

分子拡散係数測定、DOSY

2018年11月19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



北海道大学工学部

School of Engineering
Hokkaido University



分子拡散係数測定、DOSY

1) 測定理論と注意点

- ・磁場勾配と拡散の理論
- ・拡散係数測定の注意点
- ・拡散係数測定のExperiment
- ・DOSYの概要

2) 拡散係数測定

- ・測定の流れ
- ・操作手順
- ・拡散係数を一覧表示する方法

3) DOSY

- ・測定の流れ
- ・操作手順
- ・データ処理

磁場勾配と拡散の理論

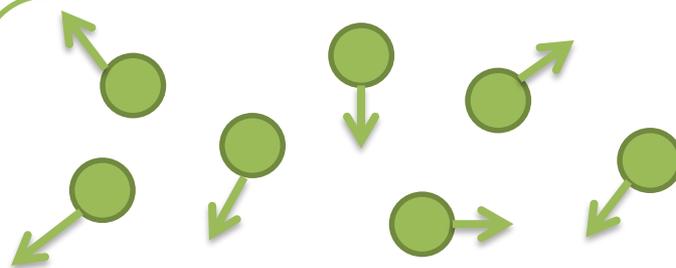
【よく使われる拡散測定の手法】

- ・動的光散乱
- ・電気化学的手法
- ・切り出し/切り出して濃度分析
- ・放射性同位体ラベル
- ・NMR分光法

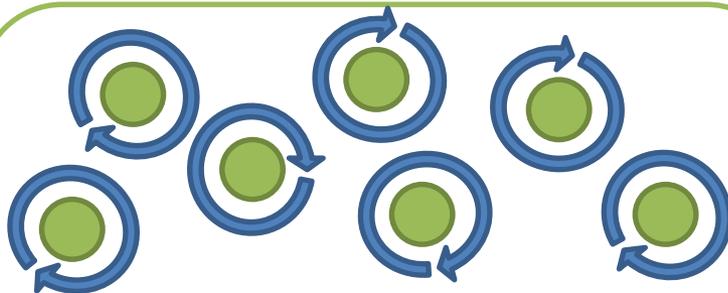
【拡散係数から分かること】

- ・分子(粒子)の浸透速度
- ・分子(粒子)の移動速度
- ・孔の大きさ

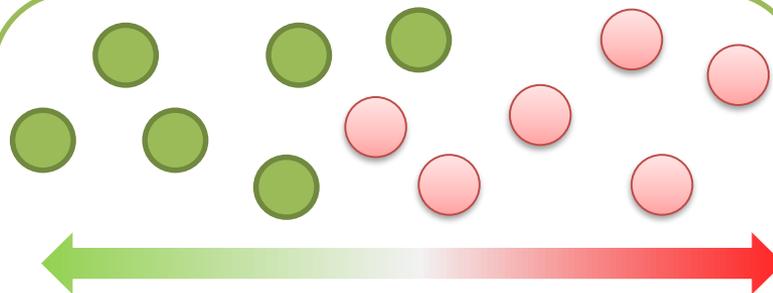
★実際の分子拡散(並進拡散)は3次元だが、z軸の磁場勾配を用いる場合、z軸に平行な分子の並進移動が観測される。



自己拡散(並進) ← 今回の話



回転拡散
NMRの緩和現象として観測できる。



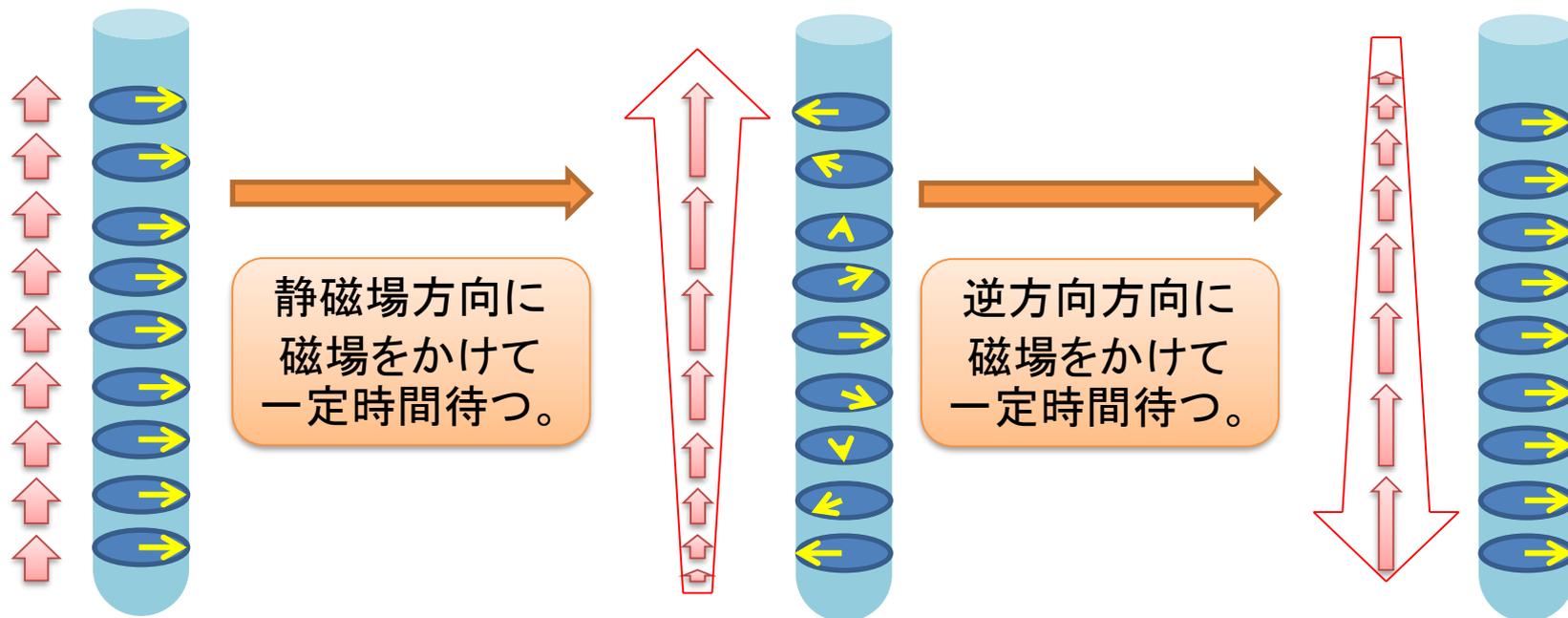
濃度拡散
濃度勾配による向きのある拡散

磁場勾配(Field gradient)とは？



- ・位置に応じて、異なる磁場をかけること
- ・拡散測定では、主にZ(静磁場)方向の勾配を使う
- ・磁場の強さは、**磁場勾配** $g \times$ **座標** Z の形の関数になる

→ 横磁化の位相(向き)



【静磁場が均一な場合】
試料管内の横磁化の
位相が揃っている。

試料管の位置毎に
決まった位相(向き)にずれる。
→「空間エンコーディング」

位相が逆向きにねじれて、
元に戻る
→「巻き戻し」

拡散と磁場勾配との関係

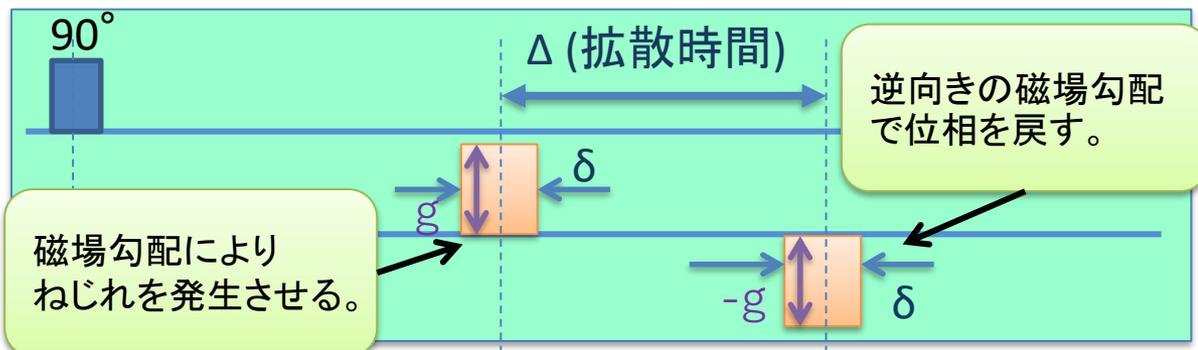
RF波

磁場勾配

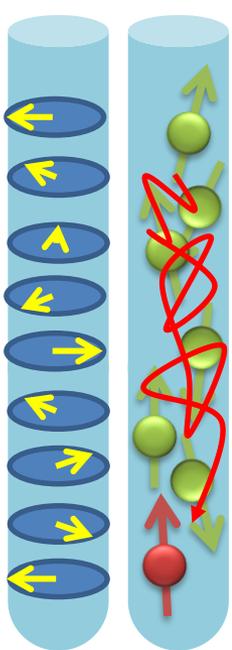
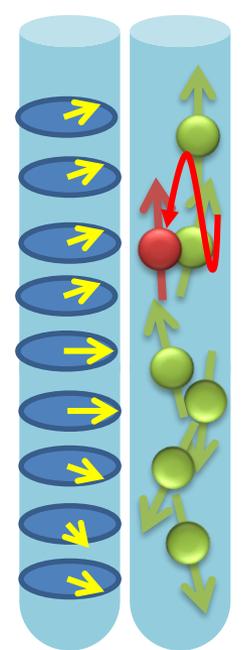
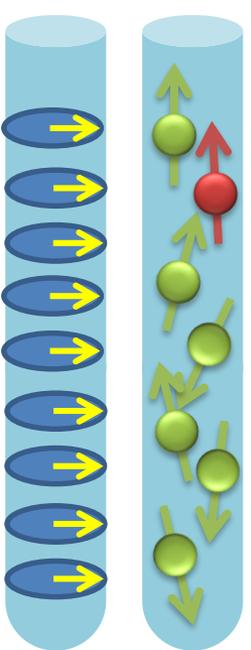
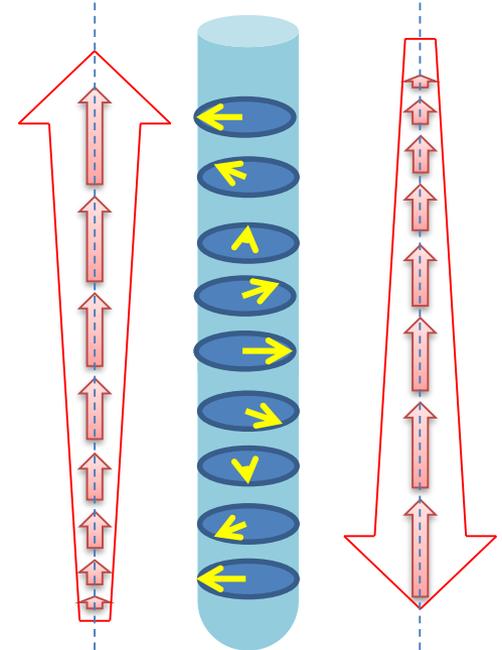
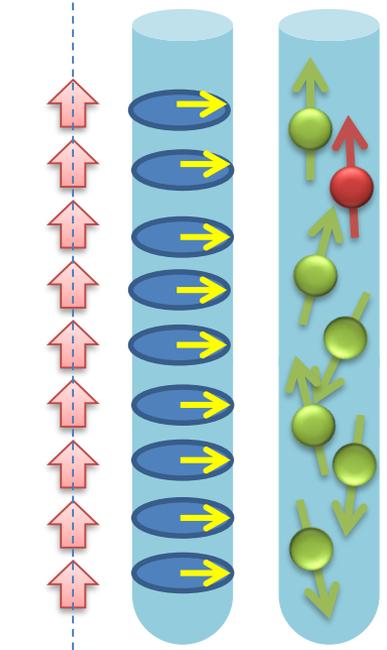
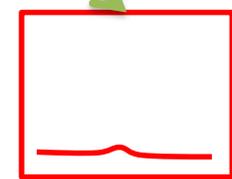
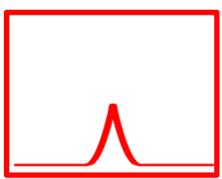
予想 NMR 信号

横磁化の位相 (向き)

スピンの空間的な位置



拡散が早いと、核スピンの間に動き、位相を忘れてしまう
 = 動く前後での位相の相関が失われるので、巻き戻れない。



① 拡散が無い場合

② 拡散が遅い場合

③ 拡散が早い場合

拡散と磁場勾配との理論式



Stejskal-Tannerの式

$$I_{\text{obs}}(g, \delta, \Delta) = I_0 \times \exp(-D \gamma^2 g^2 \delta^2 (\Delta - \delta/3))$$

