



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 114965831 A

(43) 申请公布日 2022.08.30

(21) 申请号 202210559285.7

(22) 申请日 2022.05.19

(71) 申请人 厦门大学

地址 361005 福建省厦门市思明区思明南路422号

(72) 发明人 王秋泉 周阳 宋杏蕊

(74) 专利代理机构 厦门南强之路专利事务所
(普通合伙) 35200

专利代理师 张素斌

(51) Int. Cl.

G01N 30/60 (2006.01)

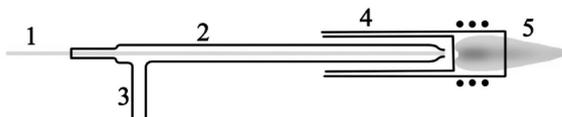
权利要求书1页 说明书5页 附图3页

(54) 发明名称

色谱与质谱联用的零死体积接口装置及其应用

(57) 摘要

色谱与质谱联用的零死体积接口装置及其应用,该接口装置是一种集样品组分分离、雾化和直接传输功能于一体的微口径高效液相色谱(μ HPLC)与电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)联用的零死体积接口装置。该装置由一个玻璃或石英框架和插入其中的微口径色谱柱组成,直接作为ICP炬管的中心采样通道插入到ICP-MS的离子源处,实现了 μ HPLC与ICP-MS的零死体积偶联。 μ HPLC流出物以100%的传输效率无损失地进入ICP-MS中被检测,大大降低了检出限;不需配备雾室的零死体积耦合,大大减小了色谱分离的柱后效应,避免了色谱峰的展宽和已分离组分的再次混合,最大程度地保证了HPLC的分辨率。



1. 色谱与质谱联用的零死体积接口装置,其特征在於:包括微口径液相色谱柱、进样接口框架和雾化气支管;所述进样接口框架采用玻璃管或石英管,并在侧边开口延伸设有所述雾化气支管;所述进样接口框架的末端逐渐收缩形成一个喷嘴结构;所述微口径液相色谱柱从进样接口框架的尾端伸入到达喷嘴结构处,所述喷嘴结构的内径略大于微口径液相色谱柱的外径,以使色谱分离后的流出液与雾化气充分相互作用而雾化。

2. 权利要求1所述的色谱与质谱联用的零死体积接口装置的应用,其特征在於:直接作为ICP炬管的中心采样通道插入到ICP离子源处,实现微口径液相色谱(μ HPLC)与电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)的零死体积偶联,从而同时起到样品组分分离、雾化和直接传输到ICP-MS的作用。

3. 如权利要求2所述的色谱与质谱联用的零死体积接口装置的应用,其特征在於:所述微口径液相色谱柱后不需连接任何额外的管路。

4. 如权利要求2所述的色谱与质谱联用的零死体积接口装置的应用,其特征在於:液体样品雾化后直接进入ICP离子源,不需要配备额外的雾室。

5. 如权利要求2所述的色谱与质谱联用的零死体积接口装置的应用,其特征在於:所述微口径液相色谱柱直接径向插入进样接口框架中直至ICP离子源尾端。

6. 如权利要求2所述的色谱与质谱联用的零死体积接口装置的应用,其特征在於:所述微口径液相色谱柱的分离模式包括但不限于反相、正相、亲水作用、离子交换、亲和作用和体积排阻。

7. 如权利要求2所述的色谱与质谱联用的零死体积接口装置的应用,其特征在於:所述微口径液相色谱柱可以是填充柱、整体柱或开管柱。

8. 如权利要求2所述的色谱与质谱联用的零死体积接口装置的应用,其特征在於:所述微口径液相色谱柱相对于喷嘴结构的位置可自由调节。

9. 如权利要求2所述的色谱与质谱联用的零死体积接口装置的应用,其特征在於:色谱与质谱联用的零死体积接口装置相对于ICP离子源的位置可自由调节。

色谱与质谱联用的零死体积接口装置及其应用

[0001]

[0002]

