纳升电喷雾-离子迁移谱及其与高效液相色谱的联用

陈 创^{1,2}, 王卫国¹, 梁茜茜^{1,2}, 周庆华^{1,2}, 彭丽英^{1,2},
温 萌^{1,2}, 鞠帮玉¹, 赵 琨¹, 刘 军^{3,4}, 李海洋^{1*}

(1. 中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023; 2. 中国科学院大学, 北京 100049;
3. 南京财经大学, 江苏 南京 210000; 4. 江苏省质量安全工程研究院, 江苏 南京 210000)

摘要:搭建了一套纳升级电喷雾-离子源离子迁移谱仪。首先,分别对尾吹气流速、溶剂流速等影响仪器去溶剂化效果的参数进行了研究和优化。在此基础上,用一系列胺类化合物对该仪器的去溶剂化效果、分辨能力以及灵敏度进行了表征。实验结果表明,该仪器能够对电喷雾离子液滴实现完全去溶剂化;三辛胺的检出限可以达到 10 $\mu\text{g/L}$ 。最后,将该仪器用作高效液相色谱的检测器,在无需衍生化的条件下对胺类混合物样品进行检测。由三乙胺、二乙胺以及丁胺组成的混合样品被成功分离并测定。该系统对三乙胺、二乙胺以及丁胺的线性响应范围均达到近两个数量级。

关键词:纳升电喷雾离子源;离子迁移谱;高效液相色谱;约化迁移率

中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1000-8713(2013)04-0386-06

Nano-electrospray ionization-ion mobility spectrometry and its combination with high performance liquid chromatography

CHEN Chuang^{1,2}, WANG Weiguo¹, LIANG Xixi^{1,2}, ZHOU Qinghua^{1,2}, PENG Liying^{1,2},
WEN Meng^{1,2}, JU Bangyu¹, ZHAO Kun¹, LIU Jun^{3,4}, LI Haiyang^{1*}

(1. *Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China;*
2. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;*
3. *Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210000, China;*
4. *Jiangsu Province Institute of Quality & Safety Engineering, Nanjing 210000, China*)

Abstract: A nano-electrospray ionization-ion mobility spectrometer (nanoESI-IMS) was built up. Firstly, the effects of the parameters such as drift gas flow rate and solvent flow rate on the desolvation capability were studied and optimized. Then, a series of compounds were used to characterize the nanoESI-IMS system. The results showed that, complete desolvation was achieved for nano-electrospray ion droplets with the nanoESI-IMS apparatus. The limit of detection of this instrument for trioctylamine could reach 10 $\mu\text{g/L}$. Finally, this instrument was coupled to the high performance liquid chromatography (HPLC) as a detector for amines analysis. A test mixture containing triethylamine, diethylamine and butylamine was successfully separated and determined by the HPLC-nanoESI-IMS system. Linear response ranges of about two orders of magnitude were achieved for triethylamine, diethylamine and butylamine with this system.

Key words: nano-electrospray ionization source; ion mobility spectrometry; high performance liquid chromatography (HPLC); reduced mobility

离子迁移谱(ion mobility spectrometry, IMS)是 20 世纪 70 年代初出现的一种气相离子分离检测

技术^[1]。因具有灵敏度高、检测速度快、结构简单、大气压条件下工作以及易于便携等优点,已经被广

* 通讯联系人. Tel: (0411)84379510, E-mail: hli@dicp.ac.cn.

基金项目: 国家高新技术研究发展计划(“863”计划)项目(2011AA060602); 国家自然科学基金项目(11004090, 20877074); 大连市科技计划项目(2010J21DW028).

