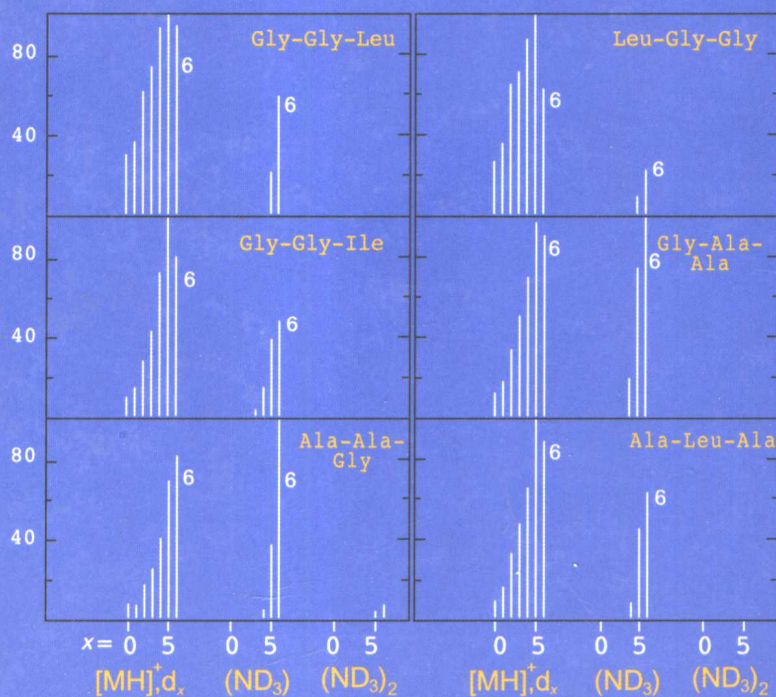


有机质谱原理及应用

陈耀祖 涂亚平 著

CH



科学出版社

有机质谱原理及应用

陈耀祖 涂亚平 著

科学出版社

2001

内 容 简 介

有机质谱是有机结构分析和有机成分分析不可缺少的工具,目前发展的三个热点是:软电离技术、联用技术和生物大分子质谱分析。本书是根据作者在实际教学与有机质谱研究工作中的实际经验编写而成的,在介绍有机质谱的常用技术及原理的基础上,结合生物活性分子的分析着重介绍这些热点技术的研究,具有鲜明的实用性。另外,本书还结合作者在分子-离子反应机理方面进行的开拓性研究,介绍反应质谱在立体化学分析中的应用,更富启发性。

本书可供大专院校化学、生物、医药学专业高年级学生及研究生和科研、生产、环保监测单位的分析工作人员参考阅读。

图书在版编目(CIP)数据

有机质谱原理及应用/陈耀祖,涂亚平著. -北京:科学出版社,2000
ISBN 7-03-008387-3

I. 有… II. ①陈… ②涂… III. 有机分析-质谱法 IV. O657.63

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 07773 号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号
邮政编码:100717

新蕾印刷厂 印刷

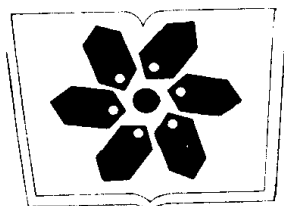
科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2001年2月第 一 版 开本: 710×1000 B5
2001年2月第一次印刷 印张: 17 1/2
印数: 1—2 500 字数: 326 000

定价: 35.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)



中国科学院科学出版基金资助出版



国家自然科学基金委员会资助出版

前 言

现代质谱技术的开拓者英国物理学家 J. J. 汤姆逊在他 1913 年出版的著作中曾预言质谱法将为化学家所应用。此后数十年来，质谱技术获得长足的发展，目前已成为分析化学不可缺少的工具。质谱法所特有的优点是：1. 超微量（样品取量为微克级）；2. 快速（数分钟之内完成一次测试）；3. 能同时提供有机样品的精确分子量（精度达 10^{-4} ）、元素组成和碳骨架及官能团结构信息；4. 既能进行定性分析又能进行定量分析；5. 能最有效地与各种色谱法在线联用，如 GC/MS, HPLC/MS, TLC/MS, CEZ/MS 等，成为分析复杂体系的有力手段。这些优点是其他分析方法所不可能同时具备的。

