
第9章 核磁共振波谱法

磁性原子核在静磁场中吸收一定频率的射频能，发生原子核自旋能级跃迁的现象称核磁共振。核磁共振波谱法(nuclear magnetic resonance spectroscopy,简称NMR)利用NMR谱参数依赖于分子结构的特性来表征分子结构，广泛应用于化学、生物、医药、材料科学、物理、石油化工等领域。随着核磁技术的不断发展，NMR不仅用于鉴定无机和有机小分子结构，也用于测定生物大分子（蛋白质、DNA及RNA等）的结构，并与冷冻电镜、X射线同步辐射并列成为测定生物大分子三大技术之一。

9.1 基本原理

9.1.1 核磁共振三要素及核磁共振条件

核磁共振三要素为磁性的原子核、外加静磁场及射频场，当这三者之间满足一定条件时，产生核磁共振吸收现象。

1. 磁性的原子核

磁性的原子核是指核自旋量子数不为零的原子核，通常这些原子核具有奇数原子序数或奇数质量序数。具有奇数质量序数的原子核自旋量子数I为半整数，例如¹H、¹³C、¹⁵N、¹⁹F和³¹P等核的自旋量子数为1/2；具有偶数质量序数、奇数原子序数的原子核自旋量子数I为整数，例如¹⁴N、²H和¹⁰B等核的自旋量子数为1；原子序数和质量序数都为偶数的原子核无自旋，例如¹²C和¹⁶O核的自旋量子数为0。自旋量子数不为零的核具有自旋角动量（即产生原子核的自旋），由于质子带正电，相当于正电荷在运动，运动的电荷即电流会感应产生磁场，因此，每一个自旋的原子核的物理图像相当于一个磁偶极子，如图9.1所示。

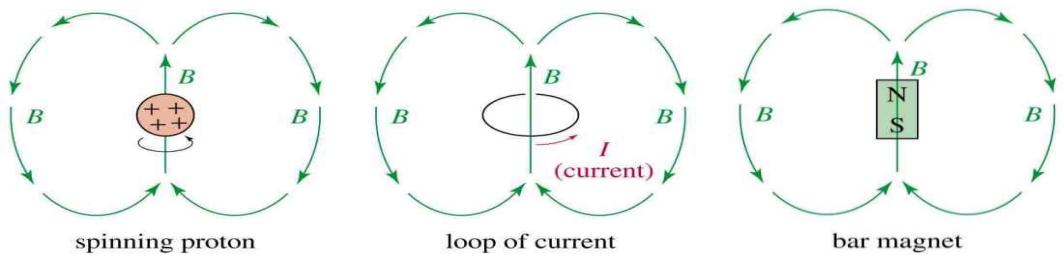


图9.1 每一个自旋的原子核相当于一个偶极子

自旋原子核产生的自旋角动量为：

$$P = \frac{\hbar}{2\pi} \cdot \sqrt{I(I+1)} \quad (9.1)$$

自旋原子核产生的核磁矩为：

$$\mu = \gamma \cdot P \quad (9.2)$$

其中， P 为自旋角动量； I 为自旋量子数； μ 为核磁矩； γ 为磁旋比，原子核在磁场中进行拉莫尔 (Larmor) 进动时的角频率与磁感应强度之比，是磁性核的特征常数，

与原子核的质量有关。氢核的磁旋比为： $\gamma = g_p \frac{e}{2m_p c}$ ，式中， g_p 为核的朗德因子， m_p 为质子的质量。

元素周期表上大部分的元素或其同位素的原子核自旋量子数都不为零，但由于自旋量子数大于 $1/2$ 的核有核四极增宽，而且有些自旋核的天然丰度很低，有些化合物没有合适的溶剂，因此，液体核磁常检测的磁性核有 ^1H 、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{19}F 和 ^{31}P 等。

2. 静磁场

为什么需要静磁场？可以用经典理论或量子力学来描述。根据经典理论，没有

外加磁场时核自旋任意取向，样品的宏观磁偶极矩M为零，即 $M = \sum_{i=1}^N \mu = 0$ ；如图9.2 (a) 所示；外加静磁场时，由于核磁矩与静磁场相互作用，相对磁场会有 $m_I = I, I-1, I-2, \dots, -I+1, -I$ ，个不同的取向。当原子核 $I=1/2$ 时，磁性核将沿着静磁场方向或反方向做拉莫尔（Larmor）进动，样品的宏观磁偶极矩M不为零， $M = \sum_{i=1}^N \mu \neq 0$ （图9.2 (b)）；

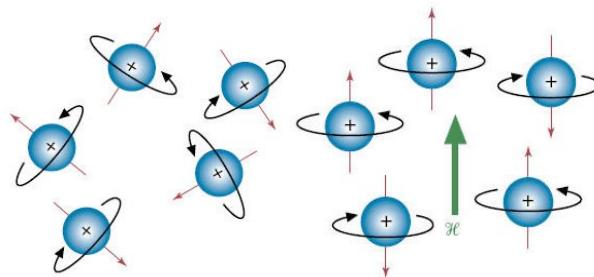


图 9.2 (a) 没有外加磁场时核自旋任意取向; (b) 外加静磁场时， $I=1/2$ 的原子核的核自旋的取向将沿着静磁场方向或反方向进行

根据量子力学描述，没有外加静磁场时，核磁矩具有相同的能量，即原子核的能量是简并的；当把含磁性核的样品放入静磁场时，由于核磁矩相对外磁场的取向不同，而具有不同的能量。核磁矩在外磁场方向上的分量 μ_H 也只能取对应的一定数值

$$\mu_H = \gamma m_I \cdot h / 2\pi \quad (9.3)$$

式中 m_I 为核自旋磁量子数， $m_I = I, I-1, I-2, \dots, -I+1, -I$ ，共 $2I+1$ 个值。也就是说，核磁矩在磁场的作用下，将原来简并的 $2I+1$ 个能级分裂开来，这些能级通常称为塞曼能级。

对于自旋 $I=1/2$ 的原子核，核自旋有两种取向：一种与外加静磁场平行，原子核的能量降低；另一种与外加静磁场反平行，原子核的能量升高，如图 9.3 所示。

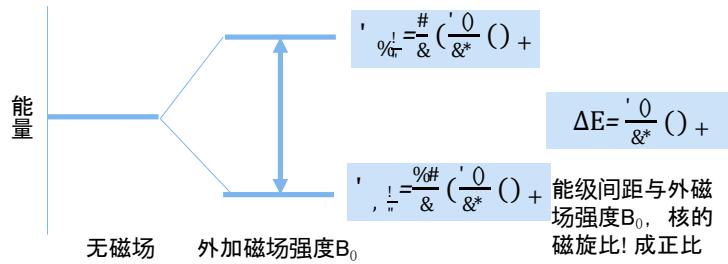


图 9.3 自旋 = 1/2 的原子核在外加磁场作用下能级裂分示意图

在核磁共振中，由于核磁能级间的差 ΔE 很小，约为 10^{-2} J，在两个核磁能级上分布的原子核数其差值也就很小。两种能量状态的原子核数服从波尔兹曼分布定律：

$$\frac{n_1}{n_2} = e^{-\frac{\Delta E}{KT}} \cong 1 - \frac{\Delta E}{KT} \quad (9.4)$$

