

质谱及其联用技术

——在卫生检验中的应用

ZHIPU JIQI LIANYONG JISHU

ZAI WEISHENG JIANYAN ZHONG DE YINGYONG

主 编 高 舸
副主编 李明川 王 炼 文 君 杨晓松
编 者 (以下按编写章节顺序排列)
骆春迎 李鹏昊 张 潜 王希希
王 炼 张礼春 郑洪国 高 舸
李明川 张钦龙 张 珂 薛 勇
文 君 杨晓松



四川大学出版社

前言

质谱法与光谱法、核磁共振波谱法是三大谱学方法,是当今物质分子结构解析的有效方法。通过质谱分析,可以获得待测物质的分子量、分子式、同位素组成和分子结构等丰富的信息。自1912年第一台质谱仪诞生至今,质谱分析新技术不断涌现,离子源随着层出不穷的各种电离技术发展迅猛,由最初的电子电离源发展到后来的化学电离源、大气压电离源、ICP离子源、场电离和场解吸源等,质量分析器也由应用最早的扇形磁场分析器发展到四极杆、飞行时间、离子阱、轨道阱等分析器,而分离技术与质谱法的结合更好地发挥了质谱在化合物结构解析与定性确证方面的优势。由于质谱联用技术具有抗基质干扰能力强、灵敏度高、准确度高、样品用量少、分析速度快、分离和鉴定可同时进行等优点,已广泛应用于食品、环境、能源、化学化工、医药卫生、刑侦科学、生命科学和材料科学等各个领域。

卫生检验是预防医学的重要分支,它运用各种分析测试技术与人体健康相关的诸多因素,服务于疾病预防和控制。卫生检验的发展在很大程度上依赖于现代仪器分析技术的进步。近二三十年来,质谱及其联用技术不断取得革命性突破,为卫生检验的进一步发展提供了良机。目前,以GC-MS、LC-MS、ICP-MS等为代表的质谱分析技术已成为卫生检验的前沿分析手段,在有机污染物、农(兽)残、违禁药物、生物毒素、非食用原料、重金属等的检测中发挥着重要作用。近年来,国家高度关注人民群众身体健康,重视疾病预防与控制事业的发展,通过各种渠道筹集专项资金支持各级疾控中心。目前,很多单位的常规分析仪器设备已得到极大的改善,越来越多的疾控中心已配备或将配备GC-MS、LC-MS、ICP-MS等质谱联用仪。

虽然国内已出版了数种质谱学专著(包括翻译的国外专著),而我们编写本书,是希望将质谱及其联用技术的相关知识以最通俗易懂的方式介绍给卫生检验等分析测试领域的专业人员,同时提供一些实用性较强的应用资料。如果本书对环保、质检、商检等领域的同仁有些许帮助,那是我们的荣幸。

本书的出版得到了四川省医学重点实验室、成都市医学重点实验室建设经费资助;成都市疾病预防控制中心梁娴主任、李明川书记、杨元主任技师对本书总体框架、篇章结构提出了宝贵意见;AB Sciex公司、Agilent公司、Thermo Fisher Scientific公司、Perkin Elmer公司、Waters公司、Bruker公司、Beckman Coulter公司和同行也为本书提供了一些资料和应用实例;Thermo Fisher Scientific公司郑洪国还参与了第四章第五节的编写;同时,本书在出版过程中,很多同志付出了辛勤劳动,在此对本书出版做出贡献的成都市疾病预防控制中心的所有撰写者、校稿者和四川大学出版社一并致以诚挚的谢意。

由于本书编写仓促,编写人员较多,风格有不一致之处,加之作者水平有限,不当之处,恳请读者批评指正。

高 舸

2014年12月

目 录

第一章 概述	(1)
第一节 MS 及其联用技术的发展与应用	(1)
第二节 MS 常用术语	(5)
第三节 同位素及其分布	(14)
第二章 质谱仪简介	(24)
第一节 离子源	(24)
第二节 质量分析器	(34)
第三节 真空系统	(60)
第四节 检测器	(62)
第五节 串联质谱仪 (法) 和多级质谱仪 (法)	(64)
第三章 GC-MS 分析	(78)
第一节 GC-MS 简介	(78)
第二节 GC-MS 原理及仪器结构	(80)
第三节 GC-MS 方法建立	(92)
第四节 GC-MS 应用实例	(112)
第四章 LC-MS 分析	(136)
第一节 LC-MS 简介	(136)
第二节 LC-MS 原理与仪器结构	(141)
第三节 LC-MS 方法建立	(156)
第四节 LC-MS 应用实例	(172)
第五节 CE-MS 联用技术	(192)
第六节 IC-MS 分析	(200)
第五章 ICP-MS 分析	(223)
第一节 ICP-MS 简介	(223)
第二节 ICP-MS 原理与仪器结构	(228)
第三节 ICP-MS 方法建立	(243)
第四节 ICP-MS 分析中的干扰及其消除	(252)
第五节 ICP-MS 在元素形态分析中的应用	(261)
第六节 ICP-MS 应用实例	(274)

第六章 样品预处理技术	(295)
第一节 概述	(295)
第二节 常见的物理分离技术	(296)
第三节 微波消解技术	(297)
第四节 微波辅助萃取技术	(298)
第五节 超临界流体萃取技术	(302)
第六节 加速溶剂萃取技术	(305)
第七节 凝胶渗透色谱技术	(307)
第八节 基质固相分散萃取技术	(309)
第九节 固相萃取技术	(311)
第十节 静态顶空进样技术	(319)
第十一节 热脱附进样技术	(322)
第十二节 吹扫捕集进样技术	(324)
第十三节 固相微萃取技术	(328)

第一章 概述

第一节 MS 及其联用技术的发展与应用

一、历史与发展

质谱法 (Mass Spectrometry, MS) 是与光谱法、核磁共振波谱法并称的三大定性分析手段之一。其起源可追溯至 19 与 20 世纪之交。关于究竟谁是质谱仪 (Mass Spectrometer) 的发明者——Thomson (汤姆孙, 1856—1940) 抑或他的学生 Aston (阿斯顿, 1877—1945), 质谱界分成了两个观点不同的阵营^[1]。1897 年, Thomson^[2]用自制的实验装置研究阴极射线, 发现了电子并测定了其质荷比 (m/z)。后来又对该装置做了改进, 于 1912 年制成了一种利用电磁场使 Ne 阴极射线发生偏转的抛物线摄谱仪^[3]。这被认为是最早的质谱仪——至少是质谱仪的雏形。1919 年, Aston^[4]首次制成了具有较高聚焦性能的质谱仪——最初称为“正射线摄谱仪”或“质量摄谱仪 (Mass Spectrograph)”, 并用其成功发现了多种同位素。Aston 由此荣获 1922 年的诺贝尔化学奖。20 世纪 40 年代以前, MS 主要用于气体分析与同位素测定。如今, MS 既能测定无机物, 又能测定有机物; 既可用于测定小分子, 也可用于测定生物大分子和高分子聚合物。

