

中华人民共和国教育行业标准

JY/T 0578—2020
代替 JY/T 006—1996, JY/T 007—1996

超导脉冲傅里叶变换核磁共振波谱 测试方法通则

General rules for superconducting pulsed Fourier transform
nuclear magnetic resonance spectrometry

2020-09-29 发布

2020-12-01 实施

中华人民共和国教育部 发布



目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 方法原理	4
5 环境要求	5
6 试剂和材料	5
6.1 氘代试剂	5
6.2 化学位移参比物	5
6.3 标准样品	6
6.4 弛豫试剂	6
6.5 液体核磁共振样品管	7
6.6 固体核磁共振样品管	7
7 仪器	7
7.1 仪器组成	7
7.2 仪器性能	8
7.3 检定或校准	8
8 液体核磁共振样品	8
8.1 对待测试样品的要求	8
8.2 样品溶液的配制	8
8.3 对样品溶液状态的要求	8
8.4 液体核磁共振谱化学位移参比物	8
9 固体核磁共振样品	9
9.1 对待测试样品的要求	9
9.2 测试样品的制备	9
9.3 固体核磁共振谱化学位移参比物	9
10 液体核磁共振谱的测试	10
10.1 开机	10
10.2 工作条件的建立	10
10.3 仪器的检定	10
10.4 一维谱图测试的一般过程	10
10.5 ^1H 谱	10
10.6 ^{13}C 谱	11
10.7 杂核谱	13
10.8 二维核磁共振谱	13
10.9 自旋-晶格弛豫时间 T_1 (纵向弛豫时间) 的测定	17

10.10	自旋-自旋弛豫时间(横向弛豫时间) T_2 的测试	18
10.11	液体核磁共振波谱的定量分析	18
11	固体核磁共振谱的测试	19
11.1	固体核磁共振谱测试的一般步骤	19
11.2	固体探头魔角的调节	19
11.3	仪器工作条件的建立	19
11.4	交叉极化魔角旋转谱	20
11.5	旋转边带全抑制的交叉极化谱	20
11.6	魔角旋转结合多脉冲技术谱	21
11.7	频率转换的 Lee Goldburg 异核相关谱	21
12	结果报告	21
13	安全注意事项	22
附录 A (资料性附录)	液体核磁共振波谱测试中常用氘代溶剂的性质	23
附录 B (资料性附录)	部分超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪主要技术指标	24
参考文献		25



前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 JY/T 006—1996《脉冲傅里叶变换电磁体核磁共振波谱方法通则》和 JY/T 007—1996《超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱方法通则》。以 JY/T 007—1996 为主,整合 JY/T 006—1996 的部分内容,除编辑性修改外,本标准主要技术变化如下:

- 修改了标准的适用范围(见第 1 章, JY/T 007—1996 的第 1 章);
- 合并了两个方法通则。考虑到电磁体已趋于淘汰的现状,本测试方法通则仅适用于超导磁体的谱仪;
- 增加了规范性引用文件;
- 修改“定义”为“术语和定义”(见第 3 章和 JY/T 007—1996 的第 3 章);
- 增加了与本通则相关的术语和定义:
 - “磁场强度”(见 3.1);
 - “核磁共振波谱”(见 3.2);
 - “射频”(见 3.4);
 - “脉冲宽度”(见 3.6);
 - “脉冲翻转角”(见 3.7);
 - “脉冲序列”(见 3.8);
 - “自由感应衰减”(见 3.9);
 - “化学位移参比物”(见 3.15);
 - “内标法”(见 3.16);
 - “外标法”(见 3.17);
 - “替代法”(见 3.18);
 - “调谐与匹配”(见 3.20);
 - “核的欧沃豪塞效应”(见 3.24);
 - “脉冲梯度场”(见 3.25);
- 修改原定义中“旋磁比”为“磁旋比”,并在全文出现该定义处统一使用“磁旋比”(见 3.3, 3.7, 3.28, 第 4 章和 10.7.3, JY/T 007—1996 的 2.1);
- 修改了“脉冲”的定义(见 3.5 和 JY/T 007—1996 的 2.2);
- 修改了“傅里叶变换”的定义(见 3.10 和 JY/T 007—1996 的 2.3);
- 修改了“分辨率”的定义(见 3.11 和 JY/T 007—1996 的 2.4);
- 修改了“氘代试剂”的定义(见 3.13 和 JY/T 007—1996 的 2.8);
- 修改了“化学位移”的定义,在“化学位移”定义中根据国际纯粹和化学联合会的建议更新了化学位移的计算公式,在注释中说明化学位移是无单位的相对值,“ppm”是表示数值大小的符号,不是化学位移的单位(见 3.14 和 JY/T 007—1996 的 2.10);
- 将原定义中的“内锁、外锁”改为“锁场”,修改了定义内容(见 3.19 和 JY/T 007—1996 的 2.6);
- 修改了“弛豫时间”的定义(见 3.22 和 JY/T 007—1996 的 2.11);
- 将原定义中的“多核”改为“杂核”(见 3.23 和 JY/T 007—1996 的 2.9);
- 修改了“魔角旋转”的定义(见 3.26 和 JY/T 007—1996 的 2.13);
- 修改原定义中的“哈特曼-哈恩条件”为“哈特曼-哈恩匹配”(见 3.28 和 JY/T 007—1996 的 2.15);
- 增加了“环境要求”(见第 5 章);

- 修改扩充了“试剂与材料”的内容,增加新的条目,原文内容放入条目“氘代试剂”中并进行修改(见 6.1 和 JY/T 007—1996 的第 4 章);
- 增加了“化学位移参比物”的相关内容(见 6.2);
- 增加了“标准样品”,列举了常用“液体核磁共振标准样品”和“固体核磁共振标准样品”(见 6.3, 6.3.1, 6.3.2, 6.3.3);
- 增加了“弛豫试剂”(见 6.4);
- 增加了“液体核磁共振样品管”和“固体核磁共振样品管”的内容(见 6.5 和 6.6);
- 删除了“仪器组成”中图 1 的“超导脉冲 FT NMR 谱仪框图”(见 7.1 和 JY/T 007—1996 的 5.1);
- 修改补充了“探头”和“射频单元”(见 7.1.2, 7.1.3 和 JY/T 007—1996 的 5.1.2, 5.1.3);
- 增加了“压缩气体和气路系统”(见 7.1.5);
- 修改“仪器性能”相关的内容,将原文中的表 1“超导 PFT NMR 仪技术指标”进行补充更新后移入附录 B 中,强调了附录 B 中列举的主要技术指标不用于仪器合格性判定,仅供参考(见 7.2, 附录 B 和 JY/T 007—1996 的 5.2);
- 增加了“检定和校准”(见 7.3);
- 拆分“样品”一章为“液体核磁共振样品”和“固体核磁共振样品”两章(见第 8 章,第 9 章, JY/T 007—1996 的第 6 章);
- 在新增的“液体核磁共振样品”一章中,修改整理了内容,增加了“对待测试样品的要求”,“样品溶液的配制”和“对样品溶液状态的要求”等方面的内容(见 8.1, 8.2, 8.3, JY/T 007—1996 的 6.1, 6.2 和 6.5.1);
- 修改和添加了关于“液体核磁共振谱化学位移参比物”的内容,增加了多个条目(见 8.4, JY/T 007—1996 的 6.2 和 6.3);
- 在新增的“固体核磁共振样品”一章中,分成三个条目“对待测样品的要求”、“测试样品的制备”和“固体核磁共振谱化学位移参比物”进行描述(见 9.1, 9.2 和 9.3, JY/T 007—1996 的 6.4 和 6.5.2);
- 修改拆分了“分析步骤”,将液体和固体核磁共振谱的测试内容拆分成两个章节(见第 10 章和第 11 章, JY/T 007—1996 的第 7 章);
- 删除了示例谱图,补充增加了每个测试方法的基本脉冲序列图(见第 10 章和第 11 章, JY/T 007—1996 的第 7 章);
- 在新增的“液体核磁共振谱的测试”一章中,对原有测试方法进行了修改,对原有条目重新进行整理归类;增加了杂核谱、NOE 差谱、反转门控去耦谱等一维谱测试方法;增加了 TOCSY、NOESY、ROSEY 和 DOSY 等常用二维谱测试方法;增加了 T₁、T₂ 弛豫时间的测试方法(见第 10 章, JY/T 007—1996 的第 7 章);
- 增加了“液体核磁共振波谱的定量分析”(见 10.11);
- 在新增的“固体核磁共振谱的测试”一章中,修改完善了原有固体核磁谱图的测试内容,对原有条目重新进行整理归类;增加了 CP-TOSS、CRAMPS 和 FSLG-HETCOR 等方法(见第 1 章, JY/T 007—1996 的 7.4.6 和 7.4.7);
- 增加了“结果报告”一章,将原“分析结果的表述”归入本章(见第 12 章和 12.3, JY/T 007—1996 的第 8 章);
- 修改了“分析结果的表述”中关于化学位移值的表述,强调了化学位移值与参比物化学位移值的相对关系(见 12.3.1 和 12.3.2, JY/T 007—1996 的第 8 章);
- 增加了“安全注意事项”相关的内容(见第 13 章, JY/T 007—1996 的第 9 章);
- 在附录“液体核磁共振波谱测试中常用氘代溶剂的性质”中增加了常用氘代试剂的种类,增加了各氘代试剂的熔点、沸点及残余水峰化学位移值等内容(见附录 A 和 1996 版的附录 A);

——增加了参考文献。

本标准由中华人民共和国教育部提出。

本标准由全国教育装备标准化技术委员会化学分技术委员会(SAC/TC 125/SC 5)归口。

本标准起草单位:北京大学、北京化工大学、福州大学、东华大学、华东理工大学。

本标准主要起草人:扶晖、郭灿雄、张秀、林韵、赵辉鹏、潘铁英。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为:

——JY/T 006—1996;

——JY/T 007—1996。





超导脉冲傅里叶变换核磁共振波谱 测试方法通则

1 范围

本标准规定了超导脉冲傅里叶变换核磁共振波谱测试方法的原理、环境要求、试剂和材料、仪器、液体核磁共振样品、固体核磁共振样品、液体核磁共振谱的测试、固体核磁共振谱的测试、结果报告和安全注意事项。

本标准适用于超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪进行液体核磁共振谱或固体核磁共振谱的测试。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

IUPAC Recommendation 2008 对 NMR 屏蔽效应和化学位移的进一步规定(Further conventions for NMR shielding and chemical shifts)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

