



Página 2 de 19 Nº Revisión: 4 19/09/2024



Centro de Instrumentación Científica

## INDICE

- 1. OBJETIVO
- 2. ALCANCE
- **3. DEFINICIONES**
- 4. DESARROLLO
  - 4.1. Consideraciones previas
  - 4.2. Interfaz de TopSpin 3.6.5
  - 4.3. Esquema del procedimiento general para la adquisición de espectros
  - 4.4. Preparación de la muestra
  - 4.5. Manipulación de spinners y tubos de RMN
  - 4.6. Creación de experimentos de rutina para <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C
  - 4.7. Introducción de la muestra en el aparato
  - 4.8. Ajuste del lock, tune y shim
  - 4.9. Comprobación de los parámetros de adquisición
  - 4.10. Ajuste del gain y adquisición de la FID
  - 4.11. Procesado de la FID
    - 4.11.1. Ajuste manual de la fase
    - 4.11.2. Listado de picos
    - 4.11.3. Integración de señales
  - 4.12. Transferencia de resultados al servidor FTP



TÉCNICA ESPECÍFICA

INSTRUCCIÓN

GUÍA DE USUARIO PARA LA ADQUISICIÓN DE ESPECTROS DE RUTINA CON TOPSPIN 3.6.5

Página 3 de 19 Nº Revisión: 4 19/09/2024



Instrumentación Científica

## 1. OBJETIVO.

Describir el procedimiento que deben seguir los Usuarios en régimen de autoservicio para la adquisición de espectros de protón y carbono en el espectrómetro NanoBay Avance III HD 400 MHz de Bruker (AVIII400 RMN) con el software TopSpin 3.6.5. Para una ayuda más precisa en la adquisición de espectros de rutina o experiencias de RMN más avanzadas, consulta con el Técnico de la Unidad y/o guía de usuario de Bruker.

## 2. ALCANCE.

Este procedimiento se aplicará en la Unidad de RMN del CIC.

## **3. DEFINICIONES.**

C.I.C: Centro de Instrumentación Científica.

## 4. DESARROLLO.

#### 4.1. Consideraciones previas

Las entradas de comandos por teclado en este manual aparecerán en negrita. Se asume que el comando "Enter" debe usarse después de cada orden tecleada. Todo lo tecleado se hará en la línea de comandos mostrada debajo de la ventana del programa TopSpin 3.6.5. BI, BM y BD se usa para indicar acciones del botón izquierdo, ruleta y derecho del ratón, respectivamente. Click y doble click se refiere a pulsar el BI.

El AVIII400 RMN está equipado con la sonda BBFO de dos canales (1H y X-núcleos) con capacidad para ajustar automáticamente la sintonía de la misma (tunning y matching o también llamado ATM). El canal de altas frecuencias se sintoniza para ver y desacoplar el <sup>1</sup>H. El canal (X) cubre un rango de frecuencias de <sup>15</sup>N a <sup>19</sup>F, (para hacer <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y experiencias 2D). Su rango de temperatura es de -150 a 150 °C.

#### 4.2. Interfaz de TopSpin 3.6.5

La interfaz, mostrada en la imagen inferior, contiene una barra de Menú con varias pestañas (Start, Acquire, Process, Analyse, Publish, View, Manage). El Submenú (barra situada debajo de la barra de Menú) muestra las funciones especiales de cada parte del menú (por ejemplo para Start hay Create Dataset, Find Dataset, etc.). Debajo del Submenú están dos líneas con las herramientas de manipulación del espectro y algunas funciones típicas.



	Bruker TopSpin 3.1.b.58 on avIII400.cnem.udel.edu as sbal	
<u>S</u> tart <u>A</u> cquire	Process A <u>n</u> alyse P <u>u</u> blish <u>V</u> iew <u>M</u> anage 🕢 Menu Bar	TEB
Cre	eate Dataset 📓 Find Dataset 🌍 Open <u>D</u> ataset 📭 Paste Dataset 🗟 Read Pars. 🦷 Submonn Tree	
₩	Image: Spectral Tools	
Browser Last50 Groups	1 first 2 1 /home/sbai/mynmr	r ⊠ ⊠
ColonialMetals	Spectrum ProcPars AcquPars Title PulseProg Peaks Integrals Sample Structure Plot Fid Acqu	
□ /home/sbai/chem603 □ /home/sbai/cms □ /home/sbai/demo □ mseg	demo	
☐ mymmr ☐ /home/sbai/nrof3 ☐ /home/sbai/prof3 ☐ /home/sbai/project1 ☐ project2 ☐ prof3 ☐ prox ☐ /home/sbai/taber ☐ /home/sbai/taber ☐ /home/sbai/traing	Spectrum Panel No raw data available No processed data available	
Command Line	nation Fid Flash Lock Sample Shim Coll POWCHK Sample Temperature Spooler BSMS status message	Time
no acquisition running	I emperature 302 K 302 K Or Reg. State: ○ Autoshim O Locked O En	13:41:47 Nov 08

