



# 中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

## 氘代试剂同位素丰度的测定 核磁共振波谱法

Determination of isotopic abundance of deuterium reagents — Nuclear magnetic resonance spectroscopy

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

(征求意见稿)

(本草案完成时间：2024年7月)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

国家市场监督管理总局  
国家标准化管理委员会 发布

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国生化检测标准化技术委员会（SAC/TC 387）提出并归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

# 氘代试剂同位素丰度的测定 核磁共振波谱法

## 1 范围

本文件规定了氘代试剂同位素丰度的测定方法。

本文件适用于氘代试剂（纯度  $\geq 98\%$ ）的同位素丰度测定。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

GB/T37750 稳定同位素应用术语及产品命名规则

JY/T 0578 超导傅里叶变换核磁共振波谱测试方法通则

JJF 1448 超导脉冲傅里叶变换核磁共振波谱仪校准规范

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**稳定同位素** stable isotope

某元素中不发生或极不易发生放射性衰变的同位素，即半衰期大于 $10^{15}$ 年的元素的同位素，亦称稳定性同位素。

[来源：GB/T37750, 3.1.12]

### 3.2

**同位素丰度** isotope abundance

一种元素的同位素混合物中，某特定同位素的原子数占该元素的总原子数百分比，以atom% A表示，其中 A 为特定同位素的元素符号的代码。

[来源：GB/T37750, 3.1.13]

### 3.3

**氘代试剂** deuterated reagent

化合物中一个或多个氢原子被稳定同位素氘（ $^2\text{H}$ 或D）取代使之能被识别的试剂。

[来源：GB/T37750, 3.3.11]

### 3.4

**氘标记位点** deuterated sites

化合物中不同化学位移的氢原子被氘原子取代后形成了氘标记位点，如苯- $\text{D}_6$ 属于单个氘标记位点，甲苯- $\text{D}_8$ 属于多个氘标记位点，有氘标记甲基和氘标记苯基两个氘标记位点。

### 3.5

**灵敏度 sensitivity**

仪器检测信号的能力，通常以信噪比(S/N)来表示。

[来源：JY/T 0578，3.12]

**3.6****氘整体标记化合物 Fully deuterium-labeled compound**

氘整体标记化合物为( $^2\text{H}$  或  $\text{D}$ )原子取代化合物分子中所有氢原子的标记化合物。

**3.7****氘部分标记化合物 deuterated sites**

氘部分标记化合物为( $^2\text{H}$  或  $\text{D}$ )原子取代化合物分子中部分氢原子的标记化合物。

**4 原理**

在充分弛豫条件下，一维核磁共振波谱氢谱( $^1\text{H NMR}$ )的积分面积与样品中所对应的氢原子数量成正比。核磁氢谱( $^1\text{H NMR}$ )只能检测出没有被氘原子取代的氢原子，当化合物中氢原子被氘原子取代形成氘标记位点，其相应的相应的氢谱( $^1\text{H NMR}$ )峰面积减小。氘代试剂的分类有氘部分标记化合物(如：甲苯- $\text{D}_5$ 、甲苯- $\text{D}_3$ 、邻苯二甲酸二甲酯-环- $\text{D}_4$ )和氘整体标记化合物(如：甲苯- $\text{D}_8$ 、乙醇- $\text{D}_6$ )两大类。在最优的仪器参数下，氘部分标记化合物通过“自身”非标记位点的氢原子数量和核磁峰面积作为参照，计算出氘同位素丰度。氘整体标记化合物的所有位点均被标记，无法通过“自身”进行参照，需要引入合适的内标物质作为参照，氘代试剂中加入内标物质采用内标法进行定量氢谱测定，通过内标物质的定量峰积分峰面积计算出氘代试剂中残留非氘代试剂的含量，经计算得到氘代试剂氘同位素丰度。

**5 试剂耗材**

5.1 内标物质：纯度不小于 99.0%，标准样品或标准物质，根据实际工作需要选择内标物质，参见附录 A 中表 A.1。

5.2 氘代溶剂：氘同位素丰度不小于 99.0 atom%D，根据实际工作需要选择内标物质，参见附录 A 中表 A.3。

5.3 2 mL 螺纹玻璃瓶。

5.4 5 mm 核磁管。

**6 仪器和设备**

6.1 核磁共振波谱仪：具有 400MHz 或更高频率的傅立叶变换核磁共振仪(FT-NMR)；氢( $^1\text{H}$ )谱图中定量峰信噪比不低于 300。

6.2 分析天平：感量为 0.01 mg。

6.3 涡旋振荡器。

## 7 实验步骤

### 7.1 氘整体标记化合物样品的配制。

依次称取 10-25 mg 内标物质（内标物质的选择参见附录 A 中表 A.1）和 500-750 mg 氘整体标记化合物液体样品于 2 mL 螺纹玻璃瓶（5.3）中，密封，涡旋振荡器（6.3）混合均匀后转移到 5 mm 核磁管（5.4）中，密封备用，每个样品制备 2 平行。

### 7.2 氘部分标记化合物样品的配制

将 10 ~ 40 mg 氘部分标记化合物固体样品和 0.6 mL 氘代溶剂（氘代溶剂的选择参见附录 A 中表 A.3）于 2 mL 螺纹玻璃瓶（5.3）中，涡旋振荡器（6.3）混合均匀后转移到 5 mm 核磁管（5.4）中，密封备用，每个样品制备 2 平行。

对于氘部分标记化合物液体样品，如乙酸-D和乙醇-D，将0.6 mL 样品直接加入5 mm 核磁管（5.4）中，密封备用，每个样品制备 2 平行。

### 7.3 推荐的核磁共振氢谱测试条件

- a) 试验温度：室温；
- b) 脉冲角：90°；
- c) 驰豫延迟时间：70s；
- d) 扫描次数：32 次；
- e) 采样点数：32K；
- f) 谱宽：-2-14 ppm；

### 7.4 仪器校准

按照 JJF 1448 的规定对  $^1\text{H}$  谱灵敏度、分辨率、线型、 $^1\text{H}$  谱定量重复性进行校准。

### 7.5 核磁共振波谱仪检测

将配制好的样品放入核磁共振波谱仪内进行测定。相位校正调谐、选择被测的氘代试剂或氘代溶剂锁场，匀场，选择核磁共振波谱仪参数条件（7.3），每个样本平行测定 3 次并保存数据。

### 7.6 核磁共振波谱仪数据处理

对原始数据进行傅里叶变换、相位校正和基线校正。氘整体标记化合物积分区域参见附录 A 中表 A.1，内标物质积分区域参见附录 A 中表 A.2，各积分 7 次，去掉最大值和最小值，中间 5 次取平均值。内标物质和氘整体标记化合物样品的  $^1\text{H}$  NMR 谱图，参见附录 B；氘部分标记化合物样品的  $^1\text{H}$  NMR 谱图，参见附录 C。

## 8 结果计算

### 8.1 氘整体标记化合物计算公式

氘整体标记化合物中单个氘标记位点同位素丰度计算方式见公式（1）；氘整体标记化合物中多个氘标记位点先由公式（1）计算出每个氘标记位点的同位素丰度，再由公式（2）计算出平均同位素丰度：

$$E_j = \left(1 - \frac{w_R N_R M_x I_x}{w_x N_x M_R I_R} \times C_R\right) \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

$$E = \frac{\sum (E_j N_j)}{\sum N_j} (j = 1, 2, 3, \dots, n) \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$E$ ——所测样品氘同位素丰度，单位为氘原子百分数（atom%D）；

