

KnowItAll[®] ソフトウェアのトレーニング

NMR プロセスツール

NMR の処理

1D NMR ファイルのインポートと処理方法

目的

この演習では、KnowItAll 情報システムの ProcessIt NMR アプリケーションを使用して 1D NMR ファイルをインポートし、処理する方法を示します。

目標

この演習では、以下の内容を学ぶことができます:

- ProcessIt NMR ツールを使用して、スペクトルの外観を改善し、実験上の不正確さを修正する方法
- 処理マクロの作成と使用方法

背景

ProcessIt アプリケーションを使用すると、主要な NMR 機器ベンダーからの生データファイルや処理済みデータ形式をインポートすることができます。このアプリケーションは、ファイルを処理し、スペクトルの外観を改善したり、実験上の不正確さを修正するのに役立ちます。

ProcessIt で生の NMR ファイルを開く


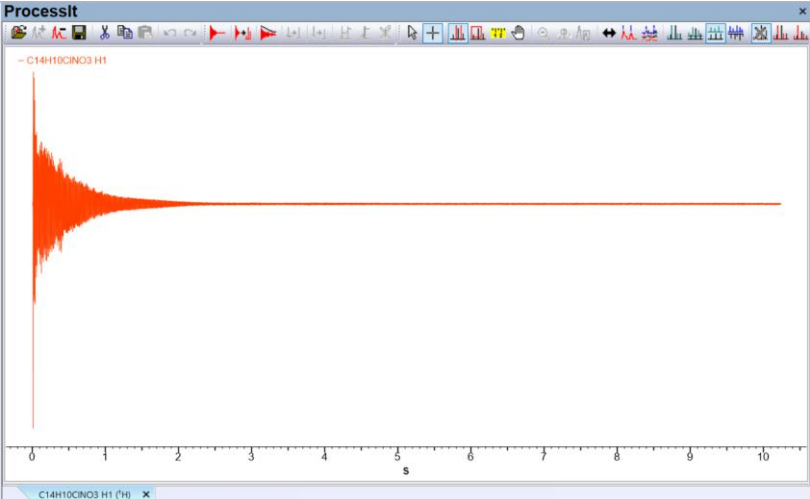
このレッスンで使用されるトレーニングファイルは、以下の場所に保存されています

- C:\Users\Public\Documents\Wiley\KnowItAll
|
Samples\NMR\Bruker
TopSpin\ C14H10ClNO3\ C14H10ClNO3
H1\fid


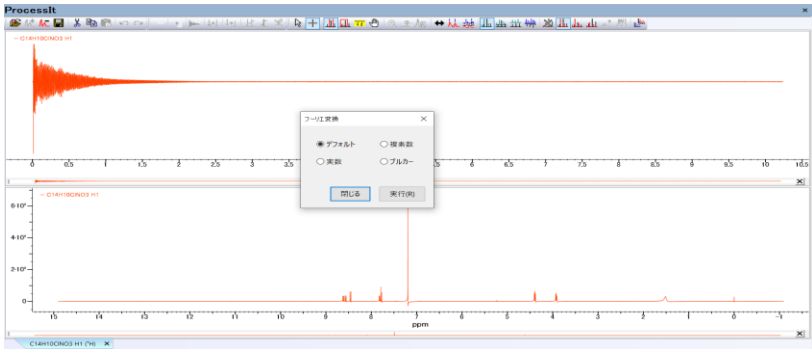
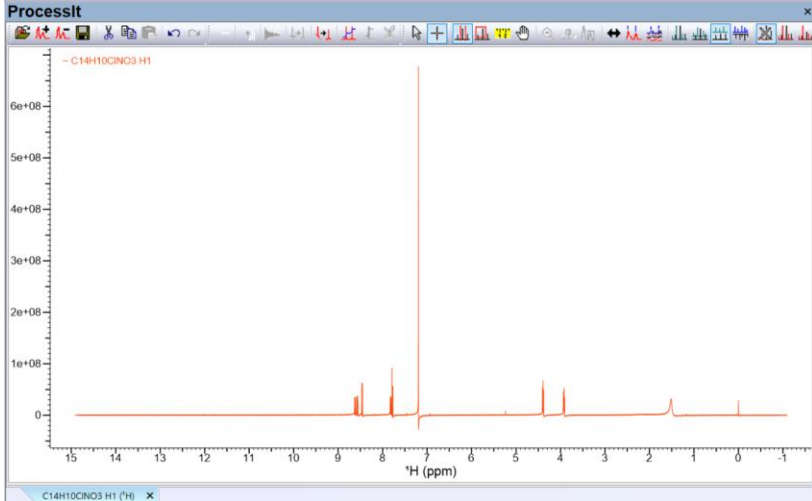
KnowItAll 使用アプリケーション

- ProcessIt™

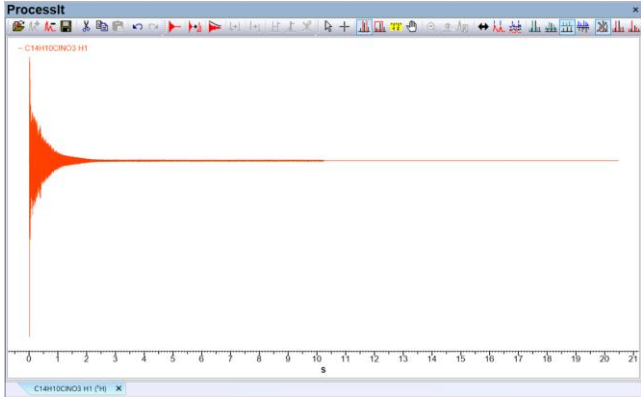
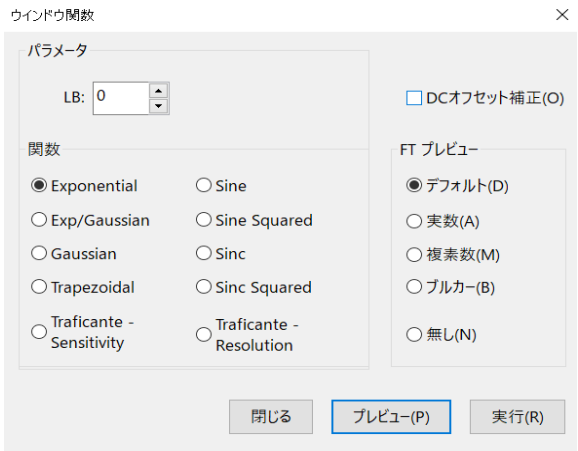
アクション	結果
-------	----

