

粒子束接口液相色谱-质谱应用*

黄 峰

(山东大学发酵工程国家实验室 济南 250100)

〔摘要〕粒子束接口(BPI, Particle Beam Interface)是几种实现液相色谱-质谱联用的技术之一。本文结合 Finnigan MAT SSQ 710 质谱仪及其粒子束接口与 Waters 液相色谱泵联用和近年来有关文献对仪器结构原理、分析条件选择、应用等方面进行讨论。

关键词:粒子束接口 液相色谱-质谱 应用

1 引言

化学和生物样品中的热不稳定性组份及难挥发性组份的质谱分析是该领域中非常关注的难点和热点,怎样将液相色谱这个非常成熟的混合物分离手段用于质谱分析,以解决 GC/MS 所不能解决的问题,围绕这个目的,近 2 年来发展了许多技术,如直接液体导入(DLI, Direct Liquid Introduction)^[1]、大气压离子化(API, Atmospheric Pressure Ionization)^[2]和 Finnigan 仪器公司首次形成商品的传送带接口(Moving-belt Interface)^[3]、离子蒸发^[4]、热喷雾(TS, Thermospray)^[5]、电喷雾(ES, Electrospray)^[6,7]以及粒子束接口^[8,9]等。

粒子束接口的优点是结构简单,价格较适宜,可以将液相色谱流动相中样品物质直接导入质谱仪离子源,用 EI/CI 进行经典的质谱分析,在 EI 方式下的化合物碎片谱峰与标准谱图具有可比性,因此可以利用已有的标准谱图和其它谱库进行检索,样品中的化合物分离时不必气化,而且离子化之前受热时间短,温度低,尤其适用于稳定性差和非挥发性化合物的分析,其功能为其它液-质联用技术所不及。

2 仪器结构原理及性能测试

2.1 粒子束接口

粒子束接口产品有多种,结构上有些不同,真空脱溶剂系统有二级泵、三级泵,有的带超声波雾化器,He 分散气大多为轴向中心气动方式,也有径向方式^[8,10],然而主要结构是相同的。图 1 是 Finnigan MAT 公司粒子束接口示意图^[11],液相色谱流动相通过 0.07~

1994 年 7 月 20 日收

* 第 6 届全国 F 四极质谱学术会议论文

0.1mm 内径石英毛细管进入雾化器,在 He 气喷带下形成气溶胶进入脱溶剂腔,液滴中挥发性溶剂蒸发,其中的溶质形成粒子,进入冲量分离器后,溶剂蒸气分子被泵抽走,溶质粒子形成粒子束进入质谱仪离子源,粒子打击在离子盒内壁上迅速气化,并被 EI/CI 离子化,离子流信号被质谱仪电子倍增器接受并放大,使化合物获得分析。

