

串联质谱——分析混合物的新技术

郭 伽

众所周知,分析混合物时,首先需要把混合物中的各成分分离,然后才能够进行定性定量测定,这就使混合物的分析工作变得很复杂,有时甚至难以进行。自从色谱—质谱(GC/MS和LC/MS)联机分析仪器出现后,混合物分析获得迅速发展。但是,由于这两种仪器的操作性质截然不同,因此需要用一个特殊的接口装置把两个仪器联接起来,经过色谱和质谱工作者的多年努力,出现了许多精巧的设计,能适应不同的分析要求。现在,虽然接口的形式很多,但它仍然是联用仪器中的一个薄弱环节,而根据质量分离离子动能谱(MIKE)技术发展起来的质谱—质谱(MS/MS)法^[1-4]不存在这个问题,可以在一个仪器中对混合物进行直接分离和鉴定。

这两种分析方法的过程如图1所示。在质谱—质谱分析中,利用混合物在第一个质量分

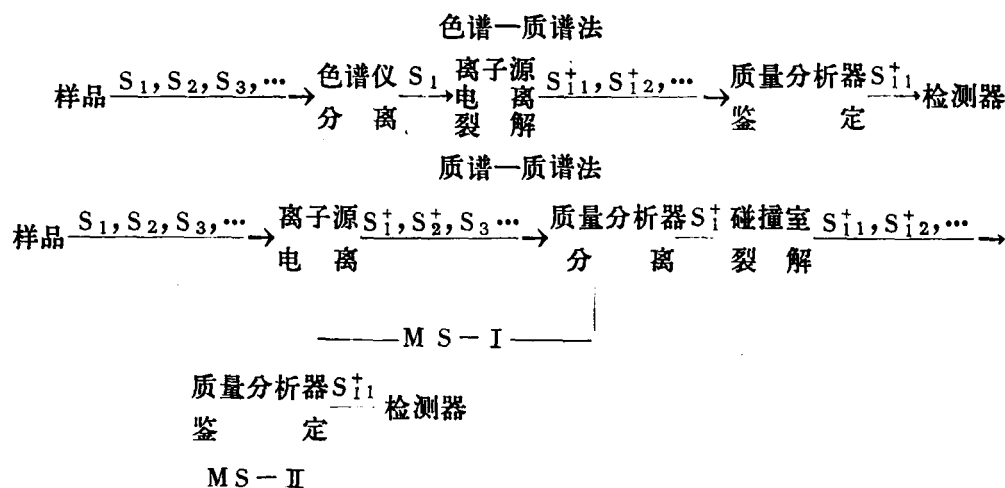


图1 色谱—质谱法和质谱—质谱法分析混合物的过程比较

析器(MS—I)的电离和质量分离代替色谱的分离,预选出感兴趣的离子。在MS—I和MS—II之间,对此离子进行碰撞诱导裂解(CA谱)或亚稳裂解,再利用第二个质量分析器(MS—II)测定裂解谱。由于裂解时离子速度没有明显变化,碎片离子的质量与它的动能或动量成正比,MS—II可以作为质量、动能和动量分析器来操作,如在MIKE谱仪中,扇形电场是一个动能分析器。如果一个离子 m_1^+ 裂解为 m_2^+ 和中性碎片 m_3 ,则离子 m_2^+ 的动能与离子 m_1^+ 的动能有如下的关系:

$$KE(m_2^+) = \frac{m_2}{m_1} KE(m_1^+)$$

按照这一关系式就可以通过测定碎片离子能量求得它的质量。

色谱法是按化合物的物理化学性质进行分离的,质谱法是按化合物的质量进行分离的,因此质谱分离法对色谱分离法是一个重要补充,质谱—质谱法能在色谱—质谱法不能胜任的

某些应用领域中发挥作用。

质谱—质谱分析法与色谱—质谱分析法相比,除了在分离和分析装置之间没有接口问题外,还有以下几个优点:

