



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101809706 B

(45) 授权公告日 2015. 12. 09

(21) 申请号 200880100260. 9

代理人 封新琴

(22) 申请日 2008. 06. 02

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

H01J 49/00(2006. 01)

60/932, 644 2007. 06. 01 US

(56) 对比文件

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

US 2006186332 A1, 2006. 08. 24, 全文.

2010. 01. 25

审查员 王晓峰

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2008/065513 2008. 06. 02

(87) PCT国际申请的公布数据

W02008/151121 EN 2008. 12. 11

(73) 专利权人 珀金埃尔默健康科学股份有限公司

地址 美国康涅狄格州

(72) 发明人 克雷格·M·怀特豪斯
托马斯·P·怀特

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所
11105

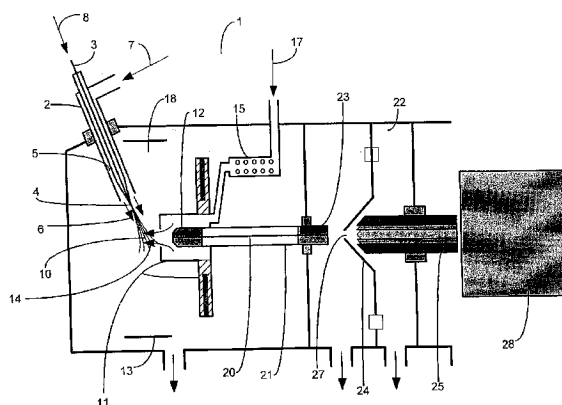
权利要求书1页 说明书9页 附图16页

(54) 发明名称

大气压离子源性能增强方法

(57) 摘要

与质谱接合的电喷雾离子源是分析应用中广泛使用的工具。电喷雾 (ES) 离子化中发生的过程通常包括增加或除去带电物质例如 H^+ 或其它阳离子以实现样品的离子化。发现了一组新的电解质, 与使用较常规电解质获得的分析 ESMS 信号相比, 所述新的电解质增强了 ESMS 分析中测量的正极性和负极性分析离子信号。在电喷雾膜探针中, 当直接添加到样品溶液中时或者当添加到第二溶液流中时, 新电解质增强 ESMS 信号。还可将新电解质添加到配置在组合大气压离子源中的试剂离子源中, 以改善离子化效率。



1. 一种增大电喷雾质谱分析离子信号幅值的方法,该方法包括在电喷雾离子化过程中在样品溶液中包含电解质苯甲酸、三甲基乙酸或环己羧酸之一的步骤,其中该方法优化上游样品制备或分离系统的性能和下游电喷雾的性能。

2. 一种增大电喷雾质谱分析离子信号幅值的方法,该方法包括在电喷雾离子化过程中在电喷雾膜探针的第二溶液中包含电解质苯甲酸、三甲基乙酸或环己羧酸之一的步骤,和直线升高(ramping up)第二溶液中电解质浓度以最大化分析离子信号的步骤。

3. 一种增强组合电喷雾和大气压化学离子化(APCI)源生成的质谱分析离子信号的方法,该方法包括在试剂离子源溶液中包含电解质苯甲酸、三甲基乙酸或环己羧酸中至少一种的步骤,其中增强分析离子信号包括在正模式和负模式改进分析离子信号。

4. 一种增强大气压化学离子化(APCI)源生成的质谱分析离子信号的方法,该方法包括在样品溶液中包含电解质苯甲酸、三甲基乙酸或环己羧酸中至少一种的步骤,其中增强分析离子信号包括在正模式和负模式改进分析离子信号。

5. 一种增强质谱分析离子信号幅值的方法,其包括

在基本上大气压下工作的离子源中进行离子化期间在溶液中包含苯甲酸、三甲基乙酸和环己羧酸中至少一种

其中溶液选自:样品溶液,电喷雾膜探针的第二溶液,和试剂离子源溶液,其中增强分析离子信号包括在正模式和负模式改进分析离子信号。

6. 权利要求5的方法,其中所述离子源是电喷雾离子源,并且所述溶液是样品溶液。

7. 权利要求5的方法,其中所述离子源是大气压化学离子化(APCI)离子源,并且所述溶液是样品溶液。

8. 权利要求5的方法,其中所述离子源是电喷雾离子源,并且所述苯甲酸、三甲基乙酸或环己羧酸用在电喷雾离子化期间电喷雾膜探针的第二溶液中。

9. 权利要求5的方法,其中所述离子源是组合的电喷雾和大气压化学离子化(APCI)离子源,并且所述溶液是试剂溶液。

大气压离子源性能增强方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2007 年 6 月 1 日提交的临时专利申请 60/932,644 的权益,在此引入其内容作为参考。

发明领域

[0003] 本发明涉及与质谱仪接合的大气压离子 (API) 源领域。这种 API 源包括但不限于电喷雾、大气压化学离子化 (APCI)、组合离子源、大气压电荷注入基体辅助激光解吸、DART 和 DESI。本发明包括使用新的电解质以增强与质谱仪接合的 API 源产生的分析离子信号。

[0004] 发明背景

[0005] 带电液滴生成无辅助或气动雾化辅助电喷雾 (ES) 要求在样品溶液流动路径中在导电表面处将物质氧化 (正离子极性 ES) 或将物质还原 (负离子极性)。当使用与电压或接地电势电连接的金属电喷雾针尖时,在电喷雾离子化过程中在金属电喷雾针的内表面上发生这种氧化或还原 (氧化还原) 反应。如果在电喷雾离子化中使用介电电喷雾尖端,则在沿样品溶液流动路径接触样品溶液的导电金属表面上发生氧化还原反应。这种导电表面通常可通过不锈钢连接件与熔融二氧化硅电喷雾尖端连接。电喷雾样品溶液流动路径形成电化学单元或伏打单元 (voltaic cell) 的一半。电喷雾中形成的电化学单元的另一半以气相形式操作。因此,可用于解释或预测液体-液体电化学单元的行为的操作规则可用于解释电喷雾离子化中发生的一部分过程。电解质有助于促进电极表面发生的氧化还原反应,所述电极表面浸在电化学单元中的液体之中。电解质不仅在形成单极性带电液滴所需的初始氧化还原反应中发挥作用,还在根本上影响样品相关离子自快速蒸发液滴的产生和所述离子随后经过气相进入真空的运输。气相样品物质可发生额外的电荷交换反应。电解质影响分析物质的液相和气相离子化的机理不明。

[0006] 电解质的类型和浓度影响 ES 离子化效率。电解质的类型和浓度以及样品溶液的组成影响样品溶液的介电常数、电导率和 pH。电喷雾尖端和对电极之间施加的相对电压、电喷雾尖端的有效曲率半径和出射流体面 (emerging fluid surface) 的形状决定电喷雾针尖处的有效电场强度。在电喷雾离子化中,通常将外加电场的强度设定为低于气相分解或电晕放电的阈值。在电喷雾操作过程中施加于电喷雾尖端的电场达到有效上限的情况下,电喷雾总离子流取决于溶液性质以及导电表面沿样品溶液流动路径的布置。与样品溶液接触的最近导电表面和电喷雾尖端之间的样品溶液的有效电导率在确定电喷雾总离子流中发挥重要作用。采用电喷雾膜探针 (ElectrosprayMembrane probe) 进行研究发现,ESMS 分析信号可随电喷雾总离子流明显变化。美国专利申请 11/132,953 和 60/840/095 对电喷雾膜探针进行了描述,在此引入作为参考。

[0007] 当特定的有机酸例如乙酸和甲酸添加到有机含水溶剂中时,ES 信号增强。相反,当无机酸例如氢氯酸或三氟乙酸添加到电喷雾样品溶液中时,ES 信号减弱。尽管提出了电喷雾离子化效率由于电解质平衡离子不同而改变的潜在机理,但电喷雾离子化过程潜在的根本调节因素的解释仍不确定。通常对电喷雾离子化时添加到样品溶液中的常规电解质进行

选择,以使电喷雾 MS 分析离子信号最大化。作为选择,对电解质的类型和浓度进行选择以起到合理折衷的作用,从而优化上游样品制备或分离系统的性能和下游电喷雾的性能。可将三氟乙酸添加到样品溶液中以改善反相梯度液相色谱样品分离,但与样品溶液中添加有机电解质例如甲酸或乙酸进行的电喷雾相比,三氟乙酸的存在明显减弱电喷雾 MS 信号。通常,对于极性分析物,使用极性有机溶剂例如含水甲醇并添加乙酸或甲酸作为电解质,将获得最强的电喷雾 MS 信号。通常,甲醇与水的比例为 30 : 70 至 50 : 50,并且乙酸或甲酸的浓度为 0.1 至 1% 以上。与使用含水极性有机溶剂和乙酸或甲酸时获得的信号相比,使用含水非极性溶剂例如乙腈将减弱极性化合物的 ESMS 信号并且添加无机酸将减弱 ESMS 信号。在电喷雾离子化中以不同的浓度并在不同的溶剂组合物中使用了数种酸、碱和盐作为电解质,以使 ESMS 分析物最大化。对于一些极性较小不溶于水溶液的分析样品,在含有电解质的纯乙腈中处理样品,获得了较强的 ESMS 信号。对于质子亲和力低或不具有质子亲和力的化合物例如碳水化合物,添加盐类电解质可产生较高的 ESMS 信号。

[0008] 本发明包括在电喷雾离子化中使用一组新的电解质,从而与使用据记载用于电喷雾离子化的常规电解质获得的 ES 离子化效率相比改善了分析物的电喷雾离子化效率。与使用乙酸或甲酸获得的最强 ESMS 信号相比,使用新的电解质进行电喷雾使 ESMS 分析信号幅值增大 2 至 10 倍。无论新的电解质是直接添加到样品溶液中还是添加到电喷雾膜探针的第二溶液中,均实现了 ESMS 信号的增强。当添加到样品溶液中的常规酸或盐电解质以正极性模式电喷射时,这些电解质的阴离子不易出现在正离子谱中。可预料到,这些电解质的阴离子出现在负离子极性 ESMS 谱中。本发明的新电解质的一个区别特性在于所述电解质的特征质子化或去质子化母离子出现在采用电喷雾离子化获取的正极性谱和负极性谱两者之中。出现在正极性电喷雾质谱中的正极性电解质离子为 $(M+H)^+$, 出现在负极性电喷雾质谱中的是 $(M-H)$ 。

发明内容

[0009] 本发明的一种实施方案包括在 MS 分析中进行分析物的电喷雾离子化,其中将包括但不限于苯甲酸、环己羧酸或三甲基乙酸的一组新电解质中的至少一种直接添加到样品溶液中。电解质可包含在来自流体输送系统的样品溶液中或经由 T 形流体流动连接件邻近电喷雾尖端添加到样品溶液中。

[0010] 本发明的另一实施方案是在样品溶液的电喷雾过程中在电喷雾膜探针的第二溶液流中使用包括但不限于苯甲酸、环己羧酸或三甲基乙酸的一组新电解质中的至少一种。可通过在第二溶液流动路径中建立阶梯函数或梯度,改变或扫描所述新电解质的浓度。第二溶液流通过半透膜与样品溶液分隔,在 MS 分析时进行电喷雾离子化的过程中所述半透膜允许浓度减小的新电解质迁移到样品溶液流中。

[0011] 本发明的另一实施方案是在包含第二电解质的样品溶液的电喷雾过程中在电喷雾膜探针的第二溶液中使用包括但不限于苯甲酸、环己羧酸或三甲基乙酸的一组新电解质中的至少一种。即使第二电解质单独使用时减弱 ESMS 分析信号,将新电解质添加到第二溶液流中仍会增强电喷雾 MS 信号。第二溶液流中新电解质的浓度可阶跃变化或直线变化 (step or ramped), 以使分析 ESMS 信号最大化。

[0012] 本发明的另一实施方案包括在 MS 分析时进行电喷雾离子化的过程中 在多膜区

电喷雾膜探针的下游膜区第二溶液流中使用包括但不限于苯甲酸、环己羧酸或三甲基乙酸的一组新电解质中的至少一种。一个或多个膜区在样品溶液流动路径中可配置在下游电喷雾膜探针的上游。利用上游膜区电俘获和释放样品可使用电解质进行,所述电解质单独优化电俘获过程,而新电解质迁移通过下游膜区第二溶液流,从而优化分析物的电喷雾离子化效率。

[0013] 在本发明的又一实施方案中,将包括但不限于苯甲酸、环己羧酸或三甲基乙酸的新电解质中的至少一种添加到单 APCI 入口探针中的样品溶液中或从双 APCI 入口探针中的第二溶液喷出,以增强大气压电晕放电离子化中产生的离子信号。

