

gelöste Peroxyd bei nur geringer Nachlieferung aus dem Bodenkörper; schließlich wird von B ab diese Nachlieferung zum geschwindigkeitsbestimmenden Schritt. Die Auflösung des Niederschlages verläuft

also langsamer als der Peroxydzerfall in der Lösung. Die Verzögerung der  $\text{UO}_4$ -Auflösung bedeutet nach einmal erfolgter Abscheidung eine erhebliche Erschwerung der Wiederinbetriebnahme des Reaktors.

## Messung kernmagnetischer Relaxationszeiten in Hochauflösung mittels schneller adiabatischer Passagen

HANS LÜTJE

Institut für Physikalische Chemie der Universität Mainz

(Z. Naturforsch. **25 a**, 1764—1680 [1970]; eingegangen am 23. Juli 1970)

The nuclear magnetic relaxation times  $T_1$  and  $T_2$  may be determined by observing the relaxation that follows after a stop of an adiabatic fast passage at different points of the resonance signal.

High resolution measurements are possible with external proton stabilization during the relaxation process if the chemical shifts are larger than 1 ppm and the relaxation times are longer than 1 sec. If no high resolution is required the lower limit is 0.2 seconds. Relaxation measurements are possible using conventional NMR-spectrometers without additional equipment. Since the signal to noise ratio is favourable, rather dilute solutions may be investigated. Relaxation measurements on benzene, on 4 different protons of 4-dimethylamino-benzaldehyde and on polyethylene oxide in solution are reported.

### Einleitung

Die kernmagnetischen Relaxationszeiten  $T_1$  und  $T_2$  sind wichtige molekularphysikalische Parameter<sup>1-3</sup> bei der Untersuchung der Nahordnung und der Mikrodynamik in Festkörpern, Flüssigkeiten und Gasen. Die Relaxation wird durch Schwankungen der lokalen Magnetfelder bewirkt und reagiert daher empfindlich auf Veränderungen der räumlichen Anordnung benachbarter Kernspins und ihrer thermischen Bewegung.

Bei den vorliegenden Messungen wurde nach dem Anhalten einer adiabatischen schnellen Passage das Dispersionssignal aufgezeichnet. Bei konstanter Frequenz und bei hoher Leistung des Senders wurde dazu der Resonanzbereich durch lineare Variation des äußeren Magnetfeldes in wenigen Sekunden durchfahren. Nach dem Anhalten der Passage im Resonanzzentrum oder in der Signalflanke wurde

die zeitliche Änderung des Dispersionssignales bei konstanter Magnetfeldstärke verfolgt.

Infolge der hohen Senderleistung erhält man ein sehr günstiges Signal-Rausch-Verhältnis, so daß verdünnte Lösungen (oder auch Gase) gut untersucht werden können. Das Verfahren ist auf  $T_{1,2} > 0,2$  sec beschränkt und daher für Festkörper nicht geeignet. Andererseits stören Anteile mit  $T_{1,2} < 1$  sec, wie sie z. B. in Polymerlösungen auftreten, die Messung längerer Relaxationszeiten praktisch nicht.

Bei ausreichend großen chemischen Verschiebungen sind  $T_1$ -Messungen an einzelnen Resonanzlinien möglich.

$T_1$ -Messungen an einzelnen Protonensignalen sind unter erheblich größerem experimentellen Aufwand kürzlich auch mit Impulsspektrometern<sup>4-5</sup> ausgeführt worden. Für Spektrometer normaler Bauart bleibt nur die Möglichkeit, den Signalanstieg nach Sättigung<sup>6,7</sup> oder nach einer adiabatischen Pas-

Sonderdruckanforderungen an Dr. H. LÜTJE, Kunststofflaboratorium der Badischen Anilin- und Soda-Fabrik, D-6700 Ludwigshafen.

<sup>1</sup> A. ABRAGAM, *The Principles of Nuclear Magnetism*, Oxford University Press, New York 1961.

<sup>2</sup> O. JARDETZKY, in: *Adv. Chem. Physics*, Bd. 7, S 205, Interscience, New York 1964.

<sup>3</sup> H. G. HERTZ, in: *Progress in NMR-Spectroscopy*, Bd. 3, S. 159, Pergamon Press, London 1967.

<sup>4</sup> R. L. VOLD, J. S. WAUGH, M. P. KLEIN u. D. E. PHELPS, *J. Chem. Phys.* **48**, 3831 [1968].

<sup>5</sup> R. FREEMAN u. H. D. W. HILL, *J. Chem. Phys.* **51**, 3140 [1969].

<sup>6</sup> A. L. VAN GEET u. D. N. HUME, *Anal. Chem.* **37**, 983 [1965].

<sup>7</sup> J. E. ANDERSON u. R. ULLMAN, *J. Phys. Chem.* **71**, 4133 [1967].



sage<sup>8-10</sup> zu verfolgen. Da in diesen Fällen stets das Absorptionssignal gemessen wird, muß die Senderleistung möglichst niedrig gehalten werden, um zusätzliche Sättigungseffekte zu vermeiden. Daher ergeben sich sehr ungünstige Signal-Rauschverhältnisse und entsprechend geringe Empfindlichkeiten.

