

生物化学仪器指南

第三册

波谱仪器、离心机、 X 射线衍射仪等

郭尧君 主编

科学出版社

Q5-3
3YJ-1
114567

生物化学仪器指南

第三册

波谱仪器、离心机、X射线衍射仪等

郭尧君 主编

科学出版社

1989

内 容 简 介

《生物化学仪器指南》共分四册出版。本册包括核磁共振仪、顺磁共振仪、超速离心机、液体闪烁计数器、 γ 辐射探测装置、X 射线衍射仪。分别介绍各种仪器的简单原理、种类、附件、选用知识、应用范围等。除文字部分外，辅以插图和部分仪器产品照片。主编和编写人员都是使用生化仪器比较有经验的技术人员。

读者对象是有关研究所、高等院校的仪器订购人员、科技人员、外贸开发公司的业务人员，以及有关生产厂家的技术人员。

生物化学仪器指南

第 三 册

波谱仪器、离心机、X射线衍射仪等

郭尧君 主编

责任编辑 吴铁双

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100707

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

1989 年 12 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

1989 年 12 月第一次印刷 印张: 7 3/4 插页: 3

印数: 0001—870 字数: 167 000

ISBN 7-03-000944-4/Q·152

定 价: 8.30 元

序 言

自 1982 年《生物化学实验技术》丛书问世以来,深受同行的欢迎。但是这套丛书在描述各种生化实验技术时,由于篇幅所限,对通常使用的各类仪器只作粗浅的介绍。为了弥补这方面的不足,使生化工作者在从事实验研究时,更好地了解和操作这些仪器,我们决定试编这套《生物化学仪器指南》,作为前套丛书的姊妹篇。

近代生物学的长足进步,主要是与测度和观察以及制备技术的进步平行发展着的。而这一方面的进步又是和仪器与仪器的构筑 (instrument and instrumentation) 分不开的。人们常常说科学已进入生物学的世纪,这正是由于上述两种进步促成的。在生物学发展过程中进步表现在两个方面:即一些新概念的提出,及一些存在的观念在实验上的体现。只要想一想 50 至 60 年代里 Watson 和 Crick 的关于核酸分子的双螺旋模型的提出及 DNA 分子的半保留复制方式的证明和 X 光衍射及超离心实验技术的关系,就可以明白技术的进步是怎样地推动了本世纪下半叶的生物学的进步。

我国目前在实验室工作中困难很大的一部分来自生物学工作者常常不熟悉仪器,而许多技术工作者又常常不了解生物学工作者的思路。其结果是常常产生一些方法学的错误与解释上的讹谬,甚至在实验技术上无从着手。解决这种困难的办法一方面应该是加强不同训练背景之间的人员合作,另一方面则应使两种工作人员在知识上及训练上做一定程度的相互渗透。渗透可以保证两种工作人员产生共同语言以进行概念及实验上的交换。我们的这套书正是朝着这一方向努力,希望它既有益于“纯粹的”生物学工作者,也有助于“纯粹的”技术工作者。

近来,我国大量进口与引进了国外的先进实验仪器以作为实验中的工作手段。但是只要到一些科研与教学单位去看一下,便知道这些仪器的使用常常远非是合理的,有的“大才小用”,有的搁置不用,有的则物非其用,其结果是外汇已经用了,实验室空间也占满了,但未能明显地推动研究工作。

仪器随着其自动化程度、精度以及用途的多样性,其价格差别也很大。对于一个购置仪器的人来说,首先要明白自己需要什么,能付的预算款有多少。对于仪器说来绝非按钮愈多愈好,它和使用者的目的是互为表里的。仪器的最佳选择应该是对研究工作者的工作完成有所裨益。

这套书介绍了仪器的原理、使用及其应用范围。在我们的书中登了一些厂家产品介绍,主要是作为例证式的介绍,当然它们不一定是唯一的选择。在仪器的选择中技术以外的因素,例如价格、伺服的简便性、实验人员使用仪器的频度也常常是选型所必不可少的考虑因素。

这套书定名为《生物化学仪器指南》,但考虑其内涵则并不局限于生化仪器,或者说它涉及的是在近代生物学中与生化方法一同使用着的仪器。全书分四册,依仪器使用者的宽度 (popularity) 而定其先后次序予以介绍。读者可以由本书目录中看到被介绍的仪器中有有的在发展阶段上已较成熟,但有的尚在其襁褓阶段。总的说来,成熟的仪器易于使

