

微生物聚酯的红外激光解吸离子化质谱分析

盛龙生 Joel P. Covey¹ Joseph E. Campana¹(中国药科大学分析计算中心, 南京 210009; ¹Finnigan FT/MS, 6416 Schroeder Road, Madison, WI 53711-2424, USA)

摘要 用激光解吸离子化傅里叶变换质谱法(LDI/FTMS)分析了微生物聚酯, 即聚羟基丁酸酯和聚羟基链烷酸酯。用二氧化碳激光器(10.6 μm)使样品裂解和离子化。所得质谱由一系列聚合物碎片离子所组成, m/z 延续至 3000 以上。同时, 用 MS/MS 技术确证了样品的结构。

关键词 微生物聚酯; 聚羟基丁酸酯; 聚羟基链烷酸酯; LDI/FTMS; MS/MS

由微生物产生的聚酯, 如聚羟基丁酸酯(polyhydroxybutyrate, PHB)和聚羟基链烷酸酯(polyhydroxyalkanoate, PHA), 是一类可生物降解的“塑料”, 在医药卫生、化学工业和环境保护等方面有重要意义。分析不同类型的羧基脂肪酸聚合物是一个比较困难的分析课题。Boon^[1]用源内裂解质谱法(in-source pyrolysis mass spectrometry), 在氨化学离子化条件下, 得到了这些聚酯的质谱, 信号延伸至 m/z 2000。在他的合作下, 我们用红外激光直接解吸离子化傅里叶变换质谱法^[2], 所得质谱 m/z 达 3000 以上, 并用 MS/MS 技术确证了这些化合物的结构。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

Finnigan FT/MS 2001 型质谱仪, 配有 TEA CO₂ 激光器(10.6 μm); 超导磁体, 磁通量 3 Tesla; 双池结构, 每一立方池的尺寸为 4.76 cm³, 分析池真空度 10^{-7} Pa, 源池真空度 10^{-6} Pa; Odyssey 工作站。

聚羟基丁酸酯和聚羟基链烷酸酯样品由 Jaap J. Boon 教授(FOM Institute for Atomic and Molecular Physics, Krnlslaan 407, 1098 SJ Amsterdam, Netherlands)提供。聚羟基链烷酸

酯由辛酸经 *Pseudomonas oleovorans* 菌作用产生。细菌氧化烷烃成 β -羟基脂肪酸并使之聚合成聚酯。这些样品的平均分子量约 20 万。

1.2 样品制备

取上述样品 1 mg, 溶解于氯仿 1 ml 中。取溶液 10 μl , 加于不锈钢样品靶上, 于水平台面上, 在室温下使溶剂挥去。另取溴化钾饱和的甲醇溶液 10 μl , 均匀加在已干燥的样品表面, 在室温下使甲醇挥发, 在样品表面生成溴化钾薄层。

1.3 质谱测定

将制备好的样品靶装在仪器的自动进样杆顶端, 送入质谱仪, 俟源池真空度达到 10^{-6} Pa 即可进行实验。

质谱数据的采集由清洗(quench)脉冲开始, 以除去池中残存的离子, 本实验的数据均在源池中采集; 此脉冲结束后为激光触发脉冲; 在激光触发后, 为 3 秒的延迟时间, 激光轰击样品时, 仪器压力瞬时上升, 3 秒的延迟可使仪器源池的真空度恢复到 10^{-6} Pa, 同时, 也使激光产生的离子在源池中得以冷却; 离子的激发采用宽带扫描脉冲, 带宽 2.6 MHz, 扫描速率 1000 Hz/ μs ; 质谱的采集用 64 K 数据点; 本实验的质谱均由一次激光轰击所得, 未进行数据累加。

收稿日期 1996-08 28

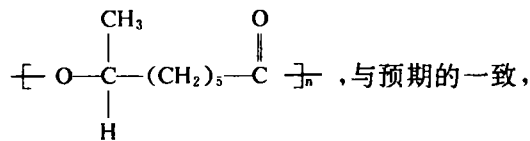
1.4 MS/MS 分析

MS/MS 分析采用贮存波形逆傅里叶变换(stored-waveform inverse Fourier transform, SWIFT)技术^[3]分离母离子,然后以氩为碰撞气使之经受碰撞诱导解离(collision induced dissociation, CID)。CID 在源池中进行,由脉冲阀导入氩气,使源池压力为 10^{-5} Pa。离子的激发和 MS/MS 谱的采集与上述 1.3 节中的相同。