式中 n_1 和 n_2 分别代表处于高能态和低能态的原子核数， K 是波尔兹曼常数， T 是绝对温度。已知两种能态的能级差 $\Delta E = 2\mu_B H$ ，在 $T=300$ K， $H=10000$ G 时，氢核两种能态的数目比为 0.999993。即在室温下，处于低能态核比高能态的核数只多百万分之七。核磁共振就是依靠这部分稍微过量的低能态核吸收射频能量产生共振讯号的。由此可见，核磁共振的灵敏度是比较低的。

3. 射频场及核磁共振条件

射频场是产生核磁共振的第三要素，通常在垂直于静磁场的方向施加射频场。同样，可以分别用经典理论和量子理论来描述核磁共振条件。根据经典理论，原子核产生共振吸收的条件是：

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (9.5)$$

其中 ω_0 为射频场的角频率， γ 为原子核的磁旋比，即原子核在磁场中进行拉莫尔进动时的角频率与磁感应强度之比， B_0 为外加静磁场的强度。根据量子理论，当射频场的频率 v 乘以普朗克常数 h 等于两自旋量子态的能级差值 ΔE 时，部分低能级原子核吸收光能量子跃迁到高能级， $hv = \Delta E = \frac{\gamma \cdot h}{2\pi} \cdot B_0$ ，等式两边消除普朗克

常数 h , 两边同时乘上 2π , 由于 $2\pi\nu = \omega_0$ (2π 乘以频率 ν 等于角频率 ω_0), 就得到与经典一样的结果 $\omega_0 = \gamma B_0$ 。

核磁共振谱仪通常以氢的共振频率来命名, 比如, 400 MHz 核磁共振谱仪, 是指该核磁共振谱仪氢核的共振频率为 400 MHz, 该谱仪磁体的场强为 9.395 T。由于氢核的磁旋比 γ_H 约为碳核的 γ_C 的四倍, 同一磁场强度下, ^{13}C 的核磁共振频率约为 ^1H 的 $1/4$ 。当 $B_0 = 2.35T$, 时, ^1H 的共振频率为 100.00 MHz, ^{13}C 的共振频率是 25.14 MHz; 当 $B_0 = 9.395T$, 时, ^1H 的共振频率为 400.00 MHz, ^{13}C 的共振频率是 100.58 MHz (见表 9.1。表 9.1 也给出了几种常测自旋核的天然丰度、相对灵敏度及绝对灵敏度等。天然丰度高的核, 叫丰核, 比如 ^1H (99.98%)、 ^{27}Al (100%); 天然丰度低的核, 叫稀核, 比如 ^{13}C (1.108%)、 ^{29}Si (4.9%)。检测灵敏度与激发核、检测核、共振核的个数以及磁场的强度等多种因数有关。如果以氢核作为参照, 把 ^1H 的检测灵敏度归一化为一时, ^{13}C 的绝对检测灵敏度小了约 4 个数量级, 下一部分将进一步阐述如何检测低灵敏度的磁性核。

表 9.1 几种核的 NMR 频率表

核	自 旋	自然 丰 度%	灵敏度		场强 (T) 与 NMR 频率 (MHz)				
			相对	绝对	2.114	2.349	7.046	9.395	11.744
^1H	1/2	99.98	1.00	1.00	100.000	200.000	300.000	400.000	500.000
^6Li	1	7.42	8.5E-3	6.31E-4	14.716	29.431	44.146	58.892	73.578
^7Li	3/2	92.58	0.29	0.27	18.863	77.727	116.590	155.454	194.317
^{13}C	1/2	1.108	1.59E-2	1.76E-4	25.144	50.288	75.432	100.577	125.721
^{27}Al	5/2	100	0.21	0.21	26.057	52.114	78.172	104.29	130.280
^{29}Si	1/2	4.90	7.84E-4	3.69E-4	19.865	39.730	59.595	79.460	99.325
^{51}V	7/2	99.76	0.38	0.38	26.289	52.576	78.864	105.152	131.440

9.1.2 核磁共振波谱与分子结构

核磁共振可以对含磁性核的样品进行多核、多维检测。如果检测的是¹H核，那么得到的是¹H-NMR谱；检测的是¹³C核，那么得到的是¹³C-NMR谱等，以此类推。图9.4为甲酸乙酯（C₃H₆O₂）的¹H-NMR谱，谱图上看有三个主要参数能提供分子的结构信息：

- (1) 化学位移值：谱图中的三组峰分别对应于甲酸乙酯结构式HCOOCH₂CH₃中三种不同化学环境的氢核；
- (2) 峰的裂分数目及偶合常数：-CH₂-与-CH₃分别裂分为四重峰和三重峰。
- (3) 各峰的相对面积与共振核的个数成正比。

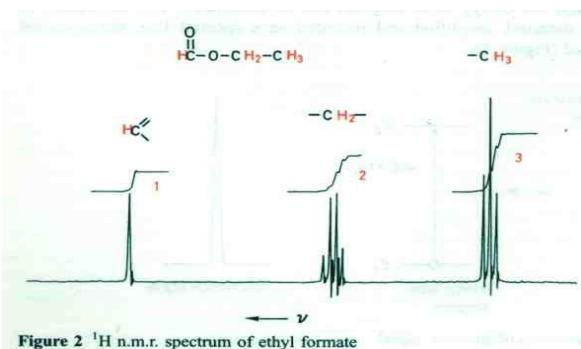


图9.4 甲酸乙酯 HCOOCH₂CH₃的¹H-NMR

本节首先介绍与分子结构相关的NMR谱参数化学位移 δ 和自旋J偶合常数，然后简介¹³C-NMR谱。

1. 化学位移

(1) 磁屏蔽与化学位移

化学位移是核磁共振波谱最重要的参数之一，它直接反映了所观测原子核周围的基团和电子分布的情况，磁性核化学位移值与其所处的化学环境密切相关。当磁场强度 B_0 一定时，对孤立的磁性核其共振频率也是一定的，但是在分子体系中，处于不同化学环境的同一种磁性核将产生不同的共振频率。这种由于磁性核周围化学

