

烷基多苷高效液相色谱-电喷雾质谱行为的研究

金 欣¹, 张淑芬², 杨锦宗²

(1. 青岛科技大学化工学院, 山东 青岛 266042; 2. 大连理工大学精细化工国家重点实验室, 辽宁 大连 116012)

摘要:采用高效液相色谱-电喷雾质谱法(HPLC-ESI/MS)分析非离子表面活性剂烷基多苷(APGs)的组成与结构,并探讨加合离子形成的机理。APGs在反相柱上按照不同的碳链长度和糖基聚合度被分离。在负离子模式下,各组分主要以脱质子离子 $[M-H]^-$ 的形式被检测到;在正离子模式下,APGs中的各组分能够以质子化分子离子 $[M+H]^+$ 或阳离子加合物 $[M+NH_4]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 和 $[M+K]^+$ 的形式被检测。采用提取离子色谱的处理方法研究加合离子形成的机制。加合离子的形成与糖苷分子的结构有关,吡喃糖苷与 H^+ 、 NH_4^+ 、 Na^+ 和 K^+ 均能形成加合离子,而呋喃糖苷加合离子的形成具有选择性,只与 Na^+ 和 K^+ 表现出较强的加合能力。

关键词:高效液相色谱-电喷雾质谱法;非离子型表面活性剂;烷基多苷

中图分类号:O657.63 文献标识码:A 文章编号:1004-2997(2007)03-179-06

Research of Alkyl Polyglucosides by HPLC-ESI/MS

JIN Xin¹, ZHANG Shu-fen², YANG Jin-zong²

(1. Department of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China;

2. State Key Laboratory of Fine Chemicals, Dalian University of Technology, Dalian 116012, China)

Abstract: The identification of different components in nonionic surfactants-alkyl polyglucosides (APGs) mixture was achieved by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-ESI/MS) and the possible mechanism for the formation of adduct ions was discussed. The APGs were separated according to their different alkyl chain lengths and number of glucoside units. Individual components could be detected as cationized ions $[M+H]^+$, $[M+NH_4]^+$, $[M+Na]^+$ or $[M+K]^+$, in positive ion mode and as deprotonated ions in negative ion mode. The mechanism for the formation of adducts ions was studied by extracted ion chromatography (EIC). The formation of adducts ions can be effected by molecule structure of alkyl glucosides. The alkyl glucopyranosides exhibit high tendency to form adducts ions without selectivity, whereas glucofuranosides manifest much higher selectivity towards Na^+ and K^+ compared with H^+ and NH_4^+ .

Key words: high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry (HPLC-ESI/MS); nonionic surfactants; alkyl polyglucosides

烷基多苷 (APGs) 是一种新型非离子表面活性剂, 因具有优越的生态学、表面化学性质及优良的配伍性能, 被广泛应用于洗涤、化妆品、农业用化学品等领域^[1-4]。工业级 APGs 是一个复杂的混合物, 由大量具有不同链长和糖基聚合度的同系物组成, 随着链长、糖基聚合度 (DP) 以及制备方法的改变, APGs 的各项性能也会发生较大的变化, 如水溶性、临界胶团浓度 (CMC)、流变性等。因此准确确定 APGs 组成与结构对其生产和应用都具有十分重要的意义。高温气相色谱 (HTGC)^[5]、高效液相色谱 (HPLC) 法^[6] 以及气相色谱-质谱联用 (GC/MS) 法^[7] 等都是分析 APGs 组成的常用方法, 然而上述方法存在诸多缺点, 如需要大量标准品作参照, 样品衍生化过程复杂等。近年来, 高效液相色谱-质谱 (HPLC-MS) 联用技术得到较快的发展^[8-9], HPLC-MS 法具有灵敏度高, 无须标准品作参照等优点, 非常适用于结构组成复杂的 APGs 产品分析。目前, HPLC-MS 法已被用于 APGs 产品组成的定性分析^[10], 而对于 APGs 的质谱行为, 特别是对电喷雾质谱中阳离子加合物的形成机理研究较少。本工作采用提取离子色谱 (extracted ion chromatogram, EIC) 的处理方法研究加合离子形成的机制, 为 APGs 产品的质量检测和控制提供分析依据。

