

色谱技术丛书
化学工业出版社

色 谱 联 用 技 术

汪正范 杨树民 吴侔天 岳卫华 编著

色 谱 联 用 技 术 专 著
CHEMICAL INDUSTRY PRESS
CONGSHU

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

色谱联用技术/汪正范等编著. —北京: 化学工业出版社, 2001
(色谱技术丛书/傅若农主编)
ISBN 7-5025-3031-2

I. 色… II. 汪… III. 色谱法-应用 IV. 0657.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 75591 号

色谱技术丛书

色谱联用技术

汪正范 杨树民 吴侔天 岳卫华 编著

责任编辑: 任惠敏

责任校对: 蒋宇

封面设计: 于兵

*

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982511

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京市燕山印刷厂印刷

北京市燕山印刷厂装订

开本 850×1168 毫米 1/32 印张 9½ 字数 260 千字

2001 年 1 月第 1 版 2001 年 1 月北京第 1 次印刷

印数: 1—4000

ISBN 7-5025-3031-2/TQ·1322

定价: 22.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

色 谱 技 术 丛 书

傅若农 主编

汪正范 刘虎威 副主编

各分册主要执笔者:

《色谱分析概论》	傅若农			
《色谱定性定量》	汪正范			
《气相色谱检测方法》	吴烈钧			
《液相色谱检测方法》	张晓彤	云自厚		
《气相色谱方法及应用》	刘虎威			
《高效液相色谱方法及应用》	于世林			
《平面色谱方法及应用》	何丽一			
《离子色谱方法及应用》	牟世芬	刘克纳		
《毛细管电泳技术及应用》	陈义			
《色谱分析样品处理》	王立			
《色谱联用技术》	汪正范	杨树民	吴侔天	岳卫华
《色谱柱技术》	刘国铨	余兆楼		
《色谱仪器维护与故障排除》	吴方迪			

序

色谱作为一种分离技术与方法，自本世纪初发表第一篇论文算起，已有 100 年的历史，虽然在前 30 多年间这种方法未受到应有的重视，但自 40 年代以后，逐渐得到发展，而且其势头越来越猛，从技术到理论，到各种分离模式，以及在各个科学领域内的应用，得到了突飞猛进的发展，现在已经成为分析化学学科中的一个重要分支。同时为许多重要学科的发展作出了极大的贡献。在人类进入 21 世纪之际，人们面临着在信息科学、生命科学、材料科学、环境科学等领域的快速发展的挑战，在这些领域人才的需求成为国家高度发展的至关重要的因素。而色谱技术是生命科学、材料科学、环境科学必不可少的手段和工具。根据最近的统计在全世界各类分析仪器中气相色谱仪和液相色谱仪的营销总额占 25% ~ 30%。2000 年对各类分析仪器的需求量也以液相色谱仪最多。可以毫不夸张地说，如果没有色谱技术的应用，自然科学和生命科学能发展到今天的这个样子是很难想象的。

有关色谱的各种专著国内外已经出版了许多种，其中多是针对色谱专业人员而写的专著，而缺少一套系统的比较全面的介绍当代色谱技术的丛书，供广大的工厂企业中从事色谱分析的初中级技术人员和科研院所的科技人员，大专院校的研究生，甚至管理人员及有关领导学习参考的书籍。为此化工出版社提议，由北京理化分析测试学会组织编写了这套‘简明扼要，深入浅出，通俗易懂，新颖实用’的色谱技术丛书。这套书以傅若农教授为主编，汪正范教授和刘虎威副教授作副主编。为联系方便，主要请在京的专家来编写，并自 1998 年初开始运作。从方便读者学习角度出发，将色谱技术的主要内容分为 13 册。分别为：傅若农之《色谱分析概论》，刘国诠、余兆楼等之《色谱柱技术》，陈义之《毛细管电泳技术及应用》，于世林之《高效