<p>1 通常、スペクトル処理ツールボックスにある ProcessIt アプリケーションのアイコンをクリックして、アプリケーションを起動します。</p>  <p>ProcessIt</p>	
<p>2 ProcessIt で、Open Data File (データファイルを開く) ボタンをクリックします。「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\NMR\Bruker TopSpin\C14H10ClNO3\C14H10ClNO3 H1\fid」に移動します。</p> <p>注記 : ProcessIt は、さまざまな NMR 形式や核種をインポートすることができます、生のファイル (例 : fid) または処理済みのファイルを開くことができます。</p>	<p>ファイルは ProcessIt のメインウィンドウに表示されます :</p> 

ファイルを変換する方法

	アクション	結果
1	<p>フーリエ変換：追加の前処理なしでフーリエ変換 (FT) を適用したい場合は、以下の手順に従ってください（それ以外の場合はステップ 4 に進んでください）。</p> <p>「処理」>「変換」>「フーリエ変換」を選択するか、プロセスツールバーのフーリエ変換アイコンをクリックします。</p> 	<p>フーリエ変換ダイアログが表示され、その背後に変換されたプロトンスペクトルのプレビューが表示されます。</p> 
2	<p>デフォルトのアルゴリズムを使用したプレビューされた変換を受け入れるために、フーリエ変換ダイアログで「置換」をクリックします。</p> <p>注記：フーリエ変換ダイアログでは、デフォルト、複素数、実数、および Bruker の 4 つの異なるアルゴリズムから選択することができます。</p>	<p>変換されたプロトンスペクトルが表示されます：</p> 
	アクション	結果

3	<p>注記：次の手順では、変換を行う前に生のファイルに前処理を適用する方法について説明します。変換されたファイルを処理する準備ができている場合は、「スペクトルの処理方法」のセクションに進んでください。</p>	
4	<p>まず、ステップ1でファイルを再度開きます。</p> <p>「ファイル」>「データファイルを開く」を選択するか、標準ツールバーの「データファイルを開く」アイコンをクリックします。</p> 	<p>ファイルは ProcessIt のメインウィンドウに表示されます：</p> 
5	<p>ゼロフィリング：</p> <p>「処理」>「ゼロフィリング」を選択します。</p>	<p>すると、ゼロフィリングのダイアログボックスが表示されます：</p>  <p>ソフトウェアは、元の（実験的な）データポイント数に基づいて、スペクトルに対して新しいデータポイント数を提案します。</p>

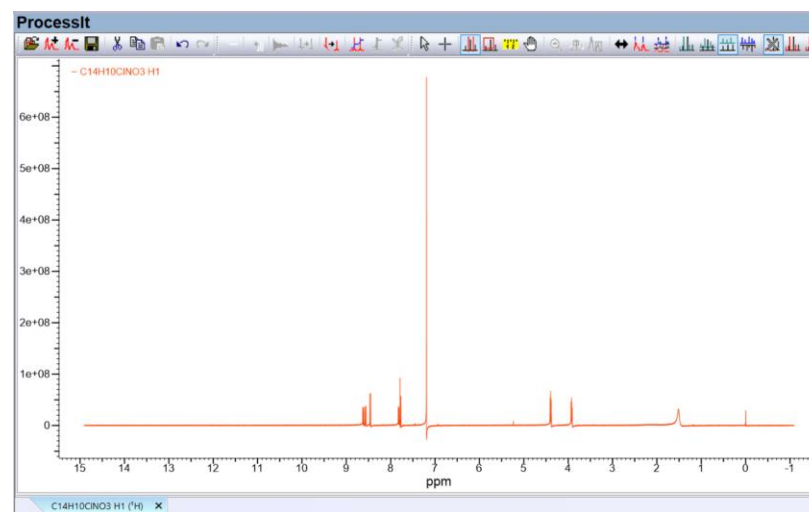
	アクション	結果
6	<p>「置換」をクリックします。</p>	<p>ソフトウェアはゼロフィリングの処理を実行します：</p> 
7	<p>窓関数： 「処理」 > 「窓関数」を選択します。</p>	<p>窓関数のダイアログボックスが表示されます。</p>  <p>窓関数は、スペクトルの解像度を高め、ノイズを減少させるために広く使用されます。</p>
	アクション	結果

<p>8 「アルゴリズム」の項目で指数関数を選択します。スペクトルにDCオフセット補正を適用する場合は、「自動DC補正を実行」にチェックを入れます。処理されたスペクトルにフーリエ変換を適用するために、「FTプレビューオプション」の項目でデフォルトを選択します。</p> <p>注記: 必要に応じて、ラインロードニングパラメータ (LB) も調整できます。</p>	
<p>「プレビュー」をクリックして、変換されたスペクトルの結果を表示します。</p>	<p>窓関数のダイアログボックスのオプションに基づいて、変換されたスペクトルのプレビューが表示されます：</p> 

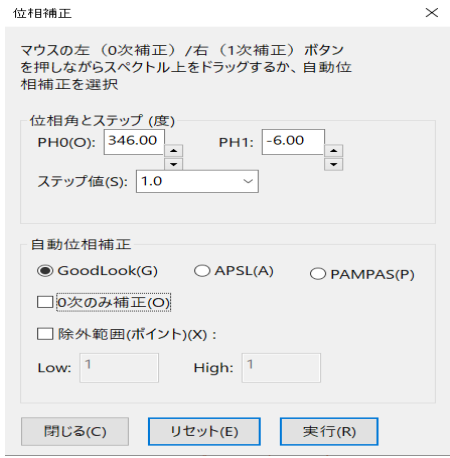
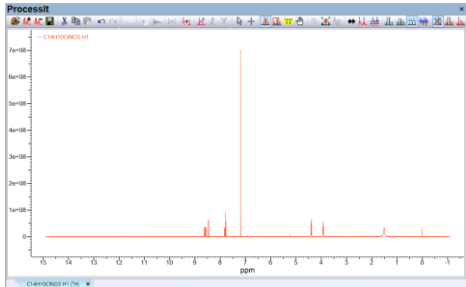
アクション	結果
-------	----

