



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114078687 B

(45) 授权公告日 2023.03.21

(21) 申请号 202010845136.8
 (22) 申请日 2020.08.20
 (65) 同一申请的已公布的文献号
 申请公布号 CN 114078687 A
 (43) 申请公布日 2022.02.22
 (73) 专利权人 中国科学院化学研究所
 地址 100190 北京市海淀区中关村北1街中
 国科学院化学研究所
 (72) 发明人 聂宗秀 刘超子 熊彩侨 李玉泽
 (74) 专利代理机构 北京天达知识产权代理事务
 所有限公司 11386
 专利代理师 程虹
 (51) Int. Cl.
 H01J 49/16 (2006.01)
 H01J 49/26 (2006.01)
 (56) 对比文件
 CN 106841638 A, 2017.06.13
 CN 104316592 A, 2015.01.28

CN 102637574 A, 2012.08.15
 CN 102414778 A, 2012.04.11
 CN 108288578 A, 2018.07.17
 CN 102980796 A, 2013.03.20
 CN 104956463 A, 2015.09.30
 CN 106370718 A, 2017.02.01
 CN 106324071 A, 2017.01.11
 US 2017125228 A1, 2017.05.04
 US 2014183351 A1, 2014.07.03
 US 2015325423 A1, 2015.11.12
 JP 2020004728 A, 2020.01.09
 CN 105575753 A, 2016.05.11
 WO 2019200166 A1, 2019.10.17
 US 2015318160 A1, 2015.11.05
 CN 103226127 A, 2013.07.31 (续)

审查员 陈茂兴

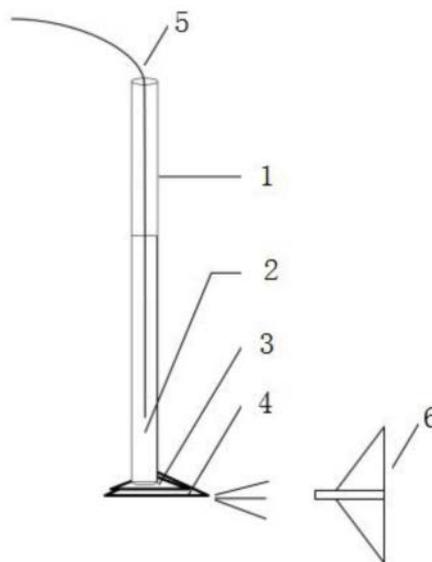
权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称
 一种毛细管纸喷雾离子源装置及离子生成方法

(57) 摘要

本发明涉及一种毛细管纸喷雾离子源装置及离子生成方法,属于质谱分析技术领域,解决了现有技术中传统纸喷雾分析时样品中大分子物质导致基质干扰,质谱信号稳定性差,可分析时间短的问题。毛细管纸喷雾离子源装置包括毛细管、膜和滤纸,膜粘贴于毛细管的底端面,滤纸贴附于膜的底侧;膜能够吸附大分子物质,且具有过滤作用。离子源生成方法包括:将待分析样品加入毛细管中,将滤纸润湿后贴于硝酸纤维素膜底部,使滤纸的尖端正对质谱进样口;将铂丝电极插入待分析样品中,施加高压正电,待分析样品中待测分子被离子化,传输入质谱质量分析器进行检测分析。本发明的装置和方法能够使小分子物质检出限降低,质谱信号强度增加,便于

定性及定量分析。



CN 114078687 B

[接上页]

(56) 对比文件

Anyin Li等.“Paper spray ionization of polar analytes using non-polar solvents”.《The Royal Society of Chemistry》.2011,第1卷(第2期),

Pallab Basuri等.“Detection of Hydrocarbons by Laser Assisted Paper Spray Ionization Mass Spectrometry (LAPSI MS)”.《Analytical Chemistry》.2018,第90卷(第7期),

1. 一种毛细管纸喷雾离子源装置,其特征在于,包括毛细管(1)、膜(3)和滤纸(4),所述膜(3)粘贴于所述毛细管(1)的底端面,所述滤纸(4)贴附于所述膜(3)的底侧,其中,所述膜(3)能够吸附大分子物质,且所述膜(3)具有对待分析样品中固体颗粒物的过滤作用;所述膜(3)为硝酸纤维素膜;所述膜(3)粘贴于所述毛细管(1)的底端面,且所述毛细管(1)垂直于所述膜(3);

所述毛细管(1)为石英玻璃毛细管;所述毛细管(1)的长度为1.5-2.5cm,所述毛细管(1)的内径为0.75-0.9mm,所述毛细管(1)的外径为1.3-1.7mm;

还包括质谱质量分析器,所述质谱质量分析器包括质谱进样口(6);

所述滤纸(4)包括尖端,所述尖端对准所述质谱进样口(6);

控制所述滤纸(4)的尖端与所述质谱进样口(6)之间的距离为3-10mm;

所述滤纸(4)为等腰三角形,将所述滤纸(4)的三个顶点的其中两处设置为弧形,保证其中一个顶点处为尖端;

还包括铂丝电极(5);

