



# 气相色谱质谱 (GC-MS)联用仪

**张海燕**

**中国科学技术大学生命科学实验中心**

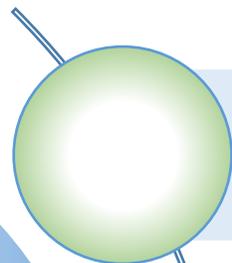
**<http://biotech.ustc.edu.cn>**

**20210413**

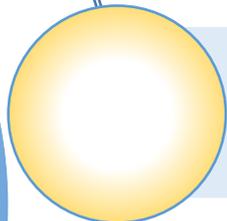




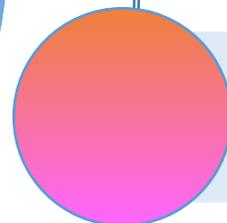
# 主要内容



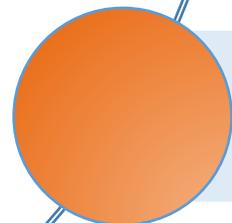
仪器简介与原理



样本前处理



应用方向

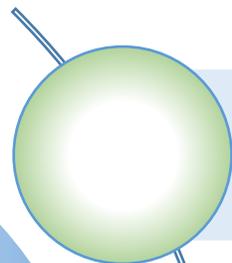


上机

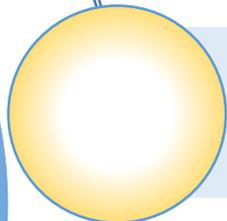




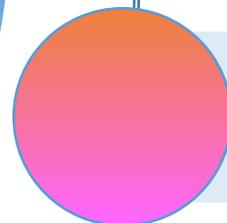
# 主要内容



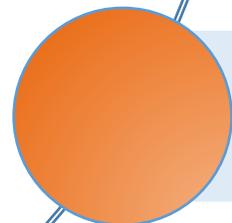
**仪器简介与原理**



**样本前处理**



**应用方向**

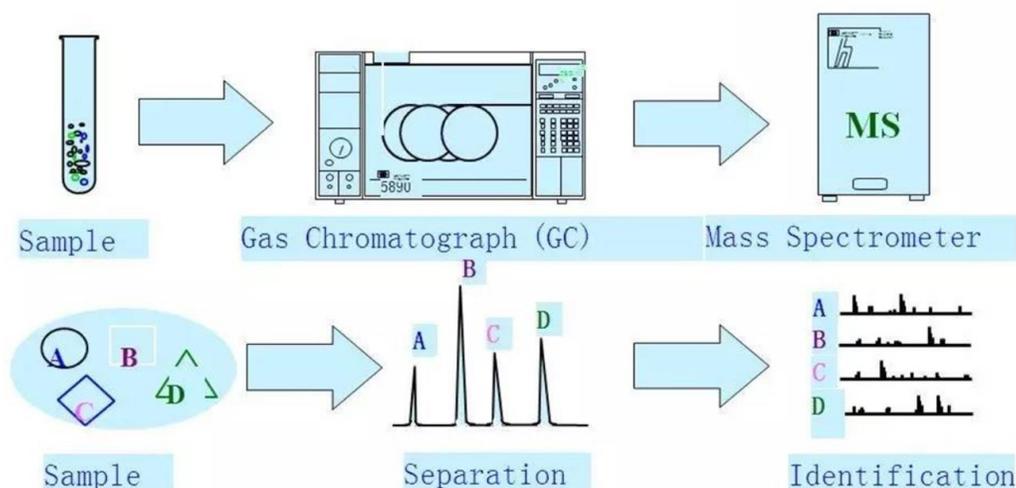


**上机**



# 一、仪器简介与原理

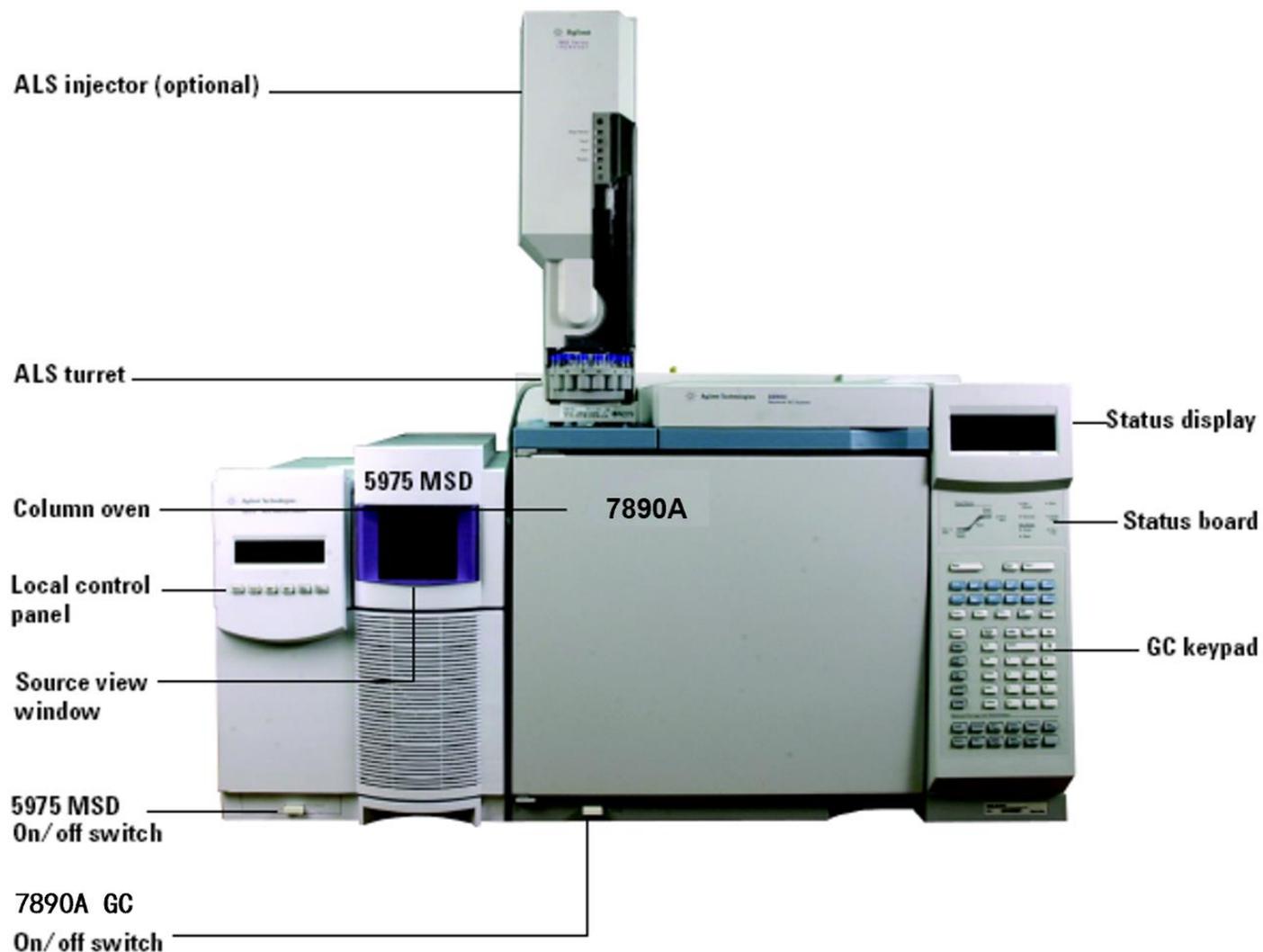
- 气相色谱-质谱联用仪是利用色谱法对混合样本进行分离，用质谱法对分离样本进行定性定量的仪器。
- 两者的联用整合了色谱高效的分离能力和质谱出色的定性能力，极大拓展了仪器的应用范围。



