

严小军 著

GCMS

在海洋生物
生化分析研究中的应用



科学出版社
www.sciencep.com

GCMS 在海洋生物生化 分析研究中的应用

严小军 著

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

化学—代学分析 IV. Q178.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

化学—代学分析 IV. Q178.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

化学—代学分析 IV. Q178.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

化学—代学分析 IV. Q178.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

化学—代学分析 IV. Q178.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

化学—代学分析 IV. Q178.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

化学—代学分析 IV. Q178.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

化学—代学分析 IV. Q178.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

化学—代学分析 IV. Q178.22

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第303832号

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书是一本完全以作者“实战经验”为基础的专著,详细论述了对于海洋生物生化分析中最关键的几类有机分子(脂肪酸、甾醇、氨基酸、碳水化合物、激素等)的新型分析方法的建立、定性定量的分析结果,包括脂肪酸与甾醇的连续分析方法,氨基酸的 GCMS 分析,碳水化合物中醛糖与酮糖的同时分析,多种生物激素的同时分析等;同时,从实际的科学研究目的出发,实例论述了这些新型分析方法在海洋生物生化研究中的应用。另一方面,对于其他一些海洋生物生化研究中特有的问题,如海产品“海鲜风味”的来源及补充、鱼类蛋白质水解过程的质控分析以及农残等问题都进行了实例性研究。

图书在版编目(CIP)数据

GCMS 在海洋生物生化分析研究中的应用/ 严小军著.
—北京: 科学出版社, 2009
ISBN 978-7-03-023809-2

I. G… II. 严… III. 气相色谱—应用—海洋生物—生
物化学—化学分析 IV. Q178.53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 207322 号

责任编辑: 李 瑾 谭宏宇 / 责任校对: 刘珊珊
责任印制: 刘 学 / 封面设计: 一 明

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

南京展望文化发展有限公司排版

上海宝山杨中印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009 年 1 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2009 年 1 月第一次印刷 印张: 18 3/4

印数: 1—2 200 字数: 429 000

定价: 48.00 元

序

色谱技术是最高效的分离技术,质谱技术是最高灵敏度的结构分析技术。两者结合起来形成的联用分析技术包括气相色谱质谱联用技术(GCMS)和高效液相色谱质谱联用技术(LCMS)。虽然近年来 LCMS 技术进步飞速,所涉及的应用领域也远远超过了 GCMS 的传统分析领域,尤其在生命科学组学研究技术中得到了越来越广泛的应用。但是,对于小分子化学物质来说,GCMS 仍然是最为常用的分析技术手段之一。

相对于 LCMS 来说,GCMS 具有三个优势:其一,GC 的毛细管色谱柱长度通常达到高效液相色谱(HPLC)色谱柱的 100 倍,因此分离效率更高;其二,与 GC 配套的质谱数据库是目前最完善的结构鉴定数据库,也达到 HPLC 配套的质谱数据库所拥有条目的几十倍,因此谱图检索更加可靠;其三,GCMS 在分析操作费用、仪器维护、方法建立等方面大大低于 LCMS,因此,分析成本更低。因此,对于具有挥发性或者能够通过衍生化试剂反应形成挥发性产物的化学物质的分析来说,GCMS 分析技术仍然是最值得首先考虑的。

GCMS 技术虽然自 20 世纪 80 年代以后就广泛应用于海洋生物化学的研究,但是我国的有关研究工作尚不系统,应用面也比较狭窄。特别是 GCMS 所应用的对象涉及海洋生物的多个研究领域,在彼此的研究中所取得的许多分析技术上的进步很有必要相互借鉴。因此,作者根据自己在该方面多年的研究经验和取得的一些研究结果,并综合了国内外研究的前沿发展,完成了本书。书中内容详细介绍了作者许多的“实战经验”,应该对从事海洋生物化学研究的同行具有一定的参考价值。

据作者所知,本书是 GCMS 分析技术在海洋生物化学研究中的第一本专著。因此,在写作过程中,遇到了在材料取舍方面仍有许多不确定之处,作者希望得到更多的修改建议,在今后的修订版中得到进一步的补充和完善。作者也希望通过今后几年的实际分析工作,进一步完成《LCMS 在海洋生物生化分析研究中的应用》作为本书的姊妹篇。

