

甲醇和乙醇在氙气-实时直接分析质谱中的应用

周峰^{a,b} 刘舒^a 刘志强^a 宋凤瑞^{a*}

(^a中国科学院长春应用化学研究所, 长春质谱中心 & 吉林省中药化学和质谱重点实验室 长春 130022;

^b中国科学院大学 北京 100039)

摘要 以氙气代替价格昂贵的氦气作为实时直接分析质谱(DART-MS)的工作气体以降低实验成本。甲醇和乙醇作为两种辅助性反应试剂,在Ar-DART-MS分析中充当能量传递的媒介和质子的供体,可以提高Ar-DART-MS的电离效率并扩展其应用范围。通过甲醇和乙醇作为反应性试剂在Ar-DART-MS的背景信号及对样品电离影响的分析,探讨了它们的应用范围,以及在电离过程中存在的一些可能的特征反应。该方法的有效性通过对利血平的分析结果获得。

关键词 实时直接分析质谱;氙气;甲醇;乙醇

中图分类号:O657.6

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2017)06-0729-04

DOI:10.11944/j.issn.1000-0518.2017.06.160392

实时直接分析(DART)质谱是一种基于化学电离机理的大气压电离质谱(AIMS)^[1-2]。作为一种新型的敞开式离子源,DART在正离子模式下的主要电离原理是通过高压电场形成激发态的He气分子(电离能为19.8 eV),而后通过碰撞诱导大气中的水发生潘宁电离,产生质子化的水聚合物,接下来质子通过一系列分子离子反应转移给被分析物^[3-4]。正离子模式下报道的另一种离子化机理是解吸出来的分析物直接与激发态的He气分子发生潘宁电离产生分子离子,这一电离途径要求被分析物的电离能低于19.8 eV^[5-7]。

常规DART离子源的工作气体为He气,在高通量检测时成本很高,不利于此方法的推广使用,因此我们考虑采用更为廉价的Ar气作为工作气,以降低成本。由于Ar气分子的激发态能量较低,通过引入合理的反应试剂并设计相应的分子—离子反应过程可以实现对特定的目标物质的直接电离,有效地降低信噪比并提高了质谱检测的特异性^[8-9]。基于能量、毒性和成本的综合考虑,本文中引入甲醇和乙醇作为反应溶剂,辅助Ar气分子通过质子转移过程对样品进行电离。在实验过程中采用的是具有广泛应用性的吡啶型生物碱利血平作为样品,来验证所方法的有效性。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

ThermoLTQ XL型离子阱质谱仪(美国热电有限公司);实时直接分析电离源(Direct analysis in real time, DART)(美国IonSense公司)。色谱纯的甲醇和乙醇来自Fisher Scientific(Loughborough, UK);95%乙醇购自吉林省运昌化工有限公司,并在使用前通过0.22 μm滤膜过滤;利血平购自Sigma-Aldrich(美国Milwaukee公司);黄连采购自长春市吉林大药房;超纯水利用Milli-Q系统(美国Millipore公司)制备。高纯He气和Ar气购自长春巨洋气体有限公司。

1.2 实验方法

样品通过蠕动泵泵入一根毛细管,该毛细管末端贴近DART离子源工作气出口处,流速为10 μL/min。在DART离子源电离前,将10 μL的甲醇和乙醇利用微量注射器或移液器控制,形成液滴置于DART离子源喷口处,利用DART离子源工作气体的温度使之气化。在后续实验中,通过其它管路将甲醇或乙醇一并输送至DART离子源工作气体出口处,流速为10 μL/min。

称取粉碎后的黄连 1 g,加入甲醇 15 mL,超声提取 0.5 h 后,3000 r/min 离心 15 min,上清液取出备用。

2 结果与讨论

2.1 Ar-DART 在甲醇和乙醇存在下的背景信号

作为空气中的主要成分,N₂气的成本相对于其它来源气体成本很低,因此有一些其它报道使用 N₂气作为 DART 工作气(N₂-DART)。但是 N₂气相比于 He 气和 Ar 气,属于相对活泼的双原子分子,在高压电场激发时会产生更多的离子,并且激发态的 N₂气分子在气相反应中可以与水分子以及氧气分子进行反应,生成多种复合物,如[M + NH₄]⁺等^[10-12],使得最终的质谱谱图非常复杂,不利于分析结果的快速解析。而 DART 离子源的设计初衷是进行样品的快速检测,所得的质谱数据应该尽可能的减少干扰信号以提高分析效率。因此,与 He 气同属于第八族元素且价格也非常便宜的 Ar 气成为了比 N₂气更好的替代品。使用 Ar 气的 DART 简称为 Ar-DART。

