

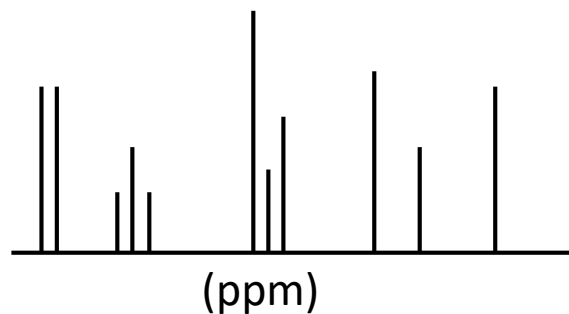
# DOSY delta ver4

2018年11月17日  
北海道大学大学院工学研究院  
工学系技術センター技術部  
木村 悟

# DOSY(Diffusion-Ordered Spectroscopy)の概要

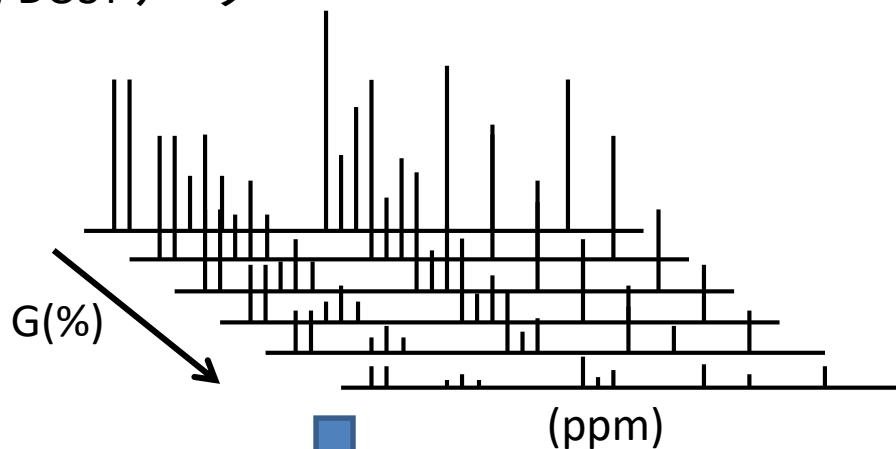
分子拡散係数の違いを利用して、  
多成分系試料のNMRスペクトルを分離する測定方法  
基本的には、拡散係数測定と同じ。