实施时,毛细管(1)竖直放置,带有膜(3)的一端作为底部,待分析样品(2)从毛细管(1)的上端加入毛细管(1),铂丝电极(5)从毛细管(1)的上端插入待分析样品(2),在铂丝电极(5)上施加2000~4500V电压,待分析样品(2)在毛细作用及电场驱动下,透过膜(3),流向滤纸(4)的尖端并形成电喷雾,从质谱进样口(6)进入质谱从而被分析。

2. 一种离子生成方法,其特征在于,采用权利要求1所述的毛细管纸喷雾离子源装置,包括:

步骤1、将液态待分析样品(2)加入底部粘贴硝酸纤维素膜的毛细管(1)中,将毛细管(1)竖直放置,将滤纸(4)用甲醇和水的混合溶液润湿后,将滤纸贴于硝酸纤维素膜底部,使滤纸(4)的尖端正对质谱进样口(6);

步骤2、将铂丝电极(5)插入液态待分析样品(2)中,施加2000~4500V高压正电,液态待分析样品(2)与质谱进样口(6)之间形成电场,产生电喷雾,液态待分析样品中待测分子被离子化,随喷雾液滴蒸发,产生气相离子,传输入质谱质量分析器进行检测和分析。

3. 根据权利要求2所述的离子生成方法,其特征在于,所述待分析样品(2)为能够通过电喷雾方式离子化的任何样品。

一种毛细管纸喷雾离子源装置及离子生成方法

技术领域

[0001] 本发明涉及质谱分析技术领域,尤其涉及一种毛细管纸喷雾离子源装置及离子生成方法。

背景技术

[0002] 纸喷雾离子源(Paper spray,PS)是近十年来快速发展的一种质谱常压电离源,该方法具有电喷雾质谱(ESI)和常压电离方法的特性,是一种软电离方法,能够保留分子的完整质荷比信息,需要最少的样品处理,极少的生物危害性和化学废物;同时装置简单,操作方便,价格便宜,可用于复杂混合物的快速,定性和定量分析。纸喷雾质谱(PS-MS)已经被广泛应用于生物样品中药物,代谢物,脂质,蛋白的分析。

[0003] 纸喷雾的工作原理是:将带有尖锐尖端的滤纸固定在质谱仪的入口处,在纸片上通过滴加溶液或涂抹等方式加入样品,待样品干燥后,滴加洗脱液,在纸纤维的毛细作用下,将纸片上的待分析样品提取并运输到纸尖,将电压施加到润湿的纸片上,产生高压电场进行电离并在尖锐的纸尖形成电喷雾,产生气相离子并传输入质谱。纸喷雾的优势在于无需样品制备,通过PS-MS进行的分析既简单又快捷(不到一分钟),同时保留了针对临床应用的显著特异性,灵敏度和定量能力。纸喷雾可实现对于生物样品,如血液,血清,尿液等的实时分析。然而,实际样品中的复杂成分会产生基质效应。生物流体中的蛋白质和其他大分子由于其非挥发性特征,通过影响带电液滴的形成和蒸发而导致离子抑制。此外,大分子的信号会抑制小分子的信号,这可能是由于质谱六级杆传输过程中及质量分析器中的离子-离子相互作用导致,这些基质干扰会导致更大的背景噪声,并导致灵敏度急剧下降。因此,将快速有效的样品制备与电离过程相结合,对于成功地对生物样品进行质谱分析是有好处的。

发明内容

[0004] 鉴于上述的分析,本发明旨在提供一种毛细管纸喷雾离子源装置及离子生成方法,至少能够解决以下技术问题之一:(1)纸喷雾分析时样品中大分子物质导致基质干扰;(2)纸喷雾分析时质谱信号稳定性略差,可分析时间较短。本发明的目的主要是通过以下技术方案实现的:

[0005] 一方面,本发明提供了一种毛细管纸喷雾离子源装置,包括毛细管、膜和滤纸,所述膜粘贴于毛细管的底端面,所述滤纸贴附于所述膜的底侧,其中,所述膜能够吸附大分子物质,且具有过滤作用。

[0006] 进一步的,所述毛细管为石英玻璃毛细管。

[0007] 进一步的,所述膜为硝酸纤维素膜。

[0008] 进一步的,所述膜粘贴于所述毛细管的底端面,且所述毛细管垂直于所述膜。

[0009] 进一步的,还包括质谱质量分析器,所述质谱质量分析器包括质谱进样口。

[0010] 进一步的,所述滤纸包括尖端,所述尖端对准质谱进样口。

[0011] 进一步的,所述毛细管的长度为1.5-2.5cm,所述毛细管的内径为0.75-0.9mm,所述毛细管的外径为1.3-1.7mm。

[0012] 进一步的,还包括铂丝电极。

[0013] 另一方面,本发明还提供了一种离子源生成方法,包括:

[0014] 步骤1、将液态待分析样品加入底部粘贴硝酸纤维素膜的毛细管中,将毛细管竖直放置,将滤纸用甲醇和水的混合溶液润湿后,将滤纸贴于硝酸纤维素膜底部,使滤纸的尖端正对质谱进样口;