$E_j$ ——所测样品某个氘代位点的氘同位素丰度，单位为氘原子百分数（atom%D）；

$w_R$ ——内标物质的质量，单位为克（g）；

$N_R$ ——内标物质定量峰对应的氢原子数量；

$M_R$ ——内标物质的摩尔质量，单位为克每摩尔（g/mol）；

$I_R$ ——内标物质定量峰对应的  $^1\text{H}$  NMR 峰面积；

$C_R$ ——内标物质的纯度；

$w_x$ ——样品的质量，单位为克（g）；

$N_x$ ——样品氘代位点非标记状态下对应的氢原子数量；

$M_x$ ——样品非标记状态下对应的摩尔质量，单位为克每摩尔（g/mol）；

$I_x$ ——样品氘代位点对应的  $^1\text{H}$  NMR 峰面积；

$n$ ——氘代位点的数量；

$N_j$ ——氘代位点中氘原子数量；

注：氘整体标记化合物的  $M_x$  和  $N_x$  计算相关信息参见附录 A 中表 A.1，内标物质的  $M_x$  和  $N_x$  计算相关信息参见附录 A 中表 A.2，重水样品同位素丰度测定示范参见附录 D 中表 D.1。

## 8.2 氘部分标记化合物计算公式

氘部分标记化合物中单个氘标记位点同位素丰度计算方式见公式（3）；氘部分标记化合物中多个氘标记位点先由公式（3）计算出每个氘标记位点的同位素丰度，再由公式（2）计算出平均同位素丰度：

$$E_j = \left(1 - \frac{I_x N_y}{I_y N_x}\right) \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

式中：

$E_j$ ——所测样品某个氘标记位点的同位素丰度，单位为氘原子百分数（atom%D）；

$I_x$ ——样品氘标记位点对应的  $^1\text{H}$  NMR 峰面积；

$N_x$ ——样品氘标记位点对应非标记状态下的氢原子个数；

$I_y$ ——样品非标记参照位点对应的  $^1\text{H}$  NMR 峰面积；

$N_y$ ——样品非标记参照位点对应的氢原子个数；

注：氘部分标记化合物的  $N_x$  和  $N_y$  计算相关信息参见附录 A 中表 A.3，邻苯二甲酸二(2-丁氧基乙基)酯- $\text{D}_4$  样品同

位素丰度测定示范参见附录 D 中表 D.2。

结果保留至小数点后一位。

## 9 精密度

在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 0.5%。

## 附录 A

(资料性)

氘代试剂  $^1\text{H}$  NMR 定量参数

氘代试剂的分类有氘部分标记化合物（如：甲苯- $\text{D}_5$ 、甲苯- $\text{D}_3$ 、邻苯二甲酸二甲酯-环- $\text{D}_4$ ）和氘整体标记化合物（如：甲苯- $\text{D}_8$ 、乙醇- $\text{D}_6$ ）两大类。氘整体标记化合物和内标物质  $^1\text{H}$  NMR 定量相关参数见表A.1和表A.2；氘部分标记化合物  $^1\text{H}$  NMR 定量相关参数见表A.3。

表A.1 氘整体标记化合物的  $M_x$  和  $N_x$  等相关信息的参考示例

序号	名称	CAS	非标记状态下对应的摩尔质量 $M_x$ (g/mol)	化学式	氘代位点非标记状态下对应的氢原子数量 $N_x$	积分区域 /ppm	推荐使用内标物质
1	氘代氯仿	865-49-6	119.38	$\text{CDCl}_3$	1	7.60-6.95	N,N-二甲基甲酰胺（简称“DMF”）
2	二氯甲烷- $\text{D}_2$	1665-00-5	84.93	$\text{CD}_2\text{Cl}_2$	2	5.60-5.00	DMF
3	氯苯- $\text{D}_5$	3114-55-4	112.56	$\text{C}_6\text{D}_5\text{Cl}$	5	7.60-6.90	二甲基亚砷
4	碘苯- $\text{D}_5$	7379-67-1	204.01	$\text{C}_6\text{D}_5\text{I}$	5	8.00-6.90	二甲基亚砷
5	溴苯- $\text{D}_5$	4165-57-5	157.01	$\text{C}_6\text{D}_5\text{Br}$	5	7.60-6.70	二甲基亚砷
6	丙酮- $\text{D}_6$	666-52-4	58.08	$\text{C}_3\text{D}_6\text{O}$	6	2.30-1.70	马来酸或对苯二甲酸二甲酯或DMF
7	苯- $\text{D}_6$	1076-43-3	78.11	$\text{C}_6\text{D}_6$	6	7.40-6.80	二甲基亚砷
8	甲苯- $\text{D}_8$	2037-26-5	92.14	$\text{C}_7\text{D}_8$	甲基位点: 3	2.40-1.80	八甲基环四硅氧烷
					苯基位点: 5	7.50-6.60	
9	甲醇- $\text{D}_4$	811-98-3	32.04	$\text{CD}_3\text{OD}$	3	3.60-3.00	马来酸或DMF
10	乙醇- $\text{D}_6$	1516-08-1	46.07	$\text{C}_2\text{D}_6\text{O}$	甲基位点: 3	1.50-0.90	马来酸
					亚甲基位点: 2	4.00-3.30	
11	重水	7789-20-0	18.02	$\text{D}_2\text{O}$	2	5.20-4.40	DMF
12	二甲基亚砷- $\text{D}_6$	2206-27-1	78.13	$\text{C}_2\text{D}_6\text{OS}$	6	2.80-2.20	马来酸
13	四氢呋喃- $\text{D}_8$ (1, 4-环氧乙烷- $\text{D}_8$ )	1693-74-9	72.11	$\text{C}_4\text{D}_8\text{O}$	2,3 位点: 4	2.10-1.50	马来酸
					1,4 位点: 4	3.90-3.30	

表A.2 推荐内标物质的  $M_x$  和  $N_x$  等相关信息的参考示例



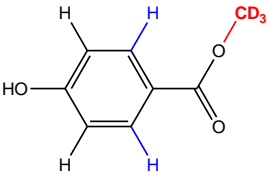

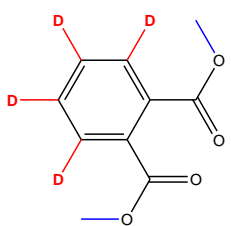
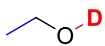
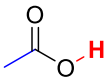
序号	名称	CAS	摩尔质量 $M_R$ (g/mol)	化学式	定量峰对应的氢原子数量 $N_R$	积分区域/ppm
1	N,N-二甲基甲酰胺	68-12-2	73.10	$C_3H_7NO$	6	3.20-2.50
2	马来酸	110-16-7	116.07	$C_4H_4O_4$	2	6.70-6.00
3	二甲基亚砜	67-68-5	78.13	$C_2H_6OS$	6	2.80-2.20
4	对苯二甲酸二甲酯	120-61-6	194.184	$C_{10}H_{10}O_4$	6	4.20-3.60
5	八甲基环四硅氧烷	556-67-2	296.62	$C_8H_{24}O_4Si_4$	24	0.50-0.00

注：  
内标物质的选择应遵循以下原则  
(1)内标物质要求纯度高、稳定性好、化学惰性不与被测物质和氘代溶剂反应；  
(2)内标物质溶于氘代试剂；在没有氘代溶剂的情况下，内标物质溶于被测物；  
(3)内标物质与被测物、氘代试剂的化学位移不重叠；重叠时，应更换氘代溶剂或者改用兆数更高的仪器提高分辨率，或更换内标物质；  
(4)被测物中氘标记位点为活泼氘时，不选具有活泼氢的内标物质，如重水氘同位素丰度检测不选择具有活泼氢的马来酸作为内标物质；  
(5)内标物质建议使用具有溯源性的标准物质或标准样品。  
(6)内标物质定量峰的峰面积与被测物的峰面积两者比值最大不超过100倍。

