

应用快速解吸化学电离质谱法测定 热不稳定有机化合物

姜龙飞* 游章明

(晨光化工研究院, 四川省富顺县)

对热不稳定的极性有机化合物的结构和分子量测定, 一直是有机质谱学面临的困难课题。过去, 场解吸技术是获得这类化合物分子量的主要方法。但是, 它要求复杂的设备和较高的操作技巧, 且不能给出有结构特征的碎片离子。McLafferty等^[1]首先报道了难挥发分子的解吸化学电离(Desorption chemical ionization, DCI)。后有人用聚四氟乙烯惰性表面^[2]和活化过的场解吸丝^[3]作载体, 研究了高至五肽的各种多肽及苯甲酸钠盐和钾盐。Rapp等^[4]用铯丝成功地获得了薯蓣皂苷(M_r 868)及三肽(BacProLeuGlyOMe, M_r 399)等的DCI谱。

然而, 在某些热不稳定有机化合物的质谱分析中, 传统的DCI技术受到很大限制。这类化合物的解吸温度较高, 在未达到其解吸温度前, 样品已全部分解。

为了解决这个问题, 作者发展了热不稳定有机化合物的快速解吸化学电离技术(Fast desorption chemical ionization, FDCI), 并用以研究分子量在1000左右的糖苷、多肽和硬脂酸重金属盐。它们的FDCI谱不仅有明显的质子化分子离子峰, 且有丰富的特征碎片离子, 足以对已知类型的化合物作出鉴定。

实 验

用备有化学电离源的MAT 44S型气相色谱-四极质谱联用仪。载体为自制螺旋型0.1mm铯钨丝。以微量注射器把 $1\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 样品溶液滴于灯丝上, 待溶剂蒸发后, 通过直接进样探头把载体送入化学电离室。化学电离反应气为异丁烷, 压力约 $350\mu\text{Pa}$ 。

灯丝依靠电流加热, 可用计算机控制的程序升温, 亦可在0.1秒瞬间加热至预定温度。灯丝温度未经校正, 与定标温度间有一定误差。

FDCI谱均用瞬间加热法获得。在极快的加热速度下, 样品在短时间内耗尽, 使采集数据的时间窗口非常狭窄, 因此, 必须快速扫描。鉴于样品分子量较大, 我们将有兴趣的质量范围分成若干区间, 分段扫描记录。在研究升温速度与样品量对质子化分子离子丰度的影响时, 用单离子检测法记录质子化分子离子在整个升温过程中的积分丰度。

1982年11月18日收到。

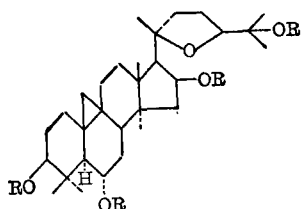
* 通讯联系人。

结 果 和 讨 论

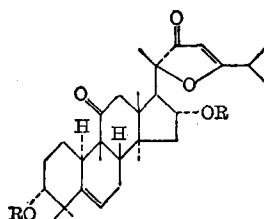
一、糖苷的 FDCI 谱

质子化分子的主要断裂方式是苷键的断裂, 伴随氢原子的转移, 产生一系列质子化分子脱糖碎片离子 $[MH-nS]^+$ (S 为糖残基) 及相应的脱水离子. 由糖苷的脱糖离子系列, 不仅可以推算出原始糖的分子量, 且可获得有关糖与糖间及糖与苷元间的连接顺序信息. 根据质子化苷元失水离子 $[\text{苷元} + H - nH_2O]^+$ 可估计苷元上原有的羟基数.