技术领域

[0003] 本发明涉及分析化学领域,尤其涉及色谱与质谱的联用零死体积接口装置及其应用。

背景技术

[0004] 随着人们对生命体系了解的渐渐深入,对于复杂生物样品的分析需求也不断增加。特别是随着金属组学概念的提出,对生命体系中的金属/类金属元素的分离分析有重大的意义。生物样品通常具有样品量稀少,复杂程度高以及丰度差异大的特点,因此微/纳流液相色谱常被用于生物样品的高分辨率分离分析;而电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)进行元素分析时具有极低的检出限(ppb),且可以选择性分析目标元素,将二者结合可以实现对生命体系中金属/类金属化合物的高分辨高灵敏分离分析[1:Clough,R.;Harrington,C.F.;Hill,S.J.;Madrid,Y.;Tyson,J.F.Atomic Spectrometry Update:review of advances in elemental speciation.J. Anal.At.Spectrom.2021,36,1326-1373]。但是,现在常用的HPLC-ICP-MS进样接口通常是一个配备了雾室的气动雾化器,雾室较低的样品传输效率会降低方法的检测能力,并且其较大的死体积会导致液相色谱分离后的样品峰展宽,甚至发生再混合[2:Grotti,M.;Terol,A.;Todoli,J.L.Speciation Analysis by Small-Bore HPLC Coupled to ICP-MS.TrAC Trends in Analytical Chemistry 2014,61,92-106]。即使是不配备雾室的直接插入式雾化器也同样存在柱后死体积,仍然会造成峰展宽效应。总之,现有的接口技术难以保证高分辨率、低检出限的HPLC-ICP-MS 分离分析。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于解决现有技术中的上述问题,提供一种可以集样品组分分离和雾化直接进样的色谱-质谱零死体积接口装置,以实现将高效液相色谱分离后的样品组分100%效率传输至ICP-MS中进行检测,大大降低了检出限;不需配备雾室的零死体积耦合,大大减小了色谱分离的柱后效应,避免了色谱峰的展宽和已分离组分的再次混合,最大程度地保证了HPLC的分辨率。

[0006] 为达到上述目的,本发明采用如下技术方案:

[0007] 色谱与质谱联用的零死体积接口装置,包括微口径液相色谱柱、进样接口框架和雾化气支管;所述进样接口框架采用玻璃管或石英管,并在侧边开口延伸设有所述雾化气支管;所述进样接口框架的末端逐渐收缩形成一个喷嘴结构;所述微口径液相色谱柱从进样接口框架的尾端伸入到达喷嘴结构处,所述喷嘴结构的内径略大于微口径液相色谱柱的外径,以使色谱分离后的流出液与雾化气充分相互作用而雾化。

[0008] 所述的色谱与质谱联用的零死体积接口装置的应用,直接作为ICP炬管的中心采样通道插入到ICP离子源处,实现微口径液相色谱(μ HPLC)与电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)的零死体积偶联,从而同时起到样品组分分离、雾化和直接传输到ICP-MS的作用。

[0009] 所述微口径液相色谱柱后不需连接任何额外的管路。

[0010] 本发明中,液体样品雾化后直接进入ICP离子源,不需要配备额外的雾室。

[0011] 所述微口径液相色谱柱直接径向插入进样接口框架中直至ICP离子源尾部。

[0012] 所述微口径液相色谱柱的分离模式包括但不限于反相、正相、亲水作用、离子交换、亲和作用和体积排阻。

[0013] 所述微口径液相色谱柱可以是填充柱、整体柱或开管柱。

[0014] 所述微口径液相色谱柱可以是任意尺寸的微口径柱。

[0015] 所述微口径液相色谱柱相对于喷嘴结构的位置可自由调节。

[0016] 所述色谱与质谱的联用零死体积接口装置相对于ICP离子源的位置可自由调节。

[0017] 相对于现有技术,本发明技术方案取得的有益效果是:

[0018] 本发明可同时起到样品组分分离、雾化和直接传输到ICP-MS的作用,直接作为ICP炬管的中心采样通道插入到ICP-MS的离子源处,实现了 μ HPLC与ICP-MS的零死体积偶联,极大地提高了样品传输效率,同时保持了色谱的分辨率。

[0019] 本发明主要由一根微口径液相色谱柱与一个带有雾化气支管和逐渐收缩喷嘴的进样接口框架共同组成,如此,可以允许该接口装置作为ICP-MS等离子体炬管的样品传输通道,方便且可调节地直接插入到ICP离子源的底部,与目前HPLC与ICP-MS联用时普遍采用的由一个气动雾化器与一个雾室组成的接口装置相比,实现了HPLC和ICP-MS的零死体积在线耦合和100%的样品传输效率,克服了现行接口装置因耦合HPLC和ICP-MS死体积大且样品传输效率低的缺欠,使得在ICP-MS检测之前因死体积存在所导致的色谱峰的展宽甚至已色谱分离组分的再混合问题得到根本解决,极大地提高了分析性能。

附图说明

[0020] 图1为本发明的结构示意图;

[0021] 图2为使用 $690\mu\text{m}$ 外径 $\times 530\mu\text{m}$ 内径 $\times 30.0\text{cm}$ 长微口径液相色谱柱时,色谱柱终端相对喷嘴口位置的优化结果。

[0022] 图3为使用 $690\mu\text{m}$ 外径 $\times 530\mu\text{m}$ 内径 $\times 30.0\text{cm}$ 长微口径液相色谱柱与逐渐收缩喷嘴的玻璃框架(7.0mm 外径 $\times 4.0\text{mm}$ 内径 $\times 208\text{mm}$ 长,喷嘴内径 $700\mu\text{m}$)共同组成的色谱-质谱联用接口装置时,接口装置相对ICP离子源位置的优化结果。

[0023] 图4为使用所制作的色谱-质谱联用接口装置,当色谱流动相流速为 $50\mu\text{L}/\text{min}$ 时,雾化气流量的优化结果。

[0024] 图5为使用所制作的色谱-质谱联用接口装置耦合HPLC与ICP-MS时所获得的含硒多肽SLUGT的半高峰宽以及与常用接口装置的比较图。

[0025] 图6为对富硒酵母蛋白质酶解物中含Se多肽的分离分析结果图。

[0026] 附图标记:微口径液相色谱柱1;进样接口框架2;雾化气支管3;ICP炬管4;ICP离子源5。

具体实施方式

[0027] 为了使本发明所要解决的技术问题、技术方案及有益效果更加清楚、明白,以下结合附图和实施例,对本发明做进一步详细说明。

[0028] 如图1所示,本实施例色谱-质谱联用接口装置包括微口径液相色谱柱1、进样接口框架2和雾化气支管3组成。该接口装置直接替代ICP炬管的中心管,插入至ICP离子源尾端。

[0029] 所述进样接口框架2结构为一根玻璃管或石英管,并且在侧面延伸开口设有一根雾化气支管3。所述进样接口框架2的末端逐渐收缩形成一个喷嘴结构。用于样品分离的微口径液相色谱柱1从进样接口框架2尾端伸入到达喷嘴处,喷嘴的内径略大于微口径液相色谱柱1的外径,以使色谱分离后的流出液与雾化气充分相互作用,达到雾化的目的。

[0030] 分析平台的搭建:首先选择合适的微口径液相色谱柱1以及与之对应的流动相。使用含铟、铈和硒离子的调谐液,用于ICP-MS的调谐及实验条件的优化。使用所设计制作的接口装置替换ICP-MS上的雾化器、雾室以及ICP炬管4的中心管,调节接口装置相对于ICP炬管内管端口的距离,将载气管路与接口装置的雾化气支管3连接,完成耦合HPLC与ICP-MS之接口装置的安装(图1)。然后将微口径液相色谱柱1的前端通过PEEK接头与液相色谱仪的六通进样阀连接,完成分析平台的搭建。

