

《核磁共振与质谱》教案

第一章 质谱分析法

章节名称 第一节 概述

教学目的

1. 1. 了解质谱分析中的基本概念及其分析过程；
2. 2. 了解质谱分析法的分类

教学重点

质谱分析的概念及其分析过程

教学难点

授课时数：1

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习部分；

章节名称 第二节 质谱仪器

教学目的

1. 1. 理解一般质谱仪的构造及其工作原理
2. 2. 掌握几种质谱联用技术；
3. 3. 掌握质谱的性能指标；

教学重点

1. 1. 几种质谱联用技术
2. 2. 质谱的性能指标

教学难点

一般质谱仪的工作原理；

授课时数：7

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习部分

章节名称 第三节 质谱解析基础知识

教学目的

1. 1. 掌握 EI 源中的各种离子的情况；
2. 2. 掌握质谱的解析过程；
3. 3. 能够识别简单的谱图；

教学重点

1. 1. EI 源中的各种离子；
2. 2. 质谱的解析过程；

教学难点

谱图的解析；

授课时数：8

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习部分

章节名称 第四节 质谱分析方法

教学目的

了解 GC/MS 和 LC/MS 的分析分析方法；

教学重点

GC/MS 和 LC/MS 的分析分析方法

教学难点

授课时数：4

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习部分

章节名称 第五节 质谱技术的应用

教学目的

了解最新质谱技术的前景和应用情况；

教学重点

了解目前国内外质谱技术的应用研究状况

教学难点

授课时数：1

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习部分

第二章 核磁共振波谱法

章节名称 第一节 核磁共振的基本原理

教学目的

1. 理解关于核磁共振波谱的几个基本概念：核磁共振，化学位移，屏蔽常数，弛豫过程
2. 了解核磁共振产生的条件及其过程；

教学重点

关于核磁共振波谱的几个基本概念

教学难点

授课时数：2

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习；

章节名称 第二节 核磁共振波谱仪

教学目的

1. 了解核磁共振波谱仪的构造和工作原理；
2. 掌握脉冲-傅里叶变换核磁共振波谱的工作原理

教学重点

掌握脉冲-傅里叶变换核磁共振波谱的工作原理

教学难点

脉冲-傅里叶变换核磁共振波谱的工作原理

授课时数：3

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习

章节名称 第三节 核磁共振氢谱与有机化合物结构的关系

教学目的

1. 理解核磁共振氢谱中有机化合物的化学位移、耦合常数与结构的关系；
2. 能够利用氢谱进行谱图解析；

教学重点

核磁共振氢谱中有机化合物的化学位移、耦合常数与结构的关系

教学难点

能够利用氢谱进行谱图解析

授课时数：2

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习

章节名称 第四节 核磁共振碳谱与有机化合物结构的关系

教学目的

1. 理解核磁共振碳谱中有机化合物的化学位移、耦合常数与结构的关系；
2. 能够利用碳谱进行谱图解析；

教学重点

理解核磁共振碳谱中有机化合物的化学位移、耦合常数与结构的关系

教学难点

能够利用碳谱进行谱图解析

授课时数：2

授课内容（此处略）

作业：P

章节名称 第五节 二维核磁共振谱

教学目的

了解几种相关的二维核磁共振谱

教学重点

几种相关的二维核磁共振谱

教学难点

授课时数：2

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习

章节名称 第六节 核磁共振的应用

教学目的

1. 了解核磁共振的用途；
2. 掌握核磁共振在有机化学物结构鉴定方面的应用

教学重点

了解核磁共振的用途

教学难点

掌握核磁共振在有机化学物结构鉴定方面的应用

授课时数：4

授课内容（此处略）

作业：见课后习题与练习

第一章 质谱分析法

第一节 概述

质谱分析法是通过对被测样品离子的质荷比的测定来进行分析的一种分析方法。被分析的样品首先要离子化，然后利用不同离子在电场或磁场的运动行为的不同，把离子按质荷比 (m/z) 分开而得到质谱，通过样品的质谱和相关信息，可以得到样品的定性定量结果。

从 J.J. Thomson 制成第一台质谱仪，到现在已有近 90 年了，早期的质谱仪主要是用来进行同位素测定和无机元素分析，二十世纪四十年代以后开始用于有机物分析，六十年代出现了气相色谱-质谱联用仪，使质谱仪的应用领域大大扩展，开始成为有机物分析的重要仪器。计算机的应用又使质谱分析法发生了飞跃变化，使其技术更加成熟，使用更加方便。八十年代以后又出现了一些新的质谱技术，如快原子轰击电离源，基质辅助激光解吸电离源，电喷雾电离源，大气压化学电离源，以及随之而来的比较成熟的液相色谱-质谱联用仪，感应耦合等离子体质谱仪，富立叶变换质谱仪等。这些新的电离技术和新的质谱仪使质谱分析又取得了长足进展。目前质谱分析法已广泛地应用于化学、化工、材料、环境、地质、能源、药物、刑侦、生命科学、运动医学等各个领域。

质谱仪种类非常多，工作原理和应用范围也有很大的不同。从应用角度，质谱仪可以分为下面几类：

有机质谱仪：由于应用特点不同又分为：

- ① 气相色谱-质谱联用仪 (GC-MS)。在这类仪器中，由于质谱仪工作原理不同，又有气相色谱-四极质谱仪，气相色谱-飞行时间质谱仪，气相色谱-离子阱质谱仪等。
- ② 液相色谱-质谱联用仪 (LC-MS)。同样，有液相色谱-四极质谱仪，液相色谱-离子阱质谱仪，液相色谱-飞行时间质谱仪，以及各种各样的液相色谱-质谱-质谱联用仪。
- ③ 其他有机质谱仪，主要有：
 - 基质辅助激光解吸飞行时间质谱仪 (MALDI-TOFMS)
 - 富立叶变换质谱仪 (FT-MS)

无机质谱仪，包括

- ① 火花源双聚焦质谱仪。

②感应耦合等离子体质谱仪（ICP-MS）。

③二次离子质谱仪（SIMS）

同位素质谱仪。

气体分析质谱仪。主要有呼气质谱仪，氦质谱检漏仪等。

以上的分类并不十分严谨。因为有些仪器带有不同附件，具有不同功能。例如，一台气相色谱-双聚焦质谱仪，如果改用快原子轰击电离源，就不再是气相色谱-质谱联用仪，而称为快原子轰击质谱仪（FAB MS）。另外，有的质谱仪既可以和气相色谱相连，又可以和液相色谱相连，因此也不好归于某一类。在以上各类质谱仪中，数量最多，用途最广的是有机质谱仪。因此，本章主要介绍的是有机质谱分析方法。

除上述分类外，还可以从质谱仪所用的质量分析器的不同，把质谱仪分为双聚焦质谱仪，四极杆质谱仪，飞行时间质谱仪，离子阱质谱仪，傅立叶变换质谱仪等。

第二节 质谱仪器

一、一般质谱仪结构与工作原理

质谱分析法主要是通过对样品的离子的质荷比的分析而实现对样品进行定性和定量的一种方法。因此，质谱仪都必须有电离装置把样品电离为离子，有质量分析装置把不同质荷比的离子分开，经检测器检测之后可以得到样品的质谱图，由于有机样品、无机样品和同位素样品等具有不同形态、性质和不同的分析要求，所以，所用的电离装置、质量分析装置和检测装置有所不同。但是，不管是哪种类型的质谱仪，其基本组成是相同的。都包括离子源、质量分析器、检测器和真空系统。本节主要介绍有机质谱仪的基本结构和工作原理。

1. 离子源

离子源的作用是将欲分析样品电离，得到带有样品信息的离子。质谱仪的离子源种类很多，现将主要的离子源介绍如下。

（1）电子电离源(Electron Ionization EI)

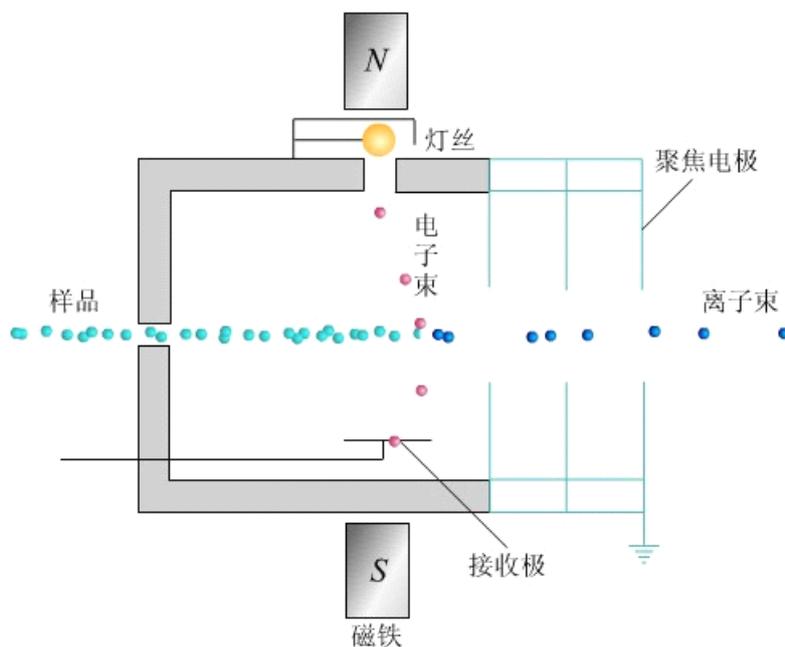


图 1.1 电子电离源原理图

电子电离源又称 EI 源，是应用最为广泛的离子源，它主要用于挥发性样品的电离。图 1.1 是电子电离源的原理图，由 GC 或直接进样杆进入的样品，以气体形式进入离子源，由灯丝 F 发出的电子与样品分子发生碰撞使样品分子电离。一般情况下，灯丝 F 与接收极 T 之间的电压为 70 伏，所有的标准质谱图都是在 70eV 下做出的。在 70eV 电子碰撞作用下，有机物分子可能被打掉一个电子形成分子离子，也可能会发生化学键的断裂形成碎片离子。由分子离子可以确定化合物分子量，由碎片离子可以得到化合物的结构。对于一些不稳定的化合物，在 70eV 的电子轰击下很难得到分子离子。为了得到分子量，可以采用 10~20eV 的电子能量，不过此时仪器灵敏度将大大降低，需要加大样品的进样量。而且，得到的质谱图不再是标准质谱图。

离子源中进行的电离过程是很复杂的过程，有专门的理论对这些过程进行解释和描述。在电子轰击下，样品分子可能有四种不同途径形成离子：

- (1) 样品分子被打掉一个电子形成分子离子。
- (2) 分子离子进一步发生化学键断裂形成碎片离子。
- (3) 分子离子发生结构重排形成重排离子。
- (4) 通过分子离子反应生成加合离子。

此外，还有同位素离子。这样，一个样品分子可以产生很多带有结构信息的离子，对这些离子进行质量分析和检测，可以得到具有样品信息的质谱图。

电子电离源主要适用于易挥发有机样品的电离，GC-MS 联用仪中都有这种离子源。其优点是工作稳定可靠，结构信息丰富，有标准质谱图可以检索。缺点是只适用于易汽化的有机物样品分析，并且，

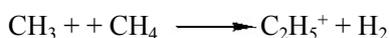
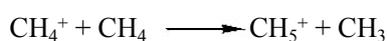
对有些化合物得不到分子离子。

(2) 化学电离源(Chemical Ionization, CI)。

有些化合物稳定性差,用 EI 方式不易得到分子离子,因而也就得不到分子量。为了得到分子量可以采用 CI 电离方式。CI 和 EI 在结构上没有多大差别。或者说主体部件是共用的。其主要差别是 CI 源工作过程中要引进一种反应气体。反应气体可以是甲烷、异丁烷、氨等。反应气的量比样品气要大得多。灯丝发出的电子首先将反应气电离,然后反应气离子与样品分子进行离子-分子反应,并使样品气电离。现以甲烷作为反应气,说明化学电离的过程。在电子轰击下,甲烷首先被电离:



甲烷离子与分子进行反应,生成加合离子:



加合离子与样品分子反应:



生成的 XH_2^+ 和 X^+ 比样品分子 XH 多一个 H 或少一个 H,可表示为 $(M \pm 1)^+$,称为准分子离子。事实上,以甲烷作为反应气,除 $(M+1)^+$ 之外,还可能出现 $(M+17)^+$, $(M+29)^+$ 等离子,同时还出现大量的碎片离子。化学电离源是一种软电离方式,有些用 EI 方式得不到分子离子的样品,改用 CI 后可以得到准分子离子,因而可以求得分子量。对于含有很强的吸电子基团的化合物,检测负离子的灵敏度远高于正离子的灵敏度,因此,CI 源一般都有正 CI 和负 CI,可以根据样品情况进行选择。由于 CI 得到的质谱不是标准质谱,所以不能进行库检索。

EI 和 CI 源主要用于气相色谱-质谱联用仪,适用于易汽化的有机物样品分析。

(3) 快原子轰击源 (Fast Atomic bombardment, FAB)

是另一种常用的离子源,它主要用于极性、分子量大的样品分析。其工作原理如图 1.2 所示:

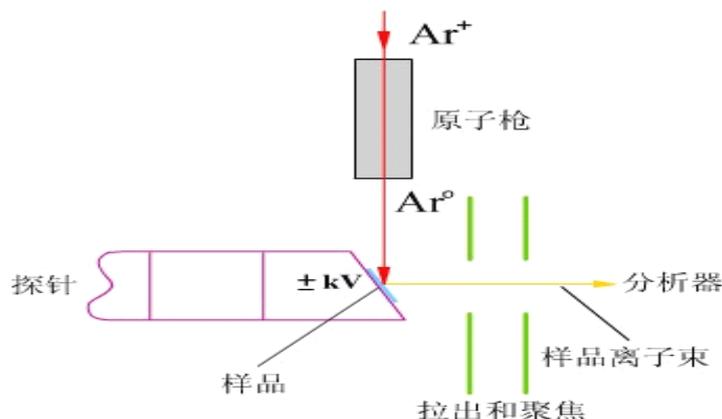


图 1.2 快原子轰击源示意图

氙气在电离室依靠放电产生氙离子，高能氙离子经电荷交换得到高能氙原子流，氙原子打在样品上产生样品离子。样品置于涂有底物（如甘油）的靶上。靶材为铜，原子氙打在样品上使其电离后进入真空，并在电场作用下进入分析器。电离过程中不必加热气化，因此适合于分析大分子量、难气化、热稳定性差的样品。例如肽类、低聚糖、天然抗生素、有机金属络合物等。FAB 源得到的质谱不仅有较强的准分子离子峰，而且有较丰富的结构信息。但是，它与 EI 源得到的质谱图很不相同。其一是它的分子量信息不是分子离子峰 M ，而往往是 $(M+H)^+$ 或 $(M+Na)^+$ 等准分子离子峰；其二是碎片峰比 EI 谱要少。

FAB 源主要用于磁式双聚焦质谱仪。

(4) 电喷雾源(Electron spray Ionization, ESI)

ESI 是近年来出现的一种新的电离方式。它主要应用于液相色谱-质谱联用仪。它既作为液相色谱和质谱仪之间的接口装置，同时又是电离装置。它的主要部件是一个多层套管组成的电喷雾喷嘴。最内层是液相色谱流出物，外层是喷射气，喷射气常采用大流量的氮气，其作用是使喷出的液体容易分散成微滴。另外，在喷嘴的斜前方还有一个补助气喷嘴，补助气的作用是使微滴的溶剂快速蒸发。在微滴蒸发过程中表面电荷密度逐渐增大，当增大到某个临界值时，离子就可以从表面蒸发出来。离子产生后，借助于喷嘴与锥孔之间的电压，穿过取样孔进入分析器（见图 1.3）。

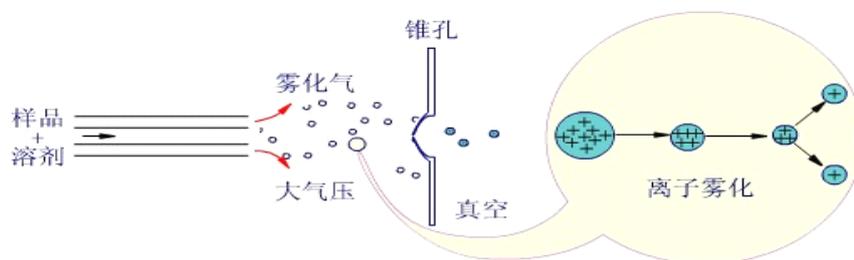


图 1.3 电喷雾电离原理图

加到喷嘴上的电压可以是正，也可以是负。通过调节极性，可以得到正或负离子的质谱。其中值得一提的是电喷雾喷嘴的角度，如果喷嘴正对取样孔，则取样孔易堵塞。因此，有的电喷雾喷嘴设计成喷射方向与取样孔不在一条线上，而错开一定角度。这样溶剂雾滴不会直接喷到取样孔上，使取样孔比较干净，不易堵塞。产生的离子靠电场的作用引入取样孔，进入分析器。

电喷雾电离源是一种软电离方式，即便是分子量大，稳定性差的化合物，也不会电离过程中发生分解，它适合于分析极性强的的大分子有机化合物，如蛋白质、肽、糖等。电喷雾电离源的最大特点是容易形成多电荷离子。这样，一个分子量为 10000Da 的分子若带有 10 个电荷，则其质荷比只有 1000Da，进入了一般质谱仪可以分析的范围之内。根据这一特点，目前采用电喷雾电离，可以测

量分子量在 300000Da 以上的蛋白质。图 1.4 是由电喷雾电离源得到的肌红蛋白的质谱图：

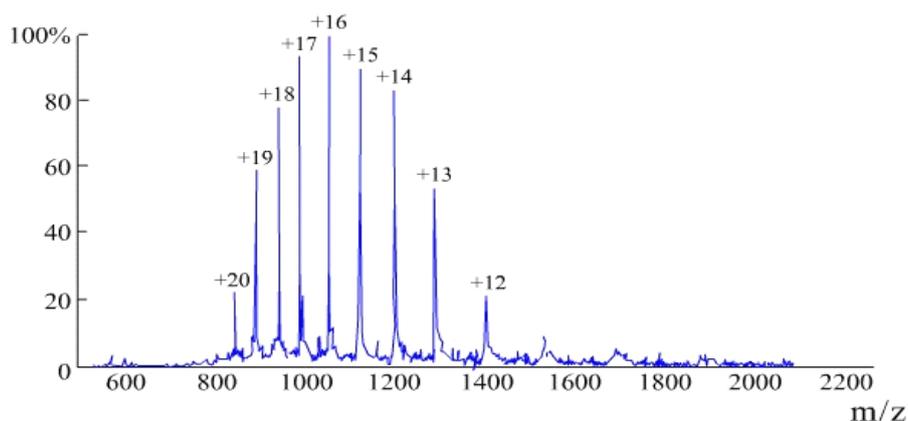


图 1.4 肌红蛋白电喷雾质谱图

(5) 大气压化学电离源(Atmospheric pressure chemical Ionization, APCI)

它的结构与电喷雾源大致相同，不同之处在于 APCI 喷咀的下游放置一个针状放电电极，通过放电电极的高压放电，使空气中某些中性分子电离，产生 H_3O^+ 、 N_2^+ 、 O_2^+ 和 O^+ 等离子，溶剂分子也会被电离，这些离子与分析物分子进行离子-分子反应，使分析物分子离子化，这些反应过程包括由质子转移和电荷交换产生正离子，质子脱离和电子捕获产生负离子等。图 1.5 是大气压化学电离源的示意图：

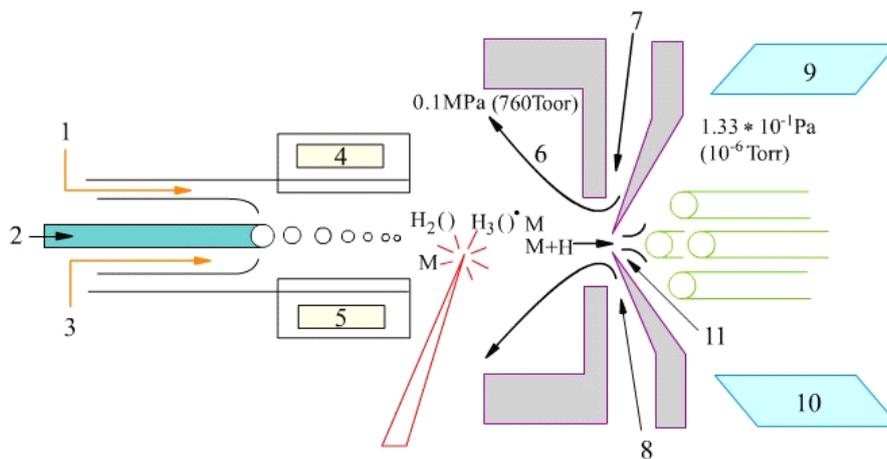


图 1.5 大气压化学电离接口示意图

大气压化学电离源主要用来分析中等极性的化合物。有些分析物由于结构和极性方面的原因，用 ESI 不能产生足够强的离子，可以采用 APCI 方式增加离子产率，可以认为 APCI 是 ESI 的补充。APCI 主要产生的是单电荷离子，所以分析的化合物分子量一般小于 1000Da。用这种电离源得到的质谱很少有碎片离子，主要是准分子离子。

以上两种电离源主要用于液相色谱-质谱联用仪。

(6) 激光解吸源 (Laser Desorption, LD)

激光解吸源是利用一定波长的脉冲式激光照射样品使样品电离的一种电离方式。被分析的样品置于涂有基质的样品靶上, 激光照射到样品靶上, 基质分子吸收激光能量, 与样品分子一起蒸发到气相并使样品分子电离。激光电离源需要有合适的基质才能得到较好的离子产率。因此, 这种电离源通常称为基质辅助激光解吸电离(Matrix Assisted Laser Desorption Ionization, 简称 MALDI)。MALDI 特别适合于飞行时间质谱仪(TOF), 组成 MALDI-TOF。MALDI 属于软电离技术, 它比较适合于分析生物大分子, 如肽、蛋白质、核酸等。得到的质谱主要是分子离子, 准分子离子。碎片离子和多电荷离子较少。MALDI 常用的基质有 2, 5 二羟基苯甲酸、芥子酸、烟酸、 α -氰基-4-羟基肉桂酸等。

2. 2. 质量分析器(Mass analyzer)

质量分析器的作用是将离子源产生的离子按 m/z 顺序分开并排列成谱。用于有机质谱仪的质量分析器有磁式双聚焦分析器, 四极杆分析器, 离子阱分析器, 飞行时间分析器, 回旋共振分析器等。

(1) 双聚焦分析器 (double focusing analyzer)

双聚焦分析器是在单聚焦分析器的基础上发展起来的。因此, 首先简单介绍一下单聚焦分析器。单聚焦分析器的主体是处在磁场中的扁形真空腔体。离子进入分析器后, 由于磁场的作用, 其运动轨道发生偏转改作圆周运动。其运动轨道半径 R 可由下式表示:

$$R = \frac{1.44 \times 10^{-2}}{B} \times \sqrt{\frac{mz}{z} \cdot V} \quad (1.1)$$

式中, m - 离子质量, amu

Z - 离子电荷量, 以电子的电荷量为单位

V - 离子加速电压, V

B - 磁感应强度, T

由上式可知, 在一定的 B 、 V 条件下, 不同 m/z 的离子其运动半径不同, 这样,

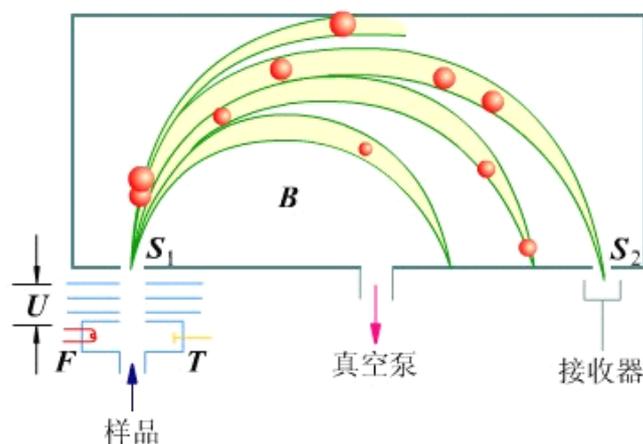


图 1.6 单聚焦质量分析器原理图

由离子源产生的离子,经过分析器后可实现质量分离,如果检测器位置不变(即 R 不变)、连续改变 V 或 B 可以使不同 m/z 的离子顺序进入检测器,实现质量扫描,得到样品的质谱。图 1.6 是单聚焦分析器原理图,这种单聚焦分析器可以是 180° 的(如图 1.6),也可以是 90° 或其它角度的,其形状象一把扇子,因此又称为磁扇形分析器。单聚焦分析结构简单,操作方便但其分辨率很低。不能满足有机物分析要求,目前只用于同位素质谱仪和气体质谱仪。单聚集质谱仪分辨率低的主要原因在于它不能克服离子初始能量分散对分辨率造成的影响。在离子源产生的离子当中,质量相同的离子应该聚在一起,但由于离子初始能量不同,经过磁场后其偏转半径也不同,而是以能量大小顺序分开,即磁场也具有能量色散作用。这样就使得相邻两种质量的离子很难分离,从而降低了分辨率。

为了消除离子能量分散对分辨率的影响,通常在扇形磁场前加一扇形电场,扇形电场是一个能量分析器,不起质量分离作用。质量相同而能量不同的离子经过静电电场后会彼此分开。即静电场有能量色散作用。如果设法使静电场的能量色散作用和磁场的能量色散作用大小相等方向相反,就可以消除能量分散对分辨率的影响。只要是质量相同的离子,经过电场和磁场后可以会聚在一起。另外质量的离子会聚在另一点。改变离子加速电压可以实现质量扫描。这种由电场和磁场共同实现质量分离的分析器,同时具有方向聚焦和能量聚焦作用,叫双聚焦质量分析器(见图 1.7)。

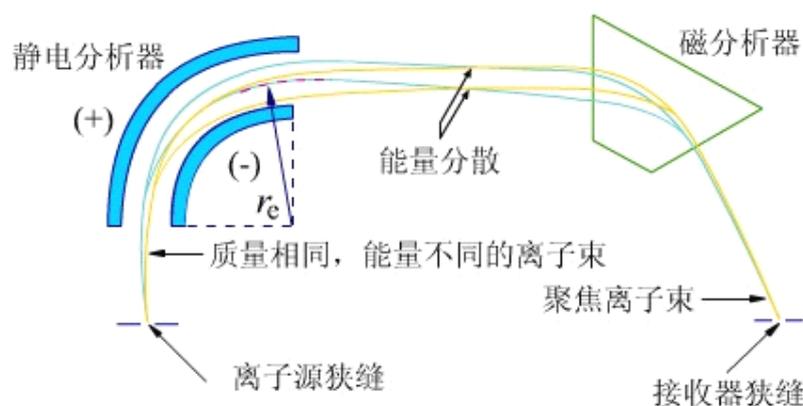


图 1.7 双聚焦质量分析器原理图

双聚焦分析器的优点是分辨率高,缺点是扫描速度慢,操作、调整比较困难,而且仪器造价也比较昂贵。

(2) 四极杆分析器(Quadrupole analyzer)

四极杆分析器由四根棒状电极组成。电极材料是镀金陶瓷或钼合金。相对两根电极间加有电压 $(V_{dc}+V_{rf})$, 另外两根电极间加有 $-(V_{dc}+V_{rf})$ 。其中 V_{dc} 为直流电压, V_{rf} 为射频电压。四个棒状电极形成一个四极电场。图 1.8 是这种分析器示意图:

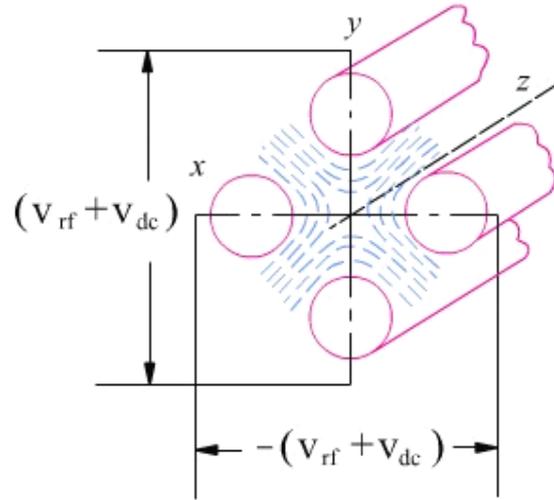


图 1.8 四极杆分析器示意图

离子从离子源进入四极场后，在电场的作用下产生振动，如果质量为 m ，电荷为 e 的离子从 Z 方向进入四极场，在电场作用下其运动方程是：

$$\begin{cases} d^2x/dt^2 + (a + 2q \cos 2T) \cdot x = 0 \\ d^2y/dt^2 + (a + 2q \cos 2T) \cdot y = 0 \\ d^2z/dt^2 = 0 \end{cases} \quad (1.2)$$

式中：

$$a = \frac{8eV_{dc}}{mr_0^2 \omega^2} \quad (1.3)$$

$$q = \frac{8eV_0}{mr_0^2 \omega^2} (V_{rf} = V_0 \cos \omega t) \quad (1.4)$$

$$T = \frac{1}{2} \omega t \quad (1.5)$$

离子运动轨迹可由方程 1.2 的解描述，数学分析表明，在 a, q 取某些数值时，运动方程有稳定的解，稳定解的图解形式通常用 a, q 参数的稳定三角形表示。（图 1.9）

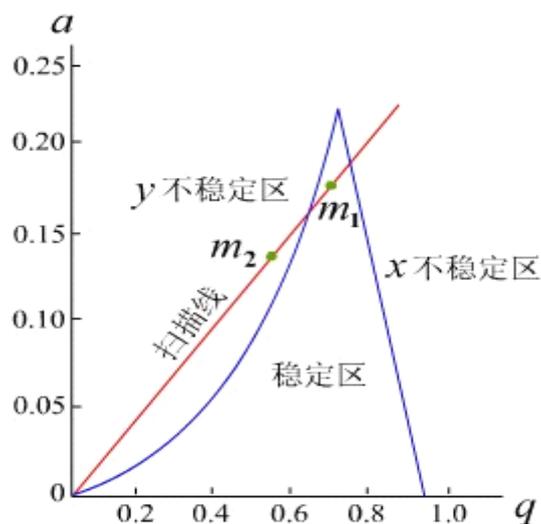


图 1.9 四极分析器定性图

当离子的 a, q 值处于稳定三角形内部时, 这些离子振幅是有限的, 因而可以通过四极场达到检测器。在保持 V_{dc}/V_{rf} 不变的情况下改变 V_{rf} 值, 对应于一个 V_{rf} 值, 四极场只允许一种质荷比的离子通过, 其余离子则振幅不断增大, 最后碰到四极杆而被吸收。通过四极杆的离子到达检测器被检测。改变 V_{rf} 值, 可以使另外质荷比的离子顺序通过四极场实现质量扫描。设置扫描范围实际上是设置 V_{rf} 值的变化范围。当 V_{rf} 值由一个值变化到另一个值时, 检测器检测到的离子就会从 m_1 变化到 m_2 , 也即得到 m_1 到 m_2 的质谱。