Distribución de los paneles y barras en TopSpin 3.6.5



El panel de la izquierda es para el manejo de los datos y a la derecha está el panel de los datos que contiene varias pestañas como la visualización del espectro (Spectrum), los parámetros de procesado (ProcPars), los parámetros de adquisición (AcquPars), etc. Debajo de estos paneles se localiza la línea de comandos para introducir los comandos manualmente (aunque el software permite manipular todo a través de la interface; **recomendado**).

Por último, en la parte inferior está la barra de estado para ver información en tiempo real sobre el experimento y desde la cual poder abrir las siguientes ventanas:



INSTR	UCCION
TÉCNICA	ESPECÍFICA

Página 5 de 19 Nº Revisión: 4 19/09/2024



- El display Lock muestra el perfil del lock (frecuencia del deuterio <sup>2</sup>H).
- La BSMS permite ejecutar algunos comandos relacionados con la preadquisición de la FID como son introducir y retirar la muestra, ajustar manualmente o automáticamente el shim, lock, gain, etc.
- El control de temperatura de la muestra.

2		BSMS Control Suit	•		Lock Display	
Main	ck/Lavel Shim	Autoshin Auto lock	auto lock phase			
	CK/Level Shim	auto lock p	ower, auto lock g	jain		
Lock	Phase	Power	Cain	Shim		
LOCK	Thuse	Tower	Guin	- Sinn		
LOCK	Dhasa	Devee	Calia	Manual in art/daar		
	Phase	Power	Gain	lock gain		
SAMPLE		1				
	SPIN	Measure	Rate	Lock Lost		
SHIM	[]	Samp	ole lift/spin			
NonSpin.	Z Z	<sup>2</sup> Z <sup>3</sup>	Z*			
×	XZ Ma	anually adjust shims			 	
Y	YZ					
XY						
Χ2-Υ2						
		STD BY				
		Previous Actu	al Step			
Ab	solute		+	Reset		
Dif	fference		-			
			Stepsize			
	STD BY		crease/decrease	lock power/gain/phase		
			d manually shim	using +/- buttons,		
Config		m	ouse scroll whee	I or gray BSMS wheel		
🗹 External	1					
Sample:	down mi	ssing up	Shim coil temp	erature [K]		
	0	•	305.	2		
		·				
		Control BSM.	S		Lock Display	/

Todos estos displays se pueden abrir haciendo doble click sobre el mensaje correspondiente o usando comandos.





#### 4.3. Esquema del procedimiento general para la adquisición de espectros



## The primer base has one discharge a provente on un discharge

En primer lugar, hay que disolver la muestra en un disolvente deuterado apropiado y comprobar que no hay material sin disolver. En su caso, debe centrifugar o filtrar la muestra para eliminar las partículas sólidas en suspensión.

A continuación, se transfiere sobre 0,600 mL a un tubo de RMN limpio. Se recomienda tubos de alta calidad (600 MHz), pero se puede usar tubos más económicos para trabajos de rutina (400 MHz), sin que por ello la inserción del tubo en el spinner sea dificultosa. En caso de holgura, cambiar el spinner. La altura de la disolución en el tubo debe ser sobre 4-4,5 cm.

Para más información sobre la preparación de la muestra consulta las instrucciones técnicas específicas **<IE16-12-PREP-Preparación de muestras para RMN de líquidos>** y **<IE16-12-DISD-Características disolventes deuterados>** disponibles en la opción *Documentos* del *Área privada* del CIC.

### 4.5. Manipulación de spinners y tubos de RMN

Con objeto de minimizar la suciedad en la sonda y en el cañón de shim alojados dentro del imán, en este tutorial se mostrará al usuario las pautas y pasos a seguir durante la manipulación de los spinners y tubos de RMN.

