

毛细管电泳 - 质谱联用中的若干关键技术问题及解决方案

张政祥* 薄涛 米健秋 陈伟 张之旭
(安捷伦科技(中国)有限公司 北京 100102)

摘要 自二十世纪八十年代以来,毛细管电泳-质谱联用技术(CE-MS)取得了长足发展。本文立足前人的研究成果,对CE-MS发展与应用过程中遇到的技术问题(如接口技术,背景电解质兼容性,迁移时间重现性等问题)及相应的解决方案进行了分析总结。与气相色谱-质谱联用(GC-MS)和液相色谱-质谱联用(LC-MS)相比,CE-MS有其独特的技术特点和优势,已经成为一种重要的分离检测模式,解决了许多分析科学难题,日益发挥更重要的作用。

关键词 毛细管电泳;质谱;接口技术;组学

中图分类号 TH843

CE-MS Key Technical Issues and Corresponding Solutions

Zhang Zhengxiang*, Bo Tao, Mi Jianqiu, Chen Wei, Zhang Zhixu
(Agilent Technologies (China) Co., Ltd. Beijing, 100102)

Abstract Capillary electrophoresis-mass spectrometry (CE-MS) hyphenation has become more and more popular and important in analytical science since its invention in 1987. In this article, several key technical issues including CE-MS interface, background electrolyte compatibility, and migration time reproducibility, which originated from the development and application of CE-MS, and the corresponding solutions, are reviewed.

Key words Capillary Electrophoresis; Mass Spectrometry; Interface Technique; Omics

1 CE-MS 联用技术的特点

与LC-MS联用相比,CE-MS是更理想的联用技术。CE技术是一类以毛细管为分离通道、以高压直流电场为驱动力,根据样品中各组分之间迁移速度和分配行为上的差异而实现分离的一类液相分离技术,擅长分离极性或离子型化合物。而MS分析的对象也是离子,极性或离子型化合物易于离子化,适合MS检测。但在反相色谱与MS联用分析中,前者要求被分析对象以非解离状态或部分解离状态存在于流动相中,以便在色谱柱上得到保留;而电喷雾离子化(ESI)技术则要求待测物质以离子状态存在于溶液中,以便于气相离子的形成。因此,“好”的色谱条件可能是“坏”的质谱条件。此外,相对于LC而言,CE绿色环保,分析成本低,所需样品量和消耗溶剂量小,样品前处理简单。

2 CE-MS 联用技术中的关键问题及解决方案

2.1 CE-MS 接口技术

CE与MS在线联用,具有许多优势,易于实现自动化,避免了收集样品等繁琐过程,可直接给出

MS分析结果,提供化合物的分子结构信息。1987年,Smith小组首次报道了CE-ESI/MS在线联用的研究工作^[1]。近二十多年来,CE-MS的发展主要经历了两个阶段:第一阶段主要集中在实现不同的CE分离模式与MS的联用研究,分析对象比较分散;第二阶段则是注重发展基于微流控技术的各种整体或集成分析系统的联用研究,应用领域集中在蛋白组学等重大项目^[2]。CE与MS联用的关键在于发展二者的接口技术,而接口技术又因质谱离子化方式的不同而改变。基质辅助激光解析(MALDI)、电感耦合等离子体(ICP)、ESI三种离子化方式用于CE-MS联用均有报道。其中,ESI是CE-MS在线联用最常用的离子源,设计联用接口的出发点均是实现电泳出口和电喷雾共用一个电极。

已发展的接口技术主要包括有鞘流液和无鞘流液两类ESI接口。基于鞘流液实现电接触的接口中,鞘流液有如下作用:电极与毛细管内缓冲液的电接触“桥梁”、提供稳定喷雾所需的流速、改性缓冲液提高雾化效率。管套管结构的同轴鞘流液(图1-A)是现有商品化仪器常用的模式^[3]。为了获得稳定的喷雾,通常在鞘流液外围增加一层鞘流气,即同轴三

收稿日期:2011-09-15

作者简介:张政祥(1981-),男,安捷伦液质产品应用工程师

管设计。这种模式的好处在于死体积小,但鞘流液的稀释效应往往降低了检测灵敏度。为减弱鞘流液的稀释作用,“液体汇合接口”(图 1-B)和加压“液体汇合接口”(图 1-C)技术相继出现^[4,5]。图 1-D 是一种基于同轴鞘流液理念的纳流电喷雾接口,主要由两根熔融石英毛细管和一根不锈钢套管构成。内层毛细管是分离通道,外表面具有金涂层,鞘流液流经内、外毛细管之间的间隙区域,流速低于 500 nL/min,在增加离子化效率的同时,大大削弱了鞘流液对样品的稀释作用^[6]。尽管各种接口的设计形式不同,但核心都在于如何实现导电和得到细而均匀的雾滴。