V_{rf} 的变化可以是连续的, 也可以是跳跃式的。所谓跳跃式扫描是只检测某些质量的离子, 故称为选择离子监测 (select ion monitoring SIM)。当样品量很少, 而且样品中特征离子已知时, 可以采用选择离子监测。这种扫描方式灵敏度高, 而且, 通过选择适当的离子使干扰组份不被采集, 可以消除组分间的干扰。SIM 适合于定量分析, 但因为这种扫描方式得到的质谱不是全谱, 因此不能进行质谱库检索和定性分析。

(3) 飞行时间质量分析器(Time of flight analyzer)

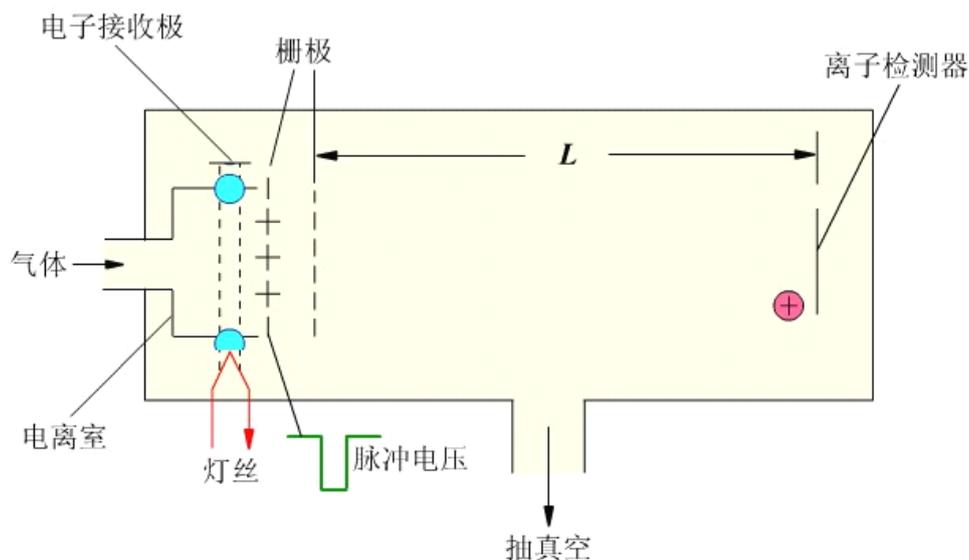


图 1.10 飞行时间质量分析器原理图

飞行时间质量分析器的主要部分是一个离子漂移管。图 9.10 是这种分析器的原理图。离子在加速电压 V 作用下得到动能，则有：

$$\frac{1}{2} mv^2 = eV \quad \text{或} \quad v = (2eV/m)^{1/2} \quad (1.6)$$

式中： m ：离子的质量

e ：离子的电荷量

V ：离子加速电压

离子以速度 v 进入自由空间（漂移区），假定离子在漂移区飞行的时间为 T ，漂移区长度为 L ，则：

$$T = L(m/2eV)^{1/2} \quad (1.7)$$

由式(1.7)可以看出，离子在漂移管中飞行的时间与离子质量的平方根成正比。也即，对于能量相同的离子，离子的质量越大，达到接收器所用的时间越长，质量越小，所用时间越短，根据这一原理，可以把不同质量的离子分开。适当增加漂移管的长度可以增加分辨率。

飞行时间质量分析器的特点是质量范围宽，扫描速度快，既不需电场也不需磁场。但是，长时间以来一直存在分辨率低这一缺点，造成分辨率低的主要原因在于离子进入漂移管前的时间分散、空间分散和能量分散。这样，即使是质量相同的离子，由于产生时间的先后，产生空间的前后和初始动能的大小不同，达到检测器的时间就不相同，因而降低了分辨率。目前，通过采取激光脉冲电离方式，离子延迟引出技术和离子反射技术，可以在很大程度上克服上述三个原因造成的分辨率下降。现在，飞行时间质谱仪的分辨率可达 20000 以上。最高可检质量超过 300000Da，并且具有很高的灵敏度。目前，这种分析器已广泛应用于气相色谱-质谱联用仪，液相色谱-质谱联用仪和基质辅助激光解吸飞行时间质谱仪中。下图是基质辅助激光解吸飞行时间质谱仪原理图 1.11：

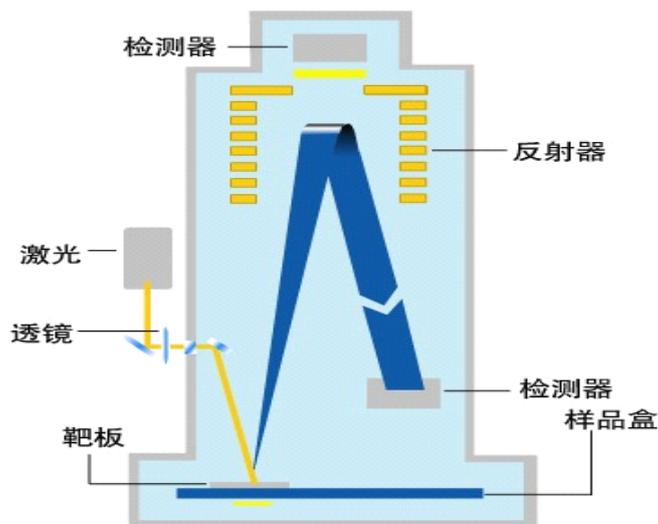


图 1.11 基质辅助激光解吸飞行时间质谱仪原理图

(4) 离子阱质量分析器

离子阱的结构如图 1.12 所示。离子阱的主体是一个环电极和上下两端盖电极，环电极和上下两端盖电极都是绕 Z 轴旋转的双曲面，并满足 $r_0^2=2Z_0^2$ (r_0 为环形电极的最小半径， Z_0 为两个端盖电极间的最短距离)。直流电压 U 和射频电压 V_{rf} 加在环电极和端盖电极之间，两端盖电极都处于地电位。

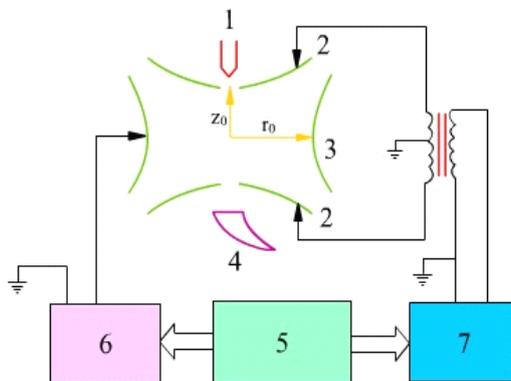


图 1.12 离子阱构造原理图

1—灯丝； 2—端帽； 3—换形电极； 4—电子倍增器； 5—计算机； 6—放大器和射频发生器（基本射频电压）；
7—放大器和射频发生器（附加射频电压）

与四极杆分析器类似，离子在离子阱内的运动遵守所谓马蒂厄微分方程，也有类似四极杆分析器的稳定图。在稳定区内的离子，轨道振幅保持一定大小，可以长时间留在阱内，不稳定区的离子振幅很快增长，撞击到电极而消失。对于一定质量的离子，在一定的 U 和 V_{rf} 下，可以处在稳定区。改变 U 或 V_{rf} 的值，离子可能处于非稳定区。如果在引出电极上加负电压，可以将离子从阱内引出，

由电子倍增器检测。因此，离子阱的质量扫描方式与四极杆类似，是在恒定的 U/V_{rf} 下，扫描 V_{rf} 获取质谱。离子阱的特点是结构小巧，质量轻，灵敏度高，而且还有多级质谱功能。它可以用于 GC-MS，也可以用于 LC-MS。

(5) 傅立叶变换离子回旋共振分析器 (Fourier transform ion cyclotron resonance analyzer, FTICR)

这种分析器是在原来回旋共振分析器的基础上发展起来的。因此，首先叙述一下离子回旋共振的基本原理。假定质荷比 m/e 的离子进入磁感应强度为 B 的磁场中，由于受磁场力的作用，离子作圆周运动，如果没有能量的损失和增加，圆周运动的离心力和磁场力相平衡，即：

$$mv^2/R = Bev \quad (1.8)$$

将式(1.8)整理后得： $v/R = Be/m$

或 $\omega_c = Be/m \quad (1.9)$

式中 ω_c 为离子运动的回旋频率（单位为弧度/秒）。

由式(1.9)可以看出，离子的回旋频率与离子的质荷比成线性关系，当磁场强度固定后，只需精确测得离子的共振频率，就能准确的得到离子的质量。测定离子共振频率的办法是外加一个射频辐射，如果外加射频频率等于离子共振频率，离子就会吸收外加辐射能量而改变圆周运动的轨道，沿着阿基米德螺线加速，离子收集器放在适当的位置就能收到共振离子。改变辐射频率，就可以接收到不同的离子。但普通的回旋共振分析器扫描速度很慢，灵敏度低，分辨率也很差。傅立叶变换离子回旋共振分析器采用的是线性调频脉冲来激发离子，即在很短的时间内进行快速频率扫描，使很宽范围的质荷比的离子几乎同时受到激发。因而扫描速度和灵敏度比普通回旋共振分析器高得多。

图 1.13 是这种分析器的结构示意图：

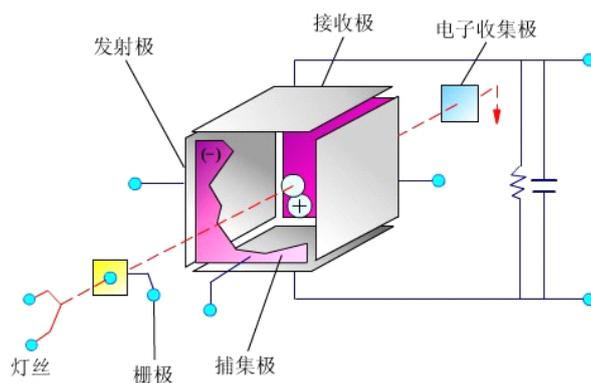


图 1.13 傅立叶变换离子回旋共振分析器示意图

分析室是一个立方体结构，它是由三对相互垂直的平行板电极组成，置于高真空和由超导磁体产生的强磁场中。第一对电极为捕集极，它与磁场方向垂直，电极上加有适当正电压，其目的是延长离子在室内滞留时间；第二对电极为发射极，用于发射射频脉冲；第三对电极为接收极，用来接收离子产生的信号。样品离子引入分析室后，在强磁场作用下被迫以很小的轨道半径作回旋运动，

由于离子都是以随机的非相干方式运动，因此不产生可检出的信号。如果在发射极上施加一个很快的扫频电压，当射频频率和某离子的回旋频率一致时共振条件得到满足。离子吸收射频能量，轨道半径逐渐增大，变成螺旋运动，经过一段时间的相互作用以后，所有离子都做相干运动，产生可被检出的信号。做相干运动的正离子运动至靠近接收极的一个极板时，吸收此极板表面的电子，当其继续运动到另一极板时，又会吸引另一极板表面的电子。这样便会感生出“象电流”（见图 1.14），

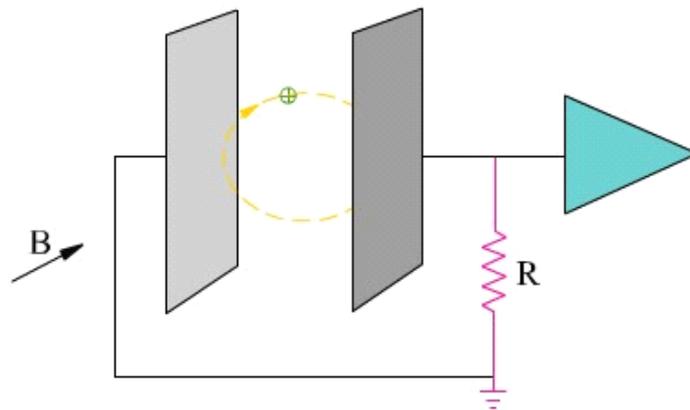


图 1.14 相干运动的离子在接受极上产生象电流

象电流是一种正弦形式的时间域信号，正弦波的频率和离子的固有回旋频率相同，其振幅则与分析室中该质量的离子数目成正比。如果分析室中各种质量的离子都满足共振条件，那么，实际测得的信号是同一时间内作相干轨道运动的各种离子所对应的正弦波信号的叠加。将测得的时间域信号重复累加，放大并经模数转换后输入计算机进行快速傅立叶变换，便可检出各种频率成分，然后利用频率和质量的已知关系，便可得到常见的质谱图。

利用傅立叶变换离子回旋共振原理制成的质谱仪称为傅立叶变换离子回旋共振质谱仪（Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer），简称 FT-MS。FT-MS 有很多明显的优点：

- ① 分辨率极高，商品仪器的分辨可超过 1×10^6 ，而且在高分辨率下不影响灵敏度，而双聚焦分析器为提高分辨率必须降低灵敏度。同时，FT-MS 的测量精度非常好，能达到百万分之几，这对于得到离子的元素组成是非常重要的。
- ② 分析灵敏度高，由于离子是同时激发同时检测，因此比普通回旋共振质谱仪高 4 个量级，而且在高灵敏度下可以得到高分辨率。
- ③ 具有多级质谱功能
- ④ 可以和任何离子源相联，扩宽了仪器功能。

此外还有诸如扫描速度快，性能稳定可靠，质量范围宽等优点。当然，另一方面，FT-MS 由于需要很高的超导磁场，因而需要液氦，仪器售价和运行费用都比较贵。

3、检测器(Detector)

质谱仪的检测主要使用电子倍增器，也有的使用光电倍增管。图 1.15 是电子倍增器示意图。由四极杆出来的离子打到高能打拿极产生电子，电子经电子倍增器产生电信号，记录不同离子的信号即得质谱。信号增益与倍增器电压有关，提高倍增器电压可以提高灵敏度，但同时会降低倍增器的寿命，因此，应该在保证仪器灵敏度的情况下采用尽量低的倍增器电压。由倍增器出来的电信号被送入计算机储存，这些信号经计算机处理后可以得到色谱图，质谱图及其它各种信息。

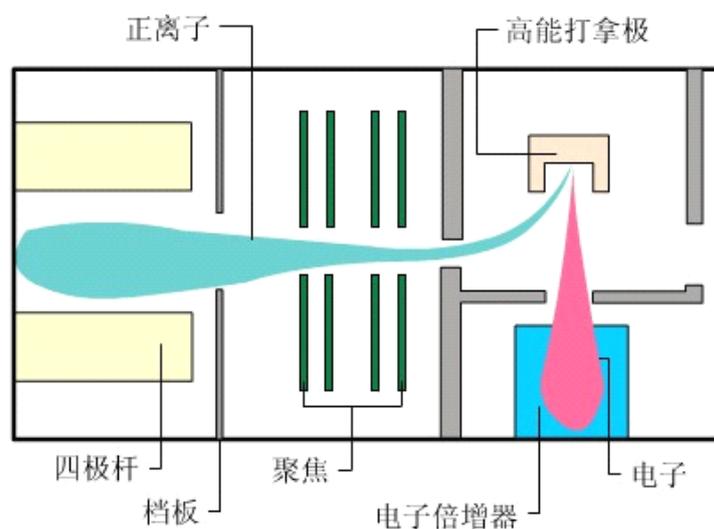


图 1.15 电子倍增器示意图

4、真空系统(Vacuum system)

为了保证离子源中灯丝的正常工 作，保证离子在离子源和分析器正常运行，消 减不必要的离子碰撞，散射效应，复合反应和离子-分子反应，减小本底与记忆效应，因此，质谱仪的离子源和分析器都必须处在优于 10^{-5} mbar 的真空中才能工作。也就是说，质谱仪都必须有真空系统。一般真空系统由机械真空泵和扩散泵或涡轮分子泵组成。机械真空泵能达到的极限真空度为 10^{-3} mbar,不能满足要求,必须依靠高真空泵。扩散泵是常用的高真空泵，其性能稳定可靠，缺点是启动慢，从停机状态到仪器能正常工作所需时间长；涡轮分子泵则相反，仪器启动快，但使用寿命不如扩散泵。但由于涡轮分子泵使用方便，没有油的扩散污染问题，因此，近年来生产的质谱仪大多使用涡轮分子泵。涡轮分子泵直接与离子源或分析器相连，抽出的气体再由机械真空泵排到体系之外。

以上是一般质谱仪的主要组成部分。当然，若要仪器能正常工作，还必须要供电系统，数据处理系统等。

这样，一个有机化合物样品，由于其形态和分析要求不同，可以选用不同的电离方式使其离子

化,再由质量分析器按离子的 m/z 将离子分开并按一定顺序排列成谱,经检测器检测即得到样品的质谱。图 1.16 是 α -紫罗酮的质谱图。质谱图的横坐标是质荷比 m/z , 纵坐标是各离子的相对强度。通常把最强的离子的强度定为 100, 称为基峰(图 1.16 中为 $m/z=121$), 其他离子的强度以基峰为标准来决定。对于一定的化合物, 各离子间的相对强度是一定的, 因此, 质谱具有化合物的结构特征。

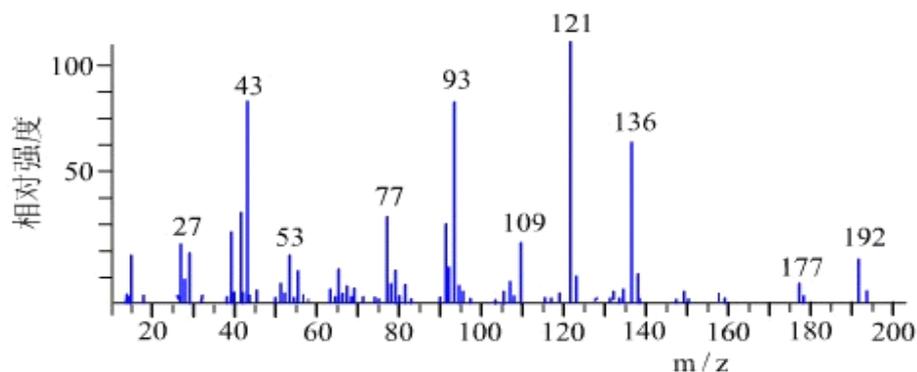


图 1.16 α -紫罗酮质谱图

二、 质谱联用技术

质谱仪是一种很好的定性鉴定用仪器, 对混合物的分析无能为力。色谱仪是一种很好的分离用仪器, 但定性能力很差, 二者结合起来, 则能发挥各自专长, 使分离和鉴定同时进行。因此, 早在 20 世纪 60 年代就开始了气相色谱-质谱联用技术的研究, 并出现了早期的气相色谱-质谱联用仪。在 70 年代末, 这种联用仪器已经达到很高的水平。同时开始研究液相色谱-质谱联用技术。在 80 年代后期, 大气压电离技术的出现, 使液相色谱-质谱联用仪水平提高到一个新的阶段。目前, 在有机质谱仪中, 除激光解吸电离-飞行时间质谱仪和傅立叶变换质谱仪之外, 所有质谱仪都是和气相色谱或液相色谱组成联用仪器。这样, 使质谱仪无论在定性分析还是在定量分析方面都十分方便。同时, 为了增加未知物分析的结构信息, 为了增加分析的选择性, 采用串联质谱法(质谱-质谱联用), 也是目前质谱仪发展的一个方向。也就是说, 目前的质谱仪是以各种各样的联用方式工作的。因此, 本节将介绍各种质谱联用技术。

1、气相色谱-质谱联用仪(Gas chromatography-Mass spectrometer, GC-MS)

GC-MS 主要由三部分组成: 色谱部分、质谱部分和数据处理系统。色谱部分和一般的色谱仪基本相同, 包括有柱箱、汽化室和载气系统, 也带有分流/不分流进样系统, 程序升温系统、压力、流量自动控制系统等, 一般不再有色谱检测器, 而是利用质谱仪作为色谱的检测器。在色谱部分, 混合样品在合适的色谱条件下被分离成单个组分, 然后进入质谱仪进行鉴定。

色谱仪是在常压下工作, 而质谱仪需要高真空, 因此, 如果色谱仪使用填充柱, 必须经过一种接口装置—分子分离器, 将色谱载气去除, 使样品气进入质谱仪。如果色谱仪使用毛细管柱, 则可以将毛细管直接插入质谱仪离子源, 因为毛细管载气流量比填充柱小得多, 不会破坏质谱仪真空。

GC-MS 的质谱仪部分可以是磁式质谱仪、四极质谱仪，也可以是飞行时间质谱仪和离子阱。目前使用最多的是四极质谱仪。离子源主要是 EI 源和 CI 源。

GC-MS 的另外一个组成部分是计算机系统。由于计算机技术的提高，GC-MS 的主要操作都由计算机控制进行，这些操作包括利用标准样品（一般用 FC-43）校准质谱仪，设置色谱和质谱的工作条件，数据的收集和处理以及库检索等。这样，一个混合物样品进入色谱仪后，在合适的色谱条件下，被分离成单一组分并逐一进入质谱仪，经离子源电离得到具有样品信息的离子，再经分析器、检测器即得每个化合物的质谱。这些信息都由计算机储存，根据需要，可以得到混合物的色谱图、单一组分的质谱图和质谱的检索结果等。根据色谱图还可以进行定量分析。因此，GC-MS 是有机物定性、定量分析的有力工具。

作为 GC-MS 联用仪的附件，还可以有直接进样杆和 FAB 源等。但是 FAB 源只能用于磁式双聚焦质谱仪。直接进样杆主要是分析高沸点的纯样品，不经过 GC 进样，而是直接送到离子源，加热汽化后，由 EI 电离。另外，GC-MS 的数据系统可以有几套数据库，主要有 NIST 库，Willey 库，农药库，毒品库等。

2、液相色谱-质谱联用仪(Liquid chromatography Mass spectrometer, LC-MS)

LC-MS 联用仪主要由高效液相色谱，接口装置（同时也是电离源），质谱仪组成。高效液相色谱与一般的液相色谱相同，其作用是将混合物样品分离后进入质谱仪。仅介绍接口装置和质谱仪部分。

(1) LC-MS 接口装置

LC-MS 联用的关键是 LC 和 MS 之间的接口装置。接口装置的主要作用是去除溶剂并使样品离子化。早期曾经使用过的接口装置有传送带接口，热喷雾接口，粒子束接口等十余种，这些接口装置都存在一定的缺点，因而都没有得到广泛推广。20 世纪 80 年代，大气压电离源用作 LC 和 MS 联用的接口装置和电离装置之后，使得 LC-MS 联用技术提高了一大步。目前，几乎所有的 LC-MS 联用仪都使用大气压电离源作为接口装置和离子源。大气压电离源（Atmosphere pressure Ionization, API）包括电喷雾电离源(Electrospray Ionization, ESI) 和大气压化学电离源(Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI)两种，二者之中电喷雾源应用最为广泛。

除了电喷雾和大气压化学电离两种接口之外，极少数仪器还使用粒子束喷雾和电子轰击相结合的电离方式,这种接口装置可以得到标准质谱，可以库检索、但只适用于小分子,应用也不普遍,故不详述。以外,还有超声喷雾电离接口。

(2) 质谱仪部分

由于接口装置同时就是离子源，因此质谱仪部分只介绍质量分析器。作为 LC-MS 联用仪的质量分析器种类很多，最常用的是四极杆分析器（简称为 Q），其次是离子阱分析器（Trap）和飞行时间

分析器 (TOF)。因为 LC-MS 主要提供分子量信息, 为了增加结构信息, LC-MS 大多采用具有串联质谱功能的质量分析器, 串联方式很多, 如 Q-Q-Q, Q-TOF 等。

3、 串联质谱法(Tandem Mass spectrometry)

为了得到更多的有关分子离子和碎片离子的结构信息, 早期的质谱工作者把亚稳离子作为一种研究对象。所谓亚稳离子(metastable ion)是指离子源出来的离子, 由于自身不稳定, 前进过程中发生了分解, 丢掉一个中性碎片后生成的新离子, 这个新的离子称为亚稳离子。这个过程可以表示为: $m_1^+ \rightarrow m_2^+ + N$, 新生成的离子在质量上和动能上都不同于 m_1^+ , 由于是在行进中途形成的, 它也不处在质谱中 m_2 的质量位置。研究亚稳离子对搞清离子的母子关系, 对进一步研究结构十分有用。于是, 在双聚焦质谱仪中设计了各种各样的磁场和电场联动扫描方式, 以求得到子离子, 母离子和中性碎片丢失。尽管亚稳离子能提供一些结构信息, 但是由于亚稳离子形成的几率小, 亚稳峰太弱, 检测不容易, 而且仪器操作也困难, 因此, 后来发展成在磁场和电场间加碰撞活化室, 人为地使离子碎裂, 设法检测子离子, 母离子, 进而得到结构信息。这是早期的质谱-质谱串联方式。随着仪器的发展, 串联的方式越来越多。尤其是 20 世纪 80 年代以后出现了很多软电离技术, 如 ESI、APCI、FAB、MALDI 等, 基本上都只有准分子离子, 没有结构信息, 更需要串联质谱法得到结构信息。因此, 近年来, 串联质谱法发展十分迅速。

串联质谱法可以分为两类: 空间串联和时间串联。空间串联是两个以上的质量分析器联合使用, 两个分析器间有一个碰撞活化室, 目的是将前级质谱仪选定的离子打碎, 由后一级质谱仪分析。而时间串联质谱仪只有一个分析器, 前一时刻选定-离子, 在分析器内打碎后, 后一时刻再进行分析。本节将叙述各种串联方式和操作方式。

(1) 串联质谱的主要串联方式

质谱-质谱的串联方式很多, 既有空间串联型, 又有时间串联型。空间串联型又分磁扇型串联, 四极杆串联, 混合串联等。如果用 B 表示扇形磁场, E 表示扇形电场, Q 表示四极杆, TOF 表示飞行时间分析器, 那么串联质谱主要方式有:

① 空间串联

磁扇型串联方式: BEB EBE BEBE 等

四极杆串联: Q-Q-Q

混合型串联: BE-Q Q-TOF EBE-TOF

② 时间串联

离子阱质谱仪

回旋共振质谱仪

无论是哪种方式的串联, 都必须有碰撞活化室, 从第一级 MS 分离出来的特定离子, 经过碰撞活

化后,再经过第二级 MS 进行质量分析,以便取得更多的信息。

(2) 碰撞活化分解

利用软电离技术(如电喷雾和快原子轰击)作为离子源时,所得到的质谱主要是准分子离子峰,碎片离子很少,因而也就没有结构信息。为了得到更多的信息,最好的办法是把准分子离子“打碎”之后测定其碎片离子。在串联质谱中采用碰撞活化分解(Collision activated dissociation, CAD)技术把离子“打碎”。碰撞活化分解也称为碰撞诱导分解(Collision Induced dissociation, CID),碰撞活化分解在碰撞室内进行,带有一定能量的离子进入碰撞室后,与室内惰性气体的分子或原子发生碰撞,离子发生碎裂。为了使离子碰撞碎裂,必须使离子具有一定动能,对于磁式质谱仪,离子加速电压可以超过 1000V,而对于四极杆,离子阱等,加速电压不超过 100V,前者称为高能 CAD,后者称为低能 CID。二者得到的子离子谱是有差别的。

(3) 串联质谱法工作方式和主要信息

a. 三级四极质谱仪(Q-Q-Q)的工作方式和主要信息

三级四极质谱仪有三组四极杆,第一组四极杆用于质量分离(MS1),第二组四极杆用于碰撞活化(CAD),第三组四极杆用于质量分离(MS2)。主要工作方式有四种(见图 1.17)。

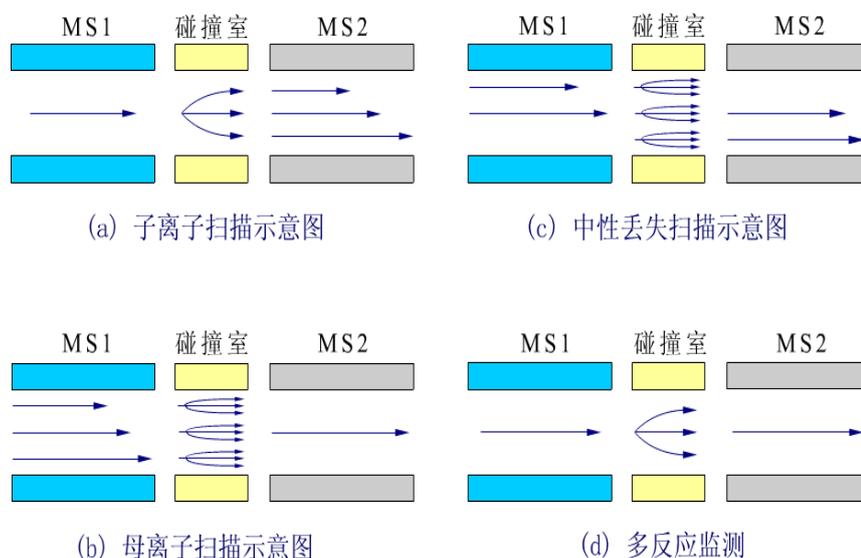


图 1.17 中 a 为子离子扫描方式,这种工作方式由 MS1 选定-质量, CAD 碎裂之后,由 MS2 扫描得子离子谱。b 为母离子扫描方式,在这种工作方式,由 MS2 选定一个子离子, MS1 扫描,检测器得到的是能产生选定子离子的那些离子,即母离子谱。c 是中性丢失谱扫描方式,在这种方式是 MS1 和 MS2 同时扫描。只是二者始终保持一定固定的质量差(即中性丢失质量),只有满足相差-固定质量的离子才得到检测。d 是多离子反应监测方式,由 MS1 选择一个或几个特定离子(图中只选一个),经