観測できるもの

求めたいもの

I_0 と γ は定数

D: 拡散係数

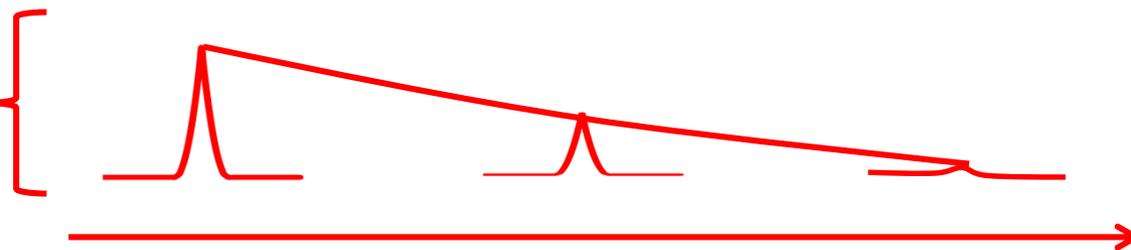
γ : 磁気回転比

g: 磁場勾配強度

Δ : 拡散時間

δ : 磁場勾配をかける時間

信号強度 I_{obs}



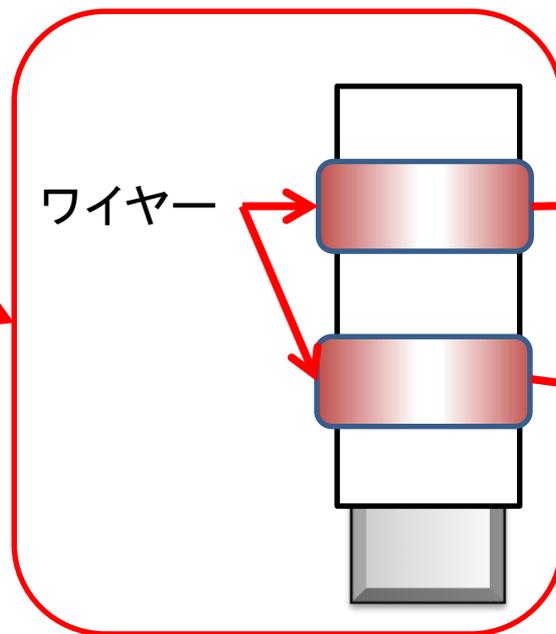
g or δ or Δ を変化

- ・ g 、 δ 、 Δ の3つの変数のうち、2つを固定し、1つを変数として信号強度変化のプロットを作成し、拡散係数Dを求める。
- ・ 実践では、 δ 、 Δ を固定し、 g を変数とする。

磁場勾配強度



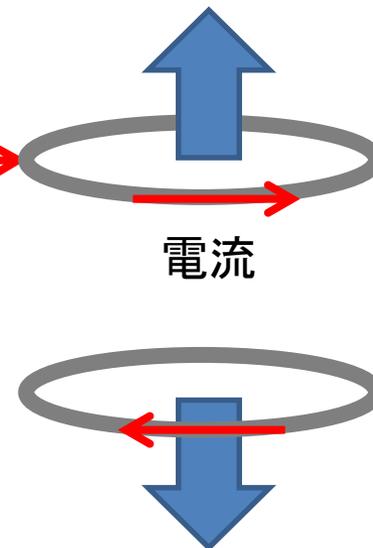
プローブ



プローブカバーを外した
ときの内部の模式図

Gradientコイル
(Maxwellコイル)

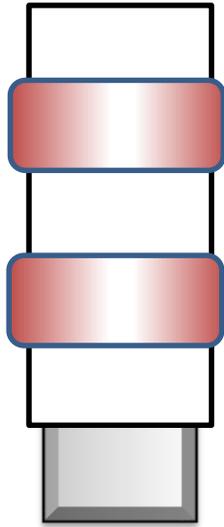
誘導磁場



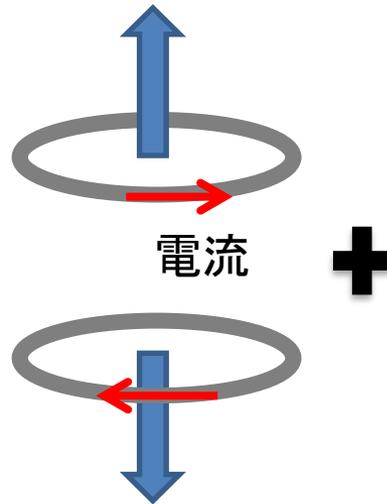
2本のコイルに逆向きの電流
を流して傾斜磁場を作る。

磁場勾配強度について

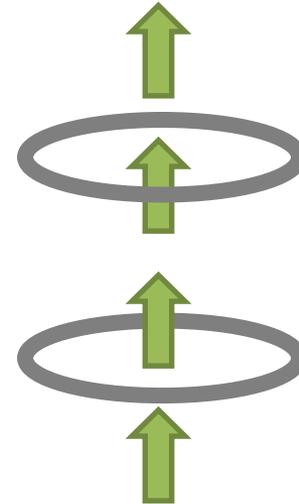
Gradientコイル
(Maxwellコイル)



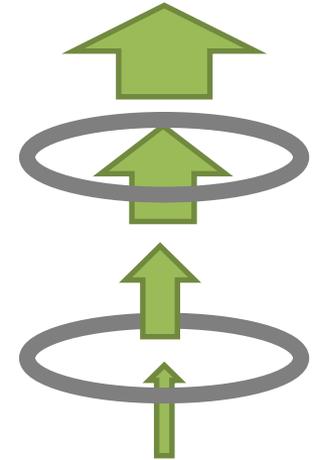
プローブカバーを
外したときの
内部の模式図



誘導磁場



B_0 外部磁場



傾斜磁場
→外部磁場 B_0 方向
にLinearに変化

Gradient coilに流す電流の大きさにより、
装置で再現可能な傾斜磁場の強度は異なる。

FG電源の種類とPFG強度



北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

【標準仕様】

- ・0.3T/m (30G/cm)
- ・実測測定限界
拡散係数 D (m^2/s) 1×10^{-11}

【標準仕様 + 30A FG電源】

- ・0.9T/m (90G/cm)
- ・実測測定限界
拡散係数 D (m^2/s) 1×10^{-13}

【GRプローブ + 30A FG電源】

- ・12 T/m (1200G/cm)
- ・実測測定限界
拡散係数 D (m^2/s) 1×10^{-15}

拡散係数測定 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

溶液粘度が高いと拡散係数分離が難しくなる。

・液高を厳密に調整する。

普段通り、5mmチューブで液高40mmで調整する。

・拡散係数を精確に求める場合、

3mm試料管、磁化補正対象型マイクロセルを利用

DOSYにより混合物のスペクトルを分離する

→通常利用の5mm試料管で問題無い。

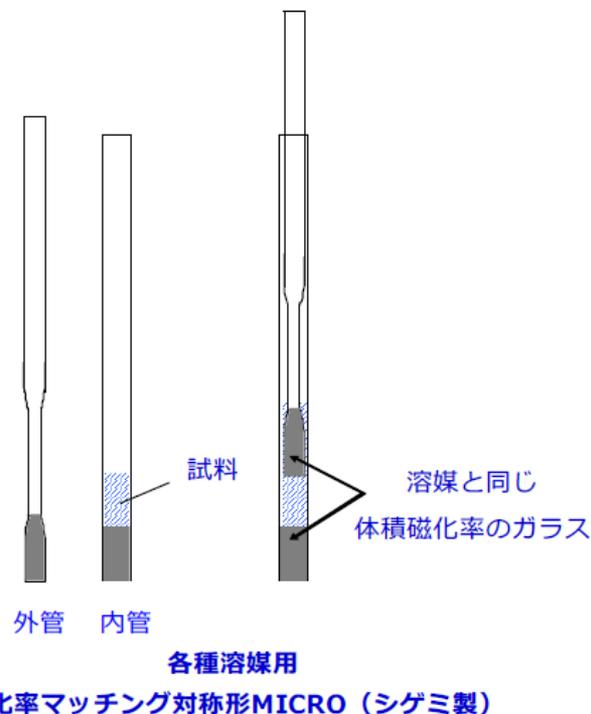
分子量の同定を行う等と言った

精確な拡散係数を測定したい場合

→ 3mm試料管、磁化補正対象型マイクロセル

※ 3mm試料管用スピナロータの準備も必要

※ S/Nが低下することがデメリット



拡散係数測定 の 注意点

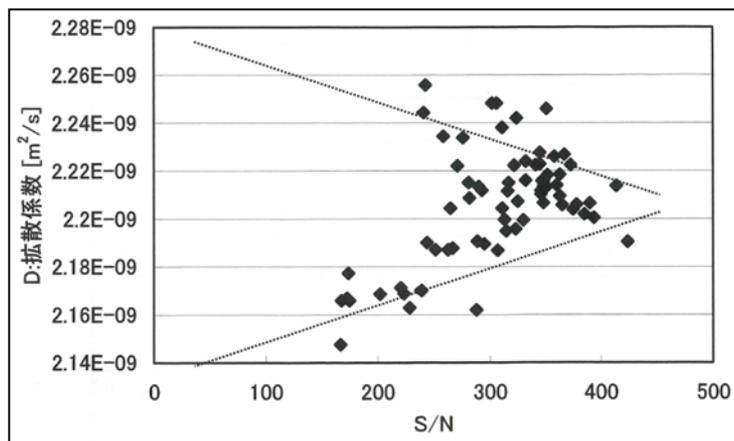


[3mm試料管、磁化補正対象型マイクロセル利用のメリット]

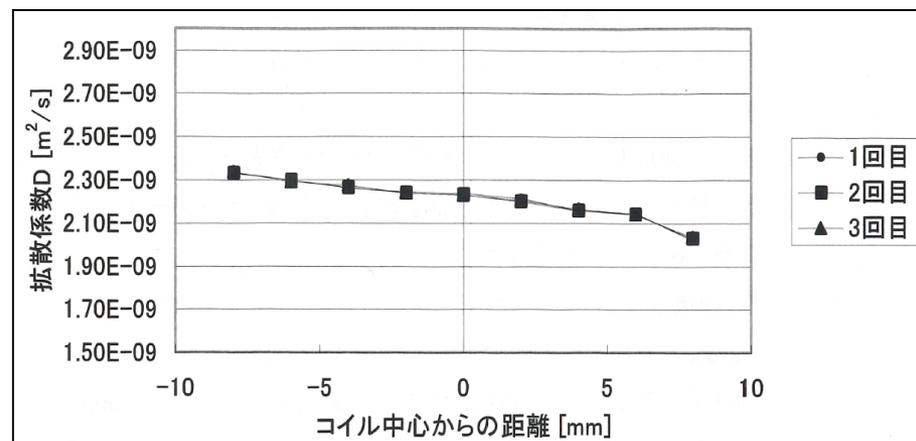
- ・試料の液量を減らすことで試料管内の温度勾配による対流の影響を抑制できる。
- ※拡散時間 Δ を変更して異なる拡散係数 D が算出される場合は、対流の影響ありと判断

[デメリット]

- ・サンプル量が減少するので、S/Nが低くなりDOSY測定に適さない場合がある。
 - ・液高の調整、試料中心とコイル中心の位置合わせを正確に行う必要がある。
- ※液高が高くなると対流の影響を受けやすくなる。



S/Nと拡散係数の関係



コイル中心に対する試料の位置と
拡散係数の関係

拡散係数測定 of 注意点

【精確な拡散係数が必要な場合】

★拡散係数Dより分子量Mを算出する。

ある高分子が半径 R_H の球状分子であると仮定した場合 Stokesの式とEinsteinの式より、以下の式が成立する。

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R_H}$$

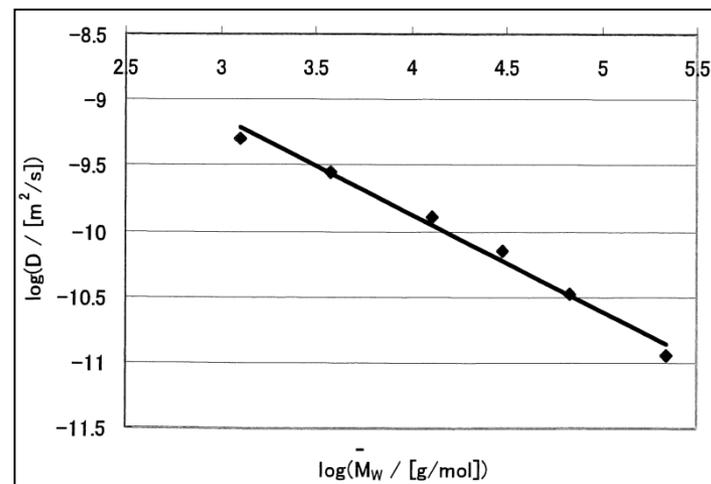
k_B : Boltzmann定数 η : 溶液の粘性率
 T : 絶対温度 R_H : 高分子の半径(球状と仮定した場合)