1 试验部分

1.1 主要仪器与试剂

HP1100 系列 HPLC-MS 系统; 美国 Agilent 公司产品, 配有电喷雾离子源 (ESI) 及 LC/MSD ChemStation 工作站; C_{12}/C_{14} APGs 固体样品在实验室以葡萄糖和 C_{12}/C_{14} 天然脂肪醇为原料通过直接缩醛化反应制备 (直接法), 平均 $DP=1.3$; 实验用水为二次蒸馏水。

1.2 试验条件

1.2.1 色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS2 反相柱, I. D. $2.0 \times 200 \mu$; 流动相, A 相: 水 (用氨水调至 pH 为 7~8), B 相: 乙腈; 梯度洗脱: 起始时 90% A, 80 min 时为 100% B。

1.2.2 质谱条件 离子化模式: 正、负电离模式; 质量扫描范围: m/z 50~1 500; 毛细管电压: ± 3.5 kV; 氮气流速: $5.0 L \cdot \min^{-1}$; 干燥气温度: $350^\circ C$; 雾化压力: 137.86 kPa; 雾化温度: $300^\circ C$ 。

2 结果与讨论

2.1 负模式下 APGs 的高效液相色谱-电喷雾质谱行为

HPLC 与 MS 联机使用的优点是可同时实现样品的分离与鉴定, 并且对于多组分的混合物, 可以针对一个化合物或一类化合物的特征质量, 采用提取离子色谱技术进行检测, 能够排除不同组分之间以及背景的干扰, 即使在色谱峰未被完全分离时也可准确定性, 具有较高的灵敏度。

C_{12}/C_{14} APGs 在负模式下的反相 HPLC-MS 总离子流色谱图示于图 1A, APGs 分子主要作为脱质子离子 $[M-H]^-$ 被检测。在总离子流图中, C_{12}/C_{14} APGs 中各组分的出峰顺序取决于 APGs 分子的烷链长度和葡萄糖基的聚合度, 各组分的保留时间 (t_R) 随着烷链的增长而增加; 另一方面, 糖基聚合度的增加使 APGs 分子的亲水性增强, 导致 APGs 在反相柱上的分配减弱, 保留时间缩短。在图 1A 中, 由相应的质谱检测可知, 1* 表示的区域是 C_{12} 低聚糖苷 (二苷、三苷、四苷), 2* 为 C_{14} 低聚糖苷, 与 C_{12} 单苷的色谱峰发生重叠, 这可从图 1B 中 t_R 为 47.9 min 时对应流出物的电喷雾质谱证明。在质谱图中可同时观察到 C_{12} 单苷和 C_{14} 二苷的准分子离子峰。由于低聚糖苷的异构体较多, 极性相近, 相互也会发生重叠现象, 而且因其含量少, 响应值较低, 易被背景所覆盖。为了排除 APGs 中各组分之间由于未完全分离而带来的相互干扰以及背景干扰, 可以对总离子流图进行处理得到各组分的 EIC 色谱图。

C_{12}/C_{14} APGs 中各组分的 $[M-H]^-$ 离子的 EIC 谱图示于图 2。在图 2 中, C_{12} 单苷至四苷和 C_{14} 单苷至四苷的分离情况被清楚地反映出来 (更高的低聚糖苷未被检测到)。可以看出, 随着糖基聚合度的增加, 响应值降低, 这与低聚糖苷含量随聚合度增大而减少有关。烷基单苷具有四个异构体, 分别为 α 、 β -吡喃糖苷和 α 、 β -呋喃糖苷。在图 2A、2B 中 C_{12} 单苷和 C_{14} 单苷能够按吡喃糖苷和呋喃糖苷的先后顺序被分离, 但由于 α 和 β 异头物的结构极为相似而没有被完全分开 (C_{12} 呋喃糖苷的 α 和 β 异头物被部分分离); 二苷、三苷和四苷的 EIC 谱峰型较复杂, 这与它们含有环异构、立体异构和结合异构体在内的多种异构体形式有关。

