

电喷雾萃取电离源调节装置的研制

董晓峰, 刘林, 王姜, 许柠, 顾海巍, 周书民, 陈焕文

(东华理工大学, 江西省质谱科学与仪器重点实验室, 江西 南昌 330013)

摘要:电喷雾萃取电离(EESI)源具有样品无需复杂预处理、易于集成和小型化、可与多种商用质谱仪联用、适于现场分析等特点,已在生命科学、环境、食品、国防、刑侦等领域的复杂基体样品的直接质谱分析领域得到了广泛应用。然而,实验室制作的普通 EESI 源长期稳定性较差,空间位置难以精确调节,针对此问题,本工作研制了 EESI 源的调节装置。在优化离子源空间位置参数与仪器参数的条件下,安装该调节装置后,采用 EESI 源对脯氨酸进行检测,检测限由 $0.5 \mu\text{g/L}$ 降至 $0.075 \mu\text{g/L}$,并对肺癌患者血样中的缬氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、组氨酸、赖氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、苏氨酸、酪氨酸和谷氨酰胺进行连续 5 日检测,各样品的平均 RSD 均小于 10%。实验证明,该调节装置具有操作简单、稳定性高、适应范围广等特点,对 EESI 离子源的性能有较大提高。

关键词:电喷雾萃取电离;调节装置;表征;长期稳定性

中图分类号:O 657.63 文献标志码:A 文章编号:1004-2997(2014)03-0226-06

doi:10.7538/zpxb.2014.35.03.0226

Development of Adjustable Device for Extractive Electrospray Ionization with Improved Performance

DONG Xiao-feng, LIU Lin, WANG Jiang, XU Ning, GU Hai-wei,
ZHOU Shu-min, CHEN Huan-wen

(*Jiangxi Key Laboratory for Mass Spectrometry and Instrumentation,
East China Institute of Technology, Nanchang 330013, China*)

Abstract: Extractive electrospray ionization (EESI) mass spectrometry (MS) has been increasingly used for real time trace analysis of various samples with complex matrices. EESI is easy to be implemented in all types of commercially available MS instruments. However, self-assembled simple EESI source is short of long-term stability. An adjustable device specially developed for EESI source was presented in this work. With parameters of ion source spatial location and MS instrument optimized, the detection limit of EESI using the adjustable device to test proline is reduced from $0.5 \mu\text{g/L}$ to $0.075 \mu\text{g/L}$. The representative amino acids, valine, phenylalanine, proline, histidine, lysine, asparagine, aspartic acid, threonine, tyrosine and glutamine in blood samples obtained from patients with lung cancer have been tested continuously for 5 days and the average RSD for each sample is less than 10%. The experimental results show that the newly developed EESI source has been im-

收稿日期:2014-02-15;修回日期:2014-03-16

基金项目:国家重大仪器专项(2011YQ170067);江西省科技计划项目(2010EHA01000);江西省科技计划人才项目(2010DD01300)资助

作者简介:董晓峰(1981~),男,河南鹿邑人,讲师,从事质谱仪器研发。E-mail: dongxiaofeng2013@163.com

通信作者:陈焕文(1973~),男,江西兴国,教授,从事质谱分析研究。E-mail:chw8868@gmail.com

proved, particularly on the aspects such as stability, precision and sensitivity.

Key words: extractive electrospray ionization (EESI); adjustable device; characterization; long-term stability

电喷雾萃取电离 (extractive electrospray ionization, EESI) 技术是在电喷雾电离 (ESI) 技术^[1]和电喷雾解吸电离 (DESI) 技术^[2]的基础上, 引进液-液微萃取技术^[3-4]而发展起来的新兴电离技术。与 ESI 直接电离经过预处理的样品不同, EESI 首先电离的是纯粹溶剂, 样品与电场或带电粒子等不发生直接接触, 不受刺激性溶剂 (如甲醇、乙酸等) 的污染, 且无需复杂繁琐的样品前处理过程, 最大限度地保证样品不受试剂和操作条件的影响, 因而是一种比 ESI 更温和的软电离技术, 可以直接分析原生态样品。与 DESI 相比, EESI 后续发展的中性解吸 (neutral desorption) 电喷雾萃取电离技术 (ND-EESI)^[5]可以使待测物的解吸过程和电离过程在空间和时间上分离, 从而实现复杂样品的远程和实时在线检测。因此, EESI 适用于复杂基体样品的直接质谱分析, 特别是在生物样品分析、复杂化学反应体系的中间产物检测、动植物的活体代谢组学分析等领域具有巨大的应用潜力, 近年来受到广泛的关注^[6-13]。电喷雾萃取电离源是 EESI 质谱分析的核心部分, 主要由电喷雾通道和样品通道构成, 实验时需根据样品的形态和待测物的性质等对 EESI 源的各参数进行调节优化, 以达到最好的检测效果。

