

在线自动脱盐LC-MS系统分析 人参皂甙

No.LC-009

摘要：开发了新型在线自动稀释脱盐LC-MS前处理系统，该系统采用了柱切换技术，可以使用普通的液相色谱条件来进行LC-MS的分析，包括缓冲盐的使用。自动稀释系统可以提高目标化合物的捕集效率，并且可以自动进行脱盐。该系统可以完全由计算机控制，是药物和天然产物中未知样鉴定的有效系统。

关键词：LCMS 在线自动稀释脱盐 人参皂甙

HPLC自动样品前处理系统用于提高分析效率已经有许多报道，特别是MS检测器，为了避免污染，经常需要安装一个切换阀来避免污染。

在药物中不纯物分析以及天然产物中未知成分的鉴定分析中，由于磷酸盐具有广泛的pH范围以及在低波长吸收低的特点，已经在许多LC分析方法中使用。但由于磷酸盐不适宜于API离子源，LC-MS需要使用挥发性的缓冲液，因此，当使用MS取代UV检测器时，往往需要优化新的分析条件。鉴于这种情况，我们开发了新的阀切换系统（在线自动稀释脱盐LC-MS前处理系统），该系统可以在线自动进行脱盐，同时自动稀释旁路可以提高目标化合物的捕集效率。这样，使用在线自动稀释脱盐LC-MS前处理系统，我们就可以直接将HPLC的分析条件应用到LC-MS中，对目标化合物进行MS分析了。由于HPLC磷酸盐分析条件可以直接用于LC-MS，因此，对于未知物的鉴定来说，该系统是非常有用的系统。本文讨论了提高捕集效率的在线稀释系统，并且进行了人参提取物中未知物的实际分析。

■ HPLC装置

在线自动稀释脱盐LC-MS前处理系统包括脱气机DGU20A5、泵LC-20AD(3台)、LC-20AB(1台)、自动进样器SIL-20C、高压混合器、柱温箱CTO-20AC、流路切换阀FCV-12AH(2个)、紫外检测器SPD-20AV、LC-MS2010EV。

■ 流程图

流程图如图1所示，先采用HPLC对未知样进行分析，对感兴趣的目标峰，可以通过左阀的切换将其引入后面的系统，经过富集及脱盐后，右阀切换，将捕集柱中的样品引入MS检测器进行检测。

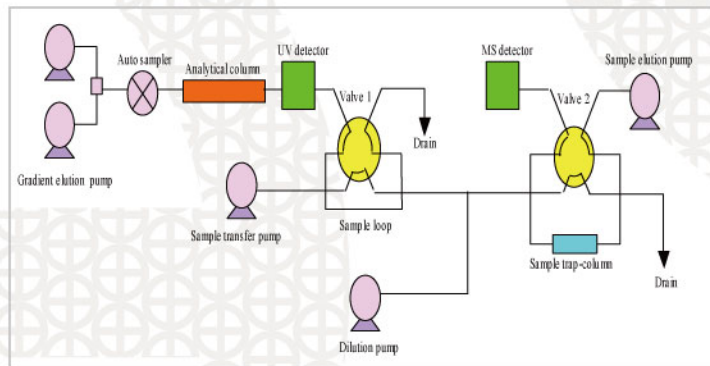


图 1 系统流路图

分析条件

分离条件

分析柱流速: 1 mL/min

流动相: A 20mM 磷酸缓冲盐(pH=2.6)

B 乙腈

梯度:

Time	B.Conc
0	30
18.00	40
18.01	90
23.00	90
23.01	30
28.00	30

进样体积: 10 μ L

柱: Shim-pack VP-ODS (150 mmL x 4.6 mmid)

柱温: 40 $^{\circ}$ C

检测波长: UV-200 nm

池温: 40 $^{\circ}$ C

捕集效率

样品体积对柱效的影响如图2所示。标样溶液分别由水, 甲醇配制。咖啡因的绝对量均为100 μ g。当使用强洗脱的溶剂时(如甲醇), 随着进样体积的增加, 柱效显著降低。另外, 当使用弱洗脱溶剂时(如水), 随着进样体积的增加, 柱效没有明显降低。因此, 为了提高捕集效率, 选择弱洗脱的纯水作为洗脱溶剂。稀释泵用纯水稀释样品环中捕集样品, 稀释倍率为10, 即使样品环中的溶剂为纯甲醇, 在样品移动过程中, 溶剂纯甲醇将被稀释为10%的甲醇, 这样可以提高捕集效率。

脱盐效率

对 LCMS入口管流出的溶液进行了收集并分析了离子的残留量, 各离子的残留浓度见表1。使用50mM磷酸盐缓冲液 (pH=2.5) (等于5000mg/L磷酸根离子)为流动相, 结果在流出液中检测到了2.064mg/L磷酸根离子, 除盐效率为99.95%。