环境不同，使其共振频率相对孤立的磁性核的共振频率发生位移的现象叫作化学位移。化学位移的定义式为，

$$\Delta\nu = \nu_0 - \nu = \gamma B_0 \sigma / 2\pi \quad (9.6)$$

其中， $\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi$ 为孤立原子核的共振吸收频率。原子核的屏蔽常数 σ 数值约为 10^{-5} 数量级，因此屏蔽磁场强度很小，当外磁场强度 B_0 为一万高斯（1 特斯拉）， σB_0 不超过 0.1 高斯。因此，化学位移值相对于共振吸收频率是一个很小的值。

化学位移源自原子核外电子云的磁屏蔽效应。图 9.5 为氢原子核外 1s 电子屏蔽示意图，尽管外加静磁场的强度为 B_0 ，但由于屏蔽效应，氢原子核并不真正感应到外加静磁场的强度 B_0 ，而是感应到所处环境局域磁场的强度：

$$B_{local} = (1 - \sigma) B_0 \quad (9.7)$$

其中 σ 为屏蔽常数， σ 随着原子核所处的化学环境变化而变化，因此，原子核在不同的化学环境中感应到不同的磁场强度。相应地，原子核的共振吸收频率为

$$\nu = \gamma B_0 (1 - \sigma) / 2\pi \quad (9.8)$$

如果原子核所处化学环境及磁环境不同， σ 将不同，振吸收峰落在不同的位置上；反之，如果原子核的化学环境及磁环境是完全等价的，那么，共振吸收峰频率相同，谱峰落在同一位置上。例如，富勒烯 C60 的固体 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱只出现唯一的单峰，在实验上无可辩驳地证实了理论化学家的推测——C60 的 60 个碳原子化学环境完全等价。

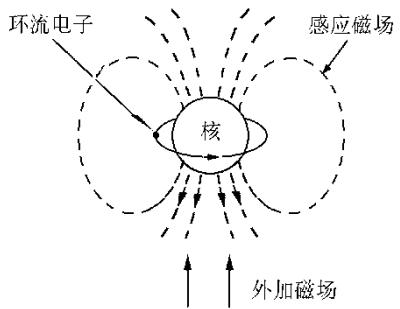


图 9.5 H 原子核外有 1s 电子屏蔽

从(9.5)式可以看到化学位移与磁场强度成正比，使用磁场强度不同的核磁共振谱仪，测得的化学位移将有不同的数值。这给实际的应用带来很多麻烦。为了统一标定化学位移的数据，化学位移采用了相对值，用一个标准的参考物质代替定义中的孤立的原子核，检测样品与标准物质的共振频率的相对差 δ 就定义为该试样核的化学位移

$$\delta = (\nu_{\text{样}} - \nu_{\text{标}})/\nu_{\text{标}} \quad (9.9)$$

$\nu_{\text{样}}$ 和 $\nu_{\text{标}}$ 的数值很大，其相对差值很小， δ 值一般是 ppm (Parts Per Million, 百万分之一) 数量级。为了方便和规范起见，统一将(9.9)式中分母的 $\nu_{\text{标}}$ ，改用射频频率中心频率 ν_0 代替，并乘以 10^6 ，即

$$\delta = (\nu_{\text{样}} - \nu_{\text{标}})/\nu_0 \times 10^6 \quad (9.10)$$

这就是化学位移的一般表达式。

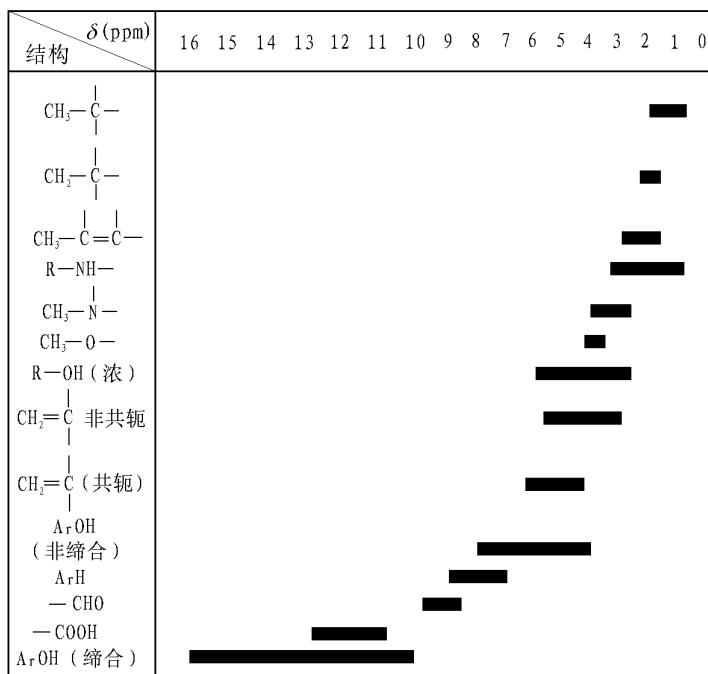
氢核核磁共振通常所采用的标准物质是四甲基硅烷 $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ (简称 TMS)或 DDS。规定 TMS 的化学位移为零，其它氢核的化学位移一般都在 TMS 的左侧，化学位移变化范围在 0~10 ppm 之内。

(2) 化学位移与分子结构的关系

根据化学位移定义式(9.6)，化学位移值与屏蔽常数 σ 成正比。影响屏蔽常数 σ 的因素通常可分为分子内和分子间两类。分子内因素包括成键电子的诱导效应、共轭效应、磁各向异性、环流效应、分子内氢键效应和范德华相互作用等，而分子间

因素主要包括溶剂效应、分子间氢键效应和范德华相互作用等。以诱导效应为例，当所检测的原子的电负性小于与其成键的原子（或官能团）时，磁性核外的电子被电负性大的原子（或官能团）吸走一部分，原子核外的电子云密度减小，称该原子核被去屏蔽，其化学位移往低场移动、化学位移值增大；反之，当所检测的原子的电负性大于与其成键的原子（或官能团）时，该原子吸引电负性小的原子（或官能团）的部分电子，原子核外的电子云密度增大，称该原子核被正屏蔽，其化学位移往高场移动、化学位移值减小。例如，I、Br、Cl 和 F 的电负性分别为 2.1、2.5、2.8、3.0 和 4.0，甲烷 CH₄ 与单取代甲烷 CH₃I、CH₃Br、CH₃Cl 和 CH₃F，CH₃ 的化学位移依次为 0.13、1.98、2.45、2.84、4.13 ppm，取代基的电负性越大，拉电子能力越强，C 核的正电性越高，吸电子能力越强，CH₃ 上的氢核被去屏蔽，化学位移往低场移动、化学位移值增大。