液相色谱方法及应用》，刘虎威之《气相色谱方法及应用》，云自厚、张晓彤之《液相色谱检测方法》，吴烈均之《气相色谱检测方法》，汪正范之《色谱定性与定量》，汪正范等之《色谱联用技术》，牟世芬、刘克纳之《离子色谱方法及应用》，何丽一之《平面色谱方法及应用》，王立之《色谱分析样品处理》，吴方迪之《色谱仪器维护与故障排除》。这些编著者多是我国目前在教学与科研第一线为色谱科学努力奋进的中青年专家，在书中都反映了色谱领域的基本知识、基本方法和他们自己的宝贵经验以及有关领域的最新成果。这套丛书将给初学色谱的年轻科技工作者提供较完整的学习参考书，也为大中专学生提供一套有用的教学参考书。还应该提出的是，由于得到了安捷伦科技有限（原中国惠普）公司的赞助，这套书的出版才能顺利进行。值此书即将付梓之际，特书此以为序。

周同惠

1999年9月9日

前 言

色谱是一种很好的分离方法，能将复杂的混合物分离成一个个纯组分，但其定性能力较差；各种定性分析方法（如质谱、红外光谱、核磁共振波谱、原子光谱等等）往往只能对纯组分进行定性分析，而对于复杂的混合物就无能为力了。如将色谱仪器和定性分析仪器通过特殊的“接口”联接起来，将色谱分离后的一个个纯组分通过接口送入定性分析仪器，进行定性分析，就可以将色谱仪器的分离能力和定性分析仪器的定性分析能力结合起来，实现对复杂混合物的分析，这是仪器分析工作者长期以来努力的方向。

色谱虽是一种很好的分离方法，但一种分离模式的色谱往往只能分离某些种类的化合物。面对自然界存在的成分复杂的混合物，有时用单一分离模式色谱无法将其组分完全分离开来。这时将不同分离模式的色谱通过特殊的接口联接起来，发挥不同分离模式色谱各自特有的分离能力，就可以将任何一个成分复杂的混合物的所有组分分离开来（理论上是如此）。

色谱-质谱联用是色谱联用技术的热点，气相色谱-质谱联用仪是色谱联用技术中最早商品化的仪器，现已成为一般有机分析实验室的常规分析仪器；随着电喷雾电离/大气压化学电离接口技术的成熟，以及生物大分子分析的需求，近年来液相色谱-质谱联用技术受到人们的关注，有了迅速发展，仪器也已商品化。作者们根据自己多年的工作经验，对色谱-质谱联用技术中的一些关键问题作了详细论述。

色谱-红外光谱联用随着傅里叶变换红外光谱的出现成为可能，目前已有商品化的气相色谱-傅里叶变换红外光谱仪。但是，由于液相色谱流动相的去除问题（特别是反相液相色谱）尚未得到很好的解决，目前提出的一些接口仍存在各种各样的问题，使得液相色谱-傅里叶变换红外光谱联用技术还处于研究状态，距离实际应用还有一段距离。

色谱-原子光谱的联用是近年来研究某些元素的存在价态和形态不同，对人体健康和环境危害的影响有何不同时迅速发展起来的。由于色谱-原子光谱联用中的接口技术比较简单，大部分工作是研究工作，目前的色谱-原子光谱联用装置多是由研究工作者自己组装的。作者对各种接口作了一些介绍。

色谱-色谱联用在于提高色谱的分离能力，在 30 年前就有商品的气相色谱-气相色谱联用仪用于工业生产的质量控制。但是，在实验室中研究工作者还是愿意用自己研制的各种接口将不同分离模式的色谱联接起来，进行分析研究工作。作者对这些接口作了一些介绍。在色谱-色谱联用技术中，近年来最有吸引力的是“全二维色谱”，其峰容量是二柱峰容量之积，大大超过传统的二维色谱（其峰容量是二柱峰容量之和），为实现快速色谱提供了条件。

