

## מדידות דיפוזיה בטכניקות SDNMR

מאת רוי הופמן ויאיר עוזרי 09.09.2009

במכשיר ה-NMR 400 וה-500 מגהרץ שבמכון לכימיה ניתן למדוד קבועי דיפוזיה (פעפוע) של חומרים שונים להלן הפרוצדורה למדידה זו.

יש לקרוא את ההוראות "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" לפני שניגשים למדוד דיפוזיה. שיטת ברירת המחדל המפורטת להלן מתאימה למדידת דיפוזיה של פרוטונים של חומרים עם קבוע דיפוזיה בין  $10^{-13}$  ל- $5 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ .

לא ניתן למדוד דיפוזיה בספקטרומטר ה-200.

המדריך מיועד לספקטרומטרים של המכון לכימיה באוניברסיטה העברית. ניתן להשתמש בו לספקטרומטרים אחרים של ברוקר המופעלים על ידי תוכנת TOPSPIN אם מכינים קודם פרמטרים לאיסוף, להדפסה ומקורים כמפורטים בהוראות "מדידת ספקטרום NMR פרוטונים". בנוסף יש להכין פרמטרים ותוכנות פולסים לדיפוזיה ולשנות את תוכנת AU של dosy. הפרטים בפרק 5.

## תוכן העניינים

3	1. מדידת דיפוזיה שגרתית
3	א. הגדרת הגלאי (פרופ, probe)
3	ב. קדם הגדשה והכנת הגרדיאנטים
4	ג. כיוול טמפרטורה
4	ד. האם להשתמש בממס מותמר דוטריום
4	ה. איסוף ספקטרום פרוטון
4	ו. איסוף ספקטרום הדיפוזיה
5	2. שלב העיבוד
5	א. התמרה פוריה
6	ב. שליטה בייצוג הספקטרום הידו-מימדי
6	ג. תיקון פאזה
6	ד. תיקון קו בסיס
7	ה. בדיקת התאמת הפרמטרים לקבוע דיפוזיה
7	ו. הכנת פרמטרים ל-DOSY
8	ז. העברת התצוגה ל-DOSY
8	ח. השלכה
8	ט. בחירת אזור להדפסה
8	י. הדפסה
8	3. דיפוזיה בגרעינים אחרים
9	4. פענוח של קבצי דיפוזיה ישנים שנאספו בתוכנה xwinnmr עם Topspin
10	5. שימוש המדריך במעבדות אחרות
15	6. שיפור דיוק מקדם הדיפוזיה עבור קווים רחבים

# 1. מדידת דיפוזיה שגרתית

## א. הגדרת הגלאי (פרוב, probe)

ראשית יש לבדוק אם הגלאי (פרוב, probe) מתאים למדידת דיפוזיה. הגלאי המתאים הוא BBI (ראה "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 3, ג').

בספקטרומטר ה-500 מגהרץ ניתן להשתמש ב-BBI או ה-BBO אבל ה-BBI נותן תוצאות יותר טובות.

## ב. קדם הגדשה והכנת הגרדיאנטים

מדידת דיפוזיה משתמש בגרדיאנטים (מפלי שדה מגנטי) לכן יש להכין את יחידת הגרדיאנטים.

בספקטרומטר ה-500 מגהרץ אין צורך לגשת ליחידת הגרדיאנטים ואין צורך להפעיל קדם-ההדגשה

לפחות בגלאי ה-BBI אבל יש להפעיל את setpre כמבואר להלן כדי לכייל את עוצמת הגרדיאנט.

מקלידים setpre יופיע חלון חדש ובתפריט שהחלון הראשי יופיע אפשרות נוסף SetPre (תרשים

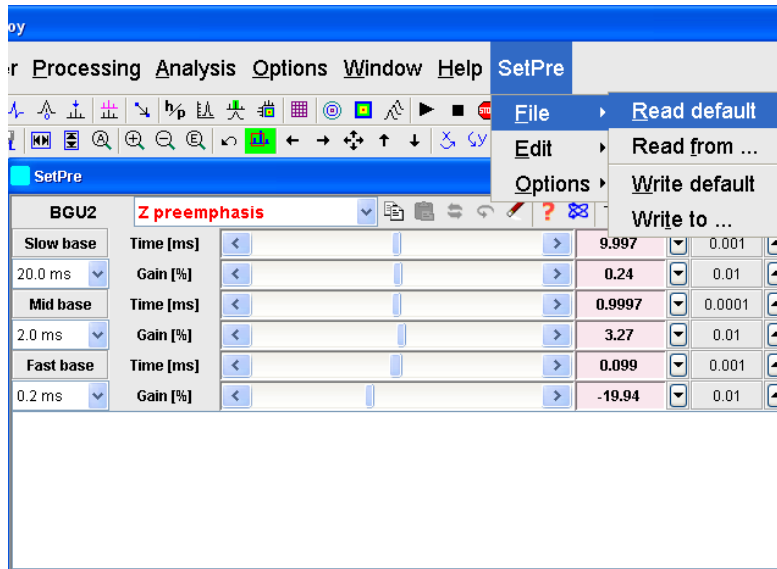
1). השתמש באפשרות setpre כדלקן.

