# 3. <sup>1</sup>H ja <sup>13</sup>C TMR spektrite mõõtmine manuaalrežiimis ilma ICON-NMR programmita

3.1. Kontrolli arvuti abil mõõtmiseks vabade aegade olemasolu ja pane oma mõõtmiseks aeg kirja ,, 200 MHz NMR spectrometer "broneeringute kalendris Google Calendar (<u>https://www.google.com/calendar</u>) lehel.
NB! Kontrolli, kas broneeringuks valitud kalender on ikka ,, 200 MHz NMR spectrometer ", mitte mingi isiklik, millel spektromeetri broneeringutega pistmist ei ole.



<sup>1</sup> Juurdepääsu broneeringute kalendrisse küsige Lauri Toomi käest (vt. kontaktandmeid)!

3.2. TMR-ruumi tulles logi end TMR arvutisse (kasutajanimi on *nmr user*, salasõna puudub).



**3.3.** Kui programm TOPSPIN töötab, siis kontrolli, kas kellelgi on mõõtmine käsil (*Aquisition information* väli TOPSPIN akna allservas)



või Automation režiimis (ICON-NMR aknas) on midagi jäetud järjekorda. • Kui seda ei kontrolli, siis võib juhtuda, et kogemata peatad või rikud kellegi käimasoleva mõõtmise.

3.4. Uue <sup>1</sup>H TMR eksperimendi loomiseks programmis TopSpin võid aluseks võtta suvalise <u>oma</u> varem mõõdetud <sup>1</sup>H TMR spektri:

 Ava enda kataloogist üks varasem <sup>1</sup>H TMR spekter, seejärel vali kas <u>File</u> menüüst <u>New</u>... või vajuta tööriistaribal ikoonile või trüki käsureale käsk new.:

new

• Muuda ära eksperimendi nimi (*NAME*), eksperimendi number selles alamkataloogis (*EXPNO* – näiteks number 1), solvent ja eksperimendi pealkiri/kirjeldus (*TITLE*):

🚳 New		
Prepare for a new initializing its NMR For multi-receiver Please define the	experiment by creating a new data set and barameters according to the selected experiment type experiments several datasets are created, number of receivers in the box below.	
NAME	CDCI3_TMS	eksperimendi nimi
EXPNO	1	alamkataloogi number
PROCNO	1	e e e e e e e e e e e e e e e e e e e
DIR	C:\Uuskasutajd\SampleExpress	
USER	LauriT	doutorooritud labuati
Solvent	CDCI3 🗸	deutereentud lailusti
Experiment Dirs.	C:/Bruker/TOPSPIN21/exp/stan/nmr/par	
Experiment	Use current params.	
TITLE		
Deuterokloroformi puhtuse kontroll		eksperimendi pealkiri
1 Receivers (1,2,8)		
	<u>O</u> K <u>C</u> ancel More Info <u>H</u> elp	

- *Experiment* väljale jäta "*Use current params.*", kui soovid koguda samade mõõtmisparameetritega <sup>1</sup>H TMR spektrit, mille just aluseks võtsid, vastasel juhul vali eksperimenditüübiks **PROTON**.
- NB! Eksperimendi nimes (*NAME*) kasuta vaid inglise tähestiku tähti, numbreid ning märke ja
- Alati tuleks panna spektrile mõistlik pealkiri (*TITLE*). Hiljem võib olla vaja suures hulgas spektrites orienteeruda ning siis saab töö kiiremini tehtu, kui esmase info aine kohta saab juba pealkirjast kätte.

Ehk siis spektrid ei oleks ilma pealkirjata või väga lühikesed ja väheinformatiivsed, nt. "<sup>1</sup>H spekter", "fraktsioon" jne. Spektri pealkirja saad ka hiljem täiendada – kasvõi siis, kui spekter on juba mõõdetud ja tead täpsemalt, mis proovis sees oli.

3.5. <u>TÄHTIS!</u> Proovi sisestamiseks spektromeetrisse on käsk:

# sx #₊

kus **#** on spektromeetri magneti kohal asuva automaatse proovivahetaja karuselli vastava pesa number (1-16), kuhu proov koos turbiiniga asetatud sai. • NB! **sx** ja numbri vahel peab olema tühik!