EESI 技术的原理示意图^[6]示于图 1。电喷雾通道中, 萃取溶剂在高压载气 (N_2) 的作用下被喷出并雾化, 在高电压作用下产生带电的试剂离子, 形成带电的微小液滴; 而在样品通道中, 样品溶液在高压载气 (N_2) 的作用下被喷出并雾化, 形成微小的中性液滴。这 2 个独立的喷雾通道产生的微小液滴在三维空间内进行交叉碰撞, 由于液-液微萃取作用, 样品中待测分子在两相溶液中发生萃取转移, 从而使待测分子电离, 该离子被引入到质谱仪中即可进行质量分析。由此可见, 这 2 个喷雾通道的空间位置参数, 即样品通道与质谱仪进样口的角度 α , 样品通道与质谱仪进样口的距离 l , 电喷雾通道与样品通道之间的角度 β , 电喷雾通道与样品通道之间的距离 d , 会直接影响待测分子的产生和传输过程, 从而决定了质谱信号的质量^[14-15]。然而, 现有商

用质谱仪一般用 ESI 源进行质谱分析, 无法适用于 EESI 源的实验; 而实验室普通的 EESI 源装置一般由支撑棒、万向杆架、不锈钢三通管接头拼装的喷头等组成, 虽然易于搭建, 但无法精确定量离子源空间位置参数, 且稳定性不高。因此, 获得一个稳定的、可精确调控的 EESI 源, 在直接质谱分析中非常重要。

本工作拟研制一种 EESI 源的调节装置, 利用该装置可精确定量调节离子源的空间位置, 从而易于研究离子源的空间位置参数与信号强度的关系, 达到对离子源的空间位置参数进行优化的目的。实验使用氨基酸标准溶液等对该调节装置进行测试表征, 并与实验室普通的 EESI 源做比较实验, 以适于商业推广。

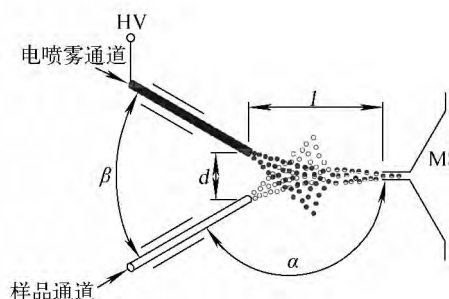


图 1 EESI 技术的原理示意图^[6]

Fig. 1 Schematic diagram of EESI technique^[6]

1 EESI 源调节装置

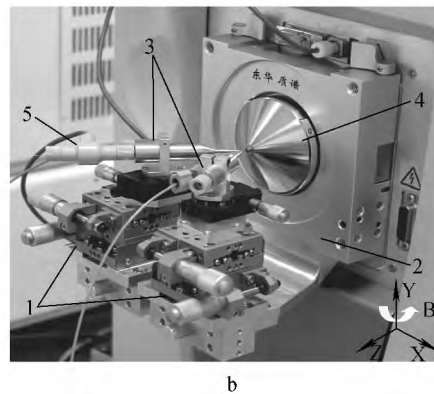
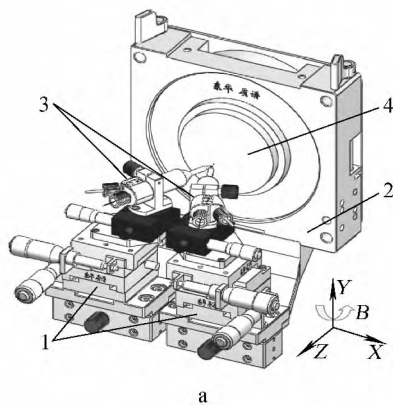
为了精确调节 EESI 源的空间位置参数, 本工作研制了一种双通道左右对称式的调节装置, 主要包括四轴调节系统、接口系统、EESI 源 3 个组成部分, 其三维模型图示于图 2a。四轴调节系统左右各一个, 可分别用于调节电喷雾通道与样品通道的空间位置, 从而精确定量调节离子源的空间位置参数, 以保证实验整体的稳定性和可重现性。这种条件可满足对不同样品的分析, 拓宽了实验方法的通用性, 能够确保不同实验人员按相同实验条件进行操作可获得一致的实验结果, 降低了操作的随意性, 适用于不同层次的操作者。接口系统的主要功能是将 2 个四轴调节系统耦合在质谱仪上, 本工作通过逆向工程方法