(1) A + B スペクトル



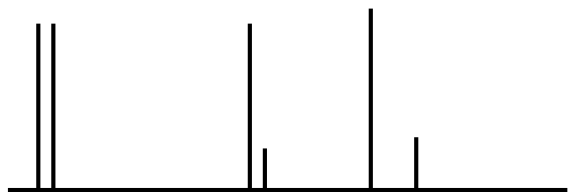
拡散測定  
→

(2) DOSYデータ

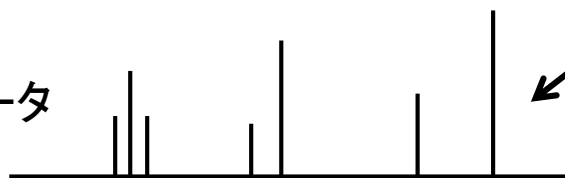


DOSY分離  
↓

(4) A スライスデータ

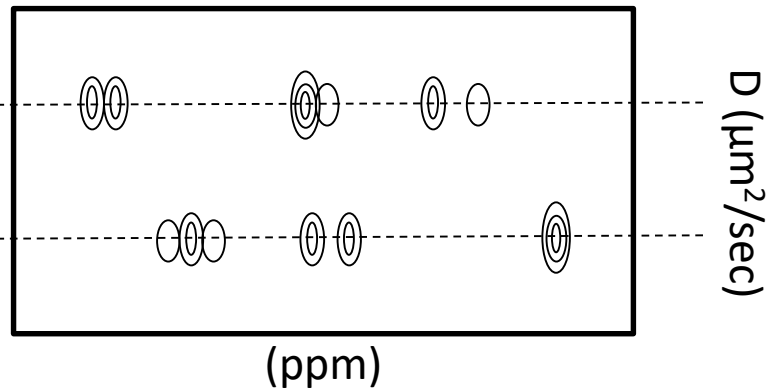


B スライスデータ



ILT (逆ラプラス変換)  
↓

(3) DOSYスペクトル



# 測定時の注意点

## [サンプル調整]

- ・溶液が高粘度にならないように注意

サンプル濃度は、通常の $^1\text{H}$ 測定時と同程度が良いが、溶液粘度が高いと拡散係数分離が難しくなるので、溶液粘度に気を付けながら、調整する。

## [サンプル操作]

- ・スピニングをOFFにする。

スピニングOFFにより、分解能は低下するが、位相変調が起こらなくなるので、スピニングをOFFにする。

- ・測定中の温度変化が無いように気を付ける。

溶液温度の変化により、拡散係数が変化するので、測定中は、プローブの温調機能を利用する。

# DOSY 測定の流れ

## 1) サンプルセット → $^1\text{H}$ 測定

DOSY測定の前準備として目的として、以下を確認

- ・サンプル温度調整
- ・チューニング
- ・シム調整
- ・Receiver Gainの確認

## 2) DOSY 測定条件の確認

パルスプログラム「bpp\_led\_dosy\_pfg.jxp」にて、磁場勾配強度(G)をアレイ測定にて変化させ、以下のパラメーターの最適値を求める。








- ・[diffusion time] 拡散時間  $\Delta$
- ・[delta] 磁場勾配パルス幅  $\delta$

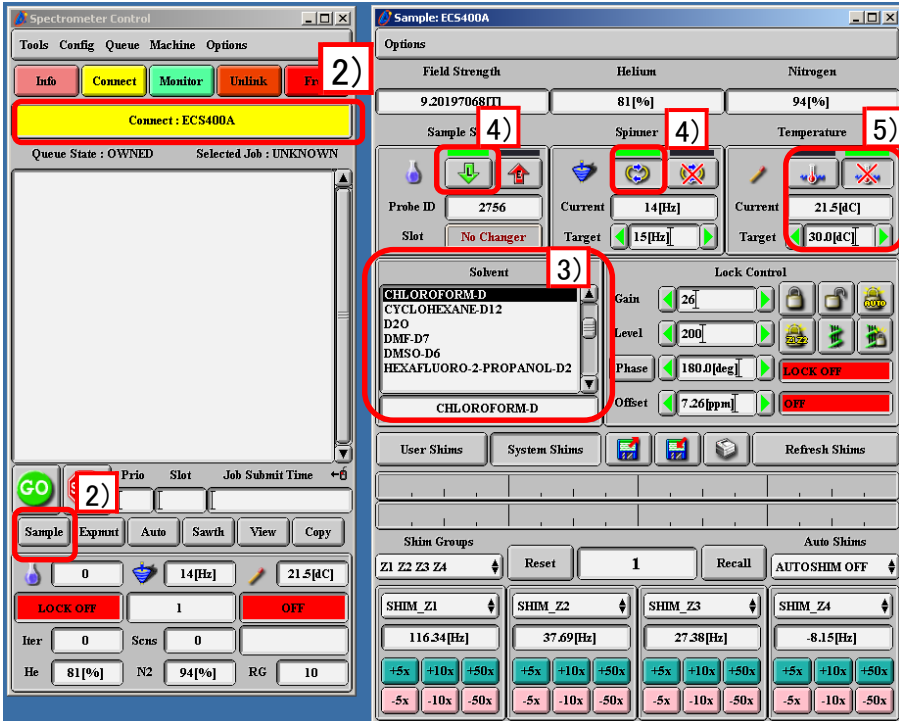
## 3) DOSY 本測定 → DOSY データの処理

Gを変えたときの信号強度の減衰関数を、逆ラプラス変換(ILT)処理する

- ・ILTのパラメータ設定

# サンプルセット

- 1)  を起動し、分光計  に接続する。
- 2) [Spectrometer Control]が  の状態になったら  を押す
- 3) 「Solvent」にて、使用している溶媒を選択する。
- 4) ロード  → スピン  を押し、  
スピン数15Hzになるまで待つ。
- 5) 温度制御欄の「Target」に、測定時温度を入力し、 を押し、10分程度待つ。




The screenshot shows the Spectrometer Control software interface. The left window is titled 'Spectrometer Control' and the right window is titled 'Sample: ECS400A'. The interface includes various control panels and data displays. Red boxes and numbers 1 through 5 highlight specific elements corresponding to the instructions:


- 1) The 'Connect' button in the top menu bar.
- 2) The 'Sample' button at the bottom left.
- 3) The 'Solvent' list in the middle right panel, with 'CHLOROFORM-D' selected.
- 4) The 'Load' button (down arrow) and 'Spin' button (circular arrow) in the middle right panel.
- 5) The 'Target' temperature input field in the bottom right panel, set to 30.0 [C].

## ◆温度調整について

- ・DOSYは、室温の変化の影響を受けやすいので、温度調整したほうが、好ましい。
- ・プローブの性能上、室温±5°Cの範囲で長時間の温度維持は難しいので、30°C～溶媒の沸点以下の温度域で測定すると良い。
- ・磁場調整を正確に行うため、サンプルチューブの温度が均一になるまで10分程度待つ。

# サンプルセット

6) グラジエントシム+オートシム  を起動し、完了後、「Gain」の数値を変更し、LOCK信号メーターの数値を600付近にする。

7) スピンを停止  させて、LOCK信号メーター値が30%以上減衰しないか確認する。

例) LOCK信号メーターの数値がスピン時600であり、スピンを停止したとき

・数値が420以上(30%未満の減衰)の場合

→ OK 再度、スピン  を押す。

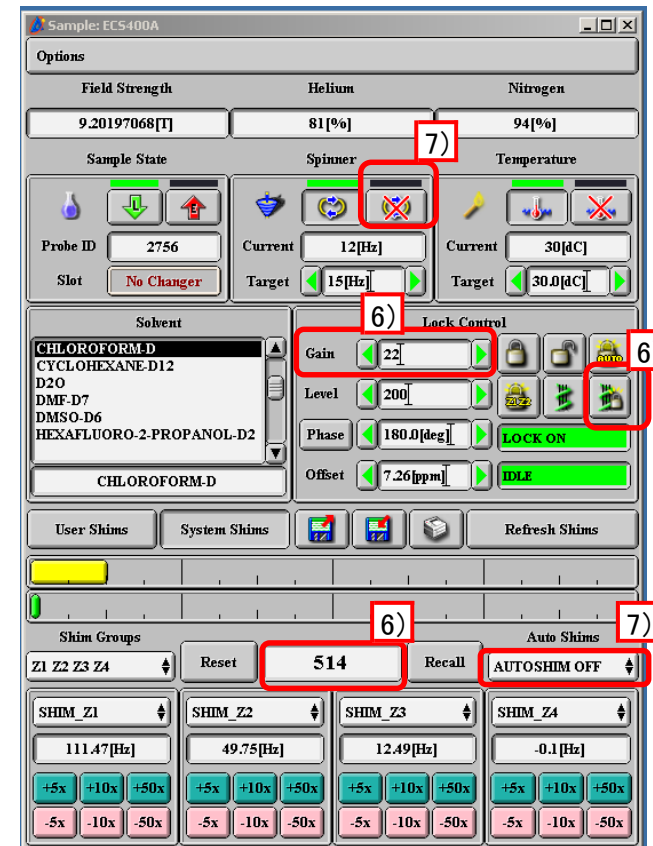
・数値が420以下(30%以上の減衰)の場合

→ NG

シムグループより「XY」を選択し、「オートシム」を押す。

「XY」シム調整後、420以上にならなければ、木村へご連絡ください。

※DOSY測定は、スピンOFFで行うので、XYシムがずれていたら、分解能が低下します。

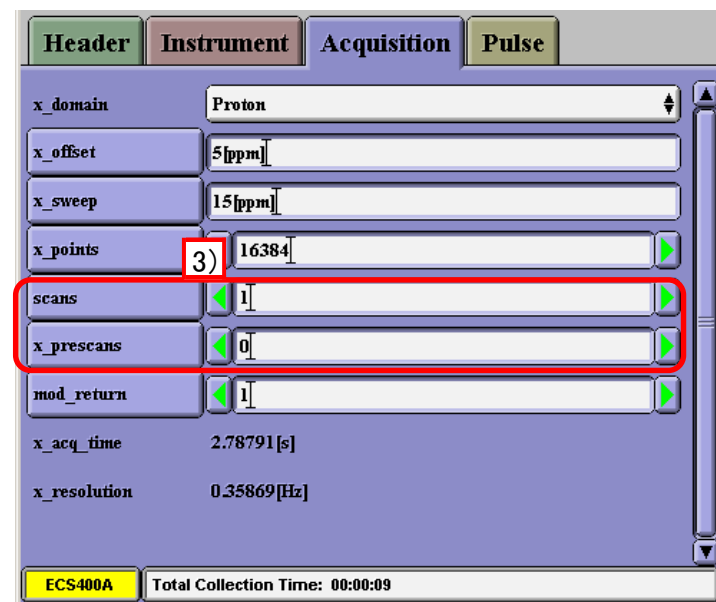


The screenshot shows the NMR software interface with the following parameters and controls highlighted:

- Field Strength:** 9.20197068 [T]
- Helium:** 81 [%]
- Nitrogen:** 94 [%]
- Sample State:** Probe ID: 2756, Slot: No Changer
- Spinner:** Current: 12 [Hz], Target: 15 [Hz]
- Temperature:** Current: 30 [dC], Target: 30.0 [dC]
- Solvent:** CHLOROFORM-D
- Lock Control:** Gain: 22, Level: 200, Phase: 180.0 [deg], Offset: 7.26 [ppm], LOCK ON
- Shim Groups:** Z1: 111.47 [Hz], Z2: 49.75 [Hz], Z3: 12.49 [Hz], Z4: -0.1 [Hz]
- Auto Shim:** AUTOSHIM OFF

