

Korelacyjne widma NMR

Anna Zawadzka-Kazimierczuk

oraz zespół redakcyjny:

Michał Górka, Katarzyna Grudziąż, Wiktor Koźmiński, Jan Stanek, Szymon Żerko

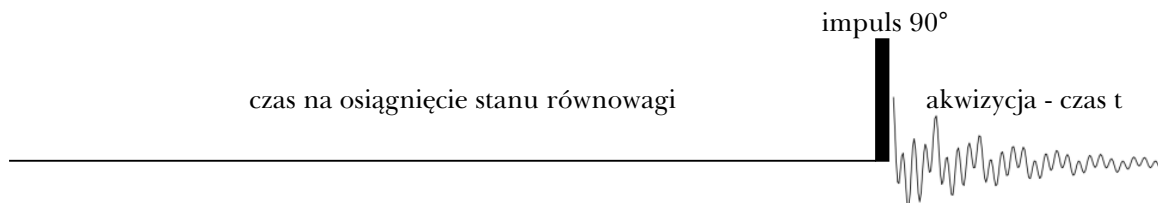
1 marca 2019 r.

Spektroskopia NMR jest bardzo szeroką i różnorodną techniką analityczną. Pozwala badać wiele różnych klas związków, począwszy od niewielkich, a skończywszy na makrocząsteczkach takich jak białka czy kwasy nukleinowe. Umożliwia uzyskanie informacji dotyczące zarówno struktury badanych związków, jak i ich dynamiki czy oddziaływań. Co ważne, badania te dostarczają informacji z rozdzielczością atomową – obserwowane są konkretne jądra atomowe. Wiele z tych badań jest możliwych dzięki istnieniu eksperymentów korelacyjnych (dwuwymiarowych (2D) i o wyższej wymiarowości). Aby dobrze zrozumieć ideę takich eksperymentów, przypomnijmy najpierw zasadę działania najprostszego jednowymiarowego (1D) eksperymentu NMR, w modelu wektorowym.

Eksperyment jednowymiarowy (1D)

Eksperymenty NMR przeprowadza się, działając na umieszczoną w stałym polu magnetycznym próbkę polem elektromagnetycznym o częstotliwości radiowej. Współcześnie wykonuje się to tzw. *metodą impulsową*, polegającą na wysyłaniu bardzo krótkich (rzędu μs) impulsów radiowych o dużej mocy, będących w stanie wzbudzić jądra w szerokim zakresie częstotliwości Larmora. Impulsy te, odpowiednio dobrane i uporządkowane, wraz z również dobranymi przerwami (o długości rzędu do kilkudziesięciu ms) tworzą tzw. *sekwencję impulsów*, charakterystyczną dla każdego rodzaju eksperymentu NMR. Sekwencja taka to ciąg zdarzeń wpływających na stan badanego układu spinowego, tworzących cały eksperyment. Na Rysunku 1 została przedstawiona sekwencja impulsów najprostszego eksperymentu jednowymiarowego: kolejne wydarzenia mające miejsce podczas takiego eksperymentu.

Każda sekwencja impulsów rozpoczyna się długim w skali eksperymentu NMR czasem (rzędu sekund), podczas którego badany układ spinów dochodzi do stanu równowagi termodynamicznej (po umieszczeniu próbki w stałym polu magnetycznym lub po poprzednich manipulacjach). W stałym polu magnetycznym w stanie równowagi termodynamicznej obserwujemy magnetyzację skierowaną wzdłuż kierunku tego pola. Wynika to z niejednakowego obsadzenia poszczególnych stanów energetycznych spinów, zgodnego z rozkładem Boltzmann'a. Na przykład dla spinów o spinowej liczbie kwantowej $S=1/2$ dostępne są dwa stany własne („równoległy” i „antyrównoległy”), odpowiadające dwóm możliwym wartościom magnetycznej spinowej liczby kwantowej: $+1/2$ i $-1/2$. Stan o niższej energii jest



Rysunek 1: Schemat sekwencji impulsów najprostszego jednowymiarowego eksperymentu NMR.

nieznacznie bardziej obsadzony niż stan o energii wyższej. Jak wiadomo, z każdym spinem związany jest pewien moment magnetyczny. Momenty te sumują się wektorowo, tworząc całkowitą magnetyzację próbki. Jako że (dla jąder o dodatnim współczynniku żyromagnetycznym) spinów w stanie „równoległym” jest więcej niż tych w stanie „antyrownoległym”, w stanie równowagi obserwowana jest magnetyzacja skierowana równolegle do zewnętrznego pola magnetycznego (jest to podłużna składowa magnetyzacji). Nie występuje natomiast poprzeczna składowa magnetyzacji, prostopadła do pola B . Chociaż każdy spin (osobno) ma niezerową poprzeczną składową momentu magnetycznego (składowa ta podlega precesji w płaszczyźnie prostopadłej do kierunku pola), to w całym zbiorze spinów (w próbce) składowe te sumują się do zera, gdyż precesja spinów zachodzi *niekoherentnie* – każdy spin precesjuje niezależnie od innych, z inną fazą.