### Grundlagen

Unter dem Einfluß eines statischen Magnetfeldes  $H_z$  resultiert aus den Kernspins ein magnetisches Moment  $\mathbf{M}$ . Untersucht wird die Wechselwirkung mit einem hochfrequenten elektromagnetischen Wechselfeld  $H_1$ , das in einer zu  $H_z$  senkrechten Ebene mit der Kreisfrequenz  $\omega$  umläuft. Für die Komponenten von  $\mathbf{M}$  gelten dann die bekannten Blochschen Gleichungen, dabei ist  $M_z$  die Komponente in  $z$ -Richtung, die Komponenten  $u$  und  $v$  liegen in der dazu senkrechten  $x, y$ -Ebene, wobei  $u$  die in Phase mit  $H_1$  umlaufende Komponente und  $v$  die mit einer Phasenverschiebung von  $\pi/2$  zu  $H_1$  umlaufende Komponente von  $\mathbf{M}$  ist. Mit Hilfe eines phasempfindlichen Detektors können das Absorptionssignal (proportional  $v$ ) und das Dispersionssignal (proportional  $u$ ) getrennt erfaßt werden.

Wir verwenden die Blochschen Gleichungen in einer von BLOOM<sup>11</sup> erweiterten Form, wobei der Parameter  $r$  die Rückwirkung des in der Detektorspule induzierten Stromes angibt. Diese Rückwirkung bedingt zusätzliche Energieverluste des Spinsystems und wird auch als Strahlungsdämpfung<sup>12</sup> bezeichnet. Zur Vereinfachung der Schreibweise wird

$$\tau = \gamma H_1 t, \quad \alpha = 1/\gamma H_1 T_1, \quad \beta = 1/\gamma H_1 T_2$$

und

$$\delta = (\gamma H_z - \omega) / \gamma H_1 = \text{ctg } \Theta$$

eingeführt. Dabei ist  $\Theta$  der von  $H_{\text{eff}}$  und  $H_z$  eingeschlossene Winkel.  $\mathbf{M}$  schließt mit  $H_z$  den Winkel  $\varphi$  ein. Es gilt:

$$du/d\tau + \beta u + \delta v = -r u M_z, \quad (1)$$

$$dv/d\tau + \beta v - \delta u + M_z = -r v M_z, \quad (2)$$

$$dM_z/d\tau + \alpha M_z = \alpha M_0 + r(u^2 + v^2). \quad (3)$$

Aus  $u^2 + v^2 = M^2 \sin^2 \varphi$  und  $M_z = M \cos \varphi$  folgt

$$u(du/d\tau) + v(dv/d\tau) = M(dM/d\tau) \sin^2 \varphi + M^2 \sin \varphi (d\varphi/d\tau) \cos \varphi, \quad (4)$$

$$dM_z/d\tau = (dM/d\tau) \cos \varphi - M \sin \varphi (d\varphi/d\tau). \quad (5)$$

Damit können Gl. (1) und Gl. (2) addiert und mit Gl. (3) kombiniert werden.

Man erhält für die Zeitabhängigkeit des Betrages von  $\mathbf{M}$

$$dM/d\tau = -M(\alpha \cos^2 \varphi + \beta \sin^2 \varphi) + \alpha M_0 \cos \varphi. \quad (6)$$

Der Betrag von  $\mathbf{M}$  wird nur durch echte Relaxationsvorgänge verändert. Bei der Ableitung von Gl. (6) wurden keinerlei einschränkende Voraussetzungen gemacht. Sie gilt auch bei Strahlungsdämpfung ( $r > 0$ ) und zeitlich veränderlichem  $\varphi$  unabhängig von der Größe von  $H_1$ . Gleichung (6) beschreibt auch die Einschwingvorgänge beim plötzlichen Einschalten eines starken Senders oder die Relaxation während einer adiabatischen Passage. Eine analoge Gleichung wurde auch von BONERA et al.<sup>13</sup> für die Relaxation nach dem Anhalten einer adiabatischen Passage angegeben. Dort wurde sie jedoch unter den stark einschränkenden Bedingungen  $\alpha \ll 1$ ,  $\beta \ll 1$ ,  $u = M \sin \Theta$  und  $\Theta = \varphi = \text{const}$  abgeleitet und nur für den Fall  $\Theta = 90^\circ$ , d. h. zur Bestimmung von  $T_2$ , praktisch angewandt.

Das hier angewandte Meßprinzip sei an Hand von Abb. 1 erläutert. Bei relativ hoher Senderlei-

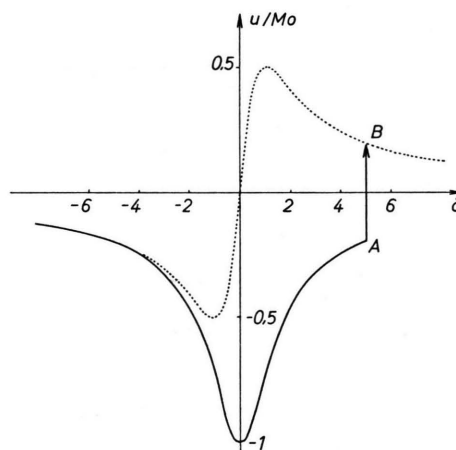


Abb. 1. Resonanzsignal [ $u$ -Komponente, (in Phase mit  $H_1$ ) als Funktion von  $H_z$  ( $\delta = (\gamma H_z - \omega) / \gamma H_1$ ) berechnet nach Bloch]. ..... langsamer Durchgang (Dispersionssignal)  $(1/H_1) (dH_z/dt) \ll 1/T_{1,2} \ll \gamma H_1$ . — schnelle adiabatische Passage (von links kommend, angehalten bei  $\delta=5$ )  $1/T_{1,2} \ll (1/H_1) (dH_z/dt) \ll \gamma H_1$ . A  $\rightarrow$  B Relaxation bei  $\delta=5$ .