# $^1\text{H}$ 測定

- 1) [Spectrometer Control]の  より、 $^1\text{H}$ 測定プログラムを開く。
- 2) [Experiment Parameters]の「Header」タブにて、「force tune」にを入れる。  
「auto\_gain」もが入っているか確認する。
- 3) [Experiment Parameters]の「Acquisition」タブにて、「Scans」を1、「x\_prescans」を0にする。  
 を押して、[Experiment Parameters]を閉じる。



# $^1\text{H}$ 測定

4)  を押して、 $^1\text{H}$ 測定を終了後、

[Spectrometer Control]にて、Receiver gainを確認する。

※Receiver gain値は、サンプルにより異なるので、  
毎回測定が必要。

今回は、「60」を使用する。

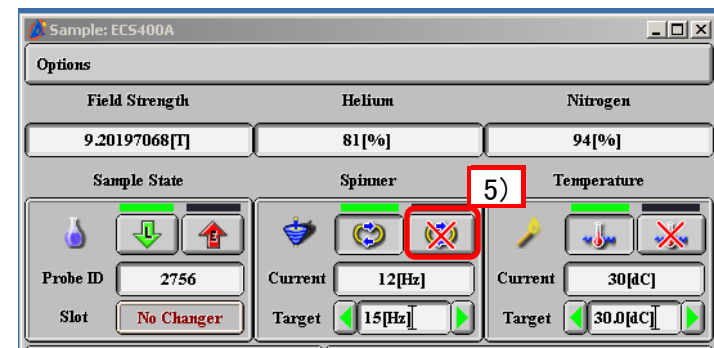
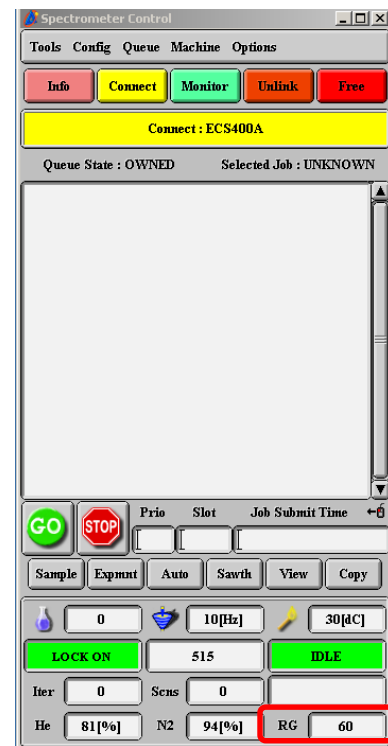
※ $^1\text{H}$ スペクトルにて、S/N比が500以上であることを確認する。  
ここでS/N比が悪いと、DOSY処理データのS/N比も悪くなる。

※※ $^1\text{H}$ スペクトルで、TMSのピークの先端割れや、  
シリコンサテライトが見られない場合は、シムを再調整。

5) 「サンプル」→「マニュアル制御」にて

 を押してスピニングを止める。

※DOSY測定プログラムを起動すると、  
スピニングは自動停止するので、  
ここで停止しなくても、問題は無い。





# DOSY 測定条件の確認

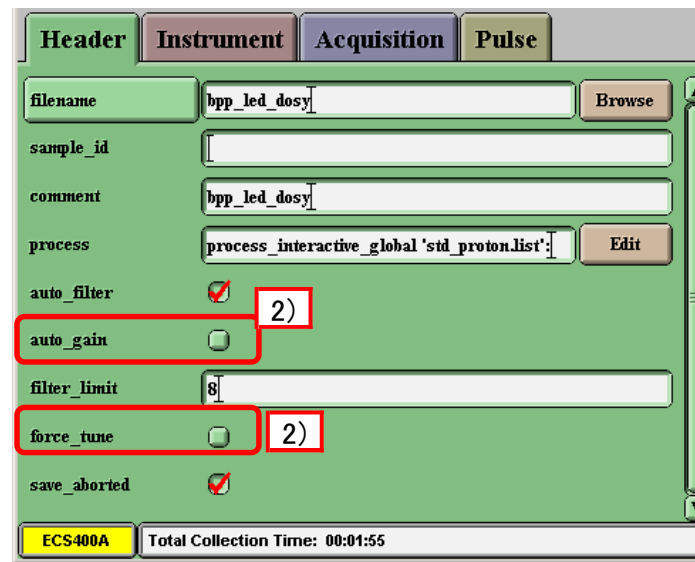
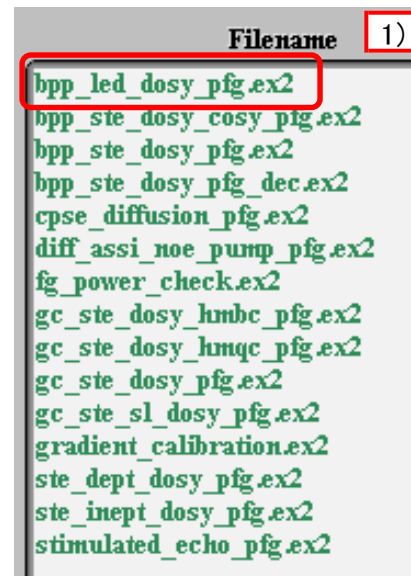
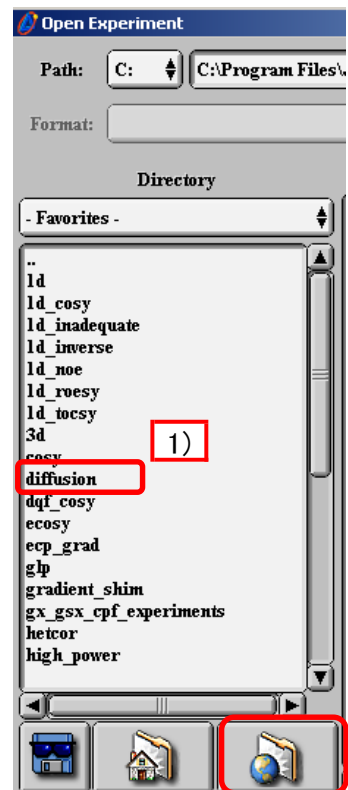
- 1) [Spectrometer Control]にて、**Expmnt** を選択し、  
[Open Experiment]→  を選択。  
「diffusion」→[bpp\_led\_dosy\_pfg.ex2]を  
ダブルクリックする。