碰撞碎裂之后,由其子离子中选出一特定离子,只有同时满足 MS1 和 MS2 选定的一对离子时,才有信号产生。用这种扫描方式的好处是增加了选择性,即便是两个质量相同的离子同时通过了 MS1,但仍可以依靠其子离子的不同将其分开。这种方式非常适合于从很多复杂的体系中选择某特定质量,经常用于微小成分的定量分析。

b. 离子阱质谱仪 MS-MS 工作方式和主要信息

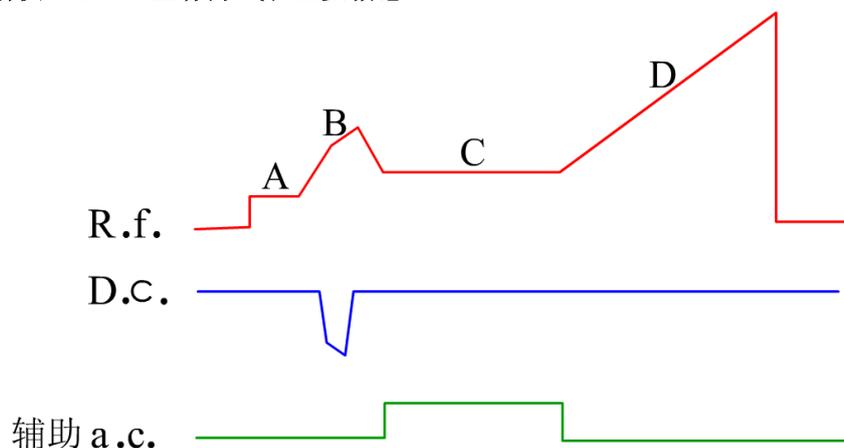


图 1.18 离子阱的 MS-MS 工作方式

离子阱质谱仪的 MS-MS 属于时间串联型,它的操作方式见图 1.18,在 A 阶段,打开电子门此时基础电压置于低质量的截止值,使所有的离子被阱集,然后利用辅助射频电压抛射掉所有高于被分析母离子的离子。进入 B 阶段,增加基频电压,抛射掉所有低于被分析母离子的离子。以阱集即将碰撞活化的离子。在 C 阶段,利用加在端电极上的辅助射频电压激发母离子,使其与阱内本底气体碰撞,在 D 阶段,扫描基频电压,抛射并接收所有 CID 过程形成的子离子,获得子离子谱。以此类推,可以进行多级 MS 分析。由离子阱的工作原理可以知道,它的 MS-MS 功能主要是多级子离子谱,利用计算机处理软件,还可以提供母离子谱,中性丢失谱和多反应监测 (MRM)。

c. 富立叶变换质谱仪的 MS-MS 功能

FTMS 的扫描方式是依据快速扫频脉冲对所有离子“同时”激发。具有 MS-MS 功能的 FTMS,其快速扫频脉冲可以选择性的留下频率“缺口”,用频率“缺口”选择性的留下欲分析的母离子,其它离子被激发并抛射到接收极。然后使母离子受激,使其运动半径增大又控制其轨道不要与接收极相撞。此时母离子在室内与本底气体或碰撞气体碰撞产生子离子。然后再改变射频频率接收子离子。还可由子离子谱中选一个离子再做子离子谱。由于离子损失很少。因此, FTMS 可以做到 5-6 级子离子谱。

d. 飞行时间质谱仪的源后裂解

离子在飞行过程中如果发生裂解,新产生的离子仍然以母离子速度飞行。因此在直线型漂移管

中观测不到新生成的离子。如果采用带有反射器的漂移管，因为新生成的离子与其母离子动能不同，可在反射器中被分开。这种操作方式称为源后裂解（Post source decomposition，PSD）。通过 PSD 操作可以得到结构信息。因此，可以认为反射型 TOFMS 也具有 MS-MS 功能。

另外 TOF-TOF 串联质谱仪已经出现。

三、质谱仪性指标

衡量一台质谱仪性能好坏的指标很多。这些指标包括灵敏度，分辨率，质量范围，质量稳定性等。质谱仪的种类很多，其性能指标的表示方法也不完全相同，现将主要的指标及测试方法说明如下。

1、灵敏度

(1) GC-MS 灵敏度

GC-MS 灵敏度表示在一定的样品（如八氟萘或六氯苯），在一定的分辨率下，产生一定信噪比的分子离子峰所需的样品量。具体测量方法如下：通过 GC 进标准测试样品（八氟萘）1pg，质谱采用全扫描方式从 m/z 200 扫到 m/z 300，扫描完成后，用八氟萘的分子离 m/z 272 做质量色谱图并测定 m/z 272 离子的信噪比，如果信噪比为 20，则该仪器的灵敏度可表示为 1pg 八氟萘（信噪比 20:1）。有的仪器用六氯苯作测试样品，那么测量时要改用六氯苯的分子离子 m/z288.如果仪器灵敏度达不到 1pg。则要加大进样量，直到有合适大小的信噪比为止。用此时的进样量及信噪比规定灵敏度指标。

(2) LC-MS 的灵敏度

测定常采用利血平作为测试样品，测试方法如下：

配置一定浓度的利血平（如 10pg/ μ l），通过 LC 进一定量样品，以水和甲醇各 50%为流动相（加入 1%醋酸），全扫描，做利血平质子化分子离子峰 m/z 609 的质量色谱图。用进样量和信噪比规定灵敏度指标。

2、分辨率

质谱仪的分辨率表示质谱仪把相邻两个质量分开的能力。常用 R 表示。其定义是，如果某质谱仪在质量 M 处刚刚能分开 M 和 M+ Δ M 两个质量的离子。则该质谱仪的分辨率为

$$R = \frac{M}{\Delta M}$$

例如某仪器能刚刚分开质量为 27.9949 和 28.0061 两个离子峰。则该仪器的分辨率为

$$R = \frac{M}{\Delta M} = \frac{27.9949}{28.0061 - 27.9949} \approx 2500$$

这里有两点需说明：所谓两峰刚刚分开，一般是指两峰间的“峰谷”是峰高的 10%（每个峰提供 5%）。另外，在实际测量时，很难找到刚刚分开的两个峰，这时可采用下面方法进行分辨率的测量：如果两个质谱峰 M1 和 M2 的中心距离为 a，峰高 5%处的峰宽为 b（见图 1-19），则该仪器的分辨率为：

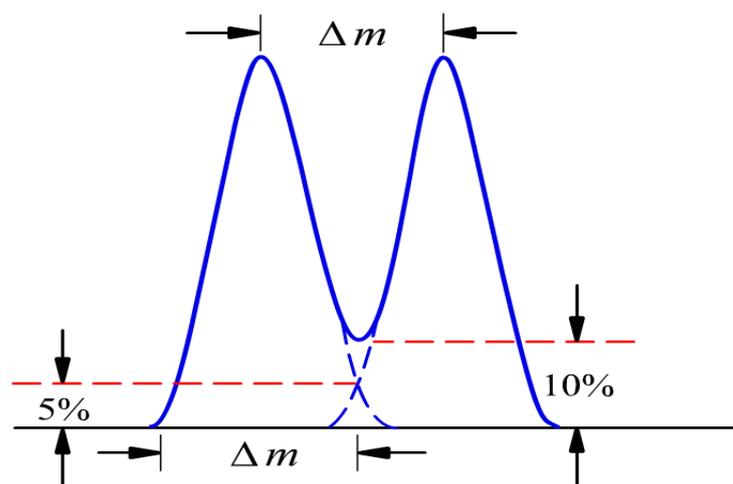


图 1.19 分辨率定义用图

$$R = \frac{M_1 + M_2}{2(M_2 - M_1)} \times \frac{a}{b}$$

还有一种定义分辨的方式：如果质量为 M 的质谱峰其峰高 50% 处的峰宽（半峰宽）为 ΔM 。则分辨率为

$$R = \frac{M}{\Delta M}$$

这后一种表示方法测量时比较方便。目前，FT-MS 和 TOF-MS 采用这种分辨率表示方式。对于磁式质谱仪，质量分离是不均匀的，在低质量端离子分散大，高质量端离子分散小，或者说 M 小时 ΔM 小， M 大时 ΔM 也大。因此，仪器的分辨率数值基本不随 M 变化。在四极质谱仪中。质量排列是均匀的，若在 $M=100$ 处， $\Delta M=1$ ，则 $R=100$ ，在 $M=1000$ 时，也是 $\Delta M=1$ ，则 $R=1000$ ，分辨率随质量变化。为了对不同 M 处的分辨率都有一个共同的表示法，四极质谱仪的分辨率一般表示为 M 的倍数，如 $R=1.7M$ 或 $R=2M$ 等。如果是 $R=2M$ ，表示在 $M=100$ 时， $R=200$ ； $M=1000$ 时， $R=2000$ 。

3、质量范围

质量范围是质谱仪所能测定的离子质荷比的范围。对于多数离子源，电离得到的离子为单电荷离子。这样，质量范围实际上就是可以测定的分子量范围；对于电喷雾源，由于形成的离子带有多电荷，尽管质量范围只有几千，但可以测定的分子量可达 10 万以上。质量范围的大小取决于质量分析器。四极杆分析器的质量范围上限一般在 1000 左右，也有的可达 3000，而飞行时间质量分析器可达几十万。由于质量分离的原理不同，不同的分析器有不同的质量范围。彼此间比较没有任何意义。同类型分析器则在一定程度上反映质谱仪的性能。当然，了解一台仪器的质量范围，主要为了知道它能分析的样品分子量范围。不能简单认为质量范围宽仪器就好。对于 GC-MS 来说，分析的对象是挥发性有机物，其分子量一般不超过 500，最常见的是 300 以下。因此，对于 GC-MS 的质谱仪来说，质量范围达到 800 应该就足够了，再高也不一定就肯定好。如果是 LC-MS 用质谱仪，因为分析的很

多是生物大分子，质量范围宽一点会好一些。

4、质量稳定性和质量精度

质量稳定性主要是指仪器在工作时质量稳定的情况，通常用一定时间内质量漂移的质量单位来表示。例如某仪器的质量稳定性为：0.1amu/12hr，意思是该仪器在 12 小时之内，质量漂移不超过 0.1amu。

质量精度是指质量测定的精确程度。常用相对百分比表示，例如，某化合物的质量为 152,0473amu，用某质谱仪多次测定该化合物，测得的质量与该化合物理论质量之差在 0.003 amu 之内，则该仪器的质量精度为百万分之二十（20ppm）。质量精度是高分辨质谱仪的一项重要指标，对低分辨质谱仪没有太大意义。

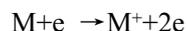
第三节 质谱解析基础知识

由于电子电离源（EI）得到的质谱和软电离源质谱有很大差别，故将二者分开叙述。

一、EI 质谱中的各种离子

1、分子离子

在电子轰击下，有机物分子失去一个电子所形成的离子叫分子离子。



式中 M^+ 是分子离子。由于分子离子是化合物失去一个电子形成的，因此，分子离子是自由基离子。通常把带有未成对电子的离子称为奇电子离子(OE)，并标以" \bullet^+ "，把外层电子完全成对的离子称为偶电子离子(EE)，并标以" $+$ "，分子离子一定是奇电子离子。关于离子的电荷位置，一般认为有下列几种情况：如果分子中含有杂原子，则分子易失去杂原子的未成键电子而带电荷，电荷位置可表示在杂原子上，如 $CH_3CH_2O^+H$ 。如果分子中没有杂原子而有双键，则双键电子较易失去，则正电荷位于双键的一个碳原子上。如果分子中既没有杂原子又没有双键，其正电荷位置一般在分支碳原子上。如果电荷位置不确定，或不需要确定电荷的位置，可在分子式的右上角标： γ^+ ，例如 $CH_3COOC_2H_5\gamma^+$ 。

在质谱中，分子离子峰的强度和化合物的结构有关。环状化合物比较稳定，不易碎裂，因而分子离子较强。支链较易碎裂，分子离子峰就弱，有些稳定性差的化合物经常看不到分子离子峰。一般规律是，化合物分子稳定性差，键长，分子离子峰弱，有些酸醇及支链烃的分子离子峰较弱甚至不出现，相反，芳香化合物往往都有较强的分子离子峰。分子离子峰强弱的大致顺序是：芳环>共轭烯>烯>酮>不分支烃>醚>酯>胺>酸>醇>高分支烃。

分子离子是化合物分子失去一个电子形成的，因此，分子离子的质量就是化合物的分子量，所

以分子离子在化合物质谱的解释中具有特殊重要的意义。

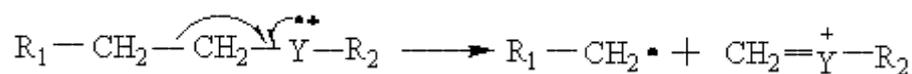
2、 碎片离子

碎片离子是分子离子碎裂产生的。当然，碎片离子还可以进一步碎裂形成更小的离子。碎片离子形成的机理有下面几种情况：

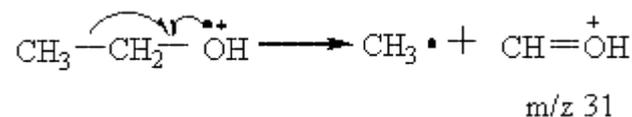
(1) 游离基引发的断裂（ α 断裂）

游离基对分子断裂的引发是由于电子的强烈成对倾向造成的。由游离基提供一个奇电子与邻接原子形成一个新键，与此同时，这个原子的另一个键（ α 键）断裂。这种断裂通常称为 α 断裂。 α 断裂主要有下面几种情况：

A. 含饱和杂原子：



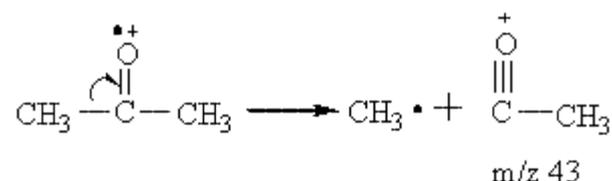
上式中  是单箭头，表示单电子转移，Y 为杂原子。现以乙醇的断裂进一步说明。



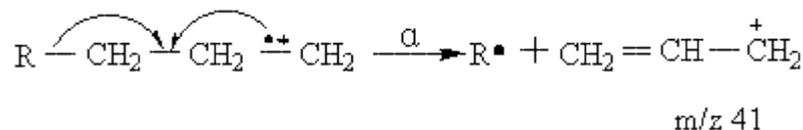
因为 α 断裂比较容易发生，因此，在乙醇质谱中，m/z 31 的峰比较强。

B. 含不饱和杂原子

以丙酮为例，说明断裂产生机理：

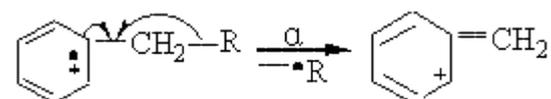


C. 烯烃（烯丙断裂）



烯丙断裂生成稳定的烯丙离子（m/z41）。

D. 烷基苯（苄基断裂）

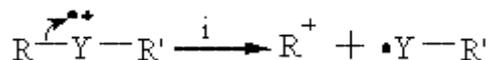


断裂后生成很强的苄基离子（m/z 91），m/z 91 离子是烷基苯类化合物的特征离子。

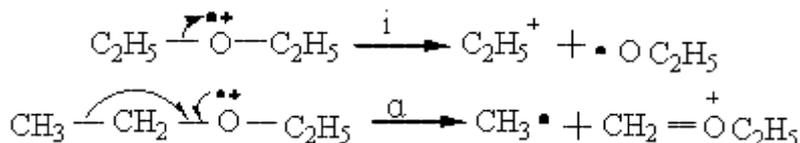
以上几种断裂都是由游离基引发的。游离基电子与转移的电子形成新键，同时伴随着相近键的断裂，形成相应的离子。断裂发生的位置都是电荷定位原子相邻的第一个碳原子和第二个碳原子之间的键，这个键称为 α 键，因此，这类自由基引发的断裂统称 α 断裂。

(2) 正电荷引发的断裂（诱导断裂或 i 断裂）

诱导断裂是由正电荷诱导、吸引一对电子而发生的断裂，其结果是正电荷的转移。诱导断裂常用 i 来表示。双箭头表示双电子转移。



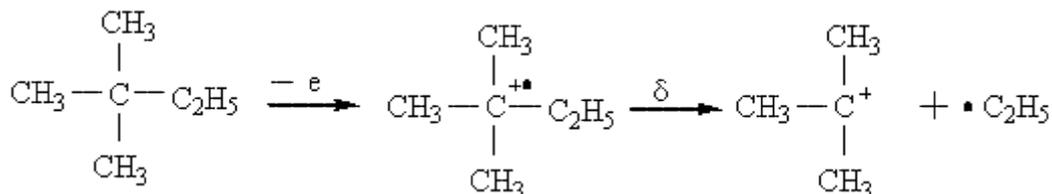
一般情况下，电负性强的元素诱导力也强。在有些情况下，诱导断裂和 α 断裂同时存在，由于 i 断裂需要电荷转移，因此， i 断裂不如 α 断裂容易进行。表现在质谱中，相应 α 断裂的离子峰强， i 断裂产生的离子峰较弱。例如乙醚的断裂：



i 断裂和 α 断裂同时存在， α 断裂的几率大于 i 断裂。但由于 α 断裂生成的 m/z 59 还有进一步的断裂，因此，在乙醚的质谱中， m/z 59 并不比 m/z 29 强。

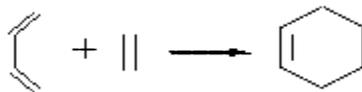
(3) σ 断裂

如果化合物分子中具有 σ 键，如烃类化合物，则会发生 σ 键断裂。 σ 键断裂需要的能量大，当化合物中没有 π 电子和 n 电子时， σ 键的断裂才可能成为主要的断裂方式。断裂后形成的产物越稳定，这样的断裂就越容易进行，阳碳离子的稳定性顺序为叔>仲>伯，因此，碳氢化合物最容易在分支处发生键的断裂。并且，失去最大烷基的断裂最容易进行。例如

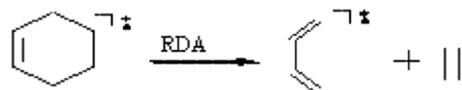


(4) 环烯的断裂--逆狄尔斯-阿德尔反应

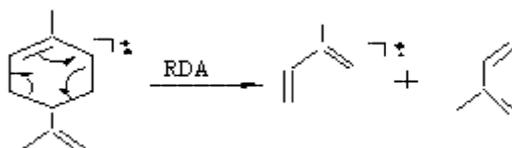
利用有机合成中的狄尔斯-阿德尔反应，可以由丁二烯和乙烯制备环己烯：



在质谱的分子离子断裂反应中，环己烯可以生成丁二烯和乙烯，正好与上面反应相反，所以称为逆狄尔斯--阿德尔（Retro-Diels-Alder）反应，简称 RDA。



现在，RDA 反应已广泛用来解释含有环己烯结构的各类化合物。例如，萘烯化合物的裂解：



这类裂解反应的特点是，环己烯双键打开，同时引发两个 α 键断开，形成两个新的双键，电荷

处在带双键的碎片上。

(5) 同位素离子

大多数元素都是由具有一定自然丰度的同位素组成。表 9.3 是有机物中各元素的自然丰度。

表 1.1 有机物中各元素的同位素丰度

元素	C		H		N		O	
同位素	¹² C	¹³ C	¹ H	² H	¹⁴ N	¹⁵ N	¹⁶ O ¹⁷ O ¹⁸ O	
丰度	100	1.08	100	0.016	100	0.38	100 0.04 0.20	
元素	P	S		F	Cl		Br	
同位素	³¹ P	³² S ³³ S ³⁴ S		¹⁹ F	³⁵ Cl	³⁷ Cl	⁷⁹ Br ⁸¹ Br	
丰度	100	100 0.78 4.4		100	100	32.5	100 98	

这些元素形成化合物后，其同位素就以一定的丰度出现在化合物中。因此，化合物的质谱中就会有不同同位素形成的离子峰，通常把由重同位素形成的离子峰叫同位素峰。例如，在天然碳中有两种同位素，¹²C 和 ¹³C。二者丰度之比为 100:1.1，如果由 ¹²C 组成的化合物质量为 M，那么，由 ¹³C 组成的同一化合物的质量则为 M+1。同样一个化合物生成的分子离子会有质量为 M 和 M+1 的两种离子。如果化合物中含有一个碳，则 M+1 离子的强度为 M 离子强度的 1.1%；如果含有二个碳，则 M+1 离子强度为 M 离子强度的 2.2%。这样，根据 M 与 M+1 离子强度之比，可以估计出碳原子的个数。氯有两个同位素 ³⁵Cl 和 ³⁷Cl，两者丰度比为 100:32.5，或近似为 3:1。当化合物分子中含有一个氯时，如果由 ³⁵Cl 形成的分子质量为 M，那么，由 ³⁷Cl 形成的分子质量为 M+2。生成离子后，离子质量分别为 M 和 M+2，离子强度之比近似为 3:1。如果分子中有两个氯，其组成方式可以有 R³⁵Cl³⁵Cl、R³⁵Cl³⁷Cl、R³⁷Cl³⁷Cl，分子离子的质量有 M，M+2，M+4，离子强度之比为 9:6:1。同位素离子的强度之比，可以用二项式展开式各项之比来表示：

$$(a+b)^n$$

式中：a-某元素轻同位素的丰度；

b-某元素重同位素的丰度；

n-同位素个数。

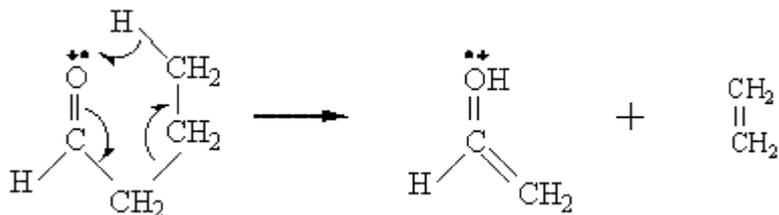
例如，某化合物分子中含有两个氯，其分子离子的三种同位素离子强度之比，由上式计算得：

$$(a+b)^n=(3+1)^2=9+6+1$$

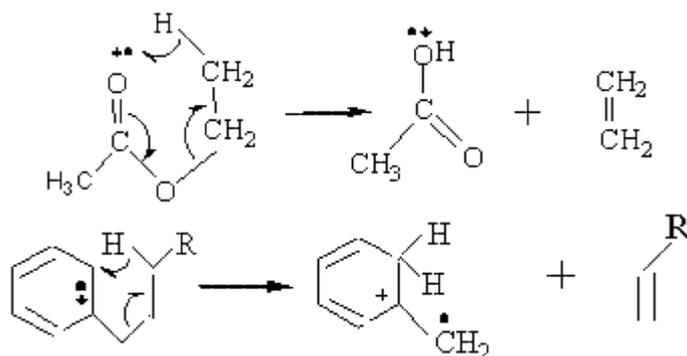
即三种同位素离子强度之比为 9: 6: 1。这样，如果知道了同位素的元素个数，可以推测各同位素离子强度之比。同样，如果知道了各同位素离子强度之比，可以估计出元素的个数。

(6) 重排离子

有些离子不是由简单断裂产生的，而是发生了原子或基团的重排，这样产生的离子称为重排离子。当化合物分子中含有 $C=X$ (X 为 O 、 N 、 S 、 C) 基团，而且与这个基团相连的链上有 γ 氢原子，这种化合物的分子离子碎裂时，此 γ 氢原子可以转移到 X 原子上去，同时 β 键断裂。例如，



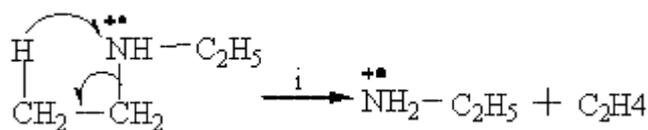
这种断裂方式是 McLafferty 在 1956 年首先发现的，因此称为 McLafferty 重排，简称麦氏重排。对于含有羰基这样的不饱和官能团的化合物， γ 氢是通过六元环过渡态转移的。凡是具有 γ 的氢的醛、酮、酯、酸及烷基苯、长链烯等，都可以发生麦氏重排。例如：



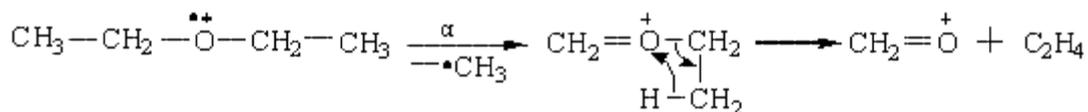
麦氏重排的特点如下：同时有两个以上的键断裂并丢失一个中性小分子，生成的重排离子的质量数为偶数。

除麦氏重排外，重排的种类还很多，经过四元环，五元环都可以发生重排。重排既可以是自由基引发的，也可以是电荷引发的。

自由基引发的重排：



电荷引发的重排：



二、EI 质谱的解释

一张化合物的质谱包含着有关化合物的很丰富的信息。在很多情况下，仅依靠质谱就可以确定化合物的分子量、分子式和分子结构。而且，质谱分析的样品用量极微，因此，质谱法是有机的有力工具。当然，对于复杂的有机化合物的定性，还要借助于红外光谱，紫外光谱，核磁共振等分析方法。

质谱的解释是一种非常困难的事情。自从有了计算机联机检索之后，特别是数据库越来越大的今天，尽管靠人工解释 EI 质谱已经越来越少，但是，作为对化合物分子断裂规律的了解，作为计算机检索结果的检验和补充手段，质谱图的人工解释还有它的作用，特别是对于谱库中不存在的化合物质谱的解释。另外，在 MS-MS 分析中，对子离子谱的解释，目前还没有现成的数据库，主要靠人工解释。因此，学习一些质谱解释方面的知识，在目前仍然是有必要的。

1、分子量确定

分子离子的质荷比就是化合物的相对分子质量。因此，在解释质谱时首先要确定分子离子峰，通常判断分子离子峰的方法如下：

- (1) 分子离子峰一定是质谱中质量数最大的峰，它应处在质谱的最右端。
- (2) 分子离子峰应具有合理的质量丢失。也即在比分子离子小 4-14 及 20-25 个质量单位处，不应有离子峰出现。否则，所判断的质量数最大的峰就不是分子离子峰。因为一个有机化合物分子不可能失去 4-14 个氢而不断链。如果断键，失去的最小碎片应为 CH_3 ，它的质量是 15 个质量单位。同样，也不可能失去 20-25 个质量单位。
- (3) 分子离子应为奇电子离子，它的质量数应符合氮规则。所谓氮规则是指在有机化合物分子中含有奇数个氮时，其分子量应为奇数。含有偶数个（包括 0 个）氮时，其分子量应为偶数。这是因为组成有机化合物的元素中，具有奇数价的原子具有奇数质量，具有偶数价的原子具有偶数质量，因此，形成分子之后，分子量一定是偶数。而氮则例外，氮有奇数价而具有偶数质量，因此，分子中含有奇数个氮，其分子量是奇数，含有偶数个氮，其分子量一定是偶数。

如果某离子峰完全符合上述三项判断原则，那么这个离子峰可能是分子离子峰；如果三项原则中有一项不符合，这个离子峰就肯定不是分子离子峰。应该特别注意的是，有些化合物容易出现 M-1 峰或 M+1 峰，另外，在分子离子很弱时，容易和噪音峰相混，所以，在判断分子离子峰时要综合考虑样品来源，性质等其他因素。如果经判断没有分子离子峰或分子离子峰不能确定，则需要采取其它方法得到分子离子峰，常用的方法有：

a. 降低电离能量

通常 EI 源所用电离电压为 70V，电子的能量为 70eV，在这样高能量电子的轰击下，有些化合物就很难得到分子离子。这时可采用 12eV 左右的低电子能量，虽然总离子流强度会大大降低，但有可能得到一定强度的分子离子峰。

b. 制备衍生物

有些化合物不易挥发或热稳定差，这时可以进行衍生化处理。例如有机酸可以制备成相应的酯，酯类容易汽化，而且容易得到分子离子峰，可以由此再推断有机酸的分子量。

c. 采取软电离方式

软电离方式很多，有化学电离源、快原子轰击源、场解吸源及电喷雾源等。要根据样品特点选用不同的离子源。软电离方式得到的往往是准分子离子，然后由准分子离子推断出真正的分子量。

2、 分子式确定

利用一般的 EI 质谱很难确定分子式。在早期，曾经有人利用分子离子峰的同位素峰来确定分子组成式。有机化合物分子都是由 C、H、O、N……等元素组成的，这些元素大多具有同位素，由于同位素的贡献，质谱中除了有质量为 M 的分子离子峰外，还有质量为 M+1，M+2 的同位素峰。由于不同分子的元素组成不同，不同化合物的同位素丰度也不同，贝农 (Beynon) 将各种化合物 (包括 C, H, O, N 的各种组合) 的 M、M+1、M+2 的强度值编成质量与丰度表，如果知道了化合物的分子量和 M、M+1、M+2 的强度比，即可查表确定分子式。例如，某化合物分子量为 M=150 (丰度 100%)。M+1 的丰度为 9.9%，M+2 的丰度为 0.88%，求化合物的分子式。根据 Beynon 表可知，M=150 化合物有 29 个，其中与所给数据相符的为 $C_9H_{10}O_2$ 。这种确定分子式的方法要求同位素峰的测定十分准确。而且只适用于分子量较小，分子离子峰较强的化合物，如果是这样的质谱图，利用计算机进行库检索得到的结果一般都比较好，不需再计算同位素峰和查表。因此，这种查表的方法已经不再使用。

利用高分辨质谱仪可以提供分子组成式。因为碳、氢、氧、氮的原子量分别为 12.000000, 10.07825, 15.994914, 14.003074，如果能精确测定化合物的分子量，可以由计算机轻而易举的计算出所含不同元素的个数。目前傅立叶变换质谱仪、双聚焦质谱仪、飞行时间质谱仪等都能给出化合物的元素组成。

3、 分子结构的确定

从前面的叙述可以知道，化合物分子电离生成的离子质量与强度，与该化合物分子的本身结构有密切关系。也就是说，化合物的质谱带有很强的结构信息，通过对化合物质谱的解释，可以得到化合物的结构。下面就质谱解释的一般方法做一说明。

(1) 谱图解释的一般方法

一张化合物的质谱图包含有很多的信息，根据使用者的要求，可以用来确定分子量、验证某种结构、确认某元素的存在，也可以用来对完全未知的化合物进行结构鉴定。对于不同的情况解释方法和侧重点不同。质谱图一般的解释步骤如下：

- a. 由质谱的高质量端确定分子离子峰，求出分子量，初步判断化合物类型及是否含有 Cl、Br、S 等元素。
- b. 根据分子离子峰的高分辨数据，给出化合物的组成式。
- c. 由组成式计算化合物的不饱和度，即确定化合物中环和双键的数目。计算方法为：

$$\text{不饱和度 } U = \text{四价原子数} - \frac{\text{一价原子数}}{2} + \frac{\text{三价原子数}}{2} + 1$$

