

AVANCE NEO 新手指南

● 用户指南

Version 001

Copyright © by Bruker Corporation

本手册所包含信息的更新、变更不再进行通知。BRUKER 不承担依照本手册进行操作所造成的一切后果。BRUKER 不负责在安装或实验操作中由于本手册所包含的错误而导致的偶然损害。严禁在未取得出版者书面许可的情况下，对手册全部或部分内容进行引用或者翻译。

© 八月 21, 2018 Bruker Corporation

文件编号：10000061271

P/N: H171804CN

目录

1	引言	5
1.1	危险来源	5
1.2	软件版本和命令语法	5
2	安全	7
2.1	磁安全	7
2.1.1	低温安全	7
2.2	电气安全	7
2.3	化学安全	8
2.4	CE 认证	8
3	基础理论及术语	9
3.1	氯仿的 NMR 分析	11
3.2	参比化合物、赫兹、ppm	12
3.3	质子 NMR - 化学位移	13
3.4	苯的质子谱	14
3.5	乙酸苄酯的质子谱	15
3.6	乙苯自旋/自旋耦合的质子谱	16
3.7	去耦	18
3.8	FID 和波谱	19
4	系统介绍	21
4.1	AVANCE 架构概述	22
4.1.1	操作台及其连接	22
4.2	机柜	23
4.3	主控计算机与 AQS 之间的连接	23
4.4	磁体、匀场系统、HPPR 和探头	23
4.5	磁体和磁体杜瓦	25
4.5.1	室温腔管	26
4.5.2	液氮腔	26
4.5.3	液氮腔	26
4.6	锁场系统简介	26
4.7	探头	27
4.8	宽带探头	28
4.9	iProbe	29
4.10	更换探头	30
5	基本操作步骤	31
5.1	TopSpin 窗口	31
5.1.1	新建数据集	32
5.1.2	样品制备	33
5.2	将样品和转子插入磁体中	34
5.3	锁定样品	35
5.4	探头调谐和匹配	36
5.4.1	使用自动调谐程序调谐配备 ATM 的探头	36

5.4.2	使用手动调谐程序调谐配备 ATM 的探头	36
5.5	旋转样品	39
5.6	匀场	39
5.6.1	使用 TopShim 执行常规匀场	39
5.7	设置探头/溶剂相关参数	39
5.8	调节接收器增益	39
5.9	开始采样	40
5.10	数据处理	40
6	准备采样，频率相关参数	41
6.1	频率	41
6.2	通过数字来解释发射频率、基础频率和偏移频率	41
7	NMR 样品	45
7.1	溶剂选择	45
7.2	样品管	45
7.3	样品处理	47
8	质子谱	49
8.1	实验设置	49
8.2	采集	53
8.3	处理	53
8.4	积分	54
8.5	绘制 1D 质子频谱	57
8.6	优化扫描宽度	58
9	质子去耦的 ^{13}C 频谱	61
9.1	实验设置	61
9.2	采集	64
9.3	处理	64
9.4	标峰	66
9.5	绘制 1D 碳谱	67
10	联系信息	69
	图片清单	71
	表格清单	73
	术语表	75
	索引	77

1 引言

本手册的目的是介绍 Bruker 波谱仪的基本组件、它们的功能，以及 TopSpin 软件是如何通过它们来采集 NMR 数据的。它可以让相对缺乏经验的用户学会进行一系列的基本 1-D 高分辨率 (HR) NMR 实验。本手册选择邻氨基苯甲酸甲酯作为示例。将对质子观察和带有质子去耦的碳观察予以说明。为了帮助用户，将使用每个 TopSpin 软件包都附带的标准参数组。这会最大程度减少需要花在操作实际波谱仪上的时间，特别是在有较多大学生接受培训的情况下。在这种情况下，可以使用波谱仪文档提供的教程，在个人电脑上方便地执行操作。

本手册内的指导，假定用户已经具备：

- 关于 TopSpin 软件包的基础知识。
- 一个或多个能够观察质子和在对质子去耦时观察碳的探头。
- 关于如何在 TopSpin 窗口中使用流程选项卡和按钮的基础知识。

尽管我们已经竭尽全力提供切实可行的分步说明，新的用户总是会有一些问题，偶尔需要更有经验的用户提供帮助。本手册的目的是在可行的情况下，使得用户能够独立工作，并对如何操作系统有个基本了解。通过使用本手册，培训新用户所花费的时间有望大大减少。

1.1 危险来源

安全方面的问题将在后续的安全章节详细介绍，本小节仅强调在入门阶段操作 NMR 波谱仪时可能存在的危险。这套系统非常精密，即使是缺乏经验的用户也很少能损坏到设备，因此只需要留意几个最重要的问题。在正常操作情况下，最有可能导致设备损坏的原因如下：

- 在腔管被塞住的情况下从磁体中取下样品。
- 在没有支撑气流的情况下将样品插入磁体。
- 通过未连接的电缆或匹配不良的探头传输射频功率。

建议新用户开始操作之前先熟悉这些潜在危险。系统管理人员务必要确保所有新用户都理解上述事宜。

1.2 软件版本和命令语法

本手册是针对 TopSpin 4.0 版编写的。本手册会通篇概述输入各种命令的程序。

2 安全

在安全方面，应该注意的是 NMR 波谱仪中存在较强的磁体，这是它与其他多数实验室设备不同之处。在设计 NMR 实验室或是培训将来要在实验室内或实验室周围工作的人员时，这一点极为重要。事实上，只要遵循正确的规程操作，在超导磁体附近工作是完全安全的，目前尚没有发现任何有害的医学副作用。但是，疏忽大意可能会导致严重的事故。

磁体有潜在的危险，其原因如下：

- 对于铁磁性物体具有巨大的吸引力。
- 内含大量液氮和液氦。

2.1 磁安全

磁体周围的各个方向都存在磁场。这个磁场（称为漏磁场）是不可见的，主管人员应在相应位置张贴警示标志。由铁、钢等铁磁性材料制成的物品会被磁体吸住。铁磁性物体与磁体靠得过近时，可能会被一股非常强大的力量突然吸到磁体上。这样可能会损坏磁体，也可能导致处于物体飞行路线上的人受伤！

在磁体附近工作的人员必须充分了解潜在的危险。装有心脏起搏器或者其他金属植入物的人不得靠近磁体，这一点至关重要。

漏磁场的强度会随着与磁体之间的距离的增加而迅速下降，因此必须与主管人员商讨磁体周围的工作场所的安全事宜。

2.1.1 低温安全

磁体内含有大量的液氮和液氦。这些被称为制冷剂的液体，能够使磁芯维持在极低的温度下。

由于涉及到极低的温度，因此在处理制冷剂时务必戴上**手套**、穿上**长袖衬衫或实验服**并佩戴**护目镜**。直接接触这些液体可能导致冻伤。系统管理人员应定期检查并确保蒸发气体可以从磁体自由逸出，即保证排气阀畅通无阻。如果尚未接受正确规程培训，切勿尝试向磁体内补加液氮或液氦。

氦气和氮气是无毒的。但是，一旦发生**磁体失超**，房间内可能会突然充满蒸气，因此务必始终保持充分的通风。

2.2 电气安全

波谱仪硬件的危险程度与任何典型的电子或气动硬件不相上下，因此需要采取相应的方式进行处理。切勿拆除各种设备的防护面板。安装这些面板是为了保护您的安全，只有具备资格的人员才能将其打开。机柜后面的主面板设计为使用两个快拆螺丝拆卸，但是仍需要经过培训的人员才能执行此操作。请注意，即使将面板拆除，后面板上的散热风扇仍会继续运行，除非将电源断开运行才会停止。

2.3 化学安全

用户应充分了解与他们所用样品相关的所有危险因素。有机化合物可能具有高度易燃性、腐蚀性和致癌性等危险。

2.4 CE 认证

AVANCE 机柜中安装的所有主要硬件，以及外围设备，如 HPPR、匀场系统和探头，均符合 CE 符合性声明。这包括可能发出的任何泄漏电磁辐射的水平，以及标准的电气危险。请注意，要最大限度地防止电磁辐射泄漏，应关闭机柜门并安装背部面板。



注意： BASH DVD 上的 *AVANCE* 系统总体安全注意事项 (P/N Z31836) 手册提供了 AVANCE 系统的其他安全信息。

3 基础理论及术语

NMR 是一项技术，用来分析诸多化学分子（主要是有机化合物）的结构。一个典型的化合物可能由碳原子、氢原子和氧原子组成。

如果采用最简单的形式，一次 NMR 实验包含三个步骤：

1. 将样品放入静态磁场中。
2. 用一个射频脉冲激发样品中的原子核。
3. 测量样品发出的信号频率。

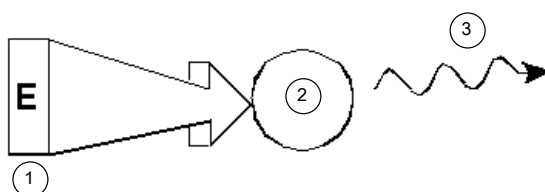


图 3.1: 激发和响应

1.	激发脉冲	2.	原子
3.	发射出的信号		

从发射出的信号频率中，分析人员可以推断出样品中原子的结合和排列的信息。样品中的 NMR 活性原子核在不同的频率共振，这些频率被称作**共振频率**。这些也是原子核被入射的射频脉冲激发时所发出的频率。共振频率的值取决于两个因素：

1) 原子核的类型：

每个同位素的原子核中，质子和中子的组合是特定的。原子核结构在很大程度上决定了共振频率的值。因此，每种同位素表现出一个**基础共振频率**。与 ^1H 等相比， ^{13}C 原子核有一个不同的基础共振频率。请注意下表中列出的不同同位素之间在基础共振频率上的巨大差异：

原子核	NMR 活性	基础共振频率（概 值）[MHz]	自然丰度 [%]
^1H	是	500	99.98
^2H	是	77	0.015
^3H	是	533	痕量 (ca 10^{-18})
^{12}C	否	---	98.89
^{13}C	是	126	1.11
^{35}Cl	是	49	75.77
^{37}Cl	是	41	24.23

表 3.1: 各同位素数据表（频率针对 11.7 T 磁体）

2) 局部原子环境:

同位素所处的局部原子环境产生的影响会叠加在基础共振频率上。一个特定化合物中 ^1H 原子核的共振频率的精确值取决于它所结合的和周围的原子。原子核被电子所包围，电子可以被看作是带有相关磁场的移动电荷。这些电子是原子核的磁屏蔽的来源。屏蔽的程度取决于精确的局部原子环境。典型的局部磁场变化的大小（它会导致频率的变化）取决于同位素和放置样品的磁场的强度。下表显示了两个最为广泛使用的 NMR 原子核 ^1H 和 ^{13}C 的典型频率变化。很清楚，局部原子环境对基础共振频率的影响相对较小。

原子核	由于局部原子环境产生的基础共振频率的典型变化。
^1H	6 kHz
^{13}C	30 kHz

表 3.2: 频率变化 (针对 11.7 T 磁体)

NMR 信号通常被绘制为频谱，针对两个特性进行分析：**频率和强度**。在 NMR 中的惯例是在横轴上绘制频率，并且向左增大。

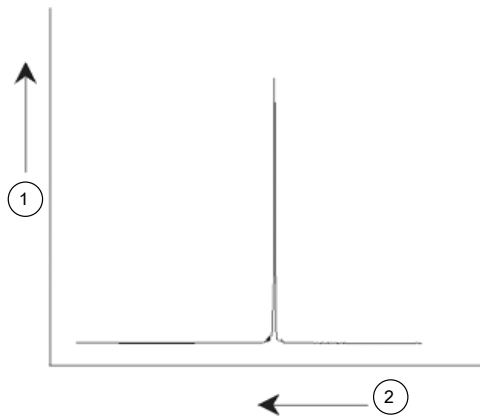


图 3.2: NMR 谱

1.	强度
2.	频率

如上所述，频率产生有关局部原子环境的定性信息。信号的**积分强度**是对**信号强度的计量**，通过对信号峰下的区域求积分来确定。积分与在特定频率上参与生成信号的原子核数量成正比（如果所有的原子核都得到同样程度的激发），因此会提供与化学结构有关的定量信息。

为了在 NMR 实验中激发给定的原子核，激发脉冲的频率应与原子核的共振频率严格匹配。这一频率被称作**载波频率**。因此，如果用 11.7 T 磁体进行实验， ^1H 原子核需要约 500 MHz 的载波频率，而 ^{13}C 原子核需要近 126 MHz 的载波频率。载波频率由参数 SF01 指定。载波频率所激发的原子核被称作**观察原子核**。

请注意，在一些实验中有一个以上的原子核得到激发，如在极化转移或去耦中。在这些情况下，有一个以上的载波频率，但是仍然只有一个观察频率。

不是所有的**同位素**都会对射频脉冲产生响应，也就是说，不是所有的同位素都是 **NMR 活性**。在自然界中发现了氢元素的三个同位素： ^1H （氢）、 ^2H （氘）和 ^3H （氚，具有放射性！）。这些同位素的自然丰度分别为 99.98%、0.015% 和 0.005%。所有这三个同位素都是 NMR 活性，尽管在表 3.1 中可以看到，它们在共振频率上显示出很大的差异。要对一个样品中的氢进行分析，应激发 ^1H 同位素，因为这个同位素是到目前为止丰度最高的。在自然界中发现的碳同位素中，只有一个是 NMR 活性的。到目前为止最常见的同位素，即 ^{12}C （98.89% 自然丰度）不是活性的。因此，对有机化合物中的碳进行的 NMR 分析依赖于 ^{13}C 同位素所发射的信号，它的自然丰度只有 1.11%。显然，对碳的 NMR 分析比对 ^1H （举例来说）的 NMR 分析更为困难（还有其他影响灵敏度的因素，将在这一章的后面几节中进行讨论）。

使用上述对 NMR 的简要介绍，考虑如何使用这一技术来分析三氯甲烷 (CHCl_3) 的构成，将会是一个很好的练习。

3.1 氯仿的 NMR 分析

如下图所示，对应于三个可能的观察原子核 (^1H 、 ^{13}C 和 ^{35}Cl)，可以进行三个单独的实验。

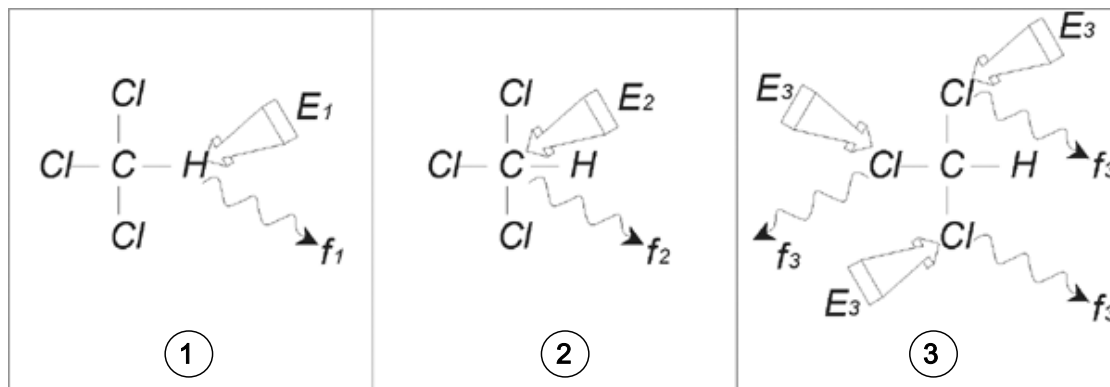


图 3.3: 对 CHCl_3 的 NMR 分析

1	激发 E_1
2	激发 E_2
3	激发 E_3

在相应的载波频率下，对准样品发射三个激发脉冲 (E_1 、 E_2 、 E_3)。 E_1 对应于 ^1H 共振频率， E_2 对应于 ^{13}C 频率， E_3 对应于 ^{35}Cl 频率。 假设这三个同位素被成功激发，样品将发射三个频率的信号， f_1 、 f_2 和 f_3 ，它们被记录在三个单独的频谱上。 如果所发射的信号在一张图中显示，用户可以期望得到类似下图的频谱（请注意图示的信号频率是针对 11.7 T 磁体的，所有的信号都已绘作了单峰，即单个峰）。

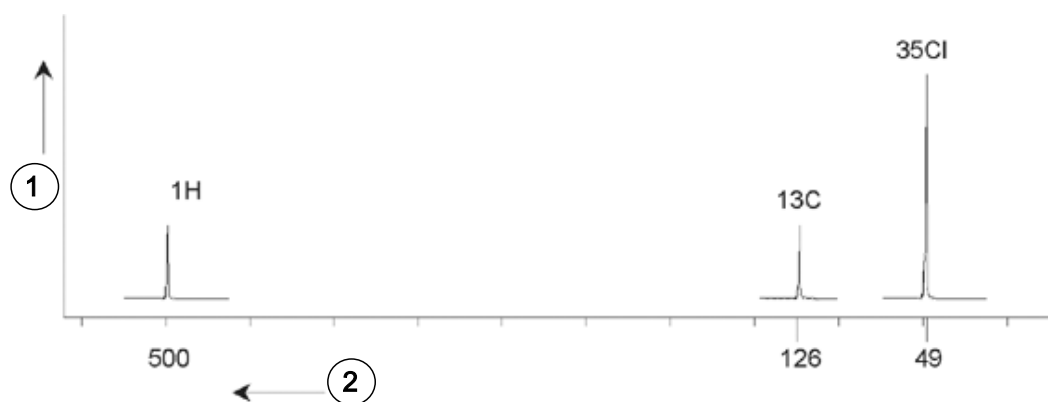


图 3.4: CHCl_3 发射的 NMR 信号

1	强度
2	频率 (MHz)

这一模拟频谱显示了对应于三个同位素的三个峰。 把三个同位素的相对数量考虑在内，可以预期氯、氢和碳的峰强度的比率为 3:1:1。 但是，这三个同位素的自然丰度也必须被计算在内，从而使比率为 227:100:1。 用户会发现实验确定的峰强度比率与这些值不一致。 原因是每个同位素都有一个对 NMR 技术的固有灵敏度。 ^1H 对 NMR 的灵敏度比 ^{13}C 高出 63 倍。 因此，即使一个样品含有相同数量的 ^1H 原子核和 ^{13}C 原子核， ^1H 的信号强度也会比 ^{13}C 的信号强度高出 63 倍。

在与上图类似的图中，所有详细的信息都将丢失，精确确定一个频率是不可能的。 这个频谱会被认为显示了很差的分辨率（频谱的水平分辨率是频谱对两个频率接近的信号的区别能力的一个计量标准）。

更为复杂的是纵向标度的巨大范围。对 NMR 的固有敏感性的差异，加上自然丰度的差异，经常使得将来自不同同位素的信号绘制在一张图上变得不可行。实际上，频谱的垂直分辨率会非常差（垂直分辨率，即频谱的信号噪声比，是对灵敏度的一个计量标准）。

如果我们对三氯甲烷的分析被证明是相当复杂的，那是因为我们试图在一张频谱中比较来自三个不同观察原子核的信号（这里我们忽略任何硬件/电子限制）。因此，实际上是对单个的观察原子核进行 NMR 实验。通过使用一个以上的载波频率（例如去耦实验），尽管一个以上的同位素可能被激发，我们始终只观察来自一个同位素的信号。这大大简化了频谱分析。

前面提到过，由于局部原子环境产生的基础共振频率的差异往往是相对较小的。因此不会遇到大的频谱范围。而且，对一个同位素来说，自然丰度和固有灵敏度总是相同的。因此，¹H 同位素所发射的两个信号（假定有两个信号）的相对强度，将只取决于参与生成信号的原子的数量。这大大简化了为取得定量信息而进行的频谱分析。在继续阅读对 NMR 更为详细的说明之前，读者应熟悉用相对于参考信号的 ppm（百万分之一）来计量信号的概念。

3.2 参比化合物、赫兹、ppm

上文已经说明，NMR 信号针对两个特征进行分析，即强度和频率。绝对频率用赫兹（Hz - 每秒周数）或兆赫（MHz）来计量。如果所有的频率计量都相对于参照物来进行，对所计量信号的报告就简化了。对 ¹H NMR，建议的参照物是一种称为四甲基硅烷（TMS）的化学品。当采集 ¹H 或 ¹³C 频谱的时候，TMS 的存在产生了一个单独的、容易识别的峰。这个峰被作为零值参照，所有其他峰的频率则与 TMS 频率相比较而得出。所以我们可以说一个信号高于 TMS 峰 2.5 kHz。这比引用信号的绝对频率（比如 500.1325 MHz）更为可取。

将信号与 TMS 峰比较，明显减少了说明一个信号的频率所需要的数字位数。但是如果用 ppm 单位来代替赫兹，可以更为简化。ppm 单位以占绝对共振频率（取决于磁体强度）的比重来表示频率。ppm 单位的好处是频率计量独立于磁体强度。这大大简化了对在不同的波谱仪上采集到的频谱的比较。

将赫兹转换为 ppm 以及反过来将 ppm 转换为赫兹所要使用的换算因数如下图所示。

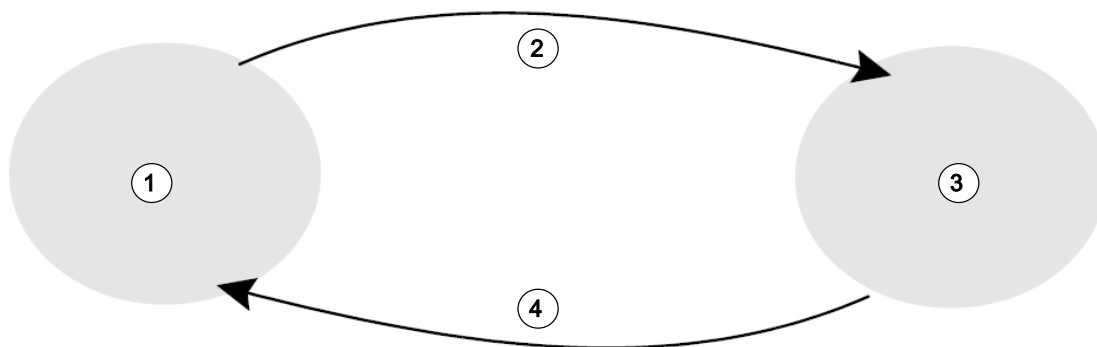


图 3.5: 赫兹和 ppm 的换算

1 赫兹	3 ppm
2 除以以 MHz 为单位的载波频率 (SF01)	4 乘以以 MHz 为单位的载波频率 (SF01)

最好用一个实际的例子来说明使用 ppm 单位的好处。

假设使用 500 MHz 的载波频率 (SF01) 观察到一个高于 TMS 2.5 kHz 的 ¹H 信号。任何 NMR 发射信号的频率都与磁体强度成正比。在 600 MHz 波谱仪上相同的信号会出现在高于 TMS 3.0 kHz 处，在 400 MHz 的机器上，会出现在高于 TMS 2.0 kHz 处。一次换算可能不会造成极大的不便，但是对每个系统的每个峰都必须这么做。现在，考虑同样的信号，但是以 ppm 为单位引述。

以赫兹为单位的频率除以 SF01 = 以 ppm 为单位的频率

例如：

$$2500 \text{ Hz} / 500 \text{ MHz} = 5 \text{ ppm}$$

$$3000 \text{ Hz} / 600 \text{ MHz} = 5 \text{ ppm}$$

$$2000 \text{ Hz} / 400 \text{ MHz} = 5 \text{ ppm}$$

^1H 信号现在可以表示为位于高于 TMS 峰 5 ppm 处（即“低场”），而无论波谱仪的频率是多少。

有经验的用户总是用 ppm 为单位来处理，在科学期刊中复制的频谱也会用 ppm 而不是赫兹作为横向标度的单位。

读者应了解在以上的例子中已经做了一些简化。在 500 MHz 波谱仪上的 ^1H 载波频率的值不会正好是 500 MHz。用于 ppm 计算的载波频率应该是赋予参数 SF01 的精确值。同样，对 600 MHz 和 400 MHz 的波谱仪，以上引用的 ^1H 载波频率也不会正好分别是 600 MHz 和 400 MHz。