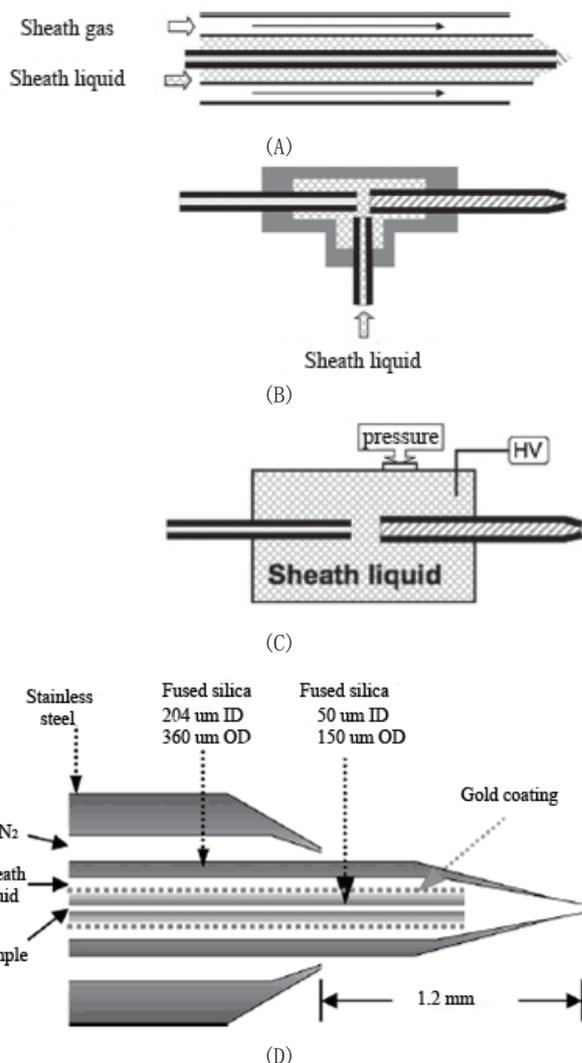


图 1 基于鞘流液的 CE-MS 接口模式

无鞘流液接口技术消除了稀释样品不利因素,这种接口又可分为液体和非液体导通两类技术^[7]。液体导通技术主要利用分离通道(毛细管)出

口附近的缓冲液通过各种开口形式(分流导通(图 2-D)、多孔腐蚀(图 2-E)、金属套管(图 2-F)、微透析接触(图 2-G)与外部电极导通。非液体导通技术主要通过喷口及附近的导电涂层(金、银、铜、镍、石墨、导电高分子)来施加电压(图 2-A),变通的方法还包括接一段金属毛细管喷嘴(图 2-H)或在分离通道出口内直接安置电极(图 2-B、2-C)。

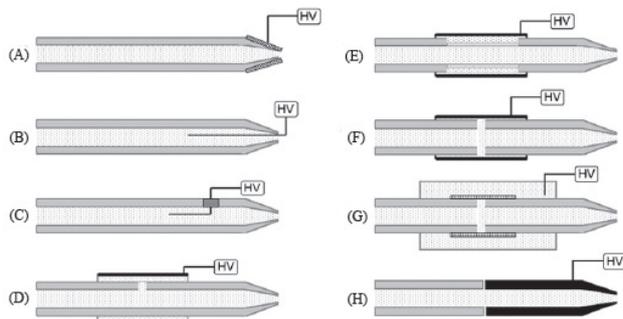


图 2 无鞘流液的 CE-MS 接口模式

2.2 CE-MS 联用中的背景电解质兼容性问题

CE-ESI/MS 在线联用一般需要挥发性盐作为分离缓冲液的背景电解质,至少进入离子源的是挥发性缓冲盐。因此,大大限制了 CE 分离过程最优条件的实现。目前有三种方案可解决这个矛盾。方案一是采用挥发性电解质配制缓冲液,如甲酸铵、甲酸、乙酸铵、乙酸等。方案二是利用微透析原理,在缓冲液进入离子源之前采用挥发性电解质交换出分离通道内的非挥发性盐,达到脱盐的目的^[8]。一般需要采用氢氟酸腐蚀毛细管产生多孔结构用于离子而非溶液的交换。方案三主要是解决不挥发性缓冲液添加剂的使用问题,基本思想是合理控制缓冲液添加剂与电渗流二者之间滴度的相对大小和相对方向,设法使添加剂在分析物之后进入离子源,待分析物全部进入检测器后停止施加分离电压,这样就防止添加剂干扰检测,这种策略就是部分填充技术^[9]。

