



中国科学院水生生物研究所

INSTITUTE OF HYDROBIOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

分析测试中心

气相色谱-质谱联用仪 (GCMS) 的原理 及在小分子化合物检测中的应用



左艳霞



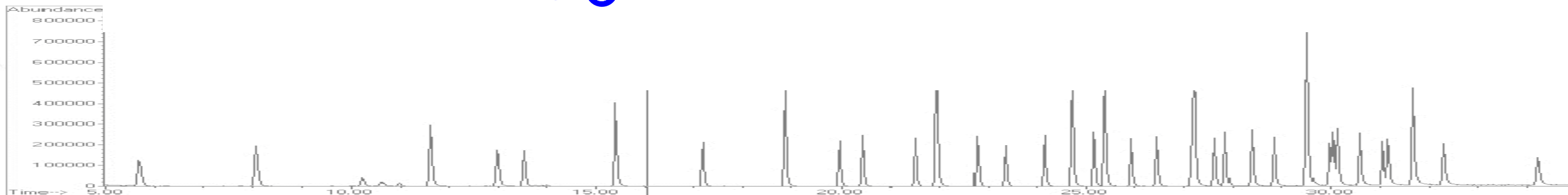
分析测试中心



027-68780321



2020年7月3日





报告目录

- 一. 化学分析和环境仪器平台介绍
- 二. 气相色谱-质谱联用仪 (GCMS) 原理
- 三. 气相色谱-质谱联用仪的应用范围
- 四. 脂肪酸的测定



中国科学院水生生物研究所

INSTITUTE OF HYDROBIOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

分析测试中心



一 化学分析和环境仪器平台介绍

分析测试中心的介绍

成立于2010年

260台套仪器

仪器价值1.6亿

中国科学院水生生物研究所文件

科水所字〔2010〕 28号

关于成立中国科学院水生生物研究所分析
测试中心的通知



分析测试中心的仪器设备及服务

宏观

微观

生态

细胞

组织

蛋白

小分子化合物

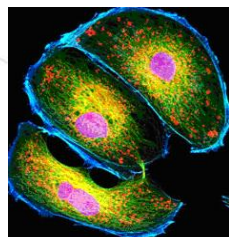
基因



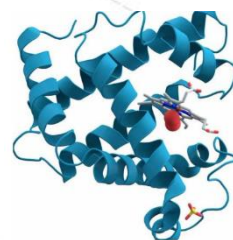
水生态和渔业
资源仪器平台



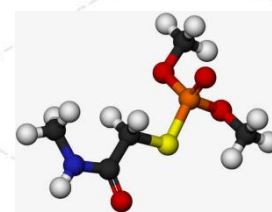
细胞和分子生
物学仪器平台



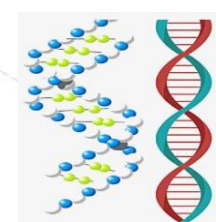
光学和电子成
像仪器平台



蛋白组学
仪器平台



化学分析和环
境仪器平台



基因组学
仪器平台



化学分析和环境仪器平台的仪器设备

小分子化合物

有机化合物

无机化合物和元素

分子量 > 1000

分子量 < 1000

阳离子

阴离子

元素

液相色谱
液相色谱-质谱联用仪

气相色谱
气相色谱-质谱联用仪

ICPMS
ICPOES

离子色谱仪

稳定同位素质谱仪



我的工作职责

工作职责：**化学分析技术平台**仪器设备的管理及运行

负责仪器设备：**16台**仪器，其中**5台**气质，**1台**稳定同位素质谱仪，**10台（套）**小型仪器



车载气质
GC-MS
(Agilent 5975T)



气相色谱-质谱
GC-MS
(Agilent 7890A-5975C)



气相色谱-串联质谱
GC-MSMS
(Agilent 7890A-7000C)



气相色谱-高分辨质谱
GC-HRMS
(ThermoFisher DFS)



气相色谱-高分辨质谱
GC-HRMS
(ThermoFisher Exactive GC)



稳定同位素质谱仪
IR-MS
(Thermofisher Delta V Advantage)



中国科学院水生生物研究所

INSTITUTE OF HYDROBIOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

分析测试中心



二 气相色谱-质谱联用仪 (GCMS) 原理

二 GCMS的原理——什么是GCMS?

GCMS: Gas Chromatography and Mass Spectrometry 气相色谱质谱联用仪

用途: 分析**挥发性的小分子化合物**, 用于食品、环境、药品、天然产物、代谢组学等研究

色谱: 根据不同物质在**两相**中具有**不同的分配系数** (或吸收系数) 而实现分离。

两相: 固定相、流动相

气相色谱仪 (GC): 流动相为气体

液相色谱仪 (LC): 流动相为液体

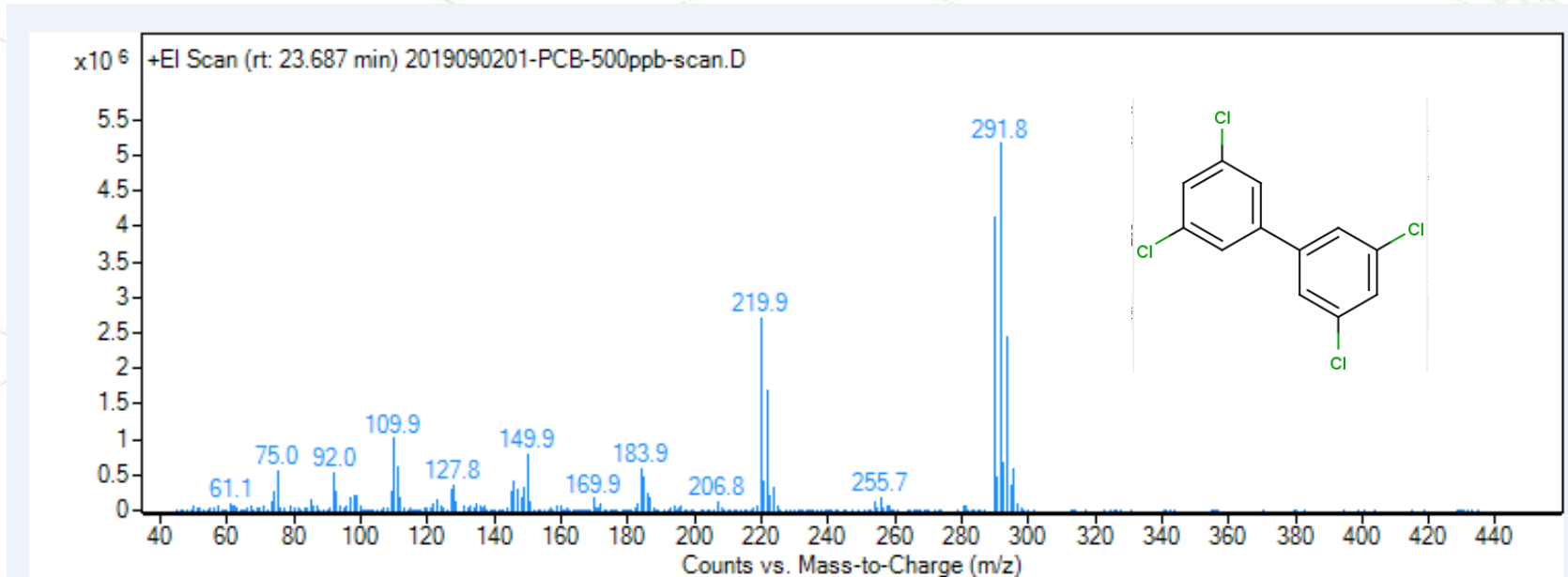
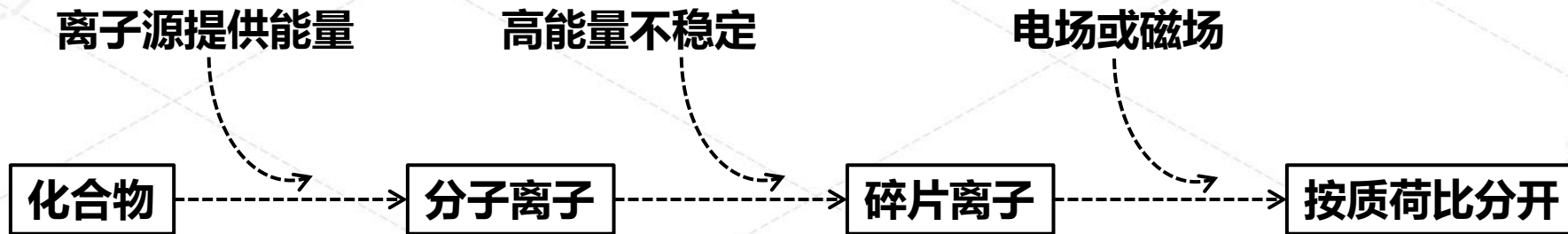
气相色谱 (GC): 惰性气体为流动相, 固定液或固体吸附剂为固定相的色谱

流动相: 惰性气体 (He)

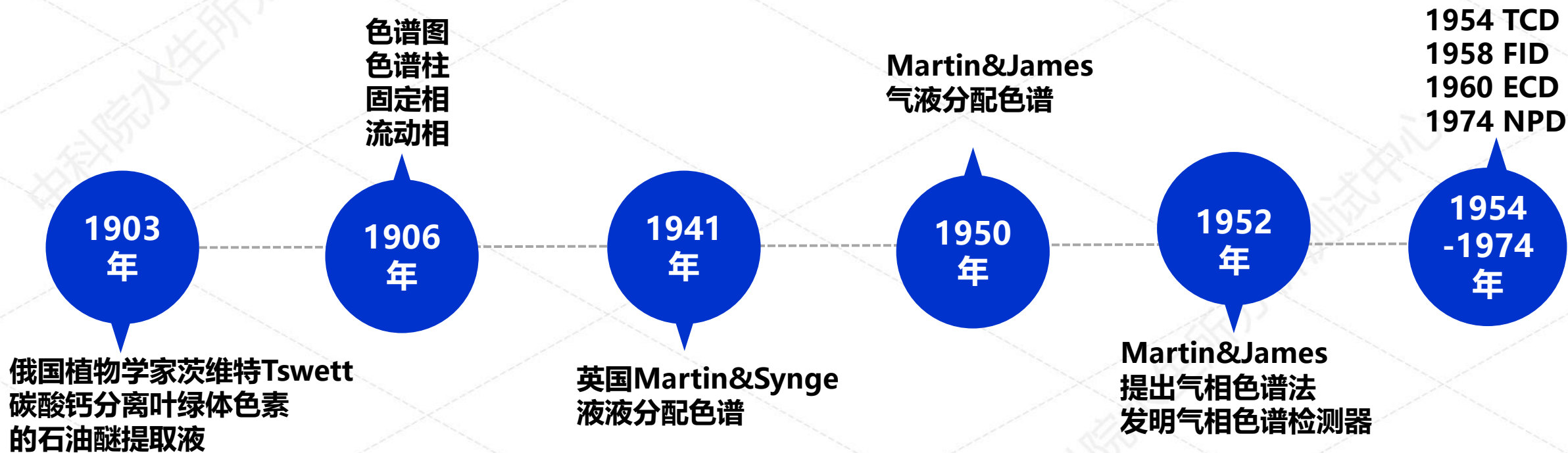
固定相: 固定液或固体吸附剂

二 GCMS的原理——什么是GCMS

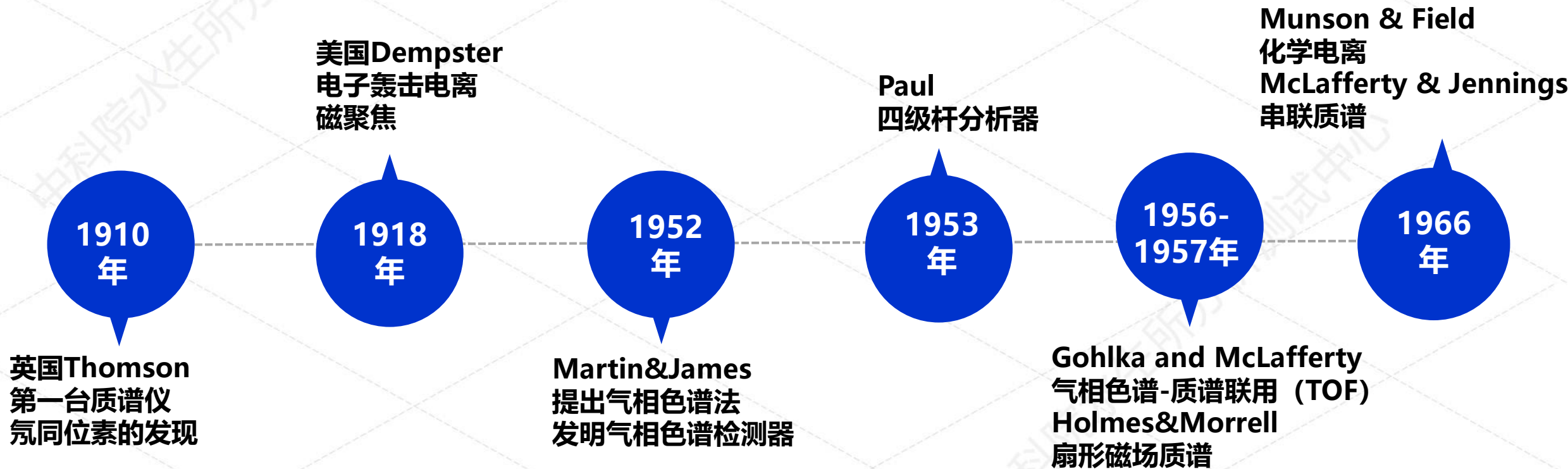
质谱 (MS)：按照离子的质荷比 (m/z) 来进行分析得到**图谱**的一种分析方法



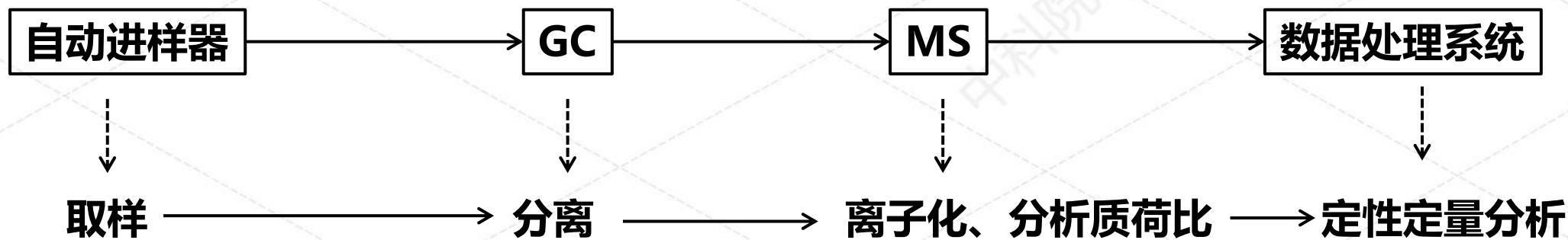
二 GCMS的原理——色谱的发展历史



二 GCMS的原理——GCMS的发展历史



二 GCMS的原理——结构组成



二 GC的原理——GC的分离示意图

溶剂 •

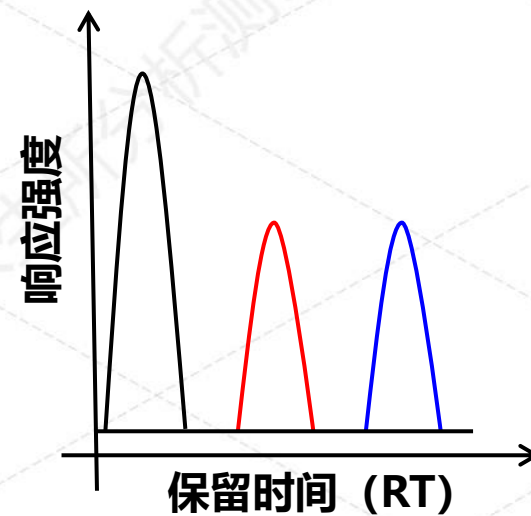
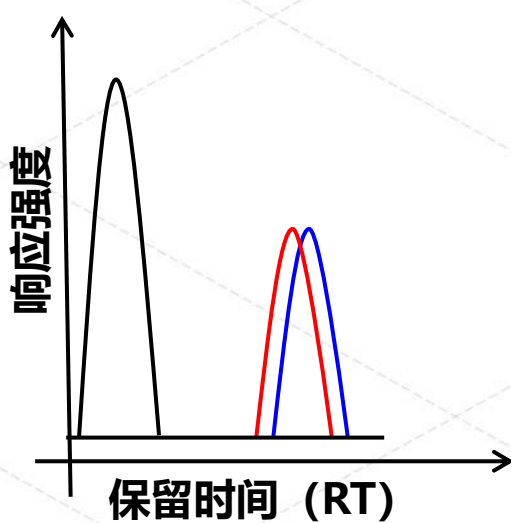
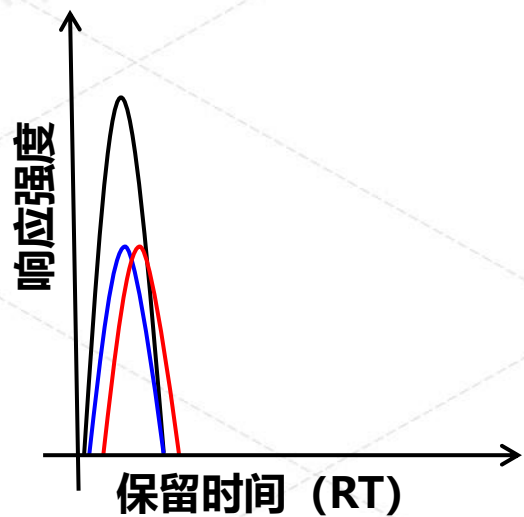
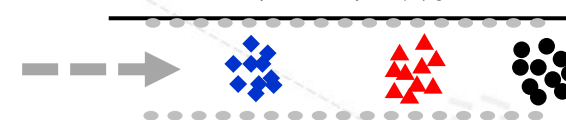
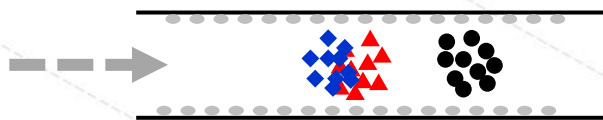
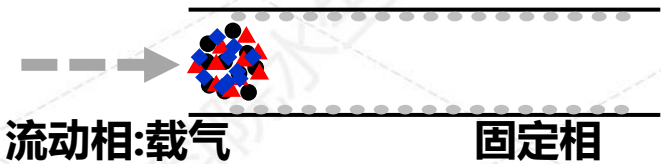
组分1 ▲