SetPre > File > Read default

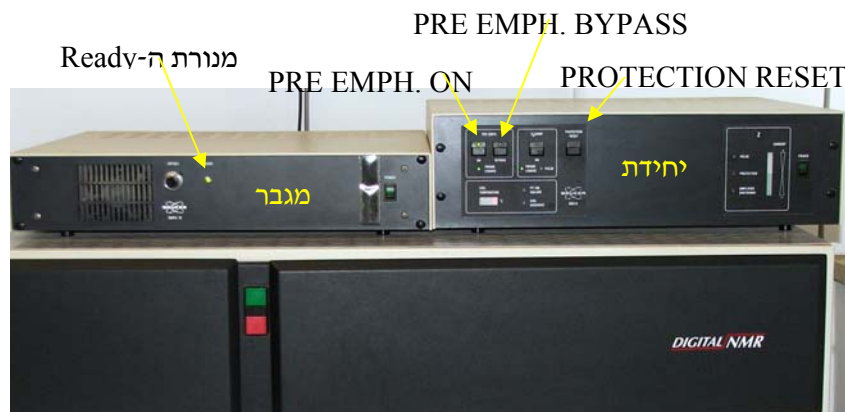
Store

סגור את חלון ה-SetPre

## תרשים 1. חלון קדם-ההדגשה (setpre)



## תרשים 2. יחידת הגרדיאנטים בספקטרומטר ה-400 מגהרץ



בלוח הבקרה של הגרדיאנטים (תרשים 2) מוודאים שכפתור PRE EMPH. ON דלוק ו-  
PRE EMPH. BYPASS כבוי. במגבר הגרדיאנטים מוודאים שמנורת ה-Ready דלוק ואם לא  
לוחצים על PROTECTION RESET שנמצא בלוח הבקרה של הגרדיאנטים.

#### ג. כיול טמפרטורה

קבוע הדיפוזיה משתנה עם טמפרטורה ב-2% למעלה לכן מומלץ לכייל את הטמפרטורה ("מדידת  
ספקטרום NMR פרוטון" פרק 8) במיוחד עם הטמפרטורה רחוק מזה של החדר.

#### ד. האם להשתמש בממס דוטריום

התמרת הפרוטונים בממס דוטריום משפיע על קבוע הדיפוזיה לכן במרקמים רבים מוודאים את  
הדיפוזיה בלי דוטריום בממס ("מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 9)

#### ה. איסוף ספקטרום פרוטון

אסוף ספקטרום פרוטון רגיל כמפורט ב"מדידת ספקטרום NMR פרוטון".

#### ו. איסוף ספקטרום דיפוזיה

יש לבטל את הסיבוב (אם הדוגמה מסתובב לחץ על SPIN ON/OFF בלוח בקרה או על SPIN  
במסגרת SAMPLE בחלון bsmsdisp).

הכין קובץ עבור דיפוזיה בהקלדת edc. תשים Expno ל-2 (אם זה לא הניסיון הראשון יש להגדיל  
Expno באחד), Par ל-11\_Diffusion, ולהגדיר את ה-Title. אם יש חשש למערבולות כאשר  
התמיסה אינו צמיג או הטמפרטורה גבוהה יש להשתמש במבחינה צרה או בפרמטרים להדעכת  
מערבולות 11a\_Diffconvcomp.

ניתן למדוד דיפוזיה עם הפרת סינגל סינגלטי של ממס. קרא את הפרמטרים  
11h\_Diffusionsolvsupp, שנה את SFO1 לתדר של הממס והרץ את הניסוי כמו דיפוזיה רגילה.

אם הדוגמה נעולה (מפני שיש בו מספיק דוטריום והדוגמה לא אניזוטרופית) שנה את תוכנית  
הפולסים בהקלדת ledbpgp2sroy (להדעכת מערבולות ledbpgp3sroy). ניתן להחזיר  
את הפרמטר לקובץ ללא נעילה בהקלדת ledbpgp2snlroy (להדעכת מערבולות  
ledbpgp3nlroy).

שנה את הפרמטר rg לזה של ספקטרום הפרוטון כפול שמונה.

בספקטרומטר ה-400 מגהרץ הקליד dosy.

בספקטרומטר ה-500 מגהרץ, הקלד dosy.rh.

הספקטרומטר יגיד Define the gradient ramp לחץ על Seen. הכנס את הפרמטרים של ברירת  
מחדל:

First gradient amplitude: 2

Final gradient amplitude: 95

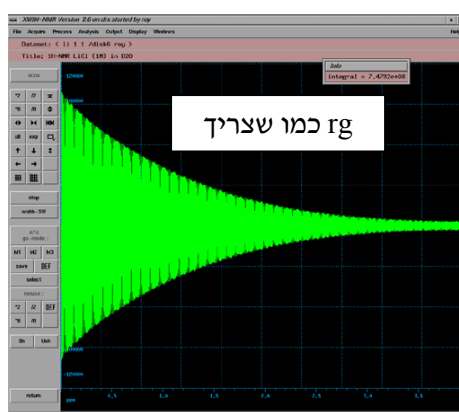
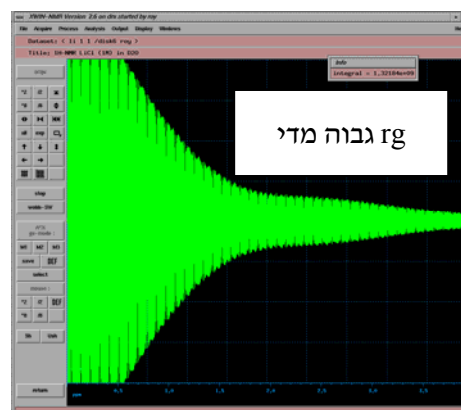
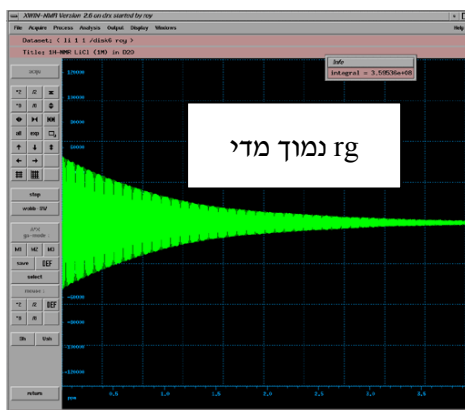
Number of gradient points: 32

Ramp type: 1

הספקטרומטר ישאל Do you want to start the acquisition? לחץ OK

יופיע חלון האיסוף. הסתכל היטב באיסוף הראשון שיופיע רק לכשתי שניות (תרשים 3). אם גובה  
ה- $fid$  כמו שצריך, בין חצי גובה החלון עד לגובה מלא תן לאיסוף להסתיים. אם לא הפסיק את  
האיסוף (הקלד stop). אם rg נמוך מדי הכפיל אותו פי שניים ואילו אם הוא גבוה מדי חצה אותו.  
התחיל את האיסוף שוב בהקלדת zg. וחזור לתקן את rg לפי הצורך.

### תרשים 3. התאמת rg מה-fid



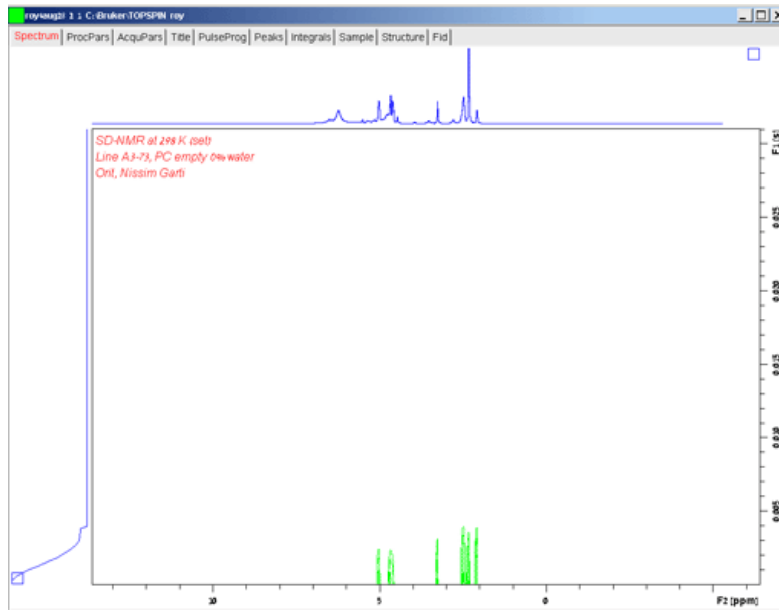
### 2. שלב העיבוד

ניתן להתחיל בעיבוד לפני סוף האיסוף. קובץ הדיפוזיה נראה כקובץ דו-ממדי (ראה "מדידת ספקטרום 2D") אך העיבוד מורכב יותר.

#### א. התמרת פוריה

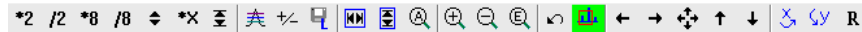
הקלד  $xf2$  כדי לבצע התמרת פוריה חד מימדי בכל השורות בבת אחת. הספקטרום שנקרא אינטפירוגרם אמור להופיע דומה לתרשים 4.

## תרשים 4. ספקטרום של דיפוזיה אחרי xf2



### ב. שליטה בייצוג הספקטרום ה'דו-מימדי'

משתמשים בסרגל כלים הזה לשלות על ייצוג הספקטרום.



מימין לשמאל: אפס צורת ה לברירת מחדל בתצוגה אלכסונית, לסובב תצוגה אלכסונית, לשנות אינטרקטיבי שת השיפוע של תצוגה אלכסונית, להזיז למטה חצי מסך, להזיז למעלה חצי מסך, להזיז אינטרקטיבי, להזיז ימינה חצי מסך, להציג את אותו החלון כאשר עוברים לספקטרום אחר, לחזור להרחבה הקודמת, להגדיר את התצוגה לפי מספרים, להרחיב, להצר, להציג את כל הספקטרום, להציג את כל הגובה, להציג את כל הרוחב, לשמור את הרמות, לבחור בתצוגה חיובית ו/או שלילית, להגדיר קווי גובה, הגברה אינטרקטיבית, הנמכה פי 8, הגברה פי 8, הנמכה לחצי והגברה פי 2.