この場合、希薄溶液中では R_H は分子量Mに比例
拡散係数Dは分子量Mの測定法にとして利用される。

例) 試料: 単分散なポリスチレン(濃度: 40g/L)
測定温度: 30°C

→十分な希薄溶液では無いが、測定温度30°C
における拡散係数Dと分子量Mの
関係式が得られた。

$$D = \frac{7.03 \times 10^{-8}}{M^{0.676}}$$



ポリスチレンのDとMの相関関係

拡散係数測定 of 注意点



【スピニング】

分解能は低下するがスピニングをOFFにして測定する。

- スピニングONの場合、位相の乱れが生じる場合がある。
但し、スピニングをONにすると対流の影響を抑制できる場合もある。

【シム調整】

スピニングON、OFFでそれぞれシム調整を行う。

- 磁場の不均一性は分解能に影響する。
DOSYはスピニングOFFで測定するため、X、Yシムの調整(ノースピン)も必要

【S/N】

S/N500以上になることが望ましい

- データのノイズが測定値の誤差の原因となる。
積算回数、処理条件(ウィンドウ関数)の検討

拡散係数測定 of 注意点



【過電流】

過電流の影響を低減するパルスシーケンスを使う。

→ 磁場勾配パルスによってサンプル近傍のプローブの金属部分に残った電流が信号の位相や分解能を乱し、信号を減衰させる。

【温度変化】

プローブの温調機能を利用して、温度一定状態で測定する。

→ 測定中の温度変化により、ピークの変動が生じる。

【パルス繰り返し時間】

T_1 の10倍程度にrelaxation delayを設定する。

拡散係数測定の実験



●スピンエコー法 (PFG SE) Experiment: cpse_diffusion_pfg.jpg

- ・ T_2 の短い系では拡散時間 Δ を長く取ることができない。
- ・同種核の強い ^1H - ^1H スピン結合が存在する場合、J変調の影響で信号の位相に歪みが生じる。

●ステイミュレーテッドエコー法 (PFG STE) Experiment: stimulated_echo_pfg.jpg

- ・ T_2 の短かくても T_1 が長ければ拡散時間 Δ を長く取れる。
- ・J変調の影響を抑えることができ、位相の歪みが抑えられる。

●ステイミュレーテッドエコー法 (PFG BPP STE) Experiment: bpp_ste_dosy_pfg.jpg

- ・FGパルスによる渦電流の影響を抑えることができる。

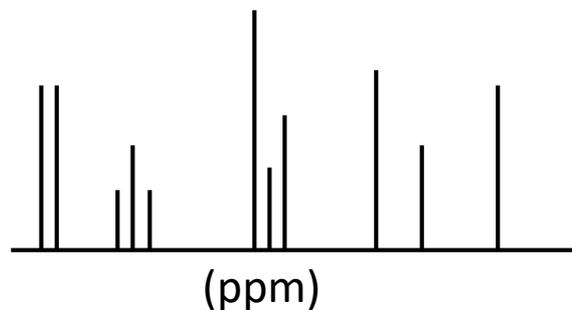
●ステイミュレーテッドエコー法 (PFG BPP STE) Experiment: bpp_led_dosy_pfg.jpg

- ・BPP-STE法にLED(Longitudinal Eddy current Delay)を加えたシーケンス
- ・FGパルスによる渦電流の影響を抑えることができる。
- ・通常、利用されるパルスシーケンス

DOSY(Diffusion-Ordered Spectroscopy)の概要

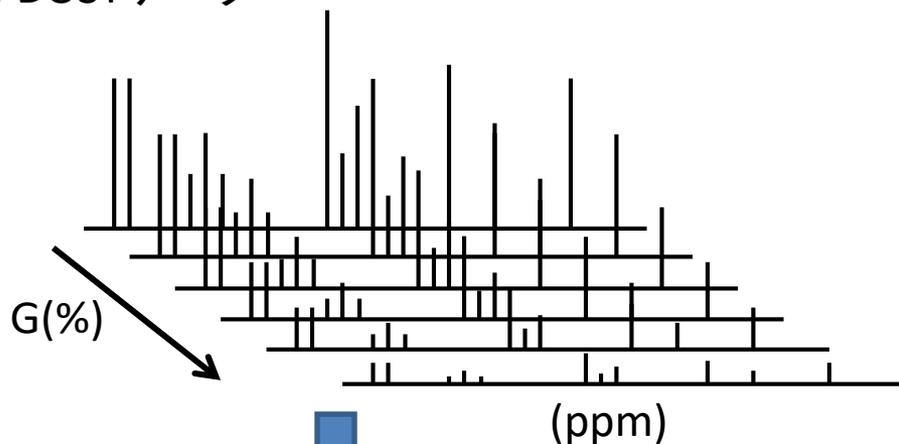
分子拡散係数の違いを利用して、
多成分系試料のNMRスペクトルを分離する測定方法
基本的には、拡散係数測定と同じ。

(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

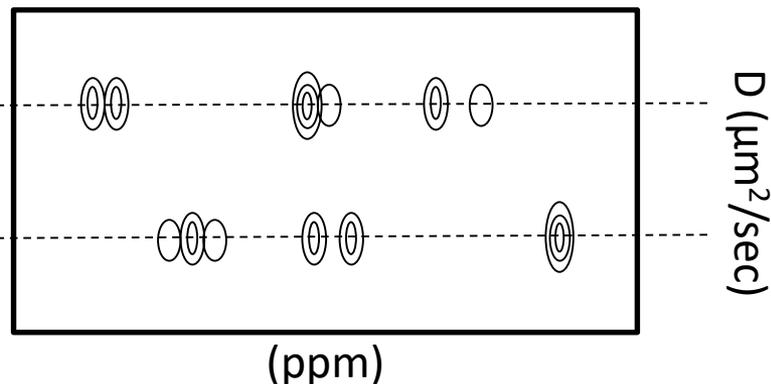


B スライスデータ



ILT (逆ラプラス変換)
↓

(3) DOSYスペクトル



分子拡散係数測定、DOSY

2) 拡散係数測定の測定手順

- ・測定の流れ
- ・操作手順
- ・拡散係数を一覧表示する方法

本講習では、Delta ver.5で説明しますが、
ver.4も同様の操作方法で測定可能です。

測定の流れ



1) サンプルセット → ^1H 測定

拡散係数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) 拡散係数測定 測定条件の確認

- ・使用する磁場勾配(G)の範囲で信号が減衰するか確認する。
- ・拡散時間 Δ , 磁場勾配パルス幅 δ も適切な値であるか確認する

3) 拡散係数測定 本測定 → Deltaの解析ツールで計算

- ・本測定が正常に行われているか確認 → 拡散係数を計算

※操作2)~3)は、条件出しがうまくいけば1本のサンプルを1時間程で測定できます。

サンプルセット



北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

- 1)  を起動し、分光計  に接続する。
- 2)  を押し、「サンプル名」「溶媒」を選択し、ベリファイにチェックを入れる。
- 3) 「サンプル」→「マニュアル制御」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。



◆温度調整について

→30°C～溶媒の沸点以下の温度領域で温調しながら測定することが望ましい。

- ・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。
- ・シム調整は、温調完了後に行うこと

サンプルセット



北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

- 6) グラジエントシム  を起動し、LOCK信号メーターの数値を600付近にする
・LOCK信号メーターが600程度にならないければ、「Gain」の数値を変更し、調整する。
- 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に

・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。

※拡散係数測定は、スピンOFFで行うのでXYシムがずれていると、分解能が低下します。



The screenshot shows the control interface for the instrument, divided into several panels:

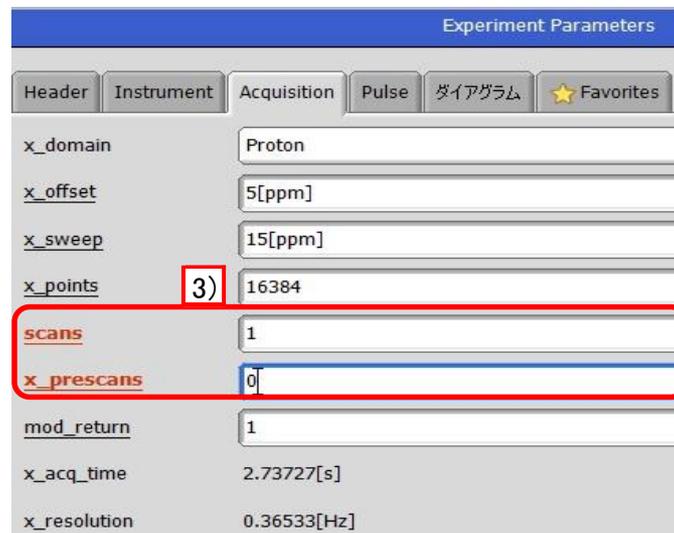
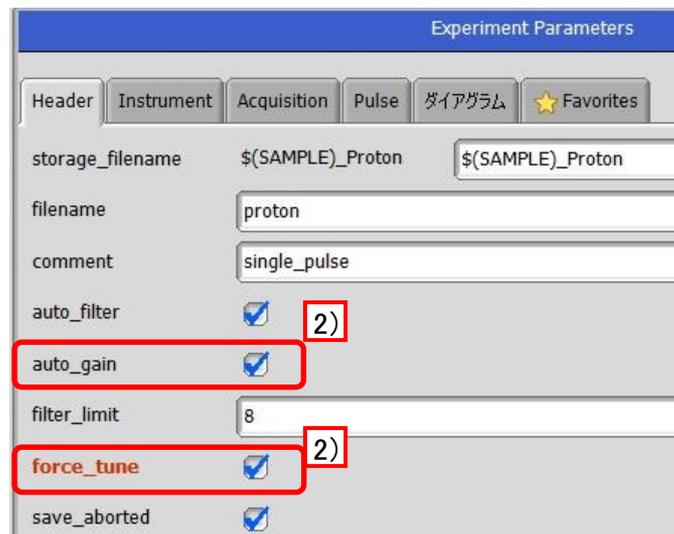
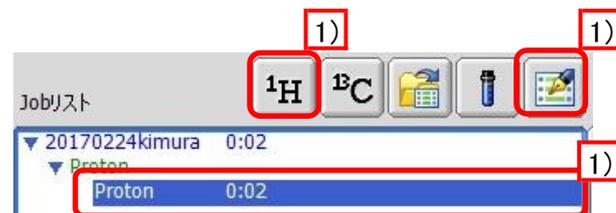
- サンプリング制御 (Sampling Control):** Includes a solvent selection field set to "CHLOROFORM-D".
- スピニング制御 (Spinning Control):** Shows "Current" at 15[Hz] and "Target" at 15[Hz]. A red box labeled "7)" highlights the "Stop Spin" button (red X icon).
- 温度制御 (Temperature Control):** Shows "Current" at 30.3[dC] and "Target" at 30.0[dC].
- Lock制御 (Lock Control):** Shows "Status" as "LOCK OFF" and "AUTOLOCK" checked. A red box labeled "6)" highlights the "Start Gradient" button (green arrow icon).
- Lock信号メーター (Lock Signal Meter):** Displays a value of "49" (circled in red and labeled "6)") and a green progress bar (labeled "7)").
- シムグループ (Sim Groups):** Shows "Z1 Z2 Z3 Z4" selected. The "オートシム" (Auto Sim) button is highlighted with a red box labeled "7)".
- シムパラメータ (Sim Parameters):** Displays values for Z1 (95.14[Hz]), Z2 (-40.36[Hz]), Z3 (56[Hz]), and Z4 (-59.14[Hz]).
- Gain Control:** On the right, the "Gain" is set to 26 (circled in red and labeled "6)"). Other parameters like "Level" (180), "Phase" (338.9[deg]), and "Offset" (7.26[ppm]) are also visible.