组分2 ◆

进样

分离过程中

分离完成



二 GCMS的原理——GC的分离理论，分配系数

分配系数K（分配比）：组分能否实现分离的基础；解释**保留时间**

分配系数 $K = \frac{\text{组分在固定相中的浓度}}{\text{组分在流动相中的浓度}}$

分配比 $k = \frac{\text{组分在固定相中的量}}{\text{组分在流动相中的量}}$

- K越大，组分在固定相中多，柱容量大
- K是色谱柱对组分**保留能力**的参数
- K与**组分、固定相和流动相的性质**有关
- K还有**柱温和柱压**有关

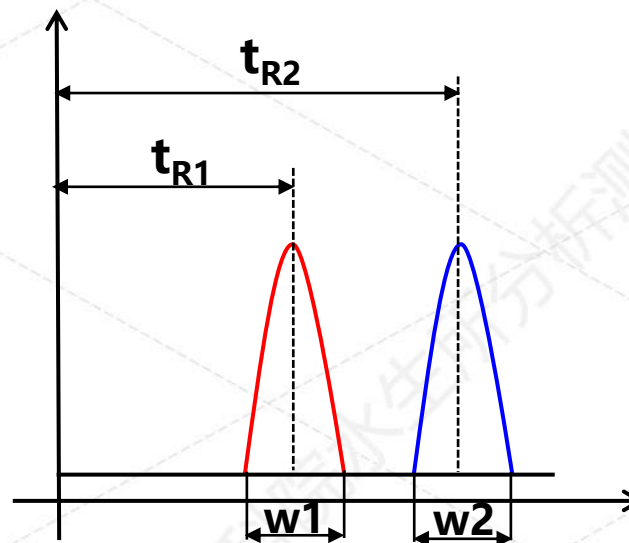
二 GCMS的原理——分离度

分离度：相邻两组分色谱峰保留时间差，与两组分色谱峰底宽总和一半的比值

◆ 作用：反映组分间**分离的程度**，反映柱效和选择性

◆ R为1.5，两个峰的分离程度可99.7%，作为相邻两组分是否完全分离的标志

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{1}{2}(w1 + w2)}$$

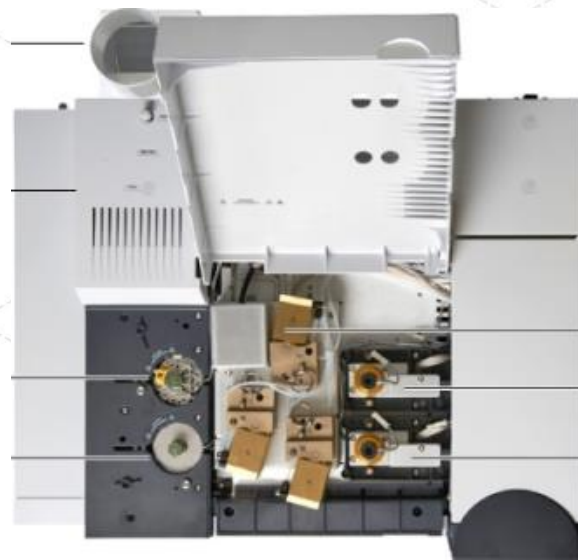


二 GCMS的原理——GCMS的硬件结构

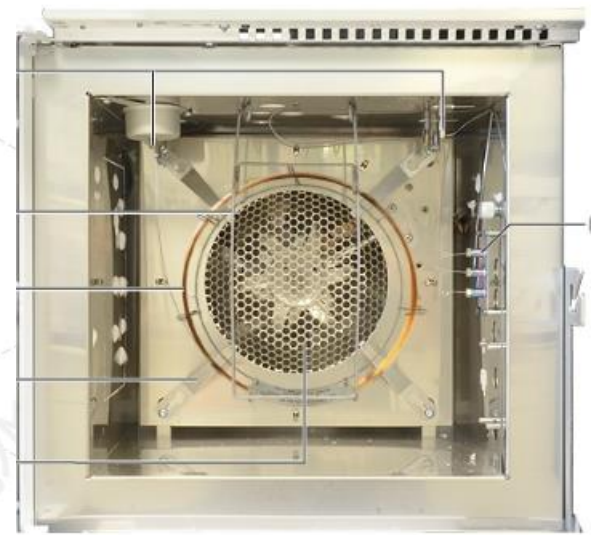
气相色谱仪 (GC) : 气化和分离组分



GC



GC进样口



GC柱温箱和色谱柱

二 GCMS的原理——GCMS的硬件结构

毛细管色谱柱的选择

◆ 化合物的极性：相似相溶

极性化合物：极性的固定相色谱柱

非极性化合物：非极性的固定相色谱柱



脂肪酸：HP88 60m×0.25mm×0.2μm

◆ 化合物的沸点

低沸点：高膜厚、长柱

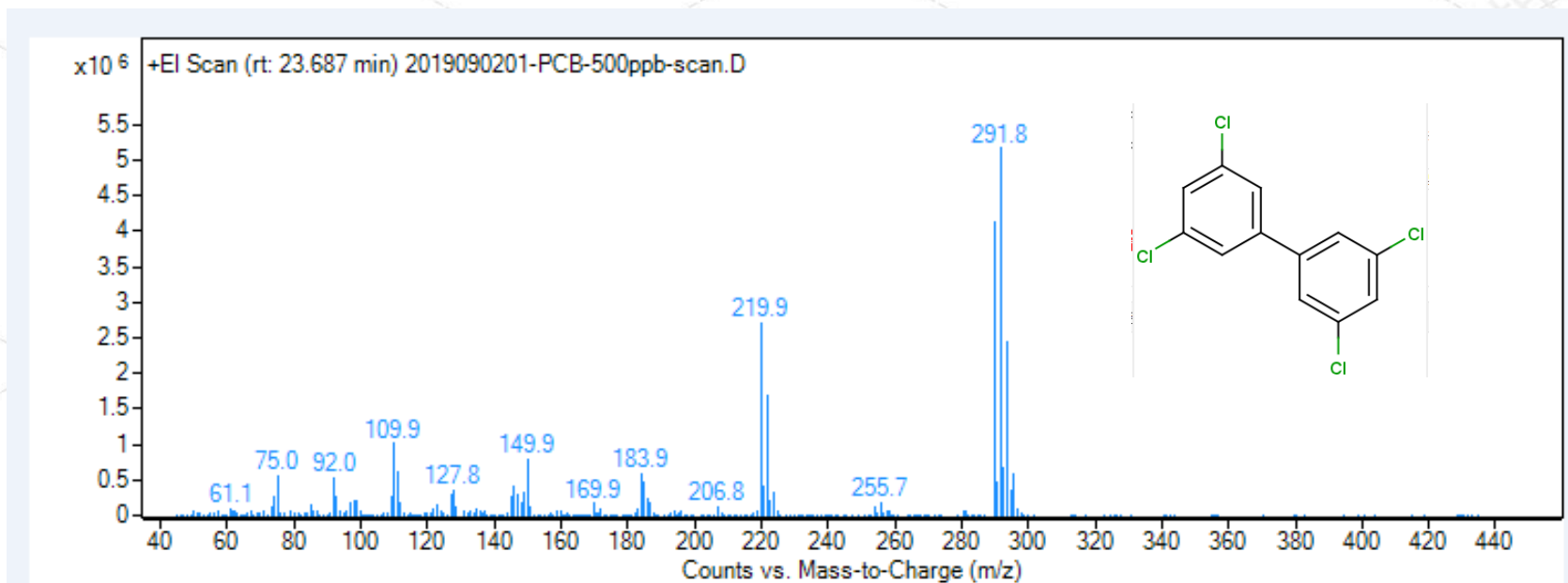
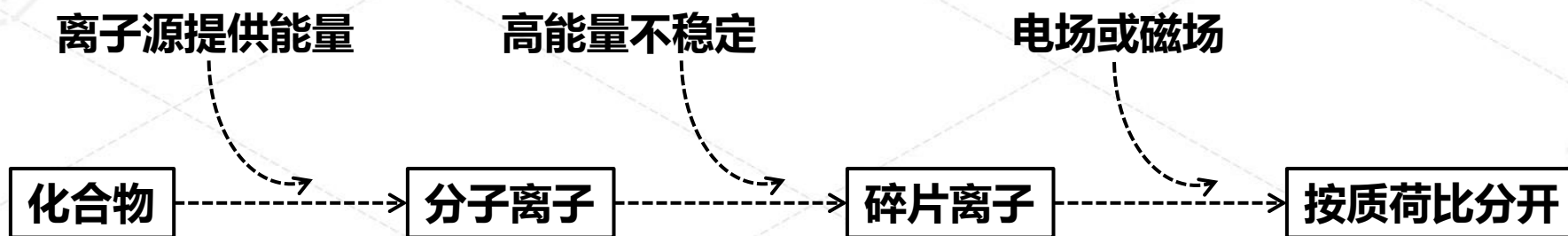
高沸点：低膜厚、短柱



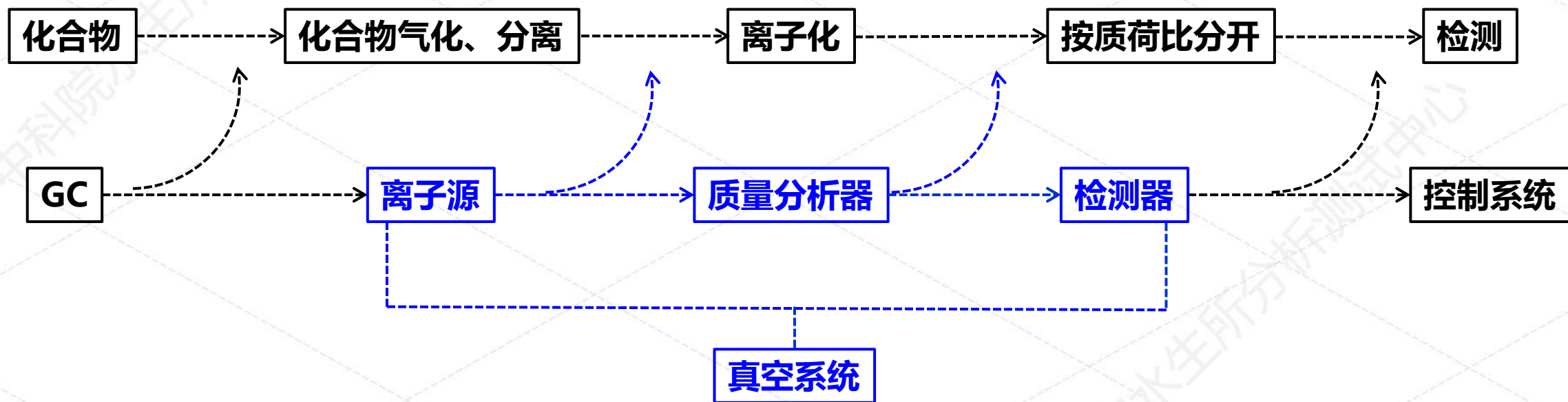
BDE209：DB5-HT 15m×0.25mm×0.1μm

二 GCMS的原理——MS的原理

质谱 (MS) : 按照离子的质荷比 (m/z) 来进行分析得到**图谱**的一种分析方法



二 GCMS的原理——GCMS的硬件结构，质谱



二 GCMS的原理—— GCMS的硬件结构

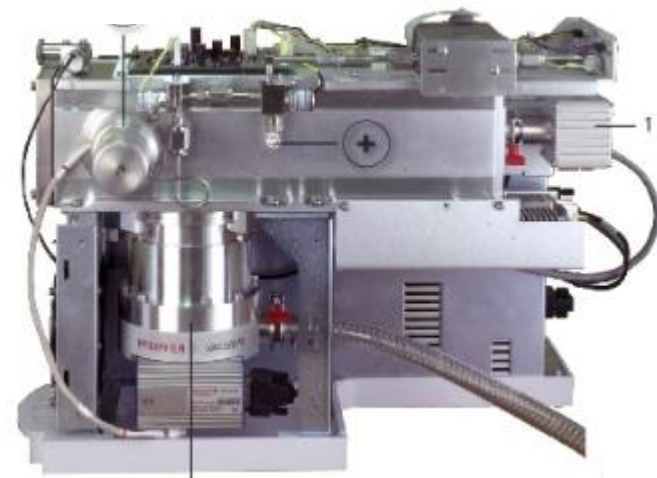
质谱 (MS) : 离子化和分析质量数



质谱



离子源、质量分析器、检测器等

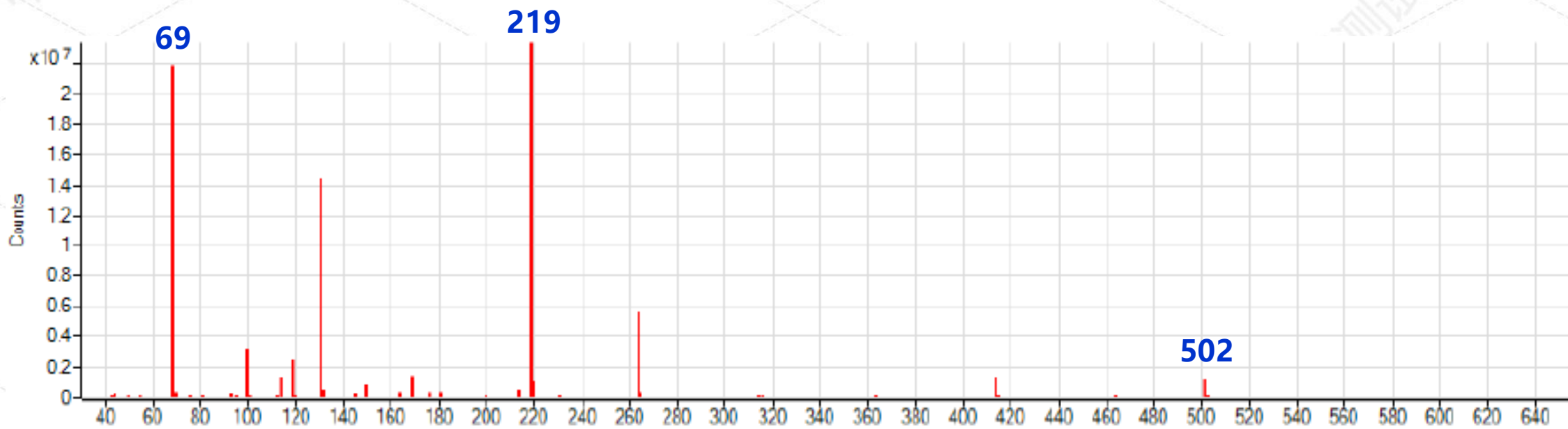
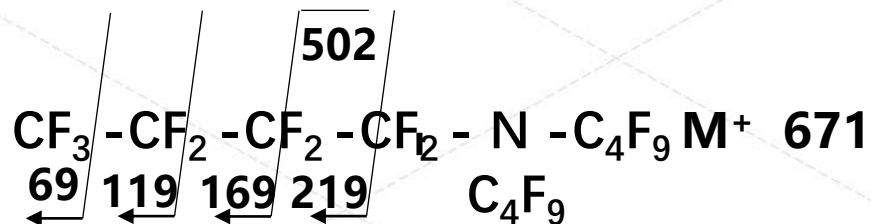


真空系统: 机械泵/分子涡轮泵

二 GCMS的原理——GCMS的硬件结构

质谱结构——离子源，使化合物离子化

EI源提供70eV，轰击PFTBA(全氟三丁胺)