质谱法在早期阶段主要用于分析同位素。用于分析有机化合物的有机质谱法在 20 世纪 40 年代才盛兴起来。有机分子的质谱裂解机理和气相离子化学是这一领域长期以来引人注目的研究对象。20 世纪 70 年代末、80 年代初出现的各种软电离技术为分析高极性、热不稳定和难挥发的样品提供了可能，同时也较好地解决了液相色谱与质谱联用的接口问题。这样就为分析生物大分子如蛋白质、核酸和多糖等的结构以及分析复杂体系中生物活性分子提供了有效手段。随着生命科学的发展，有机质谱在这方面的研究已成为热门课题。

与有机质谱迅速发展的形势不相适应的是迄今尚没有较系统地介绍这方面知识的适用参考书。有感于此，我们根据多年来在这一领域从事教学和科研工作的体会撰写了本书。其宗旨是企图从原理到应用深入浅出地说明有机质谱的基本知识和新近进展。全书共分九章。第一章概述有机质谱的发展过程；第二章简要说明常用各类有机质谱仪的结构和操作要点；第三章和第四章分别讨论电子轰击质谱和化学电离质谱，这两种质谱是有机质谱中研究得最深入，也是这一领域最基础的知识；第五章和第六章分别介绍了两种有用的技术：串联质谱（质谱/质谱）和反应质谱；第七章和第八章从原理到实例说明有机质谱在测定有机分子结构方面的应用；第九章扼要介绍生物大分子的质谱分析。各章后均附有主要参考文献。

撰写本书是一种尝试，希望能起到抛砖引玉的作用。谬误之处恳请读者指正。

作者

2000 年 1 月

·i·

目 录

前言

第一章 绪论	(1)
1.1 有机质谱的发展历史	(1)
1.2 我国有机质谱概况	(3)
1.3 有机质谱的进展	(5)
参考文献	(6)
第二章 有机质谱仪器	(7)
2.1 进样系统	(7)
2.1.1 储罐进样	(7)
2.1.2 探头进样	(7)
2.1.3 色谱进样	(9)
2.2 电离方式和离子源	(9)
2.2.1 电子轰击电离	(9)
2.2.2 化学电离	(10)
2.2.3 大气压化学电离	(13)
2.2.4 二次离子质谱	(14)
2.2.5 等离子体解吸质谱	(16)
2.2.6 激光解吸/电离	(16)
2.2.7 电喷雾电离	(18)
2.3 质量分析器	(20)
2.3.1 扇形磁场和静电场	(20)
2.3.2 四极分析器与离子阱	(22)
2.3.3 飞行时间质谱	(24)
2.3.4 傅里叶变换离子回旋共振	(25)
参考文献	(26)
第三章 电子轰击质谱	(28)
3.1 电离过程	(28)
3.1.1 分子的电离与 Franck-Condon 原理	(28)
3.1.2 电离能和出现能	(29)
3.2 离子的单分子反应动力学	(33)