1) Coja un trozo de papel del dispensador situado al lado de la ventana y rocíele un poco de acetona. Cuidado con que al teclado no le caiga acetona. Es importante no escribir con rotulador permanente o tipex ni en el tubo ni en el tapón.



INSTRUCCIÓN TÉCNICA ESPECÍFICA

GUÍA DE USUARIO PARA LA ADQUISICIÓN DE

ESPECTROS DE RUTINA CON TOPSPIN 3.6.5

IE16-12-TOPS

Página 7 de 19 Nº Revisión: 4 19/09/2024



Centro de Instrumentación Científica



2) Coja el tubo por la parte superior y límpielo con el papel. *No es necesario usar guantes pero si se usan, deben estar limpios y no contener polvo de talco.* 



3) Abra la caja de spinner, coja el tubo como en la imagen y suavemente introdúcelo por un spinner.



4) Sin tocar el spinner, sáquelo de la caja apoyando los dedos en el corcho blanco.



INSTRUCCIÓN TÉCNICA ESPECÍFICA

GUÍA DE USUARIO PARA LA ADQUISICIÓN DE

ESPECTROS DE RUTINA CON TOPSPIN 3.6.5

IE16-12-TOPS

Página 8 de 19 Nº Revisión: 4 19/09/2024



Centro de Instrumentación Científica



5) Ajuste la altura del tubo con el medidor. Para más información sobre la altura correcta de la disolución en el tubo, lea el documento **<IE16-12-PREP-Preparación de muestras para RMN de líquidos>**.



6) Una vez concluido el experimento, para retirar el tubo del spinner, cójalo como en la imagen y con dos dedos, presione suavemente el spinner hacia abajo. Cierre la caja.



#### 4.6. Creación de experimentos de rutina para <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C

En primer lugar, el usuario debe acceder desde el explorador de ficheros, al directorio de datos que le corresponde. El directorio de cada usuario tendrá la siguiente estructura:

5 G R 7 1	INSTRUCCIÓN TÉCNICA ESPECÍFICA	IE16-12-TOPS		
UNIVERSIDAD DE GRANADA	GUÍA DE USUARIO PAR ESPECTROS DE RUTIN	A LA ADQUISICIÓN DE IA CON TOPSPIN 3.6.5	Página 9 de 19 Nº Revisión: 4 19/09/2024	Centro de Instrumentación Científica

C: \AUTOSERVICIO \Usuario \Año \Mes. Los usuarios menos habituales suelen obviar la subcarpeta Mes.

Para crear un experimento nuevo, teclear new o edc en la línea de comandos o pulsar Create Dataset de la pestaña Start. A continuación, emergerá una ventana donde introducir los datos del experimento:

Prepare for a new experime	nt by creating a new data set and
nitializing its NMR paramete	ers according to the selected experiment type.
For multi-receiver experiment	nts several datasets are created.
Please define the number o	f receivers in the Options.
NAME	20150725_SampleName
EXPNO	1
PROCNO	1
O Use current parameters	
Experiment PROTON 60	0 Select
<ul> <li>Options</li> </ul>	
Set solvent	CDCI3
Everute "getprosol"	
Execute getprosor	
Keep parameters:	P 1, 01, PLW 1  Change
DIR	C.\Bruker\TopSpin3.2\data\bennett -
🖾 Show new dataset i	n new window
Receivers (1,2, 16)	1
Title H	lere
TITLE 1H NN	IR on Ethyl Benzene in CDCI3
-	

Ventana para crear experimentos

- NAME: espacio para introducir el nombre de la muestra.
- EXPNO: espacio para introducir el número del experimento. Con el mismo nombre para una muestra, se pueden hacer varios experimentos así que si el usuario va a realizar más de un experimento, debe asegurarse que no repite los mismos números para este. Normalmente, se comienza con el número 1 para el experimento de 1H y si después el usuario quiere realizar un experimento de <sup>13</sup>C y DEPT, cambiará este valor a 2 y 3, respectivamente.
- PROCNO: corresponde al número de procesado. Por defecto, introducir 1.
- Desde Experiment, seleccionar el experimento que se desea realizar. Basta con seleccionarlo desde una ventana (ver imagen inferior) que aparece al hacer click en Select.