例如，苯的不饱和度

$$U = 6 - \frac{6}{2} + \frac{0}{2} + 1 = 4$$

不饱和度表示有机化合物的不饱和程度，计算不饱和度有助于判断化合物的结构。

d. 研究高质量端离子峰。质谱高质量端离子峰是由分子离子失去碎片形成的。从分子离子失去的碎片，可以确定化合物中含有哪些取代基。常见的离子失去碎片的情况有：

M-15(CH ₃)	M-16(O, NH ₂)
M-17(OH, NH ₃)	M-18(H ₂ O)
M-19(F)	M-26(C ₂ H ₂)
M-27(HCN, C ₂ H ₃)	M-28(CO, C ₂ H ₄)
M-29(CHO, C ₂ H ₅)	M-30(NO)
M-31(CH ₂ OH, OCH ₃)	M-32(S, CH ₃ OH)
M-35(Cl)	M-42(CH ₂ CO, CH ₂ N ₂)
M-43(CH ₃ CO, C ₃ H ₇)	M-44(CO ₂ , CS ₂)
M-45(OC ₂ H ₅ , COOH)	M-46(NO ₂ , C ₂ H ₅ OH)
M-79(Br)	M-127(I)……

e. 研究低质量端离子峰，寻找不同化合物断裂后生成的特征离子和特征离子系列。例如，正构烷烃的特征离子系列为 m/z 15、29、43、57、71 等，烷基苯的特征离子系列为 m/z 91、77、65、39 等。根据特征离子系列可以推测化合物类型。

f. 通过上述各方面的研究，提出化合物的结构单元。再根据化合物的分子量、分子式、样品来源、物理化学性质等，提出一种或几种最可能的结构。必要时，可根据红外和核磁数据得出最后结果。

g. 验证所得结果。验证的方法有：将所得结构式按质谱断裂规律分解，看所得离子和所给未知物谱图是否一致；查该化合物的标准质谱图，看是否与未知谱图相同；寻找标样，做标样的质谱图，与未知物谱图比较等各种方法。

各类有机化合物主要断裂方式和碎片离子特征

化合物类型	主要断裂方式	系列离子和特征离子	附注
烷烃	σ -, σ - (随机),	15,29,43,57,71,··· $C_nH_{2n+1}^+$	烷基系列离子, 伴随有低强度的烯系列离子
烯烃	α -, γ H/ β -, i-	27,41,55,69,··· $C_nH_{2n-1}^+$	烯基系列离子
不饱和脂环	α -, H, RDA		
芳烃	α -, γ H/ β -, γ e	38,39,51 \pm 1,64 \pm 1,75-78,91	
脂醇	α -, α - γ H, γ d, γ H- i(-H ₂ O)	31,45,59,··· $C_nH_{2n+1}O^+$, M-18	M^+ 很弱或无
醚	α -, i-, α - γ H, α - i-	31, 45,59,73,87··· $C_nH_{2n+1}O^+$	
酚	γ H, α - i	M-28 (失 CO)	
醛	α -, i-, γ H/ β -	M-1, 29,44,M-44	M-1 较强
酮	α -, i-, γ H/ β -	58,(72,86,···) $C_nH_{2n}O^+$ (γ H/ β -)	长链醛酮出现烷基系列离子
酯	α -, α - i, γ H/ β -, γ 2H, 2 γ H	74 (甲酯 γ H/ β -) 149 (邻苯二甲酸酯) 87,143,199,255···(长链甲酯 γ 2H)	
脂肪酸	α -, / β -,	60(γ H/ β -),M-61, 73,129,185···(γ 2H)	
脂胺	α -, α - γ H	30,44,58,72,86··· $C_nH_{2n+2}N^+$	M-1 较强, α -断裂形成离子常为基峰
酰胺	α -, γ H/ β -	44,(58),72,··· (α -) 59,73,87,··· (γ H/ β -) 60 (γ 2H)	
脂腈	γ H/ β -, γ d	41,55,69,83,··· (γ H/ β -) 97 (长链腈, γ H/ β -) 68,82,96,110,124,···(γ d)	
硫醇	γ H- i(-H ₂ S), γ d	47,61,75,···(α -) 33(σ),M-34(γ H-,i)	长链硫醇出现烯基系列离子
硫醚	σ -, α -, γ H, i, α - γ H, γ d	47,61,75,···(α -)	
卤化物	α -, i-, γ d, γ H		
芳硝基化物	i-, γ H, , γ d	M-30, M-16, M-46···	
脂链硝基化物	i-, γ H/ β -, γ e	M-46 61 (长链)	

4、谱图分析举例

【例 1】 由元素分析测得某化合物的组成式为 $C_8H_8O_2$, 其质谱图如图 1.20, 确定化合物结构式:

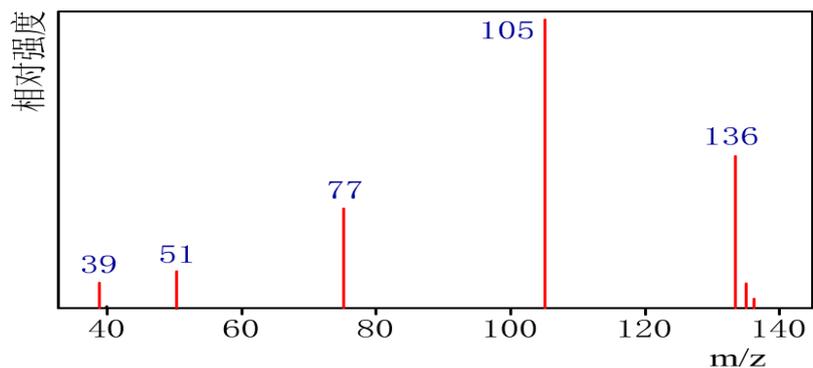


图 1.20 某未知化合物质谱图

[解]

a. 该化合物分子量 $M=136$

b. 该化合物的不饱和度
$$U = 8 - \frac{1}{2} + 1 = 5$$

由于不饱和度为 5，而且质谱中存在 m/z 77, 51 等峰，可以推断该化合物中含有苯环。

c. 高质量端质谱峰 m/z 105 是 m/z 136 失去质量为 31 的碎片 ($-\text{CH}_2\text{OH}$ 或 $-\text{OCH}_3$) 产生的， m/z 77 (苯基) 是 m/z 105 失去质量为 28 的碎片 ($-\text{CO}$ 或 $-\text{C}_2\text{H}_4$) 产生的。因为质谱中没有 m/z 91 离子，所以 m/z 105 对应的是 136 失去 CO ，而不 136 失去 C_2H_4 。

d. 推断化合物的结构为



最后，可以用标样确定未知物属于哪种结构。对于本例也可用红外光谱法进一步确证。

[例 2] 图 1.21 是某未知物质谱图，试确定其结构。

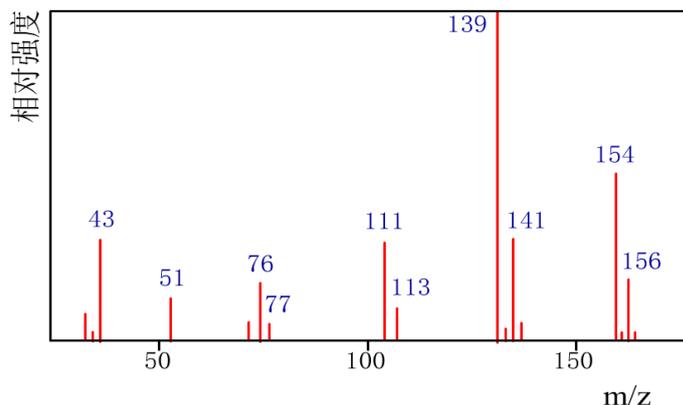


图 9.21 某未知化合物质谱图

[解]

a. 由质谱图可以确定该化合物的分子量 $M=154$ 。 m/z 156 是 m/z 154 的同位素峰

b. 由 m/z 154 和 m/z 156 之比约为 3:1，可以推测化合物中含有一个 Cl 原子。

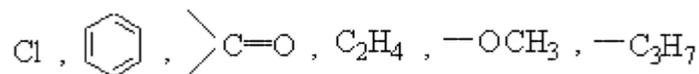
c. m/z 154 失去 15 个质量单位 (CH_3) 得 m/z 139 离子。

m/z 139 失去 28 个质量单位 (CO , C_2H_4) 得 m/z 111 离子。

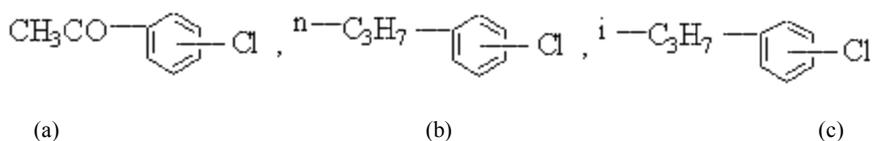
m/z 77、 m/z 76、 m/z 51 是苯环的特征离子。

m/z 43 可能是 $-\text{C}_3\text{H}_7$ 或 $-\text{COCH}_3$ 生成的离子。

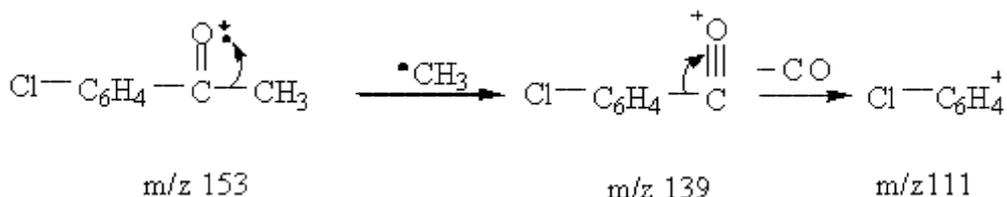
d. 由以上分析, 该化合物存在的结构单元可能有:



根据质谱图及化学上的合理性, 提出未知物的可能结构为:



上述三种结构中, 如果是(b), 则质谱中必然有很强的 m/z 125 离子, 这与所给谱图不符; 如果是(c), 根据一般规律, 该化合物也应该有 m/z 125 离子, 尽管离子强度较低。所以, 是这种结构的可能性较小; 如果是(a), 其断裂情况与谱图完全一致。



如果只依靠质谱图的解释, 可能给出(a)和(c)两种结构式。然后用下面的方法进一步判断:

- ① 查(a)、(c)的标准质谱图。看哪个与未知谱图相同。
- ② 利用标样做质谱图。看哪个谱图与未知物谱图相同。
- ③ 利用 MS-MS 联用技术, 确定离子间的相互关系, 进一步分析谱图, 最后确定未知物结构

三、软电离源质谱的解释

1、化学电离源质谱

化学电离可以用于 GC-MS 联用方式, 也可以用于直接进样方式, 对同样化合物二者得到的 CI 质谱是相同的。化学电离源得到的质谱, 既与样品化合物类型有关, 又与所使用的反应气体有关。以甲烷作为反应气, 对于正离子 CI 质谱, 既可以有 $(\text{M}+\text{H})^+$, 又可以有 $(\text{M}-\text{H})^-$, 还可以有 $(\text{M}+\text{C}_2\text{H}_5)^+$ 、 $(\text{M}+\text{C}_3\text{H}_5)^+$; 异丁烷作反应气可以生成 $(\text{M}+\text{H})^+$, 又可以 $(\text{M}+\text{C}_4\text{H}_9)^+$ 。用氨作反应气可以生成 $(\text{M}+\text{H})^+$, 也可以生成 $(\text{M}+\text{NH}_4)^+$ 。

如果化合物中含电负性强的元素, 通过电子捕获可以生成负离子。或捕获电子之后又产生分解形成负离子, 常见的有 M^- 、 $(\text{M}-\text{H})^-$ 及其分解离子。

CI 源也会形成一些碎片离子, 碎片离子又会进一步进行离子-分子反应。但 CI 谱和 EI 谱会有较大差别, 不能进行库检索。解释 CI 谱主要是为了得到分子量信息。解释 CI 谱时, 要综合分析 CI

谱、EI 谱和所用的反应气，推断出准分子离子峰。

2、快原子轰击源质谱

快原子轰击质谱主要是准分子离子，碎片离子较少。常见的离子有 $(M+H)^+$ 、 $(M-H)^-$ 。此外，还会生成加合离子，最主要的加合离子有 $(M+Na)^+$ 、 $(M+K)^+$ 等，如果样品滴在 Ag 靶上，还能看到 $(M+Ag)^+$ ，如果用甘油作为基质，生成的离子中还会有样品分子和甘油生成的加合离子。

FAB 源既可以得到正离子，也可以得到负离子。在基质中加入不同的添加剂，会影响离子的强度。加入乙酸，三氟乙酸等会使正离子增强，加入 NH_4OH 会使负离子增强。

3、电喷雾质谱

电喷雾源既可以分析小分子，又可以分析大分子。对于分子量在 1000Da 以下的小分子，通常是生成单电荷离子，少量化合物有双电荷离子。碱性化合物如胺易生成质子化的分子 $(M+H)^+$ ，而酸性化合物，如磺酸，能生成去质子化离子 $(M-H)^-$ 。由于电喷雾是一种很"软"的电离技术，通常很少或没有碎片。谱图中只有准分子离子，同时，某些化合物易受到溶液中存在的离子的影响，形成加合离子。常见的有 $(M+NH_4)^+$ 、 $(M+Na)^+$ 及 $(M+K)^+$ 等。

对于极性大分子，利用电喷雾源常常会生成多电荷离子，这些离子在质谱中的"表观"质量为

$$m/z = \frac{M + nH}{n}$$

式中 M 为真实质量， n 为电荷数。在一个多电荷离子系列中，任何两个相邻的离子只相差一个电荷，因此有： $n_1 = n_2 + 1$

如果用 M_1 表示电荷数为 n_1 的离子的质量， M_2 表示电荷数为 n_2 的离子的质量。则有：

$$M_2 = \frac{M + n_2 H}{n_2} \quad M_1 = \frac{M + n_1 H}{n_1}$$

解联立方程可得 $n_2 = (M_1 - H) / (M_2 - M_1)$ ， n_2 值取最接近的整数值。只要 n 值已知，原始的质量数就可以计算得到： $M = n_2(M_2 - H)$ 。现在，上述计算都有现成的程序进行，因此，只要得到了多电荷系列质谱，即可由计算机得到分子量。

大气压化学电离源 (APCI) 得到的主要是单电荷离子，通过质子转移，样品分子可以生成 $(M+H)^+$ 或 $(M-H)^-$ 。

第四节 质谱分析方法

质谱仪种类很多，不同类型的质谱仪的主要差别在于离子源。离子源的不同决定了对被测样品的不同要求，同时所得到信息也不同。质谱仪的分辨率也非常重要，高分辨质谱仪可以给出化合物的组成式，这对于未知物定性是至关重要的。因此，在进行质谱分析前，要根据样品状况和分析要

求选择合适的质谱仪。目前，有机质谱仪主要有两大类：气相色谱-质谱联用仪和液相色谱-质谱联用仪，现就这两类仪器的分析方法叙述如下：

一、GC-MS 分析方法

1、GC-MS 分析条件的选择

在 GC-MS 分析中，色谱的分离和质谱数据的采集是同时进行的。为了使每个组分都得到分离和鉴定，必须设备合适的色谱和质谱分析条件。

色谱条件包括色谱柱类型（填充柱或毛细管柱），固定液种类，汽化温度，载气流量，分流比，温升程序等。设置的原则是：一般情况下均使用毛细管柱，极性样品使用极性毛细管柱，非极性样品采用非极性毛细管柱，未知样品可先用中等极性的毛细管柱，试用后再调整。当然，如果有文献可以参考，就采用文献所用条件。

质谱条件包括电离电压，电子电流，扫描速度，质量范围，这些都要根据样品情况进行设定。为了保护灯丝和倍增器，在设定质谱条件时，还要设置溶剂去除时间，使溶剂峰通过离子源之后再打开灯丝和倍增器。

在所有的条件确定之后，将样品用微量注射器注入进样口，同时启动色谱和质谱，进行 GC-MS 分析。

2、GC-MS 数据的采集

有机混合物样品用微量注射器由色谱仪进样口注入，经色谱柱分离后进入质谱仪离子源在离子源被电离成离子。离子经质量分析器，检测器之后即成为质谱仪信号并输入计算机。样品由色谱柱不断地流入离子源，离子由离子源不断地进入分析器并不断地得到质谱，只要设定好分析器扫描的质量范围和扫描时间，计算机就可以采集到一个个的质谱。如果没有样品进入离子源，计算机采集到的质谱各离子强度均为 0。当有样品过入离子源时，计算机就采集到具有一定离子强度的质谱。并且计算机可以自动将每个质谱的所有离子强度相加。显示出总离子强度，总离子强度随时间变化的曲线就是总离子色谱图，总离子色谱图的形状和普通的色谱图是相一致的。它可以认为是用质谱作为检测器得到的色谱图。

质谱仪扫描方式有两种：全扫描和选择离子扫描。全扫描是对指定质量范围内的离子全部扫描并记录，得到的是正常的质谱图，这种质谱图可以提供未知物的分子量和结构信息。可以进行库检索。质谱仪还有另外一种扫描方式叫选择离子监测(select ion Monitoring SIM)。这种扫描方式是只对选定的离子进行检测，而其它离子不被记录。它的最大优点一是对离子进行选择性的检测，只记录特征的、感兴趣的离子，不相关的，干扰离子统统被排除，二是选定离子的检测灵敏度大大提高。在正常扫描情况下，假定一秒钟扫描 2-500 个质量单位，那么，扫过每个质量所花的时间大约是 1/500 秒，也就是说，在每次扫描中，有 1/500 秒的时间是在接收某一质量的离子。在选择离子扫描的情况下，假

定只检测 5 个质量的离子, 同样也用一秒, 那么, 扫过一个质量所花的时间大约是 1/5 秒。也就是说, 在每次扫描中, 有 1/5 秒的时间是在接收某一质量的离子。因此, 采用选择离子扫描方式比正常扫描方式灵敏度可提高大约 100 倍。由于选择离子扫描只能检测有限的几个离子, 不能得到完整的质谱图, 因此不能用来进行未知物定性分析。但是如果选定的离子有很好的特征性, 也可以用来表示某种化合物的存在。选择离子扫描方式最主要的用途是定量分析, 由于它的选择性好, 可以把由全扫描方式得到的非常复杂的总离子色谱图变得十分简单。消除其它组作造成的干扰。

3、GC-MS 得到的信息

a. 总离子色谱图

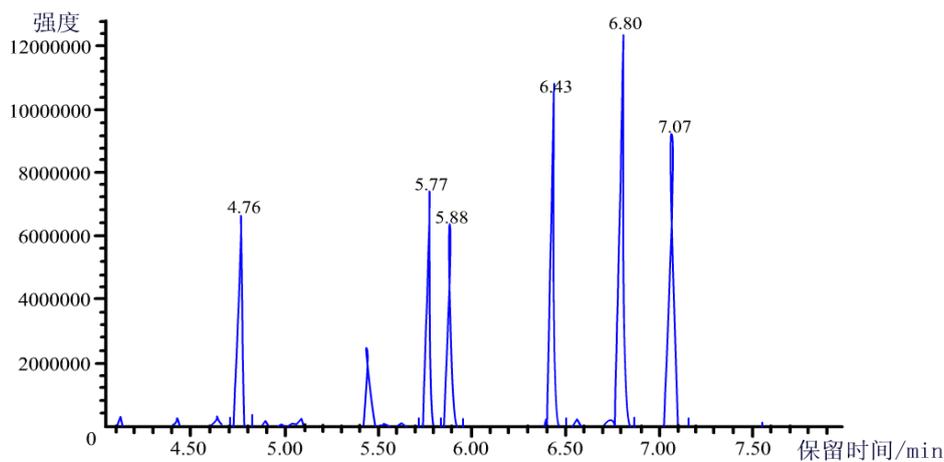


图 1.22 某样品的总离子色谱图

计算机可以把采集到的每个质谱的所有离子相加得到总离子强度, 总离子强度随时间变化的曲线就是总离子色谱图 (图 1.22), 总离子色谱图的横座标是出峰时间, 纵座标是峰高。图中每个峰表示样品的一个组份, 由每个峰可以得到相应化合物的质谱图; 峰面积和该组份含量成正比, 可用于定量。由 GC-MS 得到的总离子色谱图与一般色谱仪得到的色谱图基本上是一样的。只要所用色谱柱相同, 样品出峰顺序就相同。其差别在于, 总离子色谱图所用的检测器是质谱仪, 而一般色谱图所用的检测器是氢焰、热导等。两种色谱图中各成分的校正因子不同。

b. 质谱图

由总离子色谱图可以得到任何一个组分的质谱图。一般情况下, 为了提高信噪比。通常由色谱峰峰顶处得到相应质谱图。但如果两个色谱峰有相互干扰, 应尽量选择不发生干扰的位置得到质谱。或通过扣本底消除其他组分的影响。

c. 库检索

得到质谱图后可以通过计算机检索对未知化合物进行定性。检索结果可以给出几个可能的化合物。并以匹配度大小顺序排列出这些化合物的名称、分子式、分子量和结构式等。使用者可以根据

检索结果和其它的信息，对未知物进行定性分析。目前的 GC-MS 联用仪有几种数据库。应用最为广泛的有 NIST 库和 Willey 库，前者目前有标准化合物谱图 13 万张，后者有近 30 万张。此外还有毒品库，农药库等专用谱库。

d. 质量色谱图（或提取离子色谱图）

总离子色谱图是将每个质谱的所有离子加合得到的。同样，由质谱中任何一个质量的离子也可以得到色谱图，即质量色谱图。质量色谱图是由全扫描质谱中提取一种质量的离子得到的色谱图，因此，又称为提取离子色谱图。假定做质量为 m 的离子的质量色谱图，如果某化合物质谱中不存在这种离子，那么该化合物就不会出现色谱峰。一个混合物样品中可能只有几个甚至一个化合物出峰。利用这一特点可以识别具有某种特征的化合物，也可以通过选择不同质量的离子做质量色谱图，使正常色谱不能分开的两个峰实现分离，以便进行定量分析（见图 1.23）。由于质量色谱图是采用一种质量的离子作色谱图。

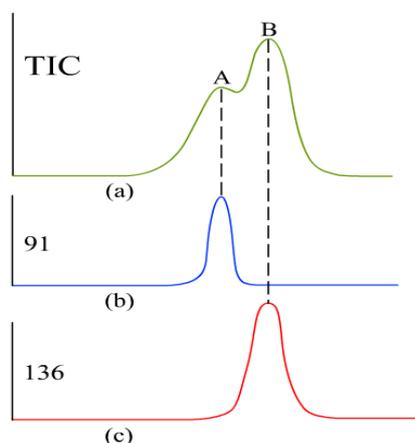


图 1.23 利用质量色谱图分开重叠峰

(a) 总离子流色谱图 (b) 以 m/z 91 所做的质量色谱图 (c) 以 m/z 136 所做的质量色谱图

因此，进行定量分析时也要使用同一离子得到的质量色谱图测定校正因子。

e. 选择离子监测 (select ion monitoring, SIM)

一般扫描方式是连续改变 V_{rf} 使不同质荷比的离子顺序通过分析器到达检测器。而选择离子监测则是对选定的离子进行跳跃式扫描。采用这种扫描方式可以提高检测灵敏度。由于这种方式灵敏度高，因此适用于量少且不易得到的样品分析。利用选择离子方式不仅灵敏度高，而且选择性好，在很多干扰离子存在时，利用正常扫描方式得到的信号可能很小，噪音可能很大，但用选择离子扫描方式，只选择特征离子，噪音会变得很小，信噪比大大提高。在对复杂体系中某一微量成分进行定量分析时，常常采用选择离子扫描方式。由于选择离子扫描不能得到样品的全谱。因此，这种谱图不能进行库检索，利用选择离子扫描方式进行 GC-MS 联用分析时，得到的色谱图在形式上类似质量色谱图。但实际上二者有很大差别。质量色谱图是全扫描得到的，因此可以得到任何一个质量的质

量色谱图；选择离子扫描是选择了一定 m/z 的离子。扫描时选定哪个质量，就只能有那个质量的色谱图。如果二者选择同一质量，那么，用 SIM 灵敏度要高得多。

4、GC-MS 定性分析

目前色谱联用仪的数据库中，一般贮存有近 30 万个化合物的标准质谱图。因此,GC-MS 最主要的定性方式是库检索。由总离子色谱图可以得到任一组分的质谱图，由质谱图可以利用计算机在数据库中检索。检索结果，可以给出几种最可能的化合物。包括化合物名称、分子式、分子量、基峰及可靠程度。表 1.2 是由计算机给出的某未知物谱图的检索结果。

表 1.2 某未知化合物的检索结果

Name	Molwt	Formula	Qual
2-Propenoic acid,3-(4-methoxyphenyl)-	206	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	99
2-Propenoic acid,3-(4-methoxyphenyl)-	206	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	98
Ethyl p-methoxycinnamate	206	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	89
2-Propenoic acid,3-(3-methoxyphenyl)-	206	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	64
Thiazole,4-phenyl-	161	C ₉ H ₇ NS	47
Thiazole,5-phenyl-	161	C ₉ H ₇ NS	47
1-Penten-3-one,1-(4-methoxyphenyl)-4-me	204	C ₁₃ H ₁₆ O ₂	43
Indenone,5-methylamino-2,3-dihydro-	161	C ₁₀ H ₁₁ N _O	38
2-(2-Thienyl)pyridine	161	C ₉ H ₇ NS	35
3-Isobutyl-4,5-dimethyl-3H-isobenzofuran	218	C ₁₄ H ₁₈ O ₂	35

利用计算机进行库检索是一种快速、方便的定性方法。但是在利用计算机检索时应注意以下几个问题：

(1) 数据库中所存质谱图有限，如果未知物是数据库中没有的化合物，检索结果也给出几个相近的化合物。显然，这种结果是错误的。

(2) 由于质谱法本身的局限性，一些结构相近的化合物其质谱图也相似。这种情况也可能造成检索结果的不可靠。

(3) 由于色谱峰分离不好以及本底和噪音影响，使得到的质谱图质量不高，这样所得到的检索结果也会很差。

因此，在利用数据库检索之前,应首先得到一张很好的质谱图,并利用质量色谱图等技术判断质谱中有没有杂质峰；得到检索结果之后,还应根据未知物的物理、化学性质以及色谱保留值、红外、核

磁谱等综合考虑,才能给出定性结果。

5、GC-MS 定量分析

GC-MS 定量分析方法类似于色谱法定量分析。由 GC-MS 得到的总离子色谱图或质量色谱图,其色谱峰面积与相应组分的含量成正比,若对某一组份进行定量测定,可以采用色谱分析法中的归一化法、外标法、内标法等不同方法进行。这时,GC-MS 法可以理解为将质谱仪作为色谱仪的检测器。其余均与色谱法相同。与色谱法定量不同的是,GC-MS 法可以利用总离子色谱图进行定量之外,还可以利用质量色谱图进行定量。这样可以最大限度的去除其它组份干扰。值得注意的是,质量色谱图由于是用一个质量的离子做出的,它的峰面积与总离子色谱图有较大差别,在进行定量分析过程中,峰面积和校正因子等都要使用质量色谱图。

为了提高检测灵敏度和减少其它组分的干扰,在 GC-MS 定量分析中质谱仪经常采用选择离子扫描方式。对于待测组分,可以选择一个或几个特征离子,而相邻组份不存在这些离子。这样得到的色谱图,待测组份就不存在干扰,同时有很高的灵敏度。用选择离子得到的色谱图进行定量分析,具体分析方法与质量色谱图类似。但其灵敏度比利用质量色谱图会高一些,这是 GC-MS 定量分析中常采用的方法。

二、LC-MS 分析方法

1、分析条件的选择

LC 分析条件的选择要考虑两个因素:使分析样品得到最佳分离条件并得到最佳电离条件。如果二者发生矛盾,则要寻求折中条件。LC 可选择的条件主要有流动相的组成和流速。在 LC 和 MS 联用的情况下,由于要考虑喷雾雾化和电离,因此,有些溶剂不适合于作流动相。不适合的溶剂和缓冲液包括无机酸,不挥发的盐(如磷酸盐)和表面活性剂。不挥发性的盐会在离子源内析出结晶,而表面活性剂会抑制其它化合物电离。在 LC-MS 分析中常用的溶剂和缓冲液有水,甲醇、甲酸、乙酸、氢氧化铵和乙酸铵等。对于选定的溶剂体系,通过调整溶剂比例和流量以实现好的分离。值得注意的是对于 LC 分离的最佳流量,往往超过电喷雾允许的最佳流量,此时需要采取柱后分流,以达到好的雾化效果。

质谱条件的选择主要是为了改善雾化和电离状况,提高灵敏度。调节雾化气流量和干燥气流量可以达到最佳雾化条件,改变喷嘴电压和透镜电压等可以得到最佳灵敏度。对于多级质谱仪,还要调节碰撞气流量和碰撞电压及多级质谱的扫描条件。

在进行 LC-MS 分析时,样品可以利用旋转六通阀通过 LC 进样,也可以利用注射泵直接进样,样品在电喷雾源或大气压化学电离源中被电离,经质谱扫描,由计算机可以采集到总离子色谱和质谱。

2、LC-MS 数据的采集和处理

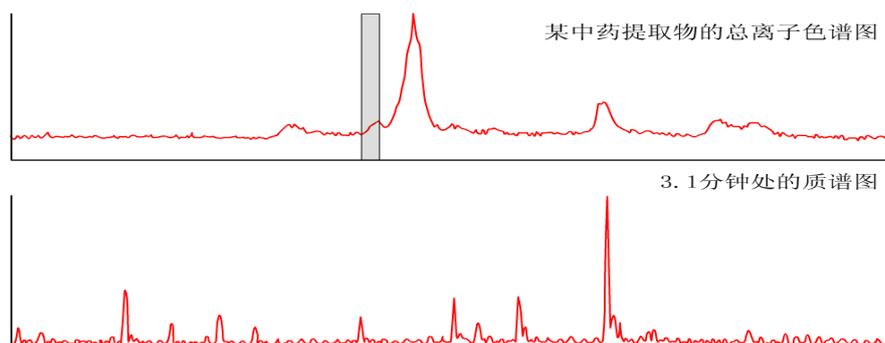


图 1.24 某中药提取物的总离子色谱图和质谱图

与 GC-MS 类似,LC-MS 也可以通过采集质谱得到总离子色谱图 (图 1.24)。此时得到的总离子色谱图与由紫外检测器得到的色谱图可能不同。因为有些化合物没有紫外吸收,用普通液相色谱分析不出峰,但用 LC-MS 分析时会出峰。由于电喷雾是一种软电离源,通常很少或没有碎片,谱图中只有准分子离子,因而只能提供未知化合物的分子量信息,不能提供结构信息。很难用来做定性分析。