由于激发态氩气(Ar^{*})的能量(₃P² 11.55 eV、₃P⁰ 11.72 eV)低于水的电离能(12.6 eV),因此无法通过电离空气中水分子生成中间产物高能水分子簇,继而将能量传递给样品分子,也就无法电离样品分子,因此,在分析中需要引入其它的辅助试剂。而选用的辅助试剂应该遵循以下原则:1)电离能低于 Ar 气激发态能量;2)具有较高的质子亲和能;3)沸点较低,容易气化;4)廉价,低毒。综合上述考虑,甲醇和乙醇被选择为所需的反应性辅助溶剂,在电离过程中代替水分子,吸收 Ar^{*}的能量生成中间产物高能溶剂分子,进而以质子转移的方式电离样品分子,甲醇和乙醇的相关理化参数见表 1,它们在 Ar-DART-MS 中产生的背景峰如图 1 所示。

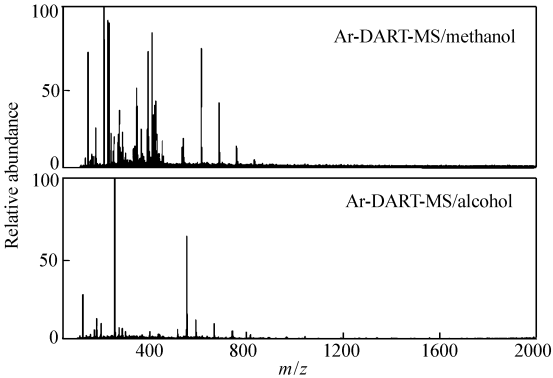


图 1 甲醇和乙醇作为辅助试剂时的 Ar-DART-MS 谱图

Fig. 1 The spectra of Ar-DART-MS with methanol and ethanol as reactive reagents

表 1 甲醇和乙醇的与 DART 相关的理化参数

Table 1 The physical and chemical parameters of methanol and ethanol on DART

Solvent	Ionization energy/eV	Proton affinity/(kJ·mol ⁻¹)	Proton dissociation energy/(kJ·mol ⁻¹)	Boiling point/℃
methanol	10.84	754.3	660	65
ethanol	10.48	776.4	689	78

2.2 利用 Ar-DART-MS 分析利血平

图 2 是利血平的 He-DART-MS(C)、不利用辅助溶剂的 Ar-DART-MS(D)及利用甲醇和乙醇作为辅助试剂的 Ar-DART-MS 谱图(A、B)。可以发现,甲醇和乙醇作为反应试剂辅助电离的 Ar-DART-MS 方法可以和 He-DART-MS 方法一样使利血平有效电离,而 Ar 气分子无法通过 Penning 离子化过程直接电离样品分子。由此推测 Ar 气分子通过 Penning 离子化样品分子的反应由化学动力学控制,即激发态 Ar 气分子所具有的能量低于 Penning 离子化过程所需的活化能,无法跨越动力学能垒,因此反应试剂分子辅助电离样品分子,是被 Ar 气作为 DART-MS 工作气体的前提。相比 He 作为工作气体时,Ar 作为工作气体的 Ar-DART-MS 的信号强度偏低,鉴于实验时所用样品浓度相同,这一现象说明了 Ar 气的反应活性低于 He 气。考虑到氩气激发态能量明显低于 He 气分子的激发态能量,这一差异很可能同时由动力学和热力学两方面的因素导致。

另一方面,虽然利血平在 Ar-DART-MS 的电离信号强度低于 He-DART-MS,但是其谱图中杂峰相对较少。利血平在 Ar-DART-MS 电离过程中只有少量样品被氧化,产生 m/z 625 的信号,这一特点为甲醇和乙醇参与反应所共有;而在 He-DART-MS 电离过程中,除了丰度更高的单氧化离子峰 m/z 625 外,还有丰度较高的双氧化离子峰 m/z 641 的存在,以及丰度较低的其它多种多氧化离子峰存在,这些多氧化