磁场强度 magnetic field intensity

也被称为磁感应强度或磁通量密度,是表示贯穿一个标准面积的磁通量大小的物理量。

注:其符号是 B,国际单位制单位是特斯拉(T)。

3.2

核磁共振波谱 nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy

在静磁场中,由外加射频脉冲诱导而使自旋量子数 $I \neq 0$ 的原子核的核磁矩在相邻能级间跃迁产生的波谱。

3.3

磁旋比 magnetogyric ratio

γ

是反映原子核固有特性的常数之一,它是核磁矩 μ 与其角动量 P 之比,数值有正有负。

注:其单位为弧度·秒⁻¹·特斯拉⁻¹(rad·s⁻¹·T⁻¹)。

3.4

射频 radio frequency; RF

频率范围在 3 kHz 到 300 GHz 的电磁辐射通称为射频。在核磁共振实验中通常以脉冲的方式作用于被检测样品上,用以激发样品的核自旋系统,使其产生横向磁化矢量。

3.5

脉冲 pulse

通常指射频电磁波骤然开启到骤然终止的过程,可按照其形状描述为方波、正弦波等。脉冲具有特

定相位,其开闭时间和强度可根据需要改变。

3.6

脉冲宽度 pulse width

简称脉宽,是一个射频脉冲作用的持续时间,也称为脉冲长度,一般以微秒为单位。

3.7

脉冲翻转角 flip angle

也称为倾角,是射频脉冲作用下磁化矢量发生的角度变化,通常以角度或弧度为单位表示。翻转角的大小取决于射频场强度(B_1)、射频脉冲宽度(p)和所观测核的磁旋比(γ),以角度(θ)表示时,它们之间的关系为:

$$\theta = \gamma B_1 p / 2\pi \dots\dots\dots (1)$$

3.8

脉冲序列 pulse sequence

由单个或一系列射频脉冲和脉冲之间的时间间隔组成,通过选择不同的脉冲组合和时间间隔可以达到观察特定 NMR 信号的目的。

3.9

自由感应衰减 free induction decay; FID

在射频脉冲作用后,自旋系统在核磁共振谱仪的接收线圈中诱导产生的强度随时间衰减的感应信号。

3.10

傅里叶变换 Fourier transform; FT

将时间函数转换成频率函数或其反过程的一种数学方法。在核磁共振波谱测试中,通过计算机把采集得到的时域信号(FID)经过傅里叶变换成为频域信号(NMR 谱)。

3.11

分辨率 resolution

仪器对两条相邻共振谱峰分辨的能力。在核磁共振波谱中通常以特定标样的谱峰半峰宽值(以 Hz 为单位)来反映仪器的分辨率。

3.12

灵敏度 sensitivity

仪器检测信号的能力,通常以信噪比(S/N)来表示。

3.13

氘代试剂 deuterated solvent

溶剂中的 ^1H 被其同位素 ^2H (D)取代,用于液体核磁共振波谱测试中,一方面提供锁场信号,另一方面避免溶剂峰对氢谱谱图的干扰。

3.14

化学位移 chemical shift

δ

在核磁共振波谱中用它表示样品信号峰的位置,是个相对值,与所使用的核磁共振谱仪的磁场强度无关。对于任一自旋核 X,它的定义为:

$$\delta_{\text{sample}}(\text{X}) = [\nu_{\text{sample}}(\text{X}) - \nu_{\text{reference}}(\text{X})] / \nu_{\text{reference}}(\text{X}) \dots\dots\dots (2)$$

式中:

ν ——样品或参比物在同一磁场强度下的共振频率。

注:国际纯粹和应用化学联合会(IUPAC)在 2008 年发表的提议中,对化学位移的定义中去除了 $\times 10^6$ 这一因子。因为在式(2)中,分子一项通常是 Hz 量级,分母一项通常是 MHz 量级。两项相除得到的数值直接就是以 ppm 表

示的数。ppm 做为数值的后缀与“ $\times 10^{-6}$ ”是可互换的,就如“%”与“ $\times 0.01$ ”可以互换一样。注意 ppm 是表示数值大小的后缀,并不是单位,化学位移是一个没有量纲的相对值。

3.15

化学位移参比物 reference

也称为参考物,用作标定核磁共振波谱图中谱峰化学位移的基准物。

3.16

内标法 internal reference

参比物与样品溶解于同一溶剂中,并置于同一样品管中,测试时同时检测参比物与样品的共振谱峰。

3.17

外标法 external reference

参比物不与样品溶液混合,与样品分别放入不同的样品管。在测试时,两个样品管以同轴相套的方式放入磁体中,同时测试参比物与样品的共振谱峰。

3.18

替代法 substitution method

参比物不与样品溶液混合,与样品分别处于不同的样品管。在测试条件尽可能不变的情况下,分别测试参比物与样品的共振谱峰。

3.19

锁场 lock

在液体核磁共振波谱测试中,根据核磁共振色散信号的共振频率与磁场强度成正比的关系,通常利用 ^2H 的共振信号作为锁信号,利用场频联锁技术,使锁场系统的反馈体系在磁场强度发生变化时产生校正电流,形成补偿磁场,保持总磁场强度不变。含 ^2H 锁信号物质多数情况下就是溶剂(氘代试剂)。

3.20

调谐与匹配 tuning and matching

调谐使探头射频线圈的谐振频率与观察核进动频率一致,获得最佳灵敏度。匹配使探头的输入阻抗与放大器的输出阻抗匹配,保证射频能量有效地传送到探头,减少对探头的伤害,同时接收信号也可达到最佳信噪比。测试中所有用到的射频通道都必须进行调谐和匹配。

3.21

匀场 shimming

用谱仪中的多组匀场线圈产生不同方向的弱磁场梯度以补偿或抵消样品处磁体自身磁场的微小不均匀性,它是提高谱仪分辨率的重要措施。

3.22

弛豫时间 relaxation time

受激发的核自旋系统的磁化矢量通过非辐射途径,即靠核自旋和环境(晶格)或其他自旋相互作用交换能量恢复到由居里定理给出的平衡值的过程定义为弛豫过程。自旋-晶格弛豫时间(T_1),也称为纵向弛豫时间,是在施加射频脉冲后重新建立纵向磁化矢量热平衡的时间常数。在弛豫过程中纵向磁化强度在时间 T_1 内将恢复到平衡值的 $(1-1/e)$ 倍(63%)。自旋-自旋弛豫时间(T_2),也称为横向弛豫时间,在弛豫过程中横向磁化强度在时间 T_2 内将衰减至平衡值的 $1/e$ 倍(37%)。

3.23

杂核 heteronucleus

泛指 ^1H 以外其他自旋核,如: ^{13}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{19}F , ^{23}Na , ^{27}Al , ^{29}Si , ^{31}P 等。

3.24

核的欧沃豪塞效应 nuclear Overhauser effect; NOE

在核磁共振实验中,空间位置上接近的两个核(小于 0.5 nm),由于它们之间的偶极-偶极相互作用,

当选择照射其中一个核使其自旋达到饱和后,可以观察到另一核的谱峰相对强度增强或减弱,这一现象称为核的欧沃豪塞效应(NOE)。NOE与核空间距离的6次方成反比,反映了所观测核之间的空间接近程度。

3.25

脉冲梯度场 pulse field gradient; PFG

核磁共振谱仪中通过硬件装置(线圈和放大器)的配置,可以在三个相互正交的轴的一个方向快速产生磁场强度呈梯度变化的磁场,通常称为脉冲梯度场。在应用中,将脉冲梯度场与射频脉冲组合成一个脉冲序列来选择相干途径,相对于传统上需要通过相循环来选择相干途径的实验,大大减少了采样时间。

3.26

魔角旋转 magic angle spinning; MAS

在固体核磁共振波谱测试中,如果将试样旋转轴与静磁场方向的夹角调节到 $54^{\circ}44'$ 或 54.74° (魔角)时并快速旋转样品,理论上可以消除或减小化学位移各向异性、同核或异核偶极耦合相互作用和四极相互作用等对谱图的影响,达到窄化谱线的目的。魔角旋转是固体核磁共振波谱中提高谱图分辨率的一个重要手段。

3.27

高功率去耦 high power decoupling

通常指通过高功率质子去耦,消除 ^{13}C 或 ^{15}N 、 ^{29}Si 等杂核与 ^1H 的异核偶极相互作用,使该核的核磁共振谱线信号增强,谱峰变窄。

3.28

哈特曼-哈恩匹配 Hartmann-Hahn matching

式(3)为哈特曼-哈恩匹配条件。对于样品中磁旋比不同的两个自旋系统I和S,如果加在其上的射频场满足式(3),则在旋转坐标体系中,它们自旋进动频率相同,达到能级匹配。

$$\gamma_S B_{1S} = \gamma_I B_{1I} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

γ —— 磁旋比;

B_1 —— 外加射频场强度。

3.29

交叉极化 cross polarization; CP

对3.28条中的I、S自旋系统,利用适当的脉冲序列,在满足哈特曼-哈恩条件时,极化(即能级之间的布居数差)能从高天然丰度的I自旋系统(丰核,如 ^1H)转移到低天然丰度的S自旋系统(稀核,如 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{29}Si 等),导致后者的磁化强度大大增强,故提高了灵敏度。此外,这时系统的弛豫恢复时间与稀核固有的较长的 T_1 无关,而由丰核较短的 T_1 决定,故显著缩短了信号累加的时间。

3.30

一维核磁共振谱 one-dimensional (1D) NMR spectrum

在核磁共振波谱测试中检测到的信号强度随时间变化的一组数列经傅里叶变换得到信号强度随频率变化的谱图。

3.31

二维核磁共振谱 two-dimensional (2D) NMR spectrum

在核磁共振波谱测试中检测到的信号强度随两个时间变量变化的一组数据矩阵,经过两次傅里叶变换得到的谱图。

4 方法原理

自旋量子数 $I \neq 0$ 的原子核在静磁场中,核磁矩与磁场相互作用而形成一组分裂的能级。受外界适

当频率电磁波照射时,能级间产生跃迁而出现共振现象。此时,磁场强度 B_0 、电磁波频率 ν_0 (或角频率 ω_0) 和被测核磁旋比 γ 之间应满足下面关系:

$$\nu_0 = \gamma B_0 / 2\pi \text{ 或 } \omega_0 = \gamma B_0 \quad \dots\dots\dots(4)$$

若用适当的射频脉冲照射,按照脉冲的频谱关系,可使不同化学环境的原子核同时发生共振,检测器收集到一个随时间衰减的自由感应衰减信号(FID),此信号经过傅里叶变换,就得到该观测核的核磁共振谱图。通过谱图解析,便能获得该样品有关的结构信息。