本书的第一章、第五章和第六章由汪正范编写；第二章由吴侔天编写；第三章由杨树民编写；第四章由岳卫华编写；全书由汪正范统稿。

由于笔者的知识和能力有限，本书中一定存在很多错误和不足之处，希望广大读者原谅，并希望能及时指出，以便更正。

本书编写过程中得到安捷伦（原惠普）公司大力支持，提供了很多有关材料，在此表示感谢。

全书承傅若农教授审阅，并提出了很多宝贵意见，在此表示衷心感谢。

编 者

2000 年 8 月

内 容 提 要

本书主要介绍了色谱-质谱、色谱-傅里叶变换红外光谱、色谱-原子光谱和色谱-色谱联用技术。

书中首先简单地介绍了质谱、傅里叶变换红外光谱和原子光谱仪器的结构、工作原理,以及它们与色谱联用时的接口的一般要求。在色谱-质谱联用技术中,除了对已成为实验室中常用分析方法的气相色谱-质谱联用技术及近年来发展迅速、越来越受人们关注的液相色谱-质谱联用技术都作了较详细地介绍外,对毛细管电泳-质谱联用技术也作了简要介绍。在色谱-傅里叶变换红外光谱联用技术中,除了对已有商品仪器的气相色谱-傅里叶变换红外光谱联用技术作了介绍,还对技术尚不成熟的液相色谱-傅里叶变换红外光谱联用技术作了简单介绍,对薄层色谱-傅里叶变换红外光谱联用技术也作了简单介绍。在色谱-原子光谱联用技术中分别介绍了气相色谱和液相色谱分别与原子吸收光谱和原子发射光谱联用的进展。在色谱-色谱联用技术中介绍了气相色谱-气相色谱、液相色谱-液相色谱、液相色谱-气相色谱及其他各种不同分离模式色谱联用技术。在介绍各种联用技术时都给出了一些应用实例。

本书可供从事色谱分析的人员及大中专院校相关专业师生学习参考。

目 录

第一章 绪论	1
第一节 色谱联用技术概况	1
一、色谱联用的目的	1
二、色谱联用中的“接口”	2
三、常用色谱联用技术	3
第二节 质谱简介	6
一、质谱仪器	6
(一) 真空系统	6
(二) 进样系统	8
(三) 离子源	9
(四) 质量分析器	14
(五) 检测器	19
(六) 计算机系统	20
二、质谱谱图解析	22
第三节 傅里叶变换红外光谱简介	29
一、傅里叶变换红外光谱仪器	29
二、红外光谱谱图解析	37
(一) 红外光谱的产生	37
(二) 红外光谱中的几种振动形式及其表示符号	39
(三) 红外光谱谱图解析的一般程序	41
第四节 原子光谱简介	50
一、原子光谱的产生及应用	50
二、原子吸收光谱仪	52
(一) 基本结构和工作原理	52
(二) 主要部件	53
三、原子发射光谱仪	56
(一) 基本结构和工作原理	56

(二) 主要部件	56
四、原子荧光光谱仪	60
(一) 基本结构和工作原理	60
(二) 主要部件	60
参考文献	62
第二章 气相色谱-质谱联用	63
第一节 气相色谱-质谱联用仪器系统	63
一、GC-MS 系统的组成	63
二、GC-MS 联用中主要的技术问题	64
三、GC-MS 联用仪和气相色谱仪的主要区别	64
四、GC-MS 联用仪器的分类	67
五、一些主要的国外 GC-MS 联用仪产品简介	67
第二节 气相色谱-质谱联用的接口技术	73
一、GC-MS 联用接口技术评介	73
二、目前常用的 GC-MS 接口	74
第三节 气相色谱-质谱联用中常用的衍生化方法	78
一、一般介绍	78
二、硅烷化衍生化	80
(一) 衍生化试剂	80
(二) 硅烷化衍生化方法	81
三、酰化衍生化	89
四、烷基化衍生化	92
第四节 气相色谱-质谱联用质谱谱库和计算机检索	94
一、常用的质谱谱库	94
二、NIST/EPA/NIH 库及其检索简介	95
三、使用谱库检索时应注意的问题	97
四、互联网上有关 GC-MS 和 MS 的信息资源	98
第五节 气相色谱-质谱联用技术的应用	101
一、GC-MS 检测环境样品中的二噁英	102
二、GC-MS 在兴奋剂检测中的应用	108
三、GC-MS-MS 区分空间异构体	109
四、常用于 GC-MS 检测提高信噪比的方法	109
五、GC-MS (TOF) 的应用	116

