

气相色谱-质谱中定量分析技术的应用

季 怡 萍

(中国科学院长春应用化学研究所 长春市人民大街 159 号 130022)

摘 要

本文对气相色谱-质谱(GCMS)定量分析技术及其在我国的应用进行了综述,较详细地阐述了峰匹配、质量色谱和选择离子检测 3 种定量分析方法与应用,共引用文献 39 篇。

关键词 气相色谱-质谱(GCMS), 峰匹配定量, 质量色谱定量, 选择离子检测定量。

中图分类号: O 657. 7⁺ 1; O 657. 62 文献标识码: B 文章编号: 100428138(2002)0220189206

1 前言

色谱-质谱(GCMS)分析是质谱学的一个分支,在我国已有 30 年的发展历史。该项技术在石油、化工、医药、环保、食品、农药、有机化学等领域获得了广泛的应用。GCMS 分析技术在未知物分析及结构鉴定中的应用已有大量文献报道,然而 GCMS 定量分析技术的应用报道相对较少。近些年来有了新的进展,在某些领域已成为成熟分析技术。本文对 GCMS 定量分析的 3 种方法及其在我国的应用作一简要概述。

2 GCMS 峰匹配定量

峰匹配定量法是大中型质谱仪的一个重要功能,要求实验人员具备相当熟练的操作技术,必须在样品待测组分的保留时间内将二个峰匹配好。具体做法是选择样品待测组分的某一特征离子质量与标准物质(PFK)碎片的参比质量相匹配。以二甲基亚硝胺(NDMA)为例,即用 NDMA 的分子离子质量 74.0480 与 PFK 的 68.9952 匹配,匹配值为 1.07323。在相应的保留时间内由示波器监视并记录最高峰高,峰匹配时切换速度为 1s,即匹配的二个峰在 2s 内交替出现。为防止仪器误差,实验中用标准工作液校正,同时进行相对测量。最后由示波器上观察到的标准工作液峰高与样品峰高计算出样品中 N-亚硝基化合物的含量。1980 年以来丁家华等人从事食品中的一类国际上公认的强致癌物质 N-亚硝基化合物的质谱研究。在该项研究中首先建立了食品中 N-亚硝基化合物的分析方法,该方法最小检出限为 0.5ppb。并比较了 4 种质谱定量方法的可靠性^[1]: (1) 低分辨电子轰击源单离子监测; (2) 高分辨电子轰击源峰匹配监测; (3) 低分辨化学源单离子监测; (4) 高分辨化学源峰匹配监测。他们先后测定了粮食、蔬菜、豆制品、酒类、肉制品 5 大类 17 种 193 份食品中 4 种 N-亚硝基化合物的含量^[2-6],其中在测定酒类(白酒、啤酒、葡萄酒等)中的 N-亚硝基化合物时,选用了高分辨电子轰击源峰匹配技术,对其结果进行了讨论和卫生学评价^[7-9]。1987 年他们又用此方法测定了环氧树脂涂料中环氧氯丙烷含量^[10]。除上述文献外对峰匹配定量方法的应用国内报道

联系人, 电话: (0431)5262237

作者简介: 季怡萍(1958—), 女, 长春市人, 中国科学院长春应用化学研究所工程师, 从事激光解吸质谱分析与研究工作。

收稿日期: 200120721

较少。

3 GCMS 总离子流质量色谱定量

总离子流质量色谱定量同色谱定量系同一原理,其优点在于 GCMS 联用,以色谱保留时间和质谱图双重因素对待测物质定性后再定量。1987 年刘学志等在 VG7070E 仪器上进行了人体尿液中有机酸的 GCMS 定量分析^[11],正常人尿中的有机酸有数百种,而与诊断有关的可被有机溶液萃取得到的有 30 多种,作者用 32 种标准有机酸混合物作标样,用对氯苯甲酸作内标,经 GCMS 分析后得重现性良好的标样总离子流色谱图,从而获得各有机酸色谱峰保留时间、峰面积和质谱图,根据保留时间和质谱图对各有机酸进行鉴定,再根据各有机酸色谱峰面积及内标物峰面积,计算各有机酸的响应因子。然后在同样实验条件下测得人体尿样的总离子流色谱图,得到尿样各有机酸色谱峰保留时间和峰面积,与标样总离子流色谱图中相应色谱峰对照,定量计算各有机酸含量。1990 年刘学志等用同样方法^[12]从人体血清、血浆、乳汁等液体中萃取出游离脂肪酸与酯化态脂肪酸混合物,经薄层层析分离甲酯化后,以十五烷酸作内标,进行 GCMS 总离子流质谱色谱定量测定,本方法最小检出量约为 50nmol。