二 GCMS的原理——GCMS的硬件结构

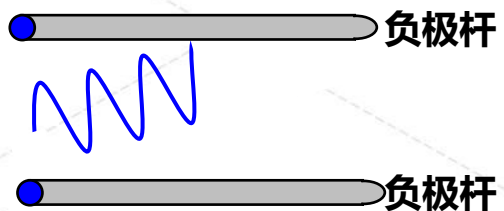
质谱结构——质量分析器

质量分析器：来自离子源中不同质荷比的气相离子按照空间位置、时间先后、或运动轨迹等方式分离的装置。

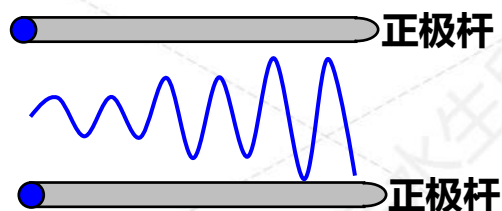
四级杆质量分析器



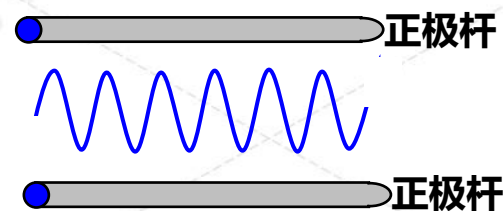
过滤高质荷比



过滤低质荷比



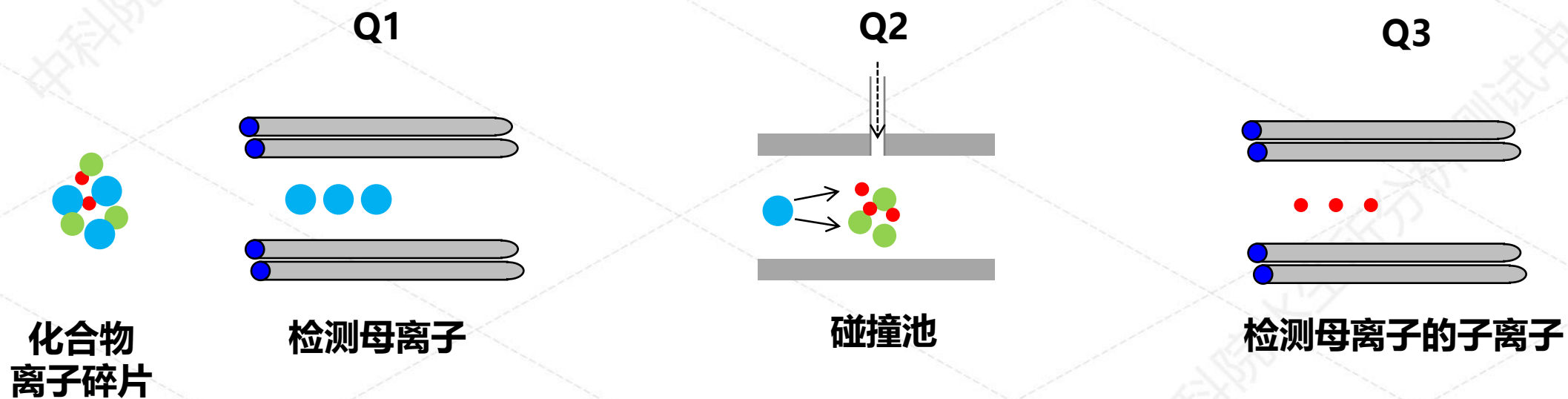
所选择的质荷比通过



二 GCMS的原理——GCMS的硬件结构

质谱结构——质量分析器

三重四级杆质量分析器



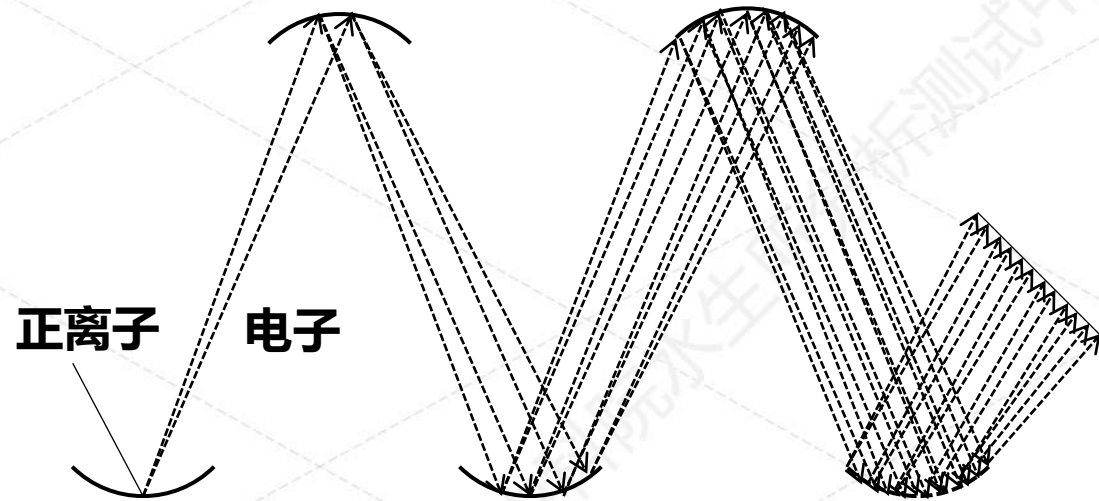
二 GCMS的原理——GCMS的硬件结构

质谱结构——检测系统

检测系统：将离子转化成与离子丰度成正比的有用信号。



电子倍增管



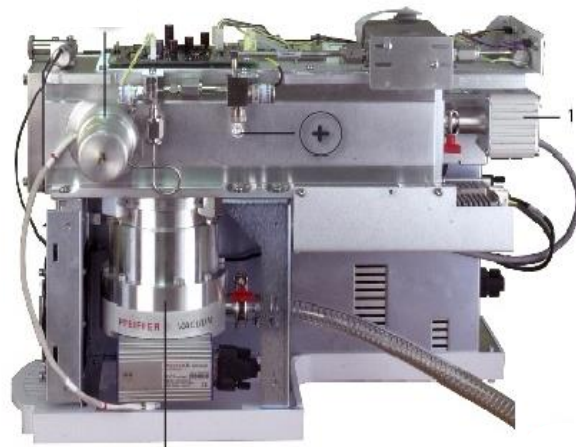
二 GCMS的原理——GCMS的硬件结构

质谱结构——真空系统

真空系统：为离子和质量分析器、离子源、检测器等提供真空，小于 10^{-4}Pa 。



机械泵



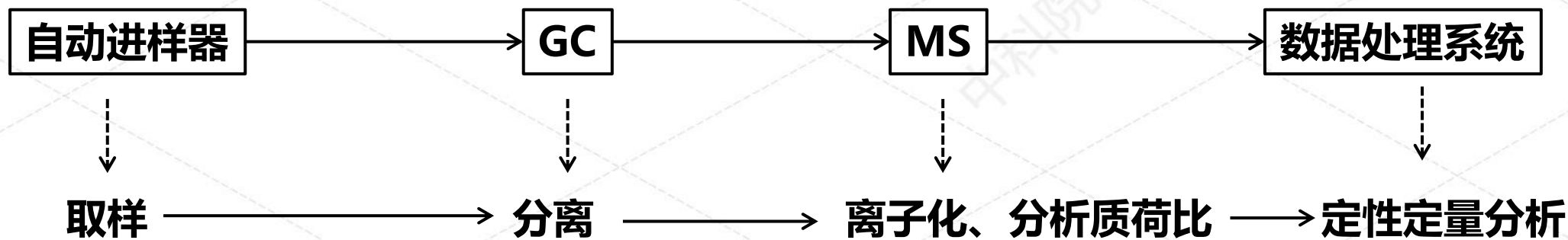
分子涡轮泵

机械泵：大气压开始，120-360L/min，0.1Pa

分子涡轮泵：高速旋转涡轮叶片，
160L/s-1600L/s， 10^{-5} - 10^{-6}Pa

真空的作用：减少离子-分子之间的碰撞，得到最大的平均自由程。

二 GCMS的原理——GCMS的原理





中国科学院水生生物研究所

INSTITUTE OF HYDROBIOLOGY, CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

分析测试中心



三 气相色谱-质谱联用仪 (GCMS) 的应用范围

三 GCMS的应用范围

◆ GCMS能检测的什么类型的化合物?

小分子：分子量小于1000

容易气化：沸点不高，小于350℃

热稳定：高温不容易发生反应

◆ GCMS能检测哪些种类化合物?

烃类：卤代烃/多环芳烃

醇：胆固醇

酚：苯酚/二氯苯酚/三氯苯酚

醛：丁醛/戊醛

酮：直链脂肪酮/环丁酮

有机酸：甲酸/乙酸/丙酸/丁酸等

酯：脂肪酸甲酯/邻苯二甲酸酯

醚：多溴联苯醚

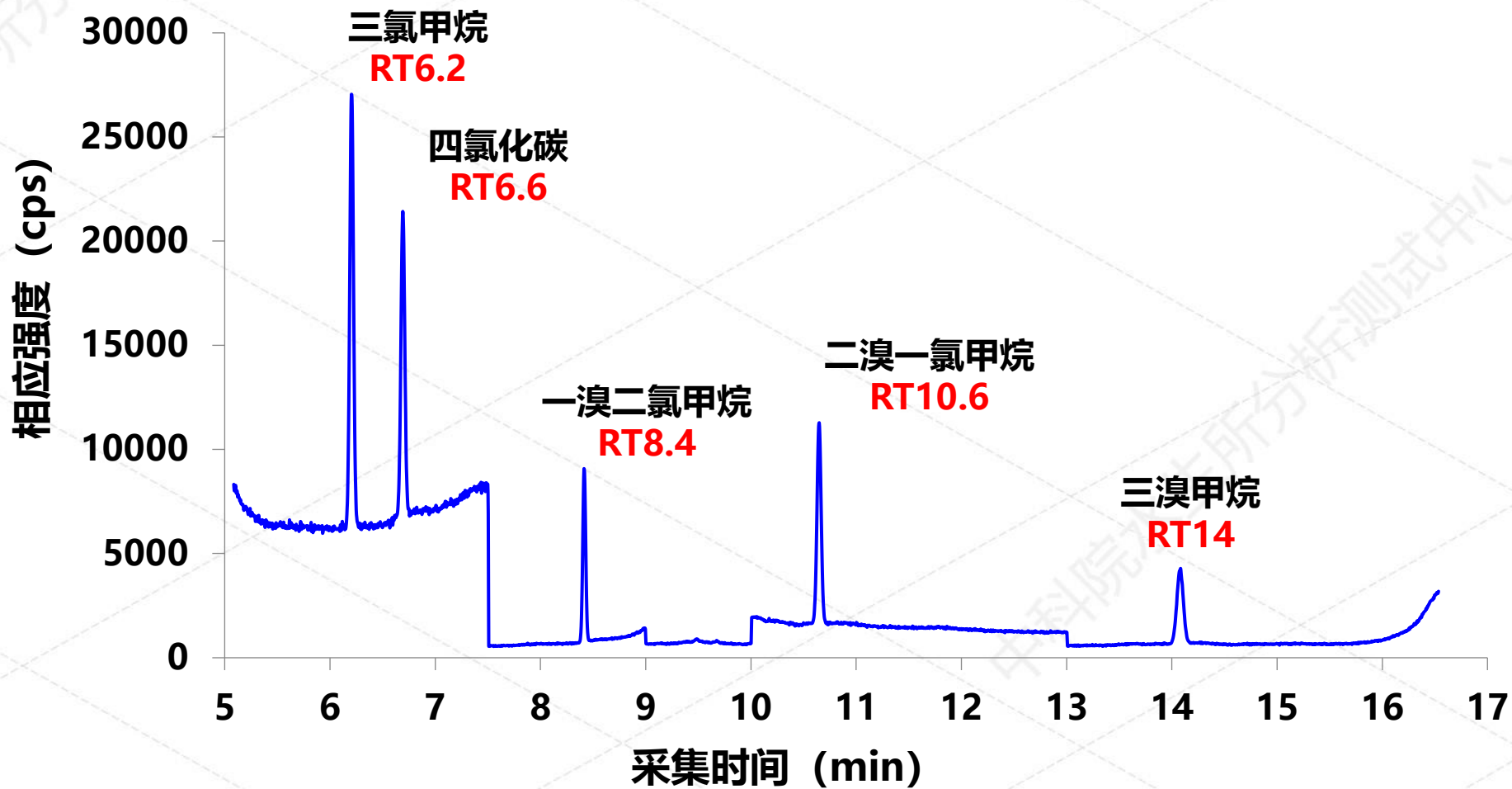
含氮化合物：硝基苯/硝基苯酚

含硫磷化合物：甲硫醚类/有机磷

含卤素化合物：多氯联苯/多溴联苯

三 GCMS的应用范围

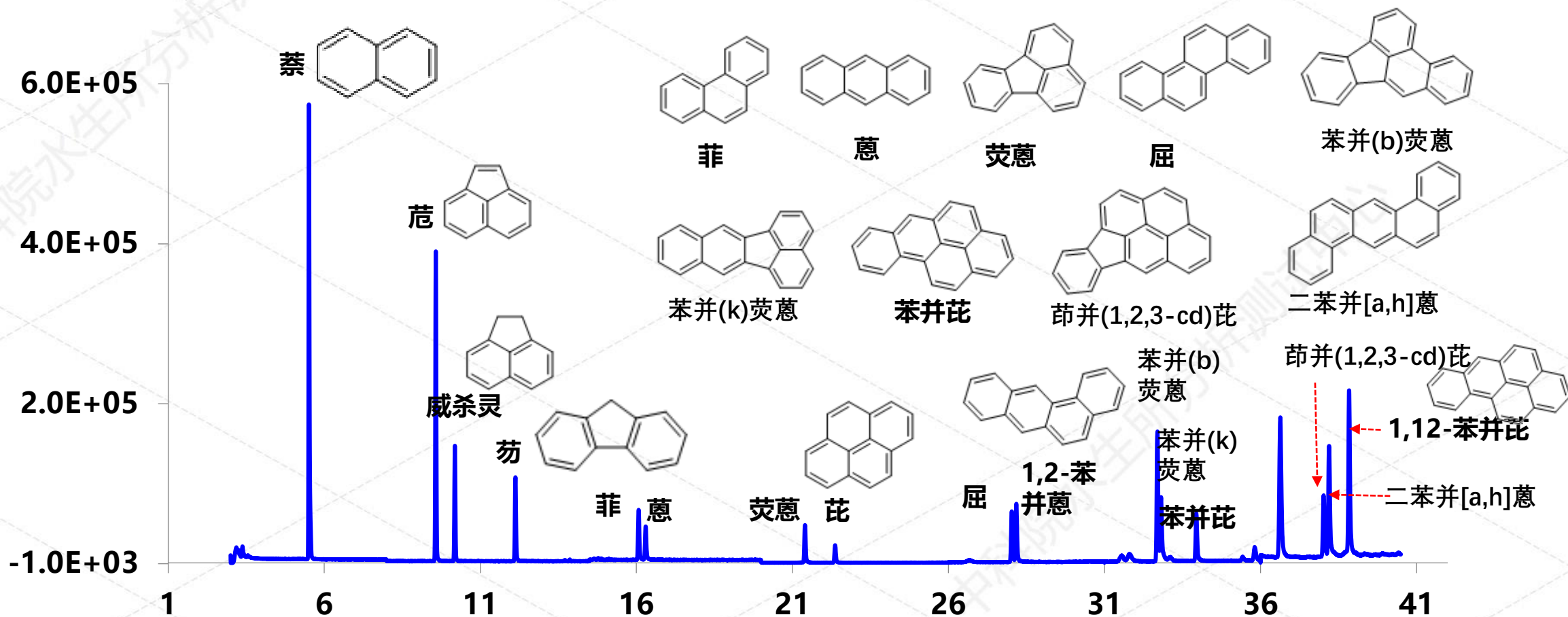
GCMS检测烃类： 5种卤代烃



5种卤代烃加到5mL水直接通过Purge&trap-GCMS进样

三 GCMS的应用范围

GCMS检测烃类：多环芳烃



16种多环芳烃 (100ppb) 标样GCMS/MS图谱

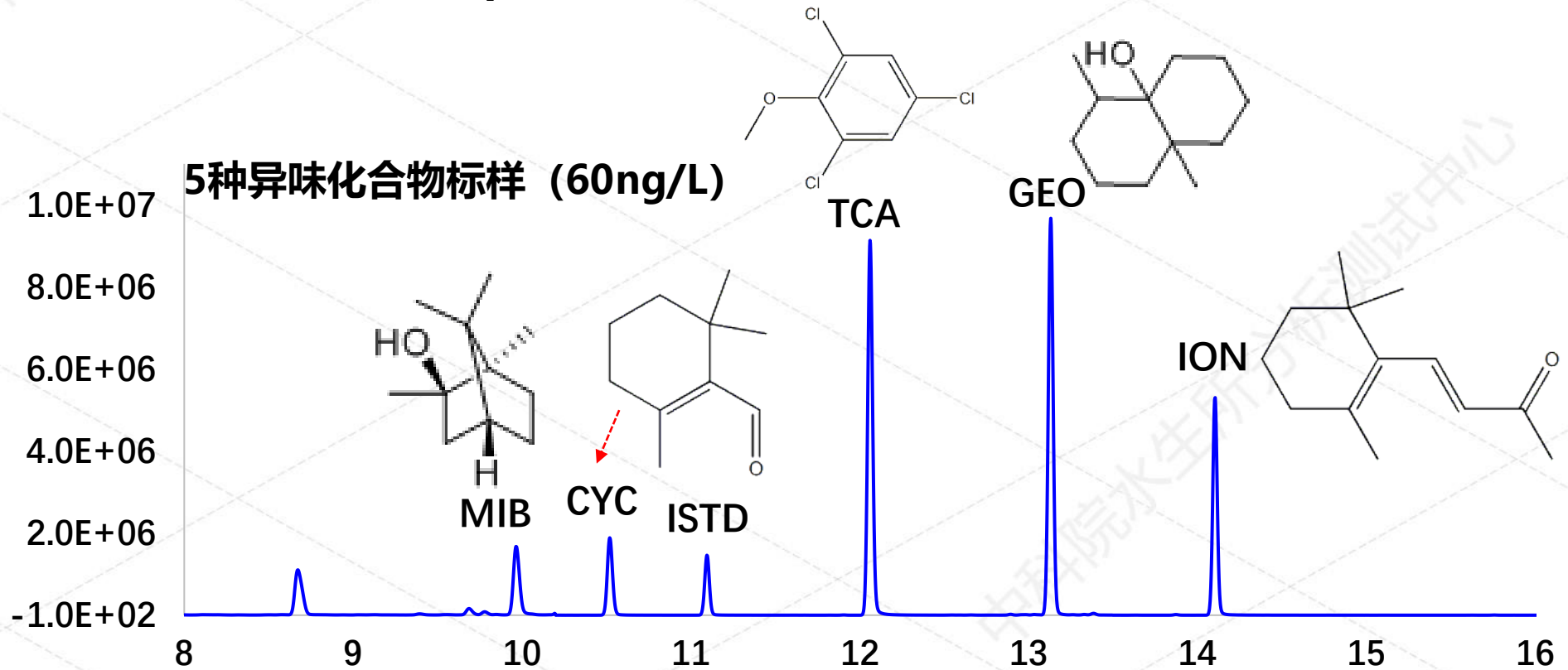
三 GCMS的应用范围

GCMS检测醇类: 2-甲基异茨醇 (2-MIB) , Geosmin

GCMS检测酮类: β -紫罗兰酮 (ION)