3.2.1	离子的飞行时间及寿命	(33)
3.2.2	分子离子的能量分布和能量转换	(35)
3.2.3	离子的热力学能和反应速率	(39)
3.3	分子离子的单分子碎裂反应	(44)
3.3.1	离子的碎裂反应中心	(44)
3.3.2	分子离子的单分子碎裂反应	(46)
	参考文献	(54)
第四章	化学电离质谱	(56)
4.1	分子和离子的热化学性质	(56)
4.1.1	质子亲和势与气相碱度	(56)
4.1.2	氢负离子亲和势	(59)
4.1.3	电子亲和势	(60)
4.1.4	气相酸度	(61)
4.1.5	结构对热化学性质的影响	(62)
4.2	化学电离中的离子-分子反应	(63)
4.2.1	质子转移反应	(63)
4.2.2	电荷交换反应	(65)
4.2.3	氢负离子转移反应	(66)
4.2.4	加合与缔合反应	(67)
4.2.5	特殊反应	(67)
4.3	化学电离试剂体系	(68)
4.3.1	质子转移试剂	(68)
4.3.2	电荷交换试剂	(71)
4.4	分子的质子化位置	(72)
4.4.1	脂肪族化合物	(73)
4.4.2	芳香族化合物	(74)
	参考文献	(77)
第五章	质谱/质谱	(79)
5.1	质谱/质谱基础	(79)
5.1.1	质谱/质谱基本概念	(79)
5.1.2	质谱/质谱仪器	(81)
5.1.3	碎裂与重排反应热力学	(86)
5.2	质谱/质谱研究方法	(88)
5.2.1	亚稳离子与动能释放	(88)
5.2.2	碰撞诱导解离	(92)

5.2.3 中性化-再电离和碰撞诱导解离电离	(95)
5.3 质谱/质谱的应用	(96)
5.3.1 离子结构的确定	(97)
5.3.2 反应机理的推测	(99)
参考文献	(101)
第六章 反应质谱	(103)
6.1 概述	(103)
6.2 反应质谱在立体化学分析及苯环位置异构体区分中的应用	(103)
6.2.1 糖的立体化学分析	(103)
6.2.2 直链邻二羟基物的立体化学分析	(107)
6.2.3 取代烯的立体化学分析	(108)
6.2.4 甾体化合物的立体化学分析	(108)
6.2.5 氨基酸的手性检测	(110)
6.2.6 有机化合物绝对构型测定	(111)
6.2.7 二元取代苯异构体的区分	(113)
6.2.8 双键位置的测定	(114)
6.3 自碰撞室引入试剂的反应质谱	(117)
6.3.1 气相离子/分子反应机理研究	(117)
6.3.2 离子结构测定和异构体区分	(118)
6.3.3 有机物结构测定	(120)
6.3.4 金属离子反应	(122)
6.3.5 检测气相中 H/D 交换反应	(123)
参考文献	(125)
第七章 质谱法测定分子结构 (I)原理	(127)
7.1 概述	(127)
7.1.1 分子量的测定	(127)
7.1.2 元素组成的确定	(131)
7.1.3 测定官能团和碳骨架	(132)
7.2 质谱裂解机理	(134)
7.2.1 游离基中心引发的裂解	(134)
7.2.2 电荷中心引发的裂解	(136)
7.2.3 游离基中心引发的重排	(137)
7.2.4 电荷中心引发的重排	(138)
7.2.5 其他裂解反应	(139)
7.2.6 影响离子丰度的因素	(140)

7.3 各类化合物的裂解特征..... (141)

7.3.1 烃 (141)

7.3.2 羟基化合物 (146)

7.3.3 卤化物 (149)

7.3.4 醚 (150)

7.3.5 醛、酮 (152)

7.3.6 羧酸 (153)

7.3.7 羧酸酯 (154)

7.3.8 胺 (155)

7.3.9 酰胺 (156)

7.3.10 腈 (157)

7.3.11 硝基物 (157)

参考文献 (158)

第八章 质谱法测定分子结构 (II) 示例 (159)

例 1 溴苯 (159)

例 2 戊酮-2 (160)

例 3 亮氨酸 (161)

例 4 二十九碳醇-10 (162)

例 5 1-氨基-3-氯吩嗪 (165)

例 6 皂苷 loganin 的苷元 (166)

例 7 Mo(CO)₃ 与异丙苯复合物 (167)

例 8 4-腈基-4-羟基-二苯甲烷 (168)

例 9 新当归内酯 (170)

例 10 Brefeldin A (173)

例 11 生物碱 (175)

例 12 木脂素 (175)

