

高分辨质谱技术研究 DART 离子化条件下的背景离子及潜在应用

沙云菲¹, 谢雯燕¹, 王昊阳^{2*}

(1. 上海烟草集团有限责任公司 技术中心, 上海 200082; 2. 中国科学院上海有机化学研究所, 上海 200032)

摘要: 运用高分辨质谱技术对实时直接分析(DART)离子化条件下的多种背景离子进行研究和表征, 追溯了这些信号可能的来源。研究表明: 背景离子主要在阳离子条件下产生, 且主要来自实验室环境中微量的增塑剂和聚二甲基硅氧烷, 其中聚二甲基硅氧烷可能来自泵油挥发。了解和掌握这些背景离子有助于利用 DART 技术开展研究和测试方面的工作: ①这些背景信号较弱, 在 DART 的样品分析时不会产生显著干扰。可在不额外加入内标化合物的情况下, 考察高分辨质谱质量轴的稳定性和准确度。②了解这些背景离子有助于 DART 质谱分析复杂体系时避免误判。

关键词: 实时直接分析(DART); 高分辨质谱; 背景离子

中图分类号: O657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2018)10-1264-05

Study on Background Ions under DART Ionization Conditions by High Resolution Mass Spectrometry and Their Potential Applications

SHA Yun-fei¹, XIE Wen-yan¹, WANG Hao-yang^{2*}

(1. Technical Center, Shanghai Tobacco Group Co., Ltd., Shanghai 200082, China; 2. Shanghai Institute of Organic Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China)

Abstract: High resolution mass spectrometry (HRMS) was used to study and characterize the background ions under direct analysis in real time (DART) ionization conditions, and the possible sources of these signals were traced and assigned. The research showed that the background ions are mainly generated under the positive ion mode, which may derive mainly from plasticizers and polydimethylsiloxane in the lab environment. The polydimethylsiloxane may come from the pump oil vapor. Understanding and mastering of these background ions will be favorable in the research and testing by DART-MS technique. Firstly, these background signals are stable and do not produce significant interference in sample analysis of DART. Therefore, the stability and accuracy for HRMS spectrometer could be investigated with no need of any internal standard compounds added deliberately. Secondly, understanding of these background ions will also help to avoid erroneous judgment in DART mass spectrometry analysis on complex systems.

Key words: direct analysis in real time; high resolution mass spectrometry (MS); background ions

质谱仪是准确称量离子质荷比的重要科学仪器^[1], 主要用以有效解决目标物的解吸与离子化问题。离子源作为质谱的入口, 对质谱的各项性能及其分析结果具有重大影响^[2]。离子化过程的机理影响质谱分析结果, 离子化效率影响质谱检测的灵敏度, 离子源的通量影响质谱分析速度。自然界以及人类生活中接触的种类庞大的化合物(有机物、无机物、生物大分子以及聚合物材料等), 在分子量、极性、溶解性等理化性质上有着巨大的差异, 从中性样本转变成带电粒子需经历复杂的理化过程。样品的解吸和离子化与其理化性质密切相关, 离子源的开发和改进历来是质谱学中重要和活跃的研究领域^[3]。

实时直接分析(Direct analysis in real time, DART)离子化技术自2005年被报道后^[4]逐渐受到研究

收稿日期: 2018-07-09; 修回日期: 2018-08-12

基金项目: 国家自然科学基金(21772227); 上海市科委研究项目(17DZ1205402); 中国烟草总公司科技重大专项(中烟办[2016]259号)

* 通讯作者: 王昊阳, 博士, 副研究员, 研究方向: 质谱分析, E-mail: haoyangwang@sioc.ac.cn

者的关注^[5], 广泛应用于不同类型样品的原位质谱分析^[6]。目前 DART 已发展成为一种相对成熟的具有一定代表性的两步电离方式的常压离子化技术^[7]。DART-MS 分析通量高、响应迅速, 在很多情况下可将样品以其天然状态直接离子化分析和检测。因此 DART-MS 技术能简化样品制备步骤, 缩短样品分析时间, 甚至无需任何前处理即可实现质谱分析^[8]。DART 离子源的适用范围广、离子化效率高, 能够在短时间内获得质谱信息。DART-MS 目前已被成功应用于食品、化学品、药品的质量控制等领域^[9-15]。在 DART-MS 实验中, 不仅可以清晰地检测到目标化合物的信号离子, 同时还会发现一些稳定出现的背景离子。关于 DART 离子化的机理和离子化效率的影响因素也受到广泛研究和探索, 研究发现该离子化技术会受到分析环境的影响, 这与基于等离子体技术的常压离子化技术相似。因此, 探索 DART-MS 分析中稳定出现这些背景离子的原因对加深认识并更好地运用 DART 离子化技术具有实际意义。