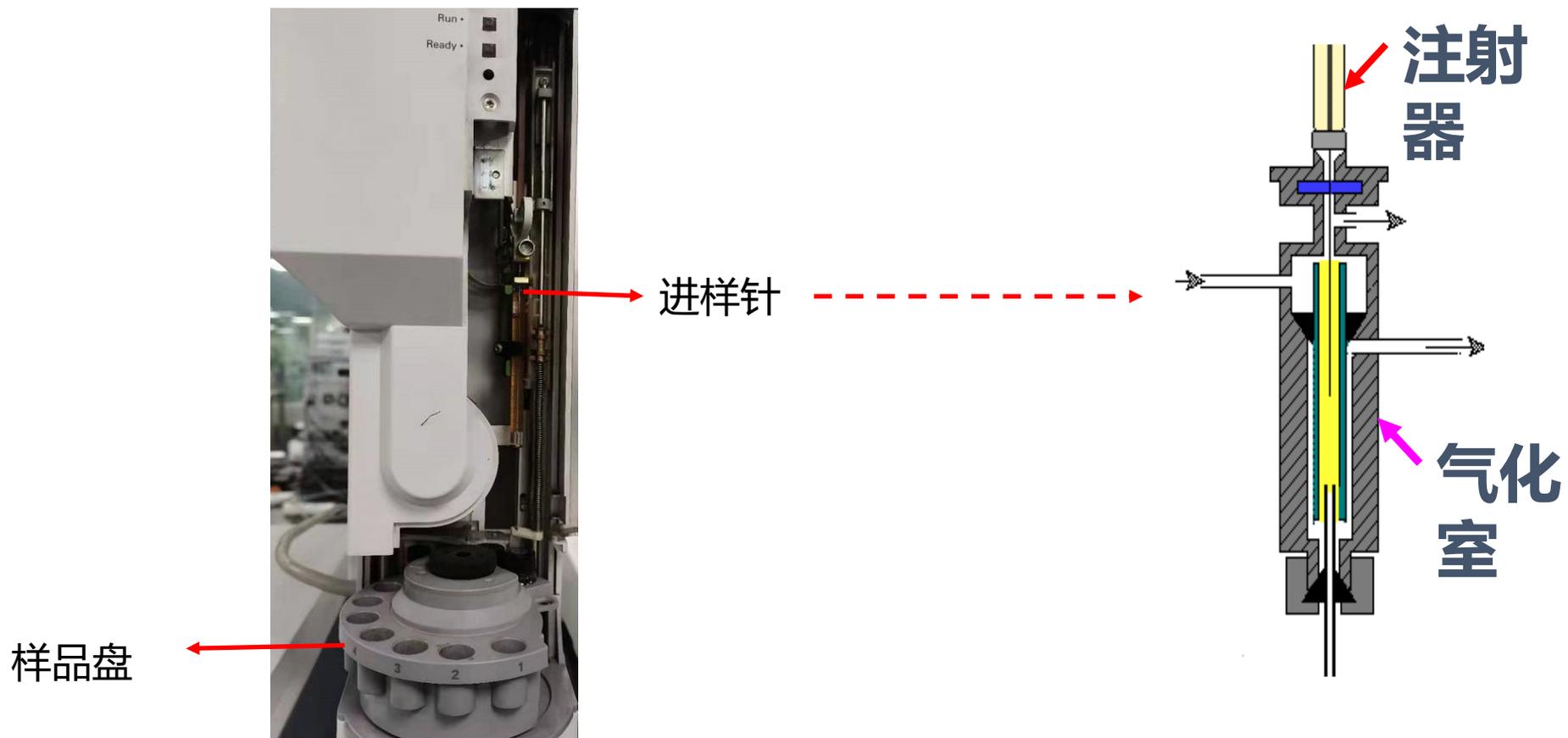


# 1.1 仪器组成

- 自动进样器
- 气相色谱
- 质谱

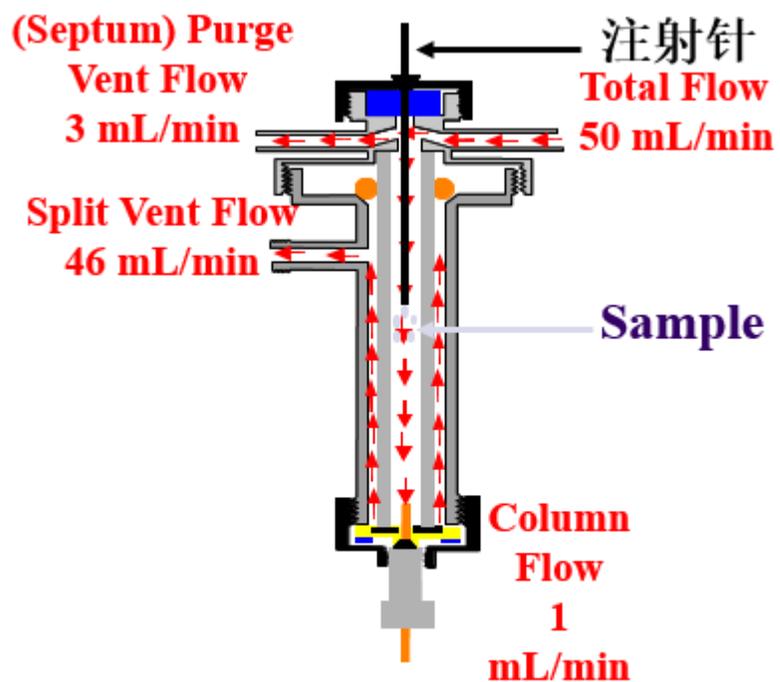


# 1.2 自动进样器



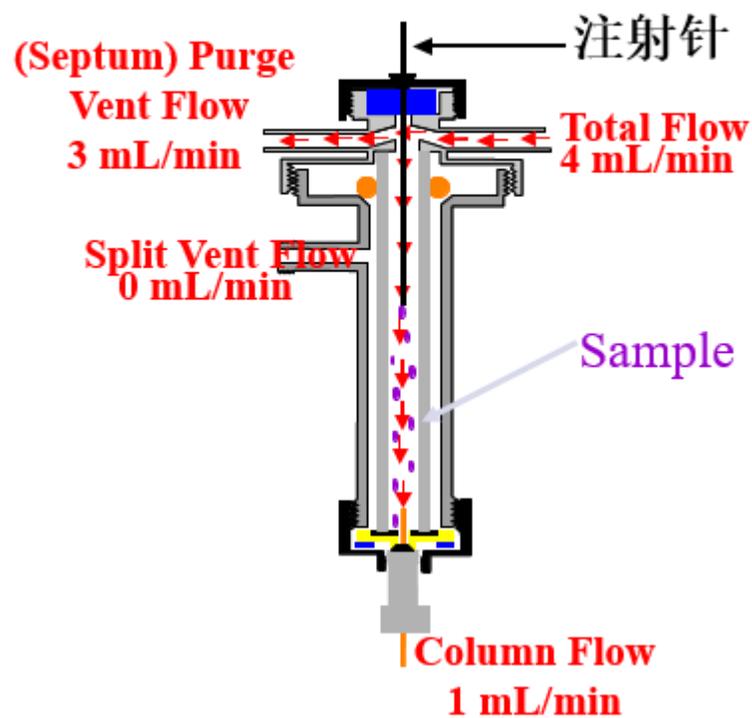


# 进样模式



分流进样

## 不分流进样



## 1.2 气相色谱

➤ 色谱法是利用混合物不同组分在固定相和流动相中**分配系数**(或吸附系数、渗透性等)的差异,使不同组分在作相对运动的两相中进行反复分配,实现分离的分析方法。

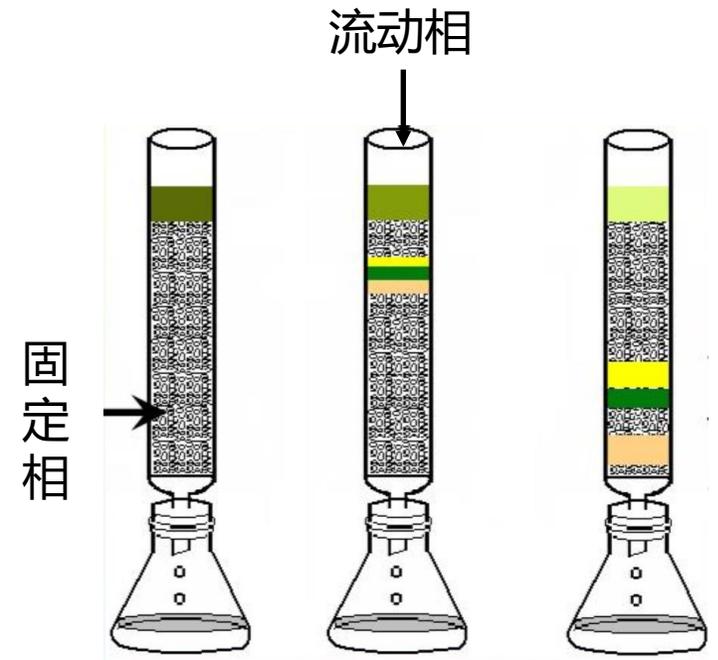
➤ 流动相是气体的分析方法,即为气相色谱。

➤ 特点

分离效率高;

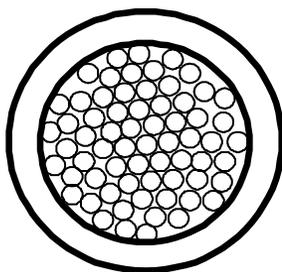
灵敏度高,  $\mu\text{g/g}$  ( $10\text{e-}6$ ) 甚至  $\text{ng/g}$  ( $10\text{e-}9$ ) 级别;

分析速度快,几十分钟/样。

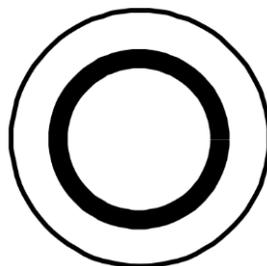


## 1.2.1 固定相—色谱柱

填充柱



毛细管柱



色谱柱	填充柱	毛细管柱
柱内径	1-10 mm	0.05-0.5 mm
柱长度	0.5-10 m	10-150 m
总塔板数	$\sim 10^3$	$\sim 10^6$
样品容量	10-1000	0.1-50

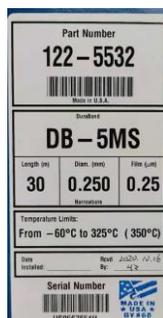
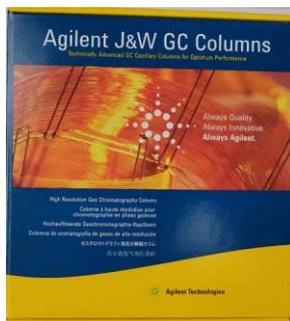
# 常见毛细管柱

柱型	极性	固定相	使用温度	对应国外牌号	应用范围
SE-30 OV-1 OV-101	非极性	100%二甲基聚硅氧烷	-60°C-320°C	DB-1、BP-1、HP-1、CPSil5CB、SPB-1、Rtx-1 等	碳氢化合物、芳香化合物、农药、酚类、除草剂、胺、脂肪酸甲酯、GC/MS 等
SE-52 SE-54	弱极性	5%苯基，95%二甲基聚硅氧烷	-60°C-320°C	DB-5、BP-5、HP-5、CPSil8CB、SPB-5、Rtx-5 等	碳氢化合物、芳香化合物、农药、除草剂、滥用药物等
OV-1701	中极性	7%氟甲基，7%苯基甲基聚硅氧烷	-20°C-270°C	DB-1701、BP-10、HP-1701、SPB-1701、CPSil 19CB、Rtx-1701 等	农药、除草剂、药物、环境样品等
OV-17	中极性	50%苯基，95%甲基聚硅氧烷	-20°C-270°C	DB-17、HP-50、SPB-1701、CPSil 19CB、Rtx-50 等	农药、除草剂、药物、环境样品等
XE-60	中极性	25%氟乙基，75%甲基聚硅氧烷	40°C-240°C	DB-17、HP-50、SPB-1701、CPSil 19CB、Rtx-50 等	脂肪酸甲酯、碳水化合物、中性固醇等
OV-225	中极性	25%氟乙基，25%苯基甲基聚硅氧烷	40°C-240°C	DB-225、HP-225、Rtx-225 等	脂肪酸甲酯、碳水化合物、中性固醇等
PEG-20M	极性	聚乙二醇 20M	20°C-240°C	DB-WAX、HP-WAX、Carbowax20M、SUPELCO WAX10、CPWAX52CB 等	醇类、游离酸、脂肪酸甲酯、芳香化合物、溶剂、香精油等
FFAP	极性	聚乙二醇 与对苯二甲酸的反应产物	20°C-220°C	DB-FFAP、HP-FFAP、Nukel SP-1000、CPWAX58CB 等	醇类、挥发性游离酸、脂肪酸甲酯、醛、丙烯酸酯、酮类等

