

现代仪器联用分析

张志荣 主编

成都科技大学出版社

现代仪器联用分析

编著 张志荣 胡清学 叶利民

审阅 伍朝箕 朱钦德

成都科技大学出版社

现代仪器联用分析

张志荣 主编

成都科技大学出版社出版发行
四川省新华书店经销
成都市石岭丝印铭牌厂印制
开本 850×1168 毫米 $1/32$ 印张 5.6
1990年6月第1版1990年6月第1次印刷
印数：1~5000册 字数：146千字

ISBN7-5616-0446-7/TQ·38

定价：2.10元

编写说明

现代仪器联用分析是仪器分析的发展方向,国外在有关理论和应用方面已有不少研究和实践,在国内正方兴未艾。但缺少系统阐述现代仪器联用分析的专著。编者曾为药学院学过仪器分析课程的本科生开设《现代仪器联用分析》选修课,在修改该课程讲义的基础上编成本书。可供药学院(系)和卫生检验、法医化学、仪器分析等专业的本科生和研究生作为教材,也可供其他大专院校师生和从事分析检验工作的人员参考。

本书在介绍色谱、光谱、质谱法的某些原理和新进展的基础上,以仪器的联机联用为骨干,阐述色谱、光谱、质谱仪之间的联机原理、仪器结构、工作原理、功能、特点和在微量、痕量分析上的应用。重点论述色谱-光谱和色谱-质谱联用仪,如薄层扫描仪(TLCS)、高效液相色谱-光二极管阵列光谱仪(HPLC-PDA)、气相色谱-富里叶变换红外光谱仪(GC-FTIR)、气相色谱-质谱仪(GC-MS)、高效液相色谱-质谱仪(HPLC-MS)等对光谱-质谱联用仪(如ICP-MS和GD-MS)及样品的预处理也作了简介。旨在为读者解决分析测试问题提供思路。

本书共五章,其中第五章由成都制药六厂胡学清编写,第二章第二节由华西医科大学叶利民编写。在编写过程中,编者参考了近年来国内外的有关资料,力求反映现代仪器联用分析的概况和发展。由于编者水平有限,有不周之处。恳请读者批评指正。

在本书的出版过程中,得到了中华医学遗传学杂志编辑室同志的帮助。初稿完成后,由药物分析学伍朝贯教授和仪器分析学朱钦德教授进行了审阅并提出了修改和增补意见。特此致谢。

编 者

一九八八年秋于华西医科大学

目 录

第一章 绪论	(1)
一、仪器联用分析是仪器分析发展的趋势	(1)
二、现代仪器联用分析的范畴	(3)
第二章 色谱-光谱联用分析	(5)
第一节 薄层光密度扫描分析	(6)
一、原理	(7)
二、薄层光密度扫描仪	(16)
(一) 工作原理	(16)
(二) 基本功能	(17)
(三) 检测方式	(21)
三、薄层扫描测定的操作步骤	(21)
四、应用	(25)
(一) 在毒物分析中的应用	(26)
(二) 在体内药物分析中的应用	(27)
(三) 在中草药及其制剂分析中的应用	(28)
第二节 气相色谱-富里叶变换红外光谱联用	(28)
一、富里叶变换红外光谱	(29)
(一) 历史和发展	(29)
(二) 富里叶变换红外光谱的基本原理	(30)
(三) 富里叶变换红外光谱的优点	(35)
(四) 富里叶变换红外光谱仪	(37)
二、气相色谱-富里叶变换红外光谱联用仪	(47)
(一) 历史和发展	(47)
(二) GC-FT-IR结构及功能	(49)
三、应用实例	(57)
第三节 高效液相色谱-光谱联用分析	(62)
一、高效液相色谱-二极管阵列光谱仪	(62)

(一) 结构和工作原理	(63)
(二) 主要特点和功能	(65)
(三) 在药学分析中的应用	(70)
二、高效液相色谱-光谱联用仪的新进展	(71)
(一) 红外光谱检测器	(71)
(二) 核磁共振检测器	(73)
(三) 原子吸收及原子发射检测器	(75)
第三章 色谱-质谱联用分析	(78)
第一节 与色谱-质谱联用有关的质谱法基础	(79)
一、概述	(79)
二、进样系统	(82)
三、离子源	(83)
四、质量分析器	(84)
五、离子检测和记录	(91)
六、质谱仪的真空要求	(93)
第二节 与色谱-质谱联用有关的色谱法基础	(95)
一、与色谱-质谱联用有关的气相色谱问题	(95)
(一) 柱类型	(95)
(二) 固定相的选择	(98)
(三) 载气	(99)
(四) 进样器	(100)
二、与色谱-质谱联用有关的高效液相色谱问题	(101)
(一) 液相色谱柱	(102)
(二) 固定相	(103)
(三) 流动相	(104)
(四) 进样器	(105)
第三节 色谱-质谱连接装置	(105)
一、概述	(105)
(一) 色谱仪与质谱仪联机须解决的矛盾	(106)

