

# CE/MS 原理与实践

新用户及分析人员指南





# CE/MS 原理与实践

新用户及分析人员指南



# 目录

<b>1</b>	<b>本手册的目的</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>前言</b>	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>作者简介</b>	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>致谢</b>	<b>11</b>
<b>5</b>	<b>符号与缩写</b>	<b>12</b>
<b>第 1 部分：CE/MS 概念</b>		<b>13</b>
<b>6</b>	<b>液相分离与质谱联用</b>	<b>14</b>
6.1	CE/MS 联用的要求	15
6.2	同轴鞘流的概念	17
6.3	三重管雾化器	18
<b>7</b>	<b>安捷伦 CE/MS 系统</b>	<b>20</b>
7.1	系统概述	20
7.2	系统详情	20
<b>8</b>	<b>CE/MS 分析系统的最佳参数</b>	<b>22</b>
<b>9</b>	<b>选择 CE 分离方法和参数</b>	<b>23</b>
9.1	CE 操作模式	23
9.2	BGE 的组成	23
9.3	分离毛细管	25
9.4	电场和极性	28
9.5	进样方法	30
9.6	CE/MS 接口 — 离子源	33
9.7	电离类型 — ESI、APCI 和 APPI	33
9.8	鞘液组成和输送	34
9.9	操作参数 — 雾化气体压力、干燥气温度和流速	37
9.10	电喷雾电离电压	38

<b>第 2 部分：CE/MS 实践</b>	<b>39</b>
<b>10 CE/MS 实践</b>	<b>40</b>
<b>11 安捷伦 CE/MS 系统的常规设置</b>	<b>42</b>
11.1 调平毛细管电泳仪和质谱仪	42
11.2 准备 7100 毛细管电泳仪的 CE/MS 出口	43
11.3 7100 毛细管电泳仪后面板的连接	44
<b>12 利用 Agilent OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件 设置安捷伦 CE/MS 系统</b>	<b>46</b>
12.1 安装 Agilent CE/MS ChemStation 软件附加模块	46
12.2 配置 1260 Infinity II 等度泵	47
12.3 配置 MS	49
12.4 图形用户界面的说明	50
12.5 设置 CE 模式	51
<b>13 利用 Agilent MassHunter 软件设置安捷伦 CE/MS 系统</b>	<b>52</b>
<b>14 安装毛细管和 CE/MS 卡盒</b>	<b>55</b>
14.1 准备毛细管	55
14.2 将毛细管安装到 CE/MS 卡盒中	58
<b>15 准备 Agilent 1260 Infinity II 泵和真空脱气机</b>	<b>60</b>
15.1 液压连接	60
15.2 设置泵参数	60
<b>16 安装三重管雾化器</b>	<b>62</b>
16.1 CE/MS 的离子源	62
16.2 将 CE 毛细管插入 CE/ESI-MS 雾化器中并进行调整	63
16.3 插入 CE/ESI-MS 雾化器	64
16.4 CE 毛细管活化	64
16.5 CE 电流检查	66
16.6 CE/MS 校验方法	67
16.7 使用后储存 CE/MS 毛细管、鞘液分流器和 CE/MSD 雾化器喷雾针	69

<b>17 采用 DAD 的 CE/MS 分析的方法设置</b>	<b>70</b>
17.1 CE/MS 方法设置	70
17.2 CE/MS 方法 MS 部分的设置	72
17.3 不采用 DAD 的 CE/MS 分析的方法设置	73
17.4 从控制图中移除 DAD	74
17.5 图形用户界面的说明	75
<b>18 CE/MS 方法与应用</b>	<b>77</b>
18.1 CE/MS 阳离子分析方法	77
18.2 CE/MS 阴离子分析方法	80
<b>19 维护</b>	<b>84</b>
19.1 储存 CE/MS 毛细管、鞘液分流器和 CE/MS 雾化器喷雾针	84
<b>20 故障排除</b>	<b>86</b>
20.1 与 CE 电流相关的现象	86
20.2 与 MS 信号相关的现象	87
20.3 现象 — ESI 电流	89
<b>21 高级方法开发信息</b>	<b>90</b>
21.1 抽吸效应的测量和减小	90
21.2 鞘液组成的影响	92
<b>22 参考资料</b>	<b>93</b>
22.1 CE/MS 雾化器工具包的组装	93
22.2 雾化器维护	95
22.3 缓冲液和测试样品的配制	97
<b>23 参考文献</b>	<b>99</b>

# 1 本手册的目的

毛细管电泳 (CE) 作为一种仪器分析方法，自 20 世纪 90 年代出现以来，已经发展成为带电化合物的主要分离工具之一。CE 被用于低分子量 (LMW) 药物（尤其是分离对映体）和许多其他具有较高生物学相关性的 LMW 分子的分析以及离子分析。CE 已经成为确定结构同质性、大小、电荷异质性，尤其是内源性蛋白和重组蛋白的糖基化模式的不可或缺的工具。这是由于 CE 兼有高灵敏度与高分离度的优点，并且所需样品量极少。

电喷雾电离质谱 (MS) 与液相色谱 (LC) 联用系统于 20 世纪 80 年代末问世，现已成为新药开发过程中至关重要的工具。在生命科学研究中，液质联用检测可收集宝贵的结构信息，从而明确鉴定肽和蛋白质并确认结构和异质性。

因此，在 LC/MS 问世后不久，在 20 世纪 80 年代后期报道了 CE 与 MS 的成功联用。随着安捷伦科技公司（当时的惠普公司）于 1999 年推出 CE/MS 接口，该方法开始商业化。自那以来，它在生物分析测量领域表现出了广泛的用途和极强的适用性。

最近，毛细管电泳与质谱联用系统 (CE/MS) 已成为生物药物开发、表征和生产以及生物标记物发现的重要工具。目前，制药行业正在开发的新药中有 35%–50% 为蛋白质或类蛋白质分子。这些生物药物需要进行比小分子药物更广泛的生物分析验证，以获得监管审批。此外，第一代生物药物的知识产权 (IPR) 逐渐到期，各种生物仿制药得以相继推出。这些生物仿制药在上市时需要证明其特性和结构等同性。

近来，在代谢组学领域，CE/MS 在对阳离子/阴离子和极性代谢物进行筛查方面，已经引起了许多研究小组的兴趣。CE/MS 已发展成为标准方法，并已作为商业化产品销售。

这些趋势推动了 CE/MS 市场的强劲增长。

然而，与 HPLC 不同，CE 被认为是针对专家和专业人员的分析方法，从而限制了其在生物分析和生命科学研究领域的广泛应用。然而，人们现在已充分了解能使 CE 分离成为可重现、可重复、稳定且灵敏的方法的因素。因此，CE 和 CE/MS 都成为了重要的分离方法，能够提供与 HPLC/MS 互补的生物分子的结构和组成信息。

将 CE 与 MS 联用时，两者连接所需的接口与 LC/MS 接口相比，增加了另一重“难度”。

本指南旨在帮助新用户深入了解 CE/MS 的实际应用，并为当前用户提供关于方法开发和实际问题诊断的相关信息。为实现这一目标，本手册分为两部分：

### **第 1 部分：CE/MS 概念**

介绍 CE/MS 联用的概念并进行重点讲解，帮助读者理解这一技术并选择合适的起始条件。

### **第 2 部分：CE/MS 实践**

根据安捷伦的建议，详细介绍实践操作，有助于用户设置毛细管电泳仪、接口、MS，并为当前用户提供关于方法开发和实际问题诊断的相关信息。此外，还将提供进行系统性能验证的详细指南。

## 2 前言



**Julie Schappler 博士**  
曾任瑞士日内瓦大学药学院讲师

毛细管电泳是一种强大的分离技术，具有效率高、方法开发速度快、仪器简单、样品消耗量少、成本低等诸多优势。紫外-可见分光光度法可能是应用最广泛的 CE 检测技术，因为它在毛细管上配置简单。然而，它的灵敏度与毛细管内径直接相关，并且灵敏度较低。由于分析人员必须处理复杂的样品（特别是在生物分析领域），因此需要采用高选择性检测器。在这一背景下，高效 CE 分离与质谱的在线组合成为一种有吸引力的选择，这一组合的主要优点包括更高的灵敏度和选择性等。

CE/MS 是药物和生物药物分析、生物分析测定（包括代谢组学研究）等众多应用的相关可选技术。但有时，此技术表现出的性能无法满足分析要求。这其实是一种误解，主要原因在于缺少培训和专业知识而导致操作条件不当。需要特别关注仪器方面，特别是接口条件，以确保实现稳定和成功的 CE/MS 操作。过去几年，与接口相关的许多技术改进已使这项技术能够生成高质量数据。多年来，市售鞘流接口已被证明是将 CE 与 ESI-MS 检测相结合的重要选择。该接口的明显优势在于，几乎可将 CE 和 ESI 过程完全分离。因此，能够使用标准毛细管在各种 BGE 下运行。考虑到能够获得恒定的鞘液流速，确保较高的喷雾稳定性，因此这种设置相当稳定。一些研究小组发表的许多定量研究已经展示了这种联用技术的潜力，打破了人们通常存有的 CE/MS 无法生成定量结果的认识，证明 CE/MS 的性能与任何其他分析技术一样出色。

本指南深入介绍了相关概念以及成功运行 CE/MS 所必须考虑的实践方面的因素。读者将了解到为什么需要选择正确的实验参数，以及如何根据自己的应用和目标来选择这些参数，从而获得灵敏、可靠且可重复的结果。此外，还将使读者认识到 CE/MS 能够为具有挑战性的分析问题提供解决方案，并在现代分离科学领域占有一席之地。

Julie Schappler



**Christian Neusüß 博士**  
德国阿伦应用技术大学  
普通化学和分析化学教授

15 多年前，分析人员在开始使用 CE/MS 时，不仅需要具备毛细管电泳和质谱的相关知识，还必须开展大量直观的实验并反复试验，以获得有意义的方法和结果。因此，只有少数人经常使用 CE/MS。然而，事实证明，CE 的选择性与 MS 的灵敏度和信息量相结合，为许多应用领域提供了一种强大的工具。如今，CE/MS 已应用于食品控制、代谢组学和生物药物分析等众多领域，尤其是在生物药物分析领域，CE/MS 在完整蛋白质和糖基化分析中展现出了强大的能力。

在很大程度上，安捷伦的鞘液接口使 CE/MS 分析成为可能。该接口稳定易用，因此可在几分钟内完成 CE/MS 的设置。此外，它非常灵活，因为电离条件的选择可以在很大程度上与分离分开。通过这种方式，可以选择最佳 ESI 条件，对稀释效应进行部分补偿。我们一直在将该接口用于许多不同的应用，它是我们实验室中的常规工具，并已逐渐成为评估其他技术的标准。

本指南将帮助更多的人利用 CE/MS 来寻找适合其应用的更为快速的方法。它填补了 CE/MS 理论与实践之间的距离，因为其中提供了与重要的实际参数相关的信息，而这些参数在科学文献中通常缺少详细介绍。在本指南的第一部分，主要为所有有意向使用 CE/MS 或者已有经验的 CE/MS 用户提供一些仪器之外的有用信息。它也将为未来的技术发展（如微流控芯片电泳或二维毛细管电泳/质谱联用系统）奠定坚实的基础。

我希望本指南能有更多使用这一系列重要 CE/MS 参数的批判性读者。分析科学家应当经常仔细检查他们阅读的内容，以进一步改进并传播这一仍处于发展初期的技术。

Christian Neusüß

### 3 作者简介

**Gerard Rozing** 于 1971 年在荷兰阿姆斯特丹大学完成了化学工程及有机化学专业的本科学习。在此之后，于 1977 年初获得了阿姆斯特丹大学的有机化学博士学位。接下来，他在比利时根特大学作为 NATO 学者从事博士后研究直至 1978 年初。此后，他来到阿姆斯特丹大学 Hans Poppe 教授团队继续从事博士后研究，研究方向为色谱与分析化学。1979 年，Gerard 加入了德国瓦尔德布隆的惠普公司，成为了一名研发化学家，主要从事固定相开发和 HPLC 系统评估。Gerard 担任研发项目主管一段时间后，成为了研发部经理。2000 年，Gerard 成为了大学关系和外部合作部经理，并一直任职于该职位，直至 2012 年 9 月 1 日退休。2006 年，Gerard 成为了安捷伦科技公司化学分析部的首位安捷伦研究员。在 2006 年和 2012 年分别于阿姆斯特丹和日内瓦举办的微尺度生物分离系列研讨会上，Gerard 担任了大会主席。他参与了近期 HPLC 系列研讨会的组织工作，并且是 Electrophoresis 和 Journal of Separation Science 编辑顾问委员会的成员。他现在是布鲁塞尔自由大学和阿姆斯特丹大学的客座科学家，并担任 ROZING.COM Consulting 的液相分离科学独立顾问。

**Hans Brunnert** 和 **Sibylle Aldridge** 都是安捷伦科技公司（德国瓦尔德布隆）的技术支持专家。他们在毛细管电泳（及其他技术，如微流控“芯片实验室”、HPLC 以及与质谱的联用）领域拥有多年经验。从技术角度来看，两人都为全球安捷伦技术支持机构及其客户提供了高水平技术支持和咨询。

**Christian Wenz** 是安捷伦科技公司（德国瓦尔德布隆）的研发科学家。他曾在德国汉诺威大学学习生物化学专业，并在德国吉森大学生物化学系 Alfred Pingoud 教授的研究团队完成了博士阶段的研究，其研究课题是与核酸相互作用的蛋白质的结构和功能。在瑞士癌症临床研究中心 (ISREC)（瑞士埃帕兰日）完成博士后研究后，Christian Wenz 于 2002 年加入了安捷伦科技公司。在过去的十年中，Christian 参与了自动化电泳系统的仪器及应用开发，例如 Agilent 3100 OFFGEL 等电聚焦分级分离仪和 Agilent 2100 生物分析仪系统。从 2009 年开始，他开始参与 Agilent 7100 毛细管电泳系统的开发。安捷伦科技公司发表的多篇有关该仪器的应用简报及技术文献均由他撰写。

## 4 致谢

许多同事及同行与作者分享了他们的观点和经验，为本手册做出了贡献。  
作者特别要感谢：

Martin Greiner，安捷伦科技公司（德国瓦尔德布隆）

Sibylle Diehl，安捷伦科技公司（德国瓦尔德布隆）

Gordon Ross，安捷伦科技公司（英国曼彻斯特奇德尔）

Jos Lips，安捷伦科技公司（荷兰阿姆斯特丹）

Suresh Babu Cugati Vishweshwarai，安捷伦科技公司（印度班加罗尔）

## 5 符号与缩写

APCI	大气压化学电离
APPI	大气压光电离
BGE	背景电解质
CE	毛细管电泳
CE/MS	毛细管电泳/质谱联用系统*
CEC	毛细管电色谱
CGE	毛细管凝胶电泳
CIEF	毛细管等电聚焦
CITP	毛细管等速电泳
CZE	毛细管区带电泳
DAD	二极管阵列检测器
EOF	电渗流
ESI	电喷雾电离
GC	气相色谱
GC/MS	气质联用系统*
HMW	高分子量
HPLC	高效液相色谱
id	内径
IF	接口
IPR	知识产权
LC	液相色谱
LC/MS	液质联用系统*
LMW	低分子量
MALDI	基质辅助激光解吸电离
MEKC	胶束电动色谱
MEEKC	微乳液电动色谱
MS	质谱
od	外径
SMIL	连续多层离子聚合物层
SPE	固相萃取
SST	不锈钢
UHPLC	超高效液相色谱

\* 并未明确规定使用连字符 (-) 还是斜线 (/) 表示联用分析技术。安捷伦科技公司已统一采用斜线来表示。  
有关参考文献，请参阅 K.K. Murray, J. Chrom. A, 1217 (2010) 3922-3928

# 第 1 部分 CE/MS 概念

本指南的第一部分提供了毛细管电泳分离与质谱检测联用的详细信息。本章从 CE/MS 的基本概念入手，随后将详细介绍不同类型的电离及相关参数。

## 6 液相分离与质谱联用

在 20 世纪 80 年代早期，HPLC 技术已较为成熟，但其与质谱的联用在一段时间内一直面临挑战。将分析物从液相中带入气相，将其电离，并将分子离子转移到超高真空环境中，对于液相分离 (LC) 而言要比气相分离 (GC) 困难得多。自 20 世纪 70 年代以来，该领域的 LC/MS 接口方法已经历了多次更新换代。例如，利用移动带或移动丝将色谱柱洗脱物输送到真空中，利用直接液体进样口引入<sup>1</sup>，利用热喷雾电离<sup>2</sup>，利用粒子束电离技术<sup>3</sup>，或利用 MALDI 板进行离线联用。

Fenn<sup>4</sup> 和 Alexandrov<sup>5</sup> 于 20 世纪 80 年代末首次报道了电喷雾电离 (ESI)。在该方法中，来自 HPLC 色谱柱的洗脱物通过狭窄的孔口排出，然后在强电场中形成微小的溶剂液滴喷雾。最终带电的分子（离子）从液滴中蒸发并通过进样口毛细管进入质谱仪。尽管最初的期望很高，但要通过电喷雾电离获得稳定的电喷雾，最大流速不能超过 10  $\mu\text{L}/\text{min}$  且需使用含水量低的流动相。

然而，在 20 世纪 80 年代，HPLC 分离中所用的大多数色谱柱都为反相柱，使用含水量较高的流动相，且内径为 2.1–4.6 mm。因此，这些色谱柱通常采用的流速范围为 0.2–2.0 mL/min。为了在这些条件下获得稳定的喷雾，Henion 及其合作者提出了一种接口概念，他们将其称为“离子喷雾”电离<sup>6</sup>。在该方法中，在同轴输送的氮气流辅助下形成喷雾（雾化）。

随着离子喷雾接口技术的不断改进和商业化，其应用也愈加广泛，用户能够通过这一技术在高达 1–2 mL/min 的流速下进行分析。按照定义，离子喷雾电离与“电喷雾”电离不同。然而，离子喷雾电离作为 LC/MS 联用的标准方法已有 20 多年，现在也被称为“电喷雾电离”。

而最初的电喷雾电离（在远低于 10  $\mu\text{L}/\text{min}$  的流速下操作），现在被称为“纳流电喷雾电离”。这一技术已成为蛋白质组学、生物标记物发现和代谢组学中极为通用且灵敏的接口方法，在这些应用中，样品体积通常较小（低  $\mu\text{L}$ ）且分析物浓度低。低流速需要使用小内径 HPLC 分离柱（小于 150  $\mu\text{m}$ ），这些分离柱通常在低流速（小于 1  $\mu\text{L}/\text{min}$ ）下操作。此外，已经发现，在低于 100 nL/min 的流速下，MS 信号显著增强，同时基质效应（离子抑制）也大大降低。

## 6.1 CE/MS 联用的要求

在 20 世纪 80 年代中期 CE 问世后不久，人们开始关注将 CE 与 MS 联用。按照定义，CE 是一种超低流速分离技术，与 MS 联用时，可获得前文所提到的优势。由于问题涉及将溶解态分析物分子从液相带入气相并将其电离，因此还存在 CE 分离所特有的其他因素，使得 CE 与 MS 的联用更为复杂。

### 电气连接

在 CE 中，电场使溶质以电泳方式移向毛细管的出口。此外，该电场可通过电渗流驱动 BGE 沿相同的方向移动。通常，利用包含 BGE 的样品瓶中的铂或钽电极在入口侧施加电压（高达 30 kV）。在毛细管电泳系统中，包含 BGE 的出口瓶具有相同材料的接地电极，形成闭合电路。将 CE 与 MS 联用时，显然不可能有出口瓶。然而，必须存在电触头（如液体样品瓶）为 CE 电流提供回路。

相反，为产生电喷雾，需要在 CE 毛细管末端和 MS 进样口之间形成电场。为此，施加一个高电压（高达 4 kV）。因此，对电喷雾而言，也需要两个电极；一个处于正电压或负电压状态，另一个接地。

很容易想到，两个电场共享接地电极将会非常方便。如果是这样，CE 和电喷雾电源具有共同的电流回路，其中电流沿同一方向流向接地电极。CE 和电喷雾电流不发生干扰。

在实际应用中，CE 和 MS 共用毛细管出口处的接地电触头，将电喷雾电压施加于 MS 进样口毛细管上。进一步了解电气细节，这些质谱仪的进样口毛细管为玻璃管，因此能将电喷雾电压与 MS 的真空部分隔离。

或者，如果从 CE 毛细管末端通过喷雾针提供电喷雾电压并且质谱仪进样口接地，则在电喷雾电压带有相反电荷的情况下可能发生棘手的情况。与 CE 电压的电荷同号，从而将有效地减小或增大 CE 毛细管中的电场。

CE 分离毛细管中电解质携带的电流可比电喷雾大 2-3 个数量级。如果是这样，CE 电流将在 MS 进样口流向地面，由此可能会损坏 MS。因此，需要增加一个电阻电路以通过另一路径降低 CE 电流。这些细节不在本文讨论范围内，但是应当可以从其他质谱仪供应商处获得。

## 液压技术

与 HPLC 相比，CE 中的流速或电渗流 (EOF) 取决于 BGE 性质、熔融石英毛细管壁的电荷及其他因素。但是，EOF 并非像 HPLC 中可以进行设置来控制体流量的参数。在理想条件下，BGE 以 1–3 mm/s 的流速在毛细管中移动。对于内径为 50  $\mu\text{m}$  的毛细管，该流速相当于 0.12–0.35  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。然而，在实践中，对 CE 分离而言最佳的 BGE 组成可以实现较低的 EOF、无 EOF、甚至反向 EOF。在下文中我们将介绍，已开发出的适用于更高流速的 CE/MS 雾化器。因此，需要利用辅助溶剂流来帮助形成喷雾。

## 受到影响的 CE 分离方法

在 CE 分离中，优先选择无机缓冲液作为 BGE。此外，可以在 BGE 中使用添加剂来提高特殊的选择性（例如，用于分离手性分子的环糊精）。在胶束电动色谱 (MEKC)、毛细管凝胶电泳 (CGE) 和毛细管等电聚焦 (CIEF) 等 CE 模式下，可以在 BGE 中使用非挥发性表面活性剂、添加剂、亲水性聚合物或载体两性电解质。阳离子或阴离子聚合物可用于改变毛细管内表面的电荷。由于 MS 是一种真空测量技术，因此应尽可能去除 BGE 中的非挥发性 BGE 组分。例如，在酸性 pH 条件下使用磷酸盐缓冲液的 CE 分离应当改用甲酸盐缓冲液，但是这样可能影响 CE 分离的效率。使用垂直的雾化器配置，可以避免存在的中性添加剂。

## CE/MS 系统

将 MS 进样口设置为电气接地并采用高电压喷雾针的质谱仪制造商，已经基于改进的纳流电喷雾 LC/MS 接口与某些辅助部件（例如，定位装置）的组合提供了用于 CE/MS 的基本接口以实现 CE/MS 联用。电源、电气和液压连接必须由用户提供。

多年来，安捷伦科技公司一直是唯一一家为 CE/MS 提供完整系统解决方案的分析仪器制造商。接口技术的基础是同轴溶剂鞘流或三重管 CE/MS 接口。

本指南重点介绍如何使用该接口实现 CE/MS 联用。

## 6.2

### 同轴鞘流的概念

Smith 及其合作者报道了在 CE 分离毛细管末端周围使用辅助溶剂作为鞘液，以在出口侧提供湿式电触头<sup>7</sup>。他们使用外径 1.6 mm 的纯 PTFE 管来容纳 CE 毛细管（外径 0.2 mm，内径 0.1 mm）。通过 T 形管将纯 PTFE 管连接到注射泵，该泵以 5–10  $\mu\text{L}/\text{min}$  的流速输送鞘液。将外径 0.46 mm、内径 0.25 mm 的金属针密封在纯 PTFE 管中，并将其连接至提供电喷雾电压的电极。接近其末端处，CE 毛细管伸出金属针约 0.2 mm。此外，通过内径 0.5 mm 的不锈钢毛细管以 0.1–1 L/min 的气体流速输送氮气以屏蔽并冷却喷雾。

鞘液主要作为 CE 的出口缓冲液，并保持喷雾不受 EOF 大小的影响。应选择适当的鞘液，为电喷雾提供最佳条件（低粘度、低表面张力、高蒸气压和低水性、低 pH 溶剂混合物）。在实践中，大多数 CE/MS 分离利用含有挥发性缓冲液的 BGE，例如，采用乙酸进行低 pH 分离，或采用乙酸铵进行高 pH 分离，并采用含 0.1–1.0% 乙酸或甲酸的甲醇或异丙醇水溶液作为鞘液。

与 Henion 及其同事开发的用于 LC/MS 的气动辅助 ESI 类似（参见第 6.1 节“CE/MS 联用的要求”），该研究组将他们的离子喷雾用于 CE/MS 联用。在他们的早期研究中，使用液体接界法来提供施加于喷雾针上的电喷雾电压的电触头。在后来的研究中，他们介绍了同轴鞘液接口与气动辅助喷雾形成<sup>8,9</sup>。Analytica of Branford 的 Banks<sup>10,11</sup> 认识到，将电喷雾电势施加于 CE 毛细管末端所形成的电场是施加的 CE 电压与电喷雾电压之间的差值。因此，他将 CE 毛细管的出口接地，并将（负）电压施加到 MS 进样口以获得正离子 MS。

与此同时，惠普公司的工程师设想了一种用于 LC/MS 的离子喷雾型接口，其中雾化器与 MS 的进样口毛细管采用正交取向。这使得大液滴和中性流动相添加剂无法进入 MS 进样口毛细管，从而最大程度减少进样口污染。

## 6.3 三重管雾化器

利用第 6.2 节“同轴鞘流的概念”中所述的最佳方法并借助 LC/MS 雾化器的不断发展，惠普公司的工程师于 1995 年提出了用于 CE/MS 的三重管雾化器。该三重管雾化器由喷雾针和雾化气体组成，其中鞘液与喷雾针内的 CE 毛细管同轴输送通过喷雾针，雾化气体由外管输送，用于辅助形成喷雾（图 1 和图 2）。

三重管雾化器是一种高精度工程部件。它容纳外径为 365  $\mu\text{m}$  的标准 CE 毛细管，将毛细管与外部的雾化器喷雾针（内径为 0.4 mm）同心对齐，并且能够在轴向方向上以可重现的方式调整 CE 毛细管和雾化器喷雾针。

等度泵输送鞘液，该泵在分流模式下以 1–20  $\mu\text{L}/\text{min}$  的流速运行。雾化气体为氮气，气体流速为 3–10 L/min。

将雾化器管接地。这是 CE 电流与电喷雾电流的共用接地点。由 MS 上的电压（此处未示出）提供电喷雾的电场。

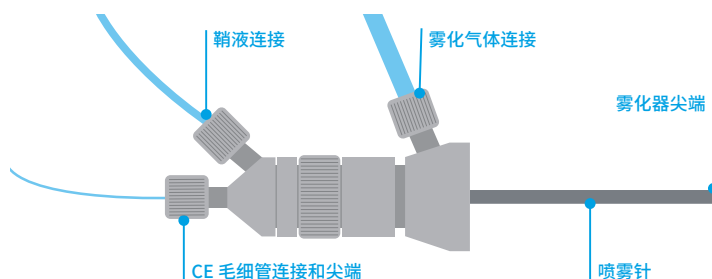


图 1. 三重管雾化器示意图

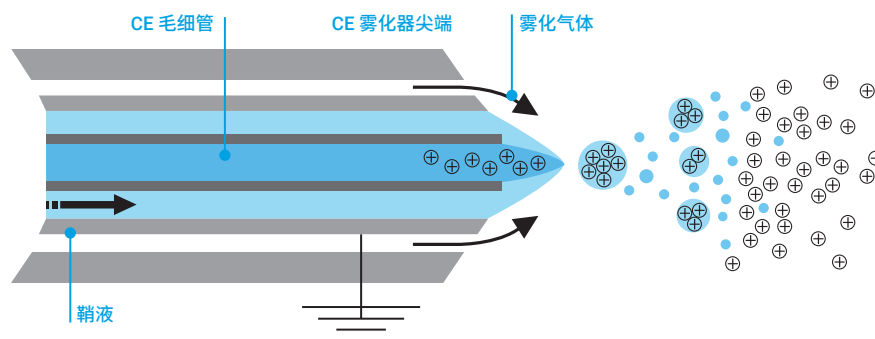


图 2. 雾化器尖端区域简化图

如图 3 和图 4 所示，在安捷伦 CE/MS 系统中，雾化器与质谱仪进样口毛细管采用正交取向，与安捷伦 LC/MS 接口一样。这种配置的优势在于，分离缓冲液中的中性添加剂和/或形成的大液滴将不会进入质谱仪。

这种接口引入了几个实验参数，需要仔细调整和优化这些参数以获得稳定的喷雾和电离过程。尤其是鞘液流速、鞘液组成和雾化气体压力。这些参数的推荐设置将在后文进行介绍。

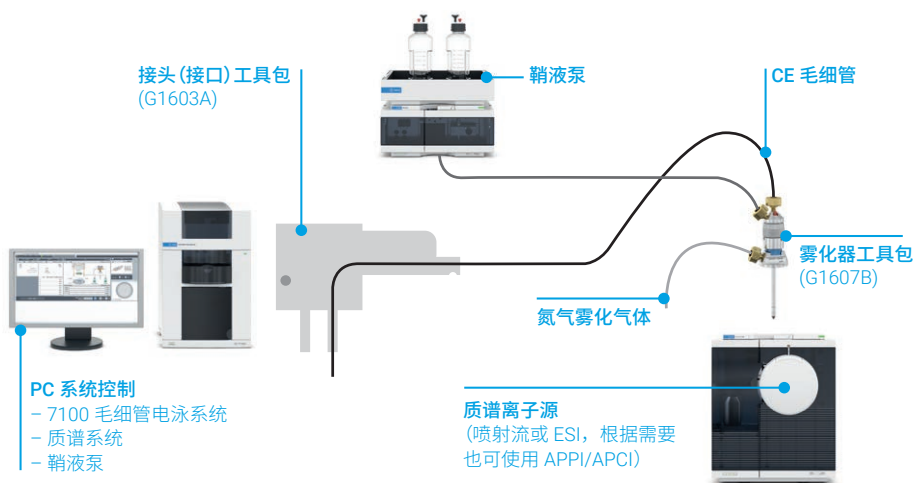


图 3. 安捷伦 CE/MS 系统，通过 Agilent OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件进行控制