[0031] 进行所设计制作的接口装置耦合的HPLC-ICP-MS分析检测:ICP-MS点炬,并运行高效液相色谱。在控制ICP-MS的电脑工作站上进行ICP-MS的调谐,以含铟、铈和硒离子的调谐液分别优化微口径色谱柱尾端相对喷嘴的位置、接口装置相对于ICP离子源的位置和雾化气流速等参数(图2~4)。

[0032] 图2为使用690 μm 外径 \times 530 μm 内径 \times 30.0cm长微口径液相色谱柱时,色谱柱终端相对喷嘴位置的优化结果。使用含铟、铈和硒离子的调谐液进行优化,流速为50 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。在 $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}/^{140}\text{Ce}$ 为0.025时, ^{115}In 在标准模式下检测, ^{80}Se 在甲烷DRC模式下检测(甲烷气流速为0.6L/min;RPq为0.45)。

[0033] 图3为使用690 μm 外径 \times 530 μm 内径 \times 30.0cm长微口径液相色谱柱与逐渐收缩喷嘴的进样接口框架(7.0mm外径 \times 4.0mm内径 \times 208mm长,喷嘴内径700 μm)共同组成的接口装置时,接口装置相对ICP离子源位置的优化结果。使用含铟、铈和硒离子的调谐液进行优化,流速为50 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。在 $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}/^{140}\text{Ce}$ 为0.025时, ^{115}In 在标准模式下检测, ^{80}Se 在甲烷DRC模式下检测(甲烷气流速为0.6L/min;RPq为0.45)。

[0034] 图4为使用所设计制作的接口装置,当色谱流动相流速为50 $\mu\text{L}/\text{min}$ 时,雾化气流量的优化结果。使用含铟、铈和硒离子的调谐液进行优化。在 $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}/^{140}\text{Ce}$ 为0.025时, ^{115}In 在标准模式下检测, ^{80}Se 在甲烷DRC模式下检测(甲烷气流速为0.6L/min;RPq为0.45)。

[0035] 优化完毕后,将高效液相色谱流动相切换为分离分析时所需的流动相,将ICP-MS检测模式设置为时间分辨联用模式,使用500nL含硒多肽SLUGT标准溶液(1.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$),选择待测硒元素的 ^{80}Se 同位素,设置合适的驻留时间和总测试时间,通过六通进样阀进样后,同时启动高效液相色谱分离和ICP-MS检测,得到 ^{80}Se 信号强度随时间变化的色谱图,并与其他常用接口进行比较(图5)。

[0036] 图5为使用所设计制作的色谱-质谱联用接口装置耦合HPLC与ICP-MS时所获得的含硒多肽SLUGT的半高峰宽以及与常用接口装置的比较。四种接口装置分别是:TRP-50-C0联有15mL的雾室,鞘流为0.3mL/min的2%的硝酸溶液;HEN联有15mL的雾室;Home-made

direct infusion nebulizer有67 μ L的死体积;COL-NEB是色谱-质谱联用的零死体积接口装置。进样体积为500nL(1.0 μ mol/L SLUGT),流速为50 μ L/min,洗脱梯度为:(A相:H₂O+0.05%TFA; B相:ACN+0.05%TFA)0~10min:5%~95%B。⁸⁰Se在甲烷DRC模式下检测(甲烷气流速为0.6L/min;RPq为0.45)。

[0037] 下面结合实施例对本发明进一步说明。本实施例中使用的HPLC为Waters e2695 HPLC 系统,使用的ICP-MS为Perkin Elmer NexION 2000 ICP-MS,但是该分析平台也同样适用于其它类型的HPLC和ICP-MS。实施例中未注明具体技术和条件者,按照本领域内文献所描述的技术和条件或按照产品说明书进行,所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市购得到的常规产品。