**fragment nieobowiązkowy*

Oczywiście powyższe podejście do tego zagadnienia jest uproszczeniem, a w pełni poprawne jest podejście kwantowomechaniczne. Kwantowy operator rzutu wektora spinowego momentu pędu na oś pokrywającą się z kierunkiem zewnętrznego pola magnetycznego ma dwa stany własne, $|\alpha\rangle$ i $|\beta\rangle$. Stany te są jednocześnie stanami własnymi operatora energii i odpowiadają im energie różniące się o $\hbar\gamma_1 B$ (gdzie γ_1 to współczynnik żyromagnetyczny badanych jąder, a B - indukcja pola magnetycznego). Spin jednak nie znajduje się w stanie własnym, lecz w tzw. stanie mieszanym, będącym superpozycją stanów własnych. Dopiero w momencie pomiaru otrzymamy wynik (rzut wektora spinu i energii) odpowiadający któremuś ze stanów własnych. Prawdopodobieństwo znalezienia spinu w każdym ze stanów jest ściśle określone przez rozkład Boltzmanna - stan $|\alpha\rangle$ o energii niższej (dla jąder o dodatnim współczynniku żyromagnetycznym odpowiadający rzutowi wektora spinu skierowanemu równolegle do pola B) jest bardziej obsadzony niż stan $|\beta\rangle$ o energii wyższej (w którym rzut spinu jest antyrównoległy do pola). Jeśli chodzi o rzuty wektora spinu na kierunki prostopadłe do pola magnetycznego, to tu też są dwa stany własne, z tym że mają one identyczne energie, przez co pomiar daje jedną lub drugą wartość własną z równym prawdopodobieństwem. Dlatego makroskopowo obserwujemy składową podłużną magnetyzację, nie obserwujemy zaś składowej poprzecznej.

Przyłożenie odpowiednio dobranego impulsu częstotliwości radiowej (na Rysunku 1 zaznaczonego jako czarny prostokąt) wywołuje dwa efekty:

1. Wyrównanie obsadzeń obu dostępnych poziomów energetycznych \rightarrow znika podłużna składowa magnetyzacji

2. Precesja spinów wokół kierunku pola magnetycznego staje się koherentna – spiny zaczynają się poruszać „razem”, czyli *w fazie* \rightarrow pojawia się poprzeczna składowa magnetyzacji, podlegająca precesji z częstotliwością Larmora.

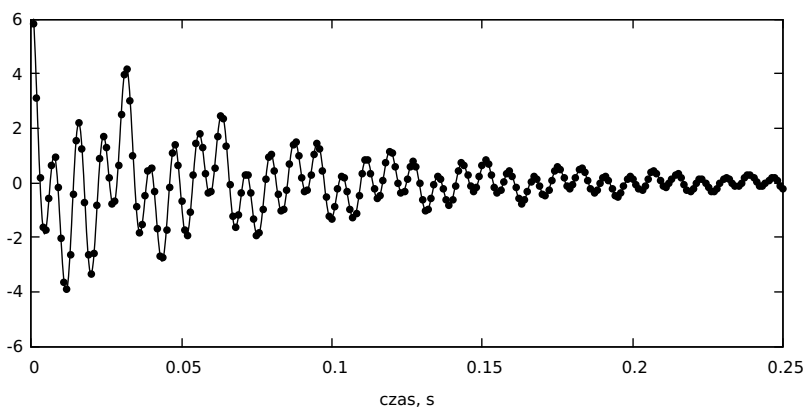
W efekcie działania takiego impulsu, magnetyzacja próbki zostaje obrócona o 90° (z kierunku równoległego do pola B do kierunku prostopadłego). Dlatego taki impuls nazywamy impulsem 90-stopniowym.

Oczywiście, gdy impuls przestaje działać, układ powraca do stanu równowagi – proces powrotu nazywamy relaksacją. W procesie relaksacji zanika stopniowo składowa poprzeczna magnetyzacji (jednocześnie cały czas podlegając precesji w płaszczyźnie prostopadłej do pola B), a narasta składowa podłużna. Część spinów powraca do stanu o niższej energii, a ich ruch staje się niekoherentny. Zmiany obu składowych magnetyzacji są niezależne od siebie, ale oba procesy zachodzą w sposób wykładniczy i są opisywane pewnymi (różnymi od siebie) stałymi czasowymi, zwanymi czasami relaksacji podłużnej i poprzecznej.

