

国家科技基础条件平台建设项目
“全国分析检测人员能力培训与考核体系”成果

全国分析检测人员能力培训委员会(NTC)系列培训教材

ATC 016.2

液相色谱质谱联用技术

汪聪慧 主编



中国质检出版社
中国标准出版社



全国分析检测人员能力培训委员会(NTC)系列培训教材

ATC 016. 2

液相色谱质谱联用技术

汪聪慧 主编

中国质检出版社

中国标准出版社

北京

图书在版编目(CIP)数据

ATC 016.2 液相色谱质谱联用技术/汪聪慧主编.

—北京:中国标准出版社,2015.8

ISBN 978-7-5066-7890-2

I. ①A… II. ①汪… III. ①液相色谱—色谱—
质谱—技术培训—教材 IV. ①0657.63

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 083496 号



中国质检出版社 出版发行
中国标准出版社

北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)

北京市西城区三里河北街 16 号(100045)

网址: www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 787×1092 1/16 印张 20.25 字数 460 千字

2015 年 8 月第一版 2015 年 8 月第一次印刷

*

定价 65.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68510107

全国分析检测人员能力培训委员会(NTC)

主任 吴波尔

副主任 刘卓慧 吴学梯 张 泽

委员 (按姓氏笔画排序)

马晋并 方 向 王海舟 乔 东 庄乾坤

许增德 宋桂兰 张渝英 李文龙 葛红梅

全国分析检测人员能力培训委员会(NTC)

系列培训教材编审委员会

总 编 审 张渝英

副总编审 王海舟 乔 东

常务编审 符 斌 佟艳春

编 审 (按姓氏笔画排序)

马燕文	马振珠	于世林	邓 勃	邓星临	邓志威
王光辉	王明海	王春华	王 滨	王福生	王 蓬
尹 明	田 玲	刘虎威	刘国詮	刘丽东	刘咸德
刘 正	刘 英	刘卫平	刘 挺	江超华	再帕尔
吕 杨	吴牟天	吴惠勤	吴淑琪	吴国平	冯先进
孙素琴	孙泽明	齐美玲	朱衍勇	朱跃进	朱林茂
朱生慧	朱锦艳	朱 斌	汪正范	汪聪慧	李 冰
李小佳	李丛笑	李红梅	李华昌	李重九	李继康
李寅彦	李国会	李万春	李美玲	沈学静	沈建忠
牟世芬	杨啸涛	杨春晟	邹汉法	罗立强	罗倩华
张 中	张 庄	张之果	张学敏	张锦茂	张伟光
张克顺	张东生	张夕虎	张慧贤	林崇熙	谢孟峡
者冬梅	周志恒	周巍松	周艳明	郑国经	卓尚军
屈文俊	贾云海	柯以侃	柯瑞华	柯晓涛	陈江韩
陈吉文	胡国栋	胡净宇	胡洛翡	胡晓燕	赵 雷
徐友宣	徐本平	徐经纬	高介平	高宏斌	高怡斐
唐凌天	谭晓东	郭永权	侯红霞	崔秋红	蒋士强
蒋仁贵	蒋子江	梁新帮	陶 琨	黄业茹	傅若农
詹秀春	蔡文河	臧慕文	魏若奇		

《全国分析检测人员能力培训委员会(NTC)系列培训教材》

序

分析测试技术作为科技创新的技术基础、国民经济发展和国际贸易的技术支撑,环境保护和人类健康的技术保障,正受到越来越多的关注,而分析测试体系的建设在科技进步和经济发展中正发挥着举足轻重的作用。国家科技部从1999年以来先后组织建设并形成了分析测试方法体系、全国检测资源共享平台,大型仪器共享平台,标准物质体系以及应急分析测试体系等分析测试相关的基础条件平台。2005年在科技基础条件平台建设中,又启动了《机制与人才队伍建设——全国分析测试人员分析测试技术能力考核确认与培训系统的建立与实施》的项目,从而形成了由“人员、方法、仪器、标准物质、资源”等组成的完整系统的分析测试平台体系。