5 环境要求

- 5.1 仪器放置场地不得有强烈的机械振动和电磁干扰,铁磁性物品应远离磁体。
- 5.2 实验室温度: $20\text{ }^\circ\text{C} \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$ 。
- 5.3 湿度: $\leq 75\%$ 。
- 5.4 电源:使用稳压电源,电源电压波动 $< 5\%$,频率稳定。
- 5.5 地线:单独接地,状况良好。

6 试剂和材料

6.1 氕代试剂

液体核磁共振样品制样时一般选择氕代试剂作溶剂,其所含的氕核用于谱仪锁场,未氕代的 ^1H (氕代试剂残留峰)及所含的 ^{13}C 则作 ^1H 及 ^{13}C 谱化学位移的二级定标参比(TMS为一级定标)。

氕代试剂的选择应视待测样品溶解度的大小来决定,同时要避免与待测样品发生化学反应或交换反应。此外做变温实验时要考虑氕代试剂的熔点或沸点。常用氕代试剂及其性质参见 A.1。

6.2 化学位移参比物

6.2.1 四甲基硅烷(TMS)

化学式为 $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$,常加入有机氕代试剂中,作为测试 ^1H 、 ^{13}C 和 ^{29}Si 谱的内标参比物。国际纯粹与应用化学联合会推荐室温下溶解于氕代氯仿中、体积比浓度小于1%的TMS的 ^1H 核磁共振谱峰作为化学位移的一级参比物,定义其化学位移为零。

6.2.2 常用化学位移参比物

IUPAC对多数非零核磁矩的核推荐了 $\delta 0$ ppm的化学位移参比物,表1列举了部分常用自旋核的推荐参比物和它们的频率比值 Ξ 值。 Ξ 值的定义以及其他自旋核的化学位移参比物和 Ξ 值见IUPAC Recommendation 2008。

表1 常用自旋核的化学位移参比物

自旋核	IUPAC推荐参比物	频率比值 $\Xi/\%$
^1H	TMS	100.000 000
	DSS ^a	100.000 000
^2H	$(\text{CD}_3)_4\text{Si}$	15.350 609
^{13}C	TMS	25.145 020
	DSS ^a	25.144 953

表 1 (续)

自旋核	IUPAC 推荐参比物	频率比值 $\delta/\%$
^{15}N	CH_3NO_2	10.136 767
	NH_3 (液体)	10.132 912
^{19}F	CCl_3F	94.094 011
^{29}Si	TMS	19.867 187
^{31}P	H_3PO_4 (85%)	40.480 742
	$(\text{MeO})_3\text{PO}$	40.480 864

^a 化学式为 $(\text{CH}_3)_3\text{Si}(\text{CH}_2)_3\text{SO}_3\text{Na}$, 其甲基信号作为水溶性样品 ^1H 和 ^{13}C 谱的化学位移参比峰。

6.3 标准样品

6.3.1 使用范围

核磁共振波谱方法中使用的标准样品(简称标样)在严格意义上不是“标准物质”,一般由仪器厂商提供或推荐,用于建立仪器工作条件或检测仪器工作技术指标的常用溶液或固体样品。

6.3.2 液体核磁共振标准样品

对于液体核磁共振中使用的标样,不同仪器厂商使用的标准样品可能略有区别,以下列举几种常用标样:

- 含 1% 氯仿的氘代丙酮溶液 (1% Chloroform in Acetone- D_6), 测试 ^1H 线形;
- 含 0.1% 乙基苯的氘代氯仿溶液 (0.1% Ethylbenzene in Chloroform-D), 测试 ^1H 灵敏度;
- 含 40% 二氧杂环己烷的氘代苯溶液 (40% Dioxane in Benzene- D_6), 测试 ^{13}C 灵敏度 (ASTM 实验);
- 含 90% 甲酰胺的氘代二甲基亚砜溶液 (90% Formamide in Dimethylsulfoxide- D_6), 测试 ^{15}N 灵敏度;
- 含 0.05% 三氟甲苯的氘代氯仿溶液 (0.05% Trifluorotoluene in Chloroform-D), 测试 ^{19}F 灵敏度;
- 含 0.048 5 M 磷酸三苯酯的氘代丙酮溶液 (0.048 5 M Triphenylphosphate in Acetone- D_6), 测试 ^{31}P 灵敏度;
- 含 10% 乙基苯的氯仿溶液 (10% Ethylbenzene in Chloroform-D), 测试 ^{13}C 灵敏度。

6.3.3 固体核磁共振标准样品

常用的几种用于建立仪器工作条件和检测仪器工作技术指标的固体核磁共振标样:

- 溴化钾 (KBr), 设置和校验谱仪的魔角角度;
- 金刚烷 (adamantane), 检测谱仪的匀场状态、校正谱仪场强漂移和优化哈特曼-哈恩匹配等;
- α -甘氨酸 (α -glycine), 检测谱仪的灵敏度, 优化去耦条件和优化哈特曼-哈恩匹配等。

6.4 弛豫试剂

通常为顺磁性的过渡金属化合物,常用的为乙酰丙酮铬 ($\text{Cr}(\text{acac})_3$)。其作用是在测试弛豫时间 T_1 较长的核 (如 ^{13}C 和 ^{29}Si 等) 时, 加快弛豫, 缩短采样时间。弛豫试剂的加入通常不影响谱图的化学位移, 但是随加入量的增加, 谱线会增宽, 导致信噪比下降。一般情况下, 建议加入量为 0.1-0.4 mol/L。

6.5 液体核磁共振样品管

液体核磁共振谱仪探头的内径通常设计成可适配外径尺寸为 1~10 mm 不等的样品管(通常称为核磁管),应根据所使用的探头内径选择核磁管。最常见的是外径 5 mm 的核磁管。常规测试中使用的核磁管多为玻璃管,根据玻璃的材质可分为高通量经济型和精密型;精密型中又有一型 A 类硼硅玻璃(Pyrex®)、天然石英和人工石英等类型的核磁管可选。此外还有适合各种压力要求的真空或耐高压核磁管。外径相同的玻璃核磁管还可根据需要进行选择不同管壁厚度。在检测对玻璃有腐蚀性的化合物或检测硼、硅谱时,可以使用聚四氟乙烯材质的核磁管。对于光敏样品,可以使用琥珀化玻璃核磁管。

6.6 固体核磁共振样品管

固体核磁共振样品管也被称为转子(rotor),样品在魔角旋转条件下进行测试过程中,装有样品的转子通常需要保持在几千赫兹到几万赫兹甚至更快的转速下稳定旋转。转子一般使用氧化锆制成,常使用的尺寸外径一般在 0.7 mm~10 mm 不等,转子的尺寸需要与所使用的探头尺寸匹配。转子旋转可达到的最高转速与转子直径相关,直径越小,能达到的转速越高。

7 仪器

7.1 仪器组成

7.1.1 超导磁体

常指用超导材料绕成螺旋管形线圈,置于内壳含液氮外壳含液氮的杜瓦里,构成超导磁体。为了克服线圈因有限长度而给样品空间带来磁场的均匀性的影响,还设置了若干组低温与室温匀场线圈,以给自旋系统提供一定强度的稳定性与均匀性都佳的固定磁场。

7.1.2 探头

探头是一插入式整体组合件,可依据测试需要更换。它是发射射频和收集信号的部件,可根据不同核进行最佳匹配调谐。探头种类很多,可以根据使用需求进行配置,大体可从以下几个方面分类:

- a) 用于液体核磁共振还是固体核磁共振;
- b) 探头所能适配样品管的直径;
- c) 固定频率还是宽带频率;
- d) 正向还是反向;
- e) 双共振还是多共振;
- f) 是否带有梯度线圈;
- g) 探头线圈处于常温还是低温。

目前使用日趋广泛的超低温液体探头(CryoProbe),其发射/接受线圈和调谐匹配电路利用液氮或液氮维持在极低温度,以降低源自导体中的电子随机热运动所致的噪音(Johnson-Nyquist 噪音)。与常规液体探头比,有效增加了信噪比。

7.1.3 射频单元

射频单元通常提供至少两个通道的射频信号,这两个通道分别是观测通道和去耦通道(也可作为其他信号通道)。这些射频均由同一石英晶体振荡器经过数字频率合成器产生,经控制、放大、脉冲调制后传输给探头。数字化的 NMR 波谱仪射频单元包括全数字式频率和相位发生器;数字化信号程序;数字锁和场调整系统以及数字滤波器等,能消除基线畸变,提高数字分辨率且没有谱线折叠。如需实现多共

振实验,除了需配置合适的多共振探头外,还要相应增加射频通道。

7.1.4 控制及数据处理系统

一般由电脑通过程序软件控制谱仪,实现控温、进样、脉冲发射和数据采集等功能。采集得到的 FID 数据可进一步通过程序软件进行傅立叶变换、谱图处理和谱图模拟。

7.1.5 压缩气体和气路系统

核磁共振谱仪需要使用压缩气体为样品进出探头提供推动力/浮力,为需要旋转的样品提供驱动力,或者为变温实验提供控温载体。为保证核磁谱仪正常工作,进入谱仪的压缩气体需要达到一定的气流量,并且符合无油、无尘和无水的要求。

7.2 仪器性能

超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪的仪器性能与磁体的工作频率、探头类型、生产年份和制造商都有关系。定量指标可包括但不限于灵敏度、检测限、分辨率、信噪比等指标;定性指标应写明可能影响检测结果的性能指标如分辨率、准确度等指标。附录 B 的 B.1 中列举了不同工作频率磁体和探头的主要技术指标,表中的数据仅供参考,不用于仪器的合格性考核和判定。

7.3 检定或校准

仪器在投入使用前,应采用检定或校准等方式,对检测分析结果的准确性或有效性有显著影响的设备,包括用于测量环境条件等辅助测量设备有计划地实施检定或校准,以确认其是否满足检测分析的要求。检定或校准应按有关检定规程、校准规范或校准方法进行。

8 液体核磁共振样品

8.1 对待测试样品的要求

待测试样品需有适当的溶解性且不与溶剂发生化学反应,做结构测试的样品最好是纯净的单一组分。

8.2 样品溶液的配制

一般选择氘代试剂作溶剂配制样品溶液,样品溶液的浓度一般建议为 20 mM~50 mM,以保证在合理的时间内获得信噪比满意的谱图。如加入内标参比物,需注意参比物在谱图中的峰不宜太强。以内径 5 mm 的核磁管为例,取适量样品装入核磁管中,然后加入约 0.5 mL 选定的氘代试剂,采取振荡、加热等手段使样品溶解。也可先将样品在合适的实验器皿内用氘代试剂溶解后转移入核磁管。若不使用氘代试剂作溶剂,可以将合适的氘代试剂置于毛细管中,然后以同轴的方式置于含有样品的核磁管中提供锁场信号。