[0014] 在本发明的另一实施方案中,将包括但不限于苯甲酸、环己羧酸或三甲基乙酸的新电解质中的至少一种添加到从试剂离子源 (reagent ion source) 电喷射的溶液中,所述试剂离子源包括配置在包括电喷雾离子化和 / 或大气压化学离子化的组合离子源中的电喷雾离子生成源。

[0015] 在本发明的又一实施方案中,将包括但不限于苯甲酸、环己羧酸或三甲基乙酸的新电解质中的至少一种添加到溶液中,该溶液在雾化之后进行电晕放电离子化,进而形成配置在包括电喷雾离子化和 / 或大气压化学离子化的组合离子源中的试剂离子源。

附图说明

[0016] 图 1 是与质谱接合的电喷雾离子源的示意图。

[0017] 图 2 是电喷雾膜探针的截面图。

[0018] 图 3 是电喷雾膜探针中的样品溶液流动通道、第二溶液流动通道和半透膜的放大图。

[0019] 图 4 示出与安装在电喷雾离子源探针安装板上的气动雾化喷射器为一体的单区电喷雾膜探针。

[0020] 图 5 是三区电喷雾膜探针的示意图。

[0021] 图 6 是包括样品溶液电喷雾入口探针和电喷雾试剂离子源的组合大气压离子源的示意图。

[0022] 图 7 示出使用常规电解质和新电解质在电喷雾膜探针第二溶液流中建立电解质浓度梯度的同时以 $10 \mu\text{l}/\text{min}$ 的流速电喷雾的 $1 \mu\text{M}$ 六酪氨酸 (Hexatyrosine) 的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的 ESMS 离子信号曲线。

[0023] 图 8 示出在电喷雾膜探针第二溶液流中建立常规电解质和新电解质浓度梯度并且不同浓度的苯甲酸直接添加到样品溶液中的同时以 $10 \mu\text{l}/\text{min}$ 的流速电喷雾的 $1 \mu\text{M}$ 六酪氨酸的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的 ESMS 信号曲线。

[0024] 图 9 示出一组 ESMS 信号曲线,针对直接添加到样品溶液中的不同浓度的乙酸和环己羧酸,比较以 $10 \mu\text{l}/\text{min}$ 的流速电喷雾的 $1 \mu\text{M}$ 六酪氨酸的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的 ESMS 离子信号。

[0025] 图 10 示出一组 ESMS 信号曲线,比较在电喷雾膜探针第二溶液流中建立乙酸和苯甲酸电解质浓度梯度并且使用纯溶剂样品溶液以及 0.001% 的三氟乙酸添加到样品溶液中的同时以 $10 \mu\text{l}/\text{min}$ 的流速电喷雾的 $1 \mu\text{M}$ 六酪氨酸的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的正极性 ESMS 离子信号。

[0026] 图 11 示出一组 ESMS 信号曲线,比较在电喷雾膜探针第二溶液流中建立乙酸和苯甲酸电解质浓度梯度并且使用纯溶剂样品溶液的同时以 $10\ \mu\text{l}/\text{min}$ 的流速电喷雾的 $1\ \mu\text{M}$ 六酞氨酸的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的负极性 ESMS 离子信号。

[0027] 图 12 示出一组 ESMS 信号曲线,针对以不同的浓度独立添加到样品溶液中的乙酸、苯甲酸和三甲基乙酸,比较以 $10\ \mu\text{l}/\text{min}$ 的流速行进的 $1\ \mu\text{M}$ 利血平的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的正极性 ESMS 离子信号。

[0028] 图 13 示出一组 ESMS 信号曲线,针对以不同的浓度独立添加到样品溶液中的乙酸、苯甲酸、环己羧酸和三甲基乙酸,比较以 $10\ \mu\text{l}/\text{min}$ 的流速行进的 $1\ \mu\text{M}$ 亮氨酸脑啡肽的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的正极性 ESMS 离子信号。

[0029] 图 14A 是苯甲酸的正极性电喷雾质谱,图 14B 是苯甲酸的负极性质谱。

[0030] 图 15A 是三甲基乙酸的正极性电喷雾质谱,图 15B 是三甲基乙酸的负极性质谱。

[0031] 图 16A 是环己羧酸的正极性电喷雾质谱,图 16B 是环己羧酸的负极性质谱。

具体实施方式

[0032] 对于给定的外加电场,电喷雾总离子流是样品溶液流动路径中电喷雾尖端和第一导电表面之间的样品溶液电导率的函数。正离子电喷雾中的主载流子通常是在常规电喷雾中接触样品溶液或者在电喷雾膜探针中接触第二溶液的电极表面处发生的氧化还原反应产生的 H^+ 离子。添加到样品或第二溶液中的电解质在电喷雾离子化的过程中直接或间接起到增加或除去溶液中 H^+ 离子的作用。产生 H^+ 离子的间接作用是电解质辅助水在电极表面电解产生 H^+ 离子的情况。电解质可起到的直接作用是直接通过电极表面处酸分离并失电子提供 H^+ 离子。正离子极性以及甚至负离子极性的电解质阴离子或中性分子的类型和浓度明显影响大多数分析物的电喷雾离子化效率。在电喷雾离子化中电解质发挥作用影响离子产生的一种或多种机理未得到很好地理解。甚至在电喷雾带电液滴形成过程中发生的氧化还原反应中电解质发挥的作用也未得到很好地表征。因此,对于给定的电喷雾 MS 分析应用,用于电喷雾离子化的电解质的类型和浓度主要通过尝试错误法和基于经验证据的结果确定 (the type and concentration of the electrolyte species used in electrospray ionization is determined largely through trial and error with decisions based on empirical evidence for a given(e)lectrospray MS analytical application)。为此,使用电喷雾膜探针筛选大量电解质,以确定与常规或过去使用的电解质不同的电解质是否提供改善的电喷雾性能。发现了一组新的电解质,在正模式和负模式均显现出改善的分析 ESMS 信号。所述一组新的电解质包括但不限于苯甲酸、三甲基乙酸和环己羧酸。

[0033] 如上所述,与常规或过去用于电喷雾离子化的电解质不同,当使用新电解质进行电喷雾时,在正离子极性模式和负离子极性模式下均产生特征电解质离子峰。在正极性电喷雾离子化中,对于苯甲酸、三甲基乙酸和环己羧酸,产生 $(\text{M}+\text{H})^+$ 离子。相反,可预料到,当如图 14、15 和 16 所示电喷雾负极性的苯甲酸、三甲基乙酸和环己羧酸时,产生 $(\text{M}-\text{H})^-$ 离子。新电解质增强电喷雾信号所依据的一种或多种机理可在液相形式、气相形式或所述两种形式中发挥作用。苯甲酸具有低的气相质子亲合力,因而质子化苯甲酸离子能够容易地向气相中性分析物提供 H^+ ,或者通过向气相形式的质子亲合力较强的竞争杂质传递质子降低电喷雾产生的分析离子的中性。

[0034] 图 1 示出了电喷雾离子源 1 的截面图。电喷雾样品溶液入口探针 2 包括样品溶液流动通道或管 3、电喷雾尖端 4 和围绕电喷雾尖端 4 同心 6 存在的气动雾化气体 7 流动通过的环状空间 5。将不同的电压施加在终板和喷嘴电极 (nosepiece electrode) 11、毛细管入口电极 (capillary entrance electrode) 12 和圆柱透镜 13, 以在电喷雾股流 (Electrospray plume) 10 中产生单极性带电液滴。通常, 在正极性电喷雾离子化中, 电喷雾尖端 4 以接地电位操作, 并且圆柱透镜 13、端电极和终板电极 11 以及毛细管入口电极 12 分别施加有 -3KV、-5KV 和 -6KV。气体加热器 15 加热逆流干燥气流 17。通过无辅助电喷雾或气动雾化辅助电喷雾产生的包括带电液滴股流 10 的带电液滴在它们通过电喷雾源室 18 时蒸发。经由端电极 11 中的孔离开的热逆流干燥气 14 辅助干燥包括电喷雾股流 10 的带电液滴。电场使快速蒸发带电液滴产生的一部分离子定向, 从而进入并穿过介电毛细管 21 的孔 20 进入真空。膨胀中性气流以及施加在毛细管出口透镜 23 和分流器电极 (skimmer electrode) 24 上的相对电压使离开毛细管孔 20 的离子穿过分流器孔 (skimmer orifice) 27。离开分流器孔 27 的离子经过离子导向装置 25 进入质荷比分析器 28, 如本领域所知在质荷比分析器 28 中对所述离子进行质荷比分析和检测。

[0035] 质谱仪中测到的分析离子信号大部分取决于给定分析物的电喷雾离子化效率。电喷雾离子化效率包括在大气压离子源中将中性分子转化为离子的过程和大气压下产生的离子转移到真空中的效率。新电解质可在影响电喷雾离子化效率的两种机制中发挥作用。在本发明的一种实施方案中, 将包括苯甲酸、三甲基乙酸和环己羧酸的新电解质中的至少一种添加到通过样品溶液流动通道 3 输送至电喷雾尖端 4 的样品溶液 8 中, 其中在所述电喷雾尖端 4 处将所述样品溶液电喷射到电喷雾离子源室 18 中。

[0036] 图 2 示出了用于本发明替换性实施方案的电喷雾膜探针 30 的截面图。在美国专利申请 11/132953 (在此引入作为参考) 中较充分描述的电喷雾膜探针 30 包括样品溶液流动通道 31A, 样品溶液流 31 通过该通道 31A 流动离开电喷雾尖端 4。与图 1 相同的元件保留相同的元件标记。与电极 33 接触的第二溶液 32 经过第二溶液流动路径 32A。电源 35 将电压施加在电极 33 上。样品溶液 31 和第二溶液 32 通过半透膜 34 分隔。半透膜 34 可包括阳离子或阴离子交换膜。典型的阳离子交换膜是 Nafion™, 其可以不同的厚度和 / 或电导率特性配置在电喷雾膜探针组件 30 中。将第二溶液 32 流从等值 (isocratic) 或梯度流体输送系统 37 通过流动通道 36 输送到第二溶液流动通道 32A 中并通过通道 38 离开。将样品溶液 31 流从等值或梯度流体输送系统 40 通过流动通道 41 输送到样品溶液流动通道 31A 中。介电探针主体区 42 和 43 包括不与样品溶液 31 和第二溶液 32 发生化学反应的化学惰性材料。从具有或没有气动雾化辅助的电喷雾尖端 4 电喷射经过流体通道 31A 的样品溶液 31, 进而形成电喷雾股流 10。通过使雾化气体 7 流动通过围绕电喷雾尖端 4 同心存在 6 的环状空间 5 实现气动雾化辅助电喷雾。为了实现电喷射产生单极性带电液滴, 分别使用电源 35、49 和 50 将相对电压施加在第二溶液电极 33、端电极和终板电极 11、毛细管入口电极 12 上。在喷射股流 10 中的带电液滴在外加电场的驱动下朝向毛细管孔 20 移动时, 热逆流干燥气 14 辅助干燥所述带电液滴。快速蒸发电喷雾股流 10 中的液滴产生的一部分离子穿过毛细管孔 20 进入质荷比分析器 28, 在所述质荷比分析器 28 中对所述离子进行质荷比分析和检测。

[0037] 图 3 是采用本发明替换性实施方案的正极性电喷雾离子化的电喷雾膜探针 30 操

作模式图。将包括苯甲酸、三甲基乙酸和环己羧酸的至少一种新电解质以较高的浓度添加到溶液中,所述溶液容纳在流体输送系统 37 的注射器 54 中。注射器 55 填充有与注射器 54 相同的溶剂组合物,但没有添加新电解质。通过为流体输送系统 37 中的注射器 54 和 55 设定适当的泵送速度比,可将具有特定等值新电解质浓度或新电解质浓度梯度的第二溶液 32 输送至第二溶液流动通道 32A。在正离子极性电喷雾离子化的过程中,在第二溶液电极 33 的表面产生 H^+ ,在电场的驱动下 H^+ 很可能以 H_3O^+ 的形式穿过半透膜 34 进入样品溶液 31。流动通过第二溶液流动通道 32A 的一部分新电解质也穿过半透膜 34,进入样品溶液 31 并在样品溶液 31 中建立新电解质的净浓度。

[0038] 在电喷雾操作过程中溶液 31 中的新电解质浓度低于第二溶液 32 中的新电解质浓度。可通过调节流动通过第二溶液流动通道 32A 的第二溶液 32 中的新电解质浓度,控制电喷雾总离子流和所造成的电喷雾尖端 4 处的局部样品溶液 pH、样品溶液 31 中的新电解质浓度和样品离子电喷雾 MS 信号响应。第二溶液 32 的溶剂组合物可设置为与样品溶液的溶剂组合物不同,以优化新电解质的溶解度和性能。