例 13 糖苷 (176)

例 14 混合糖苷 (177)

例 15 紫乌定及类似二萜生物碱 (180)

例 16 鬼柏毒素类 (184)

参考文献 (190)

第九章 生物大分子的质谱分析 (191)

9.1 概述..... (191)

9.1.1 电喷雾电离质谱 (ESI-MS) (191)

9.1.2 基质辅助激光解吸离子化质谱 (194)

9.1.3 快原子轰击质谱 (FAB-MS) (197)

9.2 多肽和蛋白质的质谱分析..... (198)

9.2.1 多肽和蛋白质的一级结构..... (198)

9.2.2 多肽和蛋白质的分子量测定 (200)

9.2.3 多肽和蛋白质的序列分析..... (204)

9.3 核酸的质谱分析..... (212)

9.3.1 核酸的一级结构 (212)

9.3.2 核酸分子量的测定 (215)

9.3.3 核酸的序列分析 (219)

9.4 糖类的质谱分析..... (223)

9.4.1 概述 (223)

9.4.2 寡糖的质谱分析 (225)

9.4.3 糖复合物的质谱分析 (228)

参考文献 (230)

附录 I 分子的质子亲和度 (PA) 和气相碱度 (GB) (231)

附录 II 离子和中性物种的热化学数据 (244)

第一章 绪 论

1.1 有机质谱的发展历史

为了了解有机质谱发展的背景，首先简要地介绍一下它的历史发展过程^[1~3]。

早在 19 世纪末 (1886 年)，E. Goldstein^[4]在低压放电试验中观察到正电荷粒子，随后 W. Wein^[5]发现正电荷粒子束在磁场中发生偏转，这些观察结果为质谱的诞生提供了准备。

被誉为现代质谱学之父的英国学者 J. J. Thomson (1906 年诺贝尔物理学奖获得者) 在本世纪初即开展了正电荷离子束的物理学研究，从而发明了质谱法。他利用低压放电离子源所产生的具有高速度的正电荷离子束，通过一组电场和磁场，这时不同质荷比的正电荷离子能按不同质量而发生曲率不同的抛物线轨道偏转，依次到达检测器，在感光干板上被记录下来。他的这种最早的质谱仪器示意图如图 1.1 所示。他运用质谱法首次发现了元素的稳定同位素，即氖的两个同位素²⁰Ne 和²²Ne。他曾观察到在放电管中多原子分子 (如 COCl₂) 的裂解产生碎片

