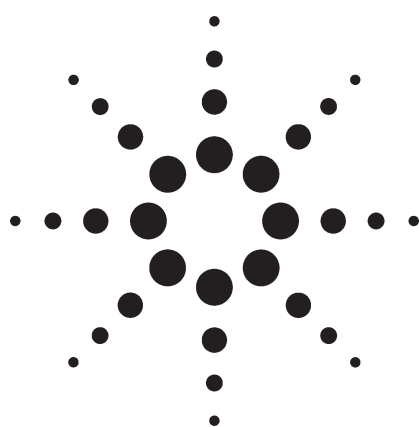


高效液相色谱 / 紫外 / 大气压化学电离 — 质谱联用用于聚合物中抗氧化添加剂的分析



Michael Woodman

(安捷伦生命科学与化学分析部, 美国)

摘要

紫外/可见光-质谱检测器是分析和鉴定抗氧化剂的一种有效的方法。应用实例证明, 流动相条件影响采集数据的质量和可用性。用足够的质谱数据能够鉴定未知化合物, 并能快速评价添加剂的降解。

引言

塑料制品成为当今我们日常生活的必需品。无论作为汽车部件、光盘、玩具, 还是作为具有生物相容性的人体部件替换品, 它们都得到了广泛的研究, 许多研究都在进行开发新的和改进已有的聚合物和共混物。同样重要的是对化学添加剂的选择和定量, 这些添加剂用于提供颜色、密度、不透明性、硬度、挠性、抗热、抗光和空气、阻然性, 以及改进在成型和最终产品生产过程中的加工性能。

本研究考察了几种抗氧化剂(AO)类型、化学组成、适合于确认它们的浓度和特性以及它们的降解产品的高效液相色谱(HPLC)分析条件。

抗氧化剂有各种化合物类型, 包括小分子阻滞苯酚、较大分子的疏水性阻滞苯酚、连接亚磷酸盐、磷酸盐连接的芳香化合物。表 1 和 2 列出了一些实例。



Agilent Technologies

表 1. 所研究的抗氧化剂的结构

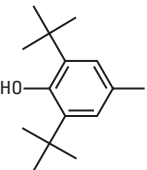
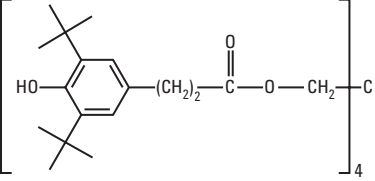
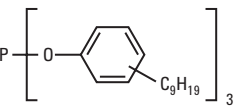
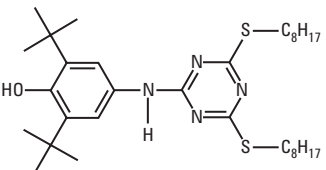
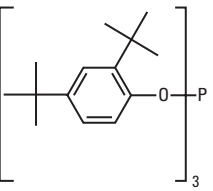
名称:	BHT	丁基羟基甲苯
分子式:	$C_{15}H_{24}O$	
分子量: (MW)	220.2	
<hr/>		
商品名:	Irganox 1010 (CibaGeigy)	季戊四醇四(3-(3,5-二-特丁基-4-羟苯基)丙酸酯)
分子式:	$C_{73}H_{108}O_{12}$	
分子量: (MW)	1176.8	
<hr/>		
商品名	Naugard P (Uniroyal)	Tris 壬基苯基亚磷酸酯
分子式:	$(C_{15}H_{23}O)_3P$	
分子量: (MW)	688.5	
<hr/>		
商品名:	Irganox 565 (CibaGeigy)	
分子式:	$C_{33}H_{56}N_4OS_2$	
分子量: (MW)	588.4	
<hr/>		
商品名:	Irgafos 168	
分子式:	$C_{42}H_{63}O_3P$	
分子量: (MW)	646.5	