也请注意，一个正的 ppm 值表示高于 TMS 的频率，被定义为相对于 TMS 的低场。

3.3 质子 NMR - 化学位移

由于在 NMR 实验中， ^1H 是最常观察到的同位素，现在对此进行更为详细的论述。一个 ^1H 原子核包含一个单独的质子，以 ^1H 作为观察原子核的频谱通常被称作质子频谱。

如前所述，在 11.7 T 磁体中的质子会显示出一个大约 500 MHz 的基础共振频率，但是精确的共振频率取决于局部原子环境。与苯 (C_6H_6) 中的质子相比较，三氯甲烷分子中的质子以一个略微不同的频率共振。因此，发射频率用作标签，给予了分析人员关于质子所处的局部相邻原子环境的定性信息。这是 NMR 的基础。

在精确共振频率上的差异被称为**化学位移**。受到相邻原子以及此前所述局部电子的磁屏蔽程度的影响，共振频率发生位移。位移的大小通常用相对于以 0 ppm 为参照的 TMS 峰的 ppm 值来计量。

无论它们与哪个有机化合物相结合，大多数质子显示出相对于 TMS 14 ppm 以内的化学位移。下图是有机化合物中的典型质子化学位移的图示。

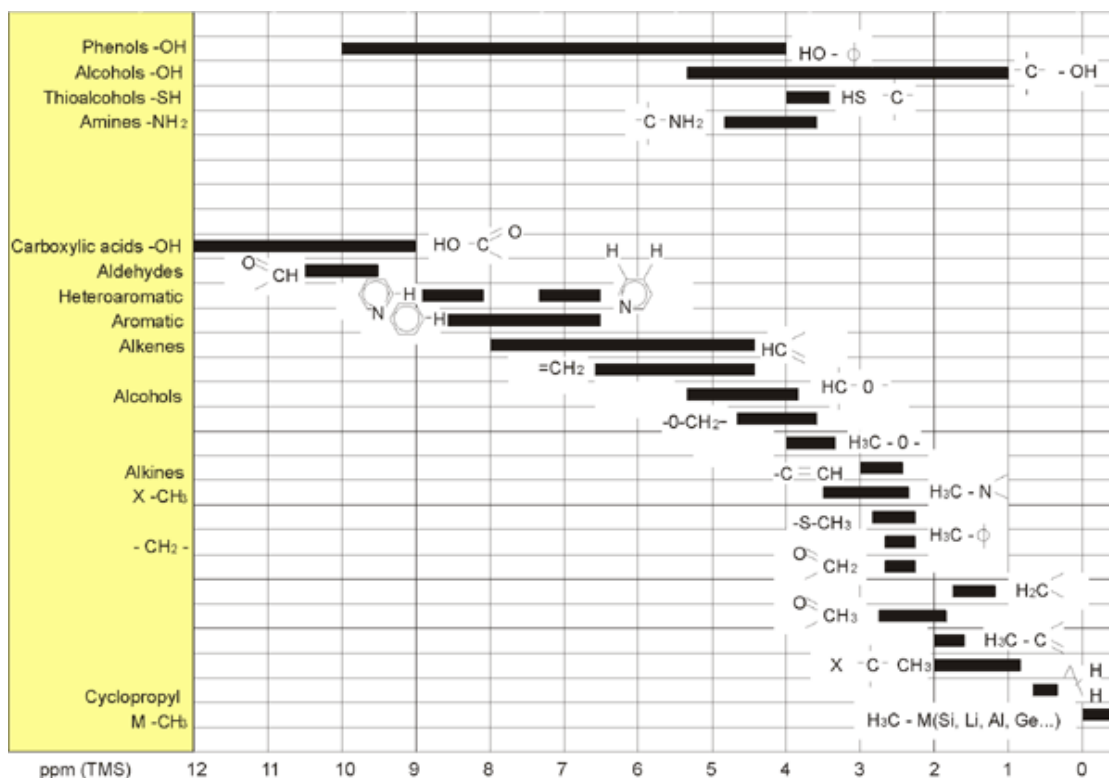


图 3.6: ^1H 在有机化合物中的化学位移

3.4 苯的质子谱

苯环的结构以下图来说明：

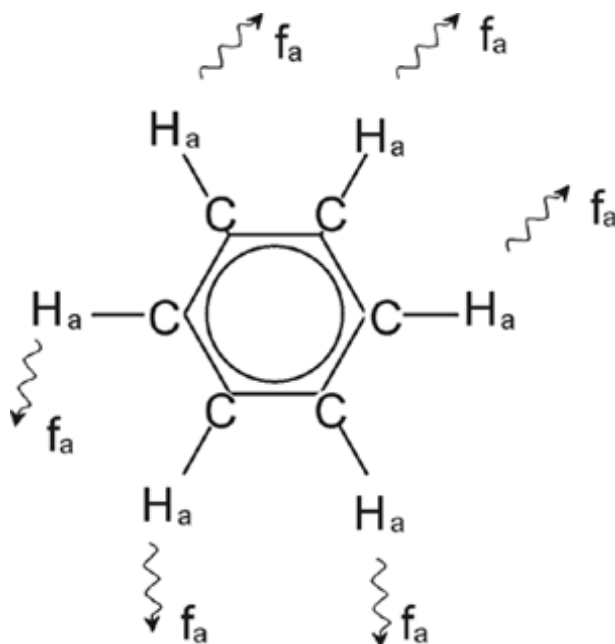


图 3.7: 苯环

所有的六个质子（以 H_a 为标签）可以被认为是相同的。它们每个都与一个碳原子单键结合。每个碳原子依次与其最近的两个相邻碳原子形成两个芳香族键。因此，这六个质子每个都处在相同的化学环境中，被称作是化学等价的，在这一特例中，甚至是磁等价的。它们都以一个完全相同的频率 f_1 共振，而不显示出耦合方式。因此，对纯苯我们可以预期得到一个单一信号。下图是在氘代丙酮中的苯的频谱，显示信号位于 7.5 ppm 处。

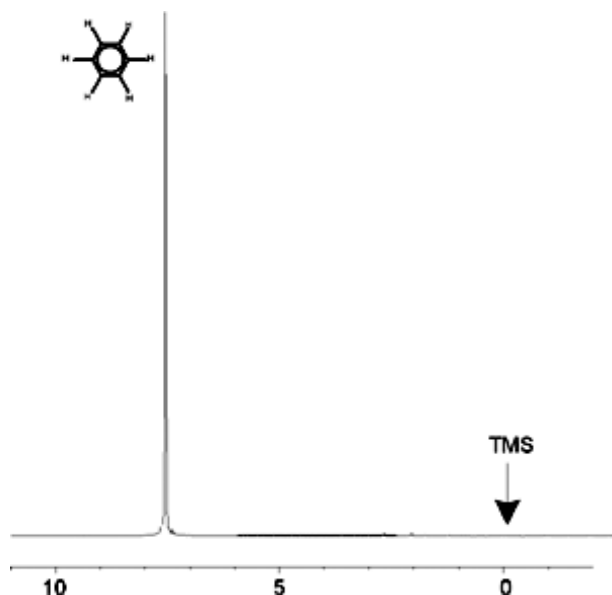


图 3.8: 苯的频谱

3.5 乙酸苄酯的质子谱

乙酸苄酯 ($C_6H_5 - CH_2 - O - CO - CH_3$) 是一个更为复杂的有机分子，其结构如下图所示：

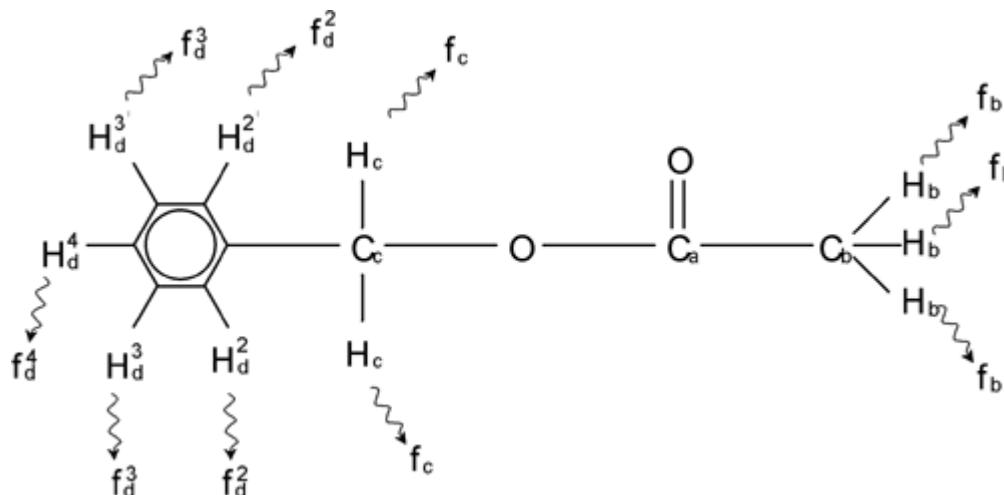


图 3.9: 乙酸苄酯

现在我们可以区分出已经标上相应标签的三组不同的质子。例如，标为 H_b 的三个质子明显发现自己所处的原子环境与标为 H_c 的两个质子不同。

这三个 H_b 质子与另一个 C_a 碳原子单键结合的 C_b 碳原子相结合。这两个 H_c 质子与 C_b 碳原子相结合，而后者本身与苯环和一个氧原子单键结合。第三组质子包括苯环自身的五个 H_d 质子。下图是在氘代丙酮中的乙酸苄酯的质子频谱。在这一频谱中我们预期得到对应于这三组质子的三个信号。

请注意，来自苯环质子的信号位置已从 7.5 ppm（如“苯的频谱”图中所示）略微偏移到了约 7.2 ppm（如下图所示）。

苯环质子不再是磁等价的，在一定程度上甚至不是化学等价的，并已作了相应的标记。从图 3.10 可以清楚地看到， H_d 质子产生的信号是多重峰，但我们将暂时忽略此类细节，到下一节再进行讨论。此图中显示的两个质子峰有明显不同的强度。

此频谱的定量分析比较简单，因为所有信号都是由相同的 1H 同位素发出的，即，对每个峰而言，自然丰度和对 NMR 技术的固有灵敏度是相同的。因此，苯、 CH_2 和 CH_3 峰下的积分面积比例应为 5:2:3，分别对应于参与信号生成的质子数。

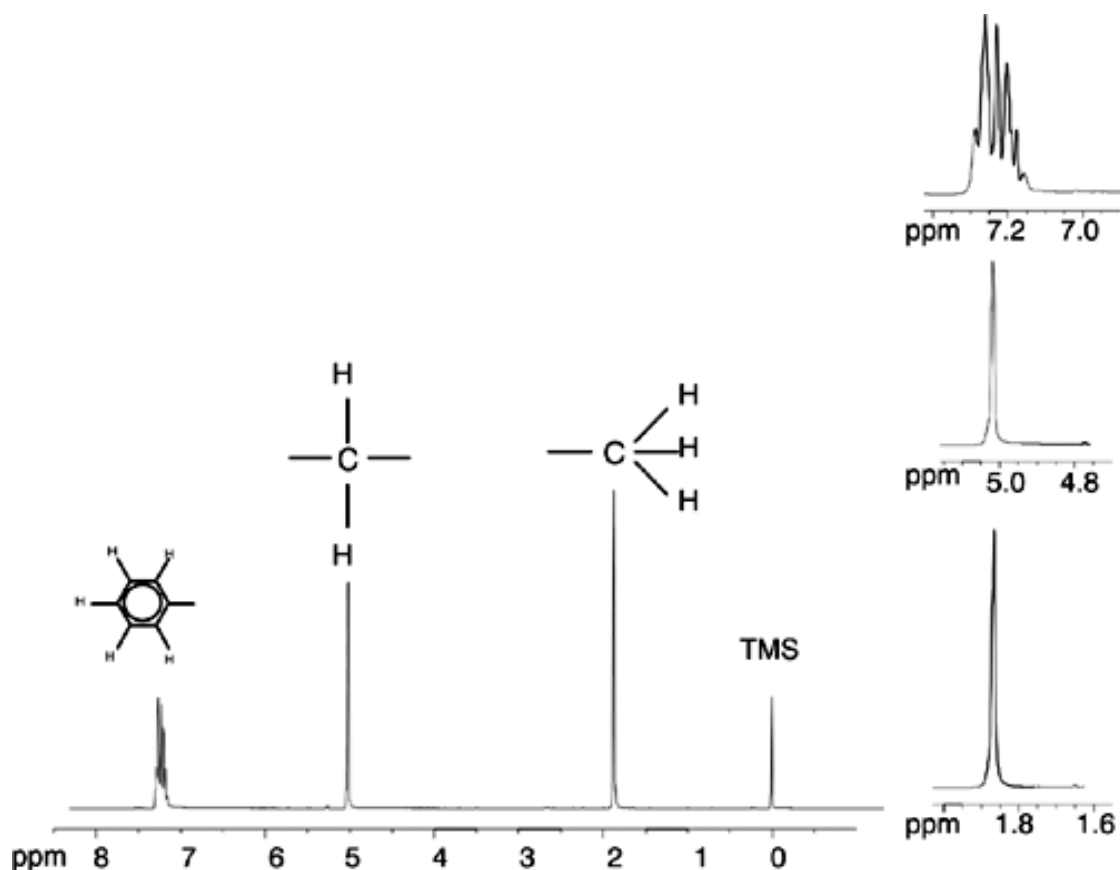


图 3.10: 乙酸苯酯的质子频谱

3.6 乙苯自旋/自旋耦合的质子谱

到目前为止，对质子 NMR 谱的描述已大为简化，即所有信号（除乙酸苯酯中的苯环发出的信号之外）都看作单峰。有机化合物乙基苯的结构及相应的质子频谱分别在“乙基苯”图和“乙基苯频谱”图中给出。和之前一样，质子被标记为三个不同的组，对应于三种基本的原子环境。

此频谱中的信号与乙酸苯酯信号之间最明显的区别是分裂为**多重峰**。CH₃ 质子发出的信号是**三重峰**，而 CH₂ 质子发出的信号是**四重峰**。还应注意，信号位置也不一样。乙酸苯酯中的 CH₃ 质子在 1.85 ppm 处发出信号，而乙基苯中相应的 CH₃ 质子则在 1.25 ppm 处发出三重峰信号。这并不奇怪，因为这两个 CH₃ 基团处于不同的化学环境中。

多重峰分裂的原因是一种称为自旋-自旋耦合的效应。对这种效应的全面介绍超出了本手册的范围，读者可以参考标准 NMR 教科书了解详细信息。就本手册的目的而言，只要简要介绍自旋-自旋耦合就足够了。

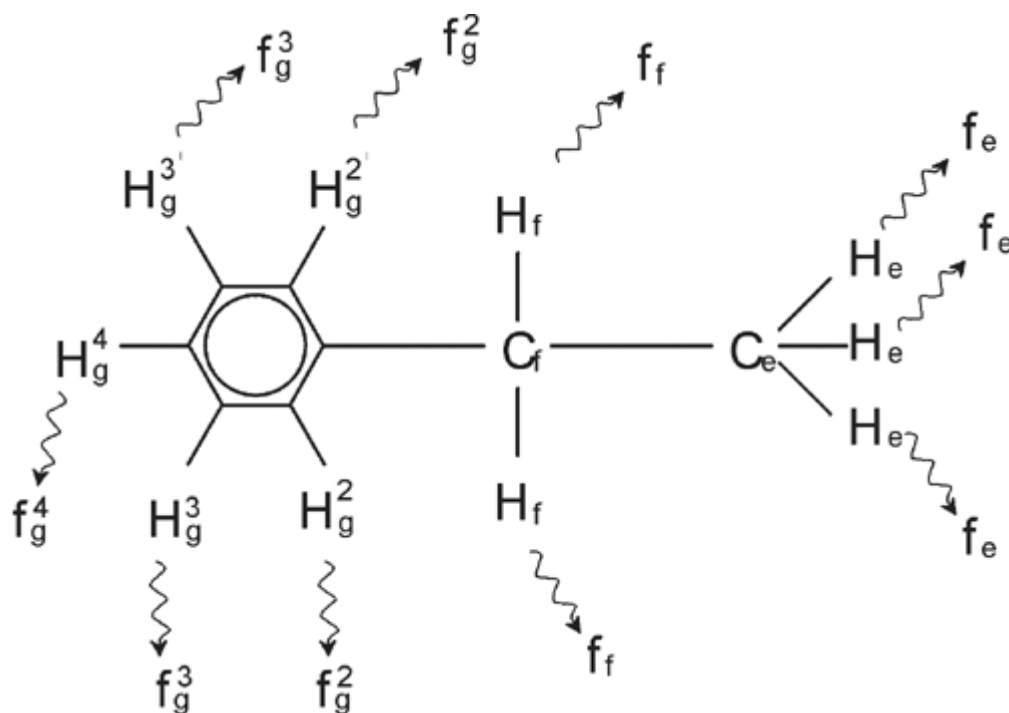


图 3.11: 乙基苯

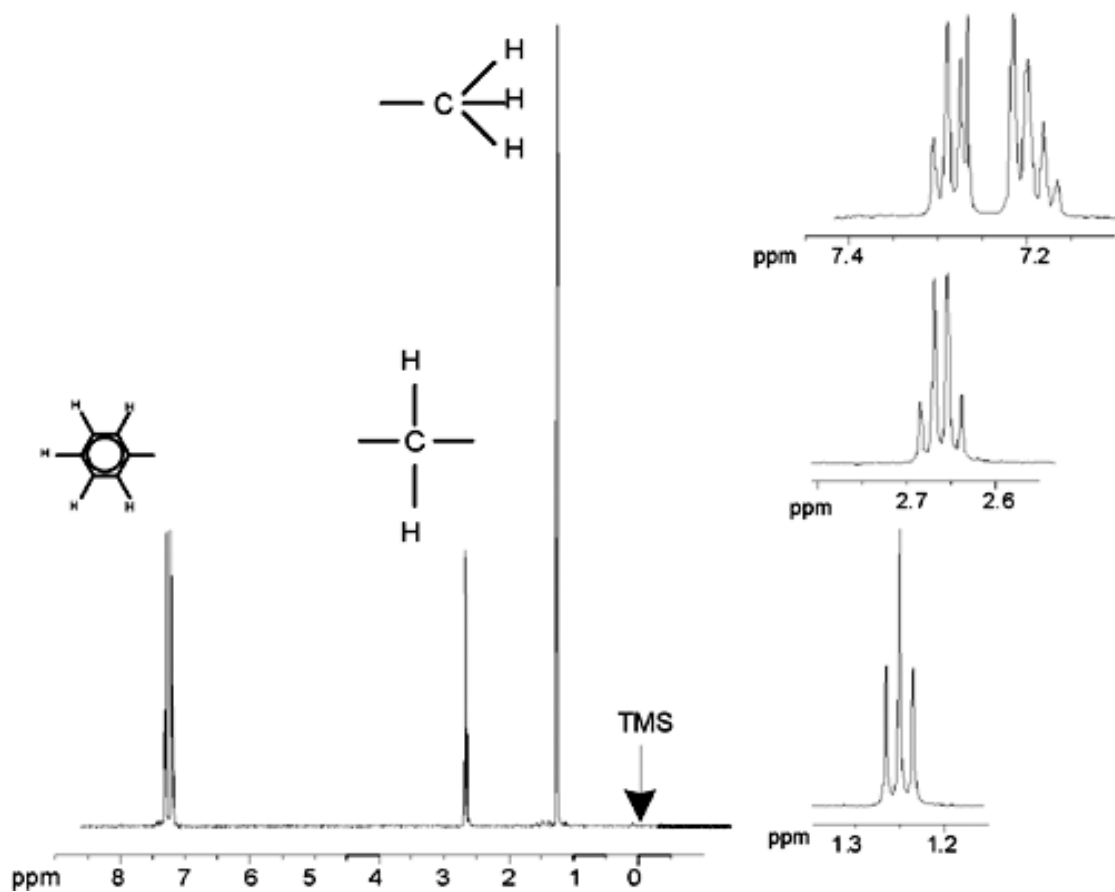


图 3.12: 乙基苯频谱

“乙基苯”图中 NMR 信号的分裂是由于相邻质子之间的磁相互作用。两个 H_f 质子是磁等价的，不会发生相互作用。同样，三个 H_e 质子也是磁等价的，不会相互影响。不过，两个 H_f 质子和三个 H_e 质子处于不同的局部环境中，通过它们的共用电子相互“耦合”。这种耦合的最终结果是两组质子相互作用，并导致 NMR 信号分裂。

两个 H_f 质子可以结合，以三种可能的磁场状态存在（这是自旋取向的结果，因此称为“自旋-自旋耦合”。耦合的结果是， H_e 质子发出的 NMR 信号在三种可能的频率下共振，我们就会观察到三重峰。

同样， H_e 质子的作用是分裂 H_f 信号。三个 H_e 质子可以结合，以四种可能的磁场状态存在。因此， H_f 质子在四种可能的频率下共振，因此信号分裂成四重峰。

由于磁不等价及由此产生的自旋-自旋耦合，苯中质子发出的信号也被分裂。问题是，为什么乙基苯中的 CH_2 和 CH_3 质子相互作用，而乙酸苯酯中两组相似的质子却不相互作用。答案就在于将这两组质子分开的键的数量。在乙基苯中，两组质子连接在相邻的碳原子上，可以预期，它们会充分地发生相互作用。但在乙酸苯酯中，两个碳原子 C_c 和 C_b 跨接在氧原子和另一个碳原子之间的两个额外的键上。因此，这两组质子相距太远而无法显示出明显的自旋-自旋耦合。

3.7 去耦

自旋-自旋耦合效应可通过一种称为“去耦”的技术消除。去耦的作用是掩盖一组特定质子的存在，例如，掩盖“乙基苯”图中的 H_e 质子。采集到的频谱就好像 H_e 质子不存在一样！这是通过在 H_e 共振频率 f_e 下发送去耦脉冲序列，从而永久改变这些质子的自旋取向实现的。对于“乙基苯频谱”图中所示的频谱，去耦频率将是 TMS 峰以上 1.25 ppm。

去耦脉冲往往比激发脉冲时间更长、能量更低。下面的“去耦实验”图代表一个去耦实验，而“同核去偶的乙基苯频谱”图则给出了去耦后的频谱。 CH_2 四重峰现在变成了单峰。波谱学家称之为四重峰合并成单峰。此外，单峰下的面积应等于原来四重峰下的面积（请比较两个图中 CH_2 峰和苯环峰的相对高度）。在去耦后的频谱中， CH_3 基团在 1.25 ppm 处发出的信号消失，这是因为去耦脉冲有效地消除了 CH_3 质子存在的影响。