为了得到未知化合物的结构信息,必须使用串联质谱仪,将准分子离子通过碰撞活化得到其子离子谱,然后解释子离子谱来推断结构。如果只有单级质谱仪,也可以通过源内 CID 得到一些结构信息。

3、 LC-MS 定性定量分析

LC-MS 分析得到的质谱过于简单,结构信息少,进行定性分析比较困难,主要依靠标准样品定性,对于多数样品,保留时间相同,子离子谱也相同,即可定性,少数同分异构体例外。

用 LC-MS 进行定量分析,其基本方法与普通液相色谱法相同。即通过色谱峰面积和校正因子(或标样)进行定量。但由于色谱分离方面的问题,一个色谱峰可能包含几种不同的组份,给定量分析造成误差。因此,对于 LC-MS 定量分析,不采用总离子色谱图,而是采用与待测组分相对应的特征离子得到的质量色谱图或多离子监测色谱图,此时,不相关的组分将不出峰,这样可以减少组份间的互相干扰,LC-MS 所分析的经常是体系十分复杂的样品,比如血液、尿样等。样品中有大量的保留时间相同、分子量也相同的干扰组分存在。为了消除其干扰,LC-MS 定量的最好办法是采用串联质谱的多反应监测(MRM)技术。即,对质量为 m_1 的待测组份做子离子谱,从子离子谱中选择一个特征离子 m_2 。正式分析样品时,第一级质谱选定 m_1 ,经碰撞活化后,第二级质谱选定 m_2 。只有同时具有 m_1 和 m_2 特征质量的离子才被记录。这样得到的色谱图就进行了三次选择:LC 选择了组份的保留时间,第一级 MS 选择了 m_1 ,第二级 MS 选择了 m_2 ,这样得到的色谱峰可以认为不再有任何干扰。然后,根据色谱峰面积,采用外标法或内标法进行定量分析。此方法适用于待测组份含量低,体系组份复杂且干扰严重的样品分析。比如人体药物代谢研究,血样,尿样中违禁药品检验等。图 1.25 是采用 MRM 技术分析的例子,上图为样品的总离子色谱图,下图为选定特征离子 m/z 309 和 m/z 241 后,利用 MRM 得到的色谱图

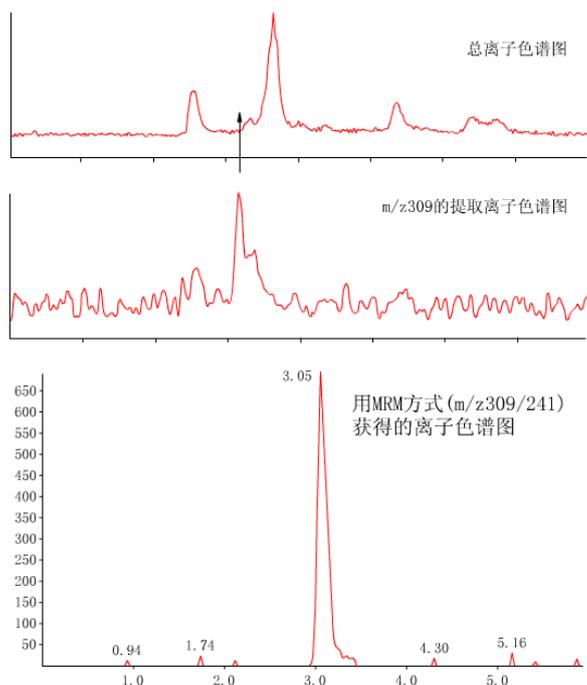


图 1.25 MRM 技术用于定量分析

第五节 质谱技术的应用

近年来质谱技术发展很快。随着质谱技术的发展,质谱技术的应用领域也越来越广。由于质谱分析具有灵敏度高,样品用量少,分析速度快,分离和鉴定同时进行等优点,因此,质谱技术广泛的应用于化学,化工,环境,能源,医药,运动医学,刑侦科学,生命科学,材料科学等各个领域。

质谱仪种类繁多,不同仪器应用特点也不同,一般来说,在 300℃左右能汽化的样品,可以优先考虑用 GC-MS 进行分析,因为 GC-MS 使用 EI 源,得到的质谱信息多,可以进行库检索。毛细管柱的分离效果也好。如果在 300℃左右不能汽化,则需要用 LC-MS 分析,此时主要得分子量信息,如果是串联质谱,还可以得一些结构信息。如果是生物大分子,主要利用 LC-MS 和 MALDI-TOF 分析,主要得分子量信息。对于蛋白质样品,还可以测定氨基酸序列。质谱仪的分辨率是一项重要技术指标,高分辨质谱仪可以提供化合物组成式,这对于结构测定是非常重要的。双聚焦质谱仪,傅立叶变换质谱仪,带反射器的飞行时间质谱仪等都具有高分辨功能。

质谱分析法对样品有一定的要求。进行 GC-MS 分析的样品应是有机溶液,水溶液中的有机物一般不能测定,须进行萃取分离变为有机溶液,或采用顶空进样技术。有些化合物极性太强,在加热过程中易分解,例如有机酸类化合物,此时可以进行酯化处理,将酸变为酯再进行 GC-MS 分析,由分析结果可以推测酸的结构。如果样品不能汽化也不能酯化,那就只能进行 LC-MS 分析了。进行 LC-MS 分析的样品最好是水溶液或甲醇溶液,LC 流动相中不应含不挥发盐。对于极性样品,一般采用 ESI 源,对于非极性样品,采用 APCI 源。

习题与练习

1. 质谱分析法；质谱分析的过程；
2. 质谱在现代分析中的特点；
3. 不管是哪种类型的质谱仪，其基本组成是相同的，都包括离子源、质量分析器、检测器和真空系统。
4. 离子源的作用；
5. 电子电离源的工作原理；
6. 解释离子源的电离过程可能的途径；
7. 化学电离源的电离途径；
8. 化学电离源与电子电离源的异同；
9. 快原子轰击源适合于分析大分子量、难气化、热稳定性差的样品；
10. 快原子轰击源的电离原理；
11. 电喷雾源既作为液相色谱和质谱仪之间的接口装置，同时又是电离装置；
12. 激光解析源；
13. 场电离源与场解析源；
14. MALDI 常用的基质有 2, 5 二羟基苯甲酸、芥子酸、烟酸、 α -氰基-4-羟基肉桂酸等；
15. 质谱分析器的作用；
16. 用于有机质谱仪的质量分析器有磁式双聚焦分析器，四极杆分析器，离子阱分析器，飞行时间分析器，回旋共振分析器等。
17. 为什么双聚焦分析器比单聚焦分析器具有较高的灵敏度？
18. 飞行时间质量分析器的工作原理；
19. 飞行时间质量分析器长期以来一直存在分辨率低这一缺点，造成分辨率低的主要原因在于离子进入漂移管前的时间分散、空间分散和能量分散，通过采取激光脉冲电离方式，离子延迟引出技术和离子反射技术，可以在很大程度上克服上述三个原因造成的分辨率下降。
20. 傅立叶变换离子回旋共振分析器离子的回旋频率与离子的质荷比成线性关系，测定离子共振频率的办法是外加一个射频辐射，傅立叶变换离子回旋共振分析器采用的是线性调频脉冲来激发离子，即在很短的时间内进行快速频率扫描，使很宽范围的质荷比的离子几乎同时受到激发。
21. 傅立叶变换离子回旋共振分析器的优缺点；
22. 检测系统采用的装置；
23. 电子倍增管和光电倍增管的区别；
24. 为什么质谱仪必须在高真空状态下工作？

25. 质谱检索常用的方法；PBM 检索方式的特点；
26. 一般真空系统由机械真空泵和扩散泵或涡轮分子泵组成；
27. GC-MS 主要由三部分组成：色谱部分、质谱部分和数据处理系统；
28. GC-MS 联用的特点；
29. LC-MS 接口装置的作用；
30. LC-MS 联用仪的质量分析器种类很多，最常用的是四极杆分析器（简称为 Q），其次是离子阱分析器（Trap）和飞行时间分析器（TOF）；
31. 亚稳离子；
32. 串联质谱法可以分为两类：空间串联和时间串联；对空间串联和时间串联加以说明；
33. 碰撞诱导分解/碰撞活化分解；
34. 三级四极质谱仪的工作方式；
35. 离子阱质谱仪 MS-MS 工作方式
36. 源后裂解；
37. 怎么鉴别一台质谱仪的性能优劣？
38. 灵敏度；分辨率；质量范围；质量稳定性和质量精度；
39. **GC-MS 灵敏度**；LC-MS 的灵敏度；
40. 分子离子；分子离子峰强弱的大致顺序；
41. 分子离子峰裂解的一般规律
42. 碎片离子还可以进一步碎裂形成更小的离子的机理；
43. 游离基引发的断裂与正电荷引发的断裂的异同；
44. α 断裂的几种情况；
45. 重排离子发生 McLafferty 重排的条件；麦氏重排的特点；
46. **EI 质谱的解释的步骤**；
47. 判断分子离子峰的方法；
48. 分子离子峰或分子离子峰不能确定，需要采取其它方法得到分子离子峰，常用的方法有；
49. **谱图解释的一般方法**
50. **谱图分析举例（两个例题）**；
51. 选择离子监测；其最大优点；
52. 质量色谱图；；
53. 全扫和选择离子监测区别；
54. 计算机进行库检索存在的问题；

55. LC 分析条件的选择要考虑两个因素；
56. LC 质谱分析条件选择的目的是；
57. 为了消除其干扰，LC-MS 定量的最好办法是采用串联质谱的多反应监测（MRM）技术；

第二章 核磁共振波谱法

第一节 核磁共振的基本原理

一、核磁共振的产生

1、原子核的磁矩

原子核由中子和质子所组成，因此有相应的质量数和电荷数。很多种同位素的原子核都具有磁矩，这样的原子核可称为磁性核，是核磁共振的研究对象。原子核的磁矩取决于原子核的自旋角动量 P ，其大小为：

$$P = \sqrt{I(I+1)} \frac{h}{2\pi} = \sqrt{I(I+1)} \hbar \quad (2.1)$$

式中： I 为原子核的自旋量子数。 h 为普朗克常数。

原子核可按 I 的数值分为以下三类：

(1) 中子数、质子数均为偶数，则 $I=0$ ，如 ^{12}C 、 ^{16}O 、 ^{32}S 等。此类原子核不能用核磁共振法进行测定。

(2) 中子数与质子数其一为偶数，另一为奇数，则 I 为半整数，如

$I=1/2$: ^1H 、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{19}F 、 ^{31}P 、 ^{37}Se 等；

$I=3/2$: ^7Li 、 ^9Be 、 ^{11}B 、 ^{33}S 、 ^{35}Cl 、 ^{37}Cl 等；

$I=5/2$: ^{17}O 、 ^{25}Mg 、 ^{27}Al 、 ^{55}Mn 等；

以及 $I=7/2$ 、 $9/2$ 等。

(3) 中子数、质子数均为奇数，则 I 为整数，如 $^2\text{H}(\text{D})$ 、 ^6Li 、 ^{14}N 等 $I=1$ ； ^{58}Co ， $I=2$ ； ^{10}B ， $I=3$ 。

(2)、(3) 类原子核是核磁共振研究的对象。其中，

$I=1/2$ 的原子核，其电荷均匀分布于原子核表面，这样的原子核不具有四极矩，其核磁共振的谱线窄，最宜于核磁共振检测。

凡 I 值非零的原子核即具有自旋角动量 P ，也就具有磁矩 μ ， μ 与 P 之间的关系为：

$$\mu = \gamma P \quad (2.2)$$

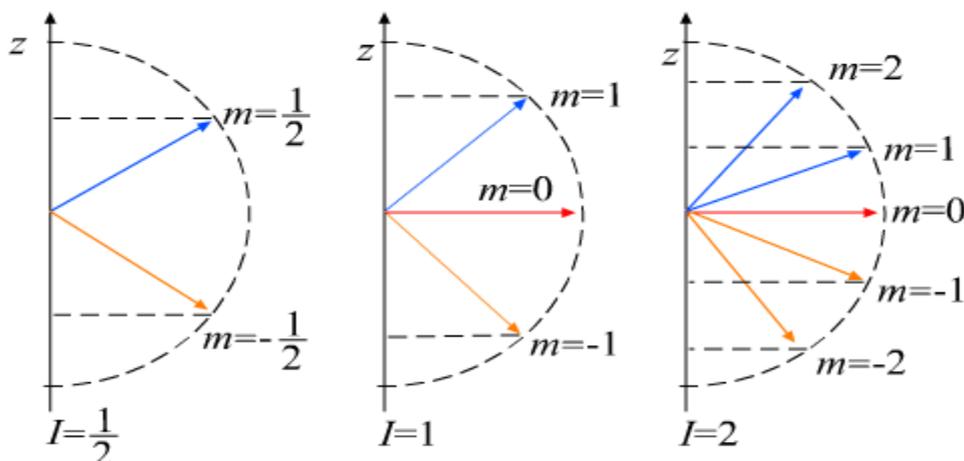
γ 称为磁旋比，是原子核的重要属性。

2、核动量矩及磁矩的空间量子比

当空间存在着静磁场，且其磁力线沿 z 轴方向时，根据量子力学原则，原子核自旋角动量在 z 轴上的投影只能取一些不连续的数值：

$$P_z = m\hbar \quad (2.3)$$

式中 m 为原子核的磁量子数, $m=I, I-1, \dots, -I$, 如图 2.1 所示。



与此相应, 原子核磁矩在 z 轴上的投影:

$$\mu_z = \gamma \hbar I_z = \gamma m \hbar \quad (2.4)$$

磁矩和磁场 B_0 的相互作用能为

$$E = -\boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{B}_0 = -\mu_z B_0 \quad (2.5)$$

将(2.4)式代入上式, 则有

$$E = -\gamma m \hbar B_0 \quad (2.6)$$

式中 B_0 为静磁感强度。

原子核不同能级之间的能量差则为:

$$\Delta E = -\gamma \Delta m \hbar B_0 \quad (2.7)$$

由量子力学的选律可知, 只有 $\Delta m = \pm 1$ 的跃迁才是允许的, 所以相邻能级之间发生跃迁所对应的能量差为:

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0 \quad (2.8)$$

另一方面, $m=I, I-1, \dots, -I$, 即核磁矩共有 $2I+1$ 个取向, 再利用式(2.5), 可得出相邻能级之间的能量差为:

$$\Delta E = \frac{\mu_z B_0}{I} \quad (2.9)$$

当用(2.9)式时, μ_z 表示 $\boldsymbol{\mu}$ 在 z 轴上的最大投影

3、核磁共振的产生

在静磁场中, 具有磁矩的原子核存在着不同能级。此时, 如运用某一特定频率的电磁波来照射样品, 并使该电磁波满足(2.8)式, 原子核即可进行能级之间的跃迁, 这就是核磁共振。当然, 跃迁时必须满足选律, 即 $\Delta m = \pm 1$ 。所以产生核磁共振的条件为:

$$h\nu = \gamma\hbar B_0 \quad \nu = \frac{\gamma B_0}{2\pi} \quad (2.10)$$

式中 ν 为该电磁波频率，其相应的圆频率为：

$$\omega = 2\pi\nu = \gamma B_0 \quad (2.11)$$

当发生核磁共振现象时，原子核在能级跃迁的过程中吸收了电磁波的能量，由此可检测到相应的信号。

二、弛豫过程

从(2.8)式可知，对磁旋比为 γ 的原子核外加一静磁场 B_0 时，原子核的能级会发生分裂。处于低能级的粒子数 n_1 将多于高能级的离子数 n_2 ，这个比值可用玻尔兹曼定律计算。由于能级差很小， n_1 和 n_2 很接近。设温度为 300K，磁感强度为 1.4092T（即 14092G，相应于 60MHz 射频仪器的磁感强度），可算出：

$$\frac{n_1}{n_2} = e^{\Delta E/kT} = e^{\hbar\gamma B_0/kT} = 1.0000099 \quad (2.12)$$

式中 k 为玻尔兹曼常数。

在符合(2.12)式的电磁波的作用下， n_1 减少， n_2 增加，因二者相差不多，当 $n_1=n_2$ 时不能再测出核磁共振信号，称作饱和。

由此看出，为能连续存在核磁共振信号，必须有从高能级返回低能级的过程，这个过程即称为弛豫过程。

弛豫过程有两类。其一为自旋-晶格弛豫，亦称为纵向弛豫。其结果是一些核由高能级回到低能级。该能量被转移至周围的分子（固体的晶格，液体则为周围的同类分子或溶剂分子）而转变成热运动，即纵向弛豫反映了体系和环境的能量交换；第二种弛豫过程为自旋-自旋弛豫，亦称为横向弛豫。这种弛豫并不改变 n_1 ， n_2 的数值，但影响具体的（任一选定的）核在能级停留的时间。这个过程是样品分子的核之间的作用，是一个熵的效应。

类似于化学反应动力学中的一级反应，纵向弛豫，横向弛豫过程的快慢分别用 $1/T_1$ 、 $1/T_2$ 来描述。

T_1 叫纵向弛豫时间， T_2 叫横向弛豫时间。

三、核磁共振参数

1、化学位移 δ

设想在某静磁场 B_0 中，不同种的原子核因有不同的磁旋比 γ ，因而也就有不同的共振频率。从这个角度来看，用核磁共振法可以检测出不同种的同位素（也就能检测不同种的元素）。这点确是可

以作到，但核磁共振法的最主要功效在于：对某一选定的磁性核种（某一同位素）来说，不同官能团中的核，其共振频率会稍有变化，即在谱图中的位置有所不同，因此由不同的谱峰的位置可以确定样品分子中存在着哪些官能团。这是因为核外电子对原子核有一定的屏蔽作用，实际作用于原子核的静磁感强度不是 B_0 而是 $B_0(1-\sigma)$ 。 σ 称为屏蔽常数。它反映核外电子对核的屏蔽作用的大小，也就是反映了核所处的化学环境，所以(6.10)式应写为：

$$\nu = \frac{\gamma}{2\pi} B_0(1-\sigma)$$

不同的同位素的 γ 相差很大，但任何同位素的 σ 均远远小于 1。

σ 和原子核所处化学环境有关，可用下式表示：

$$\sigma = \sigma_d + \sigma_p + \sigma_a + \sigma_s \quad (2.13)$$

σ_d 反映抗磁屏蔽的大小。以氢原子为例，氢核外的 s 电子在外加磁场的感应下产生对抗磁场，使原子核实际所受磁场的作用稍有降低，故此屏蔽称为抗磁屏蔽。

σ_p 反映顺磁屏蔽的大小。原子周围化学键的存在，使其原子核的核外电子运动受阻，即电子云呈现非球形。这种非球形对称的电子云所产生的磁场和抗磁效应的相反，故称为顺磁屏蔽。因 s 电子是球形对称的，所以它对顺磁屏蔽项无贡献，而 p 、 d 电子则对顺磁屏蔽有贡献。

σ_a 表示相邻基团磁各向异性的影响

σ_s 表示溶剂、介质的影响。

对于所有的同位素， σ_d 、 σ_p 的作用大于 σ_a 、 σ_s 。对于 ^1H ， σ_d 起主要作用，但对所有其它的同位素， σ_p 起主要作用。

按(2.13)式，各种官能团的原子核因有不同的 σ 故其共振频率 ν 不同，我们也可以设想为：选用某一固定的电磁波频率，扫描磁感强度而作图。核磁谱图的横坐标从左到右表示磁感强度增强的方向。 σ 大的原子核， $(1-\sigma)$ 小， B_0 需有相当增加方能满足共振条件，即这样的原子核将在右方出峰。因 σ 总是远远小于 1，峰的位置不便精确测定，故在实验中采用某一标准物质作为基准，以其峰位作为核磁谱图的坐标原点。不同官能团的原子核谱峰位置相对于原点的距离，反映了它们所处的化学环境，故称为化学位移 δ ，

$$\delta = \frac{B_{\text{标准}} - B_{\text{样品}}}{B_{\text{标准}}} \times 10^6 \quad (2.14)$$

式中 $B_{\text{样品}}$ 、 $B_{\text{标准}}$ 分别为在固定电磁波频率时，样品和标准物质满足共振条件时的磁感强度。 δ 的单位是 ppm，是无量纲的。

如作图时 B_0 保持不变，扫描电磁波频率，按传统的说法，谱图左方为高频方向，于是 (2.14) 式成为：

$$\delta = \frac{\nu_{\text{样品}} - \nu_{\text{标准}}}{\nu_{\text{标准}}} \times 10^6 \quad (2.15)$$

$$= \frac{\nu_{\text{样品}} - \nu_{\text{标准}}}{\nu_0} \times 10^6$$

上式分子比分母小几个数量级，因而基准物质的共振频率可用仪器的公称频率 ν_0 代替。

在测定 ^1H 及 ^{13}C 的核磁共振谱时，最常采用四甲基硅烷（TMS）作为测量化学位移的基准，因TMS只有一个峰（四个甲基对称分布），一般基团的峰均处于其左侧，且TMS又易除去（沸点 27°C ），在氢谱及碳谱中都规定 $\delta_{\text{TMS}}=0$ 。按“左正右负”的规定，一般化合物各基团的 δ 值均为正值。

需强调的是， δ 为一相对值，它与仪器所用的磁感强度无关。用不同磁感强度（也就是用不同电磁波频率）的仪器所测定的 δ 数值均相同。

不同的同位素因 σ 变化幅度不等， δ 变化的幅度也不同，如 ^1H 的 δ 小于20ppm， ^{13}C 的 δ 可达600ppm， ^{195}Pt 的 δ 可达13000ppm。

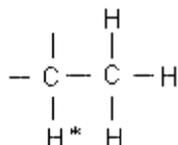
2、耦合常数

(1) 自旋-自旋耦合引起峰的裂分（分裂）

一般情况下，核磁共振谱都呈现谱峰的分裂，称之为峰的裂分。产生峰的裂分的原因在于核磁矩之间的相互作用，这种作用称为自旋-自旋耦合作用。

现以氢谱为例讨论因氢核之间的耦合作用引起的峰的裂分。

设想分子中有结构单元，我们讨论 H^* 原子。



由于甲基可以自由旋转，甲基中任何一个氢原子和 H^* 的耦合作用相同。甲基中的每一个氢有两种取向，即大体和磁场平行或大体和磁场反平行。粗略讲，这两种取向的几率是相等的，三个氢就有八种可能的取向($2^3=8$)，其中任何一种出现的几率都为 $1/8$ 。现设甲基上的3个氢原子为 H_1 、 H_2 、 H_3 。其核磁矩大体和外磁场方向相同者标注“+”，它对 H^* 产生的附加磁场 $+\text{B}'$ 。反之，甲基氢核磁矩大体和外磁场方向相反者标注“-”，它对 H^* 产生附加磁场为 $-\text{B}'$ 。考虑甲基上三个氢的总效果，这八种取向可归纳为表2.1所列四种分布情况。

表 2.1 甲基三个氢对邻碳氢产生的附加磁场

	I	II	III	IV
甲基中三个氢原子的取向	H ₁ H ₂ H ₃ +++	H ₁ H ₂ H ₃ ++- +-+ -++	H ₁ H ₂ H ₃ +-- -+- --+	H ₁ H ₂ H ₃ ---
甲基产生的总附加磁场	3 <i>B</i>	<i>B</i>	- <i>B</i>	-3 <i>B</i>
出现几率	1/8	3/8	3/8	1/8

在表 2.1 中，将++-、+-+和-++列在一起，因为它们之中三个氢产生的总附加磁场都为+*B*，与此类似，+--、-+-、--+产生的总附加磁场都为-*B*。

由上述可知，H*应呈图 2.2 所示峰形。

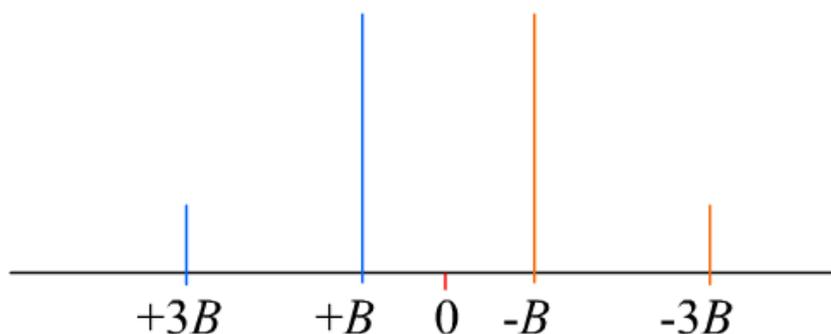


图 2.2 受甲基耦合作用长生的峰的裂分

图中 0 为 H*按 (2.12) 式计算的共振位置，即无自旋-自旋耦合时的共振位置。由于相邻甲基的存在，该处已不复存在共振谱线，该谱线分裂成了四条谱线。左端的谱线对应于 CH*与“+++”甲基相连的分子，这样的分子占总分子数的 1/8。由于甲基产生的附加磁场为+3*B*，因此在固定电磁波频率从低到高增强磁感强度扫描时，左端的谱线首先出峰，其余谱线均可按此理分析。

从上面的讨论推广、归纳，可以得出下列结论：

① 受耦合作用而产生的谱线裂分数为 $n+1$ ， n 表示产生耦合的原子核（其自旋量子数为 1/2）的数目，这称为 $n+1$ 规律。若考虑一般情况，因受自旋量子数为 I 的 n 个原子核耦合，产生的谱线数目为 $2nI+1$ ，这称为 $2nI+1$ 规律。 $n+1$ 规律是 $2nI+1$ 规律的特例($I=1/2$)，却是最经常使用的。需强调， n 为产生耦合作用的核数。在上面的例子中，产生耦合的基团为甲基， $n=3$ ，受甲基的耦合作用，CH*的谱线裂分为 4 条。

- ② 每相邻两条谱线间的距离都是相等的。
- ③ 谱线间强度比为 $(a+b)^n$ 展开式的各项系数。

以前面的例子为例， $n=3$ ，产生的四重峰的各峰的强度比为 1:3:3:1。

(2) 耦合常数

从图 2.2 可知，谱线裂分所产生的裂距是相等的，它反映了核之间耦合作用的强弱，称为耦合常数 J ，以 Hz 为单位。

耦合常数 J 反映的是两个核之间作用的强弱，故其数值与仪器的工作频率无关。耦合常数的大小和两个核在分子中相隔化学键的数目密切相关，故在 J 的左上方标以两核相距的化学键数目。如 $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ 之间的耦合常数标为 1J ，而 $^1\text{H}-^{12}\text{C}-^{12}\text{C}-^1\text{H}$ 中两个 ^1H 之间的耦合常数标为 3J 。耦合常数随化学键数目的增加而迅速下降，因自旋耦合是通过成键电子传递的。两个氢核相距四根键以上即难以存在耦合作用，若此时 $J \neq 0$ ，则称为远程耦合或长程耦合。碳谱中 2J 以上即称为长程耦合。

谱线分裂的裂距反映耦合常数 J 的大小，确切地说，反映了 J 的绝对值。 J 是有正负号的，但在常见的谱图中往往不能确定它的符号。

(3) 其它参数

a. 峰面积

峰面积反映了某种（官能团）原子核的定量信息。这对推测未知物结构或对混合物体系进行定量分析均是重要的。核磁谱仪在画完样品的谱图之后，可以再画出相应的积分曲线，图 2.3 是一例。

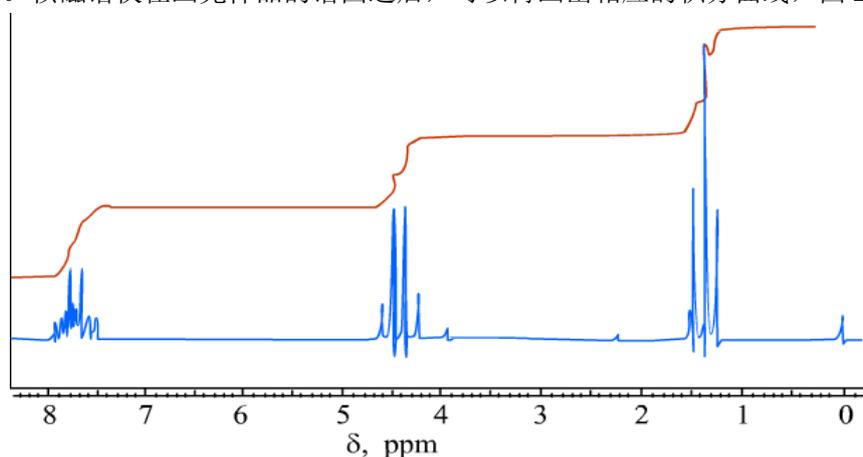


图 2.3 邻苯二甲酸二乙酯的核磁共振氢谱

图 2.3 是该化合物的氢谱，因而各含氢官能团均有相应的峰组。图中从左到右的三组峰，分别为邻位二取代苯环、 CH_2 和 CH_3 的谱峰。积分曲线位于这些峰组的上方，即呈现若干水平阶梯状的曲线。相邻二水平阶梯之间的高度代表其下方所对应的峰面积，因此用直尺即可量出各峰组面积之比。图 2.3 是纯样的谱图，各峰组的面积之比反映各官能团的氢原子数之比。如果样品为一混合物，

而各组分的峰又可相互识别，由核磁共振谱图就可顺利地进行定量分析。

其它核的核磁共振谱图峰面积的作用与氢谱类似，但由于弛豫时间长、NOE 效应等，峰面积有可能和对应的原子核不呈准确的比例关系。核磁共振碳谱即是一个重要的例子。在记录这些核的核磁共振谱图时，为得到准确的定量信息，作图时的参数应恰当设置并需采用一定的方法（特定的脉冲序列）方能取得满意的结果。

b. 纵向弛豫时间 T_1 和横向弛豫时间 T_2

弛豫时间和所讨论的核在分子中的环境有关。弛豫时间的测定有助于谱线归属的标识，也可用来研究分子的大小，分子（或离子）与溶剂的缔合，分子内的旋转，链节运动，分子运动的各向异性等，需补充的是 T_1 较 T_2 更能提供信息。

第二节 核磁共振波谱仪

本节所讨论的内容限于测试液态样品的高分辨核磁共振波谱仪，不涉及测定固体样品及生物活体的特殊要求。

一、脉冲-傅里叶变换核磁共振波谱线

在上一节，我们了解了核磁共振的原理。为产生核磁共振，必须满足(2.10)式。最简单的方式就是固定电磁波频率，连续扫描静磁感强度来实现。当然也可以固定静磁感强度，连续改变电磁波频率。不论上述中的哪一种，都称为连续扫描方式，以这样方式工作的谱仪称为连续波谱仪。这样的谱仪有很多缺点：效率低，采样慢，难于累加，更不能实现核磁共振的新技术，因此连续波谱仪已被取代为脉冲-傅里叶变换核磁共振波谱图。

