

第22章 质谱法

Mass Spectrometry, MS

第一节 概述

定义

质谱图 (Mass spectrum)——将样品转化为气态离子，并按质荷比 (m/z) 大小进行分离记录。

利用质谱图信息进行定性、定量，结构分析。

历史

- ▶ 1897年，汤姆逊 (Thomson)——阴极射线在电、磁场中偏转研究——提出质谱原理概念
- ▶ 1910-13-25年，阿斯顿 (Aston)——同位素研究——发明质谱仪
- ▶ 1922年，阿斯顿获诺贝尔化学奖——同位素研究，质谱
- ▶ 1942年，第一台商品化质谱仪问世
- ▶ 2002年，芬恩与田中耕一获诺贝尔化学奖

质谱仪器的创新



Joseph J. Thomson

JJ 汤姆逊

1906年诺贝尔物理奖
电荷在气体中的运动



Francis William Aston

FW 阿斯顿

1922年诺贝尔化学奖
质谱技术发现同位素



Wolfgang Paul

W Paul

1989年诺贝尔物理奖
离子阱技术



Hans G. Dehmelt

H Dehmelt

1989年诺贝尔物理奖
离子阱技术



Koichi Tanaka

田中耕一

2002年诺贝尔化学奖
MALDI



John Bennet Fenn

JB Fenn

2002年诺贝尔化学奖
电喷雾离子化

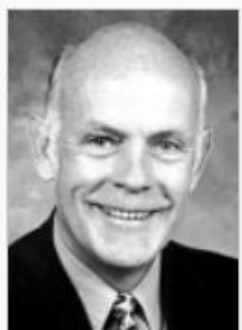
质谱应用技术创新



Harold Kroto

H Kroto

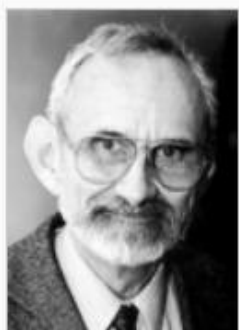
1996年诺贝尔化学奖
发现碳60



Richard Smalley

R Smalley

1996年诺贝尔化学奖
发现碳60



Robert Curl Jr

R Curl Jr

1996年诺贝尔化学奖
发现碳60



李远哲

Yuan Tseh Lee

1996年诺贝尔化学奖
分子束

1901

2012



1922



Sort and list Nobel Prizes and Nobel Laureates ▾

Prize category: Chemistry ▾



The Nobel Prize in Chemistry 1922

Francis W. Aston

The Nobel Prize in Chemistry 1922 ▾

Francis W. Aston ▾



**Francis William
Aston**

The Nobel Prize in Chemistry 1922 was awarded to Francis W. Aston *"for his discovery, by means of his mass spectrograph, of isotopes, in a large number of non-radioactive elements, and for his enunciation of the whole-number rule"*.

特 点

- ▶ 高灵敏度, 10^{-8} mol, 10^{-11} g (m/z)
- ▶ 分析速度快, 数秒-数分钟
- ▶ 应用范围广, 定性、定量, 结构分析
- ▶ 仪器价格昂贵

样品分子

● 原理

↓
离子

离子化

z

↓
离子流

外加电场 U 加速

$$zU = 1/2(mv^2)$$

$$v = [2U(z/m)]^{1/2}$$

不同质荷比的离子
运动速度 v 不同

↓ 表现为 ↓

质量分离

空间位置差

移动时间差

↓
分 别 检 测

离子检测

↓
质谱图

相对（离子）强度—质荷比

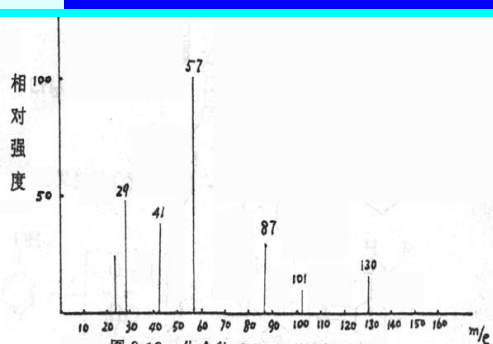
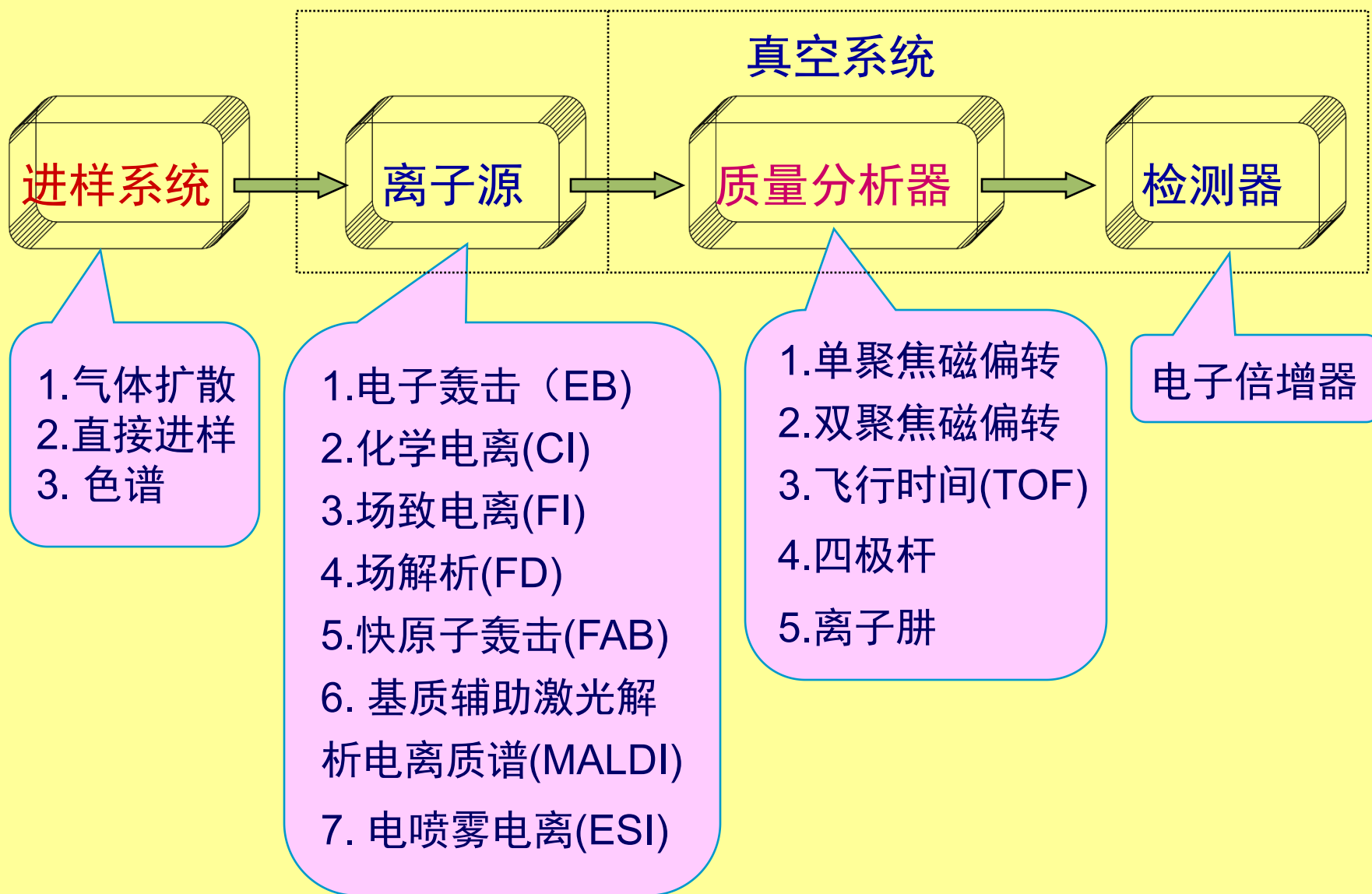


图 9-19 化合物 $C_8H_{18}O$ 的质谱图

第二节 质谱仪



一. 真空系统

质谱仪需要在高真空下工作：离子源 ($10^{-3} \sim 10^{-5} \text{ Pa}$)

质量分析器 (10^{-6} Pa)

- (1) 大量氧会烧坏离子源的灯丝；
- (2) 用作加速离子的几千伏高压会引起放电；
- (3) 引起额外的离子-分子反应，改变裂解模型，谱图复杂化。

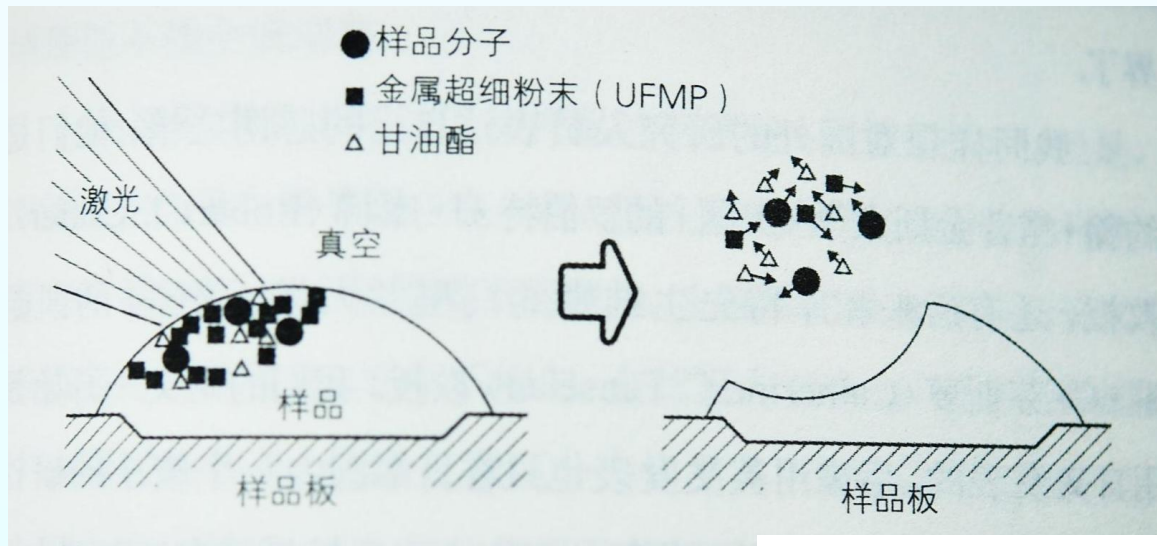
二. 离子源

分子→→离子

- ▶ **电子轰击**——以加速电子轰击分子
- ▶ **化学电离**——高能电子轰击反应气体，电离所形成的反应分子，碰撞待测的分子离子，形成碎片离子
- ▶ **场致电离**——高压电场 10^7 - 10^8 V/cm，强制分子电离出电子
- ▶ **基质辅助激光解析电离 (MALDI)**——激光照射分散于基质中的样品，导致生物大分子“气化”离子化
- ▶ **电喷雾电离 (ESI)**——电场下喷雾，形成带电雾滴，蒸发，离子化。（适于生物大分子）

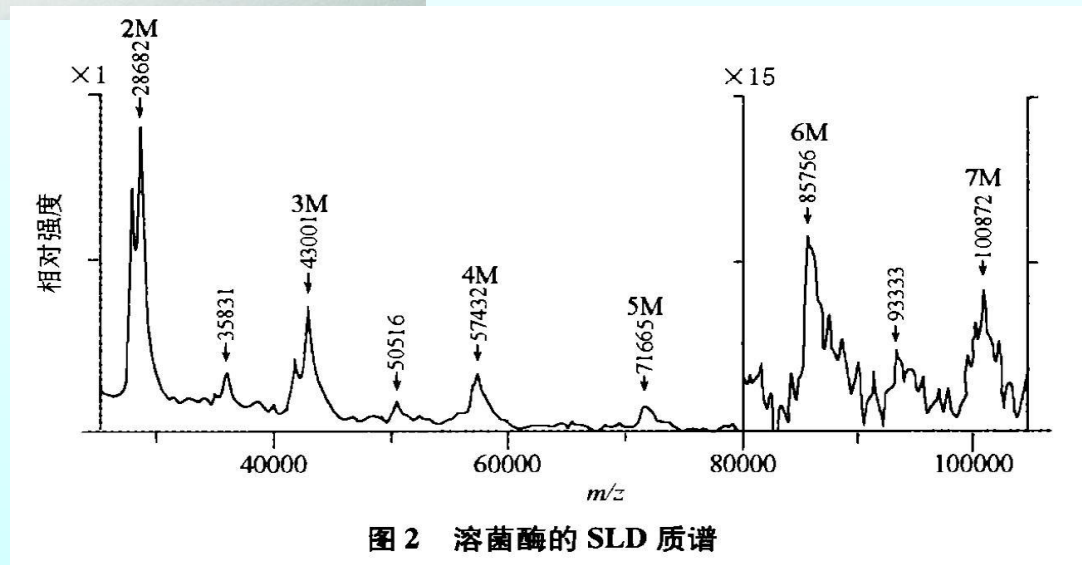
——LC-MS常用离子源

MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization)