### ג. תיקון פאזה

הקלד ph. או לחץ על . חלון פאזה ייפתח. לחץ ימנית בעכבר על השורה הראשונה או שנייה של ספקטרום ואחר כך לחיצה שמאלית בעכבר ולבחור Add כדי לסמן שורה. חזור על זה (בדרך כלל שתי שורות מספיקות) בשביל שורה אחרות (וניתן אפילו שורות נוספות). לחץ על כדי להציג את השורות. בתיקון פזה יש לעשות פשרה בין השורות עם עדיפות לשורות הראשונות. תיקון פאזה סדר אפס (במקום בו נמצא הקו האדום האנכי) נעשה בלחיצה שמאלית בעכבר על בד בבד עם גרירה למעלה ולמטה. תיקון פאזה סדר ראשון (רחוק מהקו האדום האנכי) נעשה בלחיצה שמאלית בעכבר על בד בבד עם גרירה למעלה ולמטה. בסיום תיקון הפאזה לחץ על כדי לשמור (או על כדי לבטל) את התיקון. אחר כך לחץ על כדי לצאת מחלון תיקון פאזה.

### ד. תיקון קו הבסיס

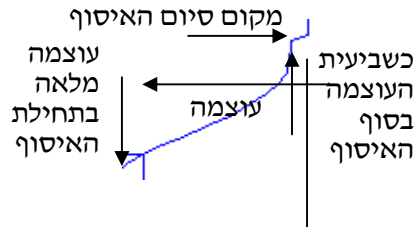
הקלד bas או השתמש התפריט Processing → Baseline Correction... [bas]. חלון תיקון קו הבסיס ייפתח. בחר באפשרות (ראשונה מלמעלה) Auto correct baseline using polynomial. איפה שרשום: Apply to axis: בחר F2 בלבד. לחץ על OK לשמור (או Cancel לבטל). הפרדת ברירת המחדל במימד הדיפוזיה בדרך כלל מתאימה אבל ניתן לשנות אותו – ראה יי 10.

## ה. בדיקת התאמת הפרמטרים לקבוע דיפוזיה

אם הסיגנלים לא דועכים מספיק מהר או דועכים יותר מדי מהר ההפרדה הסופית במימד הדיפוזיה יהיה פחות טוב וייתכן פיצולים וסתיות מהערך הנכון. אם מצליחים לכוון את הפרמטרים במפורט להלן ניתן לקבל ערכי דיפוזיה לדיוק של שני אחוז עד אחוזים בודדים עבור ספקטרום בעל רגישות והפרדה טובות.

יש לכוון את הפרמטרים כדי לקבל תוצאות מדויקות יותר. כאשר יש רגישות טובה, העקומה אמורה לדעוך בסוף לשביעית עוצמתה בהתחלה. באינטרפירוגרם (תרשים 4) בחר אזור שכולל רק סיגנלים הדועכים פחות ביותר, הסתכל בתחתית ההשלכה בצד שמאל כדי להעריך את הדעיכה. הרחב כמה אזורים שונים ובדוק שהדעיכה האיטית ביותר דועך לשביעית העוצמה ההתחלתית עד סוף האיסוף (תרשים 5).

### תרשים 5. בדיקת התאמת הפרמטרים מההשלכה



אם העקומה דועכת יותר מדי מהר יש להוריד את p30 ואת d20 ואם העקומה דועך יותר מדי לאט יש להגדיל את p30 ואת d20. ברם, אין להוריד את p30 מתחת לחצי מילישנייה או להגדיל מעל 8 מילישניות (בגלאי ה-HR-MAS אין להגדיל מעל מילישנייה אחת) ולא יותר במילישניות מ-75 לחלק ברוחב קו (בהרצים) של הסיגנל הרחב ביותר שמתעניינים בו. אין להוריד את d20 מתחת ל-30 כפול 4 או להגדיל אותו מעל שנייה ואם חסר רגישות לא מעל חצי T<sub>1</sub> (ראה "מדידת ספקטרום NMR פרוטון" פרק 13). אוספים שוב את ספקטרום הדיפוזיה שום אך הפעם בהקלדת zg. חוזרים על העיבוד מתחילת פרק 2. בודקים שוב וחוזרים על האיסוף לפי הצורך עד שנתקבל תוצאה מתאימה. אם יש חשש שיש סיגנלים הדועכים מהר מעוד, יש להרחיב אותם ולהסתכל שוב בהשלכה. אם הדעיכה המהירה ביותר דועך לחצי כבר בשורה השנית יש להגדיל את Number of gradient points ל-64, 128, וכו' לפי הצורך ולחזור על האיסוף עם הפקודה dosy כמפורט בפרק 1, ו' ואת העיבוד.

בדרך כלל ניתן לקבל ספקטרום טוב אם מספר איסופים לשורה (ns) של 2. ניתן לשפר איכות הספקטרום בשימוש ב-ns של 16 וכשמתמשים בגלאי HR-MAS חובה להשתמש ב-ns של 16. במידה ואין מספיק רגישות באף סיגנל בספקטרום יש להגדיל את ns אך לשמור אותו למספר זוגי. שים לב שכל עוד שמגדילים את ns כך גדל זמן האיסוף.

