

核磁共振波谱分析

Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

袁燕秋

2023秋季

核磁共振章节内容

9月25日课

- 基本原理
- 仪器构造和发展
- 应用

9月28日课

- 化学位移
- ^1H 波谱解析

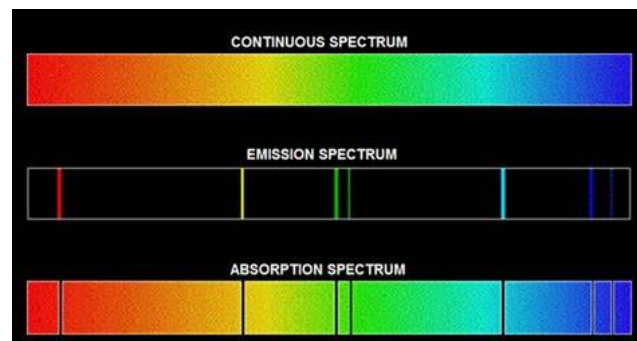
10月7日课

- ^{13}C 核磁共振和联合波谱解析
- NMR小测 (15个选择题)

导言

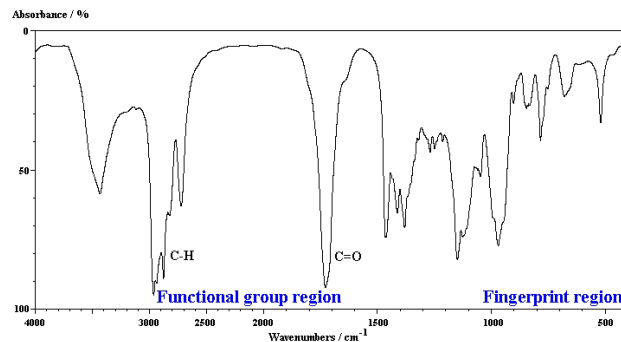
- 不同光谱分析（质谱分析）手段提供了物质的不同信息：

原子光谱



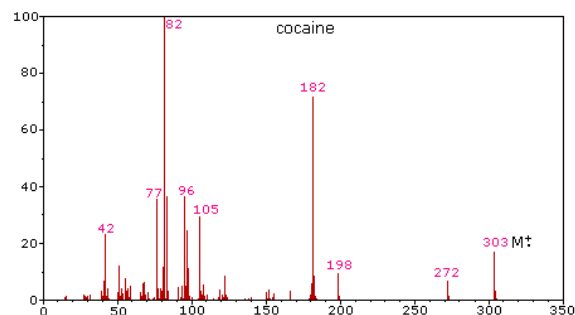
元素信息

分子光谱 (IR)



功能团信息

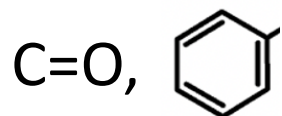
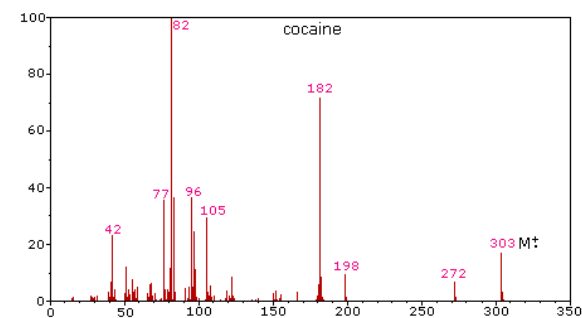
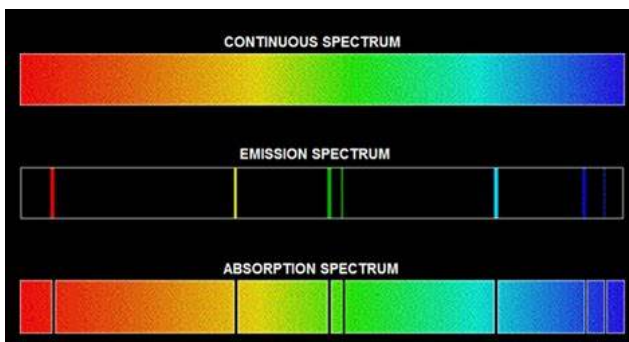
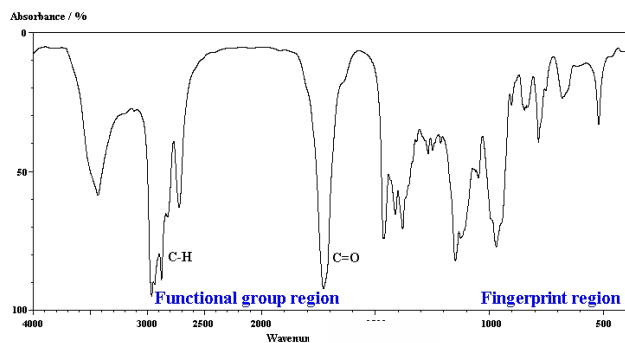
质谱



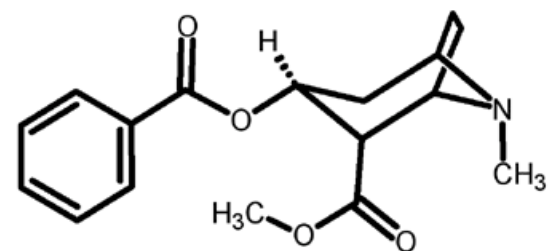
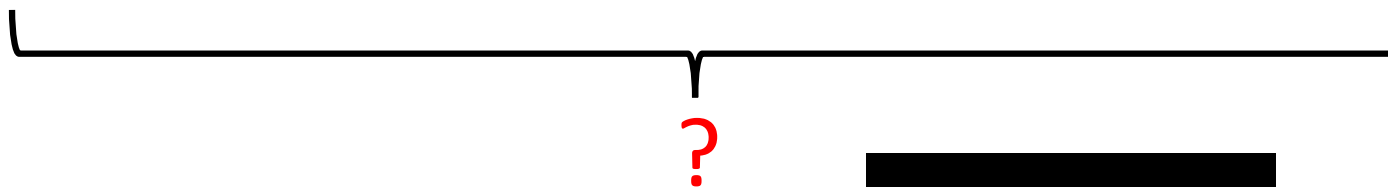
分子量信息

导言

- 从普通光谱/质谱分析无法得到分子结构和构象



m/z=303



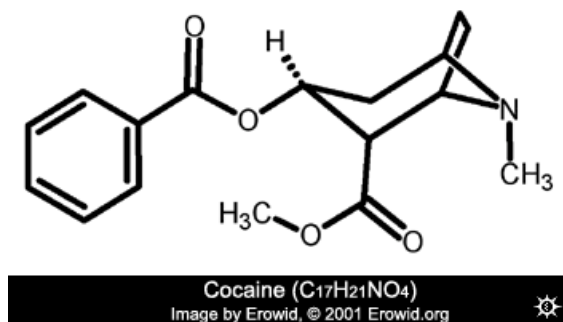
Cocaine (C₁₇H₂₁NO₄)
Image by Erowid, © 2001 Erowid.org



Cocaine (C₁₇H₂₁NO₄)

导言

- 从普通光谱/质谱分析无法得到分子结构和构象



能够分析化合物中原子的
组成和连接方式的方法

NMR

导言

- 不同状态之间的能级差是各种光（波）谱学的理论基础：

❖ 当电磁波的能量与能级差匹配，就会产生电磁吸收。

分子电子能级 → UV

原子电子能级 → AAS

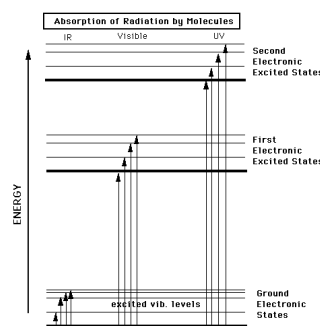
分子振动能级 → IR

分子转动能级 → 微波谱学

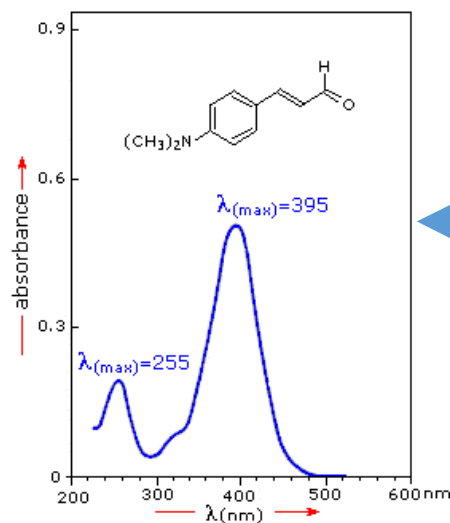
??? → NMR

课程总概

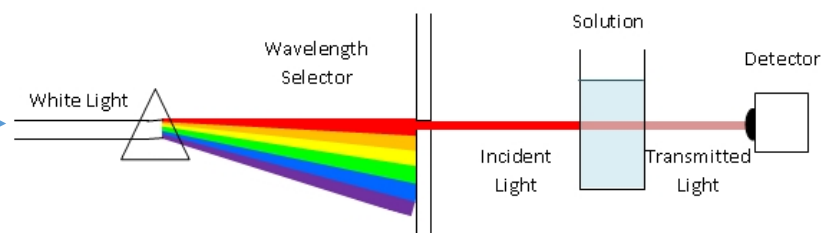
- 从物理原理，到仪器构造，到实际应用的知识框架



物理原理

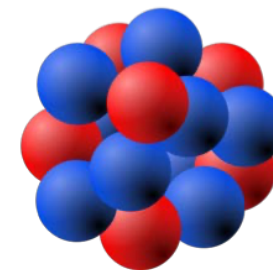


实际应用



仪器构造

基本原理



- 原子核基态的量子性质—基态的核自旋
 - 每个核子（质子或中子）与电子一样也具有内禀的角动量，即自旋，质子与中子的自旋均为1/2
 - 核子在原子核内运动也有相应的轨道角动量

