

液相质谱仪实验技术

于腊佳

(厦门大学 化学化工学院 福建 厦门 361005)

摘要: 以植物中提取的一热不稳定有机化合物为例,分别采用液相质谱仪电喷雾电离源(ESI)和大气压化学电离源(APCI)方法检测。同时对ESI加热毛细管的技术参数设若干温度点(从200~104℃)跟踪检测分析,得出如下结果:对于极性且热不稳定有机化合物适宜的检测方式为ESI,随着加热毛细管温度不断降低,可以获得更为丰富的谱峰信息;在低于通常的加热毛细管温度设置区域能测得其准分子离子峰和相应的碎片峰。表明在液相质谱检测中优化传统溶剂等离子化效应下还必须关注到离子源和加热毛细管温度的选择,这对有机化合物的结构分析极有意义。

关键词: 热不稳定有机化合物; 实验技术; 电喷雾电离源; 大气压化学电离源; 加热毛细管温度

中图分类号: O 657.63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1006-7167(2013)11-0053-03

A Study on the Liquid Mass Spectrometer Experimental Technology

YU La-jia

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: To improve the detection accuracy and efficiency of the liquid mass spectrometer and the qualitative analysis level of the liquid mass spectrometer for the thermally unstable organic compounds, an optimized experiment technology of the liquid mass spectrometer was introduced for the thermally unstable organic compounds in this paper. A kind of the thermally unstable organic compounds extracted from the plant was detected respectively by electrospray ionization (ESI) and atmospheric pressure chemical ionization (APCI); by setting several temperature points (from 200 °C to 104 °C) of the heated capillary, the detected compounds was tracked and analyzed. With the temperature of the heated capillary reduced, more mass spectrometry information can be obtained. A conclusion could be drawn that the detection method of ESI is suitable to the extremely and thermally unstable organic compounds, the quasi-molecular ions spectrum and the corresponding fragment spectrum could be obtained in the settings area of lower capillary temperature. It was indicated that the ion source and the temperature of the heated capillary must be selected in the detection of the liquid mass spectrometer. It is important for the structure analysis of the thermally unstable organic compounds.

Key words: the thermally unstable organic compounds; experimental technology; electrospray ionization (ESI); atmospheric pressure chemical ionization (APCI); temperature of the heated capillary

0 引言

液相质谱仪通常意义上是指广泛应用于各个学科领域中通过制备、分离、检测气相离子来鉴定化合物的一种仪器。质谱法在一次分析中可提供丰富的结构信

息,质谱可以确定相对分子质量,并在其他手段的协助下确定分子式及其相应的分子结构^[1-4]。液相质谱仪是由离子源、质量分析器和检测部分组成的。离子源的种类有很多,但是从分析的灵敏度、适应的样品极性范围以及与HPLC的兼容性等几个方面综合考虑,电喷雾电离源(ESI)和大气压化学电离(APCI)占有优势。随着近年来液相质谱仪的迅猛发展,ESI、APCI成为最广泛使用的电离技术^[5-8]。通常影响液相质谱离子化效应的因素有雾化压力、溶剂性质、样品化学性质、高压电极等。为了提高检测效率,人们针对不同样

收稿日期:2013-02-27

基金项目:厦门大学科技创新基金(XDKJCX20051003)

作者简介:于腊佳(1960-),女,福建厦门人,高级工程师,从事液相色谱联用仪和气相色谱联用仪的管理和实验研究工作。

Tel.: 13313869773; E-mail: lju@xmu.edu.cn

品性质分别在溶剂选择、高压电极、离子源种类等技术参数选择上做了各式的研究^[8-12],但对加热毛细管温度尤其是低温度的实验技术参数的研究却鲜有报道。本文就植物中提取的(3,4-二甲氧基苯乙酸)-(3,4-二甲氧基苯丙酸)酐有机化合物的液相质谱检测为例,以离子源种类和加热毛细管温度的技术参数的选择对检测效果影响进行探索。