[0039] 图 4 示出了包括单膜区组件 58 的电喷雾膜探针 57 的一种实施方案,所述单膜区组件 58 与安装在电喷雾离子源探针板 61 上的气动雾化电喷雾入口探针组件 59 连接。与图 1、图 2 和图 3 相同的元件保留相同的元件标记。

[0040] 图 5 是包括电俘获双膜区 67 和单电喷雾膜区 68 的三膜区电喷雾膜探针组件 64 的示意图。各膜区以与图 2 和图 3 所示的单区电喷雾膜探针相同的方式操作。电俘获双膜区 67 包括具有电极 71 和半透膜区 76 的第二溶液流动通道 70 以及具有电极 73 和半透膜区 77 的第二溶液流动通道 72。单膜区 68 包括具有半透膜 78 的第二溶液流动通道 74 和电极 75。

[0041] 如上所述在第二溶液 80、81 和 82 中电解质的类型和浓度以及溶液组成可控。如图 1 至图 4 所示的相同元件在图 5 中保留相同的元件标记。电势曲线 84 是针对正极性电喷雾离子化和正离子电俘获沿样品溶液流动路径设定的相对电势的一种实例的示意图。如未决 PCT 专利申请 PCT/SE2005/001844(在此引入作为参考)所述,可操控双膜电俘获区 67 俘获和释放样品溶液中的正极性样品离子或负极性样品离子。在本发明的替换性实施方案中,如上所述,将包括苯甲酸、三甲基乙酸或环己羧酸的至少一种新电解质以可控的浓度添加到第二溶液 82 中,以使电喷雾样品离子信号最大化。可独立于第二溶液 80、81 的组成和流速,改变和控制第二溶液 82 的组成和流速,以独立优化电俘获和在线电喷雾性能。

[0042] 图 6 是包括电喷雾入口探针组件 90、91 并具有气动雾化辅助的大气压组合离子源 88 的示意图。电喷雾入口探针 90 包括电喷雾尖端 4 和辅助气体加热器 92,该辅助气体加热器 92 加热气流 93 以辅助干燥包括电喷雾股流 10 的带电液滴。施加在环电极 94、95 上的电压允许控制分别来自电喷雾入口探针 90、91 的净中性或单极性带电液滴的产生,同时使喷射混合区 96 中不期望的电场最小化。电喷雾入口探针 91 提供试剂离子源,当电场 97 将所述试剂离子吸入喷射股流 10 时实现蒸发喷射股流 10 中带电液滴产生的一部分蒸发中性样品分子的大气化学离子化。如未决美国专利申请 11/396968(在此引入作为参考)所述,组合离子源 88 可仅以电喷雾模式操作、仅以 APCI 模式操作或以电喷雾和 APCI 模式的组合操作。在本发明的替换性实施方案中,可将包括苯甲酸、三甲基乙酸或环己羧酸的至少一种新电解质添加到电喷雾入口探针 90 的样品流溶液中和 / 或电喷雾入口探针 91 的试剂

溶液中,所述电喷雾入口探针 91 的试剂溶液产生试剂离子以促进混合区 96 中的气相大气压化学离子化。如上所述,样品溶液中的新电解质可增加样品 ESMS 离子。另外,从电喷雾探针 91 电喷雾的试剂溶液中的新电解质在正离子极性电喷雾中形成低质子亲和力质子化离子,所述低质子亲和力质子化离子作为大气压化学离子化或组合 ES 和 APCI 操作中用于电荷交换的试剂离子。还可将新电解质添加到电晕放电试剂离子源或 APCI 源的样品溶液中,以改善 APCI 源的性能。

[0043] 图 7 示出了使用如图 1、图 2 和图 3 所示的电喷雾膜探针构造 30 电喷雾的 $1\mu\text{M}$ 六酞氨酸的 1 : 1 甲醇 : 水样品溶液的一组 ESMS 离子信号曲线。所有样品溶液的流速均为 $10\mu\text{l}/\text{min}$ 。在第二溶液流动通道中建立不同电解质的浓度梯度,同时获取电喷雾质谱。除了萘氧基乙酸在甲醇第二溶液中使用以外,对于所有电解质,第二溶液的溶剂组成均为甲醇 : 水。随着第二溶液流中所添加的电解质的浓度增大,电喷雾总离子流增大。图 7 所示的各曲线是有效的基始离子色谱 (base ion chromatogram),在电喷雾总离子流的范围内绘出六酞氨酸峰的幅值。当分别建立乙酸 (最多 10%)、2-萘氧基乙酸 (最多 0.37M)、三苯六羧酸 (最多 0.244M)、1,2,4,5-苯羧酸 (最多 0.233M) 和对苯二甲酸 (饱和) 的第二溶液浓度梯度时,获得六酞氨酸的信号响应与电喷雾总离子流的关系曲线 100、101、102、103 和 104。对于如图 6 所示的这组电解质,常规电解质乙酸提供最大的六酞氨酸 ESMS 信号幅值。在新电解质环己羧酸 (最多 0.195M) 的第二溶液中建立浓度梯度的同时,获得六酞氨酸信号响应曲线 108。在电喷雾膜探针 30 的第二溶液中使用新电解质获得的最大六酞氨酸信号是使用乙酸作为电解质获得的最大幅值的两倍。与样品溶液接触的半透膜的有限截面积限制了在第二溶液中使用新电解质环己羧酸时的电喷雾总离子流范围。如下述附图所示,可通过将新电解质直接添加到样品溶液中,获得较高的分析信号。曲线 108 的形状和幅值的差异表明使用新电解质环己羧酸时电喷雾离子化过程的性能明显不同。

[0044] 图 8 示出了使用如图 1、图 2 和图 3 所示的电喷雾膜探针构造 30 电喷雾的 $1\mu\text{M}$ 六酞氨酸的 1 : 1 甲醇 : 水样品溶液的另一组 ESMS 离子信号曲线。在电喷雾膜探针 30 的第二溶液流中建立电解质浓度梯度时,获得六酞氨酸电喷雾 MS 信号响应曲线 110 至 112 和 115。通过电喷雾不同的样品溶液,获得六酞氨酸电喷雾 MS 信号响应曲线 118,直接添加到所述样品溶液中的新电解质苯甲酸的浓度不同。通过电喷雾不同的样品溶液,获得六酞氨酸的 ESMS 信号响应曲线 114 (包括端值数据点 113),直接添加到所述样品溶液中的柠檬酸具有不同的浓度。没有使用电喷雾膜探针生成曲线 114 或 118。在分别建立常规电解质乙酸 (在第二溶液中最多 10%)、甲酸 (最多 5%) 和硝酸 (最多 1%) 以及新电解质苯甲酸 (在第二溶液中最多 0.41M) 的第二溶液浓度梯度时,获得六酞氨酸的信号响应与电喷雾总离子流的关系曲线 110、111、112 和 115。在电喷雾离子化过程中新电解质苯甲酸添加到膜探针 30 的第二溶液中或直接添加到样品溶液中的情况下,比较六酞氨酸 ESMS 信号响应,对于所产生的相同电喷雾离子流获得了相同的离子信号。对于相同的电喷雾总离子流,在电喷雾离子化过程中,电解质添加到电喷雾膜探针第二溶液中时的电喷雾性能通常与相同的电解质直接添加到样品溶液中时的电喷雾性能具有良好的相关性。如曲线 115 和 118 所示,当电喷雾离子化过程中新电解质苯甲酸添加到电喷雾膜探针 30 的第二溶液中或直接添加到样品溶液中时,获得增强的六酞氨酸 ESMS 信号。信号响应曲线 118 所示的最大六酞氨酸 ESMS 信号是使用任意常规电解质乙酸、甲酸或硝酸或者非常规电解质柠檬酸时获得的信号

的 5 倍以上。

[0045] 图 9 示出了 $1\ \mu\text{M}$ 六酪氨酸的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的电喷雾 MS 信号响应曲线 120 和 121。通过电喷雾包含不同浓度的常规电解质乙酸的不同样品溶液,生成曲线 121。通过电喷雾包含不同浓度的新电解质环己羧酸的不同样品溶液,生成曲线 120。使用新电解质环己羧酸获得的最大六酪氨酸 ESMS 信号是使用常规电解质乙酸获得的最大六酪氨酸信号的 2 倍以上。

[0046] 图 10 示出了使用电喷雾膜探针 30 获得的 $1\ \mu\text{M}$ 六酪氨酸样品的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的三条 ESMS 信号响应曲线。通过在电喷雾膜探针第二溶液流中建立乙酸浓度梯度,生成曲线 122。如信号响应曲线 123 所示,通过在电喷雾膜探针的第二溶液中建立苯甲酸浓度梯度,实现了六酪氨酸信号 2 倍以上的增强。无机电解质添加到样品溶液中通常减弱给定电喷雾总离子流的分析信号响应。在电喷雾膜探针第二溶液中建立苯甲酸浓度梯度时,在 0.001% 三氟乙酸 (TFA) 添加到样品溶液中的情况下,获得六酪氨酸信号响应曲线 124。在曲线 124 上的数据点 125 处测得将近 100nA 的电喷雾总离子流。与乙酸添加到 ES 膜探针第二溶液中时的 ESMS 信号响应相比,0.001% TFA 添加到样品溶液中时数据点 125 即六酪氨酸的电喷雾信号较低。当获取数据点 125 时将浓度非常低的苯甲酸添加到第二溶液中。增大第二溶液中苯甲酸的浓度增强了六酪氨酸信号,进而克服了样品溶液中 TFA 的 ESMS 信号减弱作用。即使在 0.001% 的 TFA 添加到样品溶液中的情况下,新电解质苯甲酸添加到 ES 膜探针的第二溶液中仍使六酪氨酸 ESMS 信号增至最大值,该最大值是乙酸添加到第二溶液时获得的最大六酪氨酸 ESMS 信号的 2 倍以上。

[0047] 图 11 示出了使用电喷雾膜探针获得的 $1\ \mu\text{M}$ 六酪氨酸样品的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的负离子极性 ESMS 信号响应曲线。在第二溶液中建立乙酸浓度梯度时,获得曲线 127。在电喷雾膜探针 30 的第二溶液中建立苯甲酸浓度梯度时,获得信号响应曲线 128。使用新电解质苯甲酸时获得的最大负离子极性六酪氨酸 ESMS 信号是使用常规电解质乙酸时获得的最大 ESMS 信号的 2 倍以上。

[0048] 电喷雾 $1\ \mu\text{M}$ 利血平样品的 1 : 1 甲醇 : 水溶液,从而生成图 12 所示的 ESMS 信号响应曲线。将新电解质苯甲酸和三甲基乙酸以及常规电解质乙酸以不同的浓度添加到不同的样品溶液中以比较 ESMS 信号响应。如利血平 ESMS 信号响应曲线 127、128 和 129 所示,与使用常规电解质乙酸添加到样品溶液中时通过电喷雾获得的 ESMS 信号相比,当新电解质苯甲酸和三甲基乙酸添加到样品溶液中时信号可获得 2 倍的信号增强。

[0049] 图 13 示出了使用四种电解质添加到样品溶液中时获得的 $1\ \mu\text{M}$ 亮氨酸脑啡肽样品的 1 : 1 甲醇 : 水溶液的 ESMS 信号响应的比较。将新电解质苯甲酸、三甲基乙酸和环己羧酸以及常规电解质乙酸以不同的浓度添加到不同的亮氨酸脑啡肽样品溶液中,从而分别生成 ESMS 信号响应曲线 130、131、132 和 133。与使用电解质乙酸时获得的最大信号响应相比,使用新电解质时最大亮氨酸脑啡肽信号响应获得 2 倍的增强。独立地,通过将苯甲酸添加到样品溶液中,亮氨酸脑啡肽 ESMS 最大信号响应获得 3 倍的增强。

[0050] 对于苯甲酸、三甲基乙酸和环己羧酸分别如图 14A、15A 和 16A 所示,新电解质的特性是在正离子极性电喷雾时获得的 ESMS 谱之中存在 $(\text{M}+\text{H})^+$ 电解质母离子峰。在电喷雾离子化时使用常规电解质时,通常观察不到这种正母离子。可预料到,如图 14B、15B 和 16B 所示在负离子极性模式下获得的 ESMS 谱中观察到存在 $(\text{M}-\text{H})$ 电解质峰。正离子极性电喷雾

