

TopSpin – A practical guide

TopSpin 4.3

Version 1.0

$^1\text{H-NMR}$ and $^{13}\text{C-NMR}$

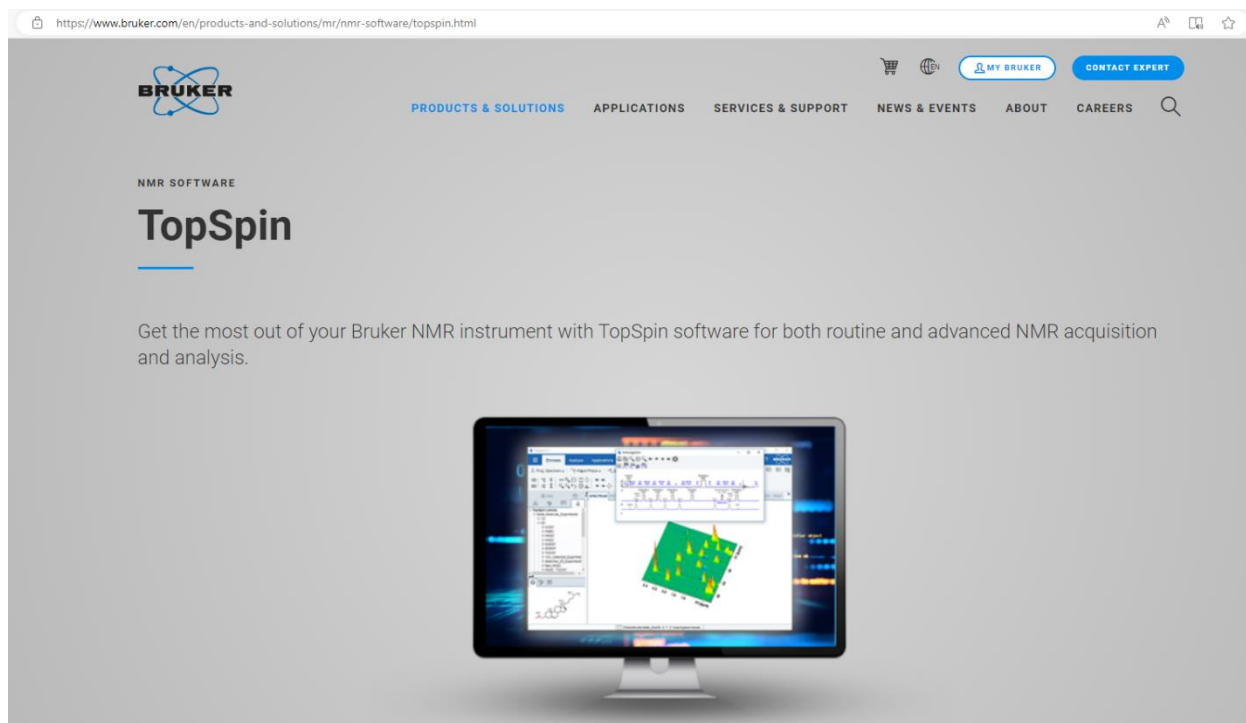
Norsk

© Greta Nardini and Kenneth Aase Kristoffersen

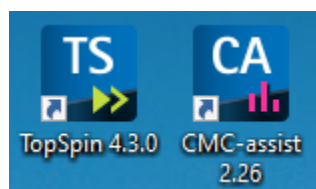
Oktober 2023

Last ned TopSpin

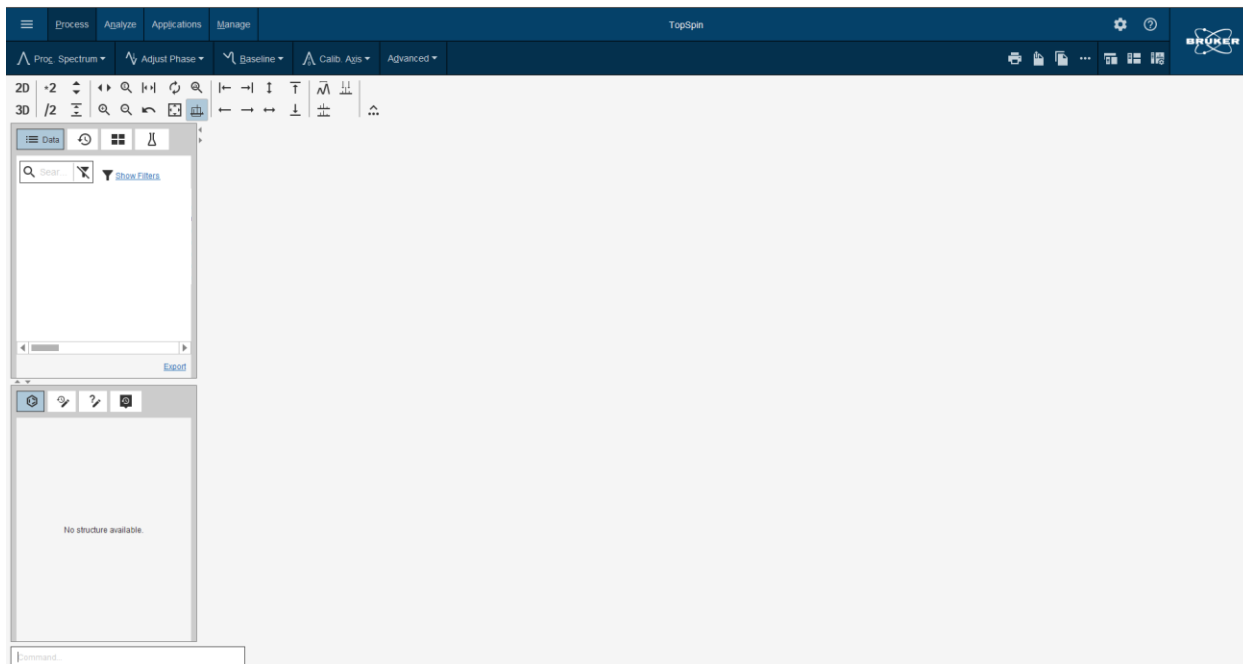
TopSpin kan lastes ned fra Brukers nettside. Hvis du har en universitetsdatamaskin, er programvaren tilgjengelig på Software Center. På nettsiden klikk → “Products & Solutions” → “NMR Software” → “TopSpin” eller nå denne nettsiden direkte ved å skrive “Bruker topspin download” direkte i nettleseren.



Bruk din NMBU e-postadresse til å opprette konto. NB! Ikke bruk samme passord som for universitetets e-postkonto. Du vil motta en bekreftelse på e-post et par minutter etter registrering. Logg på Brukerkontoen din og be om din akademiske lisens. En personligkode vil da bli generert for deg, denne ,å du lagre et sted. Last ned versjonen av programvaren som er kompatibel med datamaskinen din og installer den. Filen på nettsiden skal hete noe sånt som “TopSpin 4.3.0 & CMC-assist 2.26”. Når programmet installeres velger du “Data process only”, du vil da bli bedt om å opprette en NMR-superbruker: husk både brukernavnet du oppgir og passordet, det vil være nødvendig for å bruke programvaren seinere. Fullfør installasjonen.

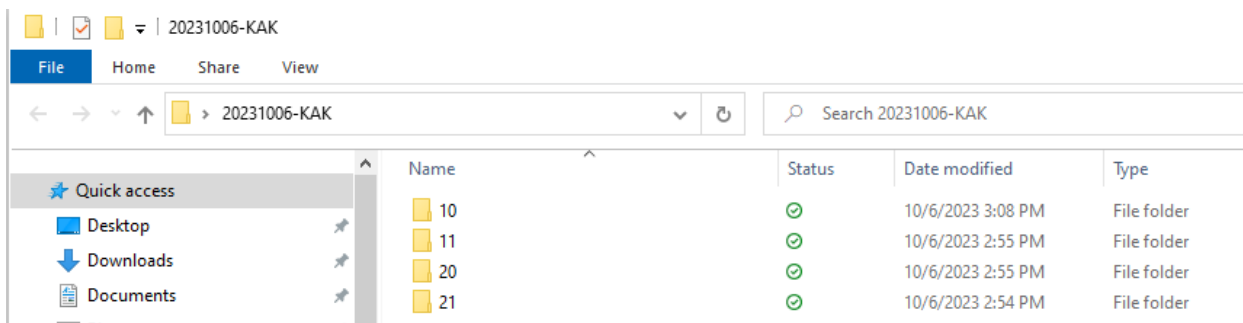


Klikk på ikonet “TopSpin 4.3.0” for å starte programmet. Et svart kommandovindu vil da åpnes. Ikke lukk det, la det stå i bakgrunnen. Et eget vindu med TopSpin-logo vil så åpnes når programmet starter. Det ser ut som på bildet nedenfor.