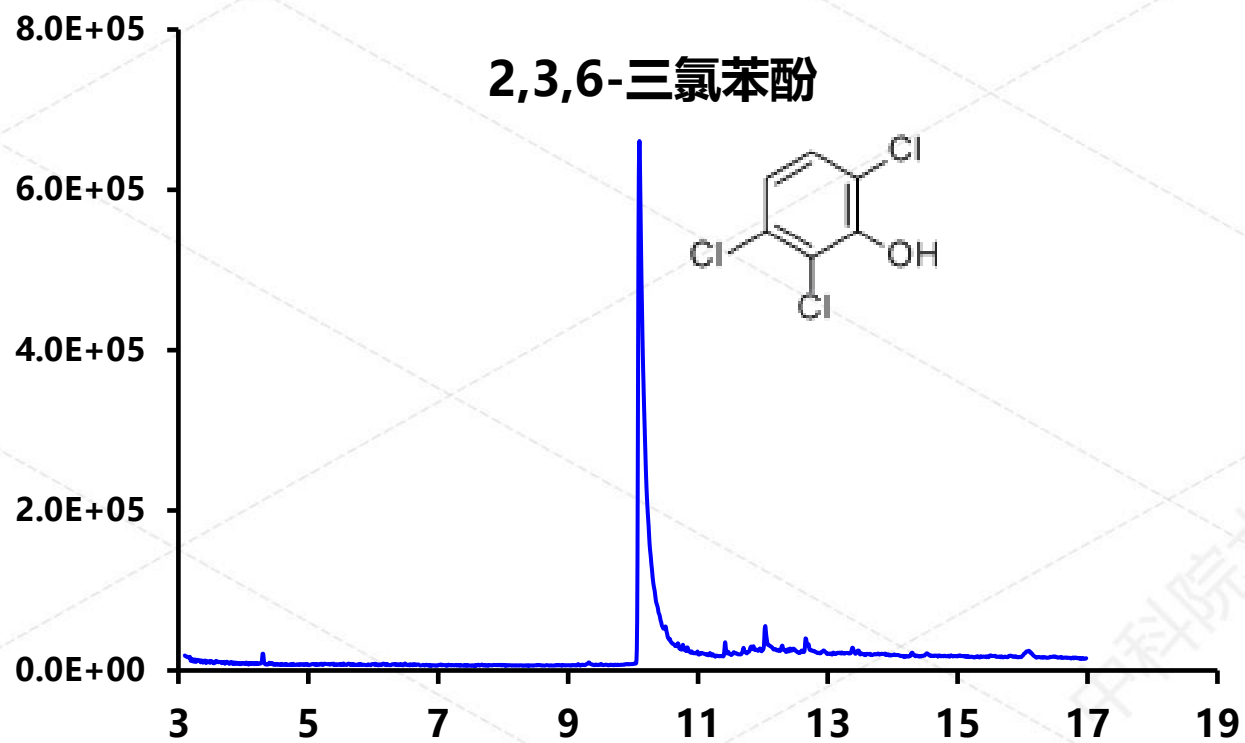
GCMS检测醚类: 2,4,6三氯茴香醚 (TCA)

GCMS检测醛类: β -环柠檬醛 (CYC)