4 GCMS 选择离子检测定量

选择离子检测是 GCMS 联用中一种高灵敏度、高选择性的检测技术,是混合物进行定量分析的一种常用方法,具有广泛的应用前景。选择能够表征该成分的一个质谱峰进行检测,叫做单离子检测(SD),选择多个质谱峰进行检测,叫做多离子检测(MD),单离子检测的灵敏度要高于多离子检测,多用于痕量成分的测定。单离子检测法尤其适合于复杂混合物某一痕量组分的测定。即使在 GC 条件下分离效果不够理想,应用单离子检测法也可以收到较好的效果。多离子检测法即全扫描工作方式,适应于未知化合物的定性和定量分析,而对目标化合物或目标类别化合物的寻找应采用多离子检测法。

5 GCMS 选择离子检测方法的应用实例

5.1 药物分析

研究人员发展了许多检测蛋白同化激素类兴奋剂药物的方法,其中 GCMS 联用选择离子检测方法是常用的方法之一。采用该方法大大提高了对样品初筛和寻找代谢物的能力。张长久等人于 20 世纪 90 年代中期报道了单离子检测法和多离子检测法在兴奋剂检测中的应用,他们介绍了用单离子检测法完成国际奥委会规定的禁用药物及其代谢物的筛选,指出该方法具有很大优越性,不仅灵敏度高、定量准确,而且具有别的方法无法比拟的优点即抗干扰性。一般来说,只要限制在一定时间窗口内,选择适合的特征离子,就可以在很复杂的混合物中对其中一种或多种组分进行准确定量^[13]。运用选择离子定量作为内源性甾体双氢睾酮和睾酮的检测方法。通过选择离子 m/z 423 的积分面积为定量测定睾酮和表睾的方法,加入 3 α -氘代睾酮和 3 α -氘代表睾作为内标,氘代内标选择的离子为 m/z 432。实验表明,该方法是一种测定尿中药物含量的理想方法^[14]。1998 年沈敏等人运用多离子检测技术对尿中 MDMA 及代谢物进行了定量分析,尿液以 42-苯基丁胺为内标,选择干扰较小的 m/z 162, m/z 164, m/z 191(内标)作为选择离子进行多离子监测,被测物的特征离子和内标特征离子的峰面积比与浓度存在线性关系($r > 0.998$),方法最小检出量为 2ng/mL,添加回收率大于 85%。为 MDMA 滥用者的尿样鉴定提供了方法^[15]。1999 年王杰等人应用了多离子检测(MD)技术,建立了人尿中低浓度的检测方法,应用该方法成功地检测了奥林匹克运动委员会

(TOC) 考核尿样中低浓度 (2 ng/mL) 的康力龙、克伦特罗、5B24 羟基甲睾, 这三种甾体激素类药物的特征离子, 它们分别出现在保留时间不同的区段, 充分证明了定性结果的可靠^[16]。

5.2 激素分析

20 世纪 80 年代初杨朝明等人用单离子检测法开展了昆虫性外激素的研究工作^[17]。采用性外激素来诱杀害虫, 被称为第三代农药。昆虫性外激素由于活性组分在虫体内含量极微, 虽经一系列净化手段仍存在大量杂质难以完全分离, 如果应用单离子检测法定量, 即使待测组分与其他组分在色谱上难以分离, 也可以获得良好的信噪比。这类化合物有一共同的裂解方式, 即经双重排产生 m/z 60 的特征离子碎片, 作者选用这一离子应用单离子检测法在较短时间内, 以较少的样品量先后完成了甘蔗、黄螟和玉米螟性外激素的测定。

