

气相色谱-质谱联用法实验教学设计的探索与实践*

王翊如

(厦门大学化学化工学院化学系 福建厦门 361005)

摘要 阐述如何有效地设计气相色谱-质谱联用法实验教学系统,包括教学内容的设计原则、有效实施以及教学效果评价;介绍了几个适用于本科生和研究生教学的气相色谱-质谱联用分析实验。

关键词 气相色谱-质谱联用法 实验教学 教学设计

随着我国高等院校教育经费投入的增加,越来越多的高校有能力开设更多大型仪器设备的实验教学内容。气相色谱-质谱(GC-MS)联用分析法适用于分离分析挥发性或半挥发性混合物,在环境、食品、临床等领域有着广泛的应用。厦门大学化学系从 2001 年起开始增设气相色谱-质谱联用分析实验教学内容,在此阐述 10 多年教学过程中的一些思考,以期通过不断地改进教学设计,提高教学效果。

1 教学内容的设计原则

1.1 高效使用仪器

根据教学对象的不同设置了不同的教学内容:3.5 小时的课时内容适用于本科生,主要涉及气相色谱-质谱的基本原理和基本操作;6 小时的课时内容适用于研究生,增加了样品前处理过程以及仪器的维护操作介绍。

气相色谱-质谱联用仪的实用价值和仪器维护成本都比较高,若仅将该仪器应用于每周两次的实验教学则过于浪费,因此将仪器的非教学时间留给科研活动是必要的。这样不但能提高仪器的利用率,还可以使仪器随时处于工作状态,适用从上午第一节课即开始的实验教学;教师也不需要提前 2 小时开机抽真空,并避免了频繁开关仪器损害高速运转的涡轮分子泵。从科研项目中节选部分内容作为实验的教学内容,科研和教学相辅相成,不但可以共享色谱柱和标准物质,还可以减少不同样品体系的干扰。因此,我们在与香港浸会大学化学系合作研究香港大气中的多环芳烃的过程中,开设了气相色谱-质谱联用法测定混合多环芳烃实验;在与厦门市公安局刑事技术研究所科研合作的过程中,开设了气相色谱-质谱联用法测定混合毒品实验;在完成科研项目“食品安全检测新技术、新方法的研究”过程中,开设了气相色谱-质谱联用法测定有机磷混合物实验。由于标准溶液具有一定的使用时间限制,因此,科研与教学共享标准储备溶液是个较好的选择,这样也能使学生在学习过程中有机会接触到价格昂贵的氘代化合物作为内标物。

1.2 核心内容设计

本文以气相色谱-质谱联用法测定有机磷混合物实验为例,介绍适用于本科生教学的实验内容设计。设计的核心在于能使学生在规定的学时内完成一个相对完整的定性、定量实验。

选择 7 种有机磷标准品,分别为甲拌磷、二嗪磷、甲基对硫磷、杀螟硫磷、毒死蜱、稻丰散和乙硫磷,其中毒死蜱作为内标化合物。配制质量浓度分别为 0.4、0.6 和 1.0mg/L 的 3 份标准混合溶液以及一份浓度待测的样品混合液(4 份溶液中均含有质量浓度为 0.4mg/L 的内标物毒死蜱)。选择 VF-5ms 型色

* 基金资助:国家基础科学人才培养基金(No. J1210014)

谱柱(长30m,内径0.25mm,膜厚0.25 μ m)分离混合有机磷,初始柱温120 $^{\circ}$ C,以40 $^{\circ}$ C/min升至200 $^{\circ}$ C,再以1 $^{\circ}$ C/min升至210 $^{\circ}$ C,继续以20 $^{\circ}$ C/min升至230 $^{\circ}$ C,保留2min,最后以30 $^{\circ}$ C/min升至260 $^{\circ}$ C,保留0.5min。色谱的程序升温时间为16.5min,加上色谱柱从260 $^{\circ}$ C降温回初始柱温120 $^{\circ}$ C的时间,完整走完一个样品的时间可以控制在20min内,比较适合在3.5h的实验时间内设计做5~6个样品。

气相色谱-质谱(GC-MS)法的定性方式有两种,一是采用有机磷在气相色谱上的保留时间进行定性,一是采用有机磷特征的质谱图进行定性,此双重定性能力是GC-MS法比普通GC法优越所在。因此,定性实验设计的内容可要求学生采用全扫描的检测模式(扫描范围60~400amu),分离分析1.0 μ L 1.0mg/L的有机磷标准混合液,判断每一种有机磷的保留时间,获得每一种有机磷化合物的特征离子碎片。定性实验需使学生了解总离子流色谱图(TIC)和多离子色谱图(MIC)的区别,能通过选择单离子或多离子色谱图快速找到某一种有机磷的色谱峰,学会扣除本底背景并进行谱库检索,并且认识到在固定载气流量和色谱柱升温程序条件下,不同浓度溶液中同一种有机磷的保留时间相同。