研制了适合 LTQ 的接口,该接口稍加改动后也可以耦合在其他类型的质谱仪上。该 EESI 源的电喷雾通道和样品通道在结构上是一样的,可实现互换,因而具有高通用性和低成本的特点。该调节装置整体上呈左右对称式布置,位于质谱仪进样口的前下方,实验时视野开阔,便于观察与控制实验过程。

1.1 四轴调节系统

四轴调节系统由 X、Y、Z 三个方向的位移调节机构和 B 方向上的角度调节机构串联而成,将其耦合在 LTQ 质谱仪上的实物图示于图 2b。其中,X、Z 方向上的位移调节机构以不锈

钢为主体材料,交叉滚柱导轨支撑,微分头手动驱动,弹簧复位,侧面设有锁紧螺钉,线性直线度小于 $5\ \mu\text{m}$,线性灵敏度为 $1\ \mu\text{m}$,可用于精确调节离子源的位置;B 轴方向上的角度调节机构以铝合金为主体材料,直接粗调范围为 $0\sim 360^\circ$,微分头手动驱动精调范围为 $\pm 10^\circ$ 、最小刻度 2.5° 、角度最小读数 $5'$,可用于精确调节离子源的角度;Y 方向上的位移调节机构与 X、Z 方向上的机构基本一致,微分头分辨率 $10\ \mu\text{m}$,微调精度 $5\ \mu\text{m}$,可用于精确调节离子源的高度,提高电喷雾液滴与样品液滴间的碰撞概率,以获得较好的分析灵敏度。



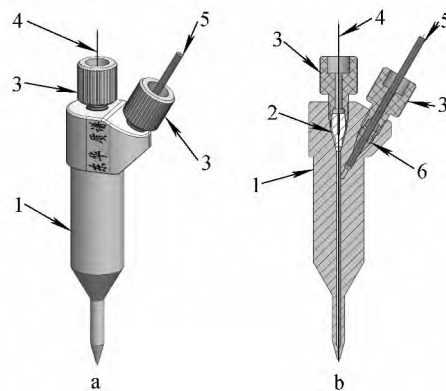
注:1. 四轴调节系统;2. LTQ 接口;3. 电喷雾萃取电离源;4. LTQ 进样口;5. 高压接口

图 2 EESI 源调节装置的三维模型图(a)及其耦合在 LTQ 质谱仪上的实物图(b)

Fig. 2 3D model of adjustable device for EESI source (a) and picture of the device coupled to LTQ MS (b)

1.2 电喷雾萃取电离源

电喷雾萃取电离源由电喷雾通道和样品通道组成,其结构示于图 3。电喷雾通道由基体、毛细管锁紧头、锁紧螺头(2 个)、毛细管、导气管、导气管锁紧头组成。其中,基体内部设有一沿轴线贯穿中心的通孔,通孔下端部直径 $\Phi 0.25\ \text{mm}$,中间穿过外径 $\Phi 0.18\ \text{mm}$ 的石英毛细管,石英毛细管另一端依次从毛细管锁紧头、锁紧螺头中间穿过。当拧紧锁紧螺头时,毛细管锁紧头在其作用下向下压紧基体中心通孔的上端部锥面,这样就锁紧并密封了石英毛细管。同时,在基体内部与前述贯穿基体中心的通孔倾斜一定角度的方向上,设置有一斜侧位通孔,该侧位通孔与前述贯穿中心的通孔上端部结构是类似的,导气管穿过导气管锁紧头、锁紧螺头后,穿入其中。当拧紧锁紧螺头时,导气管锁紧头在锁紧螺头的作用下向下压紧侧位通孔的