己烯雌酚 (DES) 和双烯雌酚 (DD) 是人工合成的雌性激素, 对动物有明显的生长和催肥作用, 但由于其具有致癌活性, 许多国家和地区规定在禽肉等食品中不准检出其残留物。1988 年杨英华等人在出口鸡肉中检出了色谱保留值相似于 DES 和 DI 的物质, 为了保证检测结果的可靠性采用单离子检测法检定了鸡肉中 DES 和 DI 的残留^[18]。同时选用 2 种不同的衍生物方法, 即三氟乙酸酐和碘化三甲基苯胺衍生化, 大大提高了方法的灵敏度。方法回收率为 68.3%—90.4%, 最低检出限为 0.5 ng。1993 年喻雨琴等又用多离子检测法测定肉类食品中 DES、Zeranol、Trenbolone、Dianabol 4 种激素残留^[19], 其中 Zeranol 为一种动物生长促进剂, Trenbolone 和 Dianabol 都是雄性激素用作肉牛的增重剂。按其性质将 4 种激素分为类固醇和非类固醇 2 类, 并作了不同的前处理, 然后分别注入 GCMS, 以柱上衍生多离子检测法内标定量检测, 方法回收率为 86.3%—93.6%, 最小检出限为 0.2 ppb。

5.3 农残分析

色谱灵敏度高并有多种选择性检测器供选择, 在农残分析中一直起着重要作用。但常用农药种类较多, 在多残留分析中则必须按农药性质选用不同的检测器, 因此增加了分析过程的复杂程度, 对于检测未知农药更为困难。质谱仪可作为通用型检测器, 但不足的是选择性差、灵敏度低, 采用单离子检测法可提高灵敏度, 增强选择性。1989 年李重九用单离子检测法测定了 7 种杀虫杀菌剂在黄瓜中的残留^[20]。同年程光荣等人用单离子检测法同时测定了出口玉米、牛肉中敌敌畏、二嗪农、倍硫磷、马拉硫磷的残留量^[21], 方法回收率为 76.9%—97.6%, 相对标准偏差为 6.0%—9.9%。

1989 年陈华君等用多离子检测法测定了植物中吲哚-3-乙酸含量^[22]。吲哚-3-乙酸为植物生长素 (IAA), 常用色谱测定, 国际上较先进的生长素测定采用 GCMS 法。文中选用氘代吲哚-3-乙酸 (D5-IAA) 作内标, 选用 m/z 202 和 m/z 207 为检测的特征离子。1993 年他们又测定了多氯二苯并二噁英和多氯二苯呋喃, 这 2 种化合物共有 210 种异构体, 因此在分析上有一定难度。采用了 GCMS 的多组单离子检测技术, 分别跨越 2 组进行检测, 使各种取代的同分异构均能一次被检出, 得到了满意的结果^[23]。1992 年杨英华等人用单离子检测法测定了出口蜂蜜中杀虫脒残留量^[24]。杀虫脒是一种杀虫杀螨剂, 由于其较强的毒性 FAO/WHO 食品法典委员会对食品杀虫脒规定了“法规”限量^[25]。该方法可满足出口检验的要求, 方法回收率在 85.0%—94.0% 之间, 相对标准偏差为 10.1%。最小检出限为 10 ppb, 文中选用 m/z 196 作为检测离子。

5.4 食品与环境样品的分析

1984 年陈代线等人测定了水中三氯乙烯含量^[26], 方法回收率为 94.0%, 文中选用 m/z 130 为检测离子。1988 年叶汝求等人测定了水中污染物^[27], 对正构烷烃、多环芳烃、六六六等用内标定量。

1992 年邱月明等用单离子检测法分析了土壤中 ppt 级多氯二苯并二噁英^[28], 选用 m/z 230、 m/z 322 为检测离子, 方法简便, 净化效率和回收率高。乔世俊等人采用了毛细管色谱-质谱-多离