[0015] 步骤2、将铂丝电极插入液态待分析样品中,施加2000~4500V高压正电,液态待分析样品与质谱进样口之间形成电场,产生电喷雾,液态待分析样品中的待测分子被离子化,随喷雾液滴蒸发,产生气相离子,传输入质谱质量分析器进行检测和分析。

[0016] 进一步的,所述待分析样品中为可通过电喷雾方式离子化的任何物质。

[0017] 与现有技术相比,本发明至少具有如下有益效果之一:

[0018] a) 与传统纸喷雾分析纸片上的干样品点不同,本发明的毛细管纸喷雾离子源装置采用毛细管承载液体样品,因此不需要添加额外的洗脱液,液体样品在电场的作用下以稳定的速度流动形成电喷雾,相比传统纸喷雾所得到的质谱信号稳定且持续时间更长,利于分析,尤其是定量分析。

[0019] b) 在毛细管的底部粘贴硝酸纤维素膜,起到对待分析样品中的大分子物质(例如蛋白质)的吸附作用,以及对待分析样品中固体颗粒物的过滤作用,减少蛋白质对样品中小分子物质的离子信号抑制作用,使小分子物质检出限降低,质谱信号强度增加,更便于对其定性及定量分析。

[0020] c) 润湿的滤纸可以直接贴附在硝酸纤维素膜底部,不需要额外的固定装置,样品溶液不需要泵的推动,可以在毛细作用及电场驱动下缓慢流出到达滤纸尖端,结构简单,巧妙,成本低,操作简单。

[0021] d) 本发明的离子生成方法步骤简单,所获谱图的信噪比、信号稳定度、信号持续时间均有很大提升。

[0022] 本发明中,上述各技术方案之间还可以相互组合,以实现更多的优选组合方案。本发明的其他特征和优点将在随后的说明书中阐述,并且,部分优点可从说明书中变得显而易见,或者通过实施本发明而了解。本发明的目的和其他优点可通过说明书以及附图中所特别指出的内容中来实现和获得。

附图说明

[0023] 附图仅用于示出具体实施例的目的,而并不认为是对本发明的限制,在整个附图中,相同的参考符号表示相同的部件。

[0024] 图1为本发明的毛细管纸喷雾离子源装置的整体结构示意图;

[0025] 图2为毛细管纸喷雾离子源装置用于药品(盐酸二甲双胍和盐酸小檗碱)溶液的质谱图;

[0026] 图3为毛细管纸喷雾离子源装置用于盐酸二甲双胍检测所得的离子流图与传统纸喷雾离子源所得的离子流图对比;

[0027] 图4为毛细管纸喷雾离子源装置用于盐酸小檗碱与蛋白混合溶液的检测所得质谱

图与传统纸喷雾离子源所得质谱图对比；

[0028] 图5为毛细管纸喷雾离子源装置用于胎牛血清中盐酸二甲双胍的定量检测所得的定量曲线图；

[0029] 图6为毛细管纸喷雾离子源装置用于胎牛血清中盐酸小檗碱的定量检测所得的定量曲线图。

[0030] 附图标记：

[0031] 1-毛细管；2-待分析样品；3-膜；4-滤纸；5-铂丝电极；6-质谱进样口。

具体实施方式

[0032] 下面结合附图来具体描述本发明的优选实施例，其中，附图构成本申请一部分，并与本发明的实施例一起用于阐释本发明的原理，并非用于限定本发明的范围。

[0033] 一方面，本发明提供了一种毛细管纸喷雾离子源装置，如图1所示，毛细管纸喷雾离子源装置包括毛细管1、膜3和滤纸4，膜3粘贴于毛细管1的底端，滤纸4贴附于膜3的底侧，其中，膜3能够吸附大分子物质，且具有过滤作用。

[0034] 具体的，毛细管纸喷雾离子源装置还包括铂丝电极5。

[0035] 实施时，毛细管1竖直放置，带有膜3的一端作为底部，待分析样品2从毛细管1的上端加入毛细管1，铂丝电极5从毛细管1的上端插入待分析样品2，在铂丝电极5上施加电压，待分析样品2在毛细作用及电场驱动下，透过膜3，流向滤纸4的尖端并形成电喷雾，从质谱进样口6进入质谱从而被分析。

[0036] 为了保证毛细管纸喷雾离子源装置的使用安全性，防止毛细管1在使用过程中被轻易损坏，毛细管1可以采用坚固的材料，例如耐高电压的硬塑料管或石英玻璃毛细管。示例性的，毛细管1为石英玻璃毛细管。

[0037] 具体的，毛细管1的长度过长，需要电极也会相应增长，对于分析微量样品来说，没有必要采用过长的毛细管；毛细管过短，承载样品过少不利于长时间分析。因此，控制毛细管1的长度为1.5-2.5cm。

[0038] 具体的，毛细管1的内径过大，待分析样品流速过快，缩短可分析时间；毛细管1的内径过小，待分析样品透过膜流量减小，导致检测信号减弱。因此，控制毛细管1的内径为0.75-0.9mm。