^1H 測定

1) ^1H 測定  →ジョブリストの[Proton]を選択し
パラメータ編集  を押す。

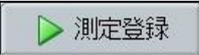
2) [Experiment Parameters]の「Header」タブにて、
「force tune」にを入れる。
「auto_gain」もが入っているか確認する。

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。



^1H 測定



- 4)  を押して、 ^1H 測定を起動すると、
[info]の欄にて、Receiver gainを確認する。

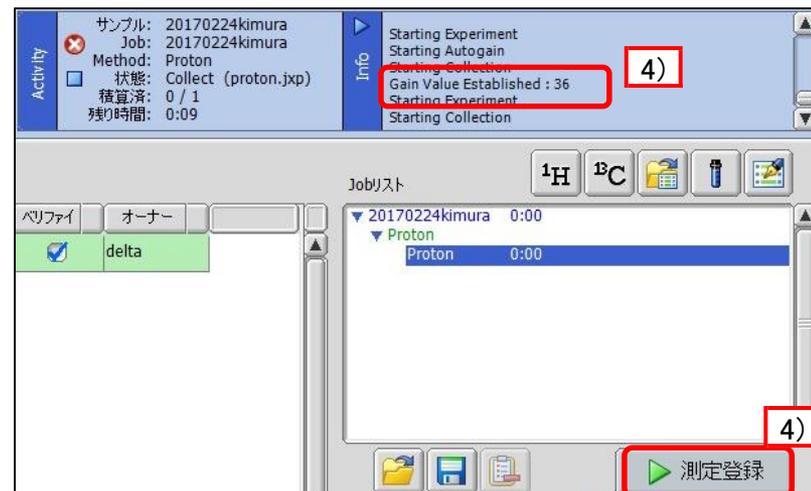
※Receiver gain値は、サンプルにより異なるので、
毎回測定が必要。

今回は、「36」を使用する。

- 5) ^1H スペクトルを確認する。

※ ^1H スペクトルのS/N比が500以上であること

※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、シムの再調整が必要。



- 6) 「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。

※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。



拡散係数測定 測定条件の確認



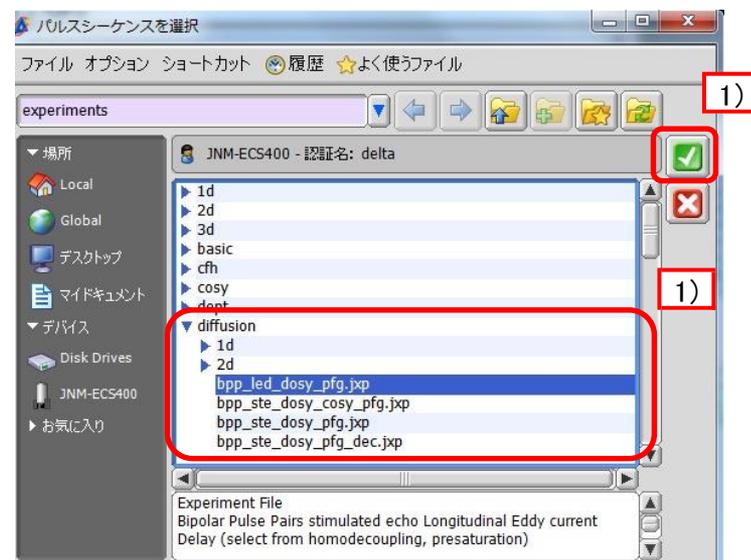
- 1)  →「パルスシーケンスを選択」ウィンドウにて「diffusion」より適切なパルスシーケンスを選択する。

拡散係数の基本的なシーケンス

Experiment: cpse_diffusion_pfg.jxp

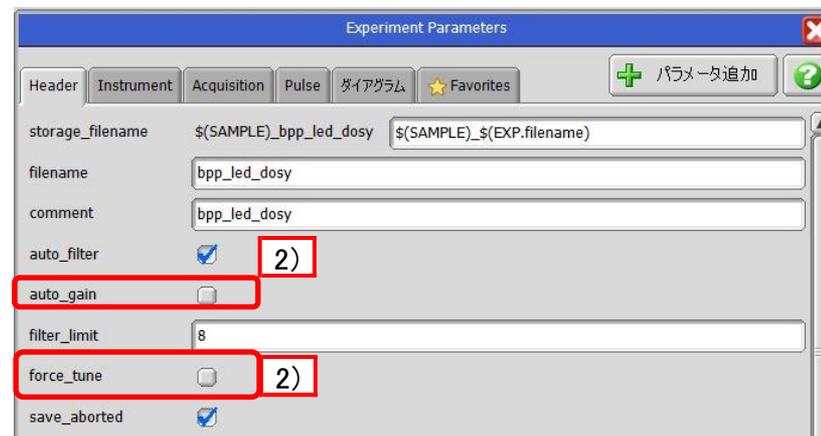
良く利用されるシーケンス

Experiment: bpp_led_dosy_pfg.jxp



- 2) [Experiment parameter]の[Header]にて、「auto_gain」「force_tune」のが外れていることを確認する

※アレイ測定を行う際、
「auto_gain」は使用できない。



拡散係数測定 測定条件の確認



北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

3) [Experiment parameter]の[Instrument]で、「recvr_gain」に ^1H 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 parameter]の[Acquisition]は、デフォルトのままで良い。

※S/Nが500未満の場合は、scansを変更する。

5) [Experiment parameter]の[Pulse]にて、「g」をクリックする。

「diffusion_time」 初期値0.1 (s)
「delta」 初期値 2 (ms)
信号の減衰量に応じて、変更する。
詳細は、16)に記載。

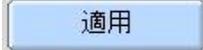
The image displays three screenshots of the 'Experiment Parameters' software interface, showing different tabs and their respective parameters.

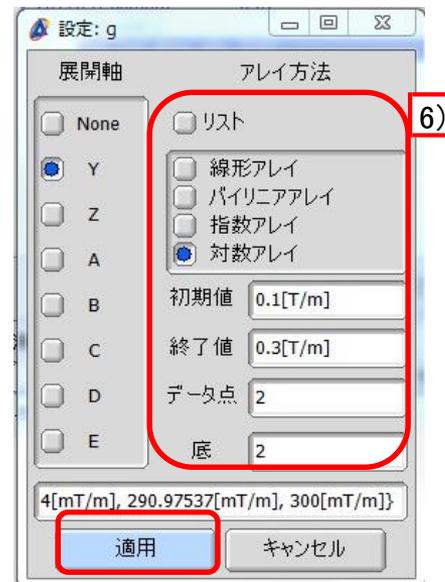
Top Screenshot (Instrument Tab): The 'recvr_gain' parameter is highlighted with a red box and set to 50. The 'spin_state' parameter is set to 'SPIN OFF'. A red box with the number '3)' is in the top right corner.

Middle Screenshot (Acquisition Tab): Shows parameters for acquisition, including 'x_domain' (Proton), 'x_offset' (5[ppm]), 'x_sweep' (15[ppm]), 'x_points' (16384), 'scans' (8), 'x_prescans' (4), 'mod_return' (1), 'x_acq_time' (2.73727[s]), and 'x_resolution' (0.36533[Hz]).

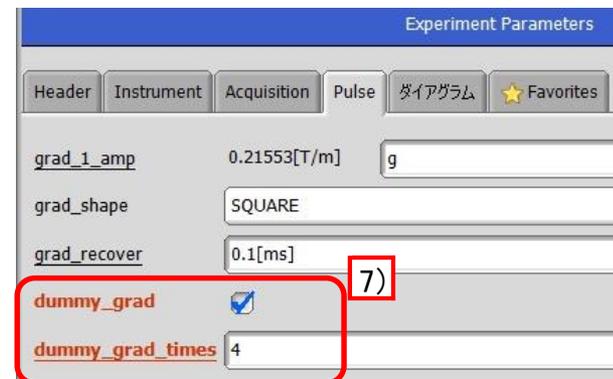
Bottom Screenshot (Pulse Tab): Shows parameters for the pulse sequence, including 'x_pulse' (6.6[us]), 'x_atn' (1[dB]), 'diffusion_time' (0.1[s]), 'delta' (2[ms]), 'g' (3[mT/m]), 'grad_1' (1[ms]), 'gradient_max' (0.3[mT/m]), 'note' (Do not), 'grad_1_amp' (3[mT/m]), 'grad_shape' (SQUARE), 'grad_recover' (0.1[ms]), and 'dummy_grad'. The 'g' parameter is highlighted with a red box, and a red box with the text 'ここをクリック' (Click here) is placed over it with an arrow pointing to the 'g' parameter.

拡散係数測定 測定条件の確認

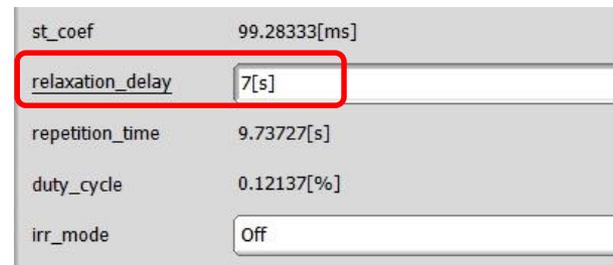
- 6) [設定:g]のウィンドウにて、アレイ方法の
[リスト]のチェックを外し、[対数アレイ]を選択する。
「初期値」 0.1[T/m] 「データ点」 2
「終了値」 0.3[T/m] 「底」 2
以上を入力し、  を押す。

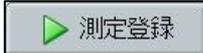


- 7) [dummy_grad]にチェックを入れる。
→rephaseのパルスを打つときに、
前のパルスの影響を無くすることができる。
[dummy_grad_times]に「4」を入力する。
→4の倍数を入力する。



- 8) [relaxation_delay]に T_1 の10倍の数値を入力
→ T_1 が不明であればデフォルトの7(s)
 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

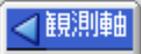


- 9)  を押して、測定を行う。

拡散係数測定 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。

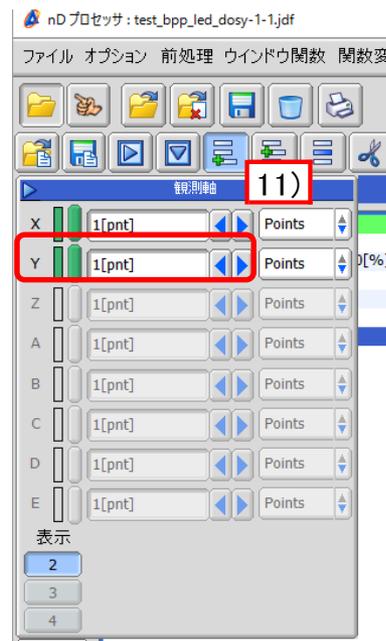
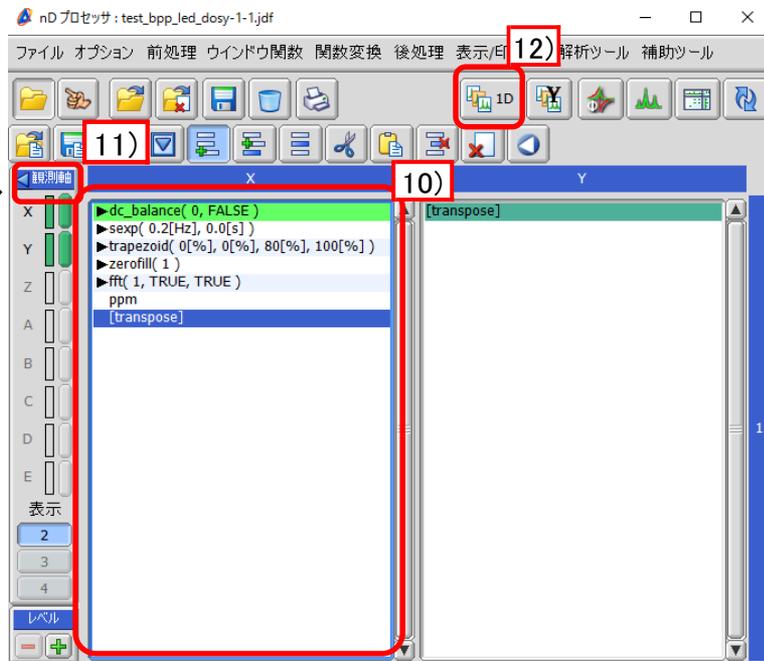
X軸欄が青枠で選択されます。