样品捕集条件

样品环体积: 250 μ L

引入液: 0.1 % 乙酸水溶液

稀释液: 0.1 % 乙酸水溶液

引入泵流速: 0.3 mL/min

稀释泵流速: 2.7 mL/min

MS 检测器

样品洗提流速: 0.2 mL/min

样品洗提溶剂: 含有0.1 % 乙酸的乙腈溶液

MS柱: Shim-pack VP-ODS

(150 mmL x 2.0 mmid)

MS 检测器: Electrospray

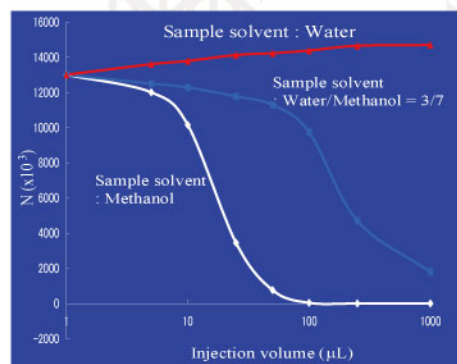


图2 进样体积对柱效的影响

表1 各种离子残留浓度

Ion	Peak Area	Concentration(mg/mL)
F-	—	未检出
Cl-	77313	0.258
NO ₂ -	—	未检出
Br-	—	未检出
NO ₃ -	59784	0.404
PO ₄ 3-	140927	2.064
SO ₄ 2-	52801	0.197

人参皂甙分析结果

按照上述分析条件，对人参提取液进行了分析，色谱图见图3，人参皂甙Re、Rg1和Rb1的MS分析结果见图4、图5和图6。

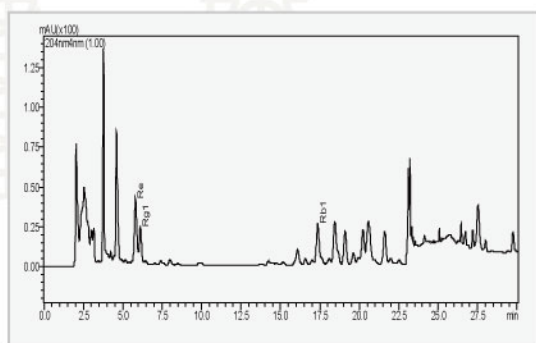


图3 人参提取液色谱图

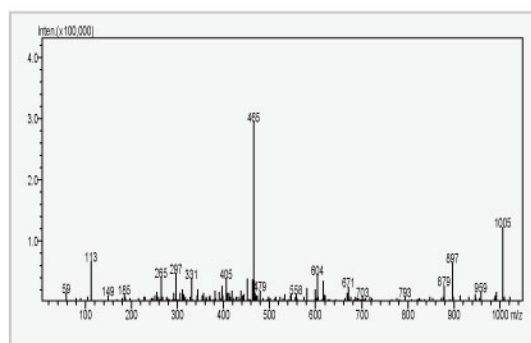


图4 Re [M+AcO]-

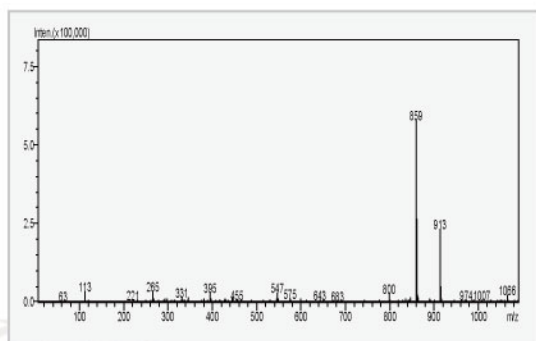


图5 Rg1 [M+AcO]-

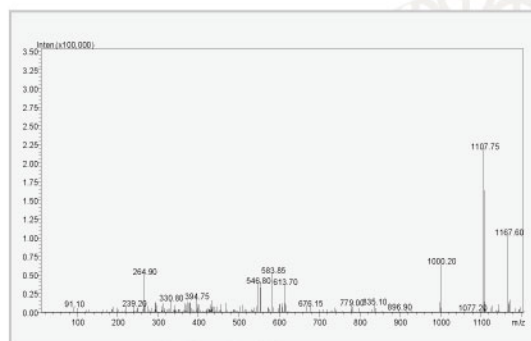


图6 Rb1 [M-H]-

结论

新的柱切换并具有稀释功能的在线前处理LCMS系统不仅可以直接使用常规的HPLC条件，而且还可以选择最适合于目标化合物离子化的LCMS流动相条件。因此，该系统是药物和天然产物中未知样鉴定的有效系统。