# 色谱柱的选择原则——“相似相溶”

- 对试样中的各组分有不同的溶解能力——分离要求。
- 有较好的稳定性，不与被分离组分发生不可逆的化学反应。
- 选择与试样性质相近的固定相。
  - 分离非极性组分，选择非极性固定相，按照组分的沸点出峰，低沸点的先出峰；
  - 分离极性组分时，选择极性固定相，按照组分的极性出峰，低极性的先出峰；
  - 组分复杂或难分离的物质，使用特殊的固定相，或多种固定相。

非极性固定相具有更好的抗氧化性，更高的效率和更极限的操作温度，所以在可以满足分离要求的情况下，尽可能选择固定相极性弱的色谱柱。



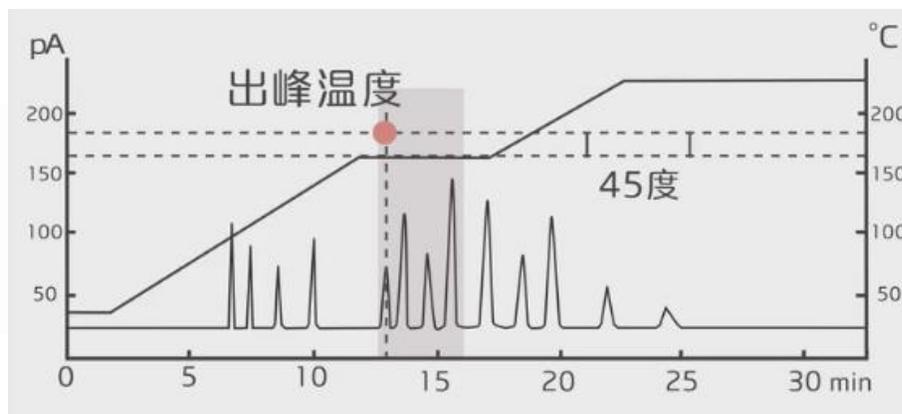
(5%-苯基)-甲基聚硅氧烷的  
非极性苯基芳基聚合物色谱柱

# 影响分离的因素--柱温

- 控制在固定相的最高使用温度以下，超过该温度，会出现柱流失。
- 升高柱温，被测组分在流动相（气相）中的浓度增加，分离度下降，低沸点组分易重叠。
- 柱温降低，可以改善难分离的物质，但会延长分离时间。
- 组分复杂，沸程宽的试样，推荐程序升温；在分离度不好的窗口设置温度平台。



程序升温  
恒温分析



# 常见的柱流失碎片

柱型	离子碎片 m/z
SE-54, HP-1, HP-5, OV-101	73、147、207、221、253、281、327、355
OV-17, HP-17,	73、147、197、221、253、281、327、355
OV-225, HP-225	73、135、156、197、253、269、313、327、403
FFAB, HP-INNOWax, HP-FFAP	57、69、97、123、173、191、207、219、240、264、289、305
聚乙二醇	131、133、147、161、163、191、195、205、207、281、355



## 1.2.2 流动相—载气

- 必须是化学惰性的；
- 必须不干扰总离子流的检测；
- 必须不干扰质谱图；
- 最好能富集载气气流中的样本组分。



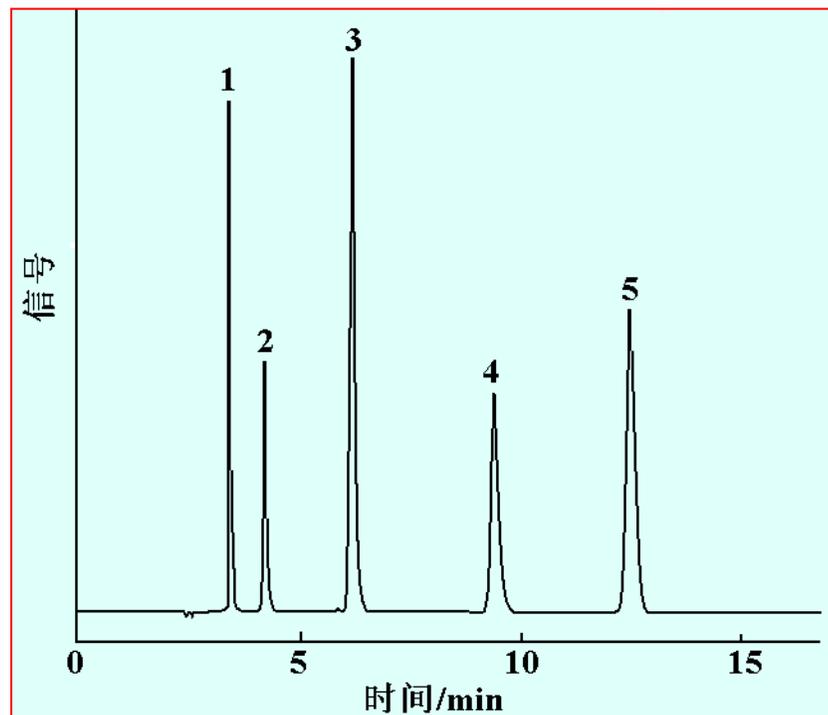
安全性  
经济性  
易得性

常用载气：氮气，**氦气**，氢气等。



# 色谱图

- 横坐标，保留时间RT(Retention time)，定性分析。
- 纵坐标，信号响应值(Abundance)，定量分析。
- 半峰宽，色谱峰高一半处的峰宽度，反应了色谱柱的分离效能。

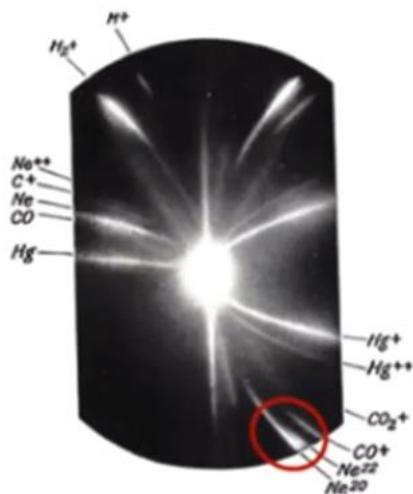


# 1.3 质谱

质谱 (Mass Spectrometry, MS) , 对带电粒子的 $m/z$ 值及其丰度进行测量的技术。



J.J.Thomson, 1906  
年诺贝尔物理学奖



氖-20和氖-22

1912年

## 特点

- 能够鉴定未知化合物
- 高通量
  - 蛋白质组学, 代谢组学, 脂质组学。
- 非标记
  - 不需探针。
- 定性的同时定量





## 1.3.1 离子源

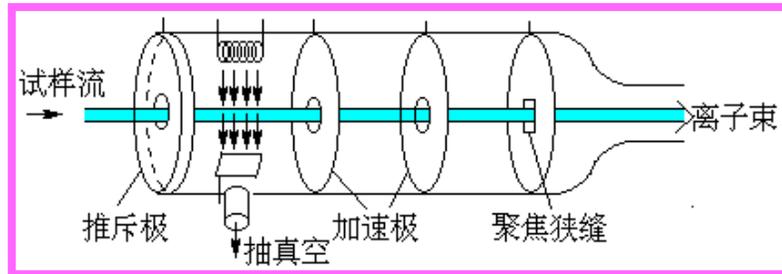
离子源的作用是将被分析的样品分子电离成带电离子，然后进入质量分析器被分离。

- 电子轰击电离源 (EI) ★
- 化学电离源 (CI)
- 场致电离源 (FI)
- 大气压化学电离源 (APCI)
- 电喷雾电离源 (ESI)



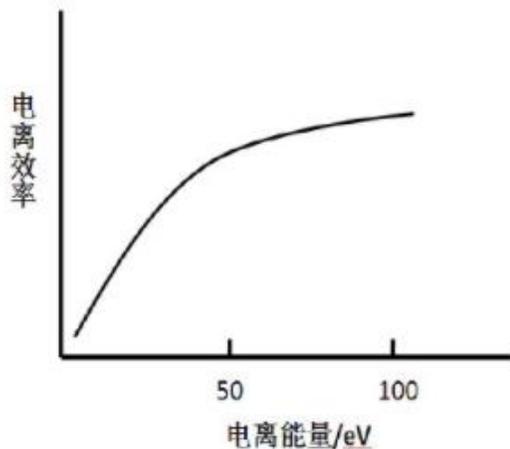
# 电子轰击电离源(EI)

- 又称电子电离，是应用普遍，发展最成熟的一种电离方法。
- 轰击电压是70eV。有机分子的键能一般是7-15eV。因此可提供丰富的结构信息。
- 有些分子可能无法提供分子离子信息。