表A.3 氘部分标记化合物的  $N_x$  和  $N_y$  相关信息的参考示例

序号	名称	结构式	化学式	氢原子个数	积分区域/ppm	推荐使用氘代溶剂
1	对甲苯磺酰甲酯-D <sub>3</sub>		$C_8H_7D_3O_3S$	$N_x$ : 3	3.90-3.50	氯仿-D
				$N_y$ : 3	2.80-2.20	
2	溴布特罗-D <sub>9</sub>		$C_{12}H_{18}Br_2N_2O$	$N_x$ : 9	1.40-0.80	甲醇-D <sub>4</sub>
				$N_y$ : 2	3.95-2.40	
3	邻苯二甲酸二(2-丁氧基乙基)酯-D <sub>4</sub>		$C_{20}H_{26}D_4O_6$	$N_x$ : 4	7.90-7.50	二甲基亚砜-D <sub>6</sub>
				$N_y$ : 4	4.70-4.00	

表A.3 氘部分标记化合物的 $N_x$ 和 $N_y$ 相关信息的参考示例（续）

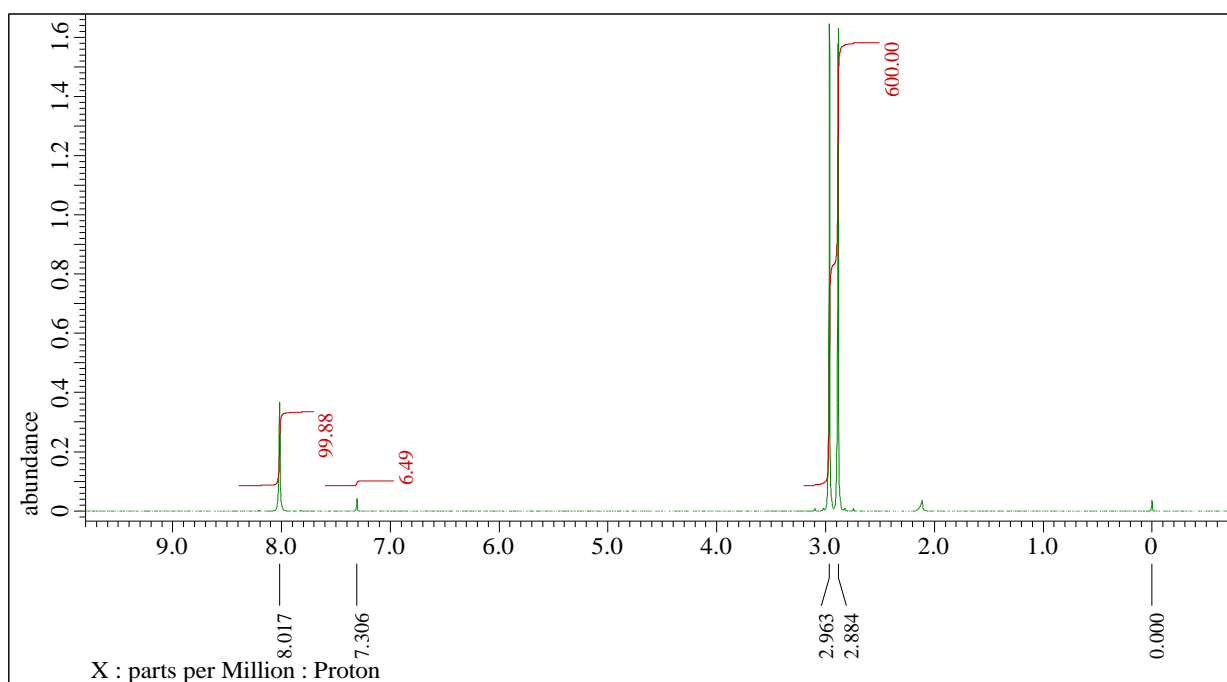
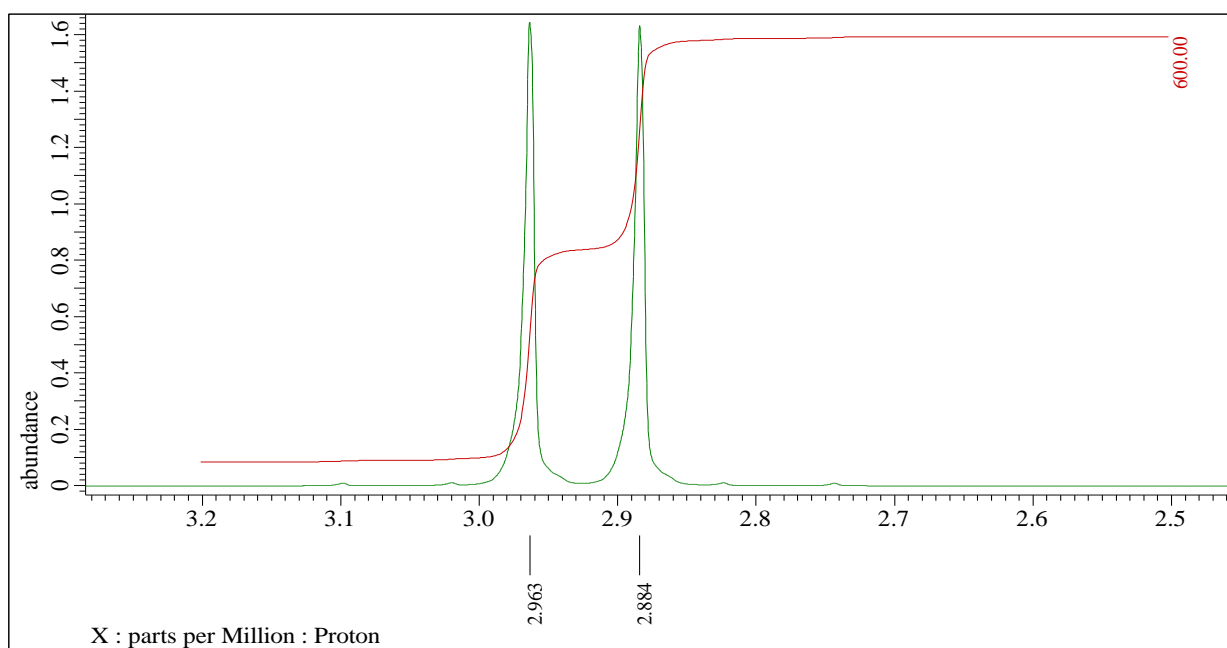
序号	名称	结构式	化学式	氢原子个数	积分区域/ppm	推荐使用氘代溶剂
4	对羟基苯甲酸甲酯- $D_3$		$C_8H_5D_3O_3$	$N_x$ : 3	4.00-3.60	丙酮- $D_6$
				$N_y$ : 2	7.20-6.50	
5	异香兰素- $D_3$		$C_8H_5D_3O_3$	$N_x$ : 3	4.00-3.60	丙酮- $D_6$
				$N_y$ : 1	10.10-9.30	
6	邻苯二甲酸二甲酯- $D_4$		$C_{10}H_6D_4O_4$	$N_x$ : 4	7.90-7.40	二甲基亚砜- $D_6$
				$N_y$ : 6	4.20-3.30	
7	乙醇- $D$		$C_2H_5DO$	$N_x$ : 1	5.70-5.10	无
				$N_y$ : 2	4.20-3.00	
8	乙酸- $D$		$C_2H_3DO_2$	$N_x$ : 1	12.00-11.30	无
				$N_y$ : 3	2.90-1.40	

## 附录 B

(资料性)