基质吸收了激光的能量，传送到样品，所以样品的分子才可以在不被分解的情况下得到气化。

溶菌酶的质谱图。2M和6M是2个M, 6个M（分子）在一起离子化后结果。



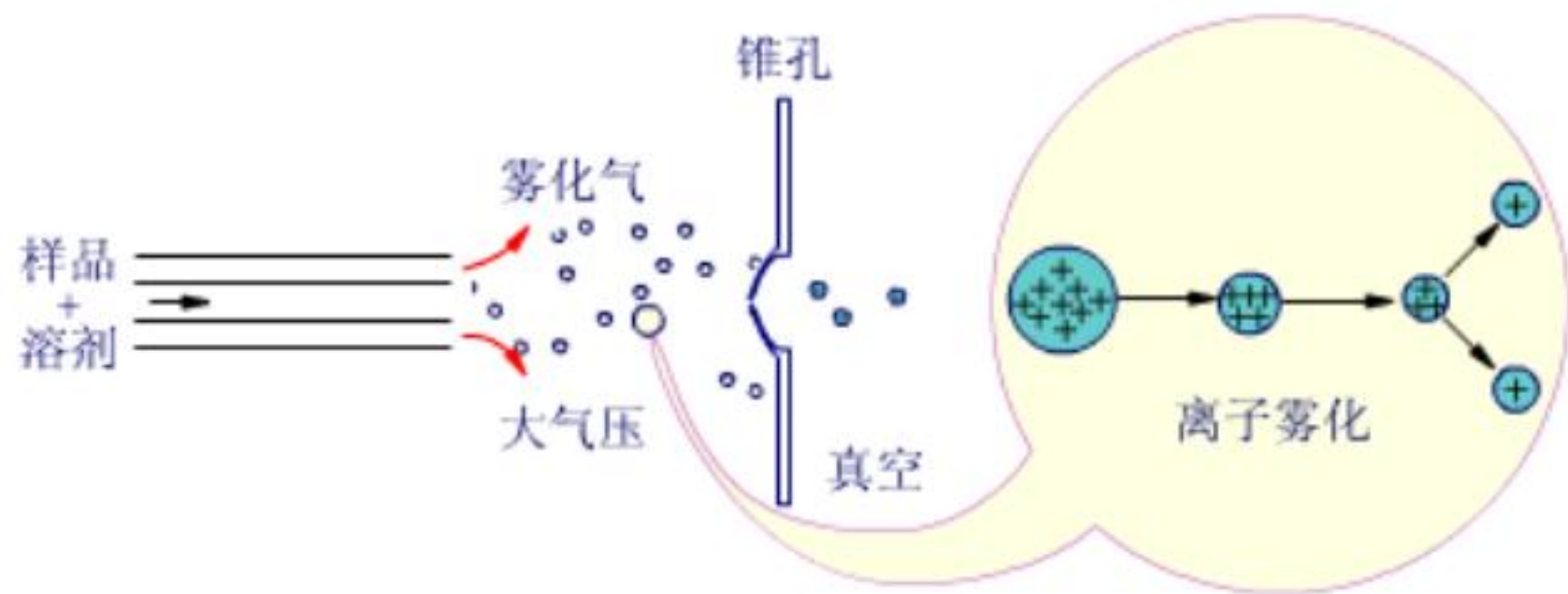


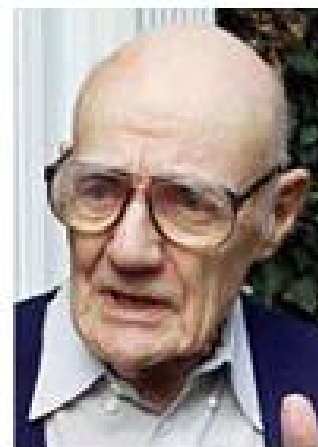
图9-3 电喷雾电离原理图



库尔特·维特里希



田中耕一



约翰·芬恩

瑞典皇家科学院10月9日宣布，把2002年诺贝尔化学奖授予85岁的美国科学家约翰·芬恩(John B. Fenn)、43岁的日本科学家田中耕一(Koichi Tanaka)和64岁的瑞士科学家库尔特·维特里希(Kurt Wüthrich)，以表彰他们发明了对生物大分子进行识别和结构分析的方法。

瑞典皇家科学院发表的新闻公报说，芬恩和田中的贡献在于开发出了对生物大分子进行质谱分析的“软性解吸附电离法”，维特里希的贡献是开发出了用来确定溶液中生物大分子三维结构的核磁共振技术。他们三人的这些研究成果对于研究包括蛋白质在内的大分子具有“革命性的”意义，使人类可以通过对蛋白质进行详细的分析而加深对生命进程的了解，使新药的开发发生了革命性的变化，并在食品控制、乳腺癌和前列腺癌的早期诊断等其他领域也得到了广泛的应用。

田中耕一因发明革命性的质谱技术而获得2002诺贝尔化学奖



瑞典皇家科学院10月9日宣布，日本岛津制作所科学家田中耕一与另外两位科学家一道，共同获得2002年度诺贝尔化学奖，以表彰他们的发明对生物大分子的识别和结构分析中的贡献。

田中耕一(Koichi Tanaka)所发明的革命性质谱分析技术已经成为现代蛋白质、DNA、碳水化合物和糖类标准分析方法(MALDI, SELDI和DLOS)的基础，其使表达生物大分子组成成为可能。几乎所有现代商品激光解吸附技术都是以田中耕一的工作为基础的。

- 今年的诺贝尔化学奖的特点是聚焦在生物高分子(如蛋白质)研究中的分析方法上，田中先生是被瑞典皇家科学院称为“悬浮到升空”的软离子化技术的创始人，在1987年，在“东方质谱讨论会⁽¹⁾”上，田中先生首次发表了“软的激光解吸附技术可以使蛋白质分子离子化”，一年之后，科学界看到了他的完整论文⁽²⁾。
- 软的激光解吸附是以脉冲激光轰击固相或粘性相样品，样品由脉冲激光中获得能量，样品表面的成分或离子被解吸附，通过电场加速离子，使其飞行进入质谱分析器而被检测，基于离子在质谱飞行管中飞行的时间对离子进行鉴别，离子飞行的时间取决于离子的质/荷比(m/z)，离子的质/荷比越大，其飞行速度越慢，完成飞行轨迹所需的时间越长。