DOSYのパルスシーケンスが多数あるが、  
まずは上記のパルスシーケンスを利用する。

- 2) [Experiment tool]の[Header]にて、  
「auto\_gain」「force\_tune」にを外す。

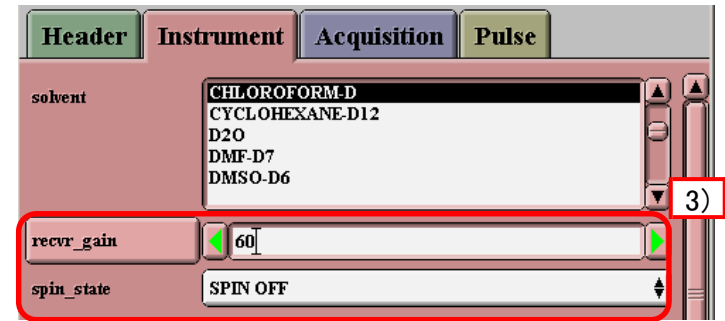
※デフォルトで、「auto\_gain」「force\_tune」には  
ついていないが、の有無を確認する。

※アレイ測定を行う際、「auto\_gain」は  
使用できない。

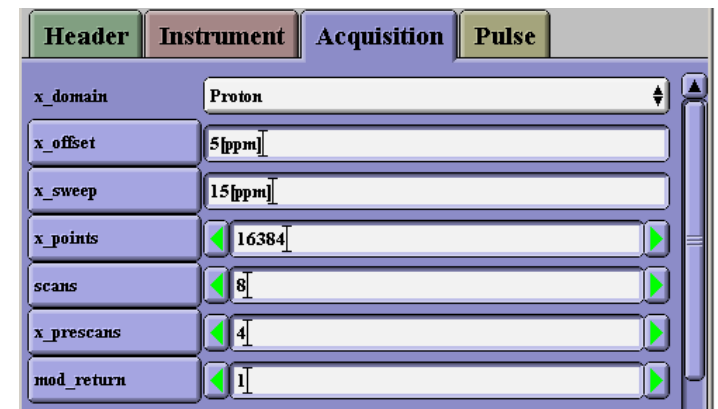


# DOSY 測定条件の確認

3) [Experiment tool]の[Instrument]で、「recvr\_gain」に $^1\text{H}$ 測定の数値を入力する。「spin state」が「SPIN OFF」であることを確認する。

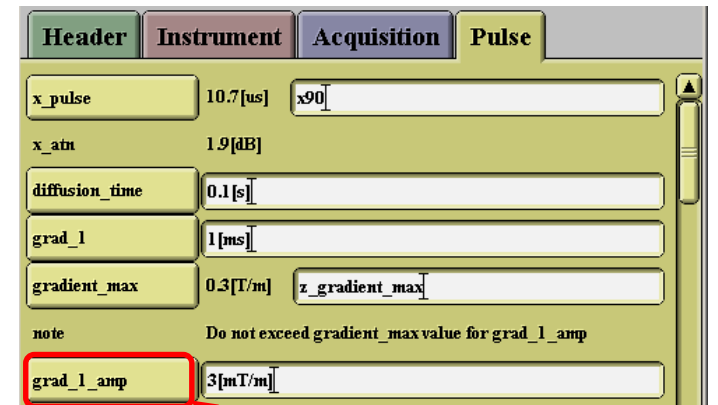


4) [Experiment tool]の[Acquisition]は、デフォルトのままで良い。



5) [Experiment tool]の[Pulse]にて、「grad\_1\_amp」をクリックする。

「diffusion\_time」「grad\_1」はデフォルト値で良い。  
必要があれば、変更する。



ここをクリック

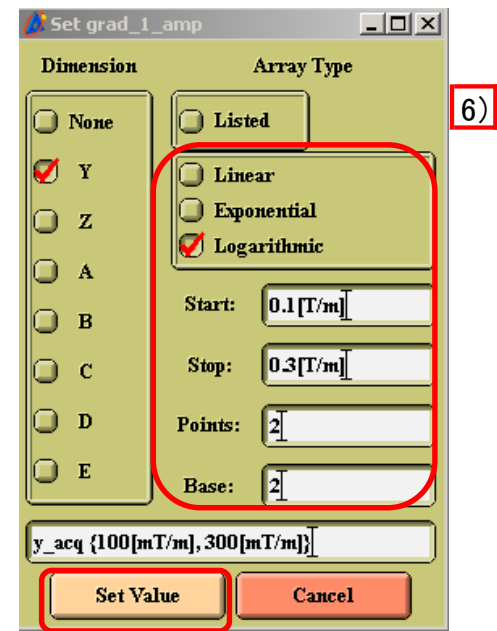
# DOSY 測定条件の確認

6) [Set grad\_1\_amp]にて、Array Typeの[Listed]のチェックを外し、[Logarithmic]を選択する。

「Start」 0.1[T/m] 「Points」 2

「Stop」 0.3[T/m] 「Base」 2

以上を入力し、  を押す。



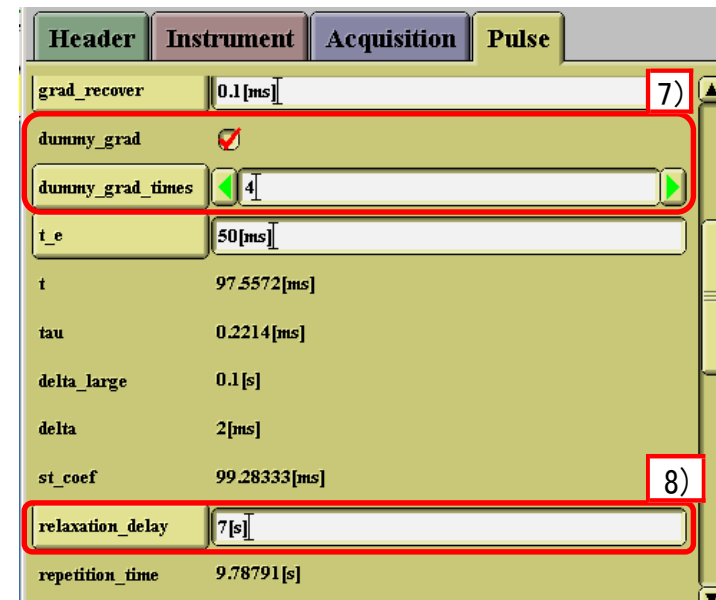
7) [dummy\_grad]にチェックを入れる。

→rephaseのパルスを打つときに、

前のパルスの影響を無くすることができる。

[dummy\_grad\_times]に「4」を入力する。

→4の倍数を入力する。



8) [relaxation\_delay]に $T_1$ の10倍の数値を入力

→デフォルトの7(s)が良い。


・ $T_1$ は分子量300~500で、0.5~5(s)