2.2 正模式下 APGs 的高效液相色谱-电喷雾质谱行为

C_{12}/C_{14} APGs 在正模式下的 HPLC-MS 总

离子流图及相应保留时间流出物的质谱图示于图 3。与负模式相比,正模式下的离子流强度相对较强,说明其离子化效率较高。

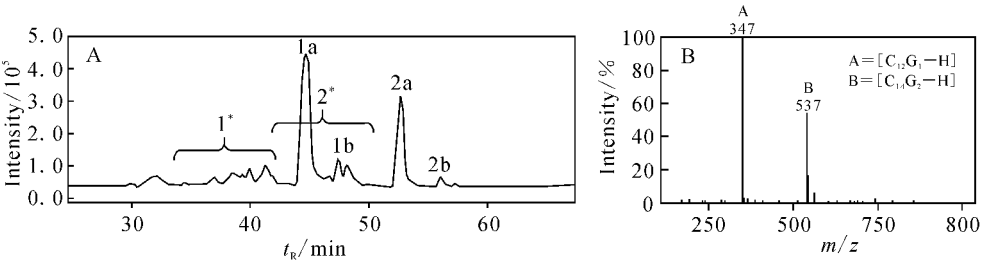


图 1 负模式下 C_{12}/C_{14} APGs 的总离子流色谱图(A)及图 1A 中保留时间为 47.9 min 时对应的流出物的电喷雾质谱图(B)
 1a— C_{12} -吡喃单糖苷; 1b— C_{12} -呋喃单糖苷; 2a— C_{14} -吡喃单糖苷; 2b— C_{14} -呋喃单糖苷
Fig. 1 HPLC-MSS total ion current chromatogram (TIC) of C_{12}/C_{14} APGs in negative mode and mass spectrum of eluate at retention time 47.9 min in Fig. 1A (B)
 1a— C_{12} -monoglucoside; 1b— C_{12} -diglucoside; 2a— C_{14} -monoglucoside; 2b— C_{14} -diglucoside