为加强分析检测人员队伍的建设,确保分析检测人员技术能力的培训与考核工作的科学性、规范性、系统性和持续性,完成国家科技基础条件平台建设的相关任务,中华人民共和国科学技术部、国家认证认可监督管理委员会等部门共同推动成立了“全国分析检测人员能力培训委员会”(简称“NTC”),负责对分析检测人员技术能力的培训与考核工作。

NTC的宗旨是为提高我国分析检测人员整体的检测能力和水平,促进分析检测结果的准确性和可靠性,为国家科技进步、公共安全、经济社会又好又快发展服务。

NTC依据国家相关法律法规,按照分析检测的相关国际和国家标准、规范等开展培训工作,遵循客观公正、科学规范的工作原则开展考核工作。

NTC的分析检测技术的分类系以通用分析测试技术为基点,兼顾专用技术,根据相关学科分类标准及分析检测技术设备原理划分,

形成每项技术分别覆盖材料、环境资源、食品以及能源等领域化学成分和性能表征的分析测试技术能力分类系统,首批共纳入了 58 项技术。

每项分析检测技术由四个技术部分组成,即分析检测技术基础、仪器与操作技术、标准方法与应用以及数据处理。

通过相关技术四个部分考核的技术人员将由全国分析检测人员能力培训委员会颁发分析检测人员技术能力证书。证书是对分析检测人员具备相关分析检测技术(方法)或相关部分的技术能力的承认,可以胜任相关分析检测岗位的检测工作;该证书可作为计量认证、实验室认可、相关认证认可以及大型仪器共用共享的能力证明。

为规范各项技术考核基本要求,委员会正式发布了各项技术的考核培训大纲。为便于培训教师、分析检测人员进一步理解大纲的要求,在 NTC 的统一领导下,由 NTC 秘书处负责组织成立了 NTC 培训教材编写审定委员会,系统规划教材的系统设置方案、设计了教材的总体架构、与考核相结合规定了每项技术各部分内容的设置,并分别组织了各项技术分编委会,具体负责各项技术的培训教材的编写。NTC 拥有《全国分析检测人员能力培训委员会(NTC)系列培训教材》的著作权,并指定该套教材为由 NTC 组织的分析检测人员技术能力培训的唯一指定教材,并将其专有出版权授予中国质检出版社(中国标准出版社),由其出版发行,以服务于全国分析检测人员的技术培训与考核工作。

全国分析检测人员能力培训委员会

NTC 通用理化性能分析检测能力技术分类

1 ATC——化学分析测试技术

- ATC 001 电感耦合等离子体原子发射光谱分析技术
- ATC 002 火花源原子发射光谱分析技术
- ATC 003 X 射线荧光光谱分析技术
- ATC 004 辉光放电发射光谱分析技术
- ATC 005 原子荧光光谱分析技术
- ATC 006 原子吸收光谱分析技术
- ATC 007 紫外-可见吸收光谱分析技术
- ATC 008 分子荧光光谱分析技术
- ATC 009 红外光谱分析技术
- ATC 010 气相色谱分析技术
- ATC 011 液相色谱分析技术
- ATC 012 毛细管电泳分析技术
- ATC 013 固体无机材料中碳硫分析技术
- ATC 014 固体无机材料中气体成分(O、N、H)分析技术
- ATC 015 核磁共振分析技术
- ATC 016 质谱分析技术
- ATC 017 电感耦合等离子体质谱分析技术
- ATC 018 电化学分析技术
- ATC 019 物相分离分析技术
- ATC 020 重量分析法
- ATC 021 滴定分析法
- ATC 022 有机物中元素(C、S、O、N、H)分析技术
- ATC 023 酶标分析技术

2 ATP——物理检测技术

- ATP 001 金相低倍检验技术
- ATP 002 金相高倍检验技术
- ATP 003 扫描电镜和电子探针分析技术
- ATP 004 透射电镜分析技术
- ATP 005 多晶 X 射线衍射技术
- ATP 006 俄歇电子能谱分析技术
- ATP 007 X 射线光电子能谱分析技术