致 谢

本书涉及的多项研究工作都是在得到了国家、省市各级政府的多项科研项目的基础上完成的,在此作者深切感谢国家科技部、国家教育部、国家自然科学基金委、浙江省科技厅和宁波市科技局对作者的大力支持,也感谢宁波大学领导对作者的支持。

本书撰写过程中,徐继林副研究员始终对于本书的许多实际分析和数据总结作出了辛勤的劳动。同时,多位同事、助手和学生也给予了许多无私帮助。在此衷心感谢徐善良副教授、骆其君副教授、朱艺峰副教授、陈海敏博士、叶芳挺同学、徐志标同学等。最后,也要感谢我的夫人周成旭女士对我的关心和鼓励。

目 录

序

致谢

第一章 GCMS 分析原理与操作	1
第一节 GCMS 的简要发展历史	1
一、色谱技术历史	1
二、质谱技术历史	2
三、气相色谱与质谱联用技术(GCMS)的商业化发展	3
第二节 GCMS 的构造原理和部件	4
一、GCMS 的构造原理和主要部件	4
二、GCMS 的其他部件和主要指标	8
第三节 GCMS 定量分析数据处理技术	10
一、GCMS 获得的数据类型	10
二、GCMS 的定量分析	11
第四节 GCMS 定性分析技术	13
一、化合物分子式确定的质谱分析技术	13
二、化合物结构式推定的质谱学规律	16
三、质谱图解析中的基本术语	20
第五节 GCMS 仪器的其他种类类型	20
第六节 GCMS 样品处理技术	23
一、高挥发性样品处理技术	23
二、衍生化技术	24
第二章 GCMS 在海洋生物化学研究中的应用总论	27
第一节 在海洋生物化学中常见的 GCMS 分析物质	27
一、脂肪酸类物质	27
二、脂肪酸代谢产物	28
三、甾醇、甾烷及其他三萜类物质	29
四、烷烃类与烷酮类物质	30
五、特殊异戊二烯类物质	31
六、半挥发性香气物质和挥发性气体物质	31
七、碳水化合物和氨基酸	32
八、海水中的有机污染物	33

第二节 GCMS 在海洋生物化学研究中的几个应用领域	33
一、在海洋生物化学分类学方面	33
二、在海洋生物地球化学方面	36
三、在海洋生物化学生态学方面	43
四、在海水养殖营养学方面	46
第三章 脂肪酸的 GCMS 分析	49
第一节 海洋生物的脂肪酸	49
一、结构特征	49
二、海洋生物脂肪酸的生物学功能	49
三、大型海藻中的脂肪酸	51
第二节 脂肪酸的提取、分离和鉴定	53
一、提取	53
二、分离纯化	53
三、鉴定	53
第三节 海洋席藻淡化过程中脂肪酸组成的应急变化	54
一、海洋席藻简介	54
二、脂肪酸 GCMS 分析的材料和方法	54
三、席藻淡化过程中的脂肪酸变化	56
四、席藻淡化过程中脂肪酸变化揭示的生理学意义	58
第四节 培养条件对海洋假单胞菌(<i>Pseudomonas</i> sp.)脂肪酸的影响	60
一、材料与方法	60
二、不同培养条件下假单胞菌的脂肪酸变化	60
第五节 褶皱臂尾轮虫 PUFA 转化效率的影响	63
一、材料与方法	64
二、不同饵料投喂后褶皱臂尾轮虫中脂肪酸组成的变化	65
三、轮虫对不同藻类脂肪酸的转化效率	68
第六节 鱼油脂肪酸的自由基氧化变化研究	69
一、材料与方法	70
二、鱼油脂肪酸的变化	71
第四章 脂肪酸 GCMS 分析在海洋生物化学分类学中的应用	77
第一节 微藻的脂肪酸组成特征	77
第二节 海洋微藻脂肪酸生化组成的聚类分析研究	80
一、实验材料和方法	81
二、31 种(株)微藻的脂肪酸组成	82
三、微藻脂肪酸聚类分析结果	88
四、未知藻的聚类分析地位	90

