

有机化合物准确分子量的测定实验讲义

一：实验目的

通过对理论知识和仪器结构的学习，掌握质谱仪的基本工作原理。以此为基础进行有机化合物精确分子质量的质谱测试，以期掌握相应的的质谱调试方法和测试技巧。最后还将对质谱测试结果进行分析，学习基于待测物精确分子质量推测其化学元素组成的技能。

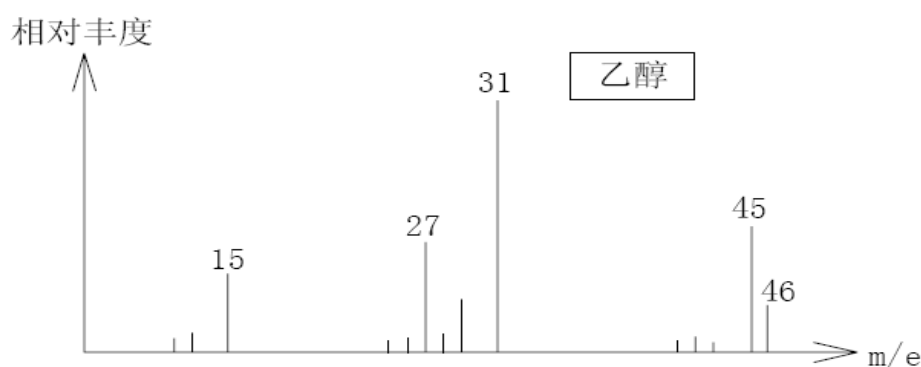
二：实验原理

质谱是一种通过测定待测物的质荷比对其分子组成及其结构进行解析的分析技术。从 J. J. Thomson 制成第一台质谱仪距今已有近 90 年，早期的质谱仪主要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，逐渐开始成为有机物结构分析的重要手段。随着计算机相关技术的使用，又先后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，以及液相色谱-质谱联用，感应耦合等离子体质谱，傅里叶变换质谱等。目前质谱分析技术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。

当经过离子源的电离后，待测物通常会以分子离子的形式存在。如离子化过程所传递的能量可导致键的进一步断裂，分子离子碎片将进一步碎裂形成许多碎片离子。经过离子化过程所形成的分子离子及碎片离子，按质荷比大小依次经过质谱仪，在其相应的质荷比 m/z 值处出现峰，从而得到质谱图。

质谱图一般都采用“条图”。在图中横轴表示质荷比 (m/z ，因为 z 常为 1，故实际上 m/z 多为离子的质量)，纵轴则表示峰的相对强度 (RA，相对丰度)。如下图所示即为乙醇的质谱图。图中最强的离子峰的峰高作为 100%，而以对它的百分比来表示其他离子峰的强度。因此峰越高表示形成的离子越多，即谱线的强度是与离子的多少成正比。