傅立叶变换离子回旋共振质谱仪(Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry, FTMS)具有超高分辨率和灵敏度, 能对目标化合物进行超高精度的质谱分析^[16]。本课题组曾将基质辅助激光解吸(MALDI)离子源与 FTMS 联用进行复杂样品分析, 该联用技术是一个高分辨定性分析的强大工具, 能极大简化样品处理步骤, 在低分子量化合物的分析检测中具有重要作用^[17]。本文将 DART 离子源与 FTMS 联用, 研究了 DART 离子源在阳离子条件下稳定出现的多种背景离子, 通过得到的高精度质量信息, 进一步推测了信号对应的元素组成和可能的归属。FTMS 可区分质荷比非常接近的信号, 能排除复杂基质中的背景干扰, 实现准确的定性与定量质谱分析。

与传统的 EI 离子化不同, DART 离子化发生在敞开条件下, 不可避免会受到环境因素的影响。在开展 DART-MS 的研究和测试工作中发现, 在阳离子条件下, 会形成多种稳定的背景离子。因此有必要阐明这些背景离子的化学本质, 并进一步探究这些背景离子为测试工作提供帮助的可能性。本文基于超高分辨率的傅立叶变换离子回旋共振质谱分析技术对 DART 阳离子模式条件下产生的几类较为稳定的背景离子信号进行了研究和归属, 并采用一个实际样品测定的实例, 说明了解背景离子的干扰对实现准确质谱分析的意义。本研究发现, 在 m/z 100~1 000 范围内稳定出现的一系列背景离子信号可为快速判断高分辨质谱仪的质量稳定性和准确性提供依据, 有助于在无需另加标准品或校正液的情况下判断高分辨质谱的质量准确度, 为广大使用 DART-MS 技术开展研究的化学家提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器与实验参数

DART[®] SVP 离子源(IonSense, Saugus, MA, USA)与线性离子阱-傅立叶变换回旋共振质谱(LTQ-FTICR-MS, ThermoFisher Scientific, Bremen, Germany)联用, 以获得数据和谱图的采集。

FTICR-MS 仪器参数: 脱溶剂毛细管电压 200 V; 离子套管透镜电压 100 V; 毛细管温度 275 °C。离子光学设定: Multipole 00 补偿电压为 -4 V; Multipole 0 补偿电压为 -4.5 V; Multipole 1 补偿电压为 -15.5 V; Lens 0 电压为 -4.5 V; Lens 1 电压为 -40.0 V; Gate lens 电压为 -48.0 V; Front lens 电压为 -5.5 V。离子质量扫描范围为 m/z 100~1 000。数据由 Xcalibur 软件采集并分析。

DART 离子源参数: 正离子模式; 氮气和氦气输出气压为 0.5 MPa; DART 气体温度 350 °C。电离气体为高纯氦。

连接 DART 离子源和 FTICR-MS 质谱 API 接口之间区域的真空用隔膜泵(Vacuum pump, WELCH, Ilmvac)保持。DART 离子源的位置, 离子源出口与通入质谱接口的陶瓷管在同一条直线上。DART 离子源出口与陶瓷管的距离约 15 mm。

1.2 试剂与样品制备

取 0.05 g 烟末(上海烟草集团技术中心提供), 加入 2 mL 乙醇(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)超声提取 5 min, 用 pipette 点样枪取 2 μ L 待测溶液点在 Glass(Dip-It) tip 样品棒下端, 溶剂挥干后测定。实验用乙醇未进一步处理。

2 结果与讨论

2.1 DART 离子化条件下背景离子的研究与归属

DART 技术是一种基于亚稳态氦实现解吸和离子化的软电离质谱分析技术,其响应快,适用范围广。DART 在阳离子模式条件下,通常生成与 H^+ 或 NH_4^+ 的加合离子,以及电荷转移形成的自由基阳离子信号,一般不会生成 Na^+ 、 K^+ 等加合离子,从而降低了分析和归属未知信号的难度。氮气和氦气均可作为 DART 离子源的试剂气体,氦气所得的分析结果干扰信号更少,但也会有一些背景离子稳定出现在 DART-MS 分析的质谱图上。调整 DART 离子源的氦气流速和离子源温度,并不会引起这些背景离子发生显著变化,图 1 为 DART-FTMS 采集的典型背景离子的质谱图(m/z 100~1 000)。