氙整体标记化合物和内标物质的  $^1\text{H}$  NMR 谱图

氯仿- $\text{D}$ 、二氯甲烷- $\text{D}_2$ 、丙酮- $\text{D}_6$ 、苯- $\text{D}_6$ 、重水及其内标物质相关  $^1\text{H}$  NMR 谱图见图 B.1~B.8。

图 B.1 氯仿- $\text{D}$  样品和内标物质 N,N-二甲基甲酰胺的  $^1\text{H}$  NMR 谱图图 B.2 氯仿- $\text{D}$  样品和内标物质 N,N-二甲基甲酰胺的  $^1\text{H}$  NMR 谱图 (N,N-二甲基甲酰胺积分区域放大图)

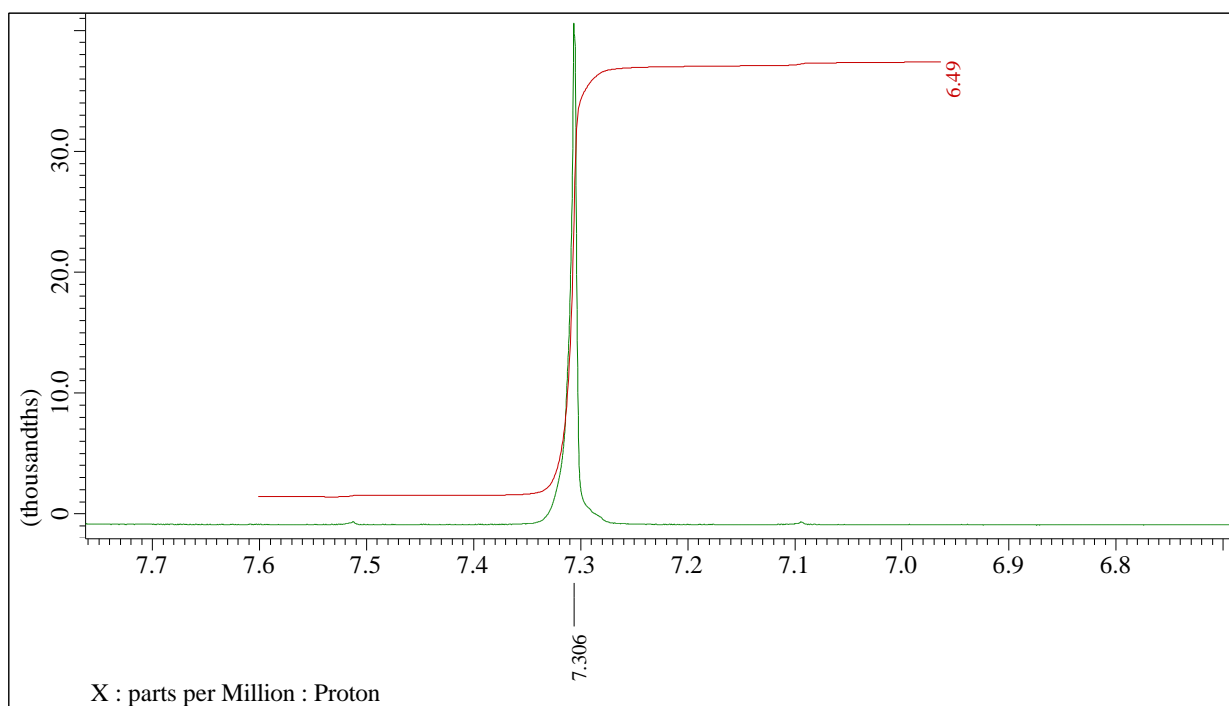


图 B.3 氯仿- $\text{D}$  样品和内标物质  $\text{N,N}$ -二甲基甲酰胺的  $^1\text{H}$  NMR 谱图（氯仿- $\text{D}$  积分区域放大图）