9 「置換」をクリックして、プレビューされたフーリエ変換スペクトルを受け入れます。

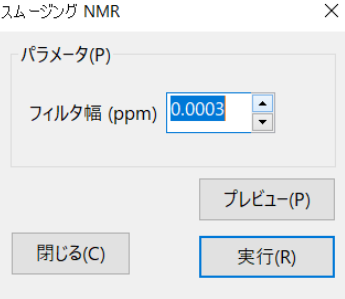
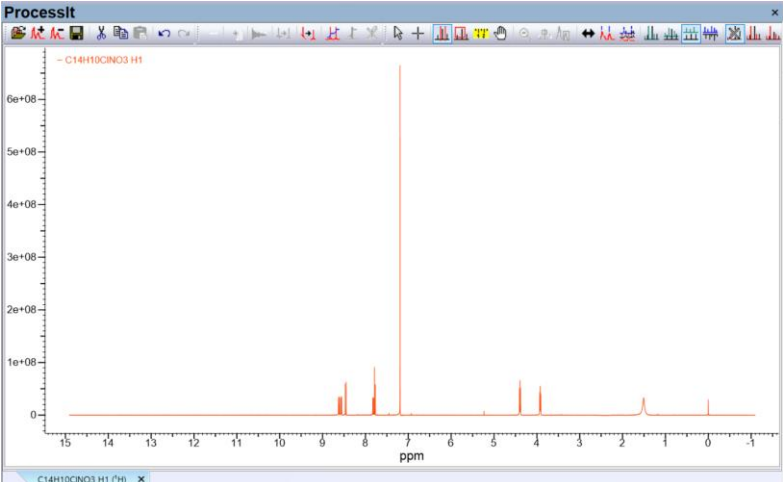
変換されたスペクトルが **ProcessIt** に表示されます：



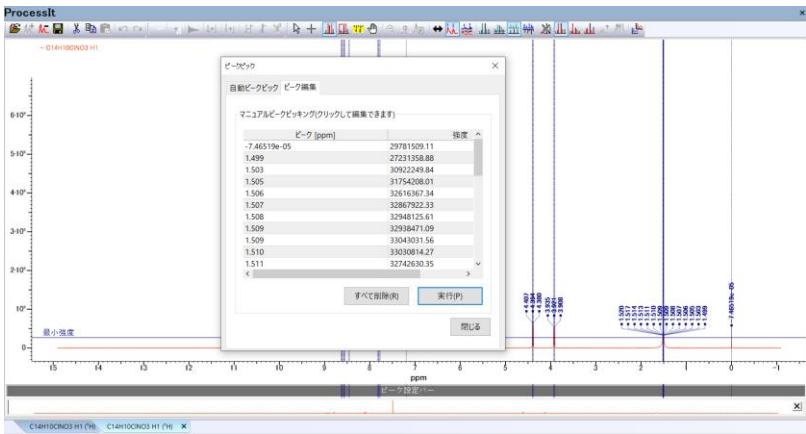
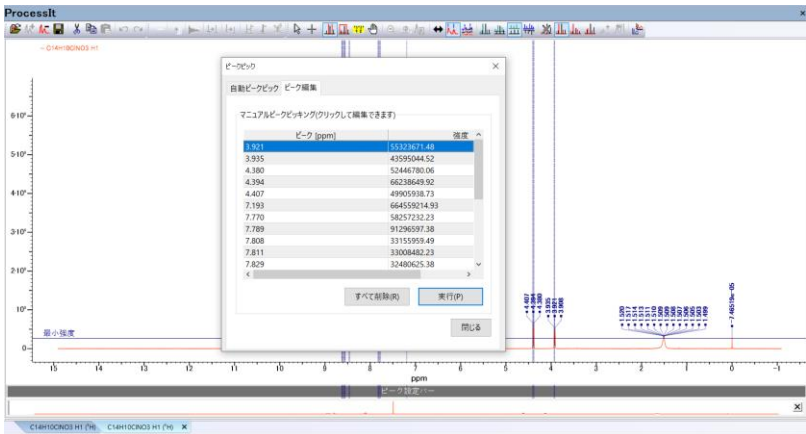
スペクトルを処理する方法

	アクション	結果
1	<p>位相修正： Choose Process > Phasing. 「処理」メニューから「位相修正」を選択します。</p> <p>注記：マウスの左ボタン (PH0) または右ボタン (PH1) を使って、マウスをクリックしてドラッグすることで手動の位相修正が行えます。</p>	<p>位相修正 ダイアログボックスが開き、現在の位相角度 (度) を適用した位相修正スペクトルのプレビューが表示されます。</p>  <p>位相修正 ダイアログボックスでは、GoodLook、PAMPAS (ピーク領域からの位相角度測定)、APSL (自動 1D 位相修正) の 3 つの異なる自動位相修正方法が利用可能です。</p>
2	<p>自動位相修正方法として GoodLook を選択し、「置換」をクリックします。</p>	<p>位相修正 機能を適用することで、スペクトルの位相が改善されます：</p> 