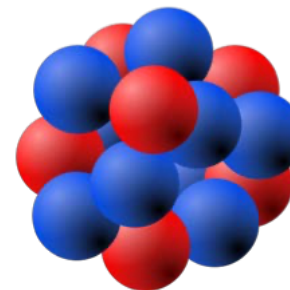


原子核基态的自旋角动量 P_I

- 核自旋角动量 P_I 用核的自旋量子数 I （核自旋）表示：

$$P_I = \frac{h}{2\pi} \sqrt{I(I+1)}$$

基本原理



- 原子核基态的量子性质—基态的核自旋

$$P_I = \frac{h}{2\pi} \sqrt{I(I+1)}$$

➤ 当 $I = 0$ 时, $P_I = 0$, 即原子核没有自旋现象。

➤ 只有当 $I > 0$ 时, 原子核才有自旋角动量和自旋现象。



核磁共振研究的对象

$I = 1/2$ 的核是 NMR 的主要研究对象。

基本原理

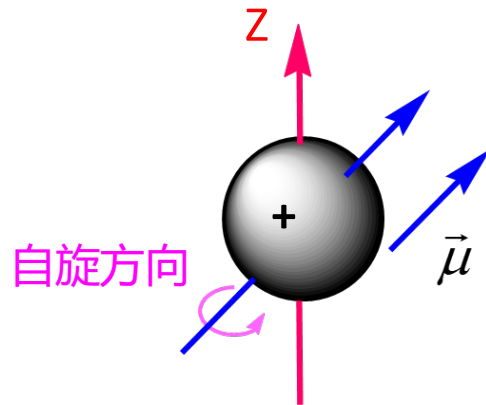
- 实验表明：核自旋 I 与原子的质量数 A 及原子序数 Z 有关

质量数 A	原子序数 Z	核自旋 I	NMR信号	原子核
偶数	偶 数	0	无	$^{12}\text{C}_6, ^{16}\text{O}_8, ^{32}\text{S}_{16}$
偶数	奇 数	1, 2, 3	有	$^2\text{H}_1, ^{14}\text{N}_7$
奇数	奇或偶数	1/2	有	$^1\text{H}_1, ^{13}\text{C}_6, ^{15}\text{N}_7, ^{19}\text{F}_9$
奇数	奇或偶数	3/2, 5/2	有	$^{17}\text{O}_8$

自旋为零或整数的偶 A 核属于玻色子，遵从玻色-爱因斯坦分布；
自旋为半整数的奇 A 核属于费米子，遵从费米-狄拉克分布和泡利不相容原理

基本原理

- 原子核的磁矩
 - 由于原子核是带正电粒子，故在自旋时产生磁矩 μ
 - 磁矩 μ 和自旋角动量 P 都是矢量，方向相互平行，且磁矩随角动量的增加成正比地增加：



$$\mu = \lambda P$$

式中 λ 为磁旋比，不同的核具有不同的磁旋比

基本原理

- 原子核的磁矩
 - 不同的核具有不同的磁旋比

表 9-2 一些原子核的磁性质

核	I	μ / 核磁子	$\gamma/\text{A} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{J}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	同位素丰度 /%	相对 灵敏度
^1H	1/2	2.7927	2.675×10^8	99.98	1.00
^2H	1	0.8574	0.411×10^8	0.02	0.0096
^{13}C	1/2	0.7023	0.673×10^8	1.07	0.0159
^{19}F	1/2	2.6273	2.52×10^8	100	0.834
^{31}P	1/2	1.1305	1.09×10^8	100	0.064
^{14}N	1	0.4037	0.193×10^8	99.64	0.00101

基本原理

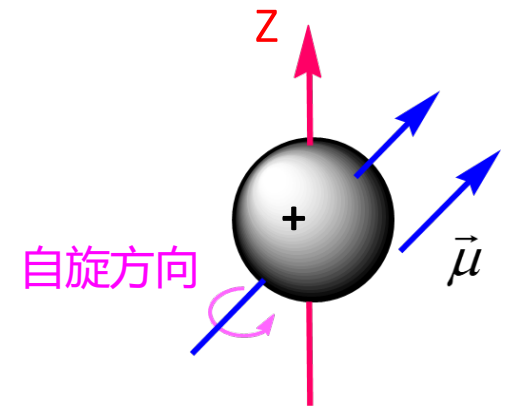
- 原子核的磁矩

- 自旋角动量为一个矢量，它的大小和方向都是量子化的。自旋量子数为 I 的原子核在任意选定的一个轴(如 Z 轴)方向上只可能有 $2I+1$ 个投影。核自旋角动量在 Z 轴方向上的投影 P_z 为:

$$P_z = \hbar m \quad \hbar = h / 2\pi$$

- 每一个投影都可以用一个自旋磁量子数 m 来表示， m 与 I 之间的关系是: $m = I, I-1, I-2, \dots, -I$;
- 核磁矩在 Z 轴上的投影 μ_z 为：

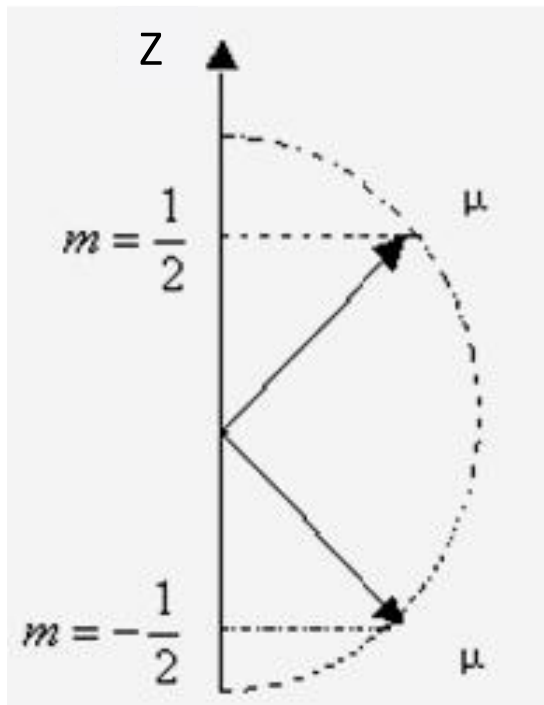
$$\mu_z = \gamma P_z = \gamma \hbar m$$



基本原理

- 原子核的磁矩

- 自旋角动量为一个矢量，它的大小和方向都是量子化的。



当 $I = 1/2$, $m = 1/2, -1/2$

$$P_z = \hbar m \quad 2I+1=2\text{种可能}$$

$$\mu_z = \gamma P_z = \gamma \hbar m \quad 2I+1=2\text{种可能}$$

自旋磁矩在空间任意方向上的投影只能取 $2I+1$ 个数值

- 无外磁场时，自旋核产生的核磁矩没有能级分裂，处于简并状态。

基本原理

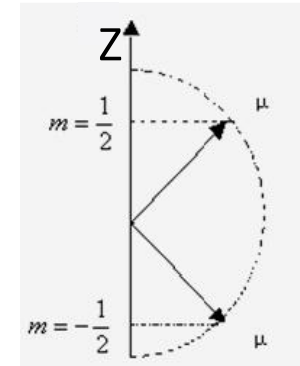
- 自旋核在磁场中的行为

- 当自旋核处于磁场强度为 B_0 （设Z方向）的外磁场中时，原子核磁矩与外磁场相互作用，产生能级裂分
- 自旋核的每一种取向都代表了核在该磁场中的一种能量状态，其能量可以从下式求出：

$$E = -\mu_z * B_0 = -\gamma \hbar m B_0$$

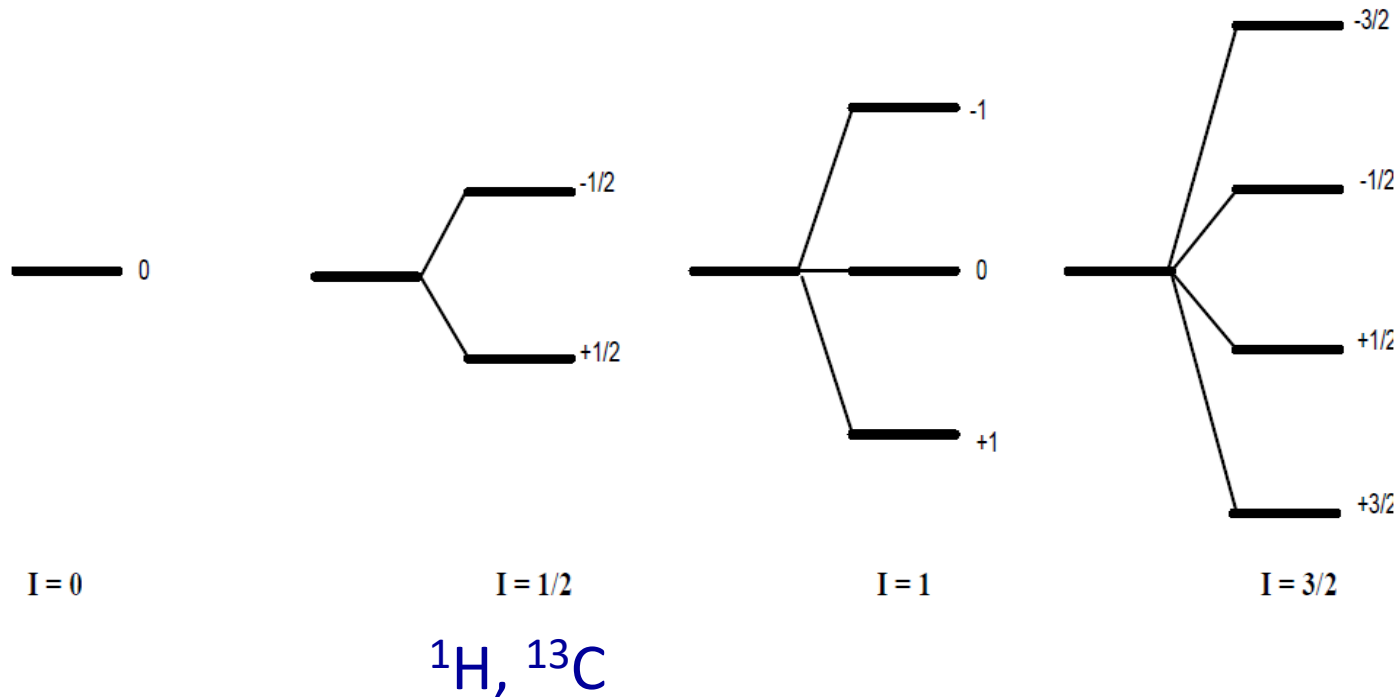
- 由量子力学选择定则可知，只有 $\Delta m = \pm 1$ 的跃迁才是允许的，所以相邻能级之间发生跃迁的能量差为：