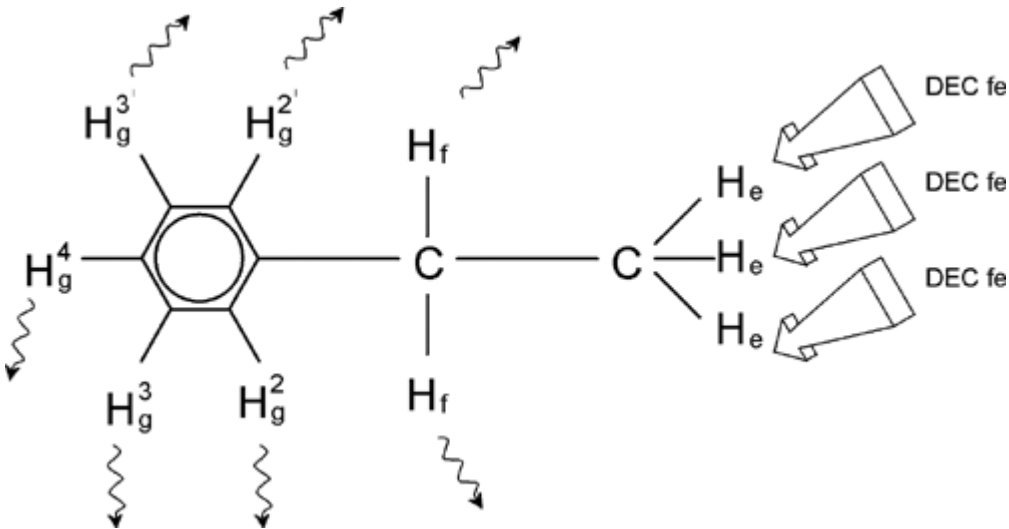


图 3.13: 去耦实验

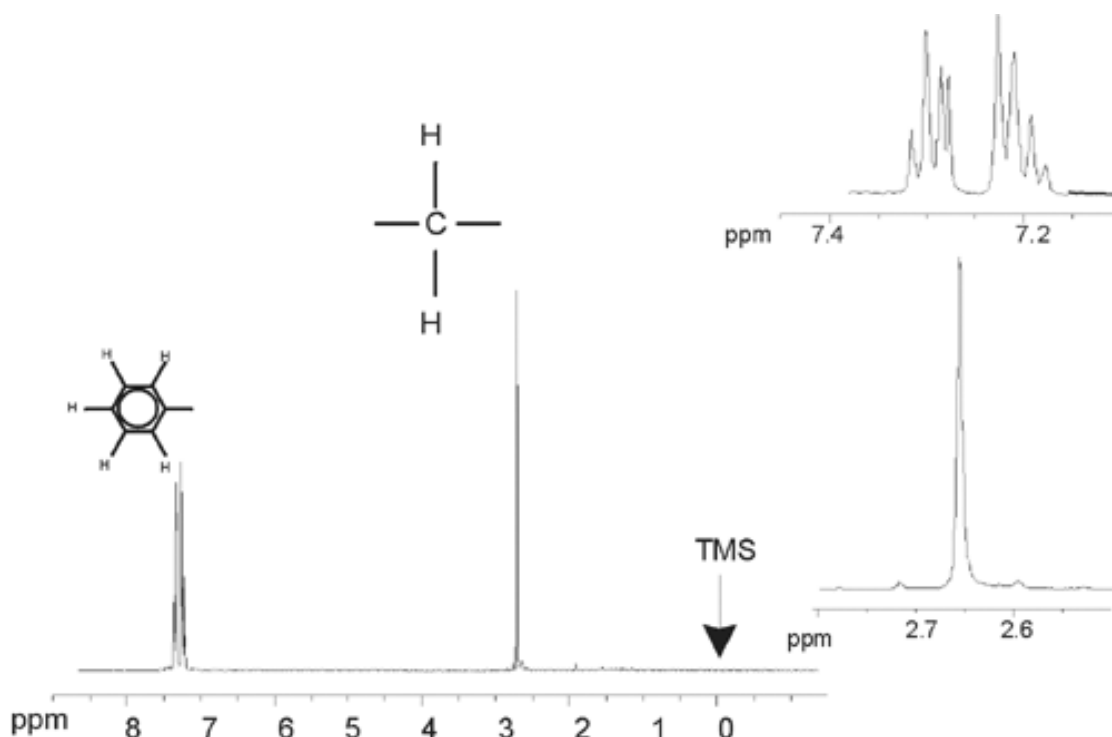


图 3.14: 同核去耦的乙基苯频谱

上面描述的实验是同核去耦的示例，因为被观察和去耦的是同一种同位素，即 ^1H 。异核去耦是指被观察的同位素不同于被去耦的同位素。在本手册的[质子去耦的 \$^{13}\text{C}\$ 频谱 \[▶ 61\]](#)一章，您将进行异核去耦实验，在该实验中观察 ^{13}C 并对 ^1H 进行去耦。AVANCE 波谱仪能够执行非常复杂的实验，具体取决于所安装的通道数。四通道波谱仪可用于观察一种原子核，同时对其他三种原子核进行去耦。如果最多有八个独立通道，则可能进行的实验范围是相当惊人的。用户应该知道，目前的限制因素不是如何生成 RF 激发和去耦脉冲，而是如何将这些脉冲通过探头并在一定程度上借助前置放大器发送到样品。实验中要进行的信号路由使用“edasp”菜单设置。有关更多详细信息，请参见手册“采集命令和参数”(P/N H9775SA3)。

3.8 FID 和波谱

样品中激发原子发射出的信号被波谱仪接收后，由数据站计算机软件进行傅里叶变换。接收 NMR 信号的过程称为采样，即对数据进行采集。需要区分两个术语“FID”（时域）及其相关“频谱”（频域）。

进行采样时会采集到“原始”数据，接收到的信号称为 FID（自由感应衰减）。下图所示为典型的 FID。

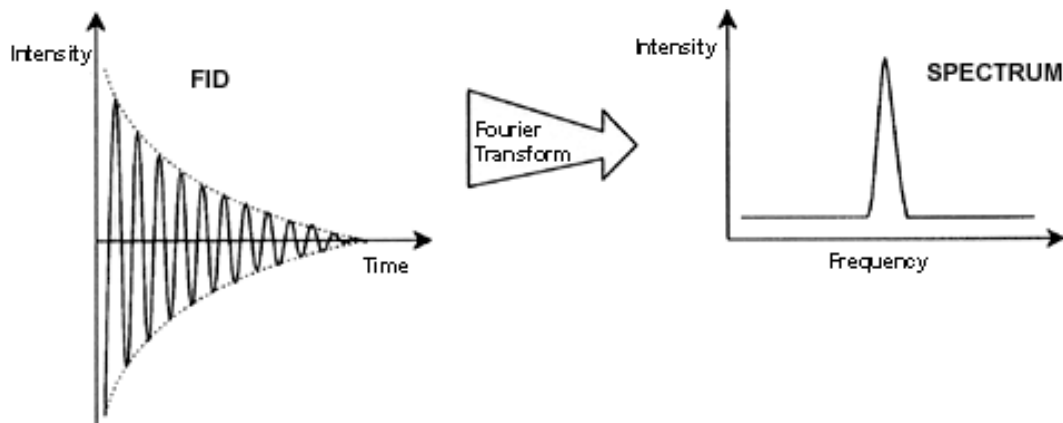


图 3.15: 傅里叶变换

必须先将 FID 转换为频域，才能对其进行有意义的分析。这一过程是通过傅里叶变换实现的。**傅里叶变换**是一种数学运算，可以将 FID 转换为频谱。FID 是强度随时间变化的信号，而频谱则可以显示强度随频率变化的规律。傅里叶变换是几种常用的原始数据处理方法中最重要的一种。

4 系统介绍

波谱仪由以下几个子单元组成：

- 操作员控制台包括主控计算机、显示器和键盘。
- 控制台包含电子硬件。
- 磁体系统包括匀场系统和探头。



图 4.1: AVANCE NEO 控制台和 Ascend 磁体

4.1 AVANCE 架构概述

下图显示了简化的 AVANCE NEO 系统结构概图。有关 AVANCE 系统和硬件的更多信息，请参阅 BASH（Bruker 高级服务手册）。

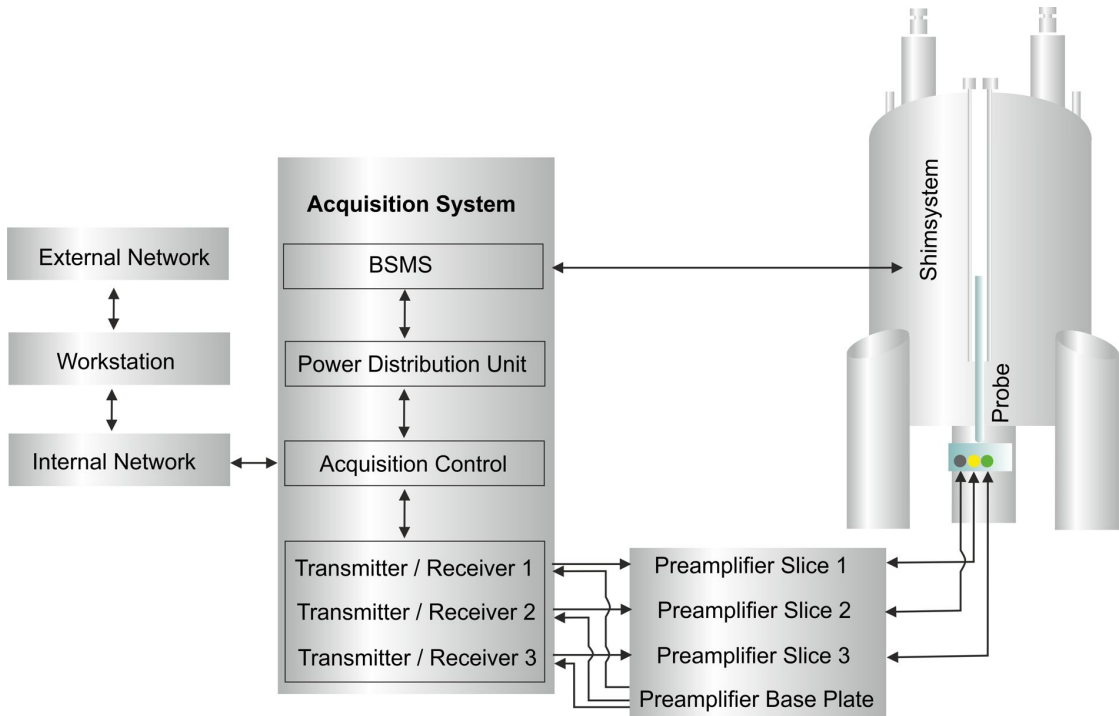


图 4.2: AVANCE NEO 结构概图

4.1.1 操作台及其连接

波谱仪操作的各个方面都通过操作员控制台进行控制。实验的设计和执​​行以及数据的分析则通过操作员在控制台输入的命令进行控制。操作员控制台的子组件如下：

主控计算机：这是一台个人计算机。主控计算机运行 TopSpin 程序，并处理所有数据分析和存储。所有与数据采集相关的操作都由另一台计算机控制，这台计算机称为 AQS，安装在控制台本身内部。

主控计算机与 AQS 的以太网连接：用于在主控计算机与 AQS 之间传输数据和指令。

4.2 机柜

根据系统的不同，此单元可能是 NanoBay、OneBay 或 TwoBay 机柜，并可容纳与现代数字波谱仪相关的大部分电子硬件。主要单元包括 **AQS**、**BSMS** (Bruker 智能磁体系统)，以及各种放大器和梯度放大器（就微成像或扩散而言）。

AQS: AQS 内部的各个单元生成用于激发样品的射频脉冲，并接收、放大和数字化样品发出的 NMR 信号。对于每个 RF 通道，都有一个收发器 (**TRX 1200**)，该收发器解释脉冲程序、将其转换为 RF 信号并包含数据接收器、数字转换器和数字滤波功能。这意味着 AVANCE 控制台是一个真正的多接收系统，按照设计，它所具有的接收器与脉冲激发通道一样多。脉冲场梯度由一个称为 **GTU** (梯度和触发单元) 的附加单元生成。此单元还会生成用于同步其他单元的实时触发脉冲并接收触发脉冲输入 (例如 MAS 转子触发脉冲)。所有通道的通用时钟信号都由 REF (参考) 板卡提供。因此，RF 链中的所有频率都来自一个高精度石英振荡器，以确保整体同步性和低噪声水平。AQS 还装有 **EPU**。这是一台功能强大的计算机，用于管理 AVANCE 波谱仪、将脉冲程序信息发送到 TRX 和 GTU 单元、提供采集控制功能并与外部数据处理工作站通信。数字滤波的最后阶段以及 FID 数据的累积是在 EPU 中完成的。然后，信息将通过以太网传输到外部主控计算机以进一步进行处理和存储。必须强调的是，EPU 在实验过程中完全控制波谱仪操作。这是为了确保不间断运行，并因此保证采集的完整性。

BSMS: 此系统通过软件 (使用 “bsmsdisp” 命令) 进行控制，用于操作锁场和匀场系统，还可控制样品提升和旋转。**BSVT** 单元也并入到了 BSMS 中。它的功能是以可控制的方式改变样品温度，或将温度保持在恒定值。此外，BSMS 机架内最多可以放置三个 **GAB/3**。它们为高分辨率探头提供脉冲场梯度并由 **GTU** 控制。

放大器 也称为 **发射器**。激发 NMR 样品通常需要振幅较大的信号，因此需要放大 TRX 单元的 RF 信号。放大器可以是内置 (并入 AQS 机架)，也可以是外置 (单独的独立单元)。从放大器输出直接连接到 **HPPR** (高性能前置放大器) 的电缆将 RF 信号传输到样品。尽管可用的放大器 (包括固体放大器) 种类繁多，但两种主要的类型是：

选择性放大器 (例如 ^1H 、 ^{19}F 、 ^{13}C 或 ^{31}P 选择性放大器) 专门设计用于放大与 ^1H 、 ^{19}F 、 ^{13}C 或 ^{31}P 相关的较高频率。

宽带放大器 (也称为 X 放大器) 设计用于放大各种频率。它们用于激发所谓的 X 原子核 (即，通常除 ^{19}F 和 ^1H 之外的其他一切)。

请注意，新的宽带放大器还覆盖从 ^{19}F 到 600 MHz 的频率，从而简化了 SMART 探头和 BBFO 探头的使用，其中宽带 X 线圈最大可以调谐至 ^{19}F 。

PDU: 控制台后面的配电单元用于以受控方式为波谱仪加电。可以通过 TopSpin 的软件指令对 AVANCE 加电/断电。PDU 将确保所有单元都按照正确的顺序加电/断电，并且延迟适当时间来启动高功率单元，以限制系统的浪涌电流。

4.3 主控计算机与 AQS 之间的连接

尽管在典型的 TopSpin 会话期间，此连接一直在后台运行，用户实际上看不到，但通过关闭主控计算机或控制台可随时断开此连接，且在重新打开这些设备时必须重新建立连接。重新连接将自动完成。

4.4 磁体、匀场系统、HPPR 和探头

磁体 产生感应 NMR 跃迁所需的磁场。为了维持超导系统，将使用液态氮和氦将磁芯冷却到极低的温度 (有关更多详细信息，请参见 [磁体和磁体杜瓦](#) [▶ 25] 一节)。

室温匀场系统 是一组载流线圈 (称为匀场线圈)，安装在磁体下端，用于抵消任何现有的不均匀性，从而最大限度地提高磁场均匀性。这些室温匀场线圈 (这样命名是因为它们不是通过浸入液氮浴来进行冷却) 中的电流通过 BSMS 控制，还可通过 BSMS 面板来调整，以优化 NMR 信号。这对信号的分辨率和灵敏度有重要影响。这种调整室温匀场线圈中电流的操作称为 **磁体匀场**。

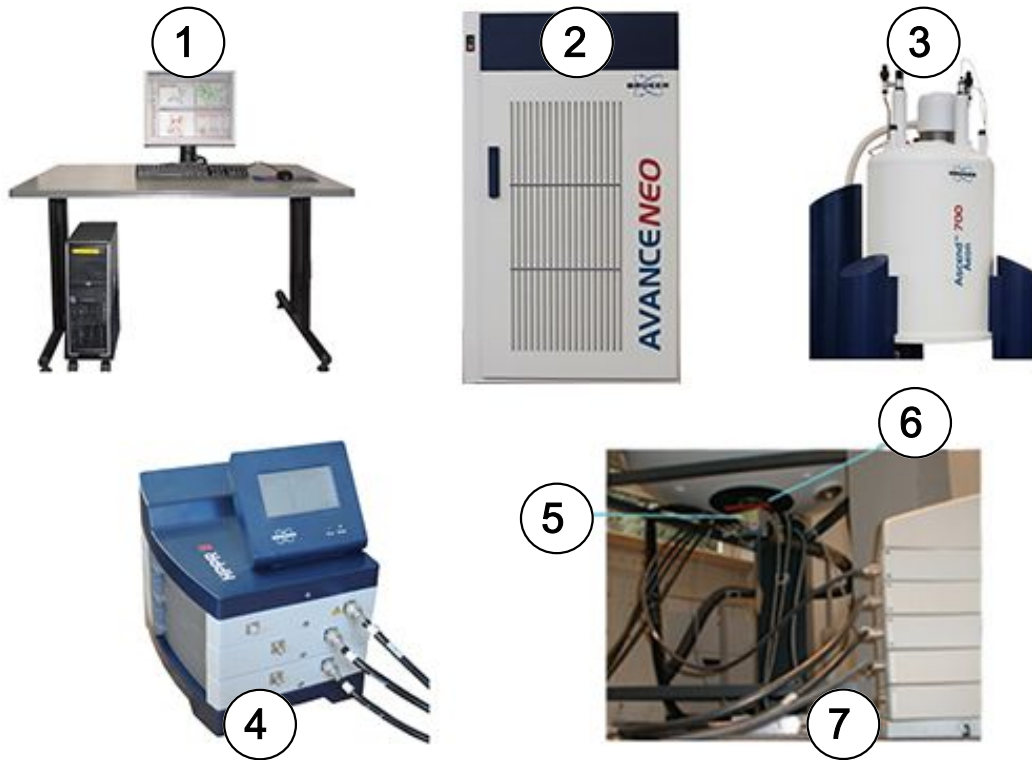


图 4.3: 磁体、匀场系统、探头和 HPPR 的图片

1	操作员控制台	5	探头
2	控制台	6	匀场系统
3	磁体	7	探头和匀场系统
4	HPPR/2 盖板 2 模块，带有与探头的连接		

尽管 HPPR/2（高性能前置放大器）可将所发射的信号发送到样品，但它主要用于放大从样品发出的较弱信号。前置放大器位于磁体基座处，用于尽早放大 NMR 信号，从而最大限度地减少沿电缆传输时的损失。信号通过 HPPR/2 被放大之后，电缆传输中的任何后续损失就不会产生太大影响了。HPPR/2 还可发送和接收氦（或氟）锁场信号，并在扫频例行程序中使用。最多可以配置 8 个（HPPR/2）独立模块（不包括始终存在的盖板模块）。一种包含三个独立模块的非常普遍的配置是质子、X-BB 和 2H 以及盖板模块。

探头插入磁体基座处的匀场系统，基本上由各种线圈组成，这些线圈用于将激发脉冲发送到样品并接收发出的信号。探头还可发送和接收锁场信号。

4.5 磁体和磁体杜瓦

系统带有各种具有不同强度的磁体。磁体的强度根据氢原子发出的 NMR 信号频率进行分级。磁场越强，氢原子频率越高。例如，对于 500 MHz 的磁体 (11.7 T)，这意味着将化学样品放入磁体进行分析时，样品中的 ^1H 原子将发出频率非常接近 500 MHz 的信号。Bruker 磁体的频率范围是 300-1000 MHz。

超导磁体是电磁体，因此它利用了电流可产生磁场的原理。磁芯由一个较大的载流线圈组成，绕成螺线管的形状。线圈的中心存在非常强的静磁场。待分析的样品即放置在该磁场内。

在极低的温度下，某些材料会显示出显著的超导电特性。超导导线无需任何驱动能量（例如，电池或主电源）即可输送电力。超导环中一旦产生电流，就将永远持续。Bruker 磁体就包含此类超导环。磁体唯一需要的维护操作就是确保线圈始终浸入液氮。

磁体由多个部分组成。磁体的外壳被抽真空，内表面镀银（这与热水瓶的原理相同）。接下来通过氮浴将温度降到 77.35K (-195.8°C)，最后将超导线圈浸入液氦。氦罐通过另一个真空部分与氮浴热隔离（参见下图）。

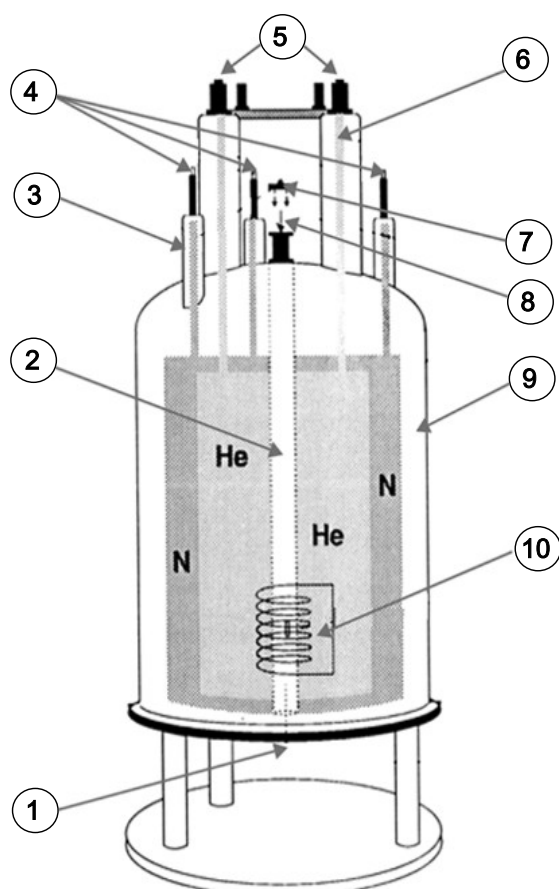


图 4.4: 超导磁体

1	在此处插入探头	6	液氮塔
2	室温腔	7	金属插头
3	液氮塔	8	在此处插入样品
4	充液氮口	9	真空腔
5	充液氦口	10	磁体

4.5.1 室温腔管

液氦罐和液氮罐被包裹在称为磁体腔的中心柱周围。通常会用金属盖封住腔的顶部。磁体配有标准腔（54 毫米）或宽腔（89 毫米）。待分析的样品通过腔顶部送入磁体。用于容纳样品，并向样品发送和接收信号的探头从底部插入。

4.5.2 液氮腔

标准磁体的液氮腔悬挂在两个朝磁体上方高高伸出的颈管上。有两个端口通往液氮腔。其中一个可以用于补加液氮，同时也是**液氮液位传感器**的入口。另一个端口仅在升场和降场时使用。液氮颈管还可能支撑着几个阀门，这些阀门控制着难免蒸发出的少量氮气的排放。



注意：只有受过专业培训的人士才可操作阀门和向磁体中补加液氮。

4.5.3 液氮腔

磁体上方伸出的三根较短的颈管通往液氮腔。

4.6 锁场系统简介

这部分内容可帮助用户对锁场系统的工作原理有一个基本的了解。诸如实践中如何锁定样品等实际问题将在章节中进行讨论。

锁场系统的用途是确保实验期间样品周围磁场的强度不会发生变化，并磁场不会受到外部干扰的影响。NMR 分析需要精确测定样品发射出的信号频率。这些信号的频率与磁场强度成正比，亦即发射信号的频率会随着磁场强度的变化而变化。因此，用户必须保证磁场始终精确维持在相同强度，称为“**锁定**”样品。**锁场系统**本质上是一个用于观察氘的独立波谱仪。需要说明的是，氘发射的信号通常与目标频率有很大差异。但是，如果氘的频率不合适，就可能要使用**氟**（¹⁹F）**锁场**。目前氘锁场最为常用，因此这里只对其进行讨论，但读者应当知道氘锁场和氟锁场的原理是完全相同的。