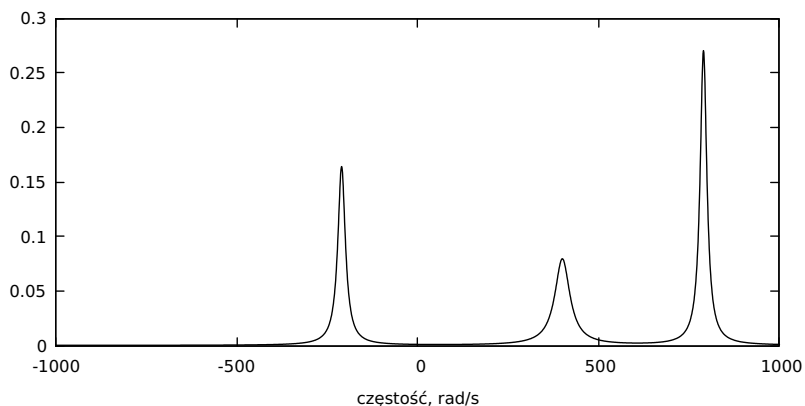
Zmieniająca się w czasie (ze względu na precesję i wykładniczy zanik) magnetyzacja poprzeczna indukuje w cewce odbiorczej zmienne w czasie napięcie. Sygnał ten nazywany sygnałem swobodnego zaniku indukcji (ang. *free induction decay*, FID) i właśnie ten zanikający w czasie sygnał rejestrujemy (a dokładniej: mierzymy przebieg tego sygnału w czasie). Dla związku zawierającego kilka różnych rodzajów jąder (równocennych magnetycznie), o kilku różnych częstotliwościach (indeksy i), sygnał ten można zapisać jako:

$$f(t) = \sum_i A_i \cdot \cos(\Omega_i \cdot t + \phi_i) \cdot \exp\left(-\frac{t}{\tau_i}\right) \quad (1)$$

gdzie: t - czas, A_i - amplituda sygnału i -tej grupy jąder, Ω_i - częstota Larmora i -tej grupy jąder, ϕ_i -



Rysunek 2: Przykładowy (symulowany) sygnał FID z zaznaczonymi próbkowanymi punktami.



Rysunek 3: Schemat widma NMR - transformacja Fouriera symulowanego sygnału FID z Rysunku 3.

faza sygnału i -tej grupy jąder, τ_i - stała czasowa opisująca relaksację poprzeczną i -tej grupy jąder.

Powyższe parametry są dla nas źródłem informacji o badanym związku (np. amplituda – liczba równocennych magnetycznie jąder danego typu, częstość – otoczenie chemiczne). Jednak wyznaczenie ich wartości może nastęrczać pewnych trudności, ze względu na zawikłaną postać sygnału. Przykład sygnału tego typu znajduje się na Rysunku 2.

Dlatego sygnał ten (zależny od czasu) jest przekształcany za pomocą transformacji Fouriera (FT) na matematycznie równoważny, lecz znacznie bardziej przejrzysty sygnał zależny od częstości:

$$F(\omega) = \int_0^{+\infty} f(t) \cdot \cos(\omega \cdot t) dt \quad (2)$$

Powyższe wyrażenie przedstawia tzw. cosinusową transformację Fouriera, w rzeczywistości wykonuje się transformację zespoloną, to jednak wykracza poza interesującą nas obecnie tematykę.

Oczywiście sygnał przez nas zmierzony nie jest ciągły – nie znamy wartości $f(t)$ dla dowolnego czasu z badanego zakresu. Sygnał ten jest *próbkowany*. Dlatego całka z powyższego wzoru jest w praktyce zastępowana sumą (co przy spełnieniu opisanych poniżej wymagań daje rezultat wystarczająco bliski wynikowi uzyskanemu z ciągłej transformacji Fouriera).