中存在的气相电解质母离子可起到增强 ESMS 分析信号的作用。

[0051] 使用新电解质苯甲酸、三甲基乙酸和环己羧酸提高了正离子或负离子极性电喷雾离子化中样品的 ESMS 信号幅值。在电喷雾离子化过程中可通过将新电解质直接添加到样品溶液中或通过电喷雾膜探针的第二溶液中使用新电解质,实现电喷雾 MS 分析信号的增强。针对具体实施方式对本发明进行了说明,应当理解的是,由于进一步的改进和变化可能是明显的或暗含的,因而所述说明不应解释为限制。本发明意图覆盖所有改进和变化。

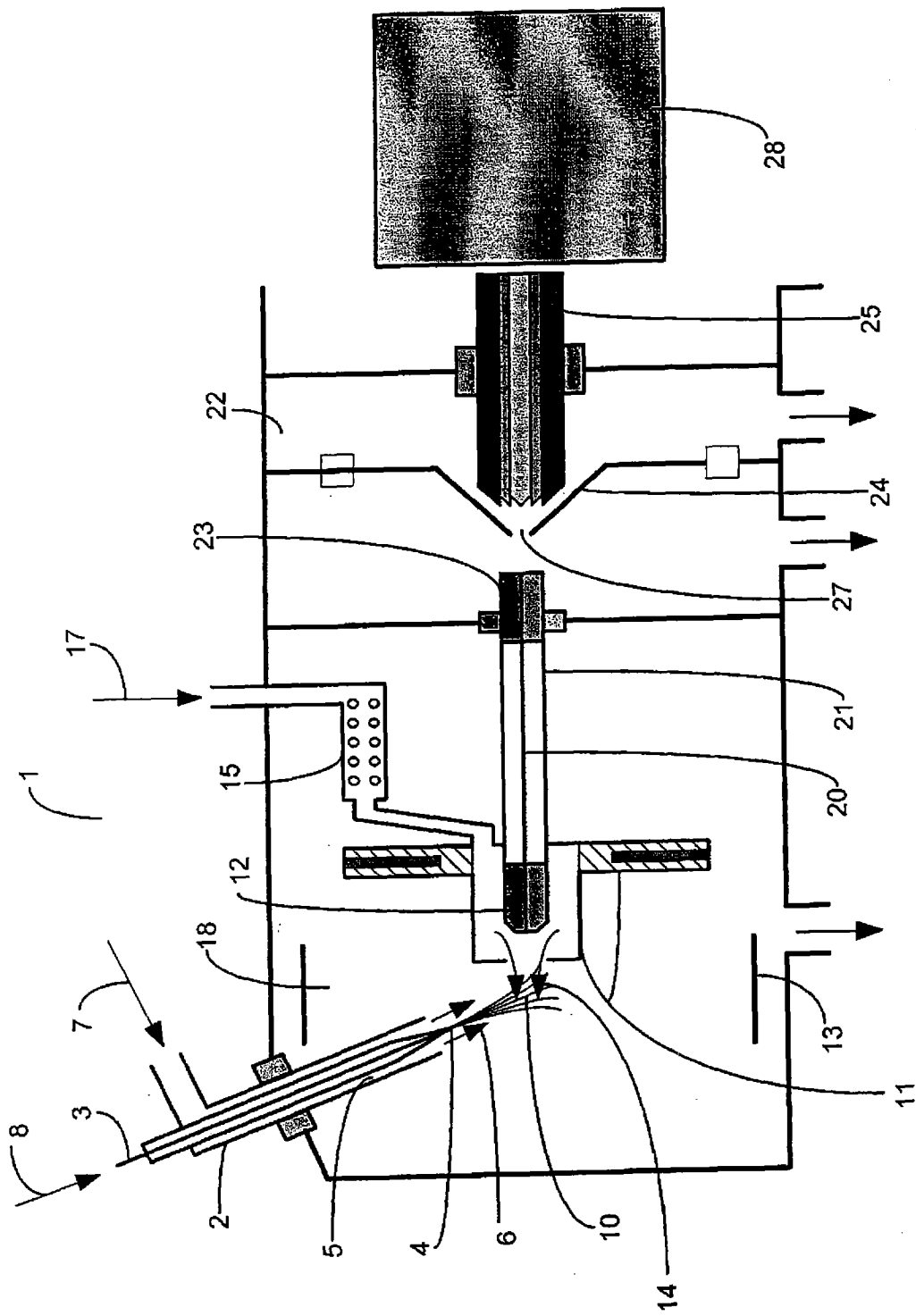


图 1

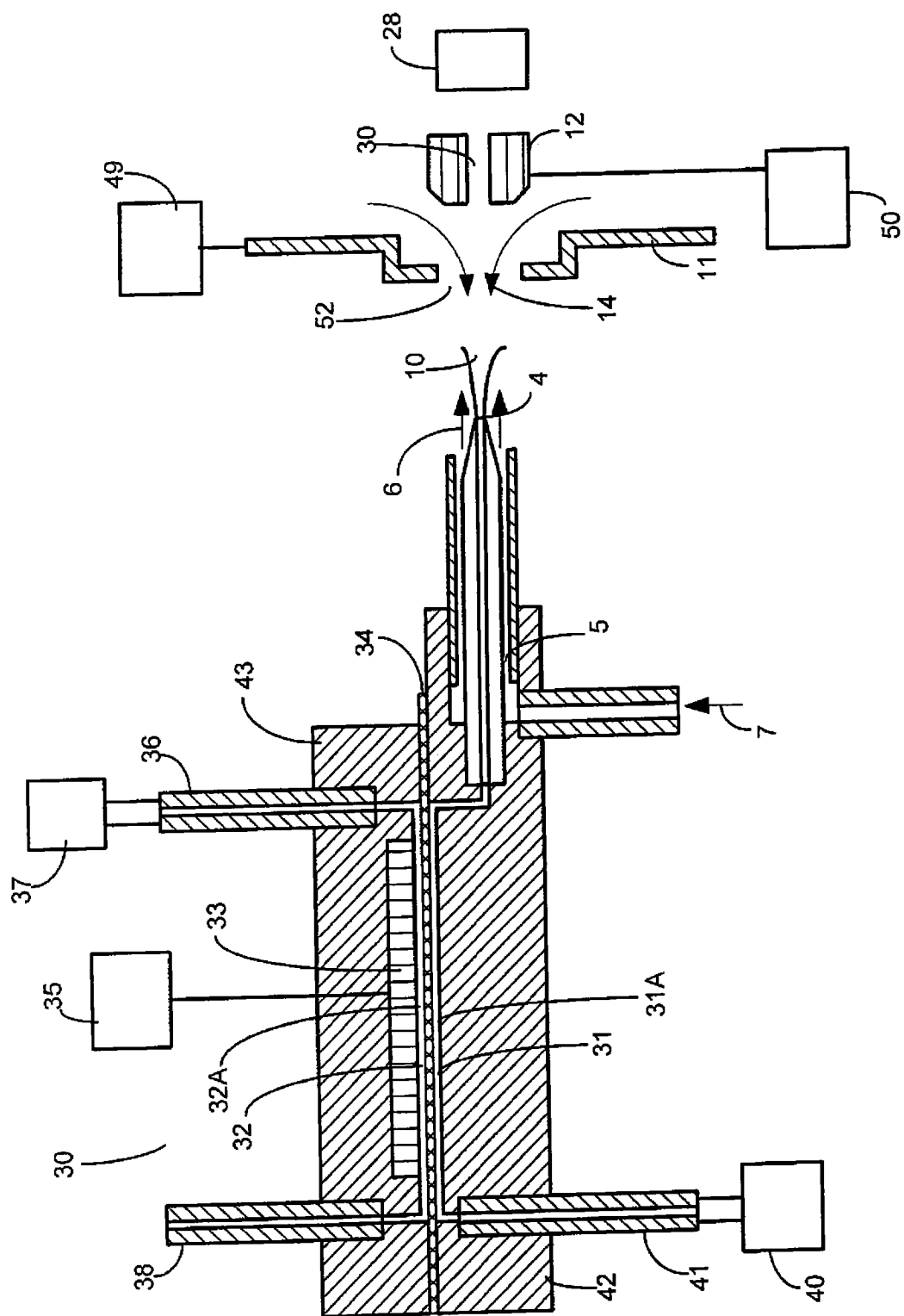


图 2

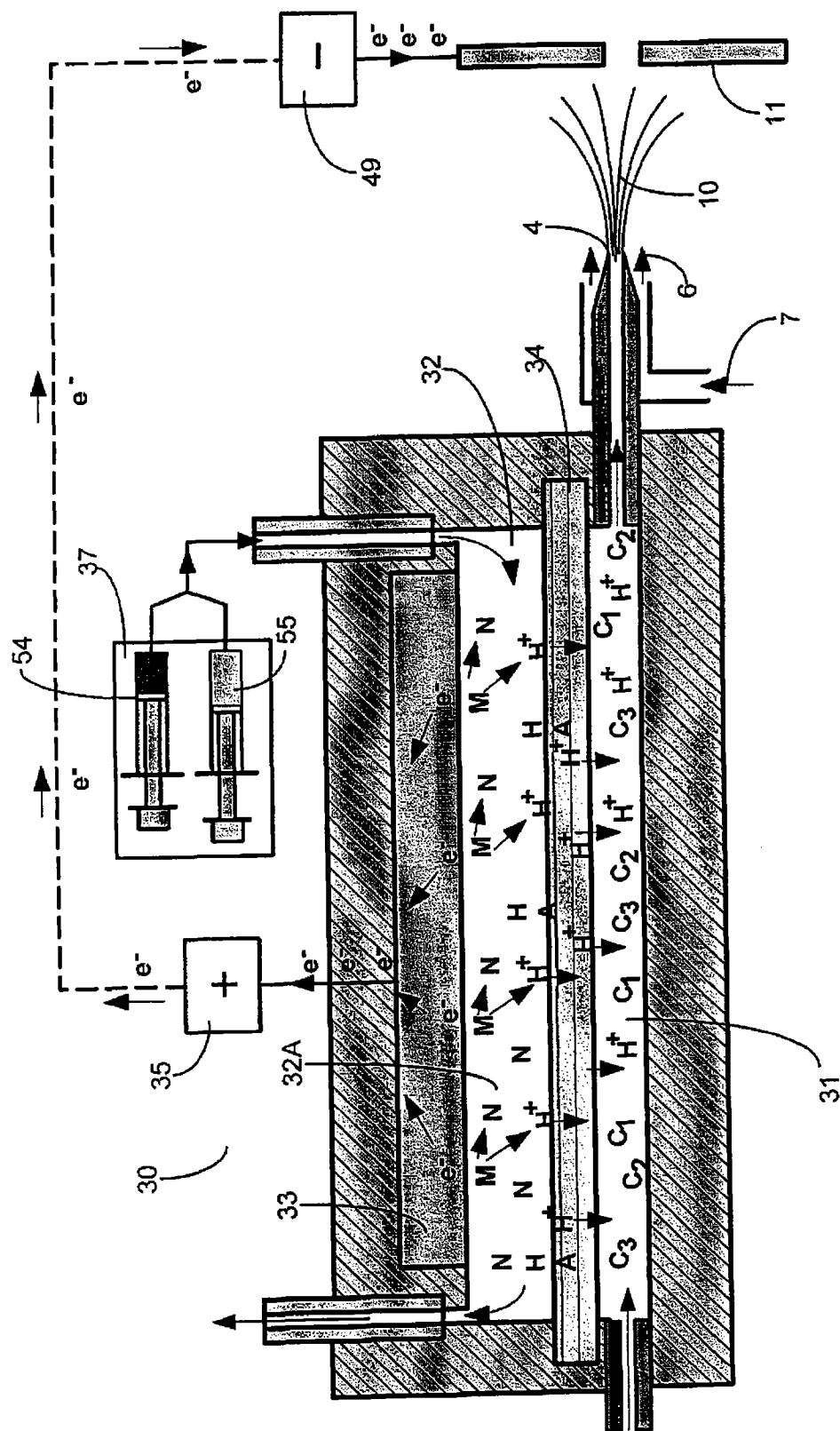


图 3

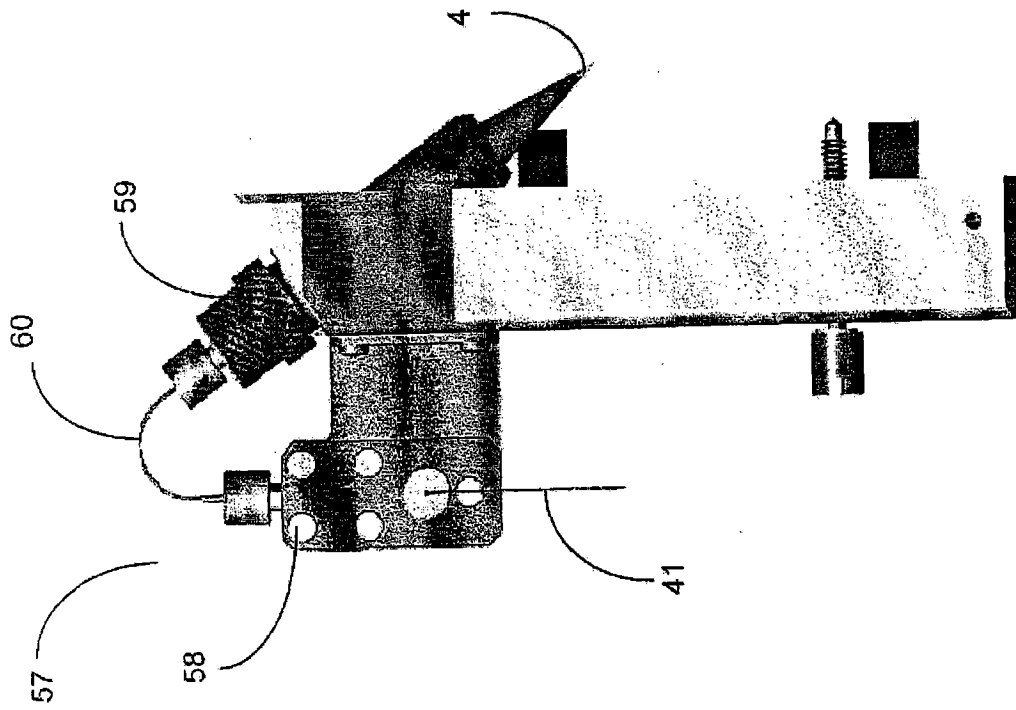


