

核磁共振波谱法

核磁共振（NMR）波谱是一种基于特定原子核在外磁场中吸收了与其裂分能级间能量差相对应的射频场能量而产生共振现象的分析方法。核磁共振波谱通过化学位移值、谱峰多重性、偶合常数值、谱峰相对强度和在各种二维谱及多维谱中呈现的相关峰，提供分子中原子的连接方式、空间的相对取向等定性的结构信息。核磁共振定量分析以结构分析为基础，在进行定量分析之前，首先对化合物的分子结构进行鉴定，再利用分子特定基团的质子数与相应谱峰的峰面积之间的关系进行定量测定。

带正电荷的原子核在作自旋运动时，可产生磁场和角动量，其磁性用核磁矩 μ 表示，角动量 P 的大小与自旋量子数 I 有关（核的质量数为奇数， I 为半整数；核的质量数为偶数， I 为整数或0），其空间取向是量子化的； μ 也是一个矢量，方向与 P 的方向重合，空间取向也是量子化的，取决于磁量子数 m 的取值（ $m=I, I-1, \dots, -I$ ，共有 $2I+1$ 个数值）。对于 ^1H 、 ^{13}C 等 $I=1/2$ 的核，只有两种取向，对应于两个不同的能量状态，粒子通过吸收或发射相应的能量在两个能级间跃迁。

当自旋量子数 $I \neq 0$ 的磁核处于一个均匀的外磁场 H_0 中时，磁核因受到磁场的作用力而围绕着外磁场方向作旋转运动，同时仍然保持本身的自旋。这种运动方式称为拉摩进动。原子核的进动频率由下式决定：

$$\omega_0 = \gamma H_0$$

其中 γ 为旋磁比，是原子核的基本属性之一。不同原子核的 γ 值不同，其值越大，核的磁性越强，在核磁共振中越容易被检测。如果提供一个射频场，其 ν 满足：

$$\Delta E = h\nu = \mu H_0 / I$$

其中 h 为普朗克常数，则：

$$\nu = \omega_0 / 2\pi = \gamma H_0 / 2\pi$$

即射频场的频率正好等于在磁场 H_0 中的核进动频率，那么核就能吸收这一射频场的能量，导致在两个能级间跃迁，产生核磁共振现象。

核磁共振波谱是一专属性较好但灵敏度较低的分析技术。低灵敏度的主要原因是基态和激发态的能量差非常小，通常每十万个粒子中两个能级间只差几个粒子（当

外磁场强度约为 2 T 时)。

核磁共振波谱仪 常见的有两类核磁共振波谱仪：经典的连续波 (CW) 波谱仪和现代的脉冲傅里叶变换 (PFT) 波谱仪，目前使用的绝大多数为后者。其组成主要包含超导磁体、射频脉冲发射系统、核磁信号接收系统和用于数据采集、储存、处理以及谱仪控制的计算机系统 (见图 1)。