(二) 衡量色谱-质谱联用仪接口性能的指标	(106)
二、气相色谱-质谱接口	(107)
(一) 直接导入接口	(107)
(二) 分子分离器	(108)
三、高效液相色谱-质谱接口	(119)
(一) 传送带式接口	(119)
(二) 液体直接进样系统	(120)
(三) 热喷雾式接口	(122)
第四节 色谱-质谱联用分析图谱	(126)
一、质谱图和质量碎片图谱	(126)
二、色谱图和总离子流色谱图	(128)
(一) 色谱辅助鉴定器法	(128)
(二) 总离子检测器法及其它方法	(128)
(三) 质谱仪重复快速扫描法	(129)
三、重建离子色谱图和质量色谱图	(131)
(一) 重建离子色谱图	(131)
(二) 质量色谱图	(132)
第五节 色质联用在药(毒)物分析中的应用	(132)
一、在体内药(毒)物及其代谢物分析中的应用	(132)
二、在中草药分析中的应用	(136)
三、在药物降解产物研究中的应用	(139)
四、在环境毒物分析上的应用	(141)
第四章 其它仪器联用分析简介	(143)
第一节 电感耦合等离子体质谱分析	(143)
一、电感耦合等离子体的产生和应用	(143)
(一) 等离子体的概念	(144)
(二) 电感耦合等离子体的产生和应用	(145)
二、电感耦合等离子体质谱仪	(146)
(一) 试样引入系统	(147)

(二) ICP-MS联用仪接口	(150)
(三) 质谱仪和数据处理系统	(151)
三、应用	(152)
(一) 在医学中的应用	(152)
(二) 在环境监测上的应用	(152)
(三) 在地质学上的应用	(153)
(四) 有机质中的元素分析	(153)
第二节 辉光放电质谱分析	(154)
一、辉光放电离子化原理	(155)
二、辉光放电质谱仪	(157)
(一) 辉光放电取样器	(157)
(二) 辉光放电质谱仪整机	(158)
三、在分析化学上的应用	(159)
(一) 块状金属分析	(159)
(二) 压制样品分析	(160)
四、发展前景	(160)
第五章 试样的预处理	(162)
第一节 被测物的分离	(162)
一、萃取	(162)
(一) 液-液萃取法	(162)
(二) 液-固萃取法	(168)
(三) 超滤法	(169)
二、净化与浓缩	(170)
(一) 液-液提取净化	(170)
(二) 柱层析净化	(170)
(三) 薄层层析净化	(171)
(四) 浓缩	(171)
第二节 被测物的结构改造	(172)
一、被测物的分解	(172)

二、衍生化.....	(172)
(一) 适于气相色谱进样的衍生化.....	(173)
(二) 适于HPLC进样的衍生化.....	(174)

第一章 绪 论

一、仪器联用分析是仪器分析发展的趋势

仪器分析是指那些采用比较复杂或特殊的仪器设备,通过测量能表征物质的某些物理或物理化学性质来确定其化学组成、含量及化学结构的一类分析方法。

近10多年来,电子技术,计算机技术等新技术的发展,使老的仪器分析方法在不断地改进,新的仪器分析方法在不断地出现,许多化学分析方法也在逐渐地仪器化。总起来讲,现代仪器分析具有以下一些特点。

1. 分析的准确度已大大改善

由于仪器分析常是微量、痕量分析,所以其相对误差常较大。目前,由于计算机技术的应用,仪器的自动化程度提高了,人为操作造成的误差大大减小,所以准确度有很大提高。对于常量分析,相对误差可降到0.01%以下,对于痕量分析,相对误差可降到1~10%。

2. 检测灵敏度高

现代的许多仪器分析方法已能对体积小至 10^{-12} ml,含量为 10^{-14} g或浓度在 $10^{-10}\%$ 以下的样品进行分析。如质谱法、中子活化分析法、放射免疫分析法等。