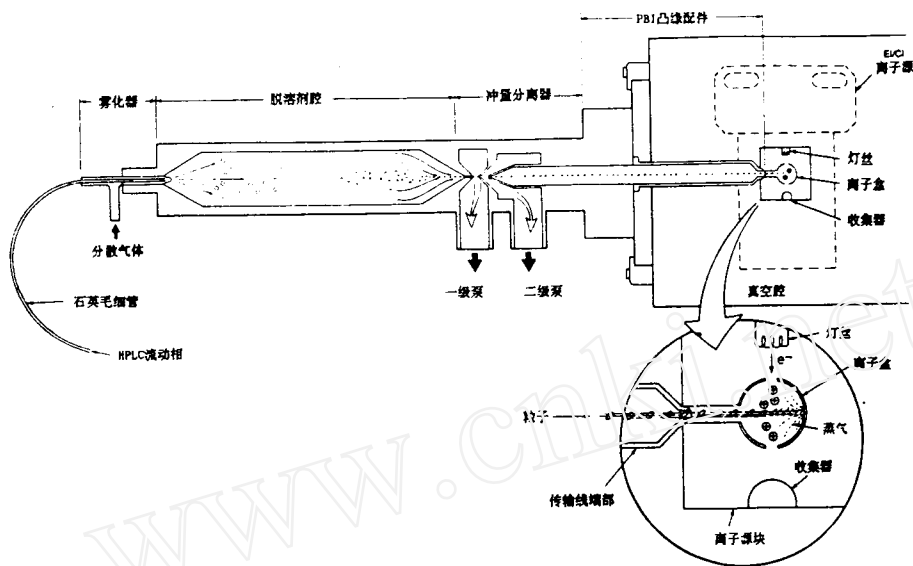


图 1 粒子束接口示意图

2.2 性能测试

药品:咖啡因甲醇溶液,浓度为 1mg/mL HPLC 级甲醇,美国 SIGMA 化学公司产品。

溶剂:分析纯甲醇(济南石化二厂产品),超纯水由美国 Continental 水系统公司 MODULAB Bioscience 反渗透纯水器制得。

液相色谱:Waters 510 泵,Waters 486 紫外检测器,SUPELCOSIL LC18-DB 5μ 、 $5\text{cm} \times 4.6\text{mm}$ ID 色谱柱(柱 1)及 Waters Nova-Pak C18 60A 4μ 、 $15\text{cm} \times 3.9\text{mm}$ ID 色谱柱(柱 2),室温操作。

粒子束接口:温度 40°C ,分散气 He,输出压力 $2.5\text{kg}/\text{cm}^2$,冲量分离器一级泵为 BALZERS UNO 016B 型,二级泵为 ALCATEL 2012A 型。

质谱仪:Finnigan MAT SSQ710 型,DEC 5000/25 工作站,UNIX 操作系统,EI 方式,离子源温度 250°C ,离化能量 70eV ,灯丝电流 $400\mu\text{A}$,倍半器电压 1000V ,扫描范围 $40 \sim 250\text{amu}$,扫描时间 1s ,扫速 $210\text{u}/\text{s}$,用 FC43 进行 PB/MS 标准及质量校核。

2.3 测试结果及讨论

图 2 为上述条件下咖啡因样品的质谱图,进样量 50ng ,扣本底后的样品谱图与 NIST 谱库中标准谱图的拟合情况见图 3、图 4。图 3 显示检测纯度 817、拟合度 938,结果可靠。图 4 显示样品谱(A)与标准谱(C)的差异主要集中在低质量端,(B)为二者差谱图。图 5 所示背景谱图情况说明流动相等带来的干扰主要在 120amu 以下。

影响检测的因素如下:

粒子束接口条件的影响:脱溶剂腔温度选择 30°C 、 40°C 、 45°C 、 50°C 、 60°C ,发现提高温

度对信号的响应并无明显好处,由于温度变化因素,其它温度下检测的结果均不如 40℃ 稳定 24 小时所得结果。

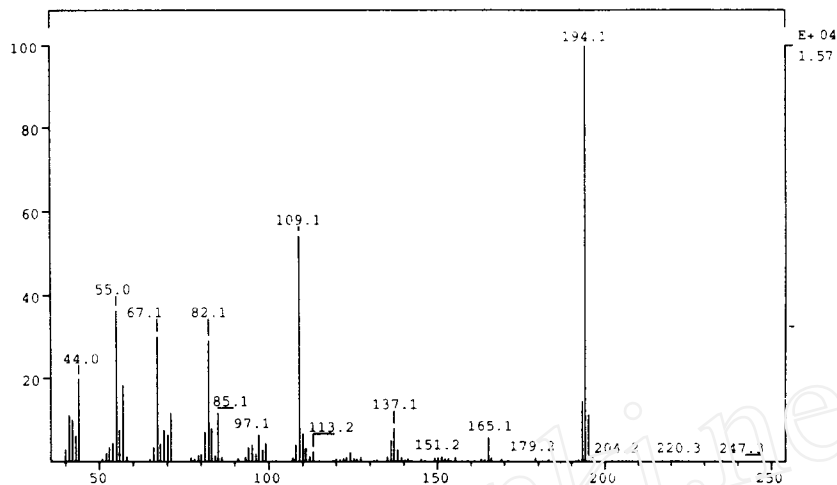


图2 咖啡因质谱图

分散气 He 流速的影响:He 气流速决定样品化合物气溶胶的形成状态,选择 1.8kg/cm² 和 2.5kg/cm² 对应实际流速检测,结果表明,2.5kg/cm² 压力下检测灵敏度明显提高,溶剂等污染离子未见增加。

流动相流速的影响:选择 100% 甲醇分别以 0.1mL/min、0.2mL/min、0.3mL/min、0.4mL/min、0.6mL/min 对咖啡因测试样品用 FIA (Flow Injection Analysis, 不经过色谱柱进样) 及过色谱柱两种方式进样分析,结果表明,一定范围内提高流速可以提高检测灵敏度,以 0.2~0.4mL/min 为宜,流速再高灵敏度则有下降趋势,可能还会带来其它影响。