二. 质量分析器

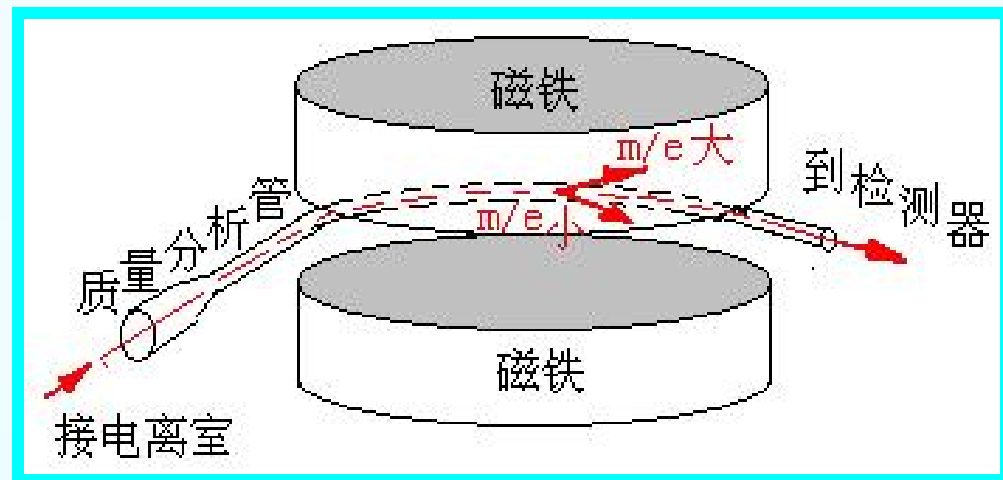
单聚焦质谱仪

质量分析器原理

加速后离子的动能：

$$(1/2)mv^2 = zU$$

$$v = [(2U)/(m/z)]^{1/2}$$



在磁场存在下，带电离子按曲线轨迹飞行；

圆周运动，向心力； $mv^2/R = H_0 z v$

曲率半径： $R = (mv) / z H_0$

质谱方程式： $m/z = (H_0^2 R^2) / 2U$

离子在磁场中的轨道半径R取决于： m/z 、 H_0 、 U

改变加速电压U, 可以使不同 m/z 的离子进入检测器。

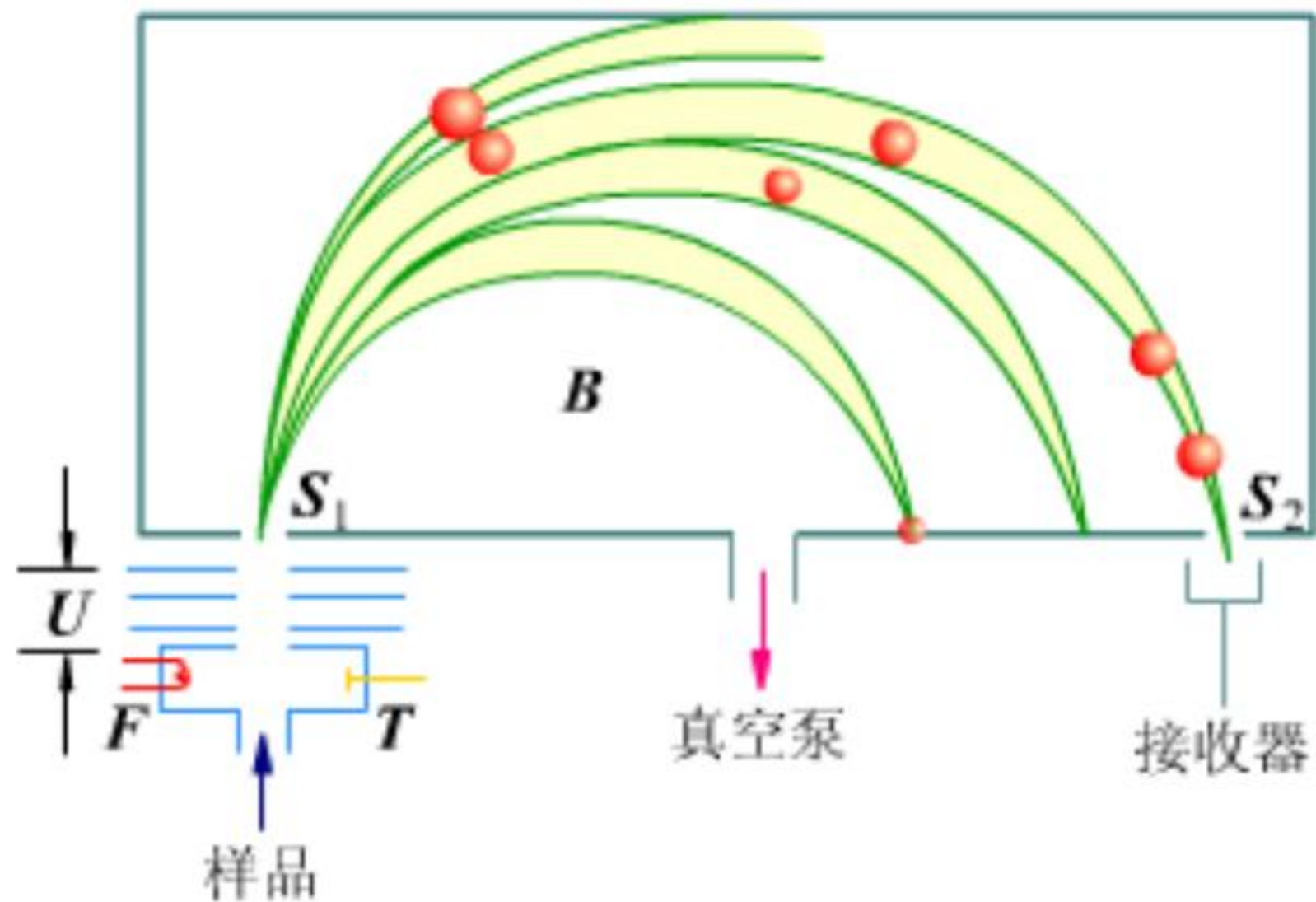


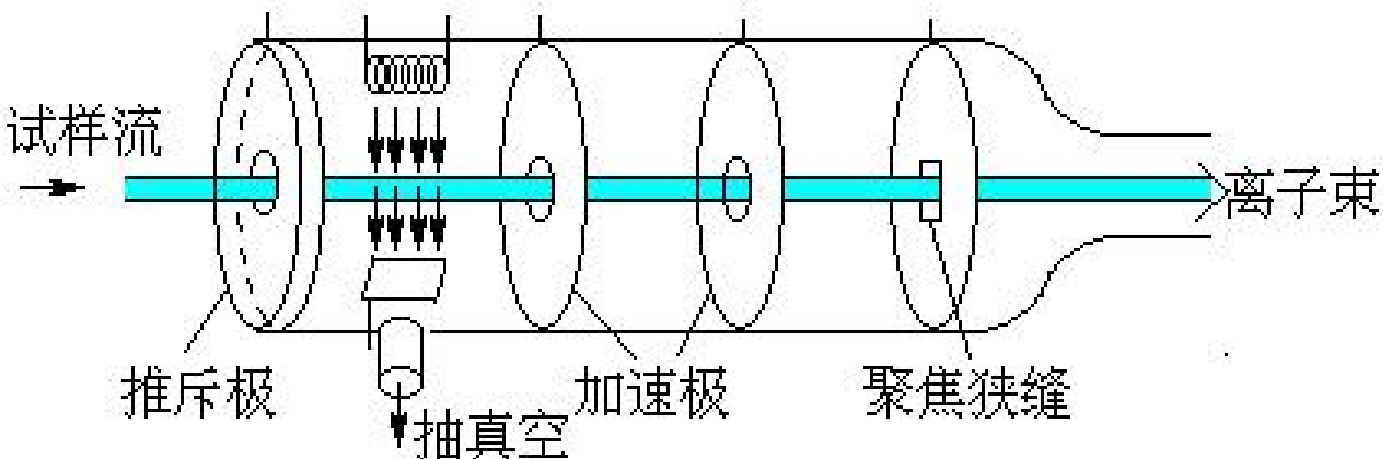
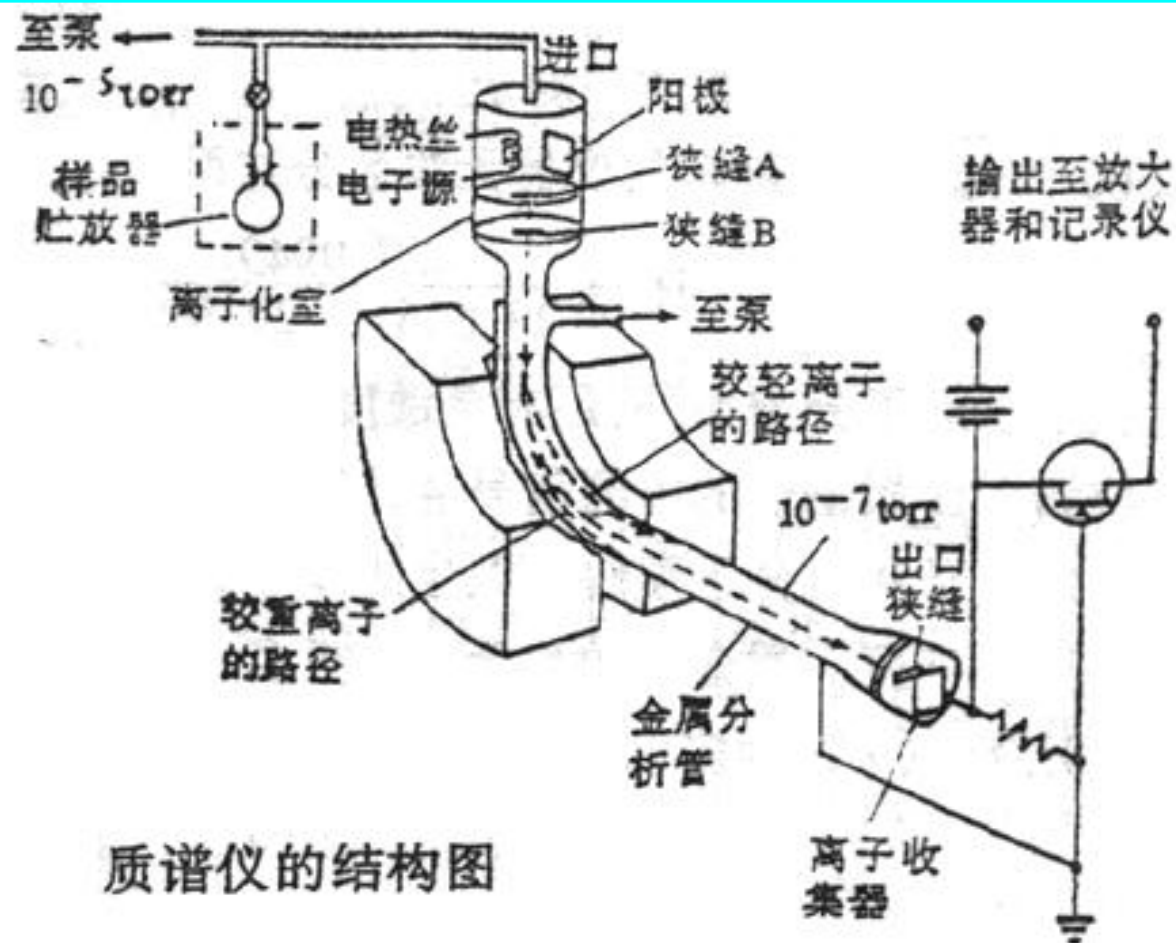
图9-6 单聚焦质量分析器原理图

原理与结构

操作方式:

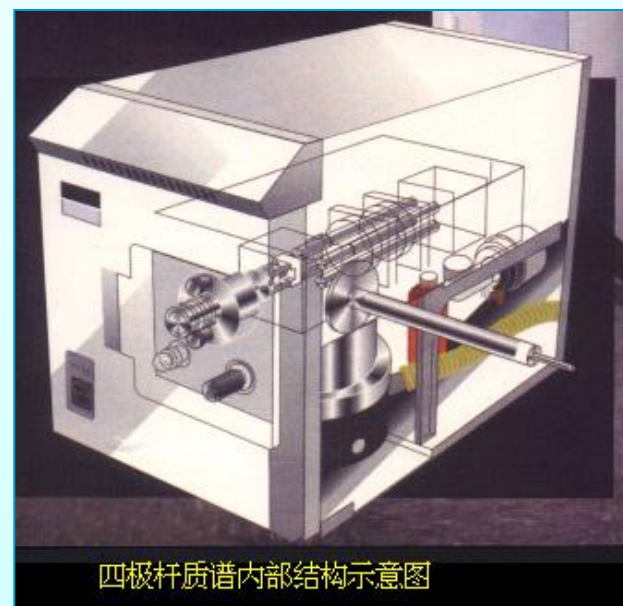
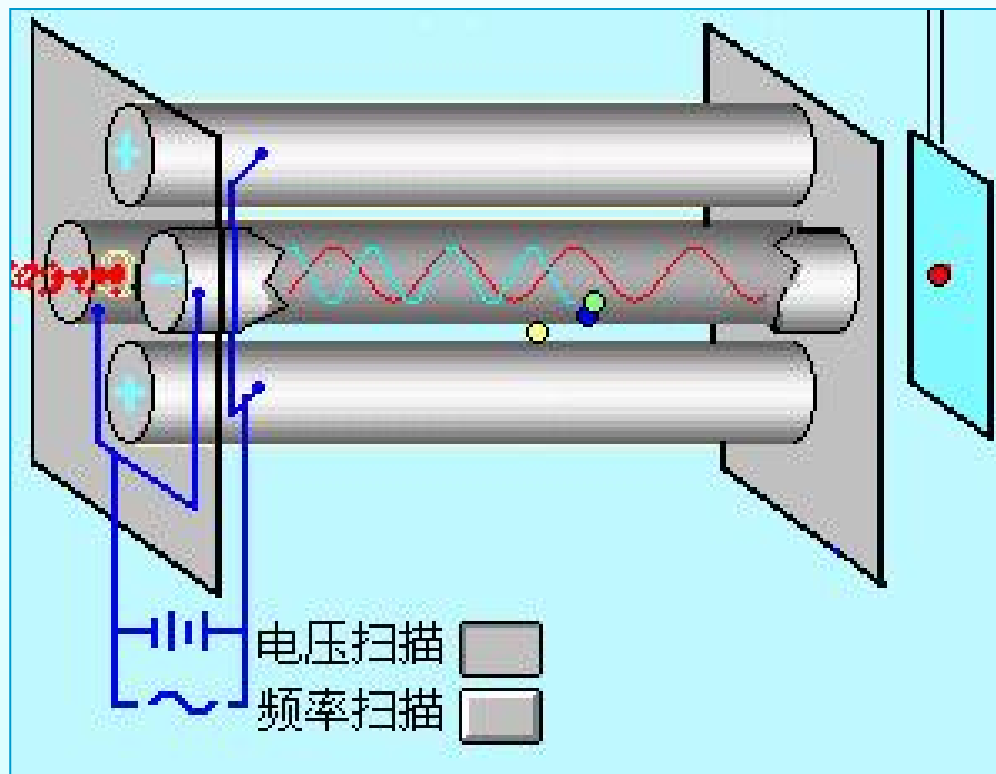
电压扫描