8.3 对样品溶液状态的要求

配制好的样品溶液应为均相、无气泡、不含或含少量顺磁性物质且有较好的流动性(高聚物及胶体除外),样品溶液在样品管中的高度以 3.5 cm~5 cm 为宜。对需作精密测试(如测定弛豫时间)的样品,可采用“循环冷冻法”除氧。

8.4 液体核磁共振谱化学位移参比物

8.4.1 氢谱化学位移参比物

按照 3.14 中式(2)的定义,在任何溶剂中,如果使用 TMS 作为内标,其¹H 峰的化学位移值为 0。若

样品中不含 TMS 时,可用氘代试剂的残留峰作为二级参比物,应在谱图中注明。

水溶液样品常用三甲基硅丙磺酸钠 (4,4-Dimethyl-4-silapentane sodium sulfonate, DSS) 或 3-(三甲基硅基)丙酸钠 (3-(Trimethylsilyl)-propanoic acid sodium salt, TSP) 等硅烷化合物作参比物,一般将它们甲基的¹H 峰定为 0。也可按照文献报道选取合适的参比物,应在谱图中注明。

8.4.2 碳谱化学位移参比物

碳谱常以 TMS 的甲基¹³C 化学位移值为 0。此外可根据样品的具体情况选用合适的参比物,如溶剂的¹³C 峰等,图谱中应加以注明。

注:¹H,¹³C 谱常用的氘代试剂参比峰化学位移值与谱线的多重性见附录 A.1。

8.4.3 杂核谱化学位移参比物

杂核谱图化学位移的参比常使用外标法或替代法,参比物的选择可参考表 1,也可按照文献报道选取合适的参比物。使用不同的参比物可能会导致谱图化学位移值不同,因此测试所用参比物及使用方法应在谱图或结果报告中注明。

使用外标法时,必要时可根据体积磁化率对测定的化学位移值进行校正。简化的校正公式为:

$$\delta_c = \delta_0 + 2\pi(X_s - X_r)/3 \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中:

δ_c ——校正值;

δ_0 ——观测值;

X_s ——样品的体积磁化率;

X_r ——参考物的体积磁化率。

9 固体核磁共振样品

9.1 对待测试样品的要求

导电性样品或具铁磁性样品不宜做固体核磁共振测试。除特殊情况外,固体核磁共振样品通常要求为粉末状,颗粒尽量小(至少小于 100 目,以避免各向异性体块磁化率的影响)。如样品为具有弹性的橡胶、薄膜时,需要将样品尽可能的剪碎或切碎,或剪裁成合适的块状,使得样品装入转子后可达到预期的转速并稳定旋转。

9.2 测试样品的制备

使用与仪器配套的装样工具将样品均匀地填装入转子内,在填装过程中需要用装样工具压实装入的样品。按要求将样品填装到合适高度,并将转子帽盖紧盖平。装好样品的转子在探头中需要达到预期的转速并平稳旋转。对于生物蛋白等粘性较大的凝胶状固体核磁共振样品,可通过离心机经移液管灌入转子。

9.3 固体核磁共振谱化学位移参比物

固体核磁共振谱的测试中,化学位移的参比一般使用替代法。以下为较常使用的一些参比物和它们的化学位移参比值,实际测试中可以根据文献报道选用其他合适的参比物,但需要在测试结果中注明参比物的使用详情:

- a) ¹³C 以金刚烷 δ 38.56 的谱线为参比,也可以 α -甘氨酸的羰基¹³C 谱线 δ 176.03 为参比;
- b) ¹⁵N 以硝酸铵中 NH_4^+ 的¹⁵N 谱线为 δ 23.45;
- c) ²⁷Al 以 1 M 硝酸铝溶液中铝的共振信号峰为 δ 0;

- d) ^{29}Si 以 DSS 的谱线 δ 1.534 为参比或以三甲基硅烷基笼形聚倍半硅氧烷(octakis(trimethylsilyloxy) silsesquioxane, 通常称为 Q8M8) 中最低场的谱线 δ 12.39 为参比;
- e) ^{31}P 以磷酸二氢铵 ^{31}P 谱线 δ 0.81 为参比。

10 液体核磁共振谱的测试

10.1 开机

按照仪器手册要求开启机柜、压缩气体系统和计算机。

10.2 工作条件的建立

选择合适的探头并连接相应的电缆、气路及所需附件后,选用合适的标样,建立氦锁,仔细匀场调谐,按照仪器操作手册分别检测 ^1H 、 ^{13}C 或其他待测杂核的 90° 脉宽。可以根据仪器的具体工作情况相应调整谱仪的发射功率以获得合适的 90° 脉宽。所得结果保存于计算机内,同时利用仪器带有的自动程序算出去耦、选择性脉冲等的功率并保存。

10.3 仪器的检定或校准

按照检定或校准规程定期检测仪器的灵敏度、分辨率和线形,并记录检测结果。

10.4 一维谱图测试的一般过程

一维谱图测试的一般过程为:

- a) 按照测试要求建立新的实验文件,调用所需的脉冲序列。
- b) 根据需要设置探头温度;将样品管放入探头中,待样品达到设置的温度后,锁场并对测试通道进行调谐。如需去耦,对去耦通道进行调谐。然后调入匀场参数(如果需要)进行匀场。
- c) 设定适当的采样参数如:谱宽、采样数据点、频率偏置、脉冲宽度、累加次数和弛豫延迟时间等。如需去耦,设置去耦器偏置频率。
- d) 调节接收器增益(receiver gain)。
- e) 执行采样累加。
- f) 数据处理及谱图输出:建立窗函数、将所得到的 FID 信号进行傅里叶变换处理、相位校正、基线校正、化学位移校正、标注化学位移值、对需要积分的谱图进行积分等、作图并打印谱图。

10.5 ^1H 谱

10.5.1 常规 ^1H 谱

采用单脉冲序列(见图 1),为了缩短弛豫延迟时间(relaxation delay),通常使用翻转角 θ 为 30° 的射频脉冲对样品进行激发采样。常规 ^1H 谱图可以获得全部质子的化学位移、自旋-自旋耦合及相对强度等信息。通过对谱峰的面积进行积分,可以得到样品中处于不同化学环境质子的比例。

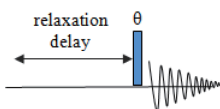


图 1 单脉冲序列

10.5.2 同核去耦谱

简要步骤如下:

- 先按 10.5.1 采集常规¹H 谱并调整好相位；
- 调用同核去耦脉冲序列；
- 在常规¹H 谱中定义去耦偏置频率；
- 根据耦合常数的大小选取去耦功率(耦合常数越大,去耦功率越大)；
- 采样并进行数据处理；
- 如去耦效果不好调整去耦功率后重新采样。

10.5.3 溶剂峰抑制谱

简要步骤如下：

- 先按 10.5.1 采集常规¹H 谱并调整好相位；
- 调用预饱和脉冲序列或其他溶剂抑制脉冲序列；
- 把去耦器的偏置频率设置在溶剂峰上；
- 设置必要的参数,如去耦功率、弛豫延迟、去耦器开启时间和空扫次数等；
- 采样并进行 FT 变换。若变换谱呈现抑制效果较差,可调节去耦功率等参数后重新采样。

10.5.4 NOE 差谱

一维 NOE 差谱(NOEDIFF)通过差减 NOE 谱和参比谱得到,检测同核(通常是¹H 核)之间的 NOE,是确认原子空间位置的一种有力手段。NOEDIFF 是稳态(steady state)NOE 实验,基本脉冲序列如图 2 所示。

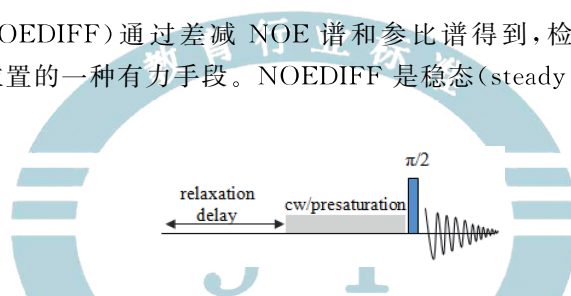


图 2 预饱和脉冲序列

其中 cw 为预饱和脉冲,采用低功率连续波,选择照射特定核的频率或谱的空白部分(参比谱),在实际操作中,为减小仪器稳定性带来的误差,通常通过程序控制一个或多个 NOE 谱和参比谱交替采样。采用相同处理参数,得到多个一维 NOE 谱和参比谱,将每个 NOE 谱减去参比谱,得到相应的 NOE 差谱。预饱和脉冲的功率需要优化,使其覆盖被观测核的全部谱峰,同时避免影响到其他核。对多重峰的不完全照射将产生 SPT(selective population transfer)。存在化学交换的核之间将产生饱和转移,在 NOEDIFF 谱图中表现为负峰。NOE 差谱适用于谱峰重叠较少的小分子。这个方法目前多被选择性激发一维 NOESY 取代。

10.6 ¹³C 谱

10.6.1 质子宽带去耦谱

为了去除直接相连的质子以及邻近碳上的质子对所观测的¹³C 核产生的裂分,简化谱图,同时通过核的 NOE 效应增强¹³C 谱信噪比,通常使用质子宽带去耦的方法来获得¹³C 谱。在常规测试中,使用组合脉冲去耦(CPD)在¹³C 核弛豫延迟、激发和采样的整个时间内进行质子宽带去耦,脉冲序列如图 3 所示。

¹³C 通道目前多数仪器采用翻转角 θ 为 30° 的脉冲,这样可以缩短弛豫延迟时间。选择合适的采样参数以获得合适的信号强度。

由于各条谱线的 NOE 效果不同且弛豫时间 T_1 可能相差较大,不同化学位移的自旋核数目与谱峰强度不呈正比,所以谱图不作积分。

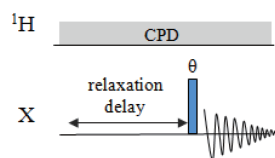


图 3 组合脉冲去耦脉冲序列

10.6.2 反转门控¹H 去耦谱

在检测¹³C 谱时,仅在采样时间内进行质子去耦,可得到无 NOE 效应的反转门控去耦谱。在采集反转门控去耦谱时,弛豫延迟时间(relaxation delay 或 recycle delay)的设置需大于 $5T_1$,得到的谱图可进行积分定量分析。进行积分定量分析前,最好先进行去卷积分析,特别是在有信号重叠时,去卷积分析后结果更好。对于 T_1 时间过长的样品,可以加入弛豫试剂如 $\text{Cr}(\text{acac})_3$ 缩短测试时间。反转门控去耦的脉冲序列如图 4 所示。