色谱柱的影响:对比 2 种进样方式,经色谱柱进样,信号出现时间延长 4~6 倍,对咖啡因样品来说,总离子流峰加宽现象不明显,两种尺寸规格色谱柱检测结果存在一些差别,图 6、图 7 为两种柱子情况下的结果。图 8 为 FIA 情况下样品测试结果。

液相色谱泵的影响:单泵提供流动相时,总离子流图中基线有脉动,双泵同流量下提供流动相,脉动情况有所好转。

质谱条件的影响:只观察了离子源温度变化的影响,其它条件不变,离子源温度在 150℃ 时检测灵敏度很低,随离子源温度提高,信号峰强度提高。离子源温度 250℃ 时结果满意,再高温情况未加测试。

粒子束接口对质谱仪态状态的影响:由于 He 分散气和流动相溶液的导入,即使有冲量分离器所加的 2 个泵在工作,仍可使质谱仪真空度损失近 1 个数量级,离子源压力上升几至十几倍。

此外还在流动相组成上试用加入一定比例的水,结果表明,随水含量的增加,灵敏度会大大下降。由于流动相中的水不可能完全除去,残留水份会作为粒子束的一部分到达离子源,造成源压升高,灵敏度下降,所以尽量避开。

应该注意的是以上结果是以咖啡因为测试样品所得,咖啡因样品的最适分析条件不一定是其它化合物的最适分析条件,不同样品还需具体摸索。

```

LIBR: caffeine7                      22-APR-94 DERIVED SPECTRUM          9
Samp: caffeine                      Start : 11:25:05          369
Comm: 0.4ml/min100%meoh,50x4.6Lc18DB5u column,pbi40,he2.5kg/cm
Mode: EI +Q1MS LMR UP LR           Study : caffeine
Oper: h                            Client: God
Base: 194.1                        Inten : 15727           Masses: 40 > 250
Srch: purity                       Samp mass: all           Libr wt: 65 > 249
Libr: nst
Data: +/258>260 - /232>255,267>296

```

- 1 17946 Caffeine
Purity 817 Fit 938 Rfit 851 mw 194 bp 194
CAS# 58-08-2 C8.H10.N4.O2
- 2 18083 1(2H)-Pyridinecarboxaldehyde, 3,4-dihydro-5-(2-piperidinyl)-
Purity 559 Fit 652 Rfit 711 mw 194 bp 194
CAS# 53508-13-7 C11.H18.N2.O
- 3 17960 2H-1-Benzopyran-2-one, 3,5,7-trihydroxy-
Purity 520 Fit 654 Rfit 614 mw 194 bp 194
CAS# 22065-07-2 C9.H6.O5
- 4 18122 13-Oxadispiro[5.0.5.1]tridecan-1-one
Purity 500 Fit 605 Rfit 663 mw 194 bp 151
CAS# 26870-38-2 C12.H18.O2
- 5 18128 3-Cyclohexene-1-butanal, .gamma.,4-dimethyl-2-oxo-
Purity 479 Fit 858 Rfit 484 mw 194 bp 194
CAS# 69494-13-9 C12.H18.O2
- 6 18220 Naphthalene, 2-butyldecahydro-
Purity 450 Fit 530 Rfit 518 mw 194 bp 137
CAS# 6305-52-8 C14.H26
- 7 18195 9-Phenanthrenol
Purity 448 Fit 714 Rfit 494 mw 194 bp 194
CAS# 484-17-3 C14.H10.O
- 8 18223 Cyclohexane, (3-cyclopentylpropyl)-
Purity 420 Fit 492 Rfit 510 mw 194 bp 83
CAS# 2883-07-0 C14.H26
- 9 17963 2-Benzothiazolamine, 6-ethoxy-
Purity 411 Fit 535 Rfit 517 mw 194 bp 165
CAS# 94-45-1 C9.H10.N2.O.S
- 10 21226 1H-Indene, octahydro-2,2,4,4,7,7-hexamethyl-, trans-
Purity 403 Fit 452 Rfit 455 mw 208 bp 193
CAS# 54832-83-6 C15.H28