- **3.6.** Kontrolli, kas proov pöörleb või mitte (laual monitori kõrval oleval BSMS konsoolil nupp *SPIN ON-OFF*). Soovitatav on proov pöörlema panna.
- 3.7. <u>TÄHTIS!</u> Kui spektromeeter ei leidnud ise *lock*-signaali, siis vali *Lock display* (lockdisp₄) aknas №

(või trükkige käsureale käsk **lock**) ning sealt lahustite tabelist vali kasutatud deutereeritud solvent ja vajuta nuppu [OK]:



• Kui kasutad kahe deutereeritud solvendi segu, siis vali nimekirjast see solvent, mille deuteeriumi signaal on tugevam (nt. CDCl<sub>3</sub> ja DMSO-d<sub>6</sub> segu korral vali DMSO-d<sub>6</sub>).

• Kui spektromeeter ei suutnud endiselt *lock*-signaali leida, siis tuleb laual monitori kõrval oleval BSMS konsoolil käsitsi muuta kas *lock gain*'i, *lock power*'i ja/või *field*'i väärtusi:

- $^{\rm o}$  CDCl<sub>3</sub> korral *lock gain* ~ 120, *lock power* ~ -20
- $^{\rm o}$  DMSO-d\_6 korral lock gain  $\sim 100,$  lock power  $\sim -25$

• Kui kasutad deuteeriumita solventi, siis pead mõõtmise läbi viima ilma *lock*-signaalita. Selleks lülita välja *Lock* ja *Sweep*. Automaatne shimmimine sel puhul ei tööta, küll aga võib läbi viia käsitsi shimmimist.

**3.8. VALIKULINE!** Kui soovid kindel olla mõõtepea <sup>1</sup>H kanali häälestamises, siis peaksid kontrollima ka *Tune and match*'i. Käsk:

wobb₄.

• Keera mõõtepea allosas olevate vastava kanali varrastega *Tune* ja *match* paika (*küsi ettenäitamist, kui seda varem teinud ei ole*)!

Lõpetamiseks vajuta kindlasti ikoonile 1

3.9. <u>TÄHTIS!</u> Automaatseks shimmimiseks on käsk

#### tune .sx.

või ka käsk

shim₄ (avanevast aknast võtta 3. valik → "Auto-shim according "tune" file for current probe")



Alternatiivina automaatsele shimmimisele saab shimmimist teha ka käsitsi laual oleval BSMS konsoolil või ekraanil eraldi aknas, mille saab ekraanile kuvada vajutades ikoonile 🐨 või käsuga bsmsdisp. (küsi ettenäitamist, kui seda varem teinud ei ole)!

# 3.10. <u>TÄHTIS!</u> Shimmimine võtab tavaliselt mõne minuti aega, aga <u>samal ajal</u> on mõistlik paika panna mõõtmise parameetrid (aken *AcquPars* või käsk **eda**, nt. NS=1)

Spectrum ProcPars AcquPars Title PulseProg Pe

ning lasta ära mõõta ka vastuvõtja tundlikkuse ehk Receiver gain'i, käsk:

#### rga₽

• Siin pead nüüd ära ootama, kuni RG väärtus automaatselt uueneb (kuni ~1 minut)!

• **rga** jooksul mõõdab spektromeeter rea spektreid erinevate **rg** väärtustega ja sätib pärast vastuvõtja tundlikkuse selliseks, et kõige tugevama signaali amplituud jääks maksimaalselt lubatavasse diapasooni.



Vastuvõtja tundlikkus on liiga kõrge!

Tulemuseks on see, et mõõtmise ajal hakkab ekraanile ilmuma veateateid sisuga "*DRU* warning: ADC-overflow warnings received during acquisition" ning saate nn "*clipped fid*", mis annab pärast Fourier' teisendust väga tugevalt moonutatud spektri."



Vastuvõtja tundlikkus on paras.



Vastuvõtja tundlikkus on liiga madal! Te ei kasuta ära kogu võimalikku digitaalset diapasooni ja seetõttu jäävad väikesed signaalid korralikult detekteerimata ning ka signaal-müra suhe jääb viletsaks.