Last ned data

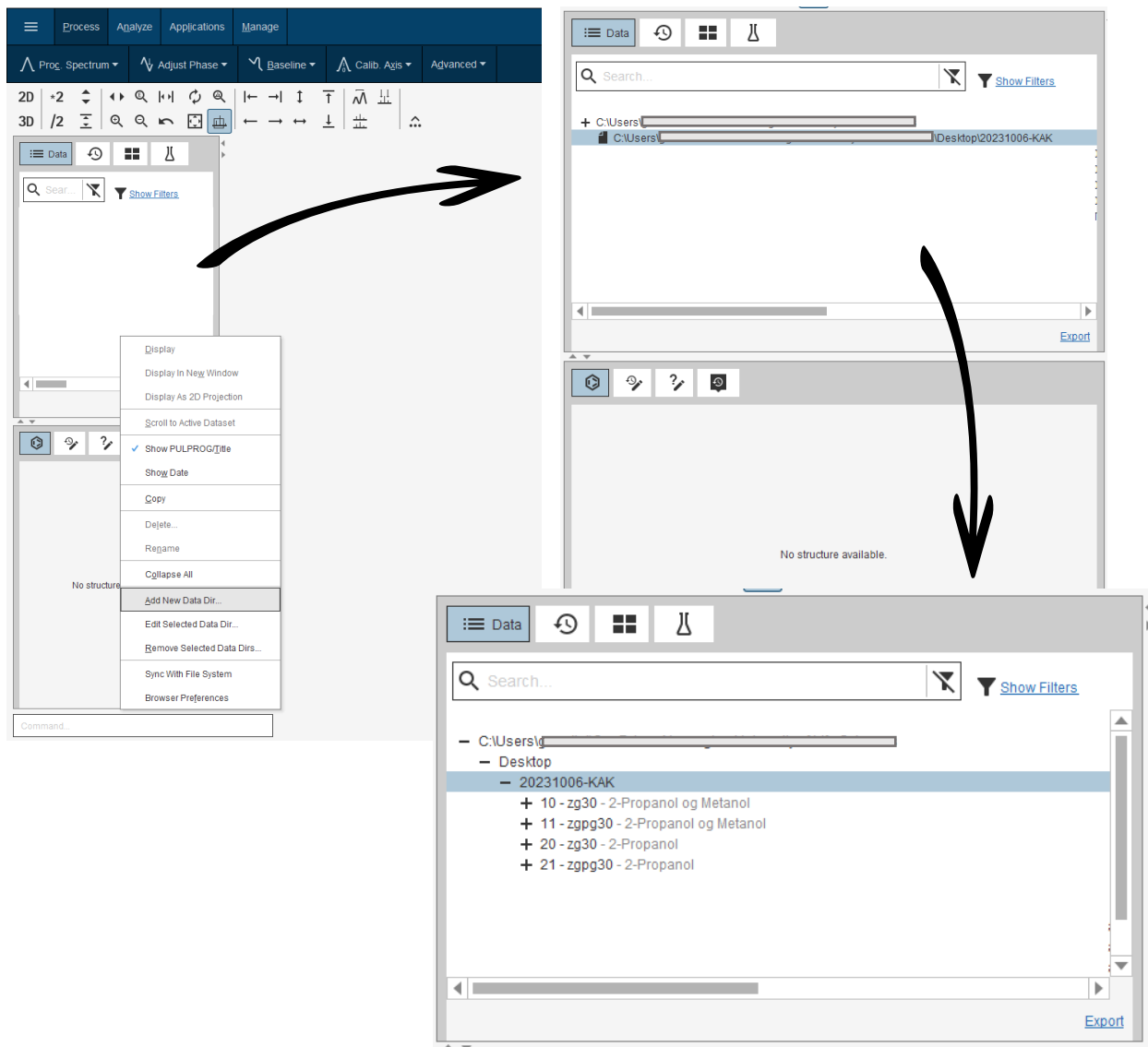
Åpne Canvas og last ned NMR-datasettet til datamaskinen din. Det skal se omtrent slik ut:




Hvordan prosessere ¹H-NMR-data

Gå tilbake til TopSpin og lag en snarvei til datamappen din. Høyreklikk i data-vinduet → “Add New Data Dir...” → klikk på [...] og bla gjennom og fin mappen du har opprettet lagret mappen. Den vil da vises automatisk blant de tilgjengelige snarveiene. Hvis du klikker på "+" vil innholdet i mappen vises.

Hvis du ikke ser tittelen på eksperimentene (en kort beskrivelse med PulsProgram og Tittel), men bare navnet på mappene (tall), kan du høyreklikke for å flagge “Show PULPROG/Title”.

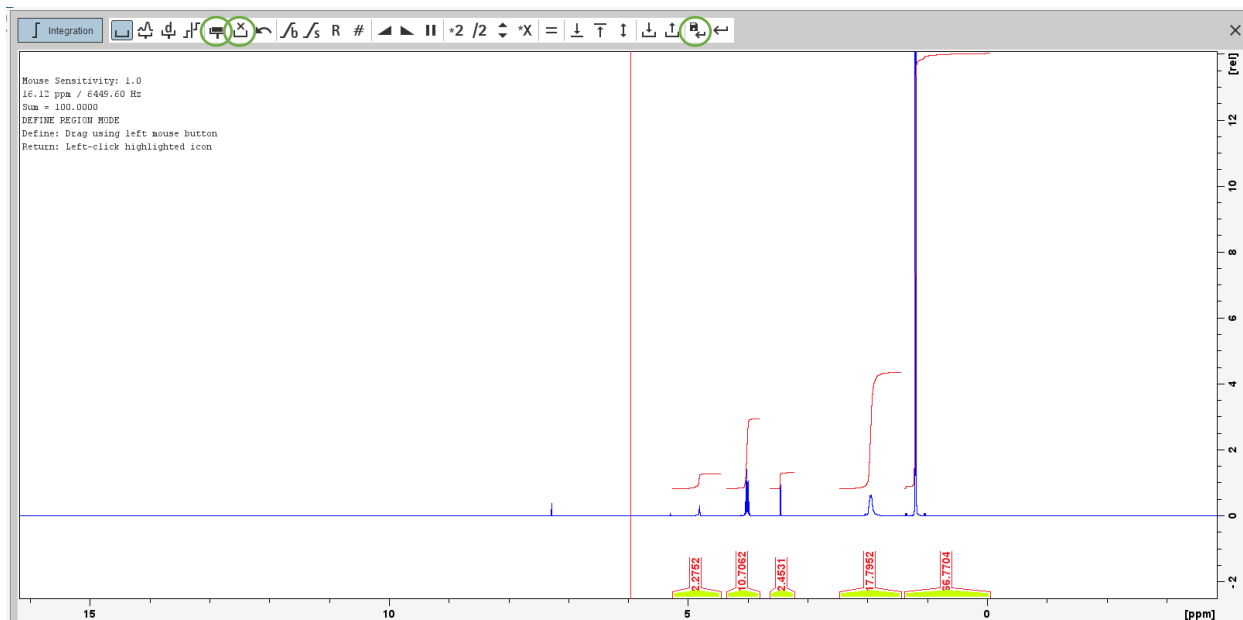


Dobbelklikk på det første spekteret (eller hvis du ikke vil lage snarveien, fra menyen (oransje sirkel i bildet) "Open" → "Åpne NMR-dataene som er lagret i standard Bruker-format" → Browser type = "file chooser" → finn mappen på datamaskinen din → display. Spekteret vil da åpnes som vist på bildet nedenfor.

Du er nå i "SPECTRUM" visning. Hvis du ikke ser toppene av spekteret, bruk hjulet på datamusen til å øke/ redusere intensiteten til signalene (Y-aksen). Hvis du vil zoome inn, klikk med venstre museknapp og merk regionen du ønsker en se nærmere på. For å gå tilbake til den omfattende oversikten, bruk knappen "Vis hele spekteret, tilbakestill intensitetsskala". Det gjøres ved å klikke på  med fire piler inni, se grønn sirkel i bildet.

For flere spektrale detaljer, se spektrumvinduet, se fiolett rektangel på bildet. PROCPARS (Processing Parameters), ACQUPARS (Acquisition Parameters), TITLE (Kort beskrivelse av prøven i dette tilfellet), PLUSEPROG (Pulse Program) her kan du også åpne "Graphical display" av pulsprogrammet = Ω , PEAKS, INTEGRALS, SAMPLE, STRUCTURE, PLOT, FID (Free Induction Decay).

Ctrl-tasten, integralene blir da grønne. Klikk deretter på "Delete selected regions" og alle de automatiske integralene under grunnlinjen forsvinner. Klikk på knappen "Return, and save changes" eller skriv inn kommandoen <.sret>.