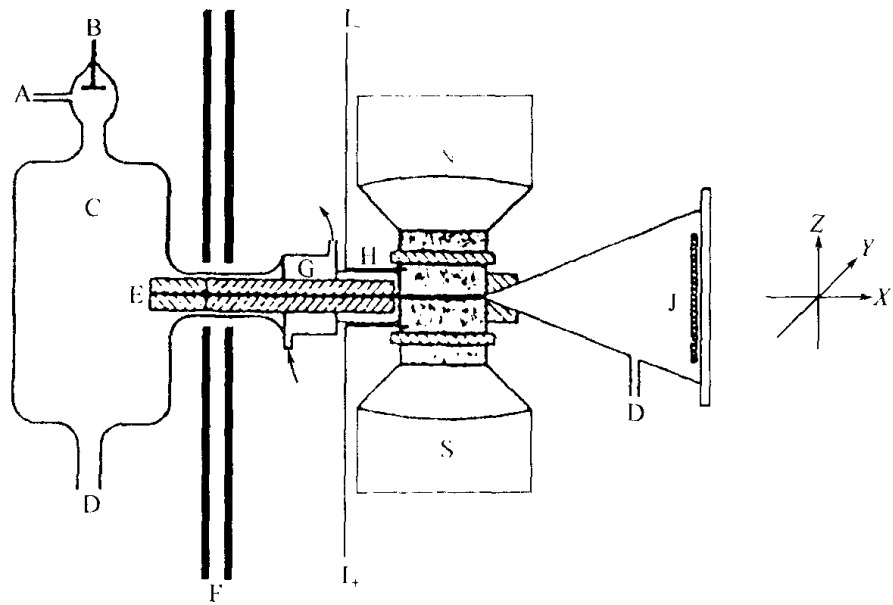


图 1.1 Thomson 质谱仪示意图

A. 气体入口; B. 阳极; C. 放电管; D. 去抽空泵; E. 阴极; F. 磁屏蔽;
G. 冷却水套; H. 绝缘体; I. 电场引线; J. 照相感光检测器

离子（如 Cl^+ ， CO^+ ， O^+ ， C^+ 等）。早期检测记录的质谱图如图 1.2 所示。因为他采用照相记录，各离子感光灵敏度不同，所以他不能定量地测出各离子的相对强度（丰度）。

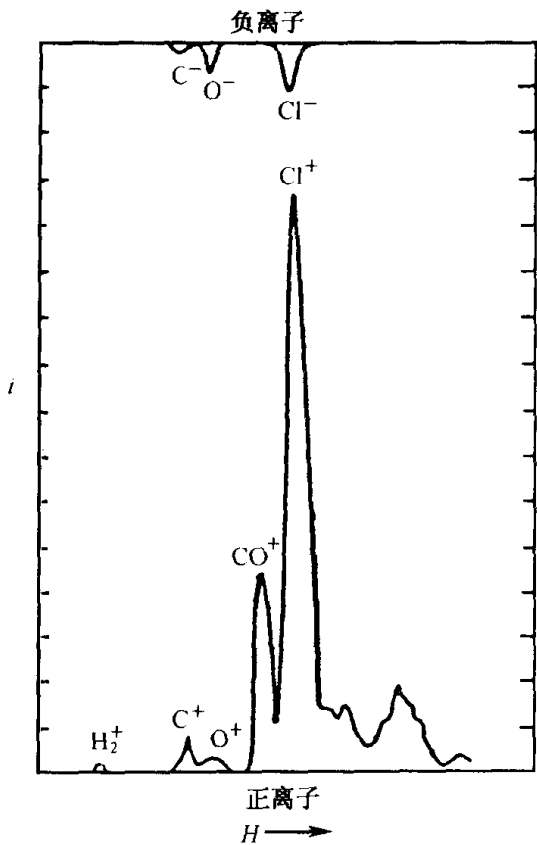


图 1.2 光气质谱图（高压）

Thomson 不但对质谱的发展作出了重要的奠基工作，而且更难能可贵的是，他作为一个物理学家，却能在质谱发展的早期看到它在化学分析中的应用前景。他撰写了这方面的专著《正电荷射线及其在化学分析中的应用》（*Rays of Positive Electricity and Their Application to Chemical Analysis*, Longmans Green Co., London, 1913）。在该书的序言中他明确写道：“撰写本书的主要宗旨之一是希望它能启发其他科学家，特别是化学家尝试采用这个方法（质谱法）。我深信化学中存在的许多问题可以凭借这个方法得以解决，而且比用其他方法更为简便。这个方法有惊人的灵敏度——甚至比（发射）光谱法还要灵敏得多。只需要极微量的试样，无须事先特别纯化处理，就可以进行分析。”他的这些论断，至今仍为人们所信服。

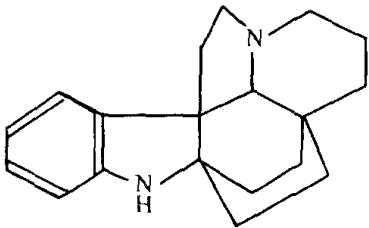
目前广泛采用的电子轰击电离源（所谓硬电离源）是在 1911 年首先由 C. F. Knipp 设计的。1918 年，A. J. Dempster 组装了电子轰击源^[6]，并以电流计作记录器的质谱计（mass spectrometer），不但能记录离子的质荷比，而且能定量地测出各离子的相对丰度。1919 年，F. W. Aston^[7]改进并研制了用感光板作记录器的质谱仪（mass spectrograph），1920 年，Aston 首先引入“质谱”（mass spectrum）这一术语。1942 年，才出现第一台商品质谱仪。