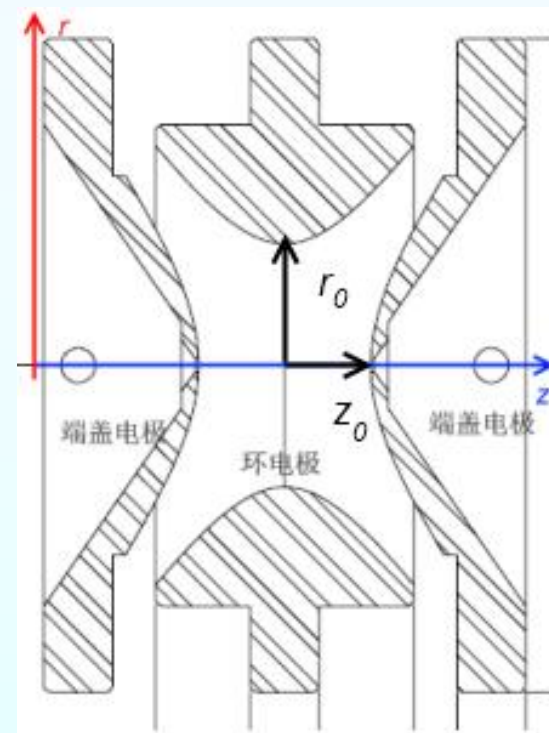
磁场扫描



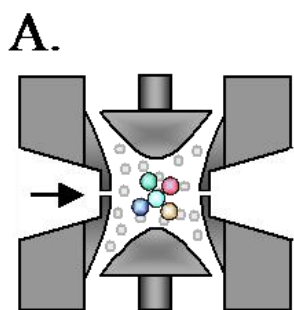
电离室结构

四极杆质量分离器

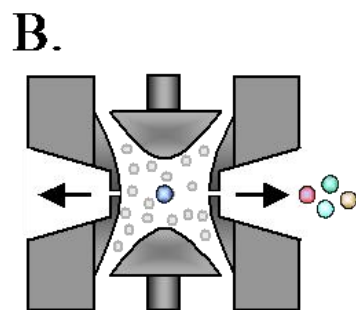




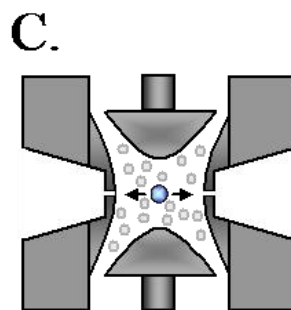
离子阱质量分析器



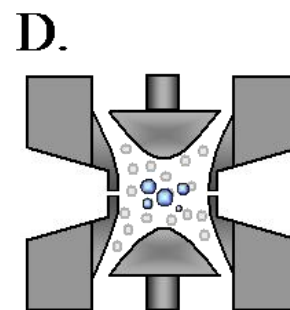
Ion Accumulation



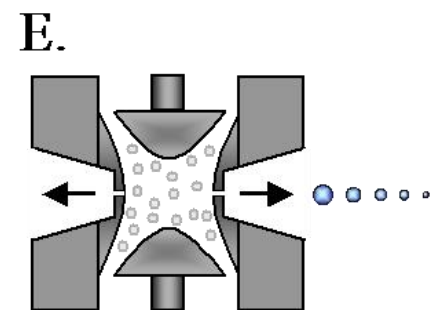
Precursor Ion Isolation



Collision Induced Dissociation

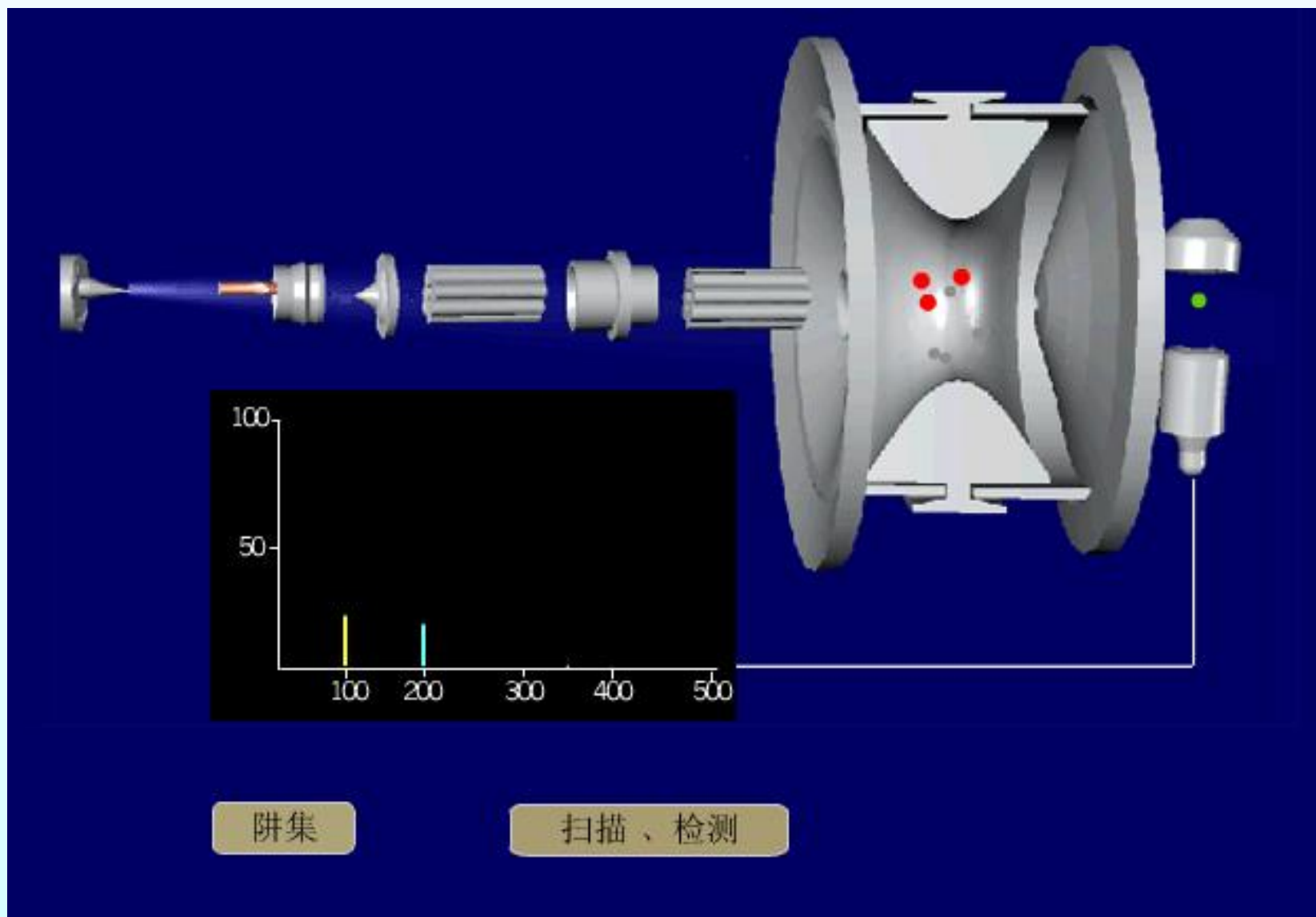


D.



E.

Mass Analysis



离子阱质量分析器

飞行时间质谱仪 TOF-MS

$$v = [(2U)/(m/z)]^{1/2}$$

$$t = L[m/(2Uz)]^{1/2}$$

$L=1-2$ 米

$t=10^{-5}—10^{-6}$ s

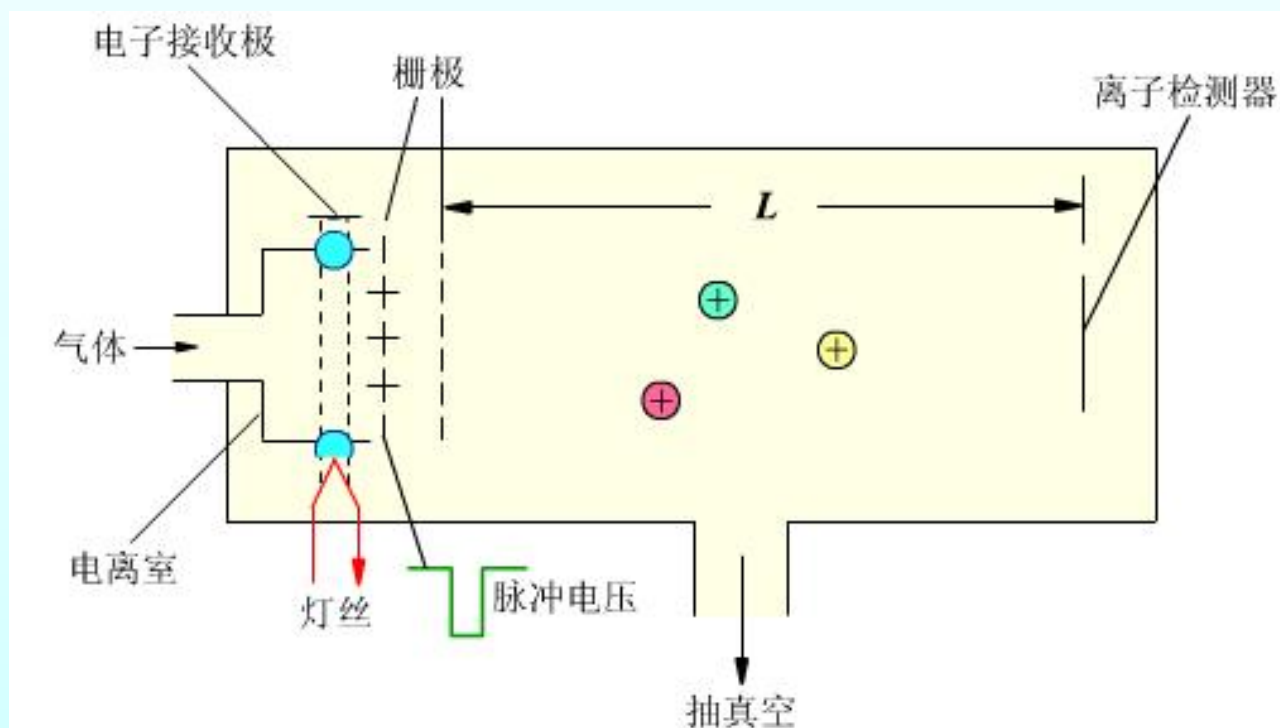
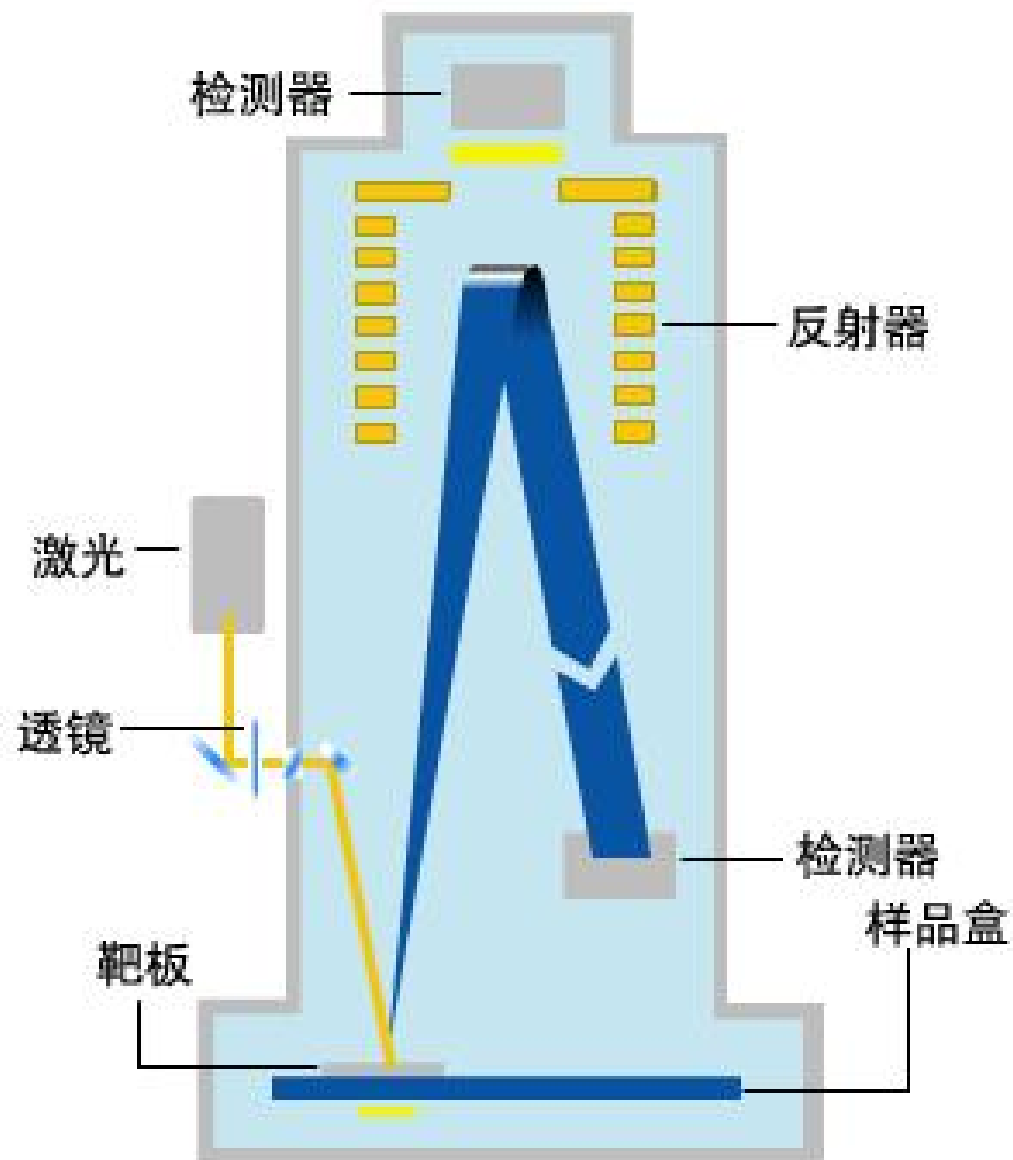