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0$$



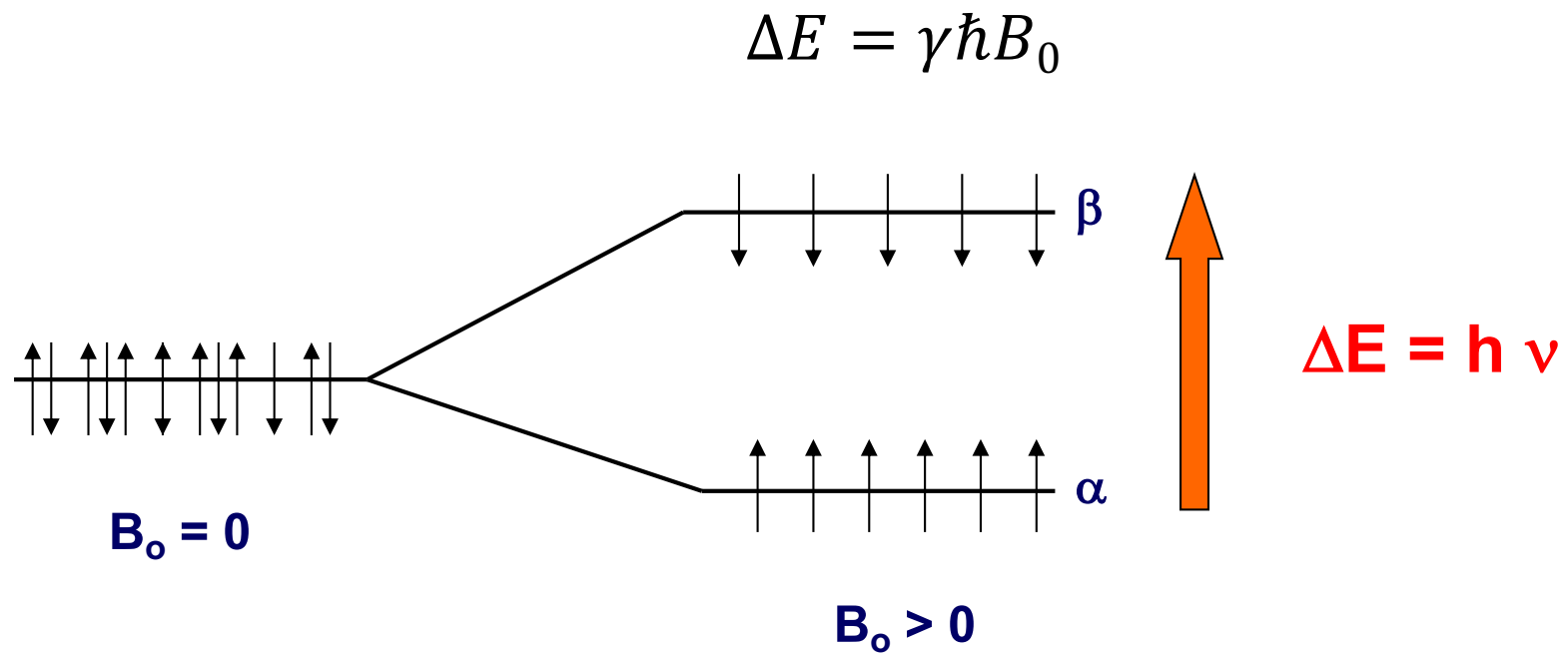
基本原理

- 自旋核在外磁场作用下发生能级裂分：
 - ❖ 原子核能级：能级裂分取决于自旋量子数 (I)
 - ❖ 自旋量子数为 I 的原子核相对于外磁场有 $(2I+1)$ 种不同取向



基本原理

- 核磁共振现象：
 - ❖ 微观上看：核磁共振是处于低能级的原子核向高能级跃迁的过程。



基本原理

- 不同状态之间的能级差是各种光（波）谱学的理论基础：

❖ 当电磁波的能量与能级差匹配，就会产生电磁吸收。

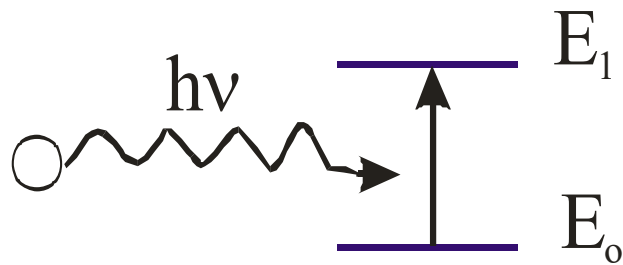
分子电子能级	→	UV
原子电子能级	→	AAS
分子振动能级	→	IR
分子转动能级	→	微波谱学
<div></div>	→	NMR

基本原理

- 不同状态之间的能级差是各种光（波）谱学的理论基础：

❖ 当电磁波的能量与能级差匹配，就会产生电磁吸收。

分子电子能级	→	UV
原子电子能级	→	AAS
分子振动能级	→	IR
分子转动能级	→	微波谱学
原子核能级	→	NMR

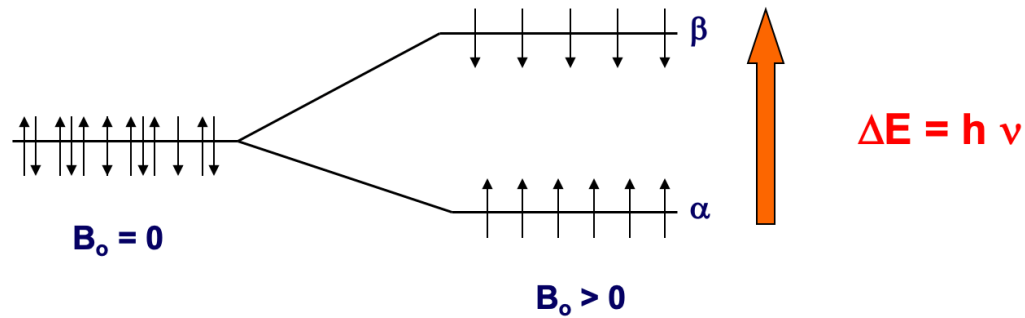


Absorbance

在外磁场作用下的原子核能级裂分是NMR（核磁共振）的基础

基本原理

- 核磁共振现象：



- 核磁共振条件

→ 原子核具有磁性： $I \neq 0$

→ 有外磁场诱导能级裂分： $\Delta E = \gamma \hbar B_0$

→ 有电磁波以共振频率照射： $\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$

基本原理

- 核磁共振现象：

- 能级差： $\Delta E = \gamma \hbar B_0$

- 吸收电磁波能量： $\Delta E = h \nu$

- 吸收电磁波（发生核磁共振）频率： $\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$

- 对特定的原子核（ γ ），其共振频率与外磁场 B_0 成正比
- 经常用 ^1H 的共振频率表示磁场的强度

基本原理

1.核

核磁共振的核与原子核反应的核不一样，它仅仅观测核的自旋，最常用的是 ^1H 和 ^{13}C ，而有机物里 H 和 C 是含量最多的元素。

2.磁

核磁共振的磁指的是静磁场，如果将核自旋放入磁场，其会由于相互作用而发生塞曼裂分，裂分产生的能级差跟磁场和核自旋密切相关，能级差最终会导致上下能级核自旋布居数的差别，这是核磁共振信号强度的来源，同时核磁共振的频率来自能级差。

3.共振

核自旋放在磁场中发生能级裂分，用与该能级裂分相匹配的电磁波对原子核进行辐照，核自旋就会发生共振。

基本原理

- 例题1：若外加磁场的强度为1T， ^1H 和 ^{13}C 的共振频率是多少？ $1\text{T}=1\text{ J}\cdot\text{A}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$

核	I	μ / 核磁子	$\gamma/\text{A}\cdot\text{m}^2\cdot\text{J}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
^1H	1/2	2.7927	2.675×10^8
^2H	1	0.8574	0.411×10^8
^{13}C	1/2	0.7023	0.673×10^8

基本原理

- 例题1：若外加磁场的强度为1T， ^1H 和 ^{13}C 的共振频率是多少？ $1\text{T}=1\text{J}\cdot\text{A}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$

核	I	μ / 核磁子	$\gamma/\text{A}\cdot\text{m}^2\cdot\text{J}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$
^1H	1/2	2.7927	2.675×10^8
^2H	1	0.8574	0.411×10^8
^{13}C	1/2		

$$\nu_{^1\text{H}} = \frac{1}{2\pi} \gamma_{^1\text{H}} H_0$$

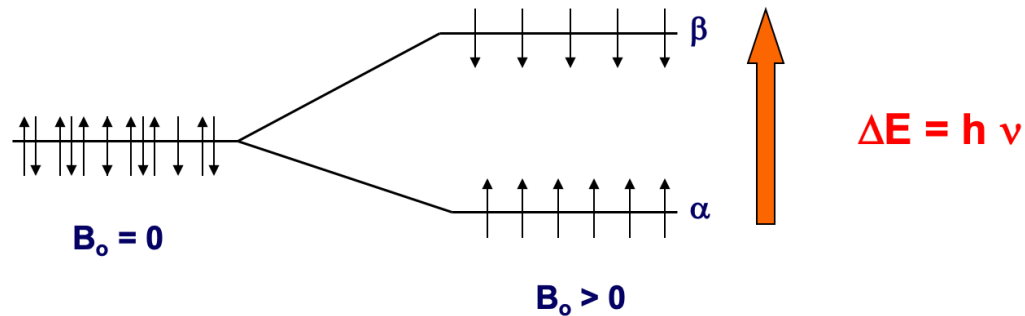
$$1\text{T} = 1\text{J}\cdot\text{A}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$$

$$\begin{aligned} \nu_{^1\text{H}} &= \frac{2.675 \times 10^8 \text{ A}\cdot\text{m}^2\cdot\text{J}^{-1}\cdot\text{s}^{-1} \times 1\text{J}\cdot\text{A}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}}{2 \times 3.142} \\ &= 0.4257 \times 10^8 \text{ s}^{-1} = 42.57\text{MHz} \end{aligned}$$

$$\nu_{^{13}\text{C}} = 10.71\text{MHz}$$

基本原理

- 核磁共振的灵敏度：



- ❖ 核磁共振的灵敏度取决于不同自旋能级上的原子核差异分布。

由Boltzmann 分布：

$$\frac{N_i}{N_j} = e^{\frac{-\Delta E}{kT}}$$

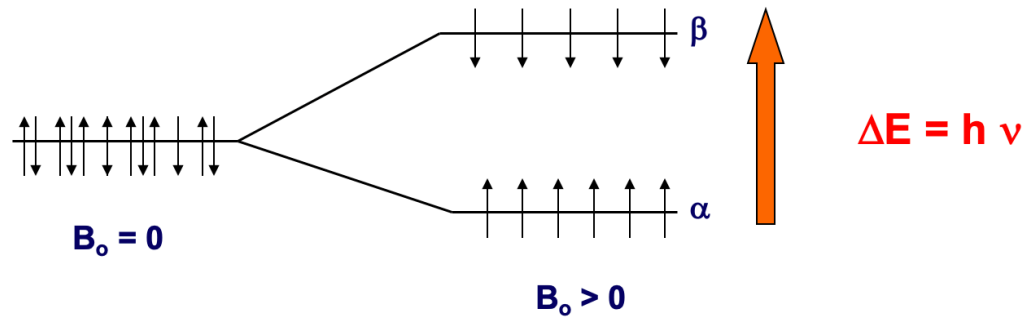
其中：

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0$$

→ 因而灵敏度取决于磁旋比 γ 和外磁场强度 B_0 。

基本原理

- 核磁共振的灵敏度：



→ 磁场强度 2.3488 T ; 25 C ; ^1H 的分配比：

$$\frac{N_i}{N_j} = \exp\left(\frac{6.626 \times 10^{-34} \times 100.00 \times 10^6}{1.38066 \times 10^{-23} \times 298} \cdot \frac{\text{J} \cdot \text{s} \cdot \text{s}^{-1}}{\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{K}}\right) = 0.999984$$