[0038] 实施例:富硒酵母蛋白酶解物内含Se多肽的分离分析。

[0039] 1、组装接口装置并零死体积耦合HPLC与ICP-MS。因为富硒酵母内含Se蛋白质和多肽组成复杂,因此选择实用性更广、分辨率更高的反相液相色谱柱。本实施例中使用的是C18 杂化聚甲基丙烯酸酯微口径整体柱(690 μ m外径 \times 530 μ m内径 \times 30.0cm长,最佳流速50 μ L/min)。进样接口框架尺寸规格为:总长208mm,载气通道外径7mm,内径4mm,雾化气支管长度为30mm。进样接口框架尾端自6mm处逐渐变细直到内径700 μ m。微口径整体柱从接口外壳尾端伸入,在显微镜下调节微口径色谱柱尾端相对于喷嘴口的位置与喷嘴平齐,此时形成了一个0.0109mm²的雾化气与色谱流出液相互作用的断面。安装接口装置时,首先取下ICP-MS上的常规进样雾化器以及雾室。拆下炬管,取出中心管,将接口装置替换到中心管位置,再将炬管和接口装置一起安装到ICP-MS上,将雾化气管路与接口装置的雾化气支管连接,最后将微口径液相色谱柱的尾端通过PEEK接头与六通进样阀连接,即完成接口装置的安装。

[0040] 2、实验条件的优化:将高效液相色谱仪的流动相设置为A相:H₂O+0.05%TFA;B相:ACN+0.05%TFA。ICP-MS点炬,同时开始运行高效液相色谱,将流速设置为50 μ L/min。在¹⁴⁰Ce¹⁶⁰/¹⁴⁰Ce为0.025时,dwell time设置为50ms,¹¹⁵In在标准模式下检测,⁸⁰Se在甲烷 DRC模式下检测(甲烷气流速为0.6L/min;RPq为0.45)。以¹¹⁵In和⁸⁰Se的信号强度作为指标,分别优化微口径色谱柱尾端相对喷嘴的位置、接口装置相对于ICP离子源的位置和雾化气流量。

[0041] 3、液相色谱参数设置:调谐完毕后将液相色谱流动相切换为95%A+5%B,平衡30min,其间,设置液相色谱方法:进样体积500nL,流速为50 μ L/min,设置洗脱梯度如下:0~3min:5%B;3~7min:5%~45%B;7~9min:45%~80%B;9~10min:80%B。

[0042] 4、ICP-MS方法设置:新建方法,选定待测元素为⁸⁰Se,dwell time设置为50ms,总检测时间设置为10min,检测模式设置为甲烷DRC模式,甲烷气流速为0.6L/min;RPq为0.45。

[0043] 5、样品测试:取500nL富硒酵母蛋白质酶解物水溶液,通过六通阀注入后同时开始所设计制作的接口装置耦合的HPLC-ICP-MS分析检测,采集到的数据如图6所示。图6为对富硒酵母蛋白质(>3000MW)酶解物中含Se多肽的分离分析结果。进样体积500nL,流速为50 μ L/min,洗脱梯度(A相:H₂O+0.05%TFA;B相:ACN+0.05%TFA)为0~3min:5%B;3~7min:5%~45%B;7~9min:45%~80%B;9~10min:80%B。⁸⁰Se在甲烷DRC模式下检测(甲烷气流速设置为0.6L/min;RPq为0.45)。图6中,A为富硒酵母蛋白质酶解物 HPLC-ICP-MS分析色谱图,共检测到32个含硒组分;B-E为不同分离时间的放大色谱图。

[0044] 6、完成测样:测样结束后暂时停止液相色谱泵,熄灭ICP。将流动相配比设置为

20%A +80%B后重新打开液相色谱泵,冲洗30min后关闭液相色谱,取下微口径液相色谱柱,将色谱柱两端密封后保存。

[0045] 该平台不仅可以用于对生物或环境样品固有元素(如Se,但不限于Se等其他元素)进行分离分析,同样也适用于元素标签靶向编码标记的任何生物标志物的检测。

[0046] 对上述所公开实施例的说明,是为了使本领域专业技术人员能够实现或使用本发明。对这些实施例的多种修改方式对本领域的专业技术人员将是显而易见的。本文所定义的一般原理可以在不脱离本发明的精神或范围的情况下,在其它实施例中实现。因此,本发明将不会限制于本文所示的这些实施例,而是要符合与本文所公开的原理和新颖特点相一致的最宽的范围。