表 9.2 是氢核核磁共振的化学位移值。化学位移主要用于分子结构中的基团鉴定。从化学位移表中可以看到，各类基团都具有一定的特征性，处在同一类基团中的氢核其化学位移相似，共振峰都在一定范围内出现。例如，-CH₃ 中氢核的化学位移在 0.8~1.5 ppm，芳环中氢核的化学位移在 6.5~8.0 ppm，羧基在 9~13 ppm。到目前为止，人们测定了大量化合物的质子化学位移值，建立了分子结构与化学位移的经验关系式。这些经验数据和经验关系式对化合物的结构鉴定是非常有用的。**常用氘代溶剂中残存质子峰的化学位移值和常用内标准物质的化学位移值见附录。**



2. 偶合常数

(1) 自旋偶合和偶合常数

在图 9.4 的 $\text{HCOOCH}_2\text{CH}_3$ 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱中，不仅观察到三组峰，还观测到多重峰其中 $-\text{CH}_2-$ 为四重峰， $-\text{CH}_3$ 为三重峰。这种多重峰的出现与外磁场强度无关，是由于分子中相邻或者近邻氢原子核自旋相互偶合产生的。在同一分子中，这种核自旋与核自旋通过成键电子对间接传递相互作用的现象叫自旋-自旋偶合或间接偶合，偶合作用的大小由偶合常数 J 表示，其单位是 Hz。当两个偶合的自旋核的化学位移之差远大于它们之间的偶合常数时，称为弱偶合；当两个偶合的自旋核的化学位移之差与它们之间的偶合常数在同一数量级时，称为强偶合。弱偶合体系满足 $2nI+1$ 裂分规则，其中 I 为自旋量子数。对自旋 $I=1/2$ 的弱偶合体系，满足 $n+1$ 裂分规则，即一个自旋 $I=1/2$ 的原子核，如果与 n 个自旋 $I=1/2$ 的原子核相互偶合，那么该原子核的谱峰将裂分为 $n+1$ 重峰，各峰的强度比满足二项式展开系数。例如，在图 9.4 甲酸乙酯 的 $^1\text{H-NMR}$ 谱中， CH_2 与 CH_3 偶合，裂分为 $3+1$ 重峰，峰高比

为 1:3:3:1； CH_3 与 CH_2 耦合，裂分为 2+1 重峰，峰高比为 1:2:1。对于弱偶合体系，谱线裂分是等间距的，间距值即为偶合常数。所有异核之间的偶合都是弱偶合，比如 $^1\text{H}-^{13}\text{C}$, $^1\text{H}-^{19}\text{F}$ 、 $^1\text{H}-^{31}\text{P}$ 偶合等等。对于强偶合体系，谱线裂分情形比较复杂，谱线裂分不是等间距，各峰的强度也不满足二项式展开系数，通常呈现屋顶效应（中间高、两边低），偶合核的化学位移及偶合常数需要依据实验数据及相应偶合体系的公式来计算。

(2) 偶合常数与分子结构的关系

偶合常数一般在几个 Hz 到几十个 Hz 之间，它反映了相邻或近邻核自旋偶合的强度，是一个只与分子结构本身有关的属性，影响偶合常数的因素有相隔的化学键的个数、化学键的键长、键角、二面角、取代基效应等。偶合常数通常写为 ${}^n\text{J}_{\text{自旋核-自旋核}}$ ， n 表示两个偶合核相隔的化学键的个数，下标表示偶合核。比如，隔了三个化学键的氢核-氢核偶合常数可写为： ${}^3\text{J}_{\text{H-H}}$ ，隔了三个化学键的氢核-碳核偶合常数可写为： ${}^3\text{J}_{\text{H-C}}$ 等等。二面角与 ${}^3\text{J}$ 的经验关系常用于判断分子的构象：当偶合核之间的二面角接近 0 或 180 度时，偶合常数比较小（比如 ${}^3\text{J}_{\text{H-H}}$ 约为几 Hz），当偶合核之间的二面角接近 90 度时，偶合常数比较大（比如 ${}^3\text{J}_{\text{H-H}}$ 约为十几 Hz）。在饱和烃化合物中，自旋偶合效应一般只能传递到第三个单键。越过三个单键，偶合作用趋于零。但在共轭体系化合物中，偶合作用可沿共轭链传递，往往能观测到四个键以上的远程偶合现象。有些立体结构化合物也有三个键以上的偶合。表 9.3 列出了一些常见氢核的偶合常数。

表 9.3 偶合常数表

结构类型	$J(\text{Hz})$	结构类型	$J(\text{Hz})$	结构类型	$J(\text{Hz})$
$\text{H}-\text{H}$	280		5~6		>20
	2~3		0~7		1~3.5
	6~14		4~10		0~1.6
	11~18		0.5~3.0		10~13

	2~3		1~3		2~4
	X=O H1~H2 1~2 X=N H1~H2 2~3 X=N H1~H2 5.5		间位 2~3 对位 0.5~1 邻位 7~10		

3. ^{13}C -NMR 谱

一维 ^{13}C 谱主要提供 ^{13}C 化学位移信息。常规 ^3C 谱都要对 ^1H 进行去耦（表示为 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ ），这一方面可以提高灵敏度，另一方面可以简化谱图。因为 ^{13}C 的天然丰度仅为 1.108%， ^{13}C 的旋磁比约为 ^1H 的 1/4，绝对灵敏度比 ^1H 小 4 个数量级。若不对 ^1H 进行去耦，那么 CH、CH₂、CH₃ 的 ^{13}C 将分别裂分为 2、3、4 重峰，其最低峰高分别为 ^{13}C 单峰的 1/2、1/4、1/8，这不仅降低谱线的灵敏度，而且增加了谱线的复杂程度。对 ^1H 进行去耦辐照时， ^1H 与 ^{13}C 之间会产生偶极相互作用，使得 ^{13}C 的谱线得到 NOE 增强。此外，常规 ^{13}C 谱实验在累加采样时，延迟等待时间通常设为 2~3 秒，而某些 ^{13}C 的纵向驰豫时间高达几十秒，因此， ^{13}C 谱的谱线积分值与 ^{13}C 核的个数不成正比。如果需要用 ^{13}C 谱确定 ^{13}C 核的数目，那么必须（1）做反门控去耦实验，即延迟等待期间不对 ^1H 进行去耦辐照，只有采样期间对 ^1H 进行去耦辐照，这样可避免 NOE 增强，但降低了谱图的信噪比；（2）将延迟等待时间设得足够长（比如 50 秒），使得纵向驰豫时间较长的 ^{13}C 可以充分恢复到平衡态，从而使谱线积分值与 ^{13}C 核的个数成正比，但这样一来，所需实验时间较长。