在 AVANCE 系统中，BSMS 提供有锁场所需的硬件，而 HPPR 中的一个独立氘模块负责发射和接收锁场信号。分析样品中当然也必须加入一些氘。通过把样品溶解在氘代溶剂中就可以轻松实现。**氘代溶剂**指的是大部分氢原子被氘原子取代的溶剂。常用的氘代溶剂有丙酮-d₆、苯-d₆、氯仿-d 和 DMSO-d₆ 等，另外还有很多其他溶剂。本手册用来说明 NMR 基础技术时使用的样品就是邻氨基苯甲酸甲酯的 DMSO-d₆ 溶液。

对于特定尺寸的磁体，可以知道氘发射出的信号频率的精确值。因此，如果磁场强度正确，样品中的所有氘原子核发射出的信号频率大小就应恰好等于该精确值。如果磁场强度发生变化，氘的信号频率也会随之改变。锁场系统使用接收器（置于 BSMS 机架中）监视氘信号频率并据此调整磁场强度。

锁场系统中的接收器经过专门设计，因此当磁场强度正确时（即检测到的氘频率正确）系统不会调整磁场。但是如果磁场强度发生变化（漂移），磁体匀场系统中一个特殊线圈（H₀ 线圈）的电流就会改变，从而将磁场强度调整回正确的值。系统每秒会测量数千次氘信号频率，因此只要系统锁定，用户就可以确信采样期间的磁场强度会保持恒定。

4.7 探头

探头设计用于容纳样品，发送激发样品的射频信号并接收发出的响应。发送和接收通过使用专门设计的 RF 线圈来实现。

探头插入磁体底部，位于室温匀场线圈内。同轴电缆将激发信号从机柜放大器传送到探头，并将 NMR 信号从样品传回接收器。电缆穿过一组前置放大器（HPPR）排布，这些放大器位于磁体基座旁边，或者，在 NanoBay 系统上是内置于控制台中。NMR 信号通常非常微弱，因此需要前置放大器来增强。

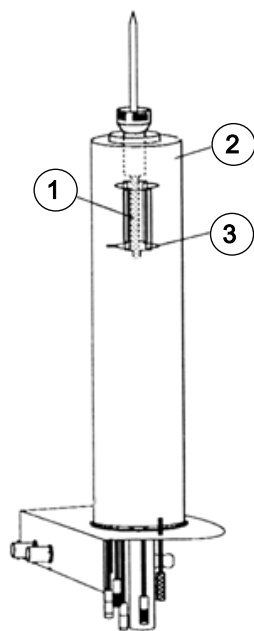


图 4.5: 探头中的样品

1	样品区	3	线圈
2	探头		

探头有不同的尺寸和类型。探头的大小用它能容纳的样品管大小来表示，其中 5mm 和 10mm 样品管直径最常用。根据实验类型的不同，使用的探头类型也有所不同。**选择性探头**专门设计用于观察特定的原子核（如 ^{13}C ），而多核（X-BB 或宽带）探头则可用于分析各种原子核。不同类型的探头通过内部线圈的数量和设计从物理上加以区别。此外，探头的外径和长度根据各种磁体的规格来制造（宽腔或标准腔；对于具有不同磁场强度的磁体，底部到磁场中心的长度也不同）。

信号通过接头进入和离开探头线圈，这些接头位于探头基座处，具有清楚的标示。信号通过同一根电缆进出探头。每个探头都带有内线圈（**观察线圈**）。此线圈的位置最靠近样品区，以最大限度地提高灵敏度。内线圈 BNC 接头的颜色编码遵循一个简单的规则。它始终与位于 BNC 接头正上方的矩形条颜色相同。下图显示了多核探头的标示。在此例中，宽带线圈是内线圈。

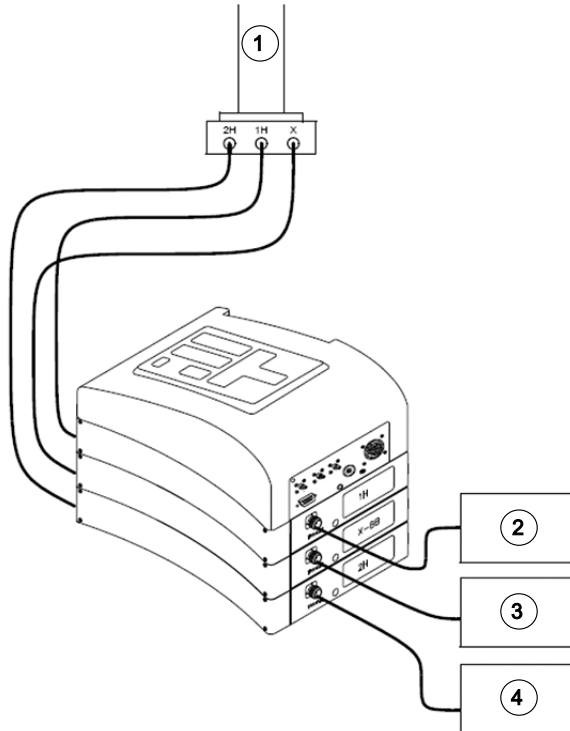


图 4.6: 典型的 HPPR 电缆连接

1	探头	3	连接到 X 放大器
2	连接到质子放大器	4	连接到 BSMS 2H 发射器

4.8 宽带探头

此处将作为示例介绍的一种探头是 5 mm BBO 智能探头。顾名思义，这种探头专为对分析各种原子核样品感兴趣的 用户设计。X 频率范围通常从 ^{15}N 到 ^{31}P ，包括 ^{19}F 。

左侧的 BNC 标记为 ^2H (参见下图)，用于传送锁场信号。其他两个接头用于 ^1H 和 X 原子核信号，带有相应的标记。从 ^1H 、X 和 ^2H BNC 引出的电缆连接到前置放大器。



图 4.7: 宽带探头示例

这些探头设计用于对 NMR 样品的温度进行控制。加热器与空气/氮气输送管结合使用，用于控制样品温度。一个热电偶起温度计的作用，用以监控样品的温度。所有这些仪器都附在探头基座上，很容易操作。位于控制台内部的变温单元（VTU）持续监控热电偶的读数，并进行加热器功率的调整以维持所要求的温度。

除了少数的高分辨率探头以外，大多数探头都配备了梯度线圈，接头在探头基座的侧面。

最后，在探头基座底部的黑盒子中装有调谐和匹配设备。这些设备用于对探头进行精细调节以优化性能。当分析一个化合物的时候，一定频率（共振频率）的信号使其被激活。不同的原子核会被不同的频率激活，调谐即调节探头内部的线路，使其对响应频率达到最大的灵敏度。也要对探头进行匹配，以确保被反射掉（即浪费掉）的激发信号和 FID 尽可能少。调谐和匹配是相互作用的，因为不可能相互独立地进行调节。

每次更换磁体中的样品，都必须对探头进行调谐和匹配。探头中的每个线圈都是使用“atma”或“atmm”例行程序进行单独调谐和匹配的，[探头调谐和匹配](#) [▶ 36] 对此进行了说明。

更换探头需要将探头重新连接在前置放大器上。

4.9 iProbe

另一种类型的探头是新的 iProbe 平台，这是用于 NMR 检测的新一代 SmartProbe™。此新型 NMR 探头结构不仅可以增加信噪比、更快且更准确地进行 RF 调谐，而且设计更灵活，可以更轻松地定制 NMR 探头。此平台上引入的第一批探头包括现在可在 400–600 MHz 范围内使用的业界领先的 SmartProbe iProbe，灵敏度最多可提高 10%。



图 4.8: Bruker iProbe 平台

4.10 更换探头

如果要更换探头，必须遵循以下程序。 探头易损而又昂贵，所以在试图更换探头之前，您必须与系统主管协商。 磁体，特别是涡流，会在很大程度上影响探头的机械运动。 当您从磁体上拆下探头的时候，要预计到它在到达磁体腔下端时会突然加速。 当您把探头放入磁体的时候，也要做好准备，会有一些阻力。

更换探头的程序：

1. 通过单击 TopSpin 窗口上端工具栏中的“STOP”（停止）按钮，或者在命令行中输入“stop”，确保没有采集正在运行中。
2. 关闭任何来自系统的**加热或冷却**。 使用“edte”命令来关闭加热器。 让探头温度恢复到室温。 不要关闭系统本身！
3. 拆除连在探头基座上的空气/氮气接头。
4. 在确保磁体腔中未被盖住之后，通过激活 BSMS 窗口中的 **LIFT**（提起）按钮，移走可能放在磁体内的任何样品。
5. 关闭“LIFT”（提起）。
6. 断开来自探头基座的所有 BNC 电缆。
7. 断开热电偶、加热器和所有其他的梯度或 PICS 连接。
8. 使用附带的螺丝刀，拧松把探头固定在磁体内的两个螺丝。
9. 垂直放下探头，使之移出磁体。
10. 插入新的探头，并用两个螺丝固定。
11. 重新连接同轴电缆、热电偶、加热器、冷却管路和所有其他连接（如适用）。
12. 重新打开加热器。

Bruker 上提供了一部介绍此过程的电影 [网站](#)。

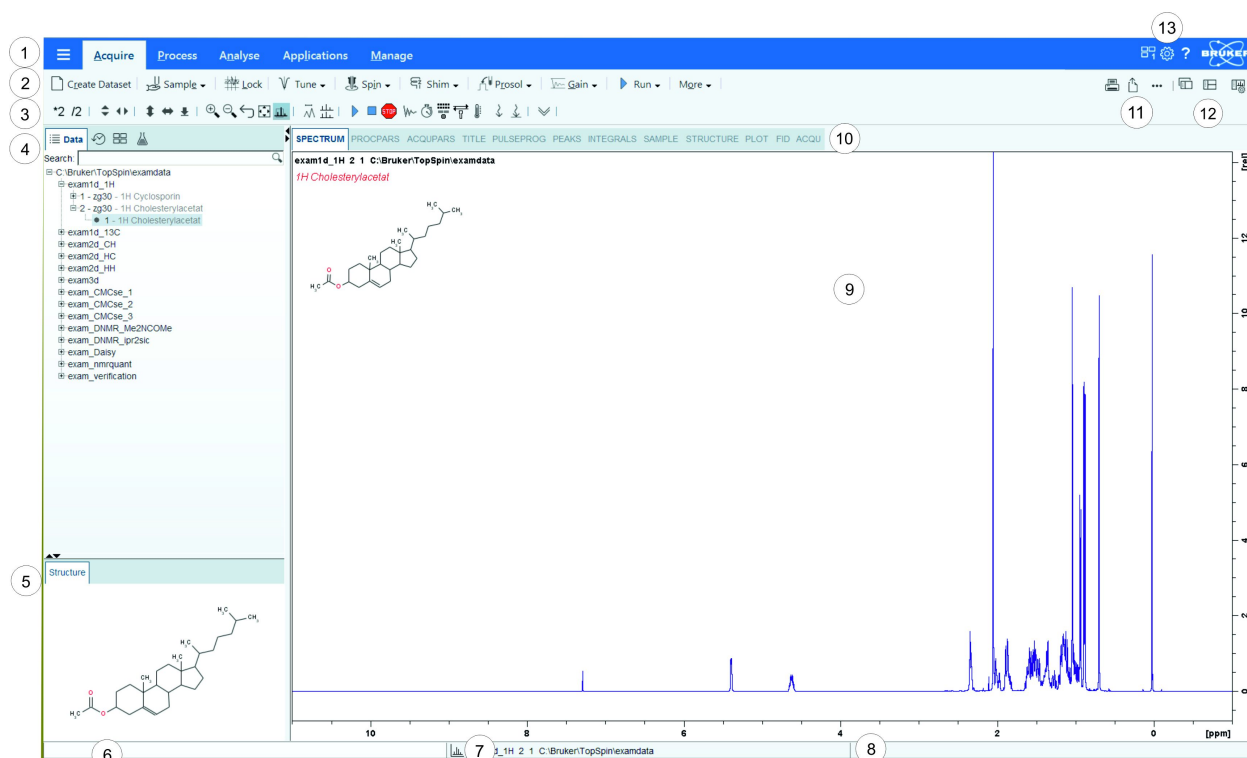
5 基本操作步骤

本章将概述每次采集频谱时采取的基本操作。TopSpin 软件有一个方便使用的基于工作流程的界面，可指导用户完成所有的必需步骤以获得频谱。所有的操作都是由软件控制的，可以用鼠标在工作流程选项卡上单击来进行选择（参见 TopSpin 界面图中的 1.），这会打开一排工作流程按钮（参见 TopSpin 界面图中的 2.）。

如果读者已经熟悉这些操作，可以跳过这一章。

5.1 TopSpin 窗口

下图显示了基本的 TopSpin 界面的布局。

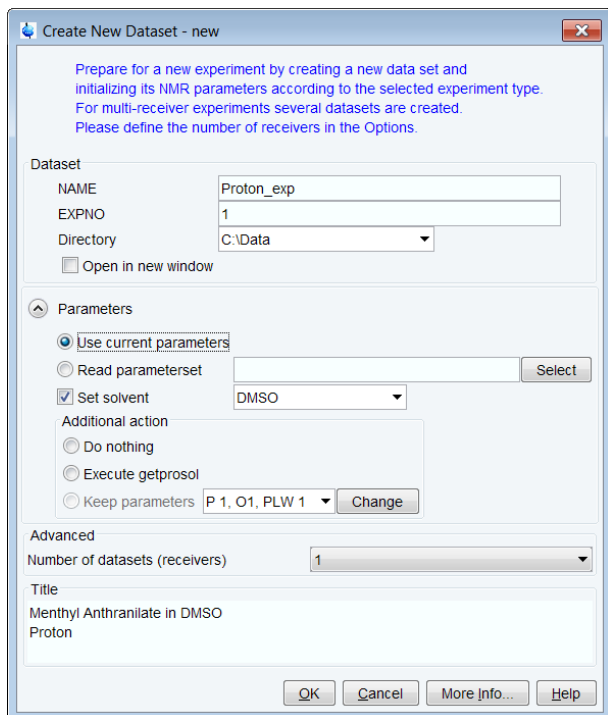


1	菜单栏	8	状态显示栏
2	工作流程按钮栏	9	数据集窗口
3	工具栏	10	数据集窗口选项卡
4	浏览器和搜索窗口	11	打印、导出和发布
5	结构窗口	12	查看选项
6	命令行	13	窗口切换器、设置首选项和帮助
7	当前数据集栏		

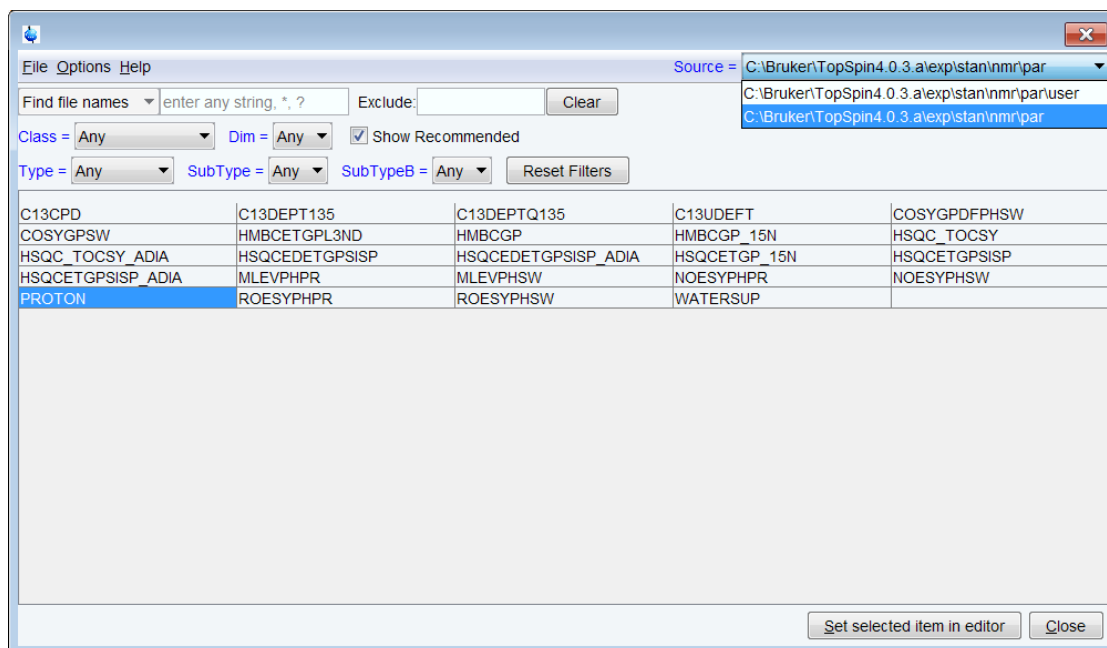
5.1.1 新建数据集

经常使用波谱仪很快会积累大量数据。用户会想要在便于命名的文件中存储数据，使得他们今后能够方便地访问自己的数据。在一个多用户的环境中，这是特别重要的。采集一组数据后，可将其存储在**数据集**中。每个数据集必须有一个独有的描述符（标识符），这样可以区分不同的数据集。一个数据集的完整描述符要求使用三个参数：NAME（名称）、EXPNO（实验编号）和 Directory（目录）。

- 在菜单栏上，单击 **Acquire**（采集）| **Create Dataset**（创建数据集）以打开“Create New Dataset”（创建新的数据集）窗口。



- 现在您可以创建自己的数据集了。您可以输入一个最多 13 个字符的字符串作为 NAME（名称）。在 EXPNO 字段，输入“1”或任何合适的数字。选择目录路径（例如：C:\Data）。
- 在参数组中，单击 **Read parameterset**（读取参数组）和 **Select**（选择）以打开 rpar 窗口。



- 启用 **Show Recommended**（显示建议）以获得最常见的小分子实验列表。
- 确保源目录是：
`<Topspin>\exp\stan\nmr\par`
 而不是：
`<Topspin>\exp\stan\nmr\par\user`
- 选择实验（例如 PROTON）并单击 **Set selected item in editor**（在编辑器中设置所选项目）。
- 在“Create New Dataset”（创建新的数据组）窗口中，选中 **Set solvent**（设置溶剂），并在下拉列表中选择您的样品溶剂，例如 DMSO。
- 单击 **OK**（确定）。



注意： 您新创建的数据组现在是最新数据组了，描述符的详情将存储在硬盘上的这个文件夹中：DIR\NAME\EXPNO，每个 EXPNO 对应一个完全独立的数据组。在这个例子中，数据将存储在 C:\Data\Proton_exp\1 下。这一路径也将出现在 TopSpin 的数据窗口的标题栏中

5.1.2 样品制备

- 使用干净和干燥的样品管。
- 使用中高质量的样品管。
- 始终要过滤样品溶液。
- 始终使用相同的样品体积或溶液高度。
- 5 mm 管子的充装量为 0.6 ml 或 5 cm。
- 10 mm 管子的充装量为 4 ml 或 5 cm。
- 使用样品深度计量器来调节样品深度。

样品管类型	超低温探头	室温探头	老式室温探头
标准 5 毫米圆底样品管。	19 毫米	20 毫米	18 毫米
Bruker Shigemi 管。	17 毫米	20 毫米	18 毫米

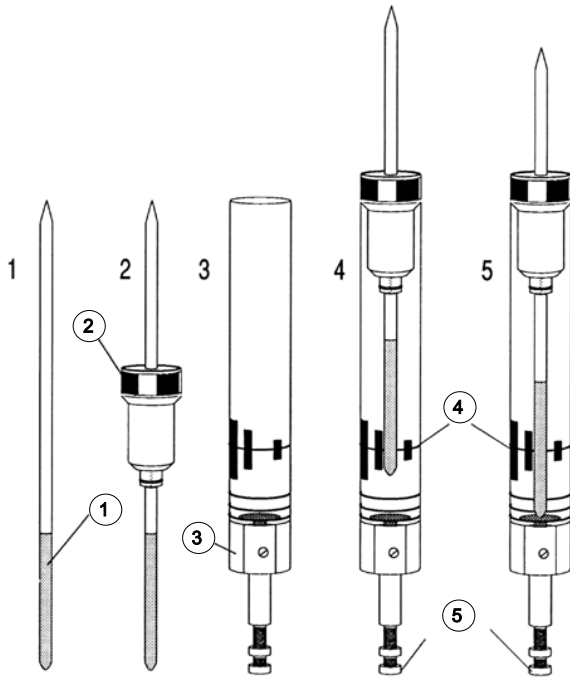


图 5.1: 将样品插入转子

1	样品	4.	中心线
2	转子	5.	深度调节螺丝
3	深度计量器		

- 样品管应牢固地放置在转子中。
- 在将样品管插入磁体之前，将其擦拭干净。

5.2 将样品和转子插入磁体中

样品的上升和下降由一股增压空气控制。在将样品放置于腔顶端之前，确定存在空气流（完全听得到），并且移走可能升至腔顶端的任何样品。

- 在菜单栏上，单击 **Acquire**（采集）。
- 在 **Sample**（样品）按钮上，单击下拉箭头以查看更多选项。
- 在列表中，选择 **Eject sample manually (ej)**（手动弹出样品（ej））。样品提升处于打开状态。



等到样品提升气流处于打开状态并除去可能在磁体中的样品。

- 将样品和转子放置于磁体腔顶端。
- 在 **Sample**（样品）按钮上，单击下拉箭头以查看更多选项。
- 在列表中，选择 **Insert sample manually (ij)**（手动插入样品（ij））。

5.3 锁定样品

氘代溶剂用于生成能够被锁场系统所探测和监控的信号。这个信号的频率和强度取决于所使用的溶剂。TopSpin 锁场例行程序的主要功能是将参数（如锁场功率、增益和频率等）设置为适合于溶剂的值。由于这些默认值被设置为接近于该溶剂的预计值，通过扫过一系列频率或磁场值，BSMS 就能够很快定位并“锁定”溶剂信号。从“edLock”表中可得到溶剂相关参数。

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Lock**（锁定）。
- 在“Solvent table”（溶剂表）列表中，选择 **DMSO**（二甲基亚砜）并单击 **OK**（确定）。