收稿日期: 2012-12-03

泛应用在国土安全、环境污染、食品安全、生物医药研究以及空间探索等领域^[2]。IMS方法中,待测样品首先被离子化,然后根据在弱电场($E/N < 4$ Td, $1 \text{ Td} = 10^{-17} \text{ V} \cdot \text{cm}^2$)中离子迁移率 K 的不同对样品不同组分进行分离和分析^[3]。其中折合电场强度 E/N 为电场强度与粒子数密度之比。在IMS仪器中,使用最广泛的离子化源为放射性 ^{63}Ni 电离源。这种离子源检测的样品主要是气体,对于半挥发性和难挥发的样品则需要特殊的热解吸进样器来辅助进样,极大地限制了IMS在热不稳定性样品和生物样品分析中的应用。电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI)的出现,使得IMS可以直接对液体样品进行分析^[4]。随着仪器结构的不断改进,电喷雾电离-离子迁移谱(ESI-IMS)被广泛应用在环境污染、违禁药品、医药、爆炸物以及生物样品分析中。此外,ESI-IMS也被作为多种液相分离技术——特别是高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)的检测器来使用^[5]。

传统ESI-IMS中,电喷雾离子源中溶剂的流速通常保持在 $1 \sim 100 \mu\text{L}/\text{min}$,需要对电喷雾产生的离子化小液滴进行复杂的去溶剂化处理,以获得对目标分析物好的分辨能力^[6,7]。通常要求ESI-IMS迁移管的温度升高到 100°C 以上,并需要对电喷雾离子源中的喷雾针进行特殊的冷却保护,这在很大程度上增加了仪器装置的复杂性,不利于ESI-IMS与HPLC的联用;另一方面,ESI-IMS迁移管的温度升高又会降低ESI-IMS的分辨能力^[8]。因此,发展能够在室温条件下实现很好去溶剂化效果的ESI-IMS就显得非常重要。

1994年,Wilm和Mann^[9]发展了一种纳升级电

喷雾离子源(nano-electrospray ionization source, nanoESI source)。与传统的电喷雾离子源相比,这种技术采用更小的溶剂流速($10 \sim 500 \text{ nL}/\text{min}$),形成的喷雾更加稳定、喷雾产生的带电小液滴尺寸更小($100 \sim 200 \text{ nm}$)^[10,11]。早期关于其机理的研究证实了nanoESI中产生的小尺寸的电喷雾液滴在室温的条件下就可以实现完全的去溶剂化^[12],这为我们提供了一种降低IMS温度的有效方法。

本实验将nanoESI离子源用于IMS中,搭建了一套nanoESI-IMS装置。分别对尾吹气流速、溶剂流速等影响nanoESI-IMS去溶剂化效果的参数进行了研究和优化。在此基础上,用一系列胺类化合物对该仪器去溶剂化效果、分辨能力以及灵敏度进行了表征。最后,该nanoESI-IMS被用作HPLC的检测器,在无需衍生化的条件下对胺类混合物样品进行分离和检测。

1 实验部分

1.1 仪器、装置和试剂

实验室搭建的nanoESI-IMS仪器装置如图1所示。IMS主要包括纳升电喷雾电离源区、去溶剂化腔体、离子门、离子迁移区以及法拉第盘检测器。其中去溶剂化腔体的内径为 14 mm ,离子迁移区的内径为 25 mm ,其他详细参数如表1所示。纳升电喷雾离子源的喷雾针为毛细管($360 \mu\text{m}$ o. d., $200 \mu\text{m}$ i. d.)拉制而成,喷雾针针尖外径 $10 \mu\text{m}$,内径 $8 \mu\text{m}$ 。在表征nanoESI-IMS性能的时候,配备有 3 mL 注射器的步进进样器(LSP01-1A/2A Longer Pump),用于将电喷雾溶剂输送到纳升喷雾的喷雾针中进行电喷雾。溶剂的流速设定为 $200 \text{ nL}/\text{min}$,并且可以通过步进进样器进行调节。电喷雾高压通

图1 纳升电喷雾-离子迁移谱仪的结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of nano-electrospray ionization-ion mobility spectrometer (nanoESI-IMS)

过导电两通传导到电喷雾溶剂中。样品溶液经过电喷雾后,形成的离子在去溶剂化腔体中进行去溶剂化,然后在离子门脉冲作用下进入 IMS 迁移区进行分离。分离后的离子最终到达法拉第盘被检测。nanoESI-IMS 的迁移管的温度保持在 32 ℃。