<sup>8</sup> J. G. POWLES, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. **67**, 328 [1963].

<sup>9</sup> W. A. ANDERSON, in: NMR and EPR-Spectroscopy, S. 169, Pergamon Press, New York 1960.

<sup>10</sup> J. E. ANDERSON, J. STEELE u. A. WARWICK, Rev. Sci. Instrum. **38** 1139 [1967].

<sup>11</sup> S. BLOOM, J. Appl. Phys. **28**, 800 [1957].

<sup>12</sup> Vgl. dazu auch <sup>1</sup>, S 73.

<sup>13</sup> G. BONERA, L. CHIODI, L. GIULOTTO u. G. LANZI, Nuovo Cim. **14**, 119 [1959].

stung ( $H_1 \gg 1/\gamma T_2$ ) ist das konventionelle Absorptionssignal vollständig gesättigt und man kann nur in Phase mit  $H_1$  das breite Dispersionssignal  $u$  beobachten. Das ist die in Abb. 1 punktiert gezeichnete Kurve. Dazu muß die Resonanz so langsam durchfahren werden, daß in jedem Punkt durch Relaxationsvorgänge ein Gleichgewicht erreicht wird. Außerdem ist das Signal einer adiabatischen, schnellen Passage<sup>1</sup> angegeben. Dabei bleibt  $\mathbf{M}$  stets parallel  $H_{\text{eff}}(\Theta = \varphi)$ . Während des schnellen Durchgangs findet praktisch keine Relaxation statt. Nach dem Anhalten der adiabatischen Passage im Punkt  $A$  gilt  $\Theta = \varphi = \text{const.}$  Kernmagnetische Relaxation bewirkt eine Annäherung an den Gleichgewichtswert  $B$  mit der Relaxationszeit  $T$ . Aus Gl. (6) folgt

$$1/T = 1/T_2 + (1/T_1 - 1/T_2) \cos^2 \Theta. \quad (7a)$$

Die in verschiedenen Abständen vom Resonanzzentrum gemessenen Relaxationszeiten  $T$  ergeben bei Auftragung von  $1/T$  gegen  $\cos^2 \Theta$  einen linearen Zusammenhang. Extrapolation nach  $\cos^2 \Theta = 1$  ergibt  $1/T_1$ ,  $T_2$  kann im Resonanzzentrum direkt bei  $\delta = 0$  ( $\Theta = 90^\circ$ ) gemessen werden.

Zur Ermittlung von  $T_1$  werden die adiabatischen Passagen am besten bei  $\delta = 5$  angehalten. Der so erhaltene Meßwert  $T_1'$  erfordert nur eine kleine Korrektur:

$$1/T_1 = 1/T_1' - (1/T_2 - 1/T_1') \delta^{-2}. \quad (7b)$$

Werden die adiabatischen Passagen bei  $\delta = 0$  und bei  $\delta = 5$  ( $\cos^2 \Theta = 0,96$ ) angehalten, so macht das Korrekturglied nur 4% der ohnehin meist sehr kleinen Differenz  $1/T_2 - 1/T_1$  aus.

Allgemein gilt nach einer adiabatischen Passage von  $\Theta_1$  nach  $\Theta_2$ :  $M_x = M_0 \cos \Theta_1 \sin \Theta_2$ , der Gleichgewichtswert bei  $\Theta_2$  ist  $M_x = M_0 \cos \Theta_2 \sin \Theta_2$ . Für eine Relaxationsmessung steht daher die Signaländerung

$$\Delta M_x = M_0 (\cos \Theta_2 - \cos \Theta_1) \sin \Theta_2 \quad (8)$$

zur Verfügung. Bei der Ableitung von Gl. (8) wurde  $T_1 = T_2$  vorausgesetzt.

### Meßtechnik

Die Messungen wurden an einem Kernresonanzspektrometer DA 60 (Varian Ass., Palo Alto, Calif., USA) bei 60 MHz und externer Protonenstabilisation durchgeführt. Der Haltepunkt der adiabatischen Passagen konnte so genau und reproduzierbar fixiert werden. Für die adiabatischen Passagen wurden trapezförmige Spannungsimpulse [Funktionsgenerator LF 141 (Servo-

mex Controls, Crowborough, Sussex, England)] an die Helmholtz-Spulen im Probenkopf angelegt. Durch einen parallel geschalteten Spannungsimpuls an den Helmholtz-Spulen der Referenzprobe wurde der Sollwert der Magnetfeldregelung mitgeführt. Auf diese Weise wurde am Ende der Spannungsrampe sofort wieder eine optimale Stabilisierung des Magnetfeldes erreicht. Ein Nachschwingen der Magnetfeldregelung trat erst bei Anstiegszeiten der  $H_z$ -Rampe  $\Delta t < 0,6$  sec auf.