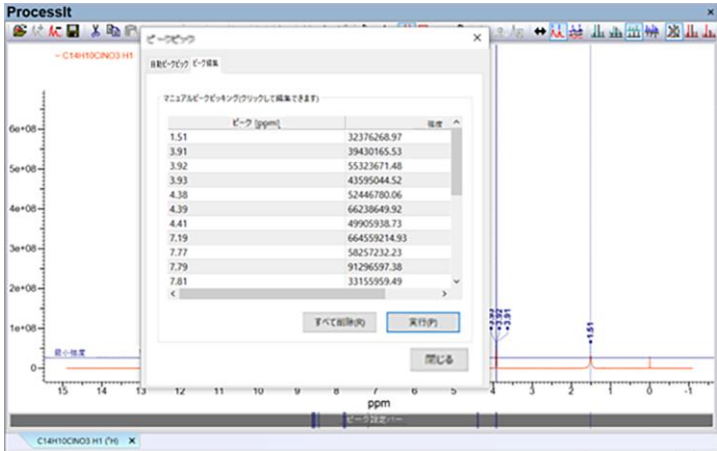
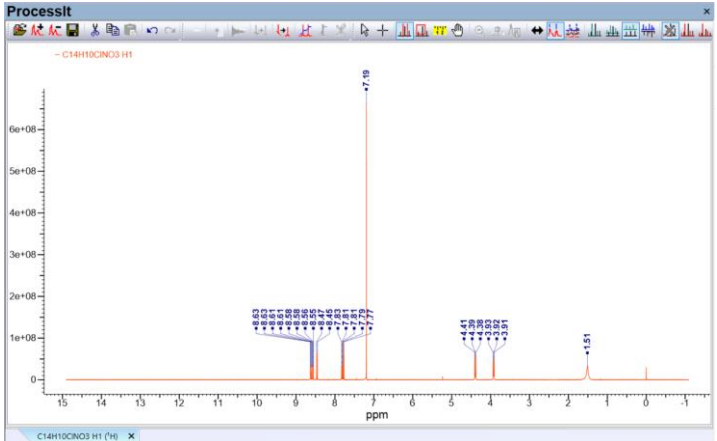
	アクション	結果
3	<p><u>ベースライン補正</u> :</p> <p>「処理」 > 「ベースライン補正」を選択します。</p>	<p>ベースライン補正ダイアログボックスが開き、処理されたスペクトルのプレビューが表示されます。</p>  <p>ベースラインのポイントには、スプライン、線形、多項式、FaceLift のアルゴリズムを自動的にまたは手動で適用できます。選択した手法ごとに、スペクトルのプレビューが表示されます。</p>
4	<p>ベースラインの手法として「線形」を選択し、「置換」をクリックします。</p>	<p>ベースライン補正機能が適用されます :</p> 

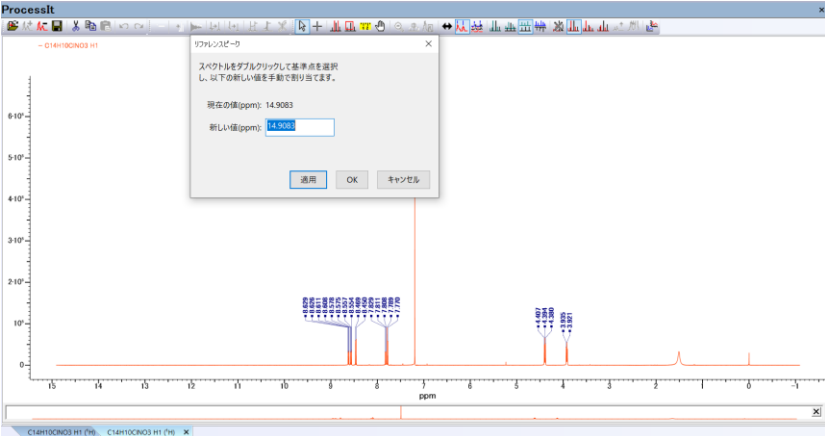
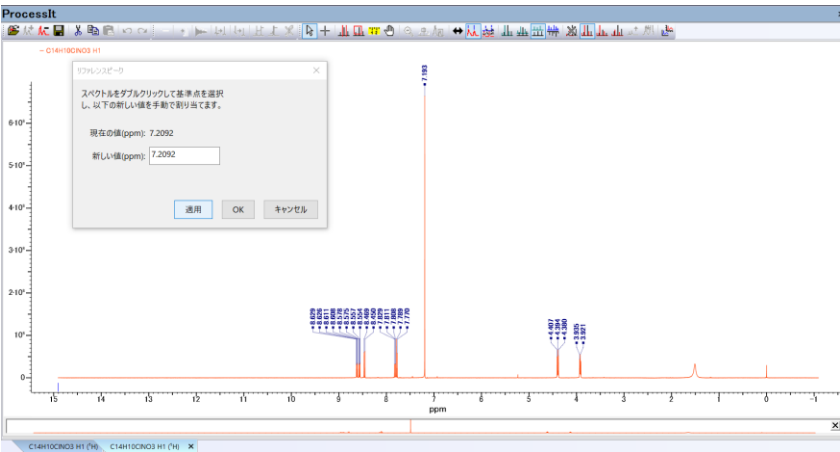
	アクション	結果
5	<p>平滑化： 「解析」 > 「スムージングスペクトル」を選択します。</p>	<p>「スムージング NMR スペクトル」のポップアップウィンドウが開きます：</p>  <p>スムージング NMR ×</p> <p>パラメータ(P)</p> <p>フィルタ幅 (ppm) 0.0003</p> <p>プレビュー(P)</p> <p>閉じる(C) 実行(R)</p>
6	<p>「フィルタ幅 (ppm)」ボックスに 0.0003 という値を入力し、「置換」をクリックします。</p>	<p>「スムージング NMR スペクトル」のポップアップウィンドウが閉じ、平滑化されたスペクトルが表示されます：</p>  <p>ProcessIt</p> <p>- C14H10ClNO3 H1</p> <p>6e+08 5e+08 4e+08 3e+08 2e+08 1e+08 0</p> <p>ppm</p> <p>C14H10ClNO3 H1 (1H) ×</p>

	アクション	結果
7	<p>ピークピッキング: 「処理」>「ピークピッキング」を選択します。</p>	<p>ピークピッキングのダイアログが表示されます。スペクトル上には、自動的なピークピッキング法を使ってプレビューされたピークが垂直な線で表示されます：</p> 
8	<p>「最小強度 (%)」の値として4を入力し、ピークピッキングの結果をプレビューするために「プレビュー」を選択します。変更を受け入れるためには「置換」を選んでください。</p>	<p>ピークがスペクトル上に表示されます：</p> 

	アクション	結果
9	<p>ピークピッキングダイアログで、「マニュアル」タブを選択します。</p>	<p>マニュアルピークピッキングのテーブルが表示され、スペクトル上にはピークバーが表示されます。</p> 
10	<p>マニュアルピークピッキングのテーブルで最初の行をクリックします。キーボードで Ctrl キーを押しながら、3.91 ppm 未満の ppm 値を持つ行を 1 つずつクリックしてハイライト表示します。キーボードの Delete ボタンを押し、その後ダイアログ上で「置換」をクリックします。</p> <p>注記：必要に応じて、キーボードの Delete ボタンを押すことで 1 つずつ行を削除することもできます。</p>	<p>3.91 ppm 未満のピークがマニュアルピークピッキングのテーブルとスペクトルから削除されます：</p> 


