τ_c , also für **kleine** Moleküle in **nicht-viskoser** Lösung.

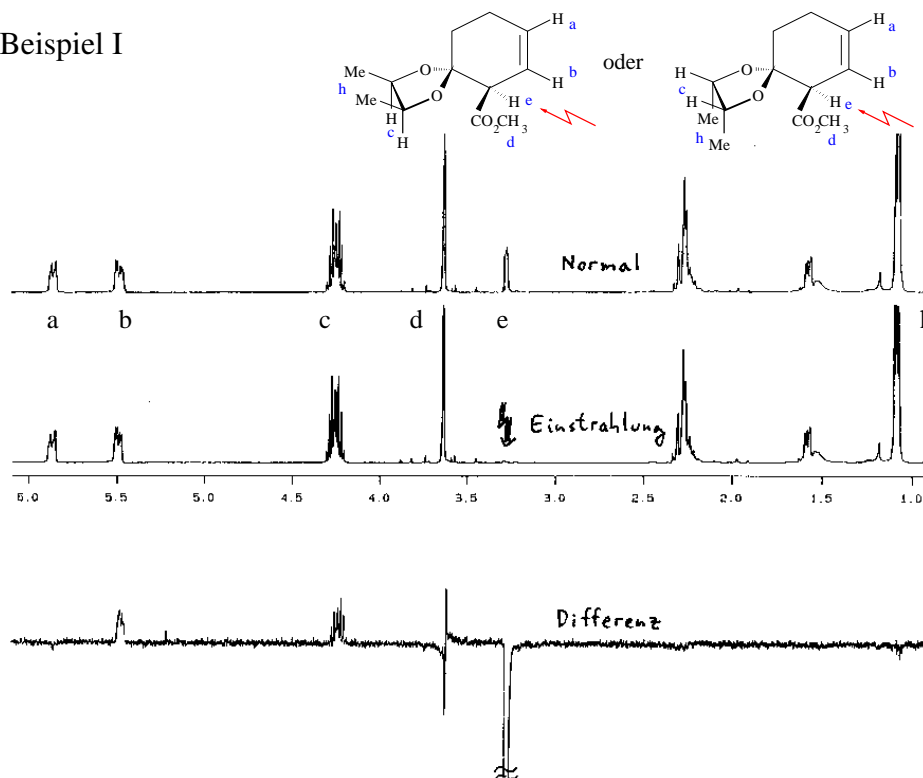
5. NOE-Differenz-Spektroskopie

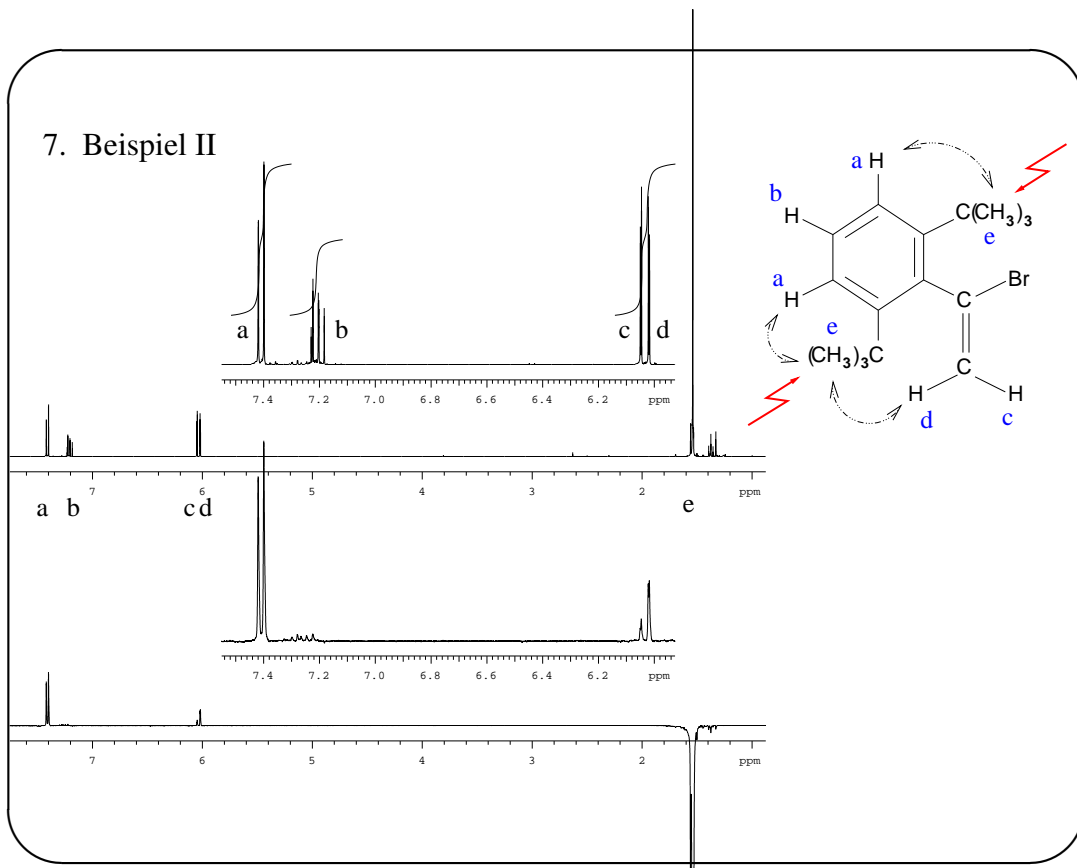
Für ein Proton-Proton-System erwartet man eine maximale Verstärkung um **50%**, aber weil viele Faktoren eine Rolle spielen, sind kleinere Verstärkungen durchaus möglich. Um diese zu messen, benutzt man eine „Differenz“-Methode: zuerst wird das normale Spektrum gemessen, dann das „NOE“-Spektrum und letztendlich wird die **Differenz** gebildet.