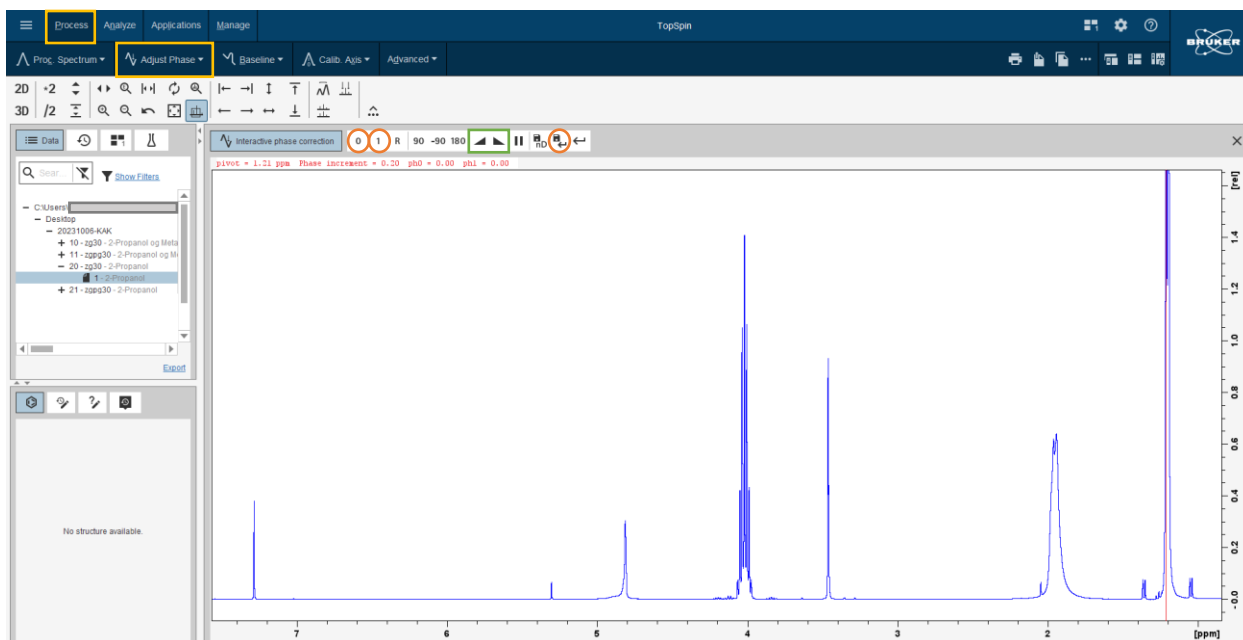


2. Fasekorleksjon

Zoom inn på toppene.

Gå tilbake til "Prosess"-vinduet → "Adjust Phase" → "Adjust spectrum phase manually" eller skriv inn kommandoen <.ph>.

Knappen "0" justerer spekteret ved den rød vertikale linjen som går gjennom den mest intense NMR-toppen, se figuren under, mens "1" faser resten av spekteret.



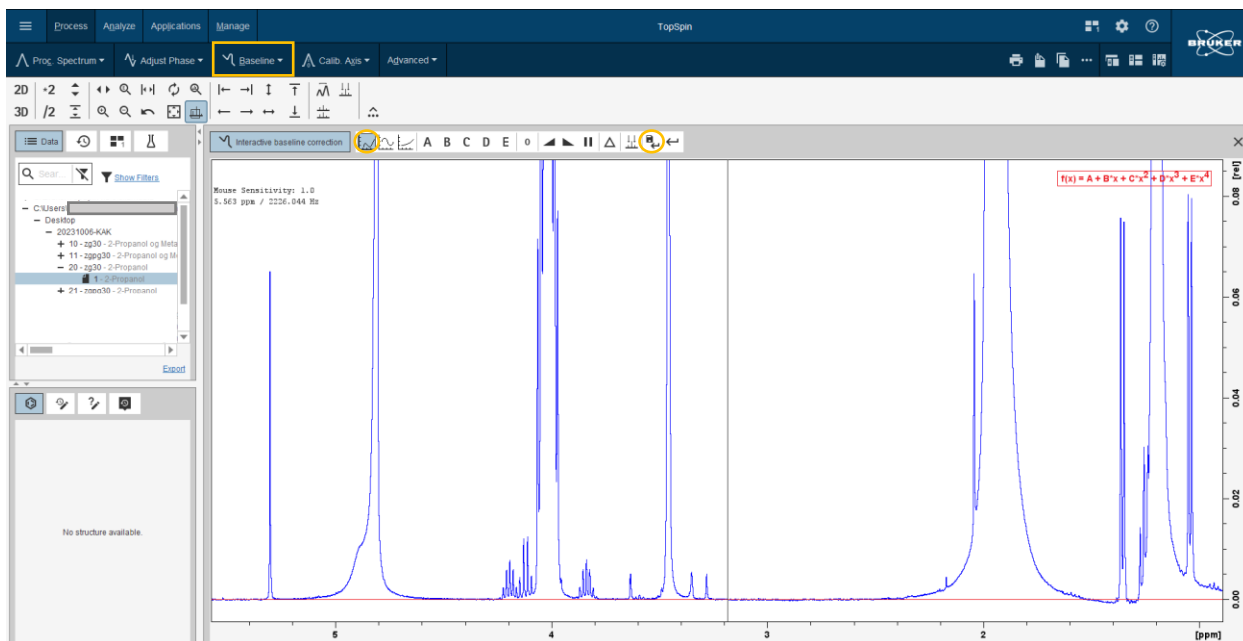
Klikk på "0"-knappen og dra den opp og ned for å gjøre toppen positiv og så symmetrisk som mulig. Etter det, bruk "1"-knappen for å gjøre de andre toppene positive og så symmetriske som mulig. Hvis du beveger musen opp og ned uten at du ser endringer eller endringene er for raske til å kontrollere, bruk ikonet "Decrease/Increase" markert i grønt. Klikk på knappen "Return, og lagre fasespekter" (eller skriv inn kommandoen <.sret>).

Som du sikkert har lagt merke til, virker spekteret allerede faset, og det er vanskelig å forbedre innfasingen manuelt. Den manuelle fasingen brukes mest i kompliserte situasjoner der algoritmen for automatisk innfasing ikke fungerer optimalt. Så klikk på " Adjust Phase " → " Automatic Phasing Options " → "0. + 1. ordens korreksjon". Eller skriv inn kommandoen <apk>, da vil algoritmen forbedre fasingen så mye som mulig automatisk.

3. Baseline correction (Grunnlinjekorreksjon)

Klikk på "Baseline" da vil en rød horisontal linje vises i spekteret ditt ved intensitet 0. Klikk igjen og velg "Automatic Using Polynomial of Degree ABSG". Deretter klikk på knappen "Return, and save regions" eller skriv inn kommandoen <.sret>.

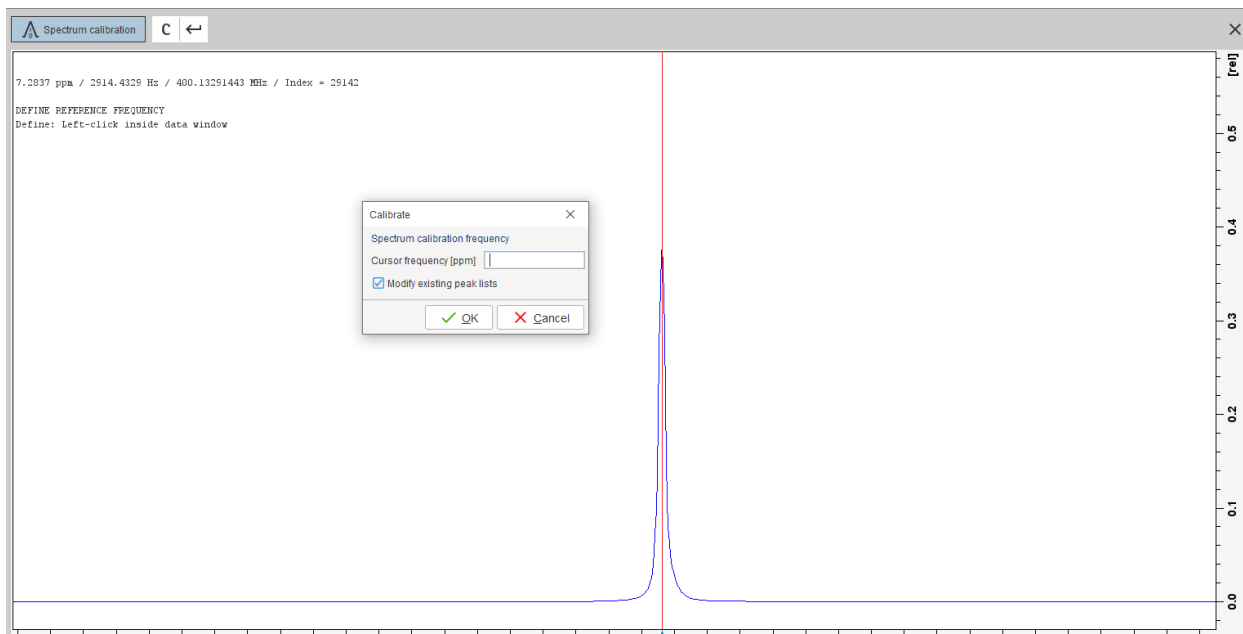
Det er også mulig å skrive kommandoen <abs> som automatisk utfører grunnlinjekorrigeringen. Hvis noen integraler vises, slett dem som beskrevet tidligere. Som før er det i denne typen spekter vanskelig å merke forbedringen.