GC-MS法的定量方式选用内标标准曲线法,采用选择离子检测模式(SIM)进行检测,以0.4、0.6和1.0mg/L的3份标准混合溶液中待测有机磷*i*组分的特征离子的色谱峰面积 A_i 与内标物毒死蜱的特征离子的峰面积 A_s 比值 $y(y=A_i/A_s)$ 对待测有机磷的浓度 c_i 与内标物毒死蜱的浓度 c_s 的比值 $x(x=c_i/c_s)$ 做一元线性回归方程($y=ax+b$),因此6种待测有机磷可以获得6条内标标准曲线。公式推导如下:

$$f_{is} = \frac{f_i}{f_s} = \frac{m_i/A_i}{m_s/A_s}$$

其中 f_{is} 为待测有机磷*i*组分相对内标物毒死蜱的相对质量校正因子, f_i 为待测有机磷*i*组分的绝对质量校正因子, f_s 为内标物毒死蜱的绝对质量校正因子, m_i 为待测有机磷*i*组分的质量, m_s 为内标物毒死蜱的质量。

整理公式,可得 $\frac{A_i}{A_s} = \frac{1}{f_{is}} \cdot \frac{m_i}{m_s}$ 。由于被测组分与标准样品的进样体积是一样的,则 $\frac{A_i}{A_s} = \frac{1}{f_{is}} \cdot \frac{m_i/V}{m_s/V} = \frac{1}{f_{is}} \cdot \frac{c_i}{c_s}$ 。拟合公式 $y=ax+b$ 中的斜率 a 是相对质量校正因子的倒数,说明内标标准曲线法的优点在于能够获得一定浓度范围内的相对质量校正因子。

再计算样品溶液中待测有机磷的特征离子的色谱峰面积与内标物毒死蜱的特征离子的峰面积比值(y'),代入方程可以获得6种有机磷的 x' 。又由于样品中内标待测物的浓度 c_s 已知,由此可以计算出待测物的浓度 c_i 。

1.3 注重趣味培养

兴趣是学习的最大动力,因此,实验课的引题尤为重要,可以从扩展介绍与目标待测物相关的话题说起。例如,在气相色谱-质谱联用法测定有机磷混合物实验中,可介绍不同有机磷农药的毒性、有机磷中毒刑事案件以及食品中有机磷农药残留超标事件等;在气相色谱-质谱联用法测定混合毒品实验中,可介绍冰毒在日本的抗抑郁滥用、海洛因的高危成瘾性、奥运会及香港赛马会的兴奋剂检测现状等;在气相色谱-质谱联用法测定混合多环芳烃实验中,可介绍环境中多环芳烃的产生来源、扫烟囱工人患鼻咽癌诱因以及可以加快多环芳烃排出人体的食物等。由于实验教学对象都有较好的智力因素,因此,一些非智力因素(如兴趣等)可在实验教学过程中起明显的作用^[1]。

1.4 设计绿色实验

在教学过程中发现,学生更喜欢操作简便、绿色环保的实验。我们曾开设过两个适用于研究生的教学实验,相比较于涉及有机溶剂萃取、硅藻土层析柱净化、氮吹浓缩定容等内容的GC-MS同时测定蔬菜水果中多种农药残留实验,顶空固相微萃取技术与气相色谱-质谱联用快速检测茶中香味物质实验更受

学生的欢迎。顶空固相微萃取技术是一种不需要使用有机溶剂的样品前处理技术。在一定温度下,固相微萃取纤维先萃取密闭于顶空瓶顶空中的茶的香味物质,同时实现萃取、净化、浓缩等样品前处理步骤,再利用气相色谱气化室的高温,将纤维上的香味物质热解吸到气相色谱-质谱联用系统中。该方法具有高效、快速、经济、环保等特点。在实验教学中,既可以采用商品化的固相微萃取装置,也可以使用自制的固相微萃取装置。

1.5 规范原则

由于气相色谱-质谱联用仪在各行业应用广泛,因此也可以选择一些标准分析方法作为选修实验,例如食品标准分析方法 GB/T 5009.204—2005,SN/T 2151—2008,SN/T 2149—2008,SN/T 0123—2010,SN/T 0148—2011 等。

2 教学内容的有效实施

2.1 知识构建过程

学习实质上是一个知识构建过程^[2]。因此,在简单讲解气相色谱-质谱联用法的基本原理时,应着重强调气相色谱-质谱联用分析法(GC-MS)在分析化学学科中所处的位置,让学生了解气相色谱-质谱联用仪能做什么,不能做什么,明确当前的学习与其他学习任务的不同之处。