表 1 IMS 相关参数
Table 1 The parameters of IMS

Parameter	Value
IMS mode	positive ion mode
Desolvation chamber length	48 mm
Drift region length	88 mm
Electric field strength	250.25 V/cm
Shutter pulse width	200 μs
Drift gas	purified air
Nano-electrospray solvent flow rate	180 nL/min
Nano-electrospray voltage	4000 V

实验中使用的高效液相色谱仪为 Jasco HPLC system(PU-1580)。色谱柱为 Waters C18 色谱柱(100 mm × 4.6 mm, 5 μm, XTerra™)。当配接 HPLC 到 nanoESI-IMS 时,色谱柱的流出物经过一个三通连接头(P-888, Upchurch Scientific,其中两端流阻不同)进行分流,大约以 200 nL/min 的流速被输送到 nanoESI-IMS 进行分析。流速的大小通过控制三通连接头两端流阻的大小来实现,流量的估测使用带有刻度的玻璃毛细管(P-015, Upchurch Scientific)进行。

所用试剂甲醇、二乙胺、三乙胺、丁胺、三辛胺和 2,4-二甲基吡啶均为高效液相色谱纯级别,购买自天津 Kernel 公司。所使用的水为去离子化超纯水(18 MΩ · cm, Milli-Q, Advantage-A10)。

1.2 标准溶液的配制

实验过程中使用 80% (如无特殊说明均为体积分数) 甲醇作为溶剂配制所需的二乙胺、三乙胺、丁胺、三辛胺和 2,4-二甲基吡啶样品母液,质量浓度均为 1 g/L。实验过程中所需要的不同浓度样品溶液均通过逐级稀释方法获得。在每次实验前,均重新配制新鲜样品母液。

1.3 色谱分离条件

高效液相色谱使用等度洗脱模式,流动相为 90% 甲醇溶液,流动相流速为 0.8 mL/min。每次进样量为 5 μL。

1.4 约化迁移率和分辨能力

所有化合物的约化离子迁移率 K_o 均通过它们在 nanoESI-IMS 中形成的产物离子峰的迁移时间 t_d 来计算得到。公式^[3]为

$$K_o = \frac{L}{E \times t_d} \times \frac{273}{T} \times \frac{P}{760} \quad (1)$$

其中, L 表示离子迁移区的长度(8.8 cm), E 表示离子迁移区电场强度(250.25 V/cm), T 表示迁移区的温度(305 K), P 为 nanoESI-IMS 内部的压强(101 325 Pa)。

所有化合物的分辨能力 R_p 均通过下面公式^[3]计算:

$$R_p = \frac{t_d}{w_{1/2}} \quad (2)$$

其中, $w_{1/2}$ 为产物离子峰峰高一半处的峰宽。

2 结果与讨论

2.1 纳升电喷雾-离子迁移谱性能的考察

去溶剂化的效果很大程度上会影响 nanoESI-IMS 性能,包括其分辨能力以及灵敏度。因此,首先对影响去溶剂化效果的因素包括尾吹气的流速、电喷雾溶剂的流速等条件进行了考察和优化。在此基础上,通过检测不同化合物来对 nanoESI-IMS 去溶剂化的效果进行评价,同时对 nanoESI-IMS 分辨能力和灵敏度进行考察。

2.1.1 尾吹气流速的影响

以 80% 的甲醇作为电喷雾溶剂,记录了不同尾吹气流速下 nanoESI-IMS 的响应谱图,并将其中主要溶剂离子峰的位置随尾吹气流速变化的趋势作图,结果如图 2。尾吹气流速为 10 mL/min 的时候,甲醇溶液在 nanoESI-IMS 中形成的溶剂离子峰具有非常长的迁移时间(17.046 ms)。随着尾吹气流速的增大,溶剂离子峰的迁移时间迅速变短,这种趋势一直持续到尾吹气流速增加到 350 mL/min。这一迁移时间减小的变化是由于随着尾吹气流速的增大,nanoESI 产生的离子液滴中的溶剂蒸发速度加快,生成质量更小、迁移速度更快的离子^[7]。而随着尾吹气流速进一步增大,溶剂离子峰开始缓慢向迁移时间长的方向移动,从 350 mL/min 时的 13.53