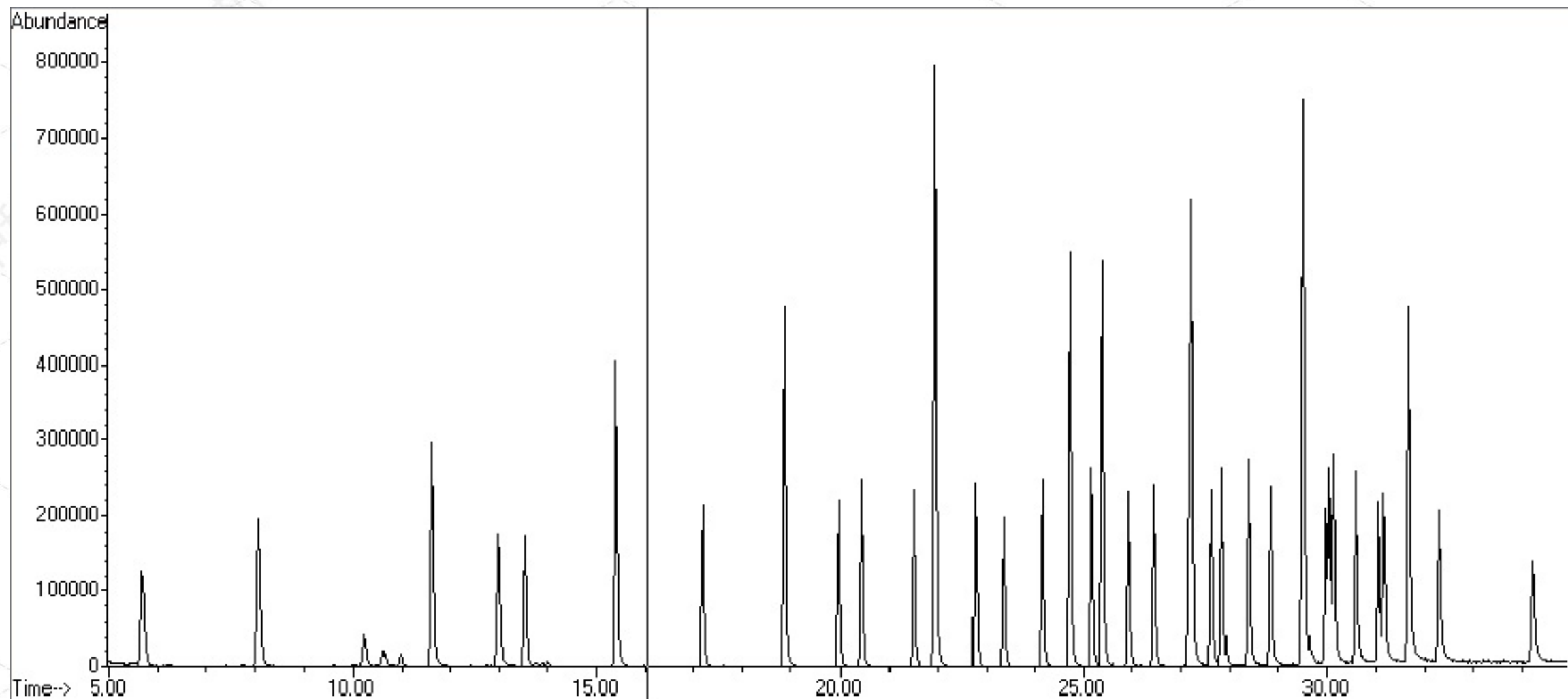
三 GCMS的应用范围

GCMS检测酚类：2,3,6-三氯苯酚



三 GCMS的应用范围

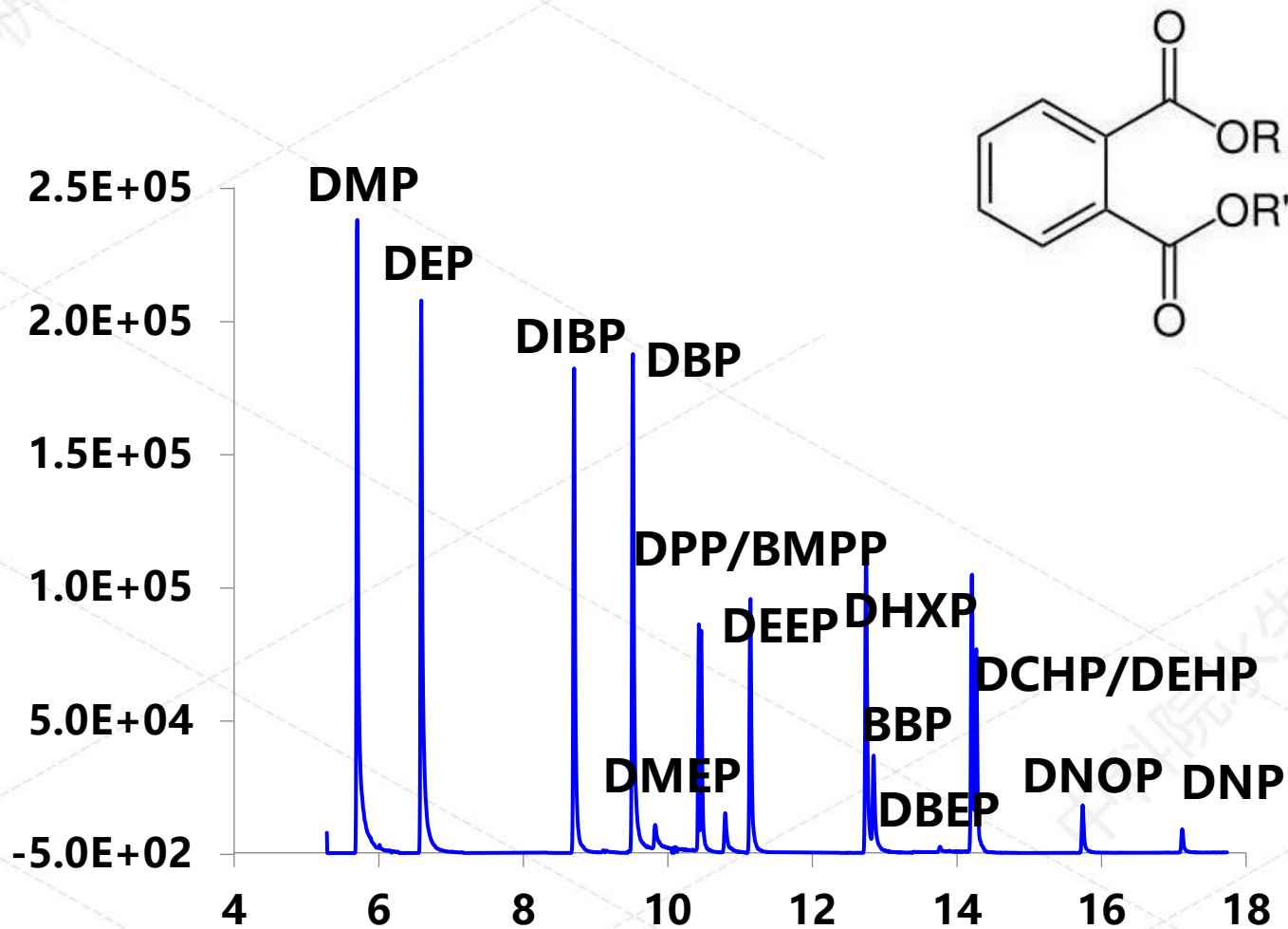
GCMS检测酯类：脂肪酸甲酯，邻苯二甲酸酯，菊酯类农残，氨基甲酸酯



37种脂肪酸甲酯

三 GCMS的应用范围

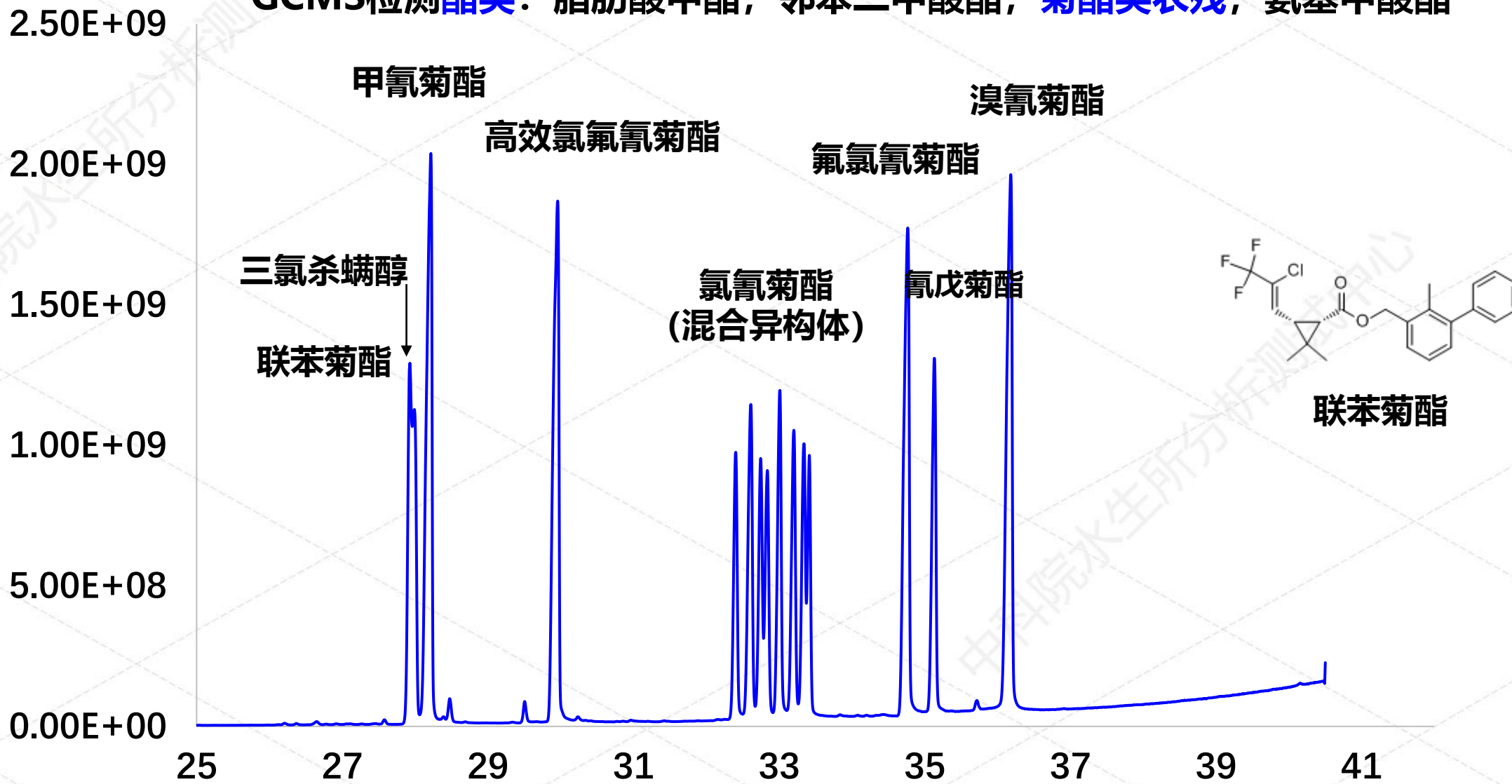
GCMS检测酯类：脂肪酸甲酯，邻苯二甲酸酯，菊酯类农残，氨基甲酸酯



15种邻苯二甲酸酯 (100ppb) 标样GCMS/MS图谱

三 GCMS的应用范围

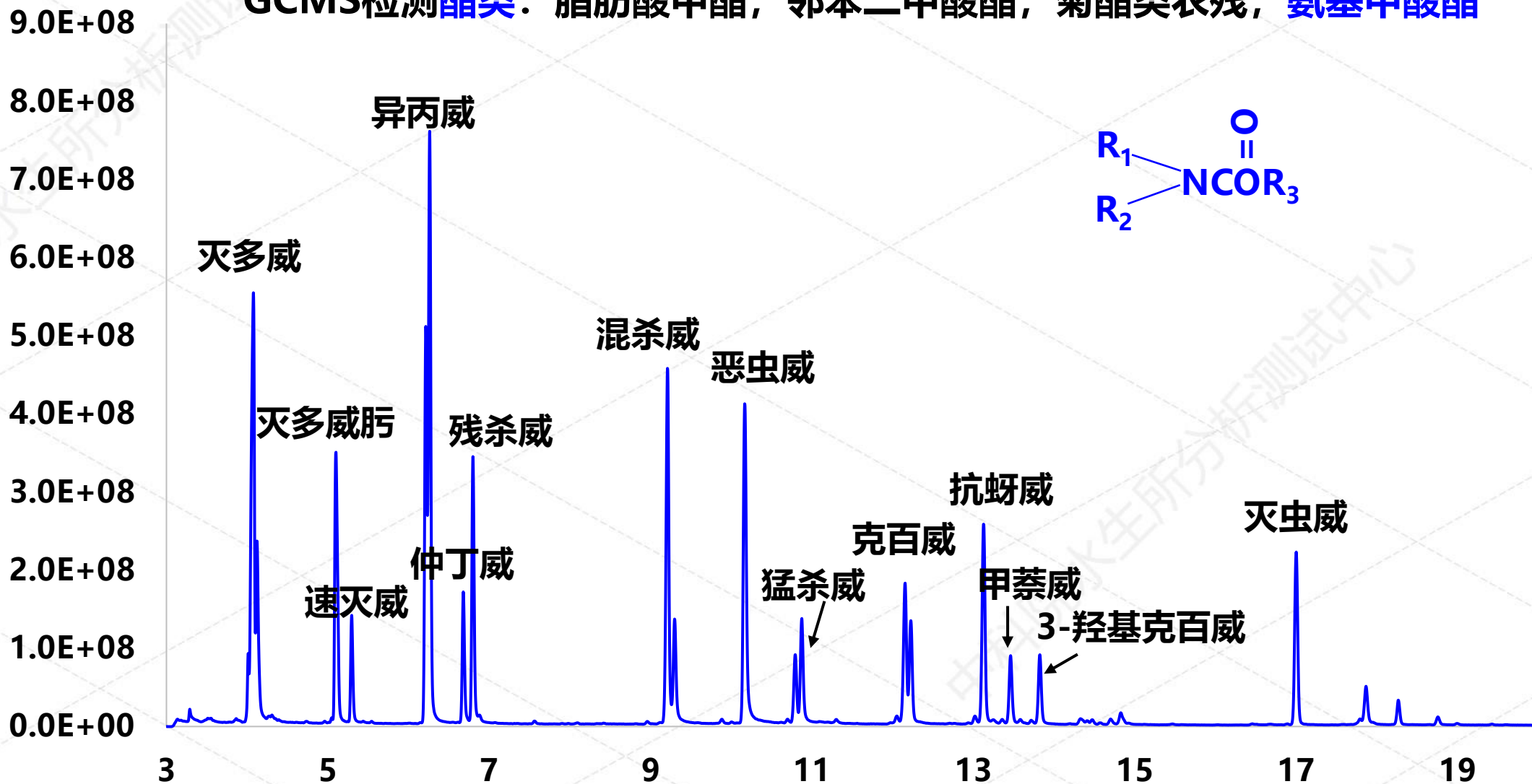
GCMS检测酯类：脂肪酸甲酯，邻苯二甲酸酯，菊酯类农残，氨基甲酸酯



8种菊酯农残标样GCMS/MS图谱

三 GCMS的应用范围

GCMS检测酯类：脂肪酸甲酯，邻苯二甲酸酯，菊酯类农残，氨基甲酸酯

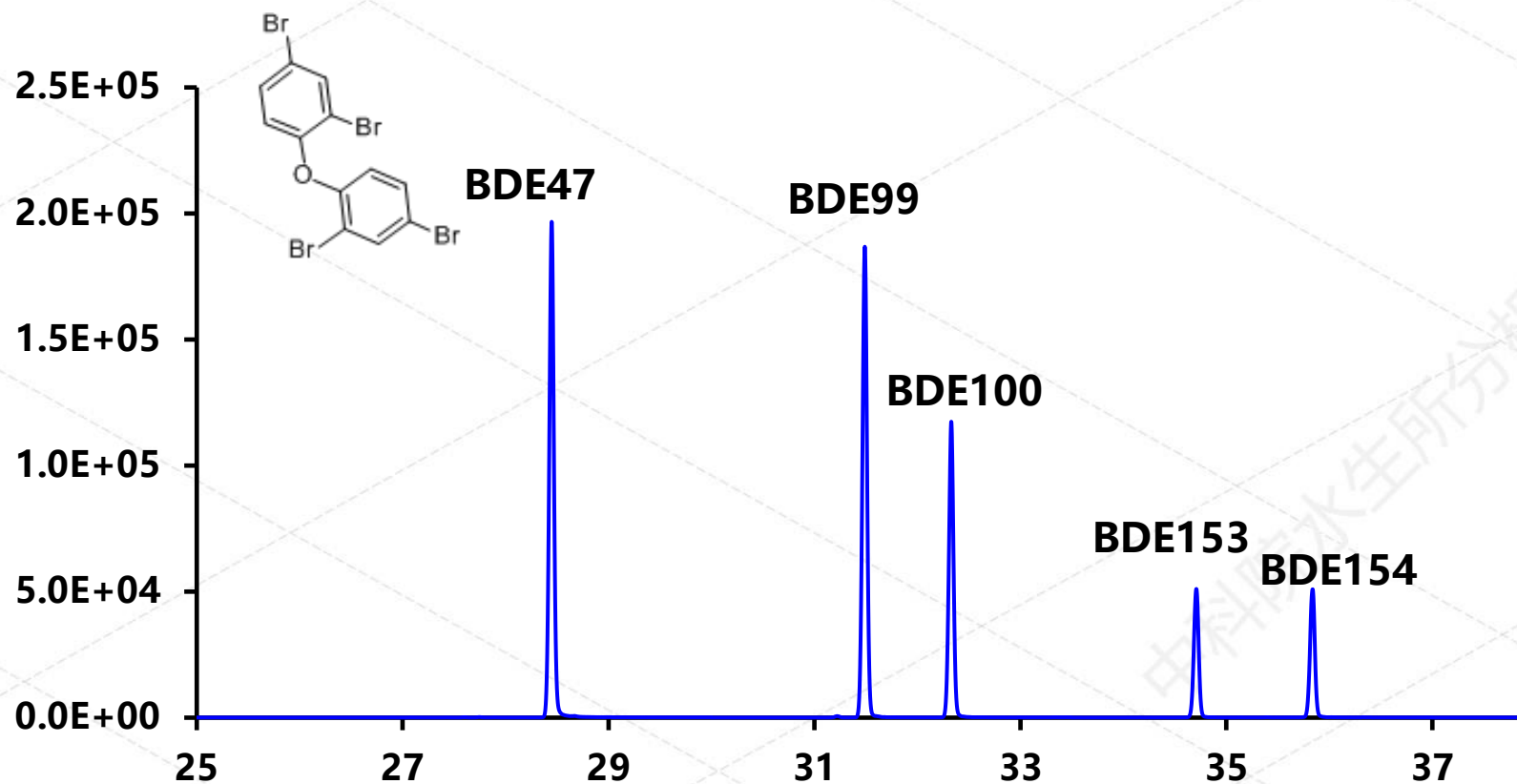


14种氨基甲酸酯标样GCMS/MS图谱

三 GCMS的应用范围

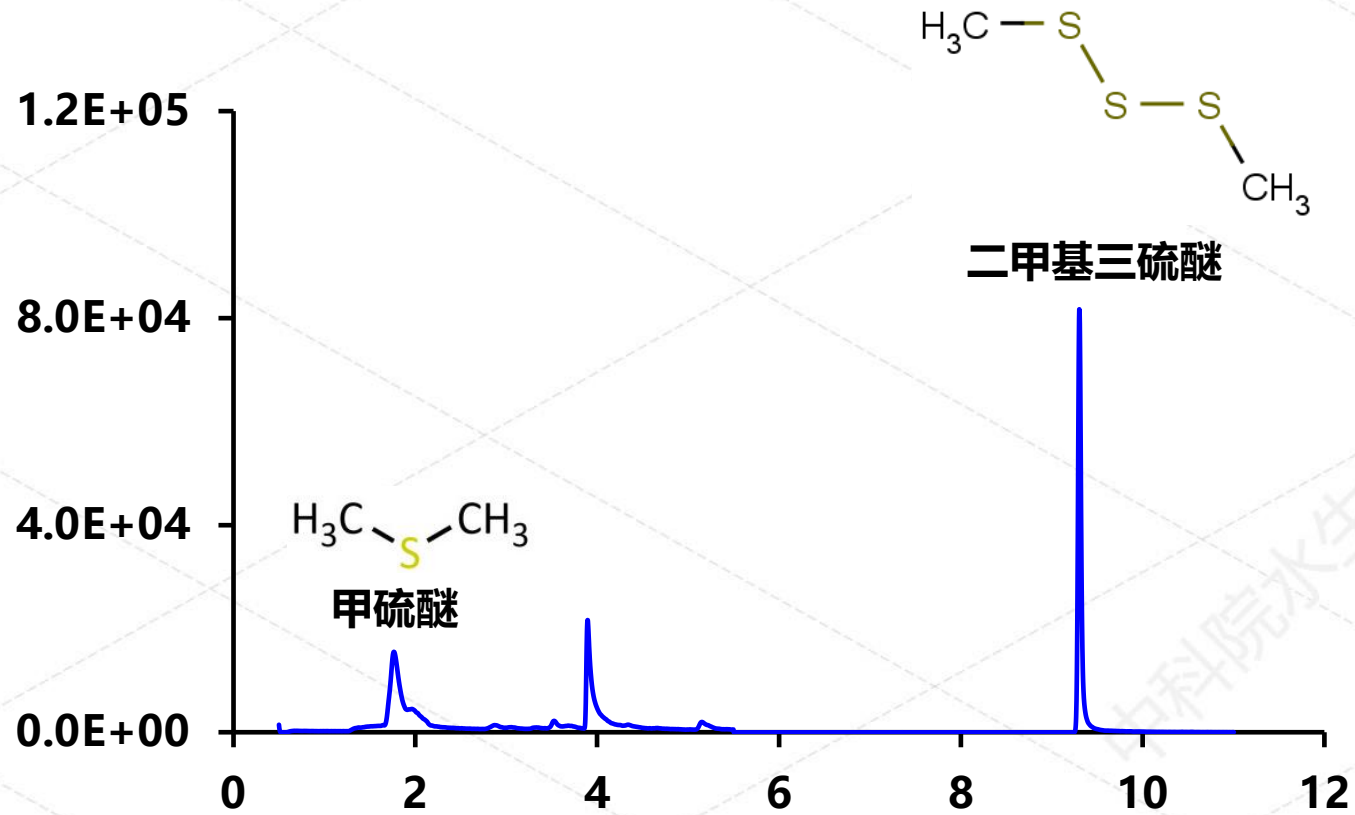
GCMS检测醚类：多溴联苯醚，甲硫醚

Poly Brominated Diphenyl Ethers (简称PBDEs)