[0039] 具体的，毛细管1的外径过大会导致毛细管过粗，由于下方粘贴滤纸的尖端需要超出毛细管边缘，导致所需滤纸面积增加，会对信号强度有影响；毛细管外径过小，会不易粘贴膜。因此，控制毛细管1的外径为1.3-1.7mm。

[0040] 为了保证膜3能够吸附大分子物质，并且具有过滤作用，膜3可以采用硝酸纤维素膜、PVDF(聚偏二氟乙烯)膜、纤维素酯(CE)透析膜或聚醚砜(PES)滤膜。

[0041] 经过深入研究，孔径太小的膜，如纤维素酯透析膜的透水速度太慢，必须额外加压用注射泵推，孔径过大，透水速度太快，对蛋白质的吸附能力减弱；因此，综合考虑硝酸纤维素膜在透水性及与滤纸的贴附能力方面比较优秀，并且吸附蛋白质能力强，离子流信号稳定，因此，优选的，膜3采用硝酸纤维素膜。具体的，硝酸纤维素膜3的平均间隙孔径为0.4-0.5 μm 。

[0042] 为了保证膜3的吸附效果和过滤效果，防止膜3的尺寸过小无法完整覆盖毛细管1

的底端,膜3的尺寸大于或等于毛细管1的外径。

[0043] 需要说明的是,为了防止膜3脱落,采用胶水将膜3粘贴于毛细管1的底端,具体的,将膜3粘贴于毛细管1的底端截面,且毛细管1垂直于膜3。所用的胶水为可粘贴玻璃与硝酸纤维素膜,且耐有机溶剂的胶,包括但不限于环氧胶。

[0044] 值得注意的是,胶水仅涂抹于毛细管1的底部边沿,以保证膜3对待分析样品2的透过性不受影响。

[0045] 具体的,待分析样品2为液体样品,可以为化学物质溶液、实际生理样品或实际环境样品等,包括但不限于药物水溶液、甲醇溶液、血清样品、血液样品、尿液样品、含有少量固体颗粒物的河流样品等。待分析样品2中可检测的物质为可通过电喷雾方式离子化的任何物质。

[0046] 具体的,为了保证滤纸4贴附于膜3的底侧,采用润湿液将滤纸4润湿并贴附于膜3的底侧,润湿液是可形成电喷雾的溶液。具体的,润湿液是水相溶剂,例如超纯水或醋酸铵缓冲溶液;或者润湿液是具有极性基团的有机溶剂,如甲醇,乙醇,乙腈的一种或多种。优选的,润湿液是水和甲醇的混合液。

[0047] 具体的,滤纸4有一个30~60℃的尖端,实施时,滤纸4的尖端对准质谱进样口6,这是因为电喷雾在滤纸尖端形成,当尖端正对进样口时,形成的电喷雾向前直接进入质谱,信号强度最大;若尖端在进样口附近,但没对准进样口,带电喷雾液滴在电场作用下也可进入质谱,但信号强度可能有所减弱。

[0048] 示例性的,滤纸4为等腰三角形。

[0049] 考虑到滤纸4的尖端过多会导致各个尖端均会形成电喷雾,浪费样品,因此,当滤纸4为等腰三角形时,将滤纸4的三个顶点的其中两处设置为弧形,保证其中一个顶点处为尖端,能够形成电喷雾即可。

[0050] 需要说明的是,滤纸4的尖端与质谱进样口6之间的距离过小会发生放电,损坏仪器;距离过大,会导致喷雾产生的离子不能进入质谱进样口6。因此,控制滤纸4的尖端与质谱进样口6之间的距离为3-10mm。

[0051] 具体的,毛细管纸喷雾离子源装置还包括质谱质量分析器,优选的,质谱质量分析器为四级杆飞行时间质谱或线性离子阱质谱。

[0052] 与现有技术相比,与传统纸喷雾分析纸片上的干样品点不同,本发明的毛细管纸喷雾离子源装置采用毛细管承载液体样品,因此不需要添加额外的洗脱液,液体样品在电场的作用下以稳定的速度流动形成电喷雾,相比传统纸喷雾所得到的质谱信号稳定且持续时间更长,利于分析,尤其是定量分析。

[0053] 在毛细管的底部粘贴硝酸纤维素膜,起到对待分析样品中的大分子物质(例如蛋白质)的吸附作用,以及对待分析样品中固体颗粒物的过滤作用,减少蛋白质对样品中小分子物质的离子信号抑制作用,使小分子物质检出限降低,质谱信号强度增加,更便于对其定性及定量分析。

[0054] 润湿的滤纸可以直接贴附在硝酸纤维素膜底部,不需要额外的固定装置,样品溶液不需要泵的推动,可以在毛细作用及电场驱动下缓慢流出到达滤纸尖端,结构简单,巧妙,成本低,操作简单。

[0055] 另一方面,本发明提供了一种离子生成方法,包括:

[0056] 步骤1、将液态待分析样品2加入底部粘贴硝酸纤维素膜的毛细管1中,将毛细管1竖直放置,将滤纸4用甲醇和水的混合溶液(甲醇和水的体积比为1:1)润湿后,将滤纸贴于硝酸纤维素膜底部,调整装置位置,使滤纸4的尖端正对质谱进样口6;

[0057] 步骤2、将铂丝电极5插入液态待分析样品2中,施加2000~4500V高压正电,液态待分析样品2与质谱进样口6之间形成电场,产生电喷雾,液态待分析样品2中待测分子被离子化,随喷雾液滴蒸发,产生气相离子,传输入质谱质量分析器进行检测和分析。

[0058] 与现有技术相比,本发明的离子生成方法步骤简单,采用硝酸纤维素膜起到对待分析样品中的大分子物质(例如蛋白质)的吸附作用,以及对待分析样品中固体颗粒物的过滤作用,减少蛋白质对样品中小分子物质的离子信号抑制作用,使小分子物质检出限降低,质谱信号强度增加,更便于对其定性及定量分析。

[0059] 实施例1

[0060] 本发明的一个具体实施例,公开了一种毛细管纸喷雾离子源装置,如图1所示,毛细管纸喷雾离子源装置包括毛细管1、膜3、滤纸4、铂丝电极5和质谱质量分析器,膜3采用环氧胶粘贴于毛细管1的底端面,滤纸4贴附于膜3的底侧;其中,膜3为硝酸纤维素膜,膜3上的通孔的尺寸为0.45mm,能够吸附大分子物质,且具有过滤作用;毛细管1为石英玻璃毛细管,毛细管1的长度为2cm,毛细管1的内径为0.86mm,毛细管1的外径为1.5mm;滤纸4为等腰三角形,滤纸4的底边长为2cm,底边上的高为3cm;滤纸4的尖端对准质谱质量分析器的质谱进样口6;滤纸4的尖端与质谱进样口6之间的距离为5mm。

[0061] 示例性的,滤纸4的三个顶点的其中两处设置为弧形,保证其中一个顶点处为尖端,能够形成电喷雾即可。

[0062] 具体的,质谱质量分析器为四级杆飞行时间质谱或线性离子阱质谱。

[0063] 实施例2

[0064] 本发明的一个具体实施例,采用上述实施例1的毛细管纸喷雾离子源装置用于药品纯溶液的检测,实验步骤如下:

[0065] (1) 配置盐酸小檗碱,盐酸二甲双胍溶液作为分析物,将盐酸小檗碱以75 μ mol/L的浓度溶于甲醇/水(体积比1:1)溶剂中;将盐酸二甲双胍以1mmol/L的浓度溶于甲醇/水(体积比1:1)溶剂中;

[0066] (2) 用移液枪将10 μ L配置好的溶液加入底部粘贴好硝酸纤维素膜的毛细管中,竖直放置,将宽2cm,高3cm的等腰三角形滤纸用甲醇/水(体积比1:1)溶剂润湿,贴于硝酸纤维素膜底部,调整装置位置,使滤纸尖端正对质谱进样口;

[0067] (3) 将铂丝电极插入样品溶液中,施加3500V高压正电,使用线性离子阱质谱(Thermo Scientific LTQ XL,Newman,California,USA)进行检测。其中,选择正离子模式,质谱运行条件为:毛细管温度:200 $^{\circ}$ C;毛细管电压:7V;镜筒透镜电压:40V。

[0068] 所得谱图见图2,所得总离子流图见图3。从谱图中可以看出采用毛细管纸喷雾离子源装置可获得信噪比高,强度高的分析物信号;从总离子流图中可以看出,该方法离子流信号稳定,持续时间较长,为10分钟以上。而传统纸喷雾质谱,信号强度波动较大,信号持续时间1分钟左右。相较传统纸喷雾方法,本装置所获谱图的信噪比、信号稳定度、信号持续时间有很大提升。

[0069] 实施例3

[0070] 本发明的一个具体实施例,采用上述实施例1的毛细管纸喷雾离子源装置用于盐酸小檗碱与蛋白混合溶液的检测,实验步骤如下:

[0071] (1) 将牛血清白蛋白 (BSA) 溶解在75 $\mu\text{mol/L}$ 的盐酸小檗碱溶液(盐酸小檗碱溶液中甲醇和水的体积比为1:1)中,使其终浓度为5 $\mu\text{mol/L}$,15 $\mu\text{mol/L}$,25 $\mu\text{mol/L}$ 。

[0072] (2) 用移液枪将10 μL 配置好的溶液加入底部粘贴好硝酸纤维素膜的毛细管中,竖直放置,将宽2cm,高3cm的等腰三角形滤纸用甲醇/水(体积比1:1)溶剂润湿,贴于硝酸纤维素膜底部,调整毛细管纸喷雾装置位置,使滤纸尖端正对质谱进样口。

[0073] (3) 将铂丝电极插入样品溶液中,施加3500V高压正电,使用线性离子阱质谱(Thermo Scientific LTQ XL,Newman,California,USA)进行检测。选择正离子模式,质谱运行条件为:毛细管温度:200 $^{\circ}\text{C}$;毛细管电压:7V;镜筒透镜电压:40V。