用,但难于得到新颖的结果;研制中的仪器使用者的技巧要高、投资风险要大,但开拓的可能也大些,这一些细心的读者当能心领神会。

这套书初步分为《光谱仪器》,《色谱仪器》,《波谱仪器、离心机、X射线衍射仪等》及《显微镜及其附属设备》四册,它既可以分册使用,又互相配合,成为一个有机整体。近代的信息爆炸 (information explosion) 造成出版泛滥,有的书卷帙浩繁,不胜阅读之苦。我们的书以图释文,以电报式的语句,言简意赅地说明问题。我们力求使读者获得有用信息的同时能在金钱、时间及判断的花费上付出最低值。我们希望这些目的能够达到,并欢迎广大读者指正。

徐 浩

前 言

继第一册光谱仪器、第二册色谱仪器之后,本分册主要介绍二种波谱仪器——核磁共振波谱仪和顺磁共振波谱仪,二种在生化分析中常用的放射性测量仪器——液体闪烁计数器(用于 β 射线的测量)和 γ 射线计数器,以及测定分子结构的X射线衍射仪,还有制备和分析用的离心机。本册对这些仪器的简单原理、仪器结构、种类、进展、安装要求、性能检查、附件及应用作一概略介绍,并附录了一些仪器的性能。希望读者能从中找到合适的仪器,既节省经费和外汇,又保证实验的需要。我们有限的知识和经验如果能为读者提供有价值的信息,这就是我们的心愿。

郭尧君 1988年7月1日

目 录

序言

第一章 核磁共振波谱仪	1
一、基本原理	1
(一) 核磁性质	1
(二) 核磁能级	2
(三) 核磁共振	4
(四) 饱和与弛豫	4
(五) 化学位移	5
二、核磁共振波谱仪	6
(一) 连续波核磁共振谱仪	6
(二) 脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪	7
(三) 超导核磁共振谱仪	8
三、附件	12
(一) 探头	13
(二) 电子部件	13
(三) 变温装置	13
(四) 卫星站	13
(五) 其他附件	14
四、安装	14
(一) 实验室的环境选择	14
(二) 实验室的布局	14
(三) 实验室室内要求	14
(四) 安装过程	15
五、验收	15
(一) 性能指标的验收	15
(二) 功能特性的检查	16
六、应用	16
(一) 分子结构测定	16
(二) 分子间相互作用的研究	17
(三) 生物活体的研究	17
(四) 其他方面的应用	17
第二章 顺磁共振波谱仪	18
一、引言	18
二、基本原理	18
(一) 顺磁共振现象	18
(二) 顺磁弛豫	20

• v •

(三) ESR 波谱参数	20
三、顺磁共振波谱仪	22
(一) 工作原理	22
(二) 微波桥	24
(三) 信号通道	25
(四) 磁场系统	26
(五) 显示和记录系统	27
(六) 主要技术指标	27
四、附件和附属设备	27
(一) 核磁共振测场计	27
(二) 微波数字频率计	28
(三) 快速扫描器	28
(四) 场/频联锁装置	28
(五) 可变温度控制器	28
(六) 紫外光照射装置	29
(七) 数据系统	29
(八) 电子-核双共振系统	29
(九) 脉冲顺磁共振	29
(十) 测角计	30
(十一) 扁平样品池	30
(十二) 生物组织池	30
(十三) 液氮杜瓦	30
(十四) 电解样品池	30
(十五) 混合池	30
五、应用	30
(一) 自旋标记方法	31
(二) 饱和转移顺磁共振	31
(三) 自旋捕捉法	31
(四) ESR 技术的应用	32
第三章 超速离心机	34
一、离心法	34
二、离心机分类	35
三、离心机结构	36
四、转头	37
五、离心池与离心管	40
六、附件	41
七、订货事宜	42
八、安装及条件要求	43
附录	44
第四章 液体闪烁计数器	56
一、引言	56

二、液体闪烁计数的原理	56
(一) 与液体闪烁计数有关的一些概念	56
(二) 液体闪烁的基本过程	57
(三) 光子的探测	57
(四) 电脉冲的分析及记录	57
(五) 淬灭现象及其校正	57
三、商品液体闪烁计数器	58
(一) 液体闪烁计数器的基本指标	58
(二) 仪器的结构和功能	59
(三) 仪器的选择原则	66
(四) 仪器的安装要求	67
(五) 仪器的性能检验	68
(六) 主要附件及用途	69
四、应用	75
参考文献	75
第五章 γ 辐射探测装置	76
一、基本概念	76
(一) 常用术语	76
(二) γ 辐射探测装置	77
(三) γ 射线与物质的相互作用	79
二、 γ 辐射探测器	79
(一) 气体电离探测器	79
(二) 半导体探测器	85
(三) 闪烁探测器	89
三、应用	97
第六章 X 射线衍射仪	98
一、引言	98
二、四圆衍射仪	99
(一) 仪器部件介绍	99
(二) 仪器常见类型及主要技术指标	104
(三) 选择仪器及检验方法	104
三、粉末衍射仪	107
(一) 粉末衍射仪的构造特点	107
(二) 仪器附件及型号简介	109
(三) 主要技术指标及检验方法	109
四、小角衍射仪	109
(一) 结构和原理	110
(二) 仪器附件及型号简介	110
(三) 主要技术指标及检验方法	111
五、衍射仪对实验室环境的要求及注意事项	111
参考文献	113