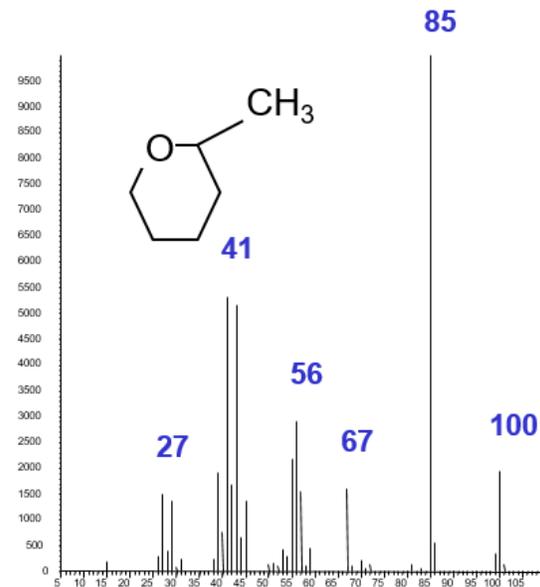




# Why选择70eV?



EI源的电离效率与电离能量有关，在50eV以下时，电离产率随着电离能量增加较快，达到70eV时候，电离能量增加，而电离产率基本不变。



未知物鉴定时，最常用是美国国家标准技术研究院建立NIST标准谱库，就是利用EI源在70eV的碰撞能轰击下产生的。





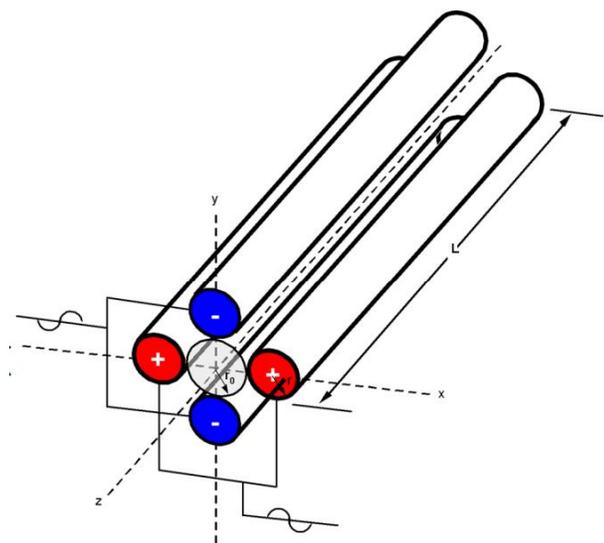
# EI源的优缺点

优点	缺点
结构简单，操作方便。	样本必须能气化，不适用于难挥发，热不稳定的样本。
电离效率高。	可能得到分子离子峰，谱图复杂，解析困难。
性能稳定，有标准谱库。	只能用于正电模式。

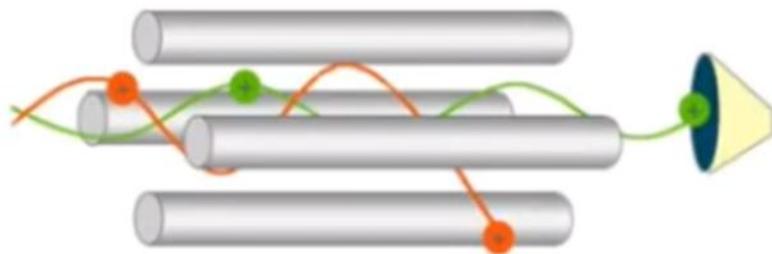


## 1.3.2 质量分析器

### 四极杆上直流电压和射频电压

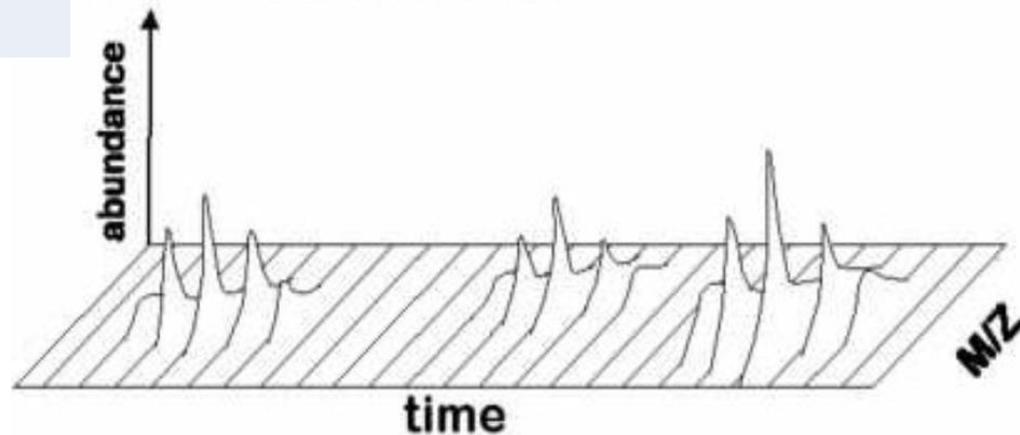


- 1、RF：射频电压，固定频率的震荡电压，使离子围绕中心轴做圆周运动。
- 2、DC：过滤直流电压，选择离子，帮助调整分辨率，提供离子轴向飞行动能。
- 3、改变RF和DC，可以选择不同的离子通过。



# 1.4 定性依据

分析对象	分析方法	分析要求
目标/可疑化合物	1) 和标准品的保留时间相同。 2) 和标准品的谱图相同。	确认
未知化合物	1) 测定分子量。 2) 测定元素组成。 3) 阐明结构。	解释



# 保留时间对比

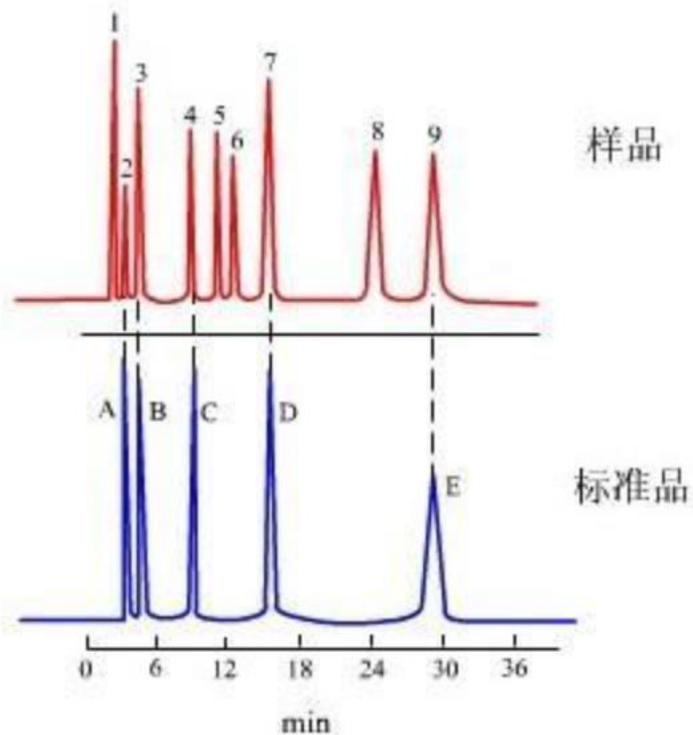
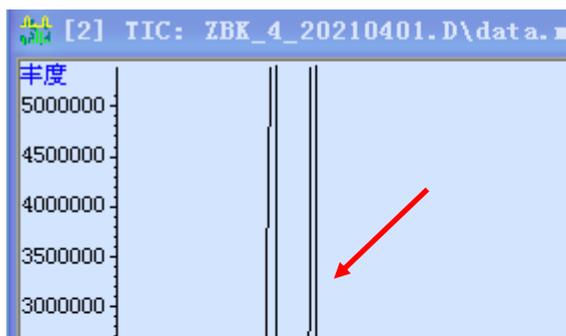


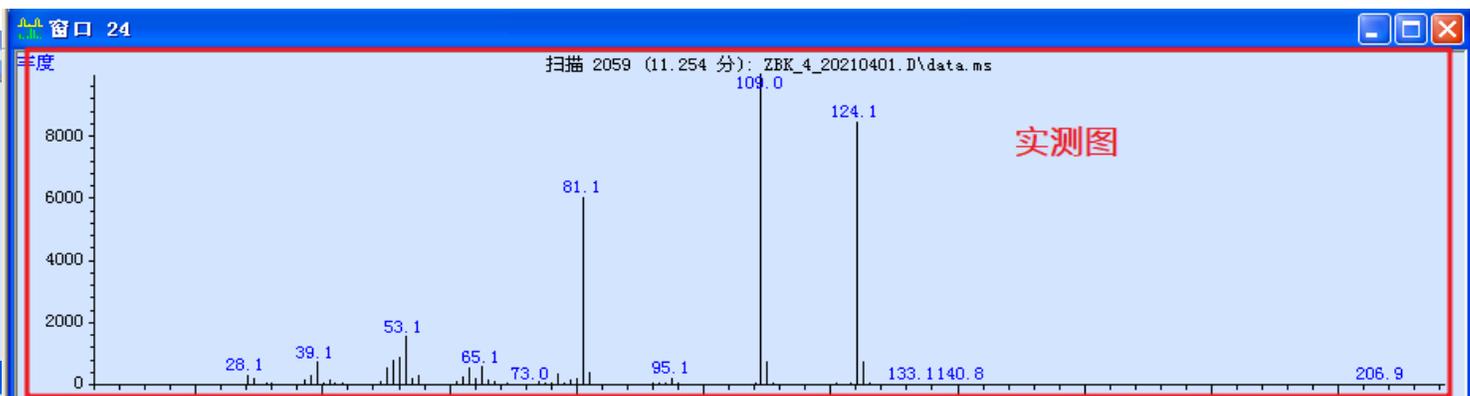
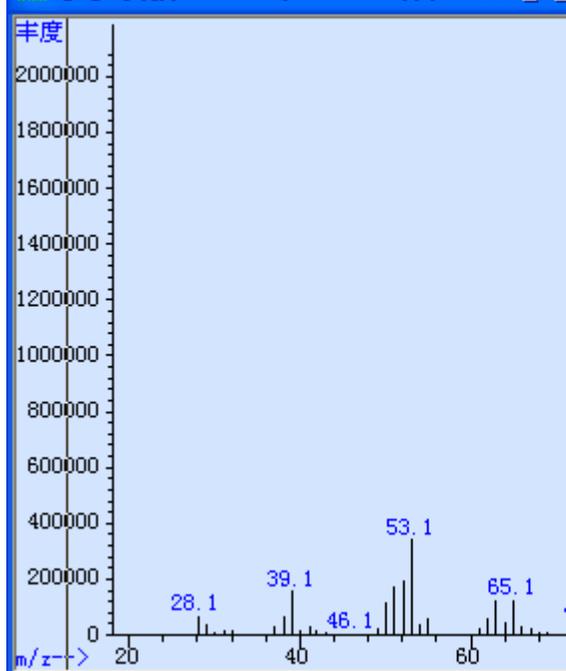
图7.23 醇溶液定性分析的色谱图