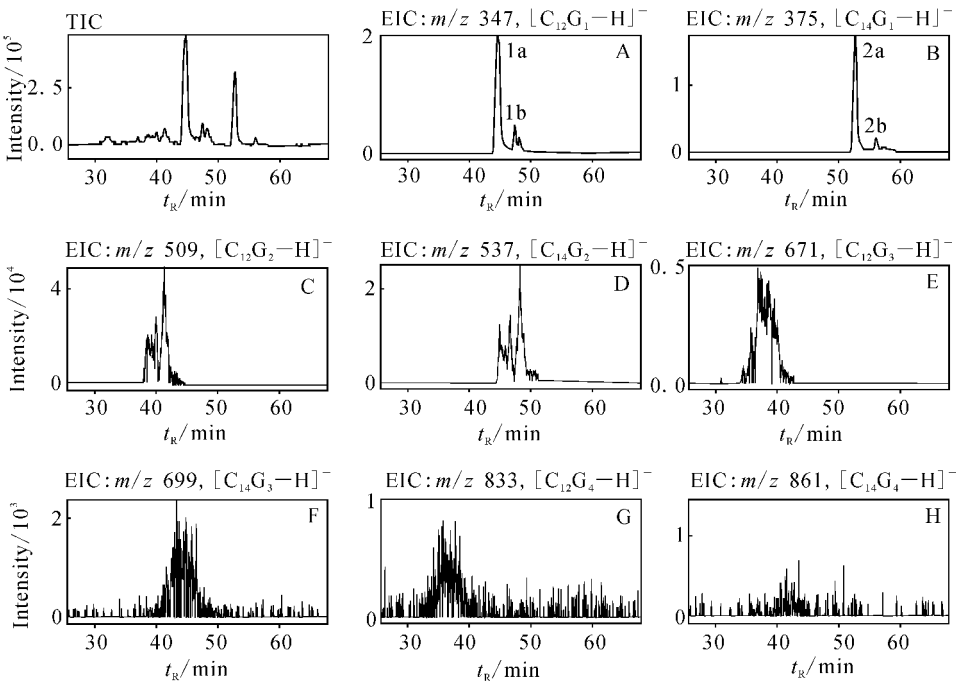


图 2 C_{12} 单苷(A, $C_{12}G_1$)、二苷(C, $C_{12}G_2$)、三苷(E, $C_{12}G_3$)、四苷(G, $C_{12}G_4$)和 C_{14} 单苷(B, $C_{14}G_1$)、二苷(D, $C_{14}G_2$)、三苷(F, $C_{14}G_3$)、四苷(H, $C_{14}G_4$)的负模式 EIC 色谱图
 1a— C_{12} -吡喃单糖苷; 1b— C_{12} -呋喃单糖苷; 2a— C_{14} -吡喃单糖苷; 2b— C_{14} -呋喃单糖苷
Fig. 2 EIC of $C_{12}G_1$ (A), $C_{12}G_2$ (C), $C_{12}G_3$ (E), $C_{12}G_4$ (G), $C_{14}G_1$ (B), $C_{14}G_2$ (D), $C_{14}G_3$ (F) and $C_{14}G_4$ (H) in negative mode
 1a— C_{12} -monoglucoside; 1b— C_{12} -diglucoside; 2a— C_{14} -monoglucoside; 2b— C_{14} -diglucoside

在正模式下,质谱图略显复杂,能够观察到多种阳离子加合物,如 $[M+H]^+$ 、 $[M+NH_4]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 和 $[M+K]^+$,而且加合离子的形成与糖苷分子的结构有关。Eichhorn 等^[11]采用选择性离子检测(selected ion monitor, SIM)和 EIC 法研究烷基单糖苷的 HPLC-MS,发现呋喃单糖苷更倾向于形成 Na^+ 加合物,而吡喃单糖苷更易与 NH_4^+ 加合,这种选择性的不同被认为是由于阳离子具有不同的半径(Na^+ : 0.095 nm, NH_4^+ : 0.143 nm)使阳离子与糖环的相互作用依赖于糖基的结构和构型导致的。本工作对上述研究做了进一步的扩展研究,正模式下 $[M+Na]^+$ 、 $[M+H]^+$ 、 $[M+NH_4]^+$ 和 $[M+K]^+$ 的 EIC 谱图示于图 4。比较图 4A 和图 4B 可以发现,吡喃单糖苷与 H^+ 、 NH_4^+ 、 Na^+ 和 K^+ 均能形成加合离子,其响应的强弱顺序依次为 $[M+Na]^+>[M+NH_4]^+>[M+K]^+>[M+H]^+$,强弱的不同可能与样品以及流动相中各种离子的浓度差异有关(NH_4^+ 是人为加入的,而 Na^+ 、 K^+ 作为杂质存在于样品或流动相中)。相反,呋喃单糖苷加合离子的形成具有明显的选择性,只与 Na^+ 和 K^+ 表现出较强的加合能力,这种选择性也可从 $[C_{12}G_1+NH_4]^+$ 和 $[C_{12}G_1+K]^+$ 离子峰的强弱对比反映出来: $[C_{12}G_1+NH_4]^+$ 的响应值更高,但只能观察到 C_{12} 吡喃单糖苷的 NH_4^+ 加合物,而 $[C_{12}G_1+K]^+$ 离子峰的强度虽然较弱,却能同时观察到 C_{12} 吡喃单糖苷和呋喃单糖苷的 K^+ 加合物。这进一步证明了加合离子的形成与糖苷分子的结构有关,糖基能够与

金属离子络合,而络合离子的稳定性与糖环的结构和离子的体积相关。 NH_4^+ 的离子半径比 Na^+ 大,因此 NH_4^+ 更倾向于与张力较小的六元吡喃环形成加合离子; NH_4^+ 与 K^+ 的半径相近(K^+ : 0.133 nm),但呋喃糖苷对二者的选择性不同,这表明加合离子的稳定性还与离子的性质有关。 K^+ 核外具有多个空轨道,更易于与呋喃糖环上的氧发生配位,而 NH_4^+ 上四个 H 的位置呈四面体空间取向,较难与张力较大、空间拥挤的五元呋喃环形成配位。至于 H^+ 的半径很小,但却只与吡喃单糖形成加合物,可以解释为 H^+ 加合物的响应值很低,在其他阳离子浓度较高的情况下,呋喃单糖苷的 H^+ 加合物的强度较弱,被掩盖于背景中。上述吡喃糖苷和呋喃糖苷对离子的选择性揭示了加合离子形成的机理是糖环与阳离子的配位作用。Klaffke 等^[10]认为,加合离子是通过 Na^+ 与配糖氧原子成键而形成的,这一机理显然无法解释糖环对离子具有选择性的事实。