纵观 MS 的发展史, 不难发现, 质谱仪的两大核心器件——质量分析器 (Mass Analyzer, 简称“分析器”, 质谱仪常据其命名) 和离子源——的不断革新是贯穿其中的两条主线。

略早于 Aston, Dempster^[5]发明了扇形磁场质谱仪。1934 年和 1953 年, Mattauch 等^[6]和 Johnson 等^[7-8]分别设计出了两种双聚焦质谱仪, 特别是后者设计的, 代表了 20 世纪 90 年代前占统治地位的高性能质谱仪。1946 年, Stephens^[9]提出了飞行时间 (Time-of-Flight, TOF) 质谱仪的构想。随后研制出的 TOF 质谱仪虽曾风行一时, 但直到最近二三十年突破关键技术后, 才得以广泛应用。1949 年, Hipple 等^[10]研制出了离子回旋共振 (Ion Cyclotron Resonance, ICR) 质谱仪, 此为首个具有超高分辨率的质谱仪。1953 年, Paul (保罗, 1913—1993) 等^[11]提出了四极质量分析器 (Quadrupole Mass Analyzer, QMA) 和四极离子阱 (Quadrupole Ion Trap, QIT) 的理论。在此基础上, 诞生了四极质谱仪和 QIT 质谱仪。1966 年, Futrell 等^[12]研制出了首台串联质谱仪 (由

两台双聚焦质谱仪组成)。1974年,Comisarow等^[13]将傅里叶变换(Fourier Transform, FT)用于处理ICR-MS的数据,从而开创了FT-ICR-MS。H. G. Dehmelt(德梅尔特,1922—)由于对ICR质谱仪的分析器——ICR离子阱[ICR-Ion Trap (ICR-IT)],如Penning(彭宁)离子阱,又称“ICR池”——贡献良多,于1989年与QIT的发明者Paul共享了当年诺贝尔物理奖的一半。1978年和1984年,两种重要的串联质谱仪——三重四极(Triple Quadrupole, QqQ)^[14]和QTOF^[15]分别诞生。1995年和1998年,Bier等^[16]和Hager^[17]分别设计出了两种不同于QIT的离子阱——线性离子阱(Linear Ion Trap, LIT)。1999年,Makarov^[18]提出了一种全新概念的分析器——轨道阱(OrbitrapTM),其性能可与ICR-IT媲美。自此,几大分析器已相继问世,数年内恐难有新型分析器出现。

相比分析器,离子源至今保持着较为迅速的发展势头,各种电离技术层出不穷。回顾历史,至今仍在广泛使用的电子电离(Electron Ionization, EI)——发明者正是Dempster^[5]——是最早出现的有机电离技术,仅晚于气体放电电离、火花电离、辉光放电电离和热电离等几种无机电离技术。1951年,Müller^[19]首次观察到了场电离现象。1954年,Inghram等^[20]将场电离用于MS,使之成为最早的“软”电离技术。1966年,Munson等^[21]发明了化学电离(Chemical Ionization, CI)。20世纪60年代,电喷雾电离(Electrospray Ionization, ESI)昙花一现^[22];直到80年代,Fenn(芬恩,1917—2010)等^[23]才使之成为一种实用的电离技术。1969年,Beckey^[24]发明了场电离的变型——场解吸,由此打开了MS用于生物大分子分析的大门。1973年,Horning等^[25]发明了大气压化学电离(Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI)。1980年,Houk等^[26]以电感耦合等离子体(Inductively Coupled Plasma, ICP)为离子源,发明了ICP-MS,为元素分析提供了新的利器。1981年,Barber等^[27]和Liu等^[28]分别发明了快原子轰击电离和基质辅助解吸电离。1985年,Karas等^[29]首次提出了基质辅助激光解吸电离(Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization, MALDI);1987年,Tanaka(田中耕一,1959—)等^[30]开创性地将其用于蛋白质分析。鉴于将ESI和MALDI引入生物大分子领域的卓越贡献,2002年Fenn与Tanaka被授予一半的诺贝尔化学奖。进入21世纪以来,解吸ESI(Desorption ESI, DESI)^[31]和实时直接分析(Direct Analysis in Real Time, DARTTM)^[32]相继问世,掀起了新一轮电离技术开发的热潮。

为了更好地发挥MS在化合物结构解析与定性确证方面的优势,常将其与一些分离技术,如气相色谱法(Gas Chromatography, GC)、液相色谱法(Liquid Chromatography, LC)、超临界流体色谱法(Supercritical Fluid Chromatography, SFC)、毛细管电迁移技术[Capillary Electromigration Technique, 即通常所谓的“毛细管电泳(Capillary Electrophoresis, CE)技术”^[33]]、微流控芯片技术等联用。这种将两种及以上不同的分析方法联合起来的技术称为“联用技术”,与单一方法相比,不仅能发挥各自的优势,还能实现“1+1>2”的效应。例如,LC是一种很好的色谱分离手段,但定性能力不足;MS尤其是串联MS(Tandem MS, MS/MS)和(超)高分辨率MS,可对 m/z 不同的离子加以分离,但对 m/z 相同的不同离子却无能为力;LC-MS则集合了色谱分离与质谱分离的优点,可进行更准确的定性、定量分析。从分离技术的角度看,MS可视为一种检测手段;而从MS的角度看,分离技术则可视为一种进样方式^[34]。当然,MS还可通过直

接输注 (Direct Infusion)、流动注射分析 (Flow Injection Analysis, FIA)、直接液体进样 (Direct Liquid Introduction, DLI)、直插式探针 (Direct Insertion Probe, DIP)、直接暴露探针 (Direct Exposure Probe, DEP)、样品靶 (Sample Target) 等多种方式和工具进样^[35]。

MS 与分离技术联用, 关键是要解决好质谱仪与其他仪器的“接口”问题。接口的作用是协调前后两种仪器的输出和输入之间的矛盾, 既不能影响前一级仪器的性能 (如分离度), 又要满足后一级仪器的进样要求和正常工作条件。上述分离技术中, GC 的流动相为气态, 与 MS 联用相对容易, 早在 1955 年左右就实现了 GC-TOF-MS^[36]; 而 LC-MS 的实现则要困难许多, 一度进展缓慢。虽然也曾出现过各式接口, 但直到 APCI 接口、ESI 接口等接口 (同时也是离子源) 的出现, LC-MS 仪才逐渐成熟并商品化^[37]。同期, MS 与 CE^[38]、SFC^[39] 等陆续联用成功。如今, MS 联用技术已广泛用于食品安全、环境监测、职业卫生、药物代谢、生物医学等众多领域。