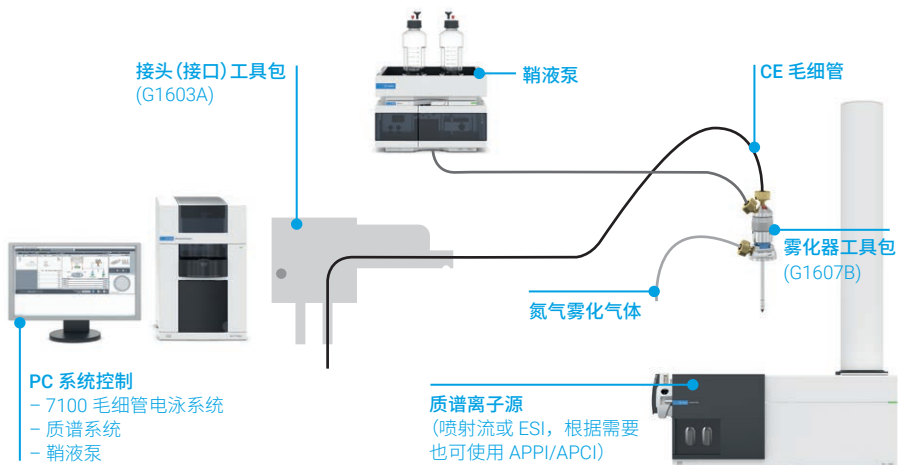


图 4. 安捷伦 CE/MS 系统，通过 Agilent MassHunter 工作站软件进行控制

# 7 安捷伦 CE/MS 系统

## 7.1 系统概述

安捷伦 CE/MS 系统的开发与安捷伦色谱系统和质谱分析仪的数据采集和数据处理软件的开发同时进行。在 1999 年推出 CE/MS 时，接口参数控制、MS 数据采集和数据处理均嵌入用于 CE 的 Agilent ChemStation 软件的图形用户界面中。系统中的质谱仪为单四极杆质量分析器，也通过 ChemStation 软件进行控制。同时，安捷伦 CE/MS 三重管接口能够与所有安捷伦质谱分析仪联用，并且可用于两种软件平台，如第 7.2 节“系统详情”所示。

## 7.2 系统详情

配备 Agilent OpenLab CDS 的安捷伦 CE/MS 系统包括以下组件：

- Agilent 7100 毛细管电泳系统
- 安捷伦 CE/MS 接头工具包（CE/MS 卡盒、用于检测器的 PEEK 准直接口以及附件）(G1603A)
- 安捷伦 CE 雾化器工具包（兼容安捷伦喷射流的 ESI-MS 雾化器、用于鞘液的分流器以及附件）(G1607B)
- Agilent InfinityLab LC/MSD 系列系统，配备 API 电喷雾离子源 (G1948B) 或安捷伦喷射流离子源 (G1958B)
- Agilent 1260 Infinity II 等度泵 (G7110B)
- Agilent 1260 Infinity II 脱气机 (G7122A)
- Agilent OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件 (M8301AA)
- 用于 OpenLab CDS 软件的 CE 驱动程序 (M8501AA)
- 用于 OpenLab CDS 的 MS 驱动程序（仅在与单四极杆 MS 配套使用时需要）(M8361AA)

随着新型质量分析器的推出，对 MS 数据采集和数据处理的要求越来越高，并且开始将对 CE 设定值和自动化的控制嵌入到 Agilent MassHunter 工作站软件中。配备安捷伦飞行时间、三重四极杆或四极杆飞行时间液质联用系统的安捷伦 CE/MS 系统包括以下组件：

- Agilent 7100 毛细管电泳系统
- 安捷伦 CE/MS 接头工具包 (CE/MS 卡盒、检测器准直接口以及附件) (G1603A)
- 安捷伦 CE 雾化器工具包 (兼容安捷伦喷射流的 ESI-MS 雾化器、用于鞘液的分流器以及附件) (G1607B)
- 配备安捷伦双喷雾 ESI 离子源 (G3251B) 或安捷伦喷射流双喷雾 ESI 离子源 (G1959A) 的安捷伦四极杆飞行时间液质联用系统
- Agilent 1260 Infinity II 等度泵 (G7110B)
- Agilent 1260 Infinity II 脱气机 (G7122A)
- Agilent MassHunter 工作站软件，用于安捷伦飞行时间液质联用系统、三重四极杆液质联用系统或四极杆飞行时间系列液质联用系统

## 8 CE/MS 分析系统的最佳参数

CE 是一种通用的分析分离技术，支持不同的操作模式，并且可针对目标分析物对分析方法进行最佳调谐\*。每种 CE 操作模式均使用对特定模式具有高度特异性的一组 CE 分离参数。需要精心选择和优化这些参数，以获得最高的分离度和灵敏度。然而，对 CE 操作模式而言最佳的参数可能对 MS 检测的灵敏度产生不利影响。需要充分考虑 CE 分离模式的选择、BGE 的选择以及 CE 参数的优化。安捷伦同轴鞘流接口支持多种电离模式。其中每种模式都将决定需要精心选择的参数，以获得最高信噪比和操作稳定性。最后，需要对质谱仪的参数进行调整，以获得最佳的信噪比和质量分辨率。

总而言之：

### 1. 选择 CE 分离方法和参数：

- a. 操作模式，例如 CZE、MEKC、CGE、CIEF、CITP 或 CEC\*
- b. 背景电解质 (BGE) 的组成，缓冲液的 pH、离子强度和类型，有机溶剂，添加剂
- c. 分离毛细管、尺寸、管壁涂层、温度
- d. 电场、极性
- e. 进样方法（特别是关于预浓缩技术）

### 2. 选择 CE/MS 接口：

- a. 电离类型：ESI、APCI、APPI
- b. 鞘液流速、组成和输送
- c. 其他操作参数：雾化气体压力、干燥气温度和流速
- d. 用于形成电喷雾的电场和极性

### 3. MS 数据采集参数的优化：

- a. (自动) 调谐信噪比、质量分辨率、碎裂电压
- b. 采集速率、驻留时间

这一组参数将使用户在实践中面临多因素优化的挑战。本章的目的是为 CE/MS 方法开发的初始阶段提供良好的起始条件。

MS 数据采集参数的优化不在本指南的讨论范围内。读者可以参阅相应的 MS 出版物。此外，在第 2 部分“CE/MS 实践”所述的方法和引用的应用简报中将指定这些参数。

\*有关所有 CE 操作模式的简要说明，请参阅安捷伦科技公司基础导论“高效毛细管电泳”（出版号 5990-3777EN）。MEKC、CGE、CIEF 或 CEC 模式通常与 CE/MS 联用系统不兼容，因此在大多数情况下应当避免使用

## 9 选择 CE 分离方法和参数

### 9.1 CE 操作模式

CZE 是目前应用最广泛的 CE 操作模式。它非常适合用于分离带电化合物、可电离化合物、极性以及 HMW 和 LMW 化合物。

在 MEKC 中，BGE 中包含十二烷基硫酸钠等表面活性剂。这些表面活性剂将显著减小 MS 信号响应，同时增加噪音，严重影响 ESI 的检测限。作为 ESI 的替代技术，APPI 已成功应用于配备三重管接口的 MEKC 和 MEEKC 与 MS 的联用系统。APPI 的电离机制受 BGE 中表面活性剂的影响较小（参见第 9.7 节“电离类型 — ESI、APCI 和 APPI”）。

对于 CGE 和 CIEF，BGE 中也含有添加剂，这些添加剂会影响电离过程，导致离子化效率降低，背景升高。在 CE 方法中，需要采取特殊的预防措施（例如部分填充毛细管）来避免聚合物凝胶或两性电解质进入 MS 而造成不利影响。

相比之下，CITP 分离非常适合与 MS 联用，因为前导电解质可以与鞘液相同。在实践中，将 CITP 与 CZE 一起使用，作为一种预浓缩方法（参见第 9.5 节“进样方法”）。

CEC 非常适合与 MS 检测联用，因为它所用的 BGE 类似于 LC/MS 中使用的溶剂。然而，CEC 在 CE 分离中并未得到广泛应用。其中一个阻碍是 CEC 在运行时，通常在毛细管的两侧施加压力以避免在毛细管内形成气泡。另外，CEC 的稳定性和可靠性不及 CZE。

有关 CE 操作模式的参考资料，请参阅安捷伦科技公司基础导论“高效毛细管电泳”（出版号 5990-3777EN）。

### 9.2 BGE 的组成

一般来讲，用于 CE 分离的 BGE 首选磷酸盐和硼酸盐等无机缓冲液。它们具有较高的缓冲容量和离子强度，并且可以在低浓度下使用，从而得到较窄且高效分离的峰。但是，在 CE/MS 中应避免在 BGE 中使用无机非挥发性缓冲液成分。非挥发性缓冲液成分将在电喷雾室和 MS 进样口造成盐积聚，进而堵塞进样口毛细管。最终，堵塞会导致灵敏度和操作可靠性下降，甚至导致 MS 故障。

相反，对于低 pH 条件下的分离，我们建议使用挥发性酸性和碱性缓冲液，如甲酸和乙酸。对于高 pH 条件下的分离，建议使用铵盐或三烷基铵化合物缓冲液。

为了避免在 CE 分离过程中产生高电流（以及由此导致的焦耳加热），应在不影响分离（峰形和分离度）的前提下使用浓度尽可能低的缓冲液（例如，50 mmol/L）。分离缓冲液 (BGE) 的 pH 将使分析物分子处于阳离子（正）或阴离子（负）电荷状态。该电荷将决定使用正（正极性）还是负（反极性）CE 电压。尽管鞘液可能具有与分离缓冲液不同的 pH，但其在喷雾形成过程中以过量形式存在。因此，在 CE 分离中作为阴离子分离的弱酸将被鞘液中和并在电喷雾中形成阳离子。

在开发与 MS 联用的 CE 分离方法时，必须考虑这些问题，并在方法开发过程中限制 CE 分离参数。在实践中，CE 方法连同分光光度检测法一起开发，但是同时考虑到了 MS 检测的要求。

### **BGE 的特例**

BGE 可能包含获得选择性分离所需的添加剂。例如，将环糊精、手性冠醚、大环抗生素或手性表面活性剂加入分离缓冲液中以分离对映体混合物。在 MEKC 中使用表面活性剂以引发疏水相互作用，从而分离（例如）中性或弱酸性/碱性药物。

如果这些添加剂不带电荷，它们将不会被吸入质谱仪中。这是因为三重管雾化器组件相对于安捷伦质谱仪的进样口处于正交位置。

然而，这些添加剂许多都带有电荷，用于控制 CE 分离时间并提高选择性（例如，CIEF 中的两性电解质）。它们将存在于 ESI 离子形成过程中，并且它们可能在电离过程中与分析物竞争可用电荷（称为“离子抑制”）。

当添加剂与分析物携带相同的电荷时，它们可能会被吸入质谱仪中。尽管质量分析器可以在质量选择模式下操作，但是添加剂离子导致质谱仪中的背景较高。此外，MEKC 所用的分离缓冲液中的表面活性剂会污染接口，难以去除，并将显著降低电喷雾电离的灵敏度。

因此，MEKC 和 CIEF 等技术在 ESI CE/MS 中并不常用。已采用诸如部分填充 CE 毛细管<sup>12</sup>等特殊技术来避免这些问题。然而，这些特殊技术偏离了分离方法的主题，因此本文不再详细讨论。

## 9.3 分离毛细管

熔融石英管由宽内径二氧化硅拉制而成，在惰性环境中在约 1300 °C 下预成型。在这些条件下，毛细管表面的硅醇基团完全缩合形成硅氧烷键。在拉制过程中，聚酰亚胺表层沉积在毛细管的外侧，使得熔融石英管具有极强的稳定性和压力稳定性，同时保持柔韧性。因此，原始熔融石英毛细管的内表面为疏水性表面。在储存过程中随着时间的推移，由湿度并最终由 CE 中使用的缓冲液导致内表面缓慢发生重新羟基化。

熔融石英管中 EOF 的批次间变异性取决于残留的表面硅醇浓度和二氧化硅中残留（金属）杂质的量。应采用严格的预处理和预活化程序，使毛细管始终处于明确且可重现的表面羟基化起始状态。通常使用 1 mol/L 氢氧化钠进行毛细管预处理。或者，也可以用高浓度盐酸进行过夜处理。然后，应使用水和 BGE 冲洗毛细管。

在常规 CE 工作中，通常的做法是保持严格的预活化操作方案。使用 BGE 在运行之间进行简单清洁和再活化的清洗程序应当作为常规方法的一部分。最终，在熔融石英分离毛细管中产生的电渗流的大小和重现性将在很大程度上取决于预处理及其先前的操作以及 BGE 的组成、pH 和离子强度。

有关毛细管预处理程序的信息，请参阅[安捷伦科技公司基础导论“高效毛细管电泳”（出版号 5990-3777EN）](#)第 4.2 节。在“Capillary Electrophoresis Methods for Pharmaceutical Analysis”（S. Ahuja 和 M.I. Jimidar 主编，Academic Press，2008，伦敦）中，提供了有关用于可重现的 CE 分析的毛细管预处理及其他处理的丰富的实用信息。对于提供这些方面的详细信息不在本指南的范围内。

### 用于 CE/MS 的熔融石英毛细管

用于 CE 和 CE/MS 的毛细管内径范围为 20–100  $\mu\text{m}$ ，其中最为常用的是 50  $\mu\text{m}$  和 75  $\mu\text{m}$ 。在安捷伦 CE/MS 系统中，标准外径为 365  $\mu\text{m}$ 。在特殊情况下，使用外径为 180–220  $\mu\text{m}$  且内径为 20–30  $\mu\text{m}$  的毛细管。但是，不建议在 Agilent 7100 毛细管电泳系统使用这些毛细管。由于分离毛细管必须连接两台仪器之间的距离，因此通常使用长度为 1000 mm 的毛细管（尤其是在使用毛细管电泳系统的二极管阵列检测器的情况下）。

与常规 CE 操作类似，在 CE/MS 中，入口和出口侧毛细管的末端必须平整且完好无损。在毛细管入口侧，不平整或断裂的末端将使电场分布不均匀，从而导致进样过程中样品展宽。当用于 CE/MS 的毛细管出口端损坏时，喷雾将变得扭曲且不稳定，从而在质谱仪中产生较高的噪音并导致灵敏度下降。可以从卷盘上切割未涂渍熔融石英毛细管。因此，使用精密的切割工具（例如，安捷伦 CE 毛细管柱切割器，部件号 5183-4669）非常重要。

不过，建议在 CE/MS 中使用安捷伦预切割的熔融石英毛细管，其末端去除了 1-2 mm 的聚酰亚胺。根据实际经验，去除 CE/MS 毛细管末端的聚酰亚胺后可获得更稳定的喷雾。此外，这些预切割毛细管具有用于紫外-可见检测的窗口。如需了解更多信息，请参见“CE 的毛细管、试剂和备件指南”（出版号 5991-5623CHCN）。

如果使用来自卷盘的熔融石英管，建议按照第 14.1 节“准备毛细管”中提供的毛细管切割说明进行操作。

### 具有共价键合的中性或带电层的毛细管

对于肽和蛋白质的分离，毛细管壁具有永久性电荷（有时甚至会强制性要求）以最大程度减小吸附并保持较强的 EOF 将有利于分离。管壁电荷必须与分析物具有相同的极性，以避免分析物发生吸附。因此，需要较高的 EOF 将溶质逆着电泳淌度输送到毛细管出口。例如，对于带正电的管壁涂层，BGE 中的负离子携带 EOF，并且出口处的电极必须是阳极。因此，带正电荷的溶质将沿着与 EOF 相反的方向朝阴极运动。据报道，向入口瓶中的 BGE 施加轻微的压力将有利于 EOF 并将带相反电荷的分析物带至毛细管出口（这里是雾化器喷雾针）。

然而，对于特定的 CE 分离，可能不希望存在 EOF。对于这种情况，毛细管必须具有永久性涂层，使表面保持中性和亲水性，从而抑制 EOF 并最大程度减小溶质吸附。中性亲水涂层毛细管可从多家制造商订购。如需了解更多信息，请参见“CE 的毛细管、试剂和备件指南”（出版号 5991-5623CHCN）。

### 连续多层离子层

具有共价键合的永久性正电荷层或负电荷层的 CE 毛细管比较昂贵，尚未得到广泛应用。研究已证实，动态生成的管壁涂层在许多 CE 分析中同样可以很好地控制或消除 EOF。此外，这种涂层可使用标准熔融石英 CE 毛细管来实现，因此性价比极高。在最近发表的内容广泛且详尽的综述中，Lucy 等人<sup>13</sup> 和 Huhn 等人<sup>14</sup> 讨论了利用涂层和 BGE 添加剂来控制 EOF 的方法。

利用连续多层离子聚合物层 (SMIL) 动态涂覆熔融石英毛细管表面的方法已经很成熟。SMIL 使涂层易于生成、价格低廉、适用于各种缓冲液条件，并且不会干扰 MS 检测。

Katayama<sup>15</sup> 提出了 SMIL 涂覆程序。图 5 展示了该过程的示意图。

聚凝胺（溴化己二甲铵）是一种阳离子聚合物，通常用作阴离子硅醇基团的第一层涂层。用于第二层的阴离子聚合物包括葡聚糖硫酸盐和聚乙烯磺酸盐等。此外，还证明了具有阳离子表面的三层离子层。

SMIL 涂层优异的稳定性已经通过 BGE（覆盖宽 pH 范围、各种缓冲液类型和各种添加剂，且 BGE 中无需含有离子聚合物）得到了证实。在实践中，利用顶层离子聚合物足以间歇性地再活化毛细管涂层。因此，带有 SMIL 涂层的 CE 与质谱完全兼容，可实现与质谱的联用<sup>16</sup>。Analys SA 提供了各种 SMIL 试剂盒以供选择<sup>17</sup>。

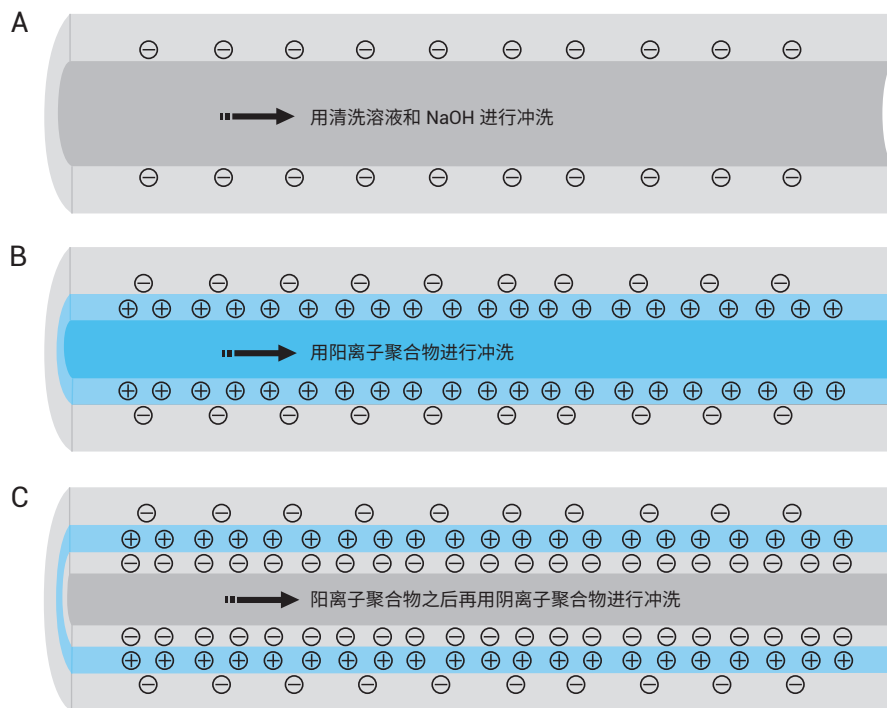


图 5. SMIL 涂覆程序。(a) 活化硅醇基团；(b) 第一层涂覆；(c) 第二层涂覆

## 毛细管安装与恒温控制

有关毛细管处理和安装在 CE/MS 卡盒中的详细信息，请参见第 14.2 节“将毛细管安装到 CE/MS 卡盒中”。

在 Agilent 7100 毛细管电泳系统中，除了入口和出口瓶中伸出电极的毛细管部分以外，其余部分的毛细管处于恒温状态。鉴于将 CE 毛细管与质谱仪上的雾化器连接时，需要连接两台仪器之间的距离，因此分离毛细管的一部分将处于不受温度控制的环境中。据报道，环境温度的波动会影响迁移时间精度<sup>18</sup>。

因此，将毛细管卡盒中的温度设置为实验室的平均温度。建议对实验室进行温度控制，并且应保护毛细管免受室内气流的影响。

如第 14.2 节“将毛细管安装到 CE/MS 卡盒中”中所述，使用 PTFE 管以实现电绝缘。该 PTFE 管在一定程度上还用于隔离分离毛细管。

## 9.4 电场和极性

在 CE 中，使用双极性 DC 电源来施加高达约 30 kV 的电压。Agilent 7100 毛细管电泳系统的电源可提供高达 300  $\mu$ A (9 W) 的电流。将电压施加至入口瓶中的电极。当施加正电压时，入口瓶中的电极将是阳极。使用未涂渍熔融石英毛细管时，EOF 将朝向出口方向。三重管接口中的喷雾针将成为阴极并接地。

如果毛细管表面带正电荷，则必须在入口侧施加负电压，以使 EOF 朝向毛细管出口。然后，入口瓶中的电极将变成阴极，而雾化器喷雾针成为阳极并且同样连接至地电位。

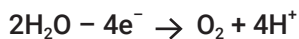
关于在 CE/MS 中使用三重管接口时的电场施加，以实现优异的毛细管电泳系统运行，相关建议可参阅安捷伦科技公司基础导论“高效毛细管电泳”（出版号 5990-3777EN）第 3.1 节。

但是用户应当注意一些重要事项，这些事项将在以下章节予以讨论。

## 电极反应

需要注意的是，在 CE 分离过程中，DC 电流一直在流动。该电流由 BGE 中的电解质离子携带。在电极处，电荷通过氧化还原半反应从溶液转移到电极。在 CE 中，电极通常由贵金属（如铂或钯）制成。

在正极性模式下，当入口电极为阳极时，水被氧化。而在作为阴极的出口处，水被还原。对应的半反应为：



在反极性模式下，入口侧电极成为阴极，而出口瓶中的电极则相反。半反应也相反。

Agilent 7100 毛细管电泳系统的电极由内径为 0.5 mm 且外径为 1.0 mm 的贵金属管制成。材料为铂/钯合金。该合金的惰性高于水，因此不会发生改变或腐蚀电极的电流过程。

在 CE 中，用户必须意识到这些电解过程，并在多次运行后更换这些样品瓶或补充其内容物，因为样品瓶中 BGE 的 pH 值最后可能会发生变化。在 CE/MS 中，在正极性模式下，喷雾针处的水被还原。在 CE 毛细管和雾化器喷雾针之间的环形空间内将形成微小的气泡，这些气泡将由鞘液从雾化器的开口端冲出。

由于喷雾针由不锈钢制成，因此在反极性模式下（当毛细管表面为阳离子表面且 EOF 由 BGE 中的阴离子携带时），雾化器喷雾针将成为阳极。由于铁和镍的惰性不及水，因此将观察到喷雾针中的铁和镍被氧化生成相应的阳离子  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$ ，而不是水被氧化<sup>19</sup>。这些离子将与 EOF 相反的方向逆流进入 CE 毛细管中，并可能形成不溶性氧化物，这些氧化物会阻碍 EOF 并最终堵塞毛细管。另外，电喷雾的稳定性和 MS 检测的灵敏度将受到不利影响。

在这些条件下，作为一种补救措施，建议使用铂喷雾针（部件号 G7100-60041）。有关更换不锈钢喷雾针的说明，请参阅第 22.1 节“CE/MS 雾化器工具包的组装”中所述的步骤。

## 二极管阵列检测器的准直接口

在使用安捷伦 CE/MS 系统时，用户可能会选择让所有溶质在进入三重管雾化器之前首先通过二极管阵列检测器 (DAD)。尽管 DAD 检测的灵敏度低于 MS 检测，但是已经证实，在 CE/MS 分离方法开发中使用 DAD 具有重要价值。在毛细管电泳系统中使用 DAD 时，检测点在 21.5 cm 处，与三重管雾化器相距 80 cm。

CE 分离的分析时间与毛细管总长度的平方成反比。因此，在 CE/MS 中使用 DAD 时，分析时间会延长。

但是，在 CE/MS 中使用 DAD 还会产生一个重要的结果。在检测点处，CE 毛细管的电压降约为 20%。尽管电流位于毛细管内部并且熔融石英是一种优良的绝缘体，但是偶尔会观察到从金属准直接口到接地的检测器外壳的电弧。毛细管壁或外部涂层的细小缺陷或损坏可能是导致这些现象的根本原因。在正常 CE 操作中，在检测点处，电压已经降低了 80%–90%，减小了这一问题造成的影响。

在 CE/MS 中，为最大程度减少这些问题，建议使用 PEEK 准直接口。该接口将 CE 毛细管与检测器外壳进一步隔离。基于上述原因，在 CE/MS 中不建议使用扩展光程（鼓泡池）CE 毛细管和高灵敏度检测池。

## 9.5 进样方法

配备分光光度检测的 CE 是一种浓度敏感型分析方法。由于 CE 中光学检测的光程较短，样品溶液中溶质的检测下限为 10 μmol/L 级别。原则上，借助质谱检测，除了能够提供结构信息，还将使 LOD 降低 10–100 倍。

在 CE 中，样品可通过 EOF（场驱动）或液流（压力驱动）引入。在 CE/MS 中，CE 分离毛细管的首选进样方法是压力进样。通常，样品体积处于纳升级别，并且可使用以下公式进行计算：

$$V_{inj} = \frac{\Delta P \cdot d_c^4 \cdot \pi \cdot t_{inj}}{128 \eta \cdot L}$$

$\Delta P$ : 进样过程中的平均压降

$d_c$ : 毛细管内径

$t_{inj}$ : 进样时间

$\eta$ : 样品溶剂的粘度

$L$ : CE 毛细管的总长度

进样区带的长度达几毫米。与 HPLC 进样方法相比，在 CE 中，用户无法在不损失分离效率的情况下增加样品体积。无论检测方法的灵敏度如何，在 CE 中采用更大的进样体积都会导致区带增宽，而不是峰高增加。

在 CE 中，增加毛细管内径似乎是提高进样体积的一种有用方法。但在增加毛细管内径的同时，电流将按直径的平方增加，并且焦耳加热效应也会增强。宽内径熔融石英毛细管的热传导很慢，这将导致径向温度分布不均匀，从而造成样品区变形。

在 CZE/MS 中，建议始终使用压力进样。对于 CGE 分离以及本章“[电动样品预浓缩](#)”一节中提到的电动样品预浓缩，建议采用电场驱动的进样方法。

### 进样和交叉污染

如第 9.4 节“[电极反应](#)”中所述，使用柱形管电极（外径为 1.0 mm，内径为 0.5 mm）。虽然这是一种稳定的设计，并且当暴露在样品瓶外部时能够保护分离毛细管，但是此配置存在较小的样品交叉污染风险。当样品瓶与 BGE 交换并且样品溶液残留于毛细管和电极壁之间的环形空间内时，则可能发生交叉污染。可采用故障排除程序以最大程度减小这种交叉污染，请参阅第 20 章“[故障排除](#)”。

### 电动样品预浓缩

为了通过增加进样体积来提高 CE 的灵敏度，需要像 HPLC 中的固相萃取 (SPE) 一样减小进样区带的体积。SPE 在 CE 中的应用有限，因为在 CE 毛细管中集成较短的填充颗粒区相当繁琐。

利用电动聚焦可实现对长进样区带的压缩。多种电动进样程序已在 CE 中得到广泛应用。这类方法的概述可参见[安捷伦科技公司基础导论“高效毛细管电泳”](#)（出版号 5990-3777EN）第 3.2.3 节。Breadmore 和 Sanger-van de Grient 最近发表了一篇关于这些方法的综述<sup>20</sup>。该综述中所述的方法并非全都适用于 CE/MS 中的样品浓度。其中一些方法在样品或 BGE 中使用了添加剂，这在使用 MS 进行检测时应当避免。在 CE/MS 中，建议使用表 1 中所列的预浓缩方法。

这类方法的详细信息可参见参考文献和[安捷伦科技公司基础导论“高效毛细管电泳”](#)（出版号 5990-3777EN）第 65-72 页。

表 1. 推荐用于 CE/MS 的预浓缩方法

电场驱动的预浓缩方法	
场放大样品富集 (FASS)	通过压力进样。样品溶剂的电导率低于 BGE。样品区的场强较高，溶质移动速度快于 BGE。当它们到达具有更高电导率的 BGE 时，将发生减速并富集 <sup>21</sup>
动态 pH 界面法	样品溶剂具有与 BGE 不同的 pH。分析物在样品区具有较高的淌度，并在与 BGE 的边界处富集 <sup>22</sup>
pH 介导的 FASS	样品被夹在强碱和强酸之间。当施加电压时，OH <sup>-</sup> 和 H <sup>+</sup> 离子迁移通过样品区并中和，从而降低电导率。然后可实现富集 <sup>23</sup>
瞬间等速电泳 (tITP)	样品夹在具有较高淌度的同离子（前导电解质）和具有较低淌度的尾随电解质之间。当施加电压时，分析物按其淌度顺序排序 <sup>24</sup>
液相微萃取 (LPME)	单液滴微萃取：分析物被萃取到悬挂在毛细管尖端的有机小液滴中 <sup>25</sup> 。此方法可应用于商品化仪器，无需作任何修改
压力驱动的预浓缩方法	
毛细管内 SPE	毛细管内有一段多孔大颗粒组成的短区带。分析物萃取和洗脱类似于 HPLC <sup>26</sup>