所有傅里叶变换分析仪器都有共同点：首先是在一个很短的时间内激发所有的检测对象，使它们都产生相应的信号；其次是计算机把所有检测对象同时产生的信号（我们称为时域信号，因其变量为时间）转换为按频率分布的信号，即我们所熟悉的频谱。对傅里叶变换核磁共振波谱来说，首先就要使不同基团的核同时共振，同时产生各自的核磁共振信号。为达到这点，我们在某一时刻对样品应加一个相当宽的频谱的射频。如要从原理上作一较深刻的叙述，需应用宏观磁化强度矢量的概念，本书因篇幅所限，故从另一角度加以解释，这恰是脉冲-傅里叶变换核磁共振谱仪具体实现的方法。

频率为 ν_0 的连续、等幅的射频波，一旦受到一个脉冲方波序列的调制之后，实际上包含了多个分立的射频分量（这是一个傅里叶分解的问题）。设脉冲方波的时间间隔为 t_p ，脉冲的周期为 PD ，射频分量的频率间隔为 $1/PD$ 。射频分量强度的外包络线则用下式表示（参阅图 2.4）。

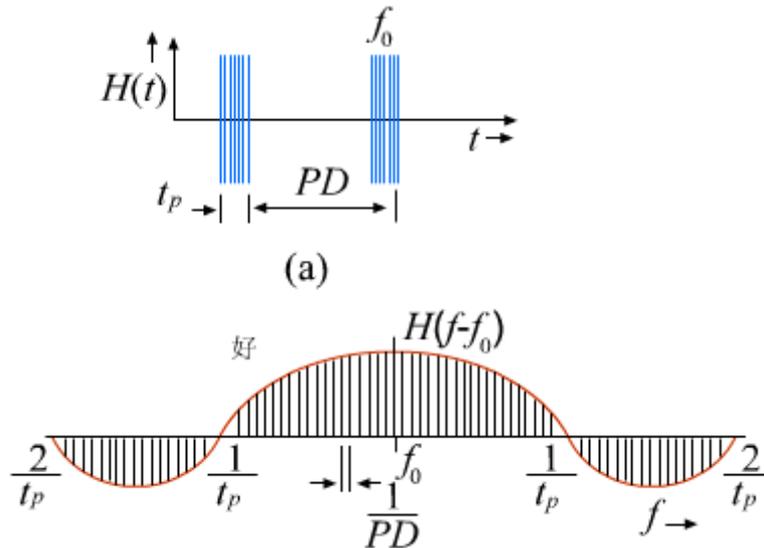


图 2.4 f_0 的射频受脉冲方波调制后含多个分立的射频分量

$$H(f - f_0) = \frac{At_p}{PD} \frac{\sin \pi(f - f_0)t_p}{\pi(f - f_0)t_p} \quad (2. 16)$$

式中， $H(f - f_0)$ 为与 f_0 之差为 $f - f_0$ 的射频分量的强度； A 为脉冲方波的强度。

从上式可知，当 $f - f_0 = 1/t_p$ 时， $H(f - f_0)$ 为零。因 t_p 为 $10 \mu s$ 数量级，故 $1/t_p$ 为 10^5Hz 数量级，这是很宽的频谱。无论对于哪种同位素的核磁共振测量，化学位移的宽度都是有限的，即不同基团的共振频率离 f_0 都不远。在这样条件下， $H(f - f_0)$ 事实上可以近似认为相等。另一方面，因 PD 是数秒乃至更长，分立的射频分量其频率间隔实际上靠得相当近。综上所述，采用这样的方式，实际上能使样品中不同基团的核同时共振，且各射频分量的强度可近似认为相等。

从上面的讨论可知，脉冲宽度应足够短。另一方面，从理论上分析，脉冲应有足够的强度。我们可以这样来理解，连续波谱仪在任一瞬间最多只有一种原子核共振，而现在，几微秒的时间间隔之内，所有的原子核（指所观测的但处于不同官能团的某种同位素）都要共振，它们吸收的能量都来自脉冲，因而脉冲需有足够强度。在连续波谱仪中，射频强度是 10^{-6}T 数量级，而在傅里叶变换谱仪中是几到几十 10^{-4}T 数量级。

在强而短的脉冲作用下，所观测的同位素的所有不同官能团的原子核都发生了核磁共振。在脉冲停止之后，它们都产生相应的核磁共振信号。这些信号含多种频率，总的信号是多种频率信号的叠加。这样的信号是以时间为变量的，也是随时间而衰减的，称作自由感应衰减信号。这样的信号是不能直接利用的，因它是时畴谱（时域谱），人们不能识别，需要把它转换成频畴谱（频域谱），这个转换由计算机完成，这是一个傅里叶变换过程。

$$F(\omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} f(t) e^{-i\omega t} dt \quad (2. 17)$$

式中, $F(\omega)$ 为以圆频率 ω 为变量的核磁共振谱线强度; i 为单位复数。

傅里叶变换核磁共振波谱仪的原理早已被探讨清楚, 但直至 1965 年 Cooley 和 Tukey 提出快速傅里叶变换计算方法后, 商品傅里叶变换核磁共振波谱仪才得以在 70 年代问世。

采用脉冲-傅里叶变换仪器可方便地对少量样品进行累加测试。使对样品量的要求大为降低并大大改善信噪比。由于采用脉冲, 因而可以设计多种脉冲序列, 完成多种用连续波谱仪根本无法完成的实验, 有人称之为“自旋工程”。多种多样的核磁共振二维谱就是重要的例子。

二、 谱仪的主要部件

核磁共振波谱仪在空间上由两部分: 磁铁或磁体(内含探头)和谱仪主体。高频谱仪采用超导磁体, 它与谱仪主体相距较大, 以降低磁场对操作人员的影响。

1. 磁铁或磁体

磁铁或磁体产生强的静磁场, 以满足产生核磁共振的要求。按(2.10)式, 谱仪的磁感强度 B_0 和谱仪工作频率是成正比的。100MHz(以氢核计)的谱仪所需磁感强度为 2.35T(特斯拉, 1 特斯拉等于 10000 高斯)。100MHz 以下的低频谱仪采用电磁铁或永久磁铁。由于电磁铁不可避免地会消耗大量电能, 已经停止生产, 因此仅采用永久磁铁。200MHz 以上高频谱仪采用超导磁体, 它利用含铌合金在液氮温度下的超导性质。超导磁体(及其中心的探头)的结构如图 2.5 所示。

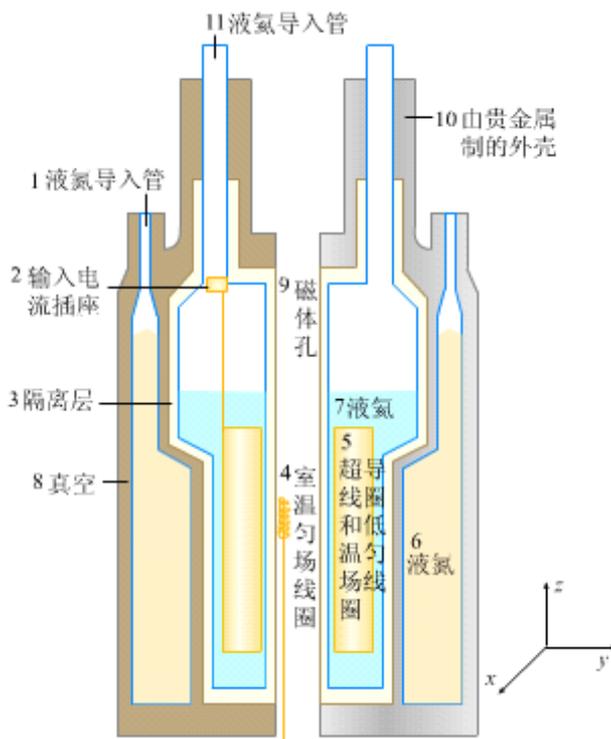


图 2.5 超导磁体的结构

由含铌合金丝缠绕的超导线圈完全浸泡在液氦中间。为减低液氦的消耗, 其外围是液氮层。液氦及液氮均由高真空的罐体贮存, 以降低蒸发量。在液氦、液氮均灌装以后, 由一套专用的连接装置, 通过液氮导管下方的超导线圈电流输入插座, 对超导线圈缓慢地通入电流。当超导线圈中的电

流达到额定值（也即是产生额定的磁感强度时），使线圈的两接头闭合。只要液氮始终完全淹没线圈，含铌合金在此温度下的超导性则使电流一直维持下去。以上过程为谱仪安装过程中的升场。液氮需及时补充，视不同谱仪而定，约为3至10月。每7至10天则需补加液氮。

磁体的中心为探头，为使磁力线均匀，铅垂，设置有两大组匀场线圈。每大组匀场线圈又由多组线圈构成。后者每组线圈产生一组特殊的磁力线，由它们的综合作用，产生均匀的磁场。两（大）组匀场线圈为低温匀场线圈和室温匀场线圈。低温匀场线圈浸泡在液氮中，升场以后进行调节。室温匀场线圈由分析测试人员在放置样品管后进行调节。

无论是用磁铁或磁体，核磁共振谱仪均要求磁场高度均匀，若样品中各处磁场不均匀，按(2.10)式，各处的原子核共振频率不同，这将导致谱峰加宽，即分辨率下降。为使磁场均匀，除前面所讲的采用低温和室温两大组匀场线圈之外，还有后面将叙述的使样品管旋转。我们还要求磁场随时间稳定，这就要采用锁场装置，其原理如图2.6所示。

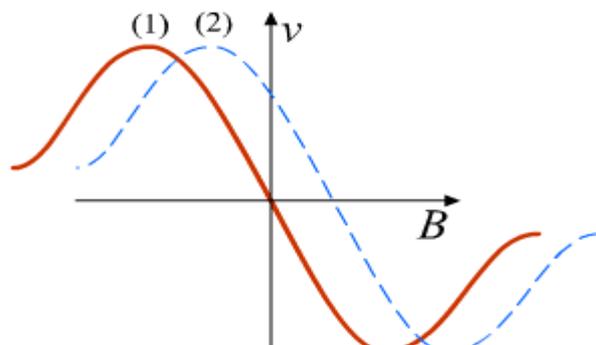


图2.6 色散信号用于锁场

(1) 磁场未漂移（处于共振条件）时的色散信号； (2) 磁场漂移时， ω_0 处的色散信号值不未零。

在核磁共振谱图上显示的是吸收信号，即以频率（或磁感强度）为横坐标，以垂直于共振频率的轴为对称轴的对称信号。事实上，通过对信号“相位”的调整，可以得到色散信号，即以频率变量为横坐标，以共振频率 ω_0 为反对称中心的信号。锁场就采用某一参考信号的色散信号。当磁场未漂移时，色散信号值为零。磁场漂移后，色散信号不为零，产生一个与磁场变化 ΔB_0 成正比的输出电压，该电压被放大后反馈到适当的线圈，后者反过来给出一个方向相反的磁场 $-\Delta B_0$ 。图2.6(2)表明磁场漂移后信号的输出。

2. 探头

探头是核磁谱仪的核心部件，它固定于磁体或磁铁的中心，为圆柱形，探头的中心放置装载样品溶液的样品管。探头对样品发射产生核磁共振的射频波脉冲并检测核磁共振的信号。这两个功能常可由一个线圈来完成。在此线圈之外有去耦线圈，以测得去耦的谱图。

为改善磁场的均匀性，在样品管上部套有一个涡轮转子。压缩空气从其切向吹来，涡轮转子带动样品管一起转动。测试溶液样品的核磁谱仪，其转速约为 20 周/秒左右，另有一套管路系统，用于变温测量。

样品管旋转的副作用是可能产生旋转边带，即在信号左右对称处出现边带峰（强的信号产生边带强，较弱信号明显）。改变旋转速度，边带峰与样品峰的距离相应变化，由此可以确认边带。

从产生射频宽窄的角度，探头分为两类：一种是产生固定频率的探头，一种为频率连续可调的探头。前者如检测 ^1H 和 ^{13}C 的双核探头，检测 ^1H 、 ^{31}P 、 ^{13}C 和 ^{15}N 的四核探头。后者产生的射频则连续可调，高频起于 ^{31}P 的共振频率。低频限有不同的产品，如终止于 ^{15}N 或 ^{109}Ag 的共振频率。

通常的探头检测线圈在里，去耦线圈在外，以便得到较高的检测灵敏度。氢以外的磁性核，如 ^{13}C ， ^{19}F ， ^{31}P ， ^{15}N 等，它们的磁旋比均比氢低得多，检测灵敏度也就低得多。现在有一种反问模式（inverse mode）探头，用于这些核的二维谱的测定，可大大提高检测灵敏度，因它实际检测的是 ^1H 。

较新的谱仪探头配有产生脉冲场梯度的装置。它的功用为抑制溶剂峰和大大缩短测定二维核磁共振谱的时间（当样品有足够的量时）。

3. 谱仪主体

除磁体（或磁铁）和探头之外，核磁共振谱仪尚包括多个部件，如射频发生器，前置放大器，接收器等等。由于是傅里叶变换分析仪器，必须有相应的计算机硬件、软件。高频核磁谱仪一般配有工作站，以进行复杂的运算和操作。

三、实验方法和技术

1、 样品的制备

在测试样品时，选择合适的溶剂配制样品溶液，样品的溶液应有较低的粘度，否则会降低谱峰的分辨率。若溶液粘度过大，应减少样品的用量或升高测试样品的温度（通常是在室温下测试）。

当样品需作变温测试时，应根据低温的需要选择凝固点低的溶剂或按高温的需要选择沸点高的溶剂。

对于核磁共振氢谱的测量，应采用氘代试剂以便不产生干扰信号。氘代试剂中的氘核又可作核磁谱仪锁场之用。以用氘代试剂作锁场信号的"内锁"方式作图，所得谱图分辨率较好。特别是在微量样品需作较长时间的累加时，可以边测量边调节仪器分辨率。

对低、中极性的样品，最常采用氘代氯仿作溶剂，因其价格远低于其它氘代试剂。极性大的化合物可采用氘代丙酮、重水等。

针对一些特殊的样品，可采用相应的氘代试剂：如氘代苯（用于芳香化合物、芳香高聚物）、氘代二甲基亚砜（用于某些在一般溶剂中难溶的物质）、氘代吡啶（用于难溶的酸性或芳香化合物）等。

对于核磁共振碳谱的测量，为兼顾氢谱的测量及锁场的需要，一般仍采用相应的氘代试剂。

为测定化学位移值，需加入一定的基准物质。基准物质加在样品溶液中称为内标。若出于溶解度或化学反应性等的考虑，基准物质不能加在样品溶液中，可将液态基准物质（或固态基准物质的溶液）封入毛细管再插到样品管中，称之为外标。

对碳谱和氢谱，基准物质最常用四甲基硅烷。

2、记录常规氢谱的操作

记录氢谱是单脉冲实验，即在一个脉冲作用之后，随即开始采样。为使所得谱图有好的信噪比，检测时需进行累加，即重复上述过程。由于氢核的纵向弛豫时间一般较短，重复脉冲的时间间隔不用太长。

对于一些化合物，要设置足够的谱宽。羧酸、有缔合的酚、烯醇等的化学位移范围均可超过10ppm。如设置的谱宽不够大，-OH、-COOH 的峰会折叠进来，给出错误的 δ 值。

在完成记录氢谱谱图的操作之后，随即对每个峰组进行积分，最后所得的谱图含有各峰组的积分值，因而可计算各类氢核数目之比。

若怀疑样品中有活泼氢（杂原子上连的氢）时，可在作完氢谱之后，滴加两滴重水，振荡，然后再记谱，原活泼氢的谱峰会消失，这就确切地证明了活泼氢的存在。

当谱线重叠较严重时，可滴加少量磁各向异性溶剂（如氘代苯），重叠的谱峰有可能分开。也可以考虑用同核去耦实验来简化谱图。

3、记录常规碳谱的操作

常规碳谱为对氢进行去耦的谱图。各种级数的碳原子（ CH_3 ， CH_2 ， CH ， C ）均只出一条未分裂的谱线。由于各种碳原子的纵向弛豫时间有很大的差别以及核的 Overhauser 效应，谱线的高度（严格讲是谱线的峰面积）和碳原子的数目不成正比，但也可从谱线高度估计碳原子的数目。

记录常规碳谱是单脉冲实验，即在一个脉冲作用之后，随即开始采样。由于碳谱的灵敏度远比氢谱为低，记录碳谱必须进行累加。由于碳原子的纵向弛豫时间长，重复脉冲的时间间隔还不能太短，否则纵向弛豫时间长的碳原子出峰效率差。在特殊的作图条件下，季碳原子的峰有可能漏掉。因此该时间间隔不可太短。

有时需要定量碳谱，即谱峰面积（近似看是谱线高度）和碳原子数成正比。减少脉冲倾角并加大重复脉冲的时间间隔，可逐渐向定量碳谱转变。但要记录较好的定量碳谱，需采用特定的脉冲序列。

在记录碳谱时，需设置足够的谱宽，以防止峰的折叠现象。

由于常规碳谱不能反映碳原子的级数，而这对推导未知物结构或进行结构的指认是不利的，因

而必须予以补充。早期多采用偏共振去耦，自 80 年代以后，陆续采用各种脉冲序列，最常用的叫做 DEPT。DEPT 脉冲序列中有一个脉冲，其偏转角为 θ 。当 $\theta=90^\circ$ 时，只有 CH 出峰，当 $\theta=135^\circ$ 时，CH、CH₃ 出正峰，CH₂ 出负峰，这两张谱图的结合，可指出 CH、CH₂ 和 CH₃。对比全去耦谱图，则可知季碳（它们在 DEPT 谱中不出峰），于是所有碳原子的级数均可确定。

4、记录二维核磁共振谱

关于二维核磁共振谱的概念和应用，请参阅后面的 6.6。

在进行二维核磁共振实验时，必须采用一定的脉冲序列。不同的脉冲序列得到不同的二维核磁共振谱，它们各自有其不同的功效和应用。

在每种二维谱脉冲序列中，都有一个时间变量，通常称为 t_1 。例如， t_1 可能是某两个脉冲之间的时间间隔。在进行二维核磁共振实验时， t_1 是逐渐变化的，即：

$$t_1 = t_0 + n \Delta t_1 \quad (2.18)$$

式中： t_0 为一个微秒级常数，由仪器决定；

Δt_1 为 t_1 的增量；

n 为正整数， $n=0, 1, 2, \dots$ 。

n 的多少决定了二维核磁共振谱 $F_1(\omega_1)$ 维的分辨率。 F_1 或 ω_1 维是二维核磁共振谱的垂直方向。常用的 n 的数值为 128 或 256，特殊时可到 512。

t_1 是从 t_0 开始然后逐渐增加的。对每一个 t_1 数值，还可能进行相循环，即进行若干次采样（最多可达 16 次），然后相加。经相循环（若干次采样相加）可提高信噪比。然而，当样品浓度足够大时，为选出所需的信号，相循环仍是不可少的。如果核磁共振谱仪配有脉冲-场梯度装置，样品浓度又足够大，就不用相循环了。此时对每一个 t_1 ，只进行一次采样，因而可大大缩短记录二维核磁共振谱所需的时间。

当样品浓度不够大时，在每一个 t_1 ，均需进行采样的累加，如采用相循环，这二者就结合进行了。

在所设定的 n 个 t_1 采样都结束以后，需进行两次傅里叶变换，最后得到二维核磁共振谱。这个过程如图 2.7 所示。

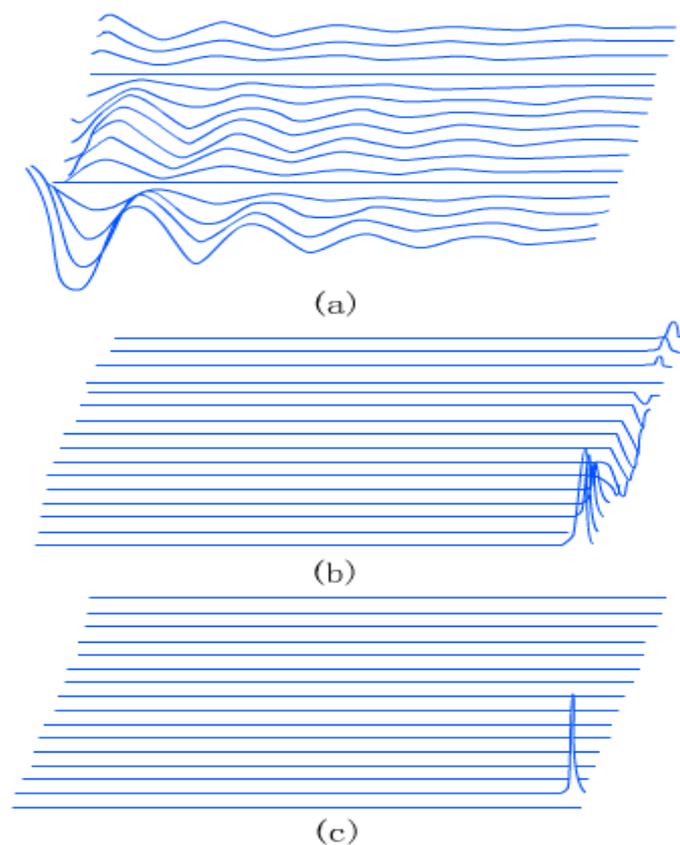


图 2.7 两次傅立叶变换产生二维核磁共振

下面对图 2.7 作一说明。

在脉冲序列结束之后的采样时间称为 t_2 。图 2.7(a)中从左到右为 t_2 增大的方向，曲线簇从下到上为 t_1 增大的方向。在采样结束之后我们得到的是时域信号 (a)。我们先暂把 t_1 作为非变量，对 t_2 进行傅里叶变换，我们得到(b)。在(b)中从左到右的曲线是频域谱。从下到上的若干条频谱曲线仍形成一个曲线簇。如果在(b)的右端作一截面，从右端(t_1)的方向来看是一正弦曲线，因而可以再进行傅里叶变换，这是第二次傅里叶变换，是对 t_1 进行，于是得到(c)。在(c)中从左到右是频率坐标，从下到上也是频率坐标，这就是一张二维核磁共振谱了。所以我们知道二维核磁共振谱的两个变量都频率，具体是哪两个频率，由具体是哪种二维核磁共振谱来定。

5、多重共振

为产生核磁共振，必须应用电磁波（即交变电磁场，对核磁共振起作用的是交变电场）来照射样品，以供给能级跃迁所需的能量。通常将交变电场记为 B_1 ，以与静磁场 B_0 相区别。在此同时，我们可以用另一电磁波辐照某一官能团的某核种（或辐照所有官能团的某核种），该电磁波标记为 B_2 ，这时所记谱图会有一些的变化（峰形、裂距改变和峰面积改变等）。以同核自旋去耦为例，设有 $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ 结构单元， CH_3 原应显示三重峰，现在若对 CH_2 照射 B_2 (B_2 具有足够大强度)， CH_2 的两个氢核都在两个能级间快速跃迁，对 CH_3 所产生的局部磁场平均为零，因此 CH_3 只显现单峰。因同时应用 B_1 和 B_2 两个交变电场，故称为双照射，亦称双共振。一般而论，无论采用几个交变电场，均可称为多

重照射或多重共振。应当指出的是，双照射是最常见的情况。

当 B_2 的功率不同及照射位置不同时，双共振有不同的实验现象（也就有不同的用途），分别有不同的名称，本书将最常用的双共振方法列于表 2.2，并对谱图有改变者加以统一描述。

表 2.2 常用的双共振

名称	实验现象	主要用途
同核自旋去耦（氢谱）	谱线简化	1. 确定耦合体系 2. 简化谱图 3. 隐藏信号定位
异核自旋全去耦	异核对所观察核的耦合裂分被去除	1. 避免因耦合裂分产生的峰组相互（或部分）重叠。 2. 增强谱线强度
偏共振去耦（碳谱）	氢核对碳-13 谱线的裂距缩短	减轻因耦合裂分产生的峰组相互（或部分）重叠。
选择性去耦	某观察核谱峰变单峰，其余核同偏共振去耦	确定某一对异核间的键合关系
核 Overhauser 效应（NOE，包括同核及异核）	峰面积增加（在照射核与观测核 γ 异号时，峰面积减小）	确认某两核在空间的距离相近

动态核磁共振实验

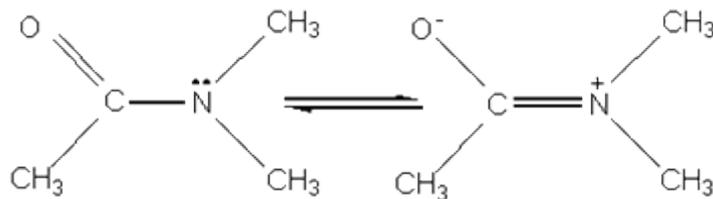
(1) 动态核磁共振实验

动态核磁共振实验是核磁共振波谱学中有一定独立性的分枝。它以核磁共振为工具，研究一些动力学过程，得到动力学和热力学的参数。

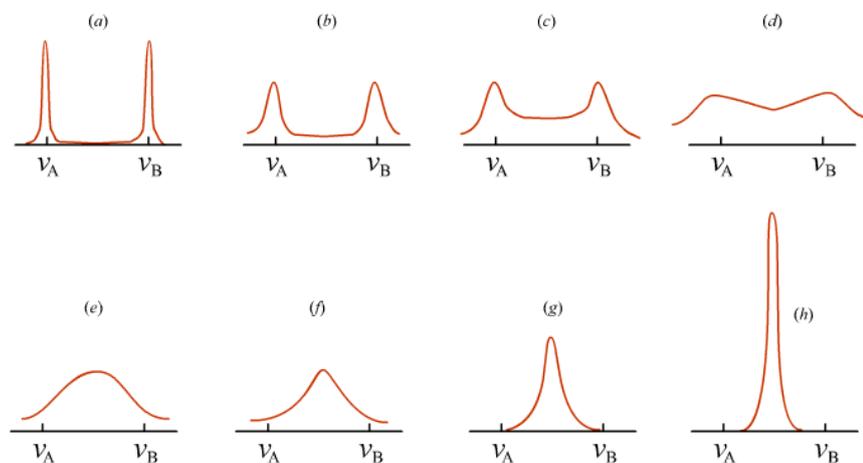
每种仪器有其相应的“时标”，相当于照相机快门速度。当自然界过程远快于仪器时标时，仪器测量的是一个平均结果；当自然界过程远慢于仪器时标时，仪器测量的结果不反映变化的全过程而只是一个瞬间的写照。时标的量纲为秒，频率的量纲为 1/秒，即时标与频率互为倒数关系。从红外到紫外吸收光谱，电磁波频率范围为 10^{12} - 10^{15} Hz，核磁共振氢谱所用的电磁波频率约为 10^8 Hz，比前者低了几个数量级。从时标的角度看，核磁的时标比红外、紫外的时标长（慢）了几个数量级。实际情况还不止于此。高分辨核磁共振氢谱所研究的对象为溶液，经常所遇到的课题为分子内旋转、化学交换反应等。在这样的过程中，某些官能团的化学位移值有一定的变化。对固定的仪器来说，化学位移之差可以频率之差 $\Delta \nu$ 来表示。对这样的动力学过程，实际时标为 $1/\Delta \nu$ ，这已经相应于毫秒的数量级了。因此，很多动力学过程速度变化的范围相应于核磁共振的时标可从快过程到慢过

程，即用核磁共振可以对这些过程进行全面的研究。

动力学过程有若干种类，现以下述化合物为例来讨论受阻旋转。



由于分子内 C—N 单键具有双键的性质，它不能自由旋转，N 上两个甲基不是化学等价的，各自有其 δ 值，在室温下作图可以观察到两个峰。随着温度升高，阻碍 C—N 旋转的位叠（相当于化学反应中的活化能）起的作用相对减小，C—N 旋转加快，在相对于时标快速旋转的情况下，两个甲基各自的平均效果是一样的，因此，当温度由低到高的时，核磁信号有图 2.9 中从左至右的变化。

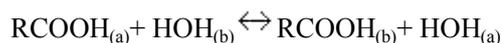


从图 2.9 可以看到，在图的左端（相当低的温度）或图的右端（相当高的温度），核磁信号都是尖锐的，中间部分信号则较钝。当两个宽的峰会合时，它们之间的凹处正好消失，这时的温度称作融合温度 T_c 。它是动力学核磁实验的一个重要参灵敏，由 T_c 可求出一些重要的动力学和热力学参数。

构象互变，异构化反应，化学交换反应等过程都与上面所讲的受阻旋转类似。

(2) 活泼氢 (OH、NH、SH) 的图谱

前述内容不完全属于结构分析的范畴，但掌握其基本概念对核磁谱图的分析是必要的。当存在着快速交换反应时，如：



有相应的计算 δ 值的公式：

$$\delta_{\text{观测}} = N_a \delta_a + N_b \delta_b \quad (2.19)$$

式中 $\delta_{\text{观测}}$ 为观测到活泼氢的平均的化学位移值； N_a 、 N_b 分别为(a)、(b)两种活泼氢的摩尔分数； δ_a 、 δ_b 分别为(a)、(b)两种活泼氢的 δ 值。

从(2.19)式可知，以上述的羧酸水溶液为例，如均为快交换反应，其核磁谱图并不显示纯水或纯

羧酸的信号，而是观察到一个综合的、平均的活泼氢信号。

当体系存在多种活泼氢时，如样品分子既含羧基，也含胺基或羟基时，其核磁谱图也只显示一个综合的，平均的活泼氢信号。此时(2.19)式演变为：

$$\delta_{\text{观测}} = \sum N_i \delta_i \quad 2.20$$

式中 N_i 为第 i 种活泼氢的摩尔分数； δ_i 为第 i 种活泼氢的 δ 值。

-OH、-NH、-SH 是常见的活泼氢基团，其交换速度的顺序为 OH>NH>SH（巯基在一般条件下不显示快交换反应）。当它们进行快速交换反应时，除有由（2.20）式所示的一个"表观"的化学位移外，由于快速交换反应的存在，活泼氢和相邻的含氢基团的谱线都不再存在它们之间的耦合分裂现象。这两点在解析谱图时是应加以注意的。

由于活泼氢可被交换，因此，怀疑样品含活泼氢时，在作完核磁氢谱之后，加几滴重水并振荡，羟基、胺基的氢即被氘取代。再作图时，如发现原图中某些峰消失，即确认了活泼氢的存在。这是一种可靠的鉴定活泼氢的方法。

第三节 核磁共振氢谱与有机化合物结构的关系

一、化学位移

1、氢谱中影响化学位移的因素

化学位移的大小决定于屏蔽常数 σ 的大小。屏蔽常数的一般表达式如(2.13)式所示。氢的原子核外只有 s 电子，故抗磁屏蔽 σ_d 起主要作用， σ_p 不用考虑。 σ_s 及 σ_s 对 σ 有一定的影响。