(1) 随着电子检测设备的不断改进,化学噪声对检测的干扰越来越突出。在分析过程中,总是希望被分析的样品免受沾污。按照这一要求,色谱分析方法从原理上看是有缺陷的,样品需要用大量的外来物质处理,如气相色谱中的担体,固定相和载气;液相色谱中的柱填料和溶剂。色谱—质谱法以柱流失和柱记忆的形式引入显著的化学噪声,使检测灵敏度受到限制。质谱—质谱法直接把样品加到仪器中,减少了样品受沾污的机会。

(2) 色谱—质谱法除了引入化学噪声外,在区别化学噪声方面也不如质谱—质谱法。在质谱—质谱分析中,有两个在高真空中进行的物理清洁阶段,使样品转移机会减到最低限度;而在色谱—质谱分析中,只有一个物理清洁阶段。因此,虽然质谱—质谱分析法碰撞裂解阶段的效率低,样品损失大于90%,但它的检测限仍然与色谱—质谱法相同。

(3) 质谱—质谱分析法对样品的挥发性和热稳定性的要求没有气相色谱—质谱法严格,可以把分析混合物的范围扩大到易于发生热分解和不易汽化的物质(如采用FD软电离离子源)。

(4) 色谱—质谱分析法有死时间,分析周期长。质谱分离的时间单位为毫秒,连续进样时,全部分析时间都能用于分析,如可以对大气样品和植物蒸气进行连续监测。由于混合物的成分能按任何顺序分离出来,可以对所感兴趣的成分进行单独分析,并能按定性定量分析要求安排分析时间,这样高度有效地使用分析时间在色谱—质谱分析中是不可能的。

(5) 当样品组成随时间改变时,可以用质谱—质谱法同时对几个成分进行监测,如工业生产过程和化学反应过程。当需要对几个成分进行精确定量时,为避免仪器波动,也可以用质谱—质谱法进行分析。

(6) 用质谱—质谱法可以对同系物进行快速分析。分析同系物有两种扫描方法,第一种方法是当同系物有特征的碎片离子时,固定MS—I让这一碎片离子通过,扫描MS—I得到产生这一碎片离子的所有母离子,这一种扫描方法适用于测定结构同系物,如取代芳烃,甾体化合物。第二种方法是以固定的质量差扫描两个质量分析器,观察失去一个特定中性物的反应。由于有机化合物的功能基常常以中性碎片的形式失去,如失去质量44的中性碎片是羧酸的特征质谱反应,利用这一扫描方法可以检测一系列具有相同功能基的化合物。

(7) 质谱—质谱分析需要的样品量少。

用MIKE谱仪进行质谱—质谱分析的主要缺陷是MS-I的质量分离能力有限。在分析复杂的混合物时,如果有质量与被选离子质量很接近的离子存在,由于分离作用是在一个单聚焦装置上进行的,分辨本领不高,使裂解谱难以解释。Russell^[5,6]和McLafferty^[3]等报告的多场质谱—质谱仪,用一个双聚焦质谱仪作为MS-I进行分离,质量分辨能力为50,000,这使多场质谱—质谱仪的分离能力与毛细管柱气相色谱—质谱仪的分离能力相当。由于质谱—质谱分析操作方式与双聚焦质谱仪没有联系,这一仪器的用途不仅限于质谱—质谱分析。通过选择电离条件使被分析的成分灵敏度最高或使其他成分灵敏度最低,也能提高MS-I的分离能力。如利用质子亲和能高的氨作为化学电离试剂气体,可以使质子亲和能高的胺类化合物发生选择性电离。

由于碰撞诱导裂解比亚稳裂解得到的信息量大(峰更多一些),灵敏度高,在用MS-II鉴定二级产物离子时,通常使用CA谱。但是,这一过程把被选离子转化成可测量的碎片

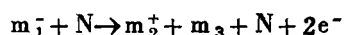
离子的效率还不到1%，这对于扩大质谱—质谱法的应用是一个严重的阻碍。McLafferty^[4]利用分子束碰撞装置可以把碰撞效率提高到大于10%。增加被选离子的动能可以增加碰撞过程中动能转化为内能的量，增加高能裂解过程生成的产物离子丰度，提高CA谱的灵敏度。