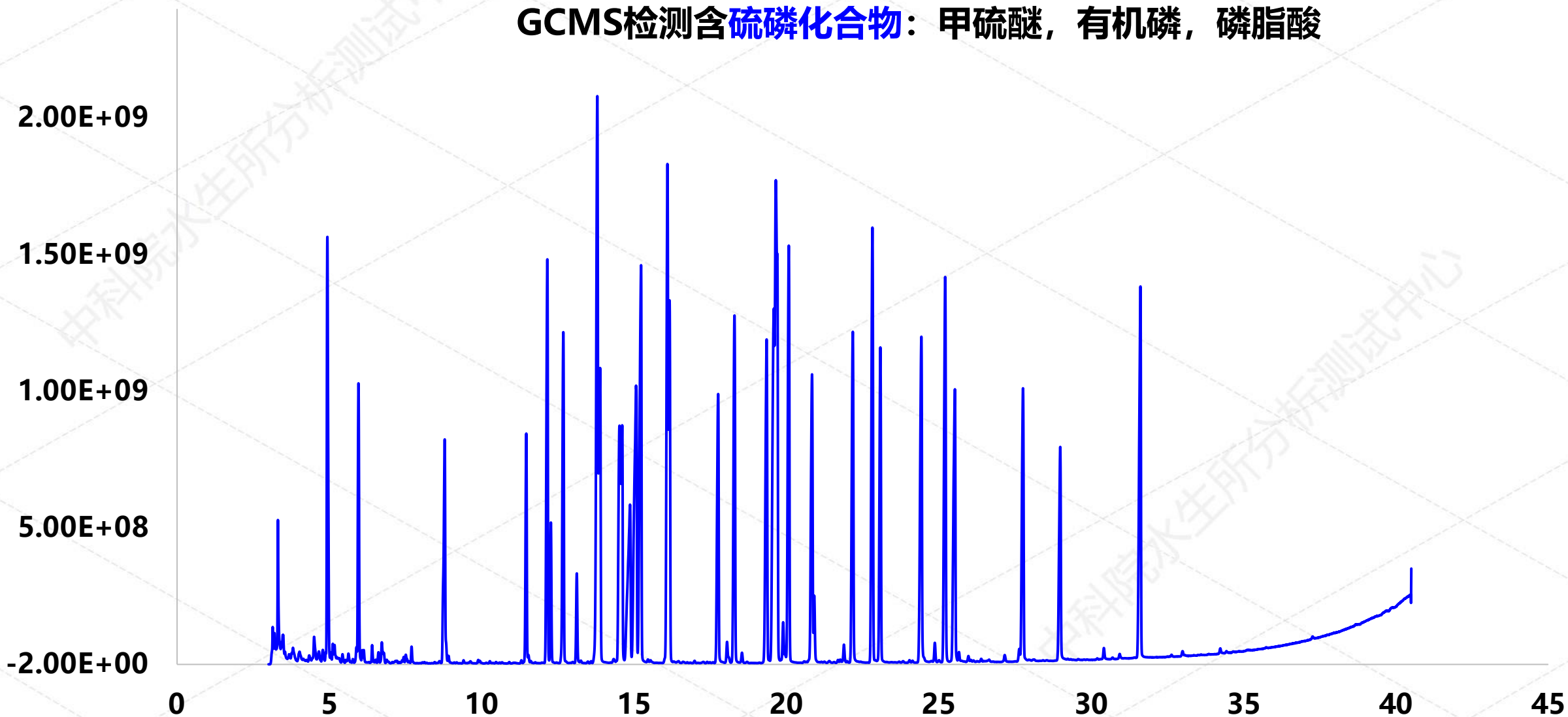
三 GCMS的应用范围

GCMS检测醚类：硫醚



三 GCMS的应用范围

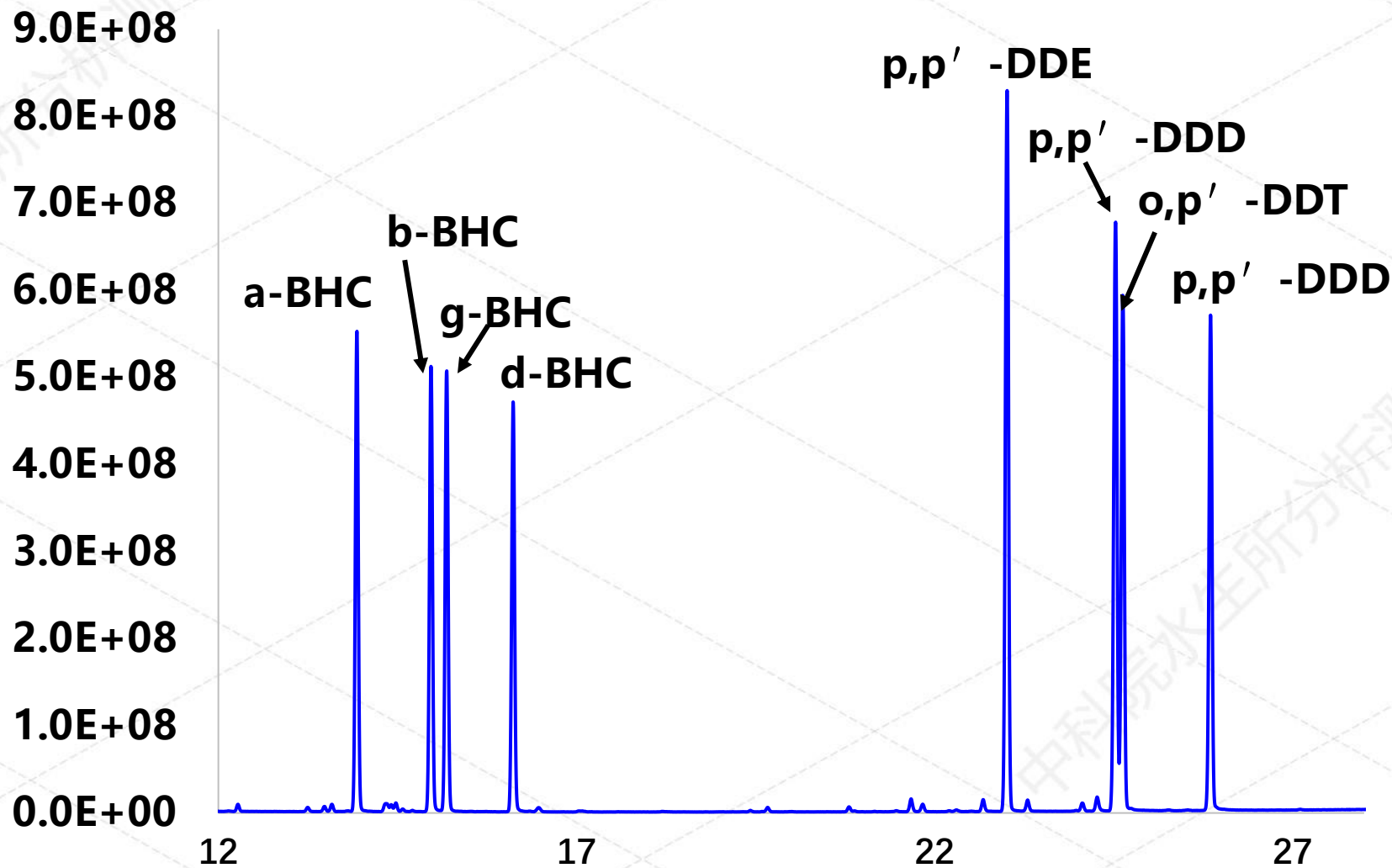
GCMS检测含硫磷化合物：甲硫醚，有机磷，磷脂酸



34种有机磷农残标样GCMS/MS图谱

三 GCMS的应用范围

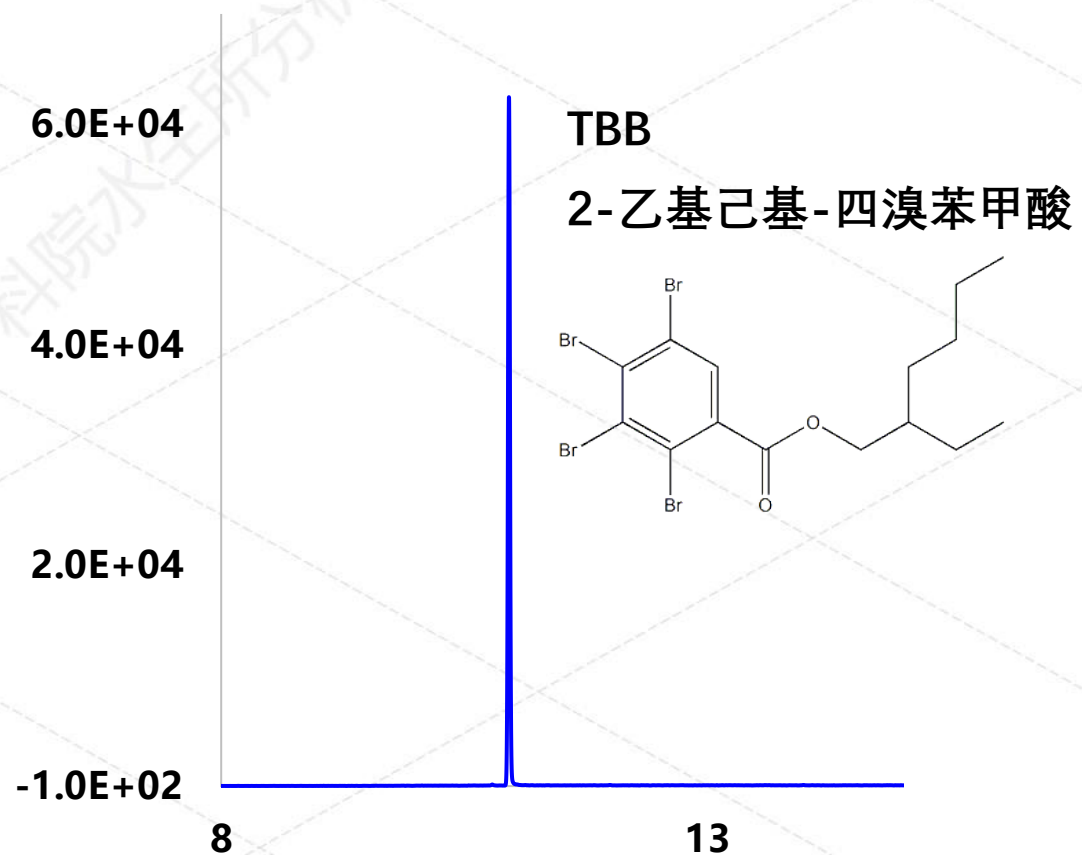
GCMS检测含卤素化合物：有机氯农残



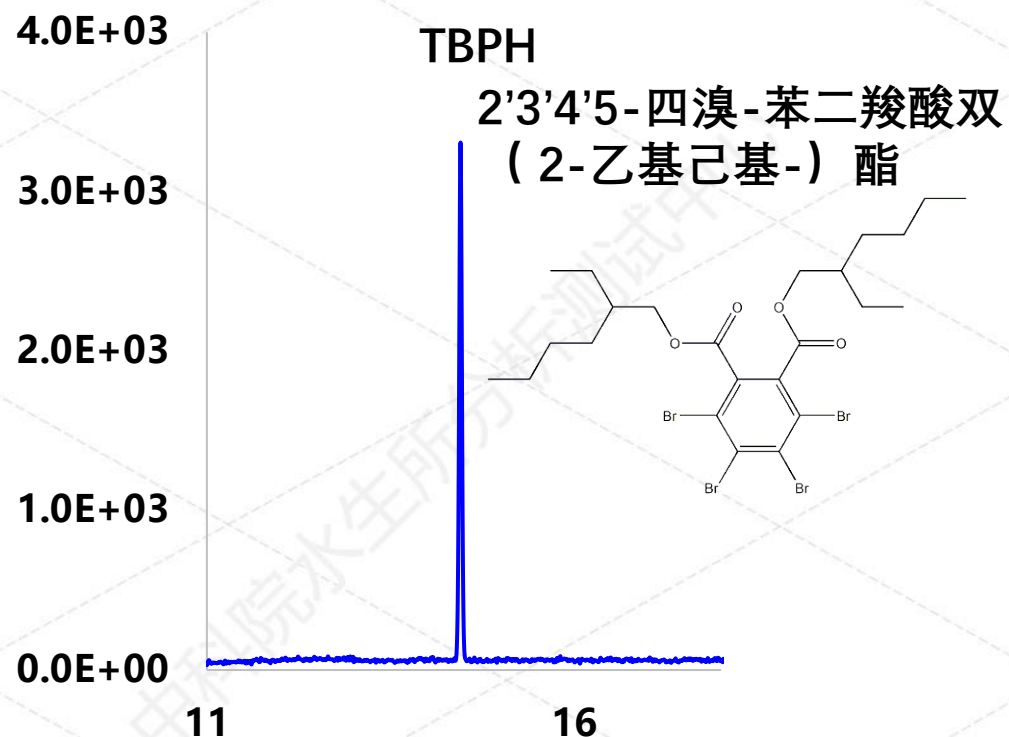
8种有机氯农残标样GCMS/MS图谱

三 GCMS的应用范围

GCMS检测含卤素化合物：新型溴代阻燃剂

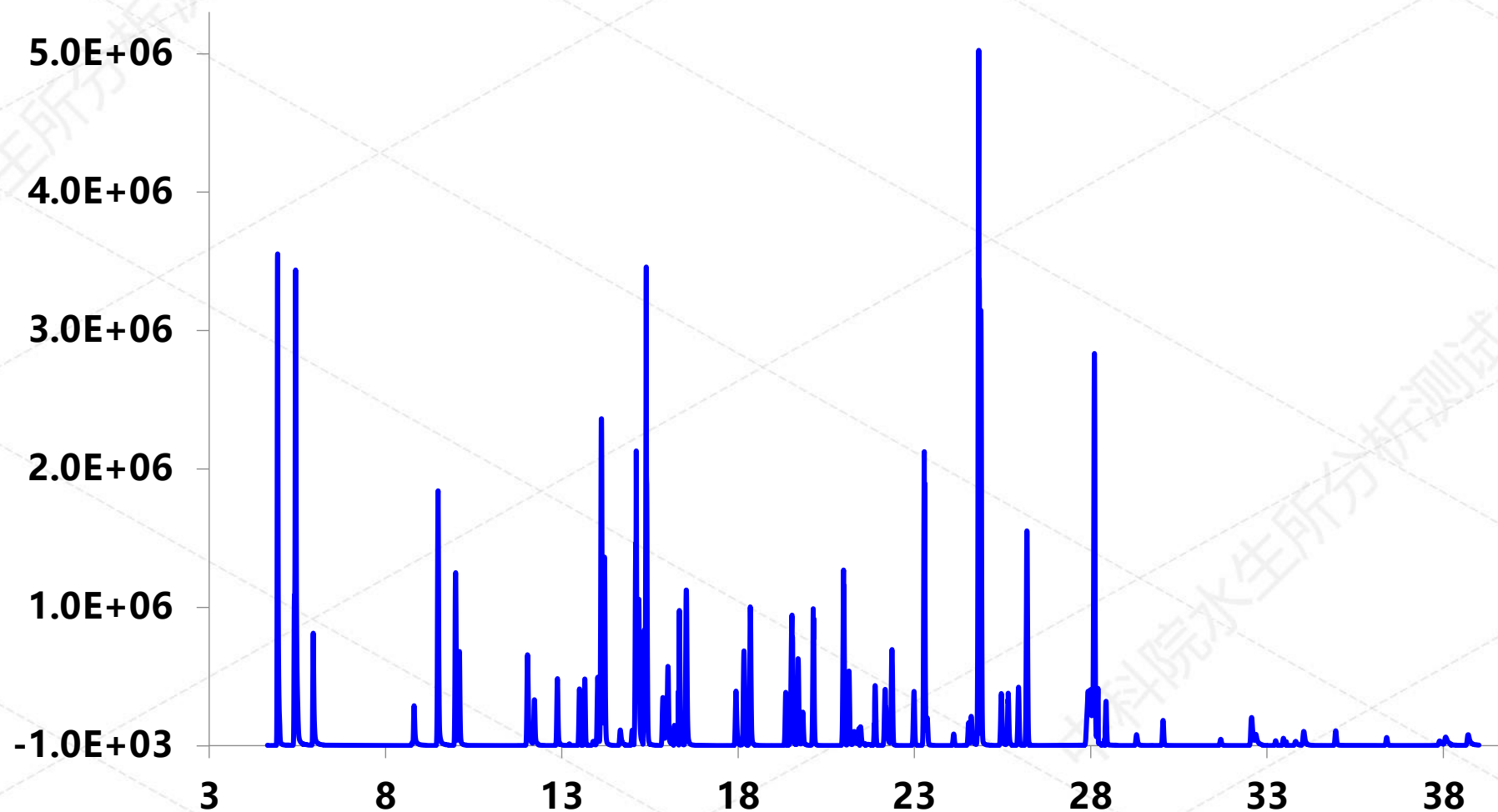


TBB标样



TBPH标样

三 GCMS的应用范围



80种农残 (200ppb) 标样GCMS/MS图谱

三 GCMS的应用范围

◆ 对化合物定性分析

◆ 确定是什么化合物
相对分子质量/分子式/结构式

◆ 定性的方法:

GC: 保留时间RT

MS: 碎片离子, 跟NIST库和标样比对

HRMS: 高分辨质谱仪

精确离子的质荷比

元素组成

分子结构

◆ 对化合物定量分析

◆ 含量和浓度ug/L, ug/kg
化合物特征离子的峰高/峰面积与含量成正比

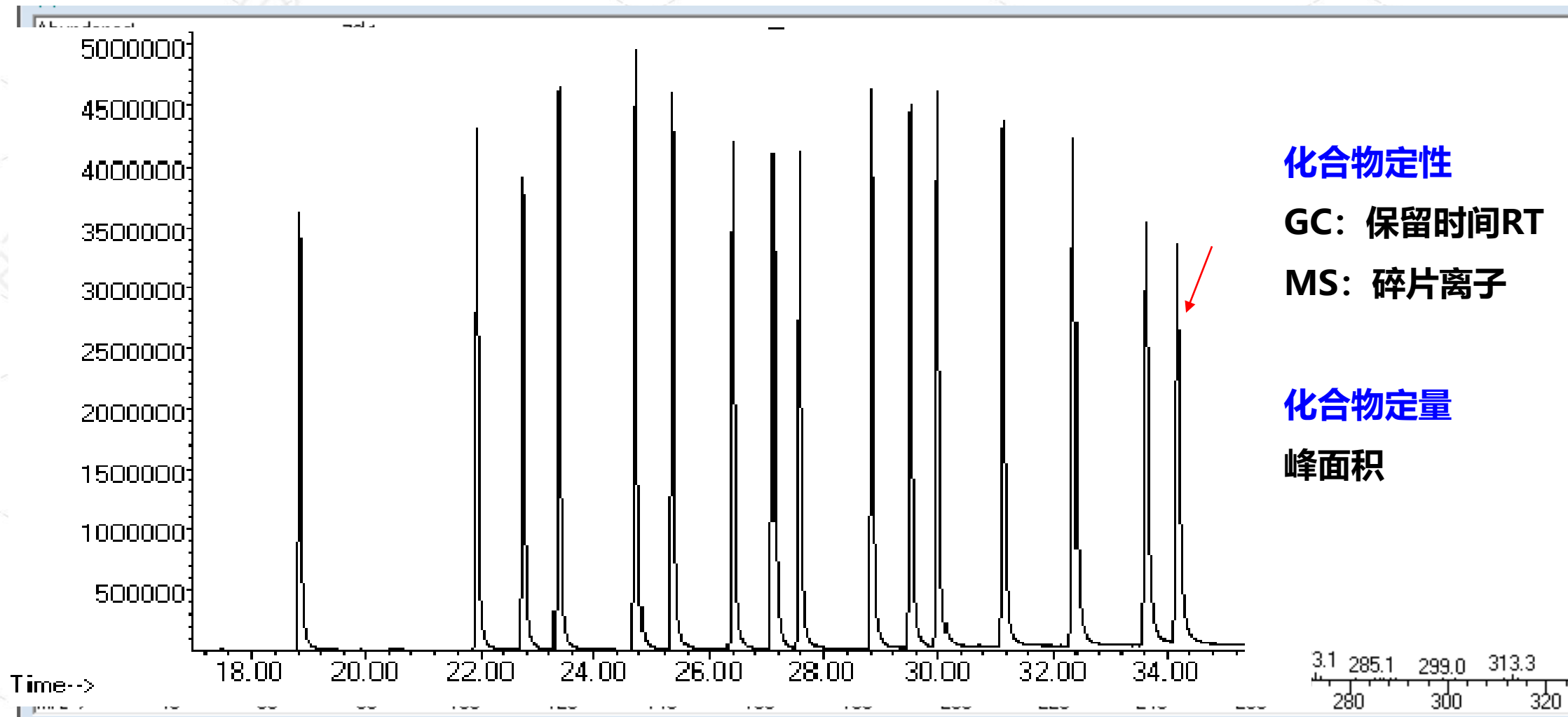
◆ 定量的方法: 标准曲线

外标法

内标法

标准加入法

三 GCMS的应用范围



化合物定性

GC: 保留时间RT

MS: 碎片离子

化合物定量

峰面积

DHA



四 脂肪酸的测定

4.1 脂肪酸的结构和种类

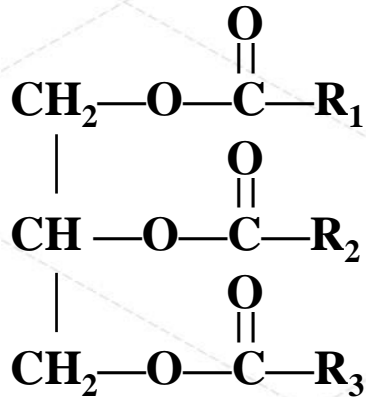
4.2 脂肪酸的提取原理和过程

4.3 脂肪酸分析方法的建立

4.4 脂肪酸的定量计算

4.1 脂肪酸的结构和种类

脂类：脂肪和类脂；脂肪是甘油和脂肪酸组成的**三酰甘油酯**，**类脂**包括脂肪酸、磷脂、糖脂、固醇、蜡等
脂肪的种类：饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸



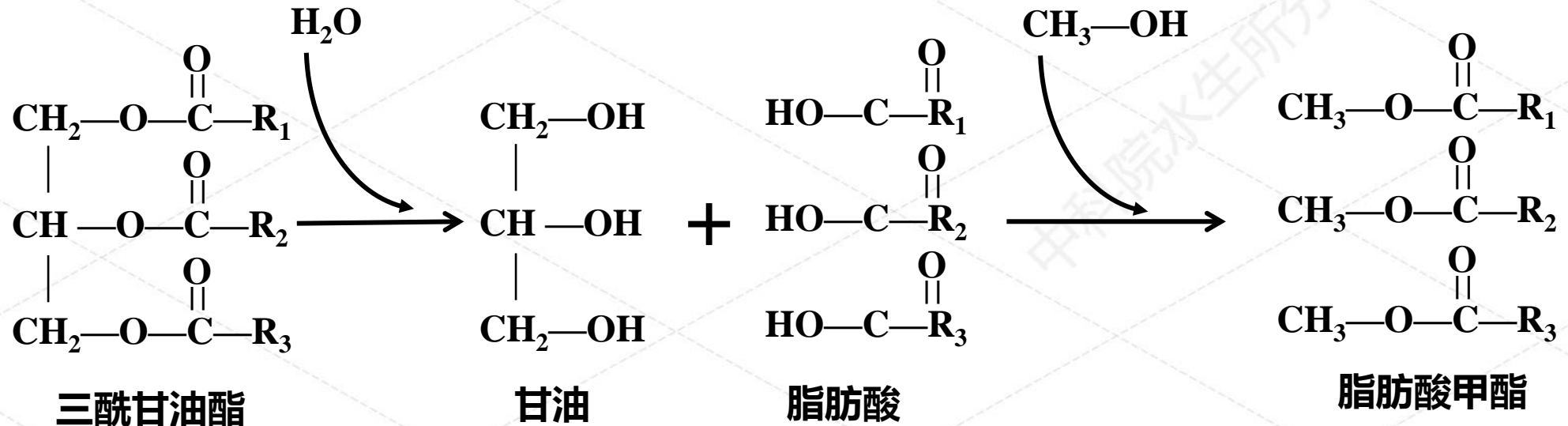
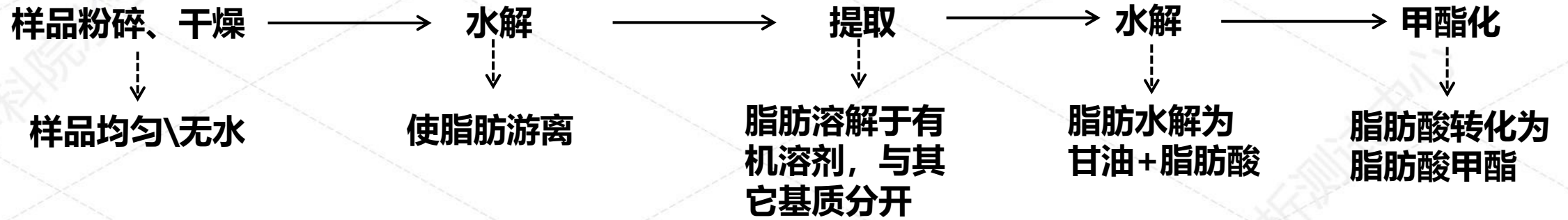
三酰甘油酯的结构式



4.2 脂肪酸的提取原理和过程

脂肪的种类：结合态、游离态

脂肪酸的提取过程：



4.2 脂肪酸的提取原理和过程——提取溶剂

提取溶剂	极性	沸点	其它性质	适用范围	不适用范围
乙醚	有一定极性 溶解脂肪强	34.6℃ 易燃	可饱和 2%水	无水样品 游离态脂肪 与酸碱或乙醇结合 破坏脂类与非脂类	鱼肉蛋等样品
石油醚	弱极性 溶解脂肪比乙醚弱	30-80℃ 不太易燃		允许含微量水 游离态脂肪 与酸碱或乙醇结合 破坏脂类与非脂类	鱼肉蛋等样品
氯仿-甲醇	甲醇极性强 氯仿弱极性			脂蛋白、磷脂 鱼肉蛋等样 全部脂类	

4.2 脂肪酸的提取原理和过程——提取方法

(1) 氯仿-甲醇提取

原理：样品分散于氯仿-甲醇中，
可把结合态的全部脂肪提取

适用范围：结合态脂类，磷脂含量
高的样品，例如鱼肉蛋、大豆类



(2) 酸水解-乙醚/石油醚提取

原理：利用盐酸加热水解，使结合或在组
织内的脂肪游离，再用乙醚-石油醚提取。

适用范围：各类食品中的脂肪，对固体、
半固体、粘稠液体或液体食品



(3) 碱水解-乙醚/石油醚提取

原理：利用氨-乙醇破坏乳的胶体性状及
脂肪球膜，使非脂成分溶解其中，脂肪游
离，再用乙醚-石油醚提取。

适用范围：液体乳、乳制品、豆乳等

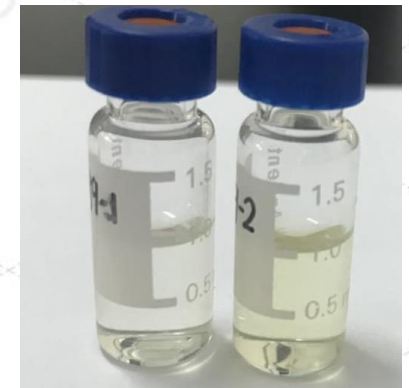
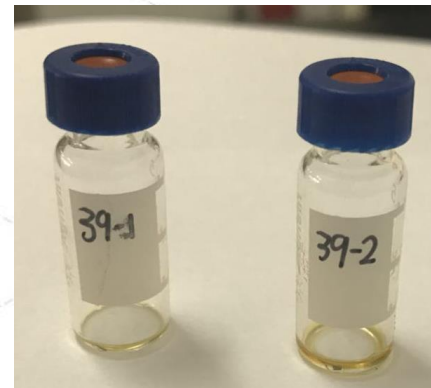
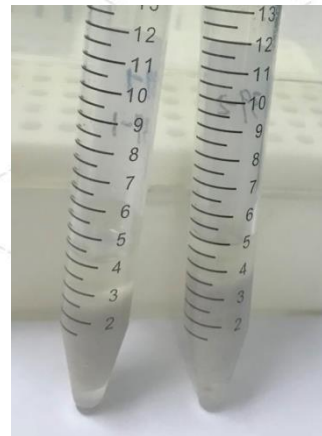
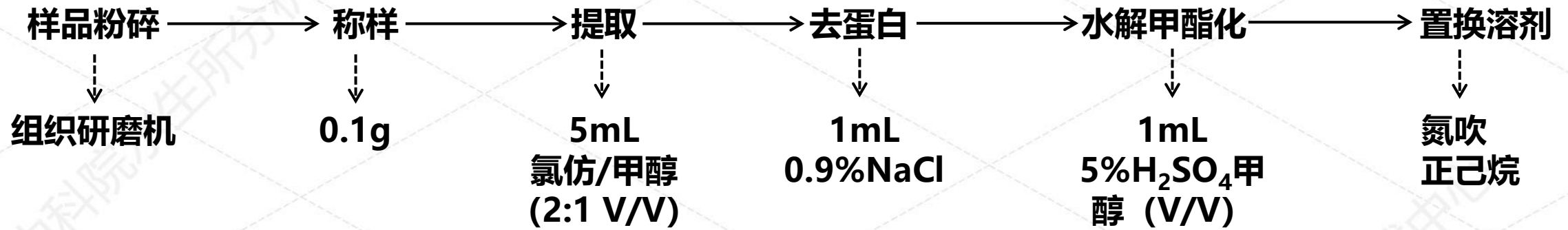


4.2 脂肪酸的提取原理和过程——鱼肉中脂肪酸的提取方法

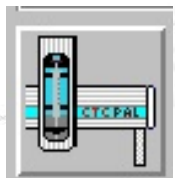
鱼肉中总脂肪酸的提取和脂肪酸的甲酯化

- (1) **提取**: 称取匀浆后的鱼肉组织 0.1g, 加入 5mL 氯仿/甲醇(2:1, vol/vol)溶液, 于冰箱 4℃处理过夜, 抽提鱼肉组织中的脂肪;
- (2) **加盐沉淀蛋白**: 加入 1ml 的 0.9% NaCl 或者 0.88%KCl 溶液, 混匀, 溶液分层;
- (3) **分离脂肪**: 转移下层有机溶液至气相色谱分析瓶, 置于吹干仪上吹干有机溶液;
- (4) **脂肪酸的甲酯化**: 加入 1ml 的含 5%硫酸的甲醇溶液(vol/vol)或者 2.5M HCl的甲醇溶液, 生胶带封口, 100℃水浴 1h;
- (5) **分离酸和甲醇**: 冷却后, 加入 200ul 的 ddH₂O, 混匀;
- (6) **正己烷萃取脂肪酸甲酯**: 加入 200ul 正己烷, 混匀后吸取上层有机相, 转移至新的气相色谱分析瓶, 萃取过程重复 2-3 次;
- (7) **氮吹**: 用氮吹仪吹干正己烷, 脂肪酸甲酯沉积在样品瓶底部;
- (8) **正己烷复溶**: 再用 1ml 的正己烷复溶脂肪酸甲酯, 密封于-18℃保存, 准备上机检测。

4.2 脂肪酸的提取原理和过程——鱼肉中脂肪酸的提取方法



4.3 脂肪酸分析方法的建立



自动进样器
进样量: 1ul



GC

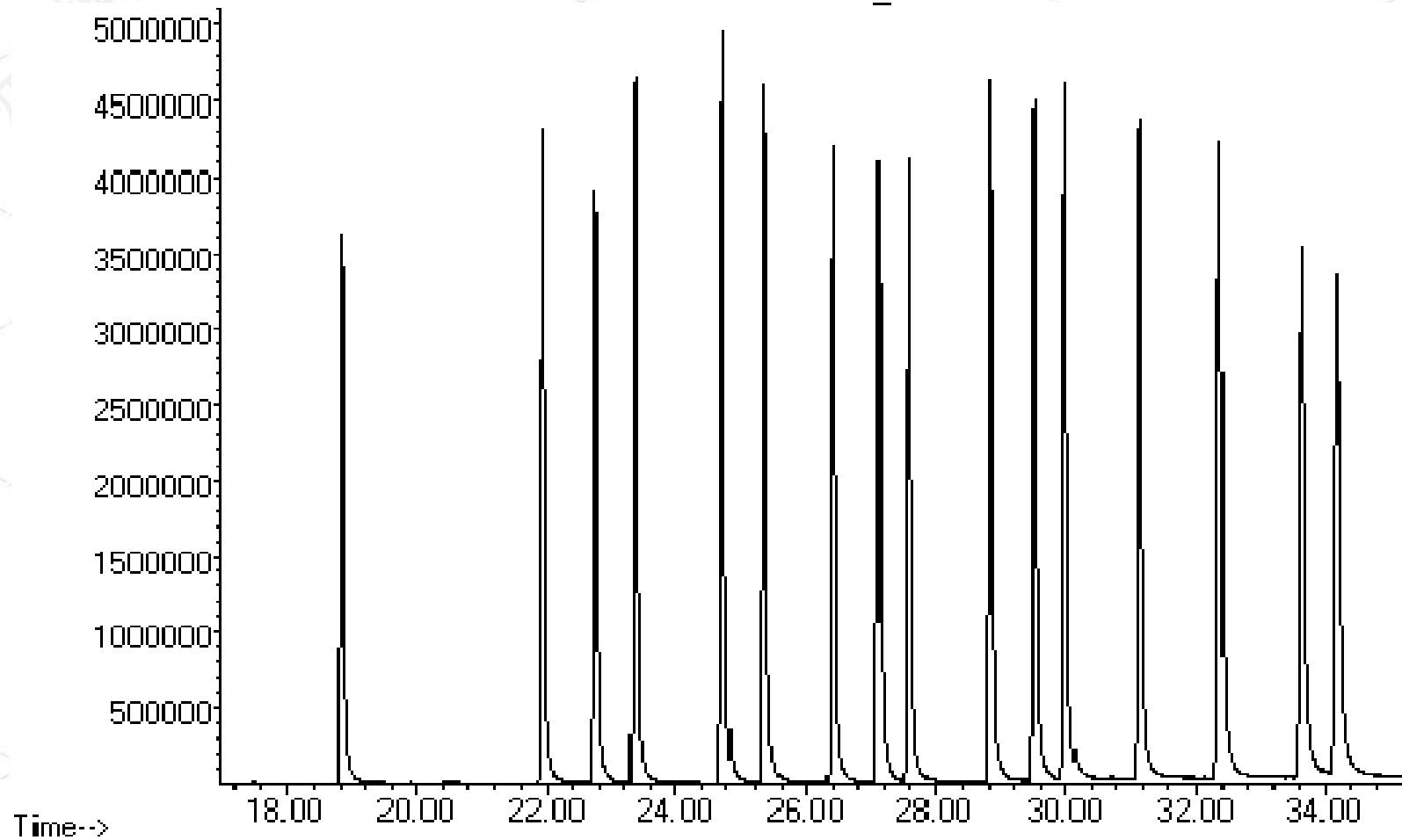
柱子型号: HP88 60m×0.25mm×0.2um
进样口温度: 250°C
分流比: 10:1
柱流量: 1ml/min
程序升温: 100°C 5min,
5°C/min 230°C 15min



MS

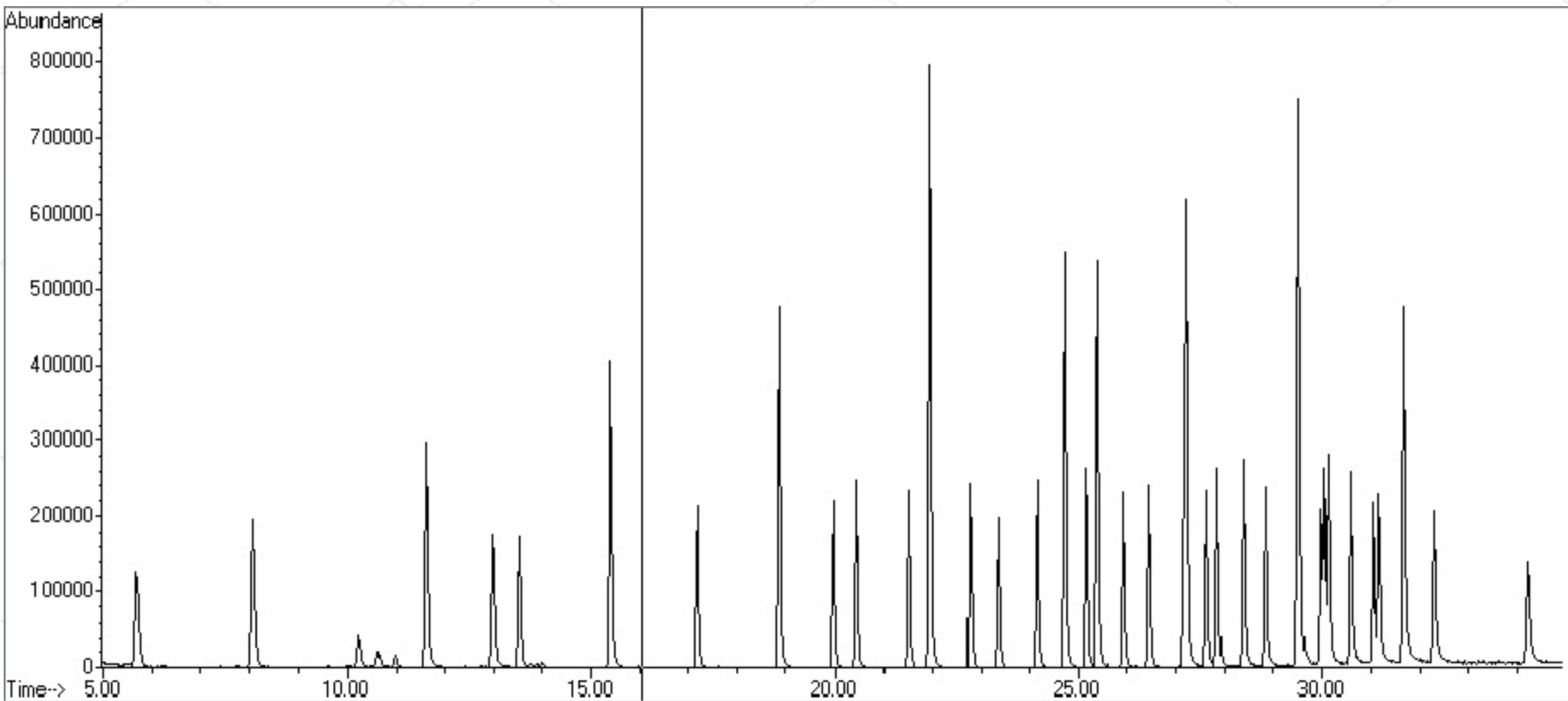
电子能量: 70eV
离子源温度: 230°C
四级杆温度: 160°C
传输线: 230°C