- ATP 008 扫描探针显微分析技术
- ATP 009 密度测量技术
- ATP 010 热分析技术
- ATP 011 导热系数测量技术
- ATP 012 热辐射特性参数测量技术
- ATP 013 热膨胀系数测量技术
- ATP 014 热电效应特征参数测量技术
- ATP 015 电阻性能参数测量技术
- ATP 016 磁性参数测量技术
- ATP 017 弹性系数测量技术
- ATP 018 声学性能特征参数测量技术
- ATP 019 内耗阻尼性能参数测量技术
- ATP 020 粒度分析技术
- ATP 021 比表面分析技术
- ATP 022 热模拟试验技术

3 ATM——力学性能测试技术

- ATM 001 拉伸试验技术
- ATM 002 弯曲试验技术
- ATM 003 扭转试验技术
- ATM 004 延性试验技术
- ATM 005 硬度试验技术
- ATM 006 断裂韧度试验技术
- ATM 007 冲击试验技术
- ATM 008 疲劳试验技术
- ATM 009 磨损试验技术
- ATM 010 剪切试验技术
- ATM 011 压缩试验技术
- ATM 012 撕裂试验技术
- ATM 013 高温持久、蠕变、松弛试验技术

《ATC 016.2 液相色谱质谱联用技术》

编 委 会

主 编 汪聪慧

编 委 (按姓氏笔画排序)

王朝虹 杜振霞 张秀蓝 郭继芬 赵 榕

前 言

液相色谱质谱(LC/MS)联用技术的发展经历了半个多世纪,真正使 LC/MS 作为一种通用、有效的技术活跃于分析界是在 20 世纪 80 年代的下叶。电喷雾接口的出现,衔接了 LC 和 MS 二大分离分析仪器,成功地进行强极性、低挥发性和低热稳定性化合物的分析,使 LC/MS 能够广泛应用于药学及其代谢化学、食品安全、环境监测、化学与化工、法庭科学等领域。LC/MS 实现高灵敏度、高选择性、高精度和高通量的检测,也同样离不开 LC 和 MS 自身的发展。近 30 年,设计 LC 的高效分离、MS 的高分辨质量分析系统、杂交的多级质谱系统等重大技术的陆续涌现,赋予了 LC/MS 联用新的活力,使 LC/MS 不仅在常规检测中成为必不可少的工具,而且在前沿领域的研究中也成为不可取代的手段。

全国分析检测人员能力培训委员会(NTC)秘书处,先期曾组织大学、研究机构、实验室、企业以及仪器公司等各方面的专家组成大纲研讨组,编写发布了《ATC 016.2 液相色谱质谱联用分析技术》考核与培训大纲。本教材系在全国分析检测人员能力培训委员会(NTC)系列培训教材编审委员会统一指导下,组织各领域专家,依据相关大纲的要求编写而成,期间广泛征询相关专家的意见,几易其稿,经由 NTC 教材编审委员会审定出版。

本教材第 1 章中在详述组成 LC/MS 联用仪的 HPLC、Interface、MS 三大部分工作原理的基础上,兼顾当前商品仪器中最新发展的技术,如超高效液相色谱、毛细管电泳-质谱联用、二维离子阱、

轨道阱质谱等。尤其是包含 LC/MS 的相关技术,即各种近代样品预处理方法的机理,使读者在全面、深入了解 LC/MS 联用技术的前提下能有效构建其适宜的分析体系。第 2 章中完整、系统地介绍 LC/MS(包括 LC/MS/MS)仪器的结构、配置、技术指标、校准、实验方法和参数设定乃至维护等各个环节,以及推荐实用性强的 LC/ESI MS 九项联用技术和技巧,使读者在充分掌握 LC/MS 联用仪的运行基础上,能运用自如地进行可靠的操作。第 3 章占有较大的篇幅,涉及目前 LC/MS 联用技术活跃在各领域内的应用。通过分析全过程的完整实例,如中药中掺加的皮质类激素,水中残留的抗生素,水中全氟烷类环境荷尔蒙,食品中的苏丹红、瘦肉精、丙烯酰胺、纺织品上残留苯氧羧酸类农药,电器材料中多溴双酚 A,血液中的苯丙胺类合成毒品等,反映了当前相关行业所面临的重大检测项目的应对方法,无疑对企业、检验、科研、院校等实验室开展 LC/MS 分析有参考价值。相应的规范性技术标准在附录中得到归纳和总结。数据处理是重要的一环,在第 4 章中以相当的文字数量表达了测量不确定度的评定。它的重要性在于隶属于测试结果的一项表述,因而期望读者能提高对它的科学性认识,力求具备评定方法的运算能力。第 4 章还适时增加了数据统计处理的基本知识,其中离群值的处理和实验室测定结果的比较,对于从事 LC/MS 的分析人员应把它作为分析测试工作的有机组成部分去了解和熟悉。