糖苷 I



糖苷 II



糖苷 I 的主要离子峰 (m/z) (源温 150°C , 丝温 210°C): $917[M+H]^+(8)^*$, $899[M+H-H_2O]^+(15)$, $898[M-H_2O]^+(18)$, $785[M+H-S_1^*]^+(18)$; $767[M+H-S_1-H_2O]^+(19)$, $749[M+H-S_1-2H_2O]^+(9)$, $731[M+H-S_1-3H_2O]^+(2.3)$, $653[M+H-2S_1]^+(11)$, $635[M+H-2S_1-H_2O]^+(31)$, $623[M+H-S_1-S_2^{***}]^+(4.4)$, $617[M+H-2S_1-2H_2O]^+(21)$, $605[M+H-S_1-S_2-H_2O]^+(100)$, $587[M+H-S_1-S_2-2H_2O]^+(8)$, $569[M+H-S_1-S_2-3H_2O]^+(2.1)$, $491[G^{****}+H]^+(2)$, $473[GH-H_2O]^+(43)$, $455[GH-2H_2O]^+(83)$, $437[GH-3H_2O]^+(69)$, $419[GH-4H_2O]^+(11)$.

糖苷 II 的主要离子峰 (m/z) (源温 200°C , 丝温 300°C): $1055[M+H]^+(35)$, $1054[M]^+(9)$, $909[M+H-S_3^{*****}]^+(20)$, $873[M+H-S_3-2H_2O]^+(5)$, $855[M+H-S_3-3H_2O]^+(7)$, $763[M+H-2S_3]^+(64)$, $745[M+H-2S_3-H_2O]^+(6)$, $727[M+H-2S_3-2H_2O]^+$, $617[M+H-3S_3]^+(7)$, $581[M+H-3S_3-2H_2O]^+(4)$, $485[G+H]^+(90)$, $467[GH-H_2O]^+(100)$, $449[GH-2H_2O]^+(12)$.

我们测定的糖苷 I 及糖苷 II 由已知苷元和糖合成, 结构不详. 它们的质子化分子离子峰 (917 和 1055) 的丰度分别为 8 和 35. 由质子化分子的脱糖离子系列和样品来源证实糖苷 I 中一个 R 为葡萄糖; 另一个 R 为与苷元相连的木糖和葡萄糖二聚体, 以葡萄糖与苷元缩合. 糖苷 II 中的一个 R 为与苷元相连的三个鼠李糖和一个木糖四聚体, 由木糖与苷元缩合.

* 括弧内数值为丰度.

** S_1 为木糖残基.

*** S_2 为葡萄糖残基.

**** G 为苷元.

***** S_3 为鼠李糖残基.

二、多肽的 FDCI 谱

在两种多肽的 FDCI 谱中, 质子化分子离子的丰度分别为 64(五肽)和 82(六肽)。主要的断裂方式是肽键断裂, 并常伴有氢原子的转移和中性分子(氨、丁烯等)的丢失, 产生一系列能表征氨基酸系列的碎片离子。

五肽的主要离子峰(m/z) (源温 150°C, 丝温 210°C): 692 $[\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{Ala Ile Asn-Asn Leu OMe}+\text{H}]^+$ (64), 675 $[\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{Ala Ile Asn Asn Leu OMe}+\text{H}-\text{NH}_3]^+$ (15), 584 $[\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{Ala Ile Asn Asn Leu OMe}+\text{H}-\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}]^+$ (17), 567 $[\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{Ala Ile Asn Asn Leu OMe}+\text{H}-(\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{OH}+\text{NH}_3)]^+$ (28), 558 $[\text{Ala Ile Asn Asn Leu OMe}+2\text{H}]^+$ (2), 373 $[\text{Asn Asn Leu OMe}+\text{H}]^+$ (5), 342 $[\text{Asn-Asn Leu OMe}+2\text{H}-\text{MeOH}]^+$ (17), 325 $[\text{Asn Asn Leu OMe}+2\text{H}-(\text{MeOH}+\text{NH}_3)]^+$ (28), 318 $[\text{Asn Asn Leu OMe}+2\text{H}-\text{C}_4\text{H}_8]^+$ (31), 243 $[\text{Asn Leu OMe}+2\text{H}-\text{NH}_3]^+$ (22), 228 $[\text{Asn Leu OMe}+2\text{H}-\text{MeOH}]^+$ (23), 146 $[\text{Leu OMe}+2\text{H}]^+$ (100)。