第三节 脂肪酸分析在细菌化学鉴定中的应用	91
一、脂肪酸分析的微生物鉴定系统	91
二、海洋微生物脂肪酸化学分类鉴定的实例研究	92
三、脂肪酸聚类分析结果	94
第五章 脂肪酸 GCMS 分析在鱼类发育与营养学中的应用	96
第一节 鱼类对脂肪酸的需求	96
一、鱼类的脂肪酸合成途径	96
二、鱼类必需脂肪酸	96
第二节 大黄鱼仔幼鱼发育阶段脂肪酸组成变化的研究	98
一、实验材料	98
二、不同发育阶段脂肪酸的组成	98
三、大黄鱼苗期各阶段主要脂肪酸组成的变化规律	100
四、大黄鱼苗期脂肪酸的组成与淡水鱼苗的比较	100
五、“胀鳔”病鱼苗脂肪酸的组成特点及原因分析	101
第三节 大黄鱼鱼种阶段肌肉及肝脏中脂肪酸研究	102
一、实验材料	102
二、大黄鱼鱼种阶段的总脂含量变化	102
三、大黄鱼鱼种各月份脂肪酸组成特点	103
四、几种重要脂肪酸的实际含量	106
五、高温期对大黄鱼鱼种脂肪酸的影响	106
第四节 养殖大黄鱼与野生大黄鱼肌肉脂肪酸组成的比较	107
一、实验材料	107
二、养殖大黄鱼与野生大黄鱼的总脂含量比较	108
三、养殖大黄鱼与野生大黄鱼的脂肪酸组成比较	108
四、养殖大黄鱼从仔鱼至成鱼的脂肪酸组成比较小结	110
第五节 岱衢族野生大黄鱼与养殖大黄鱼肌肉脂类级分分析	111
一、实验材料处理	111
二、大黄鱼肌肉的总脂组成	111
三、脂肪酸在不同脂类组成中的分布	112
四、脂类级分中的脂肪酸分布特征	114
第六节 GCMS 分析技术在鱼类营养学中的应用小结	115
第六章 甾醇的 GCMS 分析及其应用	117
第一节 甾醇概述	117
一、主要甾醇	117
二、常见甾醇举例	118
三、胆固醇的生物合成途径	118

10	第二节 甾醇在海洋微藻和微生物中的分布规律	119
10	第三节 甾醇 TMS 衍生物 EI 源质谱规律研究	121
30	一、材料和方法	122
10	二、甾醇硅醚化衍生物的质谱学规律	122
	三、共生藻属甲藻(<i>Symbodinium</i> sp.)样品的甾醇结构实例分析	125
00	第四节 甾醇在 29 种海洋微藻中的分布研究	126
00	一、实验样品及处理方法	126
00	二、微藻中甾醇(酮)的鉴定	127
00	三、海洋微藻中甾醇的组成特征	129
00	四、海洋微藻中甾醇的结构分布规律	129
00	第五节 巴夫藻甾醇在光生物反应器中培养的组成变化	131
00	一、巴夫藻的光生物反应器培养	132
001	二、巴夫藻不同生长阶段的甾醇变化	133
001	三、环境因子对绿色巴夫藻生长和甾醇组成的调控	134
101	四、巴夫藻甾醇变化调控因素的综合探讨	137
001		
	第七章 脂肪酸甾醇的 GCMS 同步分析及其应用	138
001	第一节 脂肪酸甾醇同步分析的必要性及可行性	138
001	一、脂肪酸甾醇同步分析的必要性	138
001	二、脂肪酸甾醇同步分析的技术难点	138
001	第二节 脂肪酸甾醇的 GCMS 同步分析	139
101	一、材料与方法	139
101	二、标准脂肪酸甲酯和甾醇三甲基硅醚的 GCMS 分析	140
001	三、巴夫藻脂肪酸甾醇实例分析及其生化组成特征	142
001	第三节 六种海洋微藻对泥蚶稚贝脂肪酸甾醇组成的影响	144
011	一、材料与方法	144
111	二、泥蚶稚贝在不同微藻饵料培养下的生长情况	145
111	三、微藻对稚贝脂肪酸组成的影响	146
111	四、微藻对稚贝中甾醇组成的影响	148
011	五、泥蚶稚贝发育过程中脂肪酸甾醇的营养需求	150
111	第四节 贝类脂肪酸甾醇的聚类分析	151
011	一、贝类样品来源及样品处理	151
	二、16 种贝类的脂肪酸组成	151
111	三、16 种贝类的甾醇组成	152
111	四、16 种贝类的脂肪酸甾醇聚类分析	155
111		
	第八章 氨基酸的 GCMS 分析	157
011	第一节 氨基酸概述	157

