

戴安 U3000 与禾信质谱联用性能测试

田琴琴, 朱辉

(广州禾信仪器股份有限公司, 广东 广州 510530)

摘要: 将赛默飞世尔高效液相色谱戴安 U3000 与禾信 API-TOFMS1000 串联, 进行检测实验, 证明自行搭建的 LC-TOFMS 性能能达到检测要求。

关键词: 性能;LC-TOFMS

1 实验条件

1.1 样品信息

利血平 (1ppb、2ppb、5ppb、10ppb、20ppb、50ppb、100ppb)

1.2 仪器设备

Theromfisher 高效液相色谱戴安 U3000、禾信 API-TOFMS1000

1.3 色谱条件

色谱柱型号: Biopearl-HC Column C18, 5 μ m, 2.1 \times 150mm

流量: 0.2ml/min, 雾化气 0.3Mpa, 辅助气 0.1 Mpa, 色谱流动相为 100%甲醇, 进样量 2ul。

2 实验方法

将 Theromfisher 高效液相色谱 U3000 与禾信 API-TOFMS1000 联用, 用标样利血平进行检测。将浓度为 10pg/ul 的利血平进样 100 次, 每次进样 10ul, 进样量为 100pg, 检测仪器的稳定性。将 7 个浓度梯度 (1ppb、2ppb、5ppb、10ppb、20ppb、50ppb、100ppb) 的利血平样品, 每个浓度梯度进样 7 次, 每次进样 2ul, 即进样量分别为 2pg、4pg、10pg、20pg、40pg、100pg 和 200pg, 检测仪器的线性范围。最后通过综合分析比较各组数据和峰型情况检验仪器性能是否达到检测要求。

3 实验记录

(1) 利血平 100 pg 进样 100 次的实验数据如下 (温度不稳定):

表 1 利血平 100 pg 进样 100 次的实验数据

序 号	峰面 积	序 号	峰面 积	序 号	峰面 积	序 号	峰面 积	序 号	峰面 积	序 号	峰面 积	序 号	峰面 积
1	8823	16	8845	31	9029	46	9188	61	8351	76	7985	91	7899
2	8778	17	8741	32	8957	47	8281	62	8462	77	7886	92	8100
3	9576	18	9042	33	8980	48	8719	63	9189	78	7928	93	7860
4	9130	19	8609	34	8736	49	9042	64	8436	79	8009	94	8329
5	8802	20	9037	35	8802	50	8376	65	8607	80	8204	95	8175
6	9410	21	8707	36	8997	51	9046	66	7908	81	8045	96	7803
7	9123	22	9116	37	8896	52	8902	67	8033	82	9301	97	8094
8	8980	23	9051	38	8615	53	8678	68	8463	83	8145	98	8560
9	9880	24	8523	39	8758	54	9676	69	8024	84	7968	99	7866
10	9288	25	8843	40	9105	55	8920	70	8221	85	7919	100	7766
11	8956	26	8797	41	9098	56	8290	71	8797	86	7767		
12	8878	27	9319	42	8680	57	8476	72	8609	87	7891		
13	8812	28	9807	43	8644	58	8672	73	8310	88	8275		
14	9606	29	8886	44	9010	59	8633	74	8324	89	7802		
15	9063	30	8954	45	9742	60	8759	75	7869	90	7936		
Rep 峰面积稳定性										5.99%			

(2) 利血平 100 pg 进样 75 次的实验数据如下 (温度稳定):

表 2 利血平 100 pg 进样 75 次的实验数据

序号	峰面积								
1	15540	16	15377	31	15769	46	15353	61	15269
2	15600	17	15753	32	15281	47	15567	62	15629
3	15603	18	15719	33	15541	48	15255	63	15805
4	16367	19	15053	34	15235	49	15307	64	15930
5	15869	20	15206	35	15226	50	15706	65	15915
6	15524	21	15413	36	14666	51	15653	66	16181
7	15447	22	15525	37	15203	52	15441	67	15767