标准品: A·甲醇; B·乙醇; C·正丙醇; D·正丁醇; E·正戊醇

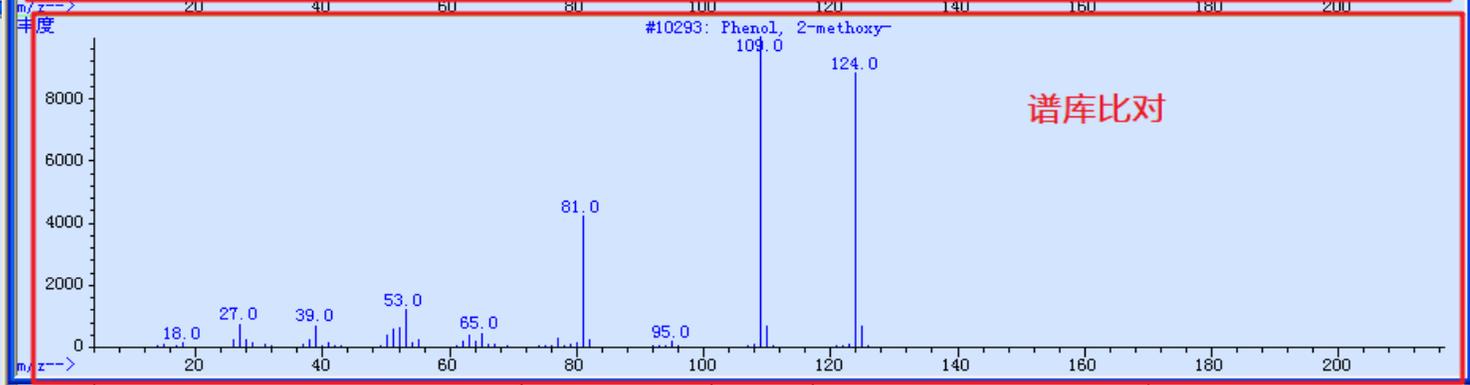
# 谱图鉴定



[1] 扫描 2059 (11.254 分): ZBK\_4



实测图



谱库比对

PBM 检索结果: C:\DATABASE\WIST08.L

等级	名称	参考 #	分...	质...
1	Phenol, 2-methoxy-	10293	124	97
2	Mequinol	10285	124	91
3	Phenol, 2-methoxy-	10290	124	91
4	Phenol, 2-methoxy-	10292	124	91
5	Mequinol	10286	124	90
6	Phenol, 2-methoxy-	10294	124	90

候选物排序





# 1.5 定量方法

- 面积归一化法
- 内标法
- 外标法



# 面积归一化法

➤ 各组分浓度以面积百分比表示。

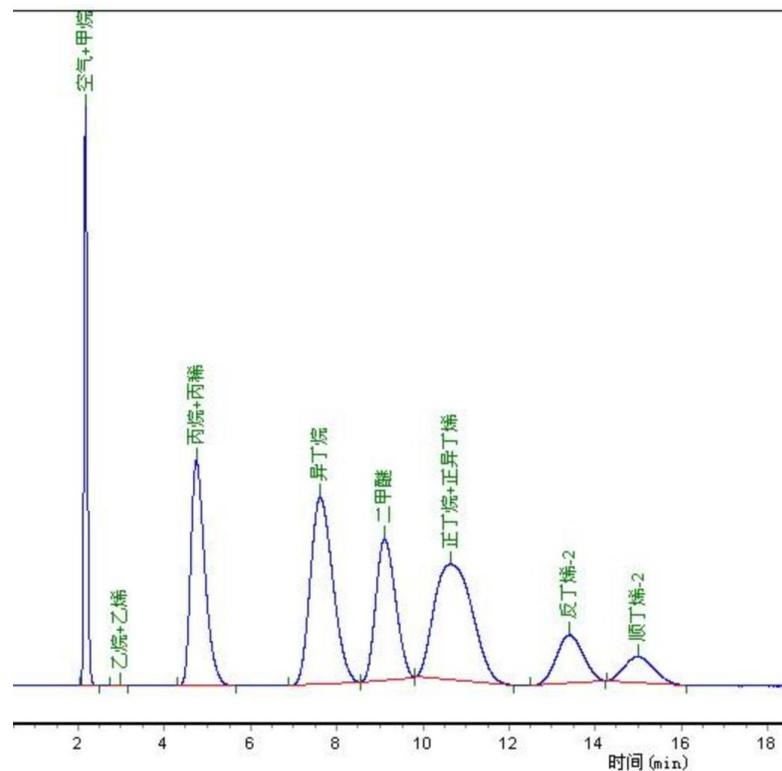
$$C_i\% = \frac{A_i}{\sum A_i} \times 100\%$$

应用条件：

- 1) 样品中所有组分都出峰。
- 2) 仪器对所有组分的响应灵敏度一样。

优点：

- 1) 无须校正因子，简便，快捷。
- 2) 对进样量无严格要求。





# 外标法

➤ 用待测组分的纯品配制成一系列浓度的标准品溶液建立标准曲线，获得回归方程。在完全相同的条件下，检测待测未知样本，根据待测组分的积分面积，利用标曲的回归方程计算出待测组分的含量。

$$C_i = A_i \times F_i$$

应用条件：

- 1) 进样量准确。
- 2) 仪器有良好的稳定性。

优点：

- 1) 无须所有组分都被检测到。
- 2) 只对待测组分做校正。



# 内标法

➤ 内标法是将一定量的纯物质作为内标物加到一定量的被分析样品混合物中，根据测试样和内标物的质量比及其相应的色谱峰面积之比及校正因子，来计算被测组分的含量。

$$C_i = \frac{A_i}{A_{IS}} \times \frac{F_i}{F_{IS}} \times C_{IS}$$

应用条件：

- 1) 必须在样本中加入内标物。

优点：

- 1) 进样量的准确性无严格要求。
- 2) 只对待测组分做校正。
- 3) 可去除样本处理及仪器响应波动引入的误差。

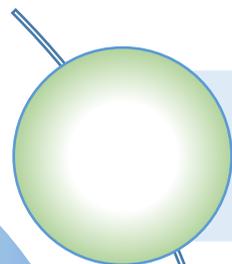
内标物的选择：

- 1) 与待测组分具有相似的性质结构，响应值接近。
- 2) 不与待测组分反应。
- 3) 和待测物质保留时间相近，能完全分离。

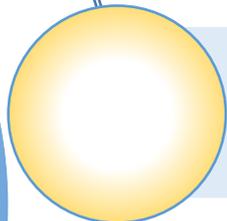




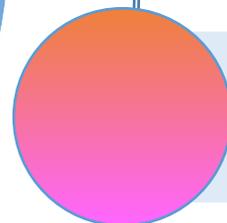
# 主要内容



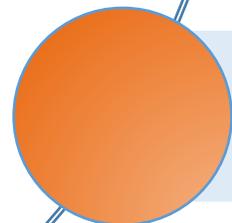
仪器简介与原理



样本前处理



应用方向



上机





## 二、样品前处理方法

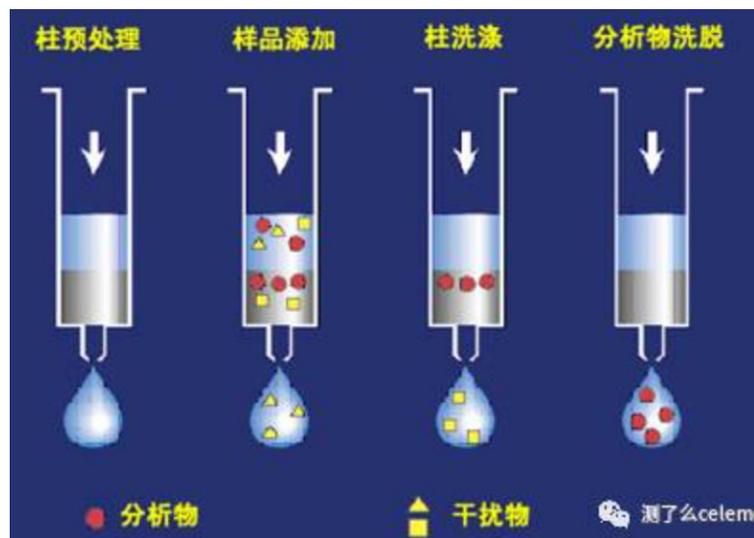
- 样品萃取
- 浓缩
- 衍生化
- 固相微萃取



## 2.1.1 萃取

利用混合物各组分在不同溶剂中溶解度不同来分离目标物的方法。

- 液相萃取
- 固相萃取 (SPE)