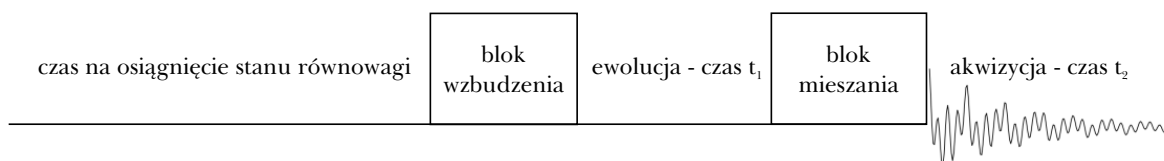
W wyniku FT uzyskujemy sygnał zależny od częstości (tzw. *widmo*, patrz: Rysunek 3), który matematycznie można zapisać jako:

$$F(\omega) = \sum_i A_i \cdot \frac{1/\tau_i}{(1/\tau_i)^2 + (\omega - \Omega_i)^2} \quad (3)$$

W tej postaci obserwujemy piki widmowe odpowiadające poszczególnym grupom jąder w badanym związku. Analiza widma jest znacznie łatwiejsza niż analiza sygnału FID. Interesujące nas parametry łatwo odczytać: amplituda – to całka pod pikiem, częstość – położenie pików na osi częstości, stała relaksacji – dwie odwrotności szerokości połówkowej¹ pików.

Eksperyment dwuwymiarowy (2D)

Eksperymenty dwuwymiarowe składają się zazwyczaj z wielu impulsów. Na razie nie będzie nas interesowało, jakich impulsów i w jaki sposób należy użyć, by wywołać konkretny efekt w układzie spinów. Zajmiemy się ogólnym schematem przeprowadzania eksperymentu 2D. Schemat taki został zaprezentowany na Rysunku 4.



Rysunek 4: Uproszczony schemat sekwencji impulsów dwuwymiarowego eksperymentu NMR. Podczas bloku wzbudzenia i bloku mieszania przykładane są odpowiednie dobrane impulsy częstości radiowej, tak by uzyskać efekt pożądany dla wybranego rodzaju eksperymentu.

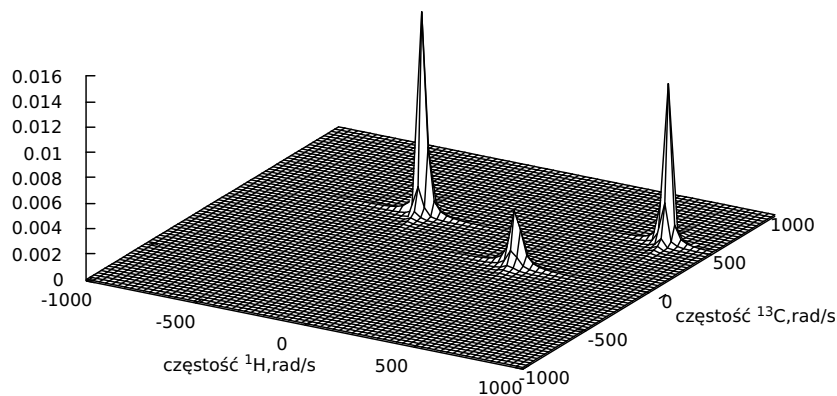
Podobnie jak w przypadku sekwencji jednowymiarowej, tutaj również zaczynamy od czasu, w którym spiny dochodzą do stanu równowagi. Następnie pojawia się *blok wzbudzenia* – czyli zestaw impulsów wytwarzających magnetyzację poprzeczną jąder pewnego typu (załóżmy, że będą to jądra węgla ¹³C). Wówczas następuje *czas ewolucji* (oznaczony na rysunku jako t_1), podczas którego jądra nie są poddawane żadnym manipulacjom (ani też nie jest mierzony sygnał FID). Spiny wzbudzonych wcześniej jąder podlegają w tym czasie (początkowo koherentnej) precesji, ale również relaksacji, zatem czas ten nie powinien być zbyt długi, by nie dopuścić do całkowitego zaniku poprzecznej magnetyzacji. Dalej następuje *blok mieszania*, podczas którego magnetyzacja jest przekazywana do innych jąder. Mogą to być jądra innego pierwiastka, ale niekoniecznie. W naszym przykładzie niech będą to jądra wodoru (protony). Gdy wytworzona zostanie magnetyzacja poprzeczna tych jąder, kończymy wszelkie manipulacje i rozpoczynamy pomiar sygnału FID (w czasie t_2). Naturalnie, podczas akwizycji zachodzi relaksacja spinów. Okazuje się, że sygnał zmierzony w wyniku takiego eksperymentu zależy nie tylko od czasu t_2 oraz częstości jąder mierzonych bezpośrednio (w naszym przykładzie protonów), ale też od czasu t_1 i częstości jąder wzbudzonych na początku i ewoluujących w tym czasie (u nas: jąder węgla). Sygnał ten można zapisać jako:

$$f(t_1, t_2) = \sum_i A_i \cdot \cos(\Omega_i^C \cdot t_1 + \phi_i^C) \cdot \cos(\Omega_i^H \cdot t_2 + \phi_i^H) \cdot \exp\left(-\frac{t_1}{\tau_i^C}\right) \cdot \exp\left(-\frac{t_2}{\tau_i^H}\right) \quad (4)$$