表 2. 其它常见的抗氧化剂

名称	分子式	分子量
BHA	$C_{11}H_{16}O_2$	180.1
t-BHQ	$C_{10}H_{14}O_2$	166.1
Cyanox 1790 杀螟晴	$C_{42}H_{57}N_3O_6$	699.4
Ethanox 330	$C_{54}H_{76}O_3$	772.6
Irganox 1076	$C_{35}H_{62}O_3$	530.5
Sandostab P-EPO	$C_{68}H_{92}O_4P_2$	1034.6

带常规检测器或质谱检测器的气相色谱能方便地分析许多小分子化合物,但是,随着许多抗氧化剂的分子量(MW)的增加和挥发性的下降使得气相色谱(GC)技术不再适用。液相色谱(LC)是一个选择,因为它能够分析具有宽分子量范围和不同溶解度的物质。由于液相色谱一般为非破坏性技术,因此可以进行化合物分离和回收的可能性。

许多抗氧化剂含有芳香官能团,并具有明显的紫外/可见(UV/VIS)光谱图。这一检测器类型是添加剂分析系统的必不可少的部分。由于UV/VIS检测器对色谱流动相相对不敏感,因此很容易与梯度洗提分离方法相匹配。

许多抗氧化剂中存在的芳香环官能、氧、氮、磷和硫使其成为大气压电离质谱(API/MS)理想的研究对象。化合物的鉴定可以通过匹配保留时间、UV/VIS光谱数据、质谱数据、分子离子(特别是提供化合物的分子量)得到支持。根据所选择的离子化和质谱类型,使用较高碰撞解离能量产生分子的碎裂,然后对化合物进行进一步的鉴定。这些碎片可以帮助有经验的用户推断化学结构。

仪器和分析方法

Agilent 1100 液相色谱系统:

- 脱气机的四元梯度泵
- 带有脱气机的二元梯度泵,用于在MSD前加入反应试剂
- 带有 2 mL 样品瓶盘的自动进样器
- 带有 2 位、6 通自动切换阀的柱温箱
- 二极管阵列紫外/可见光检测器

色谱条件:

- 增加有机溶剂强度的梯度洗脱,采用下列组合:
水/乙腈 (ACN)
水/甲醇 (MeOH)
水/甲醇/四氢呋喃 (THF), HPLC 级
- 从200到400 nm范围采集UV/VIS光谱图数据,狭缝为1 nm,分辨率是4 nm,
- UV/VIS单波长采集数据,210 nm和280 nm,分辨率为4 nm。

化学工作站用于数据和采集和分析

单四级杆质量选择检测器 (MSD) SL, APCI 接口。

碰撞电压: 100V, 正和负离子化

蒸发器: 400°C

喷雾器: 50 psi 氮气

干燥气: 6 LPM 氮气

色谱柱: Zorbax XDB-C8, 4.6 mm id × 50 mm, 3.5 μm 粒度。

梯度:

方法 1. "MeOH/THF" 柱温 30°C, 25 min 循环

流速	时间	% 水	% MeOH	% ACN	% YHF
1	0	40	50	0	10
1	15	0	90	0	10
1	20	0	90	0	10
1	21	40	50	0	10

方法 2. "MeOH", 柱温 40°C, 20 min 循环

流速	时间	% 水	% MeOH	% ACN	% YHF
1	0	40	60	0	0
1	10	0	100	0	0
1	15	0	100	0	0
1	16	40	60	0	0

方法 3. "ACN", 柱温 50°C, 20 min 循环

流速	时间	% 水	% MeOH	% ACN	% YHF
1	0	40	0	60	0
1	10	0	0	100	0
1	15	0	0	100	0
1	16	40	0	60	0