Das Differenz-Spektrum zeigt ein sehr großes **negatives** Signal bei der einstrahlten Frequenz und kleine **positive** Signale, die auf einen positiven NOE deuten.



6. Beispiel I





8. ^{13}C -Spektren

Eine Verstärkung des C-Signals um einen Faktor

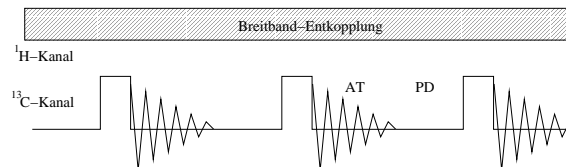
$$\eta_{\max} = 1.99 \text{ ist möglich}$$

für ein CH-System, wenn auf das Proton **eingestrahlt** wird (Tabelle: S. 7).

^{13}C -Spektren werden normalerweise immer mit Breitband- ^1H -Entkopplung aufgenommen, wobei die Protonen ständig unter Einstrahlung stehen. Die ^{13}C -Signale werden um einen Faktor 3 ($1 + 1.99$) **größer**. Dafür muß die Dipol-Dipol-Wechselwirkung zwischen ^{13}C und ^1H wirksam sein.

Weil diese Wechselwirkung von r_{CH}^{-6} abhängig ist, erwarten wir eine Vergrößerung der Signale von **protonierten** ^{13}C s um den Faktor **3**, aber eine minimale (keine) Vergrößerung für **quartäre** ^{13}C s, die viel weiter vom nächsten Proton entfernt sind.

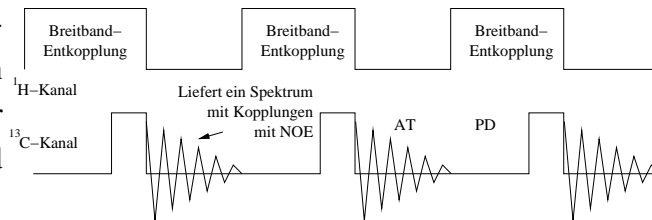
Letzendlich sind in Proton-entkoppelten ^{13}C -Spektren ($\{^1\text{H}\}$ - ^{13}C -Spektren) die Signale von quartären ^{13}C s deutlich kleiner als die von protonierten ^{13}C s; erstens wegen dieses fehlenden NOEs und zweitens, weil die **T_1 -Zeiten** relativ lang sind (keine vollständige Relaxation zwischen den Pulsen).