INSTRUCCION	
TÉCNICA ESPECÍFICA	

Página 10 de 19 Nº Revisión: 4 19/09/2024



Instrumentación Científica

File Options Help			Source =	C:\Bruker\TopSpin	n3.5pl7\exp\stan\nmr\par\user
Find file names - ent	er any string, *, ?	Exclude:	Clear	]	
Class = 💽 Dim =	Show Recomme	nded			
Type = SubType	= SubTypeB =	Reset Filters			
B11CPD	C13cpd	COSY-DQF-NUS	DE	PT135	E. Sculpting
grad1d1h	granada1h	granadaC13	hso	qc_adia_NUS	proton
Se77_diphenyl	Se77_zg				

Seleccionar proton, C13cpd y DEPT135 para los experimentos de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y DEPT respectivamente. Asegurarse que se muestran los experimentos que están en C: Bruker TopSpin3.6.5 exp stan nmr par user.

- Elegir el disolvente de la muestra desde el menú desplegable de Set solvent. Si el disolvente no está en la lista, contacta con los técnicos de la Unidad.
- Marcar la opción Execute getprosol para cargar los parámetros de adquisición del experimento.
- Asegurarse que está en el directorio correcto. La estructura del directorio es C: AUTOSERVICIO Usuario Año Mes. Si se desea añadir una subcarpeta al Mes, por ejemplo con la fecha, escribir a continuación de Mes, lo siguiente: |Fecha(o nombre de la subcarpeta).
- Cuando se hayan completado y revisado todas las opciones, hacer click en OK.

Solamente se puede realizar un experimento a la vez indistintamente si es sobre la misma muestra o no, por tanto, si se quiere llevar a cabo dos o más experimentos sobre una misma muestra, hay que crear tantos experimentos como se desee adquirir.

#### 4.7. Introducción de la muestra en el aparato

Los pasos que hay que seguir son los siguientes:

- 1) Manipular el tubo e introducirlo en el spinner como se describe en el punto 4.5 de este manual.
- 2) Asegurarse que la entrada/salida de la muestra en el imán no está tapada con un tapón negro. Si es así, retirarlo.
- 3) Presionar el botón Lift de la ventana de control BSMS o teclear ej en la línea de comandos para activar el chorro de aire que hace subir a la muestra.

GUÍA DE USUARIO PARA LA ADQUISICIÓN DE ESPECTROS DE RUTINA CON TOPSPIN 3.6.5       Página 11 de 19       N° Revisión: 4       Instrumentación         UNIVERSIDAD       ESPECTROS DE RUTINA CON TOPSPIN 3.6.5       Página 11 de 19       N° Revisión: 4       Instrumentación	5 · 6 R A A	INSTRUCCIÓN TÉCNICA ESPECÍFICA	IE16-12-TOPS		
	UNIVERSIDAD DE GRANADA	GUÍA DE USUARIO PAR. ESPECTROS DE RUTIN	A LA ADQUISICIÓN DE Ja con Topspin 3.6.5	Página 11 de 19 № Revisión: 4 19/09/2024	Centro de Instrumentación Científica

- 4) Coger el tubo introducido en el spinner siempre por la parte superior del tubo y dirigirse al imán.
- 5) Retirar la muestra que había con anterioridad en el imán, en el caso de que hubiera, y cuidadosamente, situar la muestra nueva en la parte superior del imán de tal forma que flote sobre el chorro de aire.
- 6) Volver al ordenador y presionar nuevamente el botón Lift o teclear **ij** para insertar la muestra. Esperar hasta que el icono del spinner (ver imagen inferior) indique que la muestra está ubicada correctamente.

Alternativamente, para no usar la barra de comandos, se puede subir y bajar la muestra haciendo click en la pestaña Acquire de la barra de Menú y seleccionar Eject sample manaully o Insert simple manually que aparecerán al pulsar el botón Sample.



En la barra de estado se puede observar si en el imán hay o no una muestra introducida.



Cambio en la barra de estado de retirar e introducir un tubo de RMN

#### 4.8. Ajuste del lock, tune y shim

Para ajustar el lock teclear **lock** en la línea de comandos o pulsar el botón de Lock **#Lock**. A continuación, en la nueva ventana que se abre, seleccionar el disolvente.