如果需要区分碳的种类，可做 ^{13}C -DEPT 实验。在 Bruker 的 NMR 谱仪上，通常要做三个谱，即常规 ^{13}C NMR 谱、DEPT90 及 DEPT135。常规 $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR 谱包含伯仲叔季四种碳的信号，DEPT90 谱理想的情况只出现次甲基 CH 的峰，DEPT135 谱可得到伯仲叔三种碳的信号，其中 CH 和 CH₃ 为正峰，CH₂ 为负峰。

9.2 核磁共振波谱仪

核磁共振谱仪是激发和检测核自旋响应的仪器：按磁场源可以分为永久磁体、电磁体和超导磁体谱仪；按氢核的共振频率可分为 60、80、100、200、300、400、500、……800 MHz 甚至 1.2 GHz 谱仪；按谱仪的工作方式可以分为连续波核磁共振波谱仪（Continuous Wave NMR, CW-NMR）和脉冲傅立叶变换核磁共振波谱仪（Pulse Fourier Transform NMR spectrometer, PFT-NMR）。下面简要介绍核磁共振波谱仪的基本结构、PFT-NMR 的工作原理及核磁共振实验操作简介。

9.2.1 核磁共振波谱仪的基本结构

核磁共振波谱仪由磁体、探头、波谱仪和附属设备组成：磁体的功用是产生一个恒定的磁场；探头是核磁共振波谱仪的心脏部分，安装在磁体的中央，用来激发和检测核磁共振信号；波谱仪包括射频源、信号接收放大系统和显示记录系统等；附属设备有锁场控制、匀场控制、进样及样品管旋转系统等。

1. 磁体

通常使用的磁体有三种类型：电磁铁、永久磁体和超导磁体。电磁铁最高磁场强度可达 2.3 特斯拉 (T) ($1\text{T} = 10^4$ 高斯)，永久磁体可达 2.1 T，超导磁体新近已可达 28.2 T。目前大部分核磁共振谱仪使用的是低温超导磁体，由嵌入铜线的 $(\text{NbTaTi})_3\text{Sn}$ 超导材料制成。图 9.6 为低温超导磁体的示意图。磁体线圈浸泡在液氦中 (4.2K) 具有超导性（即电阻为零），对线圈进行充电后，电流在线圈中作恒定流动，从而产生恒定磁场。电流越强，磁场就越强，谱仪的分辨率和灵敏度就越高。而超高磁场(>18.8 T)的产生需要磁体线圈处在~ 2 K(低压液氦环境中)。

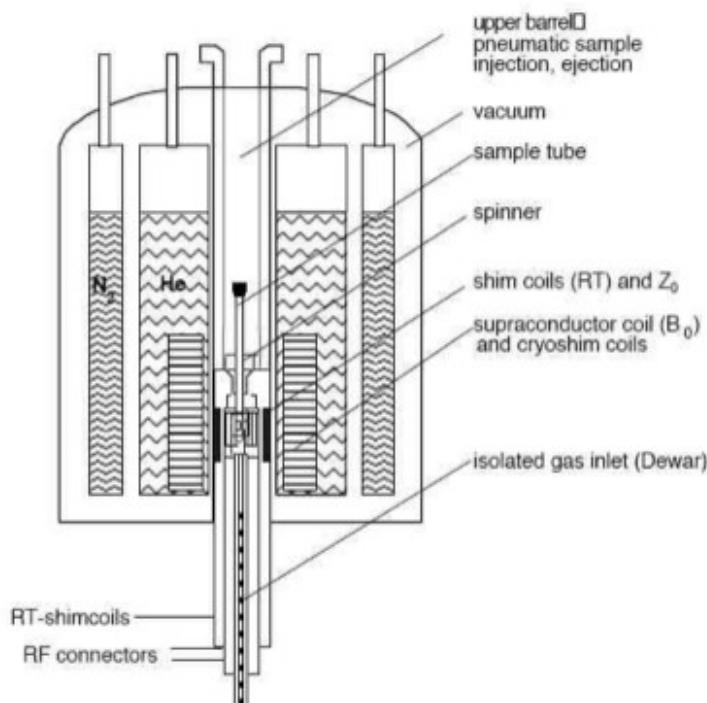


图 9.6 为低温超导磁体的示意图

多年来，超导磁体受限于 23.5 T 的磁强，相当于 1.0 GHz 的质子共振频率。这一限制是由金属低温超导体 (LTS) 的物理特性设定的，2009 年，法国里昂超高场 NMR 中心的 Avance® 1000 波谱仪首次达到这一场强。近年来，布鲁克利用 20 世纪 80 年代首次发现的高温超导体(HTS)，采用 LTS 和 HTS 的新型混合设计打造超高场磁体。布鲁克全新超高场磁体内部采用先进的高温超导体 (HTS) ，外部采用低温超导体(LTS)，最高磁场强度可达 28.2 T，对应的质子共振频率为 1.2 GHz。磁场越强，谱仪的分辨率和灵敏度就越高。

2. 探头

探头安置在磁体中央的常温腔口内，用于安放实验样品、检测核磁共振信号，是核磁共振实验装置的关键部件。探头除了含发射射频和接收射频信号的线圈外，还包含用于锁场的锁场线圈、提供梯度场的梯度场磁线圈等，图 9.6 为探头内部结构示意图。由射频源产生的与磁场强度相适应的射频电磁波送到探头上的发射线圈，发射线圈向样品辐射电磁波，样品发生共振时，探头上的接收线圈感应出共振信号，

然后送到谱仪中去。市面上的探头有上千种，可分为液体探头和固体探头，前者用于检测液体样品，其放置样品的空腔与静磁场方向一致，后者用于检测固体样品，其放置样品的空腔与静磁场方向成 54.7 度；液体探头依其容纳样品管直径的大小，可分为 3mm、5mm 及 10mm（也称宽腔）探头等；依其检测共振核的个数，可分为双共振探头、三共振探头、四共振探头；依液体探头的检测线圈的位置，可以分为正相探头（杂核 ^{13}C 、 ^{15}N 在里圈、 ^1H 在外圈，可以增加杂核的检测灵敏度）、反相探头（ ^1H 在里圈，杂核 ^{13}C 、 ^{15}N 在外圈，氢核的检测灵敏度高，适用于 HSQC、HMBC 等实验）；检测频率较宽的探头，称宽带探头；为了提高检测灵敏度，而利用超低温的氦气来冷却探头检测线圈到 20K 左右的探头，称超低温探头。此外，市面上还有微量探头、成像探头等等。为了得到最佳检测效果，通常一台核磁共振波谱仪可以同时配备多种探头，按照不同的测试目的，随时更换探头。