近年来, 不论是 MS 本身, 还是与之联用的分离技术都取得了巨大进步。

相较于其他学科, 质谱学正处于创新爆发期, 各种新技术层出不穷。当前, 一种新概念 MS——常温常压敞开式 MS (Ambient MS, AMS, 或译为“常压 MS”“敞开式 MS”“敞开式大气压 MS”等) 方兴未艾^[40]。在不到十年时间里, 已涌现出数十种常温常压敞开式电离 (Ambient Ionization, AI) 技术, 包括上文提到的 DESI 和 DART。AI 的突出特点是无需烦琐的样品前处理, 且在开放环境中进行, 便于复杂基质样品的原位分析与直接分析。同时, AI 也为质谱仪的小型化提供了新的契机。

近年来, 质谱仪的各项性能 (如质量准确度、分辨率、灵敏度、采集速度、 m/z 范围) 持续提升。例如, 某高端 QqQ 质谱仪的分辨率可达 7 500 (半峰全宽定义, m/z 为 508), 采用内质量校正时质量准确度可达 5 ppm (5×10^{-6}), m/z 范围为 10~3 000, 扫描速度为 5 Hz^[41]。再如, Orbitrap 自问世以来, 先后与 LIT、QMA 实现了串联, 2013 年甚至实现了与 QMA 和 LIT 的“三合一”集成, 功能更为强大。

质谱仪除了向高性能方向发展, 简易化、小型化也是一种趋势。与早期仪器相比, 现今的质谱仪体积已大为缩小, 乃至成为一种检测器——质量选择检测器。2013 年, Microsaic Systems 公司推出了新一代基于微机械系统的质谱仪 4000 MiD, 体积小巧 (55 cm×35 cm×25 cm), 性能卓越。同年, Waters 公司也推出了一款适用于 LC 仪的质谱检测器 QDaTM, 其大小与紫外检测器相仿, 具有即开即用、一键操作的特点。2014 年, 908 Devices 公司推出了世界上首台便携式质谱仪 M908TM (22 cm×18.5 cm×7.6 cm)。质谱联用仪的小型化同样也是一种趋势。目前最成熟的是小型 GC-MS 仪, 可分为便携式和车载式。其优势在于对工作的环境条件要求不高, 且检测速度快, 定性能力强, 可广泛用于环境污染、食物中毒、职业中毒等公共安全领域的现场检测。

质谱仪及其联用仪的微型化、芯片化也是当前研究的一大热点^[42]。利用微细加工 (Microfabrication) 技术, 可制造出直径数微米至数毫米的离子源和分析器, 并集成于微芯片上。例如, Pau 等^[43] 成功将 256 个和 2 304 个直径 40 μm 的圆柱形离子阱集成在一张微芯片上; Yin 等^[44] 在微芯片上实现了 LC-MS。

分离技术不断向快速、高效、微量、多维方向发展。近年来兴起的快速 LC 包括了一系列技术, 如核壳型填料色谱柱、整体柱、高温 LC 和超高效 LC (Ultra High

Performance LC, UHPLC; Ultra Performance LC, UPLCTM)^[41]。UHPLC 采用亚2 μm 粒径的色谱柱,以分离能力强、分析速度快、灵敏度高、溶剂消耗少著称。自2004年问世以来,其应用与日俱增。但柱体积小、色谱峰窄、流速高也给与MS的联用带来了一些困难^[45]。不过随着技术的进步,UHPLC-MS已在很多领域取得了成功。

毛细管LC (Capillary LC, CLC) 诞生于20世纪70年代末,以细柱内径(100~320 μm)、低流速(1~100 $\mu\text{L}/\text{min}$) 和小进样体积(1~50 μL) 为特征。后来又出现了具更细柱内径(<100 μm)、更低流速(50~800 nL/min) 和更小进样体积(10~60 nL) 的纳升级LC (nanoLC)^[46]。CLC 和 nanoLC 的优点是分析时间短、灵敏度高、样品和流动相消耗少,很适合与MS联用。最近,又出现了采用更细粒径色谱柱的 nanoUHPLC。如今,可供选择的 CLC 仪等商品化仪器和色谱柱已越来越多,极大地促进了 CLC 等的推广应用。

与 LC 类似, SFC 也发展出了超高效 SFC (Ultra High Performance SFC, UHPSFC)。2012 年出现的超高效合相色谱法 (Ultra Performance Convergence Chromatography, UPC² TM) 是其中的杰出代表^[47]。所谓“合相”,是指同时以超临界流体(CO_2) 和液体(如甲醇)作流动相。UPC² 是 LC 与 GC 的一种正交互补技术。传统 LC 和 GC 能分析的化合物, UPC² 大都(80%~85%) 能分析,尤其适合手性化合物、位置异构体、结构类似物的分离。它融合了 SFC 和 UHPLC 的优点,分析速度快,分离效率高,溶剂消耗少,对样品前处理要求不高,适合宽极性范围的化合物。

多维和全多维分离技术,如二维 LC (Two Dimensional LC, 2D LC 或 LC-LC)、全二维 LC (Comprehensive 2D LC, LC $\times$ LC)、全二维 GC (GC $\times$ GC)、LC-GC、SFC $\times$ GC,近年来不断得以完善。与一维分离技术相比,其最大的优点是具有更高的峰容量和分离能力,特别适合复杂样品的分析^[48-51]。

联用技术方面,离子淌度谱法 (Ion Mobility Spectrometry, IMS) 与 MS 的联用 (IMS-MS) 也取得了实质性进展,并于2006年出现了商品化仪器。IMS 又译为“离子迁移率谱法”,与色谱分离和质谱分离不同,它利用的是离子在电场和气流共同作用下的迁移率差异(与离子大小、形状和 m/z 有关),特别适合同量异位素 (Isobar)、构象异构体的分离^[52-53]。IMS-MS 还可与 LC、GC 等多种分离技术联用,在环境污染、食品安全、生物学等领域显示出强大的分析能力。

ICP-MS 与 LC、GC 等分离技术的联用近年来也发展迅速。由于具有检出限低、分析速度快、动态范围宽、多元素同时分析等优点,在同位素分析、元素形态分析以及含金属离子的蛋白质分析中具有良好的应用前景^[54]。

二、应用与前景

卫生检验是预防医学的重要分支学科,主要任务是运用各种分析技术检测与人体健康相关的各种因素,为疾病预防与控制提供准确可靠的数据和信息。卫生检验可分为卫生理化检验和卫生微生物检验两大类。本书只讨论卫生理化检验。作为服务于公共卫生体系的实验室分析技术,卫生检验重点关注的是食品、饮水、保健食品、化妆品等中的营养(或有效)成分和卫生状况,以及环境污染、职业中毒和其他突发公共卫生事件(以下简称

“突发事件”)中的有毒有害因素。例如,近年来我国频频曝出的诸多食品安全问题——“瘦肉精”“苏丹红”“三聚氰胺”“塑化剂”“毒大米”“地沟油”等,均需卫生检验为有关部门的监督执法提供技术支撑。