	アクション	結果
--	-------	----

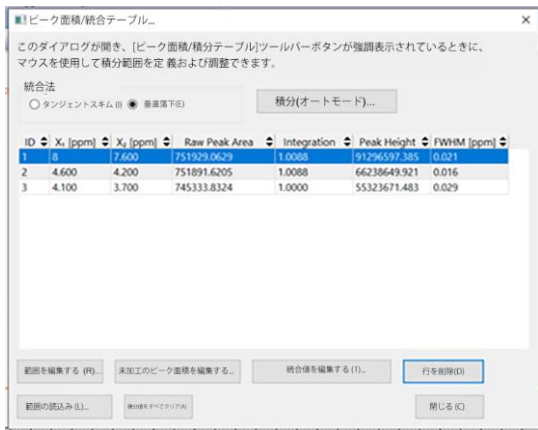
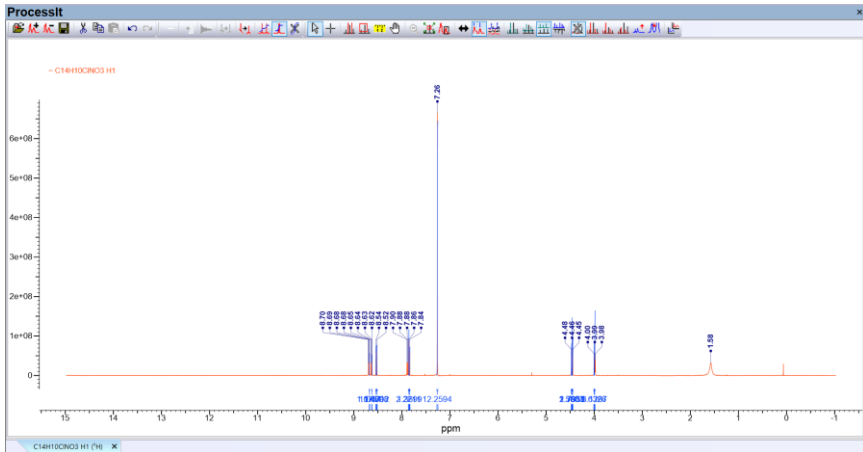
11	<p>スペクトル上で約 1.50 ppm のピークバーをクリックします。そしてピークピッキングのダイアログ上で「置換」をクリックします。</p> <p>マニュアルピークピッキングのテーブルに新しいピークが追加されます。スペクトル上には、対応する ppm のピークラベルを持つ垂直線が表示されます：</p> 
12	<p>ピークピッキングダイアログを閉じるために「閉じる」を選択します。</p> <p>スペクトルは、ピッキングされたピークに対してのピークラベルが表示された状態で表示されます：</p> 

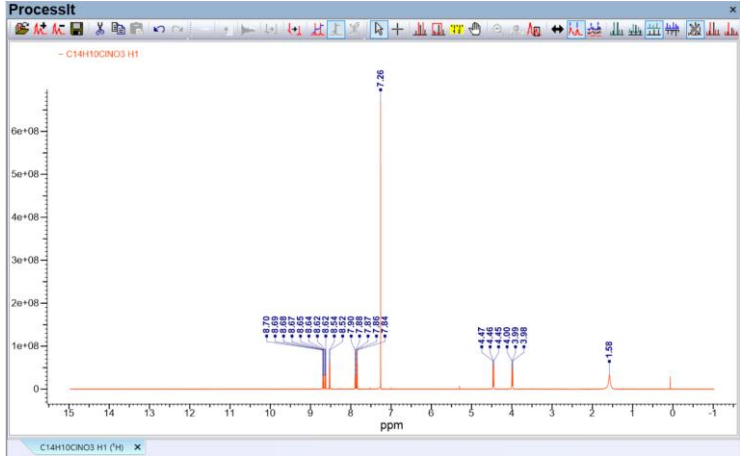
アクション	結果
<p>13 参照スペクトル：このツールを使用して、スペクトルを溶媒や内部標準に基準化します。</p> <p>「解析」>「参照設定」を選択します。</p>	<p>参照設定のポップアップウィンドウが表示されます：</p> 
<p>14 スペクトル上で、7.19 ppm のピークをダブルクリックして基準点として設定します。新しい値 (ppm) を 7.26 に変更し、適用をクリックします。</p>	<p>現在の値 (ppm) は約 7.1861 ppm と表示されます。適用をクリックすると、現在の値 (ppm) は 7.26 になります。スペクトル上のすべてのピークが基準値に基づいて移動します。スペクトルの参照点は 7.26 ppm にシフトされます：</p> 
アクション	結果



<p>15</p>	<p>ダイアログを閉じるためには、「OK」をクリックしてください。</p>	<p>参照設定のダイアログが閉じます：</p> 
<p>16</p>	<p>自動積分： 「解析」>「ピーク面積/積分」を選択します。</p> <p>注記：自動積分には2つの方法があります：垂直ドロップと接線スキムの2つです。デフォルトでは、接線スキムが事前に選択されています。</p>	<p>ピーク面積/積分のテーブルのポップアップが表示されます：</p> 