本教材是由公安部物证鉴定中心汪聪慧主编,军事医学科学院郭继芬、环境保护部国家环境分析测试中心张秀蓝、北京市疾病预防控制中心赵榕、北京化工大学杜振霞、最高人民检察院检察技术信息研究中心王朝虹共同合作完成。NTC 秘书处白伟东参加了教材汇总和统编工作。

本教材在撰写过程中,引用了大量国内外公开发表的资料,在此亦向文献的原编著者表示感谢。在确定本教材编写大纲和修改过程中得到了各方面技术专家的指导和帮助,特别感谢 NTC 秘书处符斌、军事医学科学院毒物药物研究所乔善义、国家食品安全风险评估中心赵云峰对编写工作的指导和建议,在此谨致谢忱。在编写过程中吸取了各应用领域业内专家的意见,力求使本教材能满足该技术在各领域的应用和不同仪器类型用户的培训要求,但由于该技术涉及应用领域越来越广,仪器类型及其性能在不断发展和提高,以及编者学识和能力所限,书中难免有疏漏和错误之处,敬请专家和读者批评指正。

《ATC 0162.2 液相色谱质谱联用技术》

编委会

2015.05.10

目 录

1 液相色谱-质谱分析技术的基本原理

1.1 术语	1
1.2 LC/MS 联用的发展史	3
1.3 与质谱联用的液相色谱分离模式	4
1.4 质谱的大气压电离模式	12
1.5 质谱的质量分离模式	26
1.6 液相色谱-质谱-质谱(LC/MS/MS)的分析方法	49
1.7 HPLC/MS 分析中的高分辨技术	57
1.8 样品的预处理	60
思考题	78
参考文献	79

2 液相色谱-质谱的仪器设备与操作

2.1 术语	82
2.2 HPLC/MS 仪的基本构成	84
2.3 LC/MS 的性能指标	104
2.4 仪器的校准	107
2.5 电喷雾质谱的联用技术和技巧	111
2.6 仪器操作	123
2.7 仪器及其附属设备的日常维护	129
思考题	132
参考文献	133

3 液相色谱-质谱联用方法标准与应用

3.1 药物检验中 LC/MS 的分析方法(标准)与应用技术	135
思考题	159
3.2 环境监测中 LC/MS 的分析方法(标准)与应用技术	159
思考题	171
3.3 食品检验中 LC/MS 的分析方法(标准)与应用技术	172
思考题	191
3.4 化工产品的 LC/MS 分析方法(标准)与应用技术	191
思考题	220

3.5 法庭科学检验中 LC/MS 的分析方法(标准)与应用技术	220
思考题	239
参考文献	239

4 分析结果的数据处理

4.1 术语	245
4.2 有效数字及其修约	250
4.3 校准曲线的回归分析	252
4.4 数据的统计处理	253
4.5 测量不确定度的评定方法	261
思考题	283
参考文献	284
附录	285
附表 1 压力换算表	285
附表 2 天然同位素丰度和精确质量表	286
附表 3 常用数理统计表	291
附表 4 食品中常见有害物质检测标准及规程	295

液相色谱-质谱分析技术的基本原理

1.1 术语^[1]

(1) 液相色谱法 (Liquid Chromatography, LC)

用液体作为流动相的色谱法。

(2) 质谱法 (Mass Spectrometry, MS)