图9-10 飞行时间质量分析器原理图



基质辅助激光解吸飞行时间质谱仪原理图

第三节 离子的主要类型

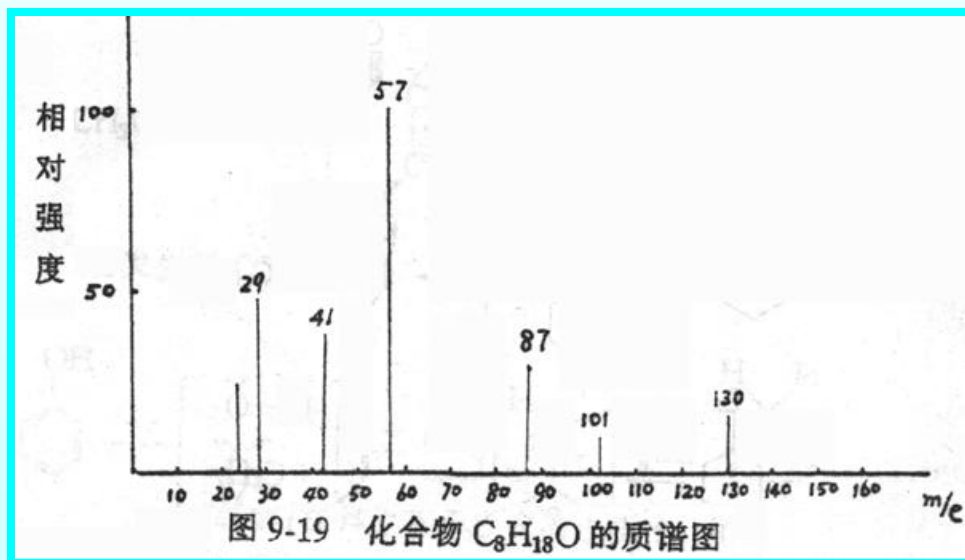
一、分子离子峰

分子电离一个电子形成的离子所产生的峰。

分子离子的质量与化合物的相对摩尔质量相等。

最易失去电子顺序：

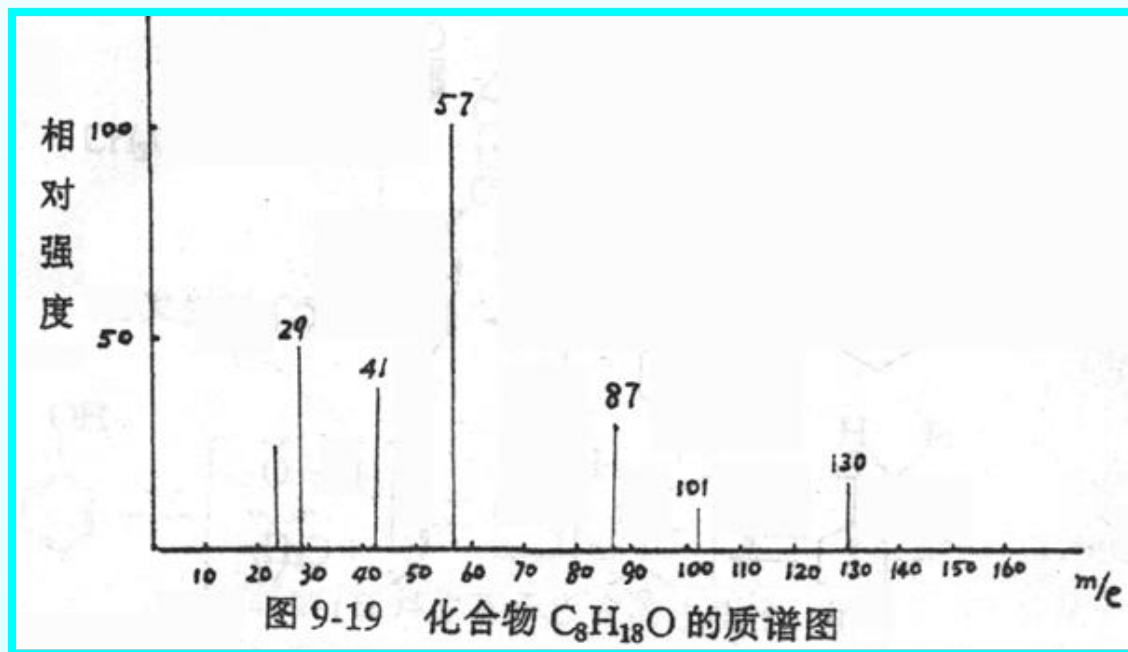
n 杂电子 $>$ π 电子 $>$ σ C-C电子 $>$ σ C-H



分子离子峰的特点：

一般质谱图上质荷比最大的峰为分子离子峰；但有例外。

形成分子离子需要的能量最低，一般约10电子伏特。



质谱图上质荷比最大的峰一定为分子离子峰吗？

不一定

二、同位素离子峰

由于同位素的存在，可以看到比分子离子峰大一个质量单位的峰（ $M+1$ 峰）；有时还可以观察到 $M+2$ ， $M+3$ 。。。；

例如：CH₄ $M=16$

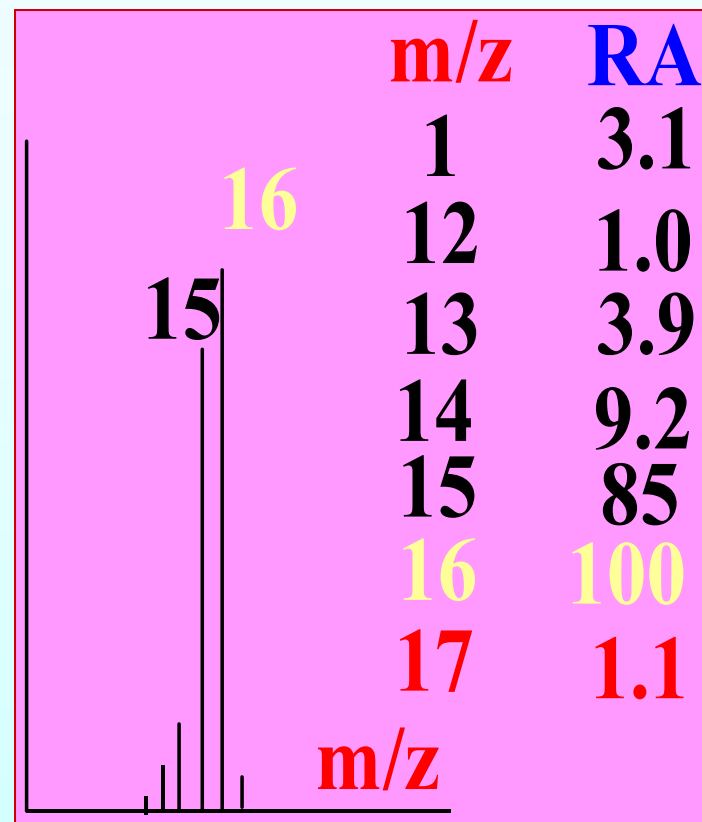
$^{12}\text{C}+^1\text{H}\times 4=16$ M 分子离子峰