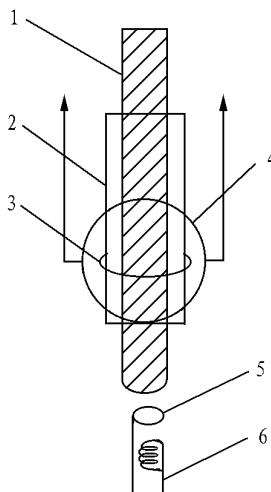


图 9.7 探头内部结构图

1. 样品管 2. 样品管套

3. 发射线圈 4. 接收线圈

5. 调制线圈 6. 匀场线圈

3. 波谱仪

波谱仪部分包括射频源、信号接收放大系统和显示记录系统。射频源能产生所需要的射频电磁波。要求射频电磁波的频率和幅度具有高度稳定性，并有一个衰减器可以控制调节加到探头发射线圈上的射频电平。接收到的核磁共振信号进入谱仪的接收放大系统，经过一系列检波、放大，最后送到显示记录系统。显示记录系统包括积分器、示波器和记录仪。最后得到的是以频率和幅度为坐标轴的核磁共振谱图。

4. 其它装置

核磁共振波谱仪除了上述三个主要部分以外，一般都备有以下几种装置。

(1) 锁场控制

锁场控制可以补偿外界环境对磁铁的干扰，提高磁场稳定性。锁场控制分作两部分，一部分是利用磁通稳定器补偿快速的干扰；另一部分是场频联锁回路，用于补偿磁场慢变化。

快补偿部分工作时还要利用磁极间的两个线圈，一个叫拾磁线圈，另一个叫补偿线圈。拾磁线圈检取磁场的快速波动送到磁通稳定器，磁通稳定器反馈一定的电流给补偿线圈，使补偿线圈产生一个恰好抵消外干扰的磁场。

场频联锁回路工作时是监视一个核磁共振信号。当磁场缓慢飘移时，信号会同步移动，移动后的信号会给出一个电压信号，这个电压信号送到磁通稳定器，会输出一个补偿电流到补偿线圈中，以补偿磁场飘移。作监视用的核磁共振信号可以是试样本身信号，一般称为内锁；也可以是另外一个信号，称为外锁。在测量试样时，要保证仪器锁场控制工作正常，这样才能获得准确的谱图。

(2) 匀场控制

匀场控制可以提高磁场的均匀性，改善波谱仪的分辨能力。各类波谱仪使用的匀场控制所包含的匀场线圈数量不同，一般使用的匀场线圈是七对到十二对，这些线圈是对称地安装在磁极的两极面上，每对线圈通电后都能产生一特定形状的磁场。调节各对匀场线圈中的电流，即能改变两磁极间磁力线的分布。磁力线分布越均匀，核磁信号就越强、谱线宽度也越小。适当的调节匀场线圈可将磁场均匀性提高 1~2 个数量级。

(3) 进样及样品管旋转系统

进样系统包括各种尺寸的转子、空气压缩机、空气过滤器、流量指示器、转速指示器和气体流量控制阀等。有些谱仪配有自动进样器。样品管在探头内旋转（一般转速设为 20Hz）可以消除一部分水平方向磁场的不均匀性。

此外，一般还备有变温附件。可使温度在-100°C到+200°C范围内改变。

9.2.2 PFT-NMR 谱仪的工作原理

核磁共振波谱仪的工作方式有两类：连续波扫描方式（CW-NMR）和脉冲傅立叶变换方式（PFT-NMR）。CW-NMR 通过改变静磁场的强度(扫场)或改变射频发射机的频率(扫频)来实现不同化学环境下的被观察核的核磁共振条件 $\omega = \gamma B_0 (1 - \sigma)$ ，这相当于逐一地单一频率激发磁性核，其检测的是频率域的信号。CW-NMR 的主要缺点是检测效率和灵敏度都较低，难以检测天然丰度较低及磁旋比较低的原子核，例如，用 CW-NMR 谱仪就难以检测 ^{13}C 、 ^{29}Si 的磁共振信号。PFT-NMR 则用极短的射频脉冲 (μs 级) 激发磁性核，检测时间域自由衰减信号 (Free Induction Decay，FID)，然后将 FID 信号经傅立叶变换转化成频率域信号，得到核磁共振波谱（相当于多通道多频率激发磁性核）。傅里叶变换概念的引入，不仅极大地提高检测效率（几秒钟即获得一张全谱的信息），也极大地提高了检测灵敏度。

1. PFT-NMR 的工作原理

PFT-NMR 的思想方法是用极短的射频脉冲 (μs 级) 激发磁性核，检测时间域自由衰减信号 FID，然后将 FID 信号经傅立叶变换转化成频率域信号。

(1) 用极短的射频脉冲激发磁性核

图 9.8(a) 表示用于激发检测样品的脉冲序列，激发脉冲为矩形方波，持续时间 T_p 为 μs 数量级 (10^{-5} s 左右)，射频脉冲的振荡频率 v_0 接近于检测核在该谱仪磁场下的拉莫尔进动频率，图 9.8(b) 表示矩形方波经傅立叶变换得到频率域的各谐波分

量。如图 9.7(b)所示，在时间域用频率为 ν_0 的短脉冲激发样品时，相当于在频率域同时用多个射频脉冲激发样品，这些多个射频脉冲的中央频率是 ν_0 ，激发频率的覆盖范围是 $2*1/T_p$ ，频率间距为 $1/T$ 。例如，使用 500 MHz PFT-NMR 谱仪检测质子谱时，假设 ν_0 为 $500 \text{ MHz} + 5 \times 500 \text{ Hz} = 500.0025 \text{ MHz}$ ，脉冲持续时间 T_p 为 10^{-5} s ，脉冲周期时间 T 为 2 s ，那么，这样的脉冲序列激发样品，激发频率覆盖范围从 $500.0025 \text{ MHz} - 10^5 \text{ Hz}$ 到 $500.0025 \text{ MHz} + 10^5 \text{ Hz}$ ，激发频率间隔为 0.5 Hz ，相当于同时有 $(2*1/T_p) / (1/T) = 2*10^5/0.5=4*10^5$ 个射频脉冲同时激发样品。通过调节 T 和 T_p 可使谐波分布包括整个共振区，这样射频脉冲就相当于一个多道发射机，核的共振信号瞬时全部被激发。这极大地提高了激发样品的效率，因而测量时间大大缩短，便于作多次累加。信噪比与累加次数的平方根成正比，这样就大大地提高了仪器的灵敏度。自从脉冲付里叶变换核磁共振波谱仪问世后，核磁共振测量的核从 ^1H 、 ^{19}F 扩展到灵敏度很低的 ^{13}C 、 ^{15}N 等核，大大扩展了核磁共振的应用范围。