图3 样品谱图与标准谱图拟合情况

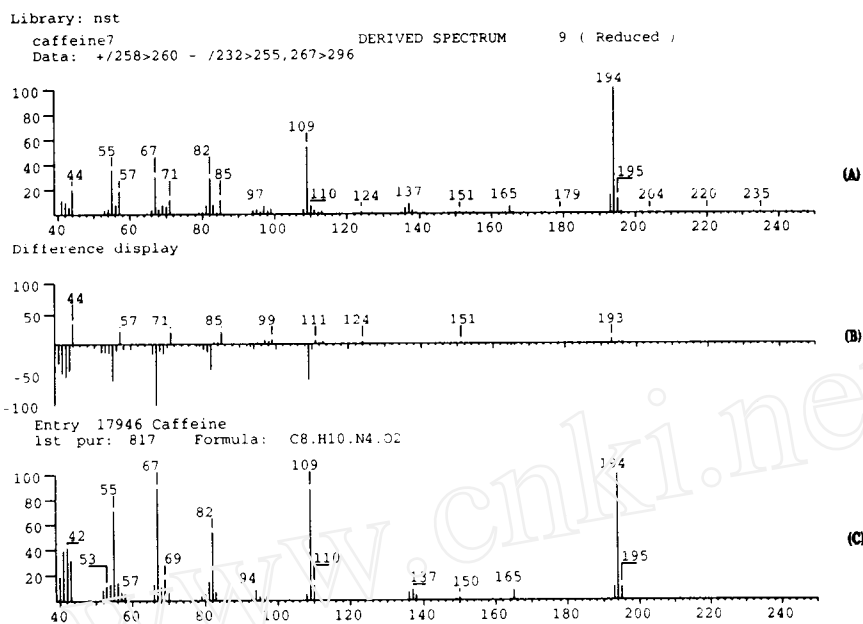


图4 样品谱图与标准谱图拟合情况

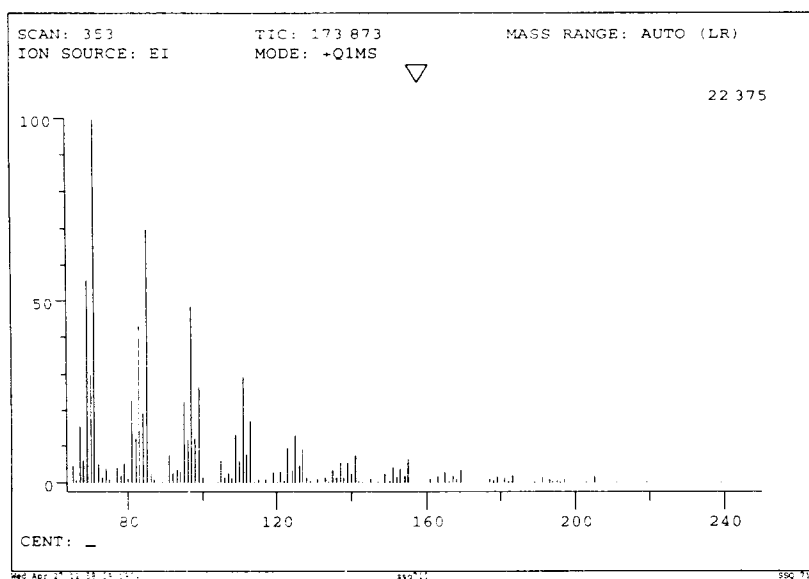


图5 背景谱图

CHRO: caffeine? 22-APR-94 Elapse: 00:00:08.6 1
 Samp: caffeine Start: 11:25:05 369
 Comm: 0.4ml/min100%meoh,50x4.6Lc18DB5u column,pbi40,he2.5kg/cm
 Mode: EI +Q1MS LMR UP LR Study: caffeine
 Oper: h Client: God Inlet: caffeine
 Peak: 1000.00 mmu Label wndw: 1 > 369 Masses: 40 > 250
 Area: 0, 4.00 Baseline: 0, 3 Label: 0, 40.00