→ 两能级上核分配比例差： 1.6×10^{-5}

基本原理

- 核磁共振的灵敏度：外磁场强度 B_0
- ❖ 提高磁场强度是提高NMR灵敏度的最主要手段。

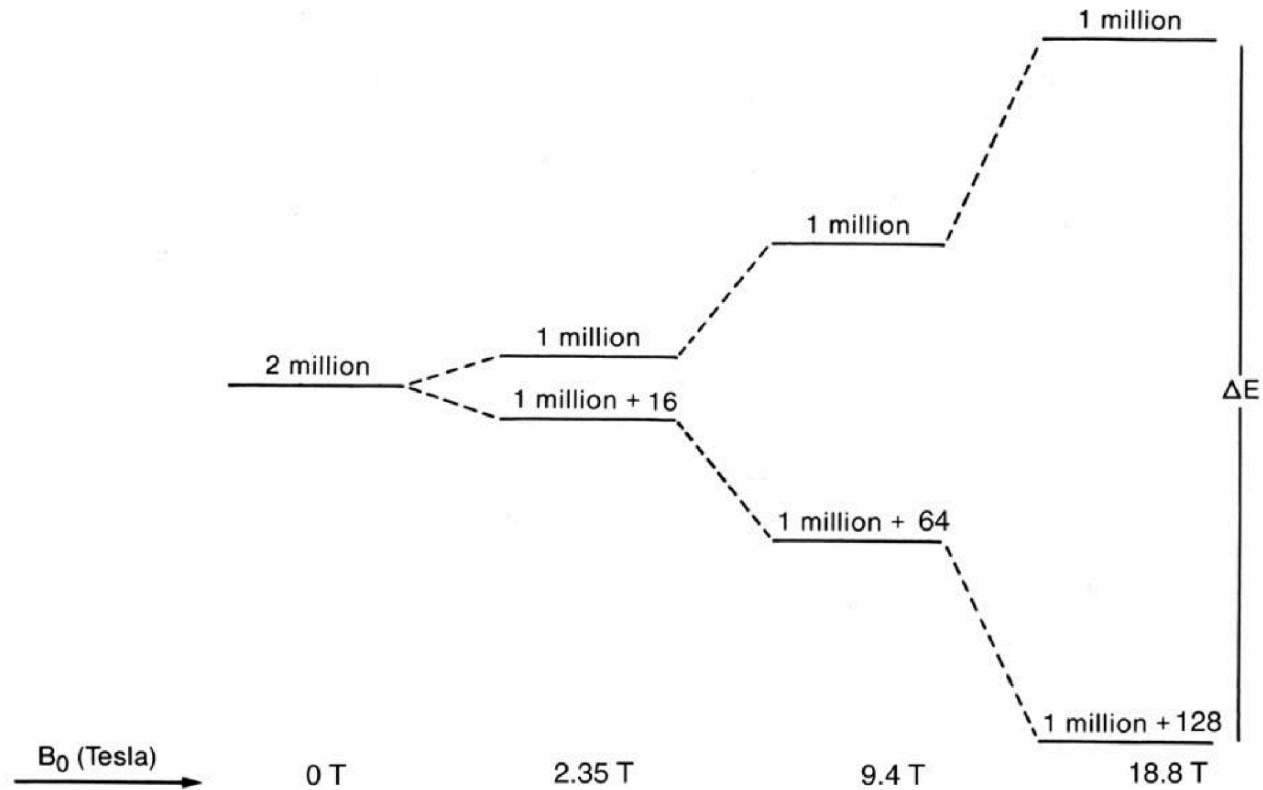
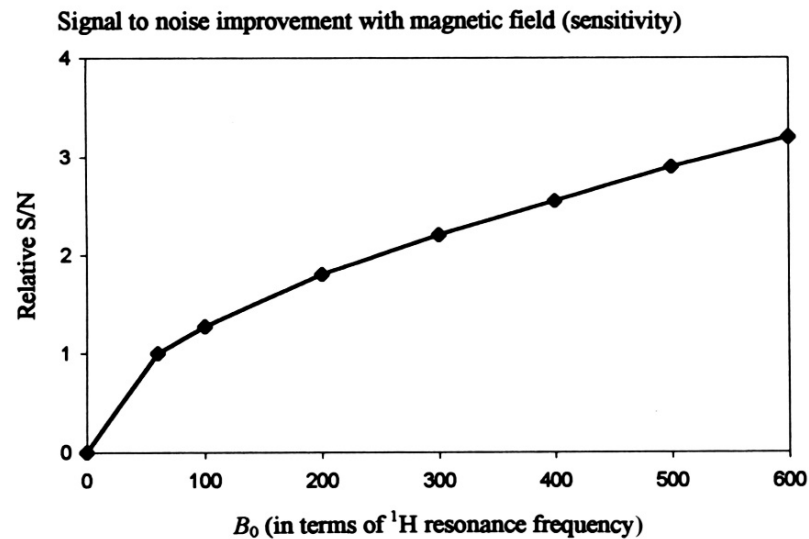
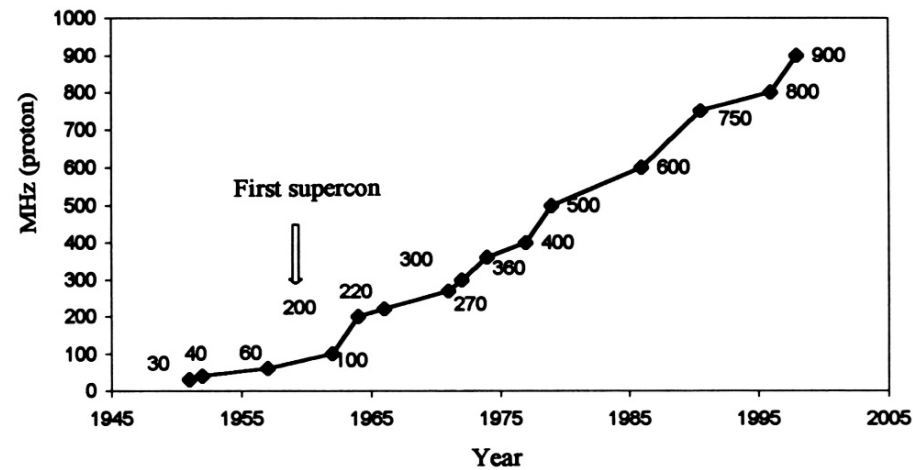


Figure 1.3. Dependence on magnetic field strength B_0 of the separation of nuclear energy levels (ΔE) for spin $I = 1/2$ and the relative populations of the energy levels assuming one has approximately two million protons in the sample (a ridiculously low number in reality).

基本原理

- 核磁共振的灵敏度：外磁场强度 B_0
- ❖ 提高磁场强度是提高NMR灵敏度的最主要手段。



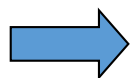
基本原理

- 核磁共振的灵敏度：外磁场强度 B_0

提高磁场强度 = \$



~\$800,000



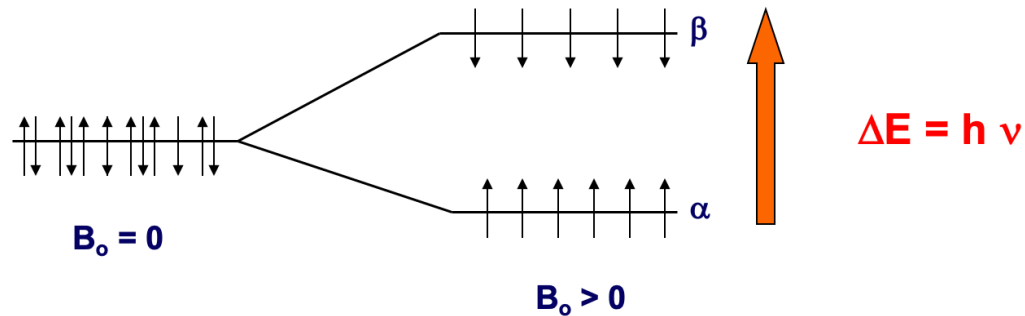
~\$2,00,000



~\$4,500,000

基本原理

- 核磁共振的灵敏度：



- ❖ 核磁共振的灵敏度取决于不同自旋能级上的原子核差异分布。

由Boltzmann 分布：

$$\frac{N_i}{N_j} = e^{\frac{-\Delta E}{kT}}$$

其中：

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0$$

→ 因而灵敏度取决于磁旋比 γ 和外磁场强度 B_0 。

基本原理

- 核磁共振的灵敏度：磁旋比 γ

➤ NMR灵敏度正比于 γ^3

不同原子核有不同的磁旋比 γ ，因而有不同的灵敏度：

$$\left(\frac{\gamma_{\text{H}}}{\gamma_{\text{C}}}\right)^3 = 64 \qquad \left(\frac{\gamma_{\text{H}}}{\gamma_{\text{N}}}\right)^3 = 1000$$

由于磁旋比的差异， ^1H 比 ^{13}C 灵敏度在理论上要高64倍，

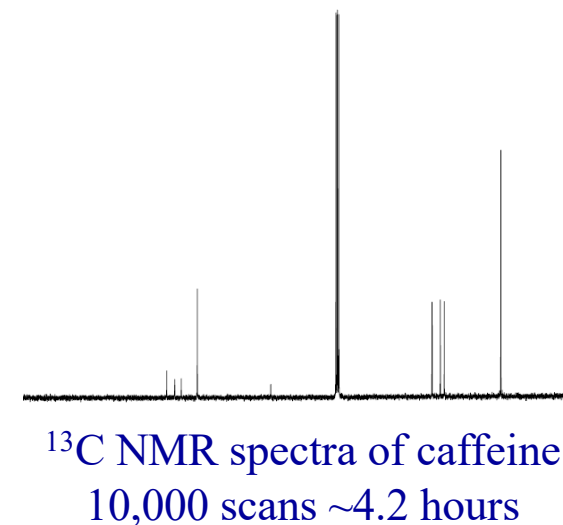
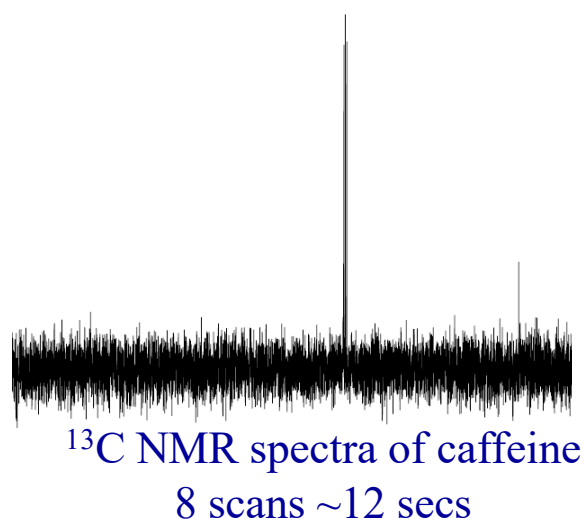
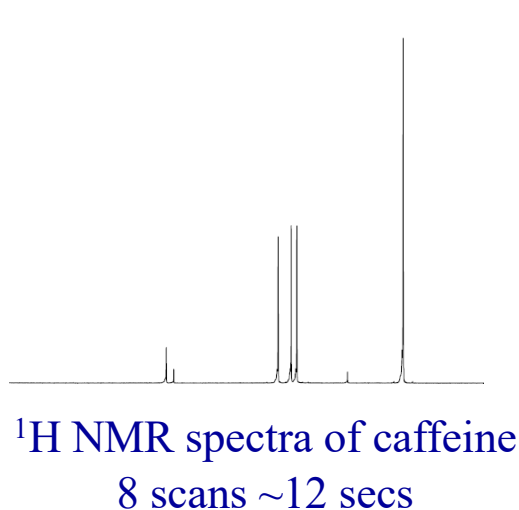
^1H 比 ^{15}N 的NMR灵敏度要高1000倍