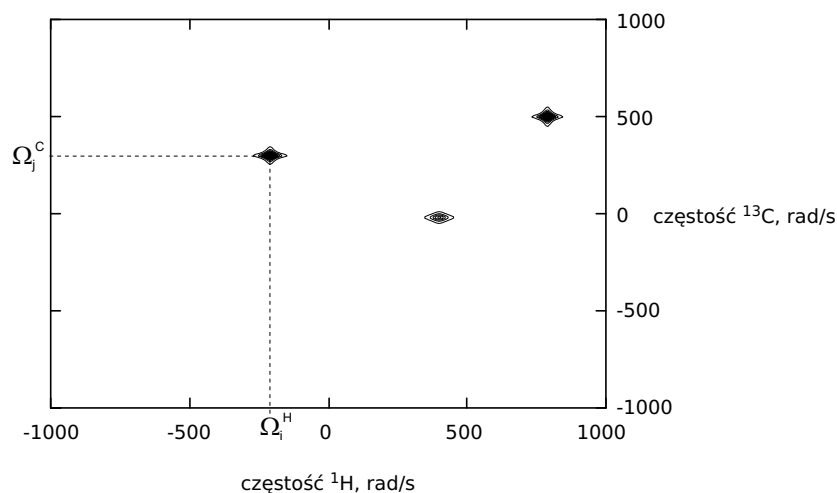
gdzie: $\Omega^{C/H}$ - częstość Larmora jąder węgla/wodoru i -tej grupy, $\phi^{C/H}$ - faza sygnału jąder węgla/wodoru i -tej grupy, $\tau^{C/H}$ - stała czasowa opisująca relaksację poprzeczną jąder węgla/wodoru i -tej grupy.

Podobnie jak w przypadku eksperymentu 1D, korzystne jest przetworzenie powyższego sygnału za pomocą transformacji Fouriera. Teraz jednak będzie to transformacja Fouriera przeprowadzona kolejno w obu wymiarach: t_1 i t_2 , w wyniku której otrzymamy dwuwymiarowe widmo, takie jak pokazano na Rysunku 5. Najczęściej jednak wyświetla się jego rzut na płaszczyznę ω_1 - ω_2 , korzystając z konturów

¹szerokość połówkowa to szerokość pików zmierzona w połowie jego wysokości



Rysunek 5: Schemat dwuwymiarowego widma NMR.

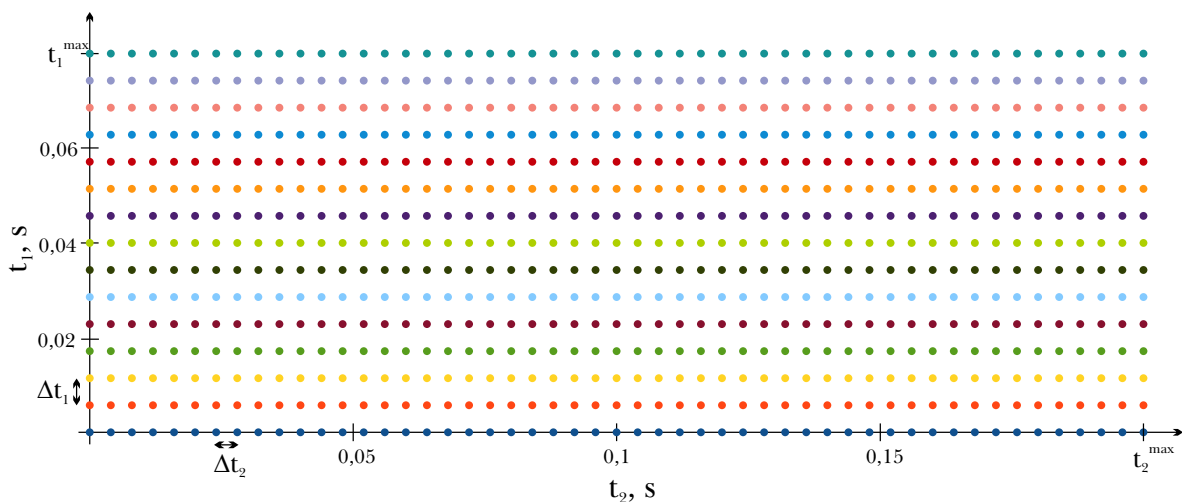


Rysunek 6: Schemat dwuwymiarowego widma NMR - rzut na płaszczyznę częstości.

pokazujących wysokości pików (jak poziomice na mapie pokazują wysokości szczytów), patrz Rysunek 6.