实验结果

图1至3为使用3种不同梯度得到的9种抗氧化剂的重叠UV色谱图。

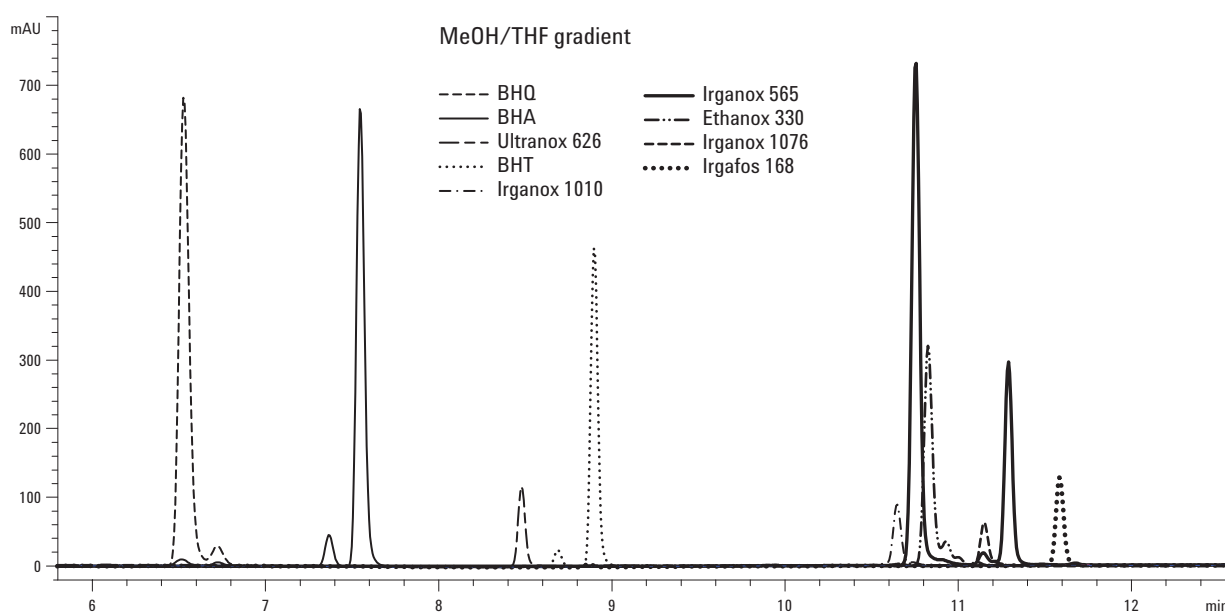


图1. 使用甲醇 /THF 梯度时所选择的抗氧化剂的重叠 UV 色谱图。

许多样品有一些小峰，它们来自于杂质或与母分子具有类似结构的降解产品。对于较小的分子，如：BHA、BHQ和BHT，分离不存在任何问题。对于较大的分子，

在10–12分钟的区域出现分离度下降。但这些分子具有各不相同的分子量，可以使用选择性MS检测进行分析。

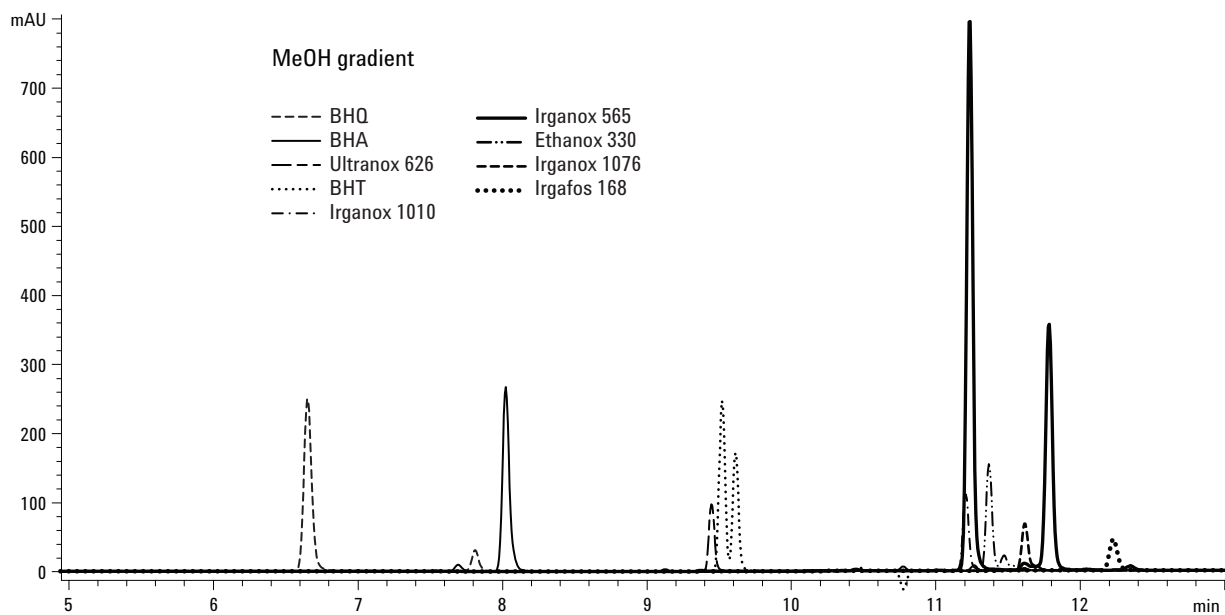