2.3 CE-MS 用于组学研究的迁移时间重现性问题

基于差异分析的组学研究需要比较同一化合物在不同组别样品中的含量差异,为保证进行比较的对象是相同化合物,事先需要依据迁移时间和分子量或质谱图信息对化合物进行排列对齐(alignment)处理。但由于 CE 的迁移时间重现性往往不如 LC 的保留时间重现性好,且时间漂移不呈线性规律变化,曾经一度制约了 CE-MS 技术在组学研究

中的应用。近年来的一些研究结果表明,利用软件编写程序可以对 CE-MS 的迁移时间进行校正,达到改善重现性的目的。XCMS^[10] 和 msalign2^[11] 是目前两大常用的开放式程序包用于 CE-MS 迁移时间的校正。校正后的结果一般均可满足组学研究的要求。

3 安捷伦公司的 CE-MS 产品简介

安捷伦公司生产的 7100 系列毛细管电泳仪可与其 6000 系列的所有质谱家族成员(单四极杆质谱、三重串联四极杆质谱、离子阱质谱、飞行时间质谱、四极杆-飞行时间质谱)及 ICP-MS 实现全自动在线联用。联用接口采用的是管套管结构的同轴鞘液接口。通过与不同质量分析器质谱地灵活联用,安捷伦 CE-MS 技术已广泛用于环保、食品安全、法医、制药、临床、组学研究等多个领域的目标物定量分析与未知物定性研究。

4 结论

CE-MS 技术经历了二十多年的发展与完善,已

成为 GC-MS 和 LC-MS 两大技术的有力补充,其在分析极性化合物、离子型化合物和生物大分子方面的优势得天独厚。CE 技术在人类基因组测序中发挥了巨大作用,CE-MS 技术在系统生物学时代的蛋白组和代谢组研究中必将继续做出重要贡献。

参考文献

- [1] Olivares JA, Nguyen NT, Yonker CR, Smith RD. Anal. Chem. 1987, 59, 1230
- [2] 陈义, 毛细管电泳技术及应用. 北京: 化学工业出版社, 2004
- [3] Liu CC, Alary JF, Vollmerhaus P, Kadkhodayan M. Electrophoresis 2005, 26, 1366
- [4] Jussila M, Sinervo K, Porras SP, Riekkola ML. Electrophoresis 2000, 21, 3311
- [5] Fanali S, D'Orazio G, Foret F, Kleparnik K, Aturki Z. Electrophoresis 2006, 27, 4666
- [6] Liu CC, Zhang JZ, Dovichi NJ. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2005, 19, 187
- [7] Maxwell EJ, Chen DDY. Anal. Chim. Acta 2008, 627, 25
- [8] Severs JC, Smith RD. Anal. Chem. 1997, 69, 2154
- [9] Nelson WM, Lee CS. Anal. Chem. 1996, 68, 3265
- [10] Smith CA, Want EJ, O'Maille G, Abagyan R, Siuzdak G. Anal. Chem. 2006, 78, 779
- [11] Nevedomskaya E, Derks R, Deelder AM, Mayboroda OA, Palmblad M. Anal Bioanal Chem 2009, 395, 2527

美开发出探测核辐射新材料 能在室温下工作

从切尔诺贝利核泄漏事故到 9·11 恐怖袭击,从日本福岛核危机至今日的法国核泄漏,核等危险物质难免让人谈虎色变。据美国物理学家组织网 9 月 12 日报道,美国西北大学的科学家最近研发出一种能探测到核辐射的新材料,能用来制造检测核武器和核物质的手持式探测设备。

核材料发射出的伽马射线能被汞、铊、硒和铯等致密材料和重金属材料很好地吸收,可通过伽马射线穿过这些材料引起的电子变化来检测核辐射。不过,这类研究面临的最大难题是,重金属材料内本身就有很多可移动电子,当伽马射线穿过材料时引发的电子变化不能被检测到。

“这就像有一桶水,往里面加一滴水,这个变化是可以忽略的。”领导该研究的温伯格艺术与科学学院化学教授梅科瑞·卡纳茨迪斯解释道,“我们需要一种没有大量自由移动电子的重元素材料。但在自然状态下,这并不会存在,因此,我们需要研发一种新的材料。”

卡纳茨迪斯和他的团队制造出了一种新的晶体结构的重元素半导体材料,这种新材料由铯-汞-硫化物和铯-汞-硒化物组成,能在室温下正常工作,其内大多数电子绑定在一起而不再自由移动。当伽马射线进入新材料时,会将电子激活,使电子开始自由移动,据此检测出伽马射线。而且,由于每种元素都有自己特有的图谱,这些信号还能够用来确定所泄漏的核物质。

卡纳茨迪斯表示,新材料非常具有前途和竞争力,而且还可能用于生物医学,比如诊断显像领域。