图 1 中可将背景离子大致分成两类,一类是易识别的邻苯二甲酸酯类塑化剂的信号,如: m/z 149、 m/z 279 和 m/z 391 等。邻苯二甲酸丁酯(DBP)或异构体的信号($[M+H]^+$ m/z 279)以及邻苯二甲酸二辛酯(DOP)或异构体的信号($[M+H]^+$ m/z 391)比较容易识别, m/z 149 是所有邻苯二甲酸或其脂类产生的共同碎片离子。在分子量区域的信号 m/z 574 可能是邻苯二甲酸丁酯产生的 $[2DBPM+NH_4]^+$ 。结合文献^[15],对这些信号进行了识别和归属,FTMS 准确质量的测定也支持了这一结果。信号 m/z 304 与 m/z 388 可能分别为癸二

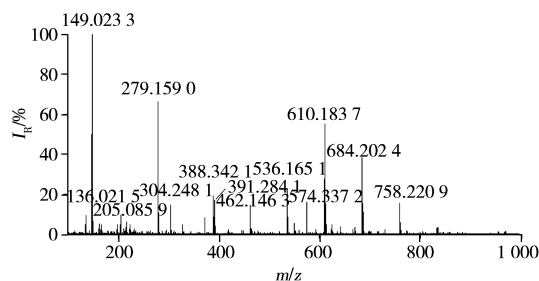


图 1 DART-FTMS 在阳离子模式采集的典型背景离子的高分辨质谱图

Fig. 1 A typical high resolution mass spectrum of background ions collected by DART-FTMS in positive ion mode

酸二异丙酯(DIPS)与己二酸二辛酯(DOA)形成的 $[M+NH_4]^+$ 信号。另一类是质荷比间隔 74 u 的一系列信号: m/z 462、 m/z 536、 m/z 610、 m/z 684 和 m/z 758 等。根据经验,柱流失中聚二甲基硅氧烷质谱信号连续单元分子量差值为 74 u ($C_2H_6SiO_2$)。因此推测该类化合物可能为聚二甲基硅氧烷,但与 EI 离子化条件有所不同,聚二甲基硅氧烷在 DART 电离条件下主要形成 $[M+H]^+$ 和 $[M+NH_4]^+$ 离子。

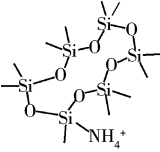
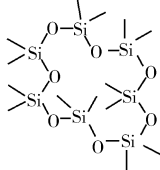
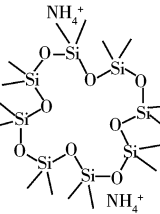
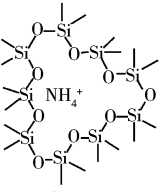
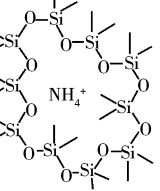
高分辨质谱技术对 DART 在阳离子条件下大部分背景离子的表征结果显示,其主要来源为增塑剂和聚二甲基硅氧烷,聚二甲基硅氧烷可能来源于泵油挥发。表 1 列出了质谱分析结果和仪器计算的质量误差(ppm),其他类型的基于等离子体的常压解吸与离子化质谱技术也可能出现这些背景离子^[18-20]。这些背景信号稳定,在 DART 的样品分析时丰度迅速降低,一般不会产生显著干扰。此外这些系列离子覆盖范围较宽,由于在 m/z 100~1 000 范围内提供了可参考的校正离子,因此在不添加内标化合物的情况下,也能考察高分辨质谱质量轴的稳定性和准确度。

表 1 DART-MS 阳离子模式下背景离子的高分辨质谱分析结果

Table 1 High resolution mass spectrometric analysis results of background ions in DART-MS cation mode

Source of background ion	Possible ion structure	Ion element composition	Theoretical m/z	Detected m/z	Relative error (ppm)
Plasticizers in the environment(环境中的塑化剂)		$C_8H_5O_3^+$	149.02332	149.02327	-0.34
		$C_{16}H_{23}O_4^+$	279.15909	279.15899	-0.34
		$C_{24}H_{39}O_4^+$	391.28429	391.28413	-0.40
		$C_{22}H_{46}O_4^+$	388.34214	388.34208	-0.14
		$C_{16}H_{34}O_4N^+$	304.24824	304.24813	-0.35
		$C_{22}H_{46}O_4N^+$	388.34214	388.34208	-0.14

(续表 1)