➤ 由于 ^{13}C 的自然丰度只有1.1% 而 ^{15}N 的自然丰度只有0.37%， ^1H 的相对灵敏度达到了~6,400 和~ 2.7×10^5 倍

基本原理

- 核磁共振的灵敏度：扫描数
 - ❖ 增加扫描数 (number of scans, NS) 是提高NMR灵敏度 (signal-to-noise, S/N) 的另一主要手段：

$$S/N \propto \sqrt{NS}$$



基本原理

- 核磁共振的灵敏度：弛豫过程
 - ❖ 弛豫过程：在原子核吸收电磁波能量向高能态跃迁后达到磁化矢量0，高能态的原子核通过非辐射形式放出能量而回到低能态的过程
 - ❖ 弛豫过程是核磁共振现象得以保持的必要条件
 - ❖ 自旋-晶格弛豫：热能形式传递给周围环境
 - 通过自旋-晶格弛豫回到平衡态所需的时间，用 t_1 表示
 - t_1 影响核磁共振峰的强度，峰强 $\propto \frac{1}{t_1}$
 - ❖ 自旋-自旋弛豫：核自旋之间进行能量交换
 - 自旋-自旋弛豫时间用 t_2 表示
 - t_2 与峰宽成反比

基本原理

- 核磁共振的灵敏度：弛豫过程
 - ❖ 不同样品的实际弛豫时间决定于 t_1 、 t_2 较短的那个

样品	t_1	t_2	NMR信号
固体	>小时	10^{-5} - 10^{-4}	t_2 决定, 峰强低, 谱线宽
液体和气体	10^{-4} - 10^2 s	~ 1 s	$t_1 t_2$ 接近, 峰强高, 谱线窄

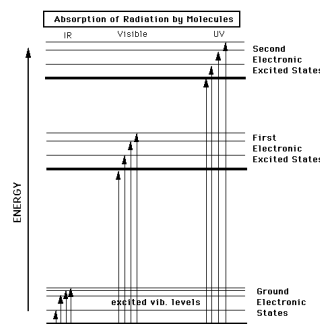
固体 t_2 很小, 因此峰很宽, 一般配成溶液在进行NMR测量。

基本原理

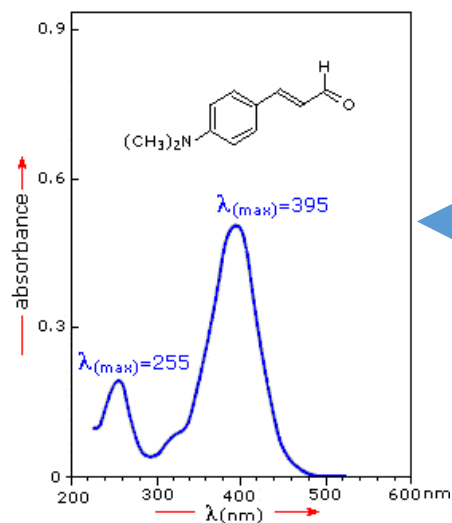
- 核磁共振的灵敏度
 - ❖ 外磁场强度 B_0
 - ❖ 磁旋比 γ
 - ❖ 扫描数
 - ❖ 弛豫过程

课程总概

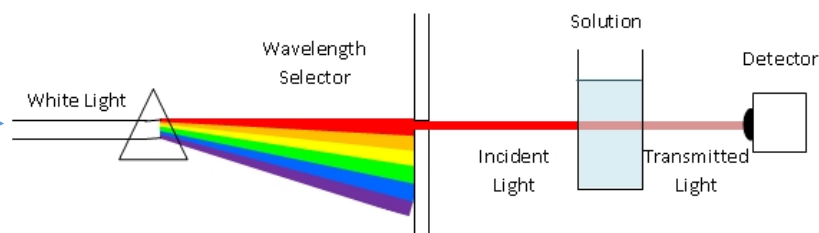
- 从物理原理，到仪器构造，到实际应用的知识框架



物理原理



实际应用



仪器构造

核磁共振波谱仪的发展

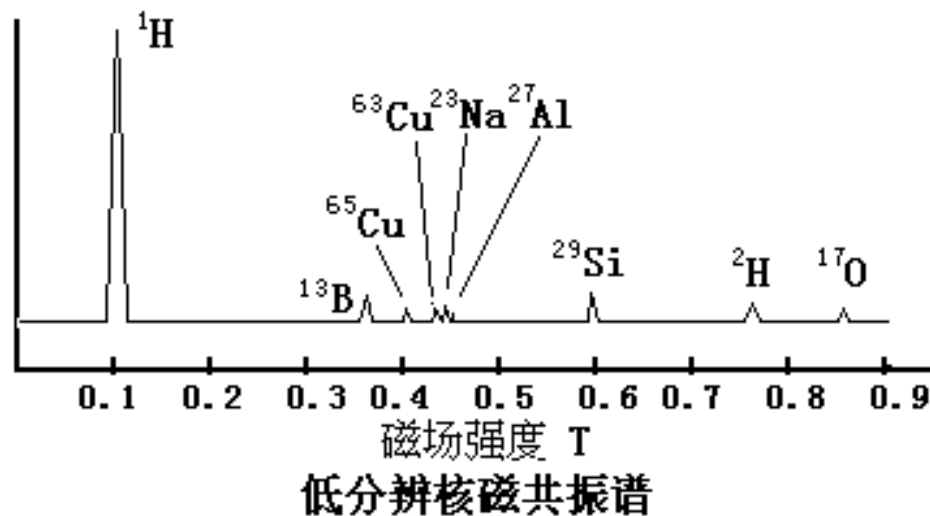
- 1946年由Harvard大学的E.Purcell和Stanford大学的F.Bloch分别独立发现核磁共振现象，并由此分享了1952年的诺贝尔物理奖。
- 1953年第一台商品化NMR谱仪问世。
- 七十年代末，高强超导磁场核磁共振技术及脉冲—傅里叶核磁共振波谱仪问世，使得对低丰度、弱磁旋比的磁性核(如 ^{13}C 、 ^{15}N 等)的测量成为可能。
- R.Ernst二维和三维核磁共振理论与技术方面的研究成果可广泛应用于蛋白质、核酸等生物大分子的结构、构象分析。
- 八十年代出现的核磁共振成像诊断技术（Magnetic Resonance Imaging, MRI）已成为医学诊断的重要工具。

仪器构造

- 选择性地使不同原子核达到共振：

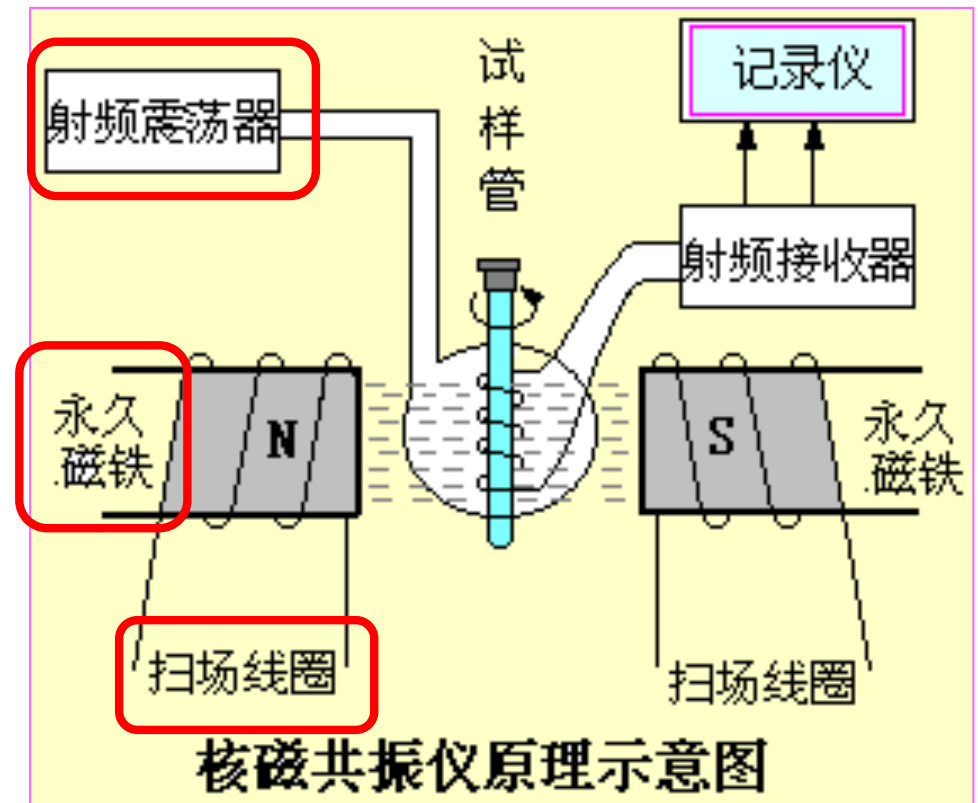
吸收电磁波（发生核磁共振）频率： $\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0$

- 不同原子核，磁旋比不同，产生共振需要的磁场强度 B_0 和射频频率 ν 不同。
- 可以固定 B_0 ，改变 ν （扫频），不同原子核在不同频率处发生共振。也可固定 ν ，改变 H_0 （扫场），扫场易于实现和控制，市售仪器一般采用扫场。