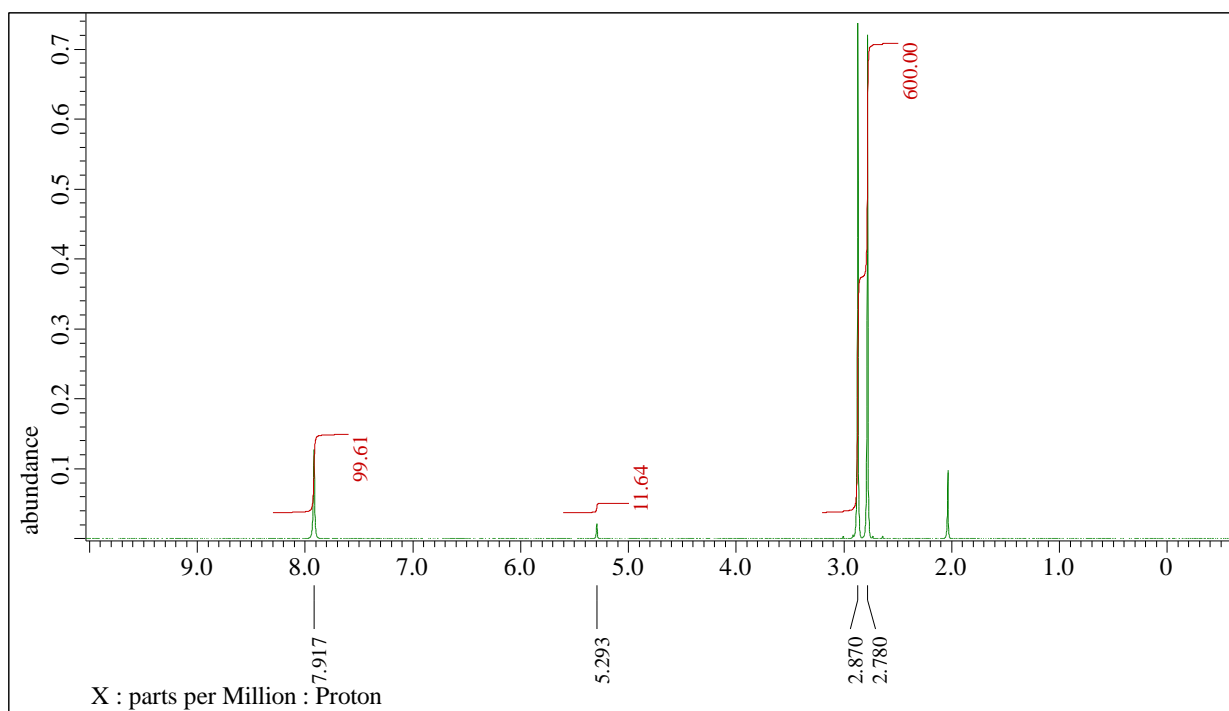
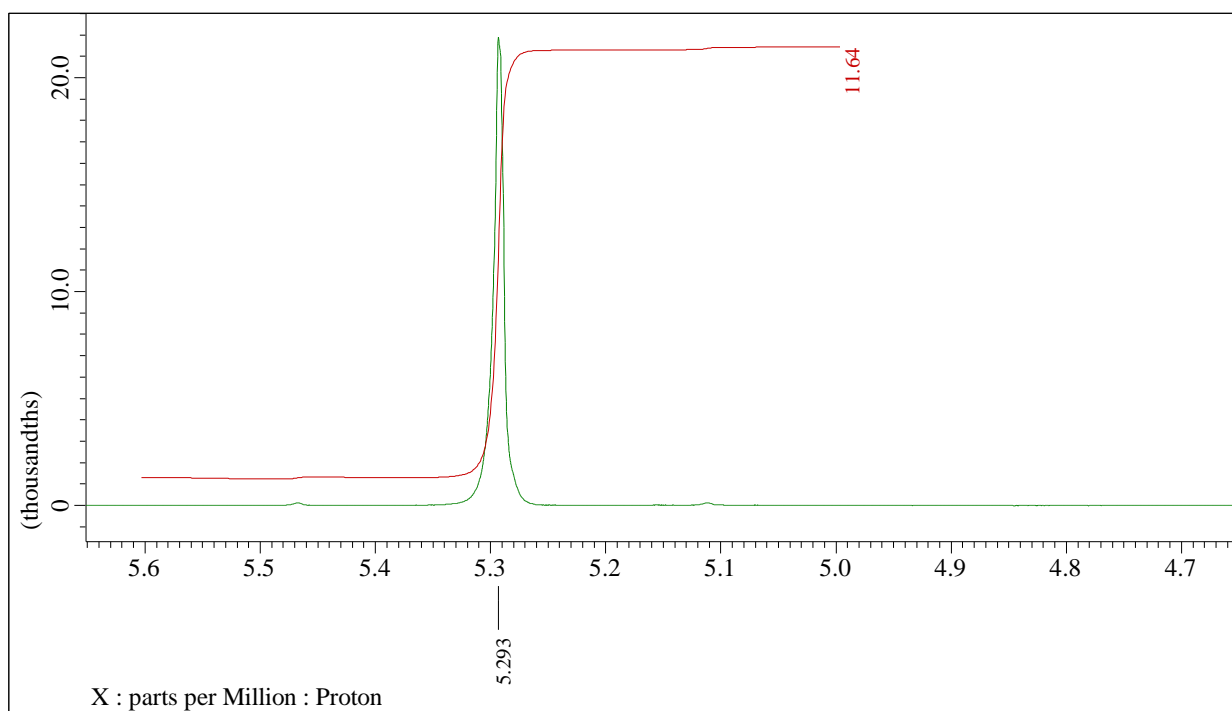
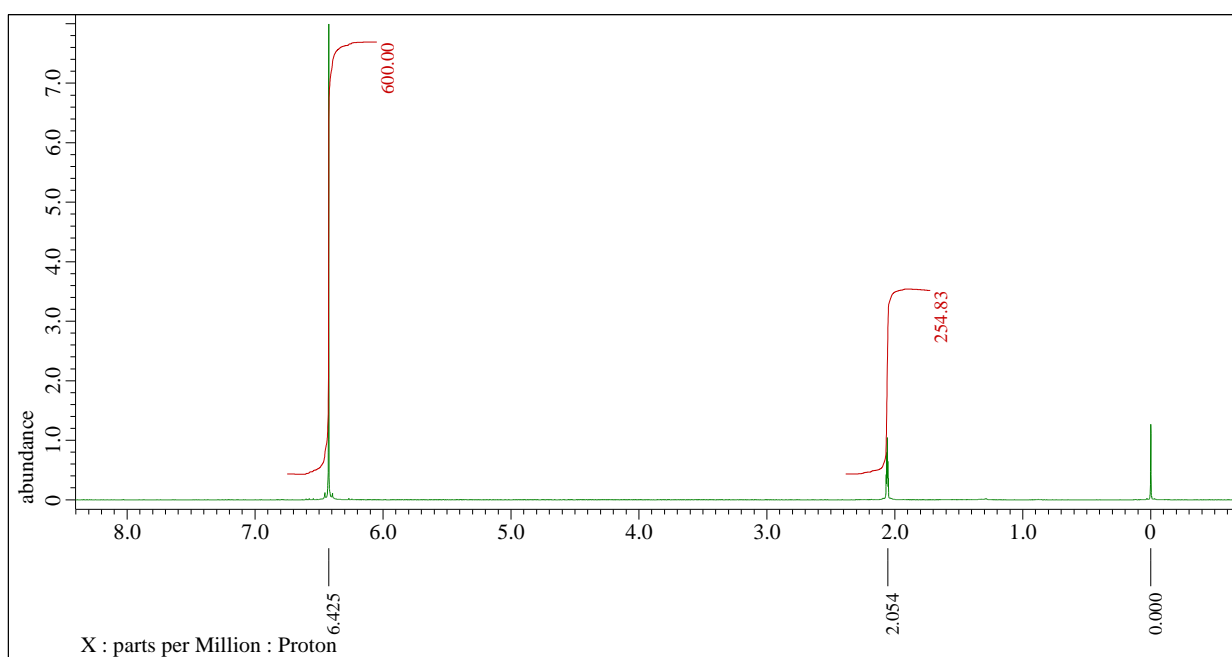
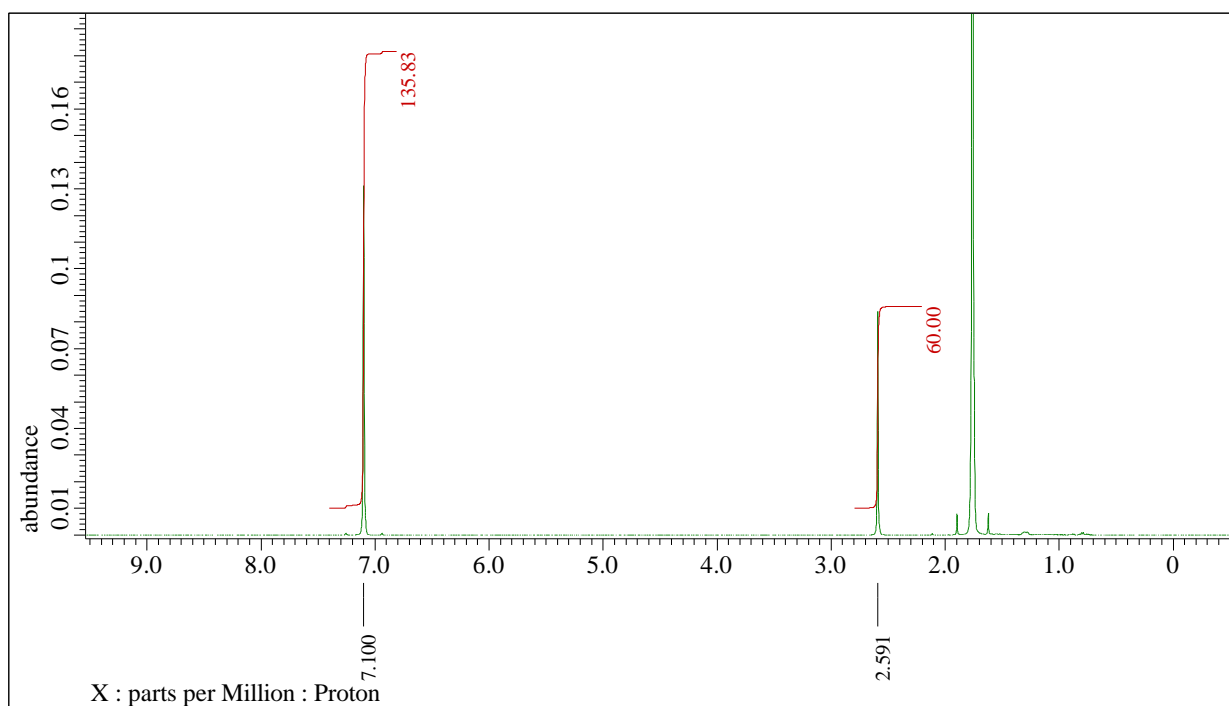
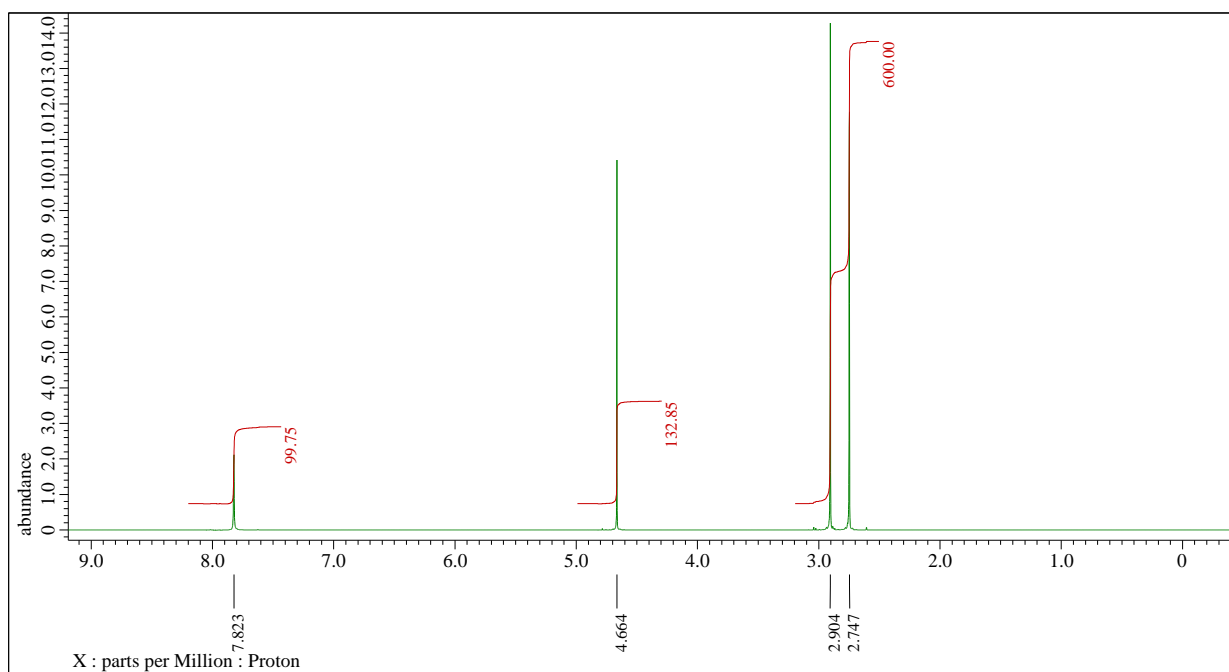