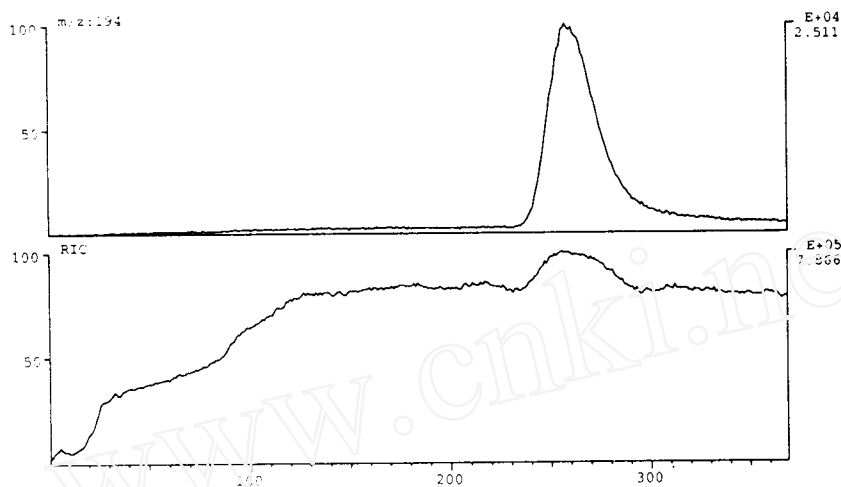


图 6 咖啡因用柱 1 的结果

CHRO: caffeine12 24-APR-94 Elapse: 00:00:08.2 1
 Samp: caffeine Start: 13:45:34 266
 Comm: 0.4ml/min100%meoh,150x3.9Neva-Pak c16 4u column,pbi40,he2.5kg/c
 Mode: EI +Q1MS LMR UP LR Study: caffeine
 Oper: h Client: God Inlet: caffeine
 Peak: 1000.00 mmu Label wndw: 1 > 266 Masses: 65 > 250
 Area: 0, 4.00 Baseline: 0, 3 Label: 0, 40.00