4. Kalibrering av ppm-skalaen

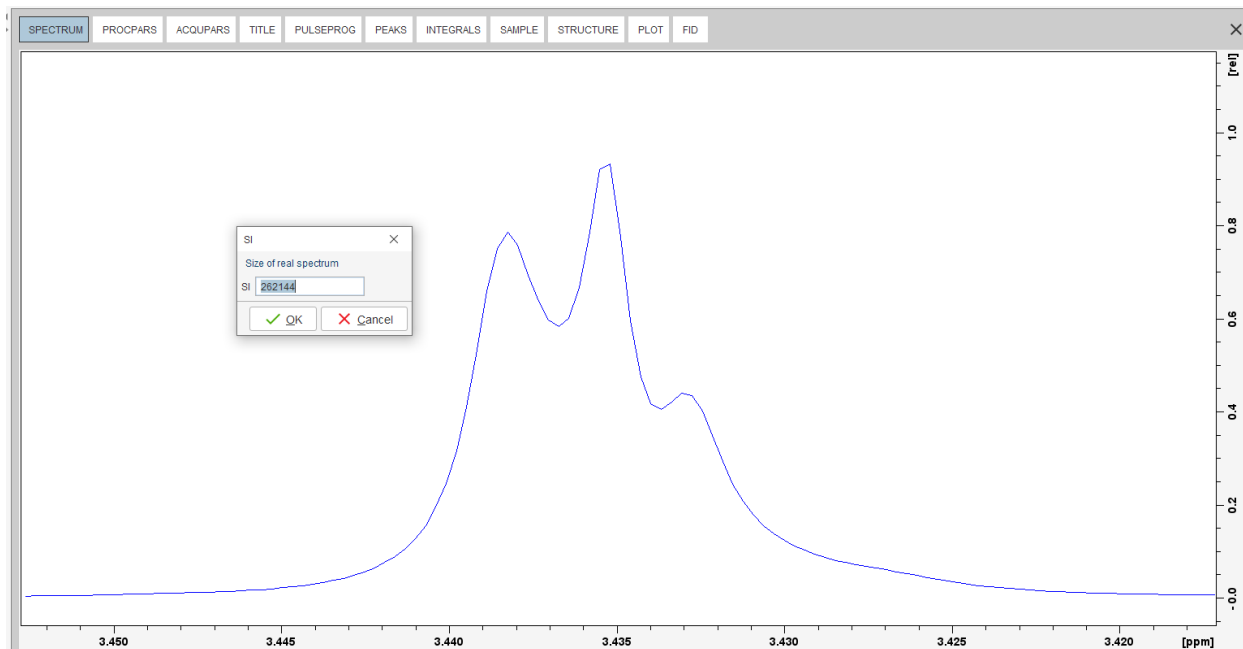
Zoom inn på løsningsmiddeltoppen. Klikk på "Calib. Axis" → "Manual Axis Calibration" eller skriv inn kommandoen <.cal>. Finn midten av løsningsmiddeltoppen, klikk og fyll inn verdien til løsningsmiddelet. For CDCl₃ er det 7,26 ppm. Klikk deretter "OK" eller bruk Enter-tasten.

Skiftverdier for løsningsmidler finnes her: "*NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities*" (Hugo E. Gottlieb, Vadim Kotlyar, and Abraham Nudelman; *The Journal of Organic Chemistry* **1997** 62 (21), 7512-7515; DOI: 10.1021/jo971176v).

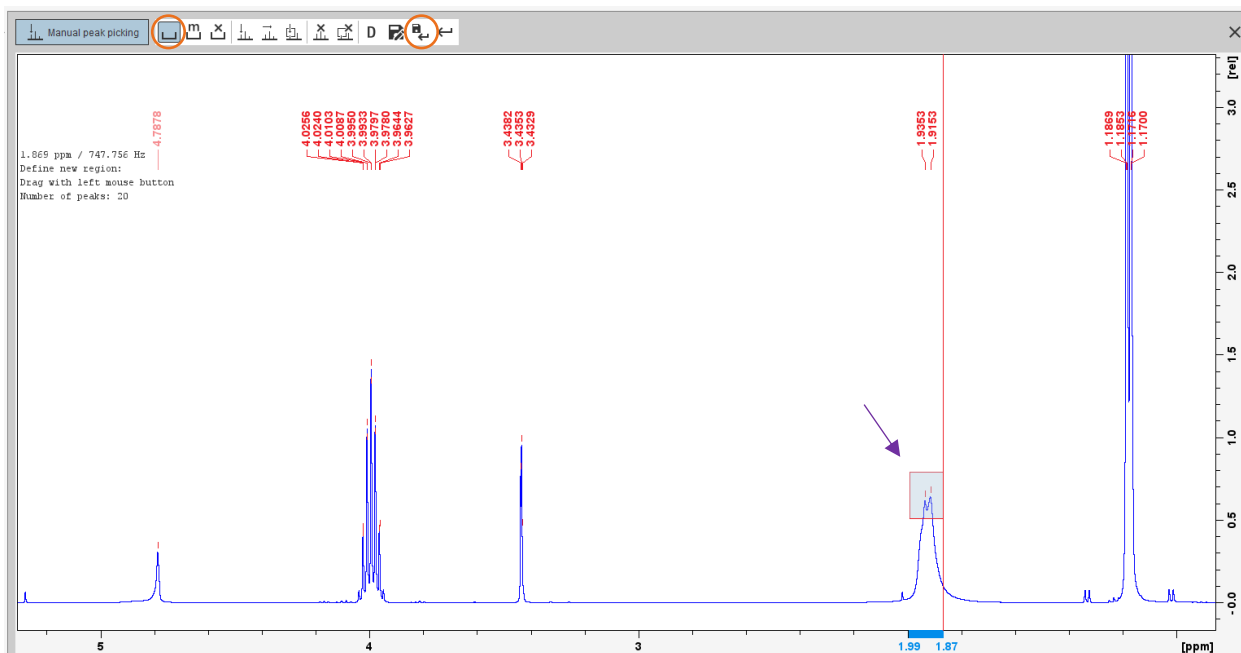


5. Manuell "peak picking"

Om toppene ikke er tilfredsstillende definer som vist under, kan du endre antall datapunkter ved å skrive kommandoen <si>. Et vindu med "size of the real spectrum" åpnes og du kan øke talldatapunkter til 256k f.eks. og trykke OK. For å visualisere resultatet må du skrive <efp> på kommandolinjen. toppene vil da se finere ut.



Gå fra "Process" til "Analyze"-vinduet. Klikk på "Analyze" → "Pick Peaks" → "Manual Peak Picking" eller skriv kommandoen <.pp>. Velg toppene som vist på bildet (fiolett pil) og verdien av toppene vil vises over toppene.