[0074] 实验结果如图4,从谱图中可以看出蛋白对药物分子的离子化有影响,随蛋白浓度的增加,目标药物分子峰强度降低,信噪比减弱。在高浓度蛋白的存在下,利用本方法仍能得到较好的盐酸小檗碱分子信号。相对于传统纸喷雾离子源,毛细管纸喷雾离子源在分析小分子时,蛋白的影响被大大减小。

[0075] 实施例4

[0076] 本发明的一个具体实施例,采用上述实施例1的毛细管纸喷雾离子源装置用于胎牛血清中药物的定量检测。

[0077] 本例中检测了胎牛血清药物添加样中的药物浓度,具体药物为盐酸小檗碱及盐酸二甲双胍,实验步骤如下:

[0078] (1) 将一系列不同浓度的1 μL 盐酸二甲双胍水溶液与内标物(D6-盐酸二甲双胍水溶液)分别加标到每个胎牛血清样品中,使二甲双胍的最终浓度为1 $\mu\text{mol/L}$,5 $\mu\text{mol/L}$,10 $\mu\text{mol/L}$,20 $\mu\text{mol/L}$,30 $\mu\text{mol/L}$,内标浓度为20 $\mu\text{mol/L}$;将一系列不同浓度的1 μL 盐酸小檗碱水溶液和内标物(D6-盐酸小檗碱水溶液)分别加标到每个胎牛血清样品中,使盐酸小檗碱的最终浓度为2.5 $\mu\text{mol/L}$,10 $\mu\text{mol/L}$,15 $\mu\text{mol/L}$,25 $\mu\text{mol/L}$,50 $\mu\text{mol/L}$,内标浓度为50 $\mu\text{mol/L}$ 。

[0079] (2) 每个加标的血清样品用甲醇/水溶液(体积比1:2)稀释7倍。每个样品进行3个平行实验。

[0080] (3) 用移液枪将10 μL 配置好的溶液加入底部粘贴好硝酸纤维素膜的毛细管中,竖直放置,将宽2cm,高3cm的等腰三角形滤纸用甲醇/水(体积比7:3)溶剂润湿,贴于硝酸纤维素膜底部,调整毛细管纸喷雾装置位置,使滤纸尖端正对质谱进样口。

[0081] (4) 将铂丝电极插入样品溶液中,施加3500V高压正电,使用四级杆飞行时间质谱进行检测。选择正离子模式,质谱毛细管温度:120 $^{\circ}\text{C}$;药物浓度的定量通过质谱多离子反应监测模式实现。具体实施方法为,在多离子反应监测模式下,选取药物分子及其对应同位素内标分子,通过碰撞诱导解离(CID)产生碎片离子,通过计算两者所得特征碎片峰的强度比例,反映出药物与其内标的浓度比例,从而定量。对于盐酸二甲双胍,选取二甲双胍加氢峰 $m/z=130$,及D6-盐酸二甲双胍加氢峰 $m/z=136$ 进行多离子反应监测,CID能量为20eV;特征碎片峰离子均为 $m/z=60$ 。对于盐酸小檗碱,选取小檗碱分子离子峰 $m/z=336$,D6-小檗碱分子离子峰 $m/z=342$ 进行多离子反应监测,CID能量为25eV。特征碎片峰离子均为 $m/z=306$ 。

[0082] 计算所得药物浓度与实际添加药物浓度的线性关系如图5、图6所示。由图中可以看出,测得浓度与实际浓度一致,具有良好的线性关系。该案例体现了毛细管纸喷雾离子源

离子流信号稳定,喷雾持续时间长的优势:因信号稳定,在多离子反应监测中所得离子信号强度比例能够真实反映实际浓度比例;因可检测时间长,可选取较长时间离子谱图平均,以取得更准确的结果。该案例中每次实验所用血清样品体积仅为1.4 μ L,实现了微量样品的检测。

[0083] 实施例2-4的检测结果表明,与传统的统纸喷雾质谱分析相比,采用本发明的毛细管纸喷雾离子源装置进行质谱分析时,所获谱图的信噪比、信号稳定度、信号持续时间均有很大提升;并且由于采用硝酸纤维素膜起到对待分析样品中的大分子物质(例如蛋白质)的吸附作用,以及对待分析样品中固体颗粒物的过滤作用,减少蛋白质对样品中小分子物质的离子信号抑制作用,使小分子物质检出限降低,质谱信号强度增加,更便于对其定性及定量分析,分析结果更加准确。

[0084] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到的变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