### CE/MS 中的进样精度

与分光光度检测相比，ESI-MS 中的检测器响应取决于多种因素。这些因素包括离子形成过程、离子捕获和引入、磁场和电场聚焦以及碎裂过程。在实践中，溶液中离子响应的重现性优于 10% 时，视为重现性优异。

在许多毛细管电泳仪的实际应用中，通过压力进样引入 CE 样品的重现性明显更出色。在标样和未知样品中使用内标可消除进样过程的变异性。EOF 变异性和化合物的淌度可能导致峰面积产生波动。这种情况也适用于 MS 检测。理想情况下，当待测化合物有可用的同位素（例如，氘代）时，利用这些同位素将明显改善测定的精密度。

Schappeler 等人介绍了一种延迟标样进样方法，用于提高 CE/MS 的定量分析重现性并与 LC/MS 中使用的 ECHO 方法进行了比较<sup>27</sup>。他们对胰岛素样品进行了分析。在该方法中，首先进样已知浓度的标样，然后注入 BGE。接下来，对包含未知物的样品进样，开始运行。作者们发现进样重现性不够理想，于是向标样和未知样品中均加入了内标，以便对进样变异性进行校准。这些措施相结合，制剂中胰岛素测定的整体精密度达到了 2%。

## 9.6

### CE/MS 接口 — 离子源

如图 3 和图 4 所示，三重管雾化器连接到外壳，该外壳连接到质谱仪，使雾化器能够定位在 MS 进样口前方。带有雾化器以及电离过程中所需的所有其他部件的外壳被称为离子源。需要由外壳为 CE 分离和溶质电离过程中所用的电压提供安全的电气环境。此外，外壳能够用于设置温度，将喷雾与实验室环境中的干扰（气流、温度变化）隔离并以受控且安全的方式处置洗脱液废液。

安捷伦 CE/MS 系统使用的离子源与 LC/MS 所用的离子源相同。在 CE/MS 中，使用三重管接口雾化器代替标准 LC 雾化器。在安捷伦 LC/MS 和 CE/MS 系统之间进行切换只需更换雾化器即可（添加鞘液泵除外，请参见第 15 章“准备 Agilent 1260 系列泵和真空脱气机”）。

## 9.7

### 电离类型 — ESI、APCI 和 APPI

安捷伦离子源主要有两种类型：标准离子源和喷射流离子源。在后一种离子源中，热鞘气使喷雾羽流变窄，这对于 LC/MS 中所用的较高流速而言尤为重要。有关更多详情，请参阅[安捷伦科技公司技术概述“安捷伦喷射流热梯度离子聚焦技术”](#)，出版号 5990-3494EN。

标准离子源有不同的型号，支持四种不同的大气压电离技术：

- 电喷雾电离 (ESI)
- 光电离 (APPI)
- 化学电离 (APCI)
- 双模式电离（APCI 和 ESI 组合在一个离子源中）

要使用安捷伦离子源上的 CE/MS 雾化器实现 APPI 和 APCI，需要使用适配器。该适配器根据要求免费提供。请联系当地的安捷伦客户服务中心。

根据设计，安捷伦喷射流离子源仅适用于 ESI。因此，原则上，有五种 LC/MS 离子源可用于 CE/MS。但是，存在一些实验限制因素，这些限制因素将在第 10 章中予以详细讨论。

电离模式的详细介绍超出了本指南的范围。有兴趣的读者可以参阅 MS 相关教材。

由于 CE 分离主要处理带电、可电离和/或高极性物质，因此用户通常会选择使用 ESI。APPI 和 APCI 离子源更适用于中性和低极性分子的电离，并在 LC/MS 中表现出独特的优势，例如，用作质量流量敏感型检测器而非像 ESI 那样对浓度敏感。此外，APPI 和 APCI 更不容易受到基质效应或离子抑制的影响。因此，这些电离方法可能更为准确。

在 CE/MS 中，在特殊情况下也使用 APPI 和 APCI 离子源。例如，Markides<sup>28, 29</sup> 等人和其他一些研究人员<sup>30, 31</sup> 表示，CE/APPI-MS 是电喷雾电离的一种有效可行的替代方案。该方法尤其适用于 MEKC 分离，因为电离过程不会受到表面活性剂的影响。De Jong 等人<sup>32</sup> 利用 CE/APCI-MS 得到了类似的结果。两个研究组均使用安捷伦离子源进行 APPI 和 APCI。有关更多详情，请参阅引用的文献。

## 9.8 鞘液组成和输送

如第 9.2 节“BGE 的组成”中所述，鞘液在安捷伦三重管雾化器 CE/MS 接口中至关重要。鞘液能够与喷雾针电极进行液体电连接以实现 CE 分离，并产生形成电喷雾所需的电压。为实现该接口的正确运行，鞘液必须以恒定的流速输送 (1–10  $\mu\text{L}/\text{min}$ )。通过这种方式，可以保持电喷雾不受 EOF 大小和方向的影响。较低的鞘液粘度、较低的表面张力和高蒸气压可产生强大且高度稳定的电喷雾。

除前文提到的鞘液的两项基本功能以外，使用鞘液还可以进一步扩展 CE/MS 的通用性。例如，通过选择低 pH 或高 pH 鞘液，分析物的电荷状态将变为明确的正（阳离子）或负（阴离子）。通过这种方式，能够将分子以阴离子形式分离，但在电喷雾中将其电离为中性、极性分子或阳离子。

最近发表的研究详细介绍了喷雾中增强蛋白质荷电的化学反应<sup>33</sup>。

此外，鞘液可以包含低浓度参比化合物以校准质量轴，或包含有助于进行 APPI 电离的添加剂。

## 推荐的鞘液

鞘液通常由 50:50 的挥发性有机酸或碱水溶液与有机改性剂（如甲醇或异丙醇）组成。这些溶剂有助于形成喷雾。不建议在鞘液中使用乙腈。研究发现，熔融石英 CE 毛细管外侧的保护性聚酰亚胺层长期暴露于乙腈（尤其是在高浓度下）下会发生溶胀。因此，鞘液中的乙腈可能会导致聚酰亚胺残留物堵塞分离毛细管，影响喷雾形成并且最终可能导致雾化器中暴露的熔融石英毛细管破裂。

此外，乙腈是一种非质子溶剂，无助于质子化，因此与鞘液中的醇类相比，使用该溶剂得到的信号强度较低。

在阳离子的 CE/MS 检测中，在鞘液中使用低分子量有机酸（如甲酸或乙酸）。此外，在阴离子的 CE/MS 检测中，在鞘液中使用氢氧化铵或叔胺类。鞘液还可含有挥发性缓冲液（如乙酸铵或甲酸铵）以实现低 pH、中性或高 pH 缓冲。表 2 概述了推荐的鞘液。

表 2. 推荐的鞘液概述

分子电荷	推荐的鞘液*
阳离子（正离子 ESI）	50% 甲醇或异丙醇，含： 0.1%–1% 甲酸或乙酸 5–20 mmol/L 甲酸铵或乙酸铵
阴离子（负离子 ESI）	50% 甲醇或异丙醇，含： 5–20 mmol/L 甲酸铵或乙酸铵/甲醇或异丙醇 1:1 0.1%–1% 氢氧化铵/甲醇或异丙醇 1:1**
备注	* 按 pH 增加的顺序列出溶剂 ** 氢氧化铵溶液可能会失去氨并改变 pH 值 一般来讲，建议每周更换一次鞘液

当使用 TOF 或 Q-TOF 质谱仪代替在 LC/MS 模式下使用参比质量雾化器时，可以将参比质量化合物加入鞘液中。安捷伦建议使用安捷伦参比质量混合物（部件号 G1969-85001）的嘌呤和 HP-0921 作为参比质量。将各种参比质量化合物加入鞘液所用的甲醇溶液中。

尤其是在使用 APPI 时，将易于光电离并可将其电荷转移到分析物中的物质加入鞘液中。这类添加剂称为掺杂剂，例如丙酮或苯甲醚。

## 鞘液输送

如前文所述，鞘液以 1–10  $\mu\text{L}/\text{min}$  的流速输送。根据许多研究小组的报道，通常情况下，ESI 接口可视为浓度敏感型检测器。因此，峰面积与鞘液流速成反比，并且鞘液流速应尽可能低。根据经验，最佳的鞘液流速为 4–6  $\mu\text{L}/\text{min}$ 。当使用更高的鞘液流速时，溶质的稀释倍数将会增加，因此灵敏度也会降低。

鉴于 5  $\mu\text{L}/\text{min}$  的体积流速可能比 EOF 高 50–100 倍，因此预计溶质离开 CE 分离毛细管时的浓度被稀释 50–100 倍。然而，在实践中，已经观察到鞘液的有利（对于 ESI 而言）组成抵消了部分稀释效应。

除鞘液导致的稀释以外，典型的鞘液流速过高将导致无法获得 CE/MS 作为纳升级流速分离方法的优势。真正的 50 nL/min 及更低的纳升级流速可实现纳流电喷雾电离过程，该过程可明显增强响应。

同轴鞘液输送的优势概括如下：

- 提供与喷雾管的稳定湿式电连接，该喷雾管具有用于 CE 和 ESI 电压的共地连接
- 使喷雾形成不受电渗流及其大小的影响
- 可选择溶剂鞘液组成以提供喷雾形成的最佳条件，从而降低稀释效应
- 通过气动辅助获得稳定的喷雾
- 实现喷雾内化学反应，如（去）质子化、衍生化或电荷转移 (APPI)，并可提供质量校准标样

安捷伦建议使用 Agilent 1260 Infinity II 等度泵代替注射泵，通过分流输送鞘液（参见图 3 和图 4）。一般而言，注射泵可提供所需的流速（并且成本更低），但经验表明，注射泵的流速稳定性并不能达到要求，导致 MS 检测过程中产生额外的噪音和鬼峰。此外，1260 Infinity II 等度泵包括对鞘液进行脱气，可实现长时间无人值守操作。

## 9.9

### 操作参数 — 雾化气体压力、干燥气温度和流速

如第 6 章“液相分离与质谱联用”中所述，喷雾过程的气动辅助是获得稳定强大的喷雾的重要因素。在实践中，多个研究小组已经发现，雾化气流对 CE 毛细管中的液体施加轻微的吸力，建立朝向毛细管出口的液压流<sup>34, 35</sup>。由于毛细管中的液压流形成抛物线型溶剂流速分布，因此将发生额外的区带增宽，并观察到分析物区带的效率降低。

需要采取预防措施以最大程度减小这种效应，并避免在操作样品和 BGE 样品瓶的过程中毛细管变空。

例如，可通过在入口瓶上施加负压来减小液压流。在实践中，负压将以 10 mbar 的增量增加，直至通过紫外检测确定重新获得了峰分离效率并且 EOF 回到原始值<sup>36</sup>。

使用内径为 50  $\mu\text{m}$  或更小的窄毛细管和/或更长的毛细管也将减小这种效应。另外，需要确保在进样过程中减小雾化气体流速以免在进样周期内吸入气泡。

建议指定 CE 进样过程中低雾化气体压力的时间程序。

为协助离子源中的蒸发过程，MS 将输送加热的气体至喷雾处。该气体称为干燥气，温度通常在 100–200 °C 之间。有必要提到一种预防措施。在低流速下，应将干燥气流速设置为较低的值，因为过高的干燥气流速会导致小喷雾不稳定。

## 9.10

### 电喷雾电离电压

由于三重管雾化器接地，电喷雾电离的电压由质谱仪提供。因此，在分析来自喷雾的带正电荷的离子时，必须将电喷雾电压设为负值。相反，在分析来自喷雾的带负电荷的离子时，将电压设为正值。

在实践中，系统将要求用户选择正离子或负离子模式进行检测。需要意识到，在将电喷雾电压施加到喷雾针的 LC/MS 或 CE/MS 系统中，这将是相反的状态。对于正离子 MS，电喷雾电压为负，反之亦然。

此配置的另一个重要结果是 MS 进样口毛细管的制造材料（参见图 6）。为确保 ES 电压与 MS 保持绝缘，在安捷伦质谱仪中该毛细管由玻璃制成。否则，该毛细管为金属毛细管。

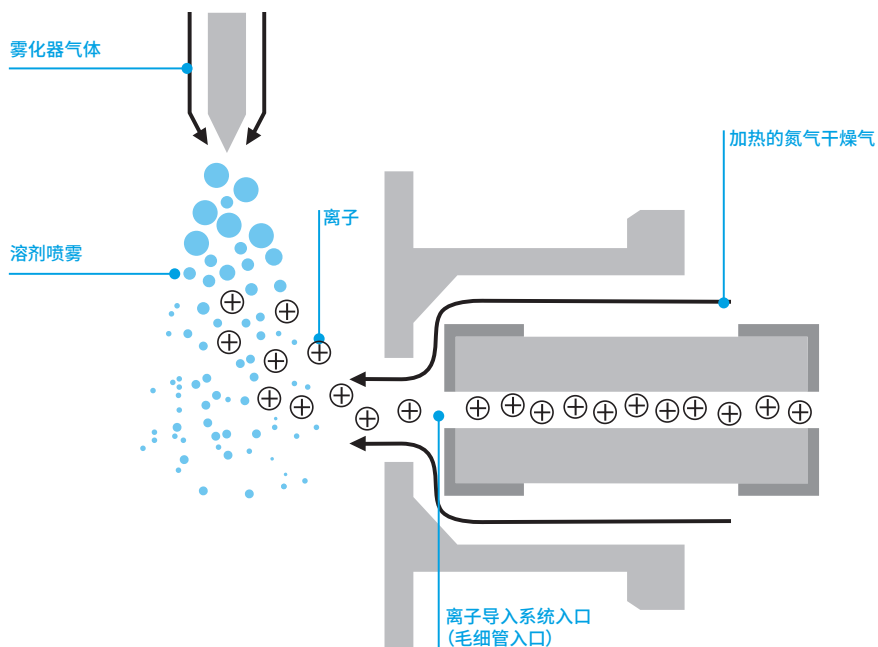


图 6. 干燥气的作用

# 第 2 部分 CE/MS 实践

第二部分重点介绍 CE/MS 实践。本章从包括软件配置在内的常规设置入手，随后将详细介绍安捷伦三重管雾化器的安装。

最后几节重点介绍了一些 CE/MS 方法示例以及维护和故障排除指南。

## 10 CE/MS 实践

Agilent 7100 毛细管电泳仪可与安捷伦飞行时间、三重四极杆或四极杆飞行时间系列液质联用系统联用。图 7 中显示了这些系统之一的代表性图片。

Agilent InfinityLab LC/MSD 系列系统通过 Agilent OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件 (M8301AA) 控制，并配有用于 OpenLab CDS 的 CE 驱动程序 (M8501AA) 和 MS 驱动程序 (M8361AA)。其他安捷伦质谱仪 (6200、6400 和 6500 系列系统) 通常通过 Agilent MassHunter 软件进行控制。

以下段落将针对 7100 毛细管电泳仪与 6000 系列液质联用系统的设置及连接的常见方面和特殊方面进行详细介绍。此处提供了 Agilent InfinityLab LC/MSD 系列系统的液压和电气连接的图示。提供了安捷伦飞行时间、三重四极杆或四极杆飞行时间系列液质联用系统的实际情况差异，但是它们并没有本质的不同。

由于配备 OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件的 Agilent InfinityLab LC/MSD 系列系统与 MassHunter CE/MS 系统差异较大，因此它们的设置将在单独的章节中予以介绍。

- 第 11 章 “安捷伦 CE/MS 系统的常规设置”
- 第 12 章 “利用 Agilent OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件设置安捷伦 CE/MS 系统”
- 第 13 章 “利用 Agilent MassHunter 软件设置安捷伦 CE/MS 系统”

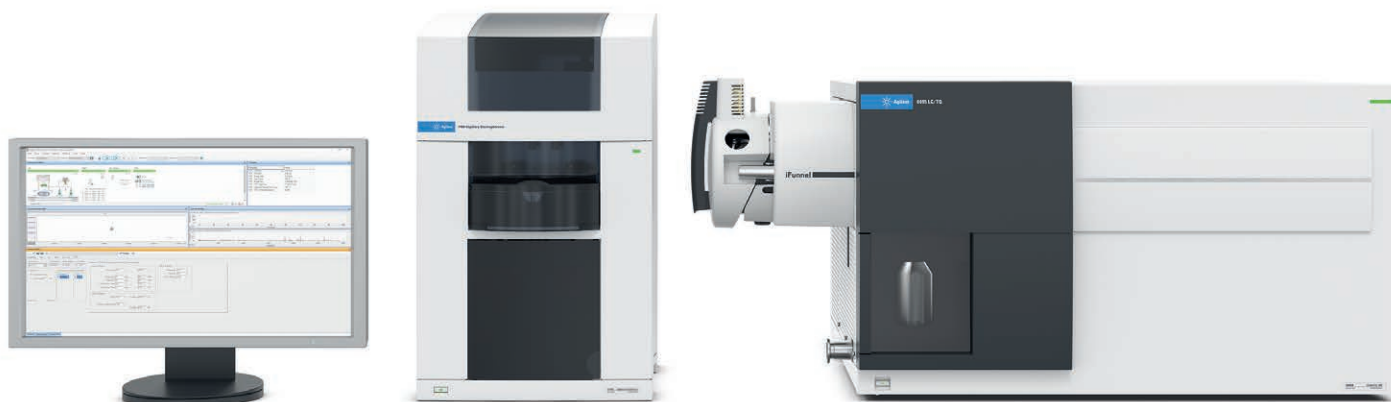


图 7. Agilent 7100 毛细管电泳系统和 Agilent G6495B 三重四极杆液质联用系统

此处并未介绍 7100 毛细管电泳系统和 Agilent InfinityLab LC/MSD、飞行时间、三重四极杆和四极杆飞行时间系列液质联用系统的初始设置。这些设置在其他文档（例如，7100 毛细管电泳系统用户指南和单独的 6000 系列液质联用系统安装指南，其出版号可在安捷伦网站 [www.agilent.com](http://www.agilent.com) 上找到）中有详细描述。

如果您的安捷伦 CE/MS 接头工具包和 CE/MS 雾化器工具包将由安捷伦服务工程师或安捷伦认证的服务提供商进行安装，请转到第 14 章“[安装毛细管和 CE/MS 卡盒](#)”。

将 7100 毛细管电泳系统连接到非安捷伦质谱仪所需的所有附件和文档均由相应的供应商负责提供，此处不再讨论。

# 11 安捷伦 CE/MS 系统的常规设置

## 11.1 调平毛细管电泳仪和质谱仪

在设置 CE/MS 系统时，应将两台仪器靠近放置，以最大程度减小连接它们的分离毛细管的总长度。将安捷伦 CE 置于高度可调的推车上，可简化位置调整或更换为 HPLC 系统的过程（图 8）。

一般来讲，毛细管入口瓶中的缓冲液液位应与毛细管出口瓶中的缓冲液液位处于同一高度，以免发生虹吸。在 7100 毛细管电泳仪中，入口瓶中的毛细管在台面上方 365 mm 处终止。加上缓冲液填充高度 15 mm，总高度为 380 mm。三重管雾化器中的出口毛细管必须与入口瓶中的缓冲液液位处于同一高度。如果该高度低于入口瓶，将会发生朝向出口的虹吸流。相反，当雾化器中的毛细管高度高于入口瓶中缓冲液的液位时，毛细管将被排空。

将 7100 毛细管电泳仪和 Agilent InfinityLab LC/MSD 系列放置在同一工作台上，将导致雾化器中的出口毛细管末端比入口毛细管末端低 70 mm。使用高度低于 MS 工作台且高度可调的推车或桌子，可简化调平设置。或者，将工作台上的 MS 抬高 70 mm。

对于安捷伦其他型号的 LC/MS，雾化器的高度可能有所不同，如图 9 所示。

7100 毛细管电泳仪的盖板右侧有一个 T 形标志（图 10），它表示电极所处的高度，可用作调整的参考。



图 8. 灵活的工作台 (ionBench BCHLC4575) 使毛细管电泳仪的高度调节更简单。照片由 ionBench (3 route de Chamvres, 89300 Joigny, France) 提供

MS 型号		与 G1600/G7100 的高度差 X [mm]
SQ	G6125CA, G6125BA, G6135CA, G6135BA	70
TOF	6230	26
QTOF	G6500 系列	55
QqQ	G6400 系列	55



图 9. 安捷伦液质联用仪的雾化器高于台面的高度

## 11.2 准备 7100 毛细管电泳仪的 CE/MS 出口

7100 毛细管电泳仪外表面右侧有一个活动密封件（或锁扣），它可以向下滑动（图 10）。该开口用于用户安装 CE/MS 毛细管卡盒。

在准备仪器时，请执行以下操作：

1. 打开仪器顶盖
2. 将活动密封件（或锁扣）稍稍向内弯曲
3. 向下移动该密封件（或锁扣）直至机械停止

注：不要将活动密封件（或锁扣）从仪器中取出

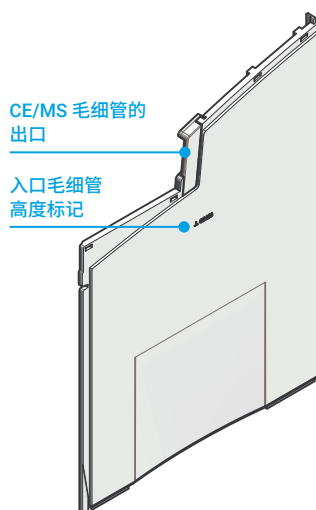


图 10. Agilent 7100 毛细管电泳仪的右侧

## 11.3

### 7100 毛细管电泳仪后面板的连接

#### 安装接地电缆

CE/MS 接头工具包中提供了用于将两台仪器连接到共用接地的电缆。

1. 将带有电缆接线头的一端连接到 7100 毛细管电泳仪背面电子设备盒的螺钉上 (图 11)
2. 将带有鳄鱼夹的另一端连接到离子源的金属部分或者已安装的 ESI 雾化器

#### 建立与 Agilent InfinityLab 泵的 CAN 连接

1. 将 CAN 电缆插入 7100 毛细管电泳仪背面电子设备盒的 CAN 插槽中 (图 11)
2. 将另一端连接到位于附近的等度泵的 CAN 插槽

注：不要混淆 CE 上的 LAN 和 CAN 适配器插槽。连接错乱可能会损坏电子设备

#### 建立与质谱仪的远程控制连接

1. 将远程启动控制电缆插入 7100 毛细管电泳仪背面电子设备盒的相应插槽中 (图 11)，该插槽标有 Remote (远程) 字样
2. 将远程电缆的另一端连接到质谱仪的相应插槽 (图 12，其他 6000 MS 系列类似)

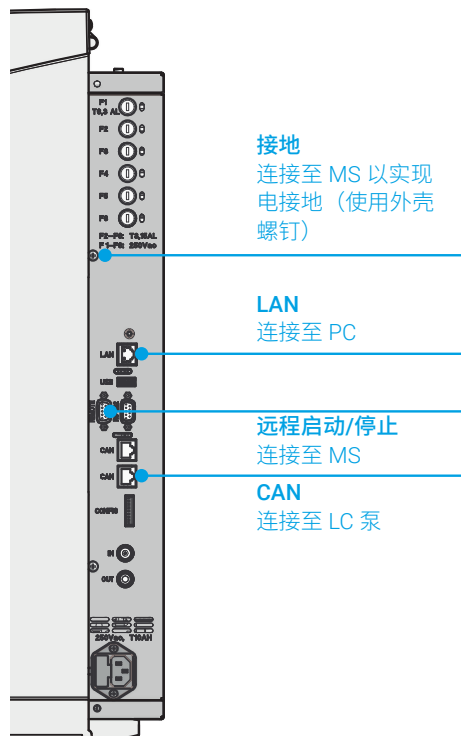


图 11. Agilent 7100 毛细管电泳仪背面的连接

## 准备 CE/MS 系统的 LAN 通信

通常，控制 CE/MS 系统的 PC 具有两个 LAN 卡。其中一个用于控制 7100 毛细管电泳仪。另一个常用于将计算机连接到局域网。

1. 将 LAN 电缆插入 7100 CE 背面电子设备盒的相应插槽中（图 12），该插槽带有 LAN 标签
2. 将 LAN 电缆插入质谱仪的相应插槽中（图 12）
3. 将两台仪器的 LAN 电缆均连接到网络集线器
4. 将网络集线器连接到控制 PC 的相应的 LAN 卡

采用默认地址进行设置时，利用以下 IP 地址。有关偏离设置（例如在使用 BootP 服务时），请参见相应的安装说明。

MS 的默认 IP 地址为 192.168.254.12

CE 的默认 IP 地址为 192.168.254.11

PC 的默认 IP 地址为 192.168.254.1，子网掩码为 255.255.255.0，网关为 192.168.254.1（这是采集 PC 中的第二个 LAN 卡，在恢复映像上经过预配置）。

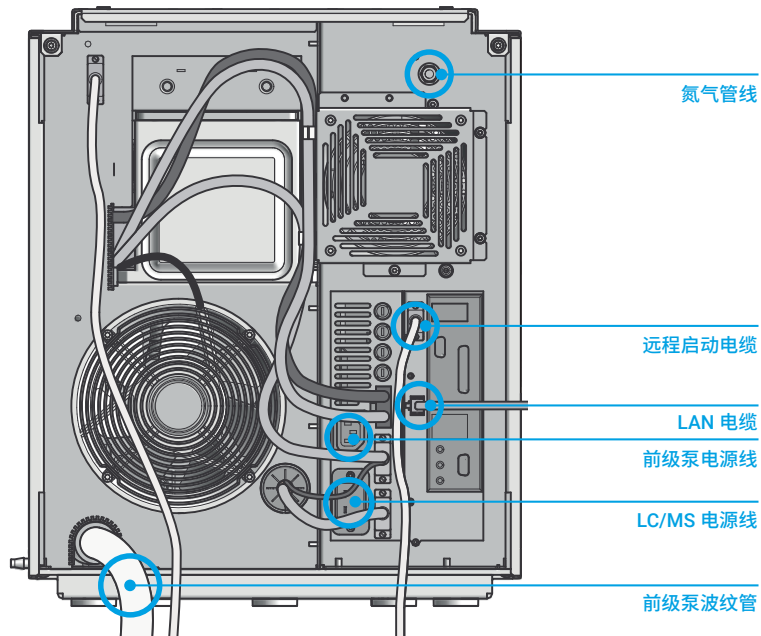


图 12. 作为示例的 Agilent InfinityLab LC/MSD 系统的背面（请参阅 MS 用户手册）

## 12 利用 Agilent OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件设置安捷伦 CE/MS 系统

此处提供的详细信息适用于使用 OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件来设置安捷伦 CE/MS 系统。有关将 7100 毛细管电泳仪与安捷伦飞行时间、三重四极杆或四极杆飞行时间系列液质联用系统联用的实验详情，请参阅第 13 章“利用 Agilent MassHunter 软件设置安捷伦 CE/MS 系统”。

### 12.1 安装 Agilent CE/MS ChemStation 软件附加模块

用于 CE/MS 的 OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件可以与 PC 一起订购，也可以单独订购与其他 PC 一起使用。如果未订购完整套装，请使用 ChemStation 安装指南或 Agilent InfinityLab LC/MSD 系列系统安装指南中的说明进行操作。Agilent CE/MS ChemStation 软件使您能够控制 7100 毛细管电泳仪、管理 CE/MS 方法、设置 CE/MS 运行序列、采集 CE/MS 数据以及运行数据分析。

以下步骤描述了设置 OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件的安装、配置和许可步骤。

1. 通过运行系统随附的 DVD 中的应用程序来安装软件
2. 运行系统配置检查器
3. 运行 OpenLab CDS Installation Wizard (OpenLab CDS 安装向导) (确保在选择要安装的产品时包含 I/O 库)
4. 连接到 [Agilent.Subscribenet.com](http://Agilent.Subscribenet.com) 并使用授权代码获取许可证号

许可证号通过 [SubscribeNet](http://SubscribeNet) 提供，可使用互联网地址 [Agilent.Subscribenet.com](http://Agilent.Subscribenet.com) 来访问 [SubscribeNet](http://SubscribeNet)。CE/MS 安装需要已安装的 I/O 库。安装完成后，将显示“Instrument Editor” (仪器编辑器)。

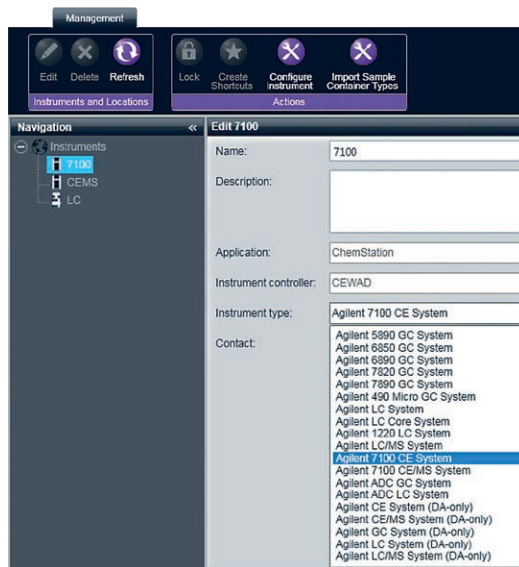


图 13. Agilent OpenLab CDS C.01.x (ChemStation 版)  
“仪器配置”界面



图 14. 许可证设置界面  
(Agilent.SubscribeNet.com)

## 12.2 配置 1260 Infinity II 等度泵

当泵通过 CAN 电缆连接到 7100 毛细管电泳仪时，可通过自动配置或在配置编辑器中选择性添加泵，在 ChemStation 中进行配置。建议使用自动配置。

1. 从 OpenLab “Control Panel”（控制面板）中，选择 “Configure Instrument”（配置仪器）
2. 转到 “Instrument Configuration”（仪器配置）界面，如图 15 所示。这在 ChemStation 启动过程中自动出现，或者需要您从 “Instrument”（仪器）菜单中选择 “Instrument configuration”（仪器配置）。将自动设置 7100 毛细管电泳仪的 IP 地址
3. 检查结果与图 16 所示是否一致。此示例中提供了四个模块（CE、DAD、等度泵和 MSD）
4. 启动仪器会话（在线）

