

---

# *NMR Operation Manual*

---

**Kanai Laboratory**

**Ver. 1.1 edited by Tatsuhiko Yoshino**

**Last Update: 11/18/2011**

# NMR (Lambda) 測定マニュアル Ver 1.1

2011/11/18 by Tatsuhiko Yoshino

## サンプル調製

1.測定するサンプルをバイアル中で重溶媒(通常は  $\text{CDCl}_3$ )に溶かす。

サンプル量： $^1\text{H}$ -NMR 数 mg～数十 mg (おススメは 5～10mg 程度。1mg 以下でも取れる)

$^{13}\text{C}$ -NMR: できれば 20～30mg 以上。数 mg では終夜積算が必要な場合が多い。

溶媒量：0.5ml～0.8ml 程度。NMR チューブに 4cm の高さになる位。

※S/N 比はサンプルの濃度に比例し、積算回数の 1/2 乗に比例するので、サンプル濃度が半分になると同じスペクトルを得るのに積算時間は 4 倍になることに注意。

2. 溶かしたサンプルをパスツールピペットで NMR チューブに入れフタをする。このとき液の高さが約 4cm になるように調整する。 大体プラッツのテーブル板の厚さくらいなので目安にしましょう。

※重溶媒は基本は  $\text{CDCl}_3$  ですが(安いので)、サンプルが溶けない場合、サンプルがクロロホルム中で不安定な場合では他の溶媒を使います。よく使うのを値段が安い順に列挙します。

←安い  $\text{D}_2\text{O}$ 、 $\text{DMSO-D}_6$ 、 $\text{acetone-D}_6$ 、 $\text{benzene-D}_6$ 、 $\text{CD}_3\text{CN}$ 、 $\text{CD}_3\text{OD}$ 、 →高い

$\text{CDCl}_3$  がダメだとすぐに  $\text{CD}_3\text{OD}$  にする人が多いですが、サンプルの回収が必要ない場合では出来る限り  $\text{DMSO}$  を使いましょう。溶けるならアセトンという選択肢もあります。

ここに上げた以外の重 THF、重トルエン、 $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ 、重 DMF などは非常に高価(一回の測定に使う量で 2000 円など)なのでスタッフと NMR 係に相談してください。また重溶媒は NMR 係が注文、管理しているので勝手に購入しないでください。

## $^1\text{H}$ の測定

※NMR 装置に近づくときはキャッシュカードなどはポケットから出したほうがいいらしいです。

0. サンプルをいれたチューブが汚れていたらキムワイプ等できれいにふく。

1. NMR チューブをスピナーにセットし、スピナーの接合部を一番下まで引く。 高さ調整用のプラスチックチューブにセットして NMR チューブが一番下につく位置にして、液の高さが大体 4cm であることを確認する。

2. 装置上のサンプル口にスピナーにセットしたサンプルを静かに置く。

3.(ここからコンピュータ上:Swan ウィンドウでの操作) Solvent から自分の使う重溶媒を選ぶ(たいていは  $\text{CDCl}_3$  になっています)。

4. OBS(観測核)、IRR(照射核)が両方  $^1\text{H}$  になっていることを確認。EXP mode が non になっていることを確認。

5. ボタンがいくつか並んでいるので、一番右を押す。サンプルのロード、スピン、シグナルロック、シム調整まで全部自動でやってくれます。ただしシム調整は手動でやるので、Shimming とでたらキャンセルを押す。

※一番右を押しても反応がないときは左から 2 番目のボタンを押して、出てきたダイアログで Spin と Auto Lock がチェックされてることを確認して Go を押すとロード、スピン、ロックまで行きます。

4. 上部メニューから Sample→manual shim と選択し Shim 調整画面を呼び出す。

5. Z1 と Z2 のみを適当に上下させて画面上部の値が最大になるようにする。この画面で操作しているのは Z1、Z2、LGAIN のみです。他は絶対に触らないでください。 値が極端に大きすぎるときは LGAIN を小さく、小さすぎるときは LGAIN を大きくしてやるといいです。CDCl<sub>3</sub> でやってる場合は 20~22 くらいがちょうどいいです。Shim 調整が終わったらこのウィンドウを閉じる。

6. 上部メニューの Acquire→Condition から Condition 画面を開く。

7. ここでも画面左の IRR、OBS が <sup>1</sup>H になっていることを確認し、EXP mode が non になっていることを確認してから LDEXP を押す。最後に右の数字が並んでいるところの Times(積算回数)を適当な値に設定し(通常は 4 の倍数。8 回か 16 回がおすすめです。奇数だと変なピークが出る時があります。)