六肽的主要离子峰(m/z) (源温 150°C, 丝温 250°C): 995 $[\text{Boc Gly Asp (OBz) Ala-Ser (OBz) Gly Glu (OBz) OBz}+\text{H}]^+$ (82), 895 $[\text{Gly Asp (OBz) Ala Ser (OBz) Gly Glu-(OBz) OBz}+2\text{H}]^+$ (100), 878 $[\text{Gly Asp (OBz) Ala Ser (OBz) Gly Glu (OBz) OBz}+2\text{H}-\text{NH}_3]^+$ (4), 877 $[\text{Gly Asp (OBz) Ala Ser (OBz) Gly Glu (OBz) OBz}+2\text{H}-\text{H}_2\text{O}]^+$ (4), 730 $[\text{Asp (OBz) Ala Ser (OBz) Gly Glu (OBz) OBz}+2\text{H}-\text{HOBz}]^+$ (4), 633 $[\text{Ala Ser (OBz) Gly Glu (OBz) OBz}+2\text{H}]^+$ (10), 562 $[\text{Ser (OBz) Gly Glu (OBz) OBz}+2\text{H}]^+$ (3), 385 $[\text{Gly Glu (OBz) OBz}+2\text{H}]^+$ (25), 328 $[\text{Glu (OBz) OBz}+2\text{H}]^+$ (32), 327 $[\text{Glu (OBz) OBz}+\text{H}]^+$ (45)。

三、硬脂酸铅的 FDCI 谱

所用硬脂酸铅为工业塑料稳定剂, 其中混有大量棕榈酸铅。因此, 在质谱*的高质量端出现质量差 28 的三簇离子峰, 它们分别是质子化硬脂酸铅 $[m/z\ 775(96)]$ 、质子化混合硬脂酸和棕榈酸铅 $[m/z\ 747(100)]$ 和质子化棕榈酸铅 $[m/z\ 719(23)]$ 。低质量区的主要离子是质子化硬脂酸 $[m/z\ 285(81)]$ 和质子化棕榈酸 $[m/z\ 257(59)]$ 。

四、影响质子化分子丰度的因素

(1) 升温速度 样品分子在灯丝上的吸附属多层物理吸附。物理吸附力一般很弱(小于 40 kJ/mol)。然而, 在极性分子中, 由于偶极-偶极和氢键的作用, 分子间的吸引力变得很大, 以至克服分子间引力所需的能量远超过分子中断键所需的能量。当升温速度较慢时, 样品的解吸速度低于分解速度, 绝大部分样品在加热过程中分解, 因此在谱图上不会出现质子化分子离子峰。当升温速度较快时, 样品的解吸和分解过程互相竞争。升温越快, 越有利于样品的解吸。除升温速度外, 灯丝终温的选定也很重要。终温以略高于样品解吸温度为宜。过高的终温会加速样品的分解, 不利于解吸过程的竞争。因此, 对每一样品都需选择一最佳解吸温度。

根据上述设想, 我们以六肽为试样, 研究了升温速度与质子化分子丰度的关系。为保证解吸样品的分子在化学电离源中不再继续分解, 所用源温比丝温低 50~100°C。当升温速度低于 10°C/s 时, 未检测到质子化分子离子峰; 当升温速度接近 100°C/s 时, 质子化分

* 源温 150°C, 丝温 200°C。

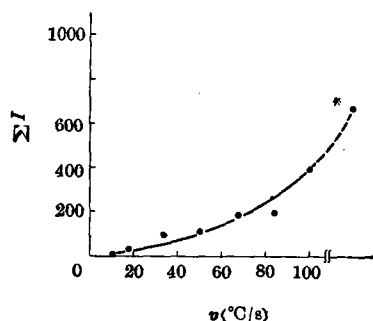


图1 不同升温速度下六肽质子化分子积分丰度的变化曲线
(Integrated abundance of protonated hexapeptide at different heating rate)
*—瞬间升温

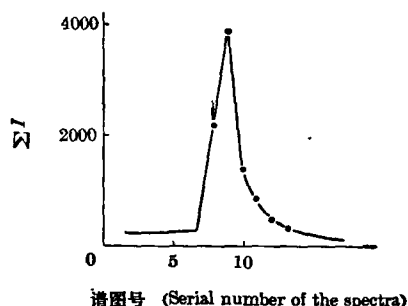
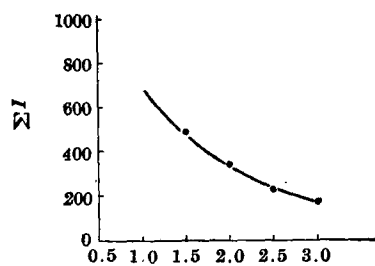