第一章 核磁共振波谱仪

程 裕 安

处在某个静磁场中的物质的原子核系统受到相应频率的电磁波作用时,在它们的磁能级之间发生共振跃迁的现象称为核磁共振 (Nuclear Magnetic Resonance, NMR) 现象。这种物理现象于 1946 年被伯塞尔 (E. M. Purcell) 和布洛赫 (F. Bloch) 所发现,他们两人由此而获得诺贝尔物理学奖金。

这项重大发现导致产生了核磁共振波谱学——利用物理原理,使用无线电电子学技术和计算机技术研究分析各种物质结构的崭新学科。经过 40 多年的迅速发展,已成为确定物质结构的许多领域里最为重要的技术方法,简称为 NMR 技术。NMR 技术是用核磁共振波谱仪实现物质的分析测量,它的特点是不破坏被测样品,而通过核磁共振谱线的特性来确定各种各样的分子结构。因此它在物理学、化学、生物学和医学等许许多多领域里有着广泛的应用。例如,在化学分析中不仅是一种研究分子结构的方法,而且又是常规分析的重要工具。用它对样品进行定性和定量分析,确定反应过程和反应机理;研究各种化学键的性质和溶液中的动态平衡;测量液体和粘度;确定各种物质在生产过程中的一些其他性质和控制生产流程等。由此可见,核磁共振波谱仪对于基础理论研究、应用科学研究、工业生产以及产品开发是十分重要的,是必不可少的精密分析仪器。在现代科技武装下,NMR 技术的各种应用十分活跃。

一、基本原理

(一) 核磁性质

原子核具有一定的质量和电荷,这是原子核的基本特性。原子核的质量用原子量 A 表示,它等于质子数 Z 加上中子数 N 。由于原子核还有一定体积,因此常把原子核看作作为一个接近球形的固体。原子核粒子存在着内禀的特有的而且不能除去的角动量,大多数原子核自身围绕某个轴作旋转运动,这种运动被称为核的自旋运动,支持这种自旋运动的动量矩称为自旋角动量(或自旋矩),用 $\mathbf{P}$ 表示,根据量子力学求得其绝对值

$$|\mathbf{P}| = \frac{h}{2\pi} \sqrt{I(I+1)} = \hbar \sqrt{I(I+1)} \quad (1)$$

式中普朗克常数 $h = 6.624 \times 10^{-34} \text{J} \cdot \text{s}$ (焦耳·秒);核自旋量子数 $I = 0, \frac{1}{2}, 1, \frac{3}{2}, \dots$;

$$\hbar = \frac{h}{2\pi}。$$

那么角动量在 Z 轴投影的最大值为

$$P_{\max} = \hbar I \quad (2)$$

因为 $\hbar$ 是常数, 所以核自旋角动量 $\mathbf{P}$ 的大小决定于自旋量子数 I 。 I 只能取零、半整数或整数。不同的原子核取其不同的值, 决定于核的质子数和中子数的下列三种情况:

1. A 为偶数, Z 为偶数, N 为偶数, 则 $I = 0$ 。例如 $^{12}\text{C}_6$, $^{16}\text{O}_8$, $^{32}\text{S}_{16}$ 。
2. A 为偶数, Z 为奇数, N 为奇数, 则 $I = 1, 2, 3, \dots$ 。例如 $^2\text{H}_1$, $^{14}\text{N}_7$, $^{10}\text{B}_5$ 。
3. A 为奇数, Z 为奇数或偶数, N 为偶数或奇数, 则 $I = \frac{1}{2}, \frac{3}{2}, \frac{5}{2}, \dots$ 。例如 $^1\text{H}_1$, $^{13}\text{C}_6$, $^{19}\text{F}_9$ 。

上述第一种情况的原子核没有自旋运动, 因为 $I = 0$, 则 $\mathbf{P} = 0$; 第 2、3 种情况的原子核具有自旋运动, 因为 $I \neq 0$, 则 $\mathbf{P} \neq 0$ 。我们研究的对象是具有自旋运动的原子核, 即自旋角动量 $\mathbf{P} \neq 0$ 的原子核。