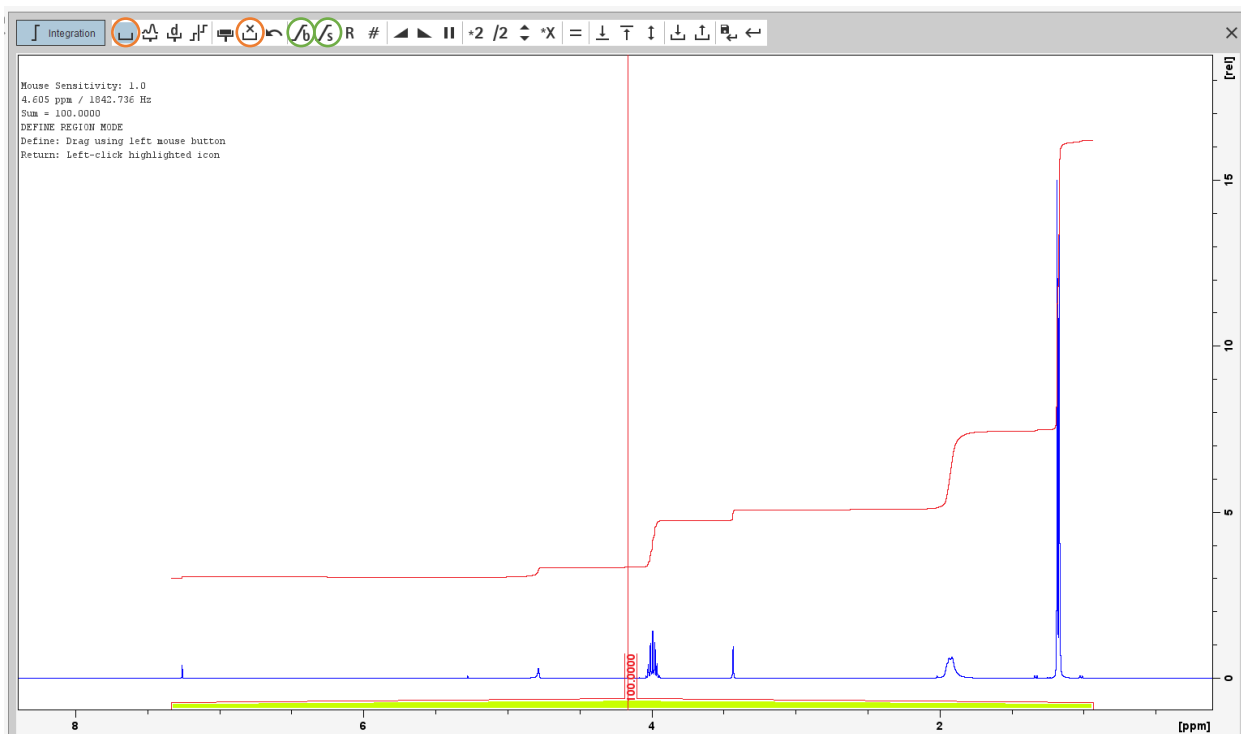


Avslutt ved å klikke på "Return, save changes" eller skriv inn kommandoen <.sret>. Den nye listen over topper vil nå være tilgjengelig i "PEAKS"-vinduet.

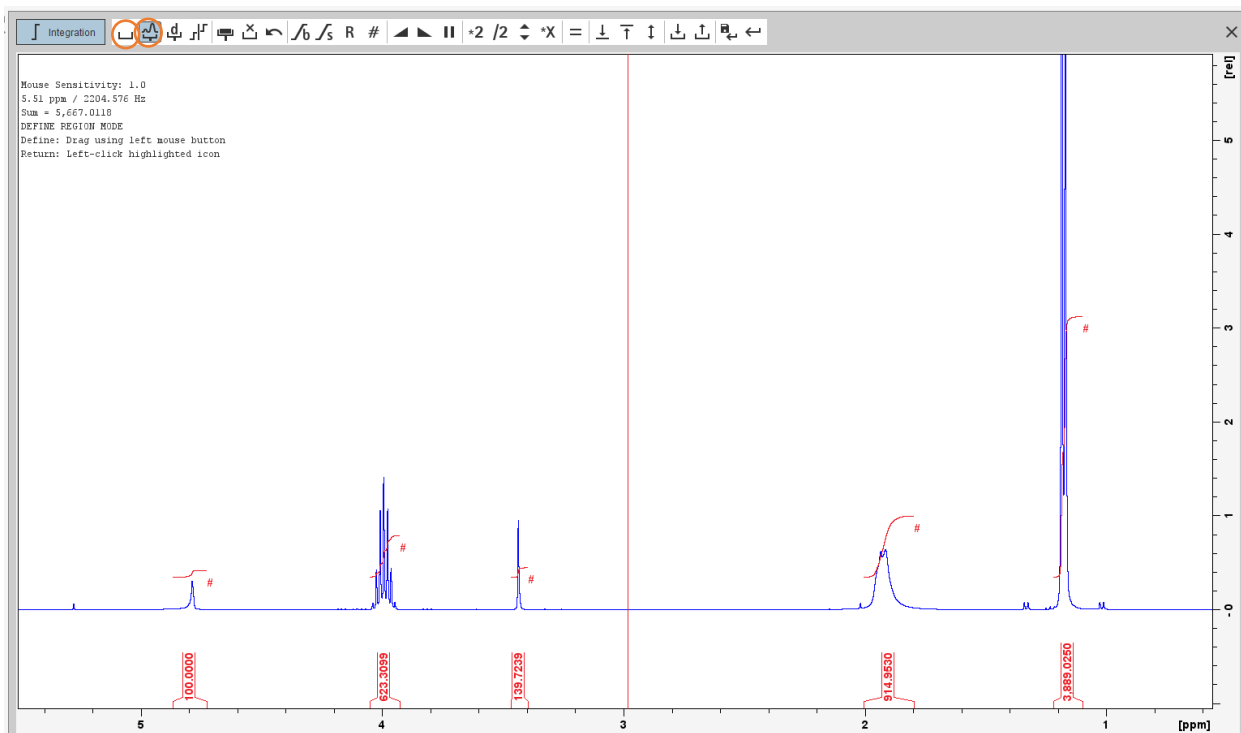
6. Manuell integrasjon

Gå til "Analyze", nær "Peak Pick" finner du "Integrate" klikk på den og gå til → "Manual-Integrate" eller tast kommandoen <.int>.

Først må man integrere alle signalene sammen, se bildet under. Dette gjøres for å sjekke at den horisontale delen av integralet er helt rett og horisontal. Hvis det ikke er rett kan du korrigere det ved å velge integralet slik at det blir grønt som på bildet. Bruk så f-b "Interactive bias correction" and f-s "Interactive slope correction" markert med grønne sirkler til å justere med. Knappene fungerer ved å klikke på dem og dra opp og ned til du er fornøyd med resultatet, det kan være nødvendig å bytte mellom dem et par ganger for å oppnå et optimalt resultat. Etter dette sletter du integralet ved å bruke "Delete selected region" knappen.

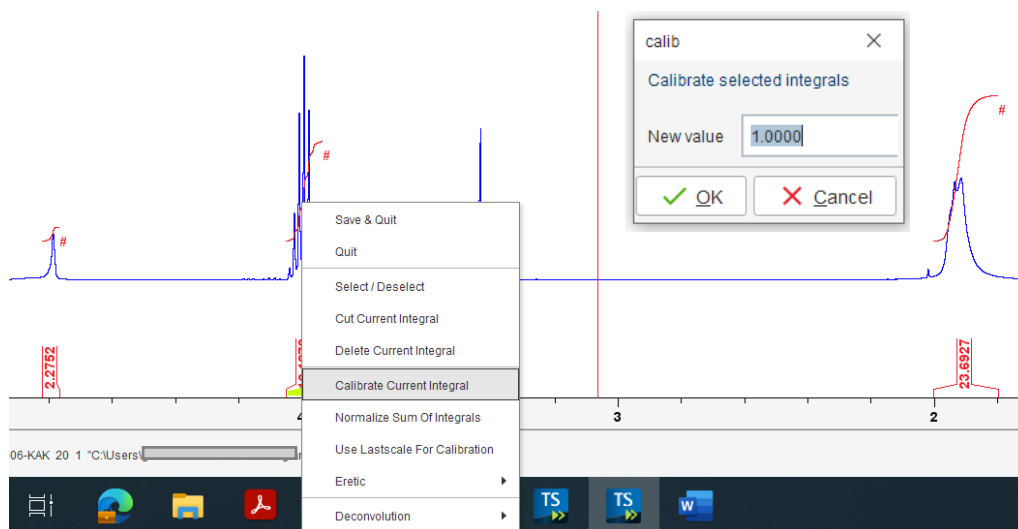


Integrer så hver topp alene ved å bruke den samme fremgangsmåte som før. Hvis noen topper er overlapper og det er vanskelig å skille dem kan de integreres sammen.