Source of background ion	Possible ion structure	Ion element composition	Theoretical m/z	Detected m/z	Relative error (ppm)
	$[2\text{DBP} + \text{NH}_4]^+$	$\text{C}_{32}\text{H}_{48}\text{O}_8\text{N}^+$	574.337 44	574.337 23	-0.36
Polydimethylsiloxanes (聚二甲基硅氧烷)		$\text{C}_{12}\text{H}_{40}\text{NO}_6\text{Si}_6^+$	462.146 57	462.146 31	-0.57
		$\text{C}_{14}\text{H}_{46}\text{NO}_7\text{Si}_7^+$	536.165 36	536.165 09	-0.51
		$\text{C}_{16}\text{H}_{52}\text{NO}_8\text{Si}_8^+$	610.184 16	610.183 71	-0.73
		$\text{C}_{18}\text{H}_{58}\text{NO}_9\text{Si}_9^+$	684.202 95	684.202 38	-0.83
		$\text{C}_{20}\text{H}_{64}\text{NO}_{10}\text{Si}_{10}^+$	758.221 74	758.220 89	-1.12

2.2 DART 离子化背景离子干扰的识别

环境空气中所含的微量增塑剂和聚二甲基硅氧烷, 在 DART 阳离子分析模式下会产生一系列特征的背景离子, 因此不引入内标物也可以作为高分辨质谱质量准确性考察的依据。在分析过程中, 随着样品的竞争性解吸和电离, 背景离子往往不再干扰测定。因此在运用多个背景离子确认 FTMS 的质量准确度后, 可以进行实际样品的测定。以烟草的乙醇提取液为分析对象, 所得质谱结果见图 2。提取物中所含生物碱的质子亲和能较大, DART 电离过程中尼古丁与降烟碱主要以 $[\text{M} + \text{H}]^+$ 的形式实现离子化(图 2A)。从放大的质谱图(图 2B)可见, 烟草中所含的降烟碱分子量也为 m/z 149, 推测邻苯二甲酸酯类增塑剂产生的背景离子 m/z 149 可能对测定产生干扰, 采用高分辨质谱分析方式可以尽量避免背景离子对样品分析的干扰。

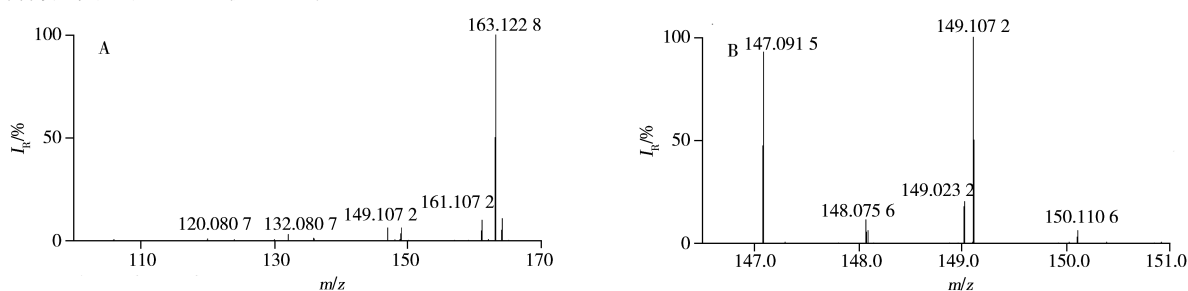


图 2 DART-FTMS 分析烟草提取物的高分辨质谱图(A)与局部放大图(B)

Fig. 2 High resolution DART-FTMS mass spectrum(A) and the expanded mass spectrum(B) of tobacco extract

实验发现当 FTMS 分辨率在 300 000 条件下, 增塑剂 (图 3) 背景信号 m/z 149.023 2 和降烟碱 $[M+H]^+$ (图 3) 信号 m/z 149.107 2 可以完全分离 (图 2B)。运用高分辨和高灵敏的 FTICR-MS 作为 DART 离子化的检测手段, 可以分辨背景和待测物的信号, 该方法可进一步运用于各类烟草样品及其制品的快速分析检测。DART 电离过程中会持续产生环境中增塑剂的特征性离子 m/z 149, 与降烟碱的 $[M+H]^+$ m/z 149 相同。但两者元素组成不同, 高分辨质谱分析能较好解决这一问题。运用 MS/MS 方法减少质荷比相同的干扰离子对测定的影响亦有文献报道^[21], 本研究结果表明采用高分辨率质谱技术可以达到相同目的。

3 结 论

本文运用傅立叶变换离子回旋共振高分辨质谱技术对 DART 在阳离子条件下的一系列背景离子进行了研究和归属, 并且推测这些背景离子可能来源于环境中微量的增塑剂和聚二甲基硅氧烷。运用 DART-FTMS 开展研究和测试时, 不仅可以快速得到超高分辨质谱分析结果, DART 在阳离子模式条件下 m/z 100~1 000 范围内所特有的一系列背景离子也能为考察 FTMS 质量稳定性和准确度提供参考。掌握这些背景离子信息, 将有助于在 DART-FTMS 质谱分析复杂体系时避免误判。