在MIKE仪器上进行质谱—质谱分析时，是用静电分析器作为MS-II，扫描得到被选离子的裂解谱图。利用这样一个能量分析器的缺点是CA谱的峰宽度大，其原因是由于过剩的分解反应能以产物的动能形式出现，按照被选离子在分解的一瞬间所在的空间方向，这一能量将会增加或降低产物离子的总动能，使产物离子峰变宽。虽然可以根据动能释放值的大小来鉴定被选离子，这一效应使CA谱中大多数峰的分辨能力受到限制。增高离子加速电压从而减小释放能量与离子动能的比值，可以改进MS-II的分辨能力。McLafferty^[4]在MS-I和碰撞区之间把离子加速到30千伏，使静电分析器的分辨能力明显改进。还可以用MS-II对产物离子进行高分辨分析，即在三场仪器后面再加一个磁分析器，使MS-II成为双聚焦的，这样的MS-II不仅具有高的分辨能力，而且由于峰变窄信噪比大大提高。

上面介绍的以反尼尔型结构为基础的磁式质谱—质谱仪，它们的缺点是构造复杂，价格昂贵。Yost和Enke^[7-9]报告的三级串联四极质谱仪可以代替上述仪器，它的特点是结构简单，操作方便，碰撞裂解效率高，扫描速度快，能快速改变被检测离子的极性，大量生产价格低廉。此仪器的第一个四极为MS-I起分离作用，第二个四极采用一个高频数的操作方式，只起聚焦作用，没有质量过滤作用为碰撞室；第三个四极为MS-II。从第一个四极滤质器出来的离子的动能为10—100电子伏，大大低于磁式质谱仪器被选离子的动能（数千电子伏），由于低能碰撞裂解反应的效率高于高能反应的效率，强的四极聚焦场使离子的扩散损失减至最小程度，四极碰撞室的碰撞裂解过程的效率为20—95%。同时，由于MS-II为一个质量分析器，在磁式质谱仪中观察到的由于动能释放引起的峰变宽效应在四极质谱仪中不存在，CA谱能显示单位质量分辨，使三级四极串联质谱仪的灵敏度大大提高，特别适合进行质谱—质谱分析。

把分子混合物转变为离子混合物可以按各种方式进行。例如，用低能电子轰击得到 M^+ ，用化学电离法得到质子化分子离子 $(M+H)^+$ 。在化学电离过程中，还存在着其他的电离反应。如从样品生成负离子 $(M-H)^-$ 和 $(M+Cl)^-$ 等。在混合物分析中，通过选择电离反应可以使分析的专一性提高。下面以 $(M-H)^-$ 离子为例来说明如何在分析中使用负离子。象得到正离子CA谱一样，通过质量挑选得到 $(M-H)^-$ 离子，然后进行碰撞诱导裂解反应，记录裂解产物的质谱得到分子量和分子结构方面的信息。图2^[2]是对甲氧基苯甲酸的 $(M-H)^-$ 离子的CA谱， m/z 107的强峰 $(M-H-44)$ 是羧酸阴离子失去二氧化碳的特征峰， m/z 136和 m/z 121的峰是由于分子的甲氧基部分失去甲基和甲醛产生的。

鉴定被选的 $(M-H)^-$ 离子的另一个方法是改变静电分析器的极性，检测它的正离子碎片。这是因为在碰撞室中除了产生负离子碎片外，还可以发生以下类型的高能碰撞



在特殊情况下($m_3=0$)，即发生电荷颠倒反应。从 $(M-H)^-$ 离子产生的带正电荷的碎片离子的丰度与负离子碎片的丰度相当，能依次记录，它们也象负离子碎片一样提供有用的结构信息。图3^[2]是对³⁷氯代苯甲酸的 $(M-H)^-$ 离子的正、负电荷CA谱。正离子碎片是由新生的 $(M-H)^+$ 裂解产生的，由于这一离子 $C_6H_4^{37}ClCO_2^+$ 的热力学稳定性低于 $C_6H_4^{37}ClCO_2^-$ ，生成时又带有过量的能量，很容易发生裂解反应。负离子谱指示出功能基，正离子谱