2 结果与讨论

1) PHA 的 LDI/FTMS 谱如图 1 所示。激

光使样品裂解,产生一系列的碎片离子。图 1 的下半部为横座表放大后的部分显示。每一组峰和相邻的一组峰之间的差距为 m/z 142,说明重复单元为 $C_8H_{14}O_2$,即



从而证明了样品的基本结构。由于样品制备时加了溴化钾,这些碎片离子为 K^+ 加合物。

2) 在每一组质谱峰内,质量最高的峰为由 C_8 羟基脂肪酸组成的聚合物形成的,另有

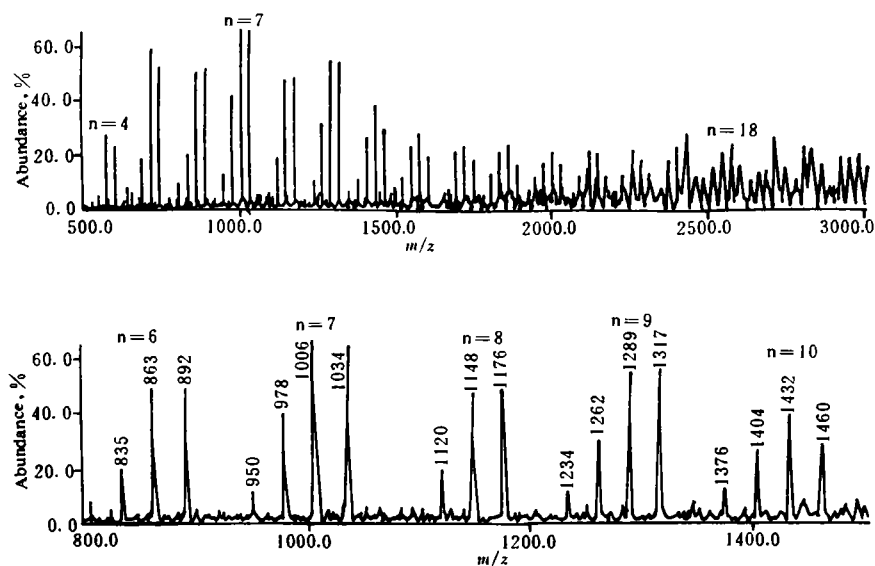


Fig 1. LDI/FTMS of PHA

三个质量较低的峰,各质谱峰相差 28 Dalton,说明分别有 1,2 和 3 个 C_6 羟基脂肪酸混入聚合物内,即该样品为 C_8 和 C_6 羟基脂肪酸的共聚物。这个结果亦与 Boon 教授提供的资料一致,证明 *Pseudomonas oleovorans* 菌会将 C_8 羟基脂肪酸部分切短成 C_6 羟基脂肪酸并形成共聚物。

3) 为了进一步证明上述结果,用 SWIFT 技术将 m/z 863 的离子分离出来。该离子相当于 5 个 C_8 和 1 个 C_6 羟基脂肪酸聚合的片

断。然后与氩碰撞使之产生子离子。 m/z 863 离子的 MS/MS 谱为图 2 所示。说明这一片断有四种可能的羟基脂肪酸裂解顺序。如图中标明的,这四种裂解顺序为 C_8, C_8, C_8 ; C_8, C_8, C_6 ; C_8, C_6, C_8 ; C_6, C_8, C_8 ,这取决于那个羟基酸处于末端。而且,说明 C_6 和 C_8 羟基酸的排列是随机的。