Integralene må normaliseres. Velg en topp som du er ganske sikker på f.eks. en topp som skal svare til et enkelt proton, høyre klikk og velg "Calibrate current integral". Ikke bruk "Normalize sum of integrals". Endre

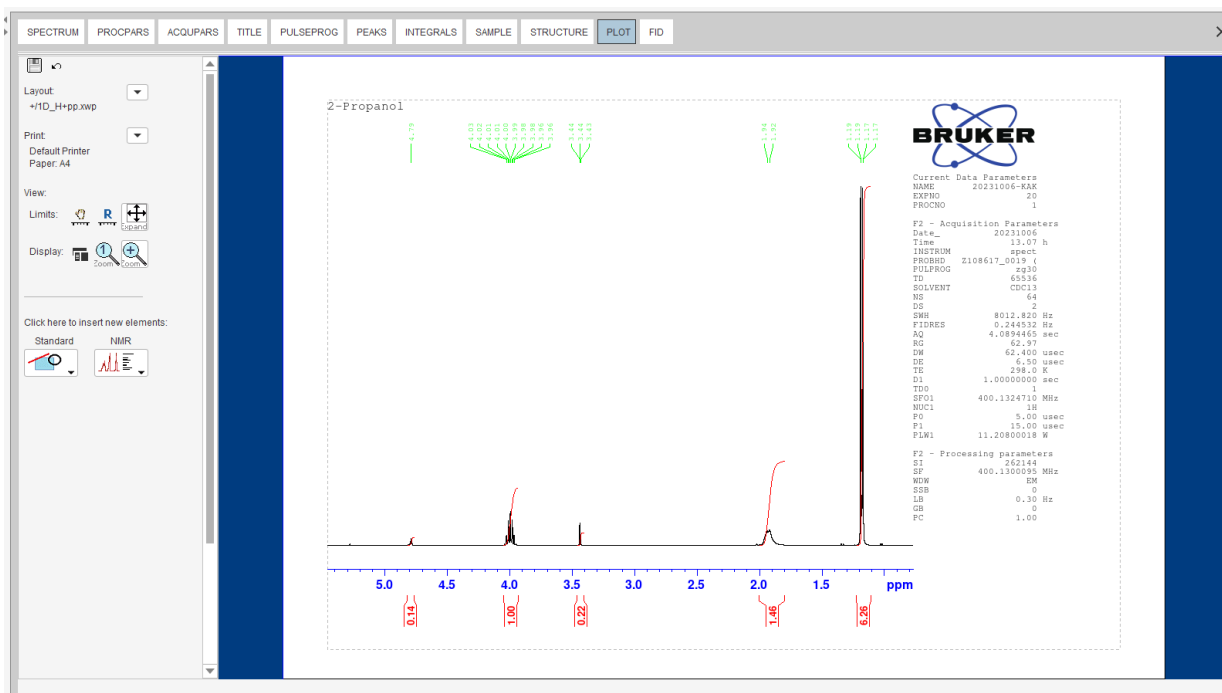
verdien til antall protoner toppen tilsvarer, i dette tilfellet er det 1H, og trykk OK eller Enter. Alle de andre toppene justeres automatisk. Avslutt ved å klikke på "Return, save regions" eller skriv inn kommandoen <.sret>.



Den nye listen over integraler med de oppdaterte relative verdiene er tilgjengelig i "INTEGRALS"-vinduet eller skriv inn kommandoen . Du kan også bruke kommandoen <lippf> som betyr "list integrals and peaks of the full spectrum (1D)". Hvis du har gjort alt riktig vil alle endringer du har gjort bli lagret i spekteret.

7. Plot window og printing

Du kan plote spekteret ditt ved å bruke "PLOT"-vinduet. Der kan du tilpasse plottet slik du ønsker at det skal se ut. I eksempelet under vises også alle viktige parametere for NMR-eksperimentet utført.



Hvis du ønsker å lage spekteret slik det ser ut bruker du knappene “Print active window” eller “Export active data” eller “plot window as PDF”: husk å flytte spekteret slik at ikke integralverdier overlappes ved å bruke knapp “Shift baseline” opp/ned mens du trykker på venstre museknapp. Hvis du ønsker et spekter uten tilleggsinformasjon høyreklikk på “pectra display preferences”. Dette alternativet er mindre formelt, men kan brukes i labrapporten.

Hvordan prosessere ^{13}C -NMR data

^{13}C -NMR-data prosesseres på samme måte som for proton. Den eneste forskjellen er at vi ikke integrerer området under toppene/signalene. Grunnen til dette er at arealet under et ^{13}C -NMR-signal ikke lett kan brukes til å bestemme antall karboner toppen tilsvarer. Signalene for noen typer karbon er svakere enn for andre typer. En topp som tilsvarer et karbonylkarbon, er f.eks. mye mindre enn for metyl og metylen (CH_2)-topper. Av denne grunn er toppintegrasjon generelt ikke brukt i ^{13}C -NMR-spektroskopi.

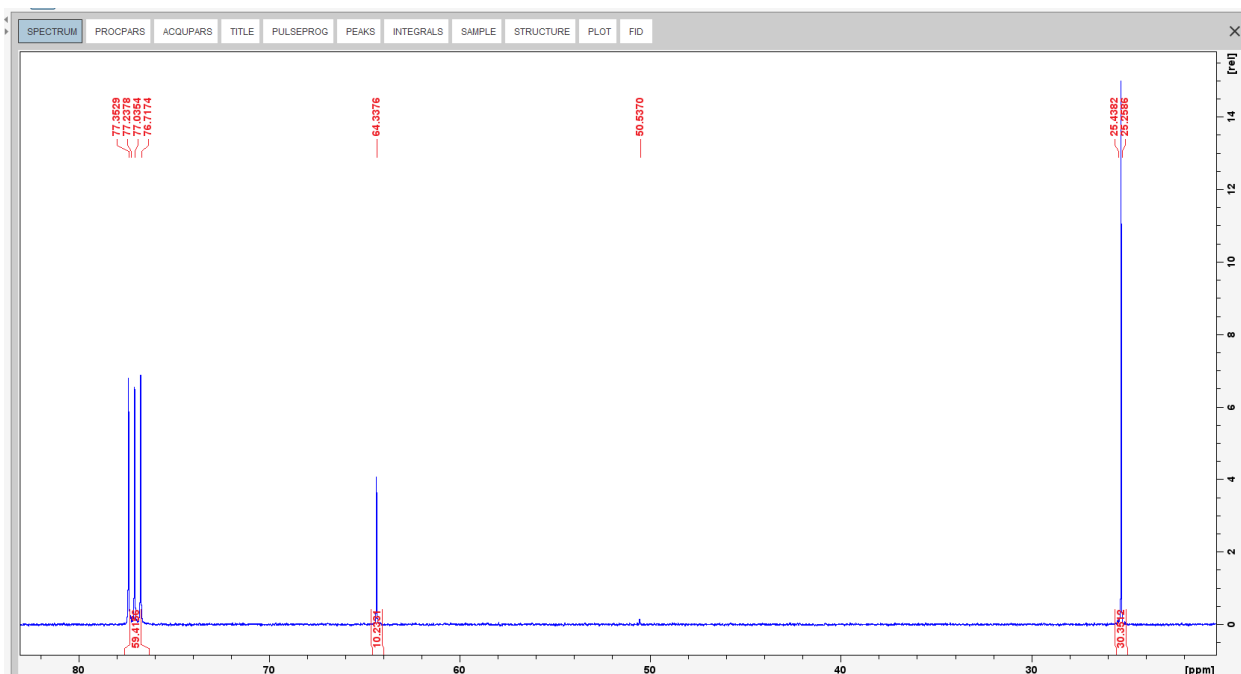
Åpne karbonspekteret, dobbeltklikk på spekteret i snarveien eller “Open” og “Brows” i menyen. Hvis du ikke er sikker på at det er et karbonspekter du ser på, kan du åpne “AcquPars” og kontrollere “Nucleus 1” som er den observerte kjerne typen.