由于抗磁屏蔽起主导作用，可以预言：若结构上的变化或介质的影响使氢核外电子云密降低，将使谱峰的位置移向低场（谱图的左方），这称作去屏蔽作用；反之，屏蔽作用则使峰的位置移向高场。

关于 ^1H 谱化学位移的影响因素已有较好的归纳，主要有下列几点：

(1) 取代基电负性

由于诱导效应，取代基电负性越强，与取代基连结于同一碳原子上的氢的共振峰越移向低场，反之亦然。以甲基的衍生物为例：

化合物	CH_3F	CH_3OCH_3	CH_3Cl	CH_3I	CH_3CH_3	CH_3Li
δ (ppm)	4.26	3.24	3.05	2.16	0.88	-1.95

取代基的诱导效应可沿碳链延伸， α 碳原子上的氢位移较明显， β 碳原子上的氢有一定的位移， γ 位以后的碳原子上的氢位移甚微。

(2) 相连碳原子的 s - p 杂化

与氢相连的碳原子从 sp^3 (碳碳单键) 到 sp^2 (碳碳双键), s 电子的成分从 25% 增加至 33%, 键电子更靠近碳原子, 因而对相连的氢原子有去屏蔽作用, 即共振位置移向低场。至于炔氢谱峰相对于烯氢处于较高场, 芳环氢谱峰相对于烯氢处于较低场, 则因另有较重要的影响因素所致。

(3) 环状共轭体系的环电流效应

乙烯的 δ 值为 5.23ppm, 苯的 δ 值为 7.3ppm, 而它们的碳原子都是 sp^2 杂化。有人曾计算过, 若无别的影响, 仅从 sp^2 杂化考虑, 苯的 δ 值应该大约为 5.7ppm。实际上, 苯环上氢的 δ 值明显地移向了低场, 这是因为存在着环电流效应。

设想苯环分子与外磁场方向垂直, 其离域 π 电子将产生环电流。环电流产生的磁力线方向在苯环上、下方与外磁场磁力线方向相反, 但在苯环侧面 (苯环的氢正处于苯环侧面), 二者的方向则是相同的。即环电流磁场增强了外磁场, 氢核被去屏蔽, 共振谱峰位置移向低场 (图 2.10)。

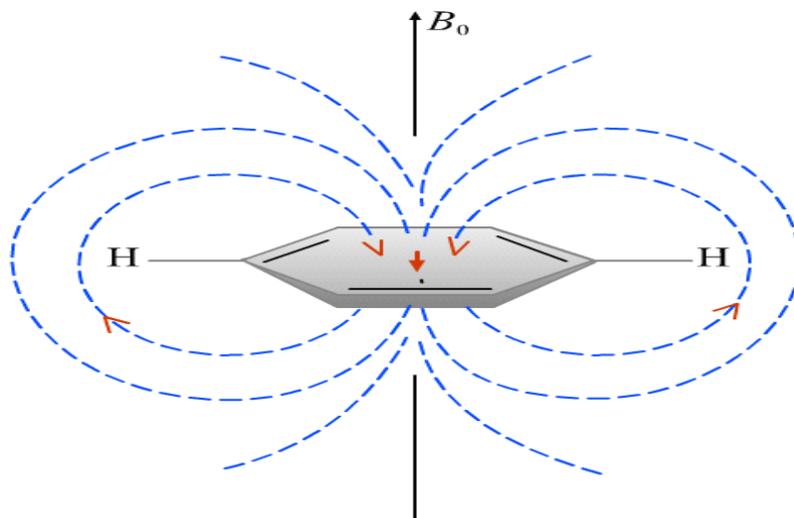


图 2.10 苯环的环电流效应

高分辨核磁共振所测定的样品是溶液, 样品分子在溶液中处于不断翻滚的状态。因此, 在考虑氢核受苯环 π 电子环电流的作用时, 应以苯环平面相对磁场的各种取向进行平均。苯环平面垂直于外磁场方向时, 前已论及。若苯环平面与外磁场方向一致时, 则外磁场不产生诱导磁场, 氢不受去屏蔽作用。对苯环平面的各种取向进行平均的结果, 氢受到的是去屏蔽作用。不仅是苯, 所有具有 $4n+2$ 个离域 π 电子的环状共轭体系都有强烈的环电流效应。如果氢核在该环的上、下方则受到强烈的屏蔽作用, 这样的氢在高场方向出峰, 甚至其 δ 值可小于零。在该环侧面的氢核则受到强烈的去屏蔽作用, 这样的氢在低场方向出峰, 其 δ 值较大。

(4) 相邻键的磁各向异性

首先考虑试样为双原子分子 AB。外磁场 B_0 作用于 A 原子, 在该处诱导出一个磁矩 μ_A 。

$$\mu_A = \chi_A B_0 \quad (2.21)$$

式中 χ_A 为 A 原子的磁化率。

以 A-B 键为 x 轴方向，并由此定出 y, z 轴方向， μ_A 可分解为三个分量： $\mu_A(x)$ ， $\mu_A(y)$ ， $\mu_A(z)$ 。虽然处于液态试样中的 AB 分子在不断地翻滚，但理论计算指出，若 μ_A 的三个分量数值不等，A 会对 B 的屏蔽常数产生影响。这种讨论可以推广到多原子分子。对于任一指定的原子，连接该原子的化学键因具有磁各向异性，会对该原子的屏蔽常数产生影响（也就是影响了该原子的化学位移）。

化学键的磁各向异性是普遍存在的。图 2.10 表示了几种化学键的磁各向异性作用。从该图可以看到，在键轴方向或在其垂线方向形成了一对圆锥面。若圆锥面内为屏蔽作用（以“+”表示）则圆锥面外为去屏蔽作用（以“-”表示）。值得注意的是，碳-碳单键也具有磁各向异性，因此环上 CH_2 的两个氢的化学位移值略有差别。

炔氢处于 $\text{C}\equiv\text{C}$ 键轴方向，受到强烈的屏蔽，因此相对烯氢在高场出峰，这种强烈的屏蔽作用和 $\text{C}\equiv\text{C}$ 键 π 电子只能绕键轴转动密切相关。

前述的环电流效应也可以认为是磁各向异性作用，但环电流效应更以存在较多的离域 π 电子为特征，它产生的磁各向异性作用也较强，故单独列为一项讨论。

（5）相邻基团电偶极和范德华力的影响

当分子内有强极性基团时，它在分子内产生电场，这将影响分子内其余部分的电子云密度，从而会影响其它核的屏蔽常数。

当所讨论的氢核和邻近的原子间距小于范德华半径之和时，氢核外电子被排斥， σ_d 减小，共振移向低场。

（6）介质的影响

不同溶剂有不同的容积导磁率，使样品分子所受的磁感强度不同；不同溶剂分子对溶质分子有不同的作用，因此介质影响 δ 值。值得指出的是，当用氘代氯仿作溶剂时，有时加入少量氘代苯，利用苯的磁各向异性，可使原来相互重叠的峰组分开。这是一项有用的实验技术。

（7）氢键

作为实验结果，无论是分子内还是分子间氢键的形成都使氢受到去屏蔽作用，羧基形成强的氢键，因此其 δ 值一般都超过 10ppm。

2. 化学位移的具体数值

各种含氢官能团的 δ 值参阅表 2.3。

CH_3 、 CH_2 、 CH 、烯氢、苯环氢等的 δ 均有经验计算公式及相应的参数，也有若干图表对其 δ 值加以标注。

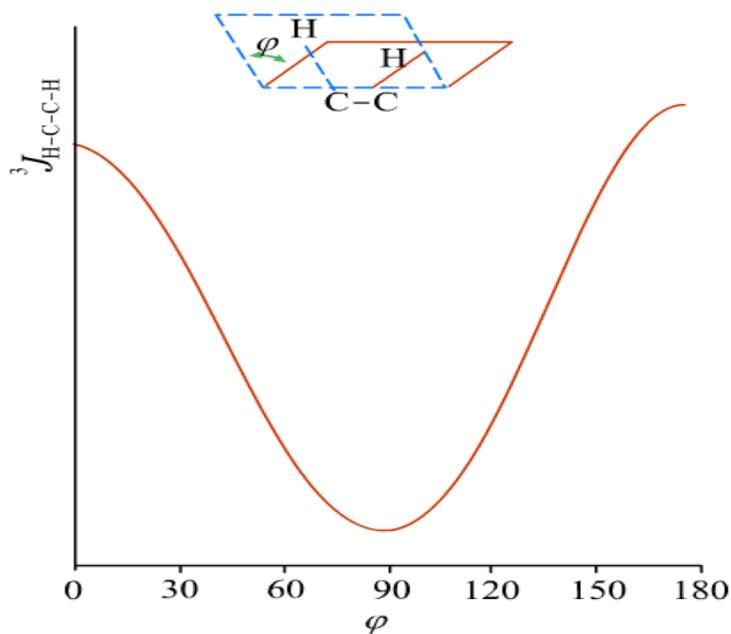


图 2.12 ${}^3J_{\text{H-C-C-H}}$ 时二面角 φ 的函数关系

2. 取代基团的电负性

随着取代基电负性的增加， 3J 的数值下降，烯氢的 3J 数值下降较快。

3. 键长

3J 随键长减小而增大。

4. 键角

3J 随键角减小而增大。

跨距大于三根键的耦合都称为长程耦合。长程耦合常数较 3J 小很多，当跨越的键包括 π 键时，一般存在长程耦合。在饱和碳氢键上一般不存在长程耦合。

三、谱图解析

1. 一级谱和二级谱

设有相互耦合的两个核组，每个核组的核都有相同的 δ 值。现两个核组的 δ 值分别为 δ_1 和 δ_2 ，再设任一核组的所有核对另一核组中的任一核都具有相同的耦合常数 J 。我们可以计算 $|\delta_1 - \delta_2|/J$ 的数值（分子、分母用同一单位：Hz 或 ppm）。这个比值对核磁谱图的复杂程度起着重要作用。当该比值大时（至少大于 3），核磁谱图较简单；当该比值小时，谱图复杂。

这个比值和使用的仪器有关。设 $|\delta_1 - \delta_2| = 0.1 \text{ ppm}$ ， $J = 6 \text{ Hz}$ ，当使用 60 MHz 仪器时，0.1 ppm 对应 $60 \times 10^6 \times 0.1 \times 10^{-6} = 6 \text{ (Hz)}$ ，故 $|\delta_1 - \delta_2|/J = 1$ ；当使用 300 MHz 仪器时，0.1 ppm 对应 $300 \times 10^6 \times 0.1 \times 10^{-6} = 30 \text{ (Hz)}$ ，则 $|\delta_1 - \delta_2|/J = 5$ 。这两个数值分别对应上一段所述的两种情况，由此可见使用高频仪器可简化谱图。

两个核组之间的耦合关系对谱图的复杂程度是重要的。如果它们之间只有一个耦合常数，则谱图较简单；如果不只一个耦合常数，则谱图较复杂。

由于上述原因，核磁谱图分为一级谱和二级谱。

一级谱图可用 $n+1$ 规律来分析（或用其近似分析；对于 $I \neq 1/2$ 的原子核则应采用更普遍的 $2nI+1$ 规律分析）。二级谱则不能用 $n+1$ 规律分析。产生一级谱的条件为：

- ① $|\delta_1 - \delta_2|/J$ 的数值较大，至少大于 3。
- ② 相同 δ 值的几个核对任一另外的核有相同的耦合常数。

一级谱具有下列特点：

① 峰的数目可用 $n+1$ 规律描述。需要注意的是， $n+1$ 规律是对应一个固定的 J 而言的。若所讨论的核组相邻 n 个氢，但与其中 n_1 个氢有耦合常数 J_1 ，与其余的 n_2 个氢有耦合常数 J_2 ($n_1+n_2=n$)，则所讨论的核组具有 $(n_1+1)(n_2+1)$ 个峰，其余类推。

② 峰组内各峰的相对强度可用二项式展开系数近似地表示。

③ 从图可直接读出 δ 和 J 。峰组中心位置为 δ 。相邻两峰之间距（以 Hz 计）为 J 。

若不能同时满足上述一级谱的两个条件，则产生二级谱。二级谱与一级谱的区别为：

- ① 一般情况下，峰的数目超过由 $n+1$ 规律所计算的数目。
- ② 峰组内各峰之间的相对强度关系复杂。
- ③ 一般情况下， δ 、 J 都不能直接读出。

应用量子力学的方法，对各种二级谱的计算取得了很满意的结果，这超出了本书的范围。但另一方面，若对几种常见官能团直接进行谱图的分析，在绝大部分情况下，可较好地分析核磁共振氢谱。下面即以这条线索进行讨论。

2. 常见官能团的氢谱

(1) 烷基链

在烷基链很短时，因各个碳原子上的氢的 δ 有一定的差异，常呈现为一级谱或近似为一级谱。

正构长链烷基 $-(CH_2)_nCH_3$ 若与一电负性基团相连， $\alpha-CH_2$ 的谱峰将移向低场方向。 $\beta-CH_2$ 亦会稍往低场移动。位数更高的 CH_2 化学位移很相近，在 $\delta=1.25\text{ppm}$ 处形成一个粗的单峰。因它们 δ 值很接近而 $J=6-7\text{Hz}$ ，因此形成一个强耦合体系 ($|\delta_1 - \delta_2|/J$ 小)，峰形是复杂的，只因其所有谱线集中，故粗看为一单峰。由于与 CH_3 相连的 CH_2 属于强耦合体系之列，甲基的峰形较 $n+1$ 规律有畸变：左外侧峰变钝，右外侧峰更钝。

(2) 取代苯环

① 单取代苯环

在谱图的苯环区内，从积分曲线得知有五个氢存在时，由此可判定苯环是单取代的。

从前面我们知道，核磁谱图的复杂性取决于 $\Delta\nu/J$ 。随着取代基变化苯环的耦合常数改变并不大，因此取代基的性质（它使邻、间、对位氢的化学位移偏离于苯）决定了谱图的复杂程度和形状。

Camberlain^[4]提出了苯环分别被两类取代基取代后苯环上剩余氢的谱峰形状的分析。本书结合苯环取代基的电子效应，综合分析苯环上剩余氢的谱峰的峰形及化学位移，并明确地提出三类取代基的概念，以此来讨论取代苯环的谱图，现论述如下：

a. 第一类取代基是使邻、间、对位氢的 δ 值（相对未取代苯）位移均不大的基团。属于第一类取代基团的有： $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}<$ 、 $-\text{Cl}$ 、 $-\text{Br}$ 、 $-\text{CH}=\text{CHR}$ 、 $-\text{C}\equiv\text{C}$ 等。

由于邻、间、对位氢的化学位移差别不大，它们的峰拉不开，总体来看是一个中间高、两边低的大峰。

b. 第二类取代基团是有机化学使苯环活化的邻、对位定位基。从有机化学的角度看，其邻、对位氢的电子密度增高使亲电反应容易进行。从核磁的角度看，电子密度增高使谱峰移向高场。邻、对位氢的谱峰往高场的移动较大，间位氢的谱峰往高场移动较小，因此，苯环上的五个氢的谱峰分为两组：邻、对位的氢（一共三个氢）的谱峰在相对高场位置；间位的两个氢的谱峰在相对低场位置。由于间位氢的两侧都有邻碳上的氢， 3J 又大于 4J 及 5J ，因此其谱峰粗略看是三重峰。高场三个氢的谱图则很复杂。属于该类取代基的有： $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}$ 、 $-\text{NR}''$ 等。

c. 第三类取代基团是有机化学中的间位定向基团。这些基团使苯环钝化，电子云密度降低。从核磁的角度看就是共振谱线（相对于未取代苯环）移向低场。邻位两个氢谱线位移较大，处在最低场，粗略呈双峰。间、对位三个氢谱线也往低场移动，但因位移较小，相对处于高场。属于第三类基团的有 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{COR}$ 、 $-\text{COOR}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONHR}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{N}=\text{N}-\text{Ar}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 等。

知道单取代苯环谱图的上述三种模式对于推结构很有用处。比如未知物谱图苯环部分低场两个氢的谱线的 δ 值靠近 8ppm ，粗看是双重峰，高场三个氢的谱线的 δ 值也略大于 7.3ppm （苯的 δ 值），由此可知有羰基、硝基等第三类基团的取代。

② 对位取代苯环

对位取代苯有二重转轴。其谱图是左右对称的。

苯环上剩余的四个氢之间仅存在两对 3J 耦合关系，因此它们的谱图简单。对位取代苯环谱图具有鲜明的特点，是取代苯环谱图中最易识别的。粗看它是左右对称的四重峰，中间一对峰强，外面一对峰弱，每个峰可能还有各自小的卫星峰（以某谱线为中心，左右对称的一对强度低的谱峰）。

③ 邻位取代苯环

a. 相同基团邻位取代，其谱图左、右对称。

b. 不同基团邻位取代，其谱图很复杂。因单取代苯环分子有对称性；在二取代苯环中，对位、间位取代的谱图比邻位取代简单；多取代则使苯环上氢的数目减少，从而谱图得以简化；因此不同基团邻位取代苯环具有最复杂的苯环谱图。

④ 间位取代苯环

间位取代苯环的图谱一般也是相当复杂的，但两个取代基团中间的隔离氢因无 3J 耦合，经常显示粗略的单峰。

⑤多取代苯环

可仿照上面进行分析。

(3) 取代的杂芳环

由于杂原子的存在，杂芳环上不同位置的氢的 δ 值已拉开一定距离，取代基效应使之更进一步拉开，因此取代的杂芳环的氢谱经常可按一级谱近似地分析，但需注意氢核之间的耦合常数（ 3J , 4J 等）的数值和它们相对杂原子的位置有关。

(4) 烯氢

烯氢谱峰处于烷基与苯环氢谱峰之间。由于常存在几个耦合常数，峰形较复杂。在许多情况下，烯氢谱峰可按一级谱近似分析。若在同一烯碳原子上有两个氢（端烯），其 2J 值仅约2Hz，这使裂分后的谱线复杂又密集。

(5) 活泼氢

因氢键的作用，活泼氢的出峰位置不定，与样品浓度、介质、作图温度等有关，重氢交换可去掉活泼氢的谱峰，由此可以确认其存在。

第四节 核磁共振碳谱与有机化合物结构的关系

碳原子构成有机化合物的骨架，掌握有关碳原子的信息在有机结构分析中具有重要意义。有些官能团不含氢，但含碳（如羰基），因此从氢谱不能得到直接信息但从碳谱可以得到。氢谱中各官能团的 δ 值很少超过10ppm，但碳谱 δ 的变化范围可超过200ppm，因此结构上的细微变化可望在碳谱上得到反映。分子量在三四百以内的有机化合物，若无分子对称性，原则上可期待每个碳原子有其分离的谱线。碳谱还有多种去耦方法，后来又发展了几种区别碳原子级数的方法。

综上所述，与氢谱相比，碳谱有很多优点，然而其测定较氢谱困难得多，因灵敏度太低，因此只有在脉冲-傅里叶核磁谱仪大量问世之后，碳谱才能用于常规分析并得到了迅速的发展。

一、化学位移

1. 影响 ^{13}C δ 值的因素

前面已讲到除 ^1H 之外，顺磁屏蔽对 δ 值起主要作用。 ^{13}C 自然属于此列，其 δ 值有较大的变化范围。

从顺磁屏蔽的角度考虑，顺磁屏蔽系数绝对值 $|\sigma_p|$ 和电子跃迁的能级差 ΔE 成反比。饱和碳原子电子能级的跃迁为 $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ，其 ΔE 大，故 $|\sigma_p|$ 小。因 σ_p 和抗磁屏蔽系数 σ_d 作用方向相反，因此 $|\sigma_p|$ 小，去屏蔽弱，共振在高场。同理可解释烯碳原子共振在较低场（其电子能级跃迁为 $\pi \rightarrow \pi^*$ ）及

羰基碳原子共振在最低场（其电子能级跃迁为 $n \rightarrow \pi^*$ ， ΔE 最小）。

仍从顺磁屏蔽的角度考虑， $|\sigma_p|$ 和 r^3 成反比， r 为 $2p$ 电子和原子核之间的距离，当碳原子与电负性基团相连时，碳原子的电子密度下降，轨道收缩， r 减小，去屏蔽作用强，共振移向低场。

$|\sigma_p|$ 还和碳原子的键级有关，由此可以解释炔碳原子共振位置介于饱和碳原子与烯碳原子之间。

从上面的讨论可知，碳原子的 δ 值主要决定于顺磁屏蔽，但其结果和氢谱有着惊人的相似之处：

① 从高场到低场，共振的顺序为饱和碳原子。炔碳原子、烯碳原子、羰基碳原子（氢谱为饱和氢、炔氢、烯氢、醛基氢等）；② 与电负性基团相连，共振都移向低场。

在碳谱中，因 $|\sigma_p|$ 远远大于 σ_a （磁各向异性屏蔽）的影响，因此苯环的碳和烯碳 δ 值很接近。除上面所讨论的碳原子 δ 值主要由顺磁屏蔽决定之外，下面两个因素亦需考虑：

① 重原子效应（重卤素效应）

碘、溴取代碳原子上的氢时，该碳原子 δ 值减小，这是因为卤素原子的众多电子对碳原子有抗磁屏蔽作用，从而其共振移向高场。

② 空间效应

空间效应表现为下面两点：

- 碳原子与大的烷基（或具多分枝的烷基）相连，则其 δ 值明显增大。
- 各种基团的取代均使 γ -位的碳原子 δ 值稍减小（即其共振移向高场）。

其它影响较小的因素我们不拟讨论。

下面对羰基作一附加的讨论，羰基在碳谱中占据最低场位置，可清楚地与其它基团相区别。总的看，醛、酮的 δ 值最大，连杂原子的羰基（羧酸酯等）则有较小的 δ 值。共轭效应亦使羰基的 δ 值减小，但其作用不如杂原子强。上述结果和羰基在红外吸收中位置的变化相对应，因为这二者都可用取代基对羰基碳原子电子短缺的影响来解释。凡不利于羰基碳原子电子短缺的取代基，在红外谱中使羰基的吸收移向较高波数；在核磁共振碳谱中则使羰基的吸收移向高场。

2. 化学位移的具体数值

各种含碳原子官能团的 δ 值请参阅表 2.5。

烷烃、取代的烷基，环己烷、烯、苯环等均有经验计算公式及相应的参数，本书不再叙述，请读者参考有关著作。

表 2.5 各种含碳官能团的 δ 值范围

1. α , β -不饱和酮；2. α -卤代酮；3. α , β -不饱和醛；4. α -卤代醛；5. 杂芳环 α -C；6. 杂芳环；7. 芳环中的取代碳；8. 芳环。

$C_6H_6(sp^2, s\%=33\%) \quad {}^1J=159\text{Hz}$

$CH\equiv CH(sp, s\%=50\%) \quad {}^1J=249\text{Hz}$

除了 s 电子的成分以外, 取代基电负性对 1J 也有所影响。随取代基电负性的增强, 1J 相应增加, 以取代甲烷为例, 1J 可增大 41Hz。

${}^2J_{CH}$ 的变化范围为 -5 — 60Hz。 ${}^3J_{CH}$ 在十几 Hz 之内。这和取代基有关, 也和空间位置有关。

Karplus 方程近似成立 (参阅 6.4.2)

有趣的是, 在芳香环中, $|{}^3J| > |{}^2J|$

除少数情况外, 4J 一般小于 1Hz。

由于上述原因, 在记录碳谱时, 若不对 1H 进行去耦, 碳谱将出现严重的谱峰重叠现象。常规碳谱为对 1H 进行全去耦的碳谱, 每种 δ 值的碳原子仅出一条谱线。需补充指出的是: 在去耦时, 由于 NOE, 碳谱线的强度视不同的去耦方法而有不同程度的增强。

第五节 二维核磁共振谱

二维核磁共振谱的出现和发展, 是核磁共振波谱学的最主要里程碑。核磁共振的最重要用途为鉴定有机化合物结构, 二维核磁共振谱的应用, 使鉴定结构更客观、可靠, 而且大大地提高了所能解决问题的难度和增加了解决问题途径。

二维核磁共振谱的种类很多。在此不可能一一介绍。我们在这里仅讨论最重要的几种。所有的二维核磁共振谱均要采用脉冲序列, 其原理的分析更需大量篇幅, 对以上内容感兴趣的读者, 可阅读参考文献[1]。

从二维核磁共振又可延伸至三维或更高维核磁共振谱, 它们主要用于生物学(蛋白质)的研究。

一、同核位移相关谱

同核位移相关谱是最重要的一类二维核磁共振谱, 使用最为频繁。

最常用的同核位移相关谱称为 COSY (correlated spectroscopy)。

COSY 的图形为正方形, 或在纵向略加压缩而成为矩形。该图的上方有一氢谱与之对应, 图的侧面也可能有一氢谱与之对应。COSY 谱中有一条对角线, 常见的为左低右高。对角线上有若干峰组, 它们和氢谱的峰组一一对应。这些峰称为对角线峰或自动相关峰, 它们不提供耦合信息。对角线外的峰组称为交叉峰或相关峰, 它反映两峰组之间的耦合关系。通过任一交叉峰组作垂线, 会与(一对角线峰组)及上方氢谱中的一个峰组相交, 此峰组是参与耦合的一个峰组。仍通过该交叉峰作水平线, 会与一对角线峰组相交, 通过后者作垂线, 会与氢谱中的另一峰组相交, 此峰组则是参与耦合的另一峰组。因此从任一交叉峰即可确定相应的两峰组之间的耦合关系, 我们完全不用管(一维)氢谱中的峰形。COSY 主要反映相距三根键的氢(邻碳氢)的耦合关系, 跨越两根键的氢(同碳氢)

或耦合常数较大的长程耦合也可能被反映出来。

交叉峰是沿对角线对称分布的，因而只分析对角线一侧的交叉峰即可。

COSY 的具体例子如图 2.13 所示。

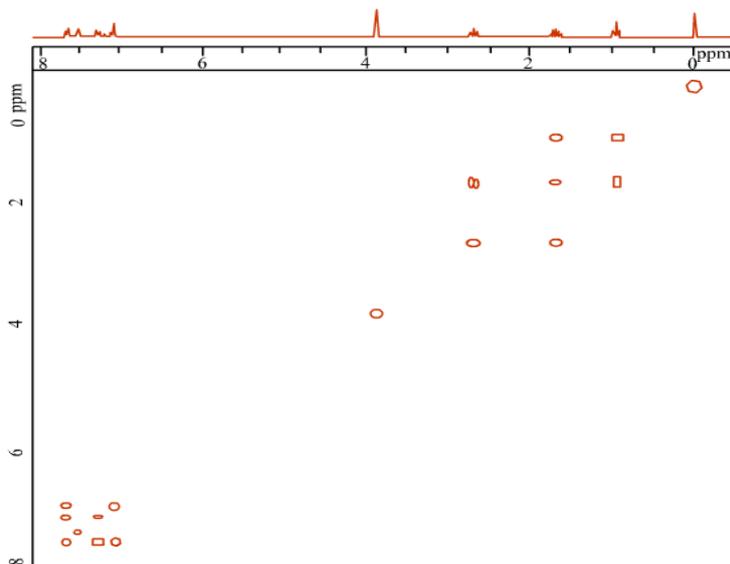


图 6.13 COSY 例

有好几种二维核磁共振谱和 COSY 相近，请阅参考文献[1]。这里只简单介绍一下 COSYLR。它显示长程耦合的相关。在通常的（一维）氢谱中，长程耦合常只能表现为谱峰半高宽的稍微增加，表露是不明显的。现以交叉峰的形式出现，自然就明显多了。

二、 异核位移相关谱

异核位移相关谱把氢核和与其直接相连的其它核关联起来。有机化合物以碳原子为骨架，因此异核位移相关谱主要就是 H,C -COSY。

H,C -COSY 的谱图呈矩形。水平方向刻度为碳谱的化学位移，该化合物的碳谱置于此矩形的上方。垂直方向刻度为氢谱的化学位移，该化合物的氢谱置于此矩形的左侧。矩形中出现的峰称为相关峰或交叉峰。每个相关峰把直接相连的碳谱谱线和氢谱峰组关联起来。季碳原子因其上不连氢因而没有相关峰。如一碳原子上连有两个化学位移值不等的氢核，则该碳谱谱线对着两个相关峰。因此，这样的碳一定是 CH_2 。从一般情况来看， H,C -COSY 结合氢谱的积分值，每个碳原子的级数 (CH_3 , CH_2 , CH , C) 都能确定。

由于碳谱的分辨率高，若有几个氢谱峰组化学位移值相近，有一定的重叠，它们在 H,C -COSY 中可分开。这对 COSY（或进一步明确为 H, H -COSY）的分析是大有裨益的。

H,C -COSY 的例子如图 2.14 所示。

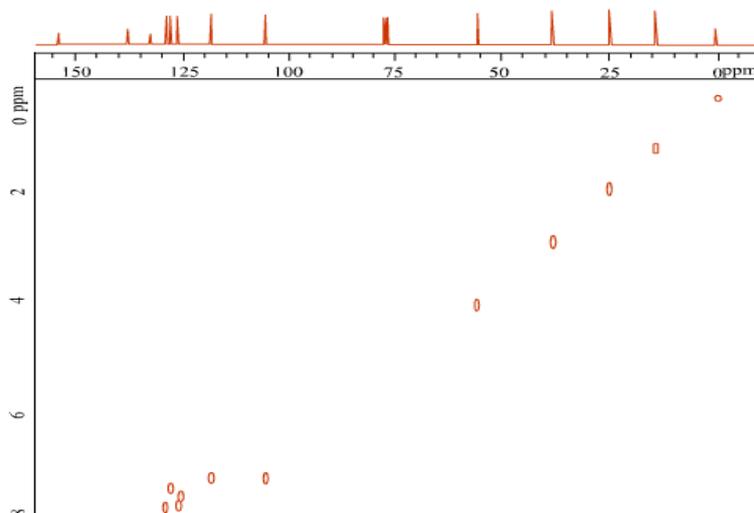


图 2.14 H、C-COSY 例

H,C-COSY 确定直接相连的 C, H 的相关。也有确定 C, H 长程耦合的异核位移相关谱。常用之一为 COLOC, 它显示跨越两、三根键的碳、氢耦合关系。这对于推断包含季碳原子的未知物的结构至关重要, 我们将在 6.6.1.2 中进一步讨论。

