

超临界流体色谱-质谱联用技术及其应用研究进展

葛运程^{1,2}, 尚宇瀚¹, 尹磊^{*2}, 马强^{*1}

(1. 中国检验检疫科学研究院, 北京 100176; 2. 大连理工大学 化工海洋与生命学院, 辽宁 盘锦 124221)

摘要:超临界流体色谱技术因其快速高效的分离方法和绿色环保的分析方法而闻名。由于现代仪器的发展, 人们对超临界流体色谱的兴趣显著提升。通过超临界流体色谱分离与质谱检测相结合, 使其短时间内实现高选择性、高灵敏度地分析复杂样品中的痕量化合物。超临界流体色谱-质谱联用技术应用报道数量不断增加, 并且其应用领域正在迅速扩大。重点关注了近十年来超临界流体色谱-质谱联用技术在食品科学、环境、药学以及医学领域的相关研究, 并分析其未来发展潜力。

关键词:超临界流体色谱-质谱; 技术原理; 系统结构; 应用进展; 分析

中图分类号: O657.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0258-3283 (2024) 07-0020-09

DOI: 10.13822/j.cnki.hxsj.2023.0654

Research Progress on Supercritical Fluid Chromatography-Mass Spectrometry and Its Applications GE Yun-cheng^{1,2}, SHANG Yu-han¹, YIN Lei^{*2}, MA Qiang^{*1} (1. Chinese Academy of Inspection and Quarantine, Beijing 100176, China; 2. School of Chemical Engineering, Ocean and Life Sciences, Dalian University of Technology, Panjin 124221, China)

Abstract: Supercritical fluid chromatography (SFC) is renowned for its high-speed and efficient separations, as well as its environmentally-friendly analytical methods. The advancement of modern instrumentation has reignited interest in SFC. The combination of separation by supercritical fluid chromatography and detection by mass spectrometry enables the analysis of trace compounds in complex samples with high selectivity and sensitivity in a short period of time. The applications of supercritical fluid chromatography-mass spectrometry (SFC-MS) are on the rise and its employment across various fields is rapidly expanding. The article delved into SFC-MS research over the past decade, with a particular focus on fields such as food science, environmental studies, pharmacology, and medicine, and analyzed its potential for future development.

Key words: supercritical fluid chromatography-mass spectrometry; technical principles; system structure; research progress; analysis

超临界流体色谱 (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) 是一种使用以超临界流体作为低粘度流动相的色谱技术^[1]。超临界或亚临界状态 CO₂ 是 SFC 技术中最常用的超临界流体, 而有机溶剂则通常作为改性剂或共溶剂与超临界 CO₂ 混合, 以增加分析物的溶解度并改变流动相的洗脱强度。通过调节超临界流体与改性剂 (通常是甲醇) 的混合比例, 可确保化合物从低极性到高极性的完全洗脱。因为具有环境友好、运行成本低以及适用场景广泛等特性, SFC 受欢迎程度日益增加。

由于超临界/亚临界流体的独特性质, SFC 较之气相色谱 (Gas Chromatography, GC) 和液相色谱 (Liquid Chromatography, LC) 具有独特优势。与 LC 相比, SFC 的流动相具有更低的粘度和更高的扩散系数, 因此具有更高的色谱动力学性能^[2]; 检测过程中有机溶剂用量较少, 且在制备中去除有机溶剂较为容易。此外, SFC 在手性分离方面也有突出表现。与 GC 相比, SFC 可以选择更广

泛的操作条件并有效分离热不稳定化合物^[3]。

通过色谱分离, 检测物进入检测器进行分析。目前 SFC 较为常用的检测器为二极管阵列检测器 (Diode Array Detector, DAD)、蒸发光散射检测器 (Evaporative Light-scattering Detector, ELSD) 和质谱 (Mass Spectrometry, MS)。其中, MS 是一种高度通用的分析技术, 由于其高灵敏度和特异性, 在分析复杂混合物和生物样品时比光学检测具有

收稿日期: 2023-10-14; 网络首发日期: 2024-01-16

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划项目 (2021MK163)。

作者简介: 葛运程 (1999-), 男, 山东烟台人, 硕士生, 主要研究方向为高分子聚合物及药物辅料的精准分析及药代动力学研究。

通讯作者: 尹磊, E-mail: leiying@dlut.edu.cn; 马强, E-mail: maqiang@caiq.org.cn。

引用本文: 葛运程, 尚宇瀚, 尹磊, 等. 超临界流体色谱-质谱联用技术及其应用研究进展 [J]. 化学试剂, 2024, 46(7): 20-28。

显著的优势^[4,5]。通过离子源采用不同的电离方法使质谱能够分析具有不同理化性质的多种分子类别。MS 仪器具有多样性(单四极杆和三重四极杆、飞行时间质谱、轨道离子阱等),可以进行极高灵敏度的定性定量分析。近年来,随着 SFC 仪器相关方面的进一步发展,对 MS 接口设计的不断优化使得 SFC-MS 的应用范围更加广泛^[6]。

在此,本文对现行的 SFC-MS 联用技术进行了详细描述。关注了近十年 SFC 和 MS 联用的相关进展,涵盖食品科学、环境、药学以及医学领域。

1 SFC-MS 联用技术

SFC 的分离原理与 LC 非常类似,超临界流体液相色谱仪在各方面也类似于常规液相色谱系统(图 1)。区别在于,SFC 在检测过程中需要使流动相保持在超临界或亚临界状态。为此,SFC 系统在 LC 的基础上增加了背压调节器(Back Pressure Regulator, BPR),用于将系统压力维持在设定值以上。通过替换兼容可压缩溶剂的组件,SFC 得以充分利用超临界流体流动相的独特溶解性能,同时兼具现代超高效液相色谱的分离能力优势。