原子核除有质量外, 另一个特性是具有核电荷——带正电荷的粒子。这些电荷粒子分布在核的表面上, 随着原子核的自旋运动作循环运动, 从而形成电流。这个电流如同在线圈里流动着一样, 于是相应地产生了一定磁场, 我们用磁矩 μ 表征这个磁场特性。原子核的磁矩 μ 与核自旋角动量 $\mathbf{P}$ 成正比

$$\mu = \gamma \mathbf{P} \quad (3)$$

式中 γ 称为核的自旋比, 是核的特征常数。其值

$$\gamma = \frac{e}{2m_p c} g_N \quad (4)$$

e 为核电荷, 与电子电荷具有相同的数值。 m_p 为质子质量, c 为光速, g_N 为核的 g 因子。从公式(1)和(4)推得 μ 的绝对值

$$\begin{aligned} |\mu| &= \gamma |\mathbf{P}| = \frac{eh}{4\pi m_p c} g_N \sqrt{I(I+1)} \\ &= \mu_N g_N \sqrt{I(I+1)} \end{aligned} \quad (5)$$

式中 μ_N 称为核磁子, 是一个常数, 其值

$$\mu_N = \frac{eh}{4\pi m_p c} = 5.05 \times 10^{-27} \text{J/T (焦耳/特斯拉)}$$

由此可见, 核磁矩 μ 决定于它的磁旋比 γ 和自旋角动量 $\mathbf{P}$ 。 $I = 0$ 的原子核不但没有核自旋也不产生核磁矩, 也就是没有核磁现象。只有 $I \neq 0$ 的原子核才有自旋运动, 才有核磁场产生。其中 $I = \frac{1}{2}$ 的核电荷在核表面呈球形分布, 这种情况简单, 是我们研究的主要对象。

(二) 核磁能级

核自旋角动量 $\mathbf{P}$ 和磁矩 μ 都是矢量, 它们的方向可用右手螺旋测定, 因为核质量和核电荷同时作自旋运动, 因此它们的方向是平行的。我们建立一个 Z 轴与 $\mathbf{P}$ 和 μ 一致的坐标系, 见图 1-1(a)。把原子置于均匀磁场 $\mathbf{H}_0$ 中时, $\mathbf{H}_0$ 的方向也与 Z 轴方向一致。这时由于 $\mathbf{H}_0$ 的作用, $\mathbf{P}$ 和 μ 离开 Z 轴与 Z 轴成 θ 夹角。沿 $\mathbf{H}_0$ 轴旋转, 这在经典力学上称为拉摩尔 (Larmor) 进动。见图 1-1(b)、(c)。

根据电磁理论, 如果有磁场存在, 运动粒子的磁矩与磁场发生相互作用, 作用方式与电偶矩和电场的耦合相似, 所以 μ 与 $\mathbf{H}_0$ 的相互作用能量等于二者标量积的负值, 即

$$E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{H}_0 = -|\boldsymbol{\mu}| \cdot |\mathbf{H}_0| \cos \theta \quad (6)$$

因 $\mu_z = |\boldsymbol{\mu}| \cos \theta$, 所以有 $E = -\mu_z H_0$, 这里 μ_z 为核磁矩在 Z 轴上的投影。根据公式(5)得到

$$\mu_z = \gamma P_z = \frac{eh}{4\pi m_p c} g_N M = \gamma \frac{h}{2\pi} M \quad (7)$$

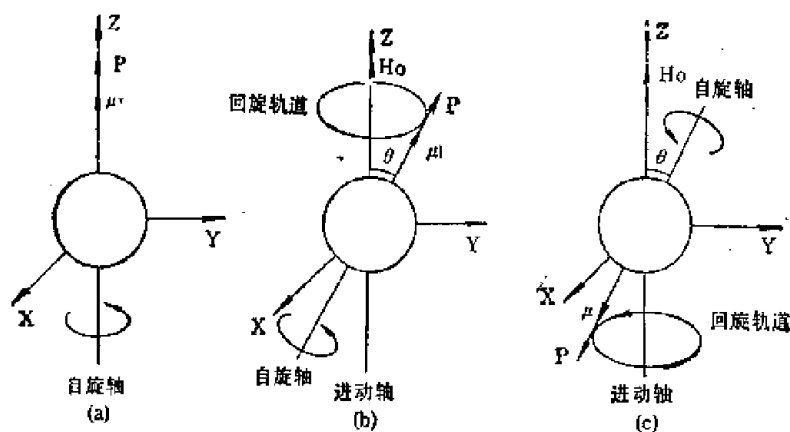


图 1-1 氢核在外磁场 H_0 中的拉摩尔进动

式中 $M = I, I-1, I-2, \dots, -I+1, -I$ 。M 为核的磁量子数, 取 $2I+1$ 个数值, 也就是说核磁矩 $\boldsymbol{\mu}$ 相对磁场只能有 $2I+1$ 个取向, 表现为空间量子化。例如核自旋量子数 $I = \frac{1}{2}$ 的核, 在磁场中只有两种取向, 即 $M = +\frac{1}{2}$ 和 $M = -\frac{1}{2}$ 。当 $M = +\frac{1}{2}$ 时, $\boldsymbol{\mu}$ 与 $\mathbf{H}_0$ 的方向相同, 这个状态能量为负值, 因此核处于低能级; 当 $M = -\frac{1}{2}$ 时, $\boldsymbol{\mu}$ 与 $\mathbf{H}_0$ 的方向相反, 核处于高能级。