利用 HPLC-MS 还可以对未知结构的 APGs 样品进行剖析,能够获得 APGs 的组成、结构信息。通过 EIC 谱分析还可检测 APGs 样品中是否含有 C_4 -APGs,从而证明样品是采用直接法还是转糖苷法制备的。

3 结 论

APGs 在反相柱上按照不同的碳链长度和糖基聚合度被分离。在负离子模式下,各组分主要以脱质子离子 $[M-H]^-$ 的形式被检测到;在

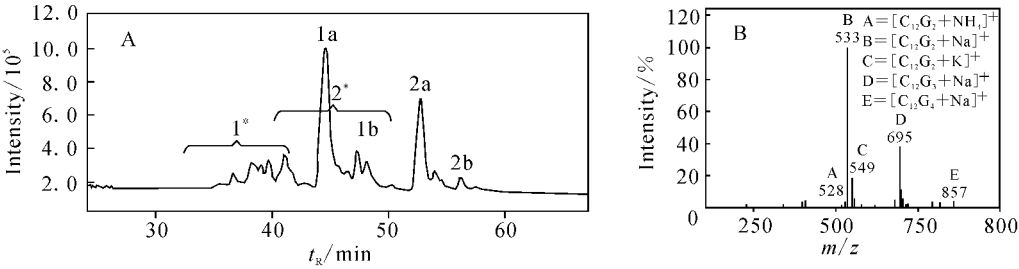


图 3 正模式下 C_{12}/C_{14} APGs 的总离子流色谱图(A)及图 3A 中保留时间为 38.7 min 时对应的电喷雾质谱图(B)

1a— C_{12} -吡喃单糖苷; 1b— C_{12} -呋喃单糖苷; 2a— C_{14} -吡喃单糖苷; 2b— C_{14} -呋喃单糖苷

Fig. 3 HPLC-MS total ion current chromatogram (TIC) of C_{12}/C_{14} APGs in positive mode(A) and mass spectrum of eluate at retention time 38.7 min in Fig. 3A (B)

1a— C_{12} -monoglucoside; 1b— C_{12} -diglucoside; 2a— C_{14} -monoglucoside; 2b— C_{14} -diglucoside