在相当长的时期内，质谱工作者的注意力都集中在用质谱分析、分离同位素的工作。如，人们曾用质谱法分离获得毫克级的³⁹K；40 年代，用质谱分析核燃料²³⁵U 和²³⁸U 同位素。

将质谱应用在有机化学方面的先驱者之一是 R. Conrad^[8]。他发表了许多有

机化合物的质谱图。而有机质谱研究的真正兴起是在 50 年代以后，这段时期，有机质谱的研究朝着两方面发展，其一是研究有机物离子裂解机理，如 50 年代中期（1956），美国化学家康奈尔大学教授 F. W. McLafferty 发现的六元环 γ -H 转移重排（麦氏重排）裂解机理是这方面的突出代表；另一方面是运用质谱推导有机分子结构。人们在阐明未知化合物的结构时，虽然可以使用一整套光谱技术，但是有时受条件的限制，能使用的光谱技术却是有限的。而质谱由于需要样品量少，对于测定非常稀贵的天然产物分子结构有着独到之处。如运用质谱配合红外光谱就测出了生物碱白坚木瑞素的结构^[9]。

在 60 年代，化学家认识到质谱在有机分子结构分析方面能提供大量的有用信息。这一认识大大推动了有机质谱的发展，于是，这一时期有机质谱方面的专著应运而生，其中如



J. H. Beynon, Mass Spectrometry and Its Application to Organic Chemistry, Elsevier, London, 1960

随后，又出现了多卷集专著，总结这时期有机质谱在天然产物结构分析方面的应用，如

H. Budzikiewicz, C. Djerassi, Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Vol. I. Alkaloids, Vol. II. Steroids, Terpenoids, Sugars and Miscellaneous Classes, Holden-Day, San Francisco, USA, 1969

20 世纪 60 年代后期，出现了有机质谱的专业学术刊物，如 Organic Mass Spectrometry，于 1968 年创刊。这些都足以说明在 60 年代有机质谱的研究工作已蓬勃开展。

1.2 我国有机质谱概况

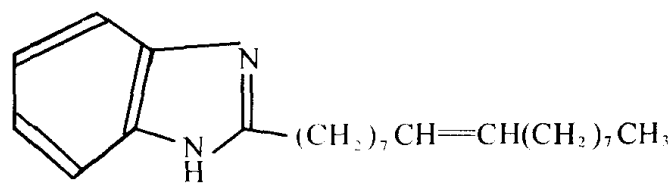
20 世纪 50 年代末期，配合我国核能研究的发展，几位自前苏联回国的留学生带回了质谱分析技术。开始时期只在同位素分析方面展开工作，后来延伸到地质勘探部门。至于有机质谱技术则起步较晚，到 70 年代，只有几个研究单位零星地进行有机质谱常规分析。到了 80 年代，高等院校和研究单位纷纷自国外引进有机质谱仪，于是有机质谱的研究工作日益发展起来。1980 年，全国质谱学会在杭州成立，包括四个专业组：同位素质谱、无机质谱、有机质谱和质谱仪器。其中以有机质谱专业组会员最多，规模最大。中国科学院科学仪器厂于 80 年代后期研制生产了分辨率达 5 万、配有快原子轰击电离源的双聚焦质谱仪。质

谱学中文专业刊物——质谱杂志（后改名质谱学报）于 1979 年创刊。

我国有机质谱方面的工作大致在以下三个方面发展^[10~12]：

1. 结构分析及有关新方法研究

自 70 年代以来，所有已发现的数百个天然产物新化合物的结构测定无一不用到质谱数据。举凡软电离技术、串联质谱技术、高分辨质谱以及亚稳扫描等均加以运用。并且发展了一些结构分析新方法，如用反应质谱法（reaction mass spectrometry）进行有机分子立体化学分析，以区分旋光异构体、检测手性化合物、测定绝对构型、糖的差向异构、烯烃的构型等（见第八章）；运用远位衍生化法（remote-site derivatization）测定不饱和脂肪酸的双键位置，以油酸为例，可制定 1-烯基杂环衍生物，如：