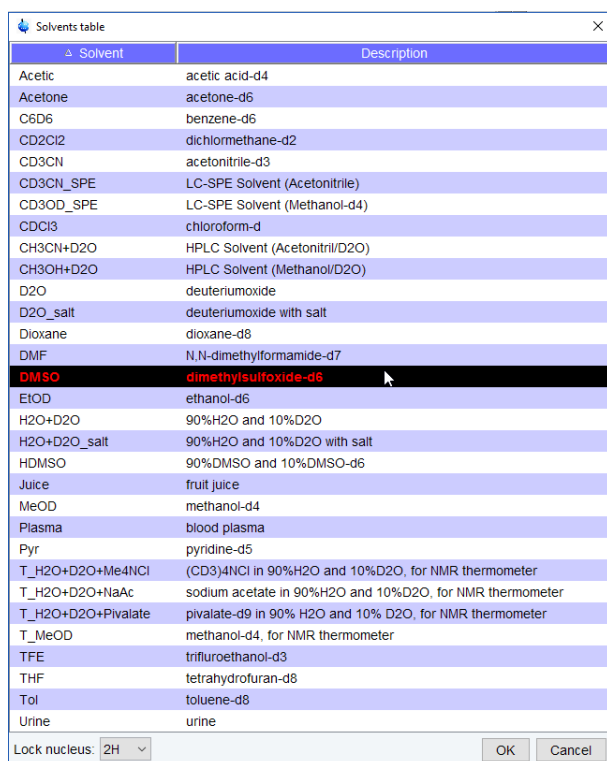


图 5.2: 溶剂表



注意： 如果已经实现了锁场，信号应该是一条水平线，伴有些许噪声或波纹（见下图）。这条线的高度被称作锁场电平。

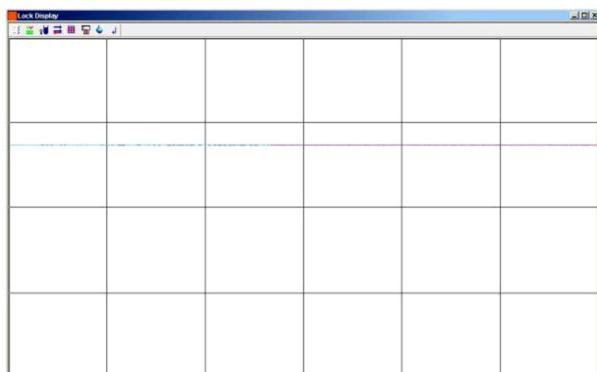


图 5.3: 对样品进行锁场以后的锁场显示

5.4 探头调谐和匹配

所有探头的灵敏度都会随着发送给它的信号频率变化而变化，在某一个频率下探头的灵敏度达到最高。此外，通过探头电路中内置的调谐电容，可以在一定范围内对该频率进行调节。**调谐**是调节探头电路，当灵敏度达到最大时的频率即为相应的发射频率（SF01、SF02 等）。探头中的每个线圈都需要分别进行调谐（和匹配）。如果更换了探头或者发射频率发生了明显变化，可能需要重新调谐探头。日常工作中将选择性探头与有机溶剂配合使用时，发射频率的数值不会有明显的变化。因此，对探头进行初步调谐之后，频率发生轻微改变时不需要重新调谐探头。一般只有在发射频率变化不低于 100kHz 时才需要重新调谐。但是对于宽带探头而言，不同原子核的发射频率差异很大，因此每次改变所选原子核后都需要重新调谐探头。每次调谐探头后还需要对其进行匹配。**匹配**是保证尽可能多的电量通过探头底座传输到朝向探头顶部的线圈中，从而尽可能减少从探头底座反射回放大器（从而浪费掉）的电量。



注意： Bruker 提供两种用于调谐和匹配的调节方法。除了手动调节调谐和匹配电容之外，还可为探头配备一个自动调谐模块（ATM）。以下是两种方法分别要遵循的步骤。

5.4.1 使用自动调谐程序调谐配备 ATM 的探头

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Tune**（调谐）。

屏幕会自动切换到采集窗口，显示扫频曲线。将自动进行调谐和匹配。如果在一个参数组中使用了多个频率，如 C13CPD 等，ATMA 会首先开始调节最低的频率，按照频率上升的顺序自动进行转换。

5.4.2 使用手动调谐程序调谐配备 ATM 的探头

- 在 **Tune**（调谐）按钮上，单击**下拉箭头**以查看更多选项。
- 在此列表中，选择 **Tune/match ATM probe manually**（人工调谐/匹配 ATM 探头）。



注意： 将打开“ATMM Probe Tuning/Matching”（ATMM 探头调谐/匹配）窗口（下图）和一个显示扫频曲线的窗口。

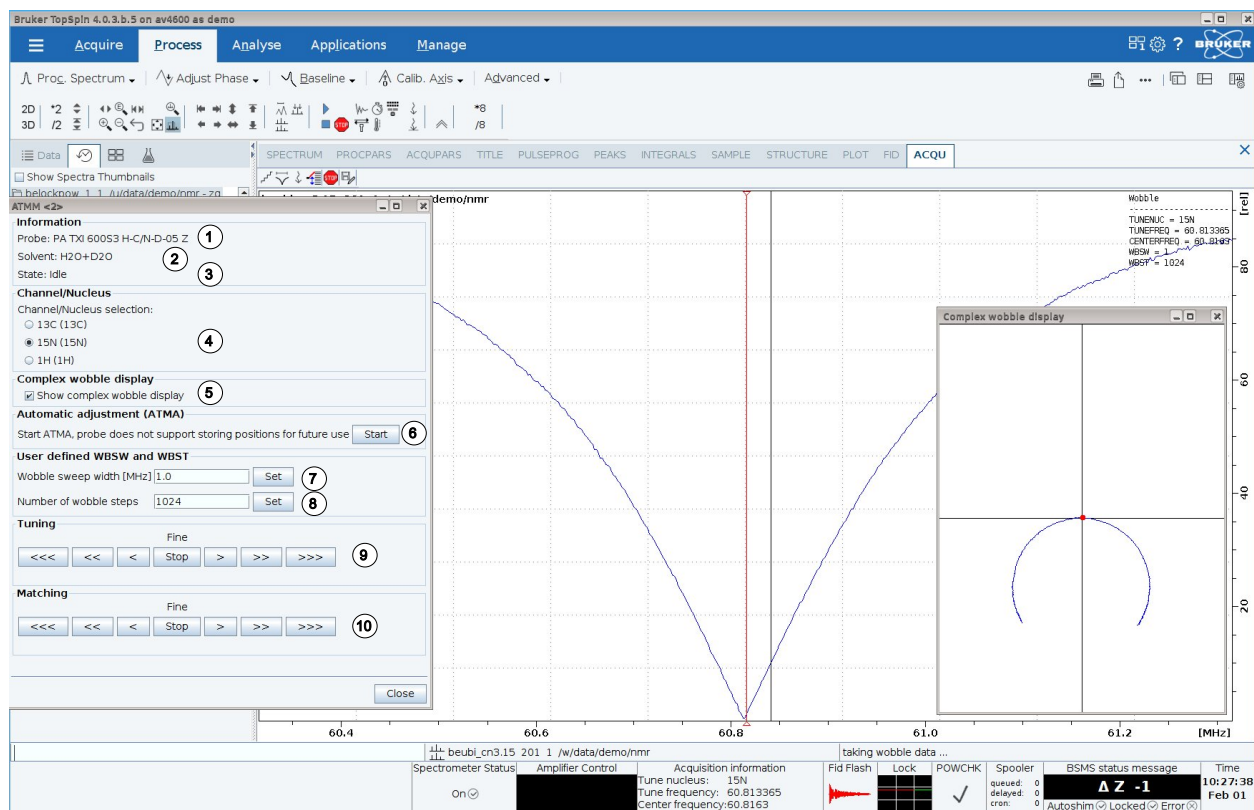


图 5.4: “ATMM Probe Tuning/Matching” (ATMM 探头调谐/匹配) 窗口

1.	探头类型。
2.	所使用的溶剂。
3.	当前状态。
4.	通道/原子核选择
5.	选中以显示复合的扫频视图。
6.	单击以启动 ATMA，而系统会存储最佳位置以供将来使用。
7.	用户定义的扫频宽度。
8.	用户定义的扫频步数。
9.	用于移动并居中显示扫频曲线的按钮。
10.	用于将扫频曲线的倾角调整到最低位置的按钮。

- 在 ATMM 控制窗口中，单击 **Tuning** (调谐) 按钮以移动并居中显示扫频曲线。
- 在 ATMM 控制窗口中，单击 **Matching** (匹配) 按钮以将扫频曲线的倾角调整到最低位置。

查看复合的扫频视图非常方便。 如果具有红点的圆圈太大或太小，请先调整匹配。 一旦圆穿过坐标系中心，请调整调谐以使红点处于中心。 实际上，此曲线告诉您调谐和匹配的顺序。

注意: 只需单击 **Start** (Start) 按钮即可保存 T/M 设置。



由于调谐和匹配调整彼此相互作用，所以必须重复所有步骤才能实现完美调谐和匹配。 如果在一个参数组中使用多个频率，如 C13CPD，请使用 ATMM 控制窗口中的 **Nucleus Selection** (原子核选择) 单选按钮切换到另一个原子核并重新进行调谐和匹配。

扫频例行程序的工作方式是向探头传输一个微弱信号，将探头和电缆阻抗与 HPPR 内 50 Ohm 的参考值进行比较。传输频率以 SF01、SF02 等频率为中心，但是“扫过”一个由参数 WBSW（见下文）的大小确定的范围。所得曲线是一个共振电路的常见响应曲线，仅仅是对各频率（横轴）下反射信号的振幅（纵轴）的一个衡量。

匹配即调节探头，使得扫频曲线的最小值位于屏幕的底部（即碰到了横向的频率轴）。这代表传输信号的最小反射。

调谐即确保这发生在位于屏幕横向标度中心的传输频率上。但是可以看到，调谐和匹配调节是相互影响的，必须相互配合进行调节。当扫频曲线的最小值居中显示在屏幕的底部时，探头已经被调谐和匹配到最佳程度了。

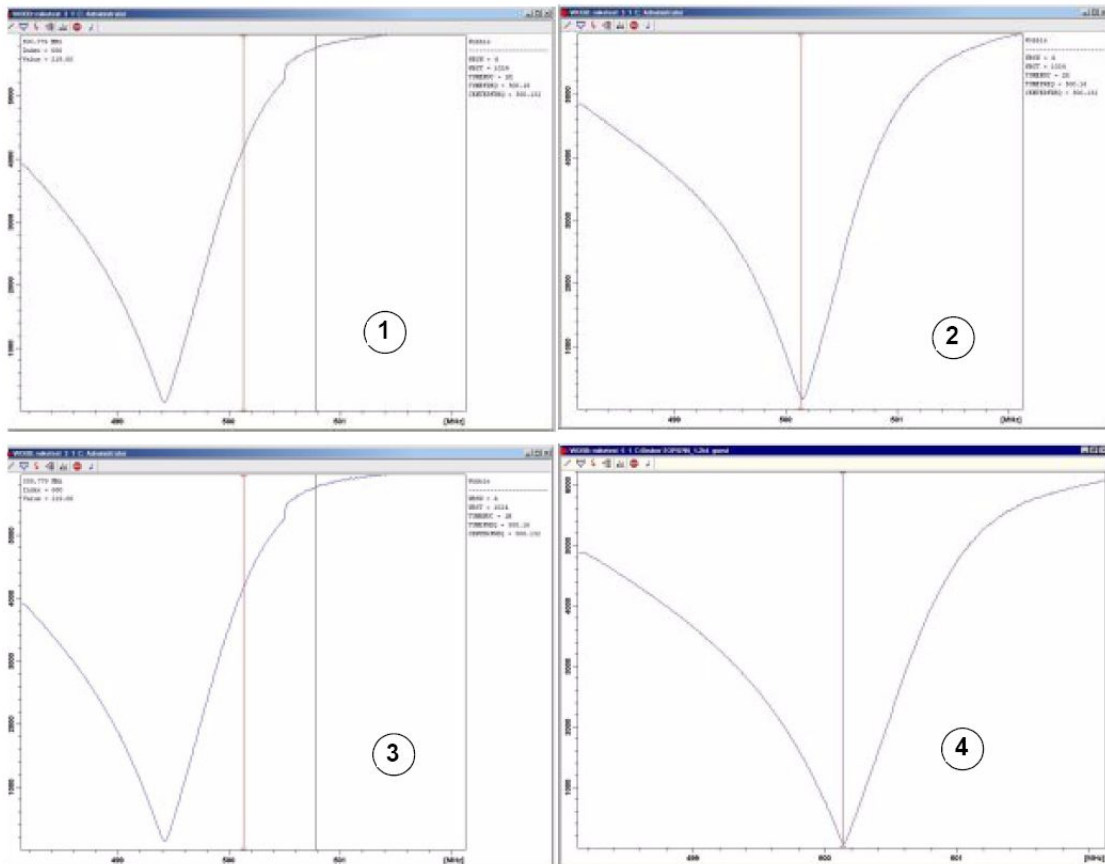


图 5.5: 经过不同调谐和匹配的扫频曲线的示例

1.	差的匹配和调谐。	3.	好的匹配、差的调谐。
2.	差的匹配、好的调谐。	4.	好的匹配和调谐。

如果您想为几个原子核对探头进行优化（如：去耦实验），您可以在“ATMM Probe Tuning/Matching”（ATMM 探头调谐/匹配）窗口中选择下一个原子核。

5.5 旋转样品

增压空气的第二个作用是使样品能够旋转。 旋转样品可“均化”磁体中心的磁场中可能存在的一些不均匀性。



注意： 使用如 2-D、3-D、SELECTIVE、NOEDIFF、T1 等实验和所有反向探头进行研究的样品一般不旋转。

建议的旋转频率是：

- 20 Hz (5 mm 探头)
- 12 Hz (10 mm 探头)
- 在 **Spin** (旋转) 按钮上, 单击**下拉箭头**以查看更多选项。
- 在此列表中, 选择 **Turn sample rotation on (ro on)** (打开样品旋转 (ro on))。

5.6 匀场

匀场是指对磁场进行微小调整, 以达到最佳磁场均匀性(均一性)的过程。提高均匀性可以使谱图分辨率得到改善。每次更换探头或样品之后都需要重新匀场。系统管理人员针对每个探头保存有合适的匀场值(在匀场文件中), 这可以大大缩短更换探头后所需的匀场时间。

5.6.1 使用 TopShim 执行常规匀场

这是常规匀场, 在每次 NMR 测试开始的时候和更换磁体中的样品的时候都应执行。常规匀场涉及对 Z 、 Z^2 、 Z^3 、 Z^4 和 Z^5 匀场进行精细调节。一些磁场更高的磁体可能需要更高阶的 Z 匀场。系统管理员已经对 TopShim 进行编程, 从而使每个样品获得最好的均匀度, 而且这是完全自动的。

TopShim 的核心方法是梯度匀场。一个最终线形的质量认可确保所有情形下的最好结果。

TopShim 对所有氘代溶剂使用 ^2H 梯度匀场方法, 对所有其他溶剂, 特别是 H_2O , 使用 ^1H 梯度匀场方法。

- 在 workflow 按钮栏上, 单击 **Shim** (匀场)。

匀场即刻开始, 耗时应该少于一分钟。

5.7 设置探头/溶剂相关参数

可以为任何可用通道上的任何特定原子核存储参数, 如 90° 或去耦脉冲长度及相关功率等级。安装工程师或系统管理员已经输入了这些值, 使用 **Prosol** 按钮可自动加载。

- 在 workflow 按钮栏上, 单击 **Prosol**。

5.8 调节接收器增益

接收器增益是一个非常重要的参数, 用于使 FID 的振幅和数字转换器的动态范围相匹配。使用 **Gain** (增益) 按钮可自动设置增益。

- 在 workflow 按钮栏上, 单击 **Gain** (增益)。

接收器增益调节即刻开始, 耗时应该少于一分钟。

5.9 开始采样

接收 NMR 信号的过程被称作采集。采集可获得数据。执行采集时，获得了“原始”数据，接收到的信号被称作 FID (Free Induction Decay, 自由感应衰减)。FID 的数字点的大小被称作 TD (Time Domain, 时间域)。

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Run** (运行)。

作为所选实验的一项默认操作，波谱仪在开始实际次数的扫描之前，会执行若干虚拟扫描。

5.10 数据处理

傅里叶转换用于将 FID 转换为频谱。用来构成所得频谱的点的数量是由参数 SI (大小) 决定的。FID 被转换为由实部中的 SI 数据点和虚部中的 SI 数据点组成的频谱。SI 的标准设置是 $SI = TD/2$ 。如果您加载了参数组“PROTON”，您可以很容易地核实 $TD = 64K$, $SI = 32K$ 。

- 在菜单栏上，单击 **Process** (处理)。
- 在 **Proc Spectrum** (处理频谱) 按钮上，单击 **下拉箭头** 以查看更多选项。
- 在列表中，选择 **Configure Standard Processing (procl1d)** (配置标准处理 (procl1d))。

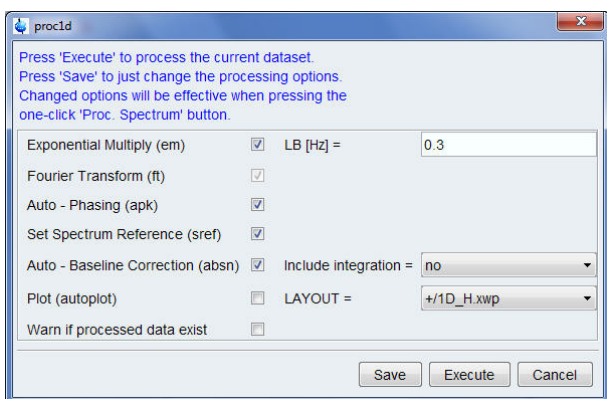


图 5.6: procl1d 窗口

- 在“procl1d”窗口中，选择相应选项：
 - Exponential Multiply (em)** (指数窗函数 (em))
 - Auto - Phasing (apk)** (自动 - 相位调整 (apk))
 - Set Spectrum Reference (sref)** (设置频谱参考 (sref))
 - Auto - Baseline Correction (absn)** (自动 - 基线校正 (absn))
- 在“procl1d”窗口中，单击 **Execute** (执行)。
- 在“procl1d”窗口中，单击 **Save** (保存) 按钮以保存选定的处理设置。

6 准备采样，频率相关参数

本章将介绍观察 NMR 谱图时最重要的两个参数。参数组与数据集之间有着密不可分的联系，在为各参数赋值之前，用户必须要先掌握数据集的概念。

6.1 频率

在通道一、二、三上发射出的信号频率分别由 SF01、SF02、SF03 决定，以此类推。但是，我们不能直接设置这些频率（您会注意到，我们无法通过鼠标将其突出显示）。

通过为 BF1、BF2、BF3 等基本频率设置偏移量，可以控制发射频率。

对于观察通道：

- $SF01 = BF + \text{偏移量 (O1)}$

发射频率由用户自动设置。

另外两个去耦通道也采用类似公式：

- $SF02 = BF2 + \text{偏移量 (O2)}$
- $SF03 = BF3 + \text{偏移量 (O3)}$

选择某一特定原子核之后，系统会自动设置该原子核相应的基本频率。读取标准参数集之后，基本频率将会正确设置，用户只需调整偏移量的数值即可。

请记住 SFOX 即为实际发送到样品的频率，因此是最重要的参数。另外还须注意，偏移量可以设置为零，此时 $SFOX = BFX$ 。我们将在下一节中进一步介绍该内容。

6.2 通过数字来解释发射频率、基础频率和偏移频率

设想有一个用于观察氢的 600 MHz 波谱仪。波谱仪配置为有一个 600.13 MHz 的 BF1（500 MHz 的波谱仪通常有一个 500.13 MHz 的 BF1，400 MHz 的波谱仪有一个 400.13 MHz 的 BF1，以此类推）。

如果 O1 设定为 0，那么： $SF01 = 600.13 + 0 = 600.13 \text{ MHz}$

因此，频谱中心位于 600.13 MHz。如果 SWH 设定为 20 kHz，频谱看起来会像下图那样。

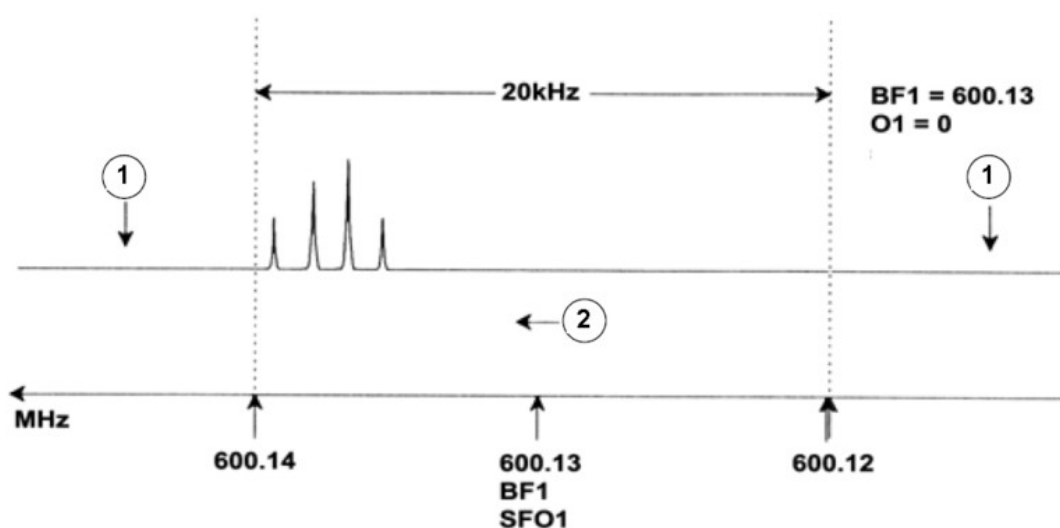


图 6.1: $BF1 = 600.13 \text{ MHz}$ 、 $O1 = 0 \text{ Hz}$ 的频谱

1.	过滤掉的信号	2.	频率
----	--------	----	----

从我们设想的频谱中可以清楚看到，NMR 信号都出现在偏向频谱宽度的高频端。此外，有些信号可能出现在高于 600.15 MHz 处，由于这些信号超出了频谱窗，因此已经被过滤而无法观察到。要核查这种信号的存在，有两个选择：

- 可以将频谱宽度增加到包含任何缺失的信号。但是这有缺点，比如提高了 FID 分辨率（FIDRES 的值越低，分辨率越好）。
- 更好的选择是保持频谱宽度不变，但是向 01 赋予一个值来移动窗口的中心。

在我们的例子中，所探测到的信号都出现在 600.138 MHz 的区域，我们希望将频谱的中心定在这个频率。

$$\Rightarrow SF01 = 600.138 = BF1 + 01$$

$$\Rightarrow 600.138 = 600.13 + 01$$

$$\Rightarrow 01 = 0.008 \text{ MHz} = 8 \text{ kHz}$$

因此，如果频率偏移量 01 设定为 8 kHz，窗口将移动为像下图那样。

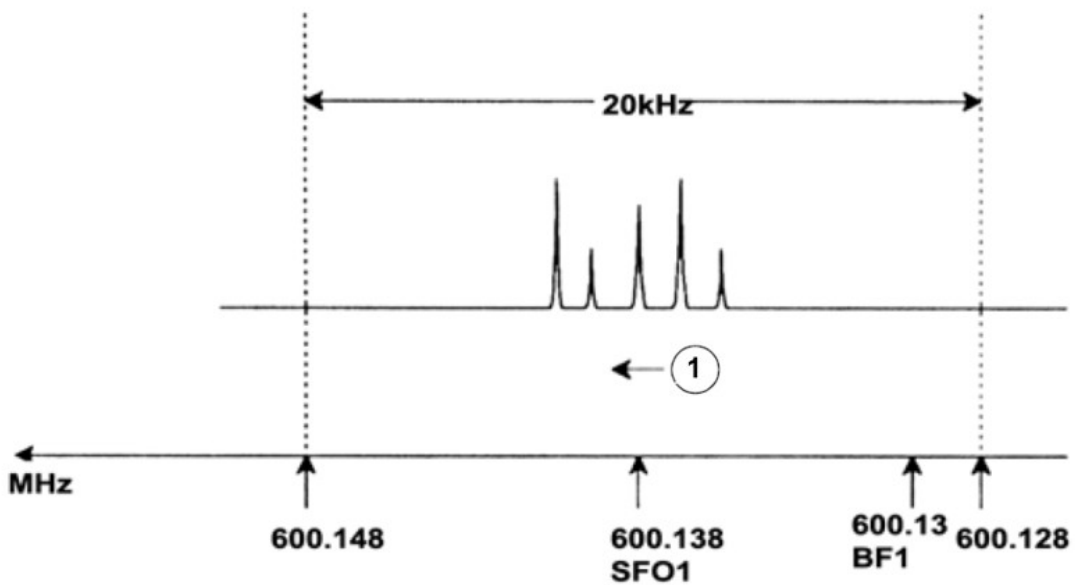


图 6.2: $BF1 = 600.13 \text{ MHz}$ 、 $01 = 8 \text{ kHz}$ 的频谱

1.	频率		
----	----	--	--

最后，从上图中可以清楚看到，我们假设的样品中的质子发出的 NMR 信号只占频谱宽度的一部分。因此，可以减小频谱宽度而不会丢失任何相关数据。减小 SW 的一个优点是提高了频谱分辨率。缺点是采集数据所需的时间会相应增加。

