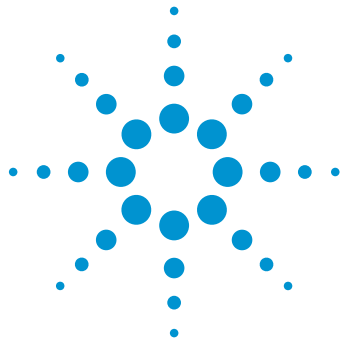




Agilent 1260 Infinity 分析型 SFC 与 Agilent 6230 TOF LC/MS 联用系统的 喷射流 ESI 源参数优化

技术概述

作者

Giorgia Greco、Andrea Boltner 和
Thomas Letzel
德国慕尼黑工业大学加兴校区

摘要

超临界流体色谱 (SFC) 与质谱检测联用系统 (SFC/MS) 适用于广泛的应用需求。本技术概述介绍了 Agilent 1260 Infinity 分析型 SFC 系统与 Agilent 6230 飞行时间 LC/MS (6230 TOF) 的联用。采用安捷伦喷射流 ESI 离子源。它能够兼容 SFC 系统，并使用超热鞘气（氮气）使雾化器喷雾集中，从而获得更高的质谱灵敏度。优化了主要的离子源参数，例如干燥气和鞘气的温度与流速以及雾化器压力和毛细管电压，显示了各种参数之间的关系。在分析的所有参数中，干燥气温度和干燥气流速对质谱灵敏度的影响最大，其能够显著提高灵敏度 (3x)。



Agilent Technologies

前言

近年来，配用填充柱的 SFC 在分析极性与非极性化合物方面的应用重新引起人们关注，其主要用于（但不限于）制药应用。¹ SFC 的选择性与反相液相色谱 (RPLC) 互补，并且类似于正相液相色谱 (NPLC) 或亲水相互作用液相色谱 (HILIC)。由于 HILIC 可能需要使用大量的乙腈，而 SFC 的流动相主要由 CO₂ 组成，因此 SFC 被认为是一种绿色的色谱技术。由于这个原因，SFC 也被称为绿色 HILIC。与 NPLC 相比，SFC 具有较高的分析速度和快速的平衡时间。基于这些特性，SFC 非常适合分析大量样品。

将 SFC 与大气压电离质谱检测相结合能够拓宽 SFC 的应用范围。特别是，与 Agilent 6230 TOF 联用能够获得更准确的质量数据，这对于化合物筛选和鉴定至关重要。在优化 SFC/MS 方法的过程中，应当特别关注离子源参数的选择，尤其应当注意以高流速进入离子源的 CO₂ 膨胀可能引起温度降低而妨碍电离过程²。

安捷伦喷射流离子源设计是基于使用超热鞘气（氮气）使雾化器喷雾集中。与传统 ESI 离子源相比，这种离子源能够提供更高的灵敏度和脱溶剂率³。喷射流离子源可有效应用于 SFC/MS 联用系统，以控制 CO₂ 膨胀引起的冷却过程。

本技术概述描述了优化喷射流离子源参数以提高 SFC/MS 的灵敏度。选用常见的抗炎药双氯芬酸作为测试分子。

实验部分

化学品

二氧化碳 (CO₂) 和氮气 (N₂) 购自 Linde AG。甲醇由 VWR 提供。双氯芬酸钠盐和乙酸铵购自 Sigma-Aldrich。

溶液

双氯芬酸储备溶液以甲醇配制，浓度为 1 mg/mL，在分析之前用甲醇将其稀释 10 倍。

仪器

本实验将 Agilent 1260 Infinity 分析型 SFC 系统与配备安捷伦喷射流离子源的 Agilent 6230 TOF 质谱仪进行联用。由 Agilent 1260 Infinity 等度泵输送的补充流加入到 SFC 与质谱离子源之间，如图 1 所示。

软件

- Agilent OpenLAB CDS（化学工作站版）；A.01.05 版
- Agilent MassHunter 工作站；B 05.00 版

在开展分析时，MassHunter 软件无法控制 SFC 系统。因此，使用的是 OpenLAB CDS 化学工作站。那之后发布了能同时控制 SFC 与 TOF 的 MassHunter 软件。

描述	型号
Agilent 1260 Infinity 分析型 SFC 系统包括：	G4309A
Agilent 1260 Infinity HiP 脱气机	
Agilent 1260 Infinity SFC 二元泵	
Agilent 1260 Infinity SFC 自动进样器	
Agilent 1260 Infinity TCC（柱温箱）	
Agilent 1260 Infinity DAD VL+	
Agilent 1260 Infinity SFC 控制模块	
Agilent 1260 Infinity 等度泵	G1310B
采用喷射流技术的 Agilent 6230 TOF-MS	G6230A