不论是 H,C-COSY 还是 COLOC, 检测的核种是 ^{13}C , 由于 ^{13}C 的磁旋比为 ^1H 的 1/4, 加之同位素天然丰度仅 1.1%, 因此灵敏度很低。为提高异核位移相关谱的检测灵敏度, 可以利用反向模式探头。这时检测的是 ^1H 核, 但仍得到 ^{13}C 和 ^1H 的相关。与 H,C-COSY 对应的是 HMQC 或 HSQC。与 COLOC 对应的是 HMBC。在这样的二维谱中, 水平方向刻度为氢谱的化学位移, 垂直方向的刻度为碳谱的化学位移。垂直方向的分辨率比水平方向要低得多, 因此当样品有足够的量时, 还是采用 H,C-COSY, COLOC 较好。

三、总相关谱

总相关谱 (Total Correlation Spectroscopy, TOCSY) 把 COSY 的作用延伸, 从任一氢的峰组可以找到与该氢核在同一耦合体系的所有氢核的相关峰。这对于研究包含几个自旋耦合体系的化合物特别有用, 因 TOCSY 可把几个体系相互区别。

TOCSY 的外型与 COSY 相似, 但交叉峰的数目大大增加。

另可见到 HOHAHA (Homocuclear Hartmann-Hahn Spectroscopy) 这一名称的二维核磁共振谱。它的基本原理与 TOCSY 相近, 作用则完全相同。

四、2D INADEQUATE

INADEQUATE 是 incredible natural abundance double quantum transfer experiment 的缩写, 它确定碳原子的连接顺序。它测定的是 ^{13}C - ^{13}C 之间的耦合。 ^{13}C 的同位素丰度是 1.1%, 因而两个 ^{13}C 相连的几率就近似为 1 / 10000 了, 因此这是一个很弱的信号。最先发展起来的是一维的 INADEQUATE, 它有若干缺点, 后来发展为二维的 INADEQUATE, 即 2D INADEQUATE。

在这样的二维谱中, 横座标刻度 (ω_2) 为碳谱化学位移, 在该谱上方有常规碳谱。纵座标为双

量子频率 ω_1 ，在 2D INADEQUATE 谱中有一条 $\omega_1=2\omega_2$ 的准对角线。所有耦合的（相邻的）一对碳-13 核会在同一水平线上（ ω_1 相同），左右对称地处于准对角线的两侧，且 ω_2 分别等于它们的 δ 值处有相关峰。据此可以找出相邻的两碳原子，进而可以连出整个分子的碳原子骨架。

采用微量样品管，魔角旋转，特殊软件，2D INADEQUATE 的用样量及累加时间可大大减少。

以上我们讨论了与鉴定有机物结构最密切相关的四类二维核磁共振谱。其它类别的二维谱均从略。值得一提的是记录 NOE 效应的一类二维谱，它们常用于蛋白质分子的研究，对确定有机化合物立体结构也有很大帮助。

第六节 核磁共振的应用

核磁共振的应用面越来越广，发挥着越来越重要的作用。作为我们最关心的、将在后面重点讨论的是用于鉴定有机化合物结构。值得一提的是现已有可移动的核磁共振波谱仪，它可按需要移动到不同位置进行测试。核磁共振在医学上日益受人重视（常称为磁共振成像，MRI），它比 CT 具有更高的分辨率并可使病人免受 X 射线照射。小型台式核磁共振谱可用于测定粮食中的水份，含油量……

在生物学领域，核磁共振更越来越受到青睐，它使蛋白质分子在水溶液中的构象研究成为可能。这是推动磁共振波谱仪往更高频率发展的重要推动力之一。

一、核磁共振用于鉴定有机化合物结构

自从 70 年代后期以来，核磁共振成为鉴定有机化合物结构的最重要工具。这是因为核磁共振可提供多种一维、二维谱，反映了大量的结构信息。再者，所有的核磁共振谱具有很强的规律性，可解析性最强。以上两点是任何其它谱图（质谱、红外、拉曼、紫外等）所无法相比的。

1、基于常规（一维）核磁共振谱推导有机化合物结构

对于结构较简单的有机化合物，利用其氢谱、碳谱、再结合其分子式（甚至仅知低分辨的分子量）便可推导出结构。

对于结构相当简单的有机化合物，仅利用氢谱和其分子式，便可能推出其结构。

分析氢谱有如下的步骤。

(1) 区分出杂质峰、溶剂峰、旋转边带。

杂质含量较低，其峰面积较样品峰小很多，样品和杂质峰面积之间也无简单的整数比关系。据此可将杂质峰区别出来。

氘代试剂不可能 100% 氘代，其微量氢会有相应的峰，如 CDCl_3 中的微量 CHCl_3 在约 7.27ppm 处出峰。

(2) 计算不饱和度。

不饱和度即环加双键数。当不饱和度大于等于 4 时，应考虑到该化合物可能存在一个苯环（或吡啶环）。

(3) 确定谱图中各峰组所对应的氢原子数目，对氢原子进行分配。

根据积分曲线，找出各峰组之间氢原子数的简单整数比，再根据分子式中氢的数目，对各峰组的氢原子数进行分配。

(4) 对每个峰的 δ 、 J 都进行分析。

根据每个峰组氢原子数目及 δ 值，可对该基团进行推断，并估计其相邻基团。

对每个峰组的峰形应仔细地分析。分析时最关键之处为寻找峰组中的等间距。每一种间距相应于一个耦合关系。一般情况下，某一峰组内的间距会在另一峰组中反映出来。

通过此途径可找出邻碳氢原子的数目。

当从裂分间距计算 J 值时，应注意谱图是多少兆周的仪器作出的，有了仪器的工作频率才能从化学位移之差 $\Delta \delta$ (ppm) 算出 $\Delta \nu$ (Hz)。当谱图显示烷基链 3J 耦合裂分时，其间距（相应 6—7Hz）也可以作为计算其它裂分间距所对应的赫兹数的基准。

(5) 根据对各峰组化学位移和耦合常数的分析，推出若干结构单元，最后组合为几种可能的结构式。每一可能的结构式不能和谱图有大的矛盾。

(6) 对推出的结构进行指认。

每个官能团均应在谱图上找到相应的峰组，峰组的 δ 值及耦合裂分（峰形和 J 值大小）都应该和结构式相符。如存在较大矛盾，则说明所设结构式是不合理的，应予以去除。通过指认校核所有可能的结构式，进而找出最合理的结构式。必须强调：指认是推结构的一个必不可少的环节。

如果未知物的结构稍复杂，在推导其结构时就需应用碳谱。在一般情况下，解析碳谱和解析氢谱应结合进行。从碳谱本身来说，有一套解析步骤和方法。

核磁共振碳谱的解析和氢谱有一定的差异。在碳谱中最重要的信息是化学位移 δ 。常规碳谱主要提供 δ 的信息。从常规碳谱中只能粗略的估计各类碳原子的数目。如果要得出准确的定量关系，作图时需用很短的脉冲，长的脉冲周期，并采用特定的分时去耦方式。用偏共振去耦，可以确定碳原子的级数，但化合物中碳原子数较多时，采用此法的结果不完全清楚，故现在一般采用脉冲序列如 DEPT。

碳谱解析步骤如下：

(1) 鉴别谱图中的真实谱峰

① 溶剂峰

氘代试剂中的碳原子均有相应的峰，这和氢谱中的溶剂峰不同（氢谱中的溶剂峰仅因氘代不完全引起）。幸而由于弛豫时间的因素，氘代试剂的量虽大，但其峰强并不太高。常用的氘代氯仿呈三

重峰，中心谱线位置在 77.0ppm。

② 杂质峰

可参考氢谱中杂质峰的判别。

③ 作图时参数的选择会对谱图产生影响。当参数选择不当时，有可能遗漏掉季碳原子的谱峰。

(2) 由分子式计算不饱和度

(3) 分子对称性的分析

若谱线数目等于分子式中碳原子数目，说明分子无对称性；若谱线数目小于分子式中碳原子的数目，这说明分子有一定的对称性，相同化学环境的碳原子在同一位置出峰。

(4) 碳原子 δ 值的分区

碳谱大致可分为三个区：

① 羰基或叠烯区 $\delta > 150\text{ppm}$ ，一般 $\delta > 165\text{ppm}$ 。 $\delta > 200\text{ppm}$ 只能属于醛、酮类化合物，靠近 160—170ppm 的信号则属于连杂原子的羰基。

② 不饱和碳原子区（炔碳除外） $\delta = 90 - 160\text{ppm}$ 。

由前两类碳原子可计算相应的不饱和度，此不饱和度与分子不饱和度之差表示分子中成环的数目。

③ 脂肪链碳原子区 $\delta < 100\text{ppm}$ 。饱和碳原子若不直接连氧、氮、氟等杂原子，一般其 δ 值小于 55ppm。炔碳原子 $\delta = 70 - 100\text{ppm}$ ，其谱线在此区，这是不饱和碳原子的特例。

(5) 碳原子级数的确定

由偏共振去耦或脉冲序列如 DEPT 确定。由此可计算化合物中与碳原子相连的氢原子数。若此数目小于分子式中氢原子数，二者之差值为化合物中活泼氢的原子数。

(6) 结合上述几项推出结构单元，并进一步组合成若干可能的结构式。

(7) 进行对碳谱的指认，通过指认选出最合理的结构式，此即正确的结构式。

以上我们分别介绍了氢谱的解析和碳谱的解析。需再次强调的是：在一般情况下，需把这两者的解析结合起来。

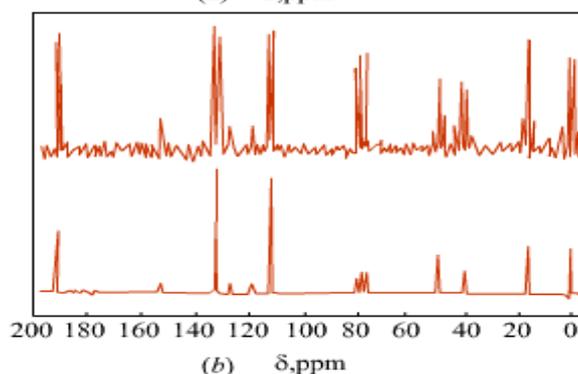
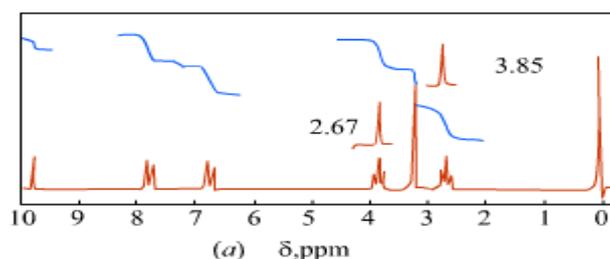
通过这两者谱图解析，找出若干结构单元，进而组合成若干可能的结构式。

通过对氢谱和碳谱的指认，选出最合理的结构式，此即正确的结构式。

无论是在推结构时还是在指认时，我们应特别注意氢谱的峰形分析，在大部分情况下，峰形分析比 δ 值的分析更为可靠。因此当二者有矛盾时，作者建议首先考虑峰形分析的结果。

下面为谱图解析举例。

未知物分子式为 $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{ON}_2$ ，其氢谱及碳谱如图 2.15(a)、(b)所示。试推出该未知物结构。



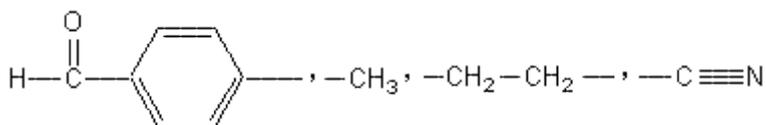
解: 氢谱积分曲线从低场到高场显示各种氢原子数目之比为 1:2:2:2:3:2, 再结合各峰组的 δ 值及峰形, 氢谱从低场到高场对应的官能团为: 醛基, 对位取代苯环、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、及 $-\text{C}-\text{CH}_3$ (自旋去耦实验证明二个 CH_2 相连)。

结合全去耦及偏共振去耦碳谱, 可看出上述官能团的存在, 但碳谱的苯环区多出一个单峰。

苯环及醛基有 5 个不饱和度, 而从分子式计算有 7 个不饱和度, 3 个饱和碳原子又不可能成环, 而分子又含氮, 明显地, 该未知物存在腈基, 它的谱线正好在碳谱的不饱和碳原子区。存在腈基也使 7 个不饱和度的要求得到满足。

碳谱醛基的信号在 190.5ppm, 明显地低于饱和醛的 δ 值, 因此醛基应与不饱和键相连, 对本题来讲, 只能是与苯环相连 (若与腈基相连则造成结构封闭)。

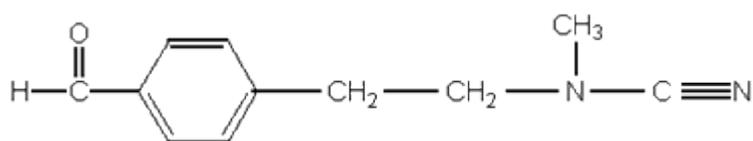
由上所述, 该未知物所含的结构单元为:

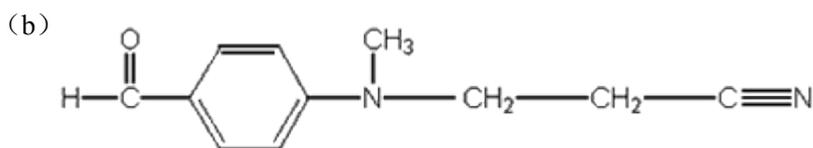


上述结构单元与分子式相比, 还余一个 N 原子。

由上述结构单元, 只能组成两种可能的结构:

(a)





从碳谱 152ppm 的单峰可排除(b)，因 CHO 或 CH₂ 的取代都不可能产生 δ 高达 152ppm 的谱线。因此未知物结构为(a)。

从指认的合理性可进一步肯定结构(a)的正确性。

2、基于二维核磁共振谱推导有机化合物结构

利用二维核磁共振谱，可以得到比氢谱、碳谱更为丰富的结构信息，因而可解决更复杂的结构问题。

采用二维核磁共振谱也包括常规的氢谱，碳谱，因它们总附于二维谱上方及侧面。事实上，在作二维谱之前必须先作一维谱。

用二维核磁共振谱推导结构在大多数情况下也需要质谱的数据，至少是低分辨质谱的数据。

基于二维核磁共振谱推导未知物结构可归纳为三套方法，简述如下。

(1)、以位移相关谱为核心推导未知物结构

这是目前应用最多，也是发展最成熟的方法。本书重点介绍这种方法。

a. 确定未知物中所含碳氢官能团

结合氢谱、碳谱、DEPT, H₂C-COSY 可以知道未知物中所含的所有碳氢官能团及它们在何处出峰。

b. 确定未知物中各耦合体系

由于 COSY 可反映所有邻碳氢的耦合关系，因而从 COSY 的交叉峰可以把耦合关系一个个找出来。即从耦合体系的一起点开始，依次找到邻碳氢，直至最后一个邻碳氢。耦合体系终止于季碳或杂原子。

c. 确定未知物中季碳原子的连接关系

季碳原子上不直接连氢，因此 COSY 上没有与其对应的交叉峰。要把季碳原子和别的耦合体系连接起来需要 COLOC 或 HMBC。

d. 确定未知物中的杂原子，并完成它们的连接

从碳谱、氢谱有可能确定杂原子的存在形式，如 -C≡N, -C=N-, -OH, -OCH₃ 等。

从 δ_c , δ_H 的数值，可判断碳氢官能团与杂原子的连接关系。

从碳-氢长程相关谱可确定杂原子与碳氢官能团之间的连接，因碳-氢长程耦合可跨过杂原子。

e. 通过对谱图的指认来核实结构

(2)、以 2D INADEQUATE 为核心推导未知物结构

从 2D INADEQUATE 可以确定未知物中所有碳原子的连接关系。再按前述原则把杂原子加进去，

未知物的结构就完整了。以这种方法所得结构的准确性是很高的。随着谱仪的进步及有关技术，专用探头和软件的应用，它的应用将不断推广。

(3)、以 HMQC-TOCSY 为核心推导未知物结构

HMQC 的作用相当于 $H_2C-COSY$ ，但样品的用量可大大减少。

作 TOCSY 实验时，其中有个重要参数是等频混合时间。当它逐渐增长时（也就是说要作几次实验，得出对应不同等频混合时间的谱图），相关峰的数目逐渐增加，从某个碳原子或氢原子出发所找出的有耦合关系的碳、氢原子也就越来越多。用这样的方法，逐步得到未知物的结构。

我们下面举例，说明以位移相关谱为核心推导未知物结构的方法。

未知物分子式为 $C_{14}H_{16}O$ ，其氢谱如图 2.16 所示，碳谱及 DEPT 如图 2.17 所示，COSY 及 $H_2C-COSY$ 分别已在前面图 2.13 及 2.14 示出。试推导其结构。

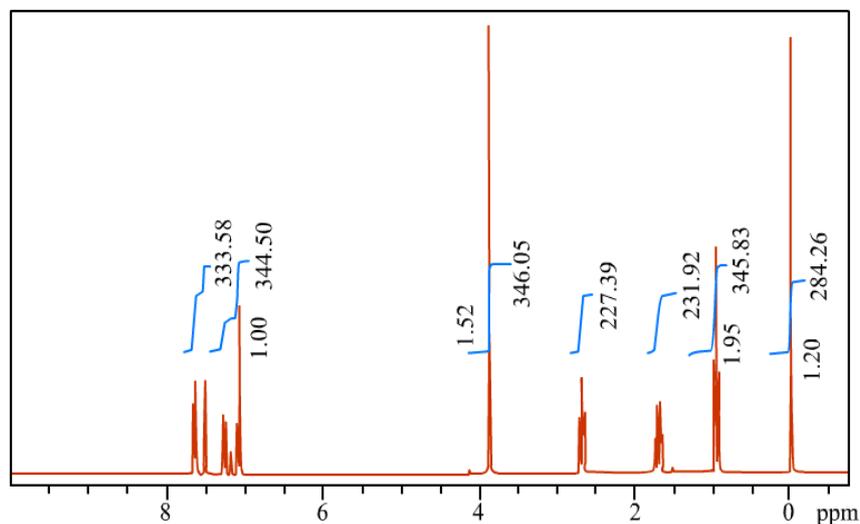


图 2.16 某未知物氢谱

解：图 2.17 最下方为全去耦碳谱。注意在 129ppm 处有两条几近重叠的谱线，其 δ 值分别为 128.89 和 129.12ppm。它们在谱图上仅显示出一条谱线。另两条谱线（126.25 和 126.59ppm）在谱图上可区分。在碳谱上一共有 14 条谱线，说明分子无任何对称性。

在 DEPT 90° 的谱图（图 2.17 中间谱图）可看见芳香区共 6 条谱线，说明有 6 个芳香区的 CH。该谱脂肪区有几个小峰，这是由于耦合常数值不是完全理想的引起。DEPT 135° 的谱图（图 2.17 上部）中在那些位置上有很好的峰，因而可以判断它们不是 CH，而是两个 CH_3 （13.85, 55.26ppm）和两个 CH_2 （24.54, 38.30ppm）。

与全去耦碳谱相比，该化合物应包含 4 个季碳原子。最大 δ 值(157.09ppm)的谱线表明该碳原子应被氧原子取代。

氢谱（图 2.16）与碳谱完全呼应。这从该氢谱所总结出的下列表格可看出来。

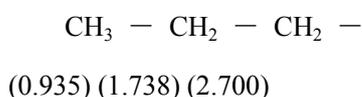
δ (ppm)	0.935	1.738	2.700	3.816	7.093	7.107	7.282	7.523	7.651
H 原子数	3	2	2	3	1	1	1	1	2
峰形 ^{*1}	3	6	3	1	1	2	2	1	2 ^{*2}

*1 指几重峰

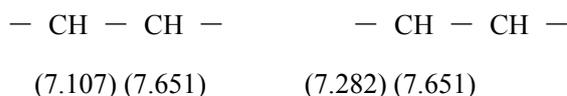
*2 两个双峰重叠

从分子式可计算出该未知物的不饱和度为 7。从碳谱知该未知物无羰基。未知物在芳香区有 10 个碳原子，不饱和度又为 7，因此应为一被取代的萘环。萘环上只有 6 个 CH，说明是二取代。

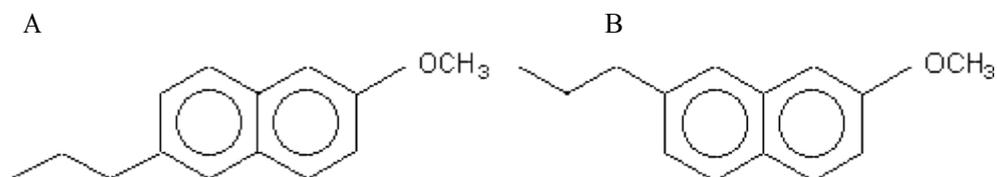
这个例子的氢谱峰形并不复杂，因而可从峰形推测耦合顺序。当未知物结构复杂时（特别是含脂环的分子），这条路就不行了。COSY 则无需对峰形进行分析而得到确切的连接顺序。从图 2.13 我们可以清楚地看到



的连接顺序。3.816ppm 的尖锐单峰则和其它氢无 3J 耦合关系，在芳香区我们可以看到如下的耦合关系：



综合以上分析，未知物仅有两种可能结构：



这两种可能结构的进一步取舍，需要有 COLOC 的数据（现结构为 A）。

通过 H,C-COSY, 我们可以完成对碳谱的指认。

以上关于氢谱的分析仅考虑了 3J ，即邻碳氢之间的耦合。 4J ， 5J 均未考虑。

二、核磁共振用于有机物定量分析

前面一小节我们讨论了核磁共振用于有机化合物结构鉴定，是在定性方面的应用。这一小节我们将讨论核磁共振在定量方面的应用，主要是在一个混合物体系中确定各组份之间的相互比例。

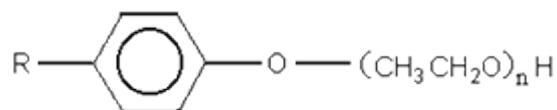
在核磁共振氢谱中，峰组面积和其对应的氢原子成正比。虽然通常在高场的峰面积比在低场的峰面积（相同氢原子数）稍大一点点，但仍不失为一种很好的定量方法。

在核磁共振碳谱中，如采用特定的脉冲序列，减少脉冲倾角，增长脉冲之间的间隔，也可以达到较好的定量关系。

对一个混合物体系来说,如果其中的每一个组份都能找到一个不与其它组份相重叠的氢谱峰组,我们就可以用氢谱来进行定量工作,因氢谱的灵敏度高,定量性好。如果在氢谱中不能满足上述的要求,我们就采用碳谱来定量,因为碳谱的分辨率高,很不容易发生谱线的重叠。当然,这时需作定量碳谱。

需强调的是:核磁共振用于混合物中各组份的定量往往优于其它方法。相比于常用的有机定量方法 GC 和 HPLC 来说,核磁共振的定量可用于一些平衡体系中各组份的定量,如体系内共存酮式和烯醇式,顺式和反式。核磁共振能在难持平衡体系的条件下进行各组份的定量。

再举一个例子。一种常用的非离子型表面活性剂为烷基酚聚氧乙烯醚,其结构式为:



在这样的产品中 n 为正整数。有一个分布,利用核磁共振氢谱的积分值可以方便地求出 n 的平均数。用别的方法则难以完成。

三、固体高分辨核磁共振谱

本章前面所讨论的全限于液态样品(且要求低粘度)。在实际工作中,常要求用固态样品作图。一方面有些样品找不到任何溶剂以配制它们的溶液,如某些高聚物、煤;另一方面对某些样品,人们担心配制成溶液后结构会有一些的变化。

如果按照通常的作图方法,用固态样品作图会得到很宽的谱线,得不到什么信息。产生这种现象主要有两个原因:第一是自旋核之间的偶极-偶极相互作用;第二是化学位移的各向异性。这两个原因都和分子在磁场中的取向有关。在液体试样中,分子在不断地翻滚,因此以上两种作用都被平均掉了。

除上述谱线变宽的问题需解决以外,碳谱本身灵敏度低,受氢核的耦合将使谱线裂分(也就降低了信噪比),这亦需解决。

作固体高分辨核磁共振谱的方法为交叉极化/魔角旋转法 CP/MAS(Cross Polarization/Magic Angle Spinning)。实际上还包括对氢核去耦。交叉极化法涉及对脉冲作用的分析,不拟讨论,下面仅介绍魔角旋转。

前面所提到的偶极-偶极相互作用及化学位移的各向异性,其数值的大小均包含 $(3\cos^2\theta - 1)$ 项, θ 是所讨论的两核连线和静磁场 B_0 之间的夹角。如果我们取 $\cos^2\theta = 1/3$ ($\theta = 54^\circ 44'$), $(3\cos^2\theta - 1)$ 项为零,于是这样就可消除上述两项作用。

$54^\circ 44'$ 这个角度就叫做魔角。绕魔角旋转的速度是非常高的:液体试样旋转的速度是几十赫芝,固体试样绕魔角旋转的速度是几千赫芝,高出两个数量级还多。由于采用魔角旋转,磁铁间隙也需增大。

采用 CP / MAS 方法已得出可供解析的、与液态试样分辨率相近的谱图。

四、核磁共振

核磁共振是 80 年代发展起来的先进医疗诊断方法。它提供类似于 X 射线的 CT 的图象，但患者免受 X 射线的剂量且分辨率高，因而倍受青睐。

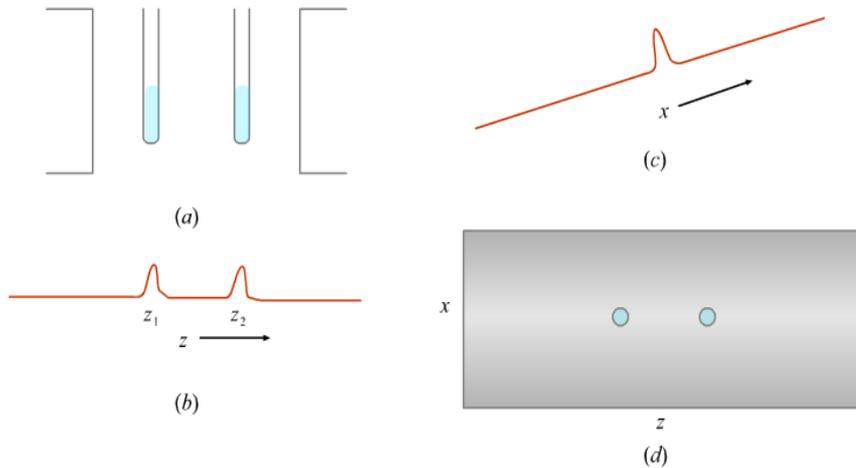


图 2.18 核磁共振原理说明

前面所讨论的液态试样及固体试样测定的都是平均的结果。核磁共振测定的对象是氢核，需测出物体内部氢核在空间的分布（常以若干截面图表示出来），这样才可得出诊断信息（如某一部位患有肿瘤）。

核磁共振的原理可结合图 2.18 来说明。设两支试管插在磁极之间(a)。磁力线方向为 z 轴方向，两根试管的 z 坐标不相同。为区别两支试管在 z 方向的不同位置，在静磁场 B_0 之外，附加一个线性梯度磁场，由于后者的作用，两支试管内的样品所受磁场强度稍有差别（共振频率也就稍有差别）。因线性梯度场为已知，从两个共振频率可以知道两管的位置 z_1 和 z_2 (b)。同理，在 x 方向（图中为从前至后的方向）应用线性梯度磁场，可确定两支试管在 x 轴上的坐标(c)。(b)和(c)的结合，得到（某一固定 y 值的） xz 平面上成的象。

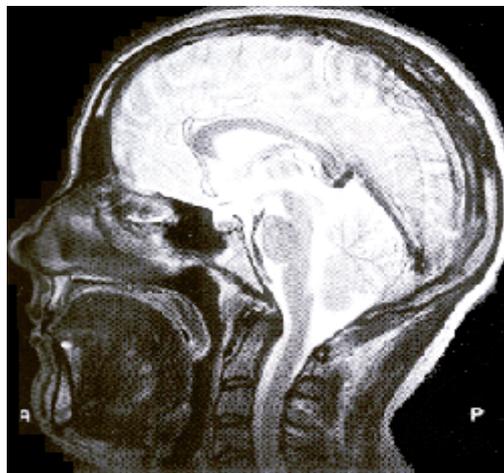


图 2.19 人脑核磁共振纵向截面图

习题与练习

1. 核动量的空间量子比；
2. 核磁共振；产生的条件
3. 弛豫过程；分类；对其分类加以详细说明；
4. 化学位移；屏蔽常数；写出计算公式；
5. 测定 ^1H 及 ^{13}C 的核磁共振谱时，为什么常采用四甲基硅烷作为测量化学位移的基准？
6. 自旋-自旋耦合作用；由其得出的结论；
7. 耦合常数；远程耦合；
8. 耦合常数随化学键数目的增加而迅速下降，因自旋耦合是通过成键电子传递的
9. 峰面积；表示方法；
10. 核磁共振扫描的两种方式；
11. 傅里叶变换分析仪器的共同点；
12. 核磁共振波谱仪的主要部件；
13. 200MHz 以上高频谱仪采用超导磁体，它利用含铌合金在液氦温度下的超导性质；
14. 要求磁场随时间稳定，就要采用锁场装置
15. 探头是核磁谱仪的核心部件，它固定于磁体或磁铁的中心，为圆柱形，探头的中心放置装载样品溶液的样品管；
16. 较新的谱仪探头配有产生脉冲场梯度的装置。它的功用为抑制溶剂峰和大大缩短测定二维核磁共振谱的时间（当样品有足够的量时）；
17. 内标和外标；
18. 记录常规氢谱的操作；
19. 记录常规碳谱的操作；
20. 氢谱中影响化学位移的因素；
21. 去屏蔽作用；
22. 氢谱中影响 3J 数值的因素
23. 氢谱中为什么炔氢谱峰相对烯氢处于较高场，芳环氢谱峰相对于烯氢处于较低场？
24. 一级谱图可用 $n+1$ 规律来分析；
25. 产生一级谱的条件；
26. 一级谱的特点；
27. 二级谱与一级谱的区别；
28. 影响 ^{13}C δ 值的因素；

29. 空间效应的特点;
30. 核磁共振的最重要用途为鉴定有机化合物结构
31. 同核位移相关谱的特点;
32. 异核位移相关谱;
33. **核磁共振的应用领域;**
34. 分析氢谱的步骤;
35. 碳谱解析步骤;
36. 谱图解析举例;
37. 基于二维核磁共振谱推导未知物结构的方法;
38. 以位移相关谱为核心推导未知物结构方法的步骤;
39. 作固体高分辨核磁共振谱的方法为交叉极化 / 魔角旋转法 CP / MAS;
40. 碳谱解析的过程;