目的：提取目标物，去除大分子或难挥发的组分，盐等。



## 2.1.2 浓缩

- 真空冷冻旋转干燥
- 氮气流吹干

**目的：提高浓度，置换溶剂。**

**★ 样品中绝对不允许含有水。**



## 2.1.3 衍生化

通过化学反应将样品中难于分析检测的目标化合物定量的转化成另一易于分析检测的化合物，通过后者的分析检测可以对目标化合物进行定性和（或）定量分析。



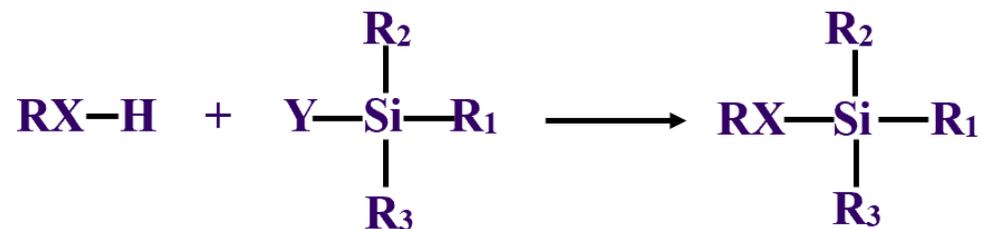
# 常用的衍生化方法

## ➤ 硅烷化衍生化 (羟基, 羧基, 胺基)

(1) BSTFA和BTA衍生化胺基和羟基

(2) MTBSTFA常用于药物、类固醇类检测

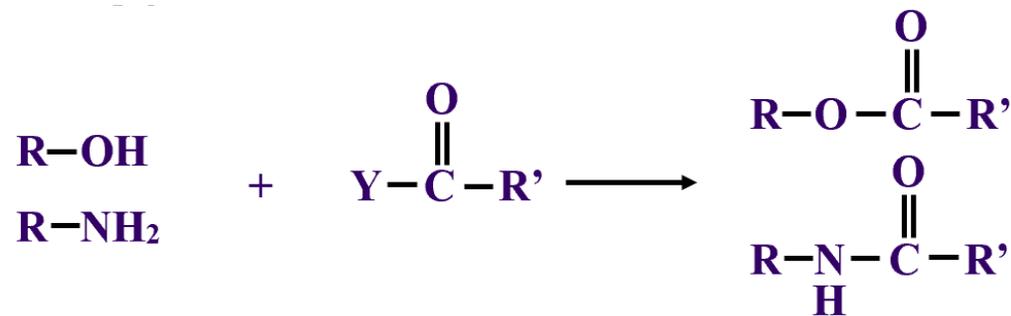
(3) MSTFA是最常用的硅烷化试剂



## ➤ 酰化衍生化 (胺基和羟基)

(1) 乙酰化

(2) 三氟乙酰化/五氟丙酰化/七氟丁酰化



## ➤ 烷基化衍生化 (羧基)





# 选择合适的衍生化方法

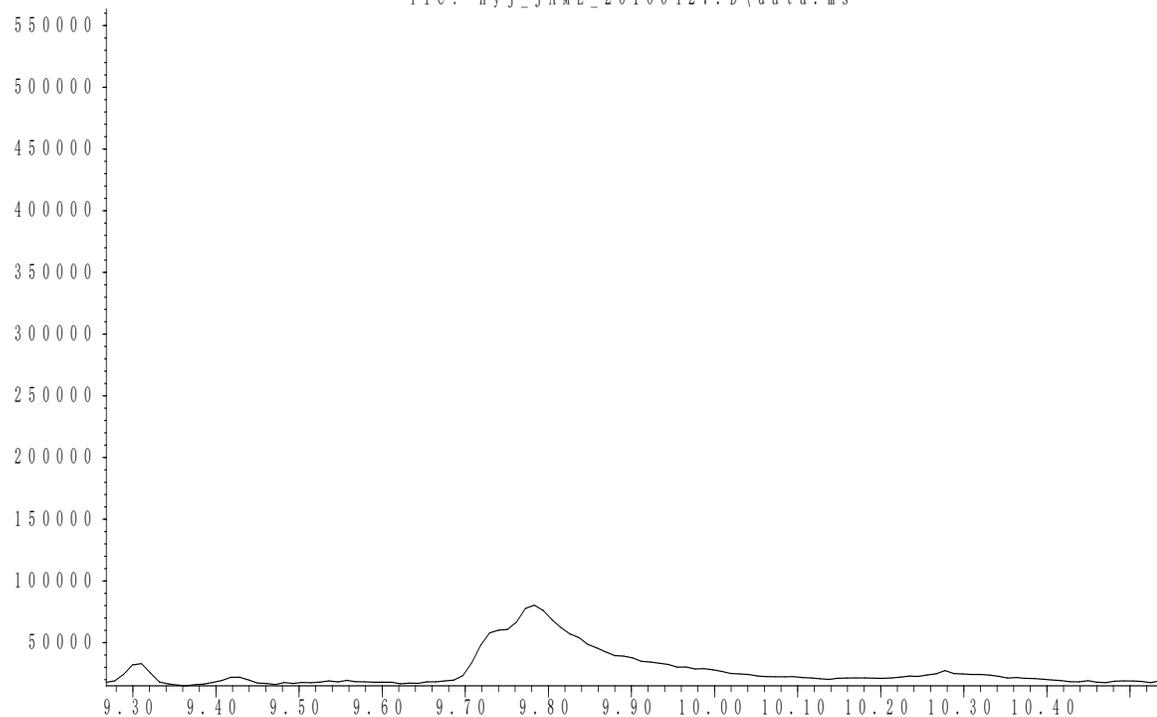
- 柱上衍生化有时会损害色谱柱
- 某些衍生化试剂需在氮气流中吹干除去，方法不当会有损失
- 衍生化反应不完全，会影响灵敏度
- 衍生化试剂选用不当，会使待测物分子量增加过多，接近或超过一些小型质谱检测器的质量范围