图 B.4 二氯甲烷- $\text{D}_2$  样品和内标物质  $\text{N,N}$ -二甲基甲酰胺的  $^1\text{H}$  NMR 谱图

图 B.5 二氯甲烷-D<sub>2</sub> 样品和内标物质 N, N-二甲基甲酰胺的 <sup>1</sup>H NMR 谱图（二氯甲烷-D<sub>2</sub> 积分区域放大图）图 B.6 丙酮-D<sub>6</sub> 样品和内标物质马来酸的 <sup>1</sup>H NMR 谱图

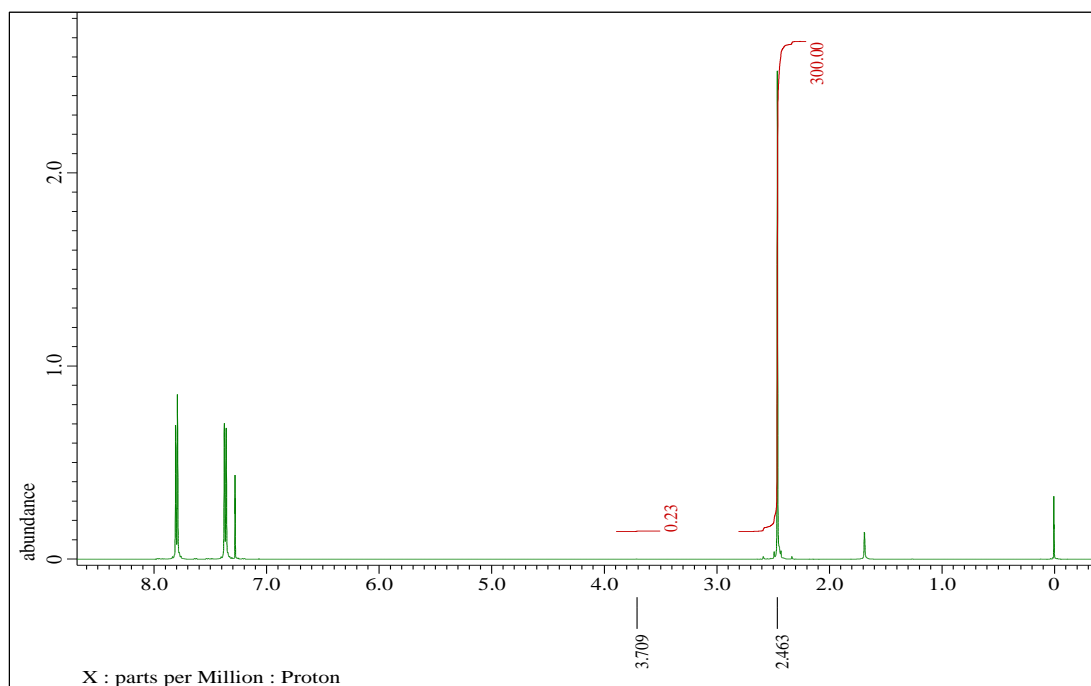
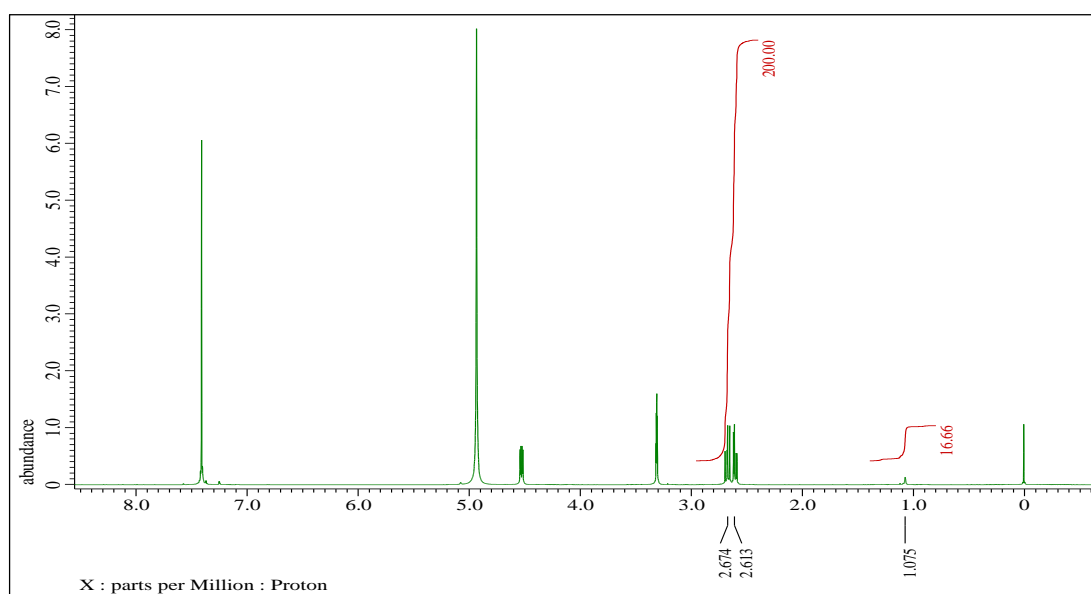
图 B.7 苯- $\text{D}_6$  样品和内标物质二甲基亚砷的  $^1\text{H}$  NMR 谱图图 B.8 重水样品和内标物质 N,N-二甲基甲酰胺的  $^1\text{H}$  NMR 谱图