参考文献:

- [1] Maher S, Jjunju F P M, Taylor S. *Rev. Mod. Phys.*, **2015**, 87(3): 201-217.
- [2] Zhang X R. *Mod. Sci. Instrum.* (张新荣. 现代科学仪器), **2013**, (4): 5-10.
- [3] Vestal M L. *Chem. Rev.*, **2001**, 101(2): 361-375.
- [4] Cody R B, Laramée J A, Durst H D. *Anal. Chem.*, **2005**, 77(8): 2297-2302.
- [5] Feng B S, Bai Y, Liu H W. *Sci. Sin. Chim.* (冯鲍盛, 白玉, 刘虎威. 中国科学: 化学), **2014**, 44(5): 784-788.
- [6] Venter A, Nefliu M, Cooks R G. *TrAC - Trends Anal. Chem.*, **2008**, 27(4): 284-290.
- [7] Huang M Z, Cheng S C, Cho Y T, Shiea J. *Anal. Chim. Acta*, **2011**, 702(1): 1-15.
- [8] Cody R B. *Anal. Chem.*, **2009**, 81(3): 1101-1107.
- [9] Qi W S, Zhang L, Guo Y L. *Chin. J. Org. Chem.* (祁婉舒, 张立, 郭寅龙. 有机化学), **2013**, 33(2): 359-364.
- [10] Huang X, Liu W L, Zhang Y, Liu S Y. *J. Chin. Mass Spectrom. Soc.* (黄鑫, 刘文龙, 张勇, 刘淑莹. 质谱学报), **2017**, 38(1): 1-10.
- [11] Luo Z G, He J J, He J M, Abliz Z. *J. Instrum. Anal.* (罗志刚, 何菁菁, 贺玖明, 再帕尔·阿不力孜. 分析测试学报), **2017**, 36(2): 178-183.
- [12] Liu X P, Wang H Y, Guo Y L. *J. Instrum. Anal.* (刘小潘, 王昊阳, 郭寅龙. 分析测试学报), **2017**, 36(2): 37-41.
- [13] Zhao Z D. *Guangdong Gongan Keji* (赵志东. 广东公安科技), **2014**, 22(1): 42-46.
- [14] Zhang Y, Zhang W F, Zhang W, Yuan Z P, Duan X K, Hu J H, Liu C S. *Chin. J. Anal. Lab.* (张瑛, 张文芳, 张炜, 袁增平, 段晓琨, 胡捷慧, 刘春胜. 分析实验室), **2017**, 36(4): 493-496.
- [15] Wu M, Wang H Y, Dong G Q, Musselman B D, Liu C C, Guo Y L. *Chin. J. Chem.*, **2015**, 33(2): 213-219.
- [16] Wang H Y, Guo Y L, Lu L. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2004**, 15(12): 1820-1832.
- [17] Wang H Y, Chu X, Zhao Z X, He X S, Guo Y L. *J. Chromatogr. B*, **2011**, 879(17/18): 1166-1179.
- [18] Liu X P, Wang H Y, Dong G Q, Li Z Q, Guo Y L. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, **2018**, 29(6): 1319-1322.
- [19] Wang H Y, Liu X P, Guo Y L. *Sci. Sin. Chim.* (王昊阳, 刘小潘, 郭寅龙. 中国科学: 化学), **2017**, 47(12): 1424-1431.
- [20] Chen J, Tang F, Guo C A, Zhang S C, Zhang X R. *Anal. Methods*, **2017**, 9(34): 4908-4923.
- [21] Wu Y Q, Liu X M, Qin Y H, Zhang C M, Xu Y, Yang Y L, Li C. *Tobacco Sci. Technol.* (吴亿勤, 刘秀明, 秦云华, 张承明, 许永, 杨亚玲, 李超. 烟草科技), **2017**, 50(8): 46-51.

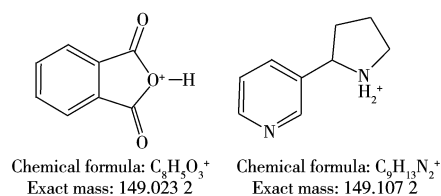


图 3 增塑剂产生的背景信号离子 m/z 149 和降烟碱 $[M+H]^+$ 信号的理论元素组成及精确质量
Fig. 3 Theoretical elemental compositions and accurate masses of the plasticizer background signal ion at m/z 149 and $[M+H]^+$ signal of normicotine