由它的裂解碎片来推测双键的位置。

2. 气相离子化学

运用碰撞诱导裂解-离子质量分析动能谱（CID-MIKES）技术证实了 $C_2H_6^+$ 离子的存在，研究了离子热力学能与 CID 的关系，这不仅具有理论意义，而且对正确使用这一技术来鉴定离子结构有重要意义。

运用高分辨质谱、亚稳扫描和同位素标记技术研究了一些天然化合物的裂解规律，如二萜生物碱、木脂素和四环-二萜等。这些规律的获得对质谱法测定相应类型未知物结构有所启示。

研究了 EI 谱和 CI 谱中气相离子反应，包括重排反应、取代反应等。

3. 色谱质谱联用技术

如用液相色谱质谱分析人尿中兴奋剂的代谢产物；用直接蒸出法——毛细管气相色谱-质谱快速分析中草药挥发性成分或鲜花头香。

90 年代（1990~1996）是我国有机质谱变化最大、发展最快的阶段，从事有机质谱分析研究工作的专职科技人员近 2000 人，在全国各种学术刊物及学术会议上发表与有机质谱有关的论文 1000 多篇，质谱学报上有机质谱论文占 80%。有机质谱已广泛应用于化学、化工、药物、食品、农业、林业、地质、石油、环保、医学、生物、公安、国防等各个领域，尤其在生命科学研究方面有了很大发展。

1.3 有机质谱的进展

如前所述,自 50 年代中期至 70 年代中期的 20 年间,有机质谱迅速发展成为测定有机化合物分子量和结构的强有力工具。但在 70 年代中期以前,有机质谱主要用于分析研究分子量小于 1000 Da* 的有机分子。

随着科学技术的进步,1974 年,出现了等离子体解析质谱(plasma desorption mass spectrometry, PD-MS),1981 年,出现了快原子轰击质谱(fast atom bombardment mass spectrometry, FAB-MS),有机质谱开始分析研究极性大、热不稳定的多肽和小蛋白质等。值得指出的是在 1988 年,出现了电喷雾电离质谱(electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)和基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS),傅里叶变换质谱法(Fourier transform mass spectrometry, MALDI-FTMS)开创了有机质谱分析研究生物大分子的新领域。从此以后,ESI-MS 和 MALDI-MS 获得了迅速的发展,有机质谱跨出近代结构化学和分析化学的领域而进入了生物质谱的范畴,也就是进入了生命科学的范畴。自 1988 年以来,国际质谱学界频繁举行全球性的质谱用于保健及生命科学的讨论会(symposium on mass spectrometry in the health & life science),可见这一研究热点盛况空前。

生物质谱大致在下列领域展开工作:

蛋白质分子质量的测定,氨基酸序列分析,蛋白质的质量肽谱,天然和生物合成蛋白质突变体分析、蛋白质翻译后修饰的测定,配位体结合的研究,酶的活力部位研究和蛋白质折叠和高级结构的研究,核酸片段分子质量测定,寡核苷酸序列分析,核酸修饰部位的鉴定以及多糖和寡糖结构分析等。

质谱在医药方面的应用日益受到人们的重视,用选择离子技术(selected monitoring)分析超微量体液中的“标记化合物”,作为癌症的早期诊断手段(cancer marker analysis),高效液相色谱与质谱联用是药代动力学分析的好方法,90 年代后,ESI-MS 和 MALDI-MS 用于生物分子间非共价键相互作用的研究,为药物-受体作用提供了直接证明,更有望用于高通量筛选(high throughput screening)有效药物,对促进新药研究将发挥重要作用。