# 衍生化不当示例

丰度

TIC: hyj\_JAME\_20100427.D\data.ms

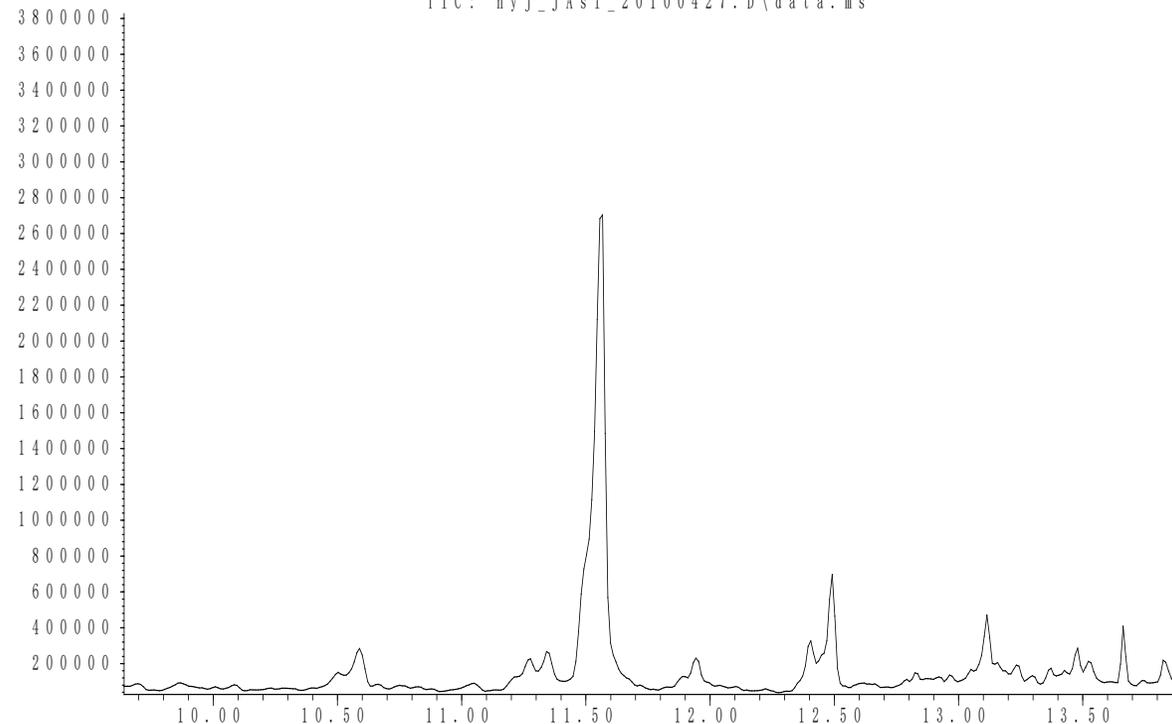


时间 -->

茉莉酸甲基化

丰度

TIC: hyj\_JAsi\_20100427.D\data.ms



时间 -->

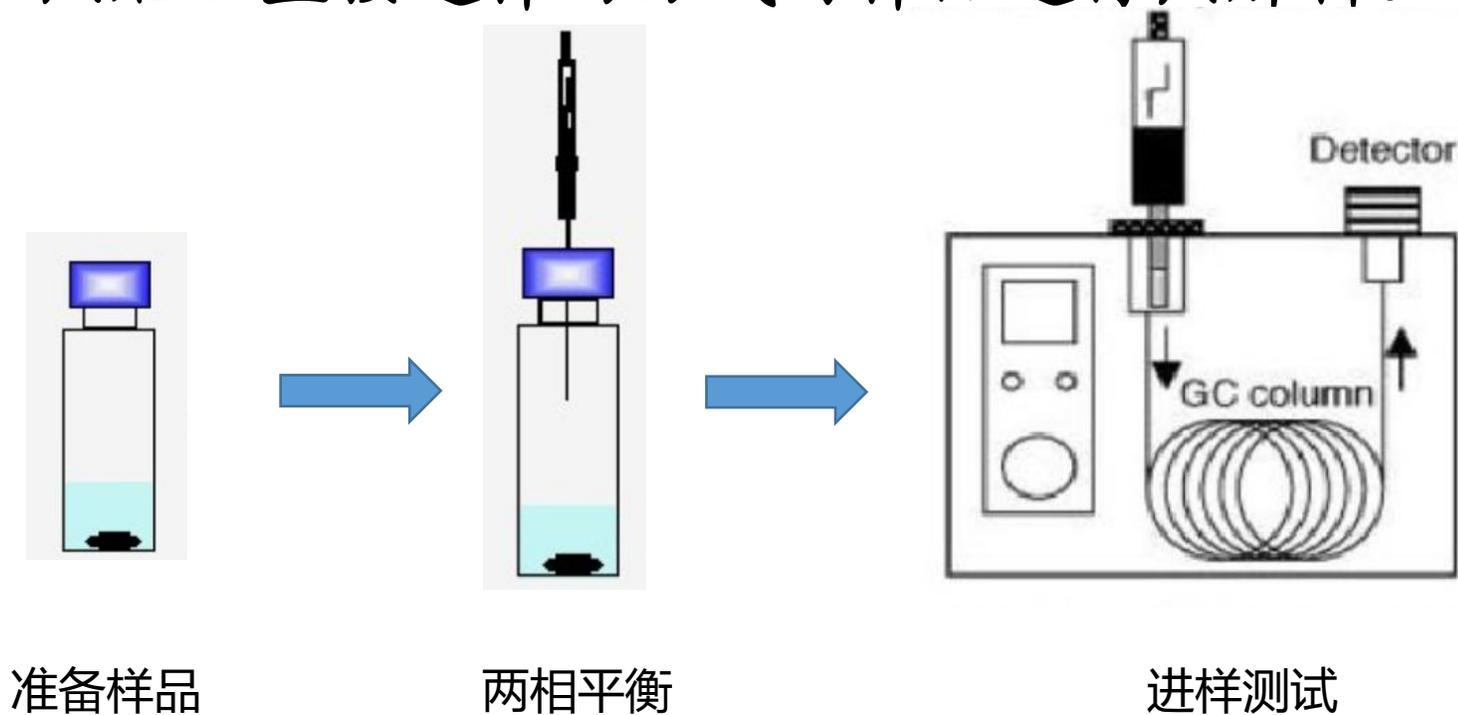
茉莉酸硅烷化





## 2.2 固相微萃取 (Solid phase microextraction)

- 以熔融石英光导纤维作为基体支持物，在其表面涂渍不同性质的高分子固定相薄层，利用“相似相溶”的原理，对待测物进行提取、富集，然后以直接进样的方式对样品进行热解析。



# SPME的影响因素



## ➤ 萃取温度

影响分配系数，萃取头吸附是放热反应，因此推荐低温萃取。

## ➤ 萃取时间

挥发性强的在较短的时间可以达到动态平衡，挥发性弱的需要较长时间。

搅拌：提高萃取效率，缩短萃取时间

# SPME的特点

- 一体化完成萃取、浓缩和进样。操作方便，快速高效。
- 无须任何有机溶剂，是真正意义上的固相萃取，避免对环境的二次污染。

## ➤ 缺点

定量检测精确度不高；  
可重复性不高。

### SPE

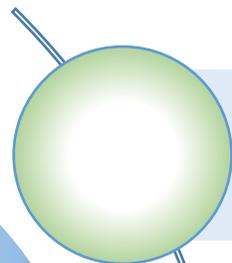


### SPME

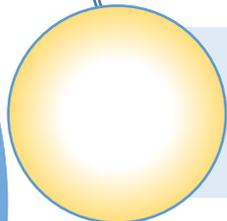




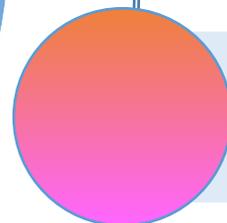
# 主要内容



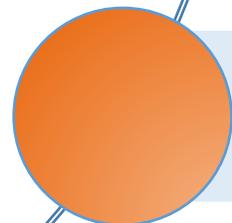
仪器简介与原理



样本前处理



应用方向



上机





## 三、应用方向

- **MSD不但可用于未知物的鉴定，还可用于痕量组分的定量。**
- **MSD已广泛应用与环境、农业、食品、生物、医药、法庭和工业等诸多科学领域。**





# 3.1 环境—水质检测

## 吹扫捕集 - 气相色谱质谱联用法检测水质中 58 种挥发性有机物

黄春丽, 金利, 郑丽君

(玉溪市质量技术监督综合检测中心, 云南 玉溪 653100)

**摘要:** 文章建立了水质中 58 种挥发性有机物的测定方法, 分析了本地区生活饮用水中 58 种挥发性有机物的含量水平。结果表明, 各目标有机物标准曲线的线性相关系数大于 0.99, 方法检出限为 0.2 ~ 0.81  $\mu\text{g/L}$ , 相对标准偏差为 3.13% ~ 10.3%, 平均回收率在 83.2% ~ 115.6%。方法的优点为: 稳定性好, 灵敏度高, 操作简便, 适用性强, 可以满足生活饮用水中 58 种挥发性有机物的测定。

**关键词:** 吹扫捕集 - 气相色谱质谱; 挥发性有机物

中图分类号: X832      文献标识码: A      文章编号: 2095-672X(2020)11-0060-03

DOI:10.16647/j.cnki.cn15-1369/X.2020.11.028

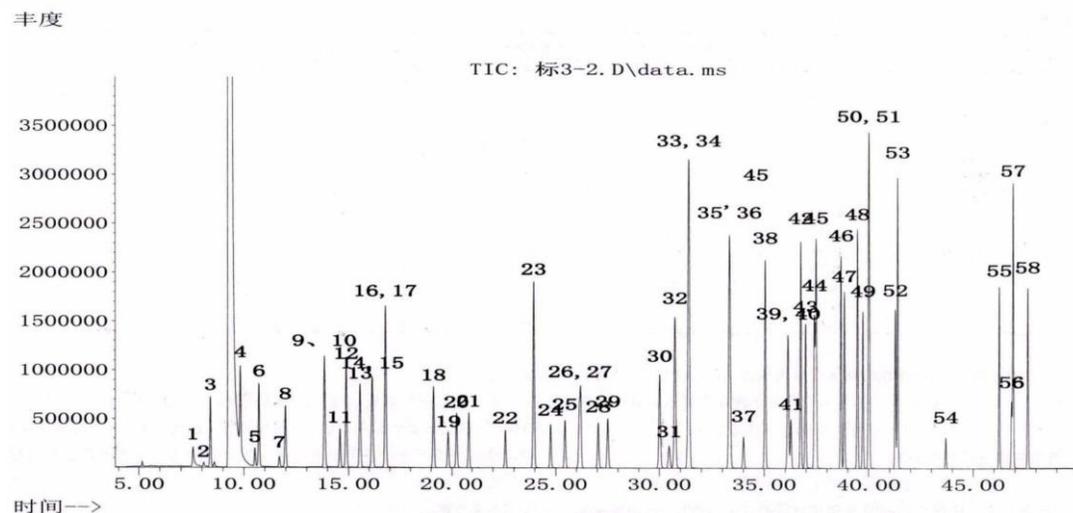


图 1 20 $\mu\text{g/L}$  混合标准溶液总离子流图



# 3.2 农业—饲料中有害物质检测

## 气相色谱质谱联用法测定饲料原料中 16 种多环芳烃

张艳红<sup>1,2,3</sup> 李德祥<sup>1,2,3</sup> 张凤桦<sup>1,2,3</sup> 邹昌健<sup>1,2,3</sup>

(四川威尔检测技术股份有限公司<sup>1</sup>, 成都 610041)

(通威股份有限公司水产畜禽营养与健康养殖农业农村部重点实验室<sup>2</sup>, 成都 610093)

(通威股份有限公司水产健康养殖四川省重点实验室<sup>3</sup>, 成都 610093)

**摘要** 本研究建立了一种气相色谱质谱联用法定量测定饲料原料中 16 种多环芳烃的方法。以 D<sub>10</sub>-苊、D<sub>12</sub>-蒾和 D<sub>12</sub>-苯并(a)蒾为内标物,对饲料原料中的多环芳烃提取、净化和定量方法进行优化。结果表明,在 2~1 000 ng/mL 范围内,16 种多环芳烃峰面积与内标物峰面积比值均与质量浓度比值呈良好线性关系,相关系数均大于 0.999;检出限和定量限分别为 0.6~1.2、1.8~3.6 μg/kg;在 2、5、20 μg/kg 三个加标水平下,回收率在 75.6%~94.8% 之间,相对标准偏差在 0.8%~11.9% 之间。该方法净化效果好、灵敏度高、重复性好,具有较强的复杂基质抗干扰能力,可用于批量饲料原料样品中的多环芳烃的定量测定。

**关键词** 超声提取 凝胶渗透色谱法 气相色谱质谱联用法 饲料原料 多环芳烃

中图分类号:O657.63 文献标识码:A 文章编号:1003-0174(2020)09-0150-08

表 4 16 种多环芳烃和同位素内标的保留时间及特征离子

No.	化合物	英文名称	保留时间/min	定量离子	定性离子	定量内标物
1	萘	naphthalene	3.65	128	64 102	
2	苊烯	acenaphthylene	5.61	152	63 76	
内标 1	D <sub>10</sub> -苊	Acenaphthene-d10	5.82	164	162 160	D <sub>10</sub> -苊
3	苊	acenaphthene	5.88	153	154 76	
4	苊	fluorene	6.79	166	82 139	
5	菲	phenanthrene	8.99	178	89 152	
6	蒽	anthracene	9.12	178	89 152	
7	荧蒽	fluoranthene	12.86	202	101 200	
8	芘	pyrene	13.66	202	101 200	D <sub>12</sub> -蒾
9	苯并(a)蒽	benzo(a)anthracene	18.70	228	114 226	
内标 2	D <sub>12</sub> -蒾	Chrysene-d12	18.79	240	236 120	
10	蒾	chrysene	18.87	228	114 226	
11	苯并(b)荧蒽	benzo(b)fluoranthene	23.29	252	126 250	
12	苯并(k)荧蒽	benzo(k)fluoranthene	23.39	252	126 250	
内标 3	D <sub>12</sub> -苯并(a)蒾	benzo(a)pyrene-d12	24.49	264	265 207	
13	苯并(a)蒾	benzo(a)pyrene	24.60	252	126 250	D <sub>12</sub> -苯并(a)蒾
14	茚并(1,2,3-c,d)蒾	indeno(1,2,3-cd)pyrene	29.46	276	138 277	
15	二苯并(a,h)蒽	dibenzo(a,h)anthracene	29.66	278	138 276	
16	苯并(g,h,i)蒾	benzo(g,h,i)perylene	30.51	276	138 277	