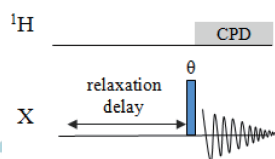


图 4 反转门控去耦脉冲序列

10.6.3 DEPT(Distortionless nuclei Enhancement by Polarization Transfer)谱

DEPT 实验利用极化转移的脉冲序列来提高 X 核的测试灵敏度,这种方法对信号的增强与 X 核相连的¹H 数目无关。利用 DEPT 方法得到的¹³C 谱图可对 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}$ 和 $-\text{C}-$ 四种碳级数进行区分,为谱图的指认归属提供线索。基本脉冲序列如图 5 所示。

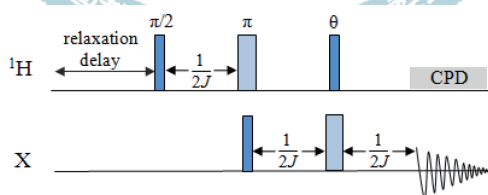


图 5 DEPT 脉冲序列

设置图 5 中¹H 通道最后一个脉冲的翻转角(θ)分别为 45° 、 90° 和 135° ,可以得到对应的 DEPT45、DEPT90 和 DEPT135 谱图。不同级数的碳出峰表现不一样,具体区别见表 2。

表 2 不同级数的碳原子在 DEPT 谱图中的出峰情况

碳原子级数	DEPT45	DEPT90	DEPT135
C	不出峰	不出峰	不出峰
CH	正峰	正峰	正峰
CH ₂	正峰	不出峰	负峰
CH ₃	正峰	不出峰	正峰

10.7 杂核谱

10.7.1 ^{19}F 谱

不需对质子去耦的 ^{19}F NMR 测试采用与图 1 相似的脉冲序列,将探头调谐到 ^{19}F 的频率,通常使用 30° 射频脉冲进行激发采样。

需要对质子去耦的 ^{19}F NMR 测试采用反转门控去耦脉冲序列(见图 4)。

10.7.2 ^{15}N 谱

^{15}N 天然丰度较低,一般建议使用 ^{15}N 富集的样品进行测试。通常使用图 4 的反转门控去耦脉冲序列来消除负 NOE 效应,弛豫延迟时间需要大于 $5T_1$ 。也可采用图 5 的 DEPT 脉冲序列,在采样期如不使用 CPD 去耦可以得到 ^1H 耦合的 ^{15}N 谱图,反之得到 ^1H 去耦的谱图。

10.7.3 ^{29}Si 谱

^{29}Si 的磁旋比较小且为负值,通常使用图 4 的反转门控去耦脉冲序列来消除负 NOE 效应,弛豫延迟时间需要大于 $5T_1$ 。另外也可采用图 5 的 DEPT 脉冲序列,优化 ^1H 通道最后一个脉冲的翻转角度(θ)获得最佳极化转移。

10.7.4 ^{31}P 谱

^{31}P 谱通常采用图 3 中的组合脉冲去耦(CPD)脉冲序列获得。

10.8 二维核磁共振谱 two-dimensional (2D) NMR spectroscopy

10.8.1 总则

在采集二维谱前,先记录一张待测样品的一维谱以确定谱宽和中心频率。二维谱需按实验的要求定义在 F_1 维与 F_2 维的数字分辨率。实验前,按测试需要先选择适当的脉冲程序,然后定义 F_2 和 F_1 维数据点。数据点的设置要合适,数据点太大会增加采样时间、硬盘空间和数据处理时间;数据点太小会影响数字分辨率,相邻信号重叠,不能区分。扫描次数应按脉冲序列要求设置,多数情况下应为最长相循环的整数倍。采样前常作一定次数空扫(dummy scan),使系统在采集数据前达到稳态。两次脉冲循环之间的弛豫延迟时间至少应为 $1\sim 2$ 倍 T_1 ,否则不仅会影响灵敏度,还会在 F_1 维产生假信号。最好用样品本身来测定 90° 及 180° 脉宽。然后选择谱的类型(如幅值谱、功率谱或相敏谱等)。在采样后,选择窗函数(例 Sinebell 等)类型及参数,必要的话,可在 F_1 维作填零处理。进行傅里叶变换、调节相位后作图。

本节提到的二维谱中,扩散排序谱(DOSY)是“准”二维谱,实验获得的混合物中各个组分的信号分别出现在二维谱图的不同行上,类似色谱分离的结果。此外 DOSY 谱必须在配有脉冲梯度场的谱仪上进行测试,其他的二维实验均可在没有脉冲梯度场的谱仪上进行测试;对于配有脉冲梯度场的谱仪,可以采用相应的梯度场增强的脉冲序列,缩短采样时间。下文中给出的二维谱脉冲序列除 DOSY 外均是不带脉冲梯度、最基本的脉冲序列,在实际应用中都有相应的改进、优化版本,可以根据实际情况选择合适的脉冲序列。

10.8.2 同核 J 分解谱 (homonuclear J-resolved spectroscopy)

在常规的一维谱图,特别是 ^1H 谱中,化学位移和自旋-自旋耦合信息可能会因多重峰的重叠而难以提取有用的信息。在二维同核 J 分解谱中,可以通过改变自旋回波周期的时长(t_1),将 J 耦合信息与化学位移信息分离开,显示在二维谱图的不同轴上。基本脉冲序列如图 6 所示。

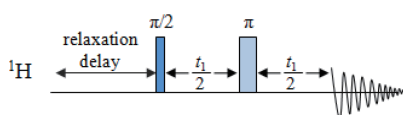


图 6 自旋回波脉冲序列

通常谱图的 F_1 维表示耦合常数 J , F_2 维表示化学位移 δ 。在参数设置时,置 F_1 维的谱宽包括最宽的多重线。采样 FT 变换后,需要对谱图作对称和倾斜处理,使得多重线垂直于 F_2 轴。

10.8.3 同核相关谱 (COrrrelation SpectroscopY, COSY)

COSY 是基于直接 J 耦合进行极化转移的同核化学位移相关实验,用于建立自旋系统的连通性,得到同核化学键相关的信息。COSY 谱广泛用于检测 ^1H - ^1H 相关,也可用于检测 ^{19}F 和 ^{31}P 等的同核相关。COSY 谱有两种模式:一种为幅值模式,其信号皆为正,无需调相;另一种为相敏模式,其正负相位调相的质量直接影响到耦合常数 J 的检测和信号灵敏度。二者的脉冲序列相同,只是相循环不同,故应选择合适的微程序。因为所获的谱为同核相关,故常取 F_1 与 F_2 维的谱宽相等,还需注意调整点数使在 FT 后给出正方形的数据矩阵。所得的二维谱,其对角线显示常规(即一维)谱,而交叉峰体现各组位移之间的关联。基本 ^1H - ^1H COSY 脉冲序列如图 7 所示。

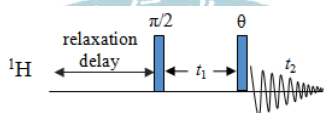


图 7 COSY 脉冲序列

处理图谱所需窗函数:为增强分辨率,在幅值谱中一般用 sinebell 函数。相敏谱为纯吸收线型,一般用相移的 sinebell 函数。

二维谱在采样期间,有可能因场的不均匀性或硬件带来假信号,为了校正畸变,复原 COSY 谱到理论上的对称性,需对谱图做对称化操作。

10.8.4 全相关谱(Total Correlation SpectroscopY, TOCSY)

TOCSY 是同核位移相关谱,其通过应用特殊的脉冲序列,给出整个耦合网络的信息,可以用来指认整个自旋系统。基本脉冲序列为一个 90° 脉冲加上一串起自旋锁定功能的组合脉冲,见图 8。

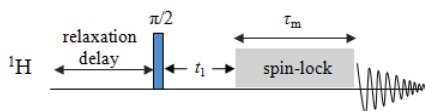


图 8 TOCSY 脉冲序列

自旋锁定(spin lock)是用一系列连续的、具有特定相位的低功率脉冲迫使磁化矢量沿射频场方向取向。自旋锁定通常使用 WALTZ、MLEV 或 DIPSI 等脉冲序列,可以根据检测样品的情况选取。自旋锁定的时间(混合时间 τ_m)一般设置在 30-150 ms。自旋锁定时间过短则 TOCSY 实验的效果与 COSY 相仿。若太长,整体信号强度会受到损失。对有机小分子通常设定为 80 ms 左右。

10.8.5 异核多量子相关谱(Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation, HMQC)和异核单量子相关谱(Heteronuclear Single-Quantum Correlation, HSQC)

HMQC 和 HSQC 两种实验提供直接键合的 ^1H -X 异核相关信息,为反式检测实验。与传统的检测低灵敏核(例 ^{13}C 或 ^{15}N)的异核相关技术不同的地方,是在检测高灵敏的核(例 ^1H 或 ^{19}F)的同时,显示其

与异核之间的相关。

常用的 HMQC 脉冲序列中有一段称为 BIRD(bilinear rotation decoupling)的特殊脉冲序列块。BIRD 能消除键合到¹²C 上的质子信号,仅留下键合到¹³C 的质子信号。同时在采样时使用 GARP (Globally optimized Alternating-phase Rectangular Pulses,全方位优化相位交替的矩形脉冲)技术对¹³C 核去耦,改进信噪比。加了 BIRD 的 HMQC 脉冲序列如图 9 所示。

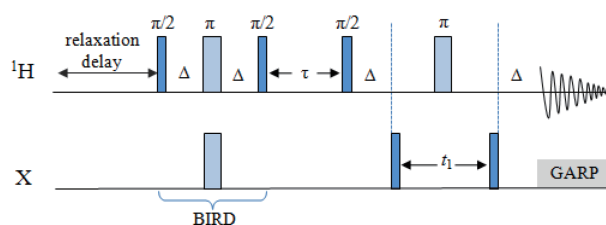


图 9 HMQC 脉冲序列

此脉冲序列中 Δ 值设置为 $1/2J_{\text{XH}}$, 一般采用 3.5 ms。反转恢复延时 τ 一般约为 $0.5T_1$, 需要进行优化。

HSQC 与 HMQC 得到的谱图两者外观基本完全相同,只是 HSQC 在演化期 t_1 内只有单量子异核相关得到演化。HSQC 在¹³C 化学位移区域的分辨率比 HMQC 高,因此在¹³C 谱密集的情况下使用 HSQC 法有时效果更佳。基本脉冲序列见图 10。