	Solvents table	
△ Solvent	Description	
Acetic	acetic acid-d4	
Acetone	acetone-d6	
C6D6	benzene-d6	
CD2CI2	Methylene Chloride d2	
CD3CN	acetonitrile-d3	
CD3CN_SPE	LC-SPE Solvent (Acetonitrile)	
CD3OD_SPE	LC-SPE Solvent (Methanol-d4)	
CDCI3	chloroform-d	
CH3CN+D2O	HPLC Solvent (Acetonitril/D2O)	
CH3OH+D2O	HPLC Solvent (Methanol/D2O)	
D20	deuteriumoxide	
DMF	dimethylformamide-d7	
DMSO	dimethylsulfoxide-d6	

Lista emergente de disolventes deuterados





Display del lock antes y después de "coger" el lock

Para ajustar automáticamente el tuning y matching de un canal, pulsar el botón Tune V Tune o teclear atma en la línea de comandos.

Bat Argun Deats Analyse Patient Camples Wilses 1744- & Spin- 19 Mar	fine Mariage () no (Prassive 1: Canto () Cano Camina -	128488	A Sample - 12	TLANK 1 Tarte - & Ippi-	Pyblish Une Manap 19 Shan + Propiet - S	Came (Cale Optione)	
	器 🖬 织之 🚛				Par States for the	en lange bannet for far	
- Call of the second se			rigitan Billion - Killion Killion Killion Killion Killion Killion Killion Killion Killion Killion		$\overline{\langle}$		
		in int				¥	

Tuning y matching para las frecuencias  ${}^{13}C$  y  ${}^{1}H$ 

Si el experimento activo, es decir, el que se muestra en el panel de los datos, es un protón, la sintonía de la sonda (forma coloquial para nombar tuning y matching) se realiza solo sobre la frecuencia del protón. En cambio, si se tiene activo un experimento de carbono (por ejemplo, <sup>13</sup>C o DEPT), se sintonizarán consecutivamente las frecuencias del carbono y protón (ver imagen superior).

Mencionar que para realizar la adquisición de un espectro de protón un mal ajuste de la sintonía de la sonda no es relevante, pero para experimentos de carbono, esta etapa es crítica.

Por último, es muy importante ajustar los shims. Esto se realiza automáticamente haciendo click en los botones Topshim y Topshim agua para disolventes orgánicos deuterados o agua pesada, respectivamente.



3	Start	Acquire	Process	Analyse	Publish	View	Mana	ge 🕜	)			LB
	A P	ro <u>c</u> . Spectrur	n 🗢 🐴 Adjus	st Phase 🛩	A Calib.	Axis マ	N Pick	P <u>e</u> aks 🗢	∫ Integrate 🗸	Ad	vanced 🕶	
	口应	*8 *2 🏹	Сренн Ф.О.А.Ф			Hz ppm	1. xX 3. 22			*	Topshim Lock CDCI3	Topshim agua

#### 4.9. Comprobación de los parámetros de adquisición

Al teclear **ased** en la línea de comandos se despliega, de forma condensada en la pestaña AcqPars del panel de los datos, los parámetros más importantes de adquisición. Para acceder a todos los parámetros, teclear **eda** en la línea de comandos. Si lo desea, modifique los parámetros de adquisición.

Spectrum Pi	rocPars AcquPars T	itle PulseProg	Peaks	Integrals	Sample	Structure	Plot Fid Acqu	
AR	₩C 🛛 🖓		Prob	e: 5 m	m CP <sup>-</sup>	TCI 1H	-13C/15N/D 2	
General Channel f1	General							
	PULPROG	zg30				E Pulse	e program for acquisi	
	TD	32768				Time	domain size	
	SWH [Hz, ppm]	11160.71		13.9482		Swee	p width	
	AQ [sec]	1.4680064				Acqu	isition time	
	RG	25.4		]		Rece	iver gain	
	DW [µsec]	44.800			Dwell	Dwell time		
	DE [µsec]	18.00				Pre-scan-delay		
	D1 [sec]	2.00000000				Relax	ation delay; 1-5 * T	
	DS	2				Numb	per of dummy scans	
	NS	8				1 * <mark>n</mark> ,	total number of sca	
	TD0	1			Dimension of accumula			
	Channel f1							
	SFO1 [MHz]	800.1540008				Freq	uency of ch. 1	
	O1 [Hz, ppm]	4000.75		5.000		Freq	uency of ch. 1	
	NUC1	<b>1</b> H	Edit			Nucle	eus for channel 1	
	P1 [µsec]	9.00				F1 ch	nannel - 90 degree	
	PLW1 [W, -dBW]	9,7949		-9.91		F1 ct	nannel - power level	