・一般的に分子量が小さいと $T_1$ は長くなるので、適宜調整が必要。


9)  を押して、測定を行う。

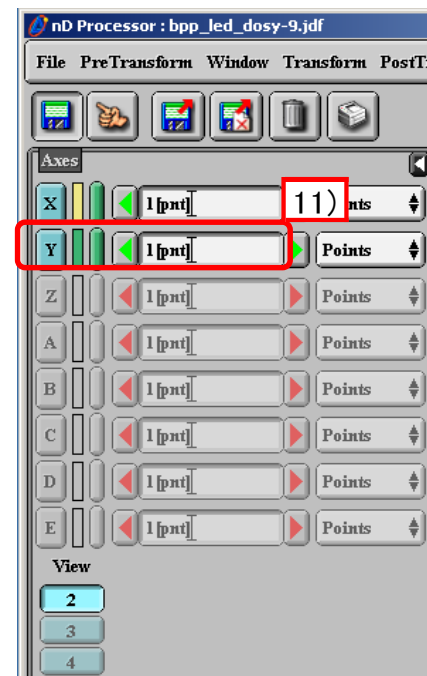
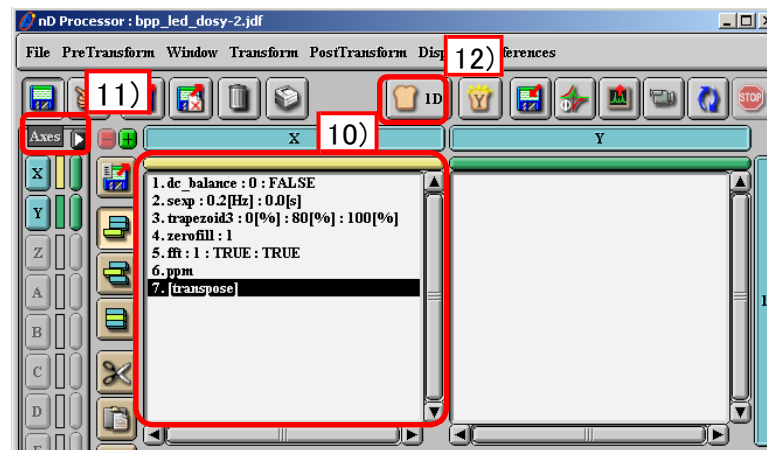
# DOSY 測定条件の確認

- 10) 測定終了後、[nD プロセッサ]が表示されるので、  
[X軸欄]を選択する。  
[X軸欄]すると上部が黄色になります。

- 11)  をクリックし、スライス位置設定画面を  
表示させ、位相補正しやすいスライスデータを  
[Y]のポイント数で設定する。


※通常、位相補正のしやすい1番目の  
データを選択します。

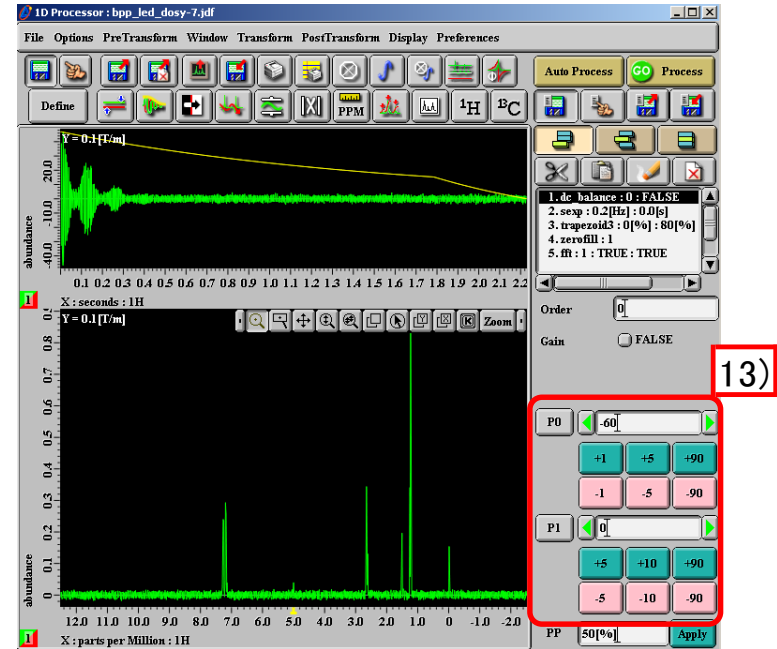
- 12)  をクリックする。  
11)で指定したスライスデータが[1D プロセッサ]に  
表示されます。




# DOSY 測定条件の確認

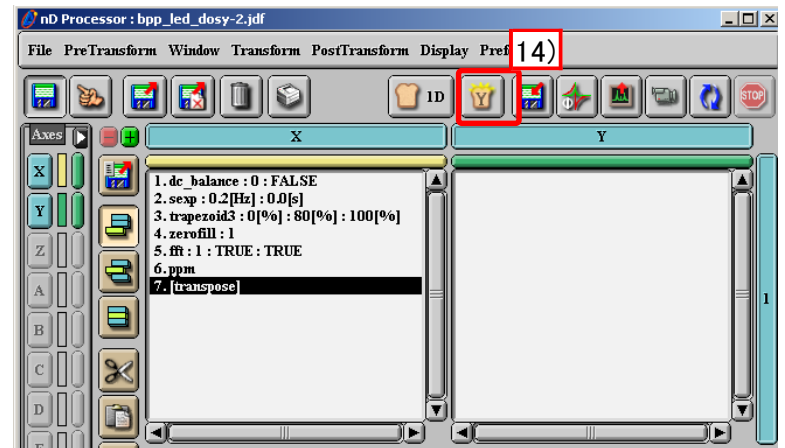
13) 「 $\phi_0$ 」「 $\phi_1$ 」の数値を変更し、位相補正を行う。  
位相補正完了後、[1D プロセッサ]を閉じる。

- ※  は利用せず、必ず手動で位相補正する。
- ※ 「 $\phi_0$ 」「 $\phi_1$ 」を変更しても、ベースラインが補正できなければ、[Pulse]→「diffusion time」を変更し、ベースラインのうねりが無くなる条件を探す。



14) [nD Processor]にて、 を押す。

0.1 T/mと0.3 T/mのスライスデータを  
データスレートに表示させます。



# DOSY 測定条件の確認

15) [Data Slate]で、「View」→「Vertical」

→スライスデータを横並びにする。

「Connect All」

→2つのスライスデータの縦軸、横軸表示をリンクさせる。

16) 0.1[T/m]→0.3[T/m]の信号減衰量を確認する。

0.1[T/m] →0.3 [T/m]の全体のピーク強度が、

・1/5 ~ 1/20くらいに減少

→ 測定条件 OK

・減衰量が少ない(1~1/5くらい)