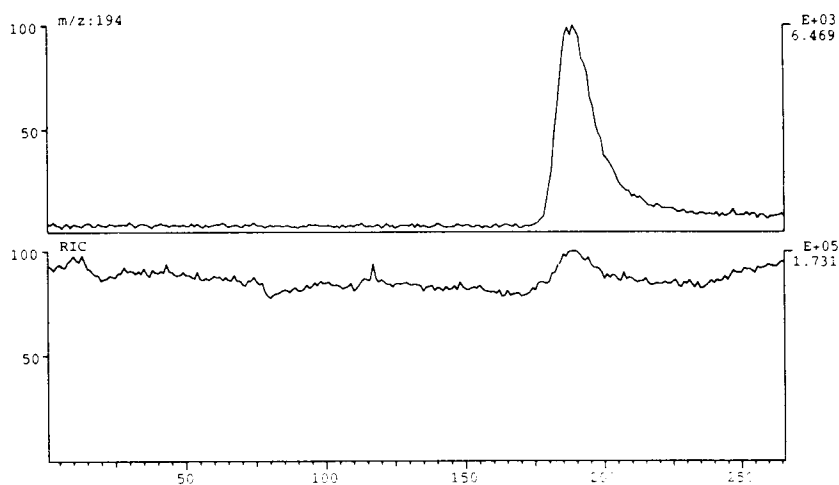


图 7 咖啡因用柱 2 的结果

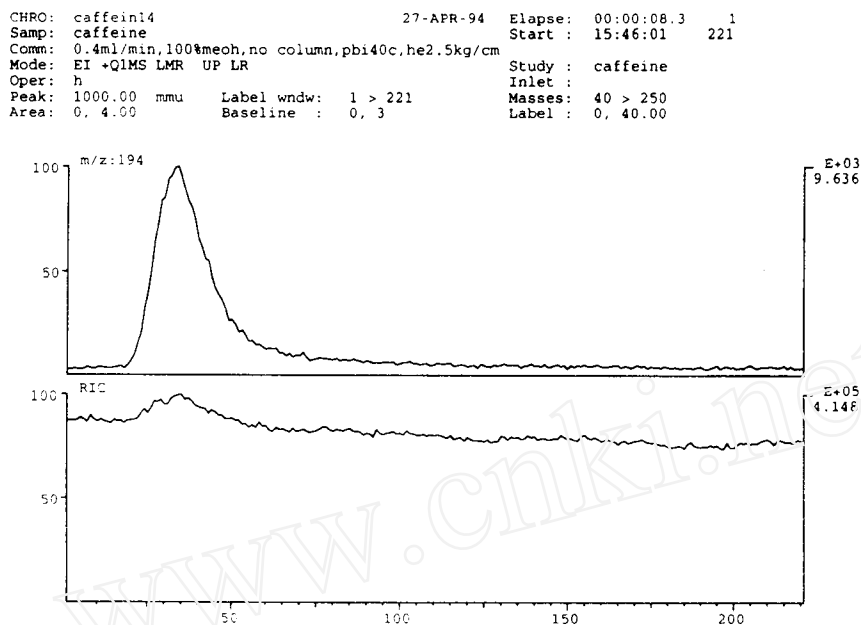


图 8 咖啡因用 FLA 的结果

3 粒子束接口的应用及使用条件选择的一般规则

近几年来,有一些文章报导了使用粒子束接口进行液相色谱-质谱联用技术分析各类化合物,分析的样品有:植物生长调节剂^[12]、氯酚酸类化合物^[13]、酶代谢物^[14]、乙烯硫尿^[15]、芳香基磺酸^[15]、稠环芳烃^[17]等。既使用了常见的反相色谱技术,也有难度较大的离子色谱的应用,虽然大多是与四极质谱联用,也有与磁质谱联用的报告^[10,17]。从这些工作中可以看到,粒子束接口技术虽然受到各种限制,主要是来自质谱仪的限制,不能完全发挥高效液相色谱的分离功能,但仍是1种具有吸引力和发展潜力的分离技术,使用这种技术时分析条件的选择可以参考以上文献,总结归纳以下几点:

3.1 液相色谱泵系统的选择:

选用脉动小、流量稳、低扩散、流量控制精度高的液相色谱系统,常用的有 HP1090 型、Waters 600MS 型等,流量控制精度 $\pm 0.001\text{mL/min}$ 。若用其它性能稍差的液相色谱泵系统,可以考虑多泵供液,分流进样,但技术上有一定难度。

3.2 色谱柱的选择:

由于低沸点极性溶剂更有利于提高检测灵敏度,所以大多采用弱极性或非极性柱,常用硅胶基 C18 或硅胶柱,由于流量及样品量受到限制,为防止峰展宽,提高检测灵敏度,宜选用细径短柱,如 2mm、2.1mm 内径的微径柱或 3~4mm 内径的柱子,长度在 15cm 以下为好,也有用 25cm。填料颗粒度通常为 4~5 μ 。此外有文献介绍使用混合床离子交换柱分析乙醇、杂环胺、单元至四元羧酸、磷酸等多种化合物^[11]。

3.3 流动相组成及流量的选择:

一般认为,粒子束接口液相色谱-质谱联用中的流动相随极性增加而使检测灵敏度降低,无法添加难挥发和不挥发物以及盐类等,事实上大多数情况下,要想得到高灵敏度及污染碎片峰少的质谱图,只能选择乙腈、甲醇 2 种溶剂及其水溶液,其中水的含量受到限制,这对高效液相色谱的分离功能是一极大的约束,因为许多样品尤其是生物样品的分析,流动相中经常用不挥发性添加物、改性剂、离子对、无机盐缓冲溶液等以改善分离,提高选择性,有人在粒子束接口与质谱仪之间加膜消除器除去流动相中添加盐类带入的金属阳离子^[16],或在液相接口前采取柱后萃取等技术^[18]以解决这一问题。值得庆幸的是,乙酸铵是 1 个例外,在流动相中加入少量乙酸铵可明显增加某些化合物的信号^[15,17,19],一般认为这是因为乙酸铵能增加溶质的核化过程,促进亚微米粒子的形成,使溶质粒子到达离子源的数增加所致。但是应注意乙酸铵带来的污染^[13,16,20],这些污染离子为 m/z 41、43、44、45、59、60、61,减少污染干扰的办法是尽量少加,或是在 62amu 开始采集信号以减少背景影响。

3.4 粒子束接口条件的选择:

粒子束接口液相色谱-质谱分析中,雾化器出口位置、脱溶剂腔温度及流动相的组成是决定检测灵敏度的主要因素,此外还有分散气 He 的流速,一般脱溶剂腔在 40~60℃,也有用 30℃或 70℃,可能与样品化合物及流动相组成有关。分散气流速 700~1500mL/min,Woodfin 等认为^[10],在 0~600mL/min 范围内,He100mL/min 流速可提高灵敏度 25%,在 600~1000mL/min 范围内,He 流速对灵敏度无影响。