所谓“工欲善其事,必先利其器”。作为一门实验学科,卫生检验的发展在很大程度上依赖于现代仪器分析技术的进步。近二三十年来,MS及其联用技术不断取得革命性的突破,为卫生检验的进一步发展提供了良机。当前,以LC-QqQ-MS、GC-Q-MS、ICP-Q-MS为代表的技术已成为卫生检验的前沿分析手段,在有机污染物、农(兽)残、违禁药物、生物毒素、非食用原料、金属元素等的检测中发挥着重要作用。特别是QqQ-MS,灵敏度高,特异性好,是欧盟^[55]认可的确证技术之一,尤其适合复杂样品中(超)痕量化合物的定性、定量分析。

然而,更多的新技术有待进一步运用到卫生检验中。例如,除了LC-MS、GC-MS和ICP-MS,UHPSFC-MS、CE-MS、IMS-MS等也可得到更多应用;除了小分子,LC-QqQ-MS也可更多地用于生物大分子的分析^[56];除了分析已知化合物(目标化合物),还可充分利用LC-QTOF-MS、LC-Q-Orbitrap-MS、GC-TOF-MS、LC-QqQ-MS、GC-QqQ-MS等,实现多类别、多残留的半未知化合物(半目标化合物),如农药、色素、抗生素的快速筛查^[57-60];对突发事件中未知化合物(非目标化合物)的准确定性是当前卫生检验亟待解决的重要课题,而(超)高分辨率MS(如QTOF-MS、TOF-TOF-MS、Q-Orbitrap-MS、LIT-Orbitrap-MS)和多级MS(Multiple-Stage MS, MSⁿ)应大有用武之地^[61-64];便携式和车载式GC-MS仪有望成为突发事件中现场检测的必备仪器;AMS在快速筛查、应急检测方面也有不错的应用前景。总之,经济、社会的发展对卫生检验提出了更多、更高的要求,而MS及其联用技术作为先进的检测手段,未来必将得到更广泛的应用。

第二节 MS 常用术语

MS曾称为“Mass Spectroscopy”,但与紫外-可见光谱法、红外光谱法、核磁共振波谱法等类型的“Spectroscopy”毕竟不同,MS并非对原子、分子、离子等吸收或发射的电磁辐射进行检测,因此不宜称为“Mass Spectroscopy”。所谓MS,是通过形成气相离子(Gas-Phase Ion)来研究物质的一种方法,根据质量、电荷、结构和(或)理化性质的差异,运用质谱仪对离子进行表征^[35]。从应用范围看,可分为有机、无机、生物和同位素MS。本书只讨论有机和无机MS。值得注意的是,为避免混淆,MS不应作为“Mass Spectrometer”“Mass Spectrum”的缩写^[65]。本书中的MS一律指“质谱法”。

近年来MS发展迅猛,相关术语名目繁多,加之当前质谱界所用术语存在名称、含义不尽统一等问题,给初学者带来一定困扰。因此,有必要对常用术语加以介绍与厘清。规范的术语之于科技传播的重要性是公认的,因此本书所用MS术语基本遵循了2013年“国际纯粹与应用化学联合会(International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC)”^[35]的建议,以及“全国科学技术名词审定委员会(China National Committee for Terms in Sciences and Technologies, CNCTST)”^[66]的规定。但是,鉴于现实情况的

复杂性,本书也保留了一些术语的习惯称谓与用法。此外,本节也参考了其他一些资料^[65,67-71]。

需要说明的是,以下所列条目,大体涉及术语的异名、定义、阐释、用法与辨误等几方面,有的还包含了相关术语的释义;排序靠前的条目中出现的其他术语,有的在后文列有专门条目加以解释;更多与同位素相关的术语请参见下一节。

1. 统一原子质量单位 (Unified Atomic Mass Unit, u) 和道尔顿 (Dalton, Da)

指以基态¹²C原子的静止质量的1/12为1 u或1 Da。1 u=1 Da=1.660 538 921 (73) ×10⁻²⁷ kg (括号内的数是针对末两位数字的不确定度)。在我国,“原子质量单位(u)”作为法定计量单位与IUPAC的“Unified Atomic Mass Unit (u)”相对应^[72],可视为后者的简称。但在国际上,“Atomic Mass Unit (amu)”并不被推荐使用,因为其在历史上有不同的含义^[35]。

2. 原子质量 (Atomic Mass, m_a)

指原子处于基态时的静止质量。 m_a 的国际单位制 (Système International d'Unités, SI) 单位为 kg,但MS中更常用的是两个非SI单位——u和Da。

原子因质量数 (Mass Number, A, 质子数与中子数之和) 不同而有差别。例如,¹⁶O、¹⁷O是不同的原子,有着不同的 m_a 。需要注意的是, m_a 不是“元素”的“平均”质量,而是“原子”的“实际”质量,勿与“相对原子质量”“原子量”混淆;也并非严格意义上的“核素”(由质量数、原子序数和核能态三方面表征)的质量,勿与“核素质量 (Nuclidic Mass)”混淆。在“元素”范畴内, m_a 即“同位素质量 (Isotopic Mass)”。例如, $m_a(^{16}\text{O})=15.994\,914\,620\,(2)\,\text{u}$, $m_a(^{17}\text{O})=16.999\,131\,757\,(5)\,\text{Da}$ 。

3. 相对原子质量 (Relative Atomic Mass, A_r)

又称“原子量 (Atomic Weight)”。“原子量”一词,虽然在国际上有着悠久历史并仍广泛使用 (现与 A_r 是等同概念),但不被我国法规允许 (这一做法值得商榷)^[73-74]。

A_r 中的“相对”一词指相对于基态¹²C原子的静止质量的1/12而言。从字面看, A_r 并无“平均”之义 (这一缺陷是历史原因造成的^[73])。因此,严格说来, A_r 应具体区分为“原子的” A_r [用 $A_r(^i\text{E})$ 表示] 和“元素的” A_r [用 $A_r(\text{E})$ 表示]^[75]。但一般未指明时, A_r 即 $A_r(\text{E})$ 。

$A_r(^i\text{E})$ 指元素E的某同位素ⁱE的质量与u的比值,是一个量纲一 (曾称“无量纲”)的量,单位为一(1)。换言之, $A_r(^i\text{E})$ 在数值上与以u为单位的 m_a 相等。例如, $A_r(^{16}\text{O})=15.994\,914\,620\,(2)$ 。 $A_r(\text{E})$ 则指元素E的不同同位素 (主要是稳定同位素和某些放射性同位素) 的加权平均质量与u的比值,即考虑了同位素的分布情况。例如,同位素丰度与原子量委员会 (Commission on Isotopic Abundances and Atomic Weights, CIAAW) 最新公布的 $A_r(\text{O})=[15.999\,03, 15.999\,77]$ 。与 m_a 、 $A_r(^i\text{E})$ 不同的是, $A_r(\text{E})$ 并非常量 [21种单同位素元素的 $A_r(^i\text{E})$ 除外],因为除了受当前测定技术水平的制约, $A_r(\text{E})$ 还与样品种类有关——不同材质的样品中同位素的分布不尽相同。CIAAW定期推荐的标准原子量 (Standard Atomic Weight) 适用于所有常规材质。