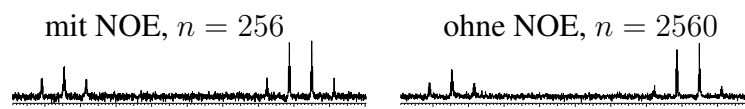
9. Gated-Decoupling

Manchmal ist ein ^1H -gekoppeltes ^{13}C -Spektrum nützlich, weil die Kopplungen von Bedeutung sind. Wenn der Proton-Entkoppler **ausgeschaltet** wird, verlieren wir aber den **NOE**. Dieser liefert eine Vergrößerung der Signalintensität um einen Faktor 3. Ohne NOE müssen wir **9mal** länger messen, um die gleiche Signalintensität zu bekommen ($S : N \approx \sqrt{n}$).

Um den NOE zu behalten und die Kopplungen zu bekommen, müssen wir den Entkoppler während der **Aufnahme** des FIDs

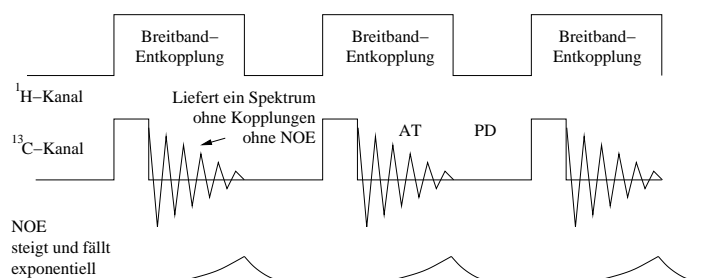


ausschalten (die Kopplungen sind sofort da, aber der NOE verschwindet langsam) und in der PD-Zeit wieder **einschalten** (NOE baut sich langsam wieder auf). Beispiel: die Ethyl-Gruppe von Ethylbenzol.



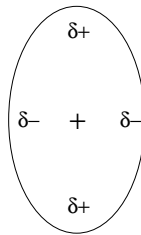
10. Inverse Gated-Decoupling

Manchmal möchte man ein **quantitatives** entkoppeltes ^{13}C -Spektrum haben, nur mit **Singulets** aber mit Signalen, deren **Integrale** nutzbar sind. Natürlich muss man den Pulswinkel reduzieren und/oder lange Zwischenzeiten einbauen (Pulse Delay). Aber der NOE muss auch **inaktiviert** werden. Dies gelingt, indem man den Entkoppler während der **PD-Zeit** ausschaltet und dann während der **FID-Aufnahme** wieder einschaltet.



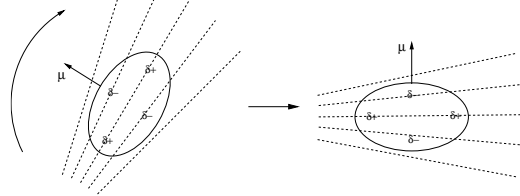
11. Quadrupolare Kerne

Kerne mit $I > \frac{1}{2}$ besitzen einen **elektrischen** Quadrupolmoment Q , der sich als eine **nicht-sphärische** Verteilung der Kernladung darstellen lässt.



Kern	I	$Q(\text{barn})$
^2H	1	2.8×10^{-3}
^6Li	1	-8×10^{-4}
^{14}N	1	1×10^{-2}
^{35}Cl	$\frac{3}{2}$	-0.1
^{37}Cl	$\frac{3}{2}$	-7.9×10^{-2}

Diese nicht-sphärische elektrische Ladung des Kernes kann mit einem internmolekularen elektrischen **Feldgradient** wechselwirken. Dies hat zur Folge, dass der Kern mitgeschleppt wird, wenn das Molekül mitsamt seinem Feldgradient rotiert.



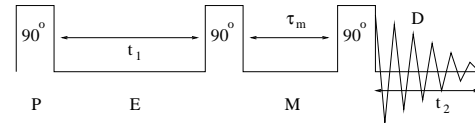
Weil das **magnetische** Moment fest in dem Kern verankert ist, wird er mitgeschleppt. Es kommt verstärkt zu Übergängen zwischen den Energieniveaus: die Relaxation wird begünstigt.