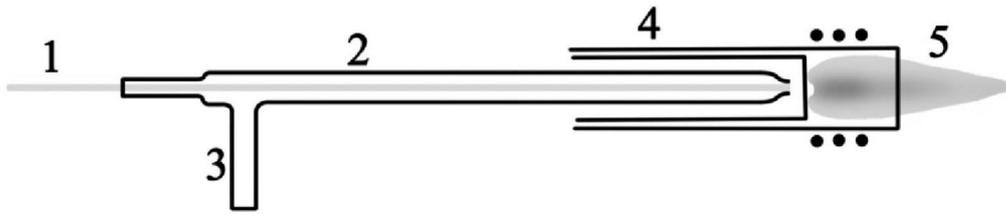


图1

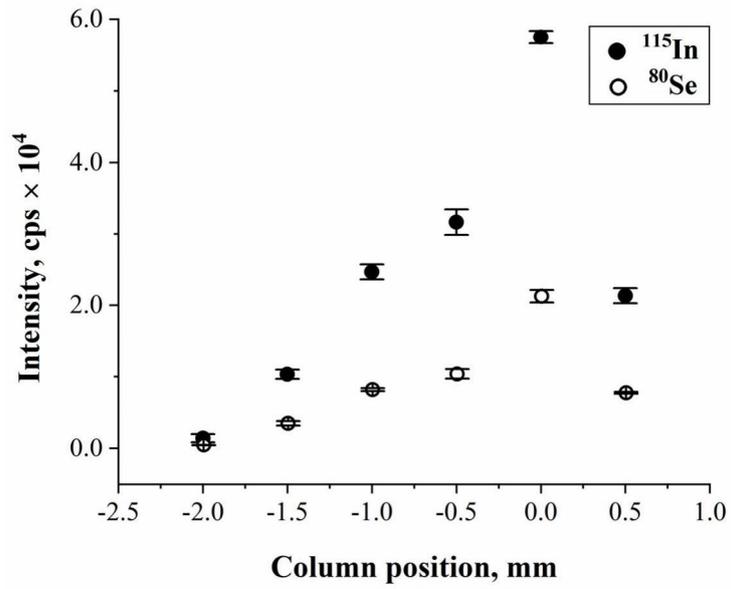


图2