由公式(6)和(7)得知, 核磁矩在磁场 H_0 方向(Z 轴)上的能量

$$E = -\gamma \frac{h}{2\pi} M H_0 \quad (8)$$

所以 $I = \frac{1}{2}$ 时核的高低能级之间的能量差

$$\Delta E = E_{-\frac{1}{2}} - E_{+\frac{1}{2}} = \gamma \frac{h}{2\pi} H_0 = 2\mu H_0 \quad (9)$$

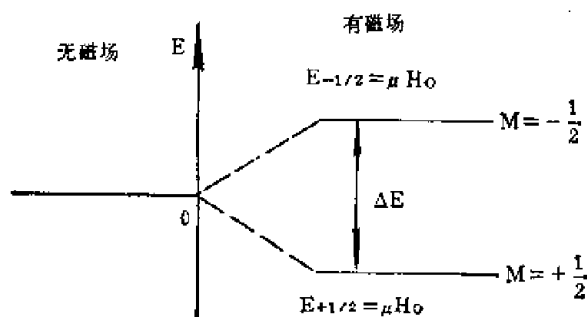


图 1-2 核磁能级分裂

当不加外磁场时,核磁矩具有相同的能量。当加有外磁场时,核磁矩在外磁场的作用下出现不同取向,将原来简并的 $2I + 1$ 个能级裂开成如图 1-2 所示。这些能级称塞曼 (Zeeman) 能级。

(三) 核磁共振

由于自旋运动而具有磁矩 μ 的原子核,如果将其置于均匀外磁场 H_0 中,核磁矩在磁场中就会发生 $2I + 1$ 种不同能级取向。一个原子核必有其中任一取向,但多数原子核在外磁场作用下取与磁场相同的低能态(如 1H 核取向于 $M = +\frac{1}{2}$ 的状态)。当此原子核再受到一个与 H_0 相垂直的射频磁场 H_1 的照射,如果 H_1 的振荡频率为 ν ,其电磁波能量子 $h\nu$ 正好和两个能级差 ΔE ($\Delta E = \gamma \frac{h}{2\pi} \cdot H_0$) 相等时,即 $h\nu = \gamma \frac{h}{2\pi} \cdot H_0$,那么低能态的核吸收 H_1 的电磁辐射能跃迁到高能态。我们把这种原子核吸收交变磁场(H_1)电磁能而发生能级跃迁的现象称为核磁共振现象。 ν 为原子核的共振频率,由于 $h\nu = \gamma \frac{h}{2\pi} H_0 = 2\mu H_0$,所以

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} H_0 = \frac{2\mu}{h} H_0 \quad (10)$$

原子核的共振频率 ν 决定于磁旋比 γ 和外磁场 H_0 。例如 1H 的原子核在磁场强度 9.4 特斯拉时,求质子共振频率 ν_H ,可将 1H 核的磁旋比 $\gamma = 2.6753 \times 10^8$ 弧度/s · T 和 $H_0 = 9.4T$ 代入公式(10)

$$\nu_H = \frac{\gamma}{2\pi} H_0 = \frac{2.6753 \times 10^8 \text{ 弧度/s} \cdot T}{2 \times 3.1416 \text{ 弧度/周}} \times 9.4 T = 400 \text{ MHz}$$

从经典力学观点出发,认为原子核磁矩在外磁场 H_0 的作用下,偏离 H_0 轴 θ 角作拉摩尔进动,进动角速度为 ω_0 ($\omega_0 = \gamma H_0$),当加上一个与 H_0 相垂直的射频磁场 H_1 时, θ 角发生变化。若 H_1 射频场频率 ω_1 ($\omega_1 = 2\pi\nu$) 正好与拉摩尔角速度频率相等时, θ 角发生很大变化,核从低能态进动跃迁到高能态进动,产生核磁共振吸收信号,这时 $\omega_1 = \omega_0$,即 $\gamma H_0 = 2\pi\nu$ 。也可求得 $\nu = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot H_0$ 。这与量子力学得到的结果是相同的。