3.5 粒子束接口污染及清洗:

质谱仪对许多化合物只需 ng 量级即可给出有效的检测信号,但粒子束接口液相色谱-质谱分析中,通常进样要多出几倍、几十倍,未到达离子源的化合物沉积下来,对后面的分析造成污染,这可以从图谱背景中发现。图谱中不相关离子峰不能用扣本底方法除掉,而且不同次进样这些信号有变化,其机理可能是新形成的粒子碰撞沉积物使之进入离子源而被检测到,新粒子的物理状态的不同决定了被碰撞出的沉积物粒子的不同,因而检测到的污染离子有变化,污染既来自于样品分子或碎片残留,也来自于流动相溶剂及其添加物及 CI 反应气。减少污染的方法:(1)可以适当加大流动相流量以使色谱峰尖锐明显而减少进样量;(2)液相条件尽量迁就质谱及粒子束结口的限制,在甲醇、乙腈及少量水的范围内,多在柱子上进行选择,以减少不必要的盐、改性剂及掩蔽剂等添加物;(3)分析间隙可以关掉粒子束通向离子源的球阀,用流动相冲洗粒子束接口通道,或关掉流动相通往粒子束接口的六通阀,使冲洗柱子的溶液进废液瓶而不到接口中;(4)提高离子源温度、粒子束接口温度烘烤,除去可蒸发污染物。发现雾化器喷口处有黑色污染沉积时,可以取下用甲醇浸泡、超声波清洗(其它部位的清洗同此)。

参 考 文 献

- 1 Arpino P J, Baldwin M A, McLafferty F W. Biomed Mass Spectrom, 1974;1:80

- 2 Horning E C, Carroll D I, Dzidic I. *J Chromatogr*, 1974; 99: 13
- 3 McFadden W H, Schwartz H L, Evans S. *J Chromatogr*, 1976; 122: 389
- 4 Thomson B A, Iribarne J V. *J Chem Phys*, 1979; 71: 4451—4463
- 5 Blakley C R, McAdams M J, Vestal M L. *J Amer Chem Soc*, 1980; 102: 5931
- 6 Gieniec J, Mack L L, Nakamae K. *Biomed Mass Spectrom*, 1984; 11: 259
- 7 Yamashita M, Fenn J B. *J Phys Chem*, 1984; 88: 4451
- 8 Willoughby R C, Browner R F. *Anal Chem*, 1984; 56: 2626—2631
- 9 Winkler P C, Perkins D D, Williams W K. *Anal Chem*, 1988; 60: 489—493
- 10 Ligon W V, Dorn S B. *Anal Chem*, 1990; 62: 2573—2580
- 11 Finnigan Co. *TSQ/SSQ 700 Series System Partical Beam Interface Operator, Manual*
- 12 Kim I S, Sasinos F I, Stephens R D. *J Agric Food Chem*, 1990; 38: 1223—1226
- 13 Kim I S, Sasinos F I, Stephens R D. *Anal Chem*, 1991; 63: 819—823
- 14 Galimberti R, Lecchi P, Angelis L D. *Anal Biochem*, 1992; 201: 356—361
- 15 Doerge D R, Miles C J. *Anal Chem*, 1991; 62: 1999—2001
- 16 Hsu J. *Anal Chem*, 1992; 64: 434—443
- 17 Singh R P, Brindle I D, Jones T R B. , *J Am Soc Mass Spectrom*, 1992; 4: 898—905
- 18 Apffel J A, Brinkman U A, Frei R W. *J Chromatogr*, 1984; 312: 153—164
- 19 Doerge D R, Burger M W, Bajic S. *Anal Chem*, 1992; 64: 1212—1216
- 20 Behymer T D, Bellar T A, Budde W L. *Anal Chem*, 1990; 62: 1686—1690

Application of Particle Beam Interface to LC/MS

Huang Feng

(National Laboratory of Fermentation Technology,
Shandong University, Jinan 250100, China)

Received 1994-07-20

Abstract

Particle Beam Interface (PBI) is one of the techniques designed for liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS). This article discusses the principle of the device and the selection of analysis conditions by introducing some recent published articles and the performance tests of Finnigan MAT SSQ 710 MS-PBI system linked with Waters HPLC pumps.

Key Words: particle beam interface, application, LC/MS