为了解决生命科学中复杂体系内微量成分的分析,近年来,质谱与各种色谱的联用技术发展迅速,如高效液相色谱-电喷雾电离质谱联用(HPLC-ESI-MS)、毛细管电泳-电喷雾电离质谱(CE-ESI-MS)等,从而发展了微量电喷雾电离接

* Da(道尔顿)为非法定单位,1Da=1u=1.66054×10⁻²⁷kg。

口技术。

参 考 文 献

- [1] R. W. Kiser, Introduction to Mass Spectrometry & Its Applications, 1965, 4~13, Prattice-Hall, Inc. , Englewood Cliffs, New York
- [2] H. E. Duckworth, R. C. Barber, V. S. Venkatasubramanian, Mass Spectrometry, 2nd. Ed. , 1986, 1~8, Cambridge University Press, London
- [3] F. A. White, G. M. Wood, Mass Spectrometry Application in Science & Engineering, 1986, 1~13, John Wiley & Sons, New York
- [4] E. Goldstein, Berl. Ber. , 1886, 39: 691
- [5] W. Wein, Wied. Ann. , 1898, 65: 440
- [6] A. J. Dempster, Phys. Rev. , 1918, 11: 516
- [7] F. W. Aston, Phil. Mag. , 1919, 38: 707
- [8] R. Conrad, Phys. Z. , 1930, 31: 888
- [9] C. Djerassi et al. , Helv. Chim. Acta, 1963, 46: 742
- [10] 质谱编辑部, 质谱, 1980, (1): 1
- [11] 康致泉, 第九届全国有机质谱学学术讨论会论文集, 1997, 1
- [12] 张青莲, 王光辉, Mass Spectrom. Rev. , 1990, 9: 265

第二章 有机质谱仪器

2.1 进样系统

质谱仪只能分析、检测气相中的离子。不同性质的样品往往要求不同的电离技术和相应的进样方式。商品仪器一般配备以下进样系统，供测定不同样品时选用。

2.1.1 储罐进样

这个系统主要包括储气室、加热器、真空连接系统及一个通过分子漏孔将样品导入离子源的接口。气体和液体样品在不需要进一步分离时可以通过这种方式进样，足够的样品量可以在较长时间内 ($>30\text{ min}$) 给离子源提供较稳定的样品源。

用作仪器质量标定的标准样品（全氟煤油、全氟三丁胺等）通常用这种方式引入。该进样系统一般可加热到 200°C ，大多数样品经过加热容易除去，但有时样品（如胺、碘代烷）有较强的记忆效应。

2.1.2 探头进样

质谱实验室经常要为合成工作者送来的“纯”固体或高沸点液体提供质谱数据。这些样品通常蒸气压低或热稳定性差，只能通过探头引入离子源中。

常用的直接插入探头如图 2.1 所示。内置加热器位于探头前端，装载样品的

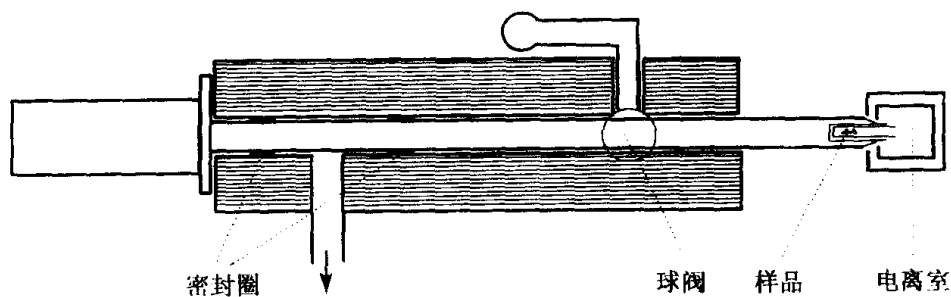


图 2.1 直接插入探头及真空锁

玻璃毛细管（或陶瓷样品舟）伸至电离室。采用直接插入探头进样的样品需要满