(四) 饱和与弛豫

我们以 1H 核为例,若将一群氢核置于外磁场 H_0 中,如上所述为数较多的氢核取向于低能态,但原子核存在热运动,这种取向又遭到一定程度的破坏,由公式(9)可知两能级的能量差 $\Delta E = 2\mu H_0$,根据波尔兹曼 (Boltzmann) 统计分布,可以计算出高能态上的氢核数 n_1 与低能态上的氢核数 n_2 之比

$$\frac{n_1}{n_2} = e^{-\Delta E/KT} = e^{-2\mu H_0/KT} \quad (11)$$

式中 K 为波尔兹曼常数, T 为绝对温度。因为 $2\mu H_0 \ll KT$, 所以

$$\frac{n_1}{n_2} \simeq 1 - \frac{2\mu H_0}{KT} \quad (12)$$

对于氢核 $\mu_H = 2.793 \times 5.05 \times 10^{-27} \text{ J/T}$, 在 $H_0 = 1(T)$, $T = 300 \text{ K}$ (常温) 时,

$$\frac{n_1}{n_2} = 0.999993$$

低能态的氢核数比高能态的氢核数多百万分之七。当受射频磁场 H_1 的照射时,占优势的低能态上的氢核吸收射频场能量发生能级跃迁,引起核磁共振。随着跃迁的继续,低能级的核总数不断减少,高能级的核总数不断增加。如果高能级的核没有别的途径返回到低能级,则经过一段时间后,两个能级核数趋于相等,达到平衡,不再引起能量吸收,不再产生核磁共振信号,这种状态称为饱和。

事实上,高能态上的核可以不借助于外界辐射过程,而自发地逐渐释放能量向低能态跃迁,恢复原来的平衡状态,这种现象称为核的弛豫。

在核磁共振中,根据物质相互作用能量释放传递的情况不同可分为两种弛豫过程。

一种叫自旋-晶格弛豫:原子核由高能态返回到低能态时,其能量传送到周围粒子中去。如在固体样品中传递给晶格,在液体样品中传递给周围分子或溶剂分子等,对样品原子核的整体来说总能量下降了,这种过程叫自旋-晶格弛豫。又因为它是一种纵向分量恢复过程,所以又叫做纵向弛豫,这个过程所需要的弛豫时间用 T_1 来表征。

另一种弛豫叫自旋-自旋弛豫:同一类的相邻核处在不同的能态上,其中高能态的原子核返回到低能态上时,能量转给邻近的同类低能态的核,低能态的核得到能量激发到高能态上去。尽管在这个过程中核有上有下的跃迁,但各种取向的核总数不发生变化,因此从总能量来看也就没有变化,这种弛豫过程属于横向分量恢复过程,因此又叫横向弛豫,用时间 T_2 来表征其过程。

弛豫时间 T_1 和 T_2 的数值与核的种类、样品的状态和温度有关。固体或粘稠液体的 T_1 大,而 T_2 却很小。气体及液体的 T_1 很小,一般在 10^{-2} 秒到 100 秒之间。 T_2 也不大,一般为 1 秒左右。不过对于每一核来说,在某一较高能级上所停留的时间是由取值较小的弛豫时间决定的,并且实验证明弛豫时间越小,测得的谱线就越宽。如固体的 T_2 很小,谱线很宽。

(五) 化学位移

原子核一般不是以孤立实体而存在,有机化合物尤其如此,它们存在于由电子和邻近其他原子核所包围的分子中,由于原子和分子里的电子是处于不断运动的带电粒子即电子云,在外磁场的作用下,核外电子云趋于垂直于外磁场的平面里作环流运动,形成诱导电流,从而产生一个与外磁场反向的感应磁场。这个磁场起着减弱外磁场强度的作用,称为核外电子云磁屏蔽效应。

由于电子云的诱导电流与外磁场强度成正比,屏蔽磁场强度

$$H_s = \sigma_N H_0 \quad (13)$$

σ_N 为屏蔽常数。 H_s 的存在而且方向又与 H_0 相反,所以核实际受到的磁场强度改变为

$$H_N = H_0 - H_s = H_0(1 - \sigma_N) \quad (14)$$

由公式(10)可知孤立的共振频率 $\nu = \frac{\gamma}{2\pi} H_0$ 。对于处在化学环境中受电子云包围的同一核,其实际共振频率

$$\nu = \frac{\gamma(1 - \sigma_N)}{2\pi} H_0 \quad (15)$$

由此可见,核周围分子环境的变化将引起共振频率的变化。若外磁场固定不变,被屏蔽的原子核的共振频率将向低端发生一个位移。这种由于核周围分子环境的影响,使其共振频率发生位移的现象称为化学位移。

化学位移的数值很小,一般在 10×10^{-6} 范围内。化学位移与外磁场 H_0 成正比, H_0 越大,化学位移的值也越大。相对化学位移的大小反映了被测原子核化学环境的性质,所以我们能够通过共振峰的位置和强度来研究化学结构。