4.3 脂肪酸分析方法的建立



16种脂肪酸甲酯

4.3 脂肪酸分析方法的建立



37种脂肪酸甲酯

4.4 脂肪酸的定量计算——外标法

外标法的前提条件

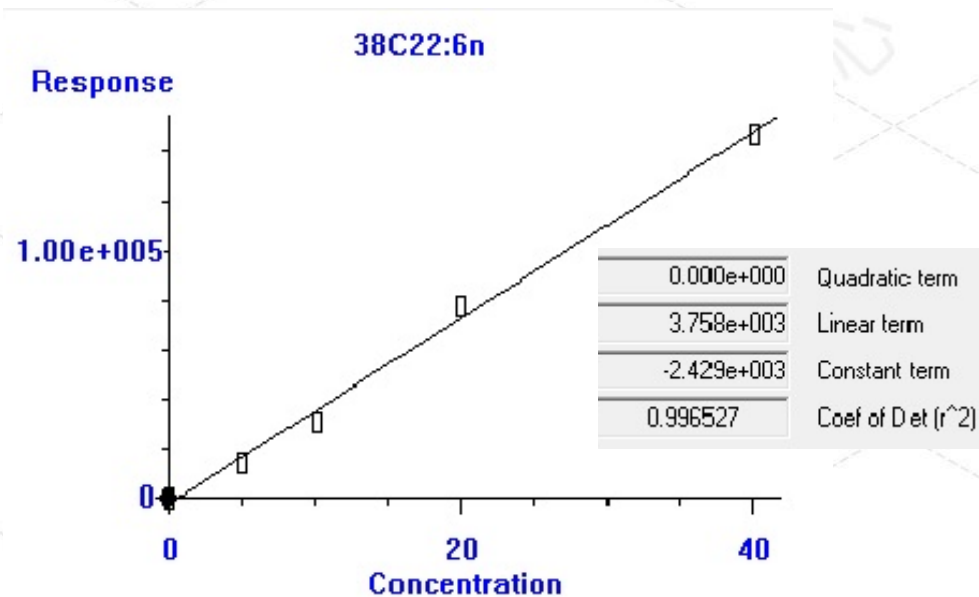
浓度与相应强度呈正比

前处理的回收率在可接受的

范围内 (80-120%)

外标法的标准曲线

X轴：标准物质的浓度 Y轴：标准物质的响应强度



4.4 脂肪酸的定量计算——内标法

内标法的适用

前处理回收率不理想,
仪器检测不稳定

内标的选择依据

样品中不含有
理化性质与待测物质相近
与待测物完全分离
不影响待测物

4.4 脂肪酸的定量计算——内标法

内标物质的选择

内标物质	加内标时间	适用样品	文献
十一碳酸甘油三酯	称样后加入，一起前处理	食品、乳制品、乳酪	GB5009.168-2016
十七烷酸	称样后加入，一起前处理	饲料	GB/T 21514-2008/ISO/TS 17764:2002
十九烷酸	称样后加入，一起前处理	鳕鱼	Meier S , MjøS S A , Joensen H , et al. Validation of a one-step extraction/methylation method for determination of fatty acids and cholesterol in marine tissues[J]. journal of chromatography a, 2006, 1104(1-2):291-298.

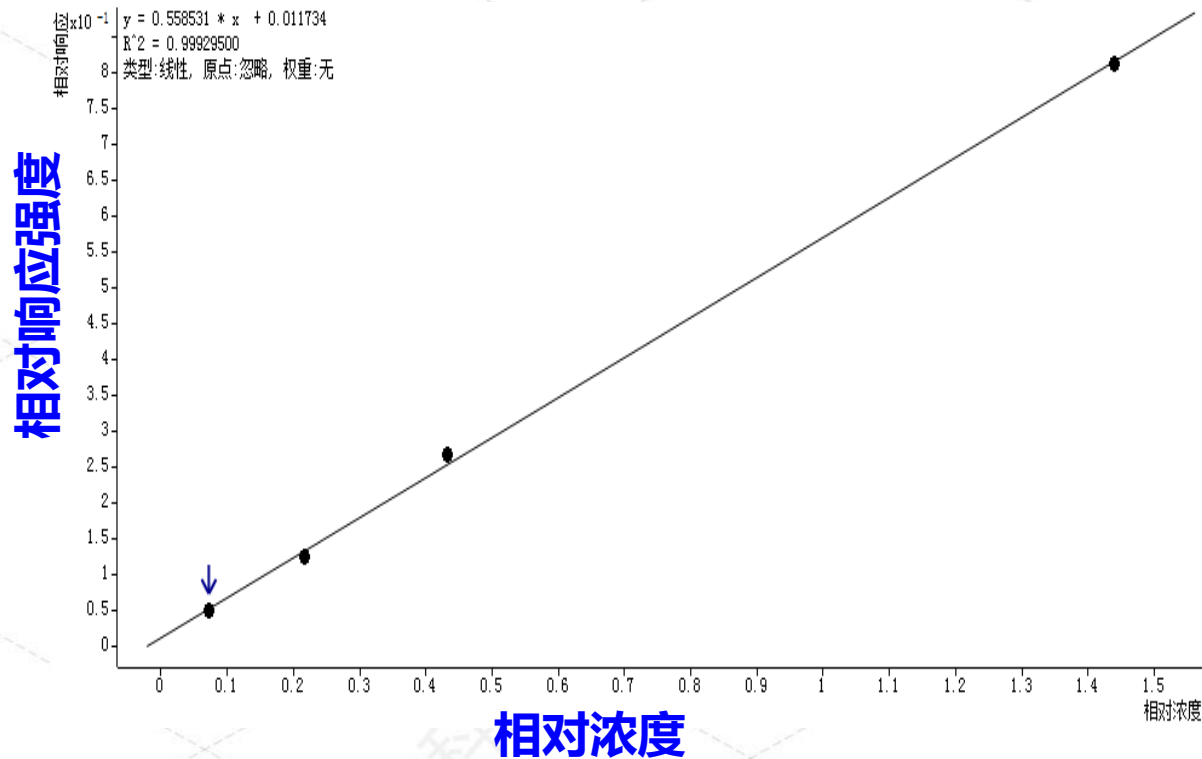
4.4 脂肪酸的定量计算——内标法

内标法的标准曲线

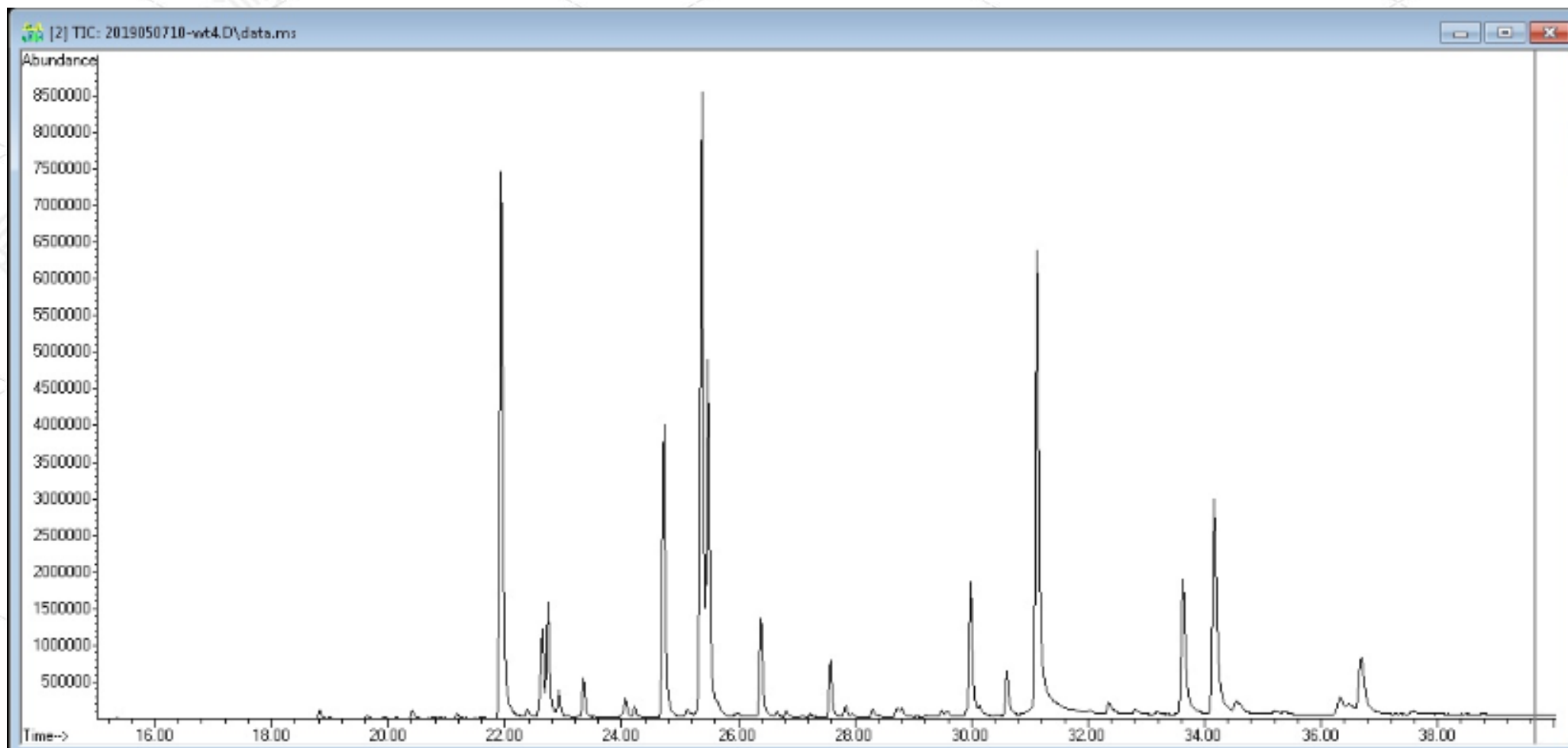
X轴：标准物质的浓度与内标浓度比值

Y轴：标准物质和内标相应强度比值

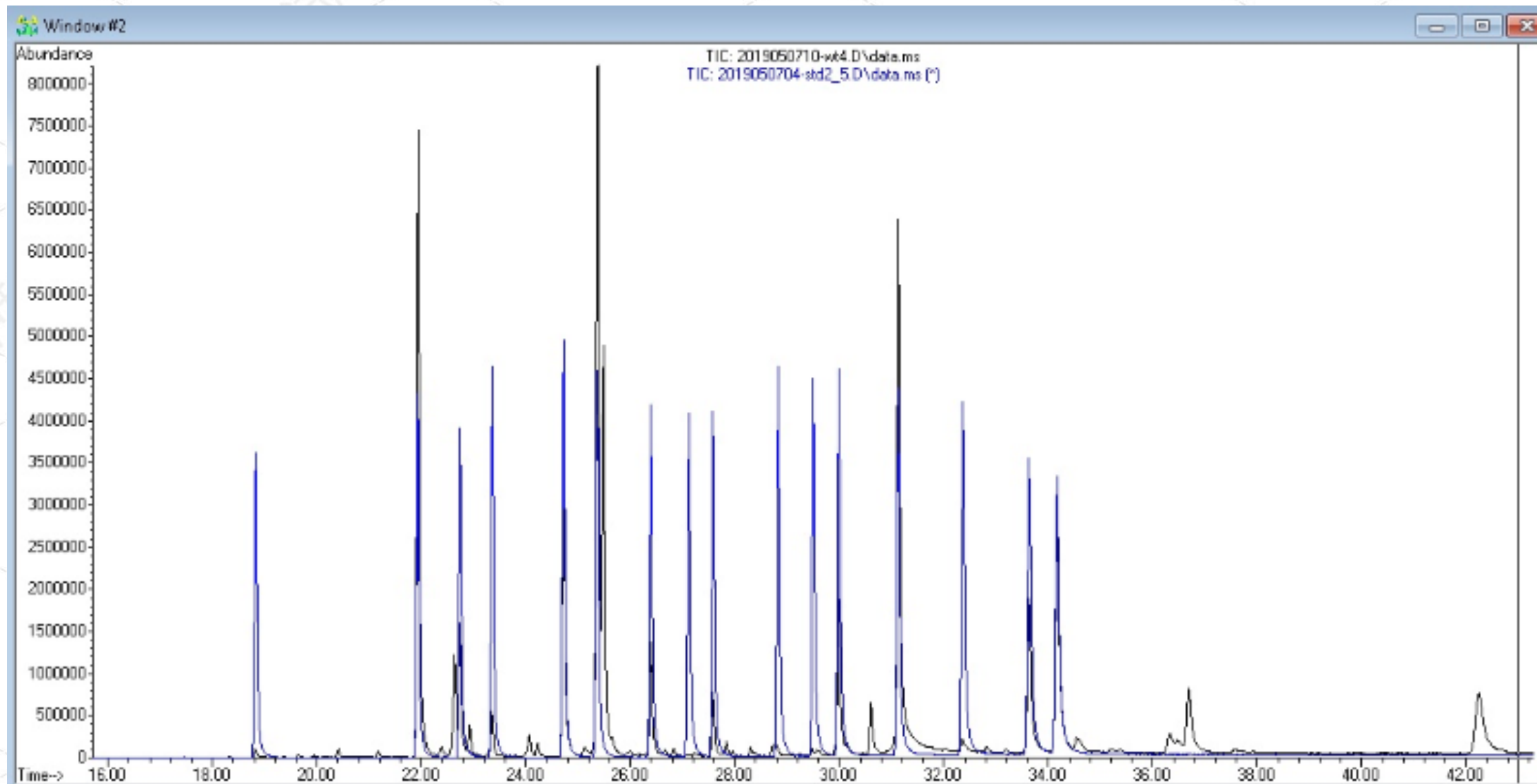
内标法：
$$\frac{I}{I_{instd}} = a \frac{c}{c_{instd}}$$



4.4 脂肪酸的定量计算——样品峰形图



4.4 脂肪酸的定量计算——样品峰形图与标样图对比



4.4 脂肪酸的定量计算——样品定量数据

样品定量计算结果

Compound	R.T.	QIon	Response	Conc	Units	Dev(Min)

Target Compounds						Qvalue
1) 1 Methyl tetradecanoate	18.896	74	59561	0.20	mg/mL	100
2) 2 C16:0	22.026	74	1653076	1.52	mg/mL	100
3) 3 C16:1	22.711	55	66326	0.36	mg/mL	100
4) 4 C17:0	23.322	74	1190	0.15	mg/mL	100
5) 5 C18:0	24.809	74	734845	0.72	mg/mL	100
6) 6 C18:1	25.461	55	552415	1.72	mg/mL	100
7) 7 C18:2n-6	26.364	67	2046	0.13	mg/mL	100
8) 8 C18:3n-6	27.185	79	1679	0.11	mg/mL	100
9) 9 C18:3n-3	27.660	79	118734	0.32	mg/mL	100
10) 10 C20:2n-6	28.794	67	3496	0.06	mg/mL	100
11) 11 C20:3n-6	29.568	79	6521	0.06	mg/mL	100
12) 12 C20:4n-6	30.070	79	151148	0.40	mg/mL	100
13) 13 C20:5n-3	31.218	79	637274	1.35	mg/mL	100
14) 14 C22:4n-6	32.439	79	9929	0.00	mg/mL	100
15) 15 C22:5n-3	33.729	79	206562	0.41	mg/mL	100
16) 16 C22:6n-3	34.272	79	298256	0.65	mg/mL	100

4.4 脂肪酸的定量计算——脂肪酸甲酯/脂肪酸/脂肪酸甘油三酯换算系数

表 D.1 脂肪酸甲酯、脂肪酸和脂肪酸甘油三酯之间的转化系数

序号	脂肪酸简称	$F_{\text{FAME-FA}}$	$F_{\text{FAME-TG}}$	$F_{\text{TG-FA}}$
1	C4:0	0.862 7	0.986 8	0.874 2
2	C6:0	0.892 3	0.989 7	0.901 6
3	C8:0	0.911 4	0.991 5	0.919 2
4	C10:0	0.924 7	0.992 8	0.931 4
5	C11:0	0.930 0	0.993 3	0.936 3
6	C12:0	0.934 6	0.993 7	0.940 5
7	C13:0	0.938 6	0.994 1	0.944 1
8	C14:0	0.942 1	0.994 5	0.947 4
9	C14:1n5	0.941 7	0.994 4	0.946 9
10	C15:0	0.945 3	0.994 8	0.950 3
11	C15:1n5	0.944 9	0.994 7	0.949 9
12	C16:0	0.948 1	0.995 0	0.952 9
13	C16:1n7	0.947 7	0.995 0	0.952 5
14	C17:0	0.950 7	0.995 3	0.955 2
15	C17:1n7	0.950 3	0.995 2	0.954 9

化学分析和环境仪器平台的仪器设备

小分子化合物

有机化合物

无机化合物和元素

分子量 > 1000

分子量 < 1000

阳离子

阴离子

元素

液相色谱
液相色谱-质谱联用仪

气相色谱
气相色谱-质谱联用仪

ICPMS
ICPOES

离子色谱仪

稳定同位素质谱仪



化学分析和环境仪器平台的成员及能够提供的服务

左艳霞 027-68780321
yxzuo@ihb.ac.cn

门君 027-68780783
menjun@ihb.ac.cn

服务一：化合物的测试

有机化合物
无机化合物
元素

服务二：实验操作培训

GCMS
HPLC-MS
ICPMS
ICPOES
IRMS

服务三：实验方案规划

实验前：采样/样品准备
实验中：仪器的选择
实验后：数据处理



欢迎大家前来交流