## 1. הכנת פרמטרים ל-DOSY

```
.setdiffparm 400 מגהרץ הקלד
. setdiffparm.rh 500 מגהרץ הקלד
בתפריט procpars היכנס ללשונית D ושנה את הפרמטרים הבאים:
```

DISPmin לפחות מקבוע דיפוזיה הנמוך ביותר, לדוגמה -13;

DISPmax ליותר מקבוע דיפוזיה הגבוה ביותר, לדוגמה -8;

Nexp ל-1 אם בטוחים שאין חפיפה או ל-2 או 3 כאשר יש חשש לשני קבועי דיפוזיה בהיסט כימי אחד, כלומר ייתכן חפיפה;

אם Nexp שווה ל-2 שנה את הפרמטרים:

I2vary ל-Yes;

I2 ל-1e9;

; Yes ל-D2vary

.1e-11 ל-D2[m<sup>2</sup>/s]

אם Nexp שווה ל-3 שנה גם את הפרמטרים :

; Yes ל-I3vary

; 1e9 ל-I3

; Yes ל-D3vary

.1e-10 ל-D3[m<sup>2</sup>/s]

### ז. העברת התצוגה ל-DOSY


פתח את לשונית ה-Spectrum והקלד dosy2d או השתמש בתפריט Analysis → Dosey → Start .Fitting [dosy2d]

### ח. השלכה


יש להקליד proj ובשדה – Projection (sum) of יש לבחור columns. לחץ על OK לשמור.

הקלד projd או השתמש בתפריט [projd] Processing → Display Projections... שנה את EXPNO ב-F2 לקובץ החד-מימדי (בדרך כלל EXPNO אחד פחות דו-מימדי). ל-F1 של COSY ו-NOESY יש להשתמש באותו קובץ שהתמשת בו ל-F2. ל-HSQC, HMQC ו-HMBC יש להשתמש בספקטרום הפחמנים. אם אין ספקטרום פחמנים יש להשתמש בהשלכה שנוצר בפקודה proj שנמצא ב-PROCNO 999.

### ט. בחירת אזור להדפסה

בחר את אזור ההדפסה וגובה קווי הגובה. הקלד ls. או לחץ על .

### י. הדפסה

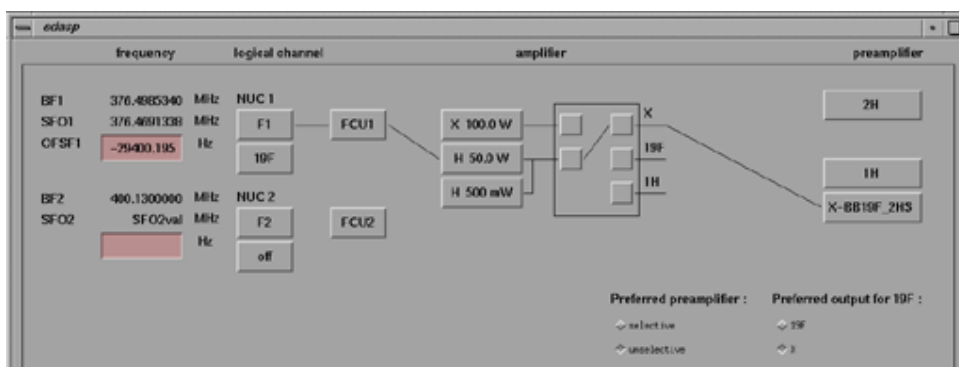
הקלד ctrl-p, לחץ על  או השתמש בתפריט File → Print... [Ctrl P]. בחר את האפשרות Plot with layout – plot directly [autoplot]. בחר את ה-LAYOUT ברירת המחדל. לחץ OK כדי להדפיס (או Cancel כדי לבטל).

## 3. דיפוזיה בגרעינים אחרים

אסוף ספקטרום רגיל של הגרעין בגלאי BBI כמפורט ב"מדידת ספקטרום NMR של פחמן וגרעינים אחרים (לא פרוטון)" בשינוי פרמטרים להתאים ל-BBI עבור זרחה ופחמן. עבור זרחה קרא את בפרמטרים 21\_Phosphorus ואחר כך הקלד p1 8, p12 20.5 ו-p13 20.5. לפחמן קרא את הפרמטרים 2\_Carbon ואחר כך הקלד p1 15.7, p12 20.5 ו-p13 20.5. יש לשנות את תוכנית הפולסים בהקלדת pulprog > נא לבקש – עוד לא מוכן < בספקטרומטר ה-500 מגהרץ עדיף להשתמש בגלאי ה-BBO לגרעינים אחרים.

הכין קובץ של הדיפוזיה כמו לזה של פרוטון. יש לשנות את הגרעין בהקלדת edasp. יופיע חלון לפלואור יש להחליף את F1 ל-F2 (נשאר off) ולסגור עם SAVE.