$^{13}\text{C}+^1\text{H}\times 4=17$ $M+1$

$^{12}\text{C}+^2\text{H}+^1\text{H}\times 3=17$ $M+1$

$^{13}\text{C}+^2\text{H}+^1\text{H}\times 3=18$ $M+2$

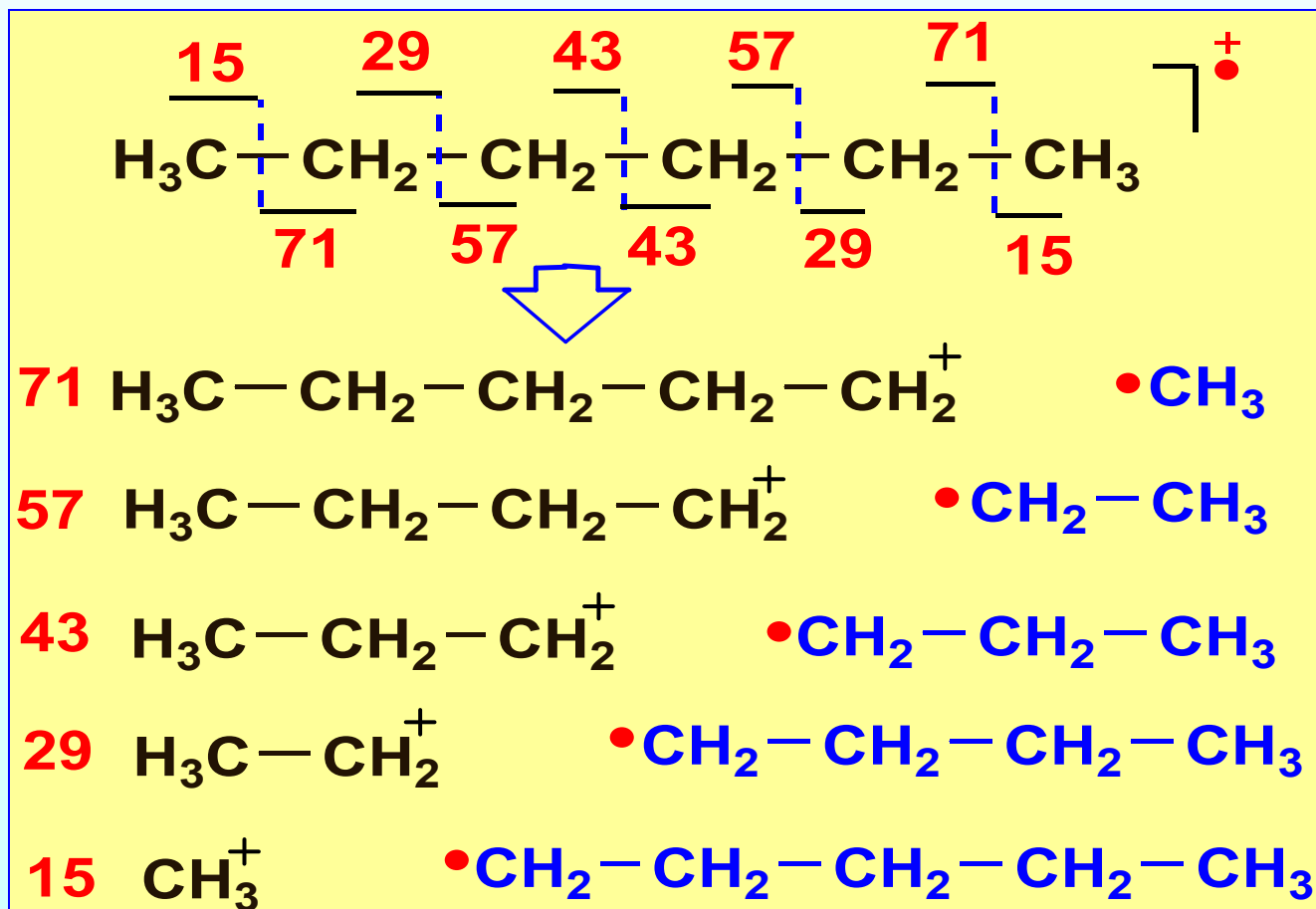
同位素峰



三、碎片离子峰

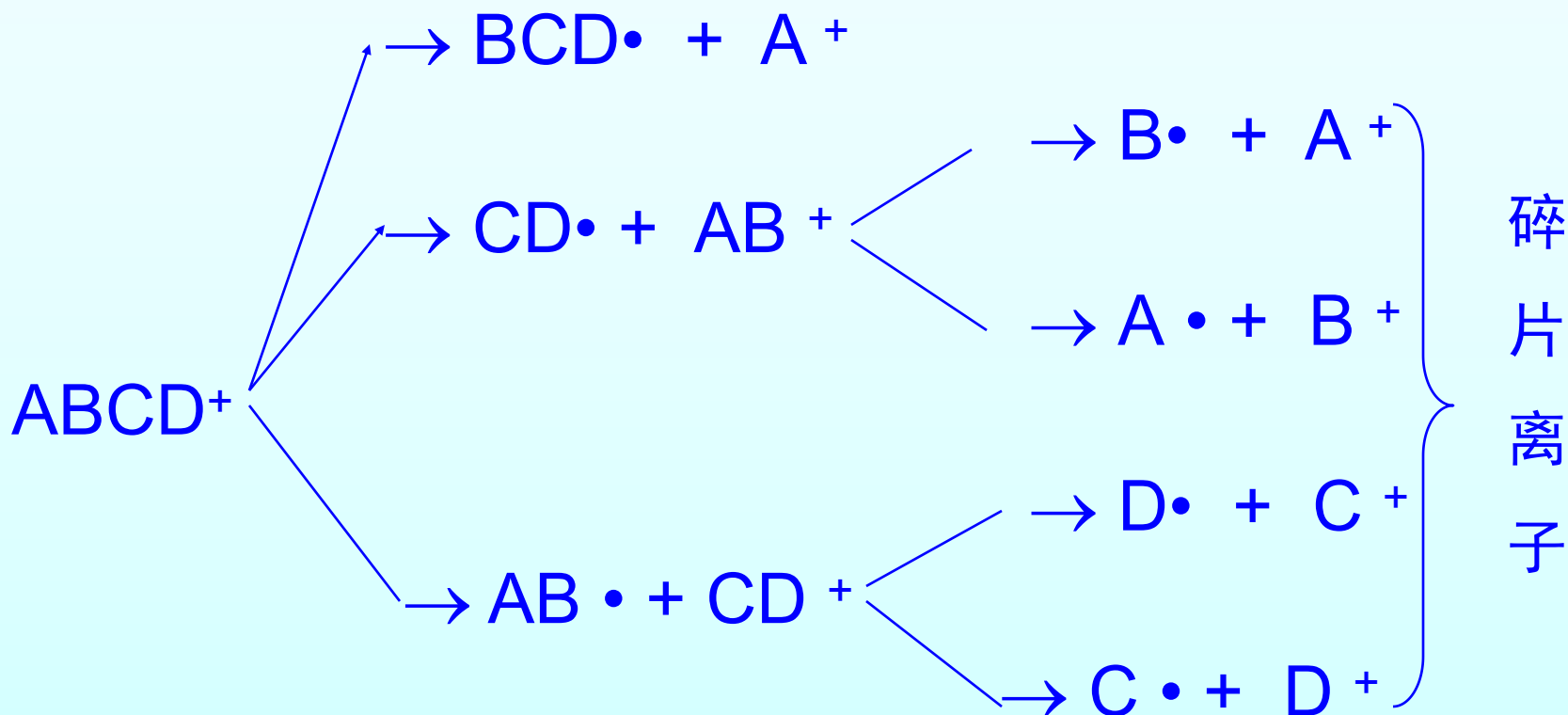
一般有机化合物的电离能为7—13电子伏特，质谱中常用的电离电压为70电子伏特，使结构裂解，产生各种“碎片”离子。

正己烷



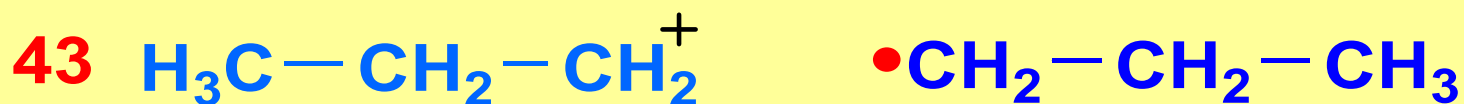
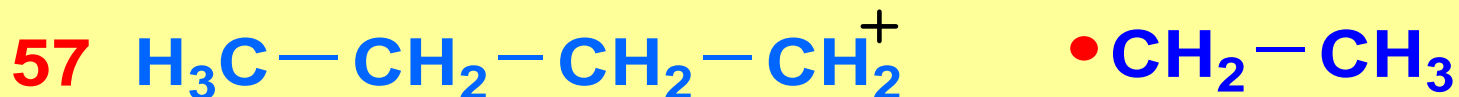
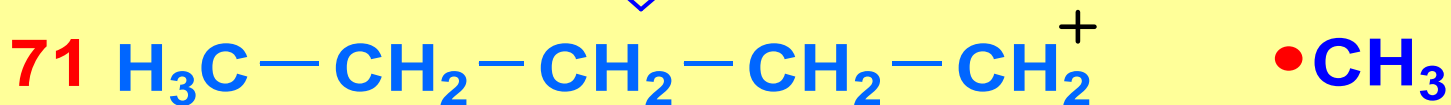
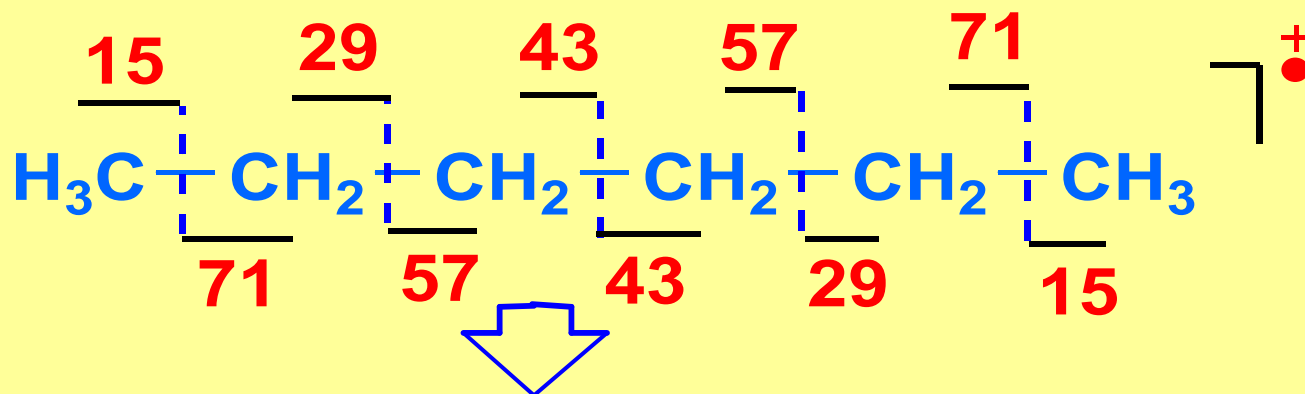
有机分子的裂解

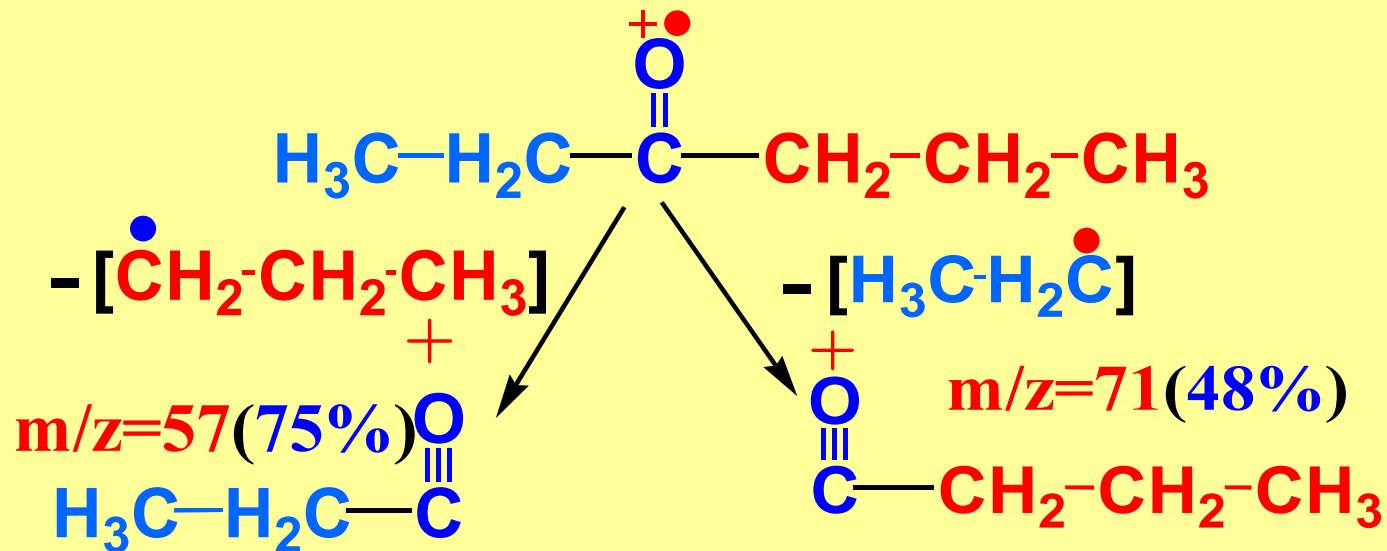
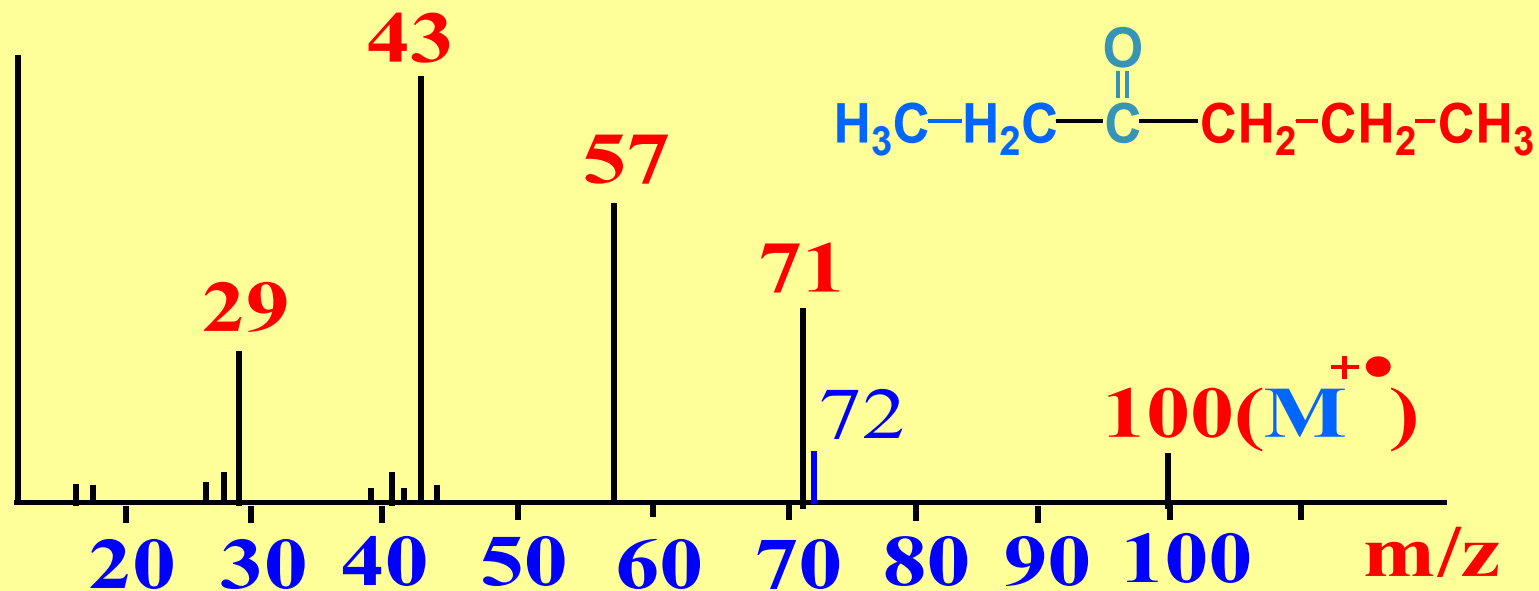
当有机化合物蒸气分子进入离子源受到电子轰击时，按下列方式形成各种类型离子（分子碎片）：