图 4A

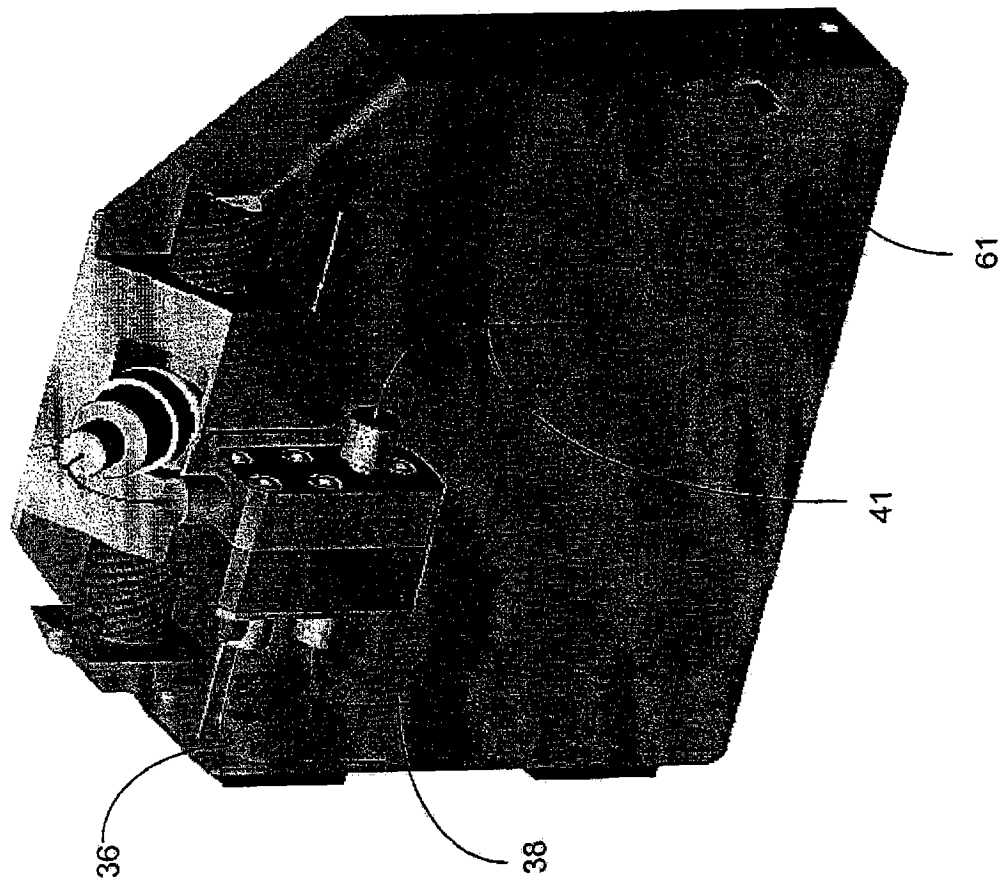


图 4B

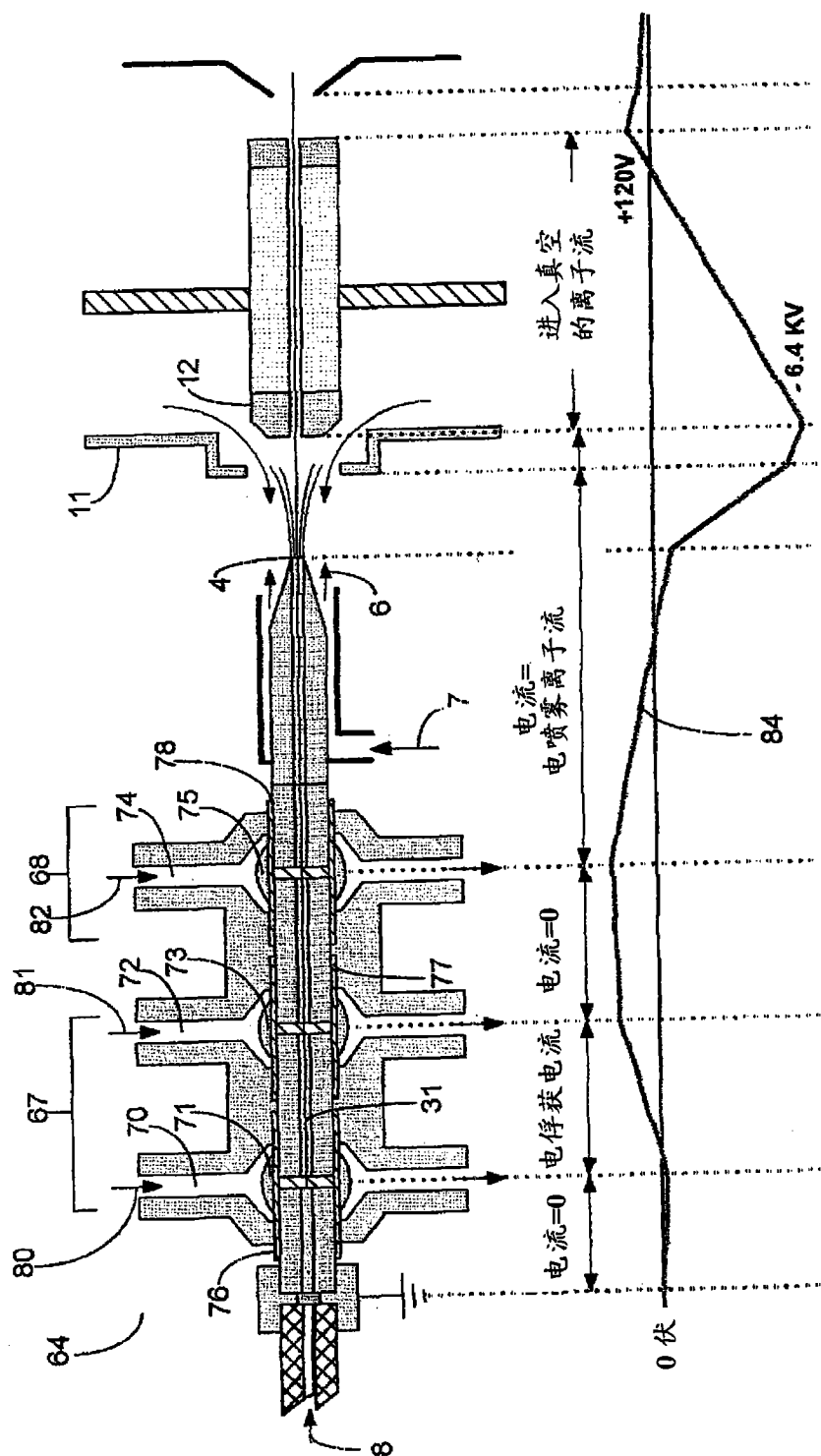


图 5

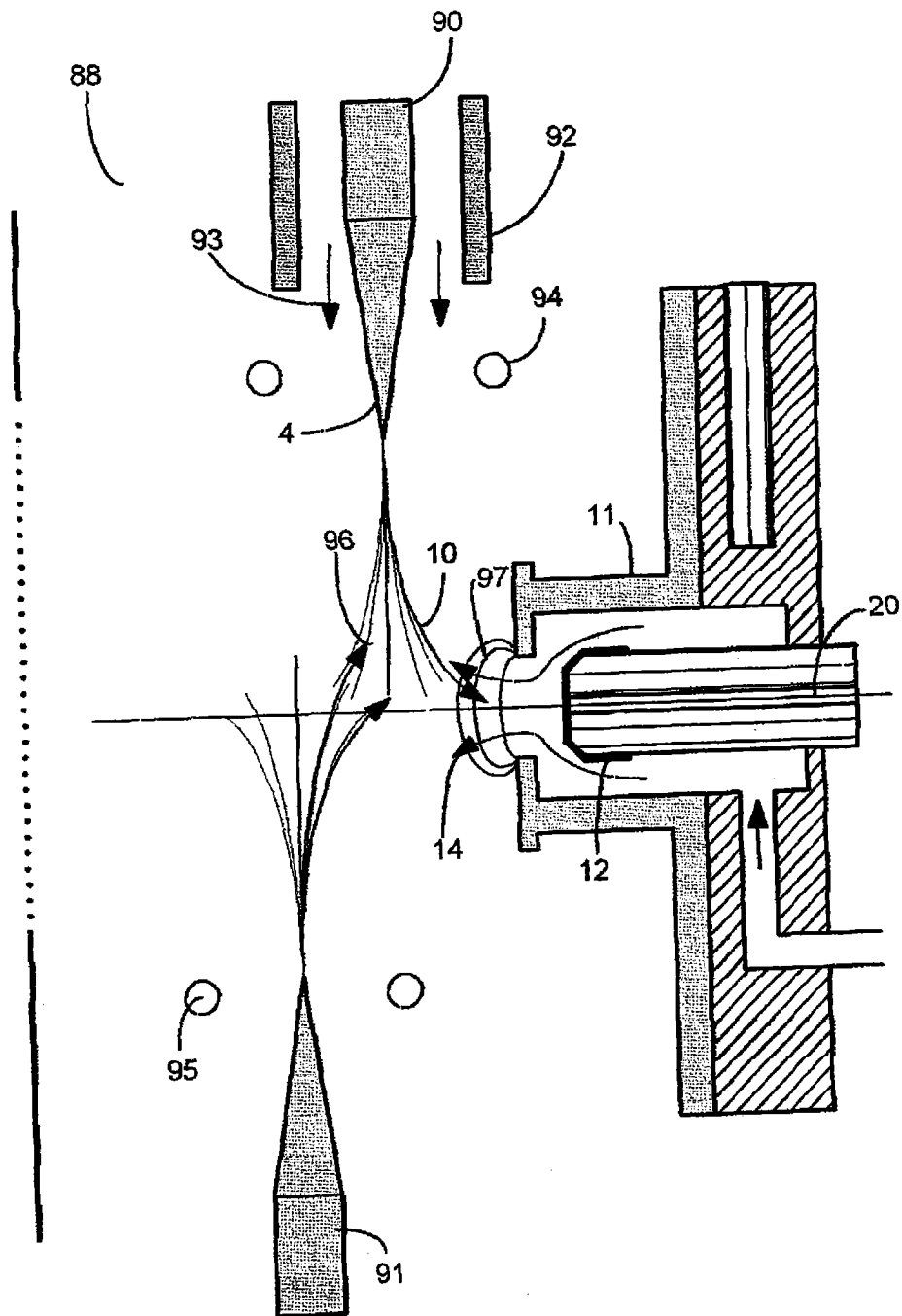


图 6

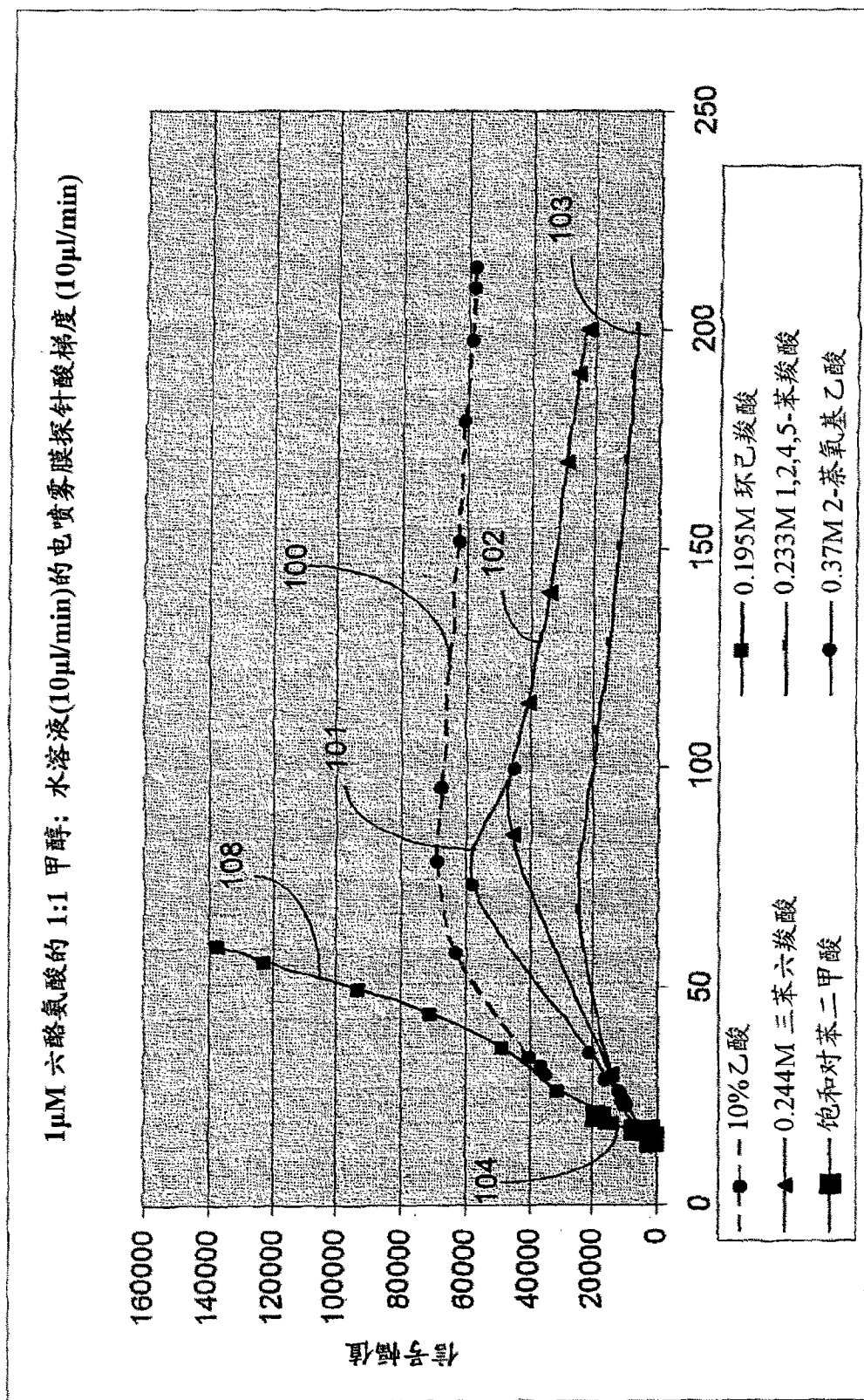


图 7