试样被电离后, 形成不同质荷比的离子, 根据这些离子的质量数和相对丰度分析试样的方法。

(3) 高效液相色谱法 (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

具有高分离效能的柱液相色谱法。

(4) 毛细管电泳法 (Capillary Electrophoresis, CE)

在外加电场的影响下, 带电的胶体粒子或离子在毛细管内的分散介质中有作定向移动的现象。依靠它们的淌度和/或分配系数上的差异进行快速分离的方法。

(5) 液相色谱-质谱联用 (Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, LC/MS)

用作分离功能的液相色谱 (如常用的 HPLC、UHPLC、CE 等) 与鉴定功能的质谱 (如常用的 quadrupole、ion trap 或 hybrid MS 等) 实现在线相联的一种分析技术。

(6) 超高效液相色谱法 (Ultra High Performance Liquid Chromatography, UHPLC/UPLC)

色谱柱使用粒度小于 $2.2\mu\text{m}$ 的填料, 系统压力 100 MPa (或 1000bar, 14500psi) 以上的液相色谱技术。特点是分离效率高、分析速度快。

(7) 串联质谱法 (Tandem Mass Spectrometry)

将两个或两个以上的质谱分析过程按时间或空间序列串联起来, 用不同扫描方式研究离子的碎裂过程以获得化合物结构信息的质谱方法。

(8) 质荷比 (mass to charge, m/z)

离子的质量 m 与其所带的电荷数 z 之商, 以 m/z 表示。

(9) Th (Thomson)

质荷比的单位。

(10) 原子质量单位 (atomic mass unit)

处于基态时的核素 ^{12}C 的一个中性原子,取其静止质量的 $1/12$ 。

(11) 碰撞诱导(活化)解离 (collisional inductive dissociation, CID; collision activated dissociation, CAD)

在加速电压作用下高速运动的离子束与密度相当大的气体在碰撞室内相互碰撞,使离子的平动能转化为内能而发生进一步解离的过程。

(12) 多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM)

就多对母离子及其相应产生的特定子离子进行监测。

(13) 交叉干扰 (cross talk)

MRM 分析时,有不同母离子但有相同产物离子的二个化合物,当它们的保留时间相近且其产物离子均有足够的强度,此时会产生交叉干扰的现象,即前者的产物离子尚未离开碰撞室,后者的产物离子已碰撞跃迁产生。这样,在监测下一对离子期间含有了上一对离子,导致定量测定的不准确。交叉干扰现象限制了快速、大通量的 MRM 分析。

(14) 亚稳离子 (metastable ion)

指处于激发态的离子,在离开离子源而未进入检测器之前的飞行过程中能发生解离的离子。这种非正常状态的离子称为亚稳离子。若在源内产生的分子离子及其衍生的任何碎片离子则能稳定地抵达收集器,它们作为正常状态的离子被检测。

(15) 多电荷离子 (multiple charged ion)

指负荷多于一个电荷的离子。质谱的横坐标是以 m/z 计,多电荷离子的产生能使小质量范围的仪器测试大质量的离子成为可能。

(16) 全谱扫描 (full scan)

在一段连续的质量范围内对所有质量的离子进行检测。

(17) 源内碰撞诱导解离 (in-source collision induced dissociation, ISCD)

锥形取样孔(或者加热的毛细管)和锥形分离器间的真空在 $0.5\sim 1.0\text{mmHg}$ (相当于 $66.7\sim 133.3\text{Pa}$),在此条件下改变锥电压(相对于喷嘴、锥形取样孔的电位差),就能提高溶剂化离子的动能,从而进行碰撞诱导解离,这种 CID 与真正的 MS/MS 不同之处在于前者是非选择性地使源内离子发生碎裂。

(18) 总离子流 (total ion current, TIC)

在离子源中生成不同质荷比的正或负离子所产生的电流总和。

(19) 总离子流色谱图 (total ion current chromatogram, TIC)

质谱数据采集时,每一次扫描的离子流强度总和随时间变化的曲线。如果把质谱仪当作色谱仪的检测器,则此时的总离子流图就是一张色谱图。

(20) 质量色谱图 (mass chromatogram)