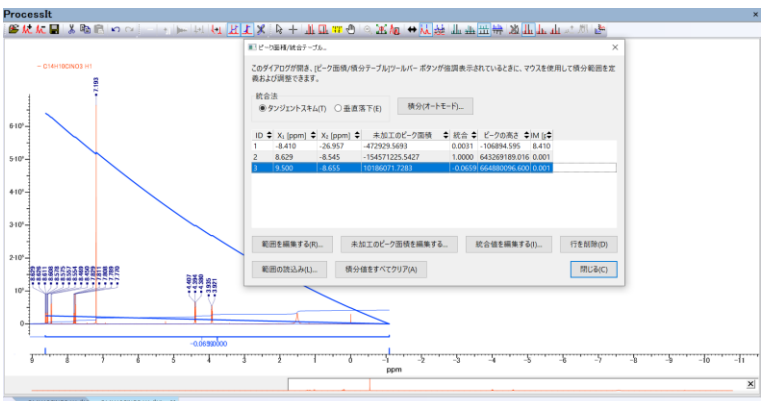

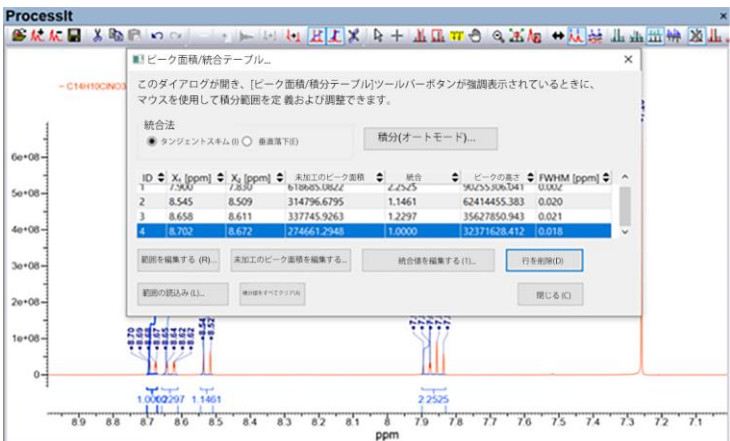
アクション	結果
-------	----




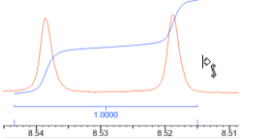
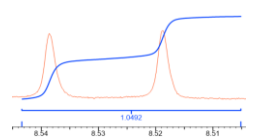


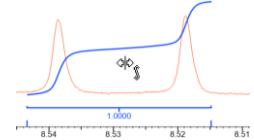
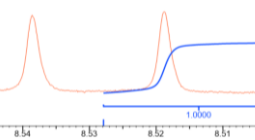
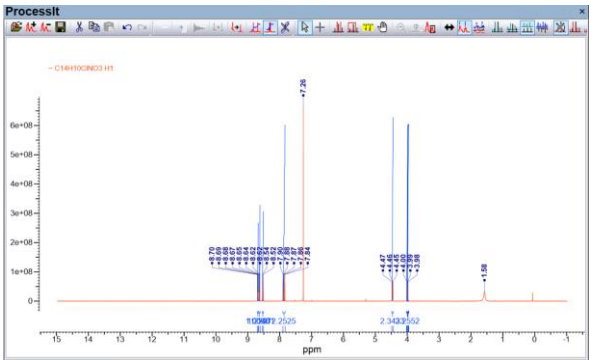
<p>17</p>	<p>垂直ドロップのラジオボタンを選択し、その後、「自動積分」をクリックしてください。</p> <p>自動積分のダイアログボックスでは、ノイズの閾値やピーク間の最小距離を指定することができます。また、積分を行う前にベースライン補正を行うかどうかも設定できます。</p> <p>注記： NMR の自動積分では、垂直ドロップが推奨されています。</p>	<p>自動積分のダイアログが開きます：</p>  <p>ベースライン補正が適用される場合は、ピーク積分の前に自動的なベースライン補正が行われます。チェックが外れていると、生データがそのまま積分されます。</p>																																																								
<p>18</p>	<p>「プレビュー」をクリックした後に「置換」をクリックしてください。</p> <p>注記： ピーク面積/積分テーブルの任意のセルは、そのセルを直接ダブルクリックするか、行を選択して「範囲の編集」、「生のピーク面積の編集」、または「積分値の編集」をクリックすることで変更することができます。</p> <p>注記： 行ごとに削除する場合は「行の削除」をクリックし、すべての行を削除する場合は「全てクリア」をクリックします。</p>	<p>ピーク面積/積分テーブルには、左の x 値 (X1)、右の x 値 (X2)、生のピーク面積、積分値、ピークの高さ、そして半値幅 (FWHM) などの積分情報が表示されます。これらの積分情報はスペクトル上でも確認できます。</p>  <table border="1"> <thead> <tr> <th>ID</th> <th>X₁ [ppm]</th> <th>X₂ [ppm]</th> <th>未加工のピーク面積</th> <th>統合</th> <th>ピークの高さ</th> <th>IM [I]</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>8.610</td> <td>8.602</td> <td>120015.9394</td> <td>1.0732</td> <td>35012504.391</td> <td>0.003</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>8.561</td> <td>8.554</td> <td>111833.7938</td> <td>1.0000</td> <td>36032465.336</td> <td>0.003</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>8.474</td> <td>8.444</td> <td>334952.7666</td> <td>2.9951</td> <td>62998785.309</td> <td>0.020</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>7.796</td> <td>7.763</td> <td>412971.1325</td> <td>3.6927</td> <td>91296597.385</td> <td>0.021</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>7.205</td> <td>7.183</td> <td>1371003.4421</td> <td>12.2593</td> <td>664559214.925</td> <td>0.001</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>4.413</td> <td>4.372</td> <td>695635.1622</td> <td>6.2203</td> <td>66238649.921</td> <td>0.016</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>3.942</td> <td>3.914</td> <td>532250.1227</td> <td>4.7593</td> <td>55323671.483</td> <td>0.017</td> </tr> </tbody> </table>	ID	X ₁ [ppm]	X ₂ [ppm]	未加工のピーク面積	統合	ピークの高さ	IM [I]	1	8.610	8.602	120015.9394	1.0732	35012504.391	0.003	2	8.561	8.554	111833.7938	1.0000	36032465.336	0.003	3	8.474	8.444	334952.7666	2.9951	62998785.309	0.020	4	7.796	7.763	412971.1325	3.6927	91296597.385	0.021	5	7.205	7.183	1371003.4421	12.2593	664559214.925	0.001	6	4.413	4.372	695635.1622	6.2203	66238649.921	0.016	7	3.942	3.914	532250.1227	4.7593	55323671.483	0.017
ID	X ₁ [ppm]	X ₂ [ppm]	未加工のピーク面積	統合	ピークの高さ	IM [I]																																																				
1	8.610	8.602	120015.9394	1.0732	35012504.391	0.003																																																				
2	8.561	8.554	111833.7938	1.0000	36032465.336	0.003																																																				
3	8.474	8.444	334952.7666	2.9951	62998785.309	0.020																																																				
4	7.796	7.763	412971.1325	3.6927	91296597.385	0.021																																																				
5	7.205	7.183	1371003.4421	12.2593	664559214.925	0.001																																																				
6	4.413	4.372	695635.1622	6.2203	66238649.921	0.016																																																				
7	3.942	3.914	532250.1227	4.7593	55323671.483	0.017																																																				