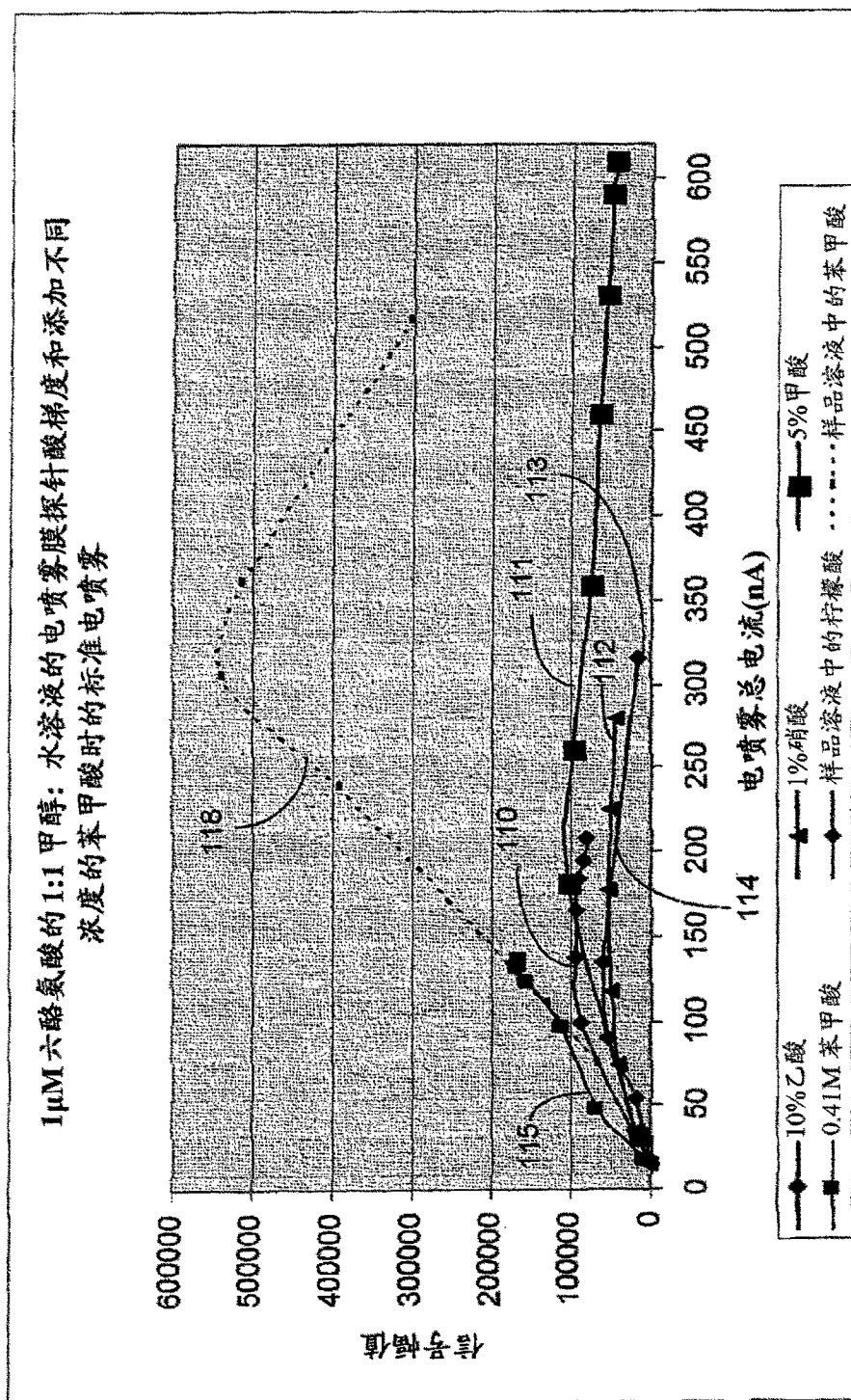


图 8

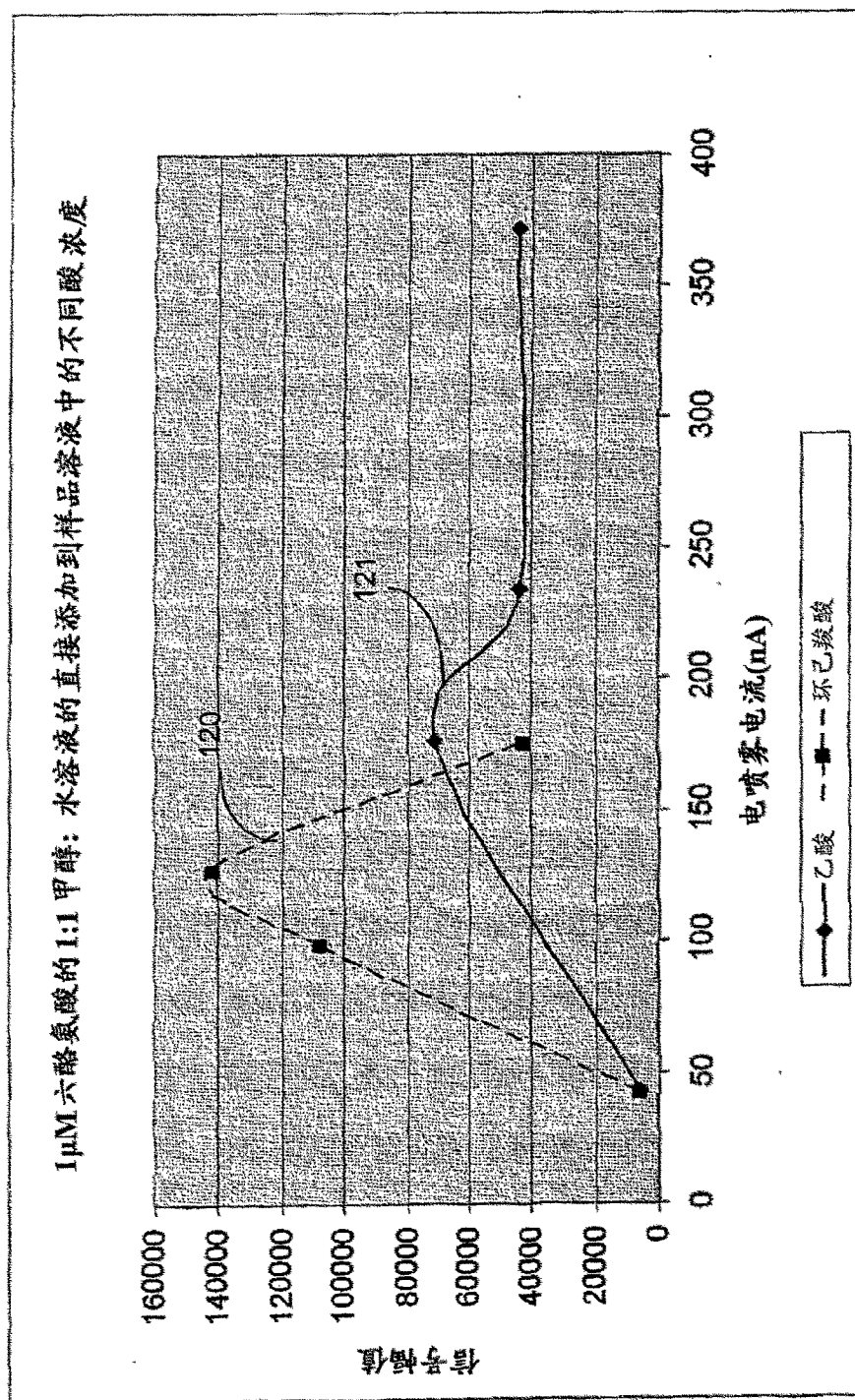


图 9

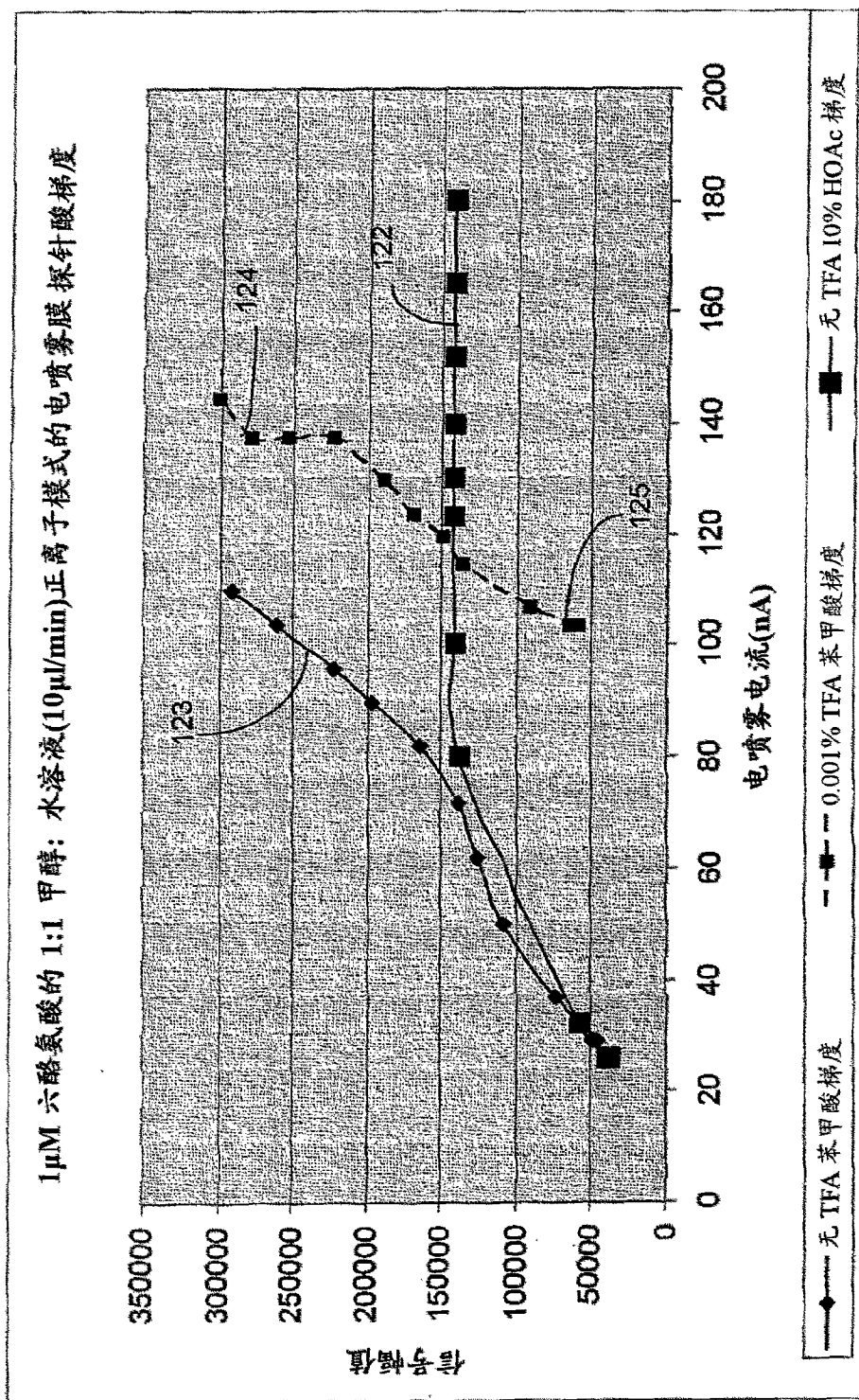


图 10

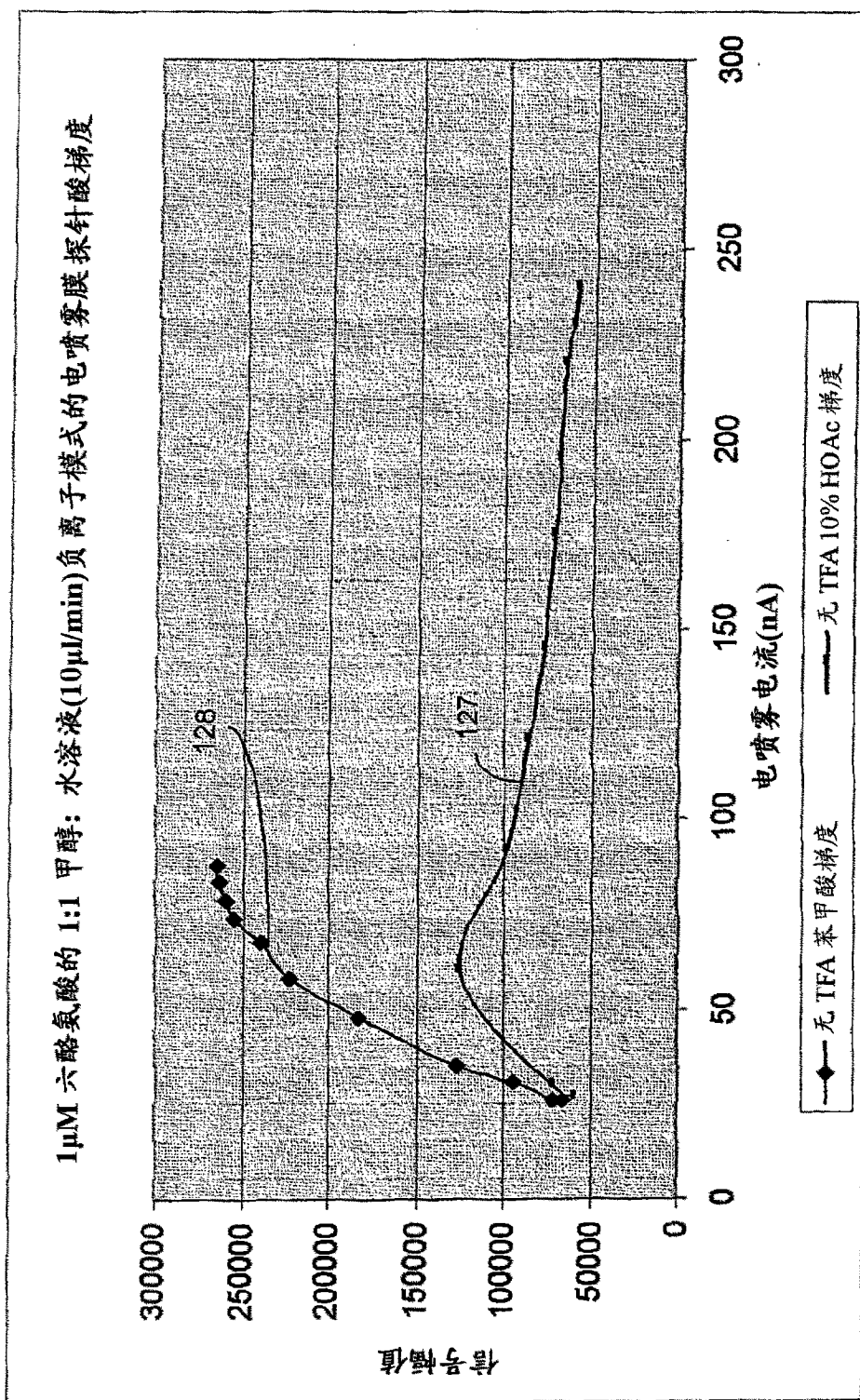


图 11

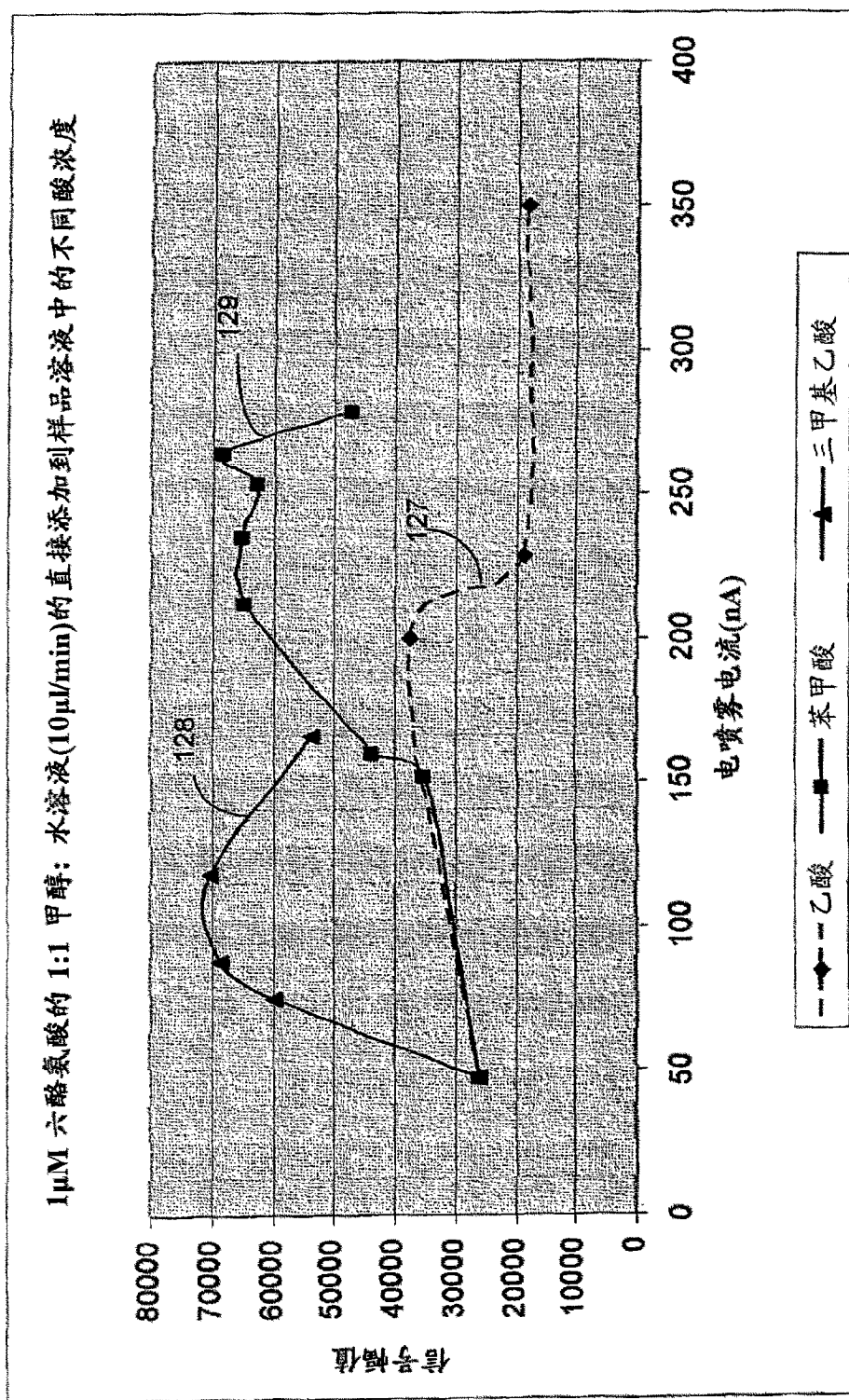