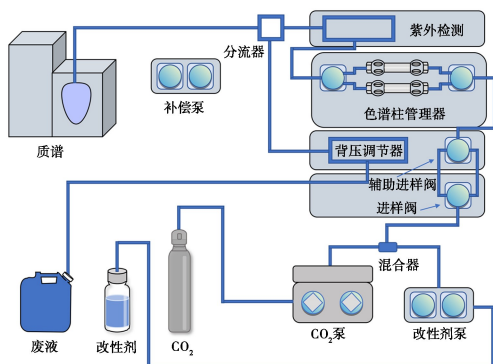


图 1 超临界流体液相色谱串联质谱系统组件和流路

Fig.1 System components and flow path of supercritical fluid chromatography-tandem mass spectrometry

通常情况下,SFC 被视为一种适合于分析疏水性或低极性化合物的正相色谱。然而,通过加入极性有机改性剂和添加剂,可以增加流动相极性,使 SFC 也可以用于洗脱极性化合物。极性的大小影响物质在色谱柱上的保留时间,通过固定相与流动相极性的改变,可以将检测物从复杂基质中有效分离出来(图 2)。

由于 SFC 流动相中的大部分超临界流体在 BPR 出口处挥发,只有少量作为改性剂的有机溶剂进入 MS。因此,SFC-MS 的脱溶剂与离子化效率理论上比 LC-MS 更好。然而,在实际分析过

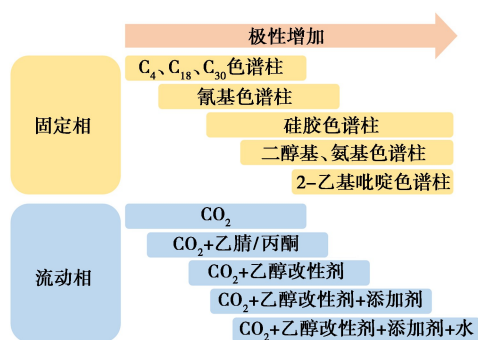
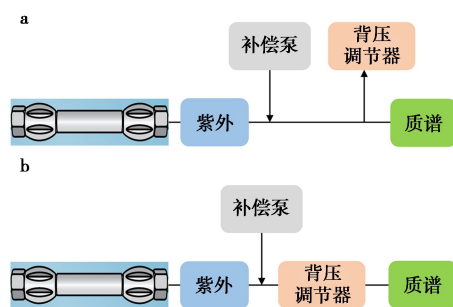


图 2 部分溶质与其匹配的特定流动相与固定相情况

Fig.2 An overview of the specific mobile and stationary phases matched to some solutes

程中,由于超临界流体挥发改变了流动相组成,可能会导致分析物沉淀析出和峰形变宽,从而降低了色谱分离性能。为了解决这一问题,需要专门设计串联 SFC 与 MS 的接口,一方面在色谱柱或 UV 检测器与 BPR 之间引入补偿液,另一方面对来自 SFC 系统的流量进行分流。目前,主流的接口设计方案有以下两类:(1)使用带鞘泵的 BPR 前分流器;(2)使用无分流器的 BPR 和鞘泵。在方案(1)中,引入补偿液后,在 MS 之前对总流量进行分流,其中大部分进入 BPR,小部分进入 MS(图 3a)。通过主动调节 BPR 压力,可以优化进入电喷雾电离源(Electrospray Ionization, ESI)的流动相流速和组成,从而获得出色的灵敏度。在方案(2)中,引入补偿液后的总流量不经过分流全部进入 MS 中(图 3b)。这种方案目前很少见于实际应用,因此其优缺点尚未得到充分论证。



a.带鞘泵的 BPR 前分流器;b.无分流器的 BPR 和鞘泵

图 3 常用的 SFC-MS 接口示意图

Fig.3 Schematics of the commonly used SFC-MS interfaces

在大多数情况下,经过 SFC 分离的物质通过软电离技术转化为气相带电粒子供质谱仪检测,这些技术包括 ESI、大气压化学电离(Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI)、大气压光电离(Atmospheric Pressure Photoionization Ionization,

APPI)等。一般来说,SFC-MS 分析电离源的选择取决于所需分析物的电离性质,以及分析方法对检测限和灵敏度的要求,而 SFC 仪器本身对选择的限制很小或没有限制。Parr 等^[7]通过内源性类固醇的分析,对 ESI、APPI 和 APCI 模式进行了评估和比较。考虑到定量和灵敏度的限制,ESI 被证明是分析大范围分析物的最佳选择,但 APPI 和 APCI 提供了比 ESI 更好的线性动态范围。在另一项研究中,Wolrab 等^[8]比较了氨基酸分别使用 ESI 和 APCI 在正负两种电离模式下的电离效率。结果表明,ESI 对含有疏水残基的氨基酸具有更好的敏感性,而 APCI 更适合于具有酸性官能团或杂原子的极性氨基酸。

SFC-MS 最常用的质量分析器是三重四极杆(QqQ)和四极杆-飞行时间(Q-TOF)。其中,QqQ 的普适性最好,广泛应用于复杂基质中的痕量分析,具有灵敏度高、重复性好等特点。Q-TOF 具有较宽的质量分辨率范围,其在低分辨模式下可以替代 QqQ 用于常规检测工作;而在高分辨模式下可以通过精确质量数实现对分析物的定性以及对

m/z 近似离子的区分。此外,由于 TOF 的质量轴几乎不存在上限,能够很好的检测 ESI 产生大分子离子或多电荷离子。

2 SFC-MS 应用

2.1 食品科学领域

食品对人们的健康起着重要的作用。因此,无论是从科学还是从社会的角度来看,食品分析都是一个非常重要的领域^[9]。食品分析是一项具有挑战性的任务,其样品基质种类繁多,待测化合物在物化性质和浓度水平上可能不尽相同。此外,干扰化合物经常存在,有时目标化合物存在于低浓度水平,这使得高灵敏度和选择性的分析方法成为食品分析领域的刚性需求^[10]。SFC-MS 可以提高在分析复杂样品中痕量化合物时的高选择性、灵敏度,并缩短分析时间,这有助于其在食品分析领域的更多应用^[11]。此外,SFC-MS 还应用于检测其他食品污染物,如激素、芳香胺等。表 1 总结了 SFC-MS 在食品相关领域中的部分应用。