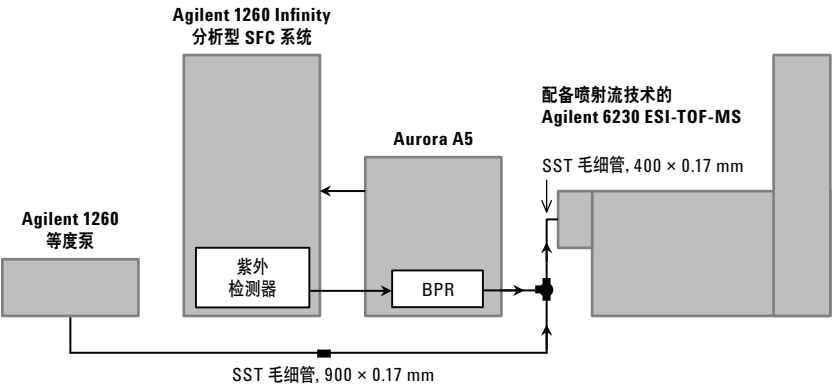


图 1. 与 Agilent 6230 TOF 和 Agilent 1260 Infinity 等度泵联用的 Agilent 1260 Infinity 分析型 SFC 系统的配置

结果与讨论

在 LC/MS 方法开发中，应当仔细优化离子源条件以获得最佳的灵敏度。在 ESI 技术中需要调整的常见参数包括干燥气温度、流速、雾化器压力和毛细管电压。

使用喷射流离子源时，还需要优化鞘气温度和流速。

方法开发可通过一次改变一个变量的方式进行，即改变一个参数时，所有其他参数保持不变。然而，该方法通常不足以开展全面的研究，因为它并未考虑各个参数之间的相互作用。于是我们提出了一种更仔细的方法，其采用了一种强调各种参数之间关系并且只需少量分析的实验设计。

在第一组实验中，在两种不同的雾化器压力下优化干燥气温度和流速 (L/min)。

图 2 表明干燥气温度对峰强度的影响最大。在研究的干燥气温度范围 275–350 °C 内，峰面积变化大于 50%。干燥气流速和雾化器压力对质谱灵敏度具有显著影响。特别地，较低的干燥气温度和流速以及较低的雾化器压力有助于获得更高的灵敏度。这些影响并不是独立的，例如，干燥气温度对降低质谱信号强度的影响在较高的雾化器压力下更显著。

色谱条件

参数	设置
色谱柱	Agilent ZORBAX RX-Sil 柱, 4.6 × 150 mm, 5 μm (部件号 883975-901)
流动相	A) CO ₂ B) 10 mM 乙酸铵的甲醇溶液 (LC/MS 级)
洗脱	20% B (等度条件)
补充流	甲醇, 0.2 mL/min
流速	1 mL/min
BPR 压力	150 bar
BPR 温度	60 °C
柱温	40 °C
进样量	5 μL
检测	DAD, 250 nm; 质谱扫描范围 80–1000, 安捷伦喷射流 ESI (–)

TOF 条件

参数	设置
碎裂电压	175 V
锥孔体电压	65 V
OCT1RF Vpp	750 V
干燥气温度	275/300/325/350 °C
干燥气流速	5–7 L/min
雾化器电压	45/60 V
鞘气温度	250/275/300 °C
鞘气流速	6/8/10 L/min
毛细管电压	500/1000/2000/3000/4000 V
喷嘴电压	2000 V

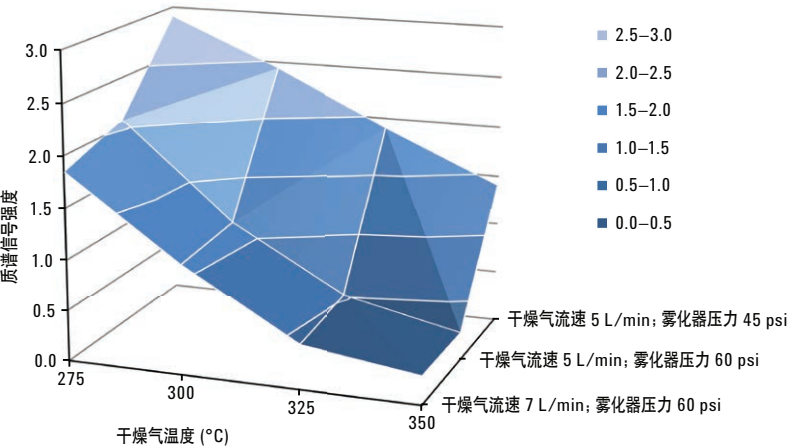


图 2. 在两种不同的雾化器压力 (psi) 下，双氯芬酸质谱信号强度的响应面积（峰面积）作为干燥气温度 (°C) 和流速 (L/min) 的函数。恒定设置：鞘气温度 275 °C，鞘气流速 6 L/min；毛细管电压 3 kV。峰面积为三次测量的结果，RSD < 15%

图 3 显示了在不同干燥气温度下 (°C) 采集得到的双氯芬酸的提取离子色谱图。

选择最优的干燥气温度 275 °C、流速 5 L/min 和雾化器压力 45 psi 作为后续实验的条件。接下来对鞘气温度和流速进行了优化。鞘气温度在 250 °C 与 300 °C 之间变化，其流速在 6 L/min 与 10 L/min 之间变化。图 4 表明鞘气对质谱灵敏度的影响程度小于干燥气设置的影响。较低的鞘气流速和较低的温度有助于获得更高的信号强度。