8	15765	23	15446	38	14966	53	15959	68	15680
9	15637	24	15680	39	15272	54	15622	69	14680
10	15591	25	16698	40	15586	55	15467	70	15240
11	15339	26	15811	41	15193	56	15578	71	14610
12	15095	27	15409	42	14963	57	15476	72	15121
13	15972	28	15411	43	15213	58	15217	73	15240
14	15363	29	15231	44	15602	59	15245	74	14912
15	16216	30	15090	45	15605	60	15344	75	15532
Rep 峰面积稳定性							2.35%		

(3) 利血平进样量分别为空白、2pg、4pg、10pg、20pg、40pg、100pg 和 200pg 的实验数据如下:

表 3 线性范围实验数据

序号	峰面积							平均值	稳定性
	1	2	3	4	5	6	7		
空白	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1pg	2651	2581	2689	2650	2521	2616	2555	2609	2.29%
2pg	3147	2866	3054	3013	3054	2909	2883	2989	3.53%
5pg	5576	6080	5677	5687	5678	5646	5724	5724	3.13%
10pg	11271	12180	11476	11675	11578	11415	11812	11630	2.58%
20pg	11812	11812	11812	11812	11812	11812	11812	28570	1.33%
50pg	81406	82426	80864	82371	83161	82038	83649	82274	1.16%
100p g	13444 8	13338 6	133597	135091	133520	132972	132086	133586	0.73%
线性范围	R ² =0.9873								

(4) 利血平进样量分别为空白、2pg、4pg、10pg、20pg、40pg、100pg 和 200pg 质谱图如下:

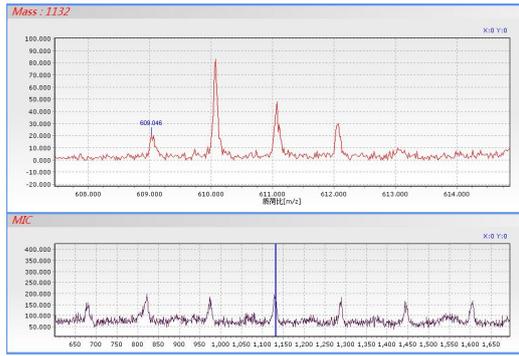


图1 空白样品的质谱峰

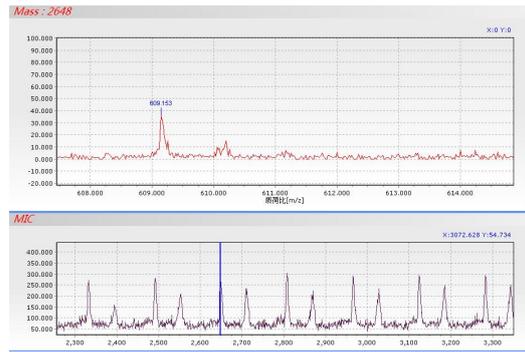


图2 进样 2pg 的质谱峰

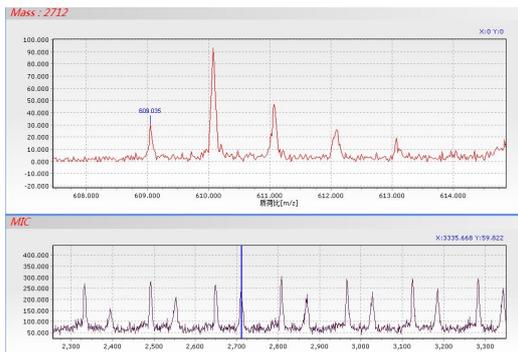


图3 进样 2pg 的杂峰

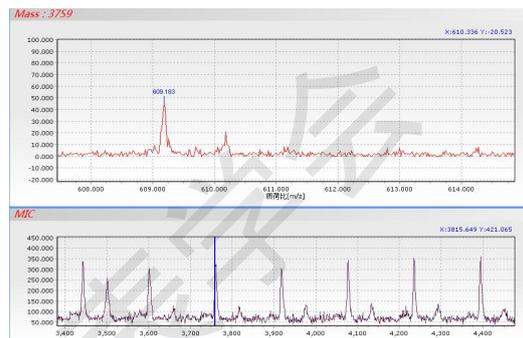


图4 进样 4pg 的质谱峰

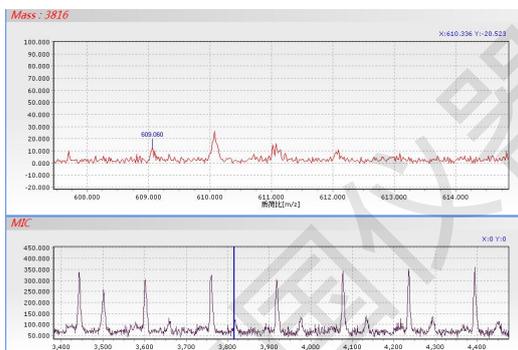


图5 进样 4pg 的杂峰

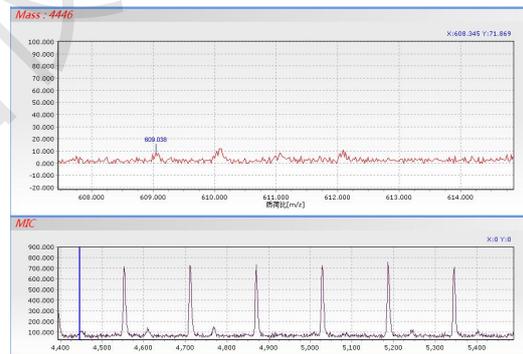


图6 进样 10pg 的质谱峰

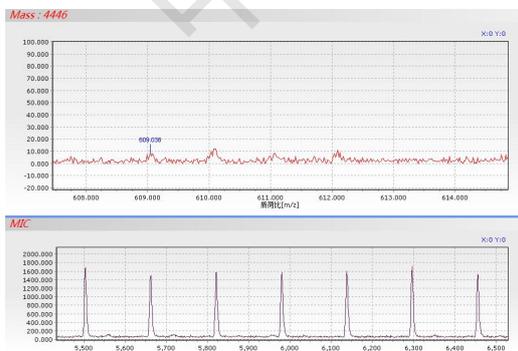


图7 进样 20pg 的质谱峰

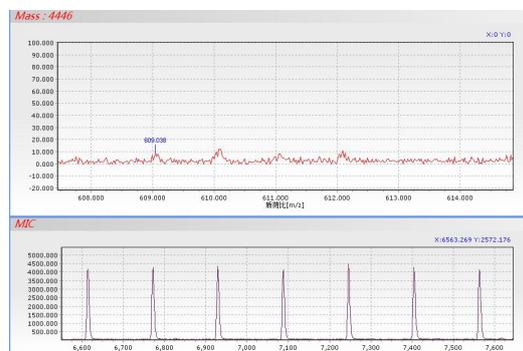


图8 进样 40pg 的质谱峰

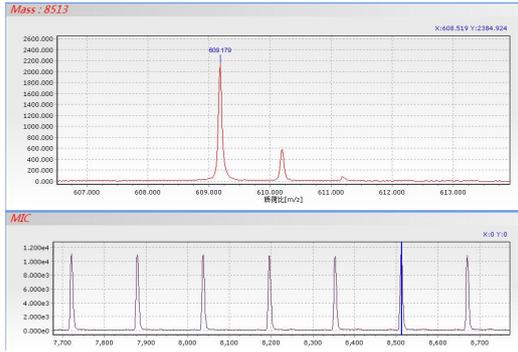


图9 进样 100pg 的质谱峰

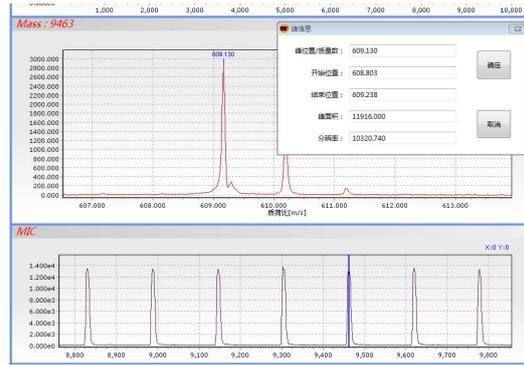


图10 进样 200pg 的质谱峰图

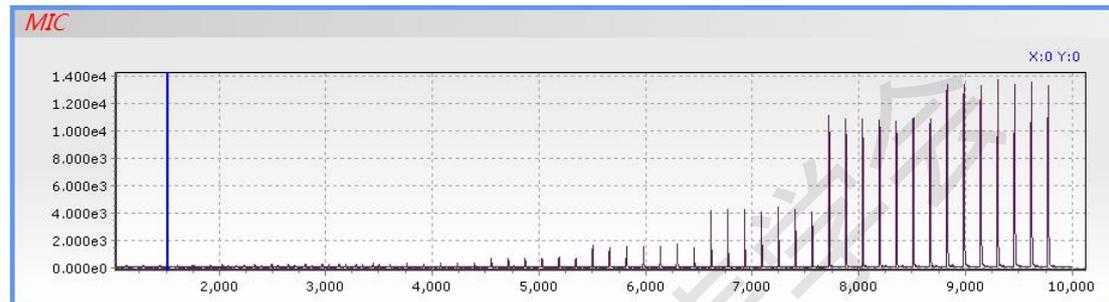


图11 总质谱峰

4 数据分析