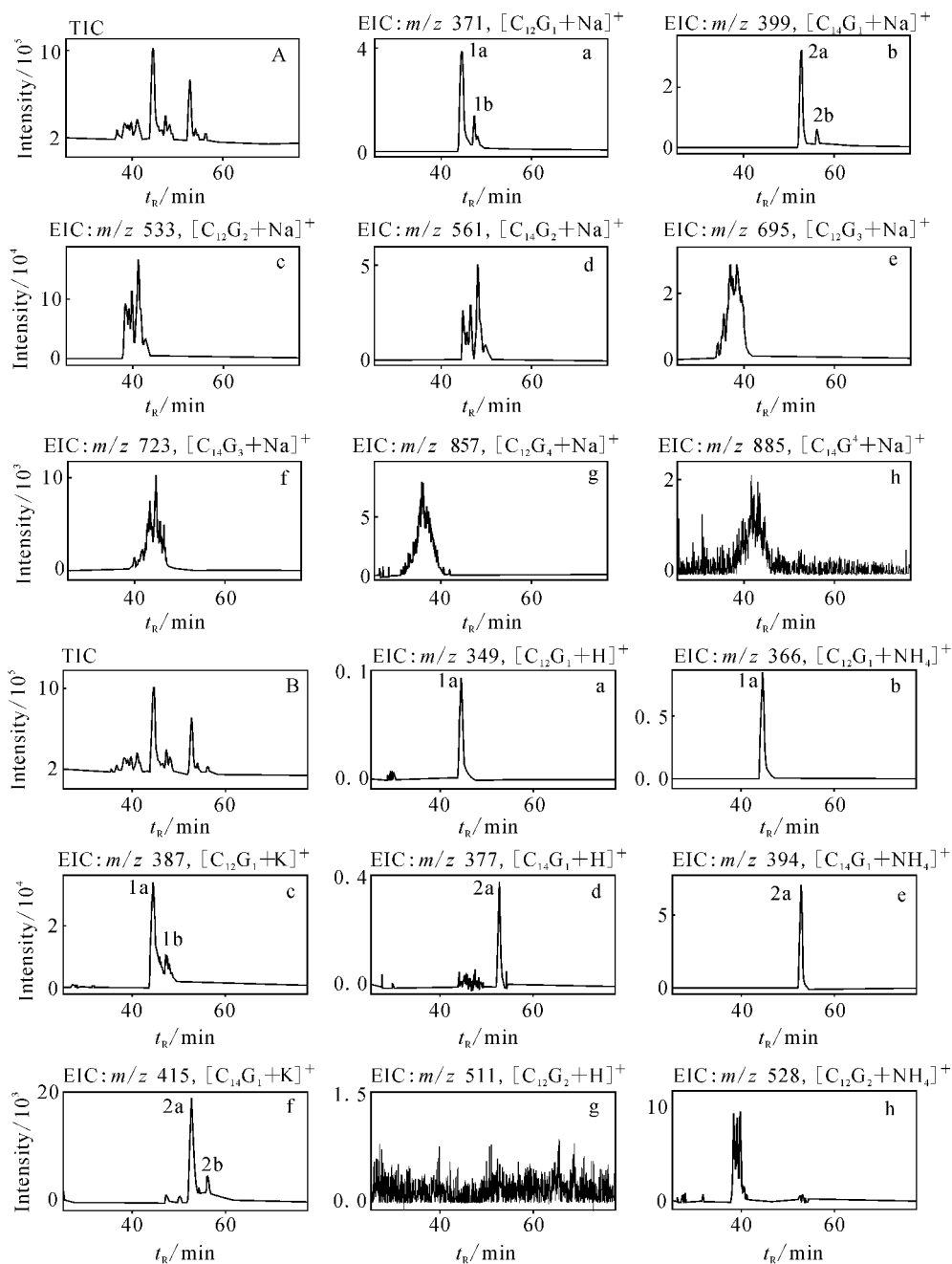


图 4 正模式下 $[M+Na]^+$ 的 EIC 谱图($M=C_{12}G_n$ 或 $C_{14}G_n$, $n=1\sim4$) (A) 及 $[M+H]^+$ 、 $[M+NH_4]^+$ 和 $[M+K]^+$ 的 EIC 谱图($M=C_{12}G_n$, $n=1\sim2$ 或 $C_{14}G_1$) (B)

1a— C_{12} -吡喃单糖苷; 1b— C_{12} -呋喃单糖苷; 2a— C_{14} -吡喃单糖苷; 2b— C_{14} -呋喃单糖苷

Fig. 4 EIC of $[M+Na]^+$ in positive mode($M=C_{12}G_n$ or $C_{14}G_n$, $n=1\sim4$) (A) and $[M+H]^+$, $[M+NH_4]^+$ and $[M+K]^+$ ($M=C_{12}G_n$, $n=1\sim2$ or $C_{14}G_1$) (B)

1a— C_{12} -monoglucoside; 1b— C_{12} -diglucoside; 2a— C_{14} -monoglucoside; 2b— C_{14} -diglucoside

正离子模式下, APGs 中的各组分能够以质子化分子离子 $[M+H]^+$ 或阳离子加合物 $[M+NH_4]^+$ 、 $[M+Na]^+$ 和 $[M+H]^+$ 的形式被检测。提取离子色谱的研究表明: 加合离子的形成与糖

苷分子的结构有关, 吡喃糖苷与 H^+ 、 NH_4^+ 、 Na^+ 和 K^+ 均能形成加合离子, 而呋喃糖苷加合离子的形成具有选择性, 只与 Na^+ 和 K^+ 表现出较强的加合能力。吡喃糖苷和呋喃糖苷对离子

的选择性揭示了加合离子形成的机理是糖环与阳离子的配位作用。

参考文献：

[1] HOLMBERG K. Natural surfactants[J]. Curr Opin Colloid Interface Sci,2001, 6: 148-159.

[2] UPPGARD L, SJOSTROM M. Multivariate quantitative structure-activity relationships for the aquatic toxicity of alkyl polyglucosides[J]. Tenside Surf Det, 2000, 37(2): 131-138.