[Experiment tool]→[pulse]の

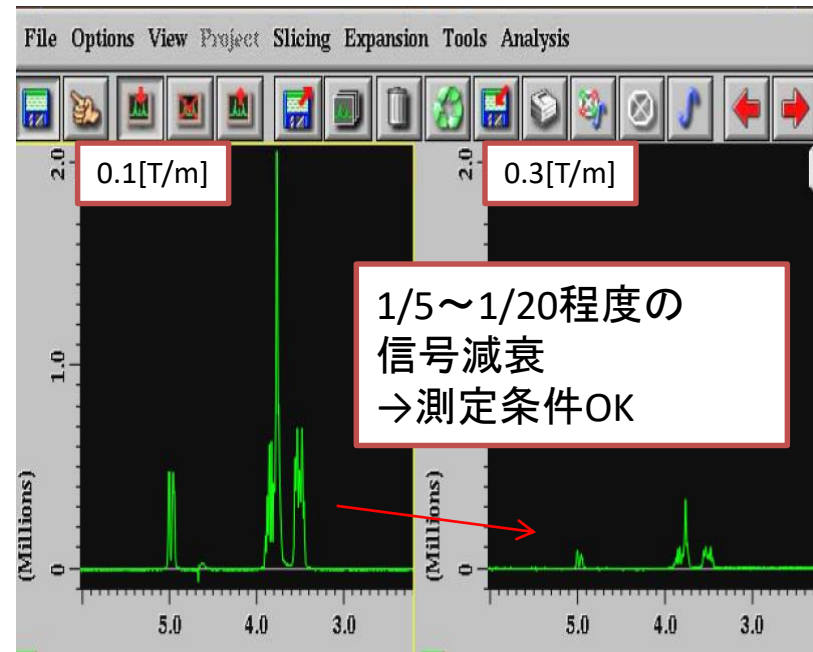
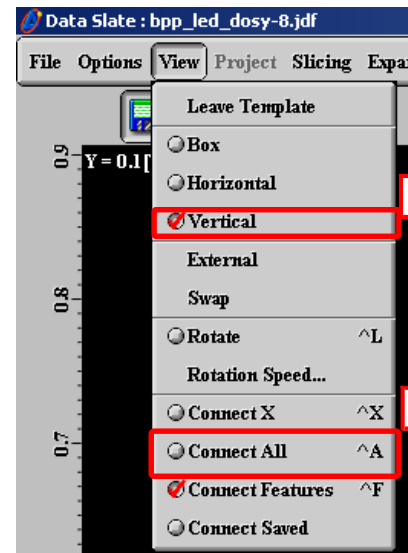
「grad\_1」(初期値1ms)を長くして、再測定。

例) 3ms,4ms等にする。

・減衰量が多い(1/20以下)

「grad\_1」(初期値1ms)を、短くして、再測定。

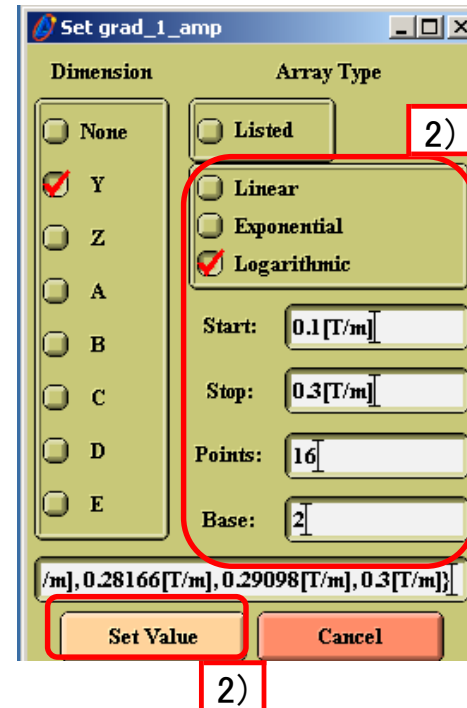
例) 0.5ms,0.1ms等にする。



# DOSY 測定→データ処理

- 1) 「DOSY測定 測定条件確認」の1)～5)を行う。
- 2) [Set grad\_1\_amp]にて、Array Typeの[Listed]のチェックを外し、[Logarithmic]を選択する。  
「Start」 0.1[T/m]                      「Points」 16  
「Stop」 0.3[T/m]                      「Base」 2

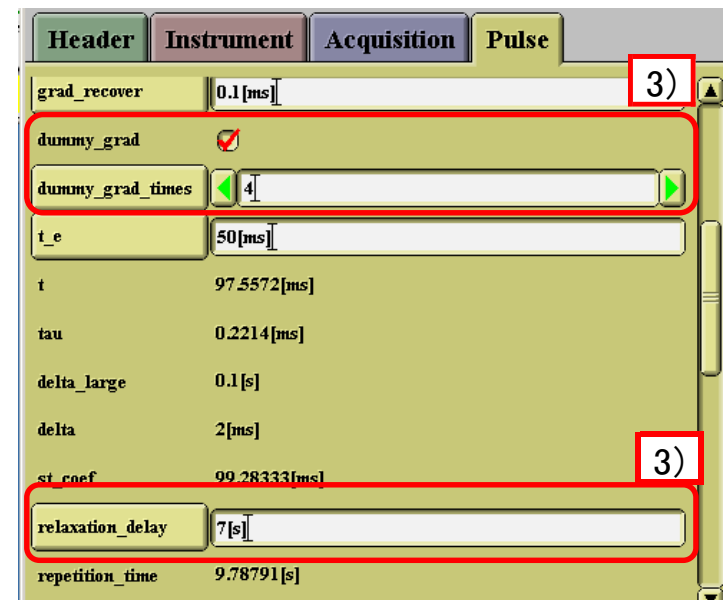
以上を入力し、 を押す。



- 3) [dummy\_grad]にチェックを入れる。  
[dummy\_grad\_times]に「4」を入力する。

「relaxation\_delay」はデフォルトの7(s)が良い。  
※「DOSY測定 測定条件確認」 8)に記した通り、必要に応じて「relaxation\_delay」を変更する。