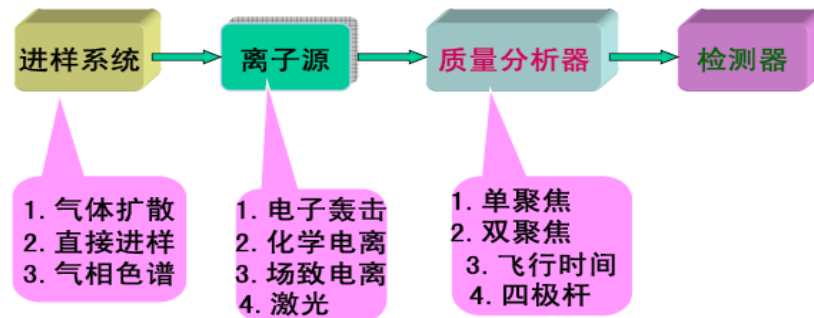
乙醇的质谱图



质谱仪一般进样系统、离子源、质量分析器和检测器四部分构成，其总体结构组成参见下图所示。

同位素质谱仪 无机质谱仪 有机质谱仪

质谱仪组成：



辅助设备：真空系统、电气系统和数据处理系统等

(1) 进样系统：

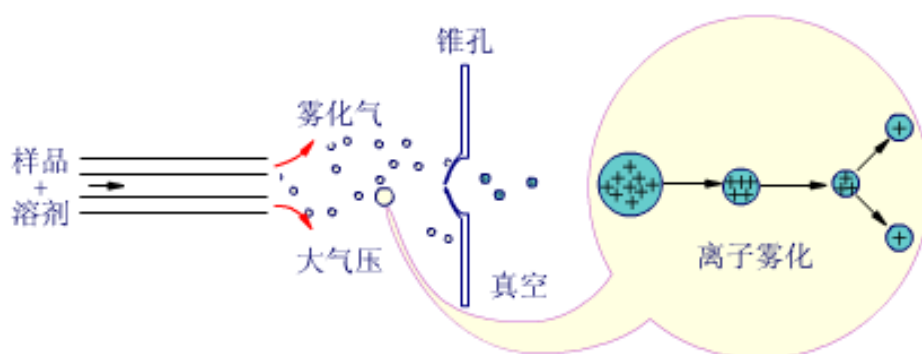
直接进样：固体和液体样品（纯品）可通过直接进样杆或针泵将样品送入离子源中。

色谱进样：不纯的样品要用色谱和质谱联用仪，是通过色谱进样。质谱的样品一般要气化，再离子化。

(2) 离子源：

离子源的作用是将被分析的样品分子电离成带电的离子，并使这些离子汇聚成有一定几何形状和一定能量的离子束，然后进入质量分析器被分离，本实验采用电喷雾电离源(Electron spray Ionization, ESI)。

ESI 是一种主流的液相色谱-质谱联用电离源，其主体部件是一个多层套管组成的电喷雾喷嘴，如下图所示。喷嘴中最内层是待测物溶液流路，外层是喷射气，喷射气常采用大流量的热氮气，其作用是使喷出的液体容易分散成微滴。此外，在喷嘴的斜前方还有一个辅助气喷嘴，辅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，离子就可以从溶液表面蒸发出来，这一过程称为库伦爆炸过程。库伦爆炸过程后所产生的样品带电离子借助于喷嘴与锥孔之间的电压，穿过采样锥进入质量分析器。通过调节加之于喷嘴上的电压极性，可以分别得到对应于正离子或负离子模式的质谱谱图。其中值得一提的是电喷雾喷嘴的角度，如果喷嘴正对进样孔则该孔极易堵塞。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。



电喷雾电离源是一种软电离方式，特别适用于实现稳定性较差的化合物以及需要得到分子离子峰的质谱分析。电喷雾电离源的最大特点是容易形成多电荷离子，比如一个分子量为 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。

(3) 质量分析器

质量分析器有：磁场和电场、四极杆、离子阱、飞行时间质谱、傅立叶变换离子回旋共振等。

质量分析器是质谱仪的核心，它将离子源产生的离子按质荷比 (m/z) 的不同, 在空间位置、时间的先后或轨道的稳定与否进行分离，以得到按质荷比大小顺序排列的质谱图。以四极质量分析器（四极杆滤质器）为质量分析器的质谱仪称为四极杆质谱。

(4) 检测器：

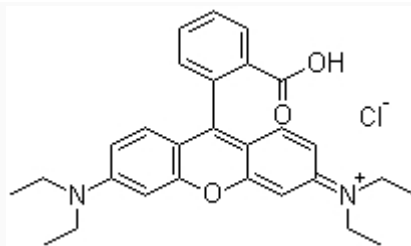
检测器的作用是将来自质量分析器的离子束进行放大并进行检测，电子倍增检测器是色谱—质谱联用仪中最常用的检测器。

三、实验仪器与试剂

仪器：美国 AB 公司（Applied Biosystems）API 2000 质谱仪

试剂：罗丹明B (Rhodamine B, Aladdin Chemistry) 分子式： $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ 分子量：479.01；

色谱纯甲醇(Merck KGaA, Germany)



罗丹明 B

四、实验步骤

1. 打开仪器电源，开电脑进入操作系统、打开软件。
2. 设定参数。
3. 配置样品溶液。
4. 用微量进样器吸取 $1.0 \mu L$ 。
5. 进样，手动调谐，在正离子或负离子模式下对样品进行分析，将锥孔电压由低向高以 50V 为梯度进行调整。
6. 每次调整完之后等待 10min 左右，观察图谱，直到获得接近高斯分布的峰型为止。
7. 采集图谱。
8. 用甲醇清洗微型取样器，再重复步骤 3 至步骤 7。
9. 保存数据。
10. 实验结束，停止仪器，关闭软件，关闭电脑

五、常见问题及解决方案

(1) 使用 ESI 质谱对待测物进行检测只能得到待测物的碎片峰而无法观察到分子离子峰时应该如何调节电离电压和雾化温度等参数?

答案: 从 ESI 源工作原理考虑, 适当降低电力电压和雾化温度等。

六、实验结果与讨论

为什么有的待测物在正模式下质谱信噪比高, 而有的待测物在负模式下方能得到较高信噪比的质谱测定结果?

答案: 从电负性考虑。

七、思考题

(1) 质谱由那几部分组成?

(2) 质谱的离子源有哪几种? 这台质谱的离子源是什么? 它与其他离子源相比有什么特点?