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。

10)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。



拡散係数測定 測定条件の確認

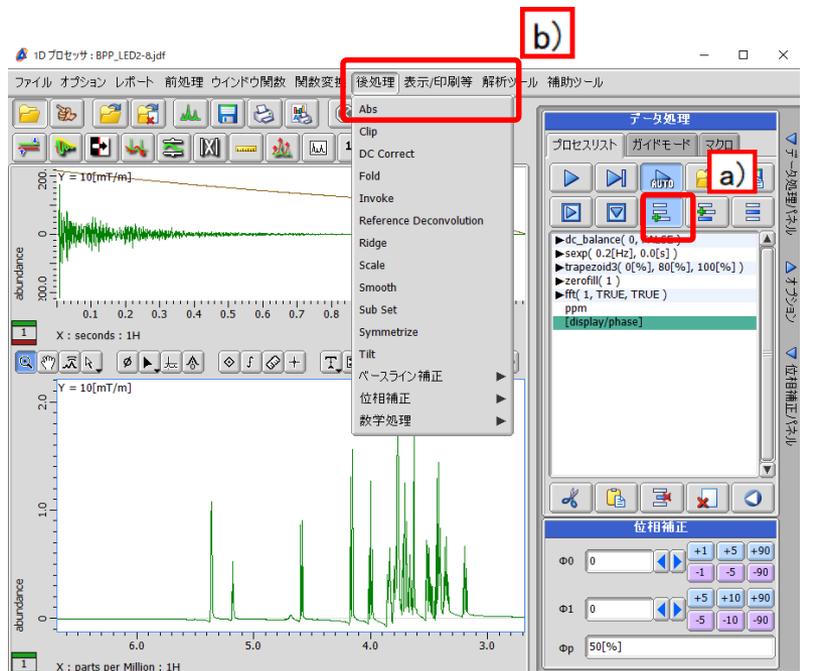
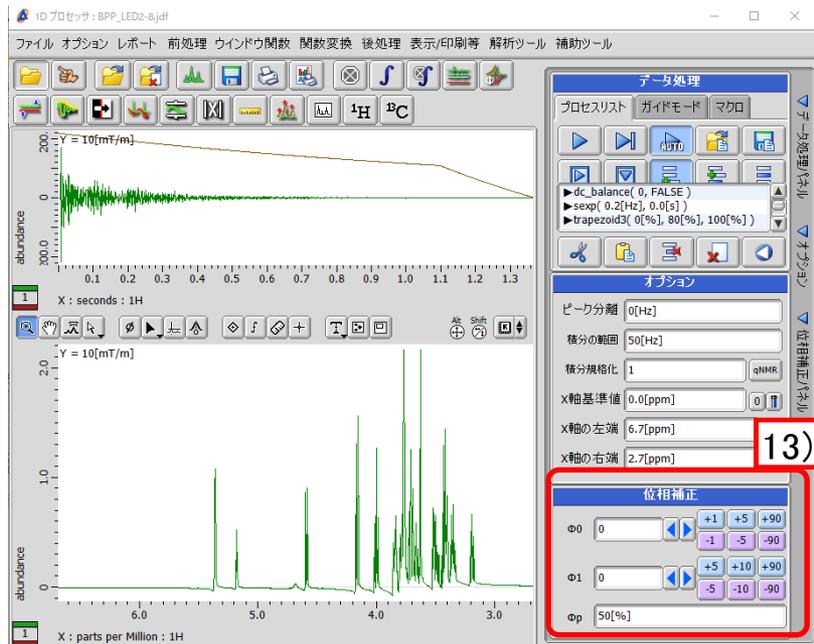
13) 「 ϕ_0 」「 ϕ_1 」の数値を変更し、位相補正を行う。
位相補正完了後、[1D プロセッサ]を閉じる。

※  は利用せず、必ず手動で位相補正する。
※ 拡散係数を求める場合、ピークの高さ情報が
必要となるため、ノイズの寄与を減らすために
ウィンドウ関数のパラメーターを必要に応じて
変更する。

[測定データで位相が合わない場合]
※パワー処理を行います。

a) [1Dプロセッサ]ウィンドウの  クリックする。

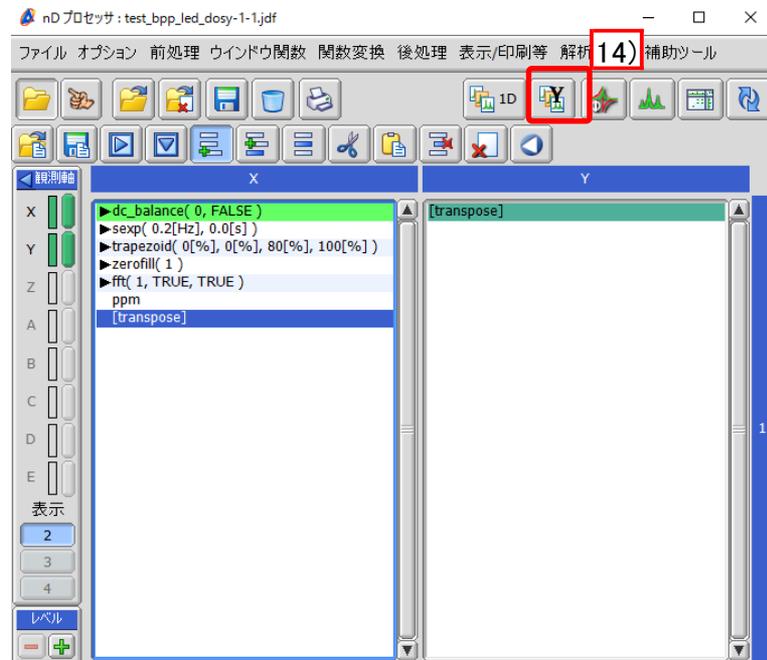
b) メニューバーの[後処理]-[Abs]を選択すると
プロセスリストに[abs]が登録される。



拡散係数測定 測定条件の確認

14) [nD プロセッサ]にて、 を押す。

g: 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。



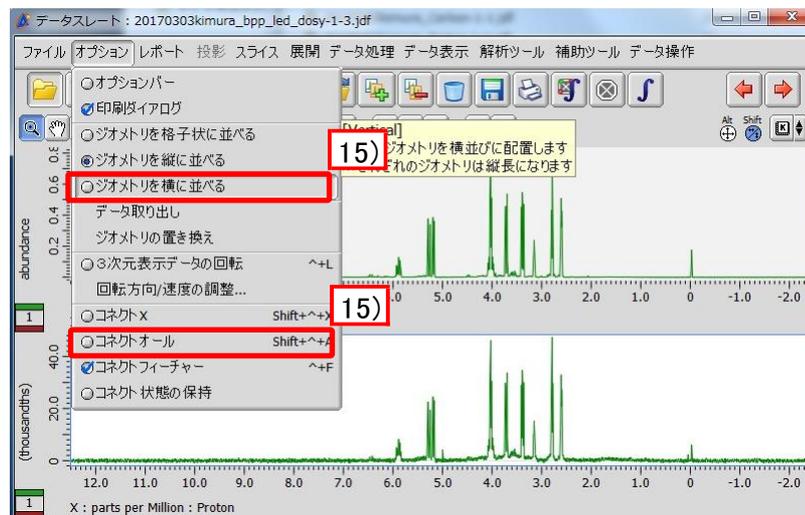
15) [データスレート]で、「オプション」を選択し、

「ジオメトリを横に並べる」

→スライスデータを横並びにする。

「コネクトオール」

→2つのスライスデータの縦軸、横軸表示を
リンクさせる。



拡散係数測定 測定条件の確認



北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

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 (1/10 がベスト)

・減衰量が少ない(1~1/5くらい)

[Experiment parameter] → [pulse]の

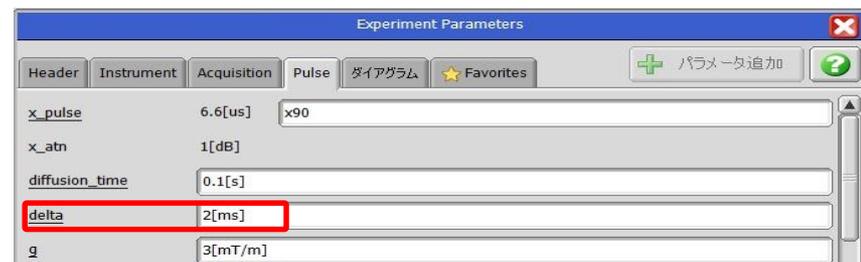
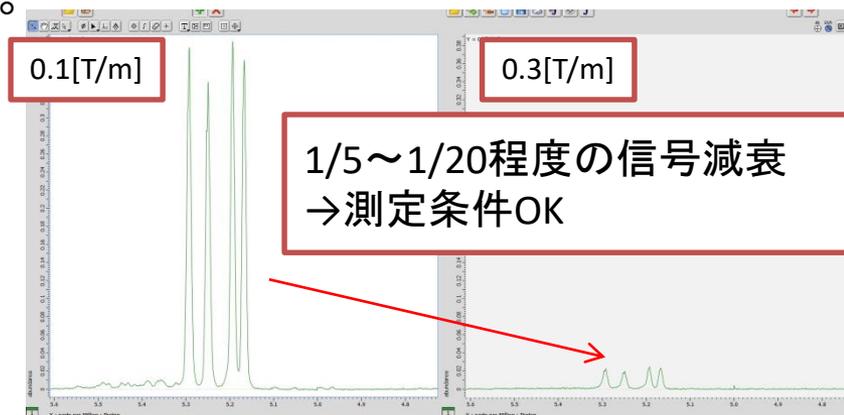
「delta」(初期値2ms)を長くして、再測定。

例) 3ms, 4ms等にする。(上限10ms)

・減衰量が多い(1/20以下)

「delta」(初期値2ms)を、短くして、再測定。

例) 1ms, 0.1ms等にする。



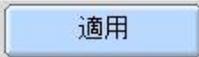
拡散係数測定 本測定

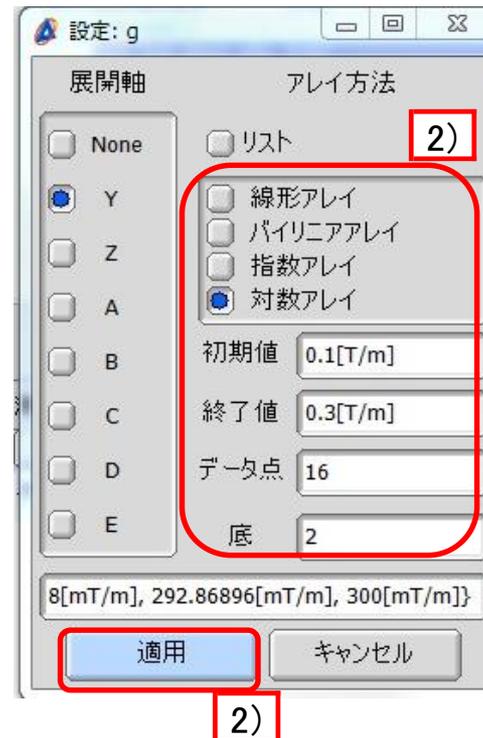
1) 「拡散係数測定 測定条件確認」の1)～5)を行う。

2) [設定:g]のウィンドウにて、アレイ方法の
[リスト]のチェックを外し、[対数アレイ]を選択する。

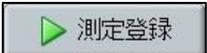
「初期値」 0.1[T/m] 「データ点」 16

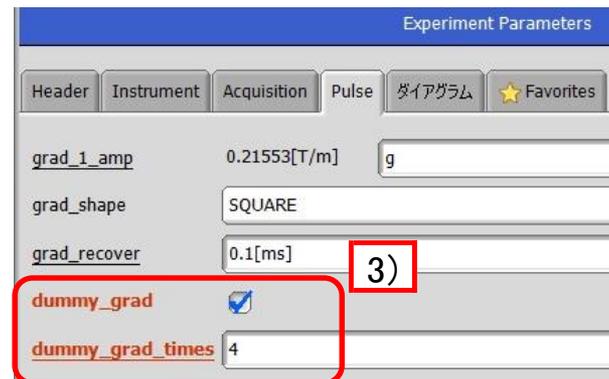
「終了値」 0.3[T/m] 「底」 2

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。

4) [Experiment Parameter]を閉じて、
を押して、測定を行う。



拡散係数測定 本測定

5) 「拡散係数測定 測定条件の確認」の
10) ~ 13) を行う。

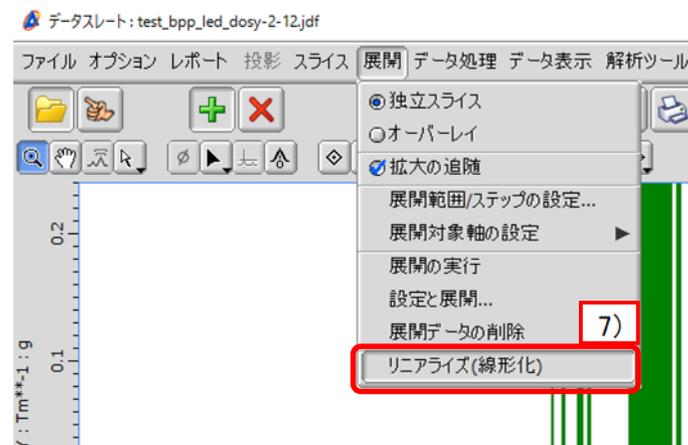
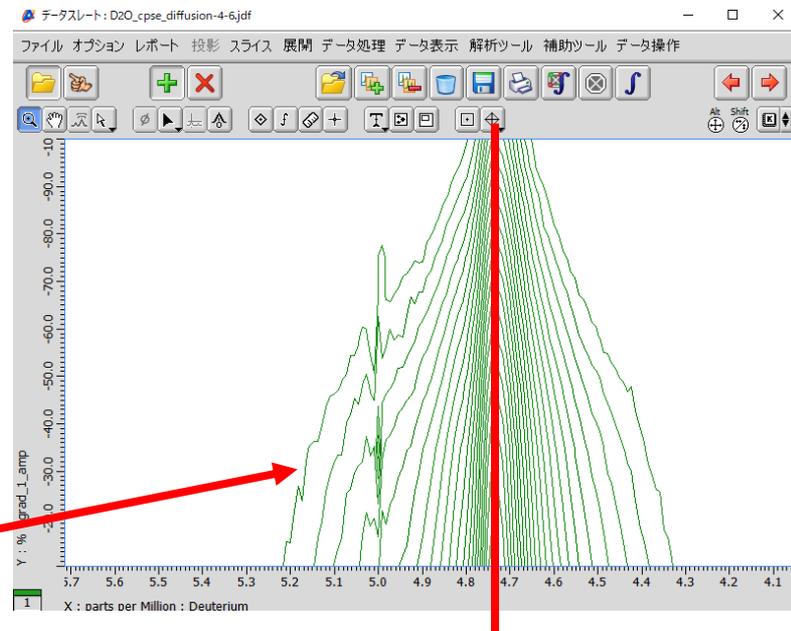
6)  を選択し、
[Y軸スライスデータスレート]を開く