3. 分析速度快

由于新的电子技术和计算机的应用,很多分析方法的自动化程度已相当高,可在很短的时间内完成一个分析周期。

但是各类仪器分析方法都有它自己的应用范围和一系列优越性,但也有其不足之处,在使用上有一定局限性。

近年来,复杂样品中微量、痕量、超痕量物质的分离和检测已成为化学、生物学、医药学、环境卫生学等各学科中的重要环节。

在卫生学上,要求能从人体中分离测定多种痕元量素,以寻

找影响人体生长发育、健康及生命的因素。

在环境监测上，需要从水、空气、泥土等样品中分离检测痕量及超痕量的有害物质。

在天然产物化学工作中，要求能分离并鉴定天然产物中的微量具有生理活性的物质，以寻求新的资源。

在临床医药学上，常需测定人体体液中的痕量内源性物质以诊断疾病；还常需监控用药者体内药物浓度，以利安全、有效、合理用药。

在法医学上，要求能快速地从体液、分泌物、排泄物及新鲜或腐败的人体器官组织中分离检测痕量毒物或其代谢物、分解物以协助侦查、审判案件。

凡此种种，除了所用分析方法要有很高的灵敏度和准确度，有时要求高速度外，更重要的是要求分析方法必须有很强的分离能力和识别能力。所谓分离能力就是从复杂样品中分离出被测物的能力，所谓识别能力就是对被分析未知物质的鉴定能力。然而，纵观整个现代的单一仪器分析方法，大多数方法都不能同时满足这两种要求。这就是单一仪器分析方法的致命弱点。

任何科学的发展都取决于社会实践的需要。正是由于现代科学提出了新的要求，而单一仪器分析方法又无法解决，才出现了将单一仪器联用的科学设想和现实。

50年代以后为解决复杂混合物的分离而建立的色谱法，特别是气相色谱法和高效液相色谱法，其分离效能已达到能分离光学异构体的水平，以后陆续发展起来作为它们的检测器(detector)的部分，实际上多数是将其他仪器方法加以改进后与它们的联用。如气相色谱法的火焰光度检测器实际上就是将改进了结构的火焰光度计与之联用；高效液相色谱法的差示折光检测器、荧光检测器、紫外检测器等也是如此。这些就是仪器联用分析的开始。

通过实践，科学家们认识到，将各具有某一优势（如分离或识别能力强）的多种仪器联结起来，互相取长补短，将会发挥更

大的效用。近10多年来，许多联用仪器不断地出现，解决了大量实际问题。这就使仪器联用分析成了现代仪器分析发展的必然趋势。

二、现代仪器联用分析的范畴

广义地说，凡是两种或两种以上分析测试原理相同或不相同的仪器的联机，都属于仪器联用分析的范畴。如前所述的色谱仪的检测器等。由于这些内容大部分已包括在普通仪器分析书籍内，所以本书只讨论那些现代的较大型精密分析仪器之间的联机原理、特点及应用。同时也讨论一些新型的属于检测器的，但普通仪器分析书未涉及的联用问题。因此，从这一角度讲，现代仪器联机分析包括以下5类：

1. 色谱仪和质谱仪的联机分析

简称色质联用分析。包括气相色谱仪和质谱仪的联机，高效液相色谱仪与质谱仪的联机。这类仪器是目前应用较广的高分离和鉴定能力的仪器。

2. 色谱仪和光谱仪的联机分析

主要包括薄层色谱与紫外分光光度计的联用，气相色谱仪与红外光谱仪的联用，高效液相色谱仪与紫外分光光度计、核磁共振仪、圆二色散仪等的联用分析。

3. 光谱仪和质谱仪的联用分析

主要包括电感耦合等离子体发光分析仪与质谱仪的联用，气相色谱、红外光谱仪和质谱仪三联用等。

4. 质谱仪与质谱仪联机分析

是将两台或两台以上质谱仪联机分析。目前已有三级四极质谱联用仪上市。

5. 光谱仪与光谱仪联机分析

如电感耦合等离子体发光分析仪与原子荧光光谱仪联机仪。

此外，尚有色谱仪与色谱仪联机分析，如将高效液相色谱仪与气相色谱仪联机使用等。

现代仪器联用分析正在突飞猛进的发展，目前已成型的仪器非仅于此，以上列举的也不可能逐一讨论。编著本书之目的在于使读者了解目前仪器分析发展的趋势，增加仪器分析的新概念、新知识及解决分析化学疑难的途径。