Parámetros de adquisición típicos de un experimento de <sup>1</sup>H

- Programa de pulsos (PULPROG) que por defecto para la adquisición de un espectro de <sup>1</sup>H es zg30 en el que se realiza un pulso duro de 30°. Para los experimentos de carbono 13C y DEPT (ambos desacoplados durante la adquisición), se utilizan de forma predeterminada, los programas de pulsos zgpg30 y deptsp135, respectivamente.
- Número de puntos de la FID o de adquisición (TD) que suele ser 32k o 64k.
- Ventana espectral en Hz (SWH) y en ppm (SW). Para experimentos <sup>13</sup>C en los que la muestra contenga un aldehído, se aconseja que este valor sea 240 ppm. En caso contrario, con 180 ppm es suficiente.
- Tiempo de relajación (D1) que usualmente es de 1 seg para zg30, zgpg30 y deptsp135.

UNIVERSIDAD DE GRANADA

GUÍA DE USUARIO PARA LA ADQUISICIÓN DE

ESPECTROS DE RUTINA CON TOPSPIN 3.6.5

Página 14 de 19 Nº Revisión: 4 19/09/2024



- Dummy scans (DS) son scans tomadas en la adquisición pero que no se registran, es decir, se toman antes de que se encienda el receptor. Con dos dummy scans es suficiente en expeimentos <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, pero para DEPT debe ser 8.
- Número de scans o barridos (NS). Este valor es crítico para los experimentos de carbono y depende de la concentración de la muestra. Con 20 mg, 600 y 320 scans suele ser suficiente para los experimentos <sup>13</sup>C y DEPT, respectivamente. Es importante recordar que para los experimentos <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, NS debe ser múltiplo de 1, es decir, puede tomar cualquier valor, pero para DEPT, NS debe ser múltiplo de 4.
- Frecuencia portadora en Hz (O1) y en ppm (O1P) que corresponde al centro del espectro. Se recomiendo que O1P sea 110 ppm para experimentos de carbono.
- Duración (P1) y potencia (PLW1) del pulso de 90° (P1) en µsec y W, respectivamente. El comando **getprosol** establece automáticamente estos valores.

En los experimentos de carbono, en los que el número de scans suele ser alto, es importante saber el tiempo de duración del experimento. Para conocerlo, pulsa el botón Experiment time (ver imagen de la barra de manipulación del espectro del punto 4.2) o teclee el comando **expt**.

#### 4.10. Ajuste del gain y adquisición de la FID

Antes de iniciar la adquisición de la FID es necesario establecer automáticamente la ganancia del receptor. Para ello, teclear **rga** en la línea de comandos o pulsar el botón Gain. Esta operación hay que realizarla para cada experimento que se genera.

Después de chequear los datos de adquisición y ajustar el gain, se puede iniciar la adquisición tecleando **zg** o haciendo click en el botón Go (triangulo verde). El progreso de la adquisición se puede ver en la barra de estado.



Start Acquire Process Analyse Pu	ublish View Manage 🙆	1 <mark>L B</mark>
<b>10</b> :	Sample 👻 🗮 Lock 🛛 Tune 👻 🕹 Spin 👻 🖶 Shim 👻 🎢 Prosol 👻 🔚 Gain 💌 🕨 Go 💌 More 💌	
	a T the transformation agua	
Browser Last50 Groups	1 ACQ: soh 28-06-2021 2 1 "C/,MEDIDAS R/IN 400 AVENCE III HD NanoBay/SNH"	
CAUTOSERVICIO/ARACEL/2021/JULIO/09-07-21	Spectrum ProcPars AcquPars Title PulseProg Peaks Integrals Sample Structure Plot Fid Acqu	
B C AUTOSERVICIO COLACIO/2021 JULIO		
e-uc C:AUTOSERVICIOICUERVA/2021/JULIO/14-07-2021 e-Uc C:AUTOSERVICIOIENRIQUE/2021/Julio/08-07		Acquisition 3
C:AUTOSERVICIO/GALINDO/2021     C:AUTOSERVICIO/JORGE/2021/Julio		PULPROG = 2g SI = 16384
CAUTOSERVICIOMORALES/2021     CAUTOSERVICIONI GA/2021/UNICO		NUC1 = 1H SW = 10.053
CAUTOSERVICIO/PARRA/2021/JULIO/1-07-21		SMH = 4025.76 TD = 32768
C:AUTOSERVICIOSANTOTO202100E0		SCANS = 0/1 PES. TIME = 30s/34s
Jest sonda     C:MEDIDAS RMN 400 AVENCE III HD NanoBayINDANONA		-1
B-W 1_SNH     B-W NPT 1H sensitivity		-
⊕		-
0 snl_25-06-2019		-
B Snn_28-06-2021 B J - 20 - 28/06/2021 / NMR TEST ACCEPTANCE *** System:		_
Comparison of the second		_ 0
CAUTOSERVICIO/UUANJO/2021/UUIO/21-07-2021-TARDE		-
-		
		-
		-
		-
		- 50
Structure		_
		_
		_
	Ventana de adquisición	
no snocrore available.		
		< geping
	Amplifier Control Acquisition Information Fid Flash Lock Sample Shim Coll POWCHK Sample Temperature Spoole	r BSMS status message Time
acquisition running	Scan: 0 Corr. 25.0 C generative	A Y3 0 17:45:45