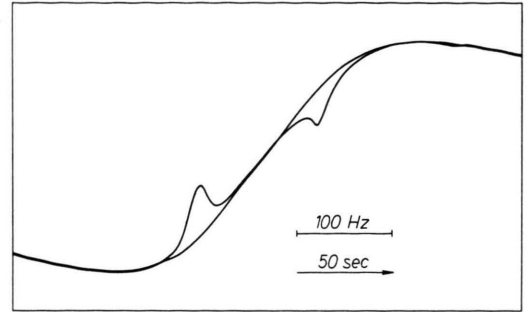


Abb. 2. Bestimmung von  $H_1$  bei ungedämpftem Sender. Dispersionssignal von  $H_2O$ , mit und ohne 130 Hz-Modulation.

Die Messungen erfolgten bei Senderfeldstärken zwischen 3 und 40 mGauß. Die effektive Senderleistung wurde durch Frequenzmodulation des Senders bestimmt. Der Abstand  $\Delta\nu$  der Modulationsbanden kann auch ohne die von ANDERSON<sup>14</sup> vorgeschlagene Zusatzschaltung zur Unterdrückung der Hauptbande genau gemessen werden (vgl. Abb. 2). Aus der Modulationsfrequenz  $\nu_m$  und  $\Delta\nu$  folgt<sup>14</sup>:

$$H_1 = \frac{2\pi}{\gamma} \sqrt{\nu_m^2 - \Delta\nu^2/4}. \quad (9)$$

Aus Abb. 2 erhält man für den ungedämpften Sender  $H_1 = 27$  mGauß und entsprechend bei 20 db Dämpfung  $H_1 = 2,7$  mGauß. Bei maximaler Senderleistung gilt  $H_1 = 39$  mGauß.

Zur Messung von  $T_1$  wurde eine Rampe  $\Delta H_z = 10 H_1$  (Anstiegszeit: 2 sec) nach Passieren des Resonanzentrums bei  $\delta = 5$  angehalten. Die adiabatischen Passagen zur Bestimmung von  $T_2$  endeten bei  $\delta = 0$ . Die anschließende Veränderung des Signales wurde auf dem eingebauten Flachbrettschreiber [oder auf einem Speicheroszillographen hp 141 (Hewlett-Packard GmbH, Frankfurt/Main)] als Funktion der Zeit aufgezeichnet (vgl. z. B. Abb. 6).

$T_{1,2}$ -Messungen sind für  $T_{1,2} > 1$  sec auch ohne Zusatzschaltung möglich. Dazu legt man die zu untersuchende Stelle des Dispersionssignales in den Nullpunkt der  $x$ -Achse des Schreibers. Durch konventionelle Betätigung des Schreibers kann dann eine adiabatische Passage zum Schreibernullpunkt hin durchgeführt werden. Dann entkoppelt man die  $x$ -Achse von der Magnetfeldregelung, so daß die Änderung des Dispersionssignales bei konstantem  $H_z$  als Funktion der Zeit aufgezeichnet werden kann.

<sup>14</sup> W. A. ANDERSON, in <sup>9</sup>, S. 164.

Lösungsmittel wurden durch mehrfaches Einfrieren und Wiederauftauen unter Vakuum entgast und durch Vakuumsublimation in Glaskugeln von 4 mm  $\phi$  überführt, die an einem dünnen Hals unter  $N_2$  abgeschmolzen wurden. Nichtflüchtige Substanzen wurden vor der Überführung des Lösungsmittels in den 4 mm-Glaskugeln durch Gefriertrocknung entgast. Durch das kleine Probenvolumen waren Konvektionsstörungen mit Sicherheit ausgeschlossen. Die Relaxationsmessungen erfolgten bei 31 °C. Die Meßgenauigkeit war 5%. Es wurden p. a. Substanzen verwendet (E. Merck, Darmstadt).

## Ergebnisse

### a) Benzol

Bei der longitudinalen Relaxationszeit  $T_1$  von Benzol besteht weitgehend Übereinstimmung zwischen älteren<sup>15</sup> und neueren<sup>16, 17</sup> Messungen. Die Ergebnisse für  $T_2$  divergieren z. Tl. erheblich (vgl. die Zusammenstellung bei WEISS<sup>18</sup>). Inzwischen gelang KOSFELD und OEHLMANN<sup>17</sup> und WEISS<sup>18</sup> eine experimentelle Bestätigung der theoretisch erwarteten Übereinstimmung  $T_1 = T_2$ . ANDERSON und LIU<sup>19</sup> finden unabhängig von der verwendeten Flüssigkeit konstante Differenzen der Meßwerte  $1/T_2' - 1/T_1 = 0,0236$  [sec<sup>-1</sup>] und korrigieren ihre  $T_2'$ -Messungen entsprechend. Andere Autoren<sup>20-23</sup> finden Differenzen bis zu 0,04.

Mittels adiabatischer Passagen wurde nach dem hier beschriebenen Verfahren für Benzol  $T_1 = 22,5$  sec gefunden in Übereinstimmung mit neuesten

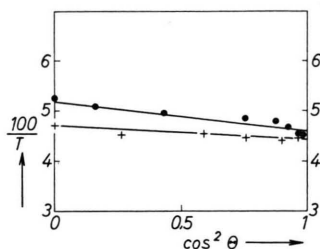


Abb. 3. Kernmagnetische Relaxation von Benzol bei Variation der Senderleistung ( $\delta = (\gamma H_z - \omega) / \gamma H_1 = \text{ctg } \Theta$ ). Abstand vom Resonanzzentrum: ● 0–80 Hz bei  $H_1 = 2,7$  mGauß, + 0–800 Hz bei  $H_1 = 39$  mGauß. Der Grenzwert bei  $\delta = 0$  ( $\cos \Theta = 0$ ) ist  $100/T_2$ . Extrapolation nach  $\delta = \infty$  ( $\cos \Theta = 1$ ) ergibt  $100/T_1$ .