8. Accumulation を押すと、しばらくたってから積算がはじまります。8 回、16 回くらいなら 2、3 分で終わります。Acquire→Update display で途中経過が見れます。(出てきた画面：View→phase でスペクトルになります)

9. 積算が終わった(積算のウィンドウから途中でやめることも出来ませんが、奇数回で止めると本来ないピークが見えるときがあります)ら Stork ウィンドウに移ります。

10. 解析は Stork 上でやる方法と隣の WindowsPC で Alice というソフトでやる方法があります。Alice で行う場合には Stork の左上のメニューから File→Load FID を押し、測定データを一旦読み込んだ後、File→Save で適当な名前でも保存した後、Windows PC から FTP クライアントを起動してファイルを移します。ファイルを移したあとは元ファイルを削除してください。

11. Solvent を変えていた場合は CDCl<sub>3</sub> に戻す。

12. 解析のやり方は人それぞれなので各自先輩から教わってください。

13. サンプルを Eject したら上部にちゃんとフタをしてください。

## <sup>13</sup>C の測定

基本的には <sup>1</sup>H と同様。違う点のみ列挙します。

IRR: <sup>1</sup>H

OBS: <sup>13</sup>C

EXP mode: bcm

に設定(Swan、Condition の画面)

積算回数は多め(10000 等)に設定し、全てのピーク、十分な SN 比が得られたところで止めてください。

解析も <sup>1</sup>H と同様に行います。

測定後は OBS を <sup>1</sup>H に、EXP mode を non に戻してください。

## <sup>19</sup>F の測定

注意：サンプル作成の際に化学シフトを補正するための適当な標準を入れる必要があります。本などで調べて標準サンプルを直接またはキャピラリ内に封管してサンプルチューブに入れてください。

1. Condition を開き OBS を 19F、IRR を 1H にする。
2. Sample→Probe Tune を選択、Probe tuning と出てきたら Run を押してプローブチューンを行える状態にする。
3. (プローブチューンはめんどくさい上にわかりにくいので誰か分かる人に教えてもらうことを推奨します。) 機械の横にあるインジケータ(黄緑のゲージの出てる機械)を見ながら、黄緑色のゲージが最小になるようにプローブ(NMR 装置の下にダイヤルが 3 つ並んでます)のダイヤル(赤、HF と書いてある)とレバー(赤)を回してください。ダイヤルの値は大体の値が NMR においてある青いバインダーに入っている紙に書いてあるので、それを参考に微調整してください。インジケータの×1、×10 とその横のダイヤルはインジケータのゲージにかかる倍率みたいなものなので、ゲージが小さすぎず大きすぎず、真ん中あたりの状態で調製するとやりやすいと思います。レバー・ダイヤルを動かしてゲージを小さくする→インジケータの倍率を大きくするの繰り返しです。最終的にインジケータの倍率最大でゲージが真ん中くらい来ると思います。
4. シムを合わせ、Condition を開いて EXPMOD を non にして、LDEXP を押して、積算回数を入れて Accumulation。19F は 1H と似たような濃度で十分な感度が得られます。
5. 終わったらサンプルを入れたままで OBS を 1H に戻し、プローブチューンを行い、1H 用のチューニングに戻してください。1H 用のダイヤルの値も書いてありますので、それを参考に微調整してください。インジケータの倍率最大で真ん中くらいまでは下がります。チューニングをしたら念のため 1H を測定し、ちゃんと取れることを確認しましょう。
6. 解析は 1H と同じです。リファレンスは入れた化合物に応じてあわせてください。

<わかっている人向けのまとめ>

化学シフト合わせサンプルを入れとく→OBS 19F にしてプローブチューン(HF)→OBS 19F、IRR:1H、EXPMOD:non で積算。感度はいいので 1H と同じくらいの濃度で十分取れる。解析はいつも通り。

## <sup>31</sup>P の測定

注意：サンプル作成の際に化学シフトを補正するための適当な標準を入れる必要があります。本などで調べて標準サンプルを直接またはキャピラリ内に封管してサンプルチューブに入れてください。

1. 測定の前にインジケータのあたりに置いてあるスティックの内、<sup>31</sup>P 用のもの(青いバインダーに入っている紙に核種とスティックの対応が書いてあります)を差込口に差します。ずっと奥まで入れると途中で止まって固定されます。差込口は機械下側のプローブ部分の HF プローブ調整レバーの逆側あたりにあります。
2. Condition を開き、OBS を <sup>31</sup>P、IRR を 1H にする。
3. Sample→Probe Tune を選択、Probe tuning と出てきたら Run を押してプローブチューンを行える