在[基础理论及术语 \[9\]](#)中指出，质子的化学位移很少会超过 14 ppm。这在 600 MHz 波谱仪上对应于 8.4 kHz。下图显示了假设的重新绘制的频谱，其中指定给 SWH 的值从 20 kHz 减小到了 8.4 kHz。

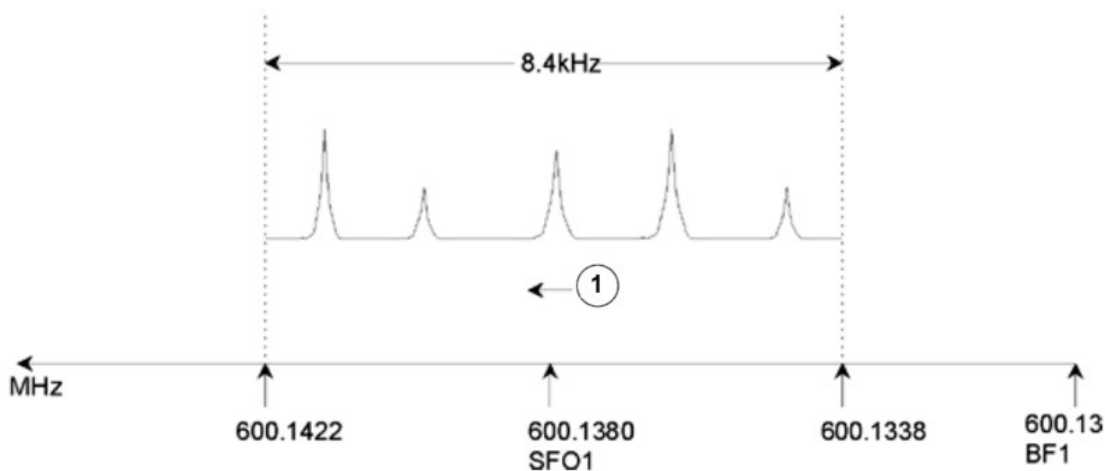


图 6.3: $BF1 = 600.13 \text{ MHz}$ 、 $O1 = 8 \text{ kHz}$ 、 $SWH = 8.4 \text{ kHz}$ 的频谱

1.	频率		
----	----	--	--

应该指出，任何给定的实验中所使用的 SWH 值只取决于所分析的样品及所需的频谱分辨率。对氢谱而言， 14 ppm 的值将确保检测到大多数质子信号。但如果要对特定信号进行详细研究，则会使用更小的 SWH 值。

下图说明了 $SFO1$ 、 $BF1$ 和 $O1$ 相互关系的一般原则（此处所示的是新样品）。

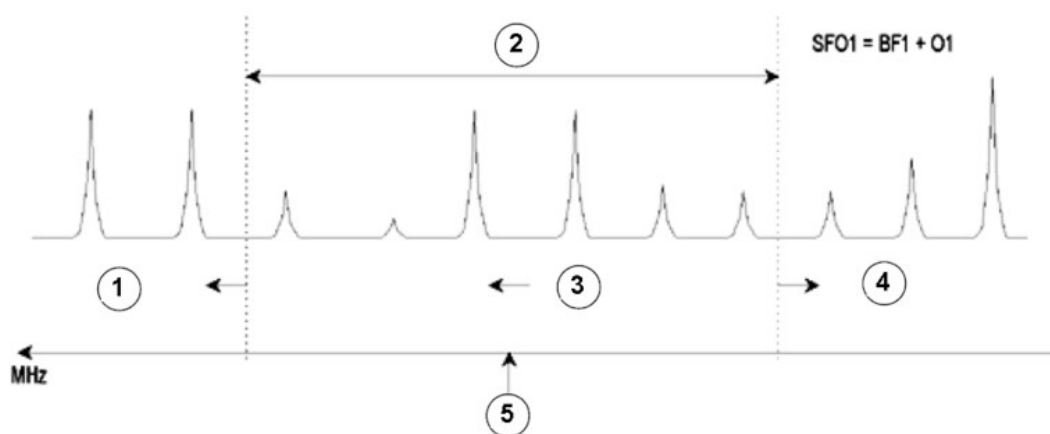


图 6.4: $SFO1$ 、 $BF1$ 和 $O1$ 的相互关系

1.	将 $O1$ 设置为正值将使窗口向较高的频率移动。
2.	SW 决定窗口的宽度。
3.	频率。
4.	将 $O1$ 设置为负值将使窗口向较低的频率移动。
5.	$SFO1$ 是频谱的中心。

7 NMR 样品

运用 NMR 技术对**固体**进行研究时，信号往往较宽，而科学家最感兴趣的精细结构则无法解析。因此，通常会将固体样品溶于适当的溶剂，然后再进行采集。**液体样品**也是如此。在有机溶剂中，可能会添加少量参照化合物。不过，为了获得最佳结果，样品纯度应该尽可能高。**杂质**发出的信号轻者会使频谱过于复杂，重者则会掩盖真正的信号。应该小心，以确保样品不含**磁性杂质**，否则这类杂质会扭曲磁场，并因此降低频谱分辨率。去除固体杂质最简单的方法就是过滤。对于在**有机溶剂**中的样品，溶解的水可通过在溶解样品之前充分干燥样品尽可能除去。

7.1 溶剂选择

在对样品进行充分纯化和干燥后，下一步是选择适当的溶剂。由于氘是迄今为止最常用的锁场核，因此通常会将样品溶于氘代溶剂（氘代溶剂是指其中很大比例（通常为 99% 以上）的氢原子已被氘原子取代的溶剂）。常用的**氘代溶剂**包括氘代苯、氘代丙酮和氘代氯仿，但还有许多其他溶剂可供使用。选择溶剂时需要考虑的因素包括：

1. **溶解度**：显然，样品在溶剂中的溶解度越大越好。这样可以最大限度地增加灵敏区内的样品量，从而提高实验的灵敏度。在只有少量样品可供使用的情况下，高溶解度尤为重要。
2. **溶剂信号对样品频谱的干扰**：溶剂本身不可避免会产生 NMR 信号，但这些信号会模糊频谱区域。这些“残留溶剂峰”不应与样品信号重叠。
3. **温度依赖性**：对于在高于或低于室温环境下进行的实验，溶剂的熔点和沸点也是重要的因素。此外，样品的溶解度也可能随温度变化。
4. **粘度**：溶剂的粘度越低，实验的分辨率越好。
5. **成本**：对于需要测量大量样品的常规 NMR，溶剂成本显示是一项重要考虑因素。作为一项经验法则，氘代原子越多，价格也越高。
6. **含水量**：几乎所有的 NMR 溶剂都含有痕量的水。而且，许多溶剂具有吸湿性（它们吸收大气中的水分），因此溶剂的存放时间越长，含水量也越高。水（H₂O）峰的存在只会降低 NMR 谱图的质量。通过两种方法可以大大降低溶剂的水含量：使用干燥剂进行过滤，存放溶剂时添加分子筛。

样品的溶剂是通过每种溶剂的不同优缺点进行权衡选择出来的。有关特定溶剂的具体细节，请在网上搜索。

7.2 样品管

根据不同的探头类型或实验类型，分析样品时可能会让其旋转。**旋转**样品可以消除 X 和 Y 方向上磁场不均匀的影响，从而改善谱图分辨率。旋转的一个缺点是可能产生**旋转边带**。它们是磁场随旋转频率变化而产生的假信号（峰）。这些峰会出现在较强的真信号峰的两侧，间隔等于旋转频率。边带的强度与真信号峰的强度成正比。因此，如果旋转频率是 20 转/秒 (= 20Hz)，在真信号共振频率上下 20Hz 处就会发现旋转边带。

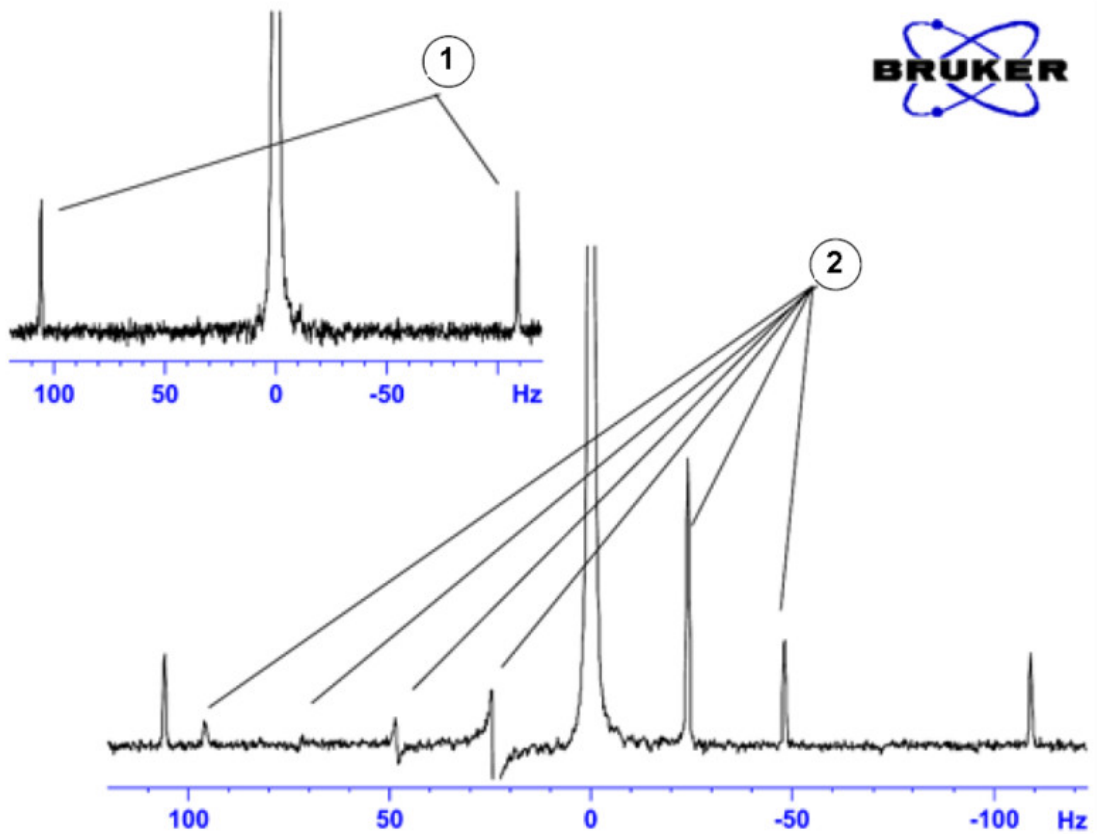


图 7.1: 有旋转边带的谱图

1.	¹³ C 卫星峰	2.	旋转边带
----	---------------------	----	------

虽然我们可能无法避免旋转边带的出现，但可以通过样品管的质量控制其大小。理想情况下，样品管应该呈完美的圆柱形。如果边带过大，可能表明**样品管对称性**不佳，需要换用更高规格的样品管（价格当然也更贵）。

样品管必须保持清洁，避免沾染灰尘或划伤。不能使用试管刷刷洗样品管。需要注意，新的 NMR 样品管并不一定是干净的。样品管可以使用丙酮或者蒸馏水清洗。使用液体洗涤剂之后必须在几分钟内将其冲洗干净，以免腐蚀样品管。也可以在合适的溶液中用超声波清洗样品管。如果以上方法都不行，可以把样品管放入王水中浸泡两天，彻底冲洗干净后进行干燥。NMR 样品管可以用烘箱烘干，但温度不能超过 100°C，否则它会变形以至无法按要求进行旋转。最好的干燥方式是向管中吹入过滤后的氮气。

7.3 样品处理

将 NMR 溶液直接过滤到样品管中是个很好的做法，可以避免溶液沾染灰尘及其他污染物。



注意： 样品管应始终从上部握持！

制备样品的典型步骤如下：

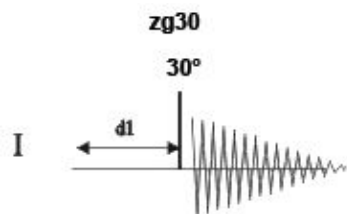
1. 对于使用 5 mm 样品管的固体样品，最多将 20 mg 样品溶于约 0.6 cm³ 所选溶剂（对于 10 mm 样品管，将 80 mg 样品溶于 2.5 cm³ 溶剂）。通常对于液体样品，观察质子时，应将 20% 的样品溶于 80% 的氘代溶剂。
2. 添加少量（约 0.1%）参照化合物四甲基硅烷（TMS）。确保 TMS 信号强度小于最强的样品或溶剂信号（否则会因接收器增益较低而浪费了信噪比）。
3. 将溶液通过管口塞有少量 Kimwipe 擦拭纸的巴斯德吸管过滤到样品管中。
4. 将 0.2 cm³ 溶剂通过过滤器过滤到样品管中。得到的溶液深度应为三到四厘米。
5. 盖上管帽，用封口膜封住样品管顶端以减少蒸发，并在样品管顶端附近贴上标签。应注意确保管帽、封口膜和标签同轴，以免对样品旋转产生不良影响。



注意： 使用玻璃纤维过滤样品时（尤其是要测量 T₁ 时），可能会出现一些问题。

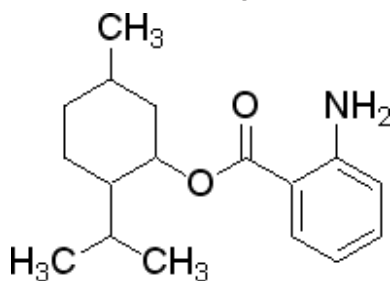
8 质子谱

本章将介绍使用标准 Bruker 参数集 **PROTON** 采集和处理一维 ^1H NMR 谱图的操作。脉冲序列 **zg30**（见下图）由循环延迟、射频（RF）脉冲和记录信号过程中的采样时间组成。脉冲角度显示为 30° 。**d1** 和 **p1** 两个参数分别对应循环延迟长度和 90° RF 脉冲的长度。



脉冲序列图中所示的时间间隔并未按照比例进行绘制。例如，**d1** 通常为数秒，而 **p1** 通常为数微秒。

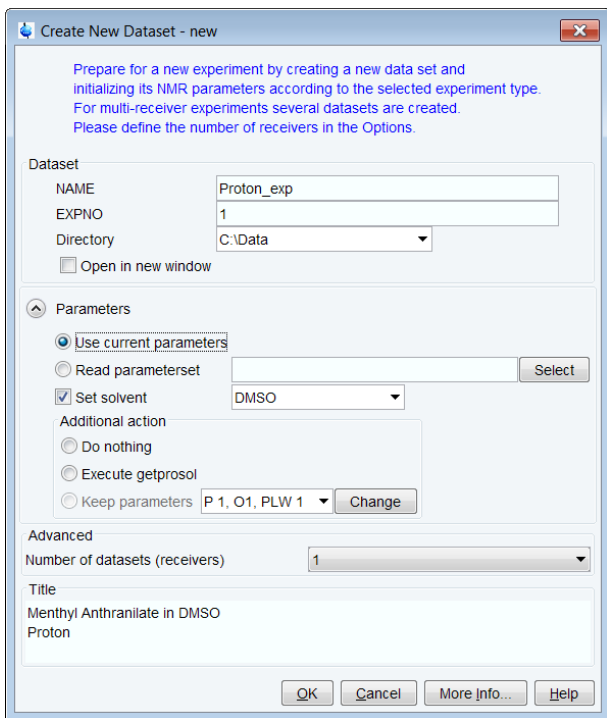
使用的样品为 30 mg 邻氨基苯甲酸甲酯的 DMSO- d_6 溶液。



8.1 实验设置

创建新的数据组

- 在菜单栏上，单击 **Acquire**（采集）| **Create Dataset**（创建数据组）以打开“Create New Dataset”（创建新的数据组）窗口。




- 在“Create New Dataset”（创建新的数据组）窗口中，输入或选择：
 NAME（名称）= **Proton_exp**
 EXPNO = **1**
 Directory（目录）= 例如 *C:\Data*

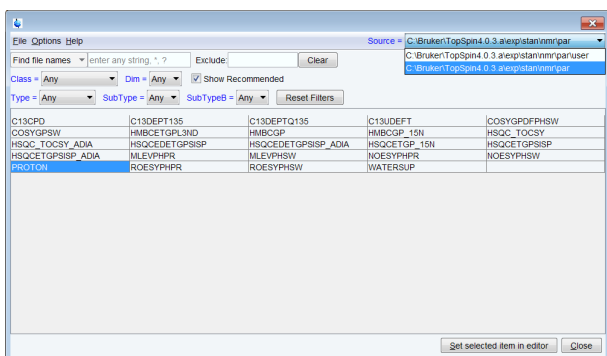
Directory（目录）、**NAME**（名称）和 **EXPNO**（实验编号）定义计算机上将存储新实验数据组的位置：



示例中的 Directory/NAME/EXPNO/： *C:\Data\proton_exp\1*

可以在下拉列表中选择 **Directory**（目录），或者可以在文本字段中键入新位置。**NAME**（名称）是 **Directory**（目录）的子目录，**EXPNO** 是 **NAME**（名称）的子目录。**EXPNO** 必须是一个正整数。它提供了一种以相同 **NAME**（名称）存储多个相关数据组的方法。

- 在参数组中  **Parameters** 单击 **Read parameterset**（读取参数组）和 **Select**（选择）以打开 rpar 窗口。



- 启用 **Show Recommended**（显示建议）以获得最常见的小分子实验列表。
- 确保源目录是
`<Topspin>\exp\stan\nmr\par`
 而不是
`<Topspin>\exp\stan\nmr\par\user`
- 在表中，选择 **PROTON** 作为实验并单击 **Set selected item in editor**（在编辑器中设置所选项目）。
- 在“Create New Dataset”（创建新的数据组）窗口中，选中 **Set solvent**（设置溶剂），并在下拉列表中选择 **DMSO**。
- 在“TITLE”（标题）字段中输入一段文字，以说明实验、样品、溶剂和任何其他有用的信息。标题信息可用于搜索数据组。
- 在“New Dataset”（新数据组）窗口中，单击 **OK**（确定）。
- 在菜单栏上，单击 **Acquire**（采集）。

要获取频谱，请从左到右使用工作流程按钮栏中的工作流程按钮（请参阅下面的步骤）。或者，也可以在 TopSpin 命令提示符处键入各弹出窗口的括号中显示的命令（例如 **ej**、**ij**、**edte** 等等）。

- 在 **Sample**（样品）按钮上，单击下拉箭头以查看更多选项。
- 在列表中，选择 **Eject sample manually (ej)**（手动弹出样品（ej））。



等到样品提升气流处于打开状态并除去可能在磁体中的样品。

装入样品

- 将样品连同转子放置于磁体顶端。
- 在 **Sample**（样品）按钮上，单击下拉箭头以查看更多选项。
- 在列表中，选择 **Insert sample manually (ij)**（手动插入样品（ij））。



等待样品下降到探头中并且提升气流关闭。可能会听到咔嚓声。

对溶剂进行锁场

- 在工作流程按钮栏上，单击 **Lock**（锁定）。
- 在“Solvents table”（溶剂表）窗口中，选择溶剂，例如 **DMSO**。单击 **OK**（确定）。

Solvent	Description
Acetic	acetic acid-d4
Acetone	acetone-d6
C6D6	benzene-d6
CD2Cl2	dichloromethane-d2
CD3CN	acetonitrile-d3
CD3CN_SPE	LC-SPE Solvent (Acetonitrile)
CD3OD_SPE	LC-SPE Solvent (Methanol-d4)
CDCl3	chloroform-d
CH3CN+D2O	HPLC Solvent (Acetonitril/D2O)
CH3OH+D2O	HPLC Solvent (Methanol/D2O)
D2O	deuteriumoxide
D2O_salt	deuteriumoxide with salt
Dioxane	dioxane-d8
DMF	N,N-dimethylformamide-d7
DMSO	dimethylsulfoxide-d6
EtOD	ethanol-d6
H2O+D2O	90%H2O and 10%D2O
H2O+D2O_salt	90%H2O and 10%D2O with salt
HDMSO	90%DMSO and 10%DMSO-d6
Juice	fruit juice
MeOD	methanol-d4
Plasma	blood plasma
Pyr	pyridine-d5
T_H2O+D2O+Me4NCl	(CD3)4NCl in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+NaAc	sodium acetate in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+Pivalate	pivalate-d9 in 90% H2O and 10% D2O, for NMR thermometer
T_MeOD	methanol-d4, for NMR thermometer
TFE	trifluoroethanol-d3
THF	tetrahydrofuran-d8
Tol	toluene-d8
Urine	urine

Lock nucleus: 2H OK Cancel

调谐和匹配探头

- 在 工作流程按钮栏上，单击 **Tune**（调谐）。

这会执行 **atma**（自动调谐和匹配）操作，并且需要一个配备自动调谐模块的探头。 请单击 **Tune**（调谐）按钮上的下拉箭头以查看更多选项。

旋转样品（可选）

- 在 **Spin**（旋转）按钮上，单击下拉箭头以查看更多选项。
- 在此列表中，选择 **Turn sample rotation on (ro on)**（打开样品旋转 (ro on)）。



对于诸如 **BBI**、**TXI**、**TBI** 之类的探头以及微量探头，可以**关闭**旋转。

对样品进行匀场

- 在 工作流程按钮栏上，单击 **Shim**（匀场）。

这将执行 **topshim** 命令。匀场即刻开始，耗时应该少于一分钟。 在 **Shim**（匀场）按钮上，单击下拉箭头以查看更多选项。

加载 prosol 参数

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Prosol**。

这会将脉冲宽度和功率加载到参数组中。

8.2 采集

设置接收器增益

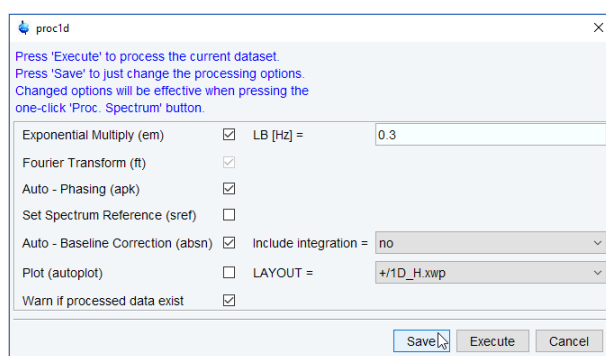
- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Gain**（增益）。
- 或
- 在“Gain”（增益）按钮上，单击下拉箭头以手动调整接收器增益。

开始采集数据

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Run**（运行）。
- 或
- 在 **Run**（运行）按钮上，单击下拉箭头以查看更多选项。