与 A_r 相关的另一术语是“相对分子质量 (Relative Molecular Mass, M_r)”,又称“分子量 (Molecular Weight)”。同样,后者不被我国法规允许^[74]。 M_r 是用各组成元素的

$A_r(E)$ 计算得到的, 因此是一个“平均”质量。

4. 质荷比 (m/z)

IUPAC^[35] 将其规定为量纲一的量, 定义为“离子质量与 u 的比值, 去除以电荷数 (不考虑正、负号) 得到的商”。换言之, m/z 表示离子质量 (以 u 作单位) 的“数值”与所带电荷的“数目”的比值。可见, “ m/z ”中的 m 并非表示作为物理量的质量, 但在数值上与以 u 为单位的精确质量 (而非平均质量) 相等。正因为 m/z 的量纲一的性质, 不宜将其作为变量直接带入含有量纲非一的量的计算公式中, 而应以 m/q 或 $m/(ze)$ (e 为元电荷) 表示, 单位为 kg/C 。有人提出以汤姆孙 (Thomson, Th) 作为 m/z 的单位, 但 IUPAC^[35] 并未接受。为了表示方便, 本书有时用 M 和 ΔM 分别代表 m/z 和 $\Delta(m/z)$ 。

虽然 MS 是根据 m/z 差异实现离子分离的, 但由于历史和习惯的原因, 有的术语名称仅以“质”或“质量”简单地代替“质荷比”, 如“质谱法”“质谱图”“质量峰”“质量分辨率”“质量分析器”。

5. 名义质量 (Nominal Mass)

对分子和离子而言, 名义质量指各组成元素丰度最高的同位素的整数质量 (取最接近的整数), 乘以各元素的原子个数而得到的质量^[35]。在数值上, 分子和离子的名义质量等于由各组成元素丰度最高的同位素的质量数乘以各元素的原子个数得到的值。例如, HCl 的名义质量为 $1\text{ u} + 35\text{ u} = 36\text{ u}$ 。对元素而言, 名义质量即丰度最高的同位素的整数质量 (取最接近的整数), 在数值上等于该同位素的质量数。

6. 单同位素质量 (Monoisotopic Mass)

对分子和离子而言, 单同位素质量指根据各组成元素丰度最高的同位素的质量计算得到的精确质量^[35]。例如, HCl 的单同位素质量为 $1.007\ 83\text{ u} + 34.968\ 85\text{ u} = 35.976\ 68\text{ u}$ 。对元素而言, 单同位素质量即丰度最高的同位素的质量。

虽然就元素而言, 单同位素质量是最高丰度质量 (Most Abundant Mass) —— 丰度最高的同位素的质量; 但对分子、离子而言, 单同位素质量却未必是最高丰度质量 —— 丰度最高的同位素同系物、同位素同系物离子的质量^[76]。无论是元素、分子还是离子, 单同位素质量也未必分别是同位素、同位素同系物和同位素同系物离子中最高或最低的质量。此外, 勿将“单同位素质量”与“同位素质量”混淆, 后者只针对“同位素”。

7. 质量亏损 (Mass Defect)

与原子和原子核物理学中的含义不同, MS 中指原子、分子和离子的名义质量与其单同位素质量之差, 即 $m_{\text{质量亏损}} = m_{\text{名义质量}} - m_{\text{单同位素质量}}$ 。例如, HCl 的质量亏损为 $36\text{ u} - 35.976\ 68\text{ u} = 0.023\ 32\text{ u}$ 。质量亏损可为正值、负值或零。对于大分子化合物, 质量亏损的绝对值较大。

8. 准确质量 (Accurate Mass)

指由 MS 等实验方法测得的已知电荷数的离子的质量。在一定的测量准确度和精密度水平下, 准确质量可用于推断化合物可能的元素组成^[77]。

9. 精确质量 (Exact Mass)

对分子和离子而言, 精确质量指根据特定的同位素组成计算出的质量, 而不是同位素

丰度加权的平均质量；对原子而言，精确质量即 m_a 。与实测值“准确质量”不同，“精确质量”是理论值。精确质量保留的有效数字位数视测定目的和质谱仪的质量准确度而定。对（超）高分辨率 MS，一般保留四至五位小数即可。当质量准确度 $<10^{-3}$ u 时，计算精确质量时需考虑电子质量 $[m_e=5.485\,799\,094\,6\,(22)\times10^{-4}\text{ u}]$ 。

10. 先驱离子 (Precursor Ion; Progenitor Ion)

又称“母离子 (Parent Ion)”。有的将“Precursor Ion”译为“前体离子”。

指能通过反应，形成特定产物离子的离子，或经历了特定中性丢失的离子。先驱离子可能经历的反应包括单分子解离、离子/分子反应和电荷态 (Charge State) 改变等。在发生这些反应前，先驱离子还可能先异构化。尽管 IUPAC^[35] 现已不再建议使用“母离子”这一赋有拟人和性别色彩的称谓（类似例子还有“子离子”“孙离子”等），但本书仍暂保留了这些广为流传的称呼。

11. 产物离子 (Product Ion) 与第 n 代产物离子 (n^{th} -Generation Product Ion)

产物离子指某一先驱离子通过特定反应生成的一种或多种带电粒子。这些产物离子若能揭示先驱离子的结构、组成信息，则可称为“诊断离子 (Diagnostic Ion)”。例如，EI 谱中苯基阳离子 (C_6H_5^+) 可作为苯及其衍生物的诊断离子。

所谓“先驱离子”与“产物离子”，只是相对而言的，因为产物离子还可能进一步反应生成新的产物离子，如下所示：



m_2^+ 既是 m_1^+ 的产物离子，又是 m_3^+ 的先驱离子； m_4^+ 既是 m_3^+ 的先驱离子，又是 m_5^+ 的第一代产物离子，还是 m_2^+ 的第二代产物离子和 m_1^+ 的第三代产物离子。第 $(n+1)$ 级 MS $[\text{MS}^{(n+1)}]$ 中，产生第 n 代产物离子。第一代产物离子又称“子离子 (Daughter Ion)”，第二代产物离子又称“孙离子 (Granddaughter Ion)”。但对于更多代产物离子，这种按“辈分”命名的方式显然行不通。

12. 质子化分子 (Protonated Molecule) 与去质子化分子 (Deprotonated Molecule)

前者指分子与一个或多个质子反应生成的加合离子，可表示为 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 及 $[\text{M}+n\text{H}]^{n+}$ ；后者指失去一个质子后形成的阴离子，可表示为 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 。