**注：**必须使用该系统配置 DAD，即使您希望随后从 ChemStation 用户界面中将其删除。有关更多信息，请参见第 17.3 节 “不采用 DAD 的 CE/MS 分析的方法设置”

可选操作：如果您希望从配置编辑器中选择性添加等度泵，则需要执行以下操作：

5. 在“Configurable Modules”（可配置模块）列表中选择 IsoPump（等度泵）图标，参见图 17
6. 单击箭头，将模块移至“Selected Modules”（所选模块）
7. 选择“Selected Modules”（所选模块）列表中的 IsoPump（等度泵）图标。
8. 单击“Configuration”（配置）
9. 在“Communication”（通信）下，输入泵的序列号
10. 单击“OK”（确定）

如果从“Instrument”（仪器）>“Instrument configuration”（仪器配置）菜单开始编辑配置，则必须关闭并重新启动 ChemStation 的在线副本以激活设置。如果选择“Instrument”（仪器）>“More CE”（更多 CE）>“Instrument configuration”（仪器配置），则可以在不需要重新启动 ChemStation 的情况下更改仪器模式。

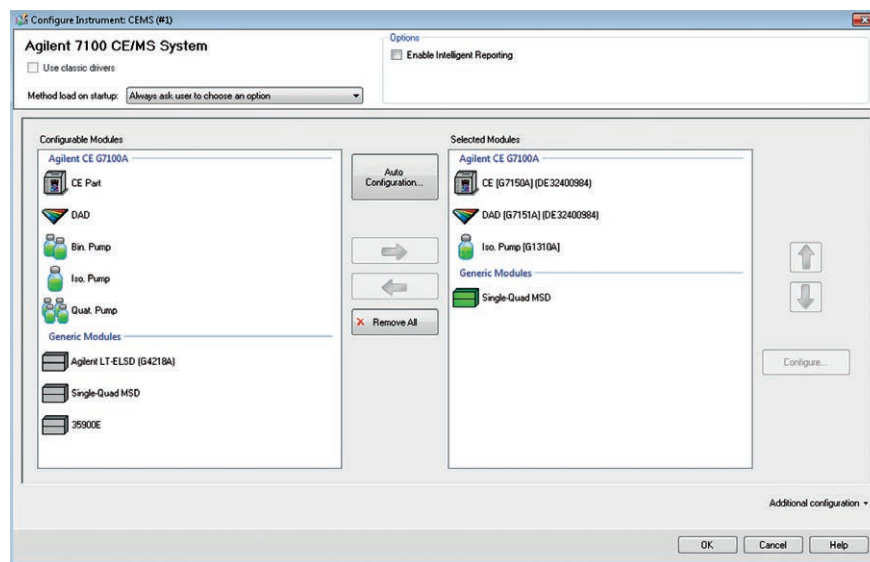


图 15. Agilent 7100 CE/MS 系统配置

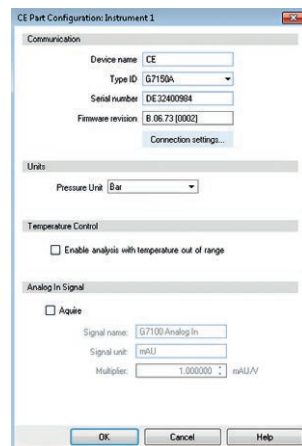


图 16. Agilent 7100 毛细管电泳仪的配置

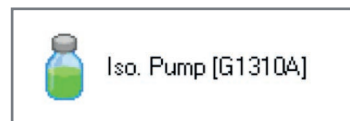


图 17. 在“可配置模块”列表中选择 IsoPump（等度泵）图标

## 12.3 配置 MS

1. 在“Configuration Editor”（配置编辑器）中，选择“Single-Quad MSD”（单四极杆 MSD），参见图 18
2. 在“Configure Selected Module”（配置所选模块）对话框中，单击“OK”（确定）以接受给定的 IP 地址
3. 关闭“Configuration Editor”（配置编辑器）
4. 下次启动该仪器的在线 ChemStation 时，将显示“MSD Configuration”（MSD 配置）对话框，参见图 19
5. 在“Configured Modules”（已配置模块）列表中，选择默认模块，然后单击“Remove”（移除）
6. 在“Available Modules”（可用模块）列表中，选择您的仪器型号，然后单击“Add”（添加）
7. 单击“OK”（确定）

有关如何启动仪器、如何平衡温度和真空以及如何首次 CE/MS 实验前执行自动调谐的信息，请参见 MS 手册。

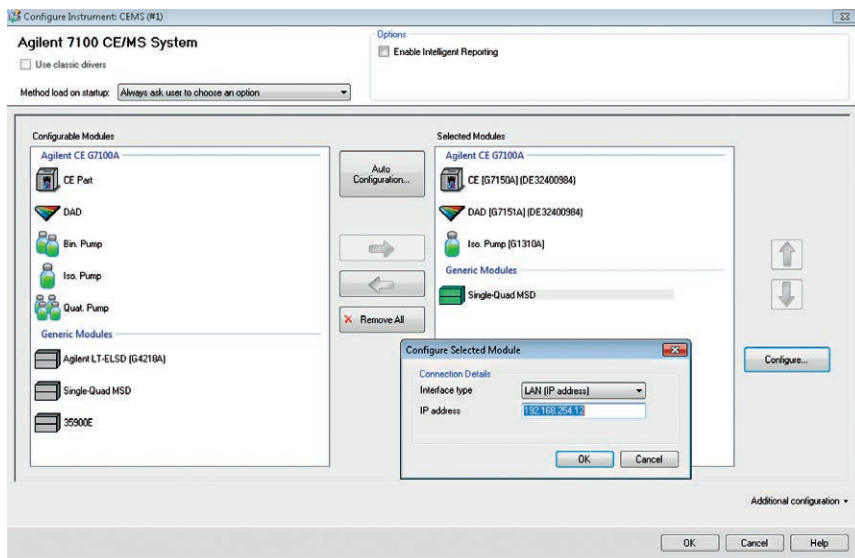


图 18. 在“配置编辑器”中选择“单四极杆 MSD”

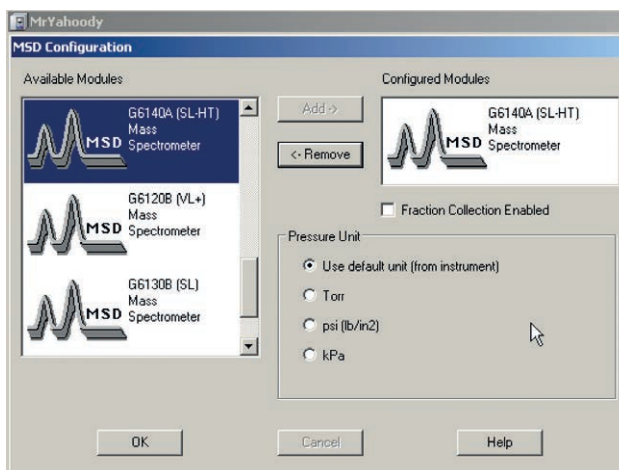
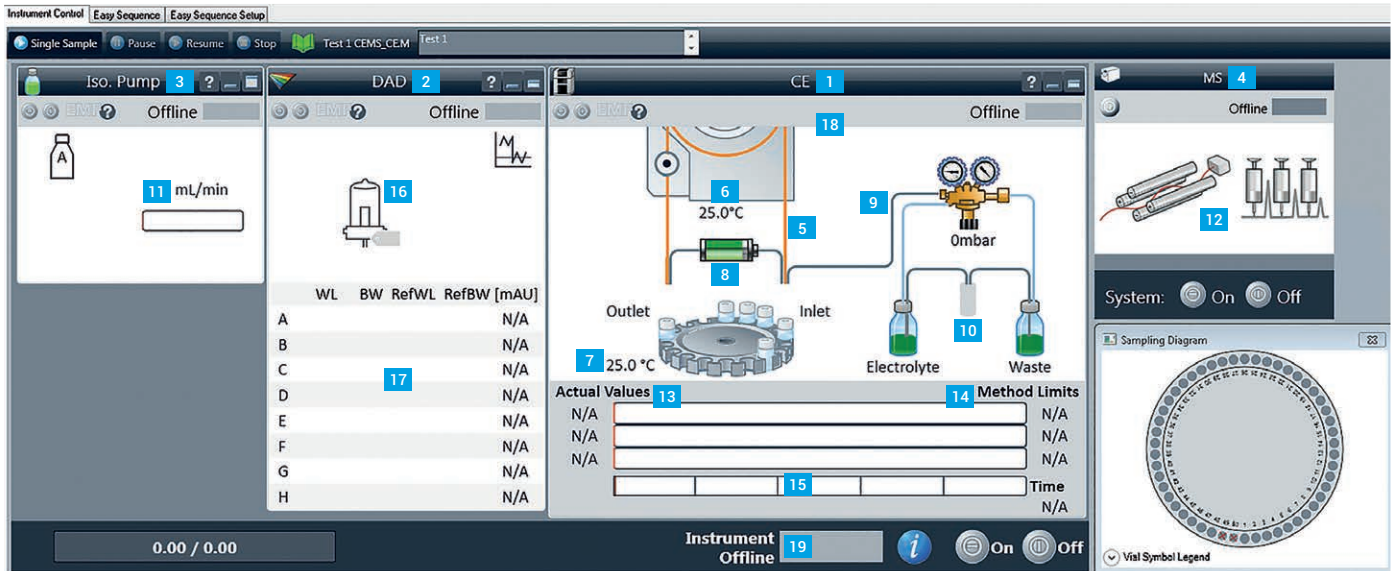


图 19. MSD 配置

## 12.4 图形用户界面的说明

CE/MS 系统中安捷伦毛细管电泳仪的核心组件显示在 CE 控制图（也称为“面板”）中，参见图 20。CE/MS 系统的所有其他组件（例如 DAD、泵或 MS）由单独的图表示。当前分析模式显示在 CE 控制图的顶行。可在仪器配置下进行选择的分析模式为 CE、CE+p、CEC 或 CE/MS。可以在“Instrument”（仪器）>“More CE”（更多 CE）>“Instrument Configuration”（仪器配置）下更改仪器的当前 CE 模式（参见图 20）。



- |                 |              |             |
|-----------------|--------------|-------------|
| 1 CE 控制图        | 8 高压电源       | 15 方法步骤和进度  |
| 2 DAD 控制图       | 9 内部压力       | 16 D2 灯     |
| 3 等度泵           | 10 补充工作站     | 17 检测器波长/光谱 |
| 4 MS            | 11 泵实际流速     | 18 仪器模式     |
| 5 入口升降装置/加载的样品瓶 | 12 MS 参数获取   | 19 总体仪器状态   |
| 6 卡盒温度          | 13 实际电气值     |             |
| 7 样品盘/样品盘温度     | 14 来自方法的电气参数 |             |

图 20. 包含 CE、DAD、泵和 MS 的 CE/MS 系统的用户界面

## 12.5

### 设置 CE 模式

尽管存在上述配置，但是您可能希望在其他 CE 模式下进行分析，诸如常规 CE 模式（例如，用于区带电泳）、CE+p（用于凝胶应用）或 CEC。对于这种情况，则无需转至 7100 毛细管电泳仪“Configuration”（配置）菜单（该菜单需要重新启动 ChemStation 以激活设置），参见图 15。您可以通过“Instrument”（仪器）>“More CE”（更多 CE）>“CE Configuration”（CE 配置）导航至选择性配置对话框，这无需重新启动 ChemStation（参见图 21）。

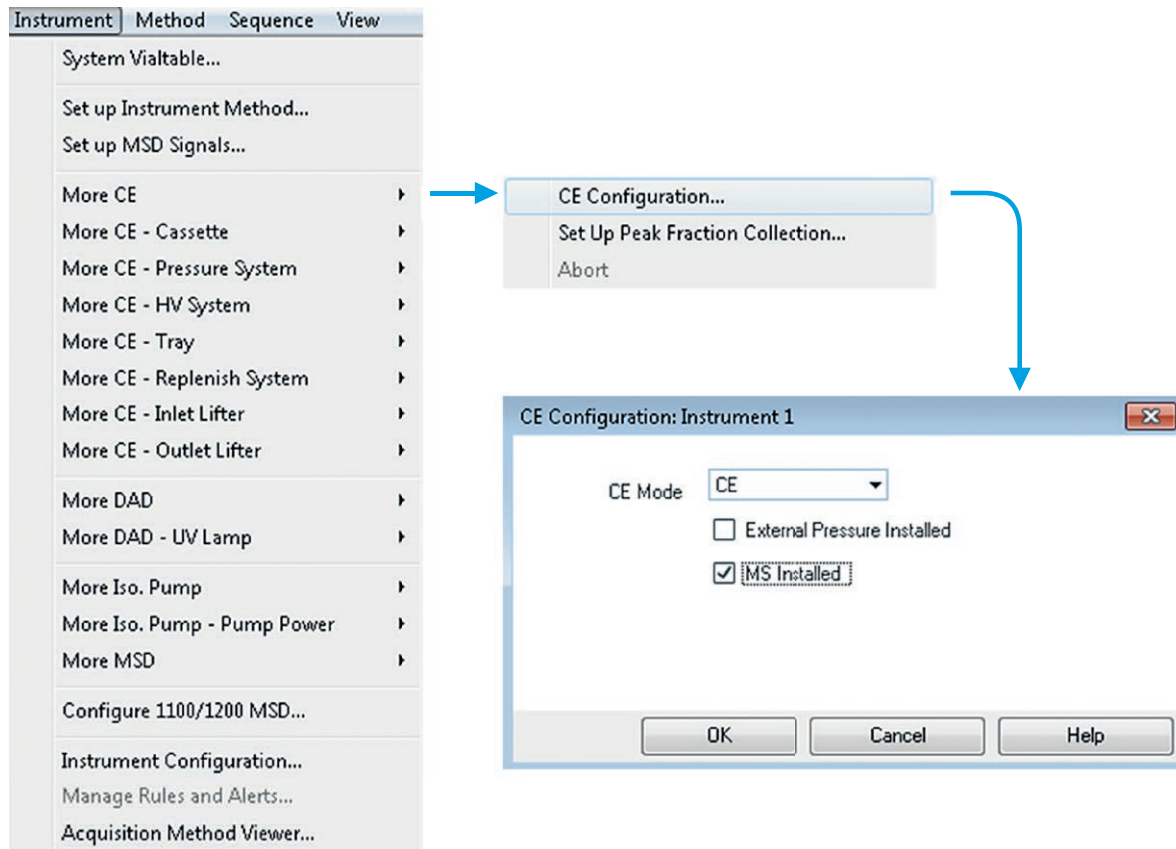


图 21. CE 模式的选择性配置

# 13 利用 Agilent MassHunter 软件设置安捷伦 CE/MS 系统

自用于 TOF/QTOF 的 B.05.01 版和用于 QQQ 的 B.06.00 版开始，Agilent 7100 毛细管电泳仪的驱动程序便集成在 Agilent MassHunter 软件中。整个 CE/MS 系统的配置通过“配置”工具完成。

1. 单击“Start”（开始）>“All Programs”（所有程序）>“Agilent”（安捷伦）>“MassHunter Workstation”（MassHunter 工作站）>“Acq Tools”（采集工具）>“Instrument Configuration”（仪器配置）
2. 在“Instrument Configuration”（仪器配置）界面中（参见图 22）：
  - a. 如果要更改仪器名称，请在“Instrument name”（仪器名称）下键入新名称
  - b. 选中“Mass Spectrometer”（质谱仪）复选框
  - c. 单击您所用的质谱仪
  - d. 选中“Agilent LC (1100/1200/1260/1290)/CE”（安捷伦 LC (1100/1200/1260/1290)/CE）复选框
  - e. 单击“Agilent CE System Access”（安捷伦 CE 系统访问）
  - f. 单击“Device Config”（设备配置）并配置 CE 系统（参见图 23）
  - g. 单击“OK”（确定）
3. 配置完成后，单击“OK”（确定）

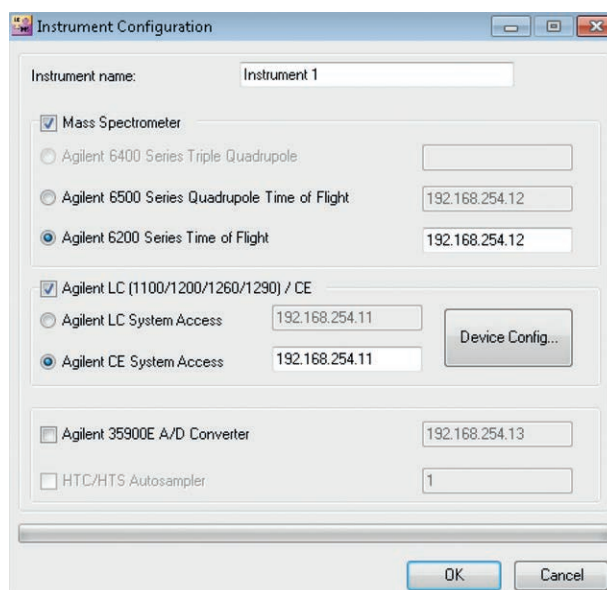


图 22. “仪器配置”界面

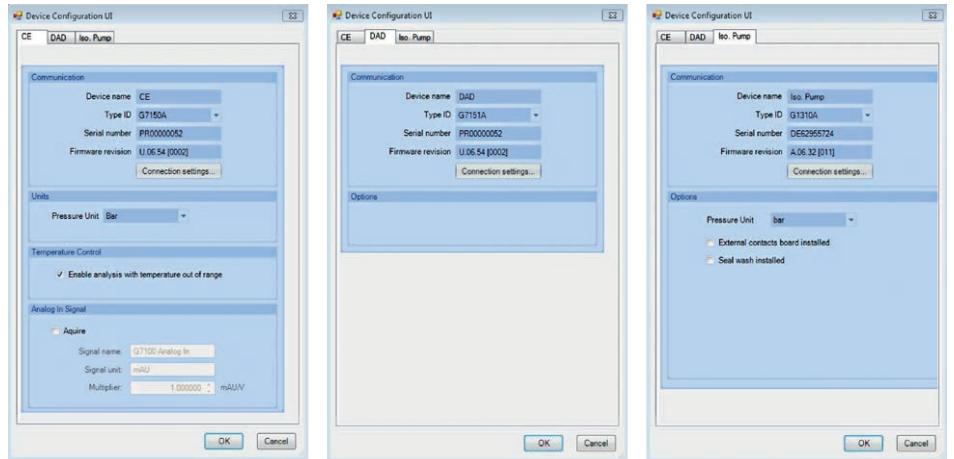


图 23. 毛细管电泳仪、DAD 和等度泵的设备配置界面

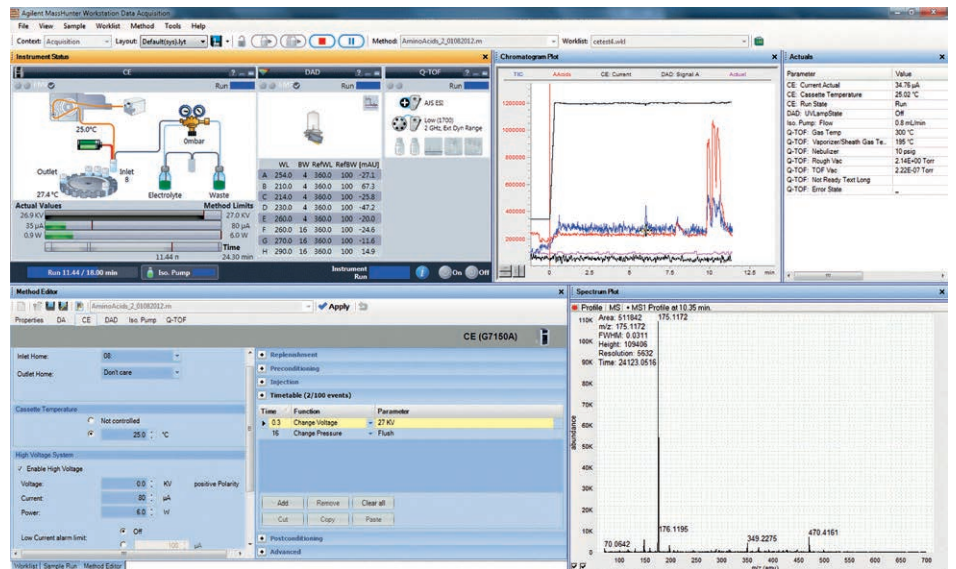


图 24. MassHunter 下的 CE/MS 系统图形用户界面

毛细管电泳仪的图形用户界面设置与 OpenLab CDS (ChemStation 版) 相同 (参见图 24)。对于可通过“Method Editor”(方法编辑器) 访问的方法设置界面也是如此。CE 和 MS 信号 (如 TIC、EIC、UV 迹线) 以及其他外部检测器 (例如, LIF) 的信号和参数 (如 CE 电流和电压) 可显示在色谱图中。在线质谱图以及质谱仪和其他液相色谱模块 (如等度泵) 的设置按照标准 MassHunter LC/MS 软件进行处理。

可以在“Tools”（工具）>“Device Configuration”（设备配置）下更改仪器的当前 CE 模式（参见图 25）。

在运行 CE/MS 工作列表时，了解“Worklist Run Parameter”（工作列表运行参数）-“Wait Time for Ready”（等待就绪时间）非常重要。该参数用于定义将方法设定值发送至仪器后等待各个设备准备好进样的最长时间（以分钟表示）。

如果设备在指定时间内未准备就绪，则运行停止并报错。这可以防止系统在出现问题时无限期地等待。确保将该值设置得足够长，以考虑到毛细管预活化所需的全部时间。存在一个“not ready timeout”（未就绪超时）参数。默认情况下，该参数通常为 10 分钟。但是，当预活化需要更长的时间时，系统将停止运行而不显示真正的错误消息。

如需更改“Wait Time for Ready”（等待就绪时间）参数，需要执行以下操作（参见图 26）：

1. 在 Agilent MassHunter 工作站数据采集软件中，单击“Worklist”（工作列表）>“Worklist Run Parameters...”（工作列表运行参数...）
2. “Wait Time for Ready”（等待就绪时间）(min) 位于选项卡“Page 1”（第 1 页）底部的“Run Settings”（运行设置）下
3. 键入所需的值
4. 单击“OK”（确定）

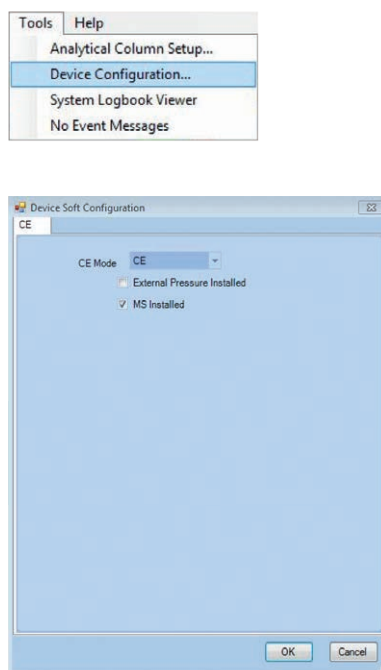


图 25. CE 模式的选择性配置

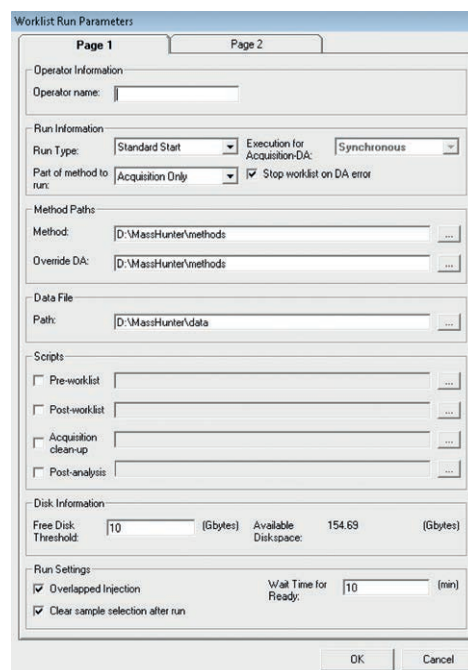


图 26. “工作列表运行参数”界面

## 14 安装毛细管和 CE/MS 卡盒

### 14.1 准备毛细管

用于 CE/MS 的未涂渍熔融石英毛细管（内径 50  $\mu\text{m}$ ，长 125 cm）可从安捷伦购买（部件号 G1600-67311，每包 2 根）。毛细管可配备紫外窗口（使用 MS 的同时使用紫外检测）或不配备紫外窗口（仅用于质谱分析）。安捷伦 CE/MS 毛细管在毛细管两端都去除了聚酰亚胺外部涂层。除下文所述的典型的初始碱性活化步骤以外，原则上可以在不进行进一步调整的情况下使用毛细管。然而，出于两个原因，可能需要调整毛细管长度：缩短分析时间和/或跳过 DAD 检测。

为实现更短的运行时间，与安捷伦质量选择检测器之间的毛细管连接可以更短。从上述 CE/MS 毛细管的长端最多切下 45 cm，剩余的长度至少约为 80 cm。小心不要过多地切短毛细管。长度过短将妨碍毛细管在雾化器中的安装以及雾化器在质谱离子源中的安装。

请注意，毛细管越短，则电场强度越大。在 CE/MS 中，DAD 比在正常 CE 条件下更靠近入口（高电压）。在检测器区域，材料处于电接地状态。这意味着与正常 CE 条件相比，电压差（从毛细管内部到检测器）相对更高，因此发生损坏毛细管的电弧放电事件的风险更高。请在运行开始时逐渐升高电压。

要跳过 DAD 检测，您可能需要从毛细管卷盘（例如，160-2650-5，50  $\mu\text{m}$ ，5 m，熔融石英）准备一根不含紫外检测窗口的毛细管。此毛细管不穿过 DAD 流通池室，因此使用方法的 DAD 部分中的特殊设置（参见第 17.3 节“不采用 DAD 的 CE/MS 分析的方法设置”）。此方法所用的典型长度为 70–100 cm。

### 切割和准备熔融石英分离毛细管

可使用金刚石刀片毛细管切割器（带有旋转金刚石刀片的 CE 色谱柱切割器，部件号 5183-4669）将熔融石英毛细管切割至所需的长度。强烈建议使用此工具。

CE 毛细管光滑平整端部的重要性在文献中有详细的报道。使用放大镜确认获得了平滑的切面。喷雾的形状和稳定性取决于切口的质量。普通刻划装置将使毛细管的涂层起皱并裂口。留下的锯齿状边缘导致无法形成完美的喷雾，并且可能吸附样品组分（图 27）。有关详细信息，请参阅 CE 色谱柱切割器随附的手册。

**警告：为避免受伤，在处理毛细管和卡盒时务必佩戴防护眼镜。**

关于 CE/MS 毛细管切割准备的相关细节如下：

1. 用丙酮彻底清洁表面
2. 打开锁定轮
3. 在按下刀片释放按钮（红点）的同时，将毛细管插入 CE 色谱柱切割器中
4. 用锁定轮固定毛细管
5. 松开刀片释放按钮（红点）
6. 在切割时，向一个方向转动轮子 2-6 次直至毛细管断裂，避免切割过程中产生张力
7. 检查末端，确保其平整并且与毛细管方向垂直



图 27. 毛细管切割示例

如果没有 CE 色谱柱切割器，则可以按照以下步骤使用简单的刻划装置（陶瓷色谱柱切割片，部件号 5181-8836，每包 4 个）进行操作。

1. 将毛细管置于大半径表面上，且略微受到张力作用
2. 将切割片与毛细管保持大约 30° 的角度
3. 使用切割片的刀片刃绕毛细管划出划痕且刺穿聚酰亚胺涂层
4. 水平拉动毛细管直至其断裂。如果毛细管无法断裂，则表明尚未切开聚酰亚胺。重复上述步骤

此外，去除分离毛细管入口和出口侧的外部聚酰亚胺涂层非常重要。BGE 和/或鞘液中的高含量有机溶剂（尤其是乙腈），将导致聚酰亚胺溶胀并从毛细管外部脱落。在入口侧，这将妨碍引入较窄的样品区带。在出口侧，可能妨碍在雾化器中形成稳定的喷雾。这将导致灵敏度降低以及 CE 和 ESI 电流不稳定。

用窗口蚀刻工具（590-3003，酸性处理）去除毛细管末端的聚酰亚胺，或使用微型火焰将其烧掉。必须避免熔融石英熔化。如果在 CE 分离中使用涂层毛细管，则应尽可能缩短燃烧时间或避免使用微型火焰（参见图 28）。

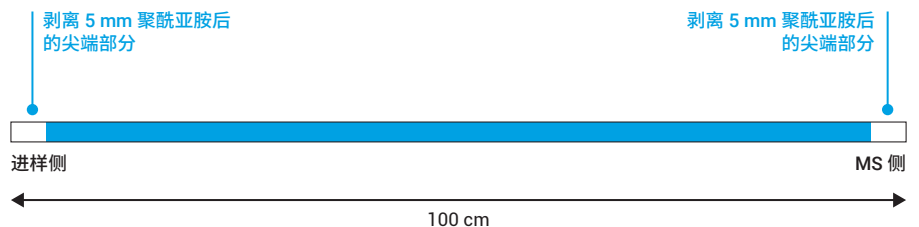


图 28. 尖端不含聚酰亚胺的 CE/MS 毛细管示例

## 14.2

### 将毛细管安装到 CE/MS 卡盒中

如第 9.4 节“电场和极性”中所述，与标准 CE 操作条件相比，安捷伦 CE/MS 系统中的 DAD 检测区相对靠近入口（高电压）。在检测池室中，所有室壁都电接地。

因此，在此配置中，电压差（从毛细管内部到检测器）与正常 CE 条件相比相对更高。尽管熔融石英是一种出色的绝缘体，但是仍存在电弧放电的风险，应避免这种情况发生。因此，必须使用由绝缘材料 PEEK 制成的准直接口。不得使用用于配备 DAD 的 CE 的标准型准直接口（带金属边框）。