图2. 使用甲醇梯度对抗氧化剂的分离。

使用甲醇分离，相对分离有些不同，与前面类似，小分子化合物得到完全分离，而较大分子在 10–12 分钟的区域出现分离度下降，但可以使用高选择性的质谱仪进行分析。

图 3 乙腈梯度对相同抗氧化剂的分离。

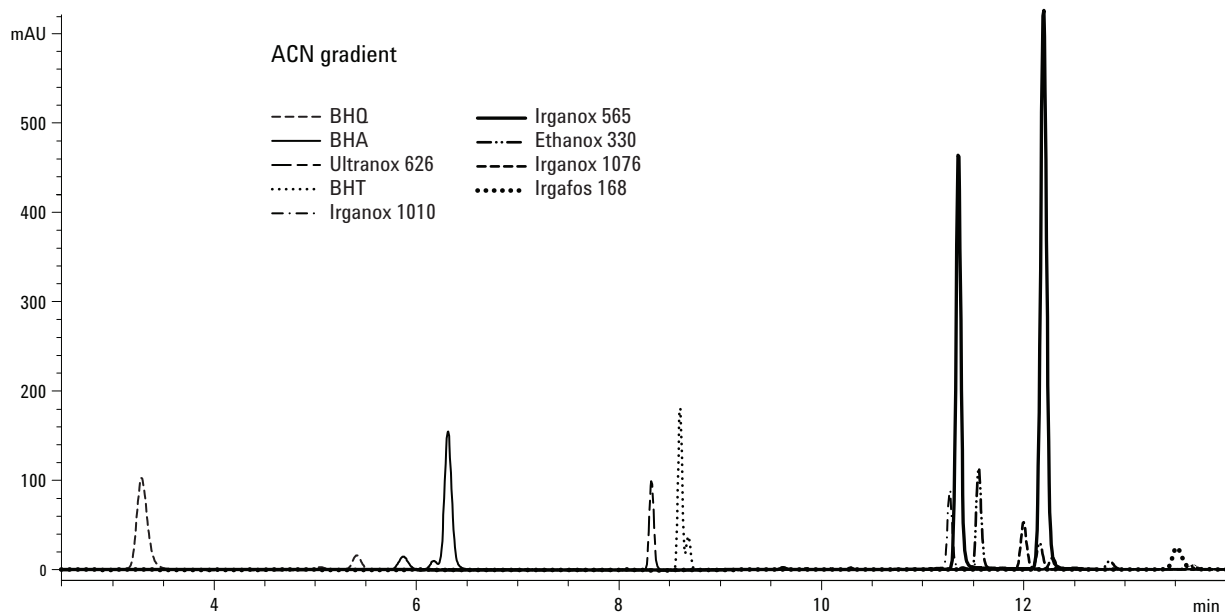


图 3. 乙腈梯度对抗氧化剂的分离。

同样，小分子的分离没有任何问题。较大分子在 10–12 分钟的区域出现分离度有一些改善。乙腈在低波长处有最好的 UV 透明度，在能观察到抗氧化剂 UV 响应的波长范围内有最好的基线稳定性。