正己烷





Commonly Lost Fragments

m-15 $\cdot\text{CH}_3$

m-17 $\cdot\text{OH}$

m-26 $\cdot\text{CN}$

m-28 $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}_2$

m-29 $\cdot\text{CH}_2\text{CH}_3$ $\cdot\text{CHO}$

m-31 $\cdot\text{OCH}_3$

m-35 $\cdot\text{Cl}$

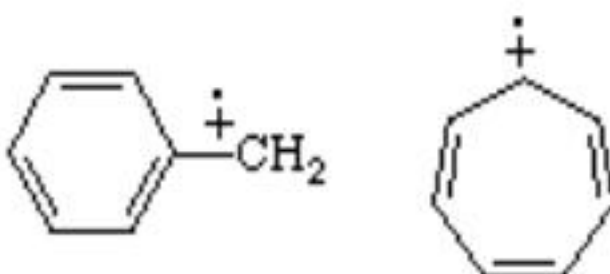
m-43 $\text{CH}_3\dot{\text{C}}=\text{O}$


m-45 $\cdot\text{OCH}_2\text{CH}_3$

m-91 

Common Stable Ions

m/e = 43 $\text{CH}_3-\text{C}^+\equiv\text{O}$

m/e = 91 

m/e = m-1 

质谱图与结构解析

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，质谱法是进行有机物鉴定的有力工具。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。

质谱图信息

- 分子量测定——分子离子峰确认
- 分子式确定——精确测定分子量
- 图谱解析——确定分子结构

(一) 用高分辨质谱仪确定分子式

$$^{12}\text{C} = 12.000000$$

$$^1\text{H} = 1.007825$$

$$^{14}\text{N} = 14.007825$$

$$^{16}\text{O} = 15.994915$$

$$\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_6\text{O}_4 \quad 300.154592$$

$$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_5 \quad 300.143359 \quad \text{相差 } 0.011233$$

第四节 色谱-质谱联用技术

一、色谱-质谱联用的意义

色谱

- 依据组份性质不同，差速迁移，按时间分离
- 复杂样品的分离分析方法
- （保留值）定性能力较弱

质谱

- 依据质量/电荷比不同，进行分离、检测
- 定性、结构分析能力强
- 复杂物质分析能力相对较弱（如基体离子化干扰）

色谱-质谱联用——优势互补

二、色谱与质谱联用仪器的结构

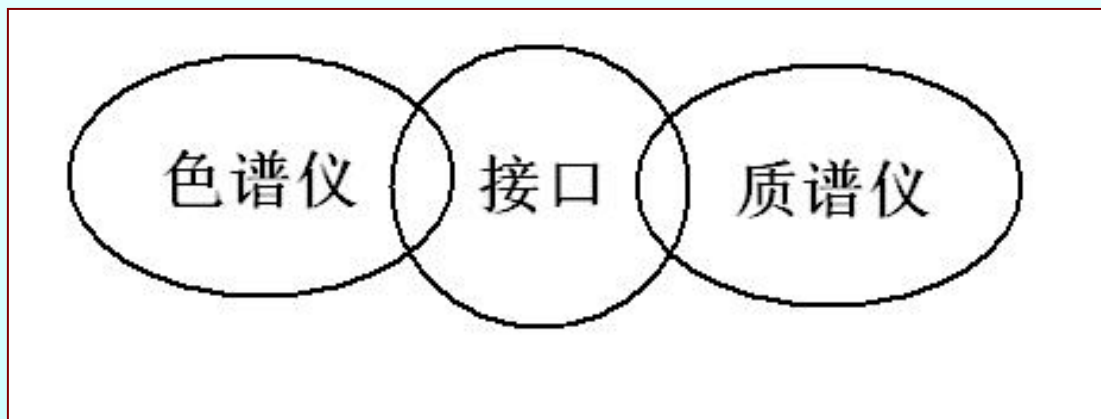
色谱

- 工作状态：常压
- 流出物：流动相+组份

质谱

- 工作状态：真空
- 对样品要求：纯（不要流动相）

1. 基本结构



接口的作用：

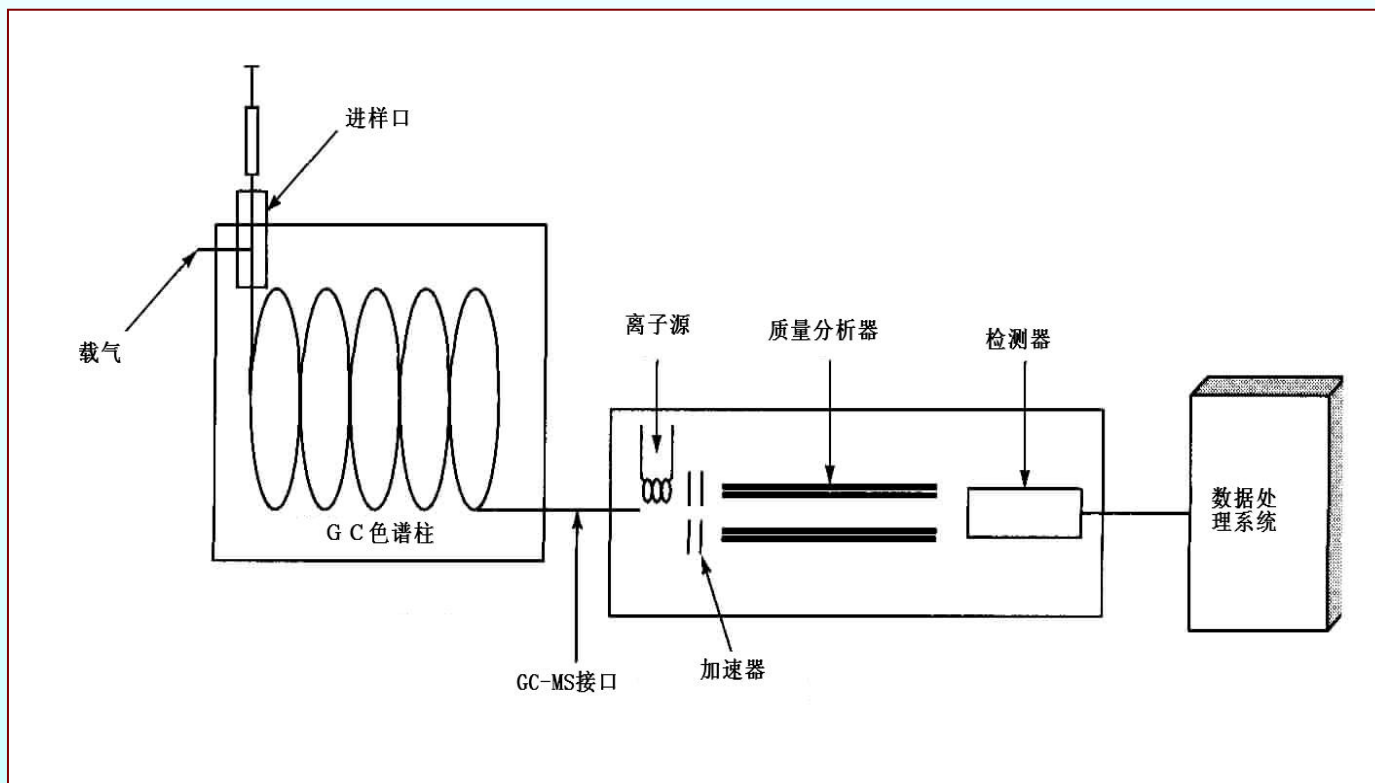
- 真空过渡
- 去溶剂

2. 气质联用仪 (GC-MS)