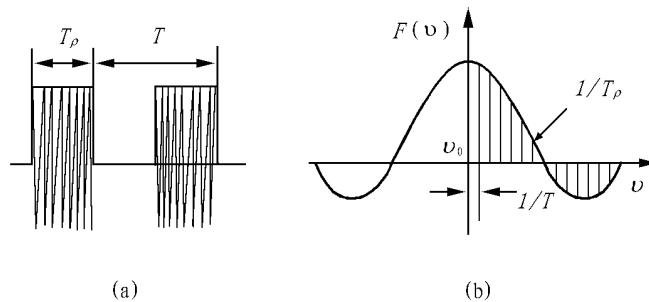


图 9.8(a) 射频脉冲, (b) 谐波分量

(2) 检测时间域自由衰减信号 FID

探头中的接收线圈这时接收到的信号是复杂的频率干扰图，强度随时间逐渐衰减，称作自由感应衰减信号，如图 9.9 所示。

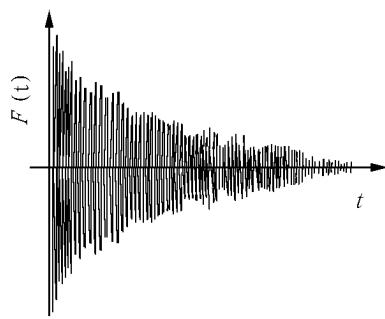


图 9.9 自由感应衰减信号

(3) 将 FID 信号经傅立叶变换转化成频率域信号

FID 是时间域的函数。接收机将接收到的共振信号送到射频放大器放大，再经射频检波后送到计算机。计算机将收到时间域的自由感应衰减信号进行付里叶变换，

$$F(v) = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) \exp(+i2\pi vt) dt \quad (9.11)$$

得到频率域的信号，即核磁共振谱图。

2. 谱仪的主要性能指标

核磁共振波谱仪主要性能指标有三项：分辨率、灵敏度和稳定性。

(1) 分辨率

分辨率是指波谱仪分辨相邻谱线的能力。分辨率越高、谱线越窄，能被分开的两峰间距就越小。简易型波谱仪分辨率约为 $0.6^{\sim}1.0$ Hz，研究型波谱仪一般为 $0.1^{\sim}0.3$ Hz。通常用乙醛作标准样品，乙醛的-CHO 基是四重峰，取其最左边峰的半峰宽作为衡量分辨率的指标。分辨率高则半峰宽小，如图 14.9(a)。影响仪器分辨率的主要因素是磁场的非均匀性。

(2) 灵敏度

灵敏度是衡量波谱仪检测最小量试样的能力。用乙苯作测试样品，配成 1% CCl_4 的溶液。它的 CH_2 基团也是四重峰，取最高峰的高度为 S，基线最大噪音高度为 N，则灵敏度定义为：灵敏度= $SN \times 2.5$ (14.13) 如图 14.9(b)。简易型波谱仪灵敏度约为 20~30，而高分辨率波谱仪一般都在 50 以上，并和所采用样品管的直径有关，样品

管直径大，灵敏度也高。

(3) 稳定性

稳定性没有统一指标，但它是一个很重要的仪器性能，一般用信号的飘移来衡量稳定性。短期稳定性是指信号飘移要小于 $0.2 \text{ Hz}\cdot\text{h}^{-1}$ ；长时间稳定性是指信号飘移小于 $0.05 \text{ Hz}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

高稳定性的波谱仪，除仪器本身采取各种补偿措施外，还要满足仪器对外界环境的要求，如温度变化、振动、电磁干扰等都不能超过仪器规定的指标。

3. Bruker Advance III 500M NMR 波谱仪

目前国内 95% 以上的高校、研究所、检测机构和企业等使用的都是 Bruker 核磁共振波谱仪，计算机工作站的操作软件为 Topspin。

(1) 谱仪硬件

Bruker Advance III 500M 波谱仪主要由三个部分组成(见图 9.11): 磁体和磁体控制台(右边 2 个单元)，包括探头、前置放大器、相关的电子和气流控制元件等；NMR 控制台(中间单元)，包括射频源、频率合成器、电源、数据控制系统等；主机(左边)，包括计算机工作站、打印机、外部数据存储器、远程状态显示器等。

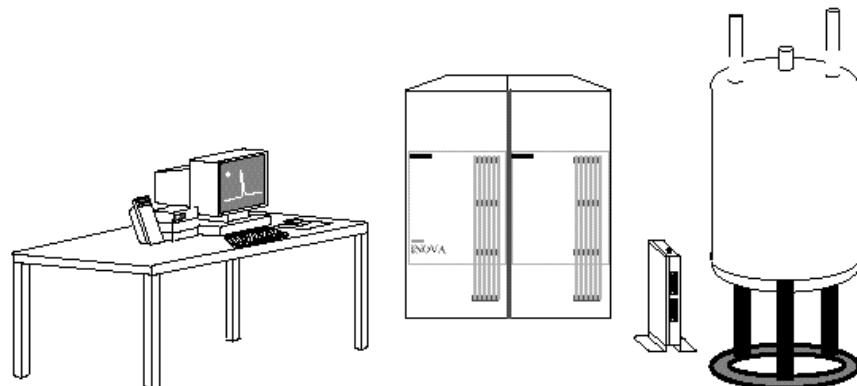


图 9.10 Bruker Advance III 500M NMR 波谱仪结构图

(2) 谱仪软件 Topspin

Topspin 是一个用户界面十分友好的软件，目前 Bruker 已开发出 Topspin 4.0 版本。除了进样和取样，其他实验操作，比如实验设置、采样、处理谱图等都是通过 Topspin 进行。软件界面可分为：主菜单区、应用模块区、文件存储区、采样流程或数据处理流程区、谱图或采样参数、傅立叶变换参数显示区、指令区及采样观察区、锁场显示、样品旋转状态显示等等。主菜单的 File、Edit、View、Tool、Window 及 Help 等与其他的 Window 软件类似，比较特别的是 Spectrometer，下拉 Spectrometer 菜单，会出现与采样、处理数据、分析数据等相关的子应用菜单。如果谱仪安装有自动进样器，下拉 Spectrometer 菜单，选择 ICONNMR，进入 ICONNMR 界面就可以设置全自动实验。完整和详细的 Topspin 使用说明可以参考 Bruker Topspin 使用手册或在线帮助。