仪器构造

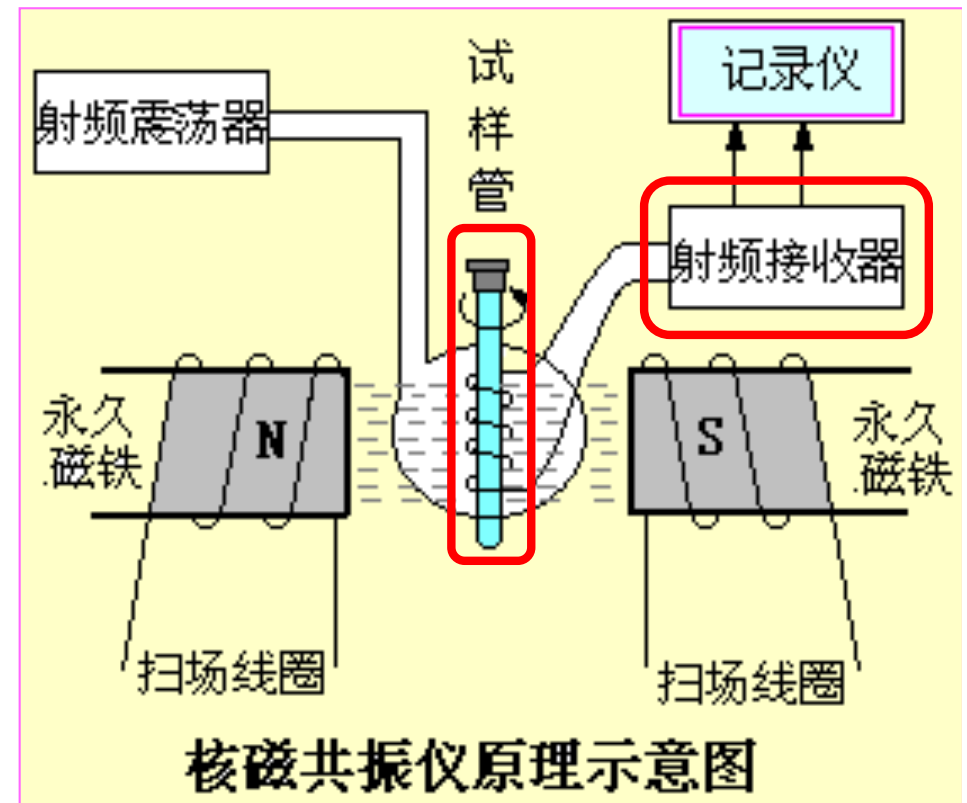
- “连续波”核磁共振仪的构造：射频的频率或外磁场的强度是连续变化的
- ❖ 永久磁铁：提供外磁场。
- ❖ 射频振荡器：线圈垂直于外磁场，发射一定频率的电磁辐射信号，如400MHz。
- ❖ 扫场线圈：调节外磁场强度，使之达到共振条件



仪器构造

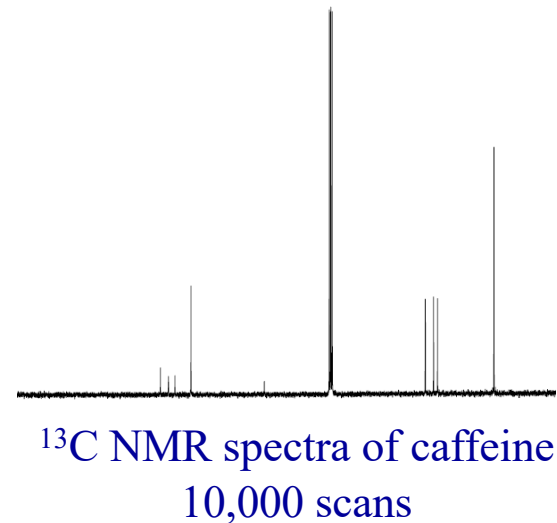
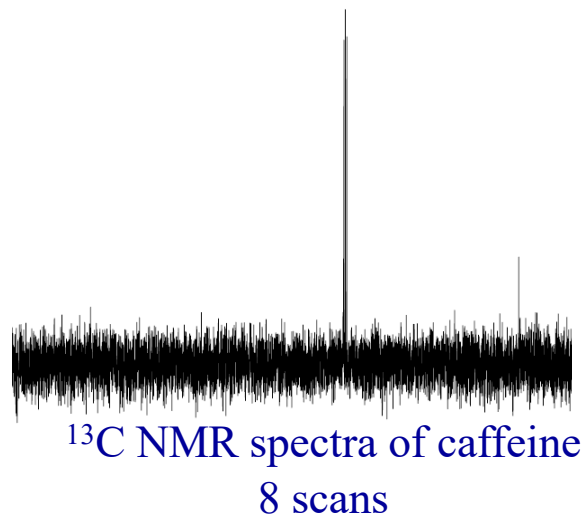
- “连续波”核磁共振仪的构造：

- ❖ 射频信号接受器（检测器）：核磁共振时，发生能级跃迁，吸收能量，在感应线圈中产生毫伏级信号。
- ❖ 样品管：外径5mm的玻璃管，测量过程中旋转，磁场作用均匀。



仪器构造

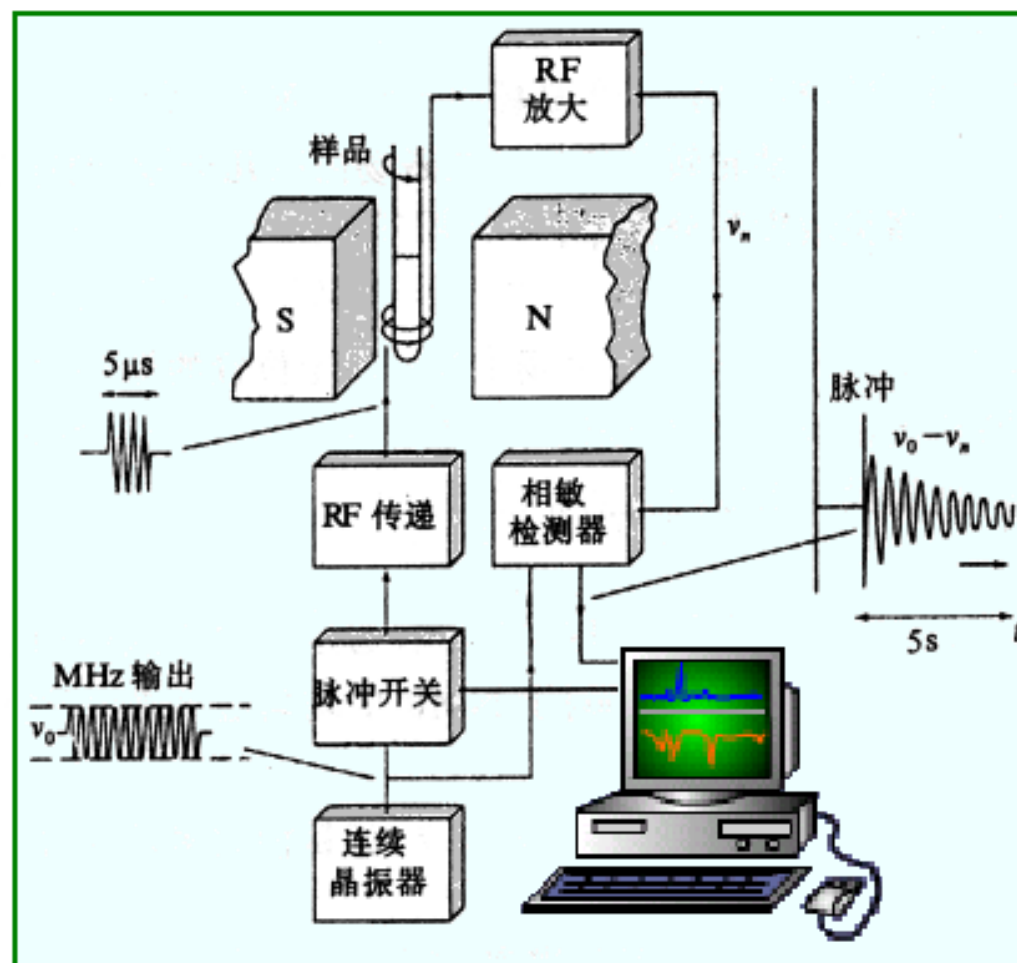
- “连续波” 核磁共振仪的构造：
 - ❖ 单频发射接收方式：扫场线圈在磁体产生的外磁场基础上连续做微小的改变，扫过全部可能发生共振的区域
 - 避免信号畸变，扫描速度必须很慢，每张谱耗时数分钟；
 - 通常需要累积扫描次数来提高信噪比，耗时更长。对仪器稳定性要求很高。



仪器构造

- “脉冲傅里叶变换”核磁共振仪的构造（PFT-NMR）：

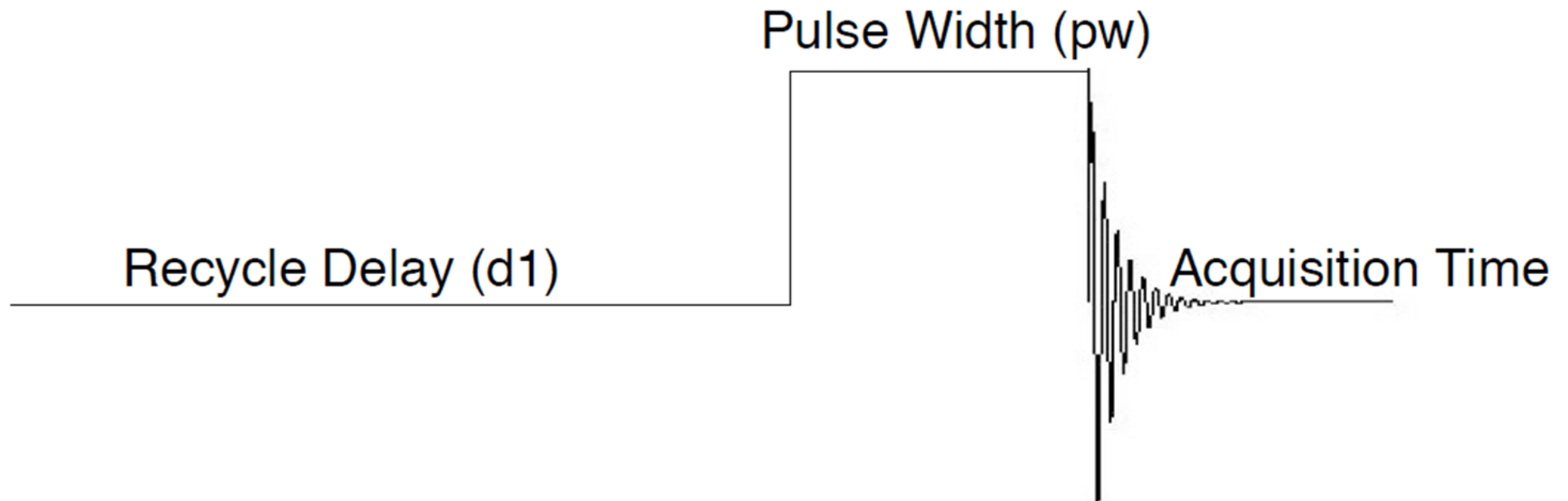
- ❖ 不是通过扫场或扫频产生共振；
- ❖ 恒定磁场，施加**全频脉冲**，产生共振，采集产生的感应电流信号，经过傅立叶变换获得一般核磁共振谱图。