图 1-3 为 CH_3OH 在磁场为 1 特斯拉上测得的氢谱。由于 CH_3 氢核的屏蔽常数 σ_{CH_3} 大于 OH 氢核的屏蔽常数 σ_{OH} , 因此 CH_3 在高场出峰, OH 在低场出峰,两峰之间观察差接近于 $1.5 \times 10^{-6}\text{T}$ (1.5ppm)。两峰的强度之差是由于样品的各分子中 $-\text{CH}_3$ 有 3 个氢核,而 $-\text{OH}$ 只有一个氢核,所以引起 $-\text{CH}_3$ 峰的强度高于 $-\text{OH}$ 峰。

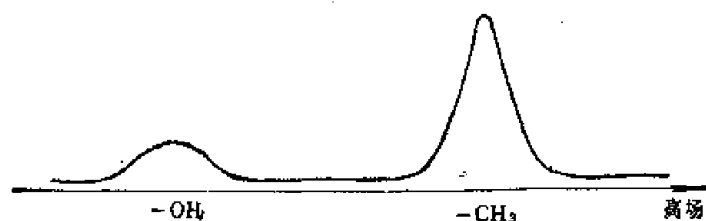


图 1-3 CH_3OH 的 NMR 波谱简图

二、核磁共振波谱仪

(一) 连续波核磁共振谱仪

根据核磁共振基本原理,要使被测样品的原子核发生核磁共振,必须把样品置于外磁场 H_0 中,加一个方向与 H_0 垂直的射频磁场 H_1 , 才能实现能级的跃迁,从而产生核磁共振

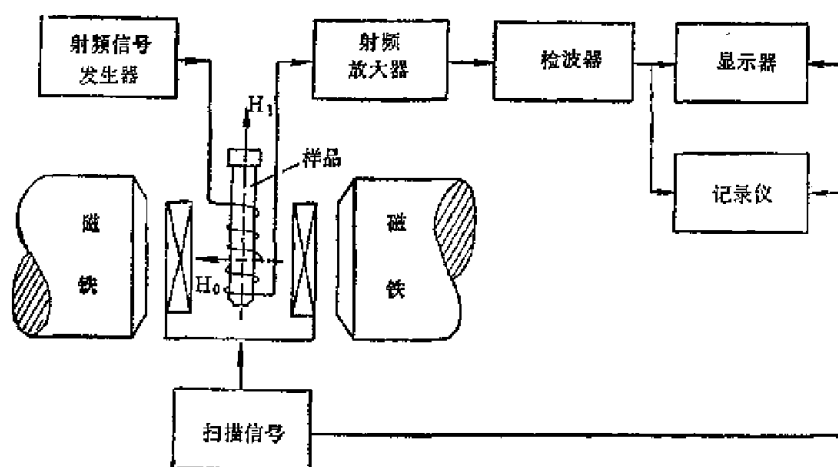


图 1-4 连续波核磁共振仪示意图

(二) 脉冲傅里叶变换核磁共振仪

自从 1953 年第一台电磁铁 30MHz(0.7 特)核磁共振谱仪商品问世以来，已有 30 多年的发展历史，主要解决提高仪器的灵敏度、分辨率和测试速度，其中提高仪器的灵敏度是最为重要的。

提高仪器灵敏度最有效的方法是提高磁场强度。在基本原理中已谈到塞曼能级的能量差与外磁场 H_0 成正比关系，磁场越高，能级差就越大，获得的共振信号也就越强。由公式(15)得知共振频率与磁场强度成正比，也就是说磁场强度越强，共振频率越高，核磁共振信号也越强，灵敏度也就越高。另外增高磁场强度带来了另一个好处，增大了化学位移。而 H_0 的提高相应地也提高了仪器的分辨率。人们为了提高稳定的强磁场对磁铁和工艺进行了多方面的改进，使质子共振频率从 30MHz 提高到 100MHz。由于磁铁存在着磁饱和现象，因此人们又研究用超导磁场作磁体，使质子共振频率从 180MHz 提高到目前 600MHz 的水平，从而使仪器的灵敏度大幅度提高。

除了用提高 H_0 的场强来提高仪器的灵敏度以外，人们在射频磁场 H_1 上也作了许多研究。在 70 年代以前，大多数仪器是用标准石英振荡器产生的射频振荡信号作为射频源。为了得到一张完整的频谱图，必须进行连续的逐一扫描，既费时，灵敏度也不高。到了 70 年代人们用射频脉冲信号替代射频振荡。射频脉冲只须一次作用于样品，脉冲的各种频率分量能同时激发，从而获得核的多条谱线混合的自由感应衰减 (Free Induction Decay, FID) 信号。这种时间函数信号被计算机采样后经模/数转换器变成数字信号，然后再进行傅里叶变换，这样获得的波谱与连续扫描获得的完全相同。我们把这种方法称为脉冲傅里叶变换核磁共振方法 (PFT-NMR)。