13. 加合离子 (Adduct Ion)

指先驱离子与一个或多个原子或分子反应生成的离子。加合离子中保留了先驱离子的全部组成原子，还增加了新的原子。例如， $[\text{M}+\text{H}]^+$ 、 $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 、 $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ 等阳离子分子 (Cationized Molecule) 以及 $[\text{M}+\text{Cl}]^-$ 等阴离子分子 (Anionized Molecule) 都是加合离子，而 $[\text{M}-\text{H}]^-$ 则不是。

14. 分子离子 (Molecular Ion)

指分子失去或获得一个或多个电子（而非其他原子或基团）形成的正离子或负离子，可表示为 $\text{M}^{+\cdot}$ 、 M^+ 、 $\text{M}^{2+\cdot}$ 、 M^{2+} 、 $\text{M}^{3+\cdot}$ 、 M^{3+} 等分子阳离子 (Molecular Cation)，以及 $\text{M}^{-\cdot}$ 、 M^- 等分子阴离子 (Molecular Anion)。式中的“ $\cdot$ ”表示离子中存在一个未成对的电子（即奇电子）；若存在一个以上的奇电子，则需将其数目表示出来，如 $\text{M}^{(2+\cdot)(2\cdot)}$ 。因为绝大多数化合物都是偶电子分子，所以失去或获得奇数个电子后即成为奇

电子离子（即自由基离子）。分子离子可能进一步碎裂生成碎片离子，此时二者即为先驱离子与产物离子的关系。

为区别于分子离子，有的将 $[M+H]^+$ 、 $[M-H]^-$ 称为“准分子离子（Quasi-molecular Ion）”，或将 $[M+Na]^+$ 、 $[M+NH_4]^+$ 等也称为“准分子离子”，又或将它们都称为“伪分子离子（Pseudo-molecular Ion）”，但也有人将分子离子发生重排后形成的重排离子（Rearrangement Ion）称为“伪分子离子”。IUPAC^[35] 摒弃了准分子离子、伪分子离子这些术语，因为它们的含义不甚明确。

15. 碎片离子（Fragment Ion）

指先驱离子解离生成的产物离子。由于先驱离子变为产物离子，可能只发生了电荷态的改变，也可能生成了加合离子，因此产物离子未必是碎片离子，但碎片离子一定是产物离子。

16. 簇离子（Cluster Ion）

指两个或多个同种或不同种原子或分子通过非共价力与离子结合形成的新离子，如 $[(H_2O)_nH]^+$ 、 $[(H_2O)_n(CH_3OH)_mH]^+$ 、 $[(NaCl)_nNa]^+$ 、 $[I(CsI)_n]^-$ 、 $[M+Na+CH_3OH]^+$ 、 Ar_n^+ 。以 LC-ESI-MS 为例，目标离子、溶剂分子（如甲醇、乙腈和水）等从大气压下转移至真空中，因迅速膨胀而冷却，易相互结合形成簇离子，成为重要的干扰来源。

17. 强度（Intensity）与丰度（Abundance）

强度指检测器对离子响应信号的强弱，或图谱（如总离子流色谱图、提取离子色谱图和质谱图）中峰的高低，可分为绝对强度和相对强度。绝对强度可用检测器每秒计数（Count per Second, cps）来表示；相对强度则以最高峰的强度为 100%，其他峰的强度用占最高峰强度的百分比表示。相对强度的表示方法便于不同图谱之间的比较，缺点是不能反映信号的绝对大小。

丰度指离子数量的多寡，可分为绝对丰度和相对丰度。绝对丰度指离子的绝对数量；相对丰度则以最高丰度离子的丰度为 100%，其他离子的丰度用占最高丰度的百分比表示。

需要指出的是，“强度”一词只用于对信号或峰性质的描述，对离子数量的描述应用“丰度”。此外，这里的丰度与同位素丰度不是同一概念，二者没有必然联系。

18. 质谱图（Mass Spectrum）

指以离子的 m/z 为横坐标，质量峰（Mass Peak，简称“峰”）的（相对）强度或离子的（相对）丰度为纵坐标绘制的图谱，是“质谱（Mass Spectrum）”的一种图形表现形式。质谱图并非指 MS 所得图谱的总称，勿望文生义。有人以 u、Da 等质量单位来标记质谱图的横坐标，是欠妥的——尤其对于多电荷离子的质谱图。

质谱图中强度最大的峰称“基峰（Base Peak）”。每一个完全分离的峰对应的是某一特定 m/z （如 m/z 500）的离子的集合。若峰形对称，峰顶点的横坐标即为该离子的 m/z 。中性粒子不被检测，因此不出现在质谱图中。峰与峰之间的“空缺”即为中性丢失所致。质谱图有轮廓图（Profile）和棒图（Bar Graph）两种形式 [图 1-1 (a) 和 (b)]。前者

是对采集信号的真实反映，尤其当峰形和峰宽信息较重要时（如大分子化合物测定或高分辨率测定），需用此表示，但缺点是数据量大；后者又称“直方图（Histogram）”，是经数据缩减（Data Reduction）后形成的，只存储了峰质心 m/z 值和峰面积（峰高），优点是数据量小，简便、直观，便于不同质谱图间比较。例如，LC-MS 中质谱图多用轮廓图表示，GC-MS 多用棒图。需要注意的是，轮廓图可转化为棒图，但棒图无法转化为轮廓图，因为二者的数据采集模式不同，分别为质心采集（Centroid Acquisition）和轮廓图模式（Profile Mode）。采集模式应在数据采集前设定。当然， m/z 及丰度除用质谱图表示外，还可列表形式反映 [图 1-1（c）]。