橙皮、石榴籽是生物活性化合物的潜在来源。

表 1 SFC-MS 在食品科学中的应用^注

Tab.1 SFC-MS applications in food science

分析物	数量/ 个	色谱柱	改性剂	洗脱时 间/min	LOQ	参考 文献
脂肪酸等	59	Torus DEA(3.0 mm×150 mm,1.7 μm)	甲醇/甲酸(100:0.2)	17	—	[12]
类胡萝卜素	42	Ascentis Express C ₃₀ (4.6 mm×150 mm,2.7 μm)	甲醇	16	—	[13]
游离脂肪酸	8	UPC ² HSS C ₁₈ SB(3.0 mm×100 mm,1.8 μm)	甲醇/乙腈/甲酸(50:50:0.1)	3	0.3~0.5 μg/mL	[14]
农药残留	162	Shimpack UC-X RP(2.1 mm×250 mm,3.0 μm)	甲醇+0.001 mol/L 甲酸铵	18	50~200 μg/kg	[15]
农药残留	164	Shimpack UC-X RP(2.0 mm×150 mm,3.0 μm)	甲醇+0.001 mol/L 甲酸铵	7	5~20 μg/kg	[16]
农药残留	17	Inertsil ODS-EP(4.6 mm×250 mm,5.0 μm)	甲醇/甲酸铵(100:0.1)	11	0.003~15.518 μg/L	[17]
杂环芳香胺	14	Torus DEA(3.0 mm×100 mm,1.7 μm)	甲醇/甲酸/水(100:0.1:2.5)+ 3 mmol/L 甲酸铵	8.1	0.03~0.17 μg/kg	[18]
糖皮质激素	31	Torus 2-picolylamine(3.0 mm×100 mm,1.7 μm)	甲醇/甲酸(100:0.1)	18	0.3~1.5 μg/kg	[19]
游离氨基酸	16	CHIRALPAK® ZWIX(+/-)(3.0 mm×150 mm, 3.0 μm)	甲醇/水(100:7)+0.07 mol/L 甲酸铵	25	—	[20]

注:改性剂各组份比例如无特殊说明均为体积比;“—”代表相关文献未提供定量结果。

Li 等^[12]通过超高效超临界流体色谱-电喷雾电离-四极杆飞行时间质谱分析(UHPSFC-ESI-QT-OF-MS),结合 UNIFI 化学信息学平台,在 17 min 内初步鉴定出石榴籽粉末中 59 个化合物。Murador 等^[13]采用超临界流体萃取(SFE)富集非皂化橙皮中类胡萝卜素类化合物,并使用超临界流体色谱-大气压化学电离-三重四极杆质谱(SFC-APCI-QqQ/MS)进行分析,于 16 min 内鉴定了 19 个类胡萝卜素、8 个阿朴酯、9 个游离类胡萝卜素和 6 个类胡萝卜素酯。Qu 等^[14]则使用 SFC-

MS,在 3 min 内分离了 8 个游离脂肪酸,并结合主成分分析(Principal Component Analysis,PCA),实现了对不同类型食用油的分类,在油品质量评价与真伪鉴别方面展现出应用潜力。

农药的使用提高了农产品的生产率,保证了食品供应的稳定性,但会导致潜在的食品污染,可能对人类健康造成不利影响。农药残留分析涉及多种极性、分子结构或物理特性各不相同的化合物。Cutillas 等^[15,16]通过改进 QuEChERS(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)方法,对辣椒、

黑胡椒、番茄和橙子等产品中 160 种以上目标农药的残留进行检测分析。Ishibashi 等^[17]将 Inertsil ODS-EP 色谱柱与超临界 CO₂ 流动相结合,在 11 min 内定量分析了 17 种极性差异较大(log*P* = -4.6~7.05)且分子量分布较宽(112.1~888.6 Da)的农药残留物。此外,Zhang 等^[18]和 Yang 等^[19]分别使用 SFC-MS 对肉制品中的杂环芳香胺与健康食品中糖皮质激素进行精准分析以及风险评估。而 Raimbault 等^[20]则使用 Chiralpak ZWIX 手性固定相实现了对 16 种天然氨基酸的分离和对映体拆分。

2.2 环境科学领域

当前,出现在环境中的大量药物引起了人们

极大的关注,包括一些药品和个人护理产品、非法药物、杀虫剂等。这些有机化合物的残留物、微生物降解产生的代谢物和非生物过程产生的其他副产品容易在水环境和其他环境(如土壤、空气)中持续存在,不及时监管则会导致饮用水、植物和食物链污染,进而危害人体健康^[21]。SFC 是一种通用的替代分析方法,允许分离无法用 GC 分析的不耐热、不挥发的化合物,而 LC 中使用的大多数固定相也可以应用于 SFC。SFC-MS 技术在环境检测中的应用日益增多。SFC-MS 还应用于从环境基质进行手性监测、生物降解研究以及法医取证等。表 2 总结了 SFC-MS 在环境相关领域中的部分应用。