[注意点]

 を利用して、Y軸方向に波形が一直線に
並んでいるか確認する。
右図の赤線のようにY軸方向に波形が
並んでいると良い。

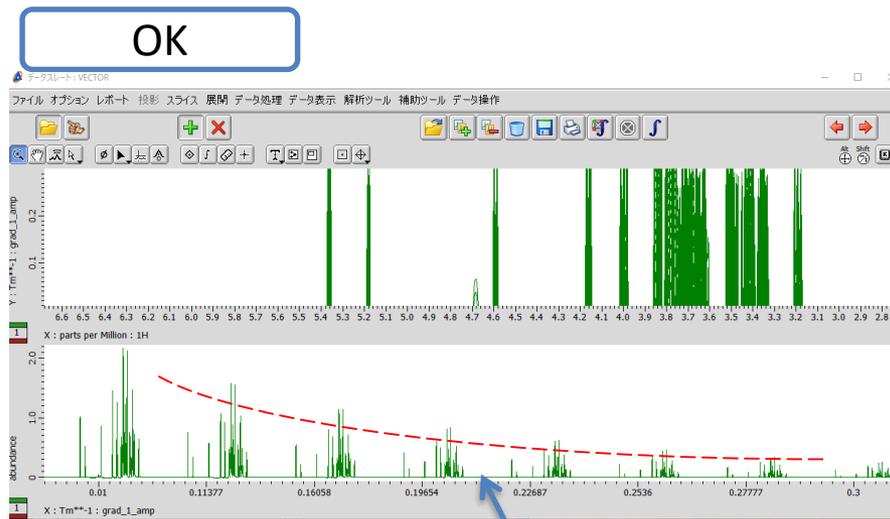
一直線になっていない場合は、サンプル周辺の
温度変化の有無確認、シムの再調整等を行って
再測定を行ってください。

7) [データスレート]で、「展開」→「リニアライズ(線形化)」
を選択し、アレイデータを横並びにする。



拡散係数測定 本測定

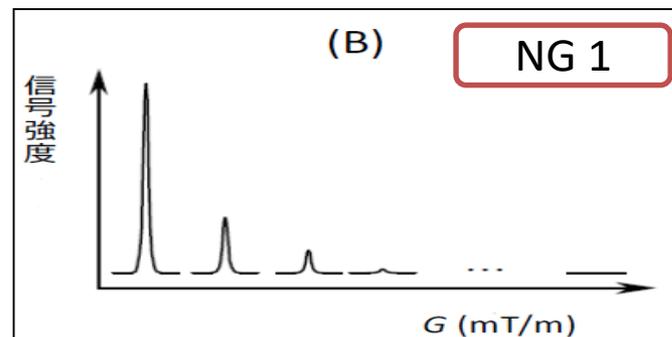
8) アレイ測定データの信号強度が、右図のように、緩やかに減衰しているか確認する。



【NG 1 : 信号減衰が急な場合】

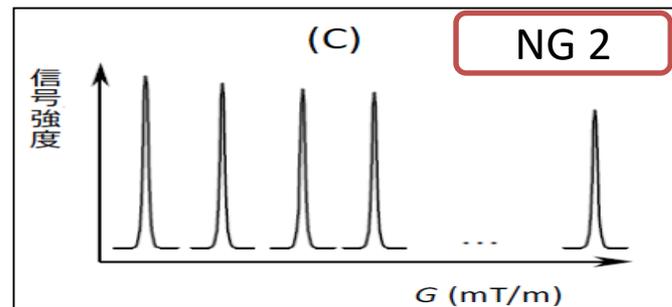
拡散係数の差が出にくいので、 $[\delta]$ を長くする。

やり方は、[DOSY測定 測定条件の確認]の15)を確認。



【NG 2 : 信号減衰が小さい場合】

ノイズの影響が大きくなるので、 $[\delta]$ を短くする。



拡散係を一覧表示する方法



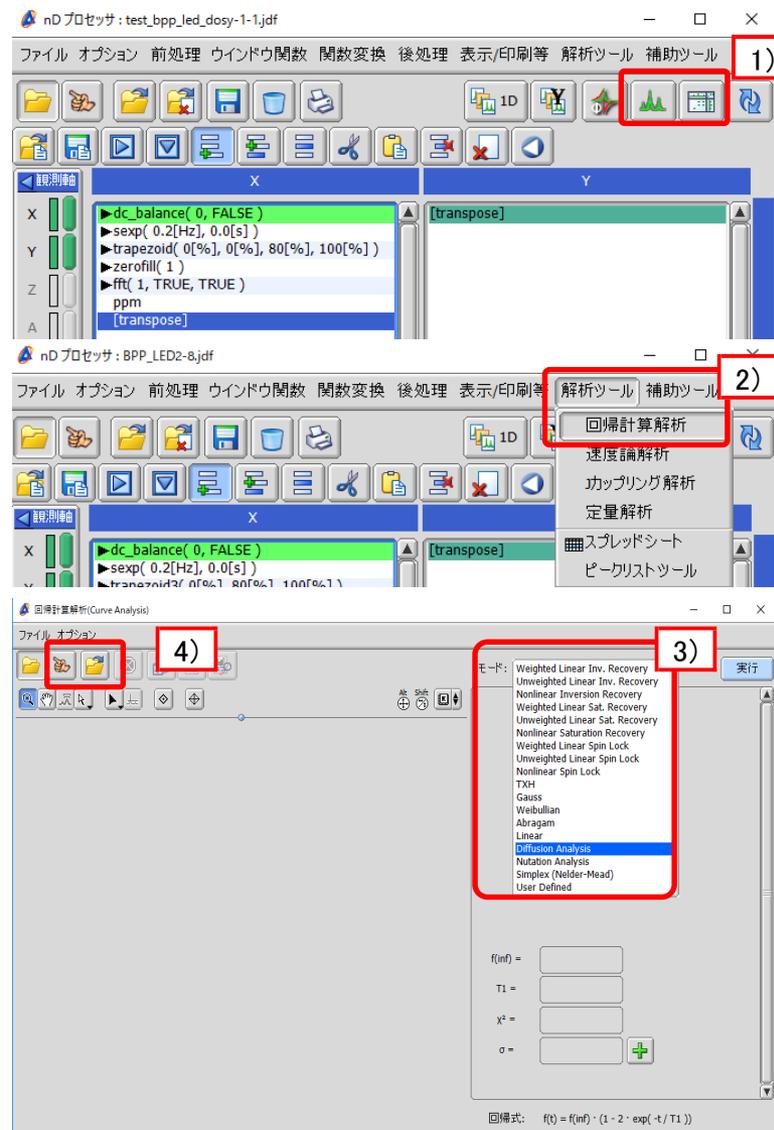
北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

1) nDプロセッサにて、 または  を
選択する。

2) nDプロセッサの、[解析ツール]-[回帰計算解析]
を選択する。

3) 計算のモードを[Diffusion Analysis]にする。

4) 回帰計算解析ウィンドウの  →  を押す
とカーソルが指型に変わるので、データスレート
もしくは、データビューワのデータをクリックする。



The screenshot shows the nD Processor interface with three windows illustrating the steps:

- Window 1:** The main nD Processor window. The 'Analysis Tools' (解析ツール) button in the top toolbar is highlighted with a red box and labeled '1)'. The 'Y' channel list shows parameters like `dc_balance(0, FALSE)`, `sexp(0.2[Hz], 0.0[s])`, `trapezoid(0[%], 0[%], 80[%], 100[%])`, `zerofill(1)`, `fft(1, TRUE, TRUE)`, `ppm`, and `[transpose]`.
- Window 2:** The 'Analysis Tools' (解析ツール) menu is open, and the 'Regression Analysis' (回帰計算解析) option is highlighted with a red box and labeled '2)'. Other options include 'Speed Analysis' (速度評価解析), 'Coupling Analysis' (カップリング解析), 'Quantitative Analysis' (定量解析), 'Spreadsheet' (スプレッドシート), and 'Peak List Tools' (ピークリストツール).
- Window 3:** The 'Regression Analysis (Curve Analysis)' (回帰計算解析(Curve Analysis)) window is open. The 'Diffusion Analysis' (拡散解析) mode is selected in the list, highlighted with a red box and labeled '3)'. The 'Action' (実行) button is also highlighted with a red box and labeled '4)'. Below the list, there are input fields for $f(mf) =$, $T1 =$, $\chi^2 =$, and $\sigma =$, and a '+' button. At the bottom, the regression formula is shown: $f(y) = f(mf) \cdot (1 - 2 \cdot \exp(-t / T1))$.

拡散係数を一覧表示する方法



北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

5)  を選択し ピークモードにする。

ピークモード: 拡散係数を求めるピークが多数あり、
まとめてプリントする場合に便利

あらかじめ、ピークピッキングが必要

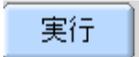
ピックモード: スペクトルの任意位置の拡散係数を
求める場合に利用する。

拡散係数計算点を必ずしも

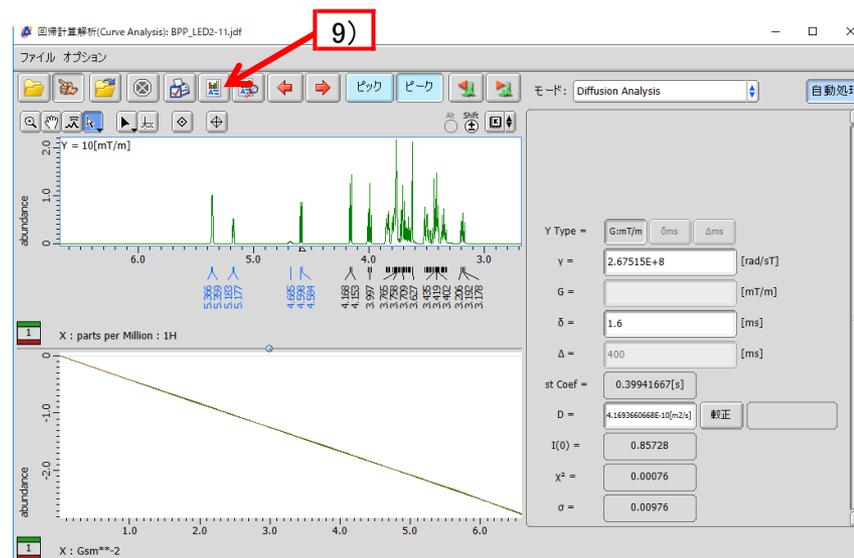
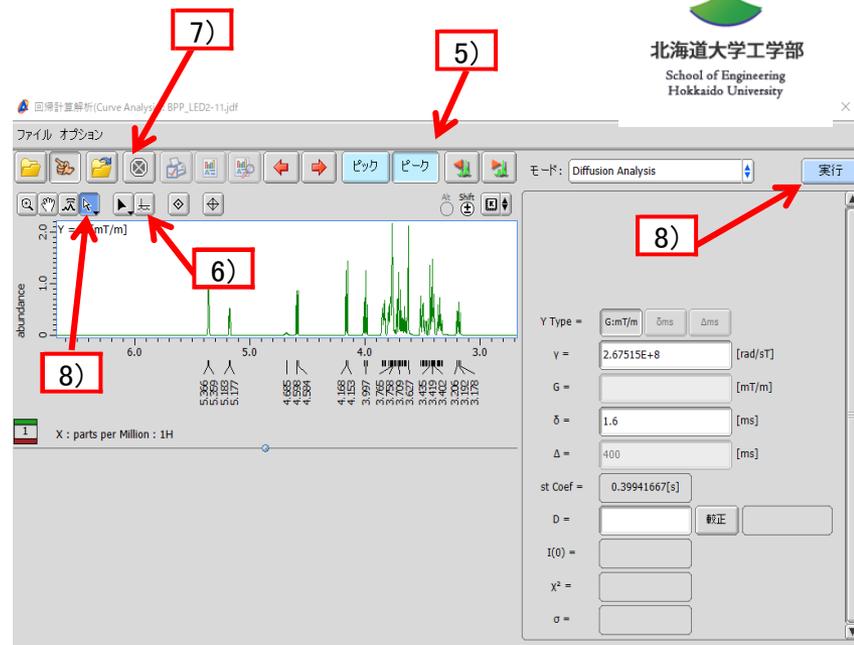
ピーク頂点とする必要無し。