Daraus kann man folgendes ableiten:

- Quadrupolare Kerne relaxieren **schneller** als Kerne mit $I = \frac{1}{2}$: wie schnell hängt vom Quadrupolmoment ab. ^6Li verhält sich wie ein Kern mit $I = \frac{1}{2}$, ^2H ebenso, ^{14}N relaxiert deutlich schneller und die Halogene Cl und Br relaxieren sehr schnell.
- Je **schneller** die Relaxation, um so **breiter** die Linien.
- Die **Kopplung** zu schnell relaxierenden Kernen wird beeinträchtigt. Um eine Kopplungsaufspaltung J_{AX} zwischen A und X bei A registrieren zu können, muss der Kern X eine **Verweildauer** in seinem Energieniveau länger als J_{AX}^{-1} haben. Falls X rasch zwischen all seinen Niveaus wechselt, hat man eine Art „interne Entkopplung“ und die Aufspaltung bei A verschwindet.
- Für die ^1H - und ^{13}C -Spektroskopie bedeutet das:
 - Kopplung zu Deuterium ist **immer** sichtbar.
 - Kopplung zu ^{14}N ist **manchmal** sichtbar.
 - Kopplung zu Cl und Br ist **nie** sichtbar.

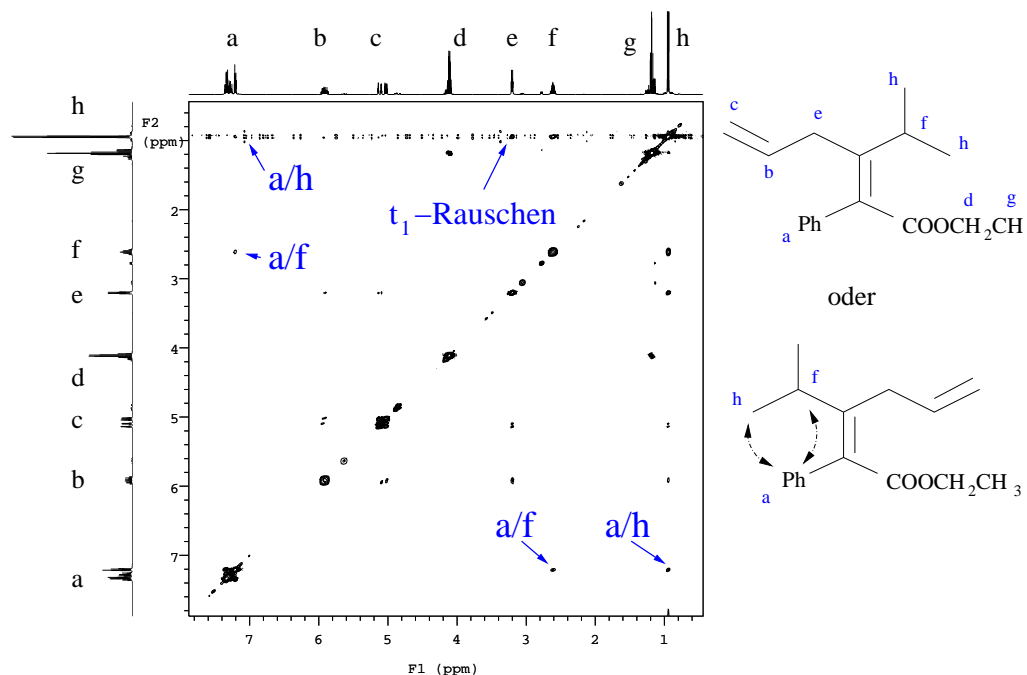
11. Das NOESY -Experiment

Die zwei wichtigsten homonuclearen 2D-Experimente sind COSY und NOESY. Während COSY die Kopplungen zwischen Kernen zeigt, ist der NOE für die Cross-Peaks in NOESY-Spektren verantwortlich. Die Pulssequenz für NOESY ist einfach.