第二节 海洋微藻中游离氨基酸的 NCI 源 GC/MS 分析的实例分析	159
一、材料与方法	159
二、氨基酸衍生物的负化学源气相色谱分离	161
三、氨基酸 GCMS 分析的操作技巧	164
第三节 14 种海洋微藻中游离氨基酸组成的比较分析	164
一、材料与方法	164
二、14 种海洋微藻游离氨基酸的绝对含量及分析	165
三、14 种海洋微藻游离氨基酸的组成特征比较分析	167
第四节 水解氨基酸的 GCMS 分析	168
一、蛋白质水解与氨基酸分离纯化	168
二、鲐鱼蛋白质水解与氨基酸 GCMS 分析	171
三、鲐鱼蛋白质水解与精氨酸制备	172
第五节 微量海洋微藻脂肪酸甾醇及游离氨基酸 GC/MS 全分析	174
第九章 碳水化合物的 GCMS 分析	176
第一节 醛酮糖同时分析的必要性	176
第二节 差异衍生化方法对醛酮糖的 GCMS 分析	177
一、材料与方法	177
二、标准单糖的 GCMS 分析	177
三、醛酮糖 GCMS 差异衍生分析的技巧讨论	182
第三节 微藻游离单糖组成特征	184
一、微藻样品及来源	184
二、小球藻(<i>Chlorella</i> sp.) 的游离单糖实例分析	185
三、17 种海洋微藻游离单糖的定性定量分析结果	185
四、游离单糖在微藻中的分布特点	188
五、肌醇在微藻中的含量	188
第四节 水解过程中多糖的组成单糖含量的再评价	189
一、多糖水解过程	189
二、材料与方法	190
三、四种海洋微藻多糖在 TFA 2 mol/L 90℃ 下水解 10 h 后的单糖组成	191
四、标准单糖在分别水解 0、2、4、6、8、10 h 的变化	191
五、4 种海洋微藻多糖在 TFA 2 mol/L 90℃ 下水解 1 h 后的酮糖组成	193
六、不同单糖从糖链中释放速率的初步研究	193
第十章 生物激素 GCMS 分析	197
第一节 常见生物激素类物质简介	197
一、肾上腺素	197
二、去甲肾上腺素	198

三、多巴胺	199
四、5-羟色胺	200
五、孕酮	200
六、雌二醇	201
第二节 海洋贝类腺体内 5 种游离生物激素的负化学源 GCMS 连续分析研究	202
一、肾上腺素等 5 种游离生物激素 GCMS 分析的可行性分析	202
二、材料与方法	203
三、负化学源 GC/MS 对 5 种激素的分析结果	204
四、游离生物激素的负化学源 GCMS 连续分析技术的综合评述	206
第十一章 海洋生物半挥发性物质的 GCMS 分析	209
第一节 半挥发性物质与风味物质	209
一、萜类化合物	209
二、呋喃环类物质	212
三、脂肪酸等生物基础成分的代谢产物	213
四、溴酚类物质	213
第二节 半挥发性物质的获得方法	214
一、水蒸气蒸馏-溶剂萃取连用技术	214
二、固相微萃取技术	215
第三节 采用水蒸气蒸馏法测定孔石莼半挥发性物质的实例研究	215
一、材料和方法	215
二、孔石莼中半挥发性物质的鉴定	216
第四节 浙江沿海 5 种经济海藻中的半挥发性物质特征	219
一、坛紫菜	219
二、浒苔	220
三、蜈蚣藻	221
四、羽藻	222
五、刚毛藻	222
第五节 蜈蚣藻烘干过程中的挥发性物质变化	223
一、实验材料	224
二、蜈蚣藻中挥发油成分的鉴定	224
第六节 海产品中溴酚类海洋风味素的 GC/MS 分析	227
一、材料与分析方法	228
二、溴苯酚类化合物标准分析方法的建立	229
三、海产品中溴酚类化合物的定量测定	230
四、溴酚类物质 GCMS 分析的技巧小结	231
第七节 溴酚类物质对养殖脊尾白虾海鲜风味的影响	232
一、材料与方法	233