参考文献	120
第三章 液相色谱-质谱联用	122
第一节 液相色谱-质谱联用的接口	123
一、直接液体导入接口	123
二、移动带技术	123
三、热喷雾接口	124
四、粒子束接口	125
五、快原子轰击	126
六、激光解吸离子化和基质辅助激光解吸离子化	127
七、电喷雾电离	128
八、多种电喷雾接口技术及相应的术语	129
九、LC-MS 商品仪器简介	130
第二节 电喷雾电离和大气压化学电离接口与质谱联机	132
一、电喷雾电离接口的结构和工作原理	132
二、接口的碰撞诱导解离 (CID) 功能	134
三、多电荷离子的产生与大分子分子量计算	134
四、APCI 接口的结构及工作原理	135
五、样品导入方式	136
六、流动相化学	137
七、联机的流量匹配和参数优化	138
第三节 ESI 和 APCI 的离子化机制	139
一、ESI 的离子化机制	139
二、APCI 的离子化机制	143
第四节 碰撞诱导解离质谱及其解释	144
一、电子轰击碎片化与碰撞诱导解离的区别	144
二、 $(M+H)^+$ 和其他分子加成物的 CID 碎片	145
三、碰撞诱导解离的效率	145
四、碰撞诱导解离质谱的解释	145
第五节 LC-MS 分析条件的选择和优化	151
一、接口的选择	151
二、正、负离子模式的选择	152
三、流动相和流量的选择	152
四、温度的选择	153

五、系统背景的消除	153
六、柱后补偿技术	154
第六节 样品制备	154
第七节 LC-MS 技术的应用	157
一、小分子化合物	157
(一) 药物及其代谢物的分析	157
(二) 甘草活性成分甘草酸的 ESI (一) -CID 质谱分析	166
(三) 胃液中 <i>N</i> -甲基亚硝基脲的检测	167
二、大分子化合物	167
(一) 利用多重电荷离子测定肽类、蛋白质大分子的分子量	167
(二) 多电荷离子用于蛋白质酸诱导构象变化的观察	169
(三) 蛋白质的一级结构测定	171
(四) 分子生物学与 LC-MS	175
三、LC-MS 定量分析的评价	179
(一) 重现性和线性范围	179
(二) 分析实例: 辛伐他汀的定量	179
第八节 毛细管电泳-质谱联用技术及应用	181
一、毛细管电泳和质谱联用的接口	181
二、毛细管电泳和质谱联用时应注意的问题	183
三、毛细管电泳和质谱联用技术的应用	183
参考文献	185
第四章 色谱-傅里叶变换红外光谱联用	187
第一节 气相色谱-傅里叶变换红外光谱联用	188
一、GC-FTIR 联用系统的组成	188
二、GC-FTIR 联用的接口	189
三、GC-FTIR 计算机数据采集与处理	192
四、影响 GC-FTIR 结果的因素及实验条件的优化	196
(一) GC 参数与操作条件的选择	196
(二) 光管接口的影响	197
(三) FTIR 光谱仪对 GC-FTIR 联机检测的影响	198
五、GC-FTIR 联用技术的应用	198
(一) 炼油厂废水分析	198
(二) 香烟主流烟气的分析	200