## 3.3 食品—白酒风味物质检测

### 顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用和气相色谱嗅闻技术 鉴定清香型白酒特征香气物质

冒德寿<sup>1</sup> 牛云蔚<sup>2</sup> 姚征民<sup>2</sup> 肖晴<sup>3</sup> 肖作兵<sup>2\*</sup> 马宁<sup>2</sup> 朱建才<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>云南中烟工业有限责任公司技术中心 昆明 650231

<sup>2</sup>上海应用技术大学 上海 201418

<sup>3</sup>上海海洋大学 上海 201306)

**摘要** 应用顶空固相微萃取-气相色谱质谱联用法(HS-SPME-GC-MS)对5种清香型白酒中挥发性成分进行鉴定。利用气相色谱嗅觉测量技术(GC-O)结合香气强度分析法(Osme)对其进行嗅闻分析,共得到72种香气化合物,对其中35种重要香气物质(Osme value $\geq 2$ )进行定量分析,并且结合香气活力值(OAV)筛选出OAV $\geq 1$ 的香气化合物共有18种。通过感官分析法对清香型白酒中的7种感官属性进行评分,利用单因素方差分析研究每种属性的差异性。采用偏最小二乘法(PLSR)探究白酒样品、感官评定结果以及重要香气物质之间的相关性。



# 食品—脂肪酸的检测

GB 5009.168—2016

## 食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定

### 1 范围

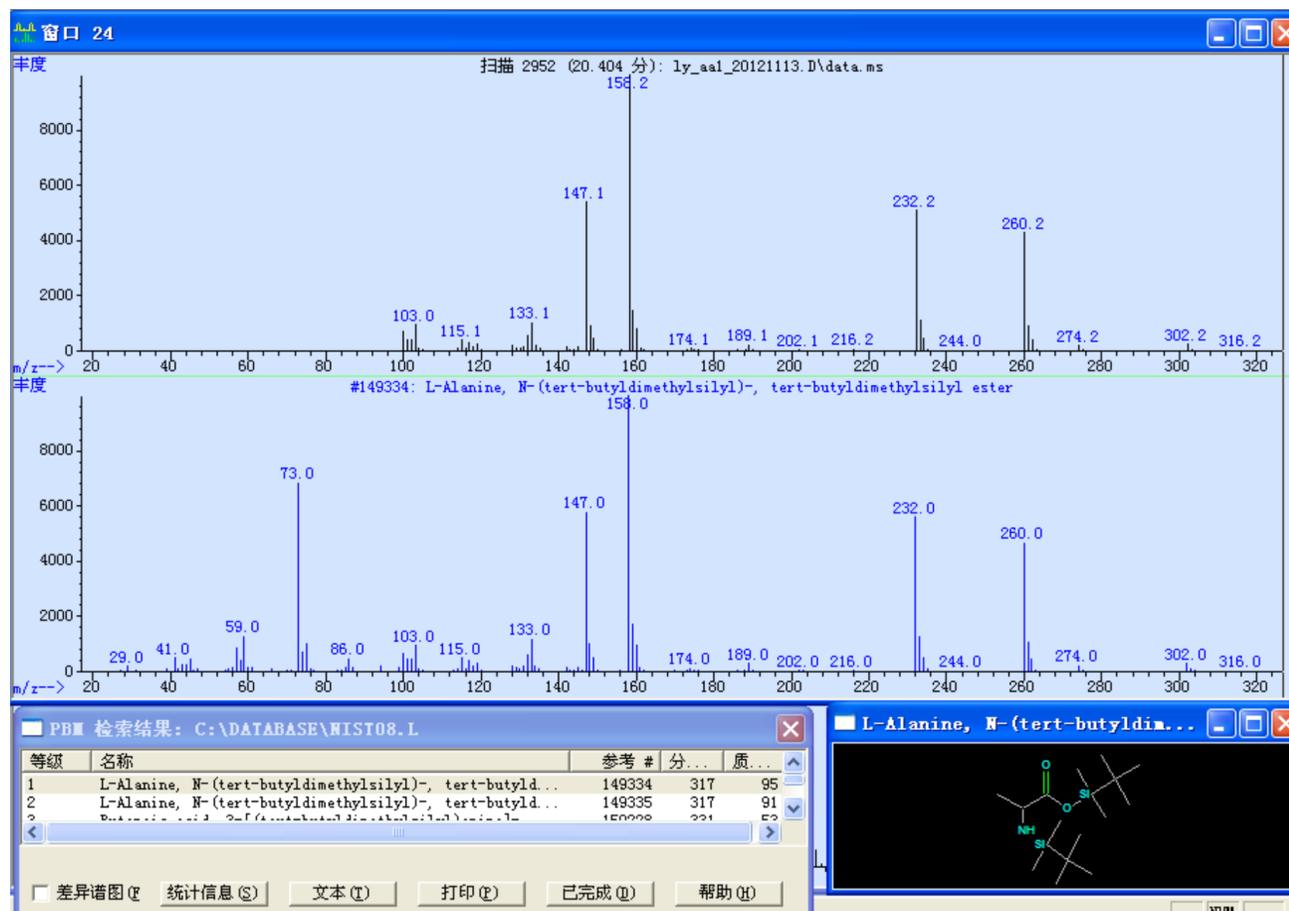
本标准规定了食品中脂肪酸含量的测定方法。

本标准适用于食品中总脂肪、饱和脂肪(酸)、不饱和脂肪(酸)的测定。

本标准中水解-提取法适用于食品中脂肪酸含量的测定；酯交换法适用于游离脂肪酸含量不大于2%的油脂样品的脂肪酸含量测定；乙酰氯-甲醇法适用于含水量小于5%的乳粉和无水奶油样品的脂肪酸含量测定。



# 3.4 生物—细胞中氨基酸的检测



- 1、收集肿瘤细胞（至少200万），PBS清洗两次，胰酶消化，含2% FBS的PBS终止，转移至15ml离心管中，3000 rpm X 5min离心（4℃），弃去上清；
- 2、3-5ml 预冷PBS重悬，稀释10X，进行细胞计数，取相同数量细胞，补加PBS配平离心，3000 rpm X 5min离心（4℃），弃去上清；
- 3、液氮与37℃水浴冻融三次，超声溶解不溶团块；
- 4、750ul 预冷80%甲醇裂解细胞，添加内标；
- 5、12000 rpm X 10min 离心（4℃），上清全部转移至新1.5ml Ep管中（沉淀裂解用于蛋白定量）；
- 7、真空干燥过夜（不加热）；
- 8、加入85ul 无水吡啶溶解干燥物，震荡超声；
- 9、加入25ul MTBSTFA硅烷化试剂；
- 10、混匀后，70℃金属浴，衍生化1h；
- 11、12000 rpm X 10min 离心（4℃）；
- 12、取上清100ul，稀释10倍，上机。



## 3.5 医药—新生儿遗传病筛查

### 气相色谱质谱联用技术在新生儿遗传代谢病筛查中的应用

岳小飞

(首都医科大学附属北京妇产医院, 北京妇幼保健院, 北京 100026)

**摘要:** 遗传代谢病 (IEM) 是一组由于基因突变引起的疾病, 一旦发病危害严重, 因此世界上许多国家都已开展新生儿筛查项目。气相色谱质谱技术 (GC-MS) 具有高分离, 高灵敏度、高特异性的定性定量特点, 是一种筛查IEM的有力工具。GC-MS在筛查IEM方面已被应用多年, 可以同时检测多种代谢疾病。本文将主要对气相色谱质谱技术的技术原理以及其在新生儿遗传代谢病筛查中的优势特点、应用情况作一介绍。

1、**有机酸尿症: 检测尿中的有机酸。**

2、**遗传性胆固醇合成缺陷性疾病: 检测血中的胆固醇类似物。**

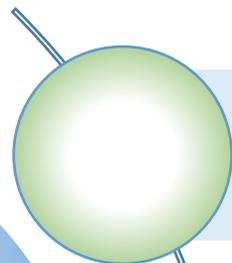
3、**遗传性脂类代谢病**

**X-连锁肾上腺脑白质营养不良: 检测血中的二十六烷酸和二十四烷酸和二十二烷酸。**

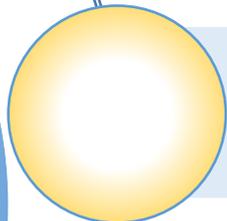




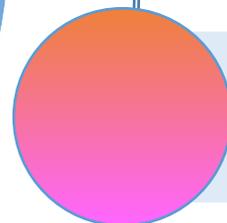
# 主要内容



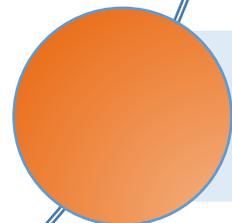
仪器简介与原理



样本前处理

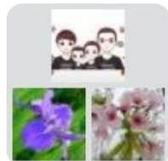


应用方向



上机





USTC气质联用交流群



该二维码7天内(4月19日前)有效，重新进入将更新