二、脊尾白虾溴酚物质的含量分析	234
三、脊尾白虾风味的感官分析	234
四、溴酚类海洋风味素 GCMS 研究小结	236
第十二章 海洋水产品中农残药残的 GCMS 分析	238
第一节 海洋水产品中农残药残问题概述	238
一、农残药残与食品安全	238
二、日本《食品残留农业化学品肯定列表制度》	239
三、农残药残的分析方法	241
第二节 水产品中残留氯霉素的 NCI 源 GC/MS 分析	243
一、氯霉素残留与水产食品安全事件	243
二、材料与方法	245
三、氯霉素 NCI 源 GC/MS 分析结果	246
四、氯霉素 NCI 源 GC/MS 分析技巧	247
第三节 滩涂及贝类中残留三唑磷的 GC/MS 分析	249
一、三唑磷残留	249
二、材料与方法	249
三、三唑磷的 GC/MS 分析结果	250
四、三唑磷的残留在贝类中的分布调查	252
五、小结	253
第十三章 气体化合物的 GCMS 实例分析	254
第一节 气体化合物的 GC 分析	254
一、材料与方法	254
二、微藻在光生物反应器培养中的气体组成变化	255
第二节 海洋生物中的二甲基硫及其来源	258
一、DMS 的气候调节作用	258
二、海洋 DMS 的来源	260
第三节 几种海洋微藻中 DMS 含量的 GCMS 分析	262
一、材料与方法	263
二、DMS 的分析方法建立	264
三、海洋微藻中的 DMS 及其前体化合物 DMSP 的含量	266
第四节 捕食压力存在与否对藻类 DMS、DMSP 的影响	267
一、材料与方法	268
二、卤虫与四种微藻在捕食体系中的生长状况	268
三、金藻在捕食压力下的 DMS 含量变化	271
参考文献	272

第一章 GCMS 分析原理与操作

第一节 GCMS 的简要发展历史

GCMS 是一种联用技术,即气相色谱和质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometry)。这一技术的发明分别得益于色谱技术和质谱技术的发明和进步。

一、色谱技术历史

色谱技术是一种分离化合物的技术,它的简要发展历史如下:

1. Tswet

色谱的概念与原创技术首先由俄国植物学家 Mikhail Semyonovich Tswet (1872~1919) 提出。他 1903 年在波兰华沙大学研究植物叶子的组成时,巧妙地用碳酸钙做吸附剂,分离植物干燥叶子的石油醚萃取物。他把干燥的碳酸钙粉末装到一根细长的玻璃管中,然后把植物叶子的石油醚萃取液倒到管中的碳酸钙上,萃取液中的色素就吸附在管内上部的碳酸钙里,再用纯净的石油醚洗脱被吸附的色素,于是在管内的碳酸钙上形成绿、黄等 3 种颜色的 6 个色带,分离了叶绿素、叶黄素和胡萝卜素。当时 Tswet 把这种色带叫做“色谱”。这一方法被称为液-固色谱,即迄今为止仍然使用的常压柱色谱,该方法中用的玻璃管称为“色谱柱”,碳酸钙称为“固定相”,洗脱色素的溶剂石油醚称为“流动相”。

2. Kuhn

在 Tswet 提出色谱概念的 20 多年后,多年里没有人关注这一伟大的发明。直到 1931 年德国化学家 Richard Kuhn (1900~1967) 采用 Tswet 的方法用氧化铝和碳酸钙分离了 α -、 β -和 γ -胡萝卜素,此后系统分离了 60 多种这类色素。他还从 B 族维生素中分离到维生素 B₆,并且测定了维生素 B₂ 的结构,由此获得了 1938 年的诺贝尔化学奖,奠定了液相色谱的基本操作规范。

3. Martin & Synge

在其后的 20 世纪 40~50 年代初期,英国生物化学家 Archer John Porter Martin (1910~2002) 和 Laurence Millington Synge (1914~1994) 在研究生物脂肪酸和脂肪胺时进一步改进了液相色谱技术,创建了纸色谱技术、薄层层析技术,并且开创了以气体作流动相,以液体作固定相的气-液色谱法(即气相色谱),因而获得了 1952 年的诺贝尔化学奖。他们的最大贡献在于提出了色谱分离技术的理论基础,即塔板理论。塔板理论将色谱柱比作蒸馏塔,把一根连续的色谱柱设想成由许多小段组成。在每一小段内,一部分空间为固定相占据,另一部分空间充满流动相。组分随流动相进入色谱柱后,就在两相间进