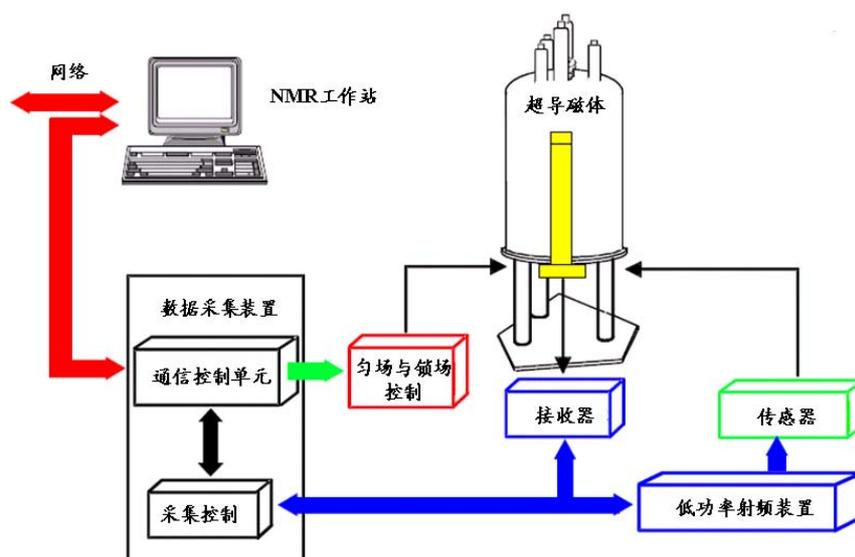


图 1 PFT 核磁共振波谱仪的主要组成

在脉冲核磁共振波谱仪上，一个覆盖所有共振核的射频能量的脉冲将同时激发所有的核，当被激发的核回到低能态时产生一个自由感应衰减 (FID) 信号，它包含所有的时间域信息，经模数转换后通过计算机进行傅里叶变换得到频 (率) 谱。

实验中按照仪器操作规程设置谱仪参数，如脉冲倾角和与之对应的脉冲强度、脉冲间隔时间、数据采样点 (分辨率)、采样时间等。采集足够的 FIDs，由计算机进行数据转换，调整相位使尽可能得到纯的吸收峰，用参照物校正化学位移值，用输出设备输出谱图。

核磁共振谱 核磁共振信号 (峰) 可提供四个重要参数：化学位移值、谱峰多重性、偶合常数值和谱峰相对强度。处于不同分子环境中的同类原子核具有不同的共振频率，这是由于作用于特定核的有效磁场由两部分构成：由仪器提供的特定外磁场以及由核外电子云环流产生的磁场 (后者一般与外磁场的方向相反，这种现象称为“屏蔽”)。处于不同化学环境中的原子核，由于屏蔽作用不同而产生的共振条件差异很小，难以精确测定其绝对值，实际操作时采用一参照物作为基准，精确测定

样品和参照物的共振频率差。在核磁共振波谱中，一个信号的位置可描述为它与另一参照物信号的偏离程度，称为化学位移。

共振频率与外磁场强度 H_0 成正比，磁场强度不同，同一化学环境中的核共振频率不同。为了解决这个问题，采用位移常数 δ 来表示化学位移：

$$\delta = \frac{(\nu_s - \nu_r)}{\nu_o} + \delta_r$$

其中 ν_s 为样品中磁核的共振频率， ν_r 为参照物中磁核的共振频率， ν_o 为仪器的输出频率（单位：MHz）， δ_r 为参照物的化学位移值。因此也可用氘代溶剂中残留的质子信号作为化学位移参考值。

常用的化学位移参照物是四甲基硅烷（TMS），其优点是化学惰性；单峰；信号处在高场，与绝大部分样品信号之间不会互相重叠干扰；沸点很低（27℃），容易去除，有利于样品回收。而对于水溶性样品，常用3-三甲基硅基丙酸钠-d₄（TSP）或2, 2-二甲基-2-硅戊基-5-磺酸钠（DSS），其化学位移值也非常接近于零。DSS的缺点是其三个亚甲基质子有时会干扰被测样品信号，适于用作外参考。

化学位移仅表示了磁核的电子环境，即核外电子云对核产生的屏蔽作用，但未涉及同一分子中磁核间的相互作用。这种磁核间的相互作用很小，对化学位移没有影响，但对谱峰的形状有着重要影响。这种磁核之间的相互干扰称为自旋—自旋偶合，由自旋偶合产生的多重谱峰现象称为自旋裂分，裂分间距（赫兹）称为偶合常数J，偶合常数与外磁场强度无关。偶合也可发生在氢核与其他核（I≠0）之间，如¹⁹F、¹³C和³¹P等。

核磁共振信号的另一个特征是它的强度。在合适的实验条件下（见“测定方法”），谱峰面积或强度正比于引起此信号的质子数，因此可用于测定同一样品中不同质子或其他核的相对比例，以及在加入内标后进行核磁共振定量分析。