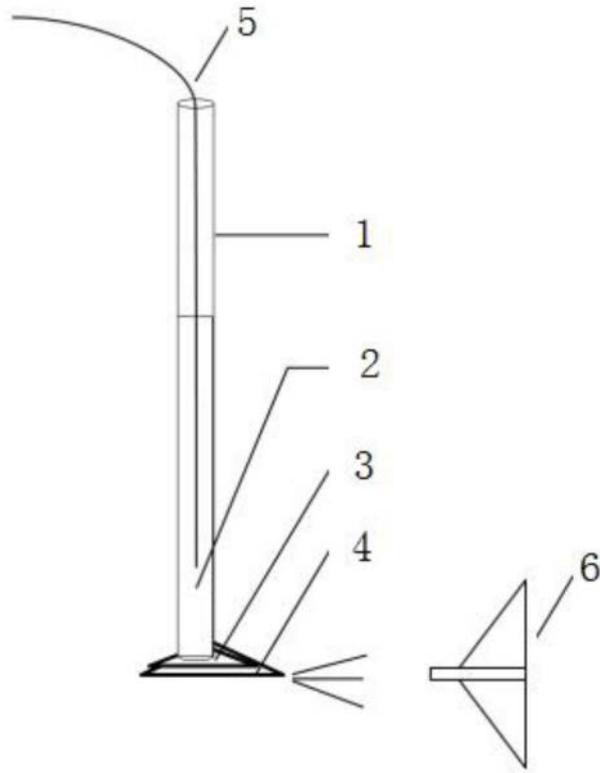


图1

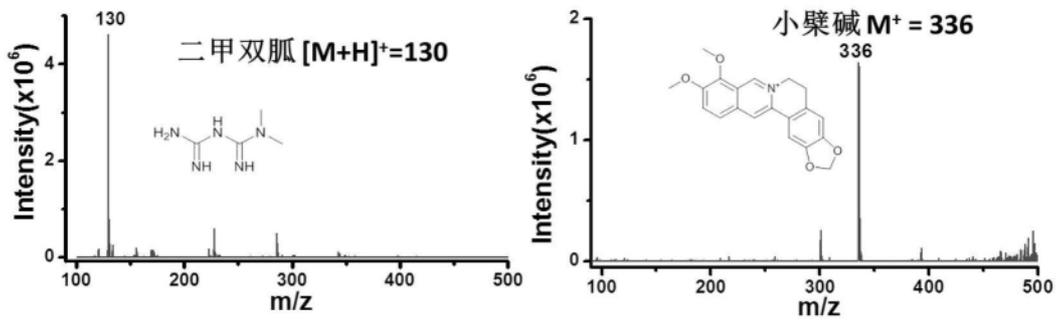


图2

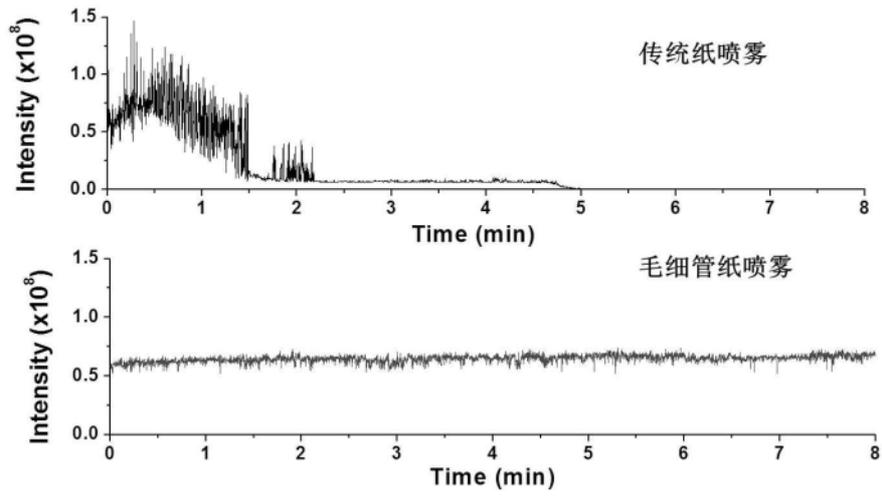


图3