1 实验仪器与方法

1.1 仪器

样品检测使用 Thermo FINNIGAN LCQ 离子阱液相质谱联用仪。

1.2 溶剂与试剂

溶剂:上海实验试剂有限公司的 HPLC 乙酸乙酯;流动相:MERCK KGaA 64271 Darmstadt Germany 的 HPLC 甲醇;有机样品配制成 1 g/L 浓度备用。

1.3 液相质谱检测条件

流动相流速 1 ~ 0.6 mL/min; APCI 源条件:源电压 4.67 kV 源电流 4.93 μ A 蒸发汽温度 300 $^{\circ}$ C 鞘气流速 10 L/min 辅助气流速 2.5 L/min 加热毛细管电压 -4.47 V 加热毛细管温度 175 $^{\circ}$ C; ESI 源条件:源电压 3.51 kV 源电流 0.58 μ A 鞘气流速 10 L/min 加热毛细管电压 -4.47 V 加热毛细管温度(100 ~ 104 $^{\circ}$ C)。对该备测纯的已配制样品直接通过注射器注入液相质谱仪液体流动泵中进入质谱仪进行检测。

2 结果与讨论

2.1 实验结果

实验结果见表 1 及图 1 ~ 3。在 APCI 源正离子检测模式下只获得该化合物低 m/z 的碎片峰; ESI 源正离子检测模式下不同的加热毛细管温度显现不同的谱表 1 加热毛细管温度对(3,4-二甲氧基苯乙酸)-(3,4-二甲氧基苯丙酸)酐

源种类	加热毛细管温度/ $^{\circ}$ C	准分子离子	碎片离子(相对丰度)
APCI	175		149 (20), 177 (50), 223 (100)
ESI	200		177-199(90), 223(97), 332(100)
ESI	173		177 (25), 223 (100), 240 (35), 332(80)
ESI	120		177(8), 223(55), 240(80), 332(100)
ESI	104	389 (M + H ⁺)	177 (15), 223 (100), 240 (25), 332(50), 345(28), 353(47), 389(22)

峰状态,加热毛细管温度为 200 $^{\circ}$ C 时也只获得该化合物高于 APCI 检测所得的较低 m/z 的碎片峰,随着加热毛细管温度不断降低,可以获得 m/z 向准分子离子峰 m/z 逐渐接近的丰富的碎片谱峰;当加热毛细管温度低至 104 $^{\circ}$ C 时可测得该化合物的准分子离子峰及其与它结构相关的碎片谱峰。

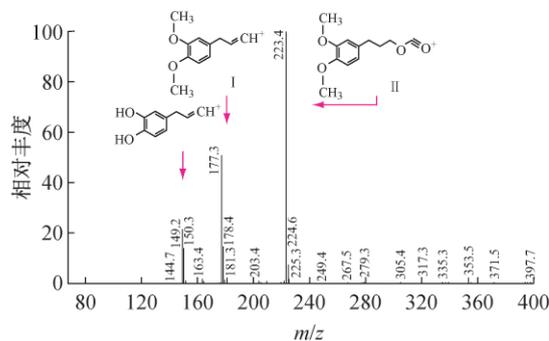


图 1 APCI 源液相质谱检测结果图(毛细管温度 175 $^{\circ}$ C, 蒸发汽温度 300 $^{\circ}$ C)

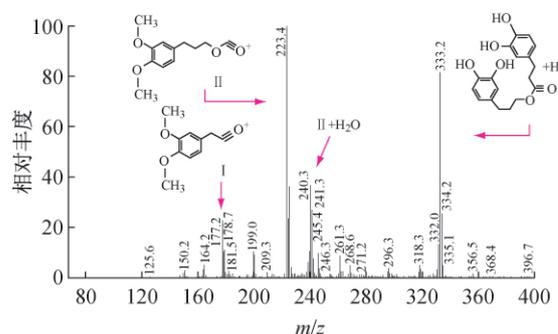


图 2 ESI 源液相质谱检测结果图(毛细管温度 173 $^{\circ}$ C)