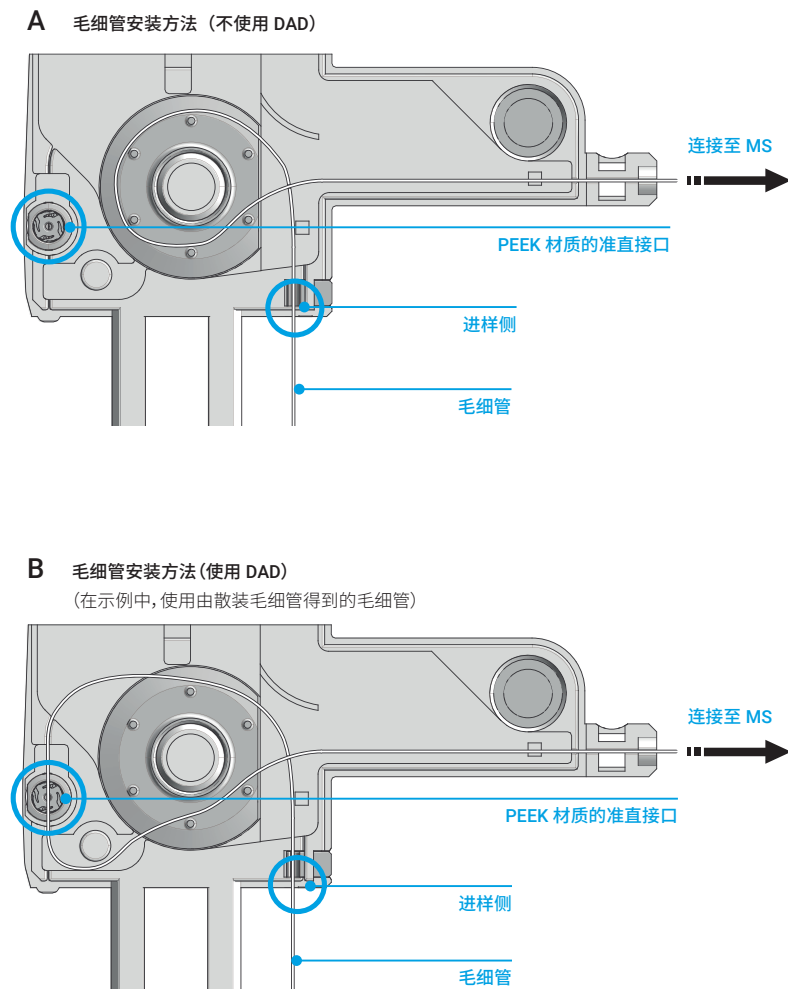


图 29. 毛细管在 CE/MS 卡盒中的位置

7100 毛细管电泳系统用户手册（部件号 G7100-90000）中描述了将毛细管插入准直接口中、将其安装到卡盒中并将卡盒插入 CE 中的步骤。

- 与常规 CE 模式相比，使用非金属 (PEEK) 准直接口
  - 在 CE/MS 应用中使用不同的毛细管卡盒，该卡盒允许 CE 毛细管伸出卡盒
  - 使用 DAD 时，检测点距入口 21.6 cm
  - 毛细管的总长度必须足以到达 MS。伸出毛细管电泳仪的 CE 毛细管的总长度至少应为 80 cm，以便进行紫外检测
1. 如果毛细管应通过 UV 窗口，请按图 29B 所示插入毛细管。或者，当要跳过紫外检测时，按图 29A 所示安装毛细管，并减小到达质谱检测器的毛细管总长度
  2. 将 PTFE 管切割成适当长度，以覆盖 CE/MS 卡盒末端和 MS 进样口之间暴露的毛细管。将 PTFE 管套于毛细管上，并将其在 CE/MS 卡盒上拧紧
  3. 将 CE/MS 卡盒插入与常规 CE 模式相同的位置。关闭顶盖后，确保毛细管的较长部分处于仪器外部并且没有损坏

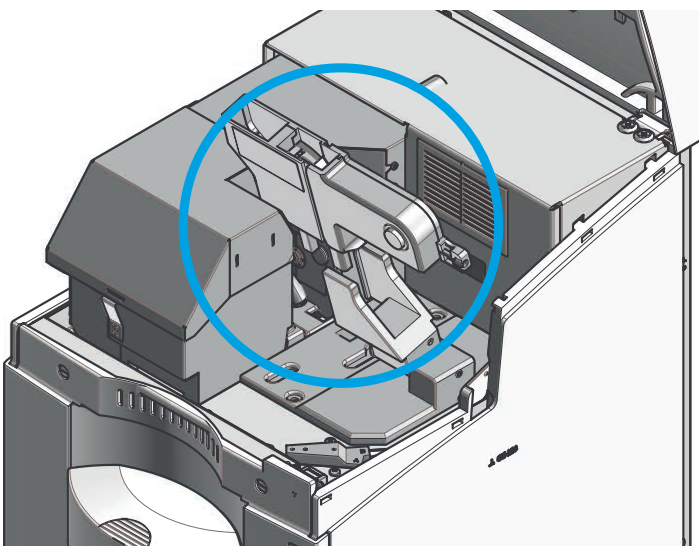


图 30. 插入 CE/MS 卡盒

# 15 准备 Agilent 1260 Infinity II 泵和真空脱气机

## 15.1

### 液压连接

如果使用泵和脱气机，则需要执行以下步骤。

1. 按照安装文档中的说明安装泵和脱气机（可选）。否则必须安装并连接输注泵
2. 必须将鞘液分流器（包含在安捷伦 CE/MS 雾化器工具包中）连接到泵出口。  
以下部分介绍了相关设置
3. 将分流器（部件号 G1607-60000）安装到等度泵中。将安捷伦 CE/MS 雾化器工具包中的两个橡胶塞（部件号 1520-0401）放入金属片中，如图 32 所示，并使用同样包含在工具包中的两个螺钉（部件号 0515-0982）安装分流器
4. 将标有 Pump（泵）的管线连接到泵出口，如图 31 所示。可以将废液管线连接回鞘液瓶中以便重复利用溶剂
5. 将标有 Out（出口）的管线与雾化器断开，将其末端放入烧杯中。稍后将进行该管线的连接
6. 将鞘液加入泵的溶剂瓶 A 中。将瓶 A 的管线连接到脱气机（图 34）。打开放空阀，以 2 mL/min (100% A) 的流速冲洗泵至少 10 min。将流速降至 0.4 mL/min 并关闭放空阀。分流器以 1:100 的比率分流鞘液，因此鞘液流速为 4  $\mu$ L/min。如果不使用脱气机，必须在使用前对鞘液进行脱气，并缩短冲洗时间。0.4 mL/min 下的反压约为 40 bar

## 15.2

### 设置泵参数

- 流速：0.400 mL/min (1:100 分流器 = 0.004 mL/min)
- %B：0
- 主动通道：A
- 最大压力/流速：400 bar

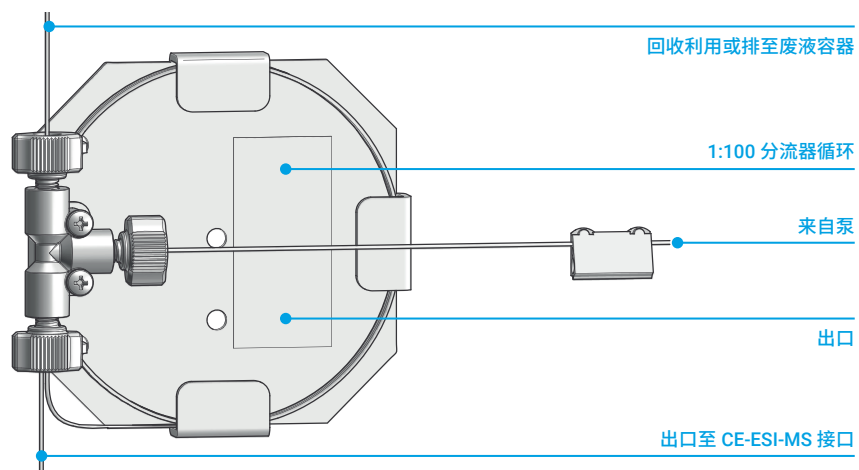


图 31. 鞘液分流器

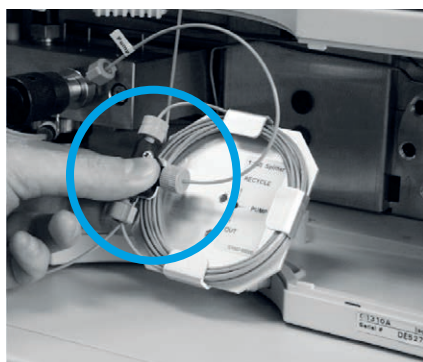


图 32. 安装分流器

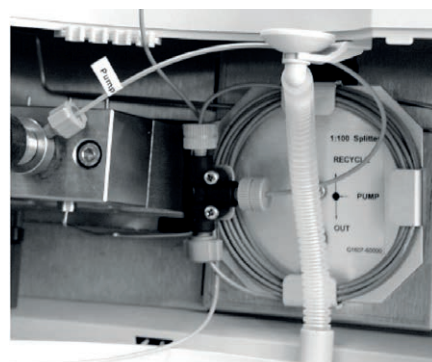


图 33. 分流器的连接

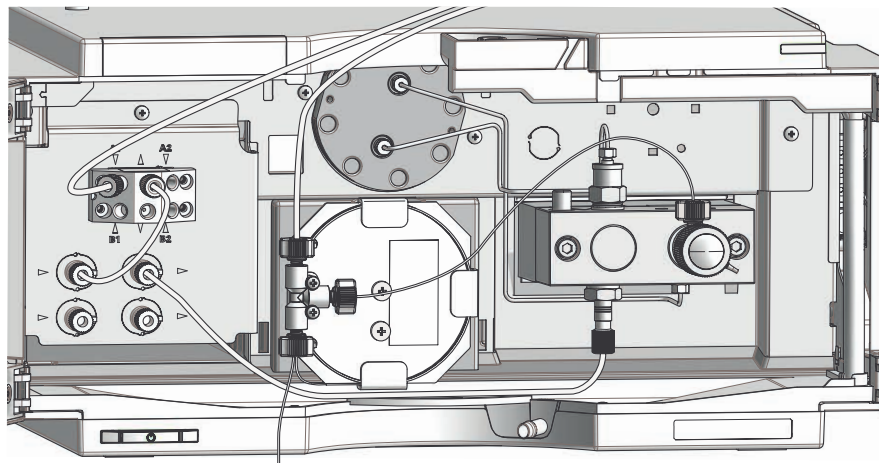


图 34. 将分流器装置连接到配备集成式脱气机的 Agilent 1260 Infinity II 等度泵

## 16 安装三重管雾化器

第 16 章、第 17 章和第 18 章将介绍配备 Agilent InfinityLab LC/MSD 系列系统和用于仪器控制的 OpenLab CDS (ChemStation 版) 软件的 CE/MS 系统的设置。有关安捷伦飞行时间、三重四极杆和四极杆飞行时间系列液质联用系统的离子源和数据采集参数的设定值示例，请参阅安捷伦应用简报。

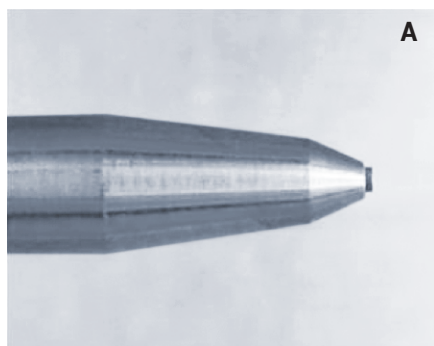
### 16.1 CE/MS 的离子源

此处提供了有关三重管喷雾的基本信息，以使用户能够根据相应的离子源使用适当的雾化器。安捷伦液质联用系统可以采用不同的电离模式（参见第 9.7 节“[电离类型 — ESI、APCI 和 APPI](#)”），但基于它们过去几年的发展，在这些离子源中使用 CE 三重管雾化器存在一些限制。表 3 列出了离子源与雾化器的兼容性。

图 35 显示了雾化器的早期版本 A 和新版本 B 之间的设计差异。

将液质联用系统重新配置为 CE/MS 系统时，必须了解上述兼容性表格并选择合适的离子源和雾化器。

标准雾化器 (G1607A)



可兼容安捷伦喷射流技术的 CE/MS 雾化器 (G1607B)

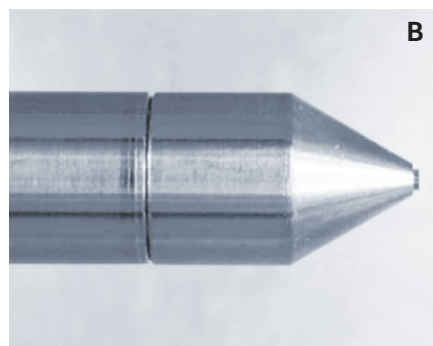


图 35. A 型和 B 型 CE/MS 雾化器

表 3. 电离模式/离子源与雾化器的兼容性

电离模式/离子源	雾化器		备注
	G1607A	G1607B	
电喷雾 (AP-ESI, G1948B)	是	是	
安捷伦喷射流 (G1958A)	否	是	G1607A 不能用于喷射流离子源
化学电离 (APCI, G1947B)	是	是	需要金属垫片, 安捷伦可以应要求提供该垫片
光电离 (APPI, G1971B)	是	是	需要金属垫片, 安捷伦可以应要求提供该垫片
双模式电离 (CI + ESI, G1978B)	是	是	

## 16.2 将 CE 毛细管插入 CE/ESI-MS 雾化器中并进行调整

必须安装 API 电喷雾离子源, 请参阅相应的文档。假设安捷伦液质联用系统已针对单电荷分子成功调谐。

1. 从雾化器尖端上取下保护性塑料管。逆时针 (+ 方向) 转动调节螺钉, 直至机械停止。然后顺时针 (- 方向) 转动两圈
2. 打开 CE 毛细管的接头并插入毛细管。固定毛细管, 使其仍然能够向上或向下移动。毛细管应当与雾化器尖端齐平。您可以使用自己的指甲来操作
3. 最后, 拧紧接头螺钉, 使毛细管保持在适当位置。在接下来的所有运行前手动步骤中, 必须保持毛细管在雾化器中的相对位置, 否则未对准将导致后续的性能下降

在操作雾化器时, 应避免接触雾化器尖端。ESI 喷雾针非常易碎。尽可能长时间保留保护套管, 并在操作后尽快将喷雾针重新保护起来。如果发现 ESI 喷雾针损坏, 应将其更换

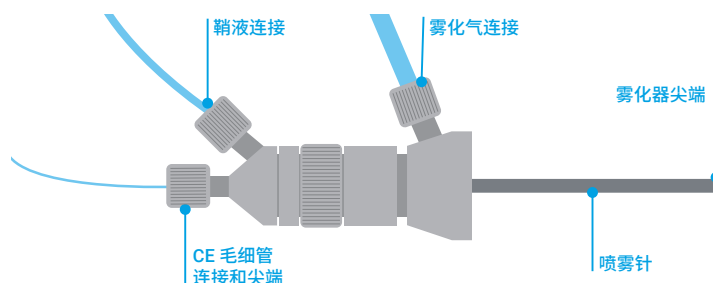


图 36. 安捷伦 CE/ESI-MS 雾化器

4. 逆时针旋转调节螺钉四分之一圈 (+ 方向的两个标记)。最后, 毛细管应伸出雾化器尖端约 0.1–0.2 mm
5. 使用显微镜仔细检查伸出的毛细管长度, 该长度应为毛细管外径的三分之一, 如图 40 所示。毛细管的外径为 0.365 mm。尽管在 + 方向上有两个标记用于常规调节, 但是对于其他雾化条件, 例如具有不同粘度的鞘液, 最佳值可能有所不同。例如, 如果您观察到不规则的基线或溅射效应, 请尝试使用 + 方向上的四个标记

## 16.3

### 插入 CE/ESI-MS 雾化器

1. 将雾化气体和鞘液连接到 CE-ESI 雾化器的下部
2. 取下离子源的盖板。将 CE 雾化器小心地插入 MSD 的电喷雾室中。不要使雾化器尖端碰到电喷雾室, 否则很容易损坏雾化器尖端。在将雾化器插入离子源时, 请勿将手握在雾化器的调节螺钉上, 否则可能无法对准雾化器
3. 安装安捷伦 CE/MS 雾化器工具包中包含的离子源盖板

## 16.4

### CE 毛细管活化

首次使用前, 应对新的未涂渍熔融石英分离毛细管进行适当的活化。对于测试样品的分析, 适合采用以下程序: 用 1 mol/L NaOH 冲洗 5 min, 然后用水冲洗 10 min, 并用运行缓冲液冲洗 20 min。如果跳过该活化步骤, 则会影响总体性能, 尤其是迁移时间稳定性。活化可以手动进行, 或者也可以将所有步骤编程到方法中并包含在序列中。

表 4 为样品瓶表的示例。样品瓶表条目可以在 “Instrument” (仪器) > “System vial table” (系统样品瓶表) 下进行编辑。将样品瓶装载到毛细管电泳仪样品盘的以下位置。

表 4. 用于毛细管活化和校验的样品瓶位置

位置	内容物
1	1 mol/L NaOH
2	水
3	运行缓冲液 (10 mmol/L 乙酸铵, pH 6.9, 0.04% 甲醇)
4	冲洗缓冲液 (与运行缓冲液相同)
5	测试样品 (1 mg/mL 无水硫酸奎宁)



图 37. CE/ESI-MS 雾化器调节螺钉

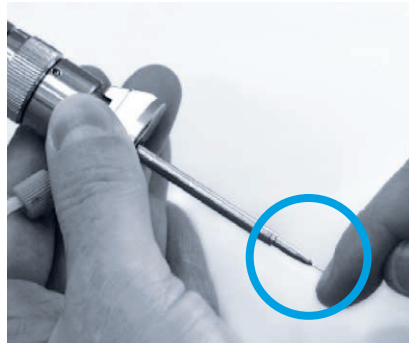


图 38. CE/ESI-MS 雾化器毛细管插入

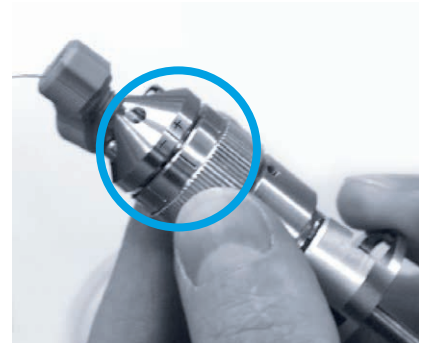


图 39. CE/ESI-MS 雾化器毛细管调节

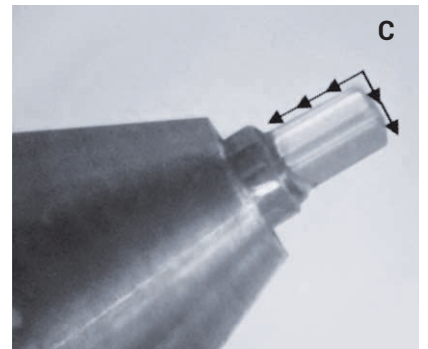
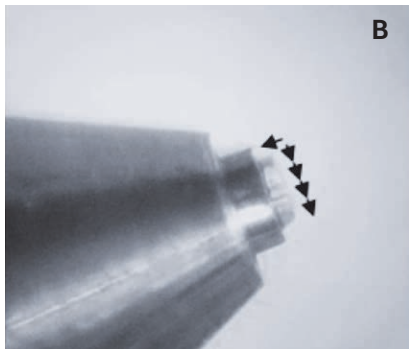
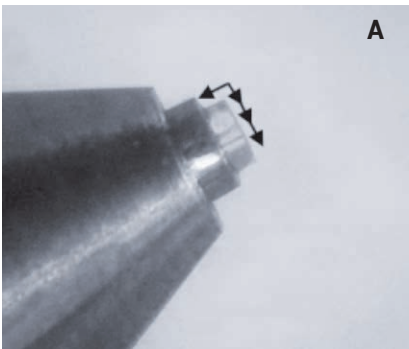


图 40. 毛细管从 ESI 喷雾针伸出, 良好 (A, B), 糟糕 (C)



图 41. 雾化气体连接



图 42. CE/ESI-MS 雾化器插入质谱离子源中



图 43. CE/ESI-MS 雾化器安装完成

活化时可以将雾化器组件从离子源中取出并将其放置在烧杯上以收集废液。在预活化程序中使用较苛刻的条件（浓 HCl、 $> 1 \text{ mol/L}$  甲酸或  $> 1 \text{ mol/L}$  NaOH）时，尤其建议采取这样的操作。根据毛细管的规格指标对其进行活化。请注意，大多数涂层毛细管可能由此发生不可逆转的损坏。

为最大程度减小可能粘到毛细管或电极外部的活化溶液（如 NaOH）对缓冲液瓶的污染，建议将入口电极浸入装有缓冲液的大体积专用瓶中，然后再使仪器装载含有运行缓冲液的实际的入口瓶和出口瓶。这一预防措施可通过“load vial”（装载样品瓶）和“wait”（等待）命令的组合形式编程到时间表中。

## 16.5 CE 电流检查

按照前文所述的步骤安装雾化器组件并活化分离毛细管之后，将可以在电泳条件下得到恒定的 CE 电流。因此，在开始样品分析之前，可能需要执行快速测试以确认毛细管的调整以及鞘液的供应是否正常。CE 电流是是否正确安装的一个方便的指标。在 ESI 条件下，该电导率校验针对电泳部分而不是质谱部分。通过单击相关图示，可以简单地从 CE/MS 系统示意图执行测试步骤。

在该检查过程中，关闭 ESI 电压。

将等度泵的流速设置为  $0.4 \text{ mL/min}$ 。

1. 将含有运行缓冲液的样品瓶装入入口升降装置
2. 用冲洗缓冲液冲洗毛细管 5 分钟
3. 施加  $15 \text{ kV}$  的电压并持续 10 分钟
4. 监测 ChemStation 在线绘图中的电流值

毛细管电泳仪以  $6 \text{ kV/s}$  的速度自动增加电压，因此 3 s 后将达到  $15 \text{ kV}$ 。在较短时间后，电流也应该变得稳定。绝对电流将随实际毛细管长度而变化。对于乙酸铵缓冲液体系和长度为  $80\text{--}125 \text{ cm}$  且内径为  $50 \mu\text{m}$  的熔融石英毛细管，绝对电流将处于  $1\text{--}2 \mu\text{A}$  范围内。有关校验运行过程中的电流信号，参见图 44。

请注意，雾化器、泵、脱气机或管线内的物质可能会随着时间的推移而被洗出，并可能在相当长一段时间内影响 CE/MS 实验，直到它们被完全洗出。而且，暴露于雾化器鞘流的毛细管外部在相当长的时间内也可能被洗出。需要长时间平衡是由于鞘液的流速较低。

## 16.6 CE/MS 校验方法

请将仪器情境界面下的方法 def\_CEM 加载到在线 ChemStation 中，并按照表 5 所示对方法参数进行编程。仪器模式应为 CE/MS，且不存在低电流报警限。

建立并运行一个序列，从含有测试样品的样品瓶中进行五次连续进样。由于系统需要平衡，因此该序列的首次运行可能不成功，应当将其丢弃。后续运行应得到如图 45 所示的 UV 和 MS 迹线。

从 MS 迹线的峰提取出的质谱图应当如图 46 中所示。CE 电流应约为 4–7  $\mu\text{A}$ （取决于毛细管长度和实际缓冲液浓度）。

表 5. 用于测试样品的 CE/MS 分析条件

CE	毛细管	熔融石英毛细管（内径 50 $\mu\text{m}$ ，总长度 80–125 cm，紫外检测窗口，经 NaOH 活化）	MS	使用 MSD	启用
	缓冲液	10 mmol/L 乙酸铵，pH 6.9，0.04% 甲醇		停止时间	无限制
	电压	0 kV		离子源	AP ESI
	温度	20 °C		扫描范围	m/z = 100–500
	补液	无		时间过滤器	启用
	预活化	用样品瓶 4 中的运行缓冲液冲洗 5 min		数据存储	压缩
	样品	安捷伦校验样品（硫酸奎宁）*		峰宽	0.12 min
	进样	在 50 mbar 的压力下保持 2.0 s，样品瓶 5，测试样品		信号 1	
		在 50 mbar 的压力下保持 2.0 s，样品瓶 3，运行缓冲液		模式	扫描
	时间编程	0.3 min 电压 +27 kV		范围	m/z = 100–500
	停止时间	10 min		极性	正
DAD	信号	254.16 nm	碎裂电压	65 V	
	参比	450.80 nm	阈值	50	
	光谱	190–450 nm，每秒	步长	0.01	
	自动平衡	分析前	信号 2		
	停止时间	与 CE 相同	模式	SIM	
	打开用于采集的灯	紫外灯	极性	正	
泵	流速	0.4 mL/min	循环时间	50% 循环时间	
	停止时间	无限制	SIM 离子	325	
	溶剂 A	100%，5 mmol/L $\text{NH}_4\text{Ac}$ ，pH 6.9，溶于 50% MeOH 中	碎裂电压	65 V	
	压力	0–400 bar	雾化室		
			气体温度	130 °C（最高 350 °C）	
		干燥气	10.0 L/min（最高 13.0 L/min）		
		雾化器压力	10 psi（最大 60 psi）		
		$V_{\text{cap}}$	4000 V		

\* 有经验的用户可能希望使用其他纯标准品（如氨基酸）

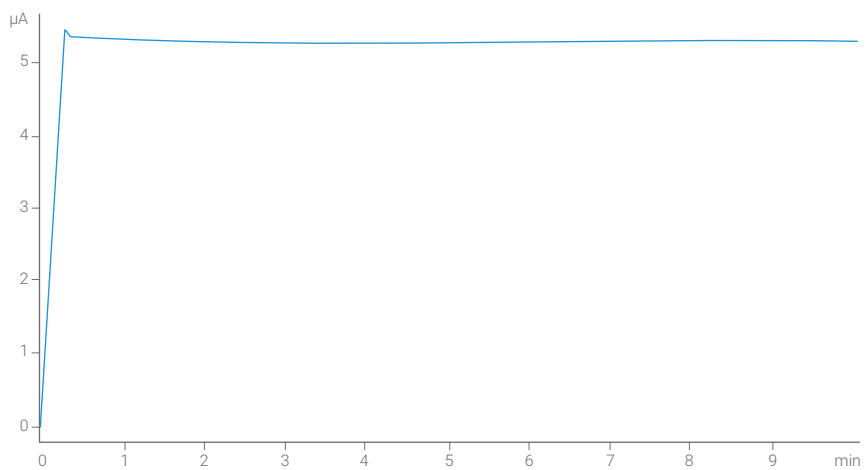


图 44. 在 27 kV 下执行校验运行得到的电流稳定性

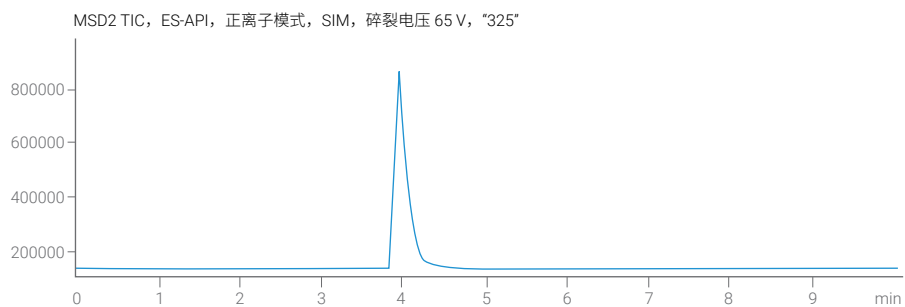
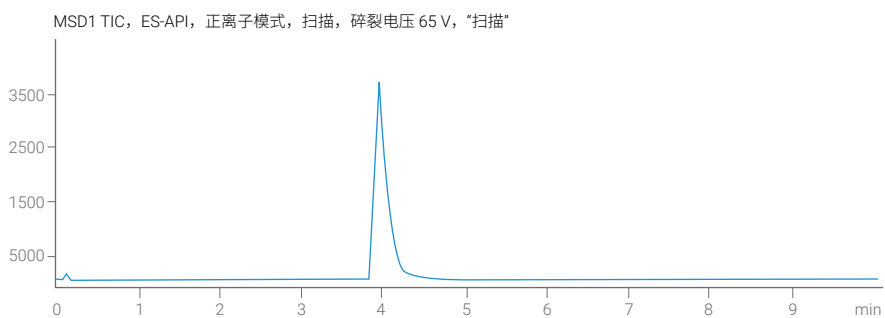
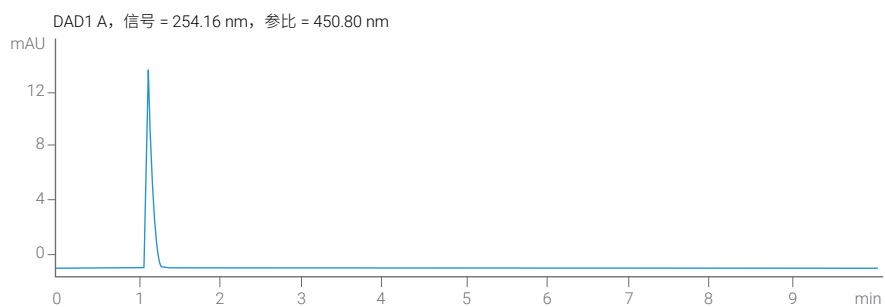


图 45. 紫外检测谱图以及质谱扫描和 SIM 迹线

## 16.7

### 在使用后储存 CE/MS 毛细管、鞘液分流器和 CE/MSD 雾化器喷雾针

为避免堵塞毛细管，在不使用时需要对鞘液分流器和 CE/MSD 雾化器喷雾针进行清洁。按照以下步骤清洁鞘液分流器和 CE/MSD 雾化器喷雾针。

1. 用装满水的溶剂瓶替换鞘液瓶
2. 使 CE/MS 毛细管、鞘液分流器和雾化气体保持连接
3. 启动泵并冲洗 10 min，泵送水通过鞘液分流器和 CE/MSD 雾化器喷雾针
4. 用异丙醇替换鞘液瓶中的水
5. 启动泵并冲洗 10 min，泵送异丙醇通过鞘液分流器和 CE/MSD 雾化器喷雾针