6)  を選択し ドラッグによりスレッシュホールド
を設定する。

7)  を選択し ピークピックを行う。

8)  を選択し 計算に利用するピークを
選択し、  を押して計算する。

9)  を選択し、レポートオプション
ウィンドウを開く



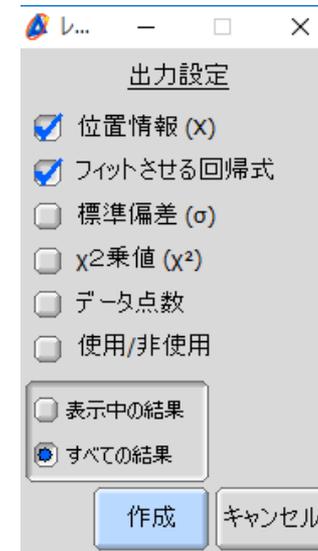
拡散係数を一覧表示する方法

10) レポートオプションウィンドウで以下を選択して
[作成]ボタンをクリックする。

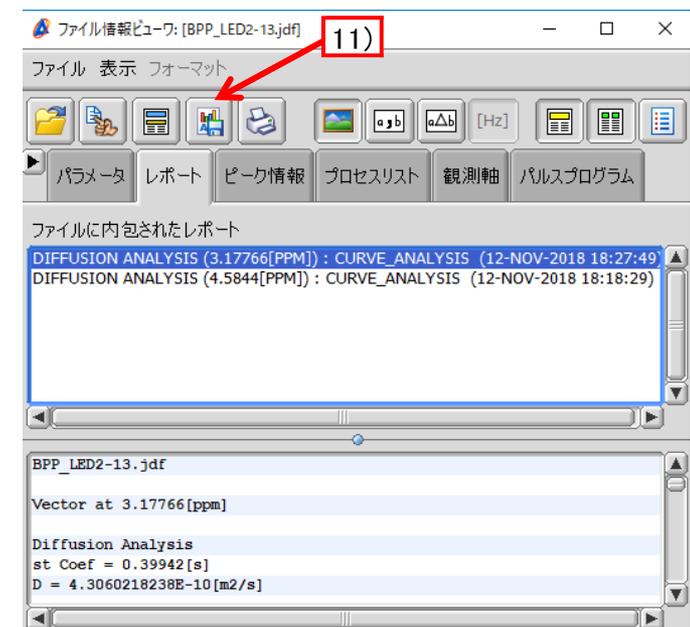
[位置情報] → 化学シフト値

[フィットさせる回帰式] → 計算に使用したモード
(Diffusion Analysis)の表示

[すべての結果] → 複数ピークの計算結果の表示



11)  をクリックし、ファイル情報ビューワを開く。



12)  をクリックするとレポートをテキストファイルで
保存できる。

分子拡散係数測定、DOSY

3) DOSY

- ・測定の流れ
- ・操作手順
- ・データ処理

※DOSYは、拡散係数測定と基本的に同じ操作になります。

測定の流れ



1) サンプルセット → ^1H 測定

拡散係数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 測定条件の確認

- ・使用する磁場勾配(G)の範囲で信号が減衰するか確認する。
- ・拡散時間 Δ , 磁場勾配パルス幅 δ も適切な値であるか確認する

サンプルセット ~ 測定条件確認までは、
拡散係数測定の手順と同じ

3) DOSY測定 本測定 → 拡散係数の違いからスペクトルを分離

- ・Gのアレイ測定より得られた減衰関数を、逆ラプラス変換(ILT)処理する

DOSY 操作手順



北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

1) 「拡散係数測定 of サンプルセット～測定条件の確認」と同じ手順で測定する。

※拡散係数のあまりにも異なる分子種を含む場合、適切な減衰データを得られないです。
この場合は、拡散係数の大きな分子群、小さな分子群にターゲットを分けて、
それぞれに適切な条件(g, Δ, δ)で測定を行います。

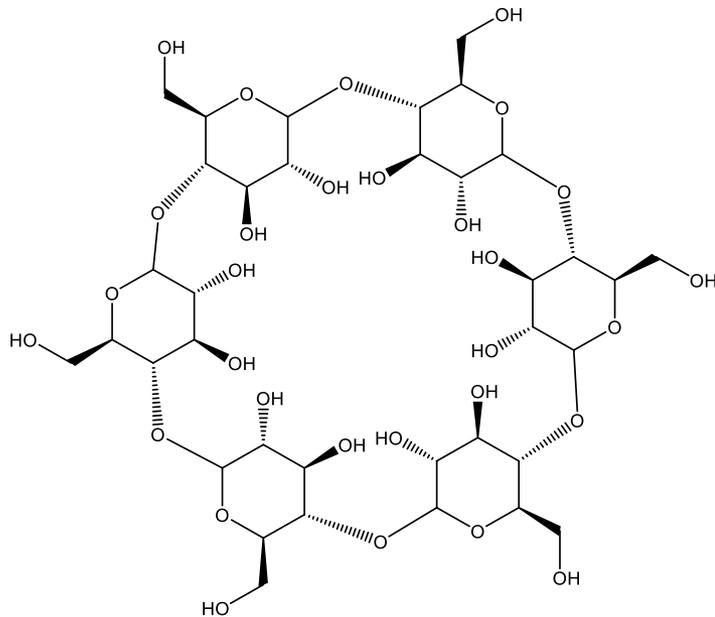
2) 「拡散係数測定 本測定」の 1) ～ 8)と同じ手順で測定する。

DOSY 操作手順

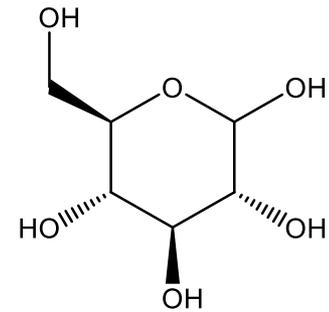


◆本日、操作説明に利用するデータのサンプルです。

- 試料: 20%CD+20%Glu/D2O



α -cyclodextrin



glucose

データ処理

1) [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

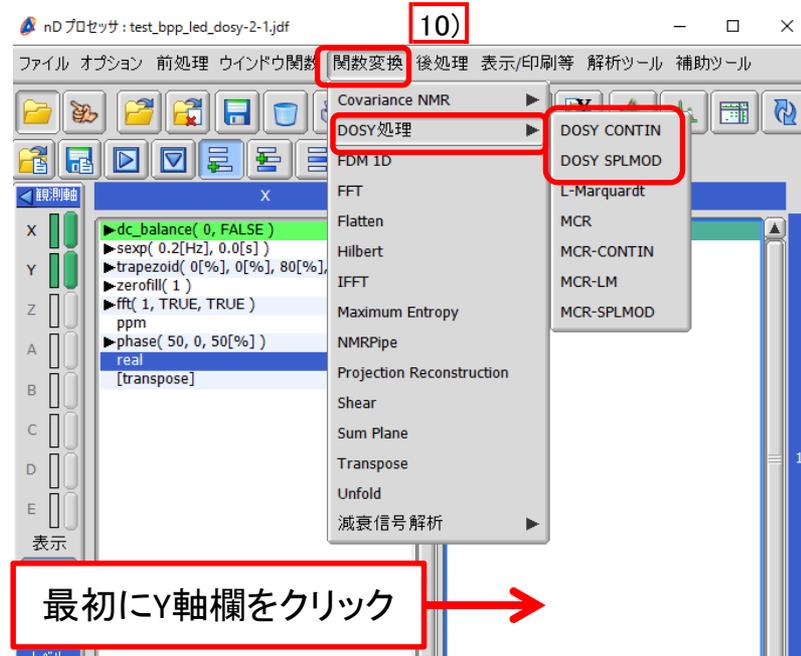
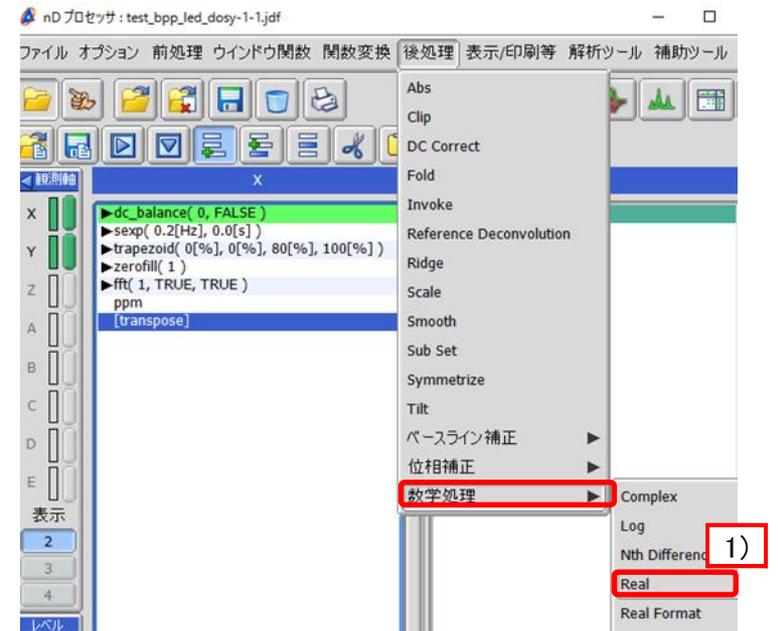
2) [Y軸欄]を選択し、[関数変換]→[DOSY処理]より、最適な処理方法を選択する。

[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。



データ処理



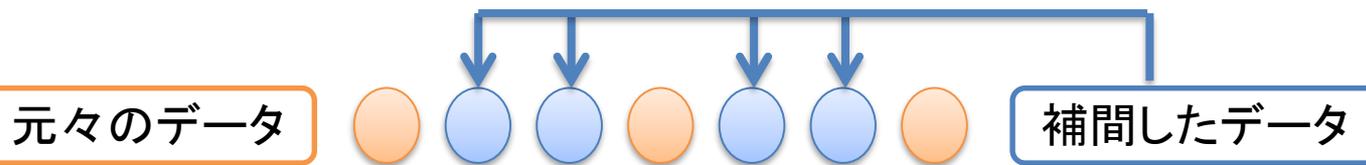
3) `dosy_splmod()` をクリックし、パラメーターを設定する。

[始点] 拡散係数をピーク検索する範囲の最小拡散係数値

[終点] 拡散係数をピーク検索する範囲の最大拡散係数値

[補間] 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

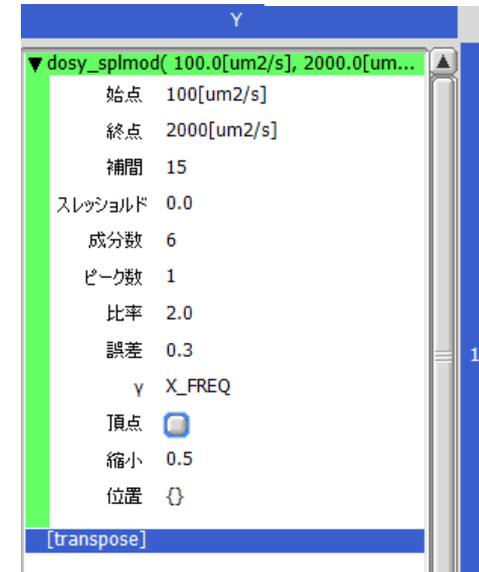


[スレッシュヨルド] 処理に使うピークのスレッシュヨルドレベルを設定
→デフォルトの0が良い。

[成分数] 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。

[ピーク数] 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が良い。スペクトルに異常があれば2、3と増やしてみると良い。

[比率] 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が良い。



データ処理

[誤差] 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」が良い。

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

[γ] 処理に使う核の磁気回転比を設定 →デフォルトが良い。

[頂点] 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。

★カーブフィッティングを得るためのピーク強度の見積もり方

[ピーク高さで見積もる場合]