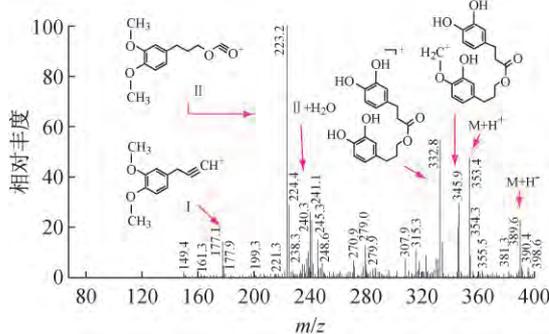


图 3 ESI 源液相质谱检测结果图(毛细管温度 104 $^{\circ}$ C)

2.2 讨论

液相质谱仪 APCI 离子源是通过让加热而挥发性的样品与混合溶剂电晕放电产生的反应离子发生气相化学电离反应。电离时 APCI 中的溶剂要通过一个高温汽化室,且温度要比 ESI 源的去溶剂温度高很多^[9]。ESI 离子源工作原理见图 4。液体样品随着流动相进入到电喷雾口的毛细管末端,在脱溶剂氮气体的吹扫下,该液体样品快速形成雾状气溶胶,此时毛细管末端的数千伏高压电形成的电场使气溶胶中的小液

滴表面带上电荷,随着溶剂的不断挥发,液滴变小,但由于液滴表面电荷数不变,而导致液滴表面单位体积的电荷数不断增多,最终产生强烈的排斥作用,促使样品从液滴的表面溅射出来形成带电离子,进入加热毛细管通道等从而被检测^[13-15]。由于本实验 APCI 尽管使用较低的蒸发温度 300 °C,以便于流动相的挥发和溶质的电离,但仍然无法获得本实验相对纯样的准分子离子峰,只得到相应低的 m/z 碎片峰,可见该化合物属热不稳定物质,检测时经过高温汽化而分解。因此选择 ESI 作为研究的离子源。加热毛细管的温度是在进样口的位置,它的温度高低会影响物质的带电情况。对热不稳定的物质,温度太高会破坏物质的结构,而温度太低又影响带电的效果。早期的科学家们也证实了加热的高温毛细管会引起化合物热裂解^[16]。对于一般的液相质谱仪 ESI 检测模式加热毛细管最佳检测温度通常设置在 200 ~ 250 °C 区域,检测时在此间设定某个固定温度值,很少改变加热毛细管的检测温度(对大多数被检物质影响不大)。ESI 离子源使用反向吹扫的加热氮气,加热可以帮助小液滴脱除溶剂。本实验在传统的这一技术值设置到 100 °C(温度若太低影响带电的效果无法检测),设若干温度点检测,随着毛细管温度降低,意味着脱除溶剂过程越温和,越有助于保持热不稳定有机化合物的结构不被破坏,可以获得 m/z 对准分子离子峰 m/z 逐渐接近的碎片峰,谱峰信息也就越丰富,最终在 104 °C 下获得了准离子峰,从而说明脱溶剂温度对某些热不稳定有机化合物检测结果影响极大。