子检测法测定了土壤中的 2, 3, 7, 8-TCDD, 灵敏度可达 10^{-12} 级^[29]。

1992 年程志晴等用单离子检测法直接分析了酒中游离脂肪酸^[30], 选择脂肪酸的基峰离子 m/z 60 进行检测, 测定了茅台酒、珍酒、鸭溪窖酒中 12 种游离脂肪酸。1984 年杨英华等用单离子检测法测定酒中甲醇和杂醇油含量^[31]。并将此方法与气相色谱法作了统计学比较, 结果表明二者无显著差异。

5.5 其他方面的分析

1986 年丁家治等采用硅醚化反应和添加内标的方法用多离子检测法成功地测定了甲基丙烯酸及甲基丙烯酸甲酯单体中阻聚剂对苯二酚的含量^[32], 检测极限约为 20 ng/öL, 相对误差 < 10%, 采用萘作内标选用苯二酚(硅醚化后) m/z 239、对羟基苯甲醚 m/z 181 (M 215) 作为检测离子。

1987 年胡佩丰等用多离子检测法测定了血清中胆汁酸^[33]。血清中胆汁酸分析权威性方法是 GC/MS 联用法, 通常用同位素标记物作内标。该研究适用于系统的胆汁酸分析, 方法简便易行。血清中胆汁酸经过固相提取、净化, 再经 PH/PLH 220 柱进行分组, 结合型胆汁酸在高温高压下水解为游离型甲酯化后的衍生物经 GC/MS 分析。文中设三个检测通道以检测 3 个胆汁酸及二氘标记内标产生的共 5 个特征离子, 第一通道检测 m/z 260, m/z 258, 第二通道检测 m/z 255, m/z 253, 第三通道检测 m/z 370。1991 年程志晴等用多离子检测法检测了植物中及其副产物中的 A2 生育酚^[34], 选用基峰 m/z 165 和分子离子峰 m/z 430 为检测离子, 外标定量。

1994 年王宗廉等人采用多离子检测技术, 样品不需要分离, 用四极质谱直接进样分析重烷基苯中烷基苯碳数分布, 并与气相色谱分析结果相一致, 该方法简便重复性好, 收到了满意的效果^[35]。1994 年赵红等人应用多离子检测法实现了对我国高成熟原油的检测, 不仅检出了痕量的单金刚烷、双金刚烷系列化合物, 尚检出了叁金刚烷类化合物^[36]。单金刚烷类的特征离子: m/z 136, m/z 135, m/z 149, m/z 163, m/z 177, m/z 191; 双金刚烷类的特征离子: m/z 188, m/z 187, m/z 201, m/z 215; 叁金刚烷类的特征离子: m/z 240, m/z 239, m/z 253。

2000 年宋崇林等人使用单离子检测的方法选择性地检测柴油机排气中的多环芳香烃, 采用 14 种多环芳香烃混合标准样品绘制校准曲线, 以外标法对柴油机排气微粒中的 PAHs 进行定量分析, 重复性好, 相对标准偏差低于 12% ($n=6$), 检测极限为 3.5—7.0 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 样品的回收率在 79%—89% 范围内, 认为选择特定离子应从抗干扰和提高灵敏度两方面考虑即特定离子具备以下两点: 一是反映该物质特征而多数其他类物质不具备, 以便避免其他离子的干扰; 二是质谱图中具有该离子的强度高, 易于检测和提高灵敏度。该方法用于柴油机排气微粒中多环芳香烃排放量的测定取得了满意的效果^[37]。2000 年唐成国应用单离子检测的方法测定了葱醌工作液中的 22EAQ 和 22ETHAQ, 考察了内标校准曲线的定量分析结果, 讨论了重复性和回收率, 结果表明该方法优于 GC 和 HPLC^[38]。2000 年刘俊亭等人对尿中二氯苯异构体用选择离子监测, m/z 146 (二氯苯异构体) 和 m/z 116 (内标) 两分子离子峰。尿中检测浓度可达 0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$, 用此方法灵敏而准确地测定尿中二氯苯的 3 种异构体^[39]。