根据表 1 的数据，处理得到赛默飞的高效液相色谱与禾信质谱联用的稳定性为 5.99%，在实验过程中峰面积最小为 7766，最大为 9880。表 2 的数据的稳定性为 2.35%，最大峰面积为 16698，最小峰面积为 14610，造成这个差异的可能原因是温度的稳定性，第一次稳定性实验时加热辅气温度不稳定，在 15 度以内变化，而第二次实验时加热辅气的温度是稳定的，所以稳定性更好。另外两次进样量一样却峰面积相差很大的原因是两次实验的时仪器的灵敏度不一样。造成灵敏度不同的原因可能是因为电压不够稳定。之前伍丰色谱与禾信质谱联用时进样 7 针的峰面积稳定性为 3.01%，依利特色谱与禾信质谱联用时进样 7 针的峰面积稳定性为 4.17%，而此次实验同样的进样量的峰面积稳定性为 0.73%，优于上述两家色谱。如下表 4 所示。

表 4 各厂家色谱与禾信质谱联用稳定性对比

仪器	进样量	流速	序号	峰面积	稳定性
伍丰色谱与 禾信 API -06(L)联用	200pg	流速为 0.3ml/min	1	137840	3.01%
			2	144564	
			3	144748	
			4	139367	

			5	137431	
			6	136446	
			7	132061	
			1	180740	
			2	163562	
依利特色谱			3	183083	
与禾信		流速为	4	163951	4.17%
API-06(L)联	200pg	0.3ml/min	5	170269	
用			6	178120	
			7	173802	
			1	134448	
			2	133386	
赛默飞色谱			3	133597	
与禾信		流速为	4	135091	0.73%
API-05(L)联	200pg	0.2ml/min	5	133520	
用			6	132972	
			7	132086	