按照以下步骤储存 CE/MS 毛细管。

1. 用水冲洗毛细管 10 min
2. 将带有顶盖的空瓶插入样品盘中，用空气冲洗毛细管 10 min
3. 现在可以取下毛细管并将其储存起来

当没有鞘液流动时，MS 干燥气可能导致雾化器喷雾针发生热损坏。当干燥气温度较高时，不得在没有鞘液的情况下使仪器闲置。否则，请从离子源中移除 ESI 雾化器。未使用时，将雾化器放入雾化器调节装置（部件号 GT430-20470）中。

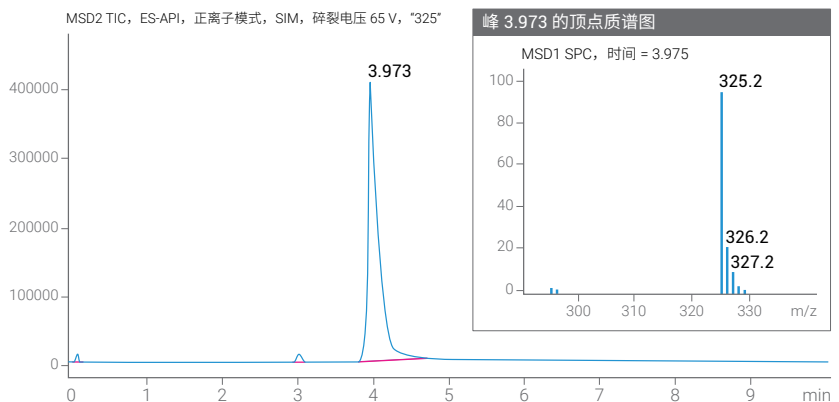


图 46. 从 MS 扫描迹线中提取的质谱图

# 17 采用 DAD 的 CE/MS 分析的方法设置

## 17.1 CE/MS 方法设置

本节提供的参数是用于所分析的测试样品（硫酸奎宁）的典型参数。在分析其他样品时，可能需要对它们进行调整。

有关 CE 模式下所运行应用的方法参数的总体介绍，请参阅 7100 毛细管电泳系统用户手册（部件号 G7100-90000）中的“如何使用安捷伦毛细管电泳仪进行毛细管电泳分离”一节。这些参数也与 CE/MS 模式下的方法设置相匹配（图 47）。

“Setup Instrument Method”（设置仪器方法）界面使您能够访问使用现代 RC.net 驱动程序的系统部件。相比之下，由所谓的经典驱动程序控制的系统部件则不显示在该界面中。Agilent InfinityLab LC/MSD 系列系统采用经典驱动程序。因此，方法的 MS 部分的程序设置有所差异，请参见第 17.2 节“CE/MS 方法 MS 部分的设置”。

对于包含泵的 CE/MS 系统，将显示一个带有泵参数的选项卡（图 48）。有关可修改的参数的详细信息，请参阅等度泵手册。CE/MS 应用的主要相关参数是流速。请记住，雾化器中的实际流速通过安装的 1:100 分流器分流后有所降低。

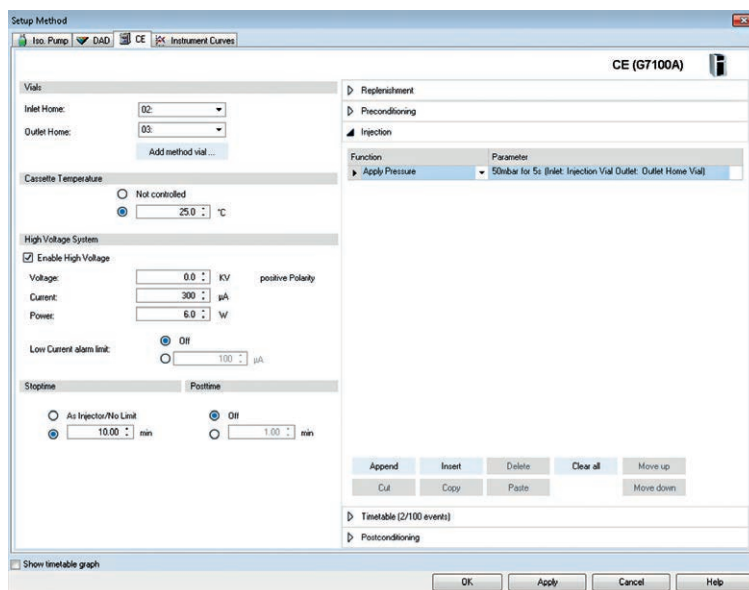


图 47. CE/MS 方法设置中的 CE 参数

“Setup Instrument Method”（设置仪器方法）界面中的另一个选项卡用于访问可记录 CE、DAD 和泵参数的仪器曲线（图 49）。

在 CE/MS 模式下，无法从在线绘图或仪器曲线中观察到漏电流用于故障排除。这与 CE、CE+p 或 CEC 模式下的电泳有所不同，因为毛细管的末端在不同的设备（即质谱离子源）中，并且电流在那里接地而不是返回 HV 电源。因此，无法记录任何数据。

在没有指定出口瓶的情况下清洗入口电极会将空气引入分离毛细管中。确保指定出口瓶后再进行冲洗，否则可能会出现无电导率和发生电弧放电。

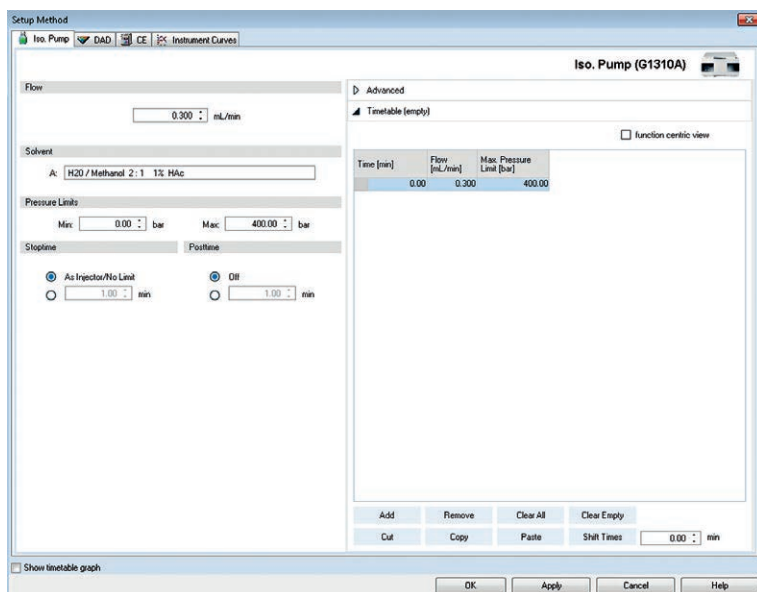


图 48. CE/MS 方法设置中的泵参数

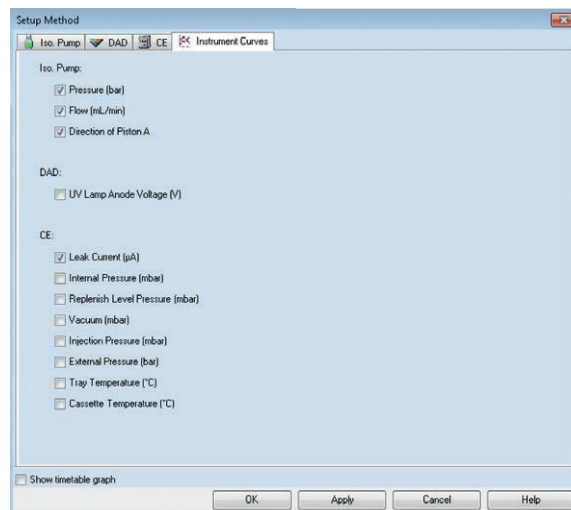


图 49. CE/MS 方法仪器曲线选择

## 17.2 CE/MS 方法 MS 部分的设置

Agilent InfinityLab LC/MSD 系列系统由经典的 ChemStation 驱动程序进行控制，需要在不同于由 RC.net 驱动程序控制的毛细管电泳仪、DAD 和泵的界面中进行编程。用户可以在“Instrument”（仪器）>“More MSD”（更多 MSD）下访问相关界面，或单击系统控制图中的图标。

表 6. 传统雾化室参数的典型设置

参数	值
干燥气	6–10 L/min
干燥气温度	100–300 °C
雾化气体	10–20 psi
HV（正离子模式）	3.5–4 kV
HV（负离子模式）	3–3.5 kV

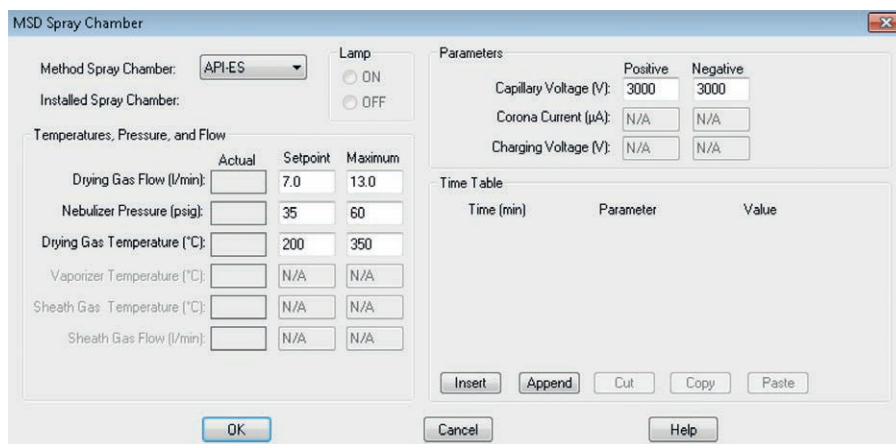


图 50. 雾化室的质谱方法参数

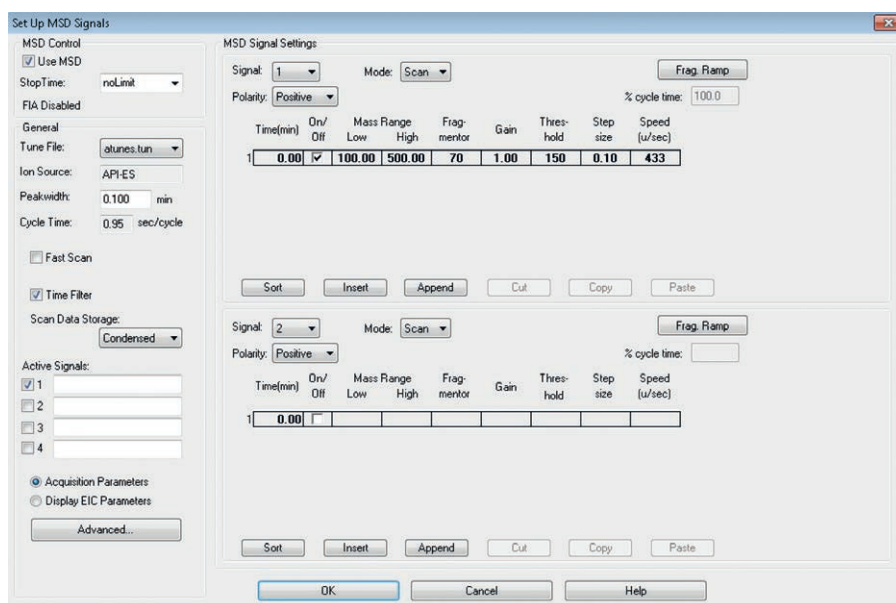


图 51. MSD 信号的方法参数

## 17.3

### 不采用 DAD 的 CE/MS 分析的方法设置

如果在紫外灯关闭且不记录 DAD 信号的情况下运行分析，则方法 DAD 部分的参数可按如下设置。这些设置将停用仪器的正常卡盒检测算法，该算法需要打开紫外灯并将准直接口安装到位。如果以另一种方式插入不带紫外窗口的毛细管（如第 14.2 节图 29A 所示），则必须使用以下设置。

1. 从“Setup Instrument Method”（设置仪器方法）界面或单击 DAD 控制界面来访问 DAD 方法参数，其中 DAD 控制界面仅允许访问当前方法的 DAD 部分
2. 清空“Lamps on required for acquisition”（采集需要打开灯）部分的“UV lamp”（紫外灯）复选框
3. 清空“Autobalance”（自动平衡）部分的“Prerun/Postrun”（分析前/分析后）复选框
4. 清空“Signals”（信号）部分的“Use Signal”（使用信号）的所有复选框
5. 单击“OK”（确定）并保存该方法
6. 根据需要单独修改方法的任何其他参数

加载采用上述设置的方法时，紫外灯不会自动关闭。在使用此类方法运行时，如果希望避免紫外光通过卡盒，请确保紫外灯未手动或自动开启。

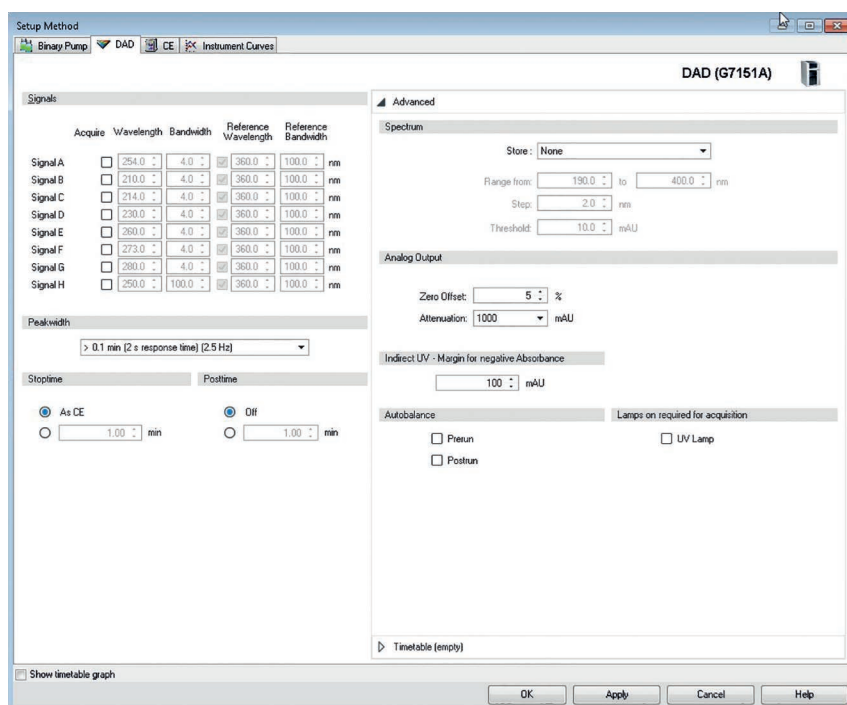


图 52. 紫外灯关闭时的 CE/MS 分析参数

## 17.4 从控制图中移除 DAD

如果 CE/MS 系统将专门用于无需 DAD 检测的分析，则可以从配置中删除 DAD，从而在控制图中完全移除 DAD 用户界面。但是，建议将 DAD 保留在配置中，以便在不同模式 CE、CE+p、CEC 或 CE/MS 之间轻松切换。

CE/MS 系统中的 Agilent 7100 毛细管电泳仪的组件显示在 CE 控制图（也称为“面板”）中，参见图 53。

CE/MS 系统的所有其他组件（例如 DAD、泵或 MS）由单独的图表示。当前分析模式显示在 CE 控制图的顶行。可在仪器配置下进行选择的分析模式为 CE、CE+p、CEC 或 CE/MS。可以在“Instrument”（仪器）>“More CE”（更多 CE）>“Instrument Configuration”（仪器配置）下更改仪器的当前 CE 模式，参见图 21。

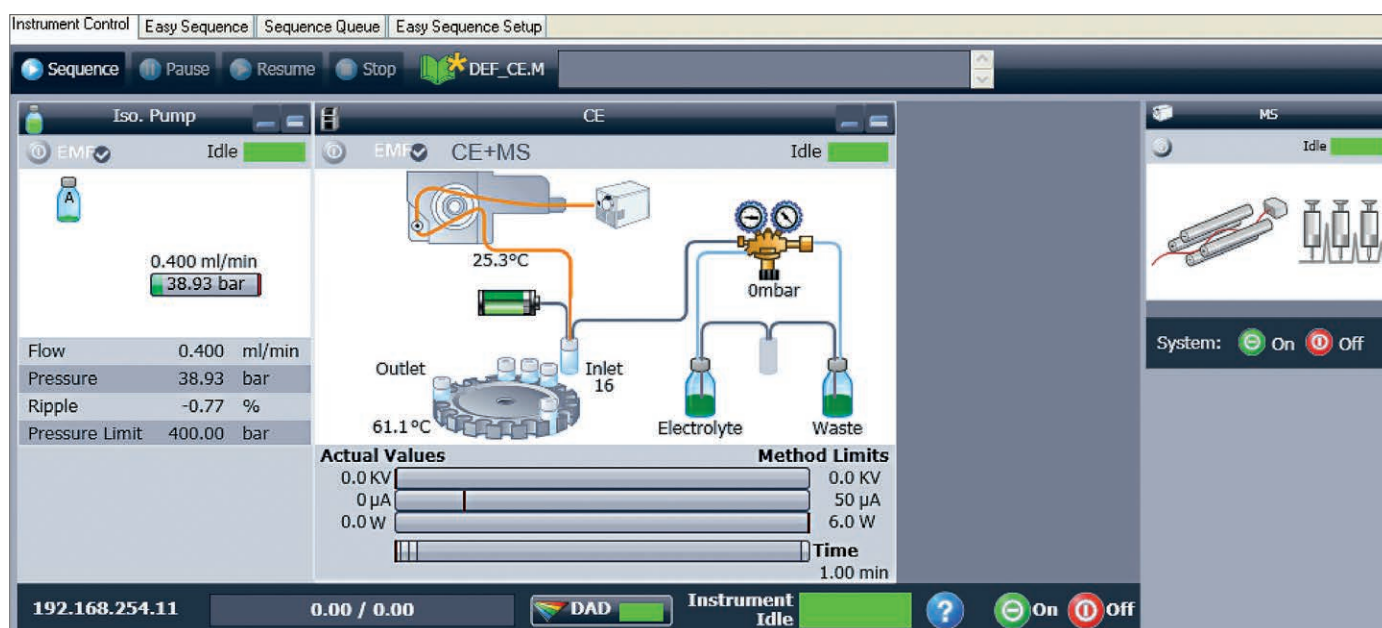


图 53. DAD 控制界面最小化时的系统示意图

## 17.5

### 图形用户界面的说明

CE/MS 系统中安捷伦毛细管电泳仪的核心组件显示在 CE 控制图（也称为“面板”）中，参见图 20。CE/MS 系统的所有其他组件（例如 DAD、泵或 MS）由单独的图表示。当前分析模式显示在 CE 控制图的顶行。可在仪器配置下进行选择的分析模式为 CE、CE+p、CEC 或 CE/MS。可以在“Instrument”（仪器）>“More CE”（更多 CE）>“Instrument Configuration”（仪器配置）下更改仪器的当前 CE 模式（参见图 21）。

可以单击 DAD 用户界面右上角的图标，使 DAD 用户界面最小化。随后，DAD 图标与整体状态图标显示在同一行（图 53）。

从仪器配置中完全删除 DAD 之前，请按照以下步骤在 DAD 中建立某些参数（图 52）。这些参数将应用于 DAD，它们将保留至方法将其更改为止，并且从配置中删除 DAD 后，将无法从系统示意图中直接访问这些参数。

1. 当连接到相应仪器的 ChemStation 的在线副本中仍然配置有 DAD 时，请执行以下操作
2. 加载 CE 默认方法
3. 通过从“Instrument”（仪器）菜单中选择“Set up Instrument Method”（设置仪器方法）项来访问方法参数。系统将显示“CE Method Setup”（CE 方法设置）界面，通过该界面可以访问方法的所有部分。另一种方法是单击 DAD 控制界面，该界面仅允许访问当前方法的 DAD 部分
4. 清空“Lamps on required for acquisition”（采集需要打开灯）部分的“UV lamp”（紫外灯）复选框
5. 清空“Autobalance”（自动平衡）部分的“Prerun/Postrun”（分析前/分析后）复选框
6. 清空“Signal”（信号）部分的“Use Signal”（使用信号）的所有复选框
7. 单击“OK”（确定）以应用设置

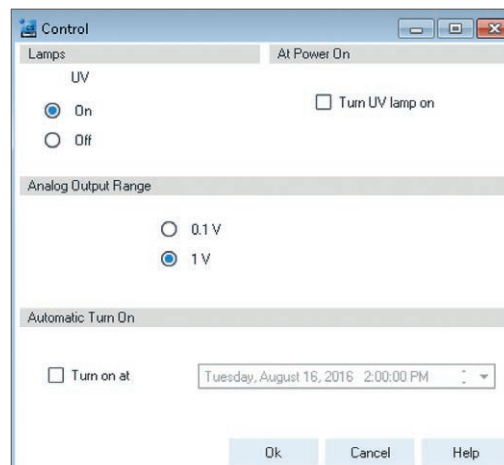


图 54. DAD 控制界面中的参数

8. 将方法以其他名称保存至 CE/MS 方法文件夹中
9. 在 ChemStation 的“Method and Run Control”（方法和运行控制）中，选择“Instrument”（仪器）>“More DAD/Control...”（更多 DAD/控制...）>“Control”（控制）以打开 DAD 控制界面（图 54）
10. 清空“AT Power On”（启动时）部分的“Turn UV lamp on”（打开紫外灯）复选框
11. 清空“Lamps”（灯）部分的“UV lamp on”（紫外灯开）复选框
12. 确保“Automatic Turn On”（自动打开）部分中无任何条目
13. 单击“OK”（确定）
14. 确保紫外灯已关闭

DAD 中这些已建立的参数的副作用是，您可能会在安捷伦实验室顾问软件中看到与 ChemStation 相比的偏离状态信息。在实验室顾问软件中，由于紫外灯已关闭，因此配置中不含 DAD 的仪器将显示 DAD 未准备就绪，并且还将显示为整体未就绪状态，尽管系统已准备好由 ChemStation 启动运行（图 55）。

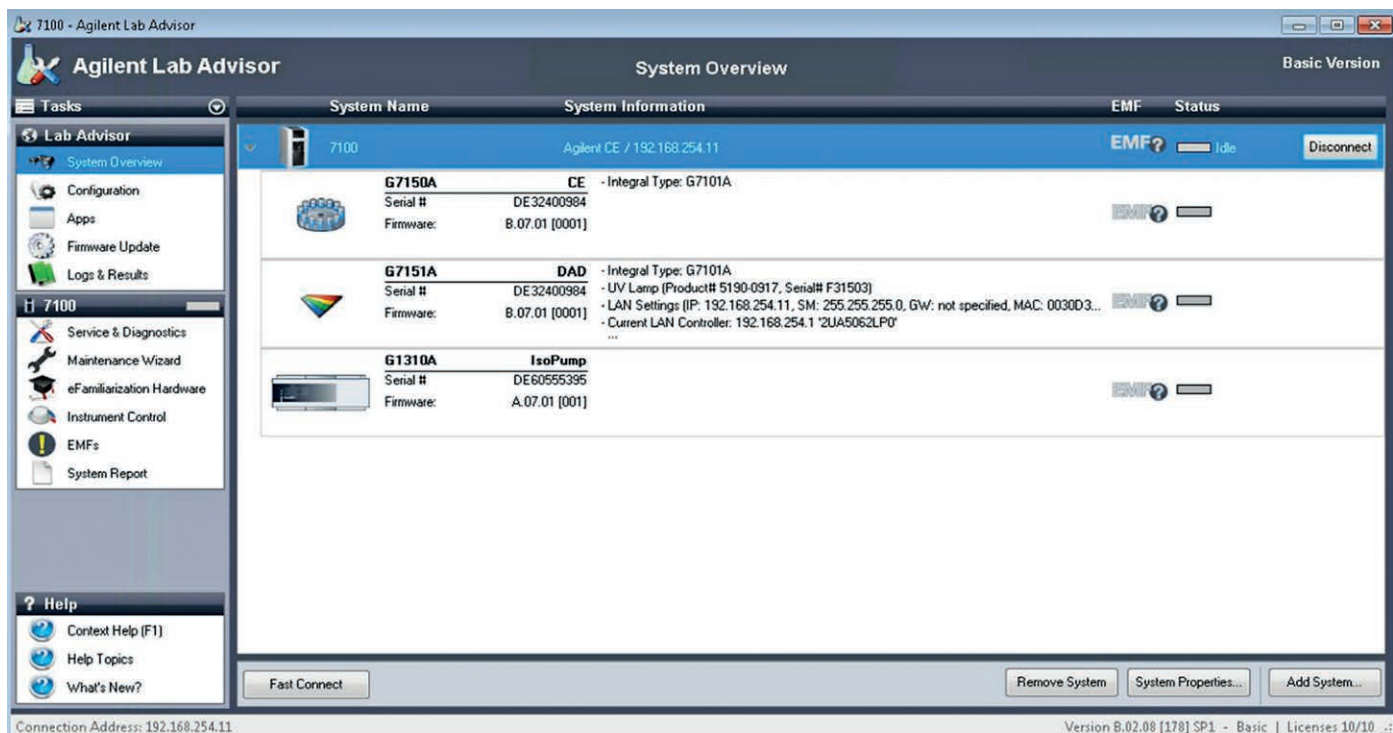


图 55. 安捷伦实验室顾问系统概览

## 18 CE/MS 方法与应用

以下章节介绍了用于分析阳离子和阴离子的两种更先进的 CE/MS 方法。本文所述的设置信息适用于采用 Agilent OpenLab CDS 软件 (ChemStation 版) 进行仪器控制的 Agilent InfinityLab LC/MSD 系列系统。使用安捷伦飞行时间、三重四极杆和四极杆飞行时间系列液质联用系统的离子源参数和数据采集参数的设定值示例可参见安捷伦应用简报。

在使用 CE/MS 分析实际样品之前, 首先对标准物质进行分析, 确认设备和喷雾是否正常。作为示例, 提供了阳离子分析条件下对氨基酸的分析以及阴离子分析条件下对苹果酸的分析。本文中提供的氨基酸和有机酸样品的数据由四极杆 MS 采集。

### 18.1 CE/MS 阳离子分析方法

此处给出的分析条件 (表 7) 为一般分析条件, 可用于测量几乎所有碱性化合物。图 56、图 57 和图 58 显示了氨基酸样品的分析结果。

由于使用低 pH 缓冲液 (pH 1.9) 并且所用的所有氨基酸的等电点均高于 1.9, 因此它们在样品中以及在分离过程中以阳离子形式存在。一般来讲, 具有碱性官能团的所有化合物都可以在这些分析条件下进行测量。施加正电压进行 CE 分离。

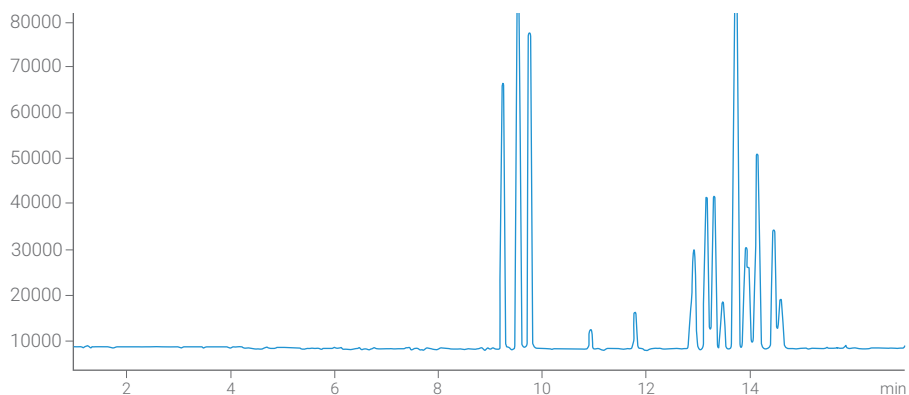


图 56. 100 µmol/L 氨基酸混标 (部件号 5061-3330)