测定方法 在熟悉核磁共振理论的基础上，应多了解样品的性质，并严格遵守操作规程，正确操作仪器。不正确的样品制备、谱仪调整及参数设置会导致谱图数据的分辨率和灵敏度降低，甚至给出假峰和错误数据。

通常应用最多的是¹H（质子）核磁共振波谱，其他还包括¹⁹F、³¹P、¹³C核磁共振波谱以及各种二维谱等。测定前，一般须先将供试品制成合适的溶液。

溶剂选择 合适的溶剂除了对样品有较好的溶解度外，其残留的信号峰应不干扰

所分析样品的信号峰。氘代溶剂同时提供异核锁信号。应尽可能使用高氘代度、高纯度的溶剂，并注意氘原子会对其他原子信号产生裂分。常用的核磁共振波谱测定用氘代溶剂及其残留质子信号的化学位移见表 1。

表 1 氢谱测定中常用的溶剂

溶剂名称	分子式	残留质子信号 $\delta(\text{ppm})$	可能残留的水峰 $\delta(\text{ppm})^*$
氘代氯仿	CDCl_3	7.26	1.56
氘代甲醇	CD_3OD	3.31	4.87
氘代丙酮	$(\text{CD}_3)_2\text{CO}$	2.05	2.84
氘代二甲亚砜	DMSO-d_6	2.50	3.33
氘代乙腈	CD_3CN	1.94	2.13
氘代苯	C_6D_6	7.16	/
重水	D_2O	/	4.79
氘代二氧六环	二氧六环- d_8	3.55	/
氘代乙酸	$\text{CD}_3\text{CO}_2\text{D}$	2.05, 8.5*	/
氘代三氟乙酸	$\text{CF}_3\text{CO}_2\text{D}$	12.5*	/
氘代吡啶	$\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$	7.18, 7.55, 8.70	4.80
氘代 N,N-二甲基 甲酰胺	DMF-d_7	2.77, 2.93, 8.05	/

*: 活泼质子的化学位移值是可变的，取决于温度和溶质的变化

适用于氢谱 ($^1\text{H NMR}$) 的溶剂同样也适用于氟谱 ($^{19}\text{F NMR}$)，常见的有 CDCl_3 、 CD_3OD 、 D_2O 、 DMSO-d_6 、 DMF-d_7 、酸和碱等，通常不含氟的溶剂均可使用。同时应注意含氟样品中氟原子对其他核的 J-偶合。

样品制备 按各品种项下的要求。样品的浓度取决于实验的要求及仪器的类型，测定非主要成分时需要更高的浓度。供试液的体积取决于样品管的大小及仪器的要求，通常样品溶液的高度应达到线圈高度的 2 倍以上。选用符合定量要求的核磁管，常用外径为 5 或 10mm，长度为 15 或 20cm 的核磁管。当样品量较少时可选用微量核磁管。

测定 将样品管放入谱仪中，先进行样品和谱仪的调谐，再仔细对谱仪匀场，使

谱仪达到最佳工作状态。设置合适的实验参数，采样，完成后再进行图谱处理，并分段积分。

同一个实验通常可同时得到定性和定量数据。对于核磁共振定量分析，实验参数的正确设置非常重要，以保证每个峰的积分面积与质子数成正比。必须保证有足够长的驰豫时间，以使所有激发核都能完全驰豫，因而定量分析通常需要更长的实验时间。

定性和定量分析 核磁共振波谱分析可广泛应用于结构确证，热力学、动力学和反应机理的研究，以及用于定量分析。

定性分析 核磁共振波谱是一个非常有用的结构解析工具，化学位移提供原子核环境信息，谱峰多重性提供相邻基团情况以及立体化学信息，偶合常数值大小可用于确定基团的取代情况，谱峰强度（或积分面积）可确定基团中质子的个数等。一些特定技术，如双共振实验、化学交换、使用位移试剂、各种二维谱等，可用于简化复杂图谱、确定特征基团以及确定偶合关系等。