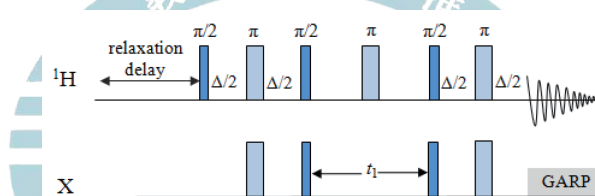


图 10 HSQC 脉冲序列

10.8.6 异核多键相关谱 (Heteronuclear Multiple Bond Correlation, HMBC)

用于测定远程¹H-X 连通特性,采样过程检测¹H 信号,灵敏度较高。交叉峰通常表明¹H 与 X 核之间相隔两根或三根键。通常会在基本的 HMBC 序列前使用称为 low-pass-J-filter 的序列来过滤单键相关信号。其基本脉冲序列见图 11。

演化时间 $t_1/2$ 初始值一般取 $3 \mu\text{s}$; $\Delta_1 (=1/2^1 J_{\text{XH}})$ 为产生反相磁化强度的演化延迟,一般取 3.5 ms; Δ_{LR} 为远程耦合 ($^n J_{\text{XH}}, n > 1$) 的演化延迟,约 50 ms。必要时需要对 Δ_1 和 Δ_{LR} 进行优化。

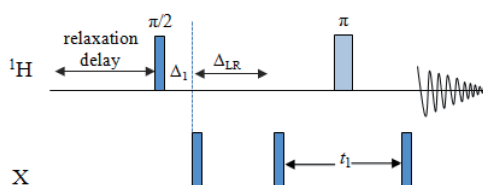


图 11 HMBC 脉冲序列

10.8.7 同核二维 NOE 谱或交换谱 (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy, NOESY / EXchange Spectroscopy, EXSY)

二维 NOESY 或 EXSY 检测同核(通常是¹H 核)之间的交叉弛豫作用(即 NOE 效应)或化学交换作用。与 NOE 差谱不同,NOESY 是瞬态(transient)NOE 实验。是用二维谱的速度和分辨率,提供一种

确定化学交换和空间位置的有效方法。NOESY 实验的基本脉冲序列见图 12。

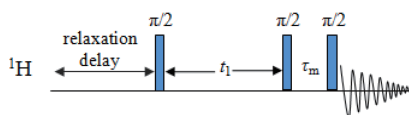


图 12 NOESY 脉冲序列

其中 τ_m 为混合时间,在这个时间内,NOE 是一个逐步建立到衰减的过程。这一过程的快慢取决于分子的相关时间和核的空间距离,一般来说大分子比小分子快,空间距离越短这一过程越快。对于小分子, τ_m 一般在几百毫秒到数秒;生物大分子, τ_m 一般为设在 $0.5T_1$ 附近,为避免产生自旋扩散可以更短。对于中等大小的分子(相对分子量约为 1 000-3 000),NOE 会出现接近 0 的情况,NOESY 实验可能检查不到交叉峰信号,这种情况下建议用 ROESY 观测。此外 τ_m 大小还与场强和样品溶液黏度有关,可根据样品的实际情况优化。

NOESY 谱图中对角峰取正时,小分子 NOE 峰为负(正 NOE),大分子 NOE 峰为正(负 NOE),化学交换峰总是为正,NOESY 谱中同时还可能存在 COSY 信号峰,解谱时要对照 $^1\text{H}-^1\text{H}$ COSY 谱将 J 耦合交叉峰扣除。

10.8.8 旋转坐标系中的 NOE 谱(Rotating-frame Overhauser Effect Spectroscopy, ROESY)

二维 ROESY 检测同核(通常是 ^1H 核)之间在旋转坐标系下的交叉弛豫作用(即 ROE 效应)和化学交换作用。与 NOE 效应不同,ROE 效应一直存在,不会出现接近 0 的情况。作为 NOESY 的补充,ROESY 也是确认空间位置和化学交换的一种有力手段。ROESY 实验的基本脉冲序列见图 13。

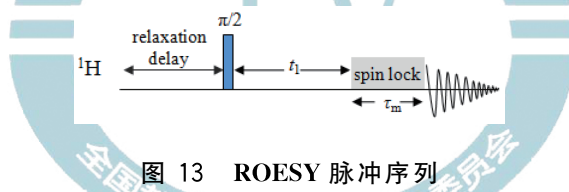


图 13 ROESY 脉冲序列

其中自旋锁定采用低功率脉冲,自旋锁定时长 τ_m 可以根据 T_1 优化,但应注意自旋锁定脉冲的热效应以及过长的自旋锁定脉冲可能损坏硬件,对于小分子 τ_m 一般取几百毫秒。ROESY 谱图中对角峰取正时,ROE 峰为负,化学交换峰为正。ROESY 谱中同时还可能存在 TOCSY 信号峰,要注意排除。

10.8.9 扩散排序谱(Diffusion Ordered Spectroscopy, DOSY)

10.8.9.1 简介

DOSY 多用于测量体系的扩散系数,也可用于测量梯度场的强度。在核磁共振 Z 方向梯度场允许的范围内,核磁样品管中混合物各个组份的信号,由于扩散系数的不同,分别出现在二维谱图 F1 维的不同行上,其效果类似色谱分离,为虚拟的分离谱。此实验结果可与动态光散射的结果互相印证,尤其在小尺寸分子的验证方面更具优势。最早的 DOSY 是基于脉冲梯度场自旋回波的实验,其脉冲序列如图 14 所示。

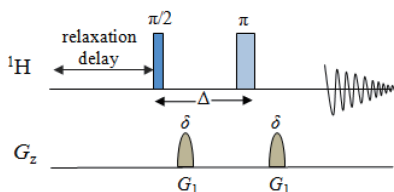


图 14 DOSY 脉冲序列

在测试 DOSY 谱时,要根据需要设置并控制温度。在测试时首先要采集常规的一维 ^1H 谱,用以优化 F_2 维谱宽。接着用一维 DOSY 脉冲序列建立实验,根据仪器操作手册的步骤设置初始常数并逐步优化扩散时间(Δ)和梯度场长度(δ)。随后选择二维实验,设置合适的采样参数采集数据。在测试过程中,随梯度场强度的增加, F_1 维信号呈衰减曲线。在处理 DOSY 的二维数据时只对 F_2 维进行变换,具体处理过程参考各谱仪的操作手册。

在检测 DOSY 谱前,需要对探头温度和谱仪的梯度场进行校准。

10.8.9.2 探头温度校准方法

分别使用温度校准标样含 80% 乙二醇的氘代二甲基亚砷溶液(80% Ethylenglycol in DMSO- D_6)(温度校准区间:290-430 K)和含 4% 甲醇的氘代甲醇溶液(4% Methanol in Methanol- D_4)(温度校准区间:155-300 K),设置不同的区间温度,等待样品温度达到设置温度。在每次都重新匀场的前提下,采集 ^1H 谱。所得到的 ^1H 谱化学位移与样品温度具有确定的关系。由此可以使用仪器自带的计算程序计算出每个设置温度对应的样品实际温度,然后把结果输入程序,计算校准探头的温度。

10.8.9.3 梯度校准方法

在探头温度校准的前提下,将探头温度控制在 25 $^\circ\text{C}$ 。在梯度参数设置界面设置一个合理的梯度值,然后用梯度校准标样(0.1 mg/mL GdCl_3 的重水溶液),进行 DOSY 实验,使用谱仪的自动程序计算出标样的扩散系数值。调整梯度值,重复进行 DOSY 实验,直到得到的扩散系数值非常接近 $1.872 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$,此时的梯度值为校准后的精确梯度值。

10.9 自旋-晶格弛豫时间 T_1 (纵向弛豫时间)的测定

10.9.1 ^1H 纵向弛豫时间 T_1 的测定(反转恢复法)

基本脉冲序列如图 15 所示。

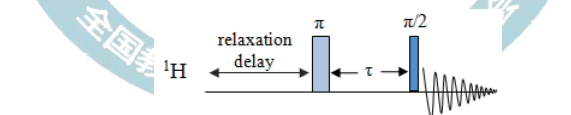


图 15 ^1H 反转恢复法脉冲序列

其中 τ 为不同延迟时间,单位为秒。在实验中, τ 的取值分布不均匀,一般前几个点取值比较密集,而最大值必须大于样品中最大 T_1 的 5 倍。最大值的确定是关键,要保证做出来的峰强度曲线变化要么是向上的一个平台,要么是向下的一个平台。在现代仪器上,计算机程序可以将不同延迟时间 τ 的 n 个实验结果作为二维矩阵的行数据存储起来。在实验结束后拟合出曲线,计算出 T_1 。弛豫延迟时间要大于 $5T_1$ 或大于等于 τ 中的最大值。

10.9.2 ^{13}C 纵向弛豫时间 T_1 的测定

^{13}C 弛豫时间 T_1 的测定原理与 10.9.1 的测定一样。只是在质子通道采用了组合脉冲去耦,以简化谱图、增强信号的信噪比。基本脉冲序列如图 16 所示。

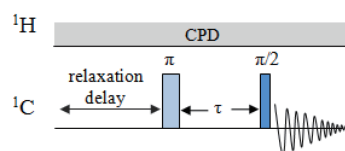


图 16 ^{13}C 反转恢复法脉冲序列

10.10 自旋-自旋弛豫时间(横向弛豫时间) T_2 的测试

T_2 决定了自旋旋转坐标系中 x, y 方向磁化矢量的衰减,与线宽有关,其值的大小对设计动态 NMR 实验或研究自旋扩散等都很重要。通常采用自旋回波脉冲序列进行测试,最基本的脉冲序列见图 17。

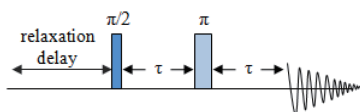


图 17 测试 T_2 的自旋回波脉冲序列

在测试中通过改变自旋回波时长 τ ,得到一系列信号强度随 τ 值变化的谱图,经过拟合计算得到 T_2 。在测试中注意弛豫延迟时间要大于 $5T_1$ 。

10.11 液体核磁共振波谱的定量分析

10.11.1 依据

在合适的测试条件下,一维核磁共振波谱谱峰的积分面积与样品中所对应的自旋核的数目成正比:

$$A_1/A_2 = N_1/N_2 \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中:

A ——相应信号的积分面积;

N ——产生相应信号的自旋核数目。

10.11.2 测试条件

使用的脉冲序列要保证测试时不同官能团出峰效率一致。一般使用单脉冲序列(见图 1),如 ^1H 谱的定量分析。对于需要对 ^1H 去耦的核如 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{19}F 、 ^{29}Si 和 ^{31}P 等,宜使用反转门控去耦脉冲序列(图 4),以避免因 NOE 效应引起的信号强度差异。弛豫延迟时间需足够长,以保证累积采样过程中,单次采样之间所有待检测核的弛豫恢复完全。当使用 $\pi/2$ 的脉冲角度激发时,弛豫延时时间的设置需 $\geq 5T_1$ 。对于 T_1 过长的样品,可以加入弛豫试剂缩短测试时间。

10.11.3 绝对定量和相对定量分析

核磁共振波谱的定量分析可以分成绝对定量和相对定量两种模式。绝对定量分析多用于样品中组分含量的测定,测试时通常将精密称重的样品与标准物混合配制成溶液。通过比较待测组分特征峰的峰面积与标准物内标峰的峰面积来计算该组分的含量。样品待测组分的质量和其质量分数的计算公式见式(7)和式(8)。

$$W_i = W_r n_r A_i M_i / (n_i A_r M_r) \quad \dots\dots\dots (7)$$

$$\omega = W_i / W_s \quad \dots\dots\dots (8)$$

式中:

A ——样品待测组分特征峰或标准物内标峰积分面积;

ω ——待测组分质量分数;

W_i, W_r, W_s ——分别为样品待测组分,标准物,样品的质量;

n_i, n_r ——样品待测组分特征峰和标准物内标峰对应的官能团中化学位移等价自旋核数目;

M_i, M_r ——样品待测组分和标准物的分子量。

在绝对定量分析中,标准物一般根据样品的特性及所测试谱图的种类来选择。一般而言标准物需与样品共溶且不发生相互作用;获得的谱图中,标准物的内标峰与样品待测组分特征峰的积分值应不受其他谱峰的影响。在测试中还要注意标准物内标峰和样品特征峰的峰面积值不宜有数量级上的差别。

相对定量分析通过比较样品各组分特征峰的峰面积,获得某一组分的相对含量或各组分间的相对含量,不需要使用标准物。以双组分样品为例,组分摩尔分数的计算公式见式(9)。

$$(A_1/n_1)/(A_1/n_1 + A_2/n_2) \dots\dots\dots(9)$$

式中:

A ——各组分特征峰积分面积;

n ——各组分特征峰对应的官能团中化学位移等价自旋核数目。

11 固体核磁共振谱的测试

11.1 固体核磁共振谱测试的一般步骤

一般步骤如下:

- a) 按仪器说明书及谱仪硬件配置接好相应探头、电缆、插件和气路。
- b) 根据探头选取正确尺寸的转子,按 9.2 的方法填装样品后,把转子送入探头内。根据测试需要,通过气动控制单元使转子旋转达到所需的转速。
- c) 建立实验文件;根据实验目的和方法要求,从计算机程序库中调出所需的脉冲程序后,进行探头调谐。根据使用的脉冲序列,分别调节质子通道和观测核通道的 Tuning 和 Matching,使调谐曲线的最低点移至对应频率上并落在整个窗口底部。
- d) 按程序的要求设置采样参数,同时注意程序要求的相循环格式,采样累加。
- e) 设置合适的处理参数进行数据处理、作图。

11.2 固体探头魔角(magic angle)的调节

固体核磁共振谱仪探头的魔角应定期校准,由于⁷⁹Br 旋转边带信号较强,且对魔角的角度灵敏,故一般采用 KBr 粉末进行魔角调节。调节步骤如下:

- a) 换上需要调试魔角的固体探头,按照仪器手册接好前置放大器及相应频段的滤波器;
- b) 将装有干燥 KBr 粉末的转子送入探头内的魔角旋转单元。调节气动单元,使转子达到合适 c) 的转速(如 5 kHz);
- c) 建立实验文件(建议采用不去耦的单脉冲序列),设置采样核为⁷⁹Br,调谐探头。根据探头型号设置合适的脉冲时间、脉冲强度等实验参数;
- d) 调节魔角角度旋钮,使得采集的⁷⁹Br 谱图旋转边带强度最大或者⁷⁹Br 的 FID 回波信号持续时间最长。

11.3 仪器工作条件的建立

在对实际样品进行检测前,需要获得所用探头的工作功率。根据待测核的不同,选择合适的样品,测定检测通道的 90°脉冲功率。如需去耦,还要测定去耦通道的 90°脉冲功率。测试的一般方法如下:

- a) 调用适当的脉冲序列如单脉冲或高功率去耦脉冲;
- b) 设定合适的谱宽、采样数据点和频率偏置等参数;
- c) 根据谱仪硬件预设脉冲功率为合适的数值,逐步增加检测通道的脉冲时长,通过找零点的方式,得到预设功率下的 180°脉冲宽度。然后用的 180°脉冲宽度除以 2 的方法来确定 90°脉宽。

注 1: 此步骤通常通过仪器自带的自动优化程序完成。随后可通过仪器自带的功率换算程序计算出在所需脉宽下的 90°脉冲功率。

注 2: 去耦通道由于发射机的死时间较长,不宜用上述方法来确定 90°脉宽,需测定出 180°和 360°脉宽,按示例的方法求出 90°脉宽。

示例：

测得 180° 脉宽为 $8 \mu\text{s}$, 360° 脉宽为 $15 \mu\text{s}$, 则真正的 90° 脉宽为: $[8 + (2 \times 8 - 15)] / 2 = 4.5 (\mu\text{s})$ 。

11.4 交叉极化 (Cross Polarization, CP) 魔角旋转谱 CP-MAS

11.4.1 建立哈特曼-哈恩匹配条件

固体样品在魔角旋转下通过交叉极化方式增强稀核的信噪比, 基本的 CP-MAS 脉冲序列见图 18。

为了实现有效的交叉极化, 首先要建立哈特曼-哈恩匹配条件。具体实验操作上, 一般固定质子通道的脉宽和脉冲功率, 优化 X 通道脉冲功率和交叉极化时间 (contact time)。首先调用交叉极化 (CP) 的脉冲程序。根据仪器的硬件条件, 利用 11.3 条获得的 90° 脉冲功率计算并设置合适的 ^1H 通道的脉宽和脉冲功率。然后根据测试需要选择合适的去耦方式, 预设需要优化的参数, 采样, 获得未优化条件下的谱图。选取合适的谱峰和谱宽范围, 依次优化 X 通道脉冲功率和交叉极化时间, 使获得的信号最大, 即最佳地满足哈特曼-哈恩匹配条件。

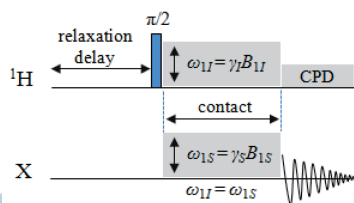


图 18 交叉极化脉冲序列

11.4.2 优化去耦功率和质子去耦偏置频率

在满足哈特曼-哈恩匹配条件后, 根据仪器的硬件条件, 预设合理的去耦功率和质子去耦偏置频率。选取合适的谱峰和谱宽范围, 分步优化去耦功率和质子去耦偏置频率, 使获得的信号最大。

11.5 旋转边带全抑制 (Total Sideband Suppression, TOSS) 的交叉极化谱 CP-TOSS

根据样品信号的化学位移各向异性和旋转速度, 在 CP-MAS 实验中, 除得到各向同性的化学位移谱峰外, 还会出现一系列称为旋转边带 (spinning sideband) 的卫星峰。卫星峰虽然可以通过改变旋转速度来识别, 但是它们常会混淆谱峰的指认。TOSS 是最常用于抑制旋转边带产生的脉冲技术, 最常用的 TOSS 是在 CP 脉冲序列基础上, 在 X 通道加了 4 个 180° 脉冲。这 4 个脉冲之间的间隔时间是与转速相关的时间变量, 是由边带图形的图形分析推导出来的。在这 4 个脉冲的作用下, 边带信号被干扰从而达到抑制的目的。其基本脉冲程序如图 19 所示。

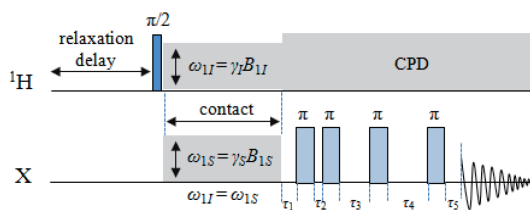


图 19 CP-TOSS 脉冲序列

在测试时可以对图 19 中的 4 个 180° 脉冲的脉宽或脉冲功率进行优化, 以得到最好的边带抑制效果。在 CP-TOSS 实验中也要注意对某些样品边带峰不能完全被抑制, 甚至会出现假峰。对一些 T_2 较小的样品, 有可能造成信号严重损失而不能得到反映样品真实情况的谱图, 这时可以考虑 TOSS 序列的变种, 或在 CP 方法下提高转速甩开边带。

11.6 魔角旋转结合多脉冲技术谱(Combined Rotation And Multiple Pulse Spectroscopy, CRAMPS)

CRAMPS 通过将多脉冲技术和魔角旋转结合起来,在实验过程中同时消除丰核(主要是 ^1H 和 ^{19}F)的同核偶极-偶极相互作用和化学位移各向异性。其中多脉冲技术利用强射频脉冲序列使核在自旋空间做快速翻转运动实现同核去耦,从而使谱线窄化。多脉冲序列常使用带有连续相调制技术的形状脉冲如 W-PMLG 和 DUMBO 等,这些形状脉冲作用的时间都比较短。

做 CRAMPS 前需要对探头进行准确调谐以及仔细匀场以获得好的分辨率。建议使用甘氨酸作为标样,根据仪器操作手册设置及优化对应参数,在数据处理时需要校正做图因子(scaling factor)。

11.7 频率转换的 Lee Goldburg 异核相关谱(Frequency Switched Lee Goldburg Heteronuclear Correlation, FSLG-HETCOR)