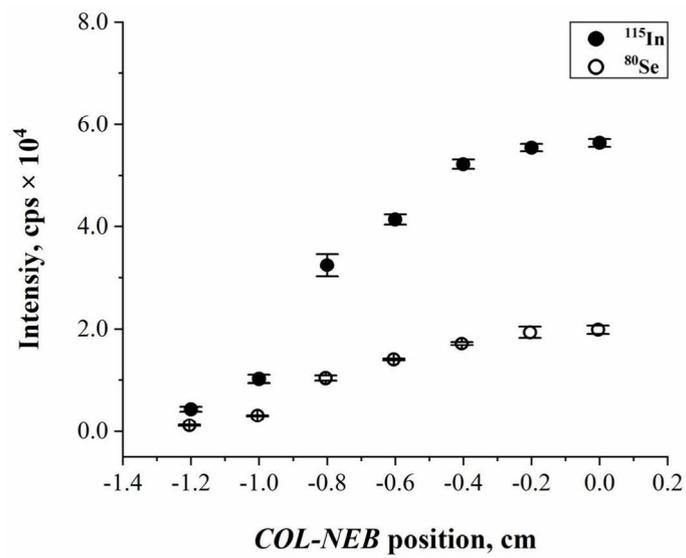


图3

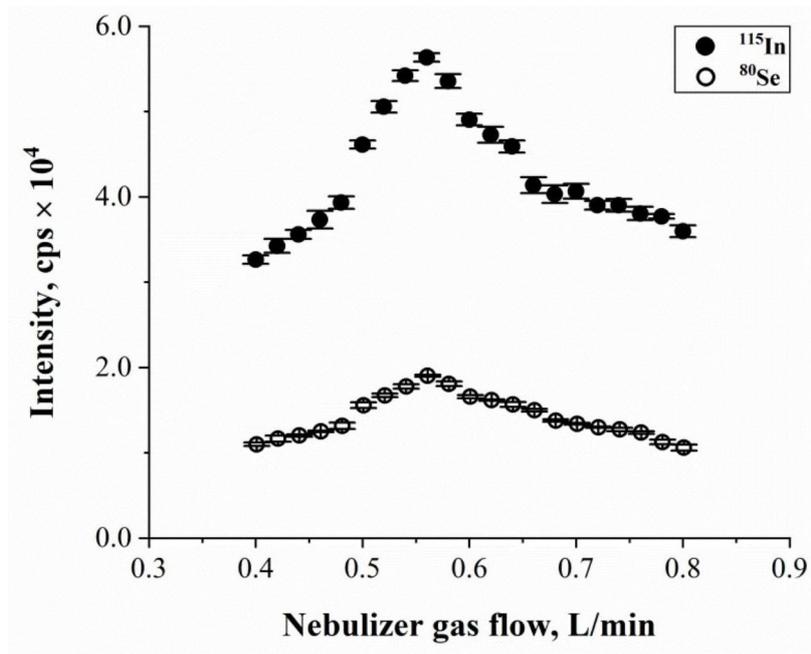


图4