6 结语

综上所述, GC/MS 选择离子检测方法定量分析应用更广泛、更实用, 而且在不同产地不同型号的仪器上都有应用。如美国 Finnigan TSQ 270, Finnigan MAT 800, HP25988, HP5970, 日本 JMS D300, 英国 VG27070E 等仪器上都可以进行 SD、MD 的检测, 自 20 世纪 80 年代以来 GC/MS 定量分析的文献明显增多, 这说明 GC/MS 定量分析已引起人们的广泛关注。随着 GC/MS 仪器的逐渐普及和研究工作的不断深入, 作者深信定量分析技术的应用会越来越广泛, 并且在自然科学的研

究中必将发挥更大的作用。

参考文献

- [1] 杨英华,姜龙飞,苏立中[C]. 第二届有机质谱学术会议论文集, 1982
- [2] 杨英华,丁家华,宋洁槐. 色谱-质谱技术测定蔬菜、粮食中四种挥发性N₂亚硝基化合物含量[J]. 分析测试通报, 1988, 7(5): 37—39.
- [3] 杨英华,丁家华,宋洁槐. 质谱峰匹配法测定肉制品中四种挥发性N₂亚硝基化合物含量[J]. 质谱学报, 1988, 9(2): 56—60
- [4] 杨英华,丁家华,宋洁槐. 色谱-质谱峰匹配技术测定一些酒类样品中四种挥发性N₂亚硝基化合物[J]. 质谱学报, 1992, 13(2): 73—78
- [5] 杨英华,丁家华,宋洁槐. 美国第36届和太平洋沿岸国家国际质谱学术会议论文集, 1988
- [6] 杨英华,丁家华,宋洁槐. 北京国际分析测试报告会论文集, 1991
- [7] 宋洁槐,丁家华,杨英华. 猪肉馅腐败过程中N₂亚硝基化合物生成研究[J]. 卫生研究, 1988, 17(3): 34—36
- [8] 宋洁槐,丁家华,杨英华. 冻鲜猪肉及其制品中N₂亚硝基化合物调查[J]. 中华预防医学, 1989, 23(3): 180—181
- [9] 宋洁槐,丁家华,杨英华. 中国公共卫生学报, 1990, 9(5).
- [10] 杨英华,朱妙英,姜云飞. 北京国际分析测试报告会论文集, 1987
- [11] 刘学志,刘玲,苗靖. 人体尿液中有机酸的GC-MS定量分析[J]. 质谱学报, 1987, 8(4): 64—69.
- [12] 刘学志,候卫,苗靖. 人体体液中游离脂肪酸谱的定量测定[J]. 分析化学, 1990, 18(8): 705—709.
- [13] 张长久,崔凯荣,徐友宣. 色质联用选择离子检测法在兴奋剂检测中的应用[J]. 质谱学报, 1992, 13(3): 33—43
- [14] 张长久,张亦中,刘欣. 尿中双氢睾酮代谢物的质谱研究[J]. 质谱学报, 1993, 14(4): 52—56
- [15] 沈敏,沈保华,黄仲杰. 运用GC-MS(EI-PCD)技术鉴定尿中MDMA及其代谢物[J]. 质谱学报, 1998, 19(2): 65—69
- [16] 王杰,蔡耘,桑志红. 气相色谱与高分辨质谱联用(GC-HRMS)检测人尿中低浓度的甾体兴奋剂[J]. 质谱学报, 1999, 20(2): 17—21.
- [17] 杨朝明,黄尚仁. 在色谱-质谱联用中单离子检测法的应用[J]. 质谱, 1980, 1: 72—74
- [18] 杨英华,刘丽. 色谱和质谱单离子监视法测定出口肉食品中雌性激素的方法研究[J]. 质谱学报, 1991, 12(1): 64—69.
- [19] 喻雨琴,杨捷,左景善. GC-MS法测定肉类食品中残留激素DES, Zeranone, Trenbolone的研究[J]. 分析测试学报, 1993, 12(2): 83—87.
- [20] 李重九,刘建波,费菁. M.D. 用于农药多残留分析的探讨[C]. 全国有机质谱学术会议论文集(上册), 1989, E23
- [21] 程光荣,曹淑兰,张刚. 用单离子检测法检验出口玉米冻牛肉中某些农药残留量的方法研究[J]. 质谱学报, 1989, 10(2): 22—25.
- [22] 陈华君,王天华,金幼菊. 用GC-MS方法测定植物中咪唑乙酰胺含量的研究[C]. 全国有机质谱学术会议论文集(上册), 1989, D215.