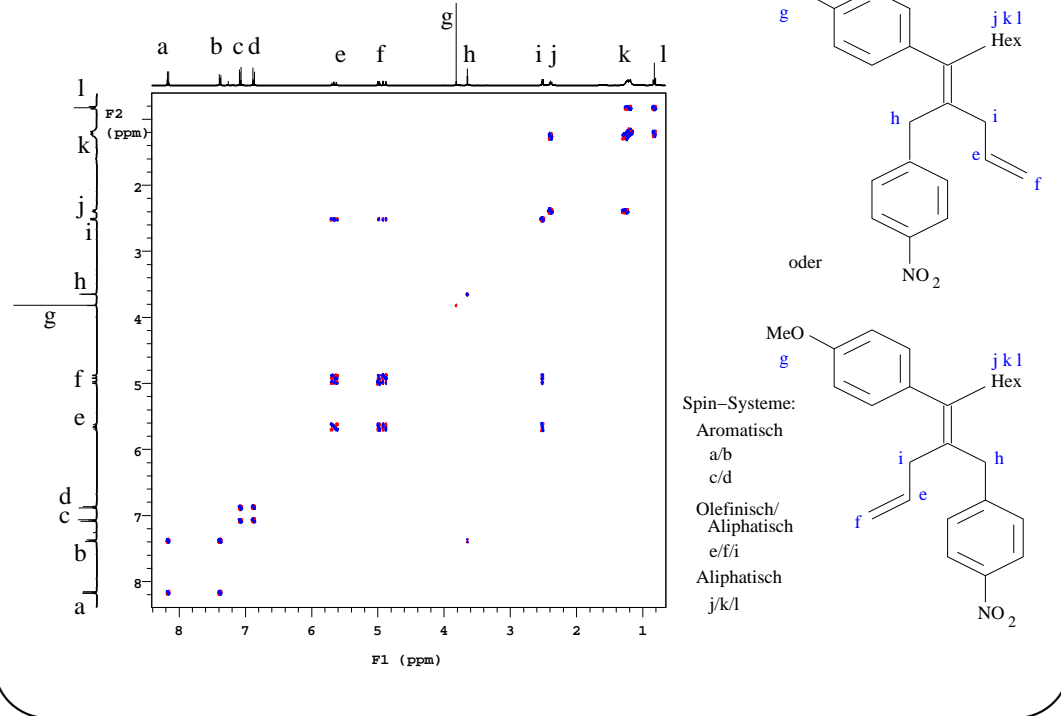


In COSY wird die xy-Magnetisierung sofort nach dem zweiten Puls gemessen. NOESY dagegen arbeitet mit der z-Magnetisierung. Weil die z-Magnetisierungen nach dem zweiten Puls nicht mehr in Gleichgewicht sind, kann ein Magnetisierungsaustausch zwischen zwei Kernen A und X über den Dipol-Dipol-Mechanismus stattfinden. Wie wir gesehen haben, ist dies nur wirksam, wenn der Abstand r_{AX} klein ist. Als Ergebnis gibt es einen Cross-Peak für A und X, deren Intensität u.a. von r_{AX} abhängt: Kerne, die nah beieinander liegen, haben große Cross-Peaks und Kerne, die weit entfernt sind, haben kleine oder gar keine Cross-Peaks.

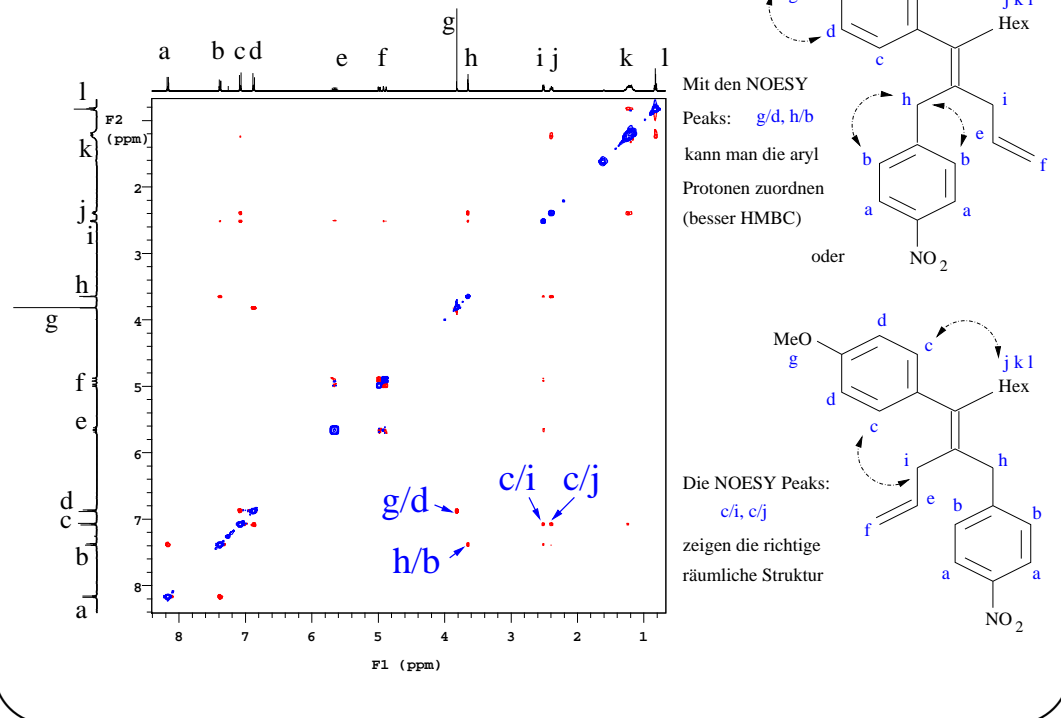
12. Anwendung von NOESY-Spektren: Beispiel I