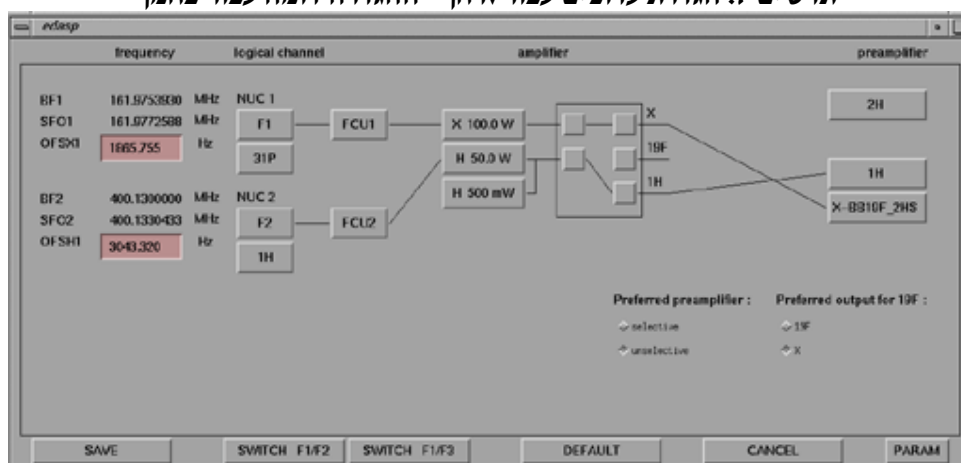
### תרשים 6. הגדרת ערוצים עבור פלואור





לזרוחן יש להחליף את F1 ל-31P ואת F2 ל-1H. לפחמן יש להחליף את F1 ל-13C ואת F2 ל-1H.

### תרשים 7. הגדרת ערוצים עבור זרוחן – ההגדרה דומה עבור פחמן



יש לבחור את אזור האיסוף. אחרי כל ההכנות לספקטרום רגיל ו-rga, אוספים את הספקטרום הרגיל (אי זוגי) ובחרים את האזור במסך המתאים ולוחצים על sw-sfo1 למטה בצד שמאל. רושמים את הפרמטרים sfo1 ו-dw ואז עוברים לספקטרום דיפוזיה (זוגי) ומכניסים את הערכים הרשומים ל-sfo1 ו-dw. אם זמן האיסוף ארוך מדי יש להקטין את td ו-si לפי הצורך.

בתפריט edt1 יש לכוון את GAMMA לגרעין:  $^{19}\text{F}$ , 4007,  $^{31}\text{P}$ , 1724, ו- $^{13}\text{C}$ , 1071.

יש להתאים את ה-rg כמו שרשום בסוגריים בפרק 1, ו'. אחר האיסוף יש להתאים פרמטרים אחרים כמפורש בסוגריים בפרק 2, ה' ואם נדרש מדידת  $T_1$  יש למדוד כמפורש ב"מדידת ספקטרום NMR של פחמן וגרעינים אחרים (לא פרוטון)" פרק 7.

### 4. פענוח של קבצי דיפוזיה ישנים שנאספו בתוכנה xwinnmr עם Topspin

פתח את הספקטרום החד-מימדי (בדרך כלל עם EXPNO אי-זוגי) בעזרת הדפדפן (Browser) ועבד כרגיל (ראה "מדידת ספקטרום NMR פרוטון").

פתח את ספקטרום הדיפוזיה (בדרך כלל עם EXPNO זוגי) בעזרת הדפדפן (Browser).

הגדל את מספר הנקודות (-[Size of real spectrum SI [pnts]]) ב-F1 ל-256 ובצע התמרת פוריה, תיוקן פאזה וקו בסיס כמפרט בפרק 2, אי-ד'.

הכן פרמטרים ל-DOSY:-

הקלד eddosy או השתמש בתפריט Analysis → Dosy → set up  
 [eddosy]...parameters. בחר Standard dosy parameters. לחץ OK. שנה את הפרמטרים:

שנה את הערך בשורת xlist ל-vdlist;

Nexp ל-1 אם בטוחים שאין חפיפה או ל-2 או 3 כאשר יש חשש לשני קבועי דיפוזיה בסינגל אחד, כלומר ייתכן חפיפה;  
 ; Logarithmic Scale ל-  
 DISPmin לפחות מקבוע דיפוזיה הנמוך ביותר, לדוגמה -13;  
 DISPmax ליותר מקבוע דיפוזיה הגבוה ביותר, לדוגמה -8;  
 Gdist[ms] ל-759 כפול d20 בשניות (כדי לבדוק את הערך של d20 יש לרשום d20 בשורה הנקודות. כנו כן עבור p16);  
 Glen[ms] ל-0.002 כפול p16 במיקרושניות.  
 אם Nexp שווה ל-2 שנה את הפרמטרים:  
 ; I2vary ל-Yes  
 ; I2 ל-1e9  
 ; D2vary ל-Yes  
 D2[m<sup>2</sup>/s] ל-1e-11.  
 אם Nexp שווה ל-3 שנה גם את הפרמטרים:  
 ; I3vary ל-Yes  
 ; I3 ל-1e9  
 ; D3vary ל-Yes  
 D3[m<sup>2</sup>/s] ל-1e-10.

העביר לתצוגת DOSY, הכן את ההשלכה והדפס כמפורט בפרק 2, ז'-י'.