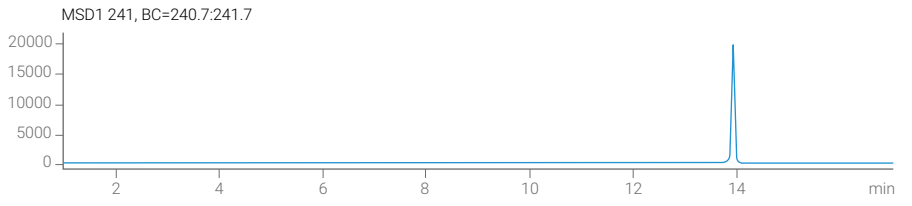
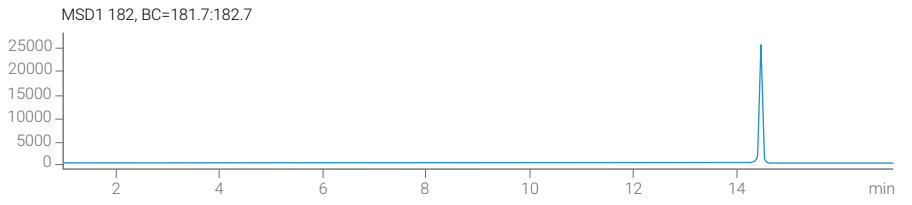
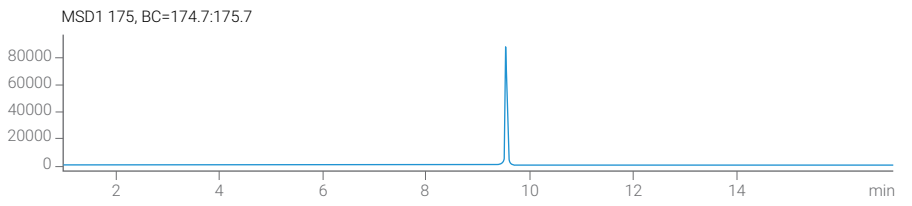
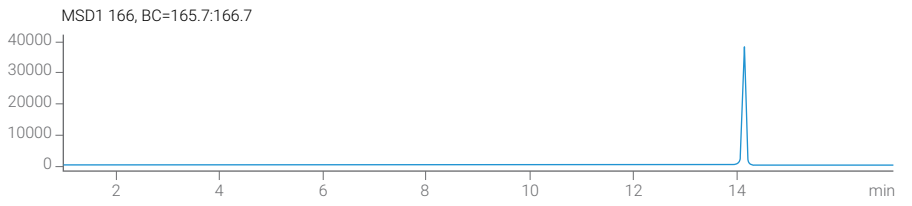
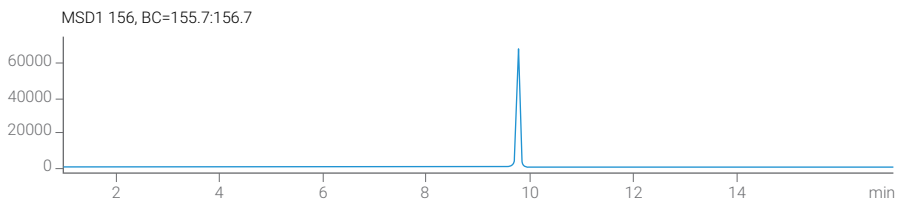
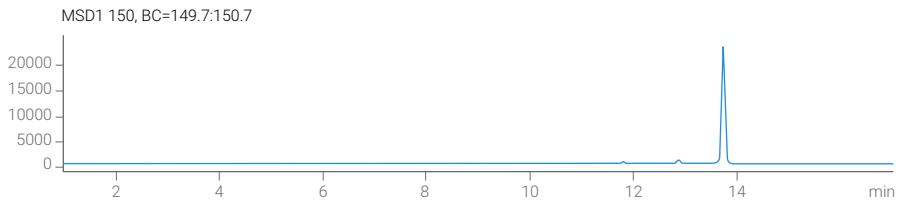
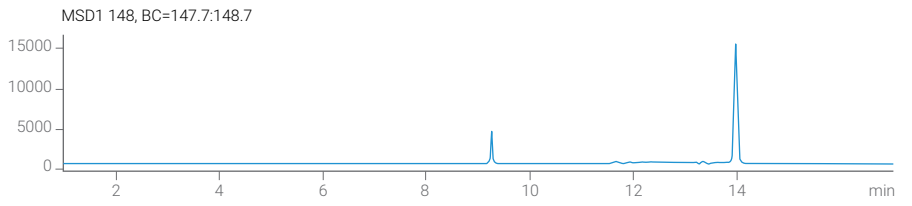


图 57. 各种氨基酸标准品的质量电泳图 (SIM)

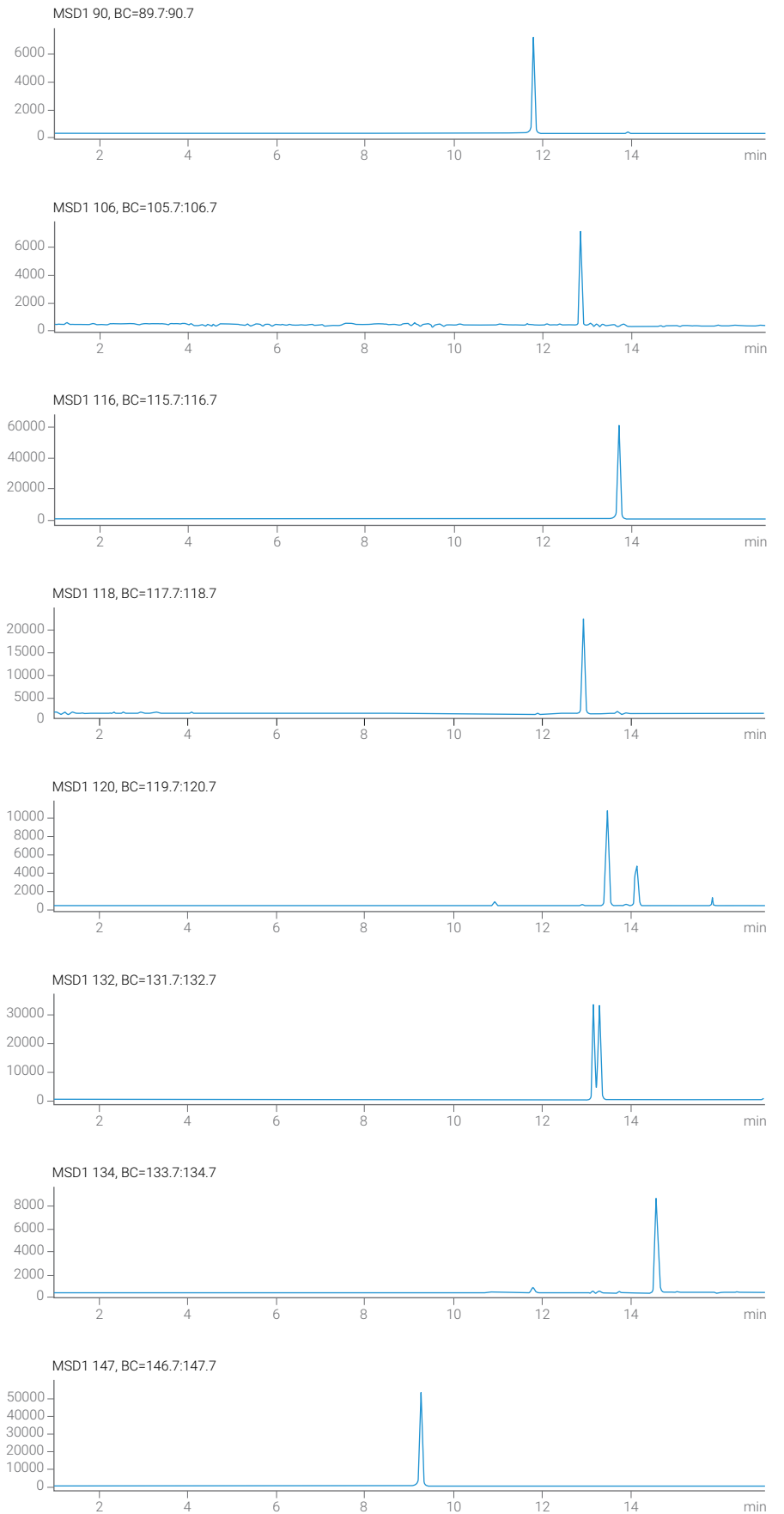


图 58. 各种氨基酸标准品的质量电泳图 (SIM)

表 7. CE/MS 分析条件 (用于阳离子分析)

CE 毛细管	熔融石英毛细管, 内径 50 $\mu\text{m}$ , 总长度 100 cm 不含紫外检测窗口
缓冲液	1 mol/L 甲酸
电压	正, 30 kV
温度	20 $^{\circ}\text{C}$
预活化	用缓冲液冲洗 5 min
进样压力	50 mbar, 保持 8.0 s (样品)
压力	50 mbar, 保持 2.0 s (入口瓶)
时间编程	0.3 min
电压	+30 kV
MS 极性	ESI 正离子模式
毛细管电压	4000 V
碎裂电压	100 V
干燥气, 温度	$\text{N}_2$ 10 L/min, 300 $^{\circ}\text{C}$
雾化器气体压力	10 psi
鞘液	含有 5 mmol/L 乙酸铵的 50% 甲醇溶液
流速	8 $\mu\text{L}/\text{min}$
样品	氨基酸混标 (部件号 5061-3330), 稀释至 0.1 nmol/ $\mu\text{L}$

## 18.2

### CE/MS 阴离子分析方法

#### 阴离子分析条件: 有机酸

下文提供了一个有机酸分析示例。可利用表 8 中的分析条件分析这些化合物, 它们在所用 BGE 的 pH 条件下为阴离子, 例如脂肪族和芳香族羧酸及其他弱酸性物质。

表 8. CE/MS 分析条件 (用于阴离子分析)

CE 毛细管	熔融石英毛细管, 内径 50 $\mu\text{m}$ , 总长度 80 cm (可以使用 100 cm 毛细管) 不含紫外检测窗口
缓冲液	20 mmol/L 甲酸铵, pH 10 (用 1% $\text{NH}_4\text{OH}$ 进行调节)
电压	0 至 +30 kV (梯度)
温度	20 $^\circ\text{C}$
预活化	用缓冲液冲洗 4 min
进样	压力 50 mbar, 保持 8.0 s (样品)
压力	50 mbar, 保持 2.0 s (入口瓶)
时间编程	0.3 min 电压 +30 kV
MS 极性	ESI 负离子模式
毛细管电压	350 V
碎裂电压	100 V
干燥气, 温度	$\text{N}_2$ 10 L/min, 300 $^\circ\text{C}$
雾化器气体压力	10 psi
鞘液	含有 5 mmol/L 氢氧化铵的 50% 甲醇溶液
流速	8 $\mu\text{L}/\text{min}$
样品	有机酸测试混标 (部件号 8500-6900), 含有 1 mg/L 的乳酸、琥珀酸、苹果酸、酒石酸和柠檬酸

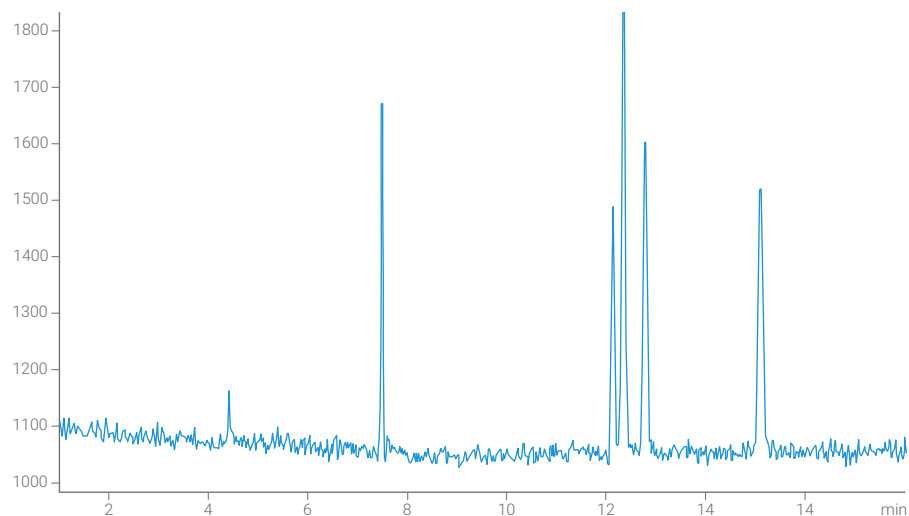


图 59. 1 mg/L 乳酸、琥珀酸、苹果酸、酒石酸和柠檬酸的 CE 分离结果

### 阴离子分析条件：对甲苯磺酸

将对甲苯磺酸的分析作为在碱性条件下分析阴离子的另一个示例。分析条件如表 9 所示。获得的总离子流电泳图如图 60 所示。在  $m/z = 171$ （对甲苯磺酸的伪分子离子  $[M-H]$ ）处提取的质量电泳图如图 60 所示。甲苯磺酸的质谱图如图 61 所示。作为参考，该分析中使用的毛细管电泳装置的电流值如图 61 所示。

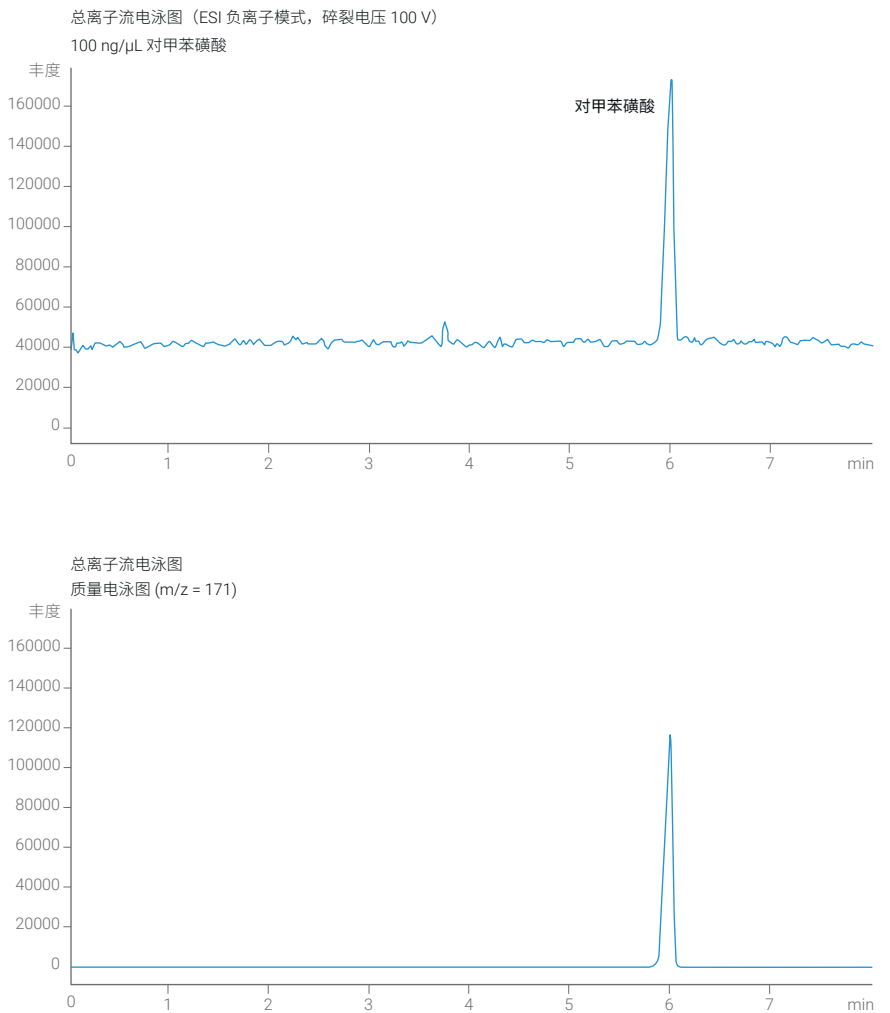


图 60. 上方电泳图：100 ng/ $\mu$ L 对甲苯磺酸溶液的总离子流电泳图。下方电泳图：提取离子电泳图 ( $m/z = 171$ )，显示了甲苯磺酸的伪分子离子

表 9. CE/MS 分析条件 (用于对甲苯磺酸)

CE 毛细管	熔融石英毛细管 (内径 50 $\mu\text{m}$ , 总长度 60 cm) 不含紫外检测窗口
缓冲液	20 mmol/L 乙酸铵, pH 9.0 (用 1% $\text{NH}_4\text{OH}$ 进行调节)
电压	正, 20 kV
温度	25 $^{\circ}\text{C}$
预活化	用缓冲液冲洗 4 min
进样	压力 50 mbar, 保持 6.0 s (样品)
压力	50 mbar, 保持 2.0 s (入口瓶)
时间编程	0.3 min 电压 +20 kV
MS 极性	ESI 负离子模式
扫描范围	$m/z = 70-300$
毛细管电压	3500 V
碎裂电压	100 V
干燥气, 温度	$\text{N}_2$ 10 L/min, 300 $^{\circ}\text{C}$
雾化器气体压力	10 psi
鞘液	含有 5 mmol/L 乙酸铵的 50% 甲醇溶液
流速	10 $\mu\text{L}/\text{min}$
样品	对甲苯磺酸-水合物标准品 CAS 号: 6192-52-5

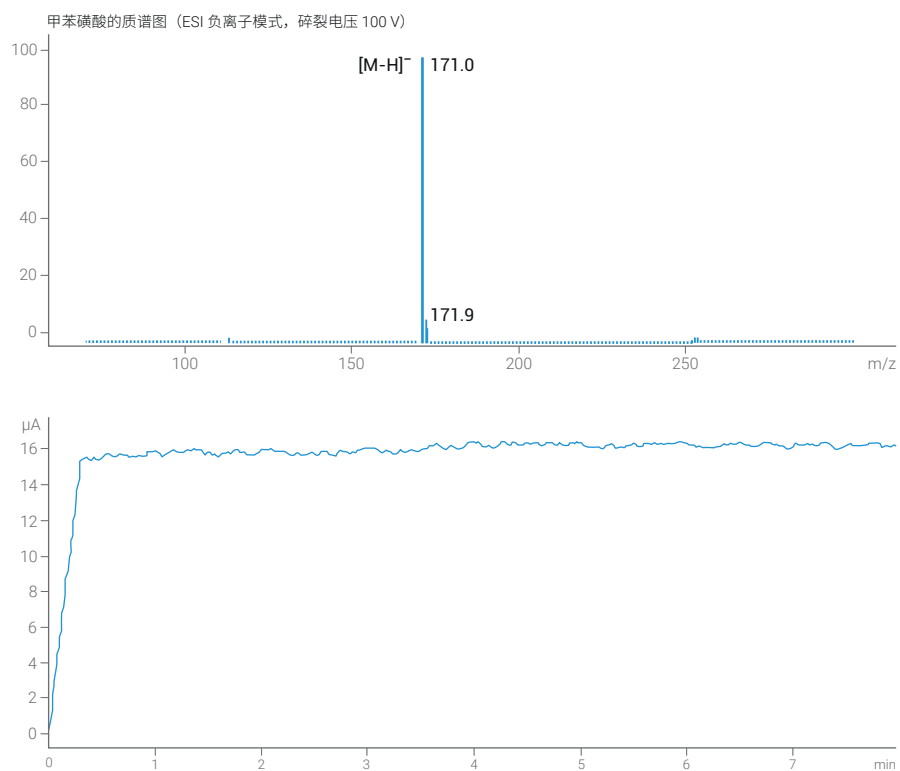


图 61. 上方电泳图: 甲苯磺酸的质谱图。下方迹线: 甲苯磺酸分析过程中的电流值

## 19 维护

毛细管电泳是一种真正的微升级或者更确切地说是纳升级分离方法。分离毛细管 (1000 × 0.05 mm) 的体积约为 2 μL。样品体积通常约为 2–10 nL，而渗流在 100–300 nL/min 范围内。

这便要求在 BGE 和鞘液中使用最高纯度的溶剂、缓冲盐、试剂和添加剂。除微量样品瓶以及样品前处理过程中使用的所有工具确保干净和惰性以外，建议使用洁净无尘的实验室环境。对实验室的温度进行控制将有利于分析，因为分离毛细管必须连接 CE 出口与 CE 雾化器之间的距离，因此会暴露于实验室环境中。

此外，需要注意到质谱仪为高灵敏度检测器。任何带入系统分离部分的污染物都会被质谱仪捕获并检出，这可能导致鉴定和解析错误，从而得到错误的结果。

鉴于这些问题，以下内容是关于使安捷伦 CE/MS 系统保持最佳状态的详细指南。有关更多详情，另请参阅 [CE/MS 雾化器工具包安装指南](#)。有关 7100 的维护信息，请参阅 [7100 毛细管电泳系统用户手册 \(部件号 G7100-90000\) 第 8 章“维护”](#) 以及相应的安捷伦液质联用系统手册。

本故障排除章节仅适用于连接到由安捷伦制造的 CE 和 MS 的系统。

### 19.1

#### 储存 CE/MS 毛细管、鞘液分流器和 CE/MS 雾化器喷雾针

#### 日常操作

如果毛细管电泳和质谱系统处于闲置状态（即，等待下一次分析），请保持鞘液、雾化气体和干燥气的运行。如果停止测量一天或更长时间，请按照以下建议进行操作。为避免堵塞毛细管，在不使用时需要对鞘液分流器和 CE/MSD 雾化器喷雾针进行清洁。

#### 清洁鞘液分流器和 CE/MS 雾化器喷雾针

1. 用装满水的溶剂瓶替换鞘液瓶
2. 使 CE/MS 毛细管、鞘液分流器和雾化气体保持连接
3. 启动泵并冲洗 10 min，以 0.4 mL/min 的流速泵送水通过鞘液分流器和 CE/MS 雾化器喷雾针

4. 用装满异丙醇的溶剂瓶替换装有水的鞘液瓶
5. 启动泵并冲洗 10 min，泵送异丙醇通过鞘液分流器和 CE/MS 雾化器喷雾针

### 清洁和储存 CE/MS 毛细管

1. 用水冲洗毛细管 10 min，然后用甲醇进行冲洗
2. 将带有顶盖的空瓶插入样品盘中，通过对空瓶施加压力，用空气冲洗毛细管 10 min
3. 取下毛细管并储存在安全的地方，且毛细管末端可以用隔垫或类似物密封

### 检查并储存雾化器组件

1. 取下分离毛细管后，检查金属雾化器管的腐蚀情况和/或去除沉积物。如果有放大镜或显微镜，请使用放大镜或显微镜
2. 如果喷雾针出现腐蚀和/或不<sub>对</sub>称以及不平整，则应进行更换
3. 有关喷雾针和/或垫圈（部件号 G1607-20030）的更换，请按照第 22.1 节“CE/MS 雾化器工具包的组装”和/或 CE/MS 雾化器工具包安装指南中的说明进行操作
4. 在连接鞘液和雾化气体的情况下，将雾化器放入雾化器调节装置 (GT430-20470) 中

雾化器调节装置用户指南（部件号 G1960-90470）中提供了针对 LC/MS 雾化器喷雾针的详细维护说明。其中所述操作的相关细节也适用于 CE/MS 雾化器。

当没有鞘液流动时，热干燥气 (200–300 °C) 可能导致雾化器喷雾针损坏。当干燥气温度较高时，不得在没有鞘液的情况下使仪器闲置。否则，请从离子源中移除 ESI 雾化器。

如果酸（如甲酸）粘附到雾化器上，将引起雾化器喷雾针腐蚀。清洁操作非常重要，因为脏喷雾针会导致灵敏度降低、电流值异常和毛细管损坏等问题。

# 20 故障排除

## 20.1 与 CE 电流相关的现象

### 在运行过程中，CE 电流不稳定，出现尖峰或电流过低

原因	补救措施
雾化器尖端的电接触不良	调整 CE 毛细管在 CE/ESI-MS 雾化器中的轴向位置（参见第 16.2 节“将 CE 毛细管插入 CE/ESI-MS 雾化器中并进行调整”和图 62）
在喷雾针处形成气泡（由电解形成）	参见第 9.4 节“电场和极性”。提高鞘液流速以冲洗出电解气体 在反极性模式下操作时，雾化器喷雾针成为阴极。将标准雾化器喷雾针更换为铂雾化器喷雾针（部件号 G7100-60041），以避免不锈钢喷雾针的腐蚀
鞘液脱气不充分和/或鞘液流速波动（例如，使用电动注射泵）	使用建议的等度泵并进行在线脱气
CE 毛细管存在问题。毛细管中存在小气泡或颗粒。如果使用 DAD，准直接口中的毛细管可能破损	彻底冲洗毛细管并执行电流测试（参见第 16.5 节“CE 电流检查”）。用高倍放大镜或显微镜检查准直接口中的毛细管

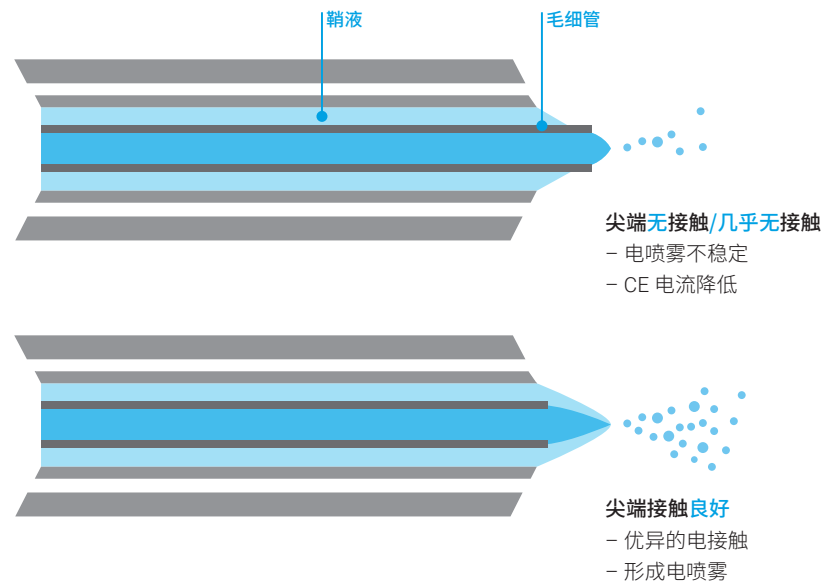


图 62. 中心管为 CE 毛细管；中间管为喷雾针与鞘液；外管为雾化气体管

## 进样后 CE 电流中断

原因	补救措施
由于雾化气流的抽吸效应，BGE 中形成液隙	在时间程序中，将进样期间的雾化气体压力设置为较低的值；使用更长或内径更窄的分离毛细管，首选内径为 50 μm
在样品序列进样期间，朝向毛细管出口的虹吸导致形成液隙	检查入口瓶的液位高度和雾化器的高度。参见第 11.1 节“调平毛细管电泳仪和质谱仪”

## 20.2

### 与 MS 信号相关的现象

## 基线 MS 信号 (TIC) 剧烈波动

原因	补救措施
鞘液流速不稳定、波动和/或脱气不完全	使用建议的等度泵并进行在线脱气
CE 毛细管的聚酰亚胺发生溶胀或已经脱落 (参见图 63)	避免在 BGE 和/或鞘液中使用高浓度乙腈 (> 50%)。使用安捷伦标准 CE 毛细管或去除 CE 毛细管末端的聚酰亚胺

## 峰变形

原因	补救措施
分离毛细管的入口或出口端损坏或不平整	用切割器切割毛细管末端 (参见第 14.1 节“准备毛细管”) 或使用新的毛细管。对新毛细管进行适当的预处理
鞘液与背景电解质不相容。形成沉淀或乳浊液	检查 BGE 和鞘液的混合行为
喷雾针腐蚀 (仅适用于使用阳离子型毛细管而喷雾针为阴极的情况)	将不锈钢喷雾针更换为铂喷雾针 (部件号 G7100-60041)

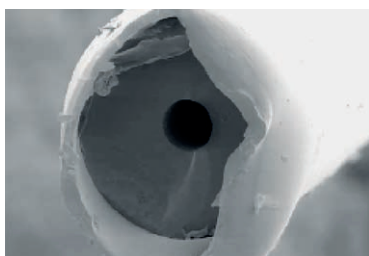


图 63. CE 毛细管的聚酰亚胺发生溶胀或已经脱落

## 迁移时间缩短和峰展宽

原因	补救措施
存在朝向毛细管出口的液压流	检查入口瓶的液位高度和雾化器的高度，避免发生虹吸。参见第 11.1 节“调平毛细管电泳仪和质谱仪” 减小雾化气体压力，避免发生抽吸效应。参见第 21.1 节“抽吸效应的测量和减小”

## 重现性不佳或迁移时间漂移

原因	补救措施
实验室中的温度波动影响 CE 分离毛细管的非恒温部分	确保使用 CE 雾化器工具包中的 PTFE 毛细管或者在配备空调的实验室中操作
入口瓶中的 BGE 已改变	每 3-5 次进样后补充入口瓶中的溶液，或使用装有新鲜 BGE 的样品瓶

## 峰高 (TIC) 的重现性不佳

原因	补救措施
离子化效率不一致	使用溶质的氘代类似物作为内标
毛细管电泳仪的进样精度低；由于毛细管切割不当或损坏，CE 毛细管入口侧的电场发生变化	使用内标

## 未观察到峰或峰的丰度低

原因	补救措施
溶质被分离毛细管壁吸附	用 DAD 检查是否存在峰以及是否发生分离

## 在空白运行中观察到峰（交叉污染）

原因	补救措施
采用电动进样时，样品瓶中的样品溶液液位达到电极高度。样品溶液可能进入 CE 毛细管和电极内壁之间的环形空间。残留下来的样品溶液进入 BGE/下一个样品瓶，并在下次进样时被引入	确保样品瓶中样品溶剂的液位保持在电极末端以下。 采用压力进样。使用短电极（部件号 G7100-60033）和压力进样，使电极不接触样品 在进样序列中使用“清洗入口电极”（Wash Inlet Electrode）命令，请参见 7100 毛细管电泳系统用户手册（部件号 G7100-90000）

## 20.3

### 现象 — ESI 电流

#### ESI 电流不稳定或过低

原因	补救措施
干燥气流速过高	尽可能减小干燥气流速

#### 背景 MS 电流过高

原因	补救措施
喷雾针或 CE 毛细管或鞘液泵较脏	冲洗毛细管并清洁喷雾针或鞘液泵（有关喷雾针检查的更多详情，请参阅 <a href="#">用户手册（部件号 G1960-90470）</a> ）
BGE 或鞘液较脏	使系统的各个部分均保持最高洁净度

## 21 高级方法开发信息

### 21.1 抽吸效应的测量和减小

多个研究小组已经报道，在 CE/MS 中使用三重管雾化器时，CE 毛细管中发生流体动力学流动（参见第 9.9 节“操作参数 — 雾化气体压力、干燥气温度和流速”）。这种流动是由 CE 毛细管出口处产生的低压引起的，因为雾化气流和鞘液的速度高于毛细管中溶剂流动的速度。因此，入口瓶中的液体压力高于出口侧的压力。这种现象称为伯努利效应。

如前面章节所述，不希望 CE 毛细管中存在液压流，因为这样将形成抛物线型流速分布，导致溶质区变宽。此外，这种流动将与 EOF 和电泳溶质速度叠加并将缩短分离时间，图 64 中的示例展示了该效应<sup>37</sup>。