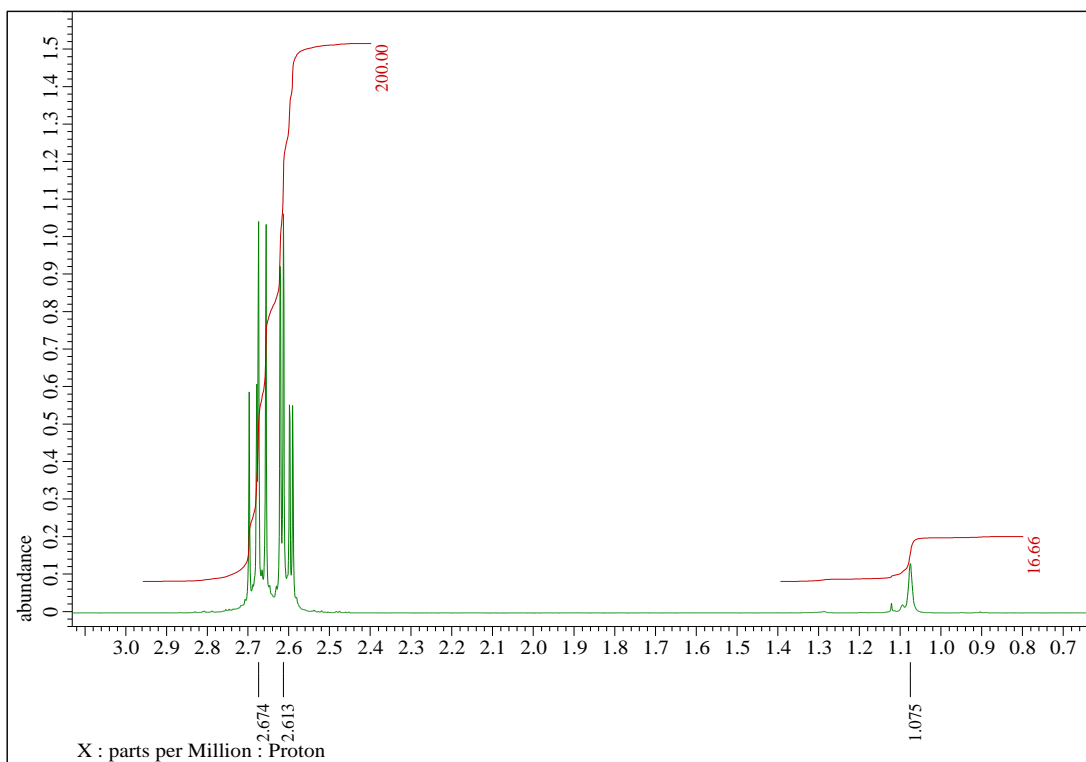
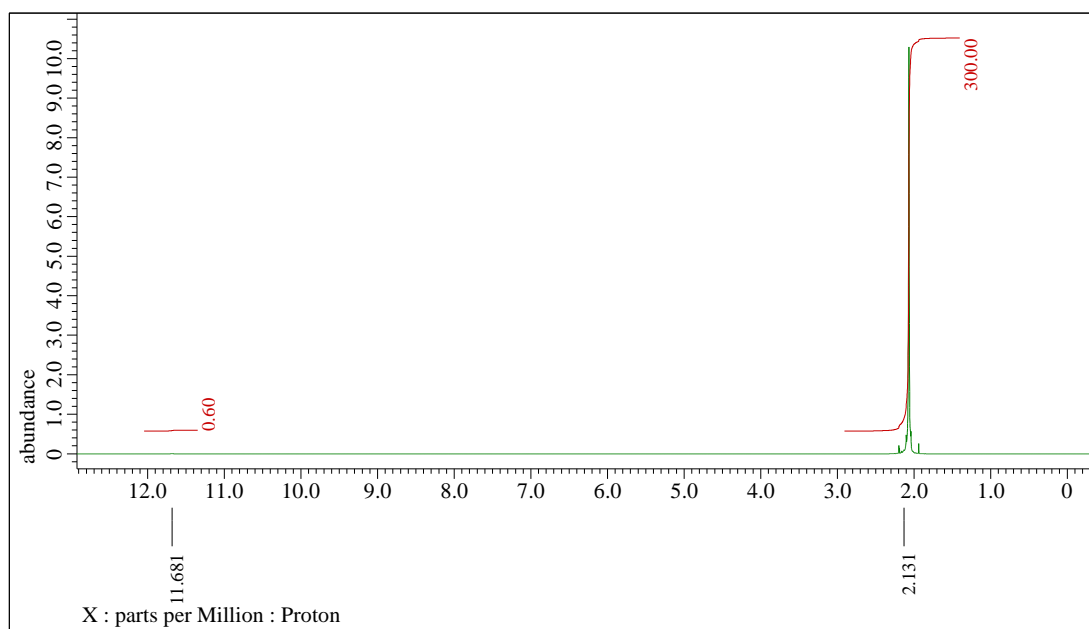
## 附录 C

(资料性)

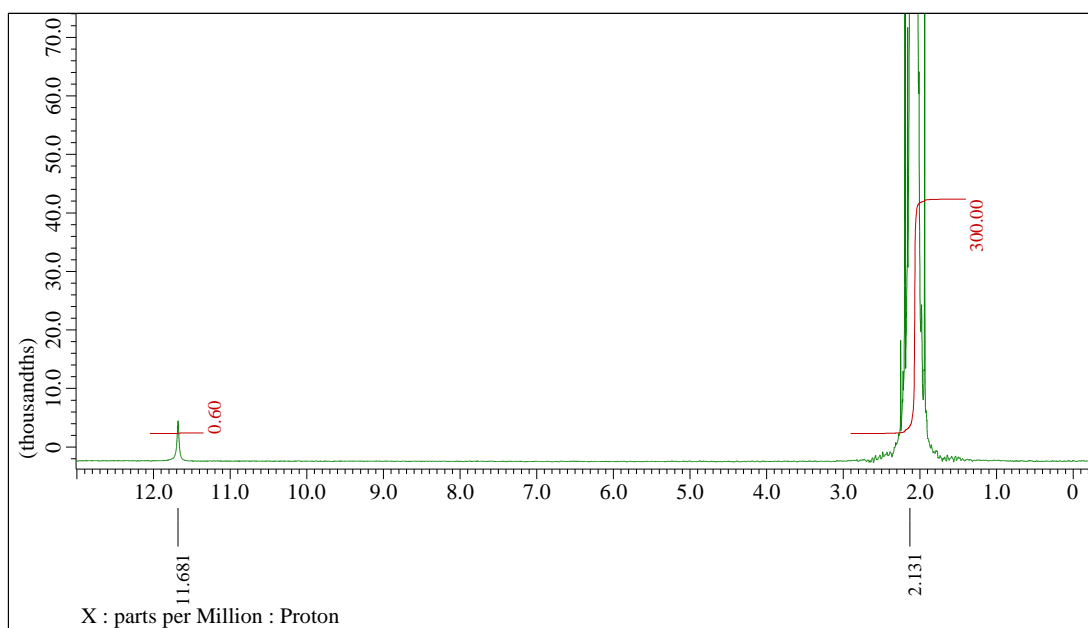
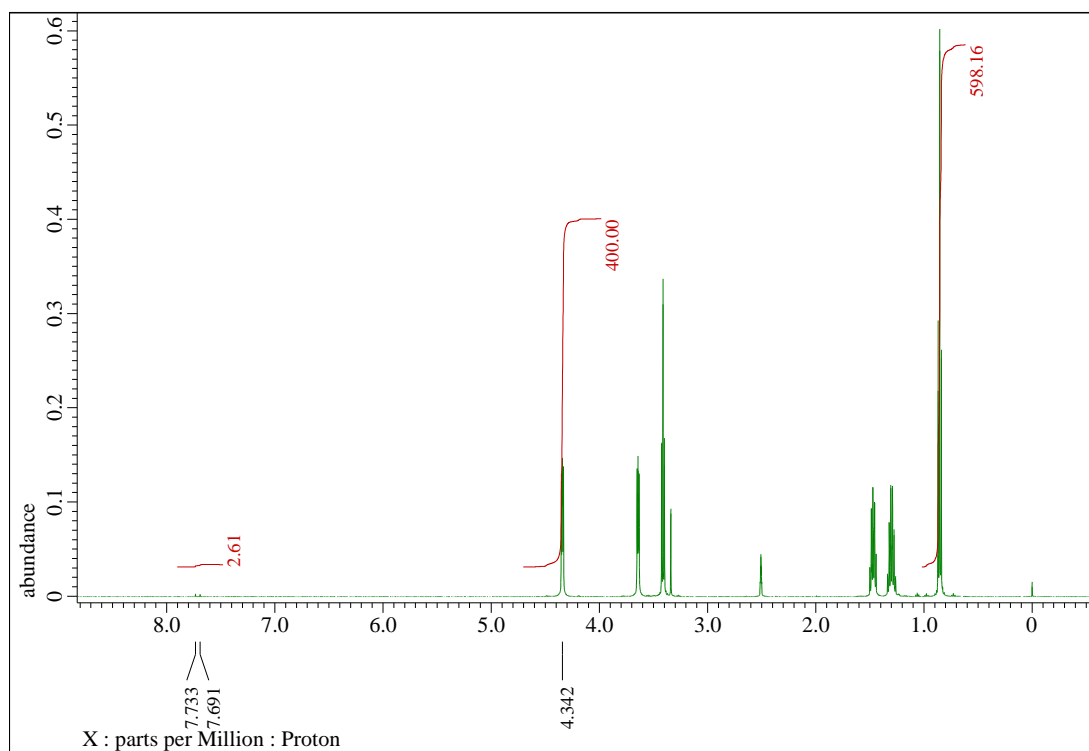
氘部分标记化合物和氘代溶剂的  $^1\text{H}$  NMR 谱图