### **5. שימוש המדריך במעבדות אחרות**

בספקטרומטר ה-400 יש יחידת גרדיאנטים מסוג BGU II אם מגבר מסוג BGPA10 שסובל ממערבולות זרם (eddy currents) וחסימה פגומה של הנעילה. לכן יש צורך להשתמש LED ביפולארי ואסימטרי. לא מצאתי שיטה תקינה בתוכנה של ברוקר לתמוך בשיטה האסימטרי לכן אלתרתי אותו בשינוי של תוכנית ה-au, dosy. אולם אחרי שינוי זה התוכנה dosy לא יפעל נכון עם תוכנות פולסים לדיפוזיה שאינם מסוג ביפולארי ים ואסימטריים.



יש להכין פרמטרים. קרא פרמטרים של PROTON. פתח את הלשונית AcqPars ולחץ על **123** ובחר Change dimension from 1D to 2D ולחץ OK. ב-F1 יש לשנות את TD ל-32 ואת S ל-256. כמו כן יש לשנות את פרמטרים האלה.

PL1	למינימום המותר: -6, -3 או 0
P1	אורך פולס 90° במיקרו-שניות
CY	12.5
NS	2
DS	4
PULPROG	ledbpgp2sroy

העתיק את התוכנה dosy שנמצא בספרייה ל-c:\bruker\topspin1.3(2.0)\exp\stan\nmr\au\src  
 dosyold והקלד dosy edau. שנה את השורה; STOREPAR ("GPZ 6", 100.0) ל-  
 STOREPAR ("GPZ 6", 82.5);

הכין את תוכנות הפולסים הבאים, הראשון לעבודה בלי נעילה והשני עם נעילה. ניתן לבחור את הטקסט ולהעתיק ל-Notepad ושמור את התוכנות בספרייה  
c:\bruker\topspin1.3(2.0)\exp\stan\lists\pp

```
;ledbpgpn12sroy
;avance-version (07/09/20)
;2D sequence for diffusion measurement using stimulated
; echo and LED
;using compensated asymmetric bipolar gradient pulses for diffusion
;using 2 spoil gradients
;no lock
;
;
;Bipolar LED: D. Wu, A. Chen & C.S. Johnson Jr.,
; J. Magn. Reson. A 115, 260-264 (1995).
;
;Use of asymmetric bipolar pulses: M. D. Pelta, G. A. Morris, M. J. Stchedroff & S. J.
Hammond
; Magn. Reson. Chem. 40, S147-S152 (2002).
;
;
;$CLASS=HighRes
;$DIM=2D
;$TYPE=
;$SUBTYPE=
;$COMMENT=
```

```
#include <Avance.incl>
#include <Grad.incl>
#include <Delay.incl>
```

```
define list<gradient> diff=<Difframp>
```

```
"p2=p1*2-0.8"
```

```
"DELTA1=d20-p1*2-p2-p30*4-d16*4-p19-d16"
```

```
"DELTA2=d21-p19-d16-4u"
```

```
"d11=30m"
```

```
1 ze
2 d1
d11
50u setnmr0|34
p1 ph1
p30:gp6*1.2*diff
d16
p2 ph1
p30:gp6*-0.8*diff
d16
```

```

p1 ph2
p30:gp6*-0.4*diff
d16
DELTA1
p19:gp7
d16
p30:gp6*-0.4*diff
d16
p1 ph3
p30:gp6*-0.8*diff
d16
p2 ph1
p30:gp6*1.2*diff
d16
p1 ph4
p19:gp7*-1
d16
DELTA2
4u setnmr0^34
p1 ph5
go=2 ph31
d1
d11 mc #0 to 2 F1QF(igrad diff)
exit

```

```

ph1= 0
ph2= 0 0 2 2
ph3= 0 0 0 0 2 2 2 2 1 1 1 1 3 3 3 3
ph4= 0 2 0 2 2 0 2 0 1 3 1 3 3 1 3 1
ph5= 0 0 0 0 2 2 2 2 1 1 1 1 3 3 3 3
ph31=0 2 2 0 2 0 0 2 3 1 1 3 1 3 3 1

```

```

;p11 : f1 channel - power level for pulse (default)
;p1 : f1 channel - 90 degree high power pulse
;p2 : f1 channel - 180 degree high power pulse
;p19: gradient pulse 2 (spoil gradient)
;p30: gradient pulse (little DELTA * 0.5)
;d1 : relaxation delay; 1-5 * T1
;d16: delay for gradient recovery
;d20: diffusion time (big DELTA)
;d21: eddy current delay (Te) [5 ms]
;NS: 8 * n
;DS: 4 * m
;td1: number of experiments
;FnMODE: QF
; use xf2 and DOSY processing

```

```

;use gradient ratio: gp 6 : gp 7

```

```

;          80 : 20.45

;for z-only gradients:
;gpz6: 100%
;gpz7: 20.45% (spoil)

;use gradient files:
;gpnam6: SINE.100
;gpnam7: SINE.100
;gpnam8: SINE.100

;use AU-program dosy to calculate gradient ramp-file Difframp

;Id: ledbpgp2s,v 1.4.4.1 2005/11/10 13:18:58 ber Exp $