第二章 色谱-光谱联用分析

色谱法（特别是气相色谱法和高效液相色谱法）具有很高的分离能力。气相色谱可以将石油馏份中的上百个同系物分离开；高效液相色谱可以从人尿中分离出106种有紫外吸收的物质，并能分离光学异构体。这是其他任何仪器分析方法都不能及的。遗憾的是，在出现仪器联用分析以前的一些检测器，如气相色谱的热导率检测器，高效液相色谱的折光率检测器常由于灵敏度差，稳定性差，选择性差而使它们的应用受到限制。常能把物质分离开，但不能得到鉴定和测定。

多年来，通过科学家的努力，实现了灵敏度高、选择性较好的光谱仪与气相色谱、液相色谱、薄层色谱的联机分析。从而大大地简化了操作，扩展了色谱的应用。

近年来已出现的色谱-光谱联用仪器不下20种。例如，薄层光密度扫描仪或称薄层扫描仪（TLC-Scanner），高效液相色谱光二极管阵列检测仪（HPLC-PDA），高效液相色谱核磁共振联用仪，高效液相色谱旋光联用仪^[1~4]，高效液相色谱圆二色散联用仪^[1,5~8]，高效液相色谱红外光谱仪，高效液相色谱原子吸收光谱仪，高效液相色谱电感耦合等离子体光谱仪，高效液相色谱电子自旋共振仪^[7~11]，气相色谱红外光谱仪等。这些仪器多数已有应市产品，少数还在试制阶段。其中，目前已普遍推广使用的有薄层扫描仪，高效液相色谱光二极管阵列检测仪，气相色谱红外光谱仪。

第一节 薄层光密度扫描分析

薄层光密度法（Thin-Layer Densitometry）又称薄层原位光密度法（Thin-Layer in Situ Densitometry），通常称为薄层光

密度扫描法 (TLCS)。它是指被分离物在紫外或可见光区有吸收或可发射荧光的条件下, 利用薄层扫描仪直接对薄层上的斑点进行光密度测定。根据所测得的光密度值对被测物进行定性定量分析的方法。这种方法灵敏度高, 操作方便快捷, 误差可小到1%。

原位光密度法最早是30年代末, 40年代初应用在电泳薄膜和纸色谱上。当时的测定仪器较简单, 定量的误差较大, 常高于5%。这是由于在固体介质上, 物质的量与其吸光度不符合Beer定律, 同时, 固体介质的均匀度较之溶液差得多。直到50年代后期, 由于Kubelka-Munk固体散射理论的应用, 才使这一方法有了很大改进, 并应用于薄层色谱原位光密度定量上。

1958年, Blank等首先应用了薄层扫描测定法^[12]。60年代初出现了多种型号的采用透射法和反射法两种测定方式的薄层光密度扫描仪。1964年, Boak和Connors等在薄层扫描仪中装入荧光附件后, 发展了薄层荧光扫描测定法^[13]。1966年, Jork又对仪器进行了改造, 使其不但可测薄层斑点(以下简称色斑)在某波长处的吸光度或荧光强度, 而且还可对色斑进行波长扫描, 得到吸收或发射光谱^[14]。1968年, Stahl和Jork研究了Kubelka-Munk函数在薄层光密度扫描中的应用, 采用校正系数对扫描曲线进行校正, 使薄层扫描法的应用产生了一个飞跃^[15]。70年代, Touchstone等采用双光束双波长薄层扫描仪、锯齿扫描方式和基线平滑化等技术, 大大地减少了薄层板的背景值和测定噪音, 使该法的灵敏度大为提高^[16]。80年代以来, 薄层扫描实现了电脑化, 扫描机械的精度也已达相当高的水平, 使该法的重现性得到很大改善。至今, 该法已成为仪器分析中成熟的测定方法。

薄层扫描测定的灵敏度、重现性取决于仪器和薄层板两个方面。目前, 影响测定灵敏度的主要因素是仪器和薄层显色的灵敏度, 影响测定重现性的主要因素是薄层板的质量。如何制备出规格化的薄层板是提高薄层扫描测定质量的关键。

一、原理

光照射到光滑镜面上时 光的反射角等于入射角，这就是直接反射，也称正常反射。当入射光照射到一个表面粗糙的小颗粒上时，反射光的方向是任意的，没有角度分布。这种反射称为漫反射，也叫散射 (scatte)。