	アクション	結果
19	<p>注記：また、ピーク面積/積分テーブルのダイアログでは、事前に積分範囲を読み込むこともできます。</p> <p>この機能を使用するには、「範囲の読み込み」をクリックし、X1、X2の形式で記述されたCSVファイルをインポートします。例えば： X1,X2 8.0,7.6 4.6,4.2 4.1,3.7</p>	<p>インポートされた範囲に対して積分が計算されます：</p> 
20	<p>ピーク面積/積分テーブルダイアログを閉じるには、「閉じる」をクリックしてください。</p>	<p>ピーク面積/積分テーブルダイアログが閉じられます：</p> 


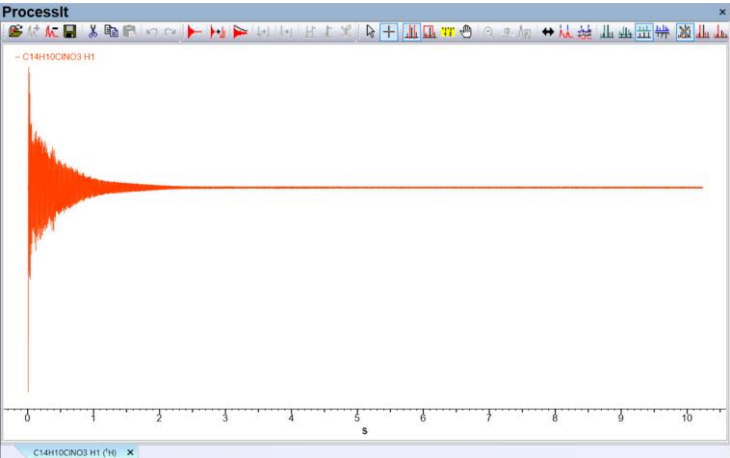

	アクション	結果
21	<p>手動積分: 「解析」>「ピーク面積/積分」を選択します。 以前の積分をクリアするために、「全てクリア」をクリックします。</p>	<p>すると、ピーク面積/積分テーブルのポップアップが表示され、テーブルとスペクトルから積分情報がクリアされます。</p> 
22	<p>ピーク面積/積分テーブルのポップアップを移動やリサイズして、スペクトル上のピークが見えるようにします。スペクトル上で右クリックし、水平ズームモードを選択します。マウスカーソルを約 7 から 9 ppm までドラッグし、マウスボタンを離します。</p>	<p>すると、マウスカーソルがズームツール (🔍) に変わり、スペクトルが約 7 から 9 ppm の領域に拡大されます。</p> 

	アクション	結果
23	<p>プロセスツールバーにあるピーク面積/積分テーブルのアイコンを選択して、積分ツールを再度有効にします。</p> 	<p>ピーク面積/積分テーブルアイコンをクリックすると、マウスカーソルはズームツール () から積分ツール () に変わります：</p>
24	<p>マウスボタンをクリックして、マウスカーソルを各複重の範囲に沿ってドラッグします。マウスボタンを範囲の終わりで離します。表示領域内の各複重に対して、この操作を繰り返します。複重の範囲は以下の通りです：(1) 8.67 - 8.70 ppm、(2) 8.62 - 8.65 ppm、(3) 8.51 - 8.54 ppm、(4) 7.83 - 7.91 ppm。</p> <p>注記：ドラッグ操作は左から右または右から左の両方向で行えます。</p> <p>注記：1H-NMR 溶媒のピークである 7.26 ppm のピークは積分しないでください。</p>	<p>各複重の積分値は、ピーク面積/積分テーブルに新しい行として追加されます。また、スペクトル上にも積分値が表示されます。</p>  <p>デフォルトでは、積分値は最小の積分値を 1.0 として正規化されます。異なる値 (例えば 2.0) で正規化を変更する場合は、テーブルの行を選択して「積分値の編集」をクリックします。表示される積分値のポップアップで値を変更し、OK をクリックします。その他の積分値もそれに応じて調整されます。</p>

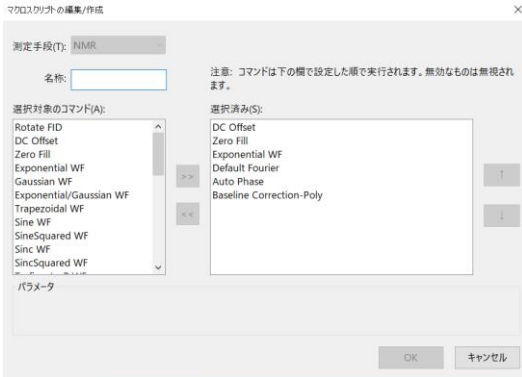
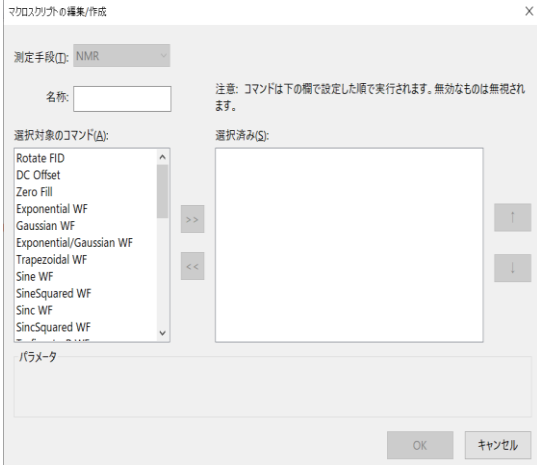
	アクション	結果
25	<p>スペクトル上で右クリックし、「パンモード」を選択します。左クリックしてマウスボタンを押し続け、スペクトルを左にドラッグしてスペクトルを低い ppm 領域に移動します。複数の複重が表示されるようになったら、マウスボタンを離します (約 3.2 ppm から 5 ppm の範囲)。</p>	<p>パンモードを選択すると、対応するマウスカーソル (☞) が表示され、スペクトルを右または左に移動させることができます。</p> 
26	<p>パンモードを解除し、積分ツールをアクティブにするには、プロセスツールバーにあるピーク面積/積分テーブルアイコンを再度選択します。</p>  <p>この範囲内の 2 つの複重を積分するために、マウスボタンを使って各複重をドラッグします。</p>	<p>ピーク面積/積分テーブルアイコンを選択すると、マウスカーソルは積分ツール (☞) に切り替わり、マウスカーソルの機能も変わります。スペクトルには 2 つの新しい積分が追加されます。</p> 