W widmie dwuwymiarowym każdy pik ma dwie współrzędne, określające przesunięcia chemiczne skorelowanych jąder. To, że w widmie występuje pik o współrzędnych odpowiadających przesunięciom pary jąder A i B oznacza, że podczas sekwencji impulsów magnetyzacja została przeniesiona z jądra A na jądro B lub *vice versa*. Transfer magnetyzacji następuje zazwyczaj w wyniku fizycznego oddziaływania jądra A z jądrem B poprzez sprzężenie skalarne lub dipolowe. Ważne jest, że w widmie 2D piki nie występują pomiędzy wszystkimi parami jąder z obu wymiarów, lecz tylko dla pewnych konkretnych, realnie ze sobą oddziałujących par. Używając odpowiedniej sekwencji impulsów, można przeprowadzać eksperymenty wykorzystujące różne rodzaje oddziaływań. Istnieje bardzo wiele dwuwymiarowych eksperymentów NMR (setki, jeśli nie tysiące) i każdy dostarcza informacji innego rodzaju.

Wróćmy jednak do sposobu rejestracji danych 2D. Aby móc wykonać transformację Fouriera w wymiarze t_1 , nie wystarczy zmierzyć eksperymentu z Rysunku 4 raz (dla jednej wartości czasu t_1). Potrzebna jest **zależność** sygnału od czasu t_1 . Dlatego eksperyment taki musimy powtórzyć wielokrotnie, dla różnych wartości czasu t_1 , czyli różnych odstępów pomiędzy blokiem wzbudzenia a blokiem mieszania w sekwencji impulsów. Na Rysunku 7 pokazano schemat punktów (t_1, t_2) , dla których mierzone jest napięcie na cewce odbiorczej. Każdy poziomy rząd punktów (na rysunku oznaczony



Rysunek 7: Schemat próbkowania w dwuwymiarowym eksperymencie NMR. Różnymi kolorami oznaczono punkty rejestrowane podczas kolejnych powtórzeń sekwencji impulsów. Na schemacie zaznaczono odstęp między kolejnymi punktami czasu (Δt_1 i Δt_2) oraz maksymalne czasy ewolucji (t_1^{max} i t_2^{max}), w obu wymiarach.

innym kolorem) to pojedynczy eksperyment – dla jednej wartości t_1 mierzymy całą zależność (FID) po t_2 . Następnie powtarzamy to samo dla kolejnej wartości czasu t_1 itd. W ten sposób próbujemy sygnał NMR w dwóch wymiarach, by następnie przeprowadzić jego transformację Fouriera w każdym z wymiarów i otrzymać dwuwymiarowe widmo.

Należy jeszcze zastanowić się, ile punktów w każdym wymiarze zmierzyć i jak je rozłożyć. Trzeba wziąć pod uwagę dwa następujące fakty:

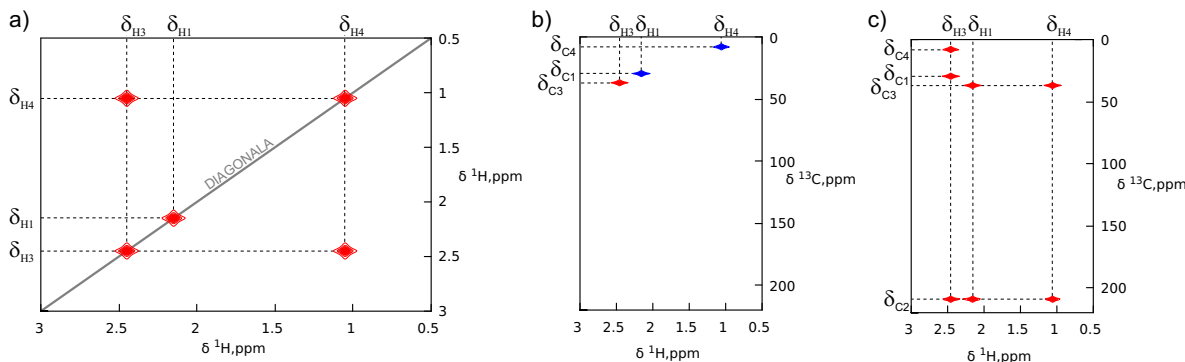
1. Im większy maksymalny czas t^{max} (patrz schemat) osiągniemy, tym węższe będą piki w tym wymiarze (co jest korzystne: jest mniejsza szansa, że piki będą na siebie nachodzić). Szerokość połowkowa piku wyrażona w hercach ($\Delta\nu$) nie będzie mniejsza niż $1/t^{max}$ (może być większa, jeśli sygnał szybko relaksuje). Chcemy więc spróbować sygnał do jak największego czasu maksymalnego.