表 2 SFC-MS 在环境科学中的应用^注

Tab.2 SFC-MS applications in environmental science

分析物	数量/ 个	色谱柱	改性剂	洗脱时 间/min	LOQ	参考 文献
苯霜灵对映体	2	Trefoil CEL1(3.0 mm×150 mm,2.5 μm)	乙醇	5	1.25~2.15 μg/kg	[22]
丁氟螨酯对映体	2	Trefoil AMY 1(2.1 mm×150 mm,2.5 μm)	异丙醇	5	9.45~15.79 μg/kg	[23]
多环芳烃	16	COSMOSIL Cholester(4.6 mm×250 mm, 5.0 μm)	乙腈	32	5~15 ng/g	[24]
火箭燃料污染物	3	BEH 2-EP(3.0 mm×150 mm,1.7 μm)	甲醇	1.5	1~10 μg/L	[25]
有机污染物	50	Torus Diol(3.0 mm×100 mm,1.7 μm)	甲醇+0.005 mol/L 甲酸铵	28	—	[26]
消毒副产物	15	BEH(3.0 mm×100 mm,1.7 μm)	甲醇/水(95:5)+ 0.01 mol/L 甲酸铵	15	20~40 ng/L	[27]
全氟和多氟烷基物质	19	Torus Diol(3.0 mm×150 mm,1.7 μm)	甲醇/氨水(100:0.1)	8	0.2~0.5 ng/mL	[28]
三聚氰胺等	11	BEH(3.0 mm×100 mm,1.7 μm)	甲醇/氨水/水(95:0.2:5)	15.5	1~80 ng/L	[29]
持久/高迁移性有机 化合物	17	BEH(3.0 mm×100 mm,1.7 μm) Torus Diol(3.0 mm×100 mm,1.7 μm)	甲醇/氨水/水(100:0.1:3)	10	0.05~5 ng/mL	[30]
卤代芳香物质	8	Torus 1-AA(3.0 mm×100 mm,1.7 μm)	甲醇	20	—	[31]

注:改性剂各组分比例如无特殊说明均为体积比;“—”代表相关文献未提供定量结果。

实践表明,关于药物污染及其代谢物和包括生物群在内的环境基质中的降解产物的信息,对于确定环境质量和评估人类和动物健康风险具有非常重要的意义。Yang 等^[22]采用传统 QuEChERS 技术结合超临界流体色谱-串联质谱(SFC-MS/MS)在 5 min 内鉴定出烟草和土壤中的苯霜灵对映体。Liu 等^[23]对丁氟螨酯立体异构体在土壤中的药代动力学消散进行研究,测定丁氟螨酯异构体的半衰期为 12.2~13.6 d。Wicker 等^[24]建立了在线超临界流体萃取(Supercritical Fluid Extraction,SFE)结合 SFC-MS/MS 测定土壤中多环芳烃的方法,通过将在线样品提取与层析和检测相结合,实现了对不同类型土壤中 16 种多环芳烃定量分析。Ovchinnikov 等^[25]通过乙基吡啶固定相成功在 1.5 min 内快速检测出被污染的泥炭

和沙质土壤中火箭燃料偏二甲肼及其氧化产物含量水平。Lübeck 等^[26]定量分析了丹麦哥本哈根 17 个淡水沉积物样品中的有机污染物,具有对固体基质中有机污染物进行目标和非目标筛选分析的潜力。

水环境中的药物监测在环境分析中尤为重要。Nihemaiti 等^[27]对消毒饮用水和游泳池中的消毒副产物(DBPs)定性定量分析,结果显示,泳池水中部分 DBPs 含量远高于消毒饮用水。Yeung 等^[28]通过 Torus Diol 色谱柱同时测定雨水和河水中超短链 C₂ 和 C₃ 等 19 种全氟烷基和多氟烷基化合物(图 4)。Tisler 等^[29]使用 SFC 与高分辨质谱结合对来自 8 个污水处理厂的 25 个废水样本水中的微污染物进行了靶向和非靶向筛查。与传统 LC-MS 方法相比,超临界流体的应用

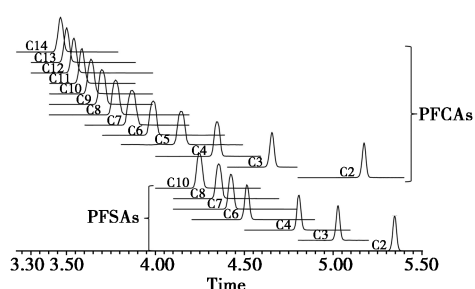


图 4 使用 Torus DIOL 色谱柱优化 $C_2 \sim C_{14}$ 全氟和多氟烷基物质的色谱分离^[28]

Fig.4 Optimized chromatographic separations of $C_2 \sim C_{14}$ PFASs using Torus DIOL column^[28]

使低分子量微污染物 ($m/z < 300$ Da) 的电离效率提高了 2~87 倍,从而显著改善了识别强极性化合物的质谱图。Schulze 等^[30]建立了一种快速、通用的持久、高迁移性有机化合物分析方法,可以实现水样中 17 种目标化合物的同时测定,适合于