- 4)  を押して、測定を行う。

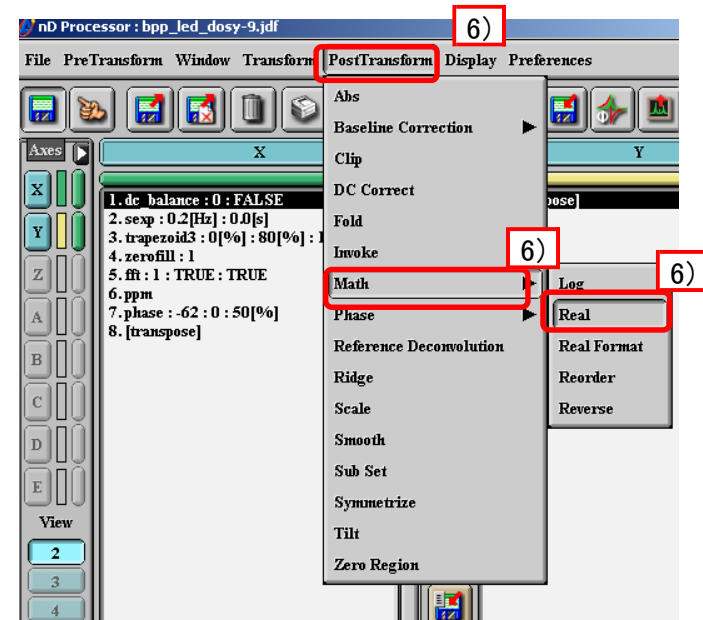



# DOSY 測定→データ処理

5) 「DOSY測定 測定条件の確認」の10)～13)を行う。

6) [nD プロセッサ]の[後処理]→[数学処理]→[Real]を選択する。

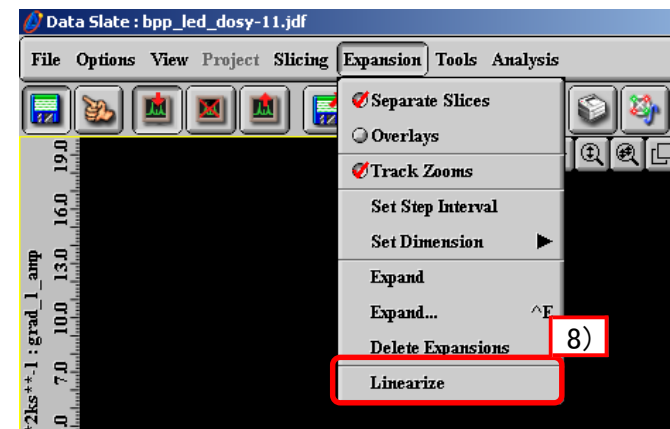
※DOSYの逆ラプラス変換は、Realデータのみを使用



7)  を選択し、  
[Y軸スライスデータスレート]を開く



8) [Data Slate]で、「Expansion」→「Linearize」を選択し、アレイデータを横並びにする。

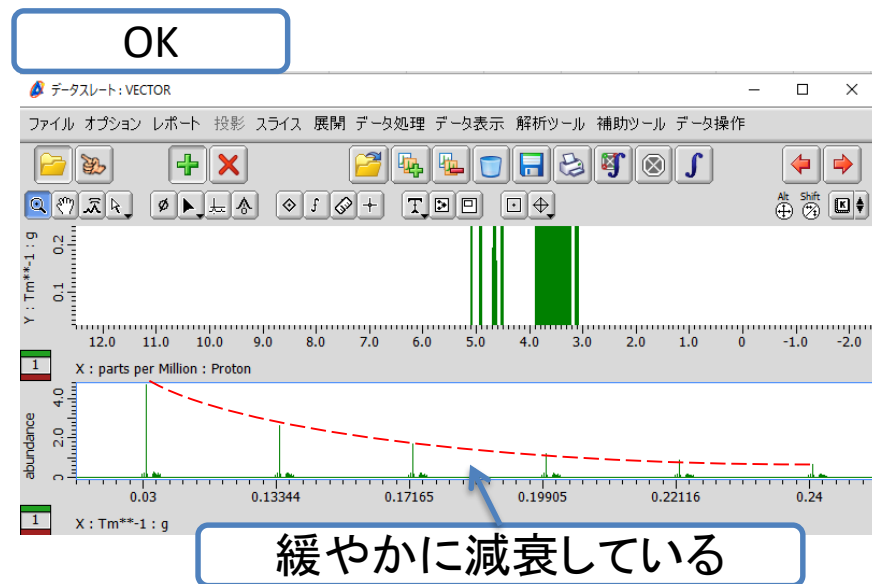




# DOSY 測定→データ処理

9) アレイ測定データの信号強度が、  
右図のように、緩やかに減衰しているか  
確認する。

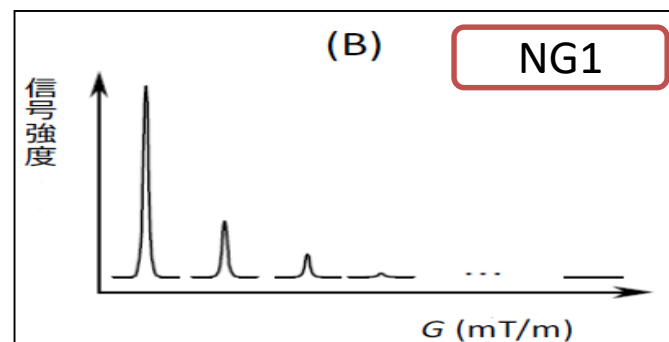
注) 右図は、Delta ver.5の画像ですが、  
Delta ver.4でも同様に表示されます。



【NG1:信号減衰が急な場合】

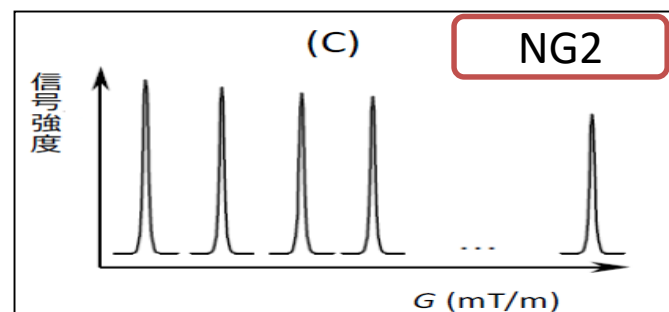
拡散係数の差が出にくいので、  
[delta]を長くする。

やり方は、[DOSY測定 測定条件の確認]の  
15)を確認。



【NG2:信号減衰があまり無い場合】

ノイズの影響が大きくなるので、  
[delta]を短くする。



# DOSY 測定→データ処理

10) [Y軸欄]を選択し、[関数変換]→[DOSY処理]より、最適な処理方法を選択する。

[DOSY CONTIN]

分子量分布を持つポリマーのように、連続的な拡散係数値を持つ試料に用います。

[DOSY SPLMOD]

低分子の混合試料のように離散的な拡散係数値を持つ試料に用います。

11) [Y軸欄]のDOSY処理法をクリックし、パラメーターを設定する。

[Start] 拡散係数をピーク検索する範囲の最小拡散係数値

[Stop] 拡散係数をピーク検索する範囲の最大拡散係数値

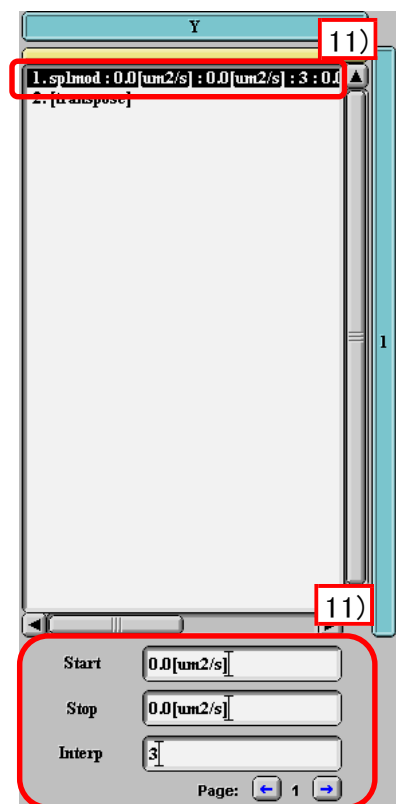
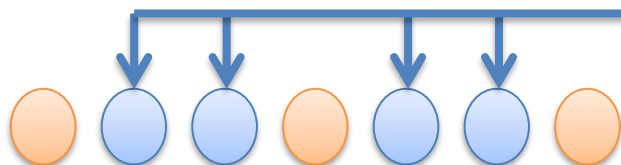
[始点][終点]は、0以外の数値