(三) 复杂香精油的分析	201
(四) GC-FTIR 在未知物剖析中的应用	203
六、常用商品 GC-FTIR 联用系统简介	203
第二节 液相色谱-傅里叶变换红外光谱联用	206
一、LC-FTIR 联用系统的组成	206
二、LC-FTIR 联用的接口	207
(一) 流动池接口	207
(二) 流动相去除接口	209
(三) 两种接口的比较	213
三、LC-FTIR 联用技术的应用	214
第三节 薄层色谱-傅里叶变换红外光谱联用	216
一、原位 TLC-FTIR 法	216
二、自动洗脱物转移法	217
三、TLC-FTIR 联用技术的应用	218
第四节 超临界流体色谱-傅里叶变换红外光谱联用	220
一、流动池法	220
二、流动相去除法	221
三、SFC-FTIR 联用技术的应用	222
参考文献	222
第五章 色谱-原子光谱联用	224
第一节 概述	224
第二节 气相色谱-原子光谱联用技术及其应用	225
一、气相色谱-火焰原子吸收光谱联用	225
二、气相色谱-等离子体原子发射光谱联用	227
三、气相色谱用的原子发射检测器	231
第三节 超临界流体色谱-原子光谱联用技术及其应用	233
第四节 液相色谱-原子光谱联用技术及其应用	234
一、液相色谱-火焰原子吸收光谱联用	234
二、液相色谱-等离子体原子发射光谱联用	237
参考文献	242
第六章 色谱-色谱联用	243
第一节 概述	243
第二节 气相色谱-气相色谱联用	245

一、阀切换	245
二、无阀气控切换	247
三、在线冷阱	248
四、全二维气相色谱	250
五、GC-GC 联用技术的应用	252
第三节 液相色谱-液相色谱联用	257
一、多通阀的切换	258
二、LC-LC 联用技术的应用	260
第四节 液相色谱-气相色谱联用	264
一、保留间隙技术	265
二、LC-GC 联用技术的应用	268
第五节 其他色谱-色谱联用技术	271
一、超临界流体色谱-超临界流体色谱联用	271
二、液相色谱-超临界流体色谱联用	271
三、超临界流体色谱-毛细管气相色谱联用	275
四、液相色谱-毛细管电泳联用	276
五、液相色谱-薄层色谱联用	282
参考文献	283
符号表	284

第一章 绪 论

第一节 色谱联用技术概况

一、色谱联用的目的

色谱是一种很好的分离手段，可以将复杂的混合物中的各个组分分离开，但它的定性、定结构的能力较差，通常只是利用各组分的保留特性来定性，这在欲定性的组分完全未知的情况下进行定性分析就更加困难了。而随着一些定性和定结构的分析手段——质谱（mass spectrometry, MS），红外光谱（infrared spectrometry, IR），紫外光谱（ultraviolet spectrometry, UV），原子吸收光谱（atomic absorption spectrometry, AAS），等离子体发射光谱（inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, ICP-AES），核磁共振波谱（nuclear magnetic resonance spectrometry, NMR）等技术的发展，确定一个纯组分是什么化合物，其结构如何已是比较容易的事。在这些定性、定结构的分析仪器发展初期，为了给色谱分离后的某一纯组分定性、定结构，人们往往是将色谱分离后的欲测组分收集起来，经过一些处理，将欲测组分浓缩和除去干扰物质后，再利用上述定性、定结构的分析技术进行分析。这种联用是脱机、非在线的联用。

一种色谱分离模式往往很难将一个复杂的混合物中的所有组分都很好地区分开，人们往往将未能完全分离的几种组分的混合物收集起来，再用另一种分离模式的色谱去进行分离。这是不同分离模式的色谱和色谱的联用。早期的这种色谱-色谱联用分析也是脱机的、非在线的联用。

脱机、非在线的色谱联用只是将色谱分离作为一种样品纯化的手段和方法，操作很烦琐，在收集色谱分离后的欲测组分及收集后的再处理时也容易发生样品的玷污和损失。因此，实现联机、在线的色谱

联用是分析化学工作者努力的目标。本书讨论的色谱联用技术就是指色谱仪器和一些有定性、定结构功能的分析仪器——质谱仪 (MS)、傅里叶红外光谱仪 (FTIR)、傅里叶变换核磁共振波谱仪 (FT-NMR)、原子吸收光谱仪 (AAS)、等离子发射光谱仪 (ICP-AES) 等等仪器的直接、在线联用。此外还包括色谱仪器之间的直接、在线联用——多维色谱技术。前一类色谱联用的目的在于增强色谱分析的定性能力，而后一类色谱联用的目的在于使单一分离模式分不开的复杂混合物在使用多种分离模式的色谱联合使用后得到很好的分离。