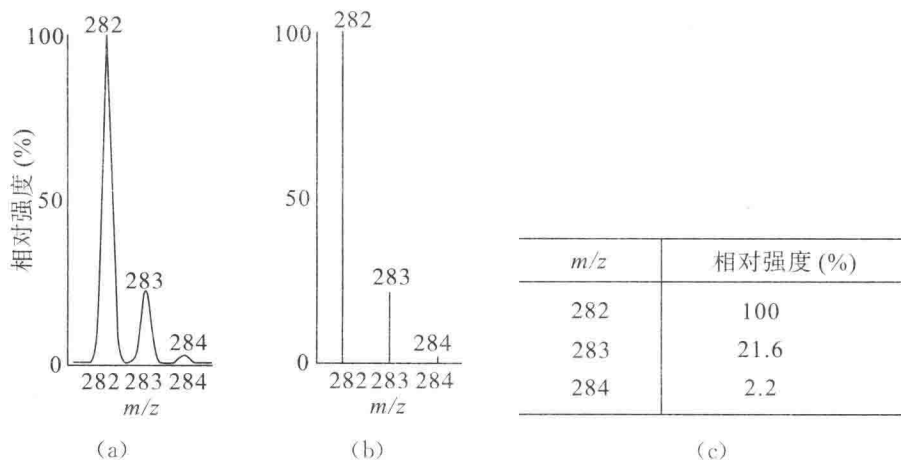


图 1-1 质谱的三种表现形式
(a) 轮廓图；(b) 棒图；(c) 列表

19. 总离子流色谱图（Total Ion Current Chromatogram, TICC）
 又称“重构 TICC（Reconstructed TICC, RTICC）”^[1,35]。
 指样品经 LC、GC 等色谱法分离后，以保留时间为横坐标，以构成质谱图的所有离子或特定 m/z 范围的离子的信号强度之和为纵坐标绘制的色谱图 [图 1-2（a）]。TICC 与 LC 中紫外检测、GC 中火焰电离检测所采的色谱图不同：其一，TICC 不是直接由质谱仪记录得到，而是将连续采集的质谱图经计算机处理后得到的，因此 TICC 是以质谱图为基础；其二，TICC 并非由单一检测通道的信号构成，而是不同通道信号之和。单独的 TICC 意义并不大，需转变为提取离子色谱图，或结合质谱图进行分析，才能得到有价值的信息。
 由 CE 得到的类似 TICC 的图谱称为“总离子流电泳图（Total Ion Current Electropherogram/Electrophorogram, TICE）”；而通过直接输注、FIA 等方式进样得到的类似 TICC 的图谱属于“总离子流轮廓图（Total Ion Current Profile, TICP）”的一种，TICP 是包括 TICC、TICE 在内的一类图谱的总称。
 IUPAC^[35]不赞成将 TICC 称为“总离子色谱图（Total Ion Chromatogram, TIC）”，可能是因为易与总离子流（Total Ion Current, TIC）的英文缩写混淆。

20. 提取离子色谱图（Extracted Ion Chromatogram, EIC）
 又称“质量色谱图（Mass Chromatogram）”“重构离子色谱图（Reconstructed Ion

Chromatogram, RIC)”。

指以保留时间为横坐标,某一个或一组特定 m/z 值的离子的信号强度为纵坐标绘制的色谱图 [图 1-2 (b) 和 (c)]。EIC 可从 TICC 中“提取”得到,也可直接采集而得。需要注意的是, EIC 和 TICC 中的峰是“色谱峰 (Chromatographic Peak)”, 勿与质谱图中的“质量峰”混淆, 后者属于“质谱峰 (Mass Spectral Peak)”^[1,35]。与 EIC 类似的术语还有提取离子电泳图 (Extracted Ion/Electropherogram/Electrophorogram, EIE) 和提取离子轮廓图 (Extracted Ion Profile, EIP)^[35]。

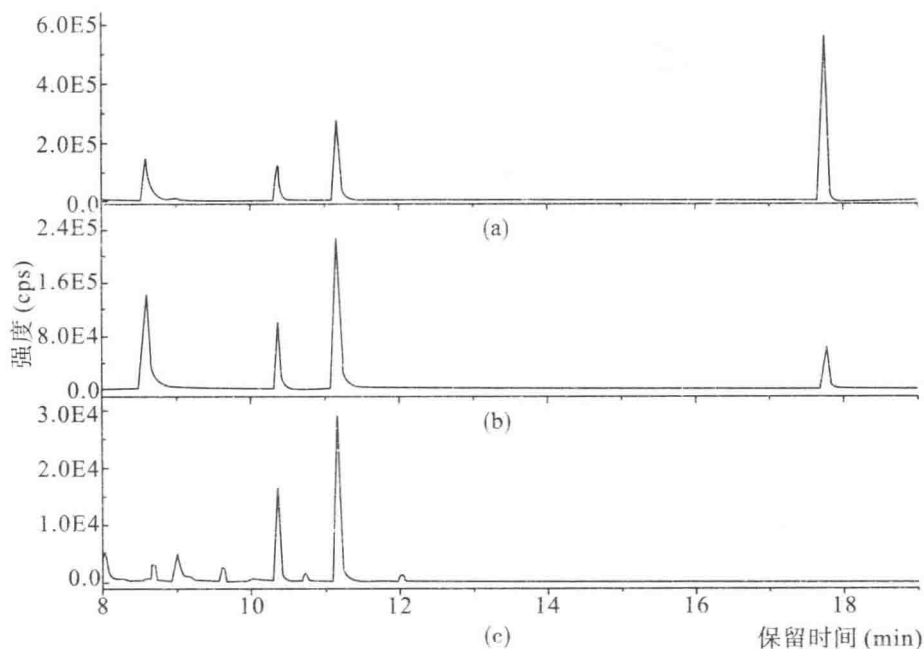


图 1-2 几种色谱图

(a) TICC; (b) EIC (m/z 149.0); (c) EIC (m/z 223.0)

21. 质量范围 (Mass Range) 与质荷比范围 (m/z Range)

分别指质谱仪能测定的离子的质量范围和 m/z 范围, 或采集质谱图前预先设定的需采集的质量范围和 m/z 范围。实际运用中, 二者常被混为一谈。事实上, 质量范围反映的是适合分析的化合物的性质, m/z 范围则更能直接反映仪器的性能。

22. 采集速度 (Acquisition Speed/Rate) 与扫描速度 (Scan Speed/Rate)

又分别称“采集速率”和“扫描速率”。

采集速度指单位时间内, 质谱仪所能检测的离子的 m/z 范围, 或已知电荷的离子的质量范围。对于低分辨率质谱仪, 常以 1、u/s 或 Da/s 作单位; 高分辨率质谱仪则多以 Hz 或张谱图/秒 (spectrum/s) 为单位, 其中扇形质谱仪常以秒/十倍程 (s/decade) 为单位 (注: 如 1~10、10~100 和 100~1 000 均为十倍程)。若以 Hz 或 spectrum/s 为单位, 应指明采集的质量范围或 m/z 范围。当质量范围为 1 000 Da 时, 1 Hz=1 000 Da/s。

对于四极质谱仪、扇形质谱仪等扫描型仪器, m/z 分离是通过依次改变 (“扫描”) 电场或磁场参数实现的, 因此这些仪器的采集速度又称“扫描速度”。

23. 分辨率 (Resolution, R) 与分辨能力 (Resolving Power, RP)

R 可表示为:

$$R = \frac{M}{\Delta M} = \frac{m/z}{\Delta(m/z)} \quad (\text{式 1-2})$$

R 又称“质量分辨率 (Mass Resolution, MR)”^[35]。此外, 还有“时间分辨率 (如 TOF 质谱仪)”和“(角) 频率分辨率 (如 Orbitrap 和 FT-ICR 质谱仪)”。式 1-2 中的 ΔM 因 R 的定义不同而有差别。下面介绍 R 的两种定义:

(1) 百分 ($x\%$) 峰谷定义 (双峰定义)