在一张总离子流色谱图上挑选某一个质荷比离子,可以得到该离子的强度随时间呈现相应变化的关系图。

(21) 提取离子色谱图 (extracted ion chromatogram, EIC 或 XIC)

同质量色谱图。

1.2 LC/MS 联用的发展史

液相色谱法源于 19 世纪初,是色谱法 (Chromatography) 中的一个重要分支,而到 20 世纪 60 年代末以其高速分离的性能形成了高效液相色谱法 (简称 HPLC)。有机质谱法也起源于 19 世纪初的质谱法 (简称 MS),在 50 年代初以每个化合物拥有各自的特征谱图而著称。HPLC 和 MS 都经历了半个多世纪的发展,作为很成熟的技术为广大分析工作者所接受。高效液相色谱法具有高的分离效率,但在鉴定能力方面不足;质谱法具有高灵敏度、强特异性、大信息量的鉴定特点,但要求样品有足够的纯度。因此二者的结合是理想的。分析化学家所关注的问题是如何把这两种分别具有强大的分离或鉴定功能的仪器,通过相联形成一种在线的优势,对有机化合物进行实时分析。显然,接口就成为这两种技术的汇合点。

自 1968 年发表了高效液相色谱和质谱在线联用接口的实验报告,至 20 世纪 90 年代初才形成 5 种联用接口类型的商品仪器,这期间将近 20 多年的历史。与 GC 和 MS 历经 5 年左右基本实现 GC/MS 联用相比,这个研究历程是很艰巨的。其主要原因是两个方面,一是真空,二是样品。高效液相色谱的流出液是流动相的溶剂,而质谱的实验条件是高真空系统,且常规的情况是在气相中实现样品的离子化。要想对流动相中的溶质进行鉴定,则首先要解决大量溶剂的问题。这两种技术仿佛是互不相容,这就构成了技术难度。典型的 HPLC 流量为 1 mL/min,如果以乙腈计算的话,相当于 540 mL 大气压气体/min,质谱仪的真空系统抽速若为 1 000 L/s,要维持质谱离子源的真空为 $10^{-5} \sim 10^{-6}$ mmHg,则 HPLC 流量只能达到 0.01~0.02 mL/min。即使加上抽速达 6 000 L/s 低温泵,流量最多达 0.1 mL/min。这就意味着只能允许不到千分之一的流出液进入质谱仪。倘使在化学电离的操作条件下,也最多允许百分之一的流出液以维持 10^{-4} mmHg 的离子源真空。其次,与气相色谱相比,高效液相色谱的分析对象大部分是极性大 (包括离子型化合物)、挥发性差、热稳定性低的一类样品,尤其是生化样品,乃至生物大分子分析更是气相色谱所望尖莫及。据已有的化合物分析可知,适合于 GC/MS 的仅占 20%,这意味着 HPLC 技术是一个重要的途径。在 20 世纪 70 年代质谱的电离方式主要是电子电离 (electron ionization, EI) 和化学电离 (Chemical ionization, CI),因为需要汽化,它们要求样品具有良好的热稳定性和易挥发性,上述这类离子化方法无疑对 HPLC 的样品有很大的限制。许多质谱工作者致力于研究 HPLC/MS 的实时联用接口。曾经设想过离线 (Off-line) 的办法,将 HPLC 的流出液收集、浓缩,甚至蒸干,然后送入到 MS。这种办法是权宜之计,因为它是费时又费力,而且存在着样品的损失和二次污染的危险,且定量又有困难。也曾设想通过一个节流阀使少部分 (或者小的流量) HPLC 流出液,经过内径为 25~50 μm 的毛细管进入离子化室,称之为直接液体导入 (DLI)。汽化的溶剂为反应气,实现样品的 CI 离子化,但样品的分析浓度和利用率受到很大限制。因此,为实现 LC/MS 的实时联用,接口的研究是不可避免的,从这个意义上讲,LC/MS 联用的发展史也就是适合于两者联用的接口发展史。

首先要解决上述二个困扰联用的问题,即柱流出液的量有多少进入 MS,此时最大的