注:1. 基体;2. 毛细管锁紧头;3. 锁紧螺头;4. 毛细管;5. 导气管;6. 导气管锁紧头

图 3 电喷雾(样品)通道

三维外观图(a)及其内部结构图(b)

Fig. 3 3D assembly model of electrospray(or sample) channel(a) and its internal structure(b)

锥面,这样就锁紧并密封了导气管,高电压则直接加在溶剂上。样品通道与电喷雾通道在结构上一样,区别在于样品通道中溶液不加高电压。因此,两者具有互换通用性,可简化装置结构,降低生产成本。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

LTQ-XL 离子阱质谱仪(含 Xcalibur 数据处理系统):美国 Thermo Scientific 公司产品;普通 EESI 源:实验室自制;可调节 EESI 源:本工作研制。

甲醇(色谱纯):美国 Tedia 公司产品;脯氨酸、缬氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、苏氨酸、酪氨酸、谷氨酰胺等氨基酸标准(均为分析纯):上海蓝季科技发展有限公司产品;氯霉素、利血平(优级纯):上海晶纯生化科技股份有限公司产品;氯化 1-己基-3 甲基咪唑(分析纯):上海成捷化学有限公司产品;超纯水(电阻率 18.2 MΩ·cm):实验室自制。

肺癌血液样品:由南昌大学第二附属医院提供,已确认患者同意,并签署了知情同意书。

2.2 实验条件

萃取剂为甲醇,流速 5 mL/min;样品溶液浓度分别为 5~500 μg/L 脯氨酸、5~500 μg/L 缬氨酸、0.1~500 μg/L 组氨酸、0.1~200 μg/L 氯霉素、0.05~1 μg/L 氯化 1-己基-3 甲基咪唑、100~700 μg/L 利血平;脯氨酸、缬氨酸、组氨酸、氯霉素、氯化 1-己基-3 甲基咪唑的样品溶液流速均为 5 mL/min,利血平、肺癌患者血液流速为 4 mL/min;雾化气压力为 1 MPa(氮气钢瓶表头压力,气体导管为 0.16 cm);萃取剂的电离

电压,氯霉素样品时为 -3 kV(负离子模式),其他样品时均为 +4 kV(正离子模式);离子传输管的温度,利血平实验时为 180 °C,脯氨酸、缬氨酸、组氨酸、氯霉素、氯化 1-己基-3 甲基咪唑 5 种样品实验时均为 150 °C,用肺癌患者血液实验时为 200 °C;扫描范围为各种氨基酸 m/z 50~200,氯霉素 m/z 50~500,氯化 1-己基-3 甲基咪唑 m/z 50~200,利血平 m/z 50~800。其他条件由 LTQ-XL 离子阱质谱仪自动优化参数得到。

3 结果与讨论

3.1 六种化合物的测试表征

可调节 EESI 离子源在原有实验普通离子源的基础上,实现了离子源各项参数的精密调节,提高了离子源的调节准确度和使用稳定性。为了验证可调节 EESI 离子源的这些特征,本实验使用脯氨酸、缬氨酸、组氨酸、氯霉素、氯化 1-己基-3 甲基咪唑和利血平的标准品溶液,通过串联质谱方法对该离子源进行表征。结果表明,6 种化合物的 RSD 在 3.0%~8.2%之间,线性关系良好,详细分析数据列于表 1。

3.2 普通 EESI 源与可调节 EESI 源的对比实验

为验证可调节 EESI 离子源的性能,本实验选取脯氨酸作为实验对象,在相同仪器条件和实验条件下,对普通 EESI 离子源和可调节 EESI 离子源进行对比实验,结果列于表 2。可调节 EESI 离子源的脯氨酸检出限为 0.075 μg/L,远小于自制的普通 EESI 离子源的脯氨酸检出限 0.5 μg/L,且可调节 EESI 离子源的线性略优于普通 EESI 离子源。