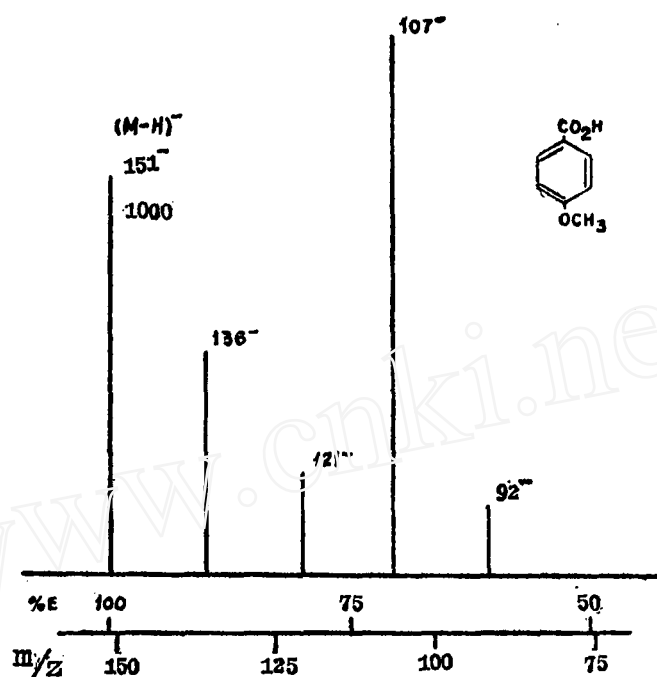


图2 对甲氧基苯甲酸阴离子 $[M-H]^-$ 的CA谱

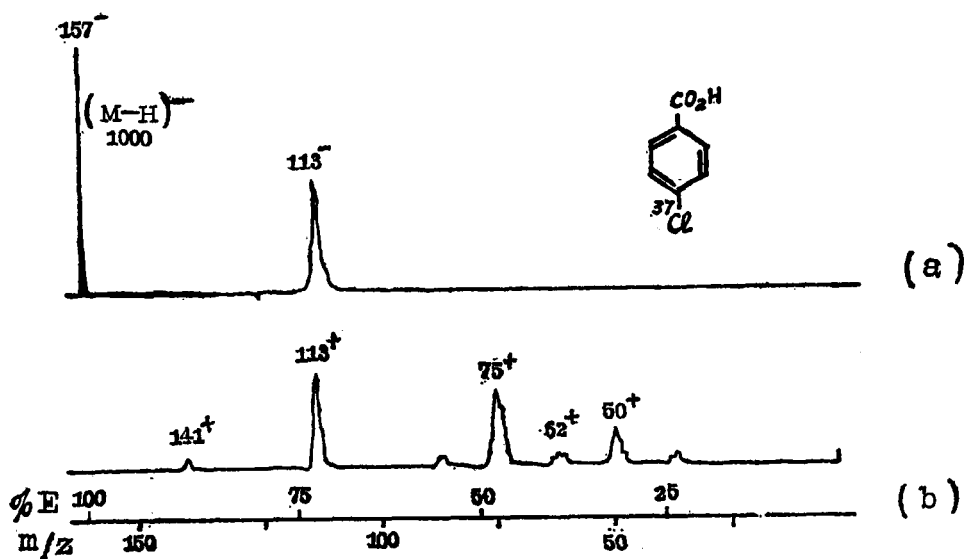
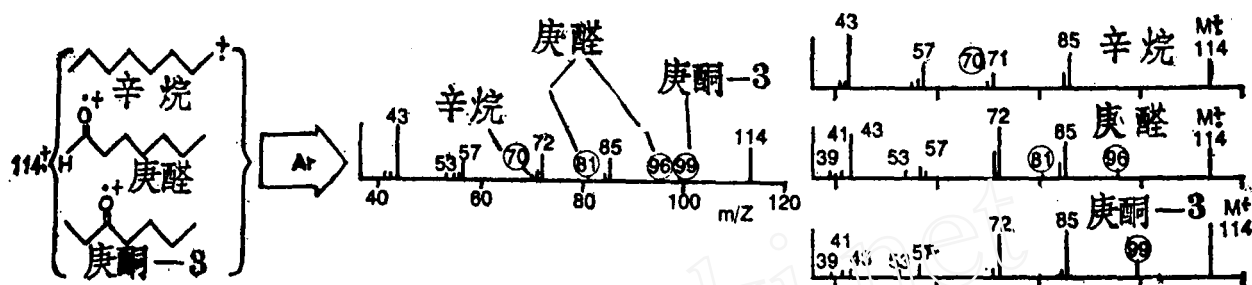