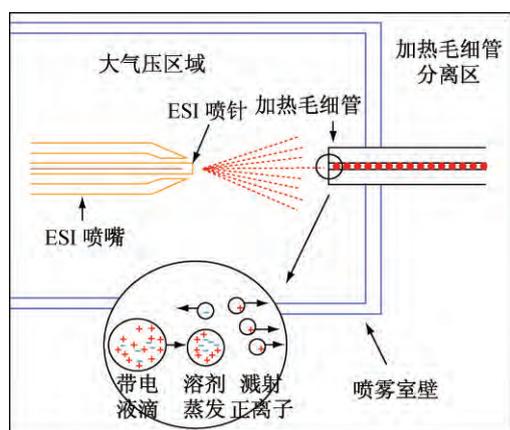


图 4 电喷雾过程中的正离子模式示意图

3 结 语

影响液相质谱软电离 (ESI、APCI) 检测的离子化效应的因素有许多。对于液相质谱检测中除了优化传统溶剂等离子化效应下还必须在针对检测样品化学性质而选择离子源的种类,同时不可忽视加热毛细管温度设置这一实验技术参数的选择;在考虑升高加热毛

细管温度(对于极性低难电离化合物)同时也要注意在合理区域内降低毛细管温度,尤其是本文所涉及对该类热不稳定化合物的测定,除了选择 ESI 离子源外,加热毛细管温度的实验技术参数在一定区域调低,能检测到反应此化合物结构的整个碎片群。总之在通常的 ESI 检测中对大多数化合物而言毛细管温度只需要设置在传统最佳工作区域(200 ~ 250 °C),但对热不稳定、易分解的化合物毛细管温度的实验技术参数的选择就不容忽视,将直接影响检测效果。

参考文献(References):

- [1] 李占双,景晓燕,王君,等.近代分析测试技术[M].北京:北京理工大学出版社,2009:322-347.
- [2] 屠一锋,严吉林,龙玉梅,等.现代仪器分析[M].北京:科学出版社,2011:244-259.
- [3] 张立,钱荣,张祥.电喷雾质谱法在研究有机反应中间体方面的应用[J].有机化学,2008,28(3):372-380.
- [4] 王宇歆,刘洪斌,李东华.液相色谱质谱联用技术在中药研究中的应用进展[J].中国中西医结合外科杂志,2011,17(4):444-446.
- [5] Paul H, Amjad M K, Tony B, et al. Drug impurity profiling by capillary electrophoresis/mass spectrometry using various ionization techniques[J]. Rapid Communication in Mass Spectrometry, 2009, 23(18):2878-2884.
- [6] Xie S Y, Deng S L, Yu L J, et al. Separation and identification of perchlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons and fullerenes (C60, C70) by coupling high-performance liquid chromatography with ultraviolet absorption spectroscopy and atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2001, 932: 43-53.
- [7] Tong W, Chowdhury S K, Chen J C, et al. Fragmentation of Nox-ides (deoxygenation) in atmospheric pressure ionization: investigation of the activation process [J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry 2001, 15(22): 2085-2090.
- [8] Risto K, Tiina J K. Effect of eluent on the ionization process in liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A 2009, 1216(4): 685-699.
- [9] 帕拉马尼克 B N,甘古利 A K,格罗斯 M L.电喷雾质谱应用技术[M].北京:化学工业出版社,2005:35.
- [10] 徐友宣,王超,彭师奇,等.小分子药物的 APCI/MS 研究[J].中国新药杂志,2002,11(5):368-373.
- [11] 李明,陈建民.红豆杉中巴卡亭类化合物的 ESI/MS 及 APCI/MS 比较研究[J].复旦学报(自然科学版),2004,43(6):1093-1097.
- [12] 陈明,王立群,果修杰,等.柱后辅助有机溶剂喷雾对液相色谱-电喷雾质谱分析的影响[J].质谱学报,2009,30(6):321-326.
- [13] 邱欣.电喷雾质谱法的理论与实践[J].沈阳药科大学学报,1999(2):146-150.
- [14] 杨树民.大气压电离液质联机的应用[J].质谱学报,1998(1):66-80.
- [15] 李娟,刘宏民.电喷雾质谱法的实验教学探讨[J].实验科学与技术,2011,9(4):134-135.
- [16] Rockwood A L, Busman M, Udseth H R, et al. Thermally induced dissociation of ions from electrospray mass Spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Spectrom, 1991(5):582-585.