FSLG-HETCOR 关联 ^1H 化学位移和 X 核(例如: ^{13}C 、 ^{15}N)化学位移,在间接采样维上提供很好的 ^1H 分辨率。因为从 ^1H 到与之相联的 X 核间极化转移非常迅速, ^1H 和 X 核的交叉极化接触时间应该较短以避免 ^1H 与更远处的 X 核出现交叉峰。

本实验要求较高转速,建议在 4 mm 或更小直径的探头上完成,在 7 mm 或更大直径的探头上实验效果可能不佳。此外建议用 ^{13}C 标记的酪氨酸盐酸盐(Tyrosine-HCl)作标样来建立及优化测试参数,因为它的 ^1H 化学位移较宽(δ 2.5-12), ^1H 自旋-晶格弛豫时间短, ^{13}C 谱线较多而且分散。采用未标记的标样时应增加采样次数(8-32 次)。

实验时需要优化转速,使得谱图中心峰与旋转边带不重叠(尤其是标记样品)。此外还需优化去耦条件。

12 结果报告

12.1 基本信息

至少应包括:样品信息、仪器设备信息、环境条件、检测方法(标准)、检测人、检测日期等。

12.2 测试或分析结果

按照委托的测试项目出具相应的谱图。

12.3 分析结果的表述

12.3.1 常规的核磁共振谱中得到化学位移值用符号 δ 表示,是一个没有量纲的值。在记录和结果报告中,一般用 ppm 为后缀来表示数值的大小。例如: δ 5.12 ppm,不建议使用 δ 5.12×10^{-6} 这样的表述。耦合常数 J 用赫兹(Hz)为单位表示,弛豫时间 T_1 、 T_2 用秒(s)为单位表示。

12.3.2 化学位移值为相对值,其数值的大小与参比物化学位移值相关。因此在分析结果中需要详细注明使用的参比物、参比方法和参比物所标定的化学位移值。在谱图中先将参比物的谱峰校准为相应的已知数值,随后对其他谱峰进行标峰。

12.3.3 对于需要积分的谱图,应选取样品分子中易辨认的特征峰标定积分值。该特征峰不应与其他谱峰重叠,最好居于谱图的中部。

12.3.4 除特殊要求外,谱宽的选择应能容纳样品的全部信号峰,不应出现折叠信号峰。

12.3.5 谱图中若有杂质峰、溶剂峰、 ^{13}C 卫星峰和旋转边带等其他“信号”出现,应予以注明。

12.3.6 二维谱图一般以轮廓图表示,横坐标和纵坐标代表 F_1 和 F_2 维的频率变化(通常以 δ 或 Hz 标记), F_1 维可依习惯选用横坐标或纵坐标表示。二维信号峰以等高线的方式显示,在做图时宜根据样品出峰情况设置合适的等高线参数,保证弱信号谱峰出现的同时假信号或噪音信号尽可能少。

12.3.7 通常每张谱图应附有氘代溶剂、探头温度、共振频率、谱宽、采样点数、累加次数、脉宽、弛豫延迟时间和窗函数等采集与处理参数等信息。

12.4 定量分析结果的表达

用平行样检测结果表达,如需用精密度(用 RSD 表达)、准确度(用回收率表达)时,可按照相关规定(必要时按照 GB/T 27411)提供不确定度评定结果。

13 安全注意事项

13.1 液体核磁管管壁较薄,易破碎,在盖管帽时,力度要轻,以免造成玻璃破碎,使操作者受伤。同时向探头内放入样品管时要先打开吹动样品管的气流,以免核磁管直接落入探头中破碎,污染或损坏探头。

13.2 应妥善保管低沸点、有毒或易燃、易爆的样品和溶剂。

13.3 目前多数超导磁体均使用强磁场屏蔽/超屏蔽等技术减小了磁场外泄,但对安装有心脏起搏器等医疗器械的人员仍有潜在危险,也可能对磁卡产生消磁,需要在仪器安装场所张贴警示。

13.4 超导磁体在使用过程中有可能会失超情况,瞬间释放大量氮气,可能造成缺氧危险。

13.5 在做变温实验使用氮气或液氮时,可能造成局部空间缺氧,注意保持通风,条件允许下可对室内进行氧气浓度监控。

13.6 在使用液氮、液氦时,注意做好眼部和四肢等部位的防护,避免造成冻伤;同时对谱仪添加液氮、液氦时,需要严格遵守操作规程,避免对人员或仪器造成损伤。

13.7 注意仪器放置场地的水、电、气安全。



附 录 A
(资料性附录)
氘代溶剂的性质

液体核磁共振波谱测试中常用氘代溶剂的性质见表 A.1。

表 A.1 液体核磁共振波谱测试中常用氘代溶剂的性质

名称	分子式	熔点 ℃	沸点 ℃	¹ H(δ)	多重性	¹³ C(δ)	多重性	残余水峰化学 位移(δ)
氘代乙酸	C ₂ D ₄ O ₂	16.7	118	11.65 2.04	1 5	178.99 20.0	1 7	11.5
氘代丙酮	C ₃ D ₆ O	-94	56.5	2.05	5	206.68 29.92	1 7	2.8
氘代乙腈	C ₂ D ₃ N	-45	81.6	1.94	5	118.69 1.39	1 7	2.1
氘代苯	C ₆ D ₆	5.5	80.1	7.16	1(宽)	128.39	3	0.4
氘代氯仿	CDCl ₃	-63.5	61-62	7.24	1	77.23	3	1.5
重水	D ₂ O	3.81	101.42	4.80	1	—	—	4.8
氘代二氯甲烷	C ₂ D ₂ Cl ₂	-95	39.75	5.32	3	54.00	5	1.5
氘代二甲基甲酰胺	C ₃ D ₇ NO	-61	153	8.03	1	163.15	3	3.5
				2.92	5	34.89	7	
				2.75	5	29.76	7	
氘代二甲基亚砜	C ₂ D ₆ SO	18.55	189	2.50	5	39.51	7	3.3
氘代甲醇	CD ₃ OD	-97.8	64.7	4.87	1	49.15	7	4.9
				3.31	5			
氘代吡啶	C ₅ D ₅ N	-41.6	115.2- 115.3	8.74	1	150.35	3	5
				7.58	1	135.91	3	
				7.22	1	123.87	3	
氘代四氯乙烷	C ₂ D ₂ Cl ₄	-44	146.5	6.0	5	73.78	3	
氘代四氢呋喃	C ₄ D ₈ O	-108.5	66	3.58	1	67.57	5	2.4-2.5
				1.73	1	25.37	5	
氘代甲苯	C ₇ D ₈	-95	110.6	7.09	m	137.86	1	0.4
						129.24	3	
				7.00	1	128.33	3	
				6.98	5	125.49	3	
				2.09	5	20.4	7	
氘代三氟乙酸	C ₂ DO ₂ F ₃	-15.4	72.4	11.50	1	164.2	4	11.5
						116.6	4	

注：本表数据摘自 *The Merck Index, an Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals-Fourteenth Edition*, Merck Co., Inc. Whitehouse Station, NJ 2006。

附录 B
(资料性附录)

部分超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪主要技术指标

表 B.1 列举了部分超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪的主要技术指标,指标数据与磁体的工作频率、探头类型、生产年份和制造商等都有关系。表中的数据仅供参考,不用于仪器的合格性考核和判定。

表 B.1 部分超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪主要技术指标

技术指标	标样 ^c	不同工作频率磁体和探头的指标 ^a				
		300 MHz	400 MHz	500 MHz	600 MHz	700 MHz
¹ H 5 mm 分辨率 ^b	A	≤0.6 Hz	≤0.6 Hz	≤0.6 Hz	≤0.6 Hz	≤0.6 Hz
¹ H 5 mm 灵敏度	B	≥180	≥300	≥420	≥450	≥500
¹ H 5 mm 线形	A	6/12	6/12	6/12	6/12	6/12
¹ H 5 mm 90°脉冲	C	≤15 μs	≤15 μs	≤15 μs	≤15 μs	≤16 μs
¹³ C 5 mm 分辨率	D	≤0.20 Hz	≤0.20 Hz	≤0.20 Hz	≤0.20 Hz	≤0.20 Hz
¹³ C 5 mm 灵敏度	D	≥100	≥190	≥220	≥300	≥400
¹³ C 5 mm 线形	D	2/4	2/4	3/5	3/5	3/5
¹³ C 5 mm 90°脉冲	C	≤10 μs	≤10 μs	≤10 μs	≤12 μs	≤12 μs
¹⁵ N 5 mm 灵敏度	E	≥15	≥20	≥32	≥45	≥50
¹⁵ N 5 mm 90°脉冲	C	≤15 μs	≤18 μs	≤18 μs	≤18 μs	≤18 μs
¹⁹ F 5 mm 灵敏度	F	≥225	≥345	≥440	≥565	≥600
¹⁹ F 5 mm 90°脉冲	F	≤15 μs	≤15 μs	≤15 μs	≤15 μs	≤15 μs
³¹ P 5 mm 灵敏度	G	≥100	≥140	≥140	≥200	≥200
³¹ P 5 mm 90°脉冲	G	≤12 μs	≤15 μs	≤15 μs	≤15 μs	≤15 μs

^a 探头均为反向探头,数据仅供参考;

^b 样品不旋转;

^c 对应标样:

- A:1% Chloroform(CHCl₃) in Acetone-D₆;
- B:0.1% Ethylbenzene(EB) in Chloroform-D;
- C:100 mM Urea-¹⁵N([¹⁵NH₂]₂CO),100 mM Methanol-¹³C(¹³CH₃OH) in Dimethylsulfoxide-D₆;
- D:40%Dioxane in Benzene-D₆ (ASTM Test);
- E:90%Formamide (HCONH₂) in Dimethylsulfoxide-D₆ (DMSO);
- F:0.05% Trifluorotoluene (TFT,CF₃C₆H₅) in Chloroform-D;
- G:0.048 5 M Triphenylphosphate (TPP,[C₆H₅]₃PO₄) in Acetone-D₆。

参 考 文 献

- [1] JJF 1448—2014 超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪校准规范
 - [2] JJG(教委)007 超导脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪检定规程
 - [3] ASTM E386-90(2011) 高分辨核磁共振(NMR)波谱数据表征的实施标准(Standard Practice for Data Presentation Relating to High-Resolution Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectroscopy)
 - [4] 《中华人民共和国药典》(2015年版)四部:0441 核磁共振波谱法
 - [5] 有机化学中的高分辨 NMR 技术(原著第 2 版), Timothy D.W. Claridge, 科学出版社, 2010
 - [6] 《现代核磁共振实用技术及应用》, 毛希安, 科学技术文献出版社, 2000
-