Messungen anderer Autoren<sup>16, 17</sup>. Für Haltepunkte in der Nähe des Resonanzentrums wird eine schwache Abnahme der Relaxationszeit beobachtet (vgl. Abb. 3). Bei  $H_1 = 39$  mGauß wurde  $1/T_2' - 1/T_1 = 0,003$  [sec<sup>-1</sup>] gefunden.

Bei  $H_1 = 2,7$  mGauß machen sich kurzzeitige Regelschwankungen ( $\tau < T_{1,2}$ ) von  $H_z$  bemerkbar, die den Relaxationsvorgang u. U. stark beschleunigen. Dabei wird jedoch nur  $T_2'$  erheblich reduziert,  $T_1$  bleibt in jedem Fall unverändert. Auch nach einer Optimierung der  $H_z$ -Stabilisierung bleibt bei  $H_1 = 2,7$  mGauß eine Differenz  $1/T_2' - 1/T_1 = 0,007$  (vgl. Abb. 3). Die Stabilität des Gleichgewichtswertes, die empfindlich auf langzeitige Schwankungen des  $H_z$ -Wertes ( $\tau > T_{1,2}$ ) reagiert, war auch im schwierigsten Fall einer steilen Dispersionskurve ( $\delta = 0$ ;  $H_1 = 2,7$  mGauß) ausreichend. Änderungen der Homogenität des Magnetfeldes verursachten in weiten Grenzen keine erkennbaren Störungen. Eine Rotation der Proben war nicht erforderlich.

### b) 4-Dimethylaminobenzaldehyd (in Lösung)

Nachdem sichergestellt war, daß auch eine relativ kleine Senderleistung ( $H_1 = 2,7$  mGauß) Relaxationsmessungen mit ausreichender Genauigkeit erlaubt, wurde versucht, in einer komplizierten Verbindung die Relaxationszeiten der einzelnen Gruppen getrennt zu messen. Als Testsubstanz diente 4-Dimethylaminobenzaldehyd, da an dieser Verbindung kürzlich impulsspektrometrische  $T_1$ -Messungen<sup>5</sup> an einzelnen Linien durchgeführt wurden. Bei  $H_1 = 2,7$  mGauß können im Dispersionsspektrum (Abb. 4) vier Gruppen von Protonen unterschieden werden. Außer den Methyl- und den Aldehyd-Protonen sind auch die aromatischen Protonen in 2- und 3-Stellung deutlich getrennt. Die Spin-Spin-Kopplung der aromatischen Protonen ist jedoch nicht aufgelöst. In Abb. 4 ist außerdem der Bereich der durchgeführten adiabatischen Passagen angegeben. Im Anschluß an die halben adiabatischen Passagen, die im Zentrum der einzelnen Linien enden, wurde  $T_2'$  gemessen. Nach dem Anhalten bei  $\delta = 5$  wurde  $T_1'$  erhalten.

<sup>15</sup> G. W. NEDERBRAGT u. C. A. REILLY, J. Chem. Phys. **24**, 1110 [1956].

<sup>16</sup> A. M. PRITCHARD u. R. E. RICHARDS, Trans. Faraday Soc. **62**, 1388 [1966].

<sup>17</sup> R. KOSFELD u. L. OEHLMANN, Z. Instrumentenkde. **74**, 115 [1966].

<sup>18</sup> K. WEISS, Z. Instrumentenkde. **75**, 1 [1967].

<sup>19</sup> J. E. ANDERSON u. K. J. LIU, J. Chem. Phys. **49**, 2850 [1968].

<sup>20</sup> Z. LUZ u. S. MEIBOOM, J. Chem. Phys. **39**, 366 [1963].

<sup>21</sup> E. GRUNWALD u. E. PRICE, J. Amer. Chem. Soc. **86**, 2965 [1964].

<sup>22</sup> M. COCIVERA u. E. GRUNWALD, J. Amer. Chem. Soc. **87**, 2551 [1965].

<sup>23</sup> M. COCIVERA, J. Amer. Chem. Soc. **88**, 672 [1966].



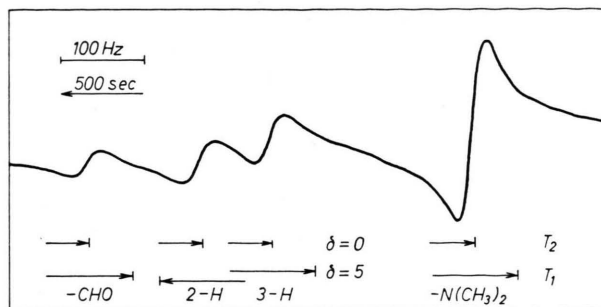


Abb. 4. 60 MHz-NMR-Spektrum von 4-Dimethylaminobenzaldehyd (Dispersionsignal, Lösungsmittel:  $C_6D_6$ ;  $H_1=2,7$  mGauß).