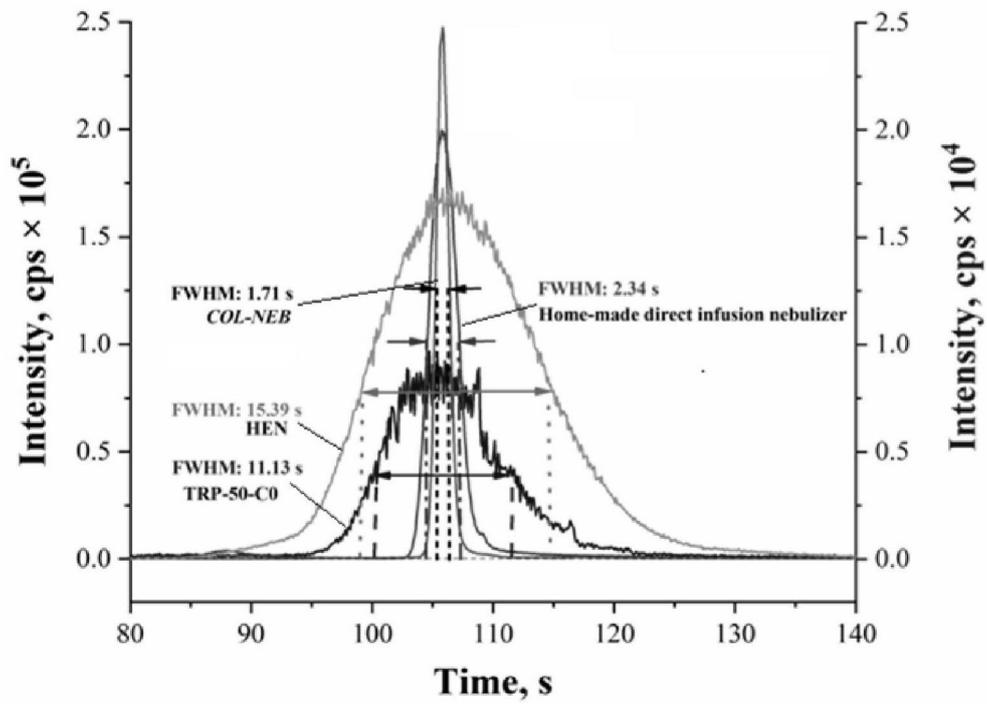


图5

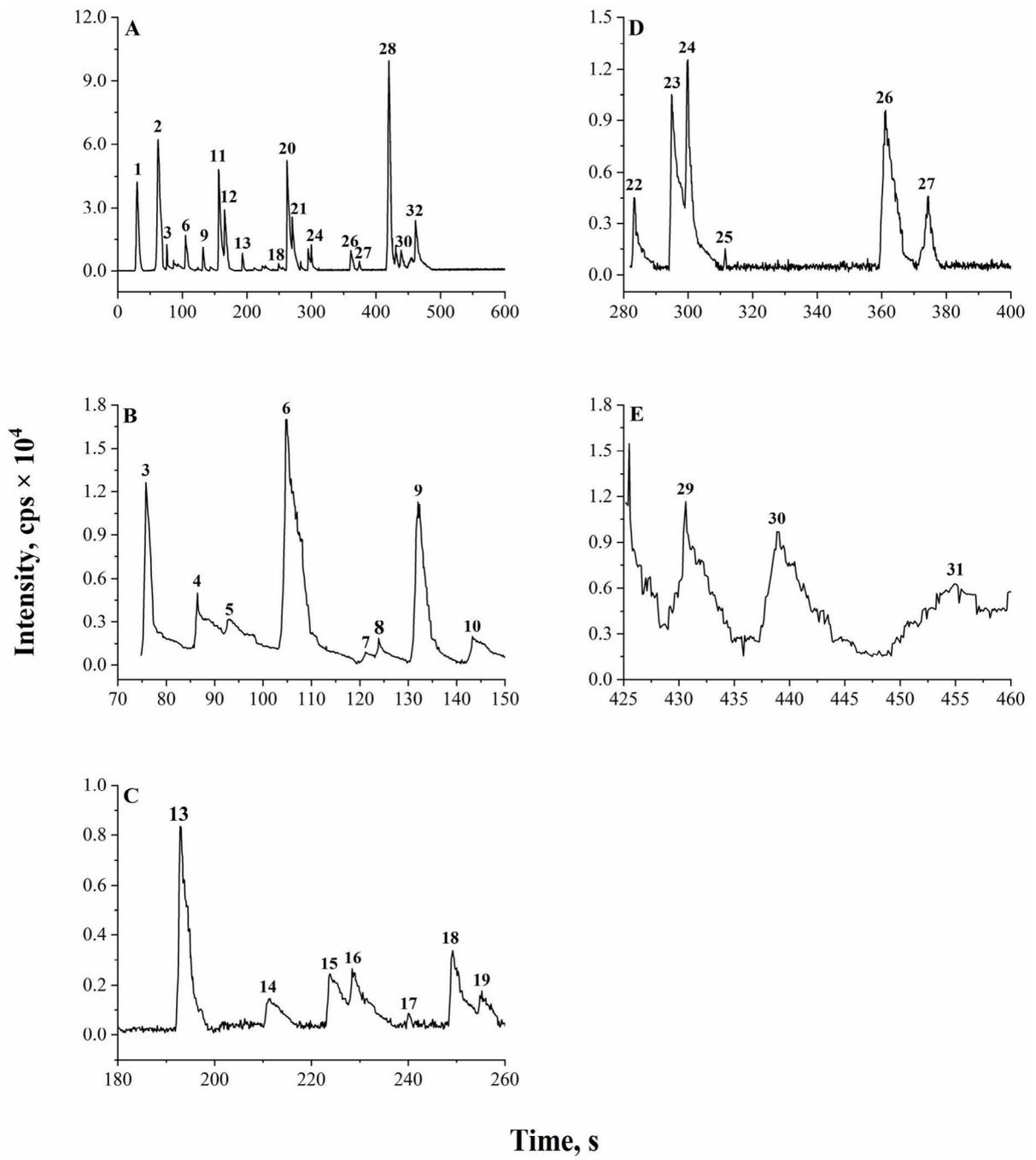


图6