图 2 尾吹气流速对主溶剂峰位置的影响
Fig. 2 Effect of drift gas flow rate on the position of major solvent ion peak

ms 至 900 mL/min 时的 13.60 ms。并且随着尾吹气流速进一步增加,其迁移时间开始向着更长的方向迅速移动,从 900 mL/min 时的 13.60 ms 至 1 400 mL/min 时的 13.80 ms。这一增大的趋势主要是由于随着气流流速增大,迁移管内部压力增大,对溶剂离子的运动阻力增大,导致溶剂离子运动速度变慢^[13]。大的尾吹气流速对保持离子迁移谱内部清洁非常重要,同时考虑到其对溶剂蒸发的影响,在后续实验中将尾吹气流速设定在 900 mL/min。

2.1.2 溶剂流速的影响

纳升电喷雾产生的带电离子液滴的半径 R 与溶剂的流速 v 之间存在着这样的关系 $R \propto v^{2/3}$ ^[14]。因此,在电喷雾电压固定的条件下,溶剂的流速越大,纳升电喷雾产生的带电离子液滴的半径就越大。半径越大,其中溶剂完全蒸发就越困难。为了研究不同溶剂流速对 nanoESI-IMS 去溶剂化能力的影响,采集了 80% 甲醇在不同流速下的离子迁移谱图,并将其溶剂离子峰的位置随着流速变化趋势作图,结果如图 3。溶剂流速从 60 nL/min 变化到 1 560 nL/min 的过程中,溶剂离子峰的位置始终保持在 13.60 ms 不变。这一结果反映了该 nanoESI-IMS 在此溶剂流速区间内能够保持恒定去溶剂化效果,同时也为后续实验中将 nanoESI-IMS 配接到 HPLC 上提供了一个较宽的流速变化范围。为了更好的去溶剂化效果和方便将 nanoESI-IMS 配接到 HPLC 上,选择溶剂流速 200 nL/min 左右。

2.1.3 纳升电喷雾-离子迁移谱的去溶剂化效果

在上述优化条件下,使用 nanoESI-IMS 获得的 2,4-二甲基吡啶谱图如图 4。图 4 中,除了甲醇溶液产生的溶剂离子峰以外,可以观察到明显的 2,4-二甲基吡啶的产物离子峰,峰位置在 15.80 ms 处。利用公式(1) 计算得到约化迁移率 K_0 为 $1.99\text{ cm}^2/(\text{V} \cdot \text{s})$ (见表 2)。根据文献^[7]报道,如果 ESI-IMS 检测 2,4-二甲基吡啶得到的约化迁移率值小于 $1.95\text{ cm}^2/(\text{V} \cdot \text{s})$,则表示 2,4-二甲基吡啶离子的去溶剂化不完全。而本实验中得到的约化迁移率值与文献^[7]中报道的 $1.95\text{ cm}^2/(\text{V} \cdot \text{s})$ 相吻合,表示在该 nanoESI-IMS 装置中 2,4-二甲基吡啶离子得

图 3 电喷雾溶剂流速对主溶剂峰位置的影响
Fig. 3 Effect of nano-electrospray solvent flow rate on the position of major solvent ion peak

到了完全去溶剂化。表 2 中一同列出了二乙胺、三乙胺、丁胺和三辛胺的约化迁移率,并给出了文献中报道的迁移率。这些相互吻合的迁移率值反映了该 nanoESI-IMS 仪器在室温下同样具有较好的去溶剂化能力。利用公式(2) 得到的各化合物的分辨能力值也列在表 2 中,分辨能力值在 33 到 40 之间,与文献中利用传统的 ESI-IMS 在高的迁移管温度下(100 ℃)得到的结果一致^[7]。

图 4 2,4-二甲基吡啶的 nanoESI-IMS 离子迁移谱图
Fig. 4 NanoESI-IMS spectrum for 2,4-lutidine

2.1.4 纳升电喷雾-离子迁移谱的灵敏度

图 5 展示了 60 μg/L 三辛胺样品在 nanoESI-IMS 中的响应谱图。在谱图中迁移时间为 30.08 ms 处观察到三辛胺的离子峰。该离子峰的强度为 11.8 mV,基线噪声水平为 0.38 mV,计算得到 $S/N = 31$ 。为了考察 nanoESI-IMS 检测三辛胺的检出