➤ 毛细管气相色谱

载气流量小，流出的组分可直接通过接口引入质谱仪的离子化室

接口的作用：引导毛细管；控制温度



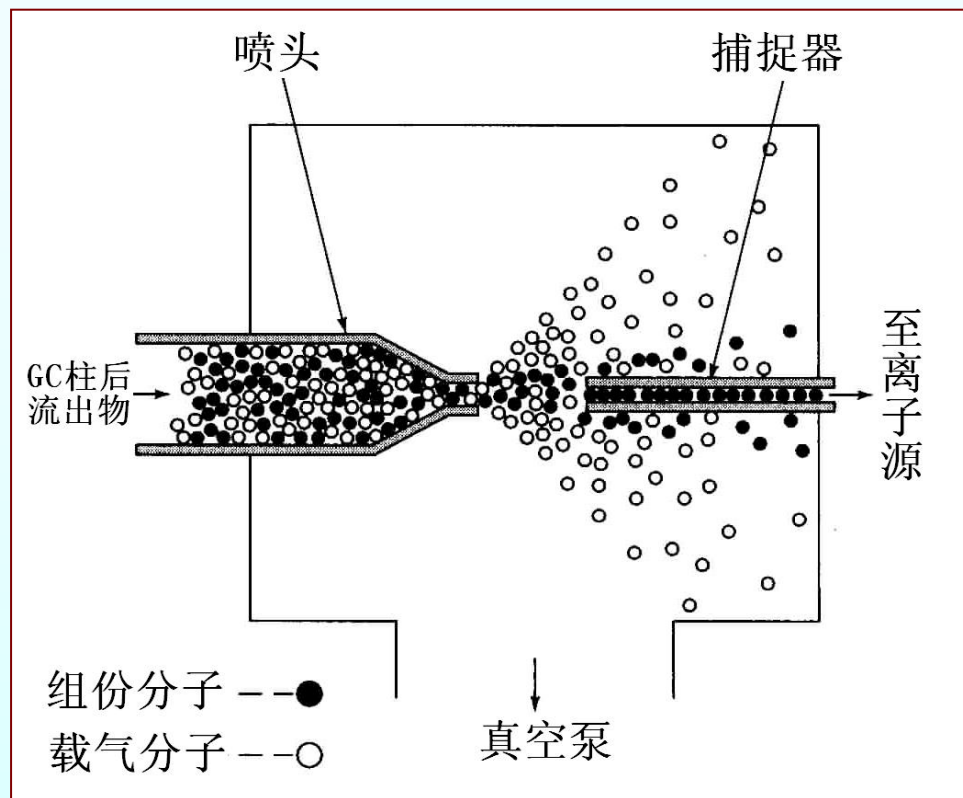
➤ 填充柱气相色谱

载气流量大，采用分子分离器的接口，使载气分子与组份分子分开。

待测组分分子的质量大，在惯性作用下继续直线运动进入捕捉器。

载气分子质量小，扩散较快，易被真空泵抽走。

经过分子分离器后，组分分子被浓缩，同时气相压力也显著降低。



分子分离器的接口工作原理

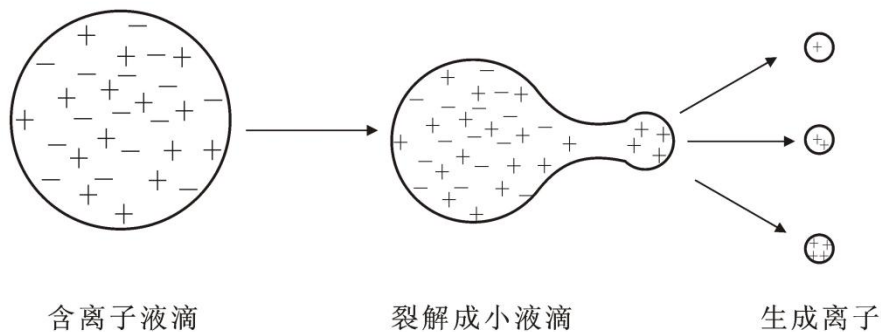
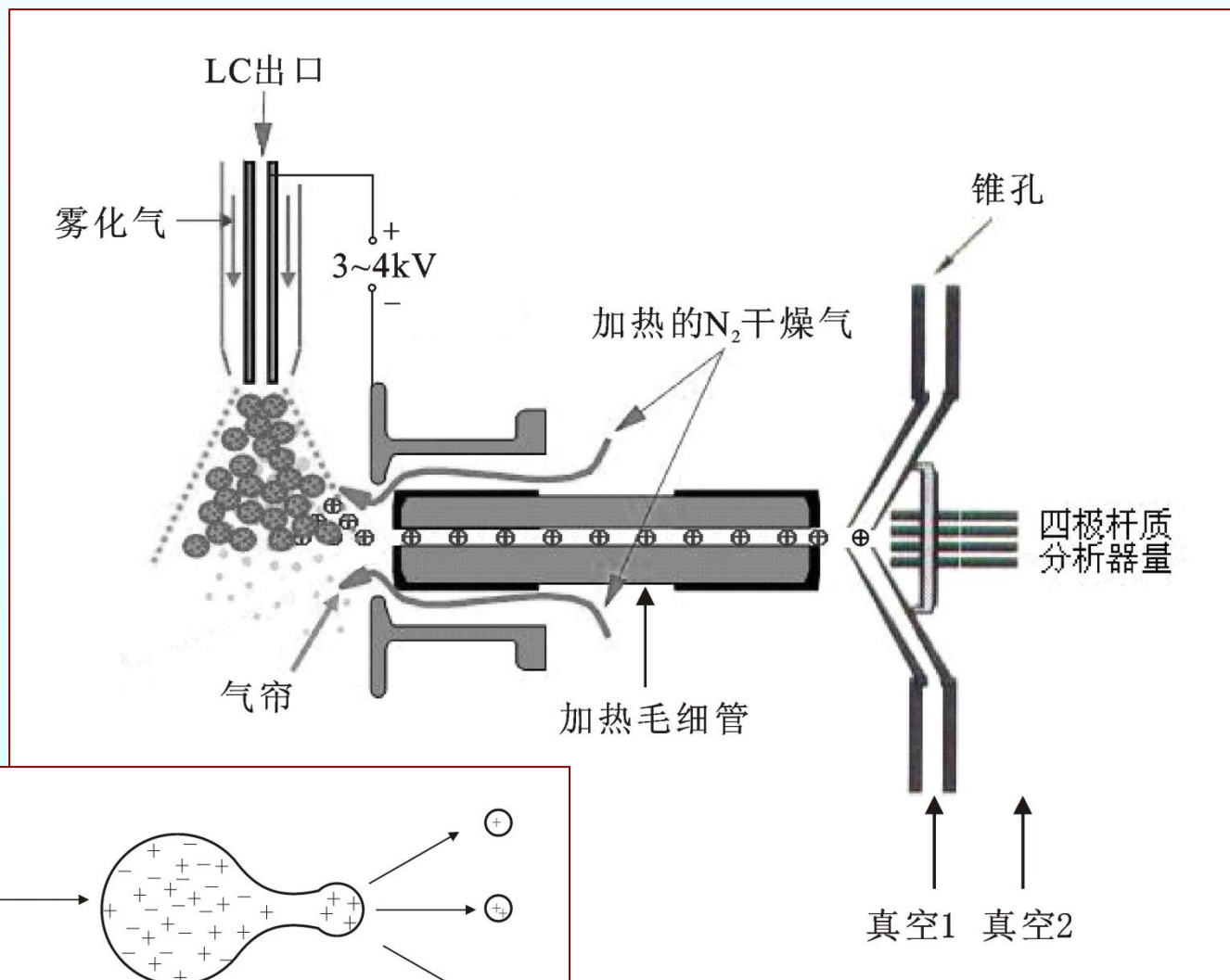
3. 液相色谱-质谱联用仪（LC-MS）

液相色谱流出液进入质谱仪之前：

- 分流，减小流量
- 除去流动相

离子喷雾、电喷雾、大气压化学电离等技术，不仅有效地解决了流动相去除的问题，同时还实现了组分分子的电离，因此，LC-MS的接口同时也充当了离子源的作用。

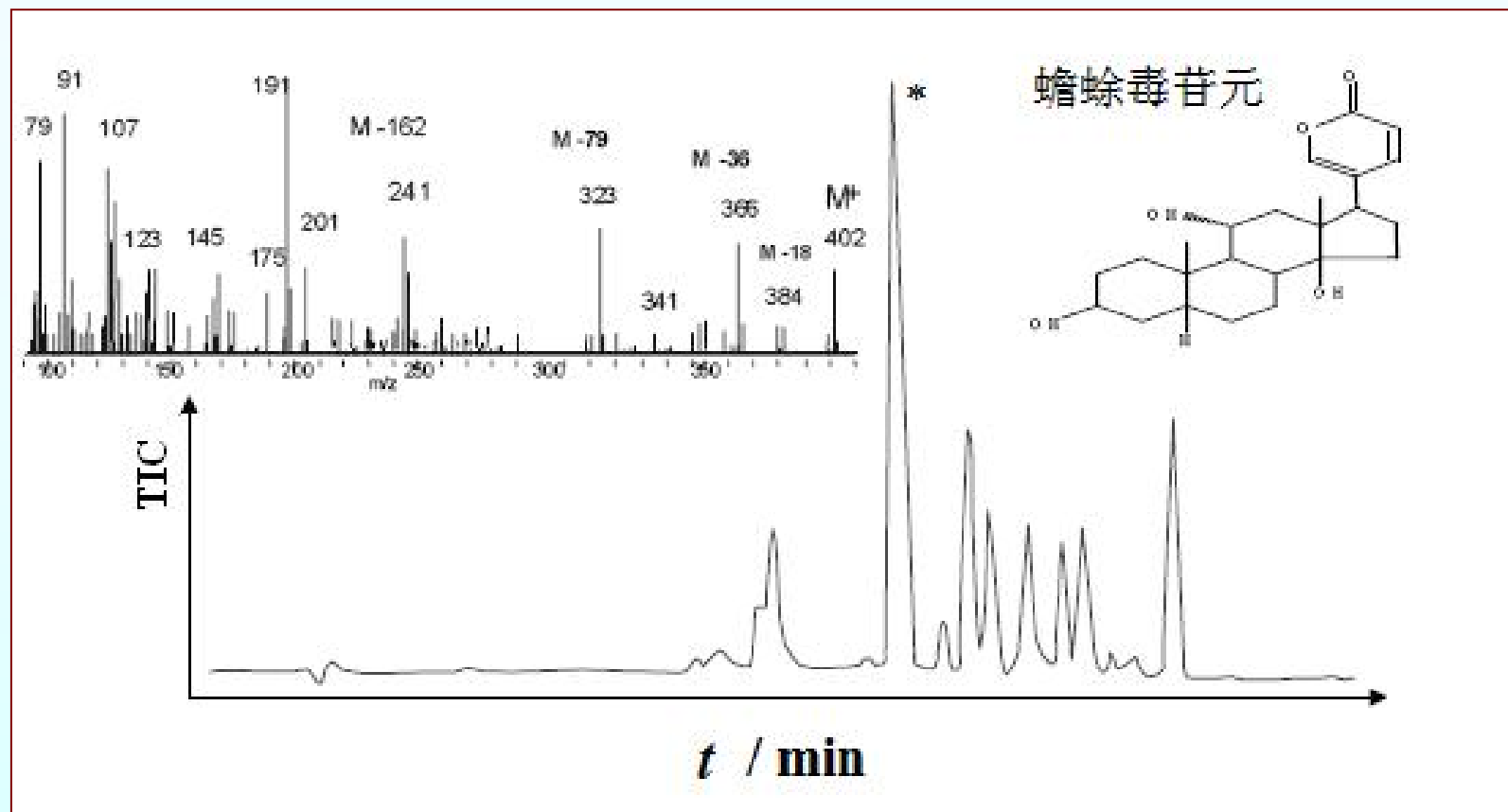
电喷雾离子化器（ESI）的构造和离子化原理



三、色谱-质谱联用仪的检测及信号采集方式

1. 色谱和质谱图

- 总离子强度信号：将某组分的每个质谱峰信号强度相加后的信号。
- 总离子色谱图：总离子强度随时间变化的曲线，即以质谱为检测器的色谱图。
- 总离子色谱图中的色谱峰面积和该组分的含量成正比，可用于定量分析。
- 组份的质谱图：总离子色谱图中，每个峰的质谱图。



总离子色谱图及星号标识组分（蟾蜍毒苷元）的质谱图

2. 质谱图的信号采集方式

➤ 全扫描方式

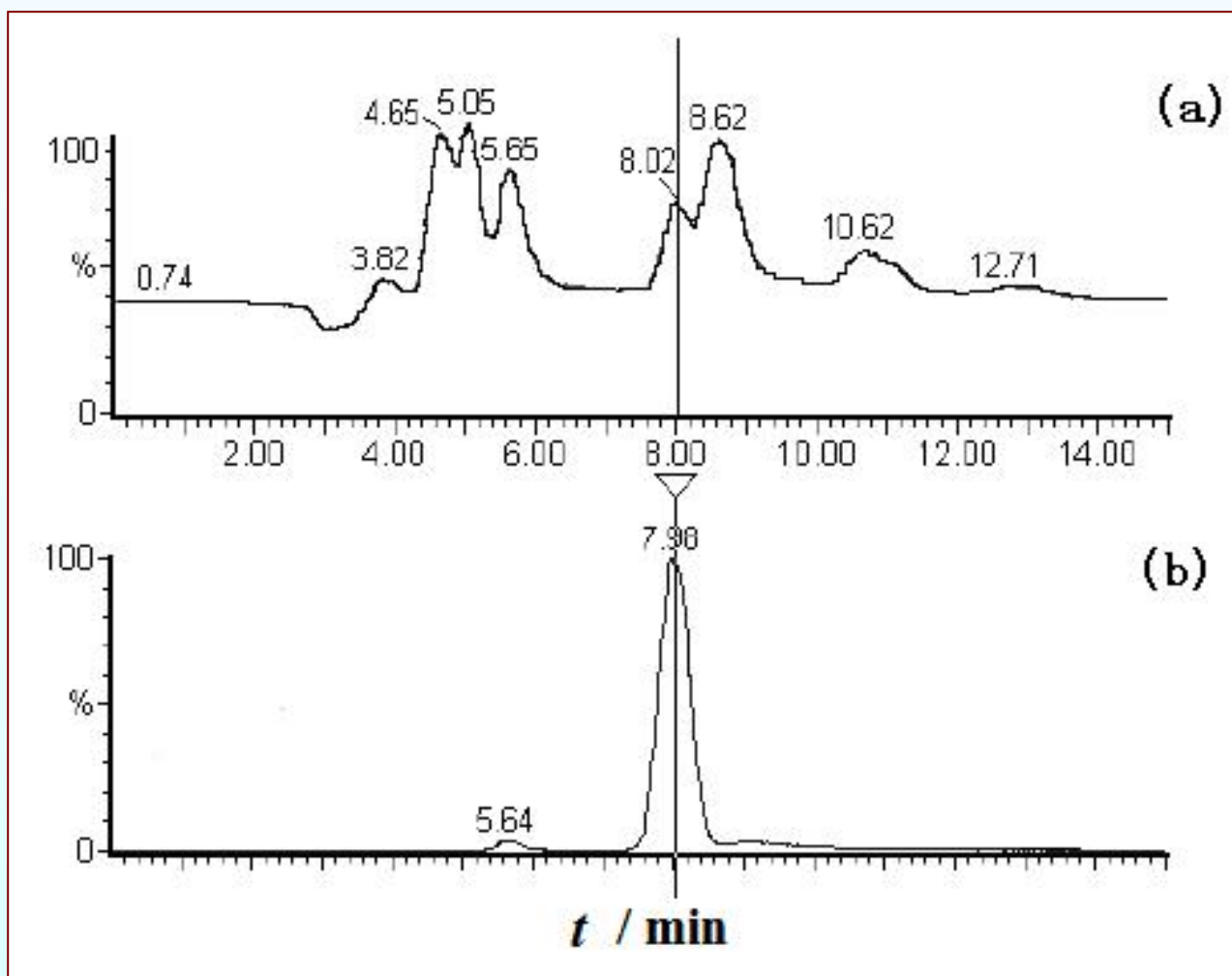
——对指定质量范围内的全部离子扫描并记录，得到的是完整的质谱图。

——全扫描质谱图可以提供未知物的分子量和结构信息，可通过解谱或库检索等方式确认未知物的分子结构。

➤ 选择离子扫描

——只对选定的碎片离子进行检测，而其他离子不被记录。

——优点是选择待测组分最具特征的几个碎片离子进行选择性检测，把复杂的总离子色谱图变成简单的选择离子监测色谱图，排除不相关的离子的干扰。



GC-MS分离农药混合物的总离子色谱图 (a)
和选择离子监测色谱图 (b)

作业：

P609 22.1

附加

1. 质谱仪的分析原理是什么？
2. 色谱-质谱联用的优势有哪些？