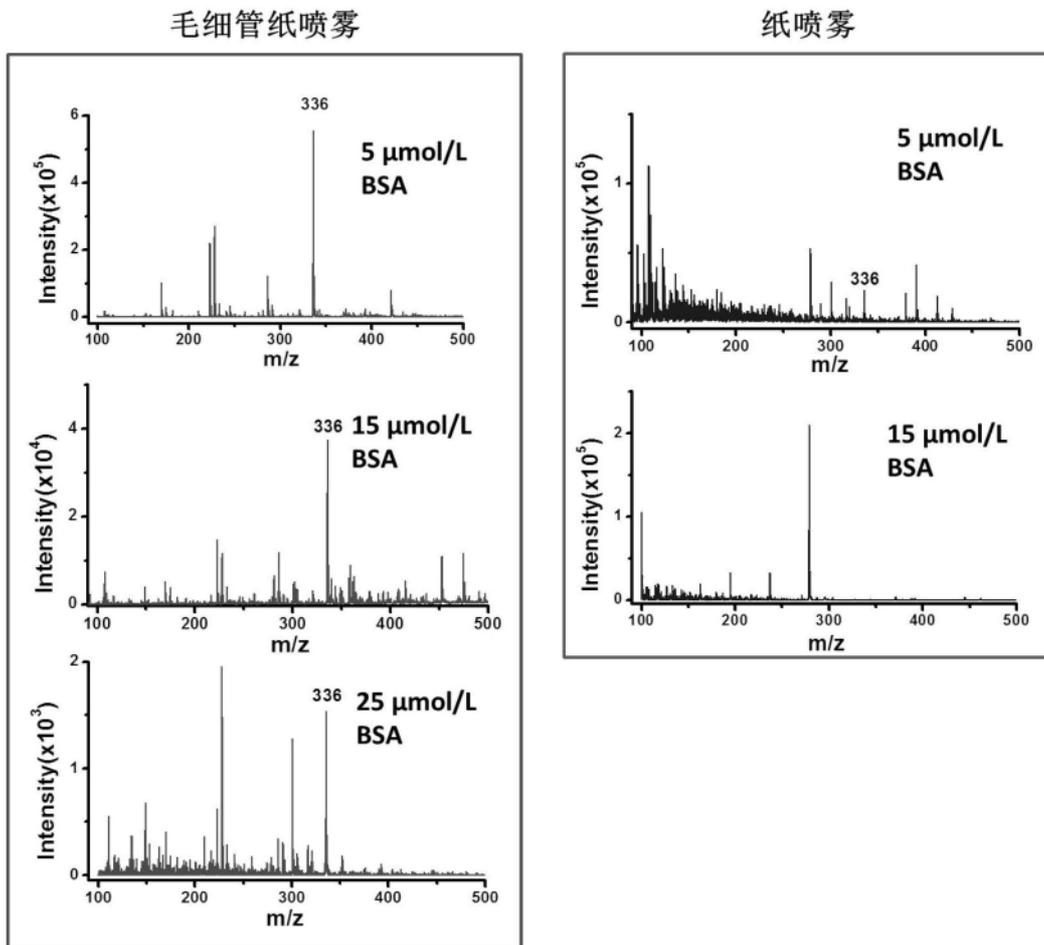


图4

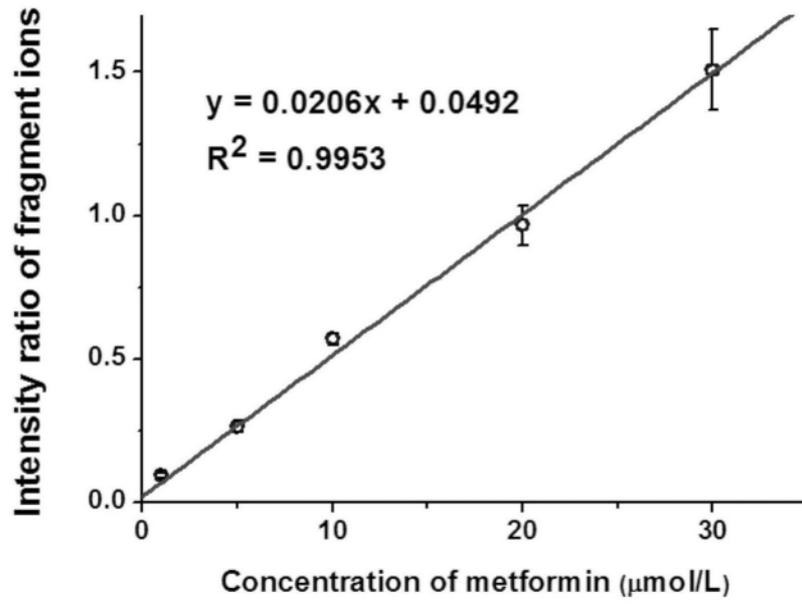


图5

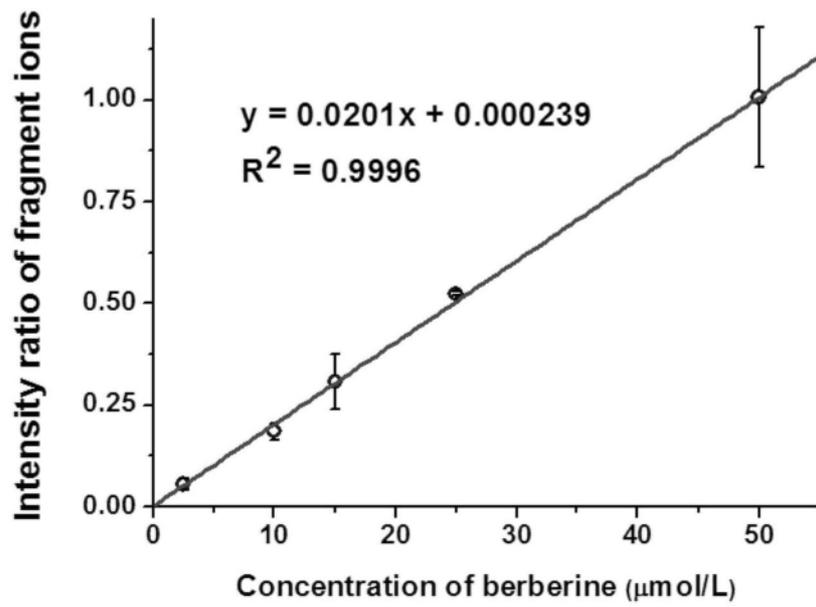


图6