由于受仪器分离能力所限, 质量峰总是有一定宽度的, 并非理想状态下的一维线段, 因此相邻峰不可能总能分离。只有当它们的距离 (峰顶点横坐标之差的绝对值) 大于等于某特定值时, 两峰才开始实现分离。设峰 A 对应的离子的 m/z 为 M_1 。存在这样一个特定值 ΔM , 使峰 A 与 m/z 为 M_2 ($M_2 = M_1 \pm \Delta M$) 的离子对应的峰 B “刚好” 分离 (图 1-3)。那么, M_1 和 M_2 对应的 R 可分别表示为:

$$R_1 = \frac{M_1}{\Delta M} \quad (\text{式 1-3})$$

$$R_2 = \frac{M_2}{\Delta M} \quad (\text{式 1-4})$$

换一种方式理解, 设峰 A 与峰 B 为两相邻峰。固定峰 A 的位置不变, 将峰 B 沿横坐标轴平移。当峰 B “刚好” 能与峰 A 分离时, 峰 A 与峰 B 间的距离即为 ΔM 。显然, 对于特定 m/z 的离子, ΔM 越小, R 越大, 仪器的分离能力越强。

对于两峰 “刚好” 分离的标准, 存在不同的规定。按照 $x\%$ 峰谷定义, 当隔开峰 A 和峰 B 的峰谷的最低点 (谷底) 的高度等于 $x\%$ 峰高时, 峰 A 和峰 B 被视为 “刚好” 分离。常取 $x=5$ 或 10, 称为 5% 或 10% 峰谷定义。

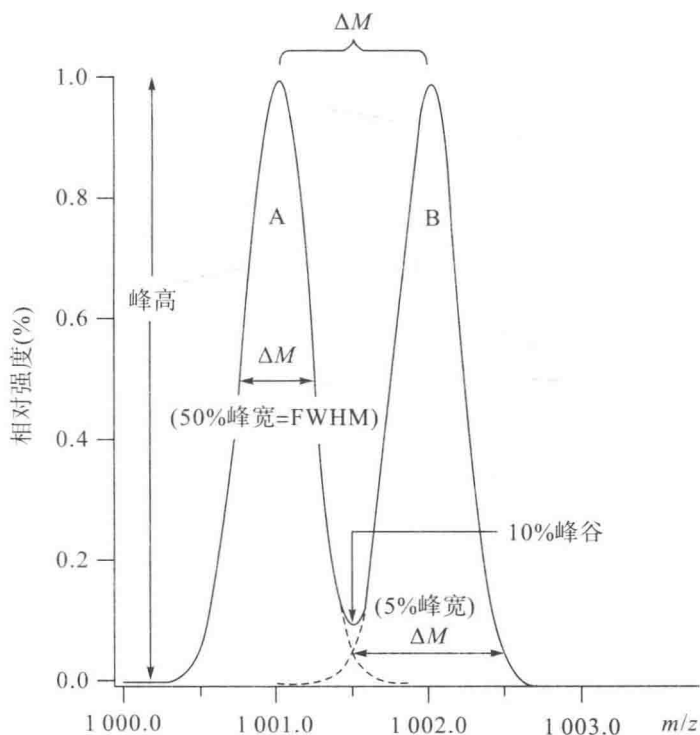
$x\%$ 峰谷定义只适用于高度相等或相近的相邻峰。若两峰等高, 可取任意一峰的高度计算 $x\%$ 峰谷; 若两峰不等高, 则以较低峰的高度计算。若两峰高度相差较大或无合适的相邻峰, 可采用下面的 $x\%$ 峰宽定义。

(2) $x\%$ 峰宽定义 (单峰定义)

设某质量峰 A 对应的离子的 m/z 为 M , $x\%$ 峰高对应的峰宽 ($x\%$ 峰宽) 为 ΔM , 则 R 可表示为:

$$R = \frac{M}{\Delta M} \quad (\text{式 1-5})$$

ΔM 常取 50%、10% 或 5% 峰宽。显然, ΔM 越小, 定义越严格。对于高斯峰, $R_{5\% \text{峰宽}} = R_{10\% \text{峰谷}}$ 。当 $\Delta M = 50\%$ 峰宽时, $x\%$ 峰宽定义称为 “半峰全宽 (Full Width at Half Maximum, FWHM) 定义” (图 1-3)。

图 1-3 R 的 $x\%$ 峰谷和 $x\%$ 峰宽定义

在扇形质谱仪盛行的时代，通常采用 5% 或 10% 峰谷定义。但这样的定义，对于后兴的四极质谱仪等仅具单位质量分辨率 (Unit Mass Resolution, UMR) 的仪器而言，显得过于严格。所谓 UMR，顾名思义，指能使 $\Delta M = 1$ 的两离子对应的峰实现分离（两峰重叠部分不超过 5%~10%）的 R ^[35]。随着技术的进步，如今四极质谱仪等的 ΔM 已可达 0.7、0.5 或更低，但仍属于低、中分辨率仪器。目前，除扇形质谱仪仍沿用 10% 峰谷定义外，其他大多数质谱仪，包括 TOF、QIT、LIT、Orbitrap、FT-ICR 和四极质谱仪等，多采用 FWHM 定义。对于高斯峰， $R_{\text{FWHM}} \approx 1.8R_{10\% \text{峰谷}}$ 。

RP 又译为“分辨力”“分辨本领”，又称“质量分辨能力 (Mass Resolving Power, MRP)”。 RP 用于衡量质谱仪能提供特定 R 的能力，与 R 是一对异名同义的术语。略有不同的是， R 强调的是能使两峰分离的最小 ΔM 值， RP 则侧重反映仪器分离相邻两峰的能力。

上述针对 R (MR) 和 RP (MRP) 的定义基本遵循了 IUPAC^[35] 在 2013 年提出的建议。但实际上，对于二者的定义，质谱界向来存在争议。即便是 IUPAC 的建议，在不同文件中也有差异，如《化学术语纲要》^[71] 将 R 与 MRP 均定义为 $m/\Delta m$ (单位为 1)， RP 定义为 Δm (单位为 u)，无 MR 的定义。如此定义，不仅将 MRP 与 RP 视为不同的概念，而且用 m 和 Δm 代替 M 和 ΔM ，明显只适用于电荷数相等的情况。其他文献对这些术语的使用也较为混乱，例如，有的将 $m/\Delta m$ 中的 m 定义为相邻两峰对应的离子的平均质量^[78]；有的将 RP 定义为 $M/\Delta M$ (或 $m/\Delta m$)， R 定义为 ΔM (或 Δm)^[1,41,69]；有的将 MR 和 MRP 均定义为 $M/\Delta M$ ^[79]；有的将 R (MR) 和 RP (MRP) 互换使用，有时用 $M/\Delta M$ (或 $m/\Delta m$) 表示，有时用 ΔM (或 Δm) 表示，但同一概念若赋予两种不同的含