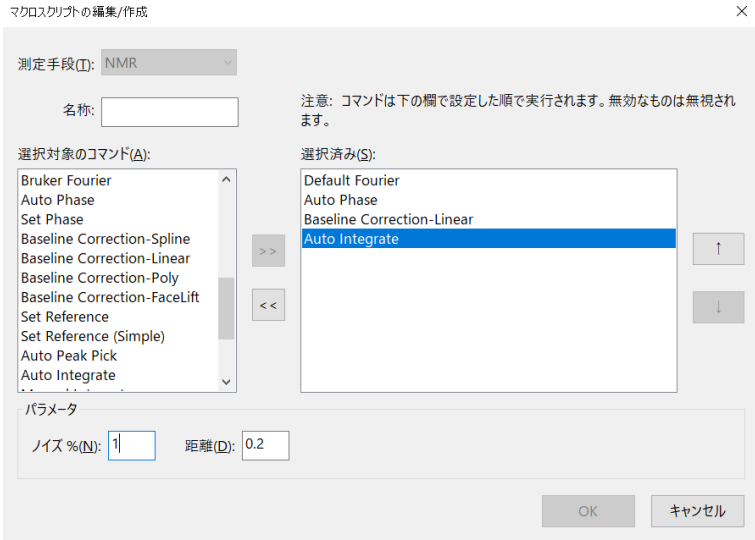
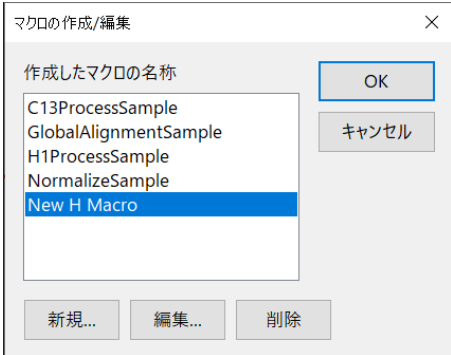
	アクション	結果
27	<p>注記： スペクトル上では、任意の積分をサイズ変更することができます。積分領域の端をクリックし、その端を x 軸に沿って左右にドラッグすることで、積分のサイズを変更できます。</p>	<p>積分領域の端にマウスマウスカーソルを合わせると、積分カーソル () が右を指す矢印 () または左を指す矢印 () に変化します。以下の例では、積分の端を右にドラッグすることで積分が広がります。</p> <p>右にドラッグする前の積分の端の状態:  右にドラッグした後の積分の端の状態: </p>
28	<p>注記： スペクトル上では、任意の積分をシフトすることができます。積分を移動させるには、積分領域内をクリックし、x 軸上で左右にドラッグします。</p>	<p>積分領域内にマウスマウスカーソルを合わせると、積分カーソル () が左右に向かっている 2 つの矢印 () に変わります。以下の例では、積分の中心を右にクリックしてドラッグすることで、積分を移動させます。</p> <p>積分の中心からドラッグする前の状態:  積分の中心から右にドラッグした後の状態: </p>
29	<p>積分が完了したら、ピーク面積/積分テーブルの閉じるボタンをクリックしてください。元の表示に戻すためには、右クリックして「スペクトル全体を表示」をクリックします。</p>	<p>全体のスペクトルには積分が表示されています:</p> 

マクロを適用

	アクション	結果
1	<p>ProcessIt で「データファイルを開く」アイコンをクリックします。</p>  <p>「C:\Users\Public\Public Documents\Wiley\KnowItAll\Samples\NMR\Bruker TopSpin\ C14H10CINO3\ C14H10CINO3 H1\fid」に移動します。</p>	<p>ファイルは ProcessIt のメインウィンドウに表示されます：</p> 
2	<p>「マクロ」 > 「新規/編集」を選択します。</p>	<p>「マクロの編集」ダイアログボックスが表示されます：</p> 

	アクション	結果
--	-------	----

<p>3</p>	<p>現在のマクロのリストから「H1ProcessSample」を選択し、次に「新規」をクリックします。</p>	<p>マクロ編集ダイアログが表示されます：</p>  <p>「選択された機能」の下には、「H1ProcessSample」マクロに含まれる手順が表示されます。残りの利用可能な機能は、「利用可能な機能」の項目にリストされています。</p>
<p>4</p>	<p>注記：マクロ編集ダイアログでは、「選択された機能」と「利用可能な機能」の間でアイテムを削除 (<<) または追加 (>>)することで、新しいマクロを作成することができます。</p> <p>「選択された機能」からすべての機能を削除するには、該当のアイテムを選択して左矢印ボタン (<<) をクリックします。</p>	<p>すると、マクロ編集ダイアログの「選択された機能」は空になります：</p> 
<p>アクション</p>	<p>結果</p>	

5	<p>以下の機能を、「利用可能な機能」から「選択された機能」に移動するために右矢印ボタン (>>) を使用してください：デフォルトフーリエ、自動位相、ベースライン補正（線形）、自動積分。</p> <p>自動位相の機能では、デフォルトのパラメータ（メソッド=GoodLook）をそのままにしてください。自動積分の機能では、ノイズ%の値を1に変更してください。</p> <p>注記： マクロは、マクロ編集ダイアログの「選択された機能」セクションに表示された順番で機能が実行されます。項目は上下ボタンを使用して並び替えることができます。</p>	<p>追加された機能は、マクロ編集ダイアログの「選択された機能」セクションに順番に表示されます。</p> 
6	<p>マクロ編集ダイアログの「名前」ボックスに「New H Macro」と入力してください。OK をクリックします。</p>	<p>マクロ編集ダイアログが閉じられ、「New H Macro」という名前が「マクロ編集」ダイアログに表示されます。</p> 

	アクション	結果
7	<p>マクロ編集ダイアログの OK ボタンをクリックしてウィンドウを閉じます。その後、「マクロ」>「New HMacro」を選択してください。</p>	<p>これにより、スペクトルが「New H Macro」というマクロで指定された手順に基づいて処理されます：</p> 