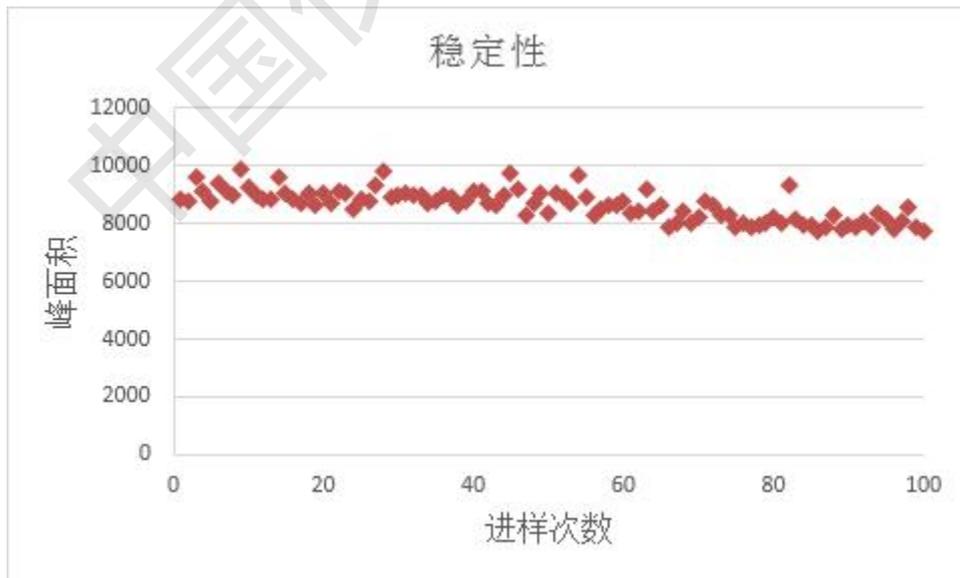


图 12 进样 100 次稳定性图

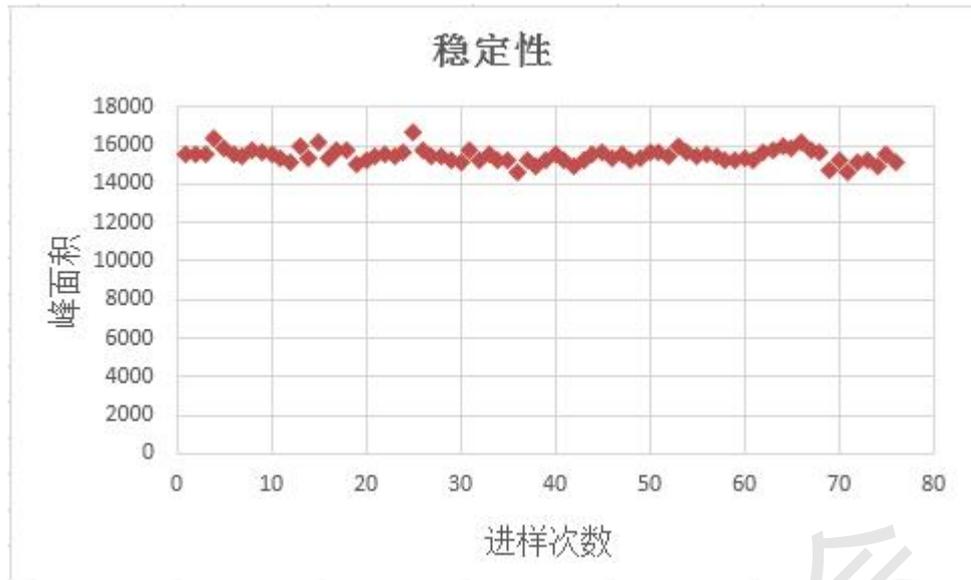


图 13 进样 75 次稳定性图

根据表 3 的数据，可得到利血平的线性范围 R^2 为 0.9873，相关性不太好，原因有以下几点：

一是从空白样品出的谱图可知，进样器有残留物，而且此处的峰并不是利血平的峰，而是质荷比为 610 的峰，质荷比为 610 的峰在实验的始末一直存在并一定程度地影响着利血平峰的结果，但是从质谱图可以看出来利血平的出峰时间和质荷比为 610 的物质的出峰时间是分开的，没有叠加在一起，所以对利血平结果影响不是特别大。

二是可从质谱图中可看出进样量 200pg 的质谱峰已经饱和了，数据不可取，如果去掉进样量 200pg 的数据，该样品的线性范围 R^2 为 0.9939。之前伍丰色谱与禾信质谱联用时样品沙蟾毒精（10ppb、20ppb、50ppb、200ppb、500ppb）每个浓度进样 2 针的峰面积线性范围 R^2 为 0.9901，依利特色谱与禾信质谱联用时样品沙蟾毒精（10ppb、20ppb、50ppb、200ppb、500ppb）每个浓度进样 2 针的峰面积线性范围 R^2 为 0.9945。后者线性相关性比此次实验的线性相关性好，但此次实验的条件还未优化到最佳，还有提升的空间。