- [23] 陈华君,王天华,金幼菊. 用GC-MS的多组SIM技术测定PCDD和PCDF的方法研究[C]. 第七次全国有机质谱学术会议论文集, 1993, P47—48
- [24] 杨英华,于艳秋,程光荣. 质谱单离子检测法测定出口蜂蜜中杀虫脒残留量[J]. 现代商检科技, 1992, 2(2).
- [25] 刘永荣,郑子厚编. 国际农药残留限量手册[M]. 35
- [26] 陈代线,王维国,乔志清. 用GC-MS法测定地下水中的三氯乙烯[J]. 质谱学杂志, 1984, 5(4): 23—30
- [27] 叶汝求,白健,彭洪俊. 毛细管气相色谱-离子阱检测器分析测定雨水中的有机污染物[J]. 质谱学报, 1988, 9(4): 76—82
- [28] 邱月明,欧庆瑜,俞乐. SIM-MS测定土样中ppt级多氯二苯并二噁英[J]. 分析测试通报, 1992, 11(2): 67—70
- [29] 乔世俊. 采用毛细管气相色谱-质谱-多离子检测法测定土壤中的2,3,7,8-TCDD[C]. 第六次全国有机质谱学术会议论文集, 1991.
- [30] 程志晴,吴惠勤. GC-MS-SIM法快速测定酒中的游离脂肪酸[J]. 分析测试通报, 1992, 11(6): 5—8
- [31] 杨英华,苏立中,姜云飞. 应用单离子检测法测定酒中甲醇和高级醇含量[J]. 质谱学杂志, 1984, 5(2): 33—38
- [32] 丁家治,邱望凯,陈珊珊. 甲基丙烯酸单体中对苯二酚的多离子定量测定法[J]. 质谱学报, 1986, 7(3): 54—60
- [33] 胡佩丰,卢涌泉. 血清中胆汁酸的气-质联用定量多离子检测法[J]. 质谱学报, 1987, 8(2): 1—7.
- [34] 程志晴,吴惠勤,张桂芹. SIM法快速测定植物油中的A₂生育酚[J]. 分析测试通报, 1991, 10(5): 7—10
- [35] 王宗廉,任景雁. 多离子检测法测定重烷基苯碳数分布[J]. 质谱学报, 1994, 15(4): 72—74

- [36] 赵红, 王占生. 用 M D GCMS 检测原油和烃源岩提取物中金刚烷类化合物及其地质意义探索[J]. 质谱学报, 1994, 15(4): 43—48
- [37] 宋崇林, 范国梁, 涂险峰. 色谱质谱中的选择离子监测方式定量分析柴油机排气微粒中多环芳香烃[J]. 分析化学, 2000, 28(9): 1121—1125
- [38] 唐成国. 气相色谱-质谱联用分析葱醌工作液的组成[J]. 化学研究与应用, 2000, 12(3): 278—281
- [39] 刘俊亭, 原建二, 柏村征一. 尿中二氯苯异构体的气相色谱-质谱法分析[J]. 分析化学, 2000, 28(4): 443—445

Applications of Gas Chromatography-Mass Spectrometric Quantitative Analysis Technique

Ji YiPing

(Changchun Institute of Applied Chemistry, The Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, P. R. China)

Abstract

Quantitative GCMS analysis method and its applications are reviewed. Three quantitative methods of peak matching, mass chromatography, selective ion detection and their applications are elaborated. Forty-one literatures are cited.

Key words Gas Chromatography-Mass Spectrometry, Peak Matching Quantity, Mass Chromatography Quantity, Selective Ion Detection Quantity.