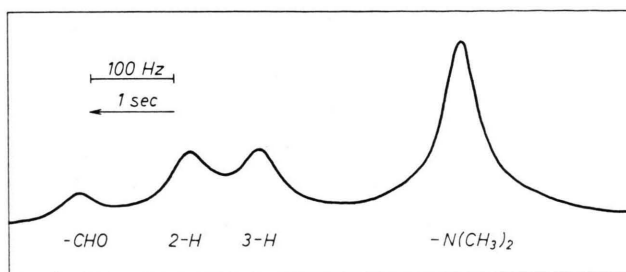


Abb. 5. 60 MHz-NMR-Spektrum von 4-Dimethylaminobenzaldehyd (Adiabatische Passage, Lösungsmittel:  $C_6D_6$ ,  $H_1=2,7$  mGauß). Gegenüber Abb. 4 wurde nur die Sweepgeschwindigkeit erhöht, alle übrigen Spektrometereinstellungen blieben unverändert.

Die Aufzeichnung eines Dispersionspektrums kann sehr langwierig sein. Zur Festlegung der Zentren der einzelnen Linien genügt eine schnelle (10 Hz/sec) adiabatische Passage durch das ganze Spektrum (vgl. auch Abb. 5).

Die Aldehyd-Protonen erzeugen das kleinste Signal. Das Beispiel der Abb. 6 zeigt, daß auch hier das Signal-Rauschverhältnis ohne Dämpfungsfilter

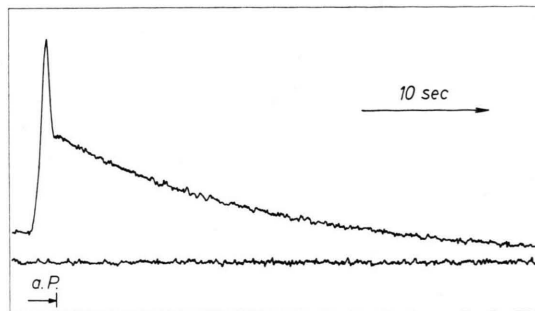


Abb. 6. Relaxation des CHO-Signales von 4-Dimethylaminobenzaldehyd nach einer adiabatischen Passage angehalten bei  $\delta=5$ , Wasserstoffkonzentration  $10^{-3}$  g/ml (a. P.:  $\Delta\nu = \gamma \Delta H_z/2 = 104$  Hz,  $\Delta t = 2$  sec,  $H_1 = 2,7$  mGauß).

für eine  $T_1$ -Messung ausreichend ist, obwohl die Protonenkonzentration nur 1/100 von der in Wasser ist.

Unter den angegebenen Bedingungen sind unge störte Messungen der einzelnen Gruppen möglich. Den Beitrag der Nachbargruppen kann man nach Gl. (8) leicht abschätzen. Danach ist auch bei den aromatischen Protonen die Distanz der beiden Signale so groß, daß keine Verfälschung der Relaxationsmessung zu befürchten ist. Nach der angegebenen adiabatischen Passage durch eine Gruppe trägt die andere nur 1,5% zu dem beobachteten Signal bei.

	Meßwerte		Korrigierte Werte <sup>a</sup>		Lit.- Werte <sup>b</sup>
	$T_1'$	$T_2'$	$T_1$	$T_2$	$T_1(CDCl_3)$
	( $\delta=5$ )	( $\delta=0$ )	[sec]	[sec]	[sec]
-CHO	17,0	13,8	17,1	15,3	12,4
2-H	12,5	8,3	12,8	8,8	9,4
3-H	8,4	8,2	8,4	8,8	5,3
-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	5,9	5,5	5,9	5,8	5,0

<sup>a</sup>  $T_1$  korrigiert nach Gl. (7 b),  $T_2$  korrigiert mit  $1/T_2 = 1/T_2' - 0,007$  (empirisch für  $H_1 = 2,7$  mGauß, vgl. Abb. 3).

<sup>b</sup> Impulsspektrometrische Messungen in  $CDCl_3$  von FREEMAN und HILL<sup>5</sup>.

Tab. 1. Kernmagnetische Relaxation von 4-Dimethylaminobenzaldehyd (Lösungsmittel:  $C_6D_6$ , Konzentration: 1 Mol/l).

Die bei  $\delta=5$  gemessenen Relaxationszeiten  $T_1'$  wurden nach Gl. (7 b) korrigiert. Die so erhaltenen  $T_1$ -Werte sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Die korrigierten  $T_2$ -Werte enthalten den aus den Benzolmessungen empirisch für  $H_1 = 2,7$  mGauß gefundenen Korrekturterm  $1/T_2' - 1/T_2 = 0,007$ . Zum Vergleich sind außerdem die in einem anderen Lösungsmittel ( $CDCl_3$ ) impulsspektrometrisch gemessenen  $T_1$ -Werte<sup>5</sup> mitaufgeführt.

Die Messungen zeigen, daß sich die Relaxationszeiten der chemisch verschiedenen Protonen in 4-Dimethylaminobenzaldehyd maximal um den Faktor 3 unterscheiden. Der entscheidende Mechanismus ist in allen Fällen die intramolekulare, magnetische Dipol-Dipol-Wechselwirkung. Das unterschiedliche Verhalten läßt sich zwanglos aus der Struktur deuten. Innerhalb der Methylgruppen ist diese Wechselwirkung besonders stark, da mehrere Protonen eng benachbart sind. Die Aldehyd-Protonen sind dagegen weitgehend isoliert und haben daher die längste Relaxationszeit. Mit wachsendem Abstand von den Methylgruppen nimmt auch die Relaxationszeit der aromatischen Protonen zu.