SPECTRUM PROCPARS **ACQUPARS** TITLE PULSEPROG PEAKS INTEGRALS SAMPLE STRUCTURE PLOT FID

Experiment

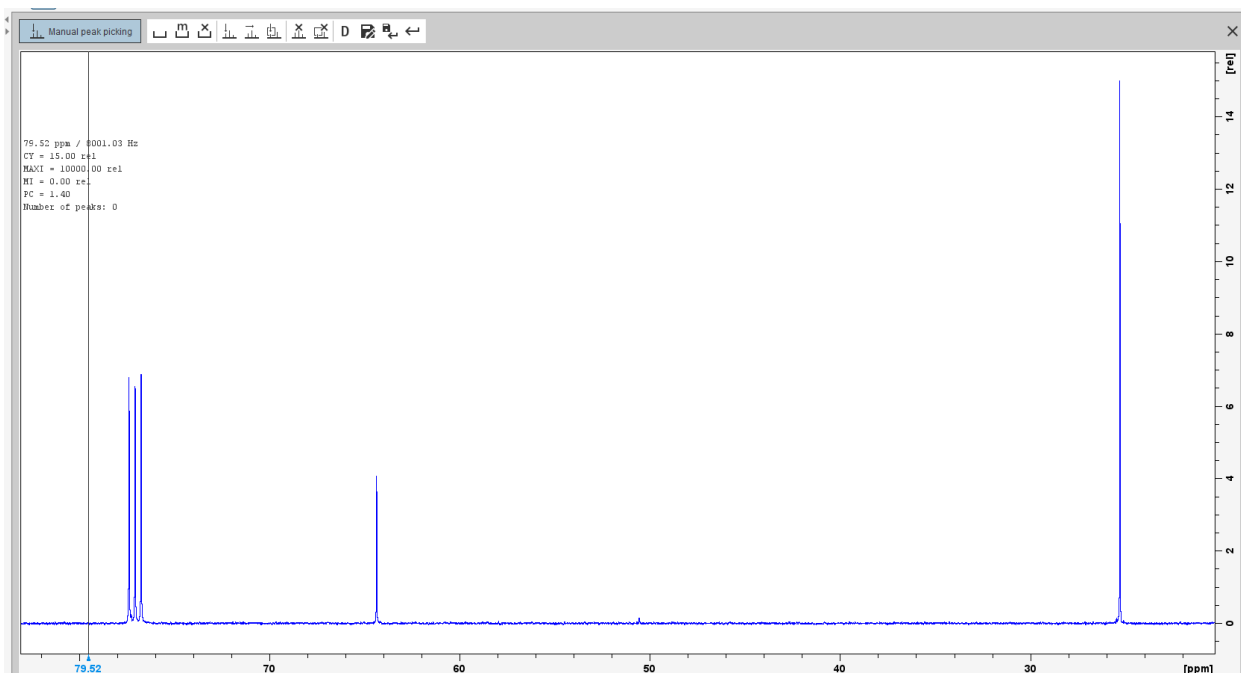
Experiment
 PULPROG ... Current pulse program
 AQ_mod Acquisition mode
 TD Size of fid
 DS Number of dummy scans
 NS Number of scans
 TD0 Loop count for 'td0'
Width
 SW [ppm] Spectral width
 SWH [Hz] Spectral width
 AQ [sec] Acquisition time
 FIDRES [Hz] Fid resolution
 FW [Hz] Filter width
Nucleus 1
 NUC1 Observe nucleus
 O1 [Hz] Transmitter frequency offset
 O1P [ppm] Transmitter frequency offset
 SFO1 [MHz] Transmitter frequency
 BF1 [MHz] Basic transmitter frequency
Nucleus 2
 NUC2 2nd nucleus
 O2 [Hz] Frequency offset of 2nd nucleus
 O2P [ppm] Frequency offset of 2nd nucleus
 SFO2 [MHz] Frequency of 2nd nucleus
 BF2 [MHz] Basic frequency of 2nd nucleus

Hvis du går tilbake til "SPECTRUM"-vinduet skal det se noe lignende ut som på bildet nedenfor.

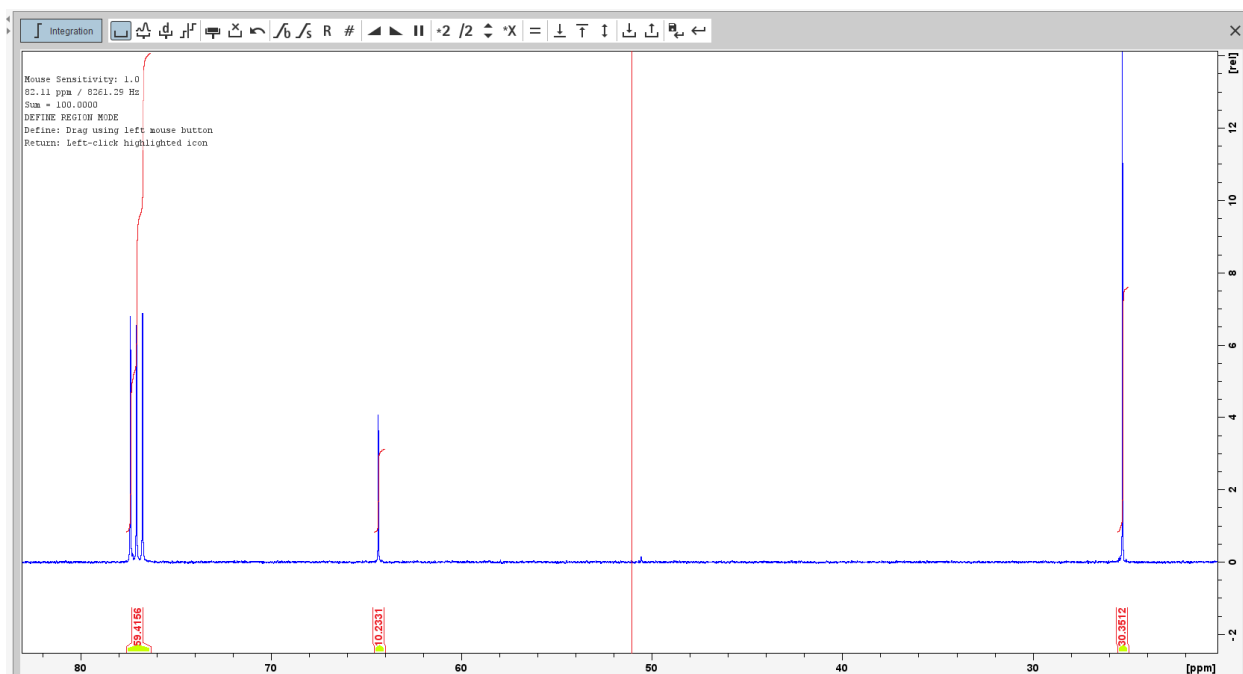


1. Slett automatisk genererte topper og integraller.

Bruk "Analyze"-vinduet og prosesser spekteret på samme måte som for protonspekter: "Pick Peaks" → "Delete all peak picking ranges" → "Return, and save changes".

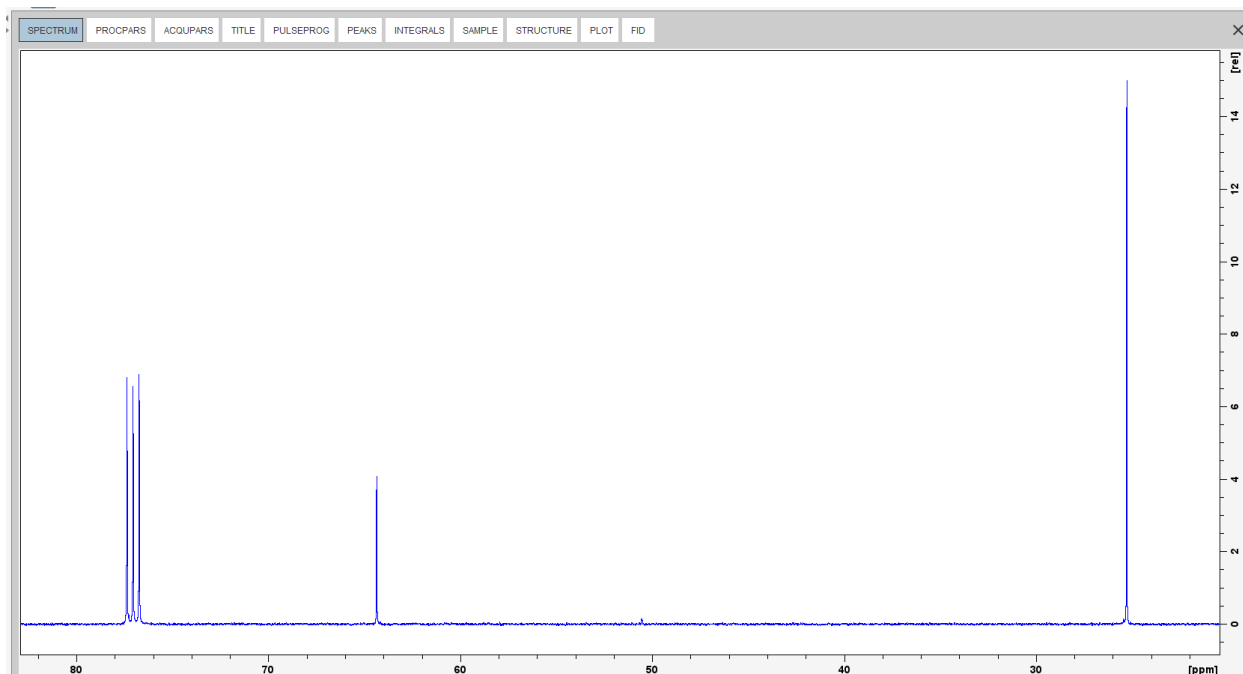


Gjør det same for integralene "Integrate" → "Select/Deselect all regions" → "Delete selected regions" → "Return, and save changes".