4) 在同样条件下,PHB 的 LDI/FTMS 谱由一系列钾离子加合的聚合物碎片组成。各质谱峰间相隔 86 Dalton,证明重复单元为

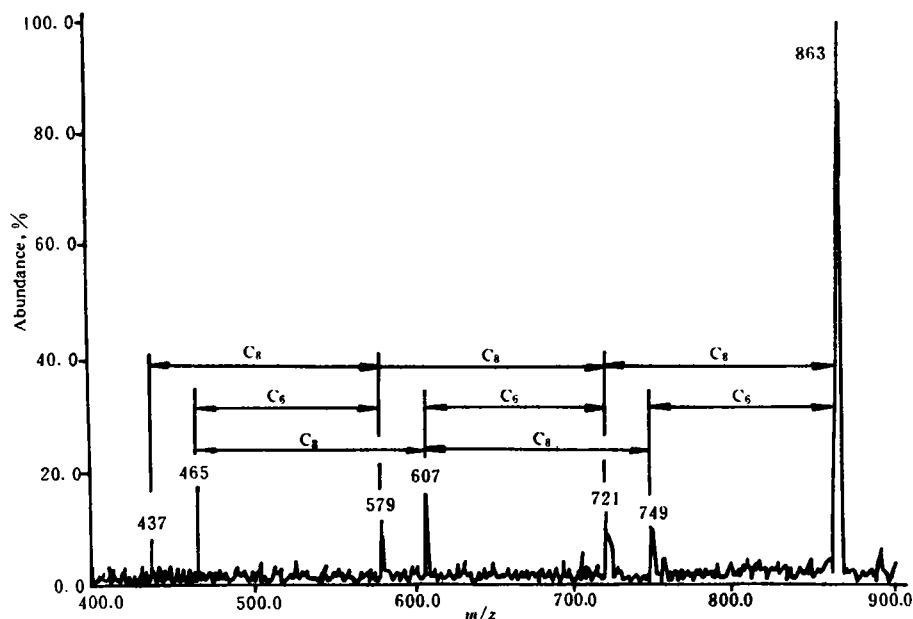
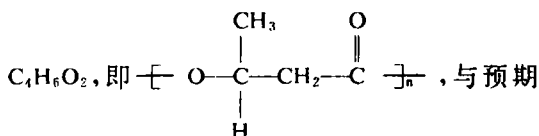


Fig 2. MS/MS of PHA, $n=6$ (m/z 863) species



的一致。用 SWIFT 技术分离 m/z 555 的离子 (六倍体), 经以氩为碰撞气的 CID, 其 MS/MS 谱显示顺序丢失 C_4 羟基脂肪酸片断。

5) 用红外激光器使高分子化合物裂解所得到的质谱提供了聚合物, 包括共聚物的结构信息, FTMS 的多级质谱功能 (MS/MS) 又提供多维结构信息, 这种方法简便、快速, 扩展了常规质谱法的应用范围。

致谢 Jaap J. Boon 教授提供样品及有关数据和资料。

参考文献

- 1 Boon JJ. Analytical pyrolysis mass spectrometry; new vistas opened by temperature-resolved in-source PYMS. *Int J Mass Spectrom Ion Processes*, 1992, 118/119:755
- 2 姜春刚, 盛龙生, 安登魁. 激光解吸/傅里叶变换质谱法研究聚醚的平均分子量和分布. *高分子学报*, 1990, 6: 747
- 3 Marshall AG, Wang TCL, Ricca TL. Tailored excitation for Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *J Am Chem Soc*, 1985, 107(26):7893

IR LDI/MS Analysis of Microbial Polyester

Sheng Longsheng, Joel P. Covey¹ and Joseph E. Campana¹

Analytical Center, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ¹Finnigan FT/MS, 6416 Schroeder Road, Madison, WI 53711-2424, USA

Abstract The microbial polyesters, polyhydroxybutyrate and polyhydroxyalkanoate, were analyzed by using laser desorption ionization/Fourier transform mass spectrometry. A CO_2 laser (10.6 μm) was used to ablate and ionize the samples. The mass spectra showed a series of polymer fragments extending to m/z 3000. MS/MS techniques were used to confirm the structures of the samples.

Key words Microbial polyesters; Polyhydroxybutyrate; Polyhydroxyalkanoate; LDI/FTMS; MS/MS