Adquisición de datos en proceso

Los datos de la adquisición se van almacenando temporalmente en la consola y se transfieren automáticamente al ordenador cuando termina el experimento. Si los datos no están en el ordenador, no se pueden procesar. Con el comando tr se puede transferir los datos desde la consola hasta el directorio del ordenador donde se ha almacenado el experimento mientras éste está en proceso.

El comando **tr** es útil para procesar (ver punto 4.11 de este manual) FID de experimentos de carbono mientras aún se están adquiriendo scans. De esta forma, si el espectro es de nuestro agrado se puede detener con el comando Halt (botón rojo con la forma de un cuadrado). Ojo, si pulsa sobre el botón Stop, los datos de la adquisición no se guardarán.

Al terminar la adquisición, si no se ha procesado la FID previamente, al hacer click en la pestaña Spectrum del panel de datos, aparecerá el mensaje "1D raw data available and no processed data available"

#### 4.11. Procesado de la FID

Es posible procesar la FID en pocos segundos. Para ello, pulsar el botón Proc. Spectrum situado en la ficha Process. Alternativamente, se pueden utilizar, secuencialmente, los siguientes comandos:

- efp para aplicar la transformada de Fourier con exponencial. Puede cambiar los parámetros de la exponencial tecleando lb. Los valores típicos para espectros <sup>1</sup>H van de 0 a 0.3 Hz y para espectros <sup>13</sup>C y DEPT van de 0.5 a 1 Hz.
- apk para ajustar la fase automáticamente.
- absn para corregir la línea base sin integrar los picos.



Bruker Top	pSpin 3.2 on	OU as nmrfac								100
	Start	Acquire	Process	Analyse	Publish	⊻iew	Manage	0		
	1	Proc. Spe	ectrum 👻 🐴	Adjust Pha	se 👻 🧥 C	alib. A <u>x</u> is 🛪	Pick	P <u>e</u> aks <del>v</del>	∫ Integrate 🕶	Advanced <del>•</del>
no		8 *2 🕥	С	@ H	対象 王	Hz	🗛 🛪 🕨 🕨	₩-⊞	\$	
	面 /	8 / 2 📱		in <mark>il</mark> (	+ 😽 🛓	LI	8° 🏡 🔳	🖶 🖷 🥥	<u>\$</u> ∧	

Botones de la pestaña Process

Además, se ha creado un comando llamado **pro** que ejecuta automáticamente los comandos **efp**, **apk** y **absn**.

#### 4.11.1. Ajuste manual de la fase

Muchas veces el ajuste automático no da un resultado satisfactorio. Para ajustar la fase manualmente teclee **.ph** o haz click en el botón Adjust Phase. En la nueva ventana que se abre, realizar los siguientes pasos.

- 1. Coloca el pivote en un extremo del espectro. Pulsar BD (botón derecho) sobre el pico y selecciona Set Pivot Point.
- 2. Usa el orden 0 para ajustar la fase cerca del pivote y el orden 1, la fase lejos del mismo. La fase se cambia posicionando el ratón sobre 0 o 1 y a continuación, subiendo o bajando la ruleta del ratón.
- 3. Cuando la fase este ajustada, pulsar el botón de guardar y enter.