表 1 六种化合物定量分析数据对比

Table 1 Testing data comparison and analysis with six compound using the adjustable EESI

样品	相对分子质量	质子化分子质量 [M±H] [±]	碰撞能量 /V	线性方程	相关系数 R ²	线性范围/ (μg/L)	检出限/ (μg/L)	平均 RSD/% (n=6)
脯氨酸	115	116	19	$y=8.72+0.83x$	0.984	5~500	0.075	3.6
缬氨酸	117	118	19	$y=12.6+0.88x$	0.970	5~500	0.054	4.2
组氨酸	155	156	22	$y=17.72+1.35x$	0.992	0.1~500	0.017	4.5
氯霉素	322	321	20	$y=77.31+6.56x$	0.990	0.1~200	0.006	3.0
氯化 1-己基-3 甲基咪唑	166	167	20	$y=14.53+0.46x$	0.997	0.05~1	0.003	8.2
利血平	608	609	24	$y=3.73+0.19x$	0.993	100~700	1.4	7.9

表 2 实验室普通 EESI 源与可调节 EESI 源对比实验数据

电离源	线性方程	相关系数 R^2	线性范围/ $(\mu\text{g/L})$	检出限/ $(\mu\text{g/L})$	平均 RSD/ $\%(n=6)$
普通 EESI 源	$y=122.70+0.233x$	0.980	5~1 000	0.5	3.6
可调节 EESI 源	$y=8.72+0.83x$	0.984	5~500	0.075	3.6

3.3 对血液中的 10 种氨基酸进行连续监测

为验证可调节 EESI 离子源在实际样品测试中的可靠性和长期工作的稳定性,为该离子源的商品化提供数据支持,本实验以肺癌患者血样为实验样品,使用可调节 EESI 离子源,通过串联质谱对样品中的缬氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、组氨酸、赖氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、苏氨酸、酪氨酸和谷氨酰胺等 10 种氨基酸进行连续 5 日的检测,以验证可调节 EESI 离子源在实际样品检测中的稳定性和可靠性。各样品的平均 RSD 均小于 10%,说明该离子源 5 日内的工作稳定性相对较好,结果示于图 4。

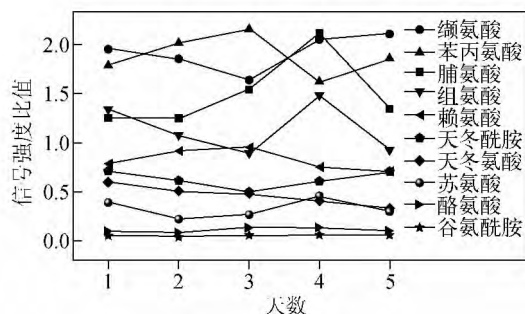


图 4 连续 5 日检测同一肺癌患者血液样本中 10 种氨基酸信号的变化结果

Fig. 4 The curves reflect the repeatability of EESI-MS for measuring trace levels of amino acid in blood sample from lung cancer patients

实验表明,可调节 EESI 离子源具有样品信号强度较好、检出限较低、工作稳定等特点。该装置可为 EESI 离子源的应用推广和商业化提供条件。

参考文献:

[1] TAKATS Z, WISEMAN J M, GOLOGAN B, et al. Mass spectrometry sampling under ambient conditions with desorption electrospray ionization [J]. Science, 2004, 306(5 695):471-473.
 [2] FENN J B, MANN M, MENG C K, et al. Electrospray ionization for mass spectrometry of large

biomolecules[J]. Science, 1989, 246(4 926): 64-71.