表 3 SFC-MS 在药学领域中的应用^注

Tab.3 SFC-MS applications in pharmaceutical science

分析物	数量/ 个	色谱柱	改性剂	洗脱时间/min	LOQ	参考文献
二苯庚烷类蒴类等	47	Torus Diol (3.0 mm×100 mm, 1.7 μm)	甲醇/异丙醇/甲酸 (75:25:0.1)	7	—	[32]
芹菜素等	6	BEH 2-EP (3.0 mm×150 mm, 1.7 μm)	甲醇/异丙醇 (1:1)	15	—	[33]
大麻素类化合物	30	BEH 2-EP (150 mm×3.0 mm, 1.7 μm)	异丙醇/乙腈/水 (80:20:1)	10	5~10 μg/mL	[34]
合成大麻素	17	Torus 1-AA (3.0 mm×100 mm, 1.7 μm)	甲醇/水 (98:2)	9.4	127.9 ng/mL	[35]
异烟肼降解杂质	2	Inertsil ODS C_{18} (4.6 mm×150 mm, 5 μm)	二氯甲烷/甲醇/乙酸乙酯/甲酸 (70:30:0.5:0.1)	6	1~100 μg/mL	[36]
PEG 衍生物	3	Torus Diol (3.0 mm×100 mm, 1.7 μm)	甲醇+0.05 mol/L 氢氧化铵	30	—	[37]
苯丙胺和甲基苯丙胺异构体	31	Torus Diol (3.0 mm×100 mm, 1.7 μm) Torus 1-AA (3.0 mm×100 mm, 1.7 μm)	甲醇/氨水 (100:0.28)	6	1~60 pg/mL*	[38]
麻黄碱及其立体异构体	4	CHIRALPAK IC-3/SFC (3.0 mm×150 mm, 3.0 μm)	甲醇	11	1~3 pg/mL*	[39]
手性美沙芬	2	Trefoil AMY1 (2.1 mm×150 mm, 2.5 μm)	甲醇/环己胺 (100:0.3)	3	10 ng/mL	[40]
卡西酮异构体	24	CHIRALPAK® ZWIX (+/-) (3.0 mm×250 mm, 4.0 μm)	甲醇+0.05 mol/L 氢氧化氨	30	—	[41]

注:改性剂各组分比例如无特殊说明均为体积比;“—”代表相关文献未提供定量结果;“*”代表相关文献仅提供 LOD 结果。

韦明思等^[32]使用 Torus Diol 色谱柱对中药广西莪术根茎提取物中的 8 组同分异构体在 7 min 内实现基线分离,无需复杂的样品前处理过程。Jones 等^[33]对罗马和德国洋甘菊提取物进行分离,采用 PCA 和偏最小二乘判别分析等多元统计分析方法对数据集进行关联,实现了对甘菊样品的直观区分。Wang 等^[34]建立了一种利用 UHPSFC-PDA-MS 分析 30 种大麻植物提取物和制剂的新方法。与 LC 相比,UHPSFC 对大麻素类化合物的层析分离提供了不同的洗脱顺序和不同

环境水中高极性污染物的筛查和监测。Riddell 等^[31]对各种卤代污染物相关的电离机制进行充分研究,优化的电离条件具有适用性。

2.3 药学领域

天然药物已被广泛用于疾病治疗和保健。药食同源类物质(人参、菊花、八角等)本身可以作为实用性的中药材,同时也兼具药食的功能并作用于医疗保健领域。目前,紫杉醇、黄连素、麻黄碱、青蒿素等天然有效成分已被开发成现代药物。而对于大多数药材来说是以多组分形式使用的,如银杏叶提取物、洋甘菊提取物和人参制剂等。因此,对药材中多种化学成分的分析不仅为新药开发提供了机会,也是药材质量控制的关键。SFC-MS 在小分子药物的活性药物成分、合成中间体、杂质或降解产物、手性拆分方面应用广泛。表 3 总结了 SFC-MS 在药学领域中的部分应用。

化合物的相对保留,结合这两种正交方法将大大提高复杂基质中大麻素分析的分辨能力。Jambo 等^[35]以 17 种合成大麻素作为模型化合物,对可能掺有合成大麻素的大麻植物进行精准质量控制。Prajapati 等^[36]采用 SFC-MS/MS 方法对异烟肼及其降解产物进行分离。Poulton 等^[37]将 SFC-ELSD 与 SFC-MS 方法相结合,对 3 种不同的功能化聚乙二醇(药物制剂赋形剂)进行分离。根据报道,该方法可实现不同聚合度聚乙二醇的基线分离,进而实现对其分子量分布的

简单计算。

SFC 在手性药物分析中极具竞争力。Segawa 等^[38]对苯丙胺和甲基苯丙胺的 10 种环取代区域异构体进行了手性分离,表明 SFC 可用于法医药物分析,以快速、可靠地鉴定结构相似的滥用药物。麻黄素是合成甲基苯丙胺的常用起始化合物,具有 4 种麻黄碱异构体。Segawa 等^[39]通过 SFC 手性分离麻黄碱及其立体异构体,可在 11 min 内实现 4 种异构体的快速分离。Li 等^[40]采用 HPLC-MS 和 SFC-MS 法直接测定美沙芬对映体。在选定的离子模式下,两种体系的检出限

均为 10 ng/mL。Kolderová 等^[41]则研究了梯度 SFC-MS 法在合成卡西酮类化合物的手性分离中的应用,并在 30 min 实现了对内卡西酮 24 种异构体的手性分离。

2.4 医学领域

代谢物应用于疾病的临床前模型和临床应用,作为潜在的疾病生物标记物,包括脂类、类固醇激素、胆汁酸、极性代谢物、多肽和蛋白质等^[42,43]。SFC-MS 在体内代谢物的定性、定量分析中应用广泛。表 4 总结了 SFC-MS 在医学领域中的部分应用。