Ventana de trabajo para ajustar la fase manualmente



#### 4.11.2. Listado de picos

Para obtener un listado de picos de forma automática utiliza el comando **pps**. Este comando detecta y realiza un listado de picos de la región del espectro que se muestra en pantalla. Por ejemplo, si se quiere listar los picos entre 8 y 5 ppm, amplia el espectro de esta región.

La forma más sencilla de ampliar el espectro es haciendo click con el botón izquierdo y arrastrar el cursor sobre la región espectral que se desea ampliar. De esta forma, el espectro es expandido entre la zona de los dos cursores verticales.

	Br	uker TopSpin 3.1.b.58 on aviil	1400.chem.udel.edu as sbai		
<u>Start</u> Acc	uire <u>P</u> rocess A <u>n</u> a	alyse P <u>u</u> blish <u>V</u> iev	v <u>M</u> anage 🕜		12 <b>B</b>
A Pro <u>c</u> . S	oectrum 🗢 🐴 Adjust Ph	ase <del>▼</del>	<u>₩</u> Pick P <u>e</u> aks <del>v</del> ∫ <u>I</u> ntegrate v	A <u>d</u> vanced <del>↓</del>	
Image: Second secon					
Browser Last50 Group	Acquisition finished: /	home/sbai/mynmr/demo/1/pdata	/1		ة a ا
mynmr	Spectrum ProcPars	AcquPars Title PulseProg	Peaks Integrals Sample Structi	re Plot Fid Acqu	
<ul> <li>CCB</li> <li>CCB</li> <li>First</li> <li>Fox</li> <li>Fox</li> <li>Fox</li> <li>Fox</li> <li>Sectest</li> <li>Copshim</li> <li>Tvt</li> </ul>	-0.47 pps / -188 54 Hz Index = 5450 - 5461 Value = 0.01055 cm		Distance = 8.46 ppa	/ <u>3995.81 Hz</u>	
			- A UM	Minhand	

Click y arrastrar la región espectral deseada para ampliarla

Para listar los picos de forma manual, seleccionar el botón Pick Peaks de la pestaña Process. En la nueva ventana que se abre, haz click en el botón que activa el listado de picos. A continuación, dibuja un rectángulo verde sobre los picos que desea listar. Asegúrese que selecciona la parte alta de los picos a listar.





Ventana y opciones del listado de picos manual

El resultado del listado de picos se puede ver en la pestaña Peks del panel de datos o también en el archivo llamado *peaklist.xml* que se encuentra en la carpeta de procesado del experimento. Para abrir dicha carpeta rápidamente, usa el comando **expl**.

#### 4.11.3. Integración de señales

Es posible, integrar todas las señales del espectro de forma automática con el comando **abs** que además de integrar los picos, corrige la línea base. Recuerda que con **absn** se corrige la línea base pero no se integran los picos del espectro.

Para integrar las señales manualmente, haz click sobre el botón el Integrate de la pestaña Process. En la nueva venta que se abre, activa el modo de integración manual y arrastra sobre la señal que desea integrar.





Para indicar el número de protones de dicha señal (calibración de la integral), pulsa con el botón derecho sobre la integral y selecciona *Calibrate Current Integral* del menú desplegable. Emergerá una ventana donde indicar el valor deseado.

4	callb	×	Fillinan	4	calib	
Calibrate selected integrals		appropriate number	Calibrate selected integrals			
New value	0.5513			New value 1		
	QK	Cancel			QK	Cancel

Calibración de integrales

Al igual que en el listado de picos, el resultado de la integración se puede ver en la pestaña Integrals del panel de datos o también en el archivo *integrals.txt* situado en la carpeta de procesado del experimento (usar el comando **expl** para abrir dicha carpeta).

#### 4.12. Transferencia de resultados al servidor FTP

La transferencia de los datos adquiridos al servidor se realiza automáticamente gracias a pequeños script ejecutados con *WinSCP* y programados con el *Programador de tareas* de Windows.

Todo el contenido del directorio *C:\AUTOSERVICIO* (directorio local) se sincroniza periódicamente en intervalos de 15 minutos con el directorio en red (servidor FTP) alojado en un disco duro de un ordenador de sobremesa en la Unidad de RMN. Una vez transferidos los datos del directorio local al servidor, aunque se eliminen del primero, no desaparecen del servidor.

Una vez al mes, el contenido del directorio *C:\AUTOSERVICIO* se corta y pega a otro directorio del ordenador local cuyo acceso está restringido.