表 2 五种化合物在 nanoESI-IMS 中的分辨能力以及约化迁移率

Table 2 Resolving power and reduced mobility (K_0) for the five compounds in nanoESI-IMS					
Compound	M_w/Da	Drift time/ms	Resolving power	$K_0/(\text{cm}^2/(\text{V} \cdot \text{s}))$	Literature $K_0/(\text{cm}^2/(\text{V} \cdot \text{s}))$
2,4-Lutidine	107	15.80 ± 0.02	36.71	1.99	$1.95^{[4]}$
Diethylamine	73	14.64 ± 0.02	33.51	2.15	$2.16^{[15]}$
Butylamine	73	15.82 ± 0.02	36.88	1.99	$1.98^{[15]}$
Triethylamine	101	15.38 ± 0.02	37.42	2.05	$1.96^{[15]}$
Trioctylamine	355	29.92 ± 0.02	40.51	1.05	$0.92^{[6]}$

限,利用逐级稀释方法依次记录了 40、20 和 10 $\mu\text{g/L}$ 三辛胺样品在 nanoESI-IMS 中的响应信号强度。发现三辛胺质量浓度为 10 $\mu\text{g/L}$ 时响应信号强度与噪声水平的比值为 3.2,接近 $S/N=3$ 的水平。因此我们将 10 $\mu\text{g/L}$ 作为 nanoESI-IMS 检测三辛胺的检出限。这一数值达到 Jafari^[6] 利用传统的 ESI-IMS 得到的检出限范围(5 ~ 40 $\mu\text{g/L}$),表明了该 nanoESI-IMS 同样具有高的灵敏度。

图 5 60 $\mu\text{g/L}$ 的三辛胺的 nanoESI-IMS 谱图
Fig. 5 NanoESI-IMS spectrum for trioctylamine of 60 $\mu\text{g/L}$

2.2 高效液相色谱与纳升电喷雾-离子迁移谱联用
2.2.1 二维分离检测

在考察了 nanoESI-IMS 性能的基础上,将 nanoESI-IMS 配接到高效液相色谱仪上,对低质量数脂肪胺化合物进行无衍生化处理的分离和检测。图 6 是使用 HPLC-nanoESI-IMS 系统检测二乙胺、三乙胺和丁胺混合物得到的二维等高线图,其中的色谱图为总离子色谱图(将迁移时间在 14 ms 到 20 ms 之间的各个质谱图的离子强度加和得到)。从图 6 可以看出,这 3 种胺的色谱分离效率并不高,仅仅观察到两个色谱峰。这是由于二乙胺和丁胺在色谱柱中的保留时间基本相同,两者形成的离子峰重合在一起成为一个峰。但 nanoESI-IMS 在作为 HPLC 检测器的同时,又提供了迁移时间维度的分离。从图 6 二维等高线图中可以观察到 3 个相互完全分离的离子峰(标有 1、2 和 3 的 3 个点)。这一结果展示了这种二维分离手段在分离能力互补方面的特性。

图 6 HPLC-nanoESI-IMS 系统分离分析二乙胺、三乙胺和丁胺混合物得到的二维等高线图和总离子色谱图
Fig. 6 Two-dimensional contour plot for a mixture of diethylamine, triethylamine and butylamine and total ion chromatogram of summed ion intensities from 14 ms to 20 ms obtained with the HPLC-nanoESI-IMS system
Peaks; 1. diethylamine; 2. triethylamine; 3. butylamine.