状態にする。

4. LFプローブのチューンを行います。LFと書かれた黄色のダイヤル2つで調整します。細かいやり方は19Fの項の3も参照してください。
5. Conditionを開き、OBS:31P、IRR:1H、EXPMOD:bcmでLDEXPを押して、積算回数を入力してAccumulation。感度はそんなに悪くないので、1Hと似たような濃度でもそれなりに取れます。
6. 終わったら、スティックを引き抜き、LFのチューニングを13C用に戻してください。
7. 解析はいつも通り。リファレンスは標準であわせてください。

<わかってる人むけまとめ>

化学シフト合わせサンプルを入れとく→プローブの差し込み口に31P用のスティックを差し込む→OBS 31Pにしてプローブチューン(LF)→OBS 31P、IRR:1H、EXPMOD:bcmで積算。感度は1Hとかより若干落ちるくらいだけど13Cとかよりはかなり良い。解析はいつも通り。

## <sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H COSY の測定

1. 通常の<sup>1</sup>H測定を行います。
  2. Manual Shim から Spin off を押してスピンを停止させる。
  3. 裏の分光計の上、レーザープリンタの左側に置いてあるFG(磁場勾配)ユニットの正面にあるスイッチを上側(PROBR)に切り替える。
  4. Conditionを開き、IRRとOBSは<sup>1</sup>Hのまま、EXP modeをcosy\_fgにする。(cosyでなく、cosy\_fgであることに注意)。LOAD EXPを押すとパラメータがcosy用に切り替わる。
  5. timesを1にする。1回積算当たり結構時間がかかる。通常は1回で十分。
  6. Accumulationを押して測定を行う。
  7. 測定が終わったらFGユニットのスイッチを下側(DUMMY)に戻す。  
さらにSwan上部メニュー: File→Load→Parからnonを選択してロードする。  
この二つをやらないと後の人に迷惑がかかります。
- . 解析は先輩に教わりましょう。

その他C-H二次元、DEPT、NOE、NOESYなどは測定したことのある先輩に教わってください。

## NMR Lambda 使用ルール

---

- ・ 平日昼間(8:00~23:00)の連続使用は一人 30 分までです。
- ・ Solvent は終わったら  $\text{CDCl}_3$  に戻す。
- ・  $^{13}\text{C}$ 、COSY などの測定をした場合には確実に設定を戻す。
- ・ プリンタのインク交換、用紙補給くらいは自分でやりましょう。
- ・ トラブルが起きたら NMR 係(馬島・吉野)に連絡する。
- ・ ファイルのバックアップは全部自己責任です。万一 PC が壊れても誰にも責任はありません。

終夜測定については以下の様にします。

- ・ 可能な時間帯は原則 **23:00~翌 8:00** とする。
- ・ 終夜測定をする場合はその**当日の 18:00 までにその旨をメーリングリストで回す**。連絡がそれ以降になった場合には、開始する直前に、**残っている人全員に確認を取ってから行う**。
- ・ 終夜測定を行いたい人が複数いる場合には、当事者同士の話し合いで決める。早い者勝ちではありません。

※困ったら気軽に NMR 係を呼んでもらって OK です。少しでも自信がなかったら、自分でなんとかしようとしなくてください。

Q. サンプルが落ちた。もしくはイジェクトしても出てこない。

A. NMR 係を呼んでください。

Q. Spin がかからない。途中で止まる。

A. NMR チューブが汚れてないか確認してください。またスピナーが汚れている場合が多いので、一旦 2 つに分解して EtOH を染みこませたキムワイプで良く拭いてください。他の有機溶媒は使わないでください。以上をやってもダメな場合は NMR 係を呼んでください。

Q. Condition や Update display が開かない or 開けない。

A. たいていは Swan(解析ソフト)を一回終了して、再起動すれば直ります。

Swan の枠のあたりで右クリック→Close→画面の何も無いところで右クリック→Swan

Q. Lock がかからない。

A. まず重溶媒の設定があっているかどうか確認してください。また大きく Shim の値とかがずれているとかかりにくいです。多くの場合は Shim の初期設定をファイルから読み出せば解決します。

Auto Lock を Off(わからなかったら一回サンプルを出してしまう)