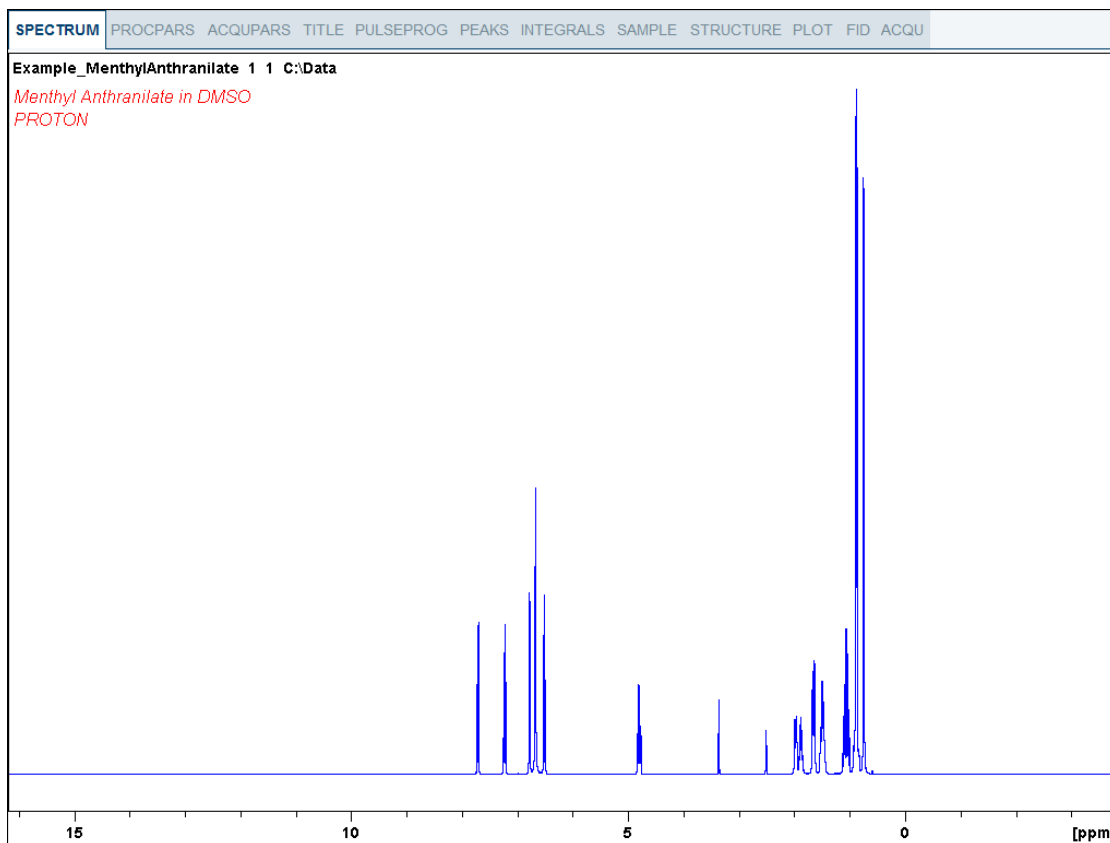
8.3 处理

- 采集完成后，单击菜单栏上的 **Process**（处理）。
- 在 **Proc Spectrum**（处理频谱）按钮上，单击下拉箭头以查看更多选项。
- 在列表中，选择 **Configure Standard Processing (proc1d)**（配置标准处理 (proc1d)）。
- 在“proc1d”窗口中，启用以下选项：
 - Exponential Multiply (em)（指数窗函数 (em)）
 - Auto - Phasing (apk)（自动 - 相位调整 (apk)）
 - Auto - Baseline Correction (absn)（自动 - 基线校正 (absn)）



- 如果将 TMS 添加到样品中进行参考，请启用 **Set Spectrum Reference (sref)**（设置频谱参考 (sref)）。
- 在“proc1d”窗口中，单击 **Execute**（执行），然后单击 **Save**（保存）以保存选定的处理设置。

现在，通过单击 **Proc Spectrum**（处理频谱），可以用定义的操作来处理所有将来的数据组。

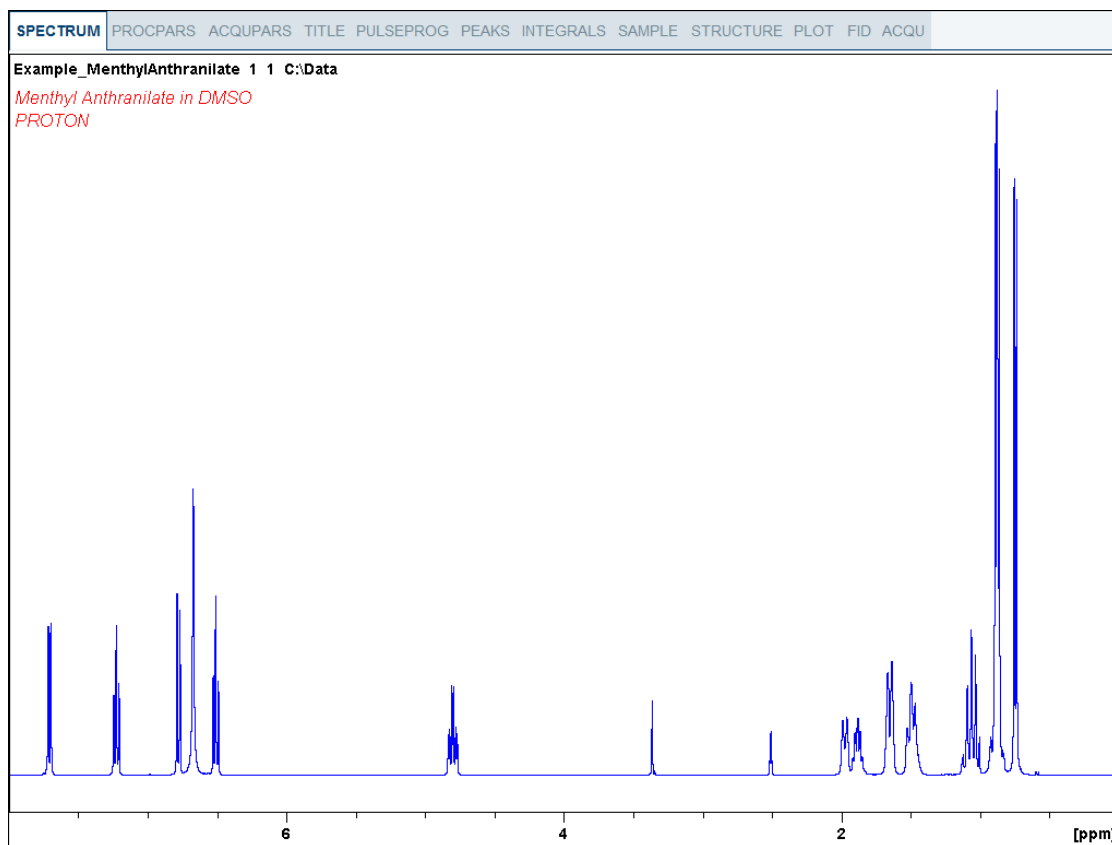


8.4 积分

为了对所观察的质子信号进行定量分析，将对峰的积分强度进行相互比较。通常会对质子频谱进行积分，以将被分析分子中的质子计数。

要获得更精确的定量积分结果，请参阅**定量 NMR** 手册。

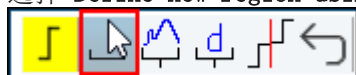
- 展开频谱以包括所有的峰。



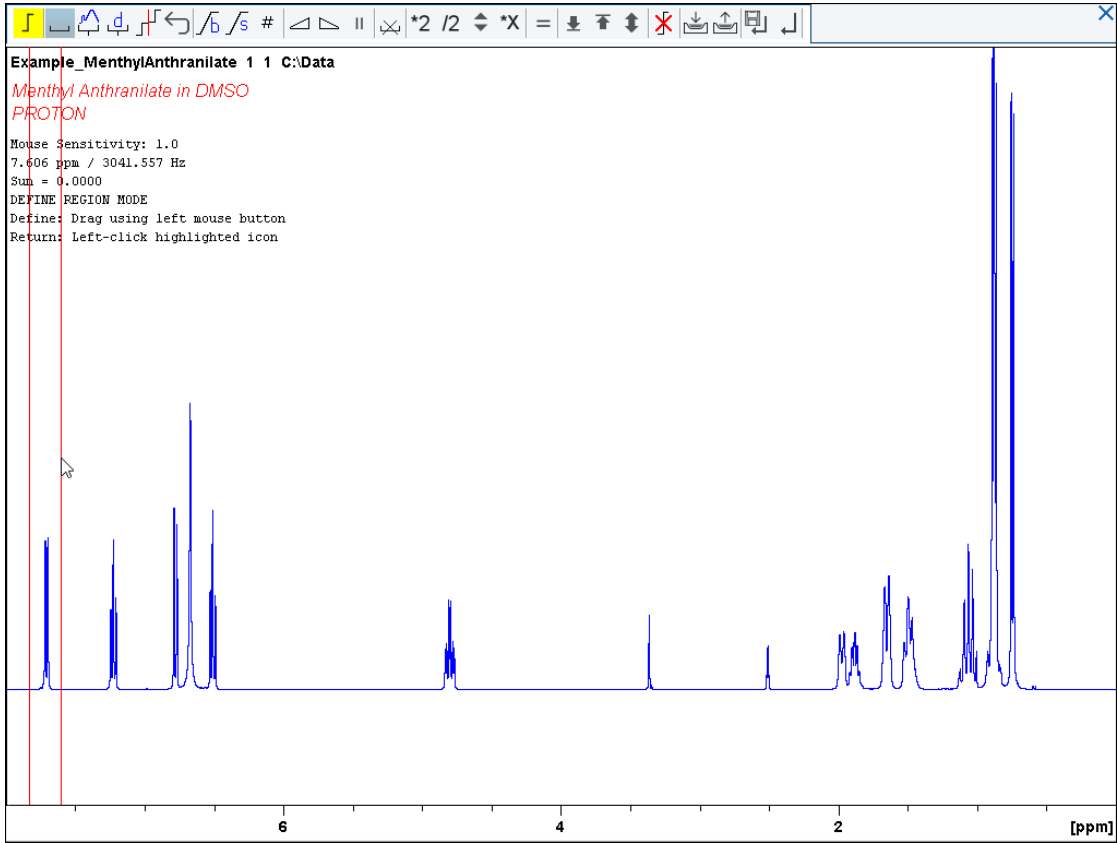
- 在菜单栏上，单击 **Analyse**（分析）| **Integrate**（积分）。

此时将进入手动积分模式。 **数据集**选项卡栏将由**积分工具**栏取代。

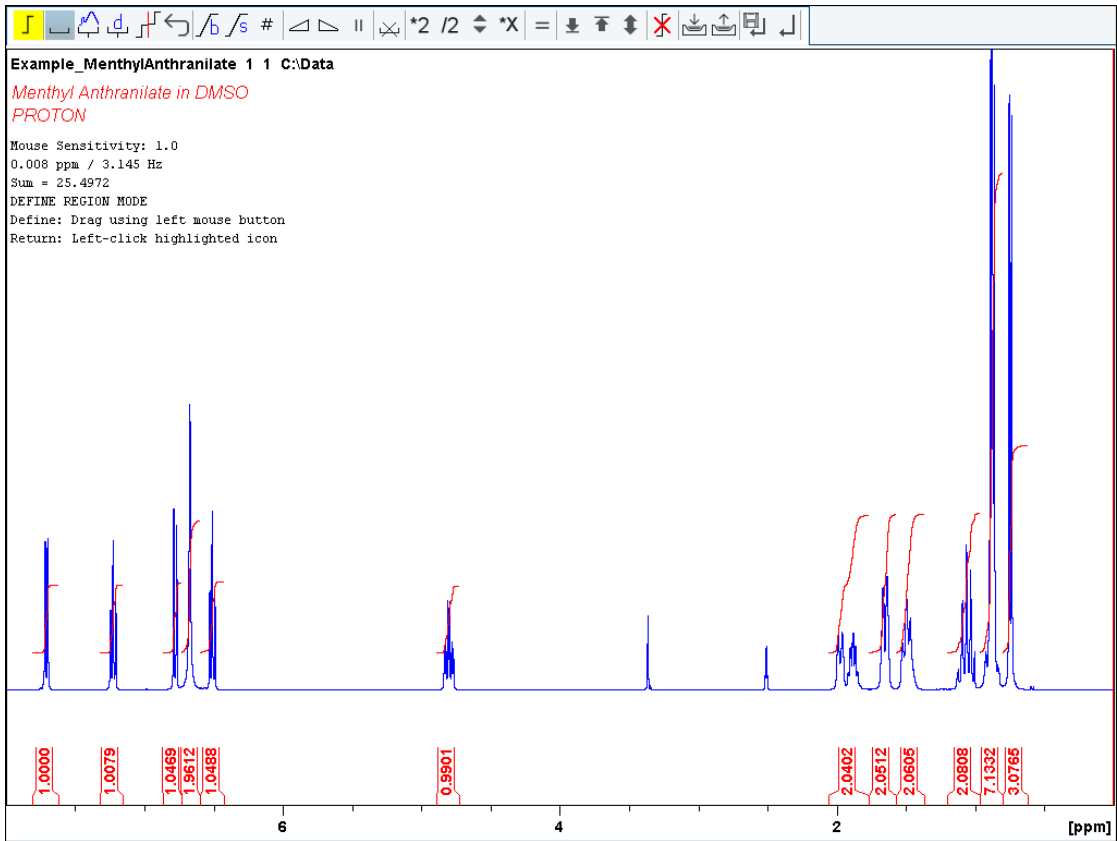
- 选择 **Define new region using cursor**（使用光标定义新区域）按钮。



- 将光标线设置在要积分的第一个峰的左侧。单击鼠标左键，并将光标线拖动到峰右侧，然后松开鼠标键。



- 对所有感兴趣的峰重复上一步。




- 在积分工具栏上，单击 **Return, save region**（返回、保存区域）以保存积分区域。





8.5 绘制 1D 质子频谱


- 展开频谱以包括所有的峰。
- 在工具栏上，单击 **Retain expansion and scale**（保留扩展和标度）。



当“SPECTRUM”（频谱）选项卡中显示频谱时，单击 **Print active window**（打印活动窗口）可打印频谱。 

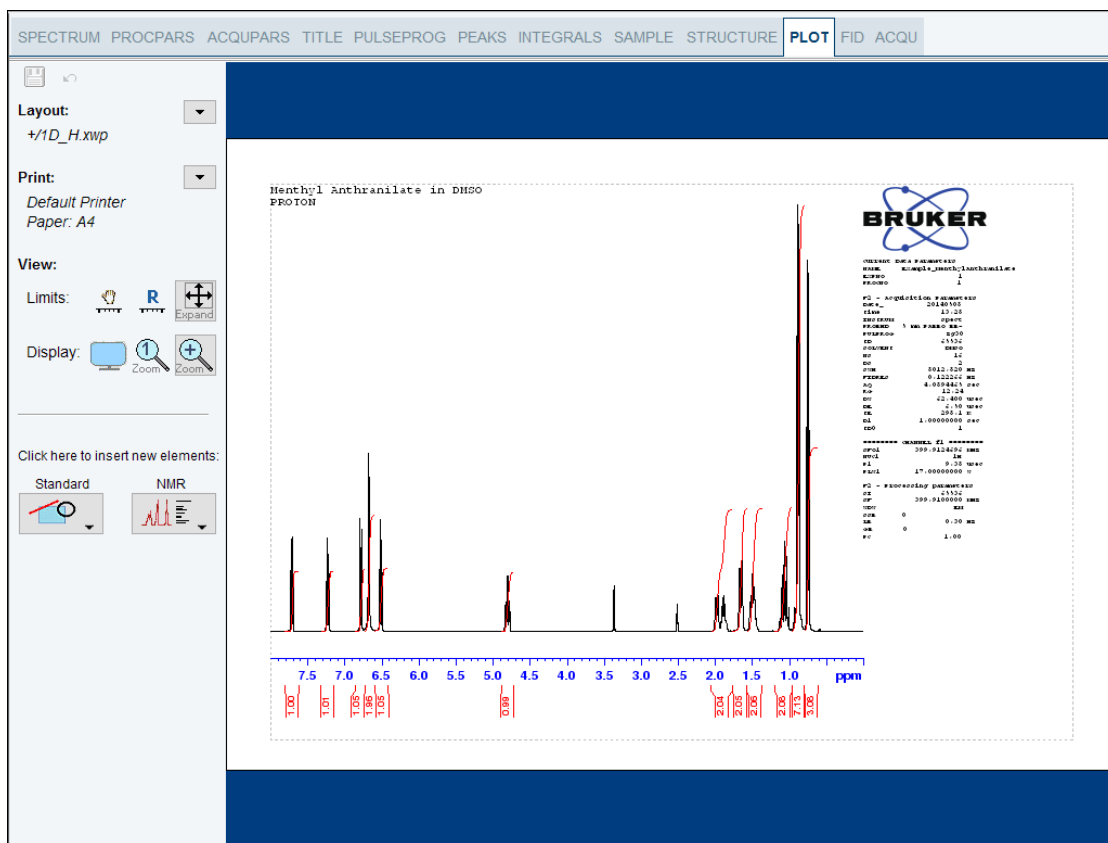
单击 **Export active data or plot window as PDF**（将活动数据或绘图窗口导出为 PDF）也可以用预定义的布局打印频谱 。

菜单栏上的 **Show more Publish Options**（显示更多发布选项）按钮  以及“Switch to

plot editor”（切换到绘图编辑器）可提供其他选项 。您可以通过单击数据组窗口选项卡栏中的 **Plot**（绘制）选项卡（参见下图）切换到交互式绘图编辑器。



有关使用绘图编辑器和修改布局的详细信息，请参阅帮助菜单中的 **Data Publishing**（数据发布）手册 。单击 **Help | Manuals | Automation and Data Publishing | Data Publishing**（帮助 | 手册 | 自动化和数据发布 | 数据发布）。

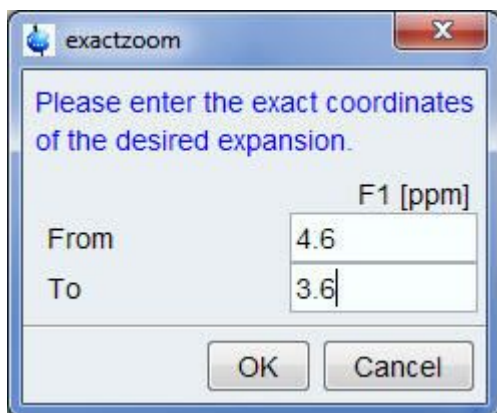


8.6 优化扫描宽度

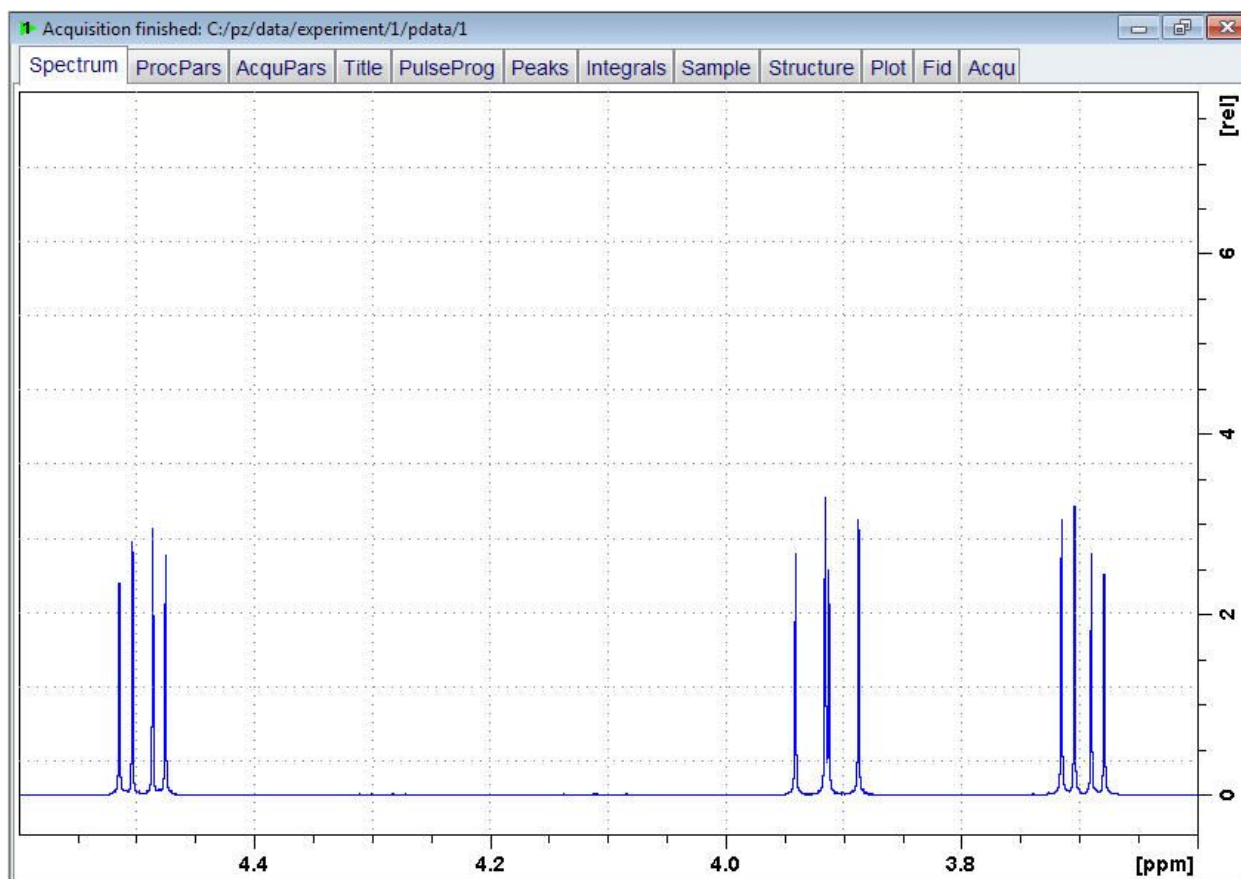
优化采样宽度将获得更好的分辨率，改善质子频谱中的峰分离效果。



- 在工具栏上，单击 **Exact Zoom**（精确缩放）。
- 输入以下 F1 [ppm] 值：
从 = 4.6
到 = 3.6



- 在“Exactzoom”（精确缩放）窗口中，单击 **OK**（确定）。



- 在工具栏上，单击 **Set sw to current region and SF01 to center of region** (将 SW

设置为当前区域，将 SF01 设置为区域中心)。



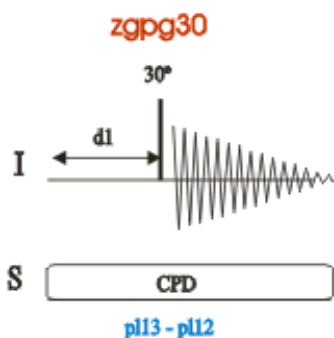
- 在“New setting of SW” (SW 的新设置) 窗口中，单击 **Close** (关闭)。
- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Run** (运行)。
- 在菜单栏上，单击 **Process** (处理)。
- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Proc Spectrum** (处理频谱)。



注意： 此时将执行“proc1d”窗口中已保存的处理参数。

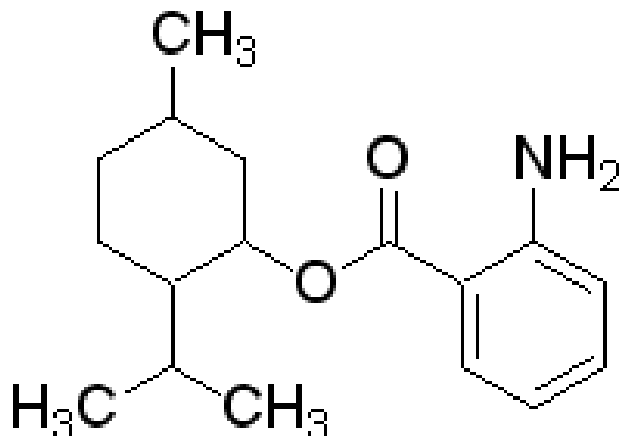
9 质子去耦的 ^{13}C 频谱

本章介绍如何采集和处理一维 ^{13}C NMR 频谱。标准 Bruker 参数集 C13CPD 包括脉冲序列 **zgpg30**，如下图所示。 ^{13}C 通道包括循环延迟、RF 脉冲及采集时间（信号在此期间记录）。图中所示的脉冲角为 30° 。d1 和 p1 这两个参数分别对应于循环延迟的长度和 90° RF 脉冲的长度。 ^1H 通道包含两个去耦脉冲，可进行功率门控。第一个脉冲是循环延迟期间建立 NOE 的脉冲，功率可能低于采集期间的第二个脉冲，也就是真正的去耦脉冲。这可能有助于避免对高盐样品或探头进行 RF 加热，在这类样品或探头上，较高的去耦功率可能会出现问題。