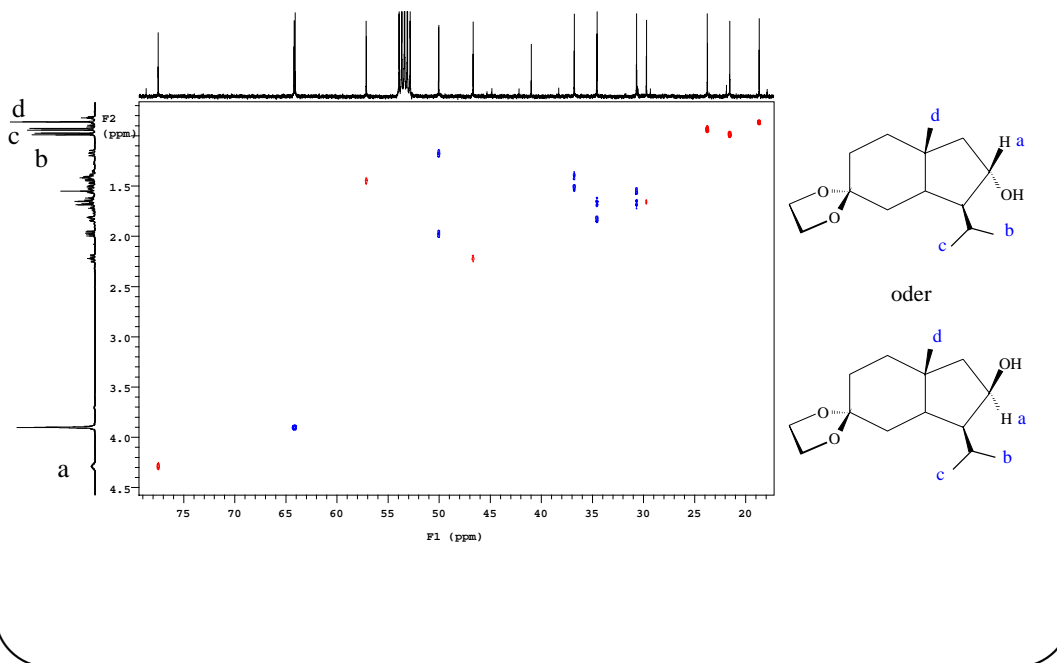
13. Kombinierte Anwendung I (COSY)