PFT-NMR 谱仪工作框图

仪器构造

- “脉冲傅里叶变换” 核磁共振仪的工作模式：
 - ❖ 同时发射多种频率的电磁波，使不同种原子核同时激发。

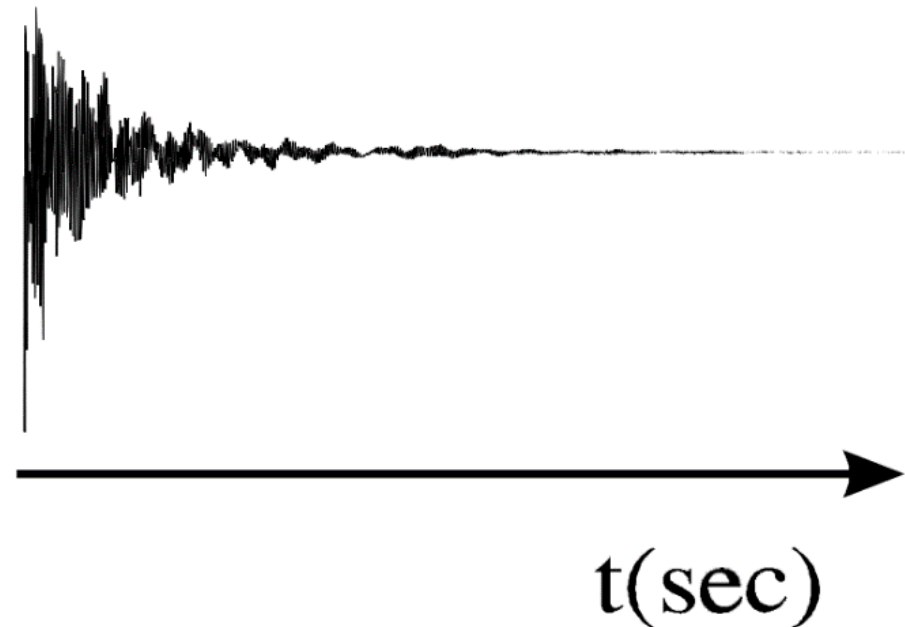


与连续波共振仪不同：不直接测量共振频率，而是测量核磁共振时产生的感应电流随时间衰减。

仪器构造

- 时间域的核磁信号：
 - ❖ 实际观测到的感应电流信号是逐渐衰减的周期性（正余弦）函数，称为“自由感应衰减”（free induction decay, FID）
 - ❖ 实际观测到的感应电流信号是多个周期性函数的叠加(卷积)

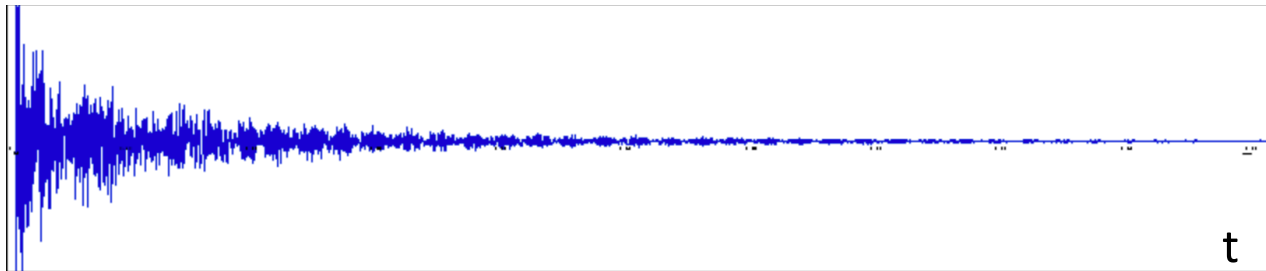
typical ^1H FID of a complex compound (cyclic hexapeptide)



仪器构造

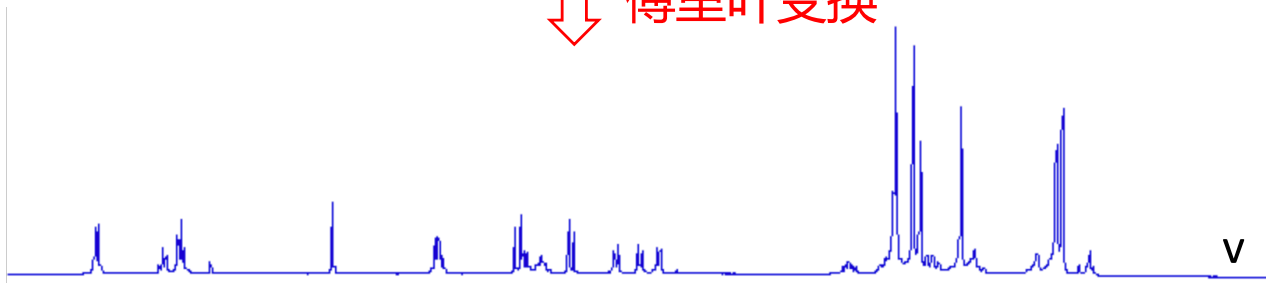
- 傅里叶变换得到该时间域信号的频率域组成：
- ❖ 傅里叶变换：通过时间域的信号变化 $f(t)$ ，求得该信号所对应的周期性函数的频率 $f(\omega)$ 的数学方法。
→ 数学定义如下：

$$f(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{-i\omega t} dt = \int_{-\infty}^{\infty} f(t) [\cos(\omega t) - i \sin(\omega t)] dt$$



时域

↓ 傅里叶变换



频域

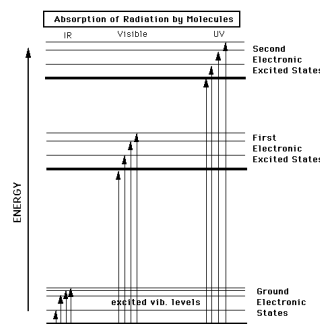
仪器构造

- 傅里叶变换核磁共振仪的优点

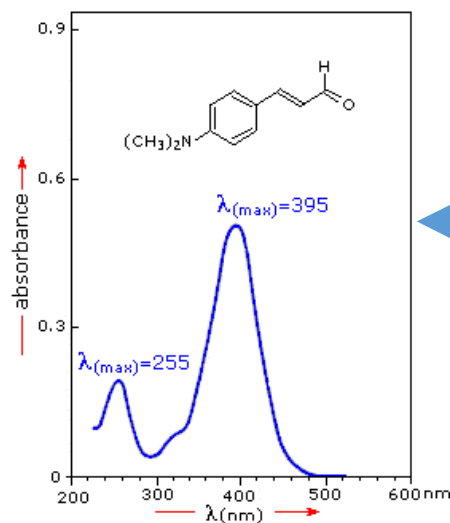
1. 灵敏度和分辨率高：从核磁信号强的 ^1H ， ^{19}F 到核磁信号弱的 ^{13}C 和 ^{15}N 原子核均能测定
2. 测定速度快：一个脉冲就可以得到一个FID信号，一次脉冲仅为毫秒，一张谱图只需几秒-几十秒；可以动态过程、瞬变过程以及反应动力学分析
3. 用途更广泛：如各种二维谱图

课程总概

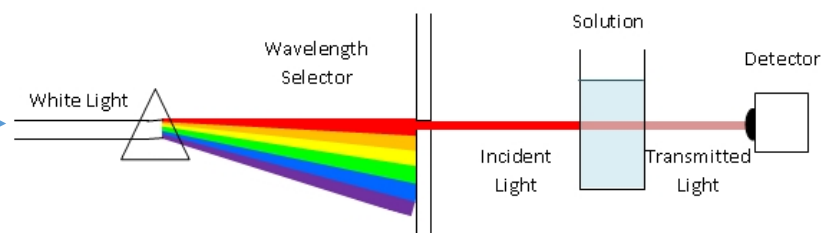
- 从物理原理，到仪器构造，到实际应用的知识框架



物理原理



实际应用



仪器构造

核磁共振波谱仪的广泛应用

化学与材料

- 结构确定
- 化学鉴定
- 聚合物特性研究
- 催化研究

核磁共振是有机合成的眼睛！

.....

生物与医药

- 药品筛选与研发
- 蛋白质结构研究
- 代谢组学
- 成像（人体成像和动物成像）

.....

物理

- 量子计算

.....

工业

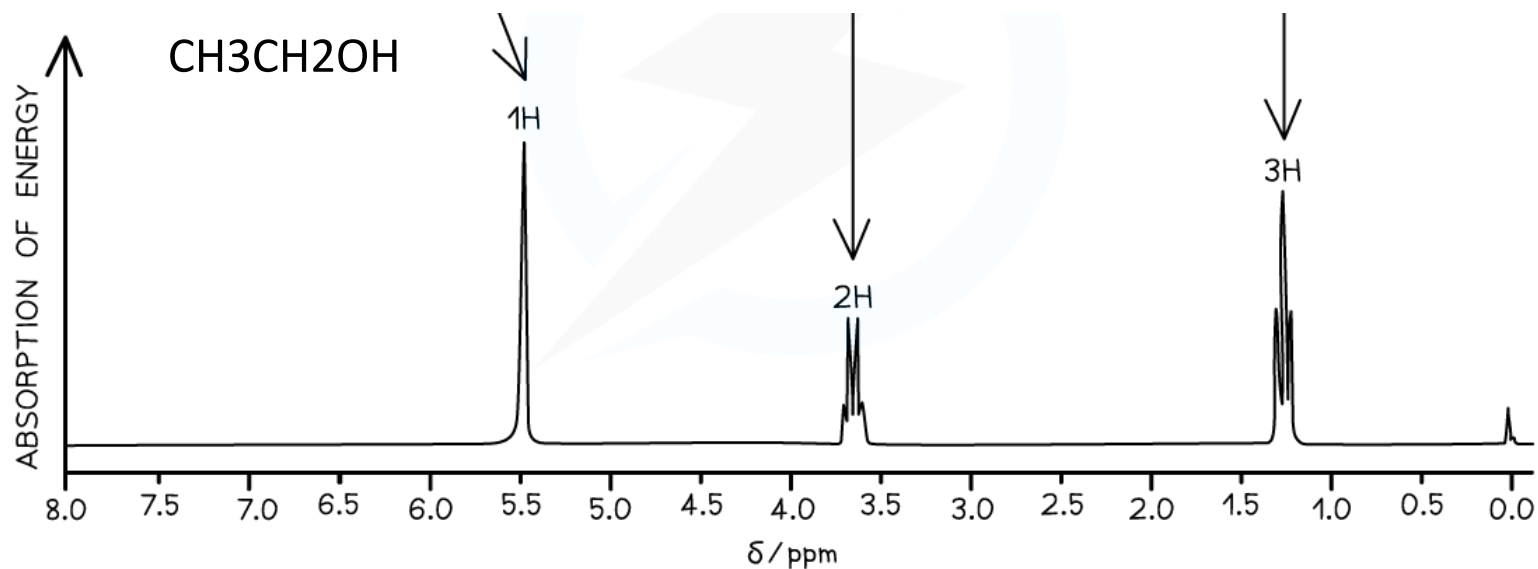
- 油井探测
- 在线质量控制
- 食品等品质检验（原产地、成分等）

.....