9.2.3 核磁共振实验操作简介

核磁共振实验步骤包括制备核磁样品、测试样品、处理谱图等。

1. 制备核磁样品
 - (1) 对样品的要求：待测样品应比较纯，不含灰尘或顺磁性杂质。
 - (2) 氚代溶剂的选择：所选氘代溶剂应具备以下特性：(a) 对待测样品有较好的溶解能力；(b)自身不产生干扰信号；(c)化学惰性、不与样品发生缔合作用；(d)沸点低、便于样品回收等。常用的有 CDCl_3 、 C_6D_6 、 D_2O 等各种溶剂。
 - (3) 标准物质：常用四甲基硅烷(TMS)，大部分商用的氘代有机溶剂都溶有 TMS。由于它较易挥发，常先配成 CCl_4 溶液，然后加到各种溶剂中使用。有时也采用不易挥发的六甲基二硅醚(HMDS)。若用 D_2O 作溶剂，可用 DSS[分子式 $(\text{CH}_3)_3\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3\text{Na}$]作内标。TMS 的 ^1H 、 ^{13}C 化学位移值均定标为 0 ppm，DSS 的- CH_3 上的 ^1H 化学位移值定标为 0.015 ppm。
 - (4) 配制核磁样品：(a) 使用有机溶剂溶解样品时，请在通风橱里操作；(b)大部分探头使用的核磁样品管外径 5 mm，可以先在 2 ml 的 EP 管充分溶解样品，然后再用移液枪移入核磁管，样液约 0.5 ml，在样品管中的高度约为 3~4 厘米；

(c) 对于分子量为几百的有机小分子,通常需几毫克的样品,如果只测¹H 谱,样品浓度 为 0.05~0.1 mM 即可,如果测¹³C 谱,样品浓度最好 2 mM 以上。

2. 测试样品

- (1) 双击桌面的 Topspin 软件图标, 打开应用界面
- (2) 将样品放入探头: (a) 将 spinner (蓝色转子) 放在样品规上, 插入核磁管直到到样品规底部 (建议样品管中溶液高度在 4cm 左右 (约 0.55ml,) ; 若溶液高度过低则使液柱沿样品规外黑色标记对称分布 (即液柱中心与黑色标记重合); (b) 键入指令 **ro off**, 停止探头中原有样品的旋转; (c) 键入指令 **ro off**, 停止探头中原有样品的旋转;(d) 键入指令 **ij**, 压缩空气自动将样品送入探头。
- (3) 建立新实验: 键入指令 **new**, 弹跳出的设置实验的窗口。依此填入 (a) NAME: 实验名 (如样品名, 编号等) ;(b) EXPNO: 实验号 (只能是正整数, 且在同一实验名下不存在, 否则将冲掉原来数据) :(c) PROCNO: 处理号 (只能是正整数, 且在同一实验名下不存在, 否则将冲掉原来数据; 同一数据可以以不同方式处理);(d) DIR: 存盘目录(D 盘, 不用改动; (e)USER: 用户名; (f) SOLVENT: 在下拉窗口中选择所用溶剂(注意选择正确的溶剂名称, 否则将导致后面实验出错);(g) EXPERIMENT: 在下拉窗口中选择实验类型, 氢谱选 PROTON256; 碳谱选 C13CPD; 磷谱: 不去耦选 P31, 去耦选 P31CPD ;(h) TITLE: 实验说明文档; (i) 点击 OK。
- (4) 设置射频通道: 键入指令 **edasp**, 在跳出窗口中依次选择 default、 save, 在命令键入行键入指令 **ii**。
- (5) 锁场: 键入指令 **lock**, 在跳出的窗口中选择所用溶剂名。
- (6) 样品旋转: 键入指令 **ro on**。
- (7) 探头调协: 键入指令 **atma**, 在跳出的窗口中选择第三项: Automatic tuning/matching of ATM probe
- (8) 匀场: 键入指令 **topshim**, 在跳出的选项中选择最后一项: topshim, 在跳出的窗口中直接点击 start 执行匀场, 等待进程指示‘topshim accomplished’。
- (9) 键入 **getprosol** 读入¹H 和¹³C 的 90° 脉冲值。

-
- (10) 设置增益：键入指令 **rga**，在跳出的选项中选择第二项：Determining RG value automatically。
 - (11) 采样：键入指令 **zg** 开始采样，采样未完前若需看采样效果，在采样窗口工具条中点击‘Spectrum’按钮，进入谱图显示界面，在命令行键入指令：(1)**tr**, (2) **efp**；如果采样进行中，但已得到信噪比满意的谱图，可以用 **halt** 提前终止实验。

以上 (3) ~ (11) 的步骤可在主菜单下拉 Spectrometer 选择 Data Acquisition Flowchart 项，打开数据采集流程图，只点击流程图的图标，就能完成相应指令的操作。比如，设立新实验，只要点击“New Experiment”图标，就相当于在 Topspin 的指令窗键入“new”指令，将弹跳出的设置实验的窗口。因此，实验者勿需记很多指令，只要按着采样流程图依次点击图标就可以一步一步完成实验的设置。

3. 处理谱图

类似采集磁共振数据，处理数据也可以采用在命令窗键入指令或者在主菜单下拉 Spectrometer 选择 Data Process 项，按着数据处理流程图标的引导进行数据处理。

- (1) 常用的数据处理指令有：(a) **efp** 一维加窗函数傅立叶变换；(b) **apk** 自动相位校正；(c) **xfb** 二维傅立叶变换；(d) **sym** 对二维 cosy 进行对称化去噪。
- (2) 谱图打印可以选择以下三种方式之一：(a) 键入指令 **prnt**，打印当前谱图窗口所显示谱图(所见即所得)；(b) 键入指令 **plot**，进入打印处理界面，可以对谱图、文本等布局进行编辑，然后打印；(c) 键入指令 **autoplot**，按标准谱图格式直接打印。

(3) 保存数据：一般公共开放的核磁谱仪会定期清理数据，由于控制谱仪的计算机一般不连接外网、也不允许直接使用 U 盘拷数据，因此，建议测试用户先把需要保存核磁实验数据上传到与控制谱仪局域连接的数据服务器上，然后再从数据服务器把核磁数据下载保存。每一个实验的数据都以一个文件夹存在，包含有实验的脉冲序列、采样参数、采集的 FID 数据等。可以下载免费版的核磁数据处理软件 MestReNova 14.0 进行数据处理和分析。