- [3] WANG R, GROHN A J, ZHU L, et al. On the mechanism of extractive electrospray ionization (EESI) in the dual-spray configuration[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2012, 402(8): 2 633-2 643.
 [4] LAW W S, WANG R, HU B, et al. On the mechanism of extractive electrospray ionization[J]. Analytical Chemistry, 2010, 82(11):4 494-4 500.
 [5] CHEN H W, HU B, HU Y, et al. Neutral desorption using a sealed enclosure to sample explosives on human skin for rapid detection by EESI-MS[J]. Journal of the American Society for Mass Spectrometry, 2009, 20(4):719-722.
 [6] CHEN H W, VENTER A, COOKS R G. Extractive electrospray ionization for direct analysis of undiluted urine, milk and other complex mixtures without sample preparation[J]. Chemical Communications, 2006, (19):2 042-2 044.
 [7] LI M, DING J H, GU H W, et al. Facilitated diffusion of acetonitrile revealed by quantitative breath analysis using extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. Scientific Reports, 2013, (3):1 205.
 [8] DING J H, YANG S P, LIANG D, et al. Development of extractive electrospray ionization ion trap mass spectrometry for in vivo breath analysis [J]. Analyst, 2009, 134(10):2 040-2 050.
 [9] ZHANG X L, WANG N N, ZHOU Y F, et al. Extractive electrospray ionization mass spectrometry for direct characterization of cosmetic products [J]. Analytical Methods, 2012, 5(2):311-315.
 [10] ZHOU Z Q, JIN M, DING J H, et al. Rapid detection of atrazine and its metabolite in raw urine by extractive electrospray ionization mass spectrometry [J]. Metabolomics, 2007, 3(2): 101-104.
 [11] 许 柠, 朱志强, 杨水平, 等. 新型电喷雾萃取电离质谱法快速标靶分析氨基酸[J]. 分析化学, 2013, 41(4):523-528.

- XU Ning, ZHU Zhiqiang, YANG Shuiping, et al. Direct detection of amino acids using extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(4):523-528(in Chinese).
- [12] 张 燕, 潘素素, 朱志强, 等. 电喷雾萃取电离质谱直接检测人体呼出气体中的乙腈[J]. 分析化学, 2013, 41(8):1 220-1 225.
- ZHANG Yan, PAN Susu, ZHU Zhiqiang, et al. Direct detection of acetonitrile in human breath by extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2013, 41(8):1 220-1 225(in Chinese).
- [13] CHEN H W, WORTMANN A, ZENOBI R. Neutral desorption sampling coupled to extractive electrospray ionization mass spectrometry for rapid differentiation of biosamples by metabolomic fingerprinting[J]. Journal of Mass Spectrometry, 2007, 42(9):1 123-1 135.
- [14] 贾 滨, 张兴磊, 丁健桦, 等. 电喷雾萃取电离质谱技术及其应用进展[J], 科学通报, 2012, 57: 1 918-1 927.
- JIA Bin, ZHANG Xinglei, DING Jianhua, et al. Principle and applications of extractive electrospray ionization mass spectrometry[J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57: 1 918-1 927(in Chinese).
- [15] CHEN H W, HU B, ZHANG X. Principle and application of ambient mass spectrometry for direct analysis of complex samples [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2010, 38(8): 1 069-1 088.

第 33 届中国质谱学会学术年会通知(第一轮)

为加强国内学者与亚洲和大西洋地区质谱工作者的学术交流与合作,推动我国质谱及相关科研领域的发展,由中国质谱学会主办,北京大学化学与分子工程学院承办的“第 33 届中国质谱学会学术年会”暨“5th Asia Oceania Mass Spectrometry Conference (第五届亚洲与大西洋质谱会议)”将于 2014 年 7 月 16~19 日在北京大学召开。

本次会议将以大会报告、主题报告和墙报形式开展多领域质谱同行间的学术交流。会议将邀请亚洲和大西洋地区以及国际质谱专家参会并作报告。会议为鼓励青年质谱工作者和研究生参会交流,特设立青年报告专场,并评选优秀青年论文奖(第一作者年龄不大于 35 岁)和优秀墙报奖,并颁发奖金和证书。

会议论文征文范围:质谱相关领域尚未发表的研究成果和综述报告,具体为(包括但不限于):1)质谱基础研究;2)有机质谱技术及应用;3)生物质谱技术及应用;4)质谱技术及其仪器研发;5)无机质谱技术及应用;6)同位素质谱技术及应用;7)质谱在其他方面的应用。

通知下载:<http://www.antpedia.com/attachments/d15/pdf/5thAOMSCtongzhi.pdf>

报名回执下载:<http://www.antpedia.com/attachments/d15/word/5thAOMSchuizhi.docx>

中国物理学会质谱分会
北京大学化学与分子工程学院
2013 年 11 月 21 日