[3] SODERMAN O, JOHANSSON I. Polyhydroxyl-based surfactants and their physico-chemical properties and applications[J]. Curr Opin Colloid Interface Sci, 2000, 4: 391-401.

[4] RYBINSKI W, HILL K. Alkyl polyglycosides-properties and applications of a new class of surfactants[J]. Angew Chem Int Ed, 1998, 37(10): 1 328-1 345.

[5] SPILKER R, MENZEBACH B, SCHNEIDER U, et al. Analytik von alkylpolyglucosiden[J]. Tenside Surf Det, 1996, 33(1): 21-25.

[6] CZICHOCKI G, FIEDLER H, HAAGE K, et al. Characterization of alkyl polyglycosides by both reversed-phase and normal-phase modes of high-

performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2002, 943(2): 241-250.

[7] BILLIAN P, STAN H J. Gas chromatography/mass spectrometry of alkyl polyglucosides as their trimethylsilylethers[J]. Tenside Surf Det, 1998, 35 (3): 181-184.

[8] 张志斐, 张兰桐. 高效液相色谱-质谱联用技术在药学研究中的应用[J]. 河北医科大学学报, 2005, 26(3): 226-229.

[9] 姜艳艳, 刘 斌, 石任兵. 高效液相色谱-质谱联用技术在天然产物分离鉴定中的应用[J]. 药品评价, 2005, 2(1): 11-16.

[10] KLAFFKE S, NEUBERT T, KROH L W. Determination of nonionic surfactants by LC/MS technique using alkyl polyglycosides as model substance[J]. Tenside Surf Det, 1999, 36 (3): 178-184.

[11] EICHHORN P, KNEPPER T P. Investigations on the metabolism of alkyl polyglucosides and their determination in waste water by means of liquid chromatography-electrospray mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 1999, 854(1/2): 221-232.

=====

ICP-MS 实践指南

李金英 姚继军等译

《ICP-MS 实践指南》是美国 Robert Thomas 专著《Practical Guide to ICP-MS》的中译本。本书由李金英、姚继军等译。原子能出版社 2007 年 4 月出版。

2001 年 4 月,美国 Spectroscopy 杂志(www.spectroscopyonline.com)发表了 Robert Thomas 的 ICP-MS 的系列文章,《Practical Guide to ICP-MS》一书在此基础上成文。该书保留了这些月刊性文章的基本内容,以一种通俗易懂的形式反映了作者从事 ICP-MS 研究 20 余年的实践经验。

《ICP-MS 实践指南》全书共分 20 章:ICP-MS 概述,包括 ICP-MS 的工作原理和组成系统的基本部件;简要概述离子形成的原理——利用高温氩等离子体生成正电荷离子;样品引入系统——等离子体中样品由液态转变为适合电离的细颗粒气溶胶,介绍不同类型的商用雾化器和雾化室;等离子体源——等离子体放电形成的基本原理;接口区;离子聚焦系统——通过静电作用在轴向或垂直方向将待测元素离子从接口区传输至质量分离的装置;质量分析器——将离子按照其质荷比(m/z)进行分离的装置,包括四极杆、双聚焦扇形磁场、飞行时间、碰撞/反应池四种质量分离技术;检测器,包括通道式电子倍增器和法拉第杯、离散打拿极电子倍增器;峰值测量方案;定量方法,包括外标法、标准加入法及同位素比值法和内标法;概述各种干扰,包括谱线干扰、基体干扰以及消除或抑制各种干扰的方法;沾污问题。影响 ICP-MS 分析结果的主要因素包括采样、样品制备、处理、分解过程,试剂和标准的选择,样品制备装置,实验环境及采用的仪器和方法;ICP-MS 系统各个部件的日常维护;进样附件的选择,包括激光蚀蚀进样系统、流动注射分析系统、电热蒸发进样器、去溶装置、直接注射雾化器和色谱分离装置等;ICP-MS 在环境、生物医学、地球化学、半导体工业、核工业及其他领域如冶金、石油化学、食品分析中的应用;ICP-MS 与其他原子谱技术在检出限、分析工作范围、样品处理量、常见干扰、实用性、购买和运行成本、相关消耗品等方面的比较;从分析性能、检测能力、精密度、准确度、动态范围、技术支持及相关售后服务等一些重要方面考虑如何选择 ICP-MS。