→Swan:Sample Setup→Lock&Shim→出てきたウィンドウの右上の辺りの Shim File というところの「Load File & set Shim」を押す(絶対にセーブしないこと!)→ok→Auto Lock on(もしくは普通にはじめから測定をはじめる)

Q. Shim 値が上がらない。ピークがブロードする。

A. サンプルに金属が入ってませんか? 常磁性金属(Fe、Cu(II)など)が入っているとそうなります。金属によっては分液やショートカラムでも除けない場合がありますので注意。不溶固体がある場合はろ過して除去すると改善するかもしれません。

Q. 解析の様子がおかしい。

A. Stork を再起動しましょう。

Stork を close→何も無いところで右クリック→Stork

Q. 画面の色がおかしい or 動作が重い or 上記の問題が上の方法で解決しない or よくわからないけどおかしい

A. これが一番多いです。Stork や Swan を再起動すると色がおかしくなることもあります。システムを再起動すれば基本的に解決します。

## 再起動方法

画面右下、セッションを右クリック→復元→セッション→終了(これで再起動します)  
→ユーザ名 ; lambda、パス:Lambda で Enter→ちょっと待つと Window が 2 つ開きます(これは最小化して OK)→何もないところで右クリック→Restart→(しばらく待つ)→Swan と Stork が自動的に起動します→  
Swan→Special→Spmon をクリック(温度とかの画面が出ます)→並んでる絵付きのボタンの左から二番目を押して、Apply Spinner On、Apply Auto Lock On、Apply Auto shiming の 3 つのチェックボックスをクリックしてチェック

- Q. エラーが出て FTP クライアントからファイルが移せない。  
A. FTP クライアントを一旦終了させ、10 秒くらいまってからもう一度再起動してください。それでダメなら Windows を再起動してください。

測定・解析をやっているコンピュータがおかしいときはとりあえず再起動すれば直ります。

また何か異常があったら気づいたときにすぐに知らせてくれると助かります。ご協力をお願いします。



# 共通 NMR 利用ルール

edited 2/14/2011 by Dr. Shigeru Matsuoka (Inoue lab.)

場所：総合研究棟地下一階 NMR 室 2 (083 号室)

装置：JEOL 製 ECA-500、JEOL 製 ECX-500

測定時間：

ECA-500: 3 時間以内 (平日昼間 10~22 時)。但し、1 時間以上は要予約。

ECX-500: 30 分以内 (平日昼間 10~22 時)。

平日夜間 (22~翌 10 時)、土日祝日 (全日) は特に制限なし。

予約：083 号室の外壁にある予約表に記入。

前の週の金曜朝 10 時に予約開始 (翌週分の月~日)。

予約の規制：

前の週の金曜朝 10 時からその週の月曜朝 10 時まで：

1) 夜間土日祝日の予約は各教室 1 回/週まで。

2) 平日昼間の予約は各教室 7 時間/週まで。

その週の月曜朝 10 時以降：特に規制なし。

\*研究推進に必要な測定はきちんとしつつ、不必要な予約は控え、他のユーザにも配慮してマシンタイムを有効に利用すること。\*

料金：

ECA-500: ¥500/時間 (平日昼間)、¥100/時間 (平日夜間、土日祝日)

ECX-500: ¥600/時間 (平日昼間)、¥100/時間 (平日夜間、土日祝日)

平日昼間 (10:00~22:00)、平日夜間 (22:00~翌 10:00)

支払い：年毎に集計して、各教室に請求 (校費移算措置)。

## 緊急時の対処 (2011.03.17 NMR 委員会 素案)

### クエンチしたら・・・

！ すみやかにNMR室から出てください！

サンプルは後で回収できるので、まずは落ち着いて部屋を出てください。部屋を出る際に以下の対処をお願いします。

・ 入口付近の緊急排気スイッチ (図中 1) を ON にしてください。(ヘリウム回収室で

酸素濃度が下がった場合は、警報が鳴り、緊急排気スイッチが ON になります。)

・ 部屋が無人であることが確認できたら入口のドア (図中 2) を閉めてください。

### 火災が起ったら・・・

！ すみやかにNMR室から出てください！

サンプルは後で回収できるので、まずは落ち着いて部屋を出てください。アナウンスの後、自動的に窒素ガスが噴き出し消火します。部屋を出る際に以下の対処をお願いします。

・ 部屋が無人であることが確認できたら入口のドアを閉めてください。建物からの緊急脱出には、非常口 (図中 3, 4) を利用してください。建物外の階段から地上に出られます。