色谱法的最主要功能是分离。气相色谱与高效液相色谱、超临界流体色谱、高效薄层色谱、离子色谱等其他色谱方法相比,最大特点就是适合分离分析挥发性或半挥发性的有机混合物。在气相色谱-质谱联用仪中,气相色谱仪是质谱仪理想的进样器,质谱仪是气相色谱仪理想的检测器;试样经气相色谱仪分离后,以纯物质形式进入质谱仪进行检测。气相色谱-质谱联用法受到气相色谱的限制,也仅适用于分离分析挥发性或半挥发性化合物;若直接分析的样品中含有难挥发的化合物,则可能对进样系统和分离系统造成污染。

相比较于氢火焰离子化检测器(FID)和电子捕获检测器(ECD)等一般的气相色谱检测器,采用质谱仪作为气相色谱检测器不但可以通过气相色谱的保留时间对待测化合物进行定性,而且可以通过质谱图对化合物进行定性,从而实现双重定性,使定性的准确度远远高于一般的气相色谱法。而且,质谱仪作为通用型的检测器,几乎可以检测出所有的化合物,比FID、ECD等选择性检测器的应用范围更广。

气相色谱-质谱联用法既发挥了气相色谱法高分离能力,又发挥了质谱法高鉴别、高灵敏检测能力,两者相辅相成。通过质谱的选择离子检测模式(SIM),可以区分气相色谱难以分离的化合物;而对于质谱难以区分的同分异构体,气相色谱又能充分地发挥其优越的分离能力。所以,气相色谱-质谱联用法实验教学的目的之一就是要使学生认识到GC-MS法是目前分离分析挥发性或半挥发性有机混合物的最好的仪器分析方法。

2.2 仪器现场讲解

GC-MS 仪的基本操作(包括仪器分析方法的建立、样品的进样分析及数据处理等)都可以通过计算机来实现。随着学生有机会接触更多的仪器以及计算机水平的提高,基本操作的教学虽是重点但已不是难点。另外,在研究生实验课的教学内容中增加了仪器的正常维护,包括如何安装色谱柱,如何更换气相色谱仪进样口的硅橡胶垫片以及如何清洗更换气化室的玻璃衬管等,这部分内容可以通过操作视频来学习。在仪器现场讲解时,气相色谱仪的门可以暂时打开,让学生认识色谱柱上的标签,包括色谱柱型号、柱长、内径以及膜厚等参数,并介绍适用于质谱检测的气相毛细管柱具有MS的特别标示等内容。

在以往使用过程中更换的GC-MS 仪的零部件(包括灯丝、电子倍增器等,以及报废的质量分析器、

分子涡轮泵等)可以保留下来作为教学道具。虽然多媒体课件也可以较好地展示仪器的内部部件,但这种在实验教学过程中直接展示实物的效果往往更好。

2.3 授课时间安排

由于 GC-MS 实验教学的内容较多(包括定性定量分析等内容),因此,由教师在课前全部讲解完再让学生实验的效果并不好,原因是时间过长、重点太多,学生难以一下全盘接受。可将授课讲解内容分成 3 段,即 GC-MS 法总体介绍、定性以及定量 3 部分,穿插在实验过程中进行讲解。这样既可以充分利用仪器走样的时间,而且每段都有一个重点,学生接受起来比较轻松,教师也容易掌控实验课程的进度。在实验结束前,教师与学生一起讨论并进行小结,可以较好地把分散的讲解内容重新统一,学生也能进一步完善认知结构。

3 教学效果评价

3.1 课堂评价

在 GC-MS 实验教学过程中,由于仪器数目有限,每次参加实验课的学生一般控制在 4~6 人(4 人的教学效果较好),使教师能有充足的时间与学生进行实验讨论,并通过对实验现象的提问来了解教师的讲解效果以及学生的听课效果,进而评价学生利用基本原理解决实际问题的能力。我们亦试验过拔尖班学生的 GC-MS 实验教学 4 人两组,使之分别在两台不同的仪器上操作(Varian 3900 Saturn 2100T GC/MS/MS 和 Shimadzu GC/MS-QP2010)。虽然两台 GC-MS 仪的进样系统和质量分析器有所不同,但教师在一台仪器上讲解完后,学生遵循讲义上的操作步骤,基本上可以在另一台仪器上独立操作实验。

3.2 课后成绩评价

学生成绩的评价包括预习、实验操作、实验结果以及实验报告几部分,其中实验报告的讨论部分尤为重要,可以了解学生课后学习参考书的情况以及学生对于气相色谱-质谱联用分析方法的认知程度,进而设计更有效的 GC-MS 实验教学内容。

参 考 文 献

- [1] 沈德立. 高效率学习的心理学研究. 北京: 教育科学出版社, 2006
- [2] 盛群力. 教学设计. 北京: 高等教育出版社, 2005