Ob die gefundenen Unterschiede zwischen  $T_1$  und  $T_2$  signifikant sind, muß offen bleiben. Insbesondere kann nicht ausgeschlossen werden, daß die  $T_2$ -Werte der aromatischen Protonen durch Spin-Spin-Kopplung verfälscht sind.

Das hier angegebene Verfahren erlaubt in einfacher und empfindlicher Weise die Messung von Relaxationszeiten in Hochauflösung. Neben intramolekularen können damit auch intermolekulare Wechselwirkungen verschiedener Protonen untersucht werden, so daß es z. B. möglich wird, bei Komplexbildungen den Ort der Anlagerung zu lokalisieren.

#### c) Polyäthylenoxid (in Lösung)

Während die Anwendbarkeit des Verfahrens zu langen Zeiten hin im Prinzip unbegrenzt ist, liegt die untere Grenze bei Relaxationszeiten von 200 msec. Als Beispiel für kurze Zeiten wurde Polyäthylenoxid\* gewählt. Die Relaxationsvorgänge wurden bei  $H_1 = 39$  mGauß mit einem Speicheroszillographen aufgezeichnet. Dabei war die Anstiegszeit der  $H_2$ -Rampe 0,1–0,2 sec. Es trat daher schon während der adiabatischen Passage merkliche Relaxation ein. Die Relaxationsmessungen wurden jedoch nicht gestört, da nur die Veränderung des Signales nach dem Anhalten der adiabatischen Passage eingeht. Aus dem gleichen Grunde ist es im Gegensatz zu anderen Verfahren auch nicht unbedingt notwendig, vor der adiabatischen Passage eine vollständige Gleichgewichtseinstellung abzuwarten.

	$T_1$ [sec]	$T_2$ [sec]
$M = 3 \cdot 10^3$	0,70	0,67
$M = 3 \cdot 10^4$	0,66	0,62

Tab. 2. Kernmagnetische Relaxation von Polyäthylenoxid (Lösungsmittel:  $D_2O$ , Konzentration: 10%).

Die Ergebnisse sind in Tab. 2 zusammengefaßt. Die  $T_1$ -Werte stehen in Übereinstimmung mit den Messungen von LIU und ULLMAN<sup>23</sup>. Die kleine Differenz zwischen  $T_1$  und  $T_2$  kann apparativ bedingt sein, sie ist aber deutlich größer als die Streubreite der Messungen. Der hier gefundene  $T_2$ -Wert bestätigt nicht den Ansatz<sup>24</sup>  $T_2 = 0,6 T_1$  für verdünnte

Polyäthylenoxidlösungen und auch nicht die ebenda<sup>24</sup> angegebenen impulsspektrometrischen Werte von Slichter und Davis.

Ein exakter Vergleich ist nicht möglich, da Temperatur- und Lösungsmittelangaben fehlen.

#### d) Benzol bei präferentieller Solvation (in Polymerlösungen)

Die Anwesenheit von Protonen mit kurzer Relaxationszeit (z. B. von Polymeren) stört die  $T_1$ -Messung des Lösungsmittels nicht. Da keine Hochauflösung erforderlich ist, konnten  $T_1$ -Messungen an Benzol bei  $H_1 = 39$  mGauß ausgeführt werden. Verglichen wurden die Systeme:

I  $C_6D_6$ -Polymethylmethacrylat (5%) –  $C_6H_6$  (10%)  
und

II  $CCl_4$ -Polymethylmethacrylat (5%) –  $C_6H_6$  (10%),

die sich nur in der chemischen Natur der kernmagnetisch inerten Komponente unterscheiden<sup>25</sup>. Obwohl die Anteile an Polymethylmethacrylat und an  $C_6H_6$  in beiden Systemen gleich sind, ist die Relaxationszeit von  $C_6H_6$  im System II wesentlich kürzer. Das ist ein deutlicher Hinweis auf eine Veränderung der Nahordnung. In II werden PMMA- $C_6H_6$ -Kontakte gegenüber PMMA- $CCl_4$ -Kontakten bevorzugt. In I sind dagegen  $C_6H_6$  und  $C_6D_6$  gleichwertig. Während in I eine statistische Anordnung angenommen werden kann, sind in II die  $C_6H_6$ -Moleküle in der Solvathülle des Polymeren angereichert.

Die Relaxationsmessungen erlauben auch eine Bestimmung der Solvatationsgleichgewichtskonstante<sup>26</sup>.

### Schlußfolgerungen

Durch Anhalten schneller adiabatischer Passagen in verschiedenen Abständen vom Resonanzzentrum können die kernmagnetischen Relaxationszeiten  $T_1$  und  $T_2$  in einfacher Weise mit guter Genauigkeit und relativ hoher Empfindlichkeit bestimmt werden. Die erforderliche konstante und reproduzierbare Einstellung des statischen Magnetfeldes läßt sich durch externe Protonenstabilisation erreichen. Das Verfahren erlaubt eine Erfassung der meisten Flüssigkeiten, die untere Grenze liegt etwa bei  $T_{1,2} = 0,2$

\* Proben wurden uns freundlicherweise von Herrn Dr. RING, Chemische Werke Hüls, Marl, zur Verfügung gestellt.

<sup>24</sup> K. J. LIU u. R. ULLMAN, J. Chem. Phys. **48**, 1158 [1968].

<sup>25</sup> H. LÜTJE, Makromolekulare Chem. **133**, 295 [1970].