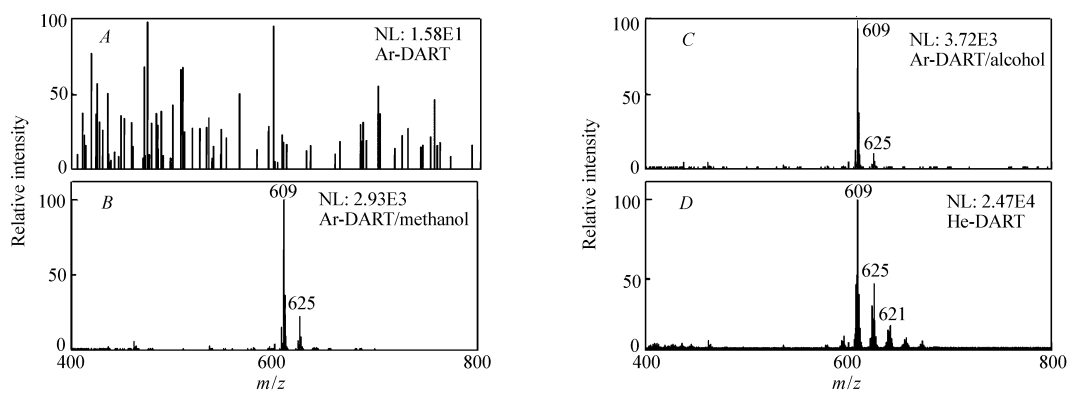


图 2 利血平 He-DART-MS 与甲醇和乙醇作为辅助试剂的 Ar-DART-MS 谱图的对比

Fig.2 The comparison of reserpine' spectra between He-DART-MS and Ar-DART-MS with methanol and ethanol as reactive reagents

A. Ar-DART-MS without reactive reagent; B. Ar-DART-MS with methanol as reactive reagent; C. Ar-DART-MS with alcohol as reactive reagent; D. He-DART-MS

离子峰在 Ar-DART-MS 条件下没有被观察到。这种情况应该是由能量较高的激发态 He 气分子通过气相反应电离产生的样品分子离子具有较高的能量,因而更容易与空气中的氧气发生氧化反应,使得电离结果更加复杂化,这也加大了实验结果分析的难度。

2.3 利用 Ar-DART-MS 分析中药黄连

黄连是毛茛科黄连属植物的干燥根茎,其主要有效成分均属于异喹啉类生物碱(即原小檗碱型生物碱)。将黄连的提取液用上文建立的 Ar-DART-MS 进行分析,使用 95% 乙醇作辅助溶剂,结果见图 3。从图 3 可看到,在 $m/z = 300$ 至 $m/z = 400$ 之间存在多个质谱峰,这与黄连中原小檗碱型生物碱的质量范围一致。通过串联质谱的进一步分析,确认上述质谱峰分别为:小檗碱或表小檗碱($m/z = 336$)、药根碱($m/z = 338$)、四氢掌叶防己碱($m/z = 356$)、小檗红碱($m/z = 322$)、黄连碱($m/z = 320$)以及巴马汀($m/z = 352$)等^[13]。上述结果说明,利用辅助溶剂的 Ar-DART-MS 方法在中药分析中的实用性及有效性,为扩展 Ar-DART-MS 方法的应用范围提供了依据。

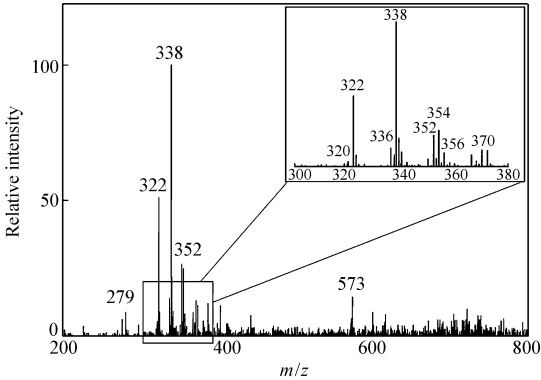


图 3 黄连提取液的 Ar-DART-MS 谱图

Fig. 3 The Ar-DART-MS spectra of the extraction from Coptis chinensis

3 结 论

本文通过引入甲醇和乙醇作为辅助试剂的方法,解决了 Ar 气作为实时直接分析(DART)工作气体时,由于无法利用空气中水分子完成质子转移反应,导致对大部分样品无质谱响应能力的问题。对甲醇和乙醇作为 Ar-DART-MS 辅助试剂的分析结果的异同进行了分析,并初步探讨了它们作为作为 Ar-DART-MS 的辅助电离试剂时,Ar-DART-MS 与 He-DART-MS 电离过程的差别。该方法的建立有效解决了传统 DART 使用高纯 He 气带来的高成本问题,为 DART-MS 进一步的推广应用提供了科学依据。

参 考 文 献

[1] Cody R B, Laram'e J A, Durst H D. Versatile New Ion Source for the Analysis of Materials in Open Air under Ambient Conditions[J]. Anal Chem, 2005, 77(8): 2297-2302.

[2] Takats Z, Wiseman J M, Gologan B, et al. Mass Spectrometry Sampling under Ambient Conditions with Desorption Electrospray Ionization[J]. Science, 2004, 306(5695): 471-474.