图 12

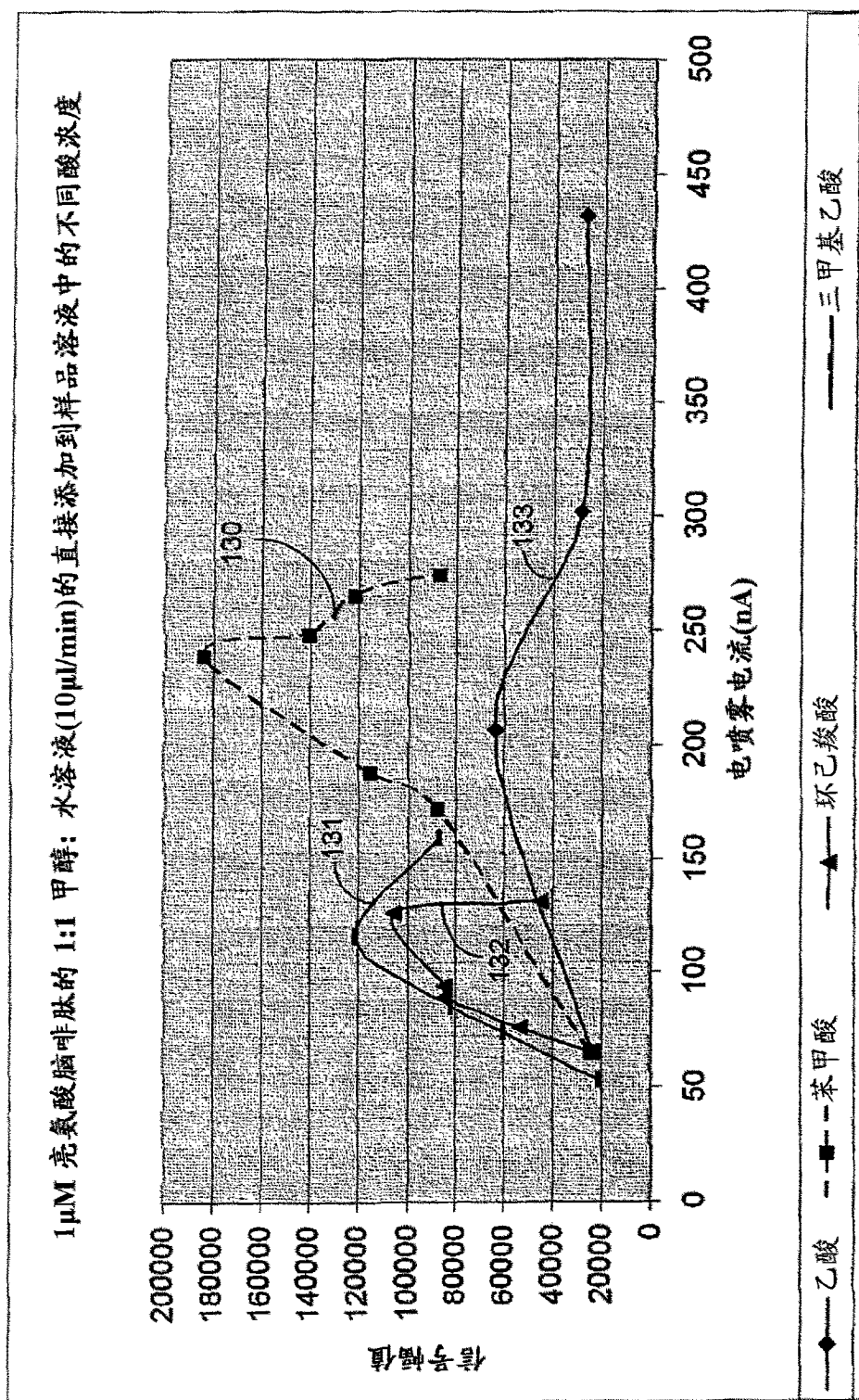


图 13

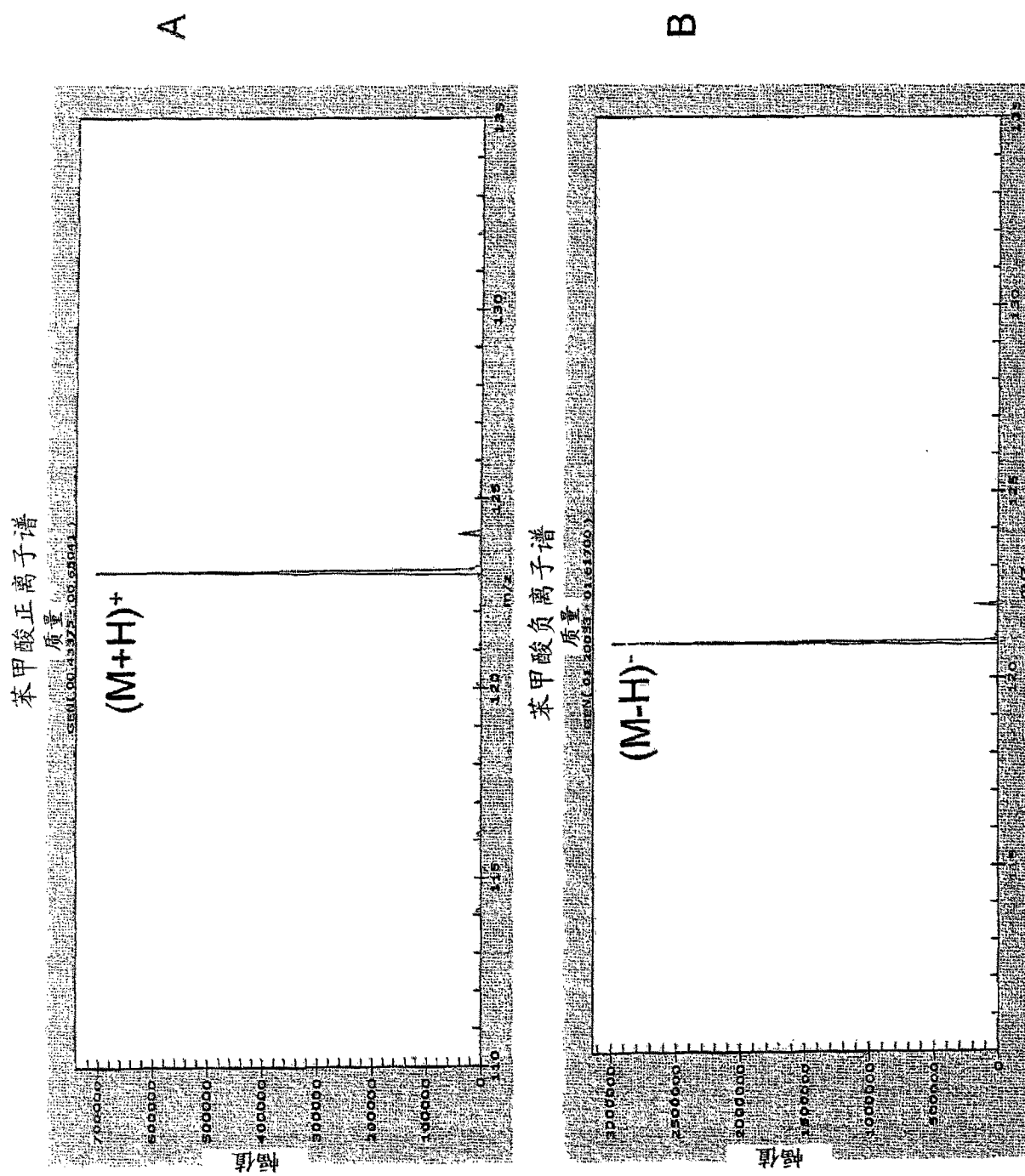


图 14

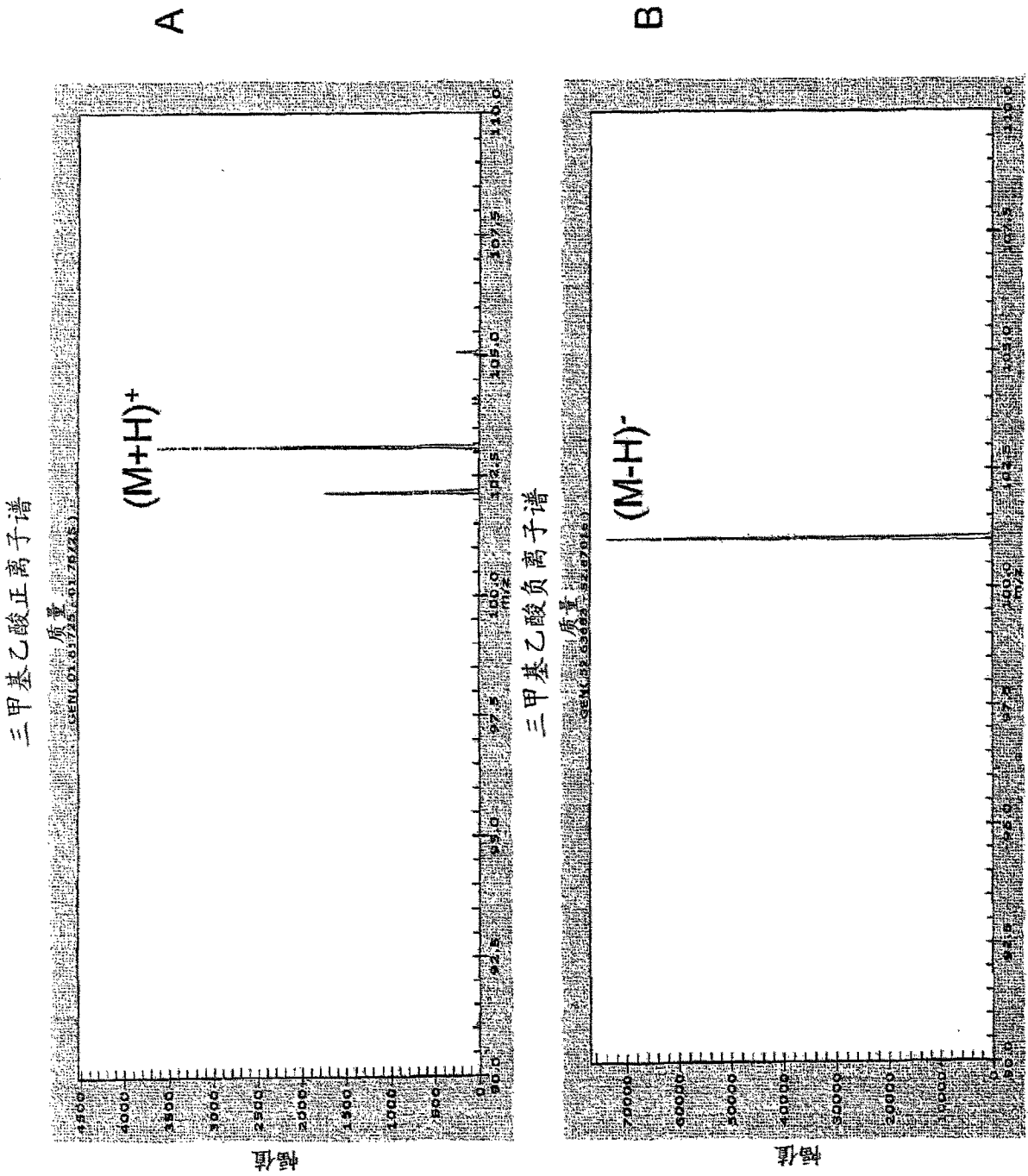


图 15

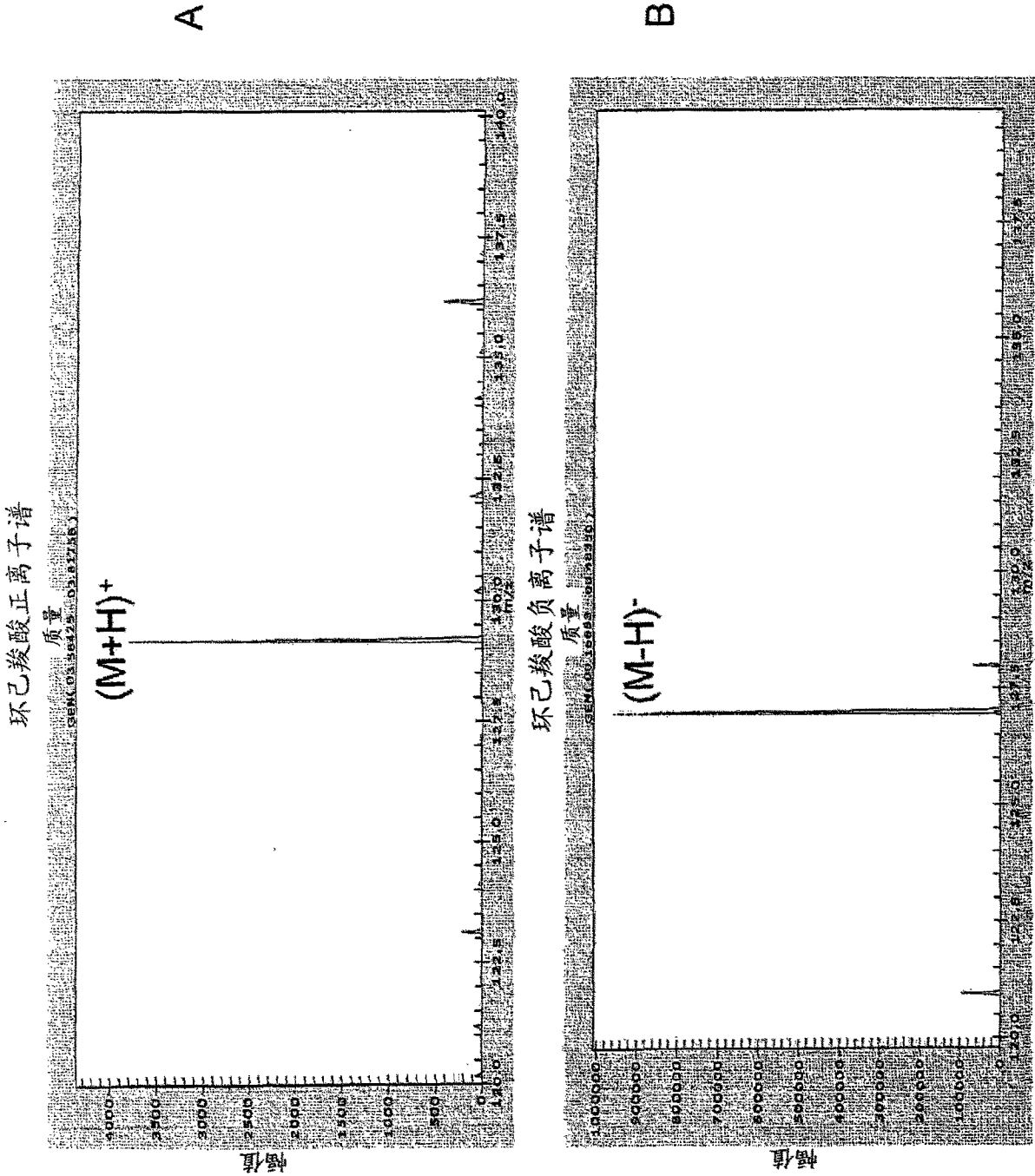


图 16