2.2.2 定量分析

验证了 HPLC-nanoESI-IMS 系统的分离检测能力后,对该系统的定量分析能力进行评价。测试了该系统对二乙胺、三乙胺和丁胺的线性响应范围。其中,样品产物离子中心迁移时间对应的色谱图的峰面积被用来作为样品信号响应值,用于绘制样品的浓度响应曲线,结果见表 3。可以看到该系统对于这 3 种脂肪胺的线性响应范围都达到 2 个数量级,并且相关系数都达到 0.995 以上。此外,以 $S/N=10$ 确定上述 3 种胺的定量限分别为 0.8、1 和 0.8 mg/L 。其值明显高于文献^[16]中使用化学发光法进行高效液相色谱检测的结果(7 ~ 13 $\mu\text{g/L}$)。这可能是由于使用了分流模式,分析物流出液相色谱柱后只有一小部分进入到 nanoESI-IMS 中进行分析。在下一步的实验中,将采用毛细管色谱柱来进行高效液相色谱分离,尝试提高检出限。

表 3 HPLC-nanoESI-IMS 系统检测二乙胺、三乙胺和丁胺的分析参数					
Table 3 Analytical parameters for triethylamine, diethylamine and butylamine using HPLC-nanoESI-IMS					
Compound	Linear function	Linear range/(mg/L)	R^2	LOQ/(mg/L)	RSD/% ($n=3$)
Diethylamine	$y=0.43+0.94x$	0.5–100	0.996	0.8	4
Triethylamine	$y=0.48+0.88x$	1–100	0.995	1	3
Butylamine	$y=0.64+0.82x$	0.8–100	0.998	0.8	4

y : peak area; x : sample concentration, mg/L ; R^2 : correlation coefficient.

3 结论

成功搭建了一套 nanoESI-IMS 系统,对其性能进行了考察,并将其用作 HPLC 系统的检测器对一些低质量数的胺类化合物进行了初步的检测和定量分析。由于传统的高效液相色谱使用高的流动相流速,在两者配接的过程中只有很小一部分的色谱柱流出物进样到 nanoESI-IMS 中进行分析,对分析样品的利用率极低。另一方面,这种配接方式会造成色谱峰在传输过程中的展宽,从而造成分离效率的下降和灵敏度的降低。当前毛细管液相色谱的发展^[17],为这种二维分离手段结合提供了一种新的技术改进方案。因为毛细管色谱柱使用的流动相的流速低,可以低到 200 nL/min 左右,非常适合于和 nanoESI-IMS 的配接,不需要分流的处理,而且色谱柱和 nanoESI 喷雾针的连接将更加方便。在后续的研究中,将毛细管整体柱和 nanoESI-IMS 联用将成为研究的重点。

参考文献:

[1] Xu F, Wang H L, Guan Y F. Progress in Chemistry (许峰,王海龙,关亚风. 化学进展), 2005, 17: 514

- [2] Borsdorf H, Mayer T, Eiceman G A. Appl Spectrosc Rev, 2011, 46: 472
- [3] Eiceman G A, Karpas Z. Ion Mobility Spectrometry. 2nd ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2005
- [4] Kanu A B, Kumar B S, Hill H H. Int J Ion Mobil Spectrom, 2012, 15: 9
- [5] Kurnin I V, Kayumov A A, Muradymov M Z. Int J Ion Mobil Spectrom, 2012, 15: 51
- [6] Jafari M. Talanta, 2009, 77: 1632
- [7] Jafari M T, Javaheri M. Anal Chem, 2010, 82: 6721
- [8] Matz L M, Steiner W E, Hill H H. Int J Mass Spectrom, 2002, 213: 191
- [9] Wilm M, Mann M. Anal Chem, 1996, 68: 1
- [10] Kebarle P, Verkerk U H. Mass Spectrom Rev, 2009, 28: 898
- [11] Heemskerk A, Hensbergen P J, Mayboroda O A. Anal Chem, 2012, 84: 4552
- [12] Crotti S, Seraglia R, Traldi P. Eur J Mass Spectrom, 2011, 17: 85
- [13] Kwasnik M, Fuhrer K, Fernandez F M. Anal Chem, 2007, 79: 7782
- [14] Wilm M S, Mann M. Int J Mass Spectrom Ion Processes, 1994, 136: 167
- [15] Karpas Z. Anal Chem, 1989, 61: 684
- [16] Lloret S M, Legua C M, Falco P C. J Chromatogr A, 2004, 1035: 75
- [17] Gaspari M, Cuda G. Methods Mol Biol, 2011, 790: 115