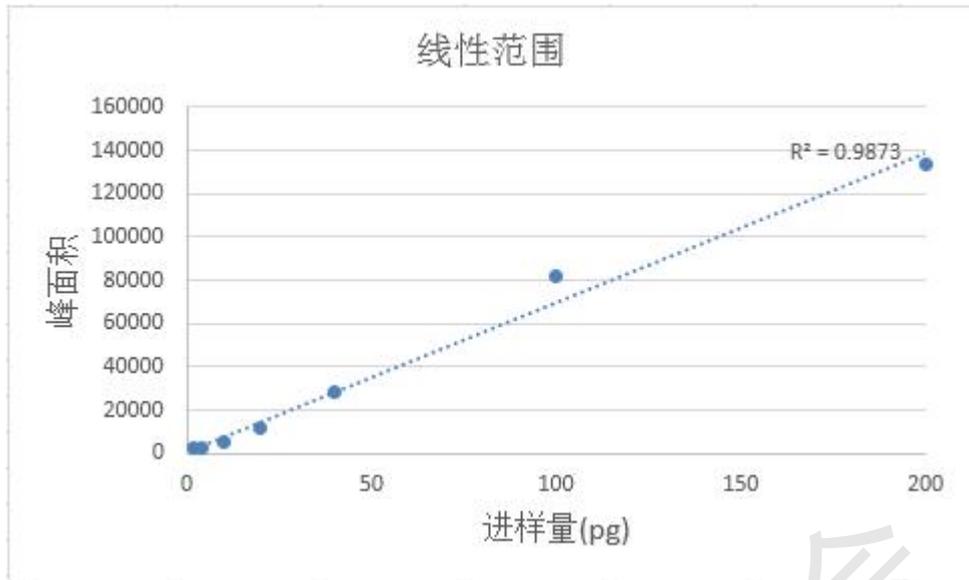


图 14 含有 200pg 的线性范围

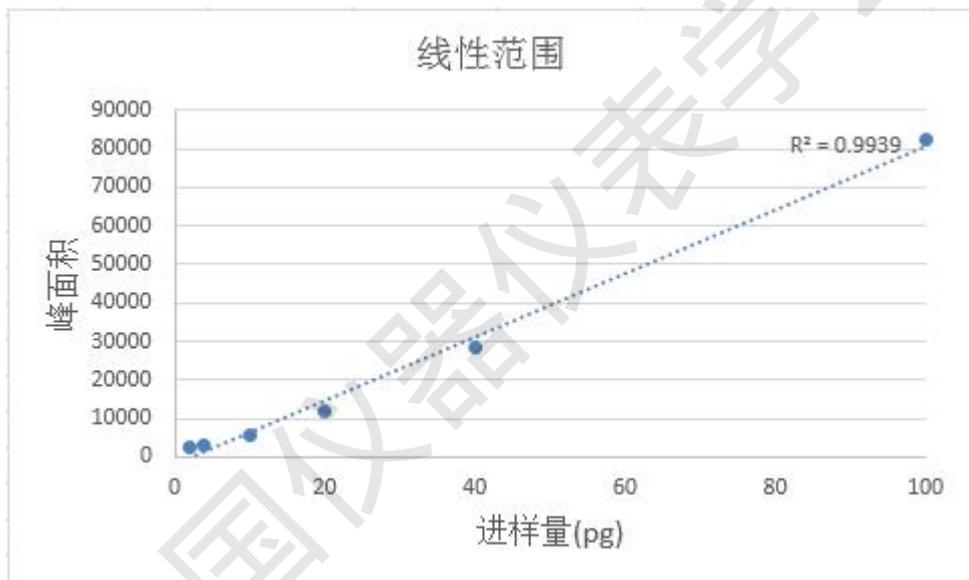


图 15 不含 200pg 的线性范围

5 实验小结

从实验结果来看，实验稳定性虽然有一些因素的影响，但是总体来说与 AB 液质联用的相关实验的稳定性（6%左右）相差不大，第二次实验的稳定性和 AB 公司对数据优化后稳定性(1%-3%)差不多，如果我们通过软件对数据做一些优化，数据会更好。对于线性范围的实验，去掉 200pg 不可信数据之后的线性范围 R^2 为 0.9939，相关性仍然不是特别好，可能的影响原因是质量飘移对信号有些影响，还需对影响质量飘移的原因进行进一步排查。目前仪器最低进样量为 2pg，最高进样量为 100pg，但是还需进一步实验确定准确最低最高进样量。综合上述实验数据，说明自行搭建的 LC-TOFMS 能达到检测要求。

6 存在的问题及后续实验

- 6.1 此实验数据为初步实验数据，后续还将继续优化实验数据。
- 6.2 对于最低最高检测限还将进一步实验确定。
- 6.3 另外还将进一步解决样品残留问题。
- 6.4 优化离子源等条件。

中国仪器仪表学会