[Interp] 拡散係数側(Y軸側)での補間ポイント数を決定

→15点くらいが良い。

(例) データ数が3点、[補間]=2の場合、データ点合計は7点

元々のデータ



# DOSY 測定→データ処理

[Threshold] 処理に使うピークのスレッシュホールドレベルを設定  
→デフォルトの0で良い。

[Species] 予想される成分の総数を設定  
→溶媒+溶質の数。不明の場合は、多めに設定。

[Peaks] 各化学シフトで予想される拡散係数の最大数を設定  
→デフォルト1で良い。スペクトルに異常があれば、  
2、3と増やしてみると良い。

[Ratio] SPLMOD法で、等しい化学シフトでの異なる拡散係数の  
最小比率を設定  
→デフォルトの2.0で良い。

[Error] SPLMOD法で許容できるエラーの度数を少数で設定  
→デフォルト「0.3」で良い。

値を小さくするとピークが分離しやすくなるが、  
S/N比が良くない場合は、変化が出ない。

[Gamma] 処理に使う核の磁気回転比を設定 →デフォルトで良い。


[Maxima] が入ると、ピークトップのみで  
カーブフィッティングを行う。

[Scale] ピーク幅をスケールリングする。→デフォルトで良い。



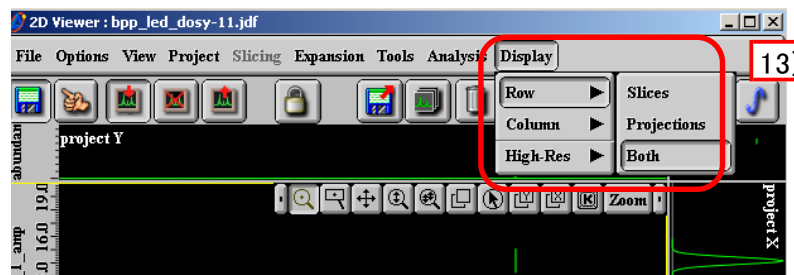
ここで、パラメータ表示を  
変更する。


# DOSY 測定→データ処理

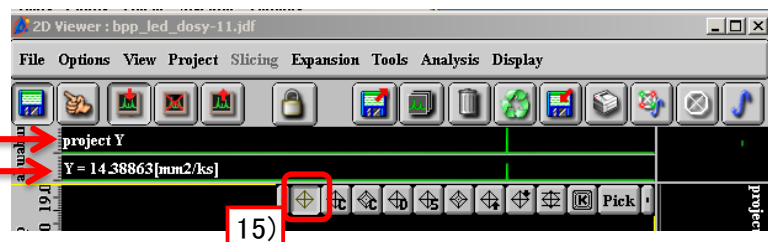
12)  を選択し、[2D Viewer]を開く



13) [2D Viewer]にて、「Display」→「Row」→「Both」を選択



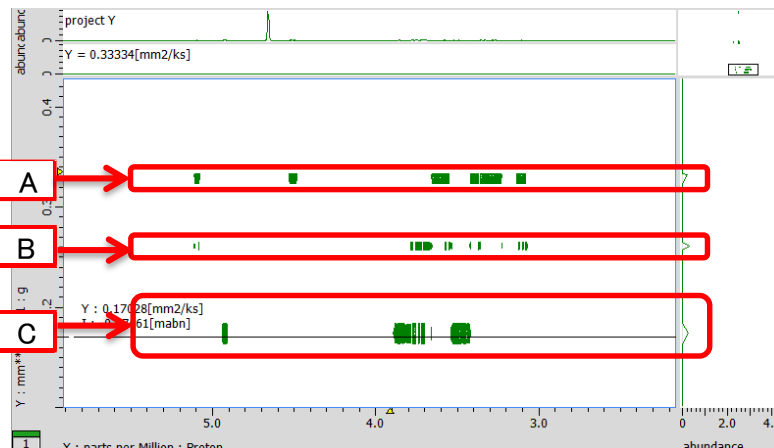
14) [2D Viewer]にて、「Zoom」より  を選択し、2Dピーク位置を拡大する。



X軸の投影データ  
X軸のスライスデータ

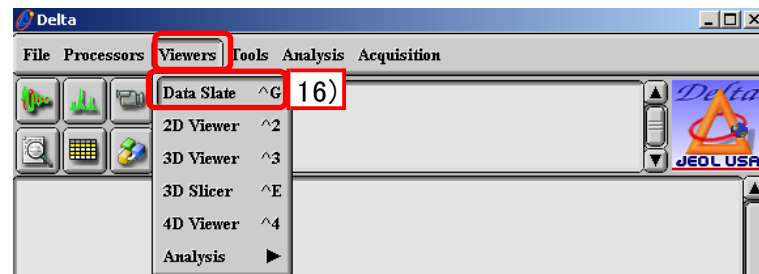
15) [2D Viewer]にて、 を選択し、確認したいスライスデータを選択する。



スライスデータ位置を選択すると、X軸のスライスウィンドウに、スライスデータが表示される。

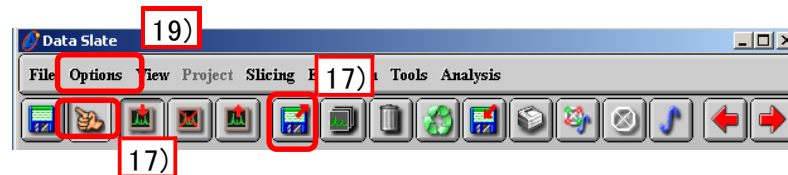


# DOSY 測定→データ処理

16) [Delta]ウィンドウで、[Viewers]→[Data Slate]を選択



17) [Data Slate]で、 →  を選択するとカーソルが指マークに変わる。指マークに変わったら、[Data Slate]に [2D Viewer]で、選択しているスライスデータをクリックする。



18) [2D Viewer]で、拡散係数で分離できているデータ毎に14)→15)→17)の作業を行う。

19) [Data Slate]へ貼り付け作業が終わったら、「Options」→「Connect All」を選択すると全データの縦軸、横軸をリンクできます。

右図は、DOSY測定用サンプル(JEOLからレンタル)の測定データで、溶媒のピークは省きました。