現在の超伝導磁石は磁場の変動が少なく、分解能の劣化が起こり難いため、ピーク高さを利用した方が簡単であり、特に問題も無い。

[ピークの積分値を用いる場合]

以下のような場合は、ピーク高さでは誤差が生じる。

- ・データのベースラインが歪んでいる。
- ・他の信号の裾に乗っている
- ・信号のシフト変化がみられる。
- ・分解能の影響で線幅の変化がみられる。

[縮小] ピーク幅をスケールリングする。→デフォルトが良い

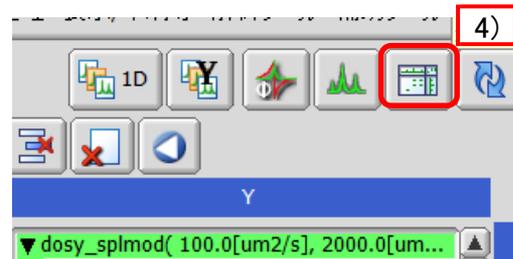
[位置] あらかじめ拡散係数値がわかっている場合に用いる。

データ処理

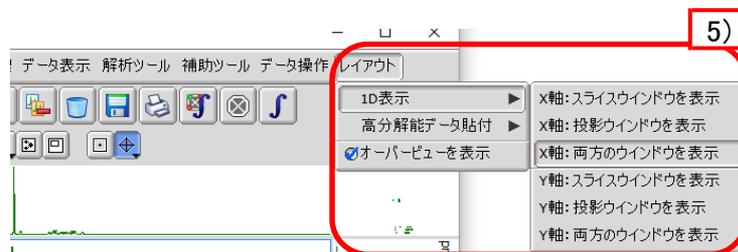


北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

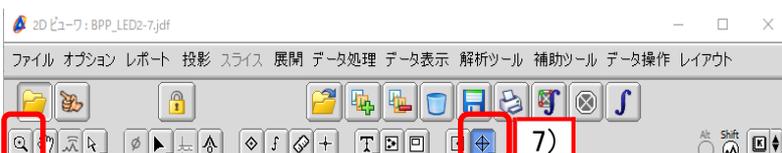
4)  を選択し、[2Dビューワ]を開く



5) [2Dビューワ]にて、「レイアウト」→「1D表示」→
「X軸:両方のウィンドウを表示」を選択

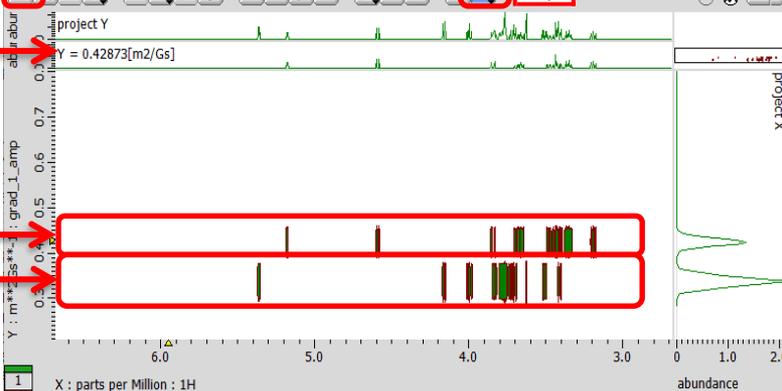


6) [2Dビューワ]にて、 を選択し、
ピーク位置を拡大する。



7) [2Dビューワ]にて、 を選択し、
確認したいスライスデータを選択する。

X軸の
スライスデータ



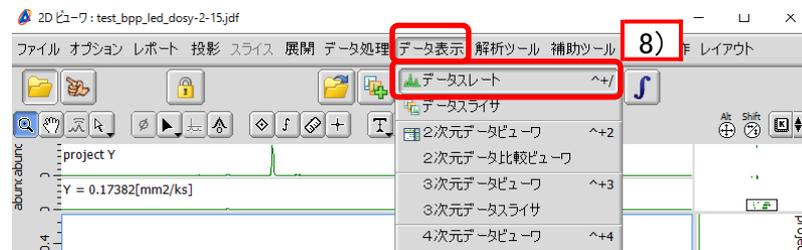
スライスデータ位置を選択すると、x軸のスライス
ウィンドウに、スライスデータが表示される。

データ処理



北海道大学工学部
School of Engineering
Hokkaido University

8) [2Dビューワ]で、[データ表示]→[データスレート]を選択

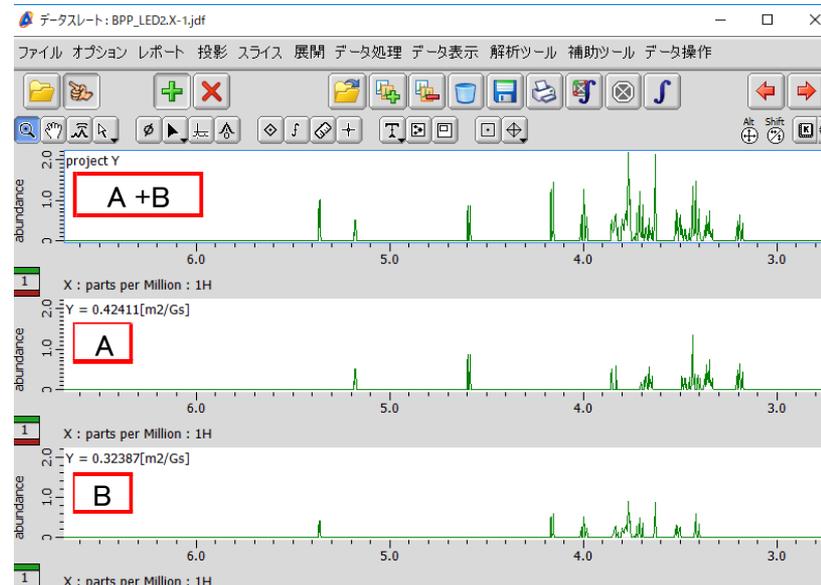


9) [データスレート]で、 →  を選択するとカーソルが指マークに変わる。

指マークが変わったら、データスレートに[2Dビューワ]で、選択しているスライスデータをクリックする。



10) [2Dビューワ]で拡散係数分離できているデータを7)→8)→9)の手順でデータスレートに張り付ける。



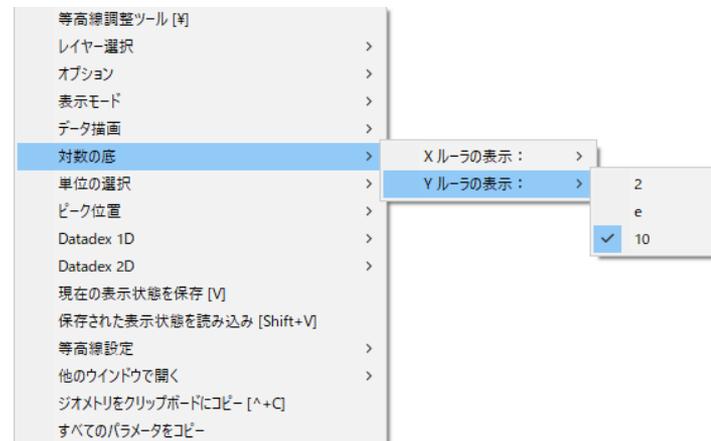
11) データスレートへの貼り付け作業が終わったら、「オプション」→「コネクトオール」を選択すると全データの縦軸、横軸をリンクできます。

データ処理

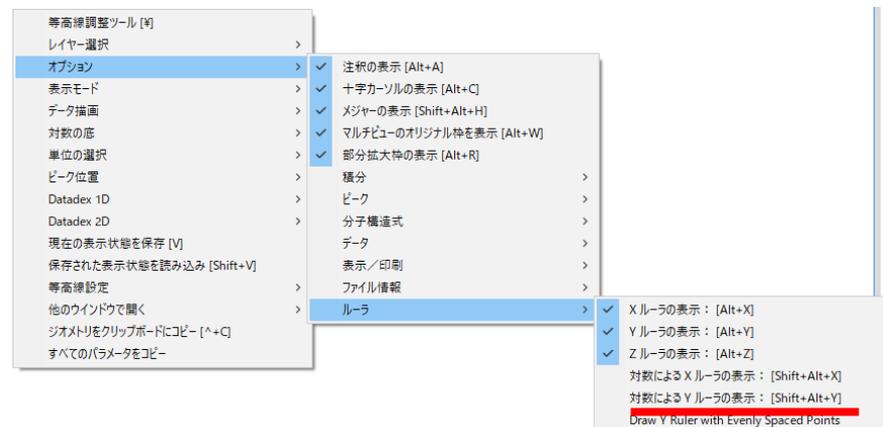
★拡散係数軸の表示を対数表示にする

→ DOSYでは、拡散係数軸を対数で表示した方が見やすい場合があります。

- 1) DOSYデータ表示領域を選択し、
マウス右ボタンを長押しする。
- 2) [対数の底]→[Yルーラの表示]から
対数の底を選ぶ。
常用対数 2 , 10
自然対数 e より選べます。



- 3) 再度DOSYデータ表示領域で
右ボタン長押し。
- 4) [オプション]→[ルーラー]
→[対数によるYルーラの表示]

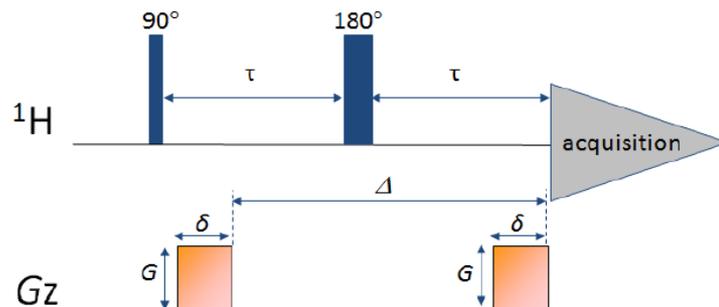


【補足】 拡散係数測定の実験



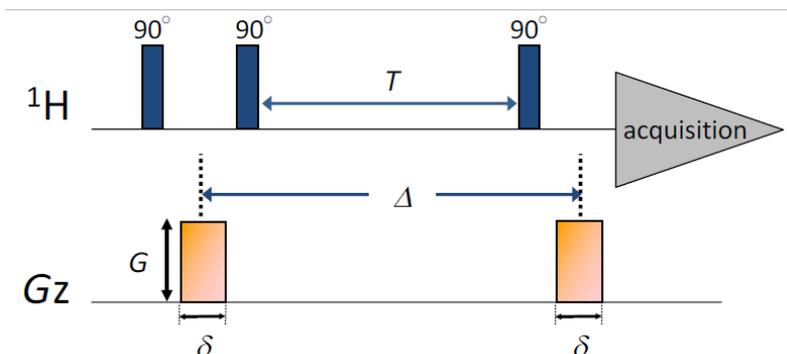
● スピンエコー法 (PFG SE) Experiment: cpse_diffusion_pfg.jxp

- ・ T_2 の短い系では拡散時間 Δ を長く取ることができない。
- ・ 同種核の強い ^1H - ^1H スピン結合が存在する場合、J変調の影響で信号の位相に歪みが生じる。



● スティミュレーテッドエコー法 (PFG STE) Experiment: stimulated_echo_pfg.jxp

- ・ T_2 の短かくても T_1 が長ければ拡散時間 Δ を長く取れる。
- ・ J変調の影響を抑えることができ、位相の歪みが抑えられる。

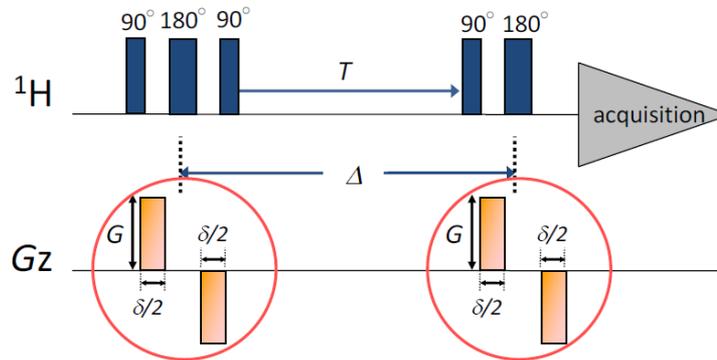


【補足】 拡散係数測定の実験



●ステイミュレーテッドエコー法 (PFG BPP STE) Experiment: bpp_ste_dosy_pfg.jx

- ・FGパルスによる渦電流の影響を抑えることができる。



●ステイミュレーテッドエコー法 (PFG BPP STE) Experiment: bpp_led_dosy_pfg.jxp

- ・BPP-STE法にLED(Longitudinal Eddy current Delay)を加えたシーケンス
- ・FGパルスによる渦電流の影響を抑えることができる。
- ・通常、利用されるパルスシーケンス