当一束强光为 I_0 的光照射到由很多细小固体颗粒组成的薄层上时，一部分光被薄层表面正常反射，剩余的部分则进入薄层。在薄层内部，一方面，光在颗粒界面发生散射，散射强度是散射系数 (coefficient of scatting) S 与薄层厚度 X 的乘积，即 SX 。另一方面，如果薄层内部存在吸光的被测物，光在薄层内的传播过程中，会逐渐被吸收并转变成热，被吸收的光的强度与照射光强度和吸光物的吸光系数 K 成正比， K 与薄层厚度 X 的乘积 KX 就是吸光强度，实质上它代表了吸光物的量。光在薄层内部经过多次的散射和吸收后，一部分光返回表面，从薄层正面离开薄层，称为反射光；一部分光透过薄层从薄层背面离开薄层，称为透射光。这些从薄层正面反射或从背面透射的光与薄层中被测物的含量有一定的关系，它们的强度可作为定量测定的依据。

要用数学式精确地表达光在薄层内部的传播情况和与吸光物的定量关系是极困难的。

Kubelka-Munk理论采用近似办法来解决这一困难。它假设：

1. 在薄层内部的光都只在垂直于薄层面的方向(向薄层正面和薄层反面两个方向)传播，如图2·1所示 (17)。

2. 当被测物浓度低时。其浓度不随薄层深度而变。

3. 薄层内部的颗粒 (固定相和粘合剂) 对照射光的吸收系数和散射系数都不随照射光的波长而变，即 K 和 S 是常数。也即吸收系数和散射系数对照射光波长的图是一条平行于波长轴的直线。

*这些假设与实际情况有相当大的不符。首先，光在薄层内部的传播并不是定向的，而是有散射引起的向各个方向的传播。其次被测物的浓度实际上是随薄层深度而变的，常是薄层表面浓，下层稀。但是，即使如此，这些假设还是必不可少的，否则，将无法对其进行数字描述。

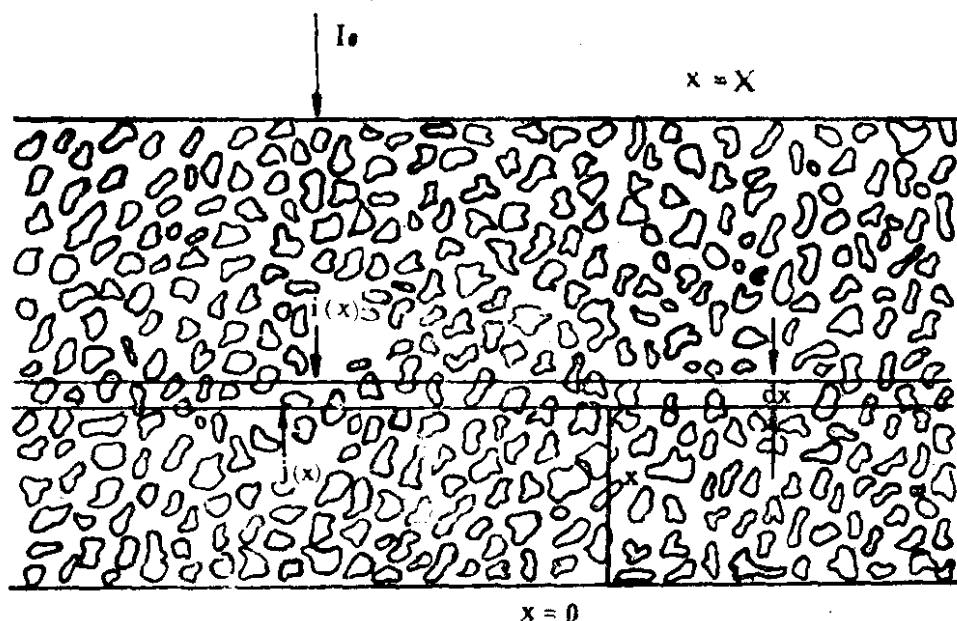


图 2.1 光在薄层内部的传播示意图

根据这些假设，光在薄层内的传播情况就可以用以下微分方程组表示：

$$\begin{cases} \frac{-di}{dx} = -(S+K) \cdot i + S \cdot j \\ \frac{dj}{dx} = -(S+K) \cdot j + S \cdot i \end{cases} \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \text{边界条件: } x=0 \quad i &= I_0 T \quad j=0 \\ x=X \quad i &= I_0 \quad j=I_0 \cdot R \end{aligned}$$

T 为透射率， R 为反射率。

为了研究反射光强度 j 及透射光强度 i 与薄层内物质质量 KX 的关系，就需要求解上述微分方程组。

据薄层色谱工作者的实验研究发现，反射光强度 j 及透射光强度 i 与薄层内物质质量 KX 的关系不是直接关系，而是指数关系，因此，可以设想方程组(1)的解具有以下形式：

$$\begin{cases} i = U \cdot e^{\lambda x} \\ j = V \cdot e^{\lambda x} \end{cases} \quad (2)$$