- [3] Song L G, Gibson S C, Bhandari D, *et al.* Ionization Mechanism of Positive-Ion Direct Analysis in Real Time; A Transient Microenvironment Concept[J]. *Anal Chem*, 2009, **81**(24):10080-10088.
- [4] Gross J H. Direct Analysis in Real Time-A Critical Review on DART-MS[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, **406**(1):63-80.
- [5] Harris G A, Falcone C E, Fernández F M. Sensitivity “Hot Spots” in the Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry of Nerve Agent Simulants[J]. *J Am Soc Mass Spectrom*, 2012, **23**(1):153-161.
- [6] CHEN Huanwen, HU Bin, ZHANG Xie. Fundamental Principles, Practical Applications of Ambient Ionization Mass Spectrometry for Direct Analysis of Complex Samples[J]. *Chinese J Anal Chem*, 2010, **38**(8):1069-1088 (in Chinese). 陈焕文, 胡斌, 张燮. 复杂样品质谱分析技术的原理与应用[J]. *分析化学*, 2010, **38**(8):1069-1088.
- [7] ZHANG Jialing, HUO Feifeng, ZHOU Zhigui, *et al.* The Principles and Application of an Ambient Ionization Method-Direct Analysis in Real Time (DART) [J]. *Prog Chem*, 2012, **24**(1):101-109 (in Chinese). 张佳玲, 霍飞凤, 周志贵, 等. 实时直接分析质谱的原理及应用[J]. *化学进展*, 2012, **24**(1):101-109.
- [8] Dane A J, Cody O B. Selective Ionization of Melamine in Powdered Milk by Using Argon Direct Analysis in Real Time (DART) Mass Spectrometry[J]. *Analyst*, 2010, **135**:696-699.
- [9] Ding X L, Zhan X F, Yuan X, *et al.* Microfabricated Glow Discharge Plasma (MFGDP) for Ambient Desorption/Ionization Mass Spectrometry[J]. *Anal Chem*, 2013, **85**(19):9013-9020.
- [10] Abedi A, Sattar L, Gharibi M, *et al.* Investigation of Temperature, Electric Field and Drift-Gas Composition Effects on the Mobility of NH_4^+ Ions in He, Ar, N_2 , and CO_2 [J]. *Int J Mass Spectrom*, 2014, **370**:101-106.
- [11] Cody R B. Observation of Molecular Ions and Analysis of Nonpolar Compounds with the Direct Analysis in Real Time Ion Source[J]. *Anal Chem*, 2009, **81**(3):1101-1107.
- [12] Kratzer J, Mester Z, Sturgeon R E. Comparison of Dielectric Barrier Discharge, Atmospheric Pressure Radiofrequency-driven Glow Discharge and Direct Analysis in Real Time Sources for Ambient Mass Spectrometry of Acetaminophen[J]. *Spectrochim Acta Part B*, 2011, **66**(8):594-603.
- [13] DAI Chunmei, WANG Jiabo, KONG Weijun, *et al.* Investigation on the Antibacterial Activity of *Coptischinensis* Franch and Its Components Compatibility by Microcalorimetry[J]. *Acta Chim Sin*, 2010, **68**(10):936-940 (in Chinese). 代春美, 王伽伯, 孔维军, 等. 微量热法研究黄连及其主要组分配伍的抑菌作用[J]. *化学学报*, 2010, **68**(10):936-940.

Application of Methanol and Ethanol in Argon-Direct Real Time Mass Spectrometry Analysis

ZHOU Feng^{a,b}, LIU Shu^a, LIU Zhiqiang^a, SONG Fengrui^{a*}

(^aNational Center of Mass Spectrometry in Changchun, Jilin Province Key Laboratory of Chinese Medicine Chemistry and Mass Spectrometry, Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China;

^bUniversity of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract In this research, argon was used as the running gas in direct analysis in real time mass spectrometry instead of helium in order to reduce the cost of experiment. Methanol and alcohol as reactive reagents improve the ionization efficiency of analytes and expand the application of Ar-DART-MS. This is because the above reagents play important roles as the medium of the energy transferring and the donor of proton in Ar-DART-MS analysis. Through the analysis of background signal from methanol and alcohol as reactive reagents in Ar-DART-MS and their affect on sample ionization, the application scope of methanol and alcohol as reactive reagents in Ar-DART-MS was discussed. Some possible characteristic reactions were also explored. The validity of this method was verified by the analysis of reserpine.

Keywords direct analysis in real time mass spectrometry; argon; methanol; alcohol

Received 2016-09-28; Revised 2016-12-15; Accepted 2017-01-17

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21673219, No. 81373952)

Corresponding author: SONG Fengrui, professor; Tel: 0431-85262044; E-mail: songfr@ciac.ac.cn; Research interests: mass spectrometry, metabolism, metabonomics