对于结构简单的样品可直接通过氢谱的化学位移值、偶合情况（偶合裂分的峰数及偶合常数）及每组信号的质子数来确定，或通过文献值（图谱）比较确定样品的结构，以及是否存在杂质等。与文献值（图谱）比较时，需要注意一些重要的实验条件，如溶剂种类、样品浓度、化学位移参照物、测定温度等的影响。对于结构复杂或结构未知的样品，通常需要结合其他分析手段，如质谱等方能确定其结构。

定量分析 与其他核相比， ^1H 核磁共振波谱更适用于定量分析。在合适的实验条件下，两个信号的积分面积（或强度）正比于产生这些信号的质子数：

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{N_1}{N_2} \quad (1)$$

其中 A_1 、 A_2 为相应信号的积分面积（或强度）； N_1 、 N_2 为相应信号的总质子数。

如果两个信号来源于同一分子中不同的官能团，上式可简化为

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{n_1}{n_2} \quad (2)$$

其中 n_1 、 n_2 分别为相应官能团中的质子数。

如果两个信号来源于不同的化合物，则

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{n_1 m_1}{n_2 m_2} = \frac{n_1 W_1 / M_1}{n_2 W_2 / M_2} \quad (3)$$

其中 m_1 、 m_2 分别为化合物 1 和化合物 2 的分子个数； W_1 、 W_2 分别为其质量； M_1 、 M_2 分别为其分子量。

由式 (2) 和 (3) 可知，核磁共振波谱定量分析可采用绝对定量和相对定量两种模式。

在绝对定量模式下，将已精密称定重量的样品和内标混合配制溶液，测定，通过比较样品特征峰的峰面积与内标峰的峰面积计算样品的含量（纯度）。合适的内标应满足如下要求：有合适的特征参考峰，最好是适宜宽度的单峰；内标物的特征参考峰与样品峰分离；能溶于分析溶剂中；其质子是等权重的；内标物的分子量与特征参考峰质子数之比合理；不与待测样品相互作用等。常用的内标物有：1,2,4,5-四氯苯、1,4-二硝基苯、对苯二酚、对苯二酸、苯甲酸苄酯、顺丁烯二酸等。内标的选择依据样品性质而定。

相对定量模式主要用于测定样品中杂质的相对含量（或混合物中各成分相对含量），由式 (3) 来计算。

绝对定量模式：

溶剂、内标和化学位移参照物：按各品种项下的规定。

供试品溶液制备：分别取供试品和内标适量（按各品种项下的规定），精密称定，置同一具塞玻璃离心管中，精密加入溶剂适量，振摇使完全溶解，加化学位移参照物适量，振摇使溶解，摇匀，即得。

测定方法：将供试品溶液适量转移至核磁管中，正确设置仪器参数，调整核磁管转速使旋转边峰不干扰待测信号，记录图谱。用积分法分别测定各品种项下规定的特征峰峰面积及内标峰峰面积，重复测定不少于 5 次，取平均值，由下式计算供试品的量 W_s ：

$$W_s = W_r \times (A_s / A_r) \times (E_s / E_r)$$

其中 W_r 为内标物的重量， A_s 和 A_r 分别为供试品特征峰和内标峰的平均峰面积， E_s 和 E_r 分别为供试品和内标物的质子当量重量（质量）（以分子量除以特征峰的质子数计算得到）。

相对定量模式：

溶剂、化学位移参照物、供试品溶液制备以及测定方法：按各品种项下的规定并参照“绝对定量模式”项下。

由下式计算供试品中各组分的摩尔百分比：

$$(A_1 / n_1) / [(A_1 / n_1) + (A_2 / n_2)] \times 100$$

其中 A_1 和 A_2 分别为各品种项下所规定的各特征基团共振峰的平均峰面积， n_1 、 n_2 分别为各特征基团的质子数。