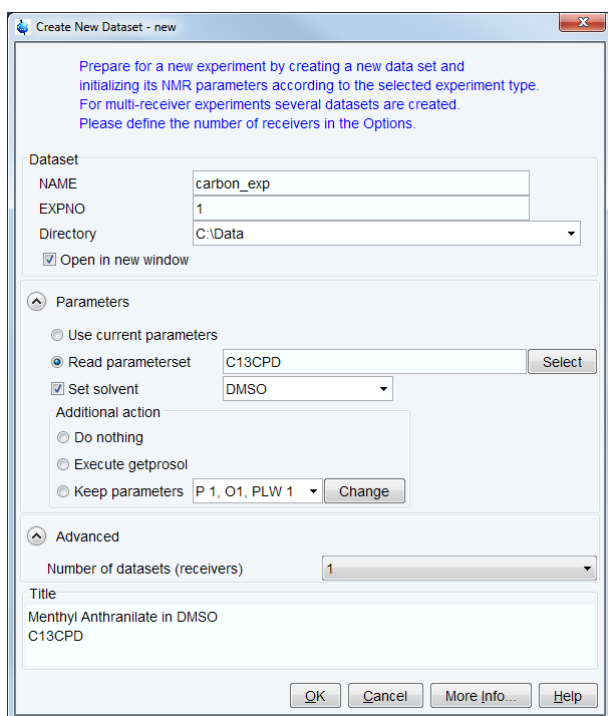
脉冲序列图中所示的时间间隔没有按比例绘制。例如，d1 的长度通常是几秒，而 p1 的长度通常是几微秒。

要使用的样品是 30 mg 溶于氘代二甲基亚砜的邻氨基苯甲酸甲酯。



9.1 实验设置

- 在菜单栏上，单击 **Acquire**（采集）| **Create Dataset**（创建数据组）以打开“Create New Dataset”（创建新的数据组）窗口。
- 在“New Dataset”（新数据组）窗口中，输入或选择：
 - NAME（名称）= **carbon_exp**
 - EXPNO = 1
 - Directory（目录）= 例如 **C:\Data**
- 在参数组中  **Parameters** 单击 **Read parameterset**（读取参数组）并选择实验 **C13CPD**
- 在“Create New Dataset”（创建新的数据组）窗口中，选中 **Set solvent**（设置溶剂），并在下拉列表中选择 **DMSO**。



- 在“TITLE”（标题）字段中输入一段文字，以说明实验、样品、溶剂和任何其他有用的信息。标题信息可用于搜索数据集。
- 在“New Dataset”（新数据集）窗口中，单击 **OK**（确定）。
- 在“Dataset”（数据集）窗口中，选择 **AcquPars** 选项。
- 进行以下更改：
NS = 128
- 在菜单栏上，单击 **Acquire**（采集）。



要获取频谱，请从左到右使用工作流程按钮。

- 在 **Sample**（样品）按钮上，单击**下拉**箭头以查看更多选项。
- 在列表中，选择 **Eject sample manually (ej)**（手动弹出样品（ej））。样品提升处于打开状态。



等到样品提升气流处于打开状态并除去可能在磁体中的任何样品。

- 将样品和转子放置于磁体腔顶端。
- 在 **Sample**（样品）按钮上，单击**下拉**箭头以查看更多选项。
- 在列表中，选择 **Insert sample manually (ij)**（手动插入样品（ij））。



等待样品下降到探头中并且提升气流关闭。可能会听到咔嚓声。

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Lock**（锁定）。
- 在“Solvent table”（溶剂表）列表中，选择 **DMSO**（二甲基亚砜）并单击 **OK**（确定）。

Δ Solvent	Description
Acetic	acetic acid-d4
Acetone	acetone-d6
C6D6	benzene-d6
CD2Cl2	dichloromethane-d2
CD3CN	acetonitrile-d3
CD3CN_SPE	LC-SPE Solvent (Acetonitrile)
CD3OD_SPE	LC-SPE Solvent (Methanol-d4)
CDCl3	chloroform-d
CH3CN+D2O	HPLC Solvent (Acetonitril/D2O)
CH3OH+D2O	HPLC Solvent (Methanol/D2O)
D2O	deuteriumoxide
D2O_salt	deuteriumoxide with salt
Dioxane	dioxane-d8
DMF	N,N-dimethylformamide-d7
DMSO	dimethylsulfoxide-d6
EtOD	ethanol-d6
H2O+D2O	90%H2O and 10%D2O
H2O+D2O_salt	90%H2O and 10%D2O with salt
HDMSO	90%DMSO and 10%DMSO-d6
Juice	fruit juice
MeOD	methanol-d4
Plasma	blood plasma
Pyr	pyridine-d5
T_H2O+D2O+Me4NCl	(CD3)4NCl in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+NaAc	sodium acetate in 90%H2O and 10%D2O, for NMR thermometer
T_H2O+D2O+Pivalate	pivalate-d9 in 90% H2O and 10% D2O, for NMR thermometer
T_MeOD	methanol-d4, for NMR thermometer
TFE	trifluoroethanol-d3
THF	tetrahydrofuran-d8
Tol	toluene-d8
Urine	urine

Lock nucleus: 2H OK Cancel

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Tune**（调谐）。



这会执行 **atma**（自动调谐和匹配）操作，并且需要一个配备自动调谐和匹配模块的探头。调谐总是从最低频率开始（在本例中从碳开始），然后进行切换以调谐较高频率（在本例中为质子）。在 **Tune**（调谐）按钮上，单击**下拉箭头**以查看更多选项。

- 在 **Spin**（旋转）按钮上，单击**下拉箭头**以查看更多选项。
- 在此列表中，选择 **Turn sample rotation on (ro on)**（打开样品旋转 (ro on)）。



对于诸如 **BBI**、**TXI**、**TBI** 之类的探头以及微量探头，可以关闭旋转。

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Shim**（匀场）。

这将执行 **topshim** 命令。在 **Shim**（匀场）按钮上，单击**下拉箭头**以查看更多选项。

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Prosol**。

这会将脉冲宽度和功率加载到参数组中。

9.2 采集

- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Gain** (增益)。

或

- 在 **Gain** (增益) 按钮上，单击 **下拉箭头** 以手动调整接收器增益。
- 在 workflow 按钮栏上，单击 **Run** (运行)。

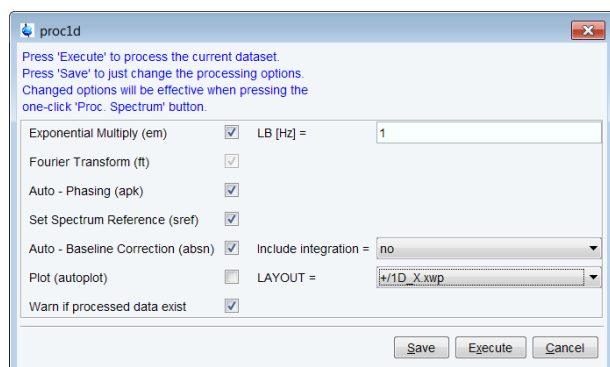
或

- 在 **Run** (运行) 按钮上，单击 **下拉箭头** 以查看更多选项。

9.3 处理

采集完成后：

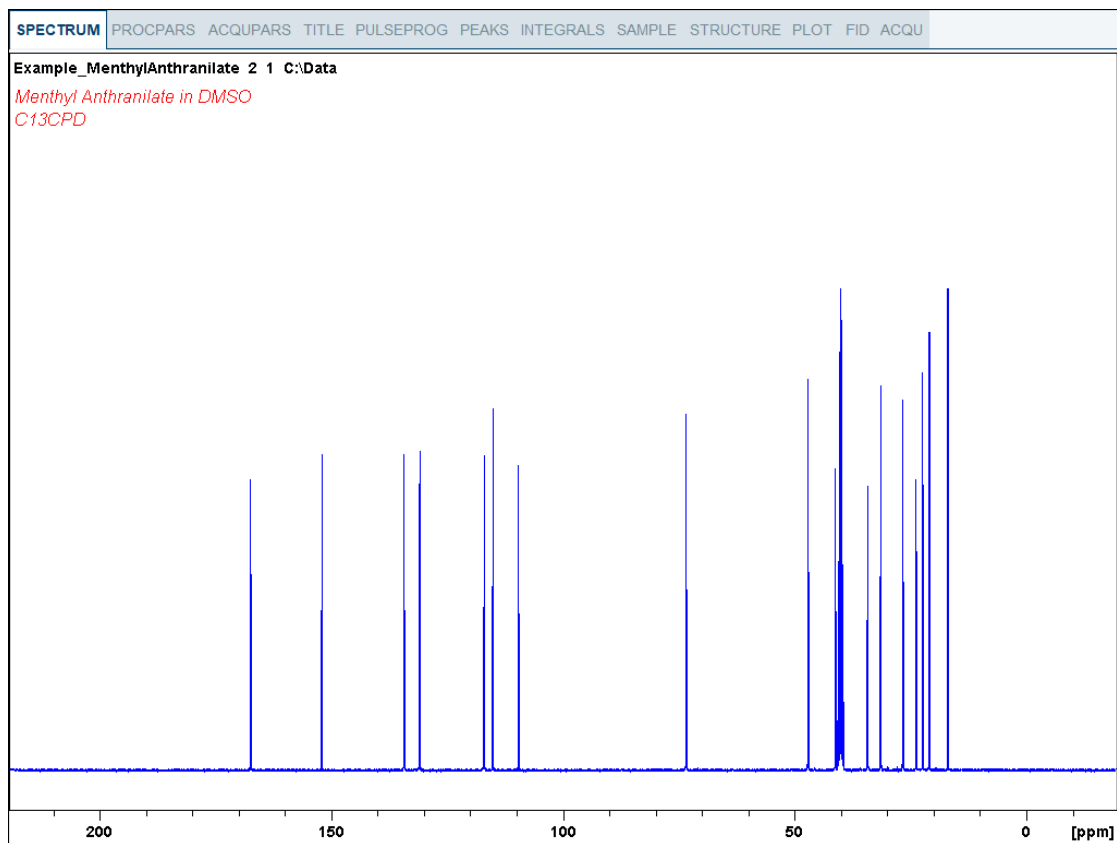
- 在菜单栏上，单击 **Process** (处理)。
- 在 **Proc Spectrum** (处理频谱) 按钮上，单击 **下拉箭头** 以查看更多选项。
- 在列表中，选择 **Configure Standard Processing (procl1d)** (配置标准处理 (procl1d))。
- 在 “procl1d” 窗口中，选择相应选项：
 - Exponential Multiply (em) (指数窗函数 (em))
 - Auto - Phasing (apk) (自动 - 相位调整 (apk))
 - Set Spectrum Reference (sref) (设置频谱参考 (sref))
 - Auto - Baseline Correction (absn) (自动 - 基线校正 (absn))



- 在“proc1d”窗口中，单击 **Execute**（执行）。
- 在“proc1d”窗口中，单击 **Save**（保存）按钮以保存选定的处理设置。

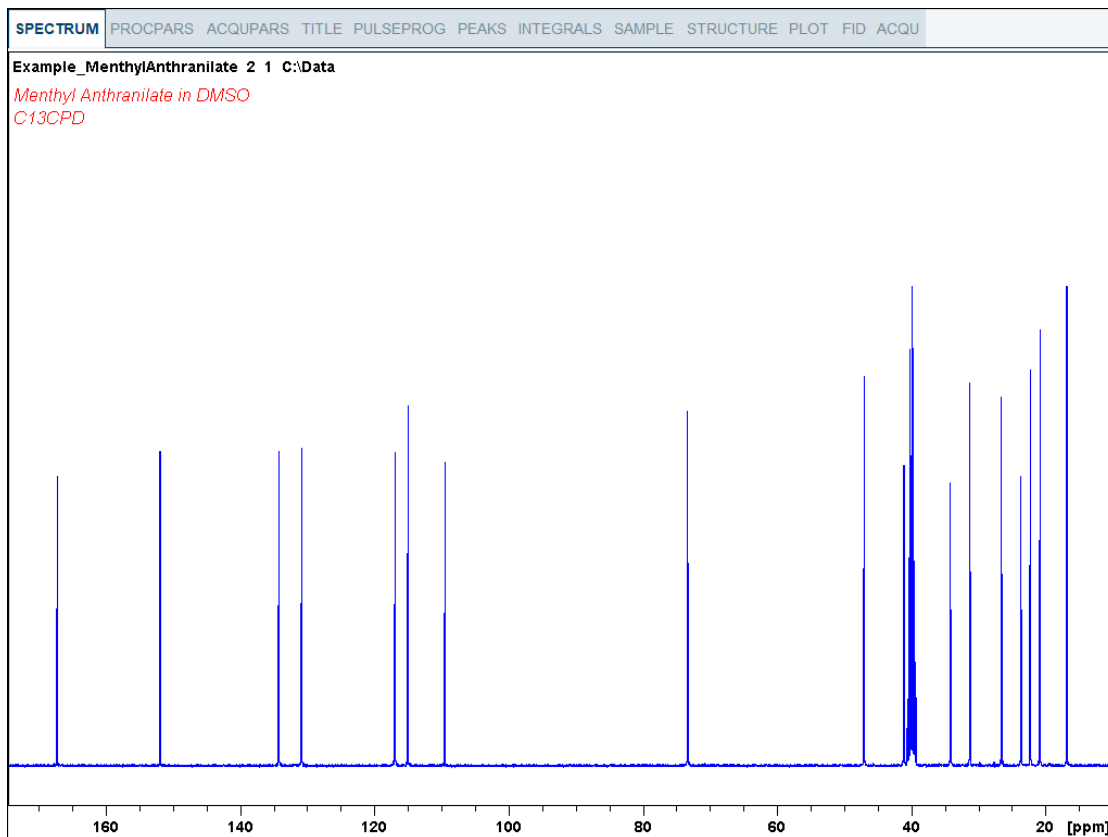


现在，通过单击 **Proc Spectrum**（处理频谱），可以用定义的操作来处理所有将来的数据组。



9.4 标峰

- 展开频谱以包括所有的峰。



- 在菜单栏上，单击 **Analyse**（分析）。
 - 在 workflow 按钮栏上，单击 **Pick Peaks**（标峰）。
- 或
- 在 **Pick Peaks**（标峰）按钮上，单击下拉箭头以查看更多选项。

此时将进入手动标峰模式。

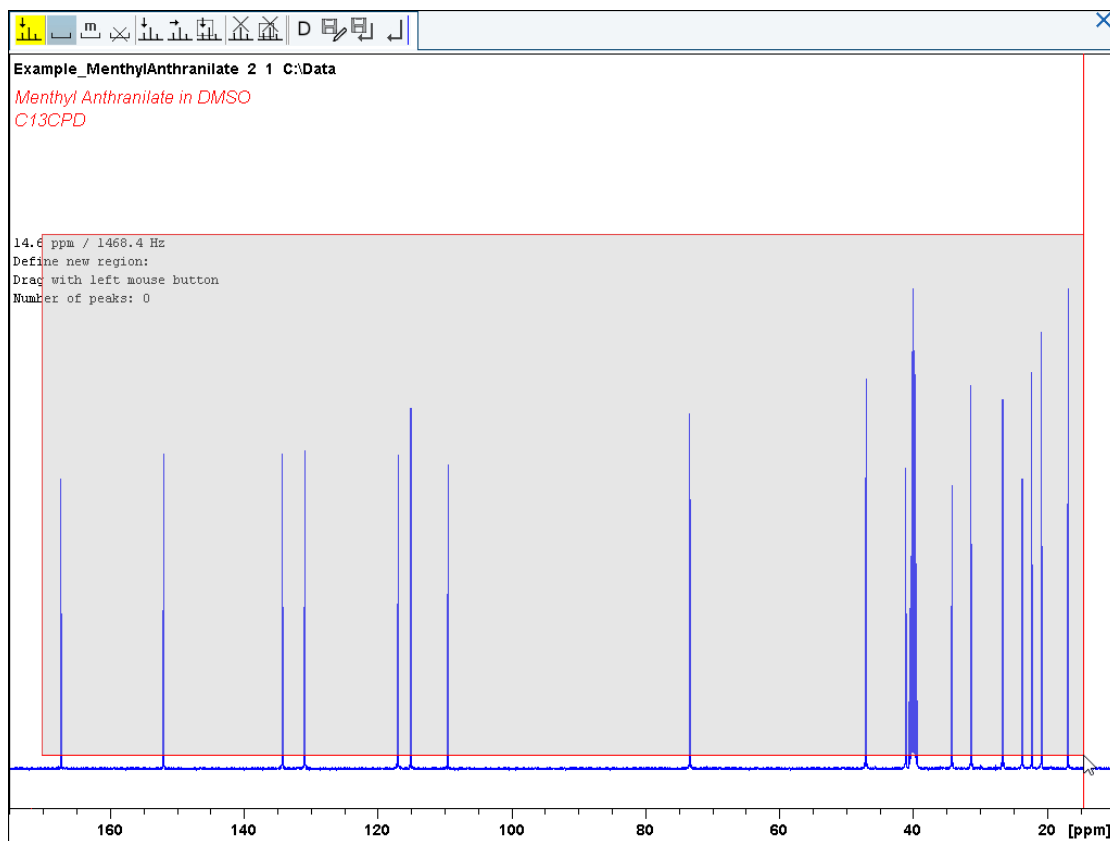
数据集选项卡将由**标峰**工具栏取代：



默认情况下启用了 **Define new peak picking range**（定义新标峰范围）按钮。

- 单击左键并将光标线从左侧拖动到图谱右侧以绘制一个矩形框。

 **Modify existing peak picking range**（修改现有标峰范围）按钮允许升高标峰框底部和/或降低标峰框顶部以排除噪声或溶剂。



- 在标峰工具栏上，单击 **Return, save region** (返回、保存区域) 以存储峰值。



- 要显示标峰标签，请右键单击谱图窗口，然后选择 **Spectra Display Preferences** (频谱显示首选项)。在频谱组件中，启用 **Peak labels** (峰标签) 和 **Peak annotations** (峰注释)。单击 **Apply** (应用) 和 **Close** (关闭)。

9.5 绘制 1D 碳谱

- 展开频谱以包括所有的峰。
- 在工具栏上，单击 **Retain expansion and scale** (保留扩展和标度)。



- 在菜单栏上，单击 **Show more Publishing Options** (显示更多发布选项)。



- 选择 **Switch to plot editor** (切换到绘图编辑器) (绘制)。



10 联系信息

制造商:

Bruker BioSpin NMR
Silberstreifen
D-76287 Rheinstetten
Germany
电话: +49 721-5161-6155
<http://www.bruker.com>
WEEE DE43181702

NMR 服务热线

联系我们的 NMR 服务中心。

Bruker BioSpin NMR 提供专用热线和服务中心, 以便我们的专家尽快响应您的所有维修要求、应用问题、软件或技术需求。

请从以下网址提供的列表中选择您希望联系的 NMR 服务中心或热线:

<http://www.bruker.com/service/information-communication/helpdesk/magnetic-resonance.html>

图片清单

图 3.1:	激发和响应	9
图 3.2:	NMR 谱	10
图 3.3:	对 CHCl ₃ 的 NMR 分析	11
图 3.4:	CHCl ₃ 发射的 NMR 信号	11
图 3.5:	赫兹和 ppm 的换算	12
图 3.6:	¹ H 在有机化合物中的化学位移	13
图 3.7:	苯环	14
图 3.8:	苯的频谱	14
图 3.9:	乙酸苄酯	15
图 3.10:	乙酸苄酯的质子频谱	16
图 3.11:	乙基苯	17
图 3.12:	乙基苯频谱	17
图 3.13:	去耦实验	18
图 3.14:	同核去耦的乙基苯频谱	19
图 3.15:	傅里叶变换	20
图 4.1:	AVANCE NEO 控制台和 Ascend 磁体	21
图 4.2:	AVANCE NEO 结构概图	22
图 4.3:	磁体、匀场系统、探头和 HPPR 的图片	24
图 4.4:	超导磁体	25
图 4.5:	探头中的样品	27
图 4.6:	典型的 HPPR 电缆连接	28
图 4.7:	宽带探头示例	28
图 4.8:	Bruker iProbe 平台	29
图 5.1:	将样品插入转子	34
图 5.2:	溶剂表	35
图 5.3:	对样品进行锁场以后的锁场显示	35
图 5.4:	“ATMM Probe Tuning/Matching” (ATMM 探头调谐/匹配) 窗口	37
图 5.5:	经过不同调谐和匹配的扫频曲线的示例	38
图 5.6:	procl _d 窗口	40
图 6.1:	BF1 = 600.13 MHz、O1 = 0 Hz 的频谱	41
图 6.2:	BF1 = 600.13 MHz、O1 = 8 kHz 的频谱	42
图 6.3:	BF1 = 600.13 MHz、O1 = 8 kHz、SWH = 8.4 kHz 的频谱	43
图 6.4:	SFO1、BF1 和 O1 的相互关系	43
图 7.1:	有旋转边带的谱图	46

表格清单

表 3.1:	各同位素数据表 (频率针对 11.7 T 磁体)	9
表 3.2:	频率变化 (针对 11.7 T 磁体)	10

术语表

AQS

采样系统

BSMS

Bruker 智能磁体控制系统 (BSMS) 可以通过计算机控制与磁体、磁场和样品相关的各种功能。

BSVT

Bruker 智能变温系统

EPU

嵌入式处理单元

GAB/3

梯度放大器板卡 3

GTU

梯度和计时单元

HPPR

高性能前置放大器

ppm

百万分之一

氘代溶剂

氘代溶剂是指其中很大比例的氢原子已被氘原子取代的溶剂。常用的氘代溶剂包括氘代丙酮、氘代苯、氘代氯仿和氘代二甲基亚砷，但还有许多其他溶剂可供使用。

化学位移

精确共振频率的变化。

索引

Symbols

安全	7
磁场	7
化学	8
边带	
边带强度	45
磁场均匀性	39
磁体	
安全	7
磁体失超	7
氮	
液氮	7
氙代溶剂	26
电气安全	7
氟锁场	26
氦	
液氦	7
化学安全	8
金属植入物	7
漏磁场	7
漂移	26
谱图分辨率	39
锁场系统	
接收器	26
用途	26
锁定样品	26
心脏起搏器	7
旋转	45
旋转边带	45
样品管	46
样品管对称性	46
液氮液位传感器	26
匀场	39

A

绝对频率	12
放大器	23
宽带	23
选择性	23
AQS	22
AVANCE NEO	22

B

BASH	22
BF	41
宽带	
线圈	27
Bruker 智能磁体系统	23
BSMS	23

C

载波频率	10
CE	
符合性声明	8
化学位移	13
化学等价	14
控制台	21

D

数据集	32
符合性声明	8
去耦脉冲	18
氙代溶剂	45

E

edlock	35
电磁体	25
以太网连接	22
EXPNO	32

F

FID	
定义	20
傅里叶转换	40
频率	10

H

赫兹	
换算	12
异核去耦	19
高性能前置放大器	23
频谱的水平分辨率	11
主控计算机	22
HPPR	23, 24, 26
HPPR/2	24

I

杂质	45
积分强度	10
强度	10
信号的	10
同位素	10
同位素	
基础共振频率	9

L

液体样品	45
------	----

M

磁芯	25
----	----





Bruker Corporation

info@bruker.com
www.bruker.com

Order No: H171804CN