<sup>26</sup> H. LÜTJE, Makromolekulare Chem., im Druck.

sec. Die Differenz der Meßwerte  $1/T_2' - 1/T_1$  beträgt bei Benzol nur 0,003 und ist somit erheblich kleiner als bei vielen anderen Autoren.

Für  $T_{1,2} > 1$  sec lassen sich die Messungen bei so kleinen  $H_1$ -Werten durchführen, daß verschiedene Protonen bei chemischen Verschiebungen  $> 1$  ppm getrennt untersucht werden können. Auch bei einer Wasserstoffkonzentration von  $10^{-3}$  g/ml wird noch eine ausreichende Signalintensität erhalten. Aus den

gemessenen Relaxationszeiten  $T_2$  ergeben sich natürliche Linienbreiten bis zu  $10^{-2}$  Hz, die weit unterhalb der bei bester Magnetfeldhomogenität praktisch erreichbaren Werte liegen.

Herrn Professor Dr. G. V. SCHULZ und Herrn Professor Dr. G. MEYERHOFF danke ich für anregende Diskussionen, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Bereitstellung von Sachmitteln.

## Zur Deutung der kernmagnetischen Relaxation in Proteinlösungen \*

R. KIMMICH und F. NOACK

Physikalisches Institut der Universität Stuttgart

(Z. Naturforsch. 25 a, 1680—1684 [1970]; eingegangen am 20. August 1970)

Measurements of longitudinal and transversal proton relaxation times in both  $H_2O$  and mixed  $H_2O/D_2O$  protein solutions show a low-frequency as well as a high-frequency dispersion of the longitudinal relaxation time and a nonexponential two-phase transversal relaxation. These results are discussed qualitatively in terms of "rigid" and "mobile" relaxation centers within the protein molecules.

### 1. Einführung

In einigen kürzlich veröffentlichten Arbeiten<sup>1-4</sup> wurde die Frequenzabhängigkeit der longitudinalen Protonenrelaxationszeit  $T_1$  in wäßrigen Proteinlösungen untersucht. Das Auftreten zweier Dispersionsgebiete<sup>3</sup>, nämlich einer Tieffeld- bzw. Hochfelddispersion in (wegen der leichteren Nachweisbarkeit konzentrierten) Lösungen von Serumalbumin und Gelatine, warf dabei erneut die Frage auf, welche der drei Protonenphasen (Proteinprotonen, Protonen in der Hydrathülle und Protonen des ungebundenen Solvens) für das spezifische magnetische Relaxationsverhalten dieser Kernspinsysteme verantwortlich ist.

Nach einem Vorschlag von HENNEL und Mitarb.<sup>1,5</sup> wird die Relaxationsrate der Wasserprotonen in Lösungen verschiedener Hühnereiproteine durch stark rotationsbehinderte, jedoch mit dem freien Lösungsmittel schnell gegenüber  $T_1$  austau-

schende Wassermoleküle der Hydratschale<sup>6</sup> bestimmt. Die Proteinprotonen selbst sollen eine nicht-beobachtbar kurze Relaxationszeit besitzen. Da eine derartige Rotationsbehinderung nur eine einfache  $T_1$ -Dispersion erklärt, schlagen KOENIG und SCHILLINGER<sup>2</sup> zur Deutung der Hochfelddispersion (beobachtet an Apotransferrin in Wasser) ergänzend eine sterische Behinderung der Wassermoleküle in der Nähe der hydratisierten Proteinmoleküle vor. Als weiterführende Untersuchungen haben wir sowohl mit einem globulären wie mit einem fibrillären Protein zwei Experimente durchgeführt, die eine bessere Trennung der verschiedenen Phasen als die bisherigen Messungen erlauben und dadurch den Einbezug der Spindiffusion in die genannten Relaxationsmodelle erfordern. Diese Aufschlüsselung gelang *einerseits* mit Hilfe eines breitbandigen Kernresonanzimpulsspektrometers<sup>7</sup>, wodurch sichergestellt wurde, daß das Kernsignal sämtliche Protonenphasen erfaßt; und *andererseits* durch Beobachtung

Sonderdruckanforderungen an Dr. F. NOACK u. Dipl.-Phys. R. KIMMICH, Phys. Inst. der Universität Stuttgart, D-7000 Stuttgart, Wiederholdstraße 13.

\* Auszugsweise vorgetragen auf der Physikertagung Darmstadt 1970 sowie auf der IV-th International Conference on NMR in Biological Systems in Oxford 1970.

<sup>1</sup> S. Blicharska, J. HENNEL u. Mitarb., BBA **207**, 381 [1970].

<sup>2</sup> S. H. KÖNIG u. W. E. SCHILLINGER, J. Biol. Chem. **244**, 3283 [1969].

<sup>3</sup> R. KIMMICH u. F. NOACK, Z. Naturforsch. **25 a**, 299 [1970].

<sup>4</sup> R. KIMMICH u. F. NOACK, Z. Angew. Phys. **29**, 248 [1970].

<sup>5</sup> O. K. DASZKIEWICZ, J. W. HENNEL u. Mitarb., Nature London **200**, 1006 [1963].

<sup>6</sup> J. ZIMMERMAN u. W. BRITTIN, J. Phys. Chem. **61**, 1328 [1957].

<sup>7</sup> U. HAEERLEN, Kolloid-Z. und Z. Polymere **225**, 15 [1968]; Z. Angew. Phys. **23**, 341 [1967].