$$\Delta\nu \geq \frac{1}{t^{max}} \quad (5)$$

2. Aby poprawnie spróbować oscylujący sygnał, należy zmierzyć co najmniej dwa punkty na okres drgania (mówi o tym twierdzenie o próbkowaniu). W przeciwnym przypadku w widmie pojawiają się „zawinięte” piki, o niepoprawnych położeniach, pochodzące od tych komponentów sygnału, które miały wysoką częstotliwość i nie zostały dla nich spełnione wymagania twierdzenia o próbkowaniu. Tłumacząc to na język NMR, odległość Δt dwóch kolejnych punktów w danym wymiarze nie może przekroczyć $1/sw$ (gdzie sw to szerokość widmowa, czyli zakres częstotliwości, w którym mogą występować piki w danym widmie).

$$\Delta t \leq \frac{1}{sw} \quad (6)$$

Powyższe zależności obowiązują w każdym z wymiarów. Jednak w wymiarze bezpośrednio mierzonym (t_2) nie stanowi to problemu. Tutaj czas t_2 to czas rzeczywisty, więc nawet długa akwizycja nie wydłuża eksperymentu. Również spełnienie wymagań twierdzenia o próbkowaniu nie przysparza trudności – próbkowanie w nowoczesnych spektrometrach następuje z częstotliwością znacznie wykraczającą poza te wymagania. Inaczej sprawa wygląda w wymiarze pośrednio mierzonym (t_1). Tutaj pomiar każdego kolejnego punktu wiąże się z powtórzeniem całej sekwencji impulsów (która może trwać np. 1,5 s). W sytuacji, gdy chcemy osiągnąć duże wartości t_1 , jednocześnie zwiększając go z małym krokiem, musimy wykonać tych kroków dużo, czyli wielokrotnie powtórzyć sekwencję impulsów. W przypadku eksperymentów dwuwymiarowych może to oznaczać pomiar trwający od kilku do kilkudziesięciu



Rysunek 8: Schemat widm korelacyjnych butanonu: a) COSY, b) ^1H - ^{13}C HSQC, c) HMBC. W widmie HSQC piki grup 1 i 4 (z nieparzystą liczbą protonów) mają przeciwny znak niż pik grupy 3 (z parzystą liczbą protonów). Numeracja jąder zgodna z nomenklaturą IUPAC.

minut, co nie jest wielkim ograniczeniem. Problem staje się poważniejszy w przypadku eksperymentów o jeszcze wyższej wymiarowości (np. 3D, z dwoma wymiarami mierzonymi pośrednio).

Rodzaje eksperymentów korelacyjnych

Poniżej opisane zostaną trzy dwuwymiarowe eksperymenty NMR, które zostaną zarejestrowane podczas zajęć laboratoryjnych: COSY, HSQC i HMBC. We wszystkich trzech z tych eksperymentów oddziaływaniem pozwalającym na przeniesienie magnetyzacji pomiędzy jądrami jest sprzężenie skalarne.

COSY - COrrelation Spectroscopy

Eksperyment COSY jest podstawowym eksperymentem *homojądrowym* (korelującym jądra tego samego izotopu). Na obu osiach obserwujemy więc częstości tych samych jąder - w naszym przypadku są to częstości protonowe. Na przekątnej (diagonali) obserwujemy piki o dwóch takich samych częstościach - są to piki autokorelacyjne (korelacja jądra z samym sobą). Sygnał ten powinien się pojawić dla wszystkich grup protonów występujących w próbce. Piki pozadiagonalne (korelacyjne) pojawiają się dla tych par jąder, które są ze sobą sprzężone poprzez sprzężenie skalarne (w praktyce oznacza to zazwyczaj, że protony te są oddalone o nie więcej niż trzy wiązania). Widmo COSY jest symetryczne względem diagonali - jeśli jądro A jest sprzężone z jądrem B, to również jądro B jest sprzężone z jądrem A. Schematyczny przykład widma COSY został pokazany na Rysunku 8a.

HSQC - Heteronuclear Single-Quantum Coherence

Eksperyment HSQC jest eksperymentem *heterojądrowym* (korelującym jądra różnych izotopów). Podczas zajęć rejestrowana będzie widmo ^1H - ^{13}C HSQC, czyli korelacja protonów z jądrami węgla (istnieją jeszcze inne odmiany eksperymentu HSQC, np. ^1H - ^{15}N HSQC). Na jednej osi takiego widma obserwowane są częstości protonowe, a na drugiej węglowe. Piki korelacyjne obserwuje się dla par ^1H - ^{13}C oddziałujących ze sobą poprzez sprzężenie skalarne z dużą stałą sprzężenia (w praktyce oznacza to, że oddziałujące jądra są oddalone o jedno wiązanie). Z eksperymentu HSQC można uzyskać również informację na temat liczby protonów sprzężonych z poszczególnymi atomami węgla. Piki korelacyjne jąder węgla związanych z parzystą liczbą protonów mają w tym widmie przeciwny znak intensywności (na rzucie widziany zazwyczaj jako inny kolor), niż piki jąder węgla związanych z nieparzystą liczbą protonów. Schematyczny przykład takiego widma został pokazany na Rysunku 8b.