表 4 SFC-MS 在医学领域中的应用^注

Tab.4 SFC-MS applications in medical science

分析物	数量/ 个	色谱柱	改性剂	洗脱时 间/min	LOQ	参考 文献
疾病生物标志物	21	GL Inertsil Diol(150 mm×3.0 mm,2.1 μm)	甲醇/甲酸(100:0.1)	15	1.11~4.62 pg/μL	[44]
维生素和类胡萝卜素	14	Viridis HSS C ₁₈ SB(100 mm×3.0 mm,1.8 μm)	甲醇/水(100:2)+0.02 mol/L 甲酸铵	8	0.02~16 000 ng/mL	[45]
抗癫痫药物	4	BEH 2-EP(100 mm×3.0 mm,1.7 μm)	甲醇	2.5	1 μg/mL	[46]
紫杉烷类药物	4	BEH 2-EP(100 mm×2.1 mm,1.7 μm)	甲醇	3	10 ng/mL	[47]
类固醇激素	19	Viridis CSH Fluoro-Phenyl UPC ² (100 mm×2.1 mm,1.7 μm)	甲醇/异丙醇/甲酸(50:50:0.1)	5	0.03~1.67 ng/mL	[48]
奥卡西平及其手性代谢物	3	Trefoil CEL2(150 mm×3.0 mm,2.5 μm)	甲醇	3	0.5~5 ng/mL	[49]
胆汁酸	24	BEH Amide(100 mm×3.0 mm,1.7 μm)	甲醇/甲酸/甲酸铵(100:0.1:0.2)	13	127.9~383.7 ng/mL	[50]

注:改性剂各组分比例如无特殊说明均为体积比。

Suzuki 等^[44]使用 SFE-SFC-MS/MS 方法重点研究了血清斑点中的口腔癌、结直肠癌和胰腺癌的候选生物标志物,可在 15 min 内同时检测到 4 种亲水性代谢物和 17 种疏水性代谢物。Petruzziello 等^[45]开发了一种高通量和稳定的定量方法来分析人血浆中的微量营养素,优化并实现了自动固相支撑液液萃取,在 1 h 内同时处理 48 个样品,8 min 内测定 14 种脂溶维生素和类胡萝卜素。Wang 等^[46]通过 SFC-MS/MS 对人血浆中托吡酯、卡马西平、奥卡西平和单羟卡马西平 4 种抗癫痫药精准定量分析,对抗癫痫药物的临床血药浓度监测和药代动力学研究具有指导意义。Jin 等^[47]在 3 min 内对紫杉醇、卡巴他赛、多西紫杉醇和格列本脲完成快速分离,定量下限为 10 ng/mL。分析方法可作为支持和改进紫杉烷类抗癌药物的临床前或临床药代动力学研究的有力工具。此外,Sait 等^[48]首次报道了采用混合固相萃取结合 SFC-MS/MS 对灰海豹血浆中类固醇激素进行定量分析的方法。Yang 等^[49]使用卡马西平作为内

标物测定比格犬血浆中的奥卡西平及其手性代谢物利卡巴嗪,建立的分析方法已成功应用于犬类口服奥卡西平片剂的药代动力学研究。Taguchi 等^[50]则首次对大鼠血清中胆汁酸代谢进行研究,在 13 min 内实现了对包括甘氨酸和牛磺酸结合物在内的 24 种胆汁酸的同时定量分析,且无需任何复杂的样品制备过程。

3 总结与展望

SFC 与 MS 的串联技术在过去十年中得到了长足发展,这项技术被越来越多地应用于复杂基质化合物的分析中,从唾液到血浆、植物提取物、土壤水样等。SFC 相较于 GC 和 LC 具有显著优势。SFC 受基质效应的影响与 LC 完全不同,强大的分离技术与高灵敏的 MS 检测相结合使 SFC 在某些领域成为 LC 的补充。通过有机改性剂或低比例水的添加来改变流动相极性,SFC 可分析的化合物范围得以扩大,从非极性(脂质)到强极性(生物碱或水溶性维生素),甚至可以同时分离

大量不同极性的化合物。

SFC-MS 为食品科学、环境科学、药学以及医学领域的分析提供了非常好的性能。未来更成熟的耦合接口的开发以及分离技术的深入研究会使 SFC-MS 应用范围更加广阔。随着技术的不断发展和优化, SFC 和 MS 的结合将更加紧密, 进一步提高分析的效率和精度。例如, 通过优化接口技术, 可以降低样品在传输过程中的损失和污染; 通过提高检测器的灵敏度和分辨率, 可以检测到更低浓度的样品。在多维数据利用方面, 与质谱串联产生的数据不仅包括色谱图和质谱图, 还包括 MS/MS 等更复杂的数据。这些数据可以提供更多的信息, 有助于样品的分类、鉴定和来源分析。未来, 可以利用人工智能和机器学习等技术, 对多维数据进行深度挖掘和分析, 自动化和智能化鉴定未知样品。

SFC-MS 具有广泛的应用前景和发展潜力。随着技术的不断进步和应用领域的扩展, 有望在未来分析化学中发挥越来越重要的作用。

参考文献:

- [1] LI G, LV Y, CHEN M, et al. Post-chromatographic dicationic ionic liquid-based charge complexation for highly sensitive analysis of anionic compounds by ultra-high-performance supercritical fluid chromatography coupled with electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Anal. Chem.*, 2020, **93**: 1 771-1 778.
- [2] MA Q, ZHANG Y, ZHAI J, et al. Characterization and analysis of non-ionic surfactants by supercritical fluid chromatography combined with ion mobility spectrometry-mass spectrometry [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, **411**: 2 759-2 765.
- [3] CHEN L, DEAN B, LIANG X. A technical overview of supercritical fluid chromatography-mass spectrometry (SFC-MS) and its recent applications in pharmaceutical research and development [J]. *Drug Discov. Today*, 2021, **40**: 69-75.
- [4] 黄文静, 叶楚璇, 徐浩然, 等. 敞开式离子化质谱技术在中药材及中药饮片质量评价中的应用进展 [J]. *化学试剂*, 2022, **44**(8): 1 079-1 087.
- [5] 阎娜, 于晓燕, 陈武炼. 高效液相色谱-串联质谱法测定人血清中 5 种抗真菌药物及相关代谢产物的测量方法 [J]. *化学试剂*, 2023, **45**(3): 126-131.
- [6] LOSACCO G L, VEUTHEY J L, GUILLARME D. Supercritical fluid chromatography-Mass spectrometry: Recent evolution and current trends [J]. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2019, **118**: 731-738.
- [7] PARR M K, WÜST B, TEUBEL J, et al. Splitless hyphenation of SFC with MS by APCI, APPI, and ESI exemplified by steroids as model compounds [J]. *J. Chromatogr. B*, 2018, **1 091**: 67-78.
- [8] WOLRAB D, FRÜHAUF P, GERNER C. Direct coupling of supercritical fluid chromatography with tandem mass spectrometry for the analysis of amino acids and related compounds: Comparing electrospray ionization and atmospheric pressure chemical ionization [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2017, **981**: 106-115.
- [9] TORIBIO L, BERNAL J, MARTÍN M T, et al. Supercritical fluid chromatography coupled to mass spectrometry: A valuable tool in food analysis [J]. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2021, **143**: 116 350.
- [10] LEI F, LI C, ZHOU S, et al. Hyphenation of supercritical fluid chromatography with tandem mass spectrometry for fast determination of four aflatoxins in edible oil [J]. *Rapid Commun. Mass Sp.*, 2016, **30**(S1): 122-127.
- [11] BERNAL J L, MARTÍN M T, TORIBIO L. Supercritical fluid chromatography in food analysis [J]. *J. Chromatogr. A*, 2013, **1 313**: 24-36.
- [12] LI G, CHEN J, YANG Q, et al. Identification of chemical constituents in pomegranate seeds based on ultra-high-performance supercritical fluid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Rapid Commun. Mass Sp.*, 2023, **9 999**: e9 482.
- [13] MURADOR D C, SALAFIA F, ZOCCALI M, et al. Green extraction approaches for carotenoids and esters: Characterization of native composition from orange peel [J]. *Antioxidants*, 2019, **8**: 613.
- [14] QU S, DU Z, ZHANG Y. Direct detection of free fatty acids in edible oils using supercritical fluid chromatography coupled with mass spectrometry [J]. *Food Chem.*, 2015, **170**: 463-469.
- [15] CUTILLAS V, MURCIA-MORALES M, GÓMEZ- RAMOS M, et al. Supercritical fluid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the analysis of pesticide residues in dried spices. Benefits and drawbacks [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2019, **1 059**: 124-135.
- [16] CUTILLAS V, GALERA M M, RAJSKI Ł, et al. Evaluation of supercritical fluid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for pesticide residues in food [J]. *J. Chromatogr. A*, 2018, **1 545**: 67-74.
- [17] ISHIBASHI M, ANDO T, SAKAI M, et al. High-throughput simultaneous analysis of pesticides by supercritical fluid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *J. Chromatogr. A*, 2012, **1 266**: 143-148.

- [18] ZHANG Y, WU W J, ZHOU W E, et al. Determination of 14 heterocyclic aromatic amines in meat products using solid-phase extraction and supercritical fluid chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J. Sep. Sci.*, 2020, **43**: 1 372-1 381.
- [19] YANG G, GUO J, YUAN H, et al. Determination of selected glucocorticoids in healthy foods by ultra-performance convergence chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. *J. Chromatogr. A*, 2023, **1 694**: 463 924.
- [20] RAIMBAULT A, DOREBSKA M, WEST C. A chiral unified chromatography-mass spectrometry method to analyze free amino acids [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2019, **411**: 4 909-4 917.
- [21] RIBEIRO A R L, MAIA A S, RIBEIRO C, et al. Analysis of chiral drugs in environmental matrices: Current knowledge and trends in environmental, biodegradation and forensic fields [J]. *TrAC Trends Anal. Chem.*, 2020, **124**: 115 783.
- [22] YANG F, TANG G, LI Z, et al. An environmentally friendly method for the enantioseparation and determination of benalaxyl in tobacco and soil by ultra-performance convergence chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J. Sep. Sci.*, 2018, **41**: 4 233-4 240.
- [23] LIU N, DONG F, XU J, et al. Enantioselective separation and pharmacokinetic dissipation of cyflumetofen in field soil by ultra-performance convergence chromatography with tandem mass spectrometry [J]. *J. Sep. Sci.*, 2016, **39**: 1 363-1 370.
- [24] WICKER A P, CARLTON D D, TANAKA K, et al. On-line supercritical fluid extraction-supercritical fluid chromatography-mass spectrometry of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil [J]. *J. Chromatogr. B*, 2018, **1 086**: 82-88.
- [25] OVCHINNIKOV D V, VAKHRAMEEV S A, FALEV D I, et al. Rapid simultaneous quantification of 1-formyl-2,2-dimethylhydrazine and dimethylurea isomers in environmental samples by supercritical fluid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Molecules*, 2022, **27**: 5 025.
- [26] LÜBECK J S, CHRISTENSEN J H, TOMASI G. Ultra-high-performance supercritical fluid chromatography-mass spectrometry for the analysis of organic contaminants in sediments [J]. *J. Sep. Sci.*, 2022, **46**: 2 200 668.
- [27] NIHEMAITI M, ICKER M, SEIWERT B, et al. Revisiting disinfection byproducts with supercritical fluid chromatography-high resolution-mass spectrometry: Identification of novel halogenated sulfonic acids in disinfected drinking water [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2023, **57**: 3 527-3 537.
- [28] YEUNG L W Y, STADEY C, MABURY S A. Simultaneous analysis of perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances including ultrashort-chain C2 and C3 compounds in rain and river water samples by ultra performance convergence chromatography [J]. *J. Chromatogr. A*, 2017, **1 522**: 78-85.
- [29] TISLER S, SAVVIDOU P, JØRGENSEN M B, et al. Supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry reveals persistent mobile organic compounds with unknown toxicity in wastewater effluents [J]. *Environ. Sci. Technol.*, 2023, **57**: 9 287-9 297.
- [30] SCHULZE S, PASCHKE H, MEIER T, et al. A rapid method for quantification of persistent and mobile organic substances in water using supercritical fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2020, **412**: 4 941-4 952.
- [31] RIDDELL N, VAN B B, ERICSON J I, et al. Coupling supercritical fluid chromatography to positive ion atmospheric pressure ionization mass spectrometry: Ionization optimization of halogenated environmental contaminants [J]. *Int. J. Mass Spectrom.*, 2017, **421**: 156-163.
- [32] 韦明思, 谷筱玉, 袁铭, 等. 超高效合相色谱-四极杆飞行时间质谱联用技术快速分析广西莪术化学成分 [J]. *分析化学*, 2019, **47**(7): 1 114-1 120.
- [33] JONES M D, AVULA B, WANG Y H, et al. Investigating sub-2 μm particle stationary phase supercritical fluid chromatography coupled to mass spectrometry for chemical profiling of chamomile extracts [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2014, **847**: 61-72.
- [34] WANG M, WANG Y H, AVULA B, et al. Quantitative determination of cannabinoids in cannabis and cannabis products using ultra-high-performance supercritical fluid chromatography and diode array/mass spectrometric detection [J]. *J. Forensic. Sci.*, 2017, **62**(3): 602-611.
- [35] JAMBO H, DISPAS A, AVOHOU H T, et al. Implementation of a generic SFC-MS method for the quality control of potentially counterfeited medicinal cannabis with synthetic cannabinoids [J]. *J. Chromatogr. B*, 2018, **1 092**: 332-342.
- [36] PRAJAPATI P, AGRAWAL Y K. Development of a green method for separation and identification of the degradation impurity of isoniazid by SFC-MS/MS [J]. *Anal. Methods*, 2015, **7**: 7 776-7 783.
- [37] POULTON A M, POULTEN R C, BALDACCINI A, et al. Towards improved characterisation of complex polyethylene glycol excipients using supercritical fluid chro-