```

תוכנת הפולסים לעבודה עם נעילה.

```

;ledbpgp2sroy
;avance-version (07/09/20)
;2D sequence for diffusion measurement using stimulated
; echo and LED
;using compensated asymmetric bipolar gradient pulses for diffusion
;using 2 spoil gradients
;
;Bipolar LED: D. Wu, A. Chen & C.S. Johnson Jr.,
; J. Magn. Reson. A 115, 260-264 (1995).
;
;Use of assymetric bipolar pulses: M. D. Pelta, G. A. Morris, M. J. Stchedroff & S. J.
Hammond
; Magn. Reson. Chem. 40, S147-S152 (2002).
;
;
;$CLASS=HighRes
;$DIM=2D
;$TYPE=
;$SUBTYPE=
;$COMMENT=

```

```

#include <Avance.incl>
#include <Grad.incl>
#include <Delay.incl>

```

```

define list<gradient> diff=<Difframp>

```

```

"p2=p1*2-0.8"

```

```
"DELTA1=d20-p1*2-p2-p30*4-d16*4-p19-d16"  
"DELTA2=d21-p19-d16-4u"  
"d11=30m"
```

```
1 ze  
2 d1  
  d11  
  50u UNBLKGRAD  
  p1 ph1  
  p30:gp6*1.2*diff  
  d16  
  p2 ph1  
  p30:gp6*-0.8*diff  
  d16  
  p1 ph2  
  p30:gp6*-0.4*diff  
  d16  
  DELTA1  
  p19:gp7  
  d16  
  p30:gp6*-0.4*diff  
  d16  
  p1 ph3  
  p30:gp6*-0.8*diff  
  d16  
  p2 ph1  
  p30:gp6*1.2*diff  
  d16  
  p1 ph4  
  p19:gp7*-1  
  d16  
  DELTA2  
  4u BLKGRAMP  
  p1 ph5  
  go=2 ph31  
  d1 setnmr2^0  
  d11 mc #0 to 2 F1QF(igrad diff)  
exit
```

```
ph1= 0  
ph2= 0 0 2 2  
ph3= 0 0 0 2 2 2 2 1 1 1 1 3 3 3 3  
ph4= 0 2 0 2 2 0 2 0 1 3 1 3 3 1 3 1  
ph5= 0 0 0 2 2 2 2 1 1 1 1 3 3 3 3  
ph31=0 2 2 0 2 0 0 2 3 1 1 3 1 3 3 1
```

```
;p11 : f1 channel - power level for pulse (default)  
;p1  : f1 channel - 90 degree high power pulse
```

```

;p2 : f1 channel - 180 degree high power pulse
;p19: gradient pulse 2 (spoil gradient)
;p30: gradient pulse (little DELTA * 0.5)
;d1 : relaxation delay; 1-5 * T1
;d16: delay for gradient recovery
;d20: diffusion time (big DELTA)
;d21: eddy current delay (Te) [5 ms]
;NS: 8 * n
;DS: 4 * m
;td1: number of experiments
;FnMODE: QF
; use xf2 and DOSY processing

;use gradient ratio: gp 6 : gp 7
; 80 : 20.45

;for z-only gradients:
;gpz6: 100%
;gpz7: 20.45% (spoil)

;use gradient files:
;gpnam6: SINE.100
;gpnam7: SINE.100
;gpnam8: SINE.100

;use AU-program dosy to calculate gradient ramp-file Difframp

;Id: ledbpgp2s,v 1.4.4.1 2005/11/10 13:18:58 ber Exp $

```

הכין דרם-הדגשה (preemphasis) וכייל את הגרדיאנטים ואחר כך הרץ את הדיפוזיה לפי ההוראות לעיל כדי לבדוק שזה עובד.

הכן את הקובץ של diff.xwp. הכנס ל-plotteditor ושנה את התצוגה להתאים לצרכים שלך, כפי שמפורט בספר Topspin plotting של ברוקר, ושמור. הפעל שוב את ה-readonly על 2D\_hom.xwp.

כאשר הכל עובד שמור את הפרמטרים ב-11\_Diffusion בהקלדה all 11\_diffusion wpar.

### **6. שיפור דיוק מקדם הדיפוזיה עבור קווים רחבים**

כשאר הקווים רחבים בספקטרום החד-מימדי שי נטייה להתרחבות ואי אחידות גם במימד הדיפוזיה.

על הספקטרום רשום את התחום בתורים (column numbers) של קצי התחום של הסיגנלים של החומר. הקלד proj ובשדה – Projection (sum) of יש לבחור columns להכניס את התום הנדרש וב-options בחר Calculate sum. לחץ על OK לשמור.

הקלד rep 999 ובצע אינטגרל של הסיגנל. השתמש בקשת למצוא את חצי הגובה של האינטגרל עם הסמן. מקים זה הוא הממד המדויק האפשרי של מקדם הדיפוזיה. בתרשים 8 הסמן במקום -8.58 שנותן מקדם דיפוזיה של  $2.63 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1} = 10^{-8.58}$ . אם הסיגנל נובע מתערובת של חומרים, מקדם הדיפוזיה יהיה ממוצע של התערובת.

תרשים 8. מדידת מקדם דיפוזיה מההשלכה.