核磁共振的应用

1. 化学领域

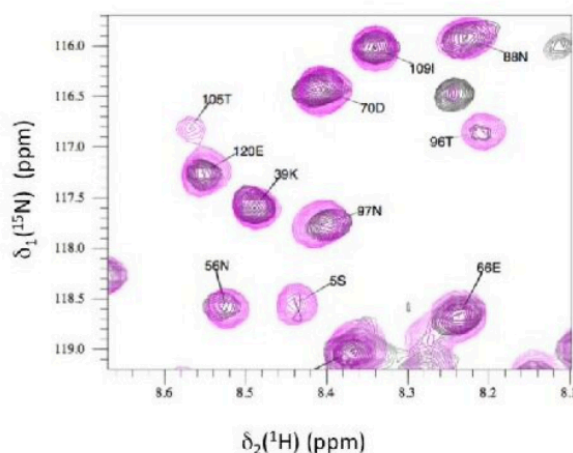
化学家发现对乙醇进行核磁共振扫描发现三个吸收信号，而这和结构中的等效氢原子密切相关，于是化学家就将核磁共振作为一种鉴别化学物质结构的一种重要方法。



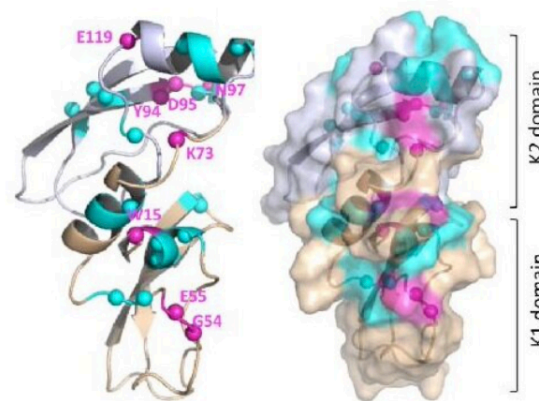
核磁共振的应用

2. 生物领域

- 测定生物大分子在溶液中的三维结构：如蛋白质的卷曲和折叠，蛋白质与核酸的相互作用等；
- 研究固体的样品中分子和分子在空间上的排列和堆积，测量无序原子间距离是结构表征的核心技术。



多种二维谱图



蛋白三维结构

核磁共振的应用

3. 医学领域

通过磁共振成像（将梯度场的概念引入了磁共振，发生共振的磁场对空间有高依赖性，可以通过磁共振的频率和场强对空间的依赖性来反推空间的性质），实现对人体的成像。

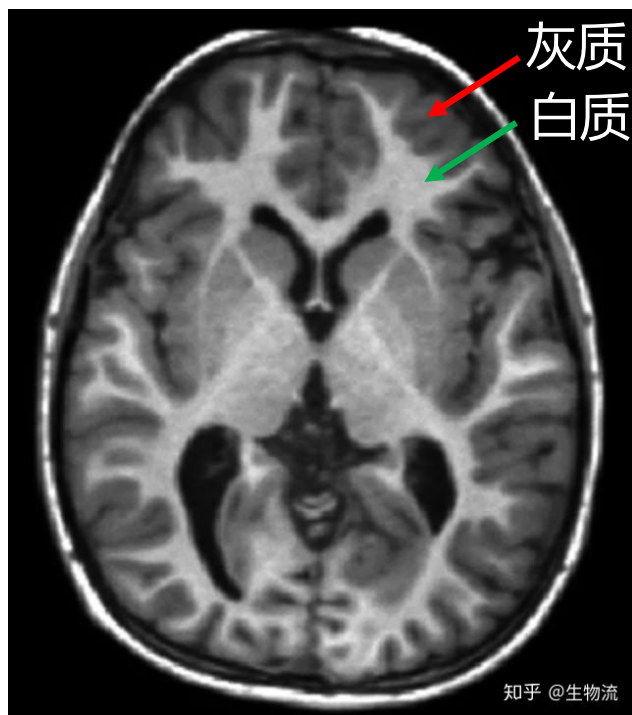
核磁共振的应用

3. 医学领域：非侵入式全脑成像

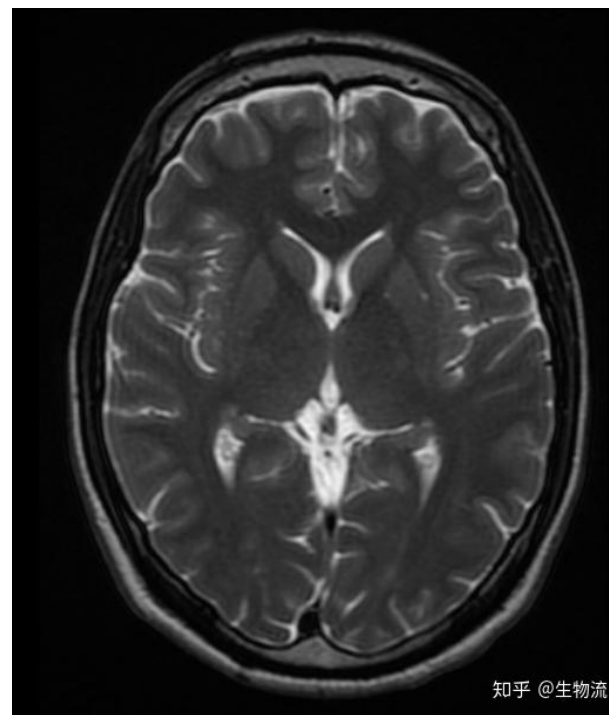
- 不同空间里的氢原子核具有不同 t_1 弛豫时间。绑定在膜磷脂大分子上的氢原子核，它们的 t_1 较长，可达4s。而位于半绑定的结构水中的氢原子核，比如半绑定于蛋白质的水分子，它们的 t_1 很短，约为0.4~0.8m。
- 基于脑内不同结构 t_1 弛豫时间的不同，核磁共振可以给出 t_1 加权，可以很好的区分大脑的灰质和白质，常用于大脑解剖结构成像。
- 不同的组织内的氢原子核 t_2 弛豫时间也不同。比如，脑组织的 t_2 弛豫时间要短于脑脊液。基于 t_2 弛豫生成的脑图像称为 t_2 加权图像

核磁共振的应用

3. 医学领域：非侵入式全脑成像



t_1 加权图像可以很好区分
大脑灰质和白质



t_2 加权图像脑脊液呈亮白色

核磁共振的应用

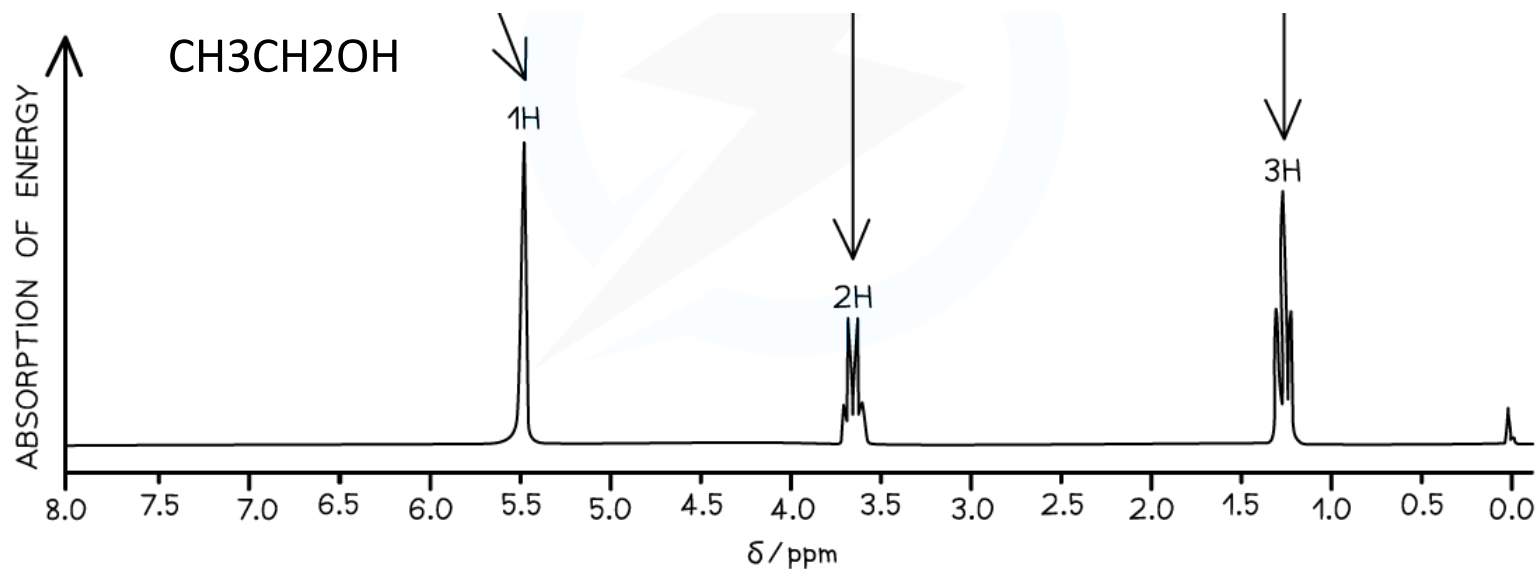
4. 其他领域：

- 用于工业产品品质的检测，如油品品质的分析；
- 勘探油气、南北极冰层的厚度、地下水源（利用地球磁场）；
- 基于金刚石色心的微观磁共振，利用金刚石里C和空位形成的缺陷，作为原子级别的探针，来探测缺陷周围的核自旋和电子自旋，能够实现纳米尺度上磁共振偏向，提高信号灵敏度等。

核磁共振的应用

1. 化学领域

化学家发现对乙醇进行核磁共振扫描发现三个吸收信号，而这和结构中的等效氢原子密切相关，于是化学家就将核磁共振作为一种鉴别化学物质结构的一种重要方法。



To be continued