另外还测试了毛细管电压的影响，发现其最优值大约 1–2 kV (图 5)。在 3–4 kV 下，观察到峰面积减小最多 35%；在 0.5 kV 下峰面积减小最严重，可达 99% 以上。

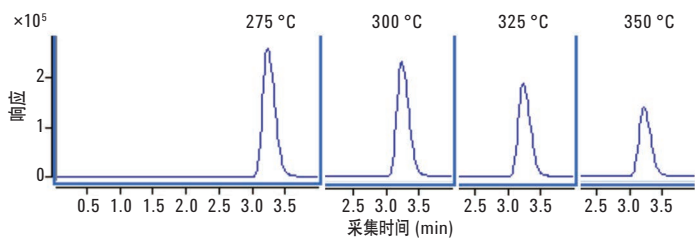


图 3. 在不同干燥气温度下 (°C) 下采集得到的双氯芬酸的提取离子色谱图。干燥气流速 5 L/min；雾化器压力 45 psi；其他条件与图 1 所述的条件相同

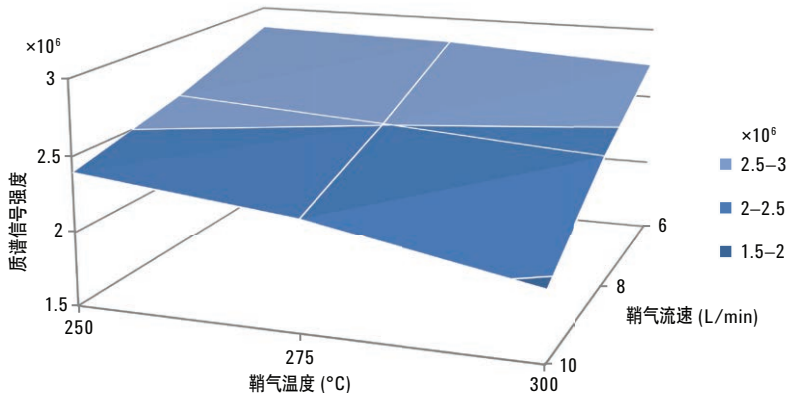


图 4. 双氯芬酸质谱信号强度的响应面积 (峰面积) 作为鞘气温度 (°C) 和流速 (L/min) 的函数。恒定设置：雾化器压力 45 psi；干燥气温度 275 °C，干燥气流速 5 L/min；毛细管电压 3 kV。峰面积为三次测量的结果，RSD < 10%

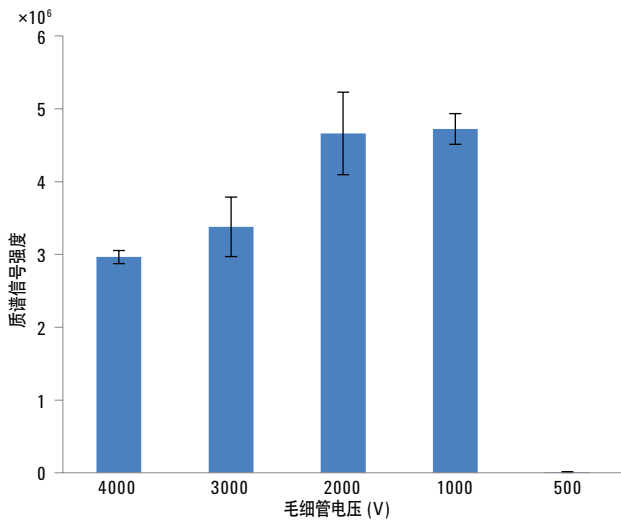


图 5. 双氯芬酸质谱信号强度 (峰面积) 作为毛细管电压 (V) 的函数。恒定设置：干燥气温度 275 °C，干燥气流速 5 L/min；雾化器压力 45 psi；鞘气温度 275 °C；鞘气流速 6 L/min。峰面积为三次测量的结果，RSD < 10%

结论

Agilent 1260 Infinity 分析型 SFC 系统与 Agilent 6230 TOF 联用提供了一个用于快速准确分析极性与非极性分子的独特平台。安捷伦喷射流离子源可兼容 SFC 系统，其有助于聚焦进入离子源的 CO₂ 并防止冷却。对离子源参数（例如干燥气和鞘气温度及流速）进行优化是方法开发过程中必须执行的一个重要步骤。本技术概述表明对这些参数进行优化能够大大提高质谱灵敏度。

参考文献

1. Harris, C.M. The SFC comeback. *Anal. Chem.* **2012**, 74, pp 87-91.
2. Agilent 1260 Infinity SFC/MS 解决方案，安捷伦技术概述，**2011 年**，出版号 5990-7972CHCN
3. “Agilent Jet Stream Thermal Gradient Focusing Technology”（安捷伦喷射流离子热梯度聚焦技术），安捷伦技术简报，**2009**，出版号 5990-3494EN

www.agilent.com/chem/cn

本资料中的信息如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2014
2014 年 5 月 19 日，中国印刷
5991-4510CHCN



Agilent Technologies