HMBC - Heteronuclear Multiple-Bond Correlation

Podobnie jak HSQC, eksperyment HMBC jest eksperymentem heterojądrowym. Obserwuje się w nim korelacje ^1H - ^{13}C dla par jąder sprzężonych skalarnie z małą stałą sprzężenia (w praktyce oznacza to, że oddziałujące jądra są oddalone od siebie o 2 lub 3 wiązania. Zatem widmo to jest komplementarne do widma ^1H - ^{13}C HSQC, dając informacje odnośnie oddziaływań bardziej oddalonych jąder. Schemat takiego widma znajduje się na Rysunku 8c.

Podsumowanie

Eksperymenty dwuwymiarowe są wartościowym źródłem informacji o badanych związkach. Przede wszystkim, pozwalają uzyskać **informację o oddziaływaniach** międzyjądrowych. Dlatego widmo 2D korelujące np. częstości protonowe i węglowe niesie więcej informacji niż dwa widma 1D (protonowe i węglowe), gdyż oprócz częstości jednych i drugich jąder, daje informację o tym, które (konkretnie) jądra wodoru oddziałują (poprzez wybrane oddziaływanie) z którymi (konkretnie) jądrami węgla. Dlatego obecnie nawet w celu identyfikacji prostych związków organicznych standardowo używa się widm 2D. Ponadto, widma 2D pozwalają **z wysoką czułością mierzyć jądra o niskim współczynniku żyromagnetycznym** (np. ^{13}C , ^{15}N), których widma 1D wykazują niski stosunek sygnału do szumu. Wzbudza się wówczas jądra o dużym współczynniku γ (np. ^1H), następnie przekazuje magnetyzację jądrum o niskim γ (i pozwala się im ewoluować w czasie t_1), by na koniec znów przekazać magnetyzację jądrum o wysokim γ i na nich dokonać rejestracji sygnału. Kolejną oczywistą korzyścią z zastosowania widm 2D jest **poprawa rozdzielczości** – piki rozłożone w większym (bo dwuwymiarowym) obszarze widmowym rzadziej się na siebie nakładają. Ponadto eksperymenty te otwierają drogę do pomiarów niedostępnych w widmach 1D (np. koherencji wielokwantowych), które jednak wykraczają poza interesujący nas obecnie temat.

Pytania i problemy

- Ile punktów czasu w wymiarze pośrednio mierzonym musimy zmierzyć, by poprawnie spróbkować sygnał o częstościach leżących w zakresie szerokości 2000 Hz, jeśli chcemy otrzymać piki o szerokości połówkowej 20 Hz?
- Naskicuj schematycznie widma COSY, HSQC i HMBC kilku różnych aminokwasów (załóż dowolne wartości przesunięć chemicznych). Pamiętaj o protonach grupy aminowej i węgla grupy karboksylowej.
- Jak odróżnić w widmie HSQC grupę CH_3 od CH_2
- Dlaczego zwiększenie liczby punktów w wymiarze mierzonym bezpośrednio nie wydłuża całkowitego czasu eksperymentu korelacyjnego?

Wymagania

- idea eksperymentu jednowymiarowego a korelacyjnego, zasada pomiaru
- oddziaływania międzyjądrowe pozwalające na przenoszenie magnetyzacji pomiędzy jądrami
- transformacja Fouriera
- zasada działania spektrometru NMR z zastosowaniem transformacji Fouriera
- twierdzenie o próbkowaniu i jego konsekwencje dla pomiaru korelacyjnych widm NMR
- podstawowe zastosowania widm korelacyjnych

Literatura

- *Understanding NMR Spectroscopy*, James Keeler. John Wiley Sons Ltd, Chichester, UK, 2005.
- *Chemia Fizyczna*, Peter William Atkins. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2002.
- *NMR w cieczech. Zarys teorii i metodologii*, Adam Gryff-Keller, Andrzej Ejchart. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa, 2003.
- *Metody spektroskopowe i ich zastosowanie do identyfikacji związków organicznych*, pod redakcją Wojciecha Zielińskiego i Andrzeja Rajcy. Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa, 2000.