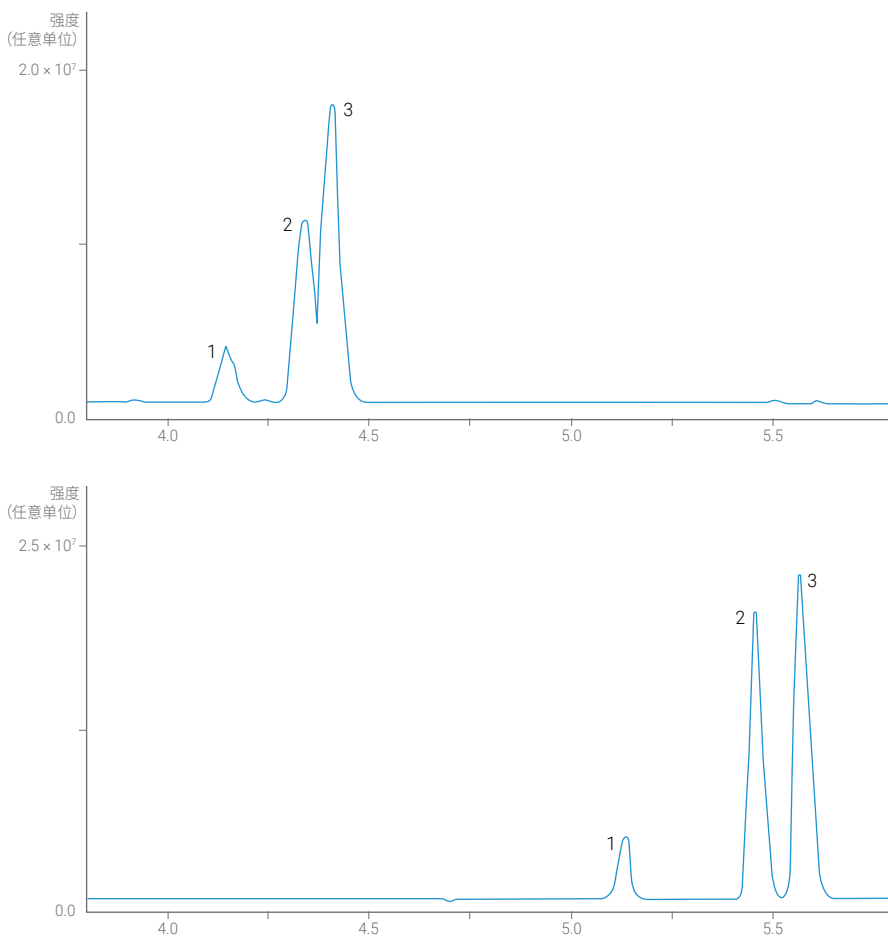


图 64. 使用 PB-PVS 涂层毛细管获得的 50  $\mu\text{g/mL}$  脑啡肽测试混标的 CE/MS 分离结果。上方电泳图显示了未在入口瓶处施加负压时的结果，下方电泳图显示了在入口瓶处施加 50 mbar 压力时的结果（经授权转载自参考文献 37）

在图 64 中，显示了使用 PB-PVS 涂层毛细管并以 500 mmol/L 甲酸 (pH 2.5) 作为 BGE 时脑啡肽测试混标 (GGFM-NH2 (1)、YGGFL (2) 和 YAGFM (3)，浓度为 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 的 CE/MS 分离结果。顶部迹线 A 显示了不在入口瓶处施加负 (或补偿) 压时的结果。下部迹线 B 为在入口瓶处施加 -50 mbar 压力时得到的结果。从图中可以清楚地看到，迁移时间延长，但分离效率提高，因为液压流对谱带展宽的不利影响已得到抑制。三个峰的塔板数从 15000-50000 增加至 100000-200000。

下面将介绍一个简单的过程，用于确定需要施加于入口侧的补偿压力的大小以有效抑制 CE/MS 过程中液压流的影响。该实验在不施加用于 CE 分离的电场的情况下进行。因此，不存在溶质的 EOF 或电泳淌度。由于不发生分离，因此应使用包含单一标记物质的样品。该过程由以下公式和图 65 示出。

所测标记物的速度由以下公式得到：

$$u_o = \frac{L_{tot}}{t_{mig}}$$

如果对入口瓶施加压力 ( $\Delta P$ )，则通过以下公式计算流速：

$$u_p = \frac{\Delta P \cdot K_d}{\eta \cdot L_{tot}}$$

现在的总流速为出口侧的负压 ( $u_o$ ) 与入口侧施加的超压所产生的液压流的总和。

$$\frac{L_{tot}}{t_{mig}} = u_o + u_p = u_o + \frac{\Delta P \cdot K_d}{\eta \cdot L_{tot}}$$

在三次单独的运行中，将标记物的迁移时间作为施加于入口瓶的恒定压力的函数进行测定。然后绘制迁移时间的倒数与施加于入口瓶的压力的关系曲线。

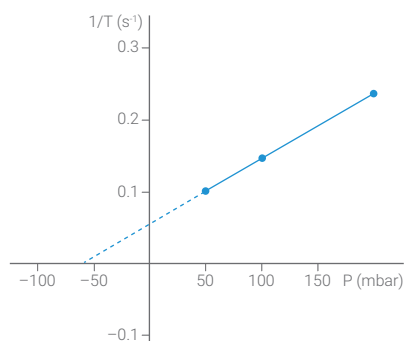


图 65. EOF 标记物的迁移时间与入口瓶上压力的关系图

结果将得到一条直线，其在负压力值处与 X 轴相交，该压力可平衡 CE/MS 雾化器出口侧的负压。可通过线性回归并计算截距来获得该压力的精确值。在提供的示例中，需要约 -50 mbar 的压力来平衡出口侧的负压。

## 21.2 鞘液组成的影响

在 CE 过程中，样品离子与 BGE 的同离子在雾化器尖端处离开毛细管，同时来自鞘液的反离子进入毛细管并向进样侧迁移，与此同时，BGE 离子在入口侧进入毛细管<sup>38</sup>。

在 EOF 较低或不存在的条件下，如果 BGE 包含与鞘液不同的反离子，则在毛细管内可能形成移动离子边界。该过程如图 66 所示。

根据这些离子相应的电泳淌度和  $pK_a$  值，由鞘液反离子取代 BGE 的反离子所形成的原始 BGE 与缓冲液之间的边界可能是尖锐的或散开的。此外，移动离子边界后面的新 BGE 的 pH 和电导率可能与原始 BGE 有较大差别。这种不同的 BGE 将导致区带变形。

为消除这种现象，需要使缓冲液与鞘液中的反离子在淌度和  $pK_a$  方面相匹配。当然，它们最好相同。可以在入口和出口之间形成较小的压力差（例如前文所述）和/或使用伯努利效应来减小出口侧的压力。或者，仅对入口加压，以产生超过移动边界速度的液压流速度。或者，考虑采用产生 EOF 的操作条件。

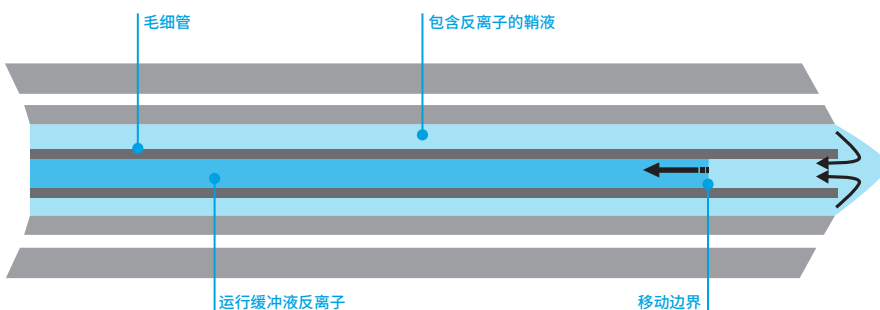


图 66. 假设 BGE 和鞘液的反离子不同，将导致鞘液反离子进入 CE 毛细管中

## 22 参考资料

### 22.1

#### CE/MS 雾化器工具包的组装

一般来讲，CE-MS 雾化器几乎不需要维护。但不排除有时也需要进行适当维护，或者出现某些问题导致需要更换某些部件。图 67 和表 10 中所示的部件可以由用户进行更换。

表 10. 用于维护或维修的部件

部件编号	描述	部件号
1	雾化器主体	无部件号
2	雾化器头	无部件号
3a, 3b	垫圈	G1607-20030
4	O 形圈	0905-1022
5	雾化器喷雾针	G1607-60041
6	弹簧	5022-2140
7	主体螺钉	G1607-20029*
8a, 8b	密封垫固定螺钉	G1607-20022*
9	雾化器保护管	0890-0581
未示出	用于毛细管和雾化气体的 PEEK 接头和密封垫圈	0100-1543
未示出	用于毛细管的 PEEK 密封垫圈	5022-2141

\*有关更换步骤，请联系当地的安捷伦客户服务中心

#### 更换雾化器喷雾针（部件 5）

1. 从雾化器上断开雾化气体、鞘液管和 CE/MS 毛细管的连接
2. 从 MSD 上拆下 CE/MS 雾化器，用纯 PTFE 管保护雾化器
4. 打开两个主体螺钉 (7)。小心不要弄丢连接的弹簧 (6)，参见图 68A
5. 从雾化器主体 (1) 上拧下雾化器头 (2)，参见图 68B
6. 打开雾化器主体的密封垫固定螺钉 (8b)
7. 取出存在缺陷的雾化器喷雾针 (5)
8. 将新的垫圈 (3b) 套到新的雾化器喷雾针上
9. 小心地将新喷雾针插入雾化器主体中
10. 重新插入密封垫固定螺钉 (8b)，但不要拧得过紧
11. 将雾化器头 (2) 拧到雾化器主体 (1) 上
12. 检查雾化器喷雾针是否从雾化器尖端伸出约 0.1–0.2 mm（约为其直径的三分之一）（图 75. 伸出 ESI 喷雾针，良好 (A)，糟糕 (B, C)）。使用雾化器调节装置（部件号 G1960-67470）以及相应的袖珍式显微镜（部件号 G1960-67470），这两种工具均包含在安捷伦 MSD 附件工具包中。如有必要，重新调整雾化器喷雾针，如下文所述

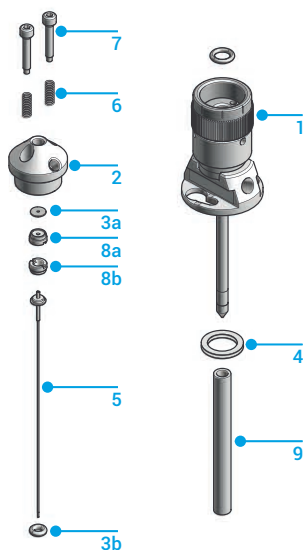


图 67. 安捷伦 CE/MS 雾化器

13. 仔细组装连接，按照前文所述的步骤调整毛细管并将其重新安装到 MSD 中
14. 使用测试样品验证是否能正常运行
15. 利用鞘液冲洗掉新插入的材料的表面污染物

如果密封垫固定螺钉拧得过紧，则 ESI 喷雾针将受到张力作用，通过雾化器的针路可能发生弯曲。因此，喷雾针伸出时可能与出口处边缘发生接触。不要将密封垫固定螺钉拧得过紧。如果喷雾针与边缘接触，则拧松螺钉，转动喷雾针并小心地将其重新拧紧。最新安捷伦 CE/MS 雾化器经过预调整。不要打开主体部件上的六角螺钉。

### 重新调整雾化器喷雾针

最新安捷伦 CE/MS 雾化器经过预调整。雾化器喷雾针应伸出雾化器尖端约 0.1–0.2 mm。此设置可提供最高的灵敏度和基线稳定性。在常规操作中，无需重新调整雾化器喷雾针。

仅在雾化器喷雾针位置与上述设置不同时才需重新调整 CE/MS 雾化器

1. 逆时针 (+ 方向) 转动调节螺钉，直至机械停止
2. 将下部调节环上的三个六角螺钉拧松 0.5 圈。下部调节环由金属制成，表面平整
3. 在以下调节步骤中，将雾化器头和主体部件压在一起以消除间隙 (图 70)
4. 逆时针转动下部调节环，直到雾化器喷雾针与雾化器尖端齐平
5. 将下部调节螺钉顺时针旋转四分之一圈
6. 拧紧下部调节环上的三个六角螺钉。检查雾化器喷雾针现在是否从雾化器尖端伸出约 0.1–0.2 mm (约为其直径的三分之一)，参见图 75。此过程可以使用雾化器调节装置 (部件号 G1960-67470) 以及相应的袖珍式显微镜 (部件号 G1960-67470) 来完成，这两种工具均包含在安捷伦 MSD 附件工具包中

如有必要，重新调整雾化器喷雾针。尽管常规调整至 0.1–0.2 mm，但对于其他雾化条件或单独的 ESI 雾化器，最佳值可能有所不同。如果观察到不规则的基线或溅射效应，请尝试调整至 0.3 mm。

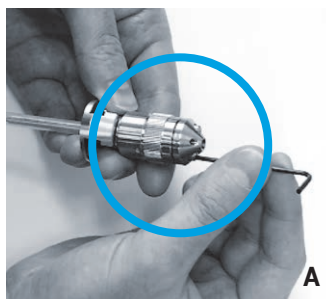


图 68. 从雾化器主体上拆下雾化器头

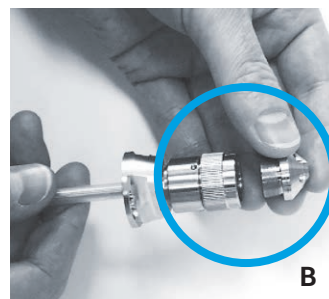


图 69. 取下雾化器主体中的垫圈



图 70. 喷雾针调整过程中雾化器的操作

## 22.2 雾化器维护

一般来讲，CE/MS 雾化器几乎不需要维护。但不排除有时也需要进行适当维护，或者出现某些问题导致需要更换某些部件。对于可能与雾化器相关的问题，可以采取以下操作：

- 重新调整雾化器，例如内部喷雾针、毛细管、适应流速
- 完成清洁后重新调整
- 更换雾化器的部件，如喷雾针和垫圈

更换、清洁和调整步骤如下文及之前的章节所述。请参见第 20 章“故障排除”以确定问题的根本原因。进行维护时，可以更换表 11 中所列的部件。

表 11. 用于维护或维修的部件（参见图 72）

部件编号	描述	部件号
1	雾化器主体	无部件号
2	雾化器头	无部件号
3a, 3b	垫圈	G1607-20030
4	O 形圈	0905-1022
5	喷雾针，不锈钢	G1607-60041
6	弹簧	5022-2140
7	主体螺钉	G1607-20029*

8a, 8b	密封垫固定螺钉	G1607-20022*
9	雾化器保护管	0890-0581
未示出	用于毛细管和雾化气体的 PEEK 接头和密封垫圈	0100-1543
未示出	用于毛细管的 PEEK 密封垫圈	5022-2141
5*	铂电喷雾针	G7100-60041

\*有关更换步骤，请联系当地的安捷伦客户服务中心

## 用于 CE/MS 的铂电喷雾针

该铂针（部件号 G7100-60041）作为替换部件内置于 CE 电喷雾接口 (ESI) 雾化器（部件号 G1607-60002）中。它的材料不同于标准（不锈钢）ESI 雾化器喷雾针（部件号 G1607-60041），并且尺寸略有不同，需要对气流和液流速度进行微调。铂 ESI 雾化器喷雾针耐用性更好、使用寿命更长，尤其适用于反极性 CE 应用。反极性将导致毛细管出口处发生氧化反应，并释放出腐蚀生成的金属离子，这些金属离子可能会干扰分析（例如，代谢组学中的阴离子检测）。

## 更换雾化器垫圈

泄漏的垫圈（部件 3a、3b，部件号 G1607-20030）可能会导致不稳定的 MSD 信号。如果鞘液的流速超过 200  $\mu\text{L}/\text{min}$ ，则可能损坏垫圈。安捷伦 CE/MS 雾化器工具包中提供了一组垫圈，这些垫圈也可单独订购。更换垫圈所需的部件：

- 六角扳手 2 mm
- 六角扳手 1.3 mm
- 垫圈（部件号 G1607-20030）

1. 从雾化器上断开雾化气体、鞘液管和 CE/MS 毛细管的连接
2. 从 MS 中拆下 CE/MS 雾化器
3. 从雾化器尖端套入保护管
4. 打开两个主体螺钉 (7)。小心不要弄丢连接的弹簧 (6)
5. 从雾化器主体 (1) 上拧下雾化器头 (2)
6. 使用专用螺丝刀 (5022-2142)，打开雾化器头底部的密封垫固定螺钉 (8a)。取出垫圈并清除滞留在此处的所有颗粒
7. 将垫圈 (3a) 更换为新垫圈
8. 插入密封垫固定螺钉 (8a)
9. 将雾化器头 (2) 拧到雾化器主体 (1) 上
10. 仔细组装连接，按照前文所述的步骤调整毛细管并将其重新安装到 MS 中
11. 使用测试样品验证是否能正常运行
12. 利用鞘液冲洗掉新插入的材料的表面污染物

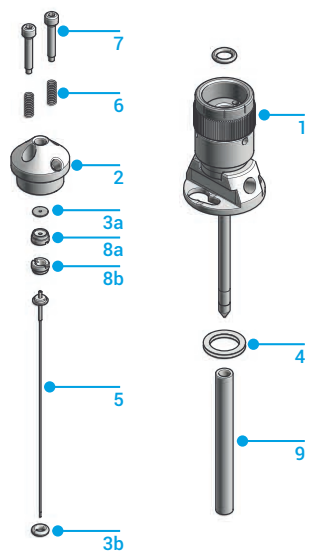


图 71. 安捷伦 CE/MS 雾化器

### 更换雾化器喷雾针

定期在显微镜下检查雾化器尖端是否发生损坏。使用雾化器调节装置（部件号 G1960-67470）以及相应的袖珍式显微镜（部件号 G1960-67470），这两种工具均包含在 MS 附件工具包中。在分析过程中，可能因氧化过程而造成腐蚀。也可能是由于 MS 干燥气造成的热损坏。

还可以通过更高的鞘液流速来检查雾化器尖端。将泵流速设置为 5 mL/min，以产生 50  $\mu$ L/min 的鞘流。在该流速下，可以看到喷雾锥。该喷雾锥必须是对称的。如果尖端出现一定程度的腐蚀或喷雾锥不对称，则需要更换雾化器喷雾针 (5)。

当没有鞘液流动时，MS 干燥气可能导致雾化器喷雾针发生热损坏。当干燥气温度较高时，不得在没有鞘液的情况下使仪器闲置。否则，请从离子源中移除 ESI 雾化器。



图 72. 拧松雾化器头

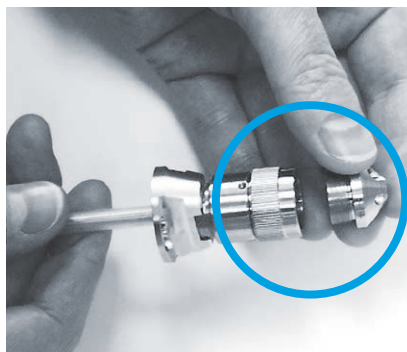


图 73. 取下雾化器头

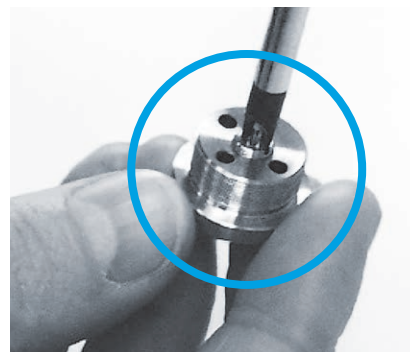


图 74. 取下雾化器头中的垫圈

## 22.3

### 缓冲液和测试样品的配制

必须配制以下溶液。请注意，CE 使用的所有溶剂在使用前都应通过 0.2  $\mu$ m 过滤器进行过滤。

- 1 mol/L 氢氧化钠（毛细管的初始活化）
- 1 mL 水（毛细管的初始活化）
- 10 mmol/L 乙酸铵，pH 6.9（运行缓冲液）
- 5 mmol/L 乙酸铵，溶于 50% 甲醇中（鞘液，至少每周配制一次新鲜溶液）
- 1 mg/mL 硫酸奎宁二水合物水溶液（测试样品，使用前现配）

### 测试样品

1. 称取 1 mg 测试样品到 2 mL Eppendorf 管中
2. 加入 1 mL 水
3. 搅拌直至化合物完全溶解（将样品瓶置于混合器中混合 30 min，或置于超声水浴中超声 15 min）
4. 向一个 CE 样品瓶中加入测试溶液（玻璃瓶为 1 mL；聚丙烯 (PP) 瓶为 500  $\mu$ L）

### 用于初始活化的溶剂

1. 向一个样品瓶中加入 1 mol/L 氢氧化钠（300  $\mu$ L，PP 瓶）
2. 向一个样品瓶中加入水（玻璃瓶为 1 mL；PP 瓶为 500  $\mu$ L）

### 运行缓冲液

1. 用 245 mL 水稀释 5 mL 安瓿中的内容物（包含 1.9 g 乙酸铵，溶于体积比为 20:80 的甲醇/水中），得到 100 mmol/L 的乙酸铵储备液，pH 6.9，含 0.4% (v:v) 甲醇
2. 按 1:10 的比例对一定量的储备液进行稀释
3. 向两个样品瓶中加入运行缓冲液（玻璃瓶为 1 mL；PP 瓶为 500  $\mu$ L）

### 鞘液

1. 将 225 mL CE 级水与 250 mL 甲醇混合
2. 加入 25 mL 100 mmol/L 的乙酸铵储备液
3. 充分混匀
4. 将鞘液加入泵系统的溶剂瓶 A 中。在使用注射泵输送鞘液的情况下，填充注射器

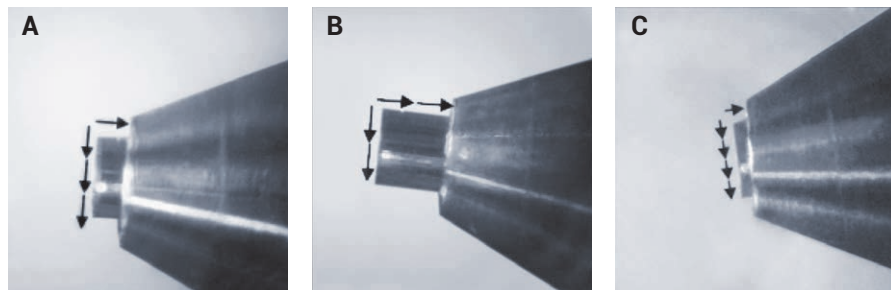


图 75. 伸出 ESI 喷雾针，良好 (A)，糟糕 (B, C)

## 23 参考文献

- 1 P. Arpino, Combined liquid chromatography mass spectrometry, Part 111, Applications of Thermospray, *Mass Spectrometry Reviews*, **1992**, 11, 3
- 2 M.L. Vestal, Thermospray liquid chromatographic interface for magnetic mass spectrometers, *Analytical Chemistry*, **1984**, 56, 2590
- 3 R.F. Browner et al., Performance of an improved monodisperse aerosol generation interface for liquid chromatography/mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, **1988**, 60, 489
- 4 M. Yamashita, J.B. Fenn, *Journal of Physical Chemistry*, **1984**, 56, 2590
- 5 M.L. Aleksandrov et al., *Bioorg Khim*, **1984**, 10, 710–712
- 6 A.P. Bruins, Th.R. Covey, and J.D. Henion, Ion spray interface for combined liquid chromatography/atmospheric pressure ionization mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, **1987**, 59, 2642
- 7 R.D. Smith, C.J. Barinaga, H.R. Udseth, Improved electrospray ionization interface for capillary zone electrophoresis-mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, **1988**, 60, 1948
- 8 T. Wachs, R.L. Sheppard, J. Henion, Design and applications of a self-aligning liquid junction-electrospray interface for capillary electrophoresis-mass spectrometry, *Journal of Chromatography B, Biomedical Applications*, **1996**, 685, 335
- 9 J.D. Henion, A.V. Mordehai, J. Cai, Quantitative capillary electrophoresis-ion spray mass spectrometry on a benchtop ion trap for the determination of isoquinoline alkaloids, *Analytical Chemistry*, **1994**, 66, 2103
- 10 J. Fred Banks Jr., Optimization of conditions for the analysis of a peptide mixture and a tryptic digest of cytochrome c by capillary electrophoresis-electrospray-ionization mass spectrometry with an improved liquid-sheath probe, *Journal of Chromatography A*, **1995**, 712, 245
- 11 J. Fred Banks Jr., Recent advances in capillary electrophoresis/electrospray/mass spectrometry, *Electrophoresis*, **1997**, 18, 2255
- 12 C. Simo, V. Garcia-Canas, A. Cifuentes, Chiral CE-MS. *Electrophoresis*, **2010**, 31, 1442
- 13 C.A. Lucy, A.M. MacDonald, M.D. Gulcev, Non-covalent capillary coatings for protein separations in capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, **2008**, 1184, 81–105
- 14 C. Huhn, R. Ramautar, M. Wuhler, G.W. Somsen, Relevance and use of capillary coatings in capillary electrophoresis-mass spectrometry, *Analytical Bioanalytical Chemistry*, **2010**, 396, 297–314
- 15 H. Katayama, Y. Ishihama, N. Asakawa, Stable capillary coating with successive multiple ionic polymer layers, *Analytical Chemistry*, **1998**, 70, 2254–2260
- 16 M.U. Musheev, Y. Filiptsev, S.N. Krylov, Temperature Difference between the Cooled and the Noncooled Parts of an Electrolyte in Capillary Electrophoresis, *Anal. Chem.*, **2010**, 82 (20), 8692–8695. T. Hankemeier and R. Ramautar, private communication
- 17 <http://www.analis.be> (2018年1月9日访问)
- 18 I. Kohler, M. Augsburg, S. Rudaz, J. Schappler, New insights in carbohydrate-deficient transferrin analysis with capillary electrophoresis-mass spectrometry, *Forensic Science Int.*, **2014**, 243, 14–22
- 19 T. Soga et al., Metabolomic profiling of anionic metabolites by capillary electrophoresis mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, **2009**, 81, 6165–6174
- 20 M. Breadmore, C. Sanger-van de Grient, In-Capillary Sample Concentration in CE, *LCGC North America*, **2014**, 32(3)
- 21 S. Wang, P. Yang, Y. Cheng, Analysis of tetracycline residues in bovine milk by CE-MS with field-amplified sample stacking, *Electrophoresis*, **2007**, 28, 4173–4179

- 22 Md. N. Hasan et al., Chromatographic determination of solubilities in superheated water. *Journal of Separation Science*, **2010**, 33, 3701–3709
- 23 P. Meng et al., pH-mediated stacking in capillary electrophoresis for analysis of opiates in saliva, *Analytical Methods*, **2012**, 4, 3695
- 24 A.R. Timerbaev, T. Hirokawa, Recent advances of transient isotachopheresis-capillary electrophoresis in the analysis of small ions from high-conductivity matrices, *Electrophoresis*, **2006**, 27, 323
- 25 Z.A. AlOthman et al., Single-drop microextraction as a powerful pretreatment tool for capillary electrophoresis: A review, *Analytica Chimica Acta*, **2012**, 739, 14
- 26 M. Pelzing, C. Neusüss, Separation techniques hyphenated to electrospray-tandem mass spectrometry in proteomics: capillary electrophoresis versus nanoliquid chromatography, *Electrophoresis*, **2005**, 26, 2717
- 27 J. Schappler et al., Multiple injection technique for the determination and quantitation of insulin formulations by capillary electrophoresis and time-of-flight mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **2010**, 1217, 804
- 28 K. Markides et al., Phosphate buffers in capillary electrophoresis/mass spectrometry using atmospheric pressure photoionization and electrospray ionization, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, **2003**, 17, 2267
- 29 G.J. de Jong et al., Atmospheric pressure photoionization for enhanced compatibility in on-line micellar electrokinetic chromatography-mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, **2005**, 77, 5277
- 30 G.J. de Jong et al., On-line capillary electrophoresis-mass spectrometry using dopant-assisted atmospheric pressure photoionization: setup and system performance, *Electrophoresis*, **2005**, 26, 146
- 31 J. Schappler et al., Coupling CE with atmospheric pressure photoionization MS for pharmaceutical basic compounds: optimization of operating parameters, *Electrophoresis*, **2007**, 28, 3078
- 32 G.J. de Jong et al., Capillary Electrophoresis-Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry Using an Orthogonal Interface: Set-Up and System Parameters, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, **2009**, 20, 1311
- 33 G. Bonvin et al., In-spray supercharging of intact proteins by capillary electrophoresis-electrospray ionization-mass spectrometry using sheath liquid interface. *Analytica Chimica Acta*, **2014**, 813, 97
- 34 P. Gareil et al., A new insight into suction and dilution effects in capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry via an electrospray ionization interface, Part I – Suction effect, *Electrophoresis*, **2008**, 29, 1957
- 35 P. Gareil et al., New insight into suction and dilution effects in CE coupled to MS via an ESI interface, Part II – Dilution effect, *Electrophoresis*, **2009**, 30, 1692
- 36 C.L. do Lago et al., Reviews 2014, A spectrum of separation approaches, analytical methodologies and important applications, *Electrophoresis*, **2014**, 35, 1
- 37 G.J. de Jong et al., Efficient and highly reproducible capillary electrophoresis-mass spectrometry of peptides using Polybrene-poly(vinyl sulfonate)-coated capillaries, *Electrophoresis*, **2006**, 27, 2091
- 38 F. Foret et al., Liquid Sheath Effects on the Separation of Proteins in Capillary Electrophoresis/Electrospray Mass Spectrometry, *Analytical Chemistry*, **1994**, 66, 4450



## 更多信息

安捷伦网站提供了有关 CE 和 CE/MS 的全面信息，包括应用简报、基础导论、技术概述和用户手册。

访问以下链接，下载与您的工作领域相关的出版物。

应用查找工具：[www.agilent.com/en/promotions/applicationfinder](http://www.agilent.com/en/promotions/applicationfinder)

产品与资源：[www.agilent.com/chem/cems](http://www.agilent.com/chem/cems)

了解更多信息：

[www.agilent.com/chem/cems](http://www.agilent.com/chem/cems)

安捷伦客户服务中心：

免费专线：800-820-3278

400-820-3278（手机用户）

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。



5994-0112ZHCHN

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2019  
2019年2月1日，中国出版  
5994-0112ZHCHN