连续波核磁共振方法是一种类似串行接收的方法，脉冲傅里叶变换方法却是一种类似并行接收的方法，因此 PFT-NMR 仪测定速度要比 CW-NMR 仪快得多。更重要的是，PFT-NMR 方法可以用 FID 信号累加。用连续波方法扫描一张图谱相同的时间，PFT 可得到 N 次的累加，因而获得的信噪比提高 $\sqrt{N}$ 倍，灵敏度也就提高 $\sqrt{N}$ 倍。

由于 PFT-NMR 方法的测定速度快，灵敏度高，因此采用这种方法的核磁共振谱仪可以测定丰度小、磁旋比小的核。从原来的被测核 ^1H 、 ^{19}F 扩展到 ^{13}C 、 ^{15}N 等核，另外还可以

用它进行核的动态过程、瞬变过程、反应动力学等方面的研究，使核磁共振波谱仪的应用更加广泛。正因为如此，PFT-NMR 谱仪从 70 年代起得到了迅速发展。

图 1-5 是脉冲傅里叶变换核磁共振波谱仪简化的基本框图，它的工作原理如下：

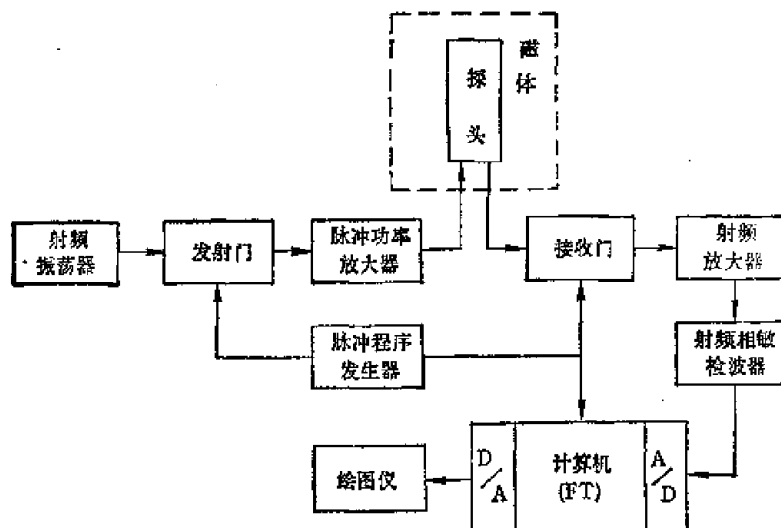


图 1-5 PFT-NMR 谱仪的基本框图

射频振荡器产生一定频率的射频振荡信号送到发射门，被脉冲程序发生器发来的某个脉冲系列调制成射频脉冲，又经过脉冲功率放大器进行功率放大（达几十瓦），变成幅度高的窄脉冲系列后加到探头线圈上对样品进行激励，这时时间域的射频窄脉冲相当于分解成基频和各种谐波的宽频带射频信号，如同多道发射机发出的射频信号作用于样品一样，核的共振谱线瞬间全部被激发，接收线圈所感应的是复杂的频率相干信号，其强度随时间而逐渐衰减，这就是自由感应衰减（FID）信号。它是一种时间函数的射频包络信号。经过接收门进入射频放大器放大，加到射频检波器进行检波，去掉射频成分得到 FID 低频信号。再通过低频滤波器滤波，FID 信号输入到计算机系统的 A/D 转换器，成为数字信号。经过计算机的傅里叶变换（FT），时间域的 FID 信号转化成频谱信号，由 D/A 转换器转换成波谱，或在显示器上显示，或在 X-Y 绘图仪上绘图输出。

（三）超导核磁共振谱仪

超导核磁共振谱仪（SCM-NMR）的构造与一般脉冲傅里叶变换核磁共振谱仪大致相同。SCM-NMR 谱仪是用超导磁体产生高稳定的强磁场，目前已有 600MHz(14.09T) SCM-NMR 仪的商品，可以进行生物大分子的测定。

SCM-NMR 谱仪性能稳、指标高、用途广、价格高，目前世界上能生产的厂家不多，主要有美国 VARIAN 公司、联邦德国 BRUKER 公司、瑞士 SPECTROSPIN 公司、日本 JEOL 公司和美国 NICOLET 公司。这些公司在超导磁体、探头、谱仪结构、计算机系统等方面都下了相当的功夫，进行研究和提高，以致于发展到今天的水平。下面对 SCM-NMR 谱仪的基本系统作一简要介绍。