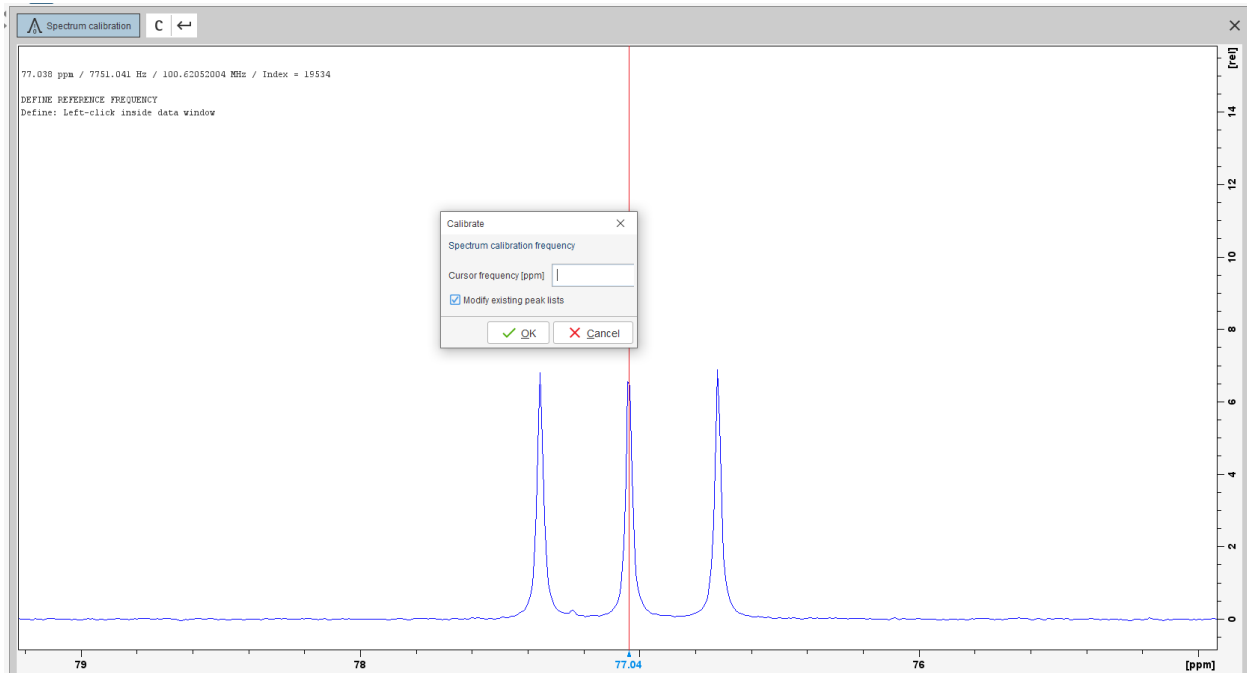
2. Fase- og grunnlinjekorreksjon

Skriv "apk" for automatisk fasekorreksjon og "abs" for automatisk grunnlinjekorreksjon i kommandolinjen. Om spekteret ikke ser bra ut slik som i bildet under, kan korreksjonene gjøres manuelt på samme måte som for protonspekter.



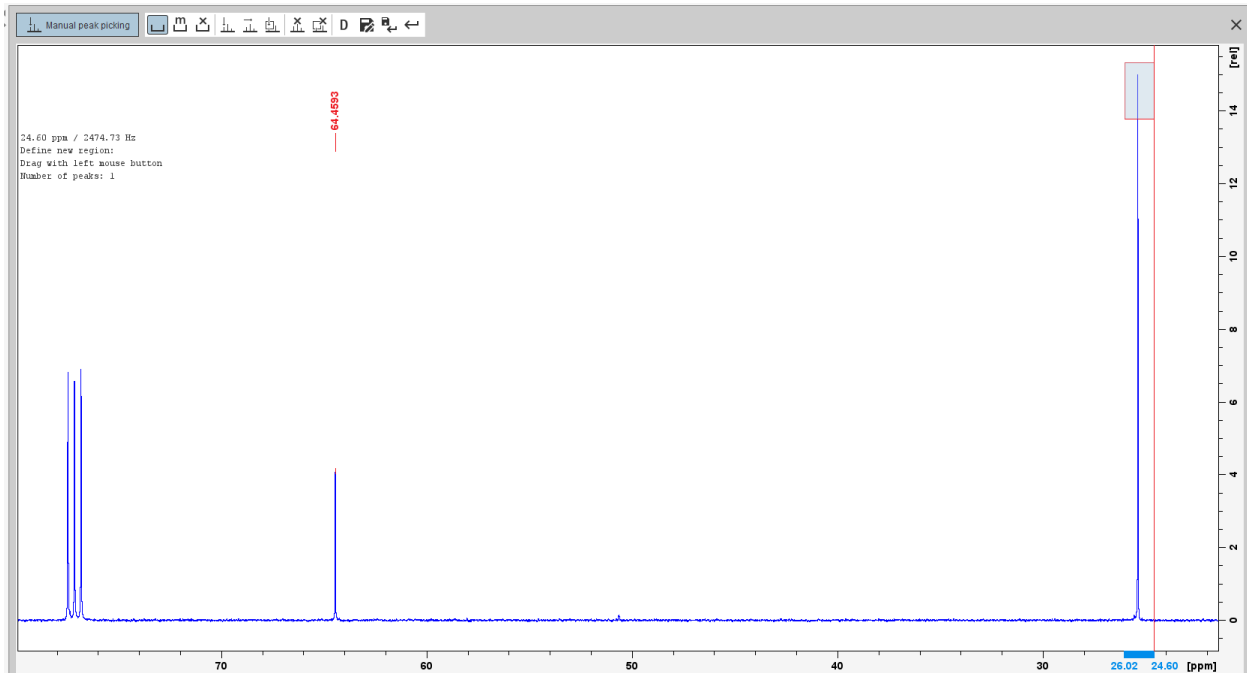
3. Kalibrering av ppm-skalaen

Zoom in på løsemiddeltoppen → “Manual Axis Calibration” → velg løsemiddeltoppen og sett inn den riktige verdien. CDCl_3 ^{13}C -NMR = 77,16.

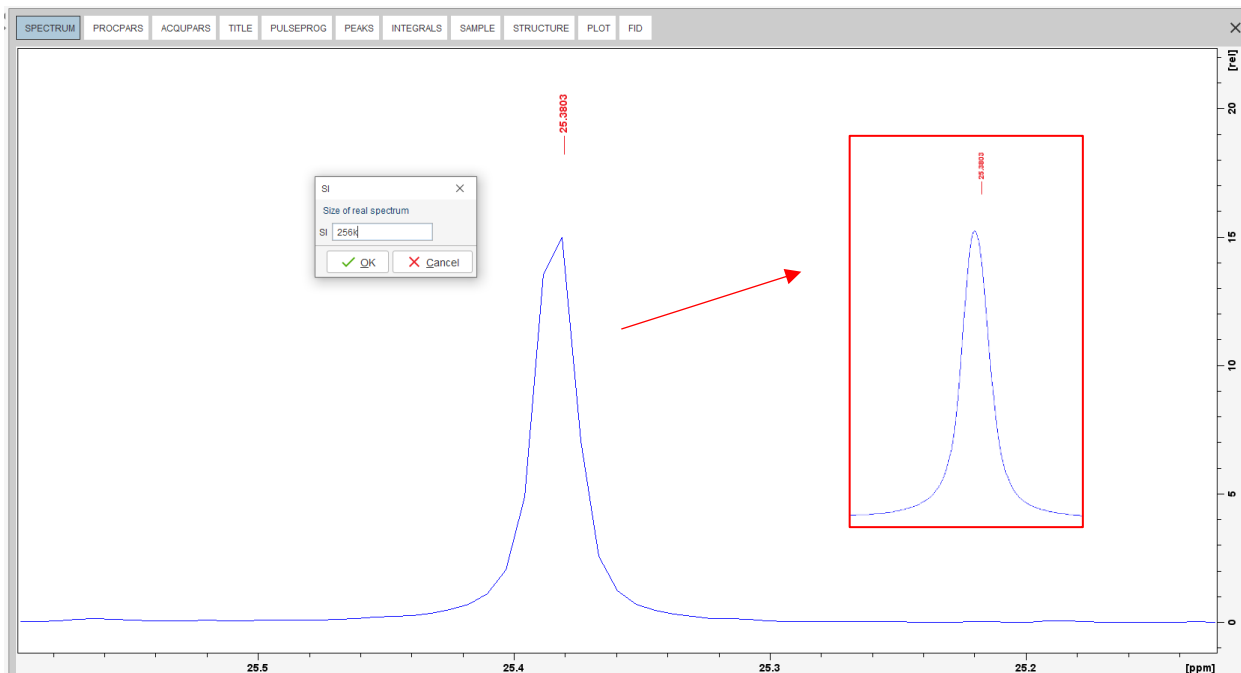


4. Manuell “peak picking”

Gå tilbake til “Analyze”-vinduet → “Manual Peak Picking” → velg topper → “Return, save changes”.



Hvis du ønsker penere topper bruk kommandoen <si> → øk til 256k → bruk så kommando <efp>. Toppene vil da bli penere som vist i bildet under.



5. Plot window og printing

Tilpass spekteret ved å bruke "PLOT"-vinduet. Husk og tilpass spekteret slik at alle verdier og topper viser. Klikk så på "Print active window", "Export active data" eller "plot window as PDF".