3.11. Pärast **rga** lõpetamist (TopSpin programmi all vasakus servas ilmus tekst <sup>rga: finished</sup>) on võimalik

mõõta kiirelt (NS=1, mõõtmise alustamiseks on käsk  $zg_{\cdot}$ ) <sup>1</sup>H spekter, teha *Fourier*' teisendus (vt. punkti 3.15) ja kontrollida signaalide kuju, et veenduda shimmimise edukuses (spektris tuleks üles leida nt. solvendi jääk-signaal (kloroformil ~ 7,26 ppm) või TMS-i signaal 0,0 ppm juures ja vaadata, mis kujuga see on – ega ei ole lõhenenud ja on sümmeetrilise kujuga. Vastasel korral tuleks shimmimist parandada või korrata (vt. punkti 3.9).

Vaata lisainfot shimmimise kohta näiteks nendelt aadressidelt:

- <u>http://nmr.chem.uiowa.edu/manuals/Shimming-GAP-NMR-magnet.pdf</u>
- <u>http://www.acornnmr.com/Downloads/shimming.pdf</u>



Kui kasutasid proovi lahustamiseks deutereeritud kloroformi asemel DMSO-d<sub>6</sub>, siis selle solvendi jääksignaal (tegelikult DMSO-d<sub>5</sub> signaal) 2,50 ppm juures võiks välja näha selline:



DMSO-d5 signaal hästi shimmitud proovis

**3.12.** <u>**TÄHTIS!**</u> Kui shimmimise käigus kerkib *lock*-signaali tase 100%-ni, siis tuleks automaatne shimmimine ära katkestada – käsk:

## kill≠

ja lõpetada aktiivsete protsesside nimekirjast rida nimega *Tune*), seejärel vähendada *lock-gain*i väärtust (vt. punkti 3.7) ja shimmimist korrata (vt. punkti 3.9).

**3.13.** Kui shimmimine on lõpetatud (TopSpin programmi all vasakus servas ilmub tekst <sup>tune: finished.</sup>) ja kiire esmane mõõtmine (vt. punkti 3.11) tehtud, võid alustada parema signaal-müra suhtega <sup>1</sup>H TMR spektri kogumisega:

muuda enne mõõtmise alustamist NS väärtust suuremaks, nt. NS=16 või NS=32 või veelgi suuremaks (NS väärtus võiks olla mingi 16-arvu kordne, olenevalt soovitud signaal-müra suhtest kasvõi 1024)
eelmise spektri kustutamiseks ja uue spektri kogumise alustamiseks on käsk:

#### zg₊

või vajuta üleval tööriistaribal ikoonile 🕨.

3.14. VALIKULINE! <u>Käimasoleva mõõtmise ajal</u> mälusse kogutud *fid*'i salvestamiseks kõvakettale on käsk:

See tr käsk ei anna mingit efekti siis, kui mõõtmine on juba lõppenud, sest mõõtmise lõppemisel salvestatakse lõplik *fid* juba automaatselt. Et näha vahepeal kogutud spektrit, tuleb teha *Fourier*' teisendus (vt. punkti 3.15).

3.15. <u>TÄHTIS!</u> Spektri nägemiseks *Spectrum* aknas tuleb *fid*'ile teha *Fourier*' teisendus, milleks võid käsureale trükkida nt:

#### efp;apk;bas++

või vali Processing menüüst järgemööda:

- Window Multiplication... [wm]  $\leftarrow$  fid'i läbikorrutamine matemaatilise funktsiooniga,
- □ Fourier Transform... [ftf] ← Fourier' teisendus,
- Phase Correction... [ph]
- Baseline Correction...[bas]
- ← spektri faasi korrigeerimine,
  ← spektri baasjoone korrigeerimine.



- 3.16. <sup>1</sup>H TMR spektrite töötlemise juures võid läbi viia ka:
  - spektri faasi täiendava käsitsi korrigeerimise automaatne apk piisavalt head tulemust anda;
  - keemilise nihke skaala kalibreerimise <sup>A</sup> (Spectrum calibration);
  - signaalide integreerimise 
     *Interactive integration*);
  - signaalide kohale väärtuste näitamise <u>i</u> (Manual peak picking).