行分配。并假定每一小段内组分可以很快地在两相中达到分配平衡,这样一个小段称作一个理论塔板。经过多次分配平衡,分配系数小的组分,先离开蒸馏塔,分配系数大的组分后离开蒸馏塔。由于色谱柱内的塔板数相当多,因此即使组分分配系数只有微小差异,仍然可以获得好的分离效果。

4. DalNogare & Wilson

1954 年,美国杜邦公司的 Steve DalNogare 和英国帝国化学公司的 H. N. Wilson 在 Gordon 会议上首次披露了世界第一台商品化的气相色谱仪器的制造情况,被称为专业化生产气相色谱仪的开端。

5. Golay

1956 年,Perkin - Elmer 公司的美籍瑞士物理学家 Marcel J. E. Golay (1902~1989) 发明了毛细管色谱技术,该技术的核心是用一内壁涂渍极薄而均匀的固定液膜的毛细管代替填充柱。由于气体的传质阻力大大降低,这种柱子分离能力远远高于传统的填充柱,完全改变了气相色谱柱填料的结构,从而使色谱技术的分离能力大为提高,分离时间大大缩短。气相色谱技术从此进入了高速发展轨道。1975 年在德国 Hindelang 举行了第一届国际毛细管色谱学术大会,迄今已连续举办 30 次,会议的最高学术奖是 Golay 奖。气相色谱理论实际上在 Golay 提出毛细管色谱理论以后就已经成熟。事实上,Perkin - Elmer 公司也是世界上第一台气相色谱仪的专业生产厂家,但是所采用的检测器是红外检测器。

6. 其他的色谱技术进步

1958 年美国生物化学家 Stein 和 Moore 研制成功的氨基酸分析仪,由此获得 1972 年的诺贝尔化学奖。1978 年美国化学家 Still 发明了快速色谱,提高了常规色谱效率。1960 年代,由于气相色谱对高沸点有机物分析的局限性,为了分离蛋白质、核酸等不易气化的大分子物质,美国耶鲁大学的 Horváth, Preiss 和 Lipsky 等于 1967 年将气相色谱的理论和方法重新引入经典液相色谱中,使用粒径更细的固定相填充色谱柱,提高色谱柱的塔板数,以高压驱动流动相,使得经典液相色谱需要数日乃至数月完成的分离工作得以在几个小时甚至几十分钟内完成(Horvath et al., 1967)。美国杜邦公司化学家 Joseph Jack Kirkland 在柱材料设计(包括采用硅烷化改性方法建立了反相高效色谱技术, Kirkland, 1971)和高效液相色谱仪器的商品化转化方面做了开创性的研发工作,以他及其合作者编著出版的《液相色谱的现代实践》(1971)标志着高效液相色谱法(HPLC)的正式建立。

二、质谱技术历史

质谱技术是通过被测样品离子的质荷比的测定来进行分析的一种分析方法。被分析的样品首先要离子化,然后利用不同离子在电场或磁场的运动行为的不同,把离子按质荷比(m/z)分开而得到质谱,通过样品的质谱和相关信息,可以得到样品的定性定量结果。有关质谱技术的简要发展历史如下:

1. Thomson

剑桥大学卡文迪许实验室的物理学家 Joseph John Thomson (1856~1940) 于 1897

年研制成功抛物线质谱装置,这是世界第一台质谱仪。利用该仪器,他发现了比原子更小的电子的存在,测定到了电子在气体中的轨迹,由此获得 1906 年诺贝尔物理学奖。

2. Aston

同样来自剑桥大学卡文迪许实验室的物理学家 Francis William Aston (1877~1945)于 1919 年研制成功第一台速度聚焦型质谱仪,测定了元素非放射同位素的比例,成为质谱发展史上的里程碑,由此获得 1922 年诺贝尔化学奖。

3. Dempster

1920 年,美国芝加哥大学物理学家 A. J. Dempster 发明了电子轰击离子化方法 (electron impact ionization, EI),采用一根加热的灯丝产生电子束,可以使挥发性物质很容易电离。这一电离技术至今仍然是现代质谱技术的主要电离源之一。Dempster 还是磁质谱仪的主要发明者。

4. Gohlke & McLafferty

美国道氏化学公司的 Roland S. Gohlke 和 Fred W. McLafferty (1923~) 于 1956 年美国化学会第 129 次年会上首次报告了 GCMS 联用技术的初步进展。该项研究正式发表于 1959 年的美国分析化学杂志 (Gohlke, 1959),成为 GCMS 分析技术的开创性论文。