图2 瞬间升温下五肽总离子流变化曲线
(Variation of total ion current for pentapeptide at instantaneous heating)
源温 100°C, 丝温 180°C, 质量扫描范围 140~799
箭头所示为出现质子化五肽分子的谱图号

子的积分丰度(ΣI)随升温速度(v)的增加而迅速上升,并在瞬间升温时达到最大值(图1)。



样品量(Amount of the sample, γ)
图3 不同进样量下糖苷I的单位样品量所产生的质子化分子的积分丰度的变化
(Integrated intensity of protonated molecules per unit amount of sample for glycoside I varying with sample amount)

在极快的升温速度下,由于解吸和分解过程并存,得到的 FDCI 谱实际上是样品分子及其热解产物的混合谱。幸而,对于许多热不稳定的极性有机化合物而言,质子化分子的断裂机理和样品分子的热分解机理极相似,因而主要碎片离子和热解产物的质子化分子常为同一质量数。热解产物不仅不干扰谱图的解释,有时还有助于阐明分子结构。

(2) 样品量 Beuhler 等^[5]及 Cotter 等^[6]认为,当样品呈薄层时所具有的分子间力最小,因而可增强样品分子的非平衡蒸发。在我们的实验中观察到质子化分子总是出现在总离子流升温曲线的前沿(图2,箭头所示)。假定样品的解吸从表面开始,则绝大部分质子化分子由表层分子的解吸所产生。这是由于表层分子间的吸引力较小,易于解吸。

我们以糖苷 I 为试样,研究了样品量对质子化分子丰度的影响。结果表明,当样品量在 $1\mu\text{g}$ 以上时,单位样品量所产生的质子化分子的积分丰度(ΣI)随样品量的增加而急剧下降(图3)。在载体表面积一定的条件下,增大样品量只增加样品层厚度,而未增加表层分子数量;相反,由于样品层厚度增加,由丝到表层分子的热传导速度减小,相当于升温速度降低。这就使得所产生的质子化分子丰度随样品量的增加而急剧下降。

糖苷和多肽由中国科学院上海有机化学研究所甘立宪、刘寅曾、陈玲玲同志提供,特此致谢。

参 考 文 献

- [1] M. A. Baldwin, F. W. McLafferty, *Org. Mass Spectrom.* **7**, 1353 (1973).
- [2] D. I. Carroll, I. Dzidic, M. G. Horning, F. E. Montgomery, J. G. Nowlin, R. N. Stillwell, J. P. Thenot, E. C. Horning, *Anal. Chem.* **51**, 1858 (1979).
- [3] D. F. Hunt, J. Shabanowitz, F. K. Botz, D. A. Brent, *ibid.* **49**, 1160 (1977).
- [4] U. Rapp, Finnigan *MAT Report*, No. 47 (1981).
- [5] R. J. Beuhler, E. Flanigan, L. J. Greene, L. Friedman, *J. Am. Chem. Soc.* **96**, 3990 (1974).
- [6] R. J. Cotter, C. Fenselau, *Biomed. Mass Spectrom.* **6**, 287 (1979).

**APPLICATION OF FAST DESORPTION CHEMICAL IONIZATION
MASS SPECTROMETRY FOR THE DETERMINATION
OF SOME THERMOLABILE ORGANIC COMPOUNDS**

JIANG LONG-FEI* YOU ZHANG-MING

(Chenguang Institute of Chemical Industry, Fushun County, Sichuan Province)

ABSTRACT

Fast desorption chemical ionization (FDCI) technique consists of rapid heating of sample which is spread on 0.1mm rhenium-tungsten wire as a thin layer and inserted into chemical ionization box by direct sampling probe. Several glycosides, peptides and lead stearate with M_r about 1000 were investigated by this technique. The resulting FDCI spectra not only show obvious protonated molecules, but also fragments abundant enough to make reliable identification of known type of organic compounds.