**3.17. <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} TMR** eksperimendi jaoks võid aluseks (võta see <sup>1</sup>H TMR spekter ekraanile ette) võtta juba samast proovist mõõdetud <sup>1</sup>H TMR spektri faili:

• Vali *<u>File</u>* menüüst <u>New</u>... või vajuta tööriistaribal ikoonile **v**õi trüki käsureale käsk **new**, seejärel muuda ära vaid eksperimendi number (EXPNO) ja eksperimendi tüüp (*Experiment*: <u>**C13CPD**</u>).



Alternatiivina selle tavalisele <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H} eksperimendile, võid sealt nimekirjast valida ka näiteks
 C13APT, C13DEPT135 jms eksperimentide tüübid.
 NB! Proovi pole vaja uuesti *lock*'ida ja shimmida!

3.18. <u>TÄHTIS!</u> Vajuta ikoonile 😈 või trüki käsureale getprosol<sub>4</sub>.



**3.19.** VALIKULINE! Kui soovid kindel olla mõõtepea <sup>13</sup>C kanali häälestamises, siis peaksid kontrollima ka *Tune and match*'i. Käsk:

#### wobb.

• Keera mõõtepea allosas olevate vastava kanali varrastega *Tune* ja *match* paika (*küsi ettenäitamist, kui seda varem teinud ei ole*)!



- Lõpetamiseks vajuta kindlasti ikoonile 😎.
- 3.20. Kontrolli eksperimendiks kuluva aja pikkus: käsk expt₂ või vajuta nupule ⊡.
   NS=1024 korral võtab mõõtmine ~1 tund.
- 3.21. Spektri kogumise alustamiseks on käsk zg₂ või vajuta ikoonile ►.
- 3.22. Käimasoleva mõõtmise ajal kogutud *fid*'i salvestamiseks arvuti mälust arvuti kõvakettale on käsk tr. (vt. punkti 3.14).
- 3.23. Spektri nägemiseks tuleb *fid*'ile teha *Fourier*' teisendus, milleks võid käsureale trükkida nt: efp;apk;bas++
- 3.24. Kui leiad, et signaal-müra suhe <u>on</u> juba piisavalt hea, siis võid spektri kogumise ära katkestada käsk halt, ning teha *Fourier*' teisenduse: **efp**; **apk**; **bas**, .

• Kui signaal-müra suhe <u>ei ole</u> piisav, aga mõõtmine on juba lõppenud, siis võid olemasolevale *fid*'ile mõõtmisi juurde lisada. Selleks muuda NS väärtus sobivaks ning kirjuta käsureale käsk:

#### go₊

See käsk (erinevalt käsust zg või nupust ) jätab alles eelnevalt kogutud info ja kogub sinna signaali juurde. Mõõtmise lõpus tuleb uuesti teha *Fourier*' teisendus: efp;apk;base

- 3.25.  ${}^{13}C{}^{1}H$  TMR spektrite töötlemise juures võid läbi viia ka:
  - spektri faasi täiendava käsitsi korrigeerimise  $\checkmark$  (Interactive phase correction);
  - keemilise nihke skaala kalibreerimise 🔥 (Spectrum calibration);

• signaalide kohale väärtuste näitamise  $\frac{1}{2}$  (*Manual peak picking*).

NB! Erinevalt <sup>1</sup>H TMR spektritest, <sup>13</sup>C $\{\overline{1H}\}$  TMR spektrite signaale üldiselt ei integreerita.

**3.26.** <u>**TÄHTIS!**</u> Kui mõõtmised on lõpetatud, siis eemalda spektromeetri magnetist oma proov. Selleks trüki käsureale sarnaselt punktile 3.5 käsk:

## sx #₊

(kus # on seekord automaatse proovivahetaja karuselli suvalise tühja pesa number) või käsk

### sx ej₄

Sulge oma spektrid, aga jäta programm TOPSPIN avatuks.

- 3.27. Kogutud spektri võid konverteerida pdf-iks või kopeerida kataloogi arvutist oma mälupulgale. Kogutud spekter asub kas kataloogis "D:\Spectra200"
- **3.28.** Enne lahkumist kirjuta päevikusse: kes, millal ja kui kaua spektromeetri aega kasutas ning milliseid TMR tuumasid (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F, <sup>31</sup>P jne) mõõtis. Ruumist lahkudes kustuta laetuli ja sulge uks.