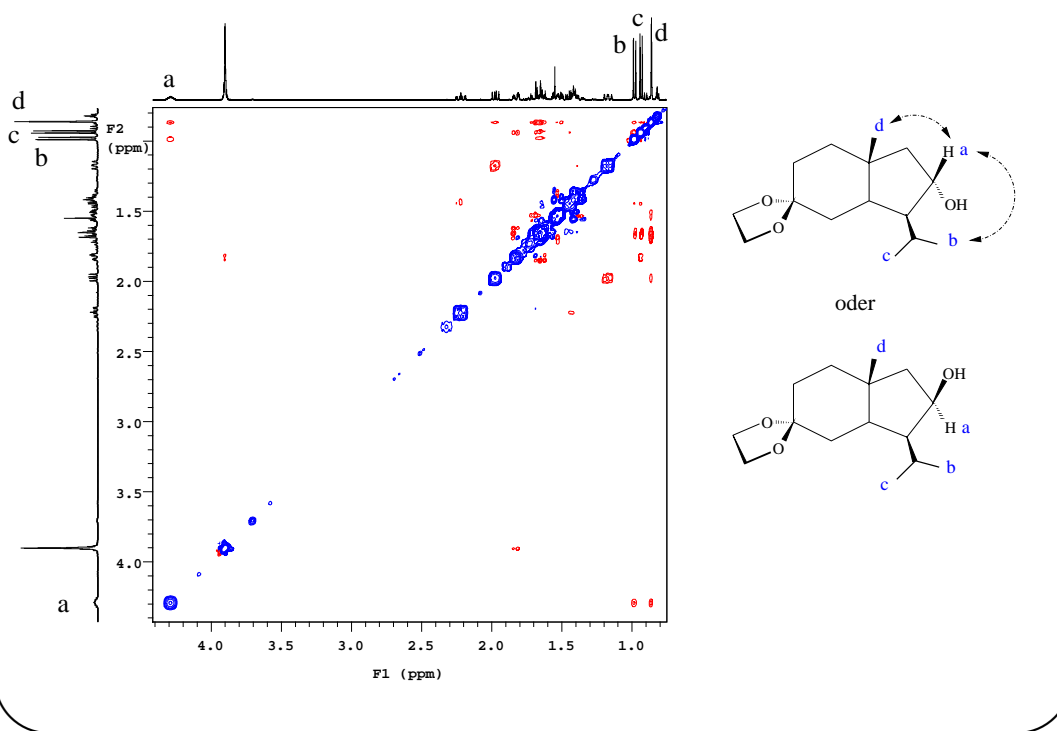
13. Kombinierte Anwendung I (NOESY)



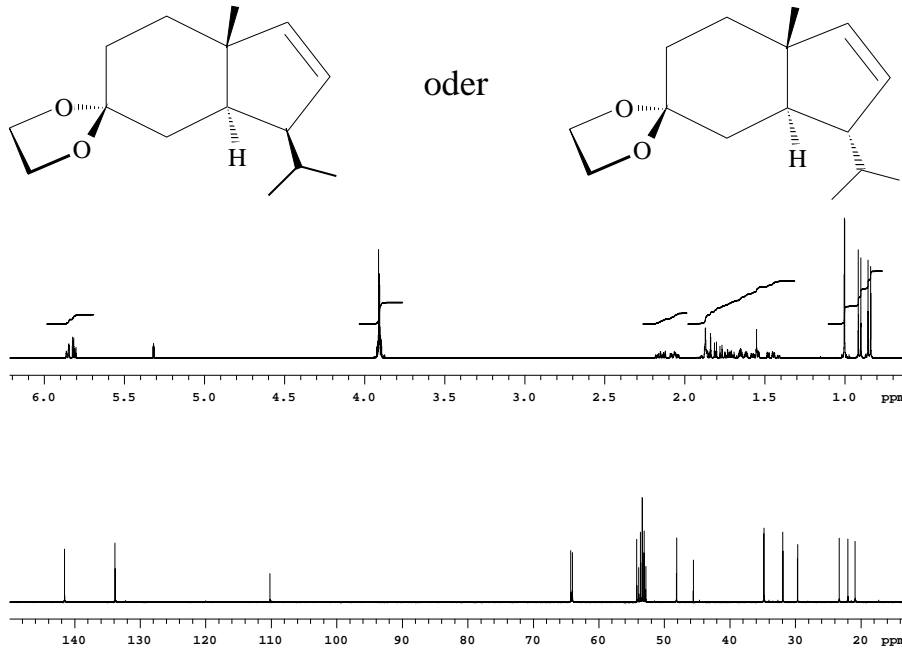
14. Kombinierte Anwendung II (HSQC)