- matography-evaporative light scattering detection-mass spectrometry and comparison with size exclusion chromatography-triple detection array [J]. *J. Chromatogr. A*, 2021, **1** 638;461-839.
- [38] SEGAWA H, TIWATA Y, YAMAMURO T, et al. Differentiation of ring-substituted regioisomers of amphetamine and methamphetamine by supercritical fluid chromatography [J]. *Drug Test Anal.*, 2016, **9**:389-398.
- [39] SEGAWA H, OKADA Y, YAMAMURO T, et al. Stereoselective analysis of ephedrine and its stereoisomers as impurities and/or by-products in seized methamphetamine by supercritical fluid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Forensic. Sci. Int.*, 2021, **318**: 110-591.
- [40] LI L. Direct enantiomer determination of methorphan by HPLC-MS and SFC-MS [J]. *Forensic. Chem.*, 2016, **2**: 82-85.
- [41] KOLDEROVÁ N, JURÁSEK B, KUCHARŮ M, et al. Gradient supercritical fluid chromatography coupled to mass spectrometry with a gradient flow of make-up solvent for enantioseparation of cathinones [J]. *J. Chromatogr. A*, 2020, **1** 625;461-286.
- [42] GORDILLO R. Supercritical fluid chromatography hyphenated to mass spectrometry for metabolomics applications [J]. *J. Sep. Sci.*, 2020, **44**:448-463.
- [43] TAGUCHI K, FUKUSAKI E, BAMBA T. Supercritical fluid chromatography/mass spectrometry in metabolite analysis [J]. *Bioanalysis*, 2014, **6**:1 679-1 689.
- [44] SUZUKI M, NISHIUMI S, KOBAYASHI T, et al. Use of on-line supercritical fluid extraction-supercritical fluid chromatography/tandem mass spectrometry to analyze disease biomarkers in dried serum spots compared with serum analysis using liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. *Rapid Commun. Mass Sp.*, 2017, **31**:886-894.
- [45] PETRUZZIELLO F, GRAND G P A, THORIMBERT A, et al. Quantitative profiling of endogenous fat-soluble vitamins and carotenoids in human plasma using an improved UHPSFC-ESI-MS interface [J]. *Anal. Chem.*, 2017, **89**:7 615-7 622.
- [46] WANG L, WANG J, ZHANG J, et al. Simultaneous determination of topiramate, carbamazepine, oxcarbazepine and its major metabolite in human plasma by SFC-ESI-MS/MS with polarity switching: Application to therapeutic drug monitoring [J]. *Arab. J. Chem.*, 2019, **12**:4 775-4 783.
- [47] JIN C, GUAN J, ZHANG D, et al. Supercritical fluid chromatography coupled with tandem mass spectrometry: A high-efficiency detection technique to quantify Taxane drugs in whole-blood samples [J]. *J. Sep. Sci.*, 2017, **40**:3 914-3 921.
- [48] SAIT S T L, SURVILIENĖ V, JÜSSI M, et al. Determination of steroid hormones in grey seal (*Halichoerus grypus*) blood plasma using convergence chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Talanta*, 2023, **254**: 124-109.
- [49] YANG Z, XU X, SUN L, et al. Development and validation of an enantioselective SFC-MS/MS method for simultaneous separation and quantification of oxcarbazepine and its chiral metabolites in beagle dog plasma [J]. *J. Chromatogr. B*, 2016, **1** 020:36-42.
- [50] TAGUCHI K, FUKUSAKI E, BAMBA T. Simultaneous and rapid analysis of bile acids including conjugates by supercritical fluid chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *J. Chromatogr. A*, 2013, **1** 299: 103-109.