图8 对 ^{37}Cl 氯代苯甲酸阴离子 $[M-H]^-$ 的CA谱
a, 负电荷谱 b, 正电荷谱

指示出结构细节, 它们相互补充有利于确定化合物的结构。在这一实验中被选离子含有天然丰度低的 ^{37}Cl 同位素, 这一选择性也是质谱—质谱分析法的优点。

同分异构体或同量异序化合物由于分子离子的质荷比相同, 利用MS-I不能够把它们分开。但是, 如果这些化合物能发生特征的裂解反应, 仍然可以用质谱—质谱法进行鉴定。如果能进一步记录每个化合物产生的特征碎片离子的CA谱, 分析结果就更可靠。图4a⁽⁹⁾是辛烷、庚醛和庚酮-3的CA谱以及它们的混合物的CA谱, 图4b是庚醛的碎片离子 m/z 81和混

(a)



(b)

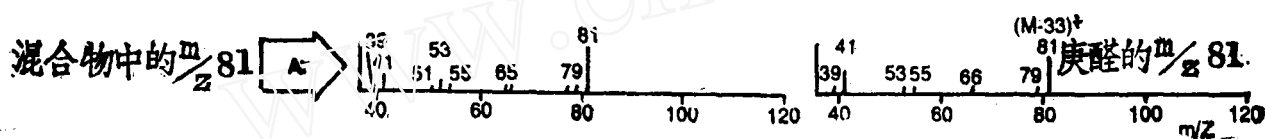


图4 a, 辛烷、庚醛和庚酮-3及它们的混合物的CA谱
b, 庚醛的碎片离子 m/z 81 和混合物的碎片离子 m/z 81 的CA谱

合物中的碎片离子 m/z 81 的CA谱。从图4a可以看出, m/z 114 离子是由辛烷、庚醛和庚酮-3 的分子离子组成的, 庚醛的存在由图4b进一步得到证实。

质谱—质谱法是一个快速、灵敏、专一性高的分析方法, 它的特点是样品制备工作量极小或根本不需要。例如, 可以把新鲜的植物茎和叶在液氮中粉碎直接送入仪器。现在, 用质谱—质谱法进行分析的样品的类型和数量迅速增加。Cooks^[10] 等以 1 立方毫米为单位测绘出古柯碱和肉桂酰古柯碱在古柯的叶、茎和浆果中的分布, 他们还用 DNA 在进样探针中直接热解鉴定了 DNA 中的碱基^[11]; Maquestiau^[12] 等分析了复杂的海生甾体化合物。随着各种商品仪器的出现, 这一分析方法将会在天然产物鉴定、环境污染监测, 利用体液进行化学诊断, 昆虫信息素研究, 植物的化学分类和法庭科学等方面得到广泛的应用。

参 考 文 献

1. R. W. Kondrat, R. G. Cooks, *Anal. Chem.*, **50**, 81A (1978)
2. R. G. Cooks, *Amer. Lab.*, **10**, 111 (1978)
3. F. W. McLafferty, *Accounts, Chem. Res.*, **13**, 33 (1980)
4. F. W. McLafferty et al., *Adv. Mass Spectrom.*, **813**, 1589 (1980)
5. D. H. Russell et al., *Int. J. Mass Spectrom. Ion Phys.*, **35**, 371 (1980)
6. D. H. Russell et al., *Amer. Lab.*, **3**, 50 (1980)
7. R. A. Yost, C. G. Enke, *J. Amer. Chem. Soc.*, **100**, 2274 (1978)
8. R. A. Yost, C. G. Enke, *Anal. Chem.*, **51**, 1251A (1979)
9. J. Slayback, M. S. Story, *Ind. Res. Dev.*, February (1981)
10. R. G. Cooks et al., *J. Amer. Chem. Soc.*, **101**, 3400 (1979)
11. A. Maquestiau et al., *Steroids*, **31**, 2121 (1978)
12. R. G. Cooks et al., *Science*, **203**, 1249 (1979)