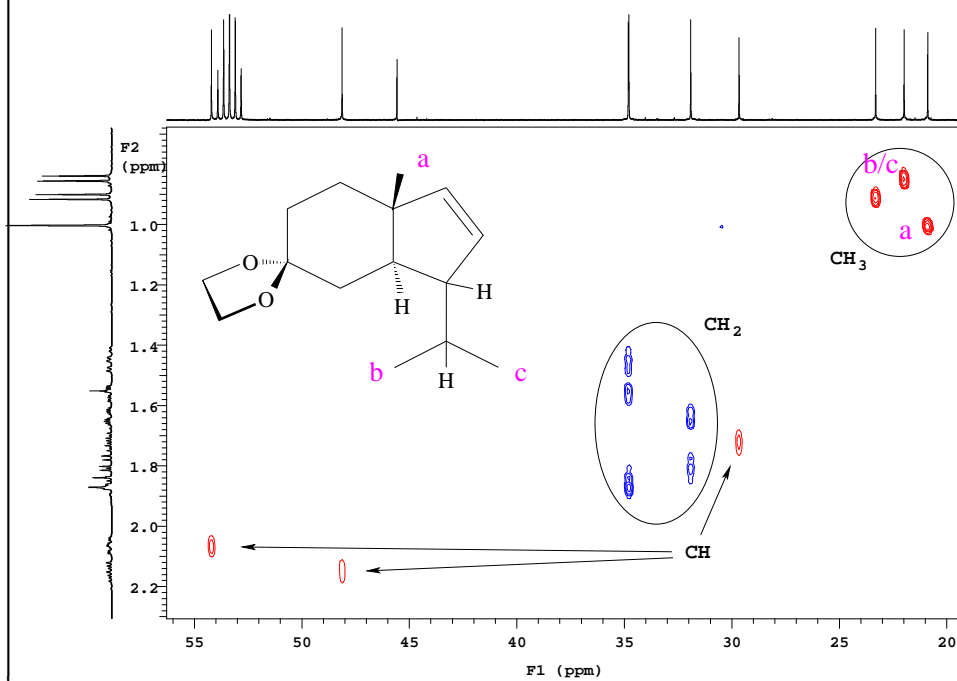
14. Kombinierte Anwendung II (NOESY)



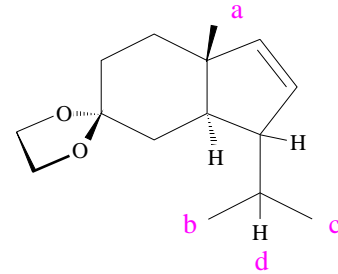
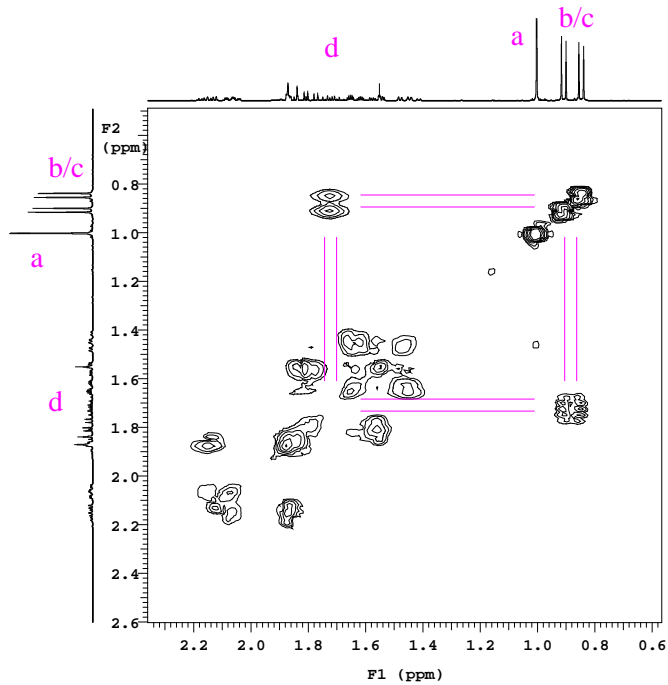
15. Kombinierte Anwendung III



15. Kombinierte Anwendung III (HSQC)



15. Kombinierte Anwendung III (COSY)



15. Kombinierte Anwendung III (NOESY)