二、色谱联用中的“接口”

本书讨论的色谱联用技术就是将一种色谱仪器 (GC, HPLC, TLC, SFC 或 CE) 和前面所述的另一种仪器 (如: MS, FTIR, FT-NMR, AAS, ICP-AES 以及各种色谱仪器) 通过一种称为“接口” (Interface) 的装置直接联接起来，将通过色谱仪器分离开的各种组分逐一通过接口送入到第二种仪器中进行分析。因此，接口是色谱联用技术中的关键装置，它要协调前后两种仪器的输出和输入间的矛盾。接口的存在既要不影响前一级色谱仪器对组分的分离性能，又要同时满足后一级仪器对样品进样的要求和仪器的工作条件。接口将两种分析仪器的分析方法结合起来，协同作用，取长补短，获得了两种仪器单独使用时所不具备的功能。从某种意义上讲，通过“接口”联接起来的联用仪器已是一种新的仪器了，越来越多的联用仪成为商品化的仪器，给分析工作者提供了极大的方便。

在色谱联用中对接口的一般要求是：

①可进行有效的样品传递，通过接口进入下一级仪器的样品应不少于全部样品的 30%，以保持整个联用仪器的灵敏度；

②样品通过接口的传递应具有良好的重现性，以保证整个分析的重现性良好；

③接口应当容易满足前级色谱仪器和后一级仪器任意选用操作模式和操作条件；

④样品在通过接口时一般应不发生任何化学变化，如发生化学变化，则要遵循一定规律，通过后一级仪器分析结果，可推断出发生化

学变化前的组成和结构（如 HPLC-MS 的电喷雾接口和 APCI 接口）；

⑤接口应保证前级色谱分离产生的色谱峰的完整，并不使色谱峰加宽（即不影响前级色谱的分离柱效）；

⑥接口本身的操作应简单、方便、可靠，样品通过接口的速度要尽可能的快，因此要求接口尽可能的短。

除上述的一般要求外，根据联用仪器的不同特点，对接口还会有不同的要求，这将在不同的联用技术中专门进行讨论。

三、常用色谱联用技术

除色谱-色谱联用仪外，色谱联用仪的后一级仪器实质上是前级色谱仪的一种特殊的检测器，就此意义而言，带有紫外-可见光度检测器（包括二极管阵列检测器，扫描型紫外-可见分光光度检测器）的高效液相色谱仪或毛细管电泳仪就可以被认为是高效液相色谱仪或毛细管电泳仪与紫外-可见分光光度计联用的联用仪。而目前发展迅速的小型台式质谱仪（四极或离子阱质谱仪）已成为气相色谱仪的一种专用检测器——质谱检测器（MSD）。而原子发射检测器（AED）也已成为气相色谱的一种专用检测器。

1. 色谱-质谱联用

（1）气相色谱-质谱联用 在色谱联用仪中，气相色谱-质谱（GC-MS）联用仪是开发最早的色谱联用仪器。由于从气相色谱柱分离后的样品呈气态，流动相也是气体，与质谱的进样要求相匹配，最容易将这两种仪器联用。因此最早实现商品化的色谱联用仪器就是气相色谱-质谱联用仪。现在小型台式 GC-MS 已成为很多实验室的常规使用仪器了。本书第二章中将对气相色谱-质谱联用技术作详细的介绍。

（2）液相色谱-质谱联用 液相色谱-质谱联用（LC-MS）要比气相色谱-质谱联用困难的多，主要是因为液相色谱的流动相是液体，如果让液相色谱的流动相直接进入质谱，则将严重破坏质谱系统的真空，也将干扰被测样品的质谱分析。因此液相色谱-质谱联用技术的发展比较慢，出现过各种各样的接口，但直到电喷雾电离（ESI）接口和大气压电离（API）接口出现，才有了成熟的商品液相色谱-质谱联用仪。由于有机化合物中的 80% 不能气化，只能用液相色谱分离，特别是近年