对甲苯磺酰甲酯- $\text{D}_3$ 、溴布特罗- $\text{D}_9$ 、乙酸- $\text{D}$ 、邻苯二甲酸二(2-丁氧基乙基)酯- $\text{D}_4$ 相关 $^1\text{H}$  NMR谱图见图C.1~C.7。

图C.1 对甲苯磺酰甲酯- $\text{D}_3$ 样品和氘代溶剂氯仿- $\text{D}$ 的 $^1\text{H}$  NMR谱图图C.2 溴布特罗- $\text{D}_9$ 样品和氘代溶剂甲醇- $\text{D}_4$ 的 $^1\text{H}$  NMR谱图

图 C.3 溴布特罗-D<sub>8</sub> 样品的 <sup>1</sup>H NMR 谱图（积分局部放大图）图 C.4 乙酸-D<sub>4</sub> 的 <sup>1</sup>H NMR 谱图



图 C.5 乙酸- $\text{D}$  的  $^1\text{H}$  NMR 谱图 (积分局部放大图)图C.6 邻苯二甲酸二(2-丁氧基乙基) 酯- $\text{D}_4$ 样品和氘代溶剂二甲基亚砷- $\text{D}_6$ 的 $^1\text{H}$  NMR谱图

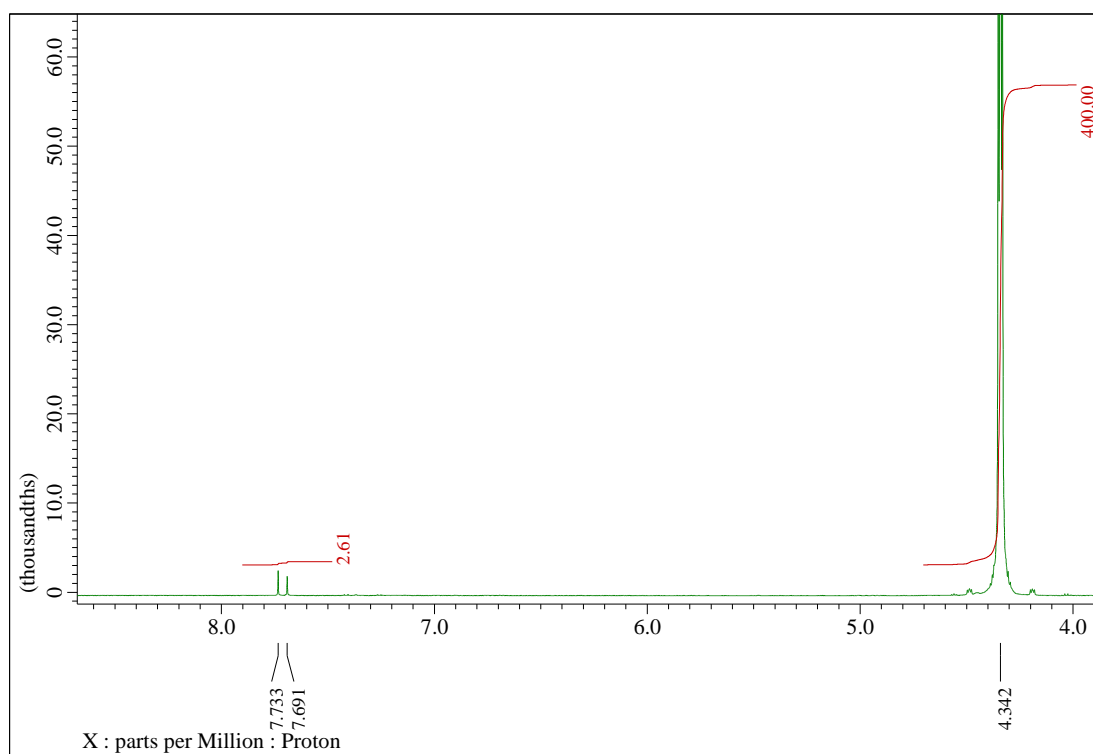


图 C.7 邻苯二甲酸二(2-丁氧基乙基)酯- $\text{D}_4$ 样品的  $^1\text{H}$  NMR 谱图 (积分局部放大图)

## 附录 D

(资料性)

## 样品同位素丰度测定示范

重水、邻苯二甲酸二(2-丁氧基乙基)酯-D<sub>4</sub>同位素丰度测定结果见表D.1、表D.2。

表D.1 重水样品同位素丰度测定示范

参数 试验次数	1	2	3	4	5	6
$w_R$	0.01984	0.01958	0.01979	0.01993	0.01955	0.01973
$N_R$	6					
$M_R$	73.10					
$I_R$	4872	4848	4878	4848	4872	4848
$C_R$	0.995					
$w_x/g$	0.72005	0.71629	0.71863	0.71476	0.71228	0.71911
$N_x$	2					
$M_x$	18.02					
$I_x$	813	817	820	813	815	821
E/atom%D	99.66	99.66	99.66	99.66	99.66	99.66
平均值 E/atom%D	99.7					
相对标准偏差 RSD/%	0.01					

表D.2 邻苯二甲酸二(2-丁氧基乙基)酯-D<sub>4</sub>样品同位素丰度测定示范

参数 试验次数	1	2	3	4	5	6
$I_x$	2.61	2.60	2.63	2.59	2.60	2.61
$N_x$	4					
$I_y$	400.00	400.16	400.13	400.05	400.16	400.11
$N_y$	4					
E/atom%D	99.35	99.35	99.34	99.35	99.35	99.35
平均值 E/atom%D	99.4					
相对标准偏差 RSD/%	0.01					