5. McLafferty

美国道氏化学公司科学家 Fred W. McLafferty 进一步对 GCMS 分析过程中离子在气体中的电离行为进行了深入系统的研究,发现了著名的 McLafferty 重排反应,基本建立了 GCMS 分析中化合物离子的电离与碎片断裂的规律体系,为 GCMS 质谱数据库建设与相似性结构判定技术打下了理论基础。

6. Paul & Dehmelt

美国华盛顿大学 Hans Georg Dehmelt (1922~) 和德国波恩大学的 Wolfgang Paul (1913~1993) 于 1956 年首次阐述了离子阱对高分辨率质谱的优点,并且在其后几十年的不断努力改进下进一步发展了原子精确光谱学和离子阱技术,由此获得了 1989 年诺贝尔物理学奖,为离子阱质谱的多种联用技术作出了杰出贡献。Paul 还于 1960 年提出了四极杆质谱仪的制造方法,由此制造的第一台四极杆质谱仪于 1963 年被美国宇航局 (NASA) 用于太空舱气体的检测。

7. Fenn & Tanaka

2002 年的诺贝尔化学奖再次颁发给了质谱学家美国弗吉尼亚大学的 John B. Fenn (1917~) 和日本岛津公司的田中耕一 (Koichi Tanaka, 1959~),这是由于他们于 1980 年代分别独立发明了可以使生物大分子产生电子作用的新型电离方法:电喷雾电离技术和激光辅助基质电离技术,为生物大分子的解析建立属于基因组时代的方法。

三、气相色谱与质谱联用技术 (GCMS) 的商业化发展

1. Gohlke & McLafferty

1958 年道氏化学公司科学家 Roland S. Gohlke 和 Fred W. McLafferty 经过近三年的努力,研制成功了世界上第一台 GCMS 仪器。当时他们所选用的质谱仪是 Bendix 公司的 W.

C. Wiley, I. H. McLaren 和 D. B. Harrington 研制的飞行时间原理质谱仪(TOF-MS),这是气相色谱与质谱技术联用分析的肇始之作。连接这两种不同仪器的仅仅是一个进样针阀。他们改变了分析技术的历史!

2. Damoth & Gohlke

1959 年 Bendix 公司的 Donald Damoth 发明了多离子在 TOF-MS 上的检测;1962 年 Donald Damoth 和 Roland Gohlke 发明了 GCMS 的总离子流检测技术(total ion monitoring),获得了第一张 GCMS 的总离子流色谱图(total ion chromatogram, TIC)。

3. Ryhage & Stenhagen

随着四极杆质谱仪和磁质谱仪在 1963 年被美国和日本科学家研发成功,GCMS 可以配套使用的质谱选择范围进一步扩大。瑞典 Karolinska Institute 的 Ragnar Ryhage 与 Uppsala 大学的 Einar Stenhagen 合作发明了气相色谱样品进入质谱的气体分离器,使得载气对物质的干扰得到了极大的降低,提高了质谱对化学物质的灵敏度。美国 MIT 的 Klaus Beermann 也提出了类似的气体分离设计技术。为 GCMS 仪器商品化的发展提供了一项关键的接口技术。

4. Finnigan

1967 年是 GCMS 仪器商业化的标志年。随着 IBM 公司推出小型计算机,GCMS 的数据采集、分析和存储等都出现了效率和容量的极大提高。Robert Finnigan 创立了 Finnigan 公司生产了第一台四极杆 GCMS 仪器,同年,Perkin Elmer 公司也推出了磁聚焦 GCMS 仪器。从此,GCMS 正式进入商品化时代,也成为最早实现商品化的色谱联用仪器。1976 年美国惠普公司推出了世界上第一台台式 GCMS 联用仪标志着现代 GCMS 仪器的雏形。

第二节 GCMS 的构造原理和部件

一、GCMS 的构造原理和主要部件

气相色谱仪分离样品中的各组分,起着样品制备的作用;接口把气相色谱流出的各组分送入质谱仪进行检测,起着气相色谱和质谱之间适配器的作用,由于接口技术的不断发展,接口在形式上越来越小,也越来越简单;质谱仪对接口依次引入的各组分进行分析,成为气相色谱仪的检测器;计算机系统交互式地控制气相色谱、接口和质谱仪,进行数据采集和处理,是 GCMS 的中央控制单元。GCMS 的基本构造概念图如图 1.1,除计算机控制系统外,仪器由气相色谱单元、接口和质谱单元三个部分组成:

1. 气相色谱单元

它是化合物分离单元,主要包括气源、流量调节阀、色谱柱、恒温器和进样器。

气源是气相色谱载气源,是化合物分离的流动相。气源一般采用高压钢瓶(氢、氮、氩等)做高纯气的储存器,并装有减压阀,使高压气体减压成低压气体(0.1~0.5 MPa)以供使用。

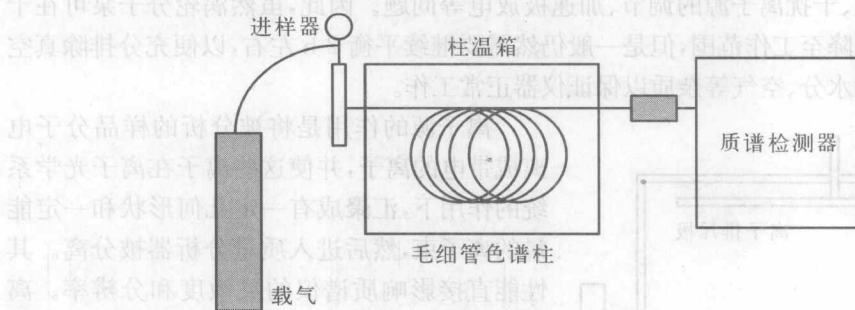


图 1.1 GCMS 的基本构造概念图

流量调节阀可以调节载气的流速,常用的有稳压阀和针形阀,气体流量的大小通过流速计来测定。常用的流速计有转子流量计和皂膜流速计等,GCMS 的载气流量由电子气体控制器(electronic pneumatics controller, EPC)调节。

色谱柱是气相色谱的固定相载体,毛细管柱内壁为由涂于管内壁的聚合物固定相。通过气体与色谱柱内固定相的分配作用将样品混合物按照分配系数的差异逐步分离成多个单一组分。现在一般采用毛细管色谱柱,柱管内径为 0.25 mm,柱长 30 m。

恒温器是一个色谱柱外相,是为了保持色谱柱的温度恒定,保证样品分析的可重复性。一般常采用空气恒温方式。柱温箱的温度范围在 40~320℃。

进样器是把样品通进色谱柱的元件,其中包括汽化室和进样工具。汽化室的作用是将样品在瞬间汽化为蒸气,这样可以使样品集中于一点被载气送达色谱柱顶端。进样工具常有定量阀和注射器。随着分析技术的进步,常常为进样系统配置自动进样装置。气相色谱的进样量一般为 1 μl ,根据所分析样品的浓度特点可以采取分流进样(split)或不分流进样(splitless)两种模式,进样汽化室温度一般在 250~300℃。

2. 接口

GCMS 联用仪的接口是解决气相色谱和质谱联用的关键组件。理想的接口是能除去全部载气,但却能把待测物毫无损失地从气相色谱仪传输到质谱仪。因此,接口一般应满足如下要求:① 不破坏离子源的高真空,也不影响色谱分离的柱效;② 使色谱分离后的组分尽可能多进入离子源,流动相尽可能少进入离子源;③ 不改变色谱分离后各组分的组成和结构。目前常用的各种 GCMS 接口主要有直接导入型、开口分流型和喷射式分离器等,其中目前较为常用的是开口分流型接口。

3. 质谱单元

它是化合物定性定量分析的检测单元,一般由真空系统、离子源、质量分析器、检测器等部分组成。

真空系统是化合物进入质谱仪后离子化效率的环境保障:质谱仪的离子源、质量分析器和检测器必须在高真空状态下工作,以减少本底的干扰,避免发生不必要的分子-离子反应。质谱仪的高真空系统一般由机械泵和扩散泵或涡轮分子泵串联组成。机械泵作为前级泵将真空抽到 10^{-1} ~ 10^{-2} Pa,然后由扩散泵或涡轮分子泵将真空度降至质谱仪工作需要的真空度 10^{-4} ~ 10^{-5} Pa。若真空度过低,则会造成离子源灯丝损坏、本底增高、副反应过多,