通常使用 UV/VIS 谱库对样品混合物中的组分进行初步鉴定是很有用的。当各个被分析物具有独特的谱图

时，这个方法特别有用。许多抗氧化剂的酚环结构具有特征的 UV/VIS 光谱图，故采用这个方法很难区分这些被分析物，用户必须依靠保留时间数据来支持任何鉴定结果。

当我们研究各种抗氧化剂分子时，注意单环结构和多环结构的常见质量范围是十分有用的，参见图 4。

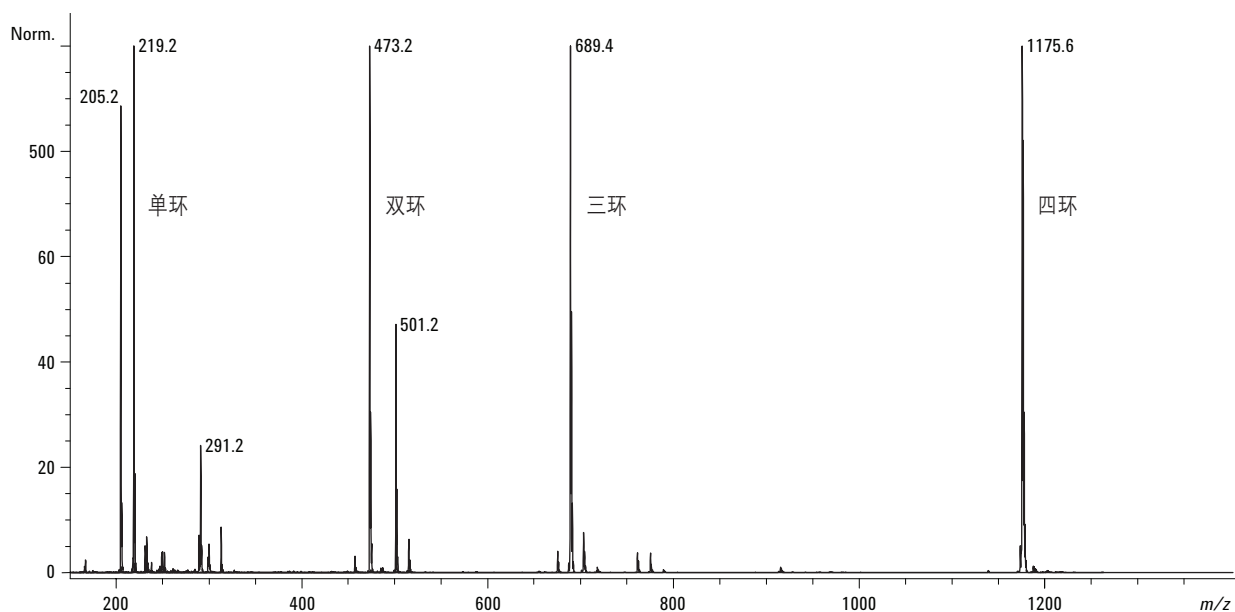


图 4. 抗氧化剂的重叠质谱图，表明环的数目对所观察到的质量范围的影响。

在图 4 中，我们看到代表 1 至 4 个芳香环结构的完整的和裂分的离子。 m/z 219 是 BHT 的 $[M-H]^-$ 离子，而 m/z 205，失去一个 CH_2 ，是具有阻滞酚特征的较大分子的裂分离子。 m/z 473 和 m/z 501 是本文后面将要讨论的裂分离子。 m/z 689 为 Naugard $P(C_{15}H_{23}O)_3P$ ， m/z 1176 为 Irganox 1010 ($C_{73}H_{108}O_{12}$)，具有 4 个环结构和长的烷基链，增加了荷质比，并提醒我们，对于一般抗氧化剂筛选和分析，采集超过 1000 Da 的质量数据是很重要的。

流动相吸收背景总是影响 UV/VIS 光谱图，参见图 5。这个实例显示了在前已述及的 3 种溶剂条件下 Irgafos 168 的 UV/VIS 光谱图。

一般可以观察到显著的响应差别，特别是在重要的低 UV 范围。在流动相中加入离子改性剂的情况下也发现有这一干扰，离子改性剂的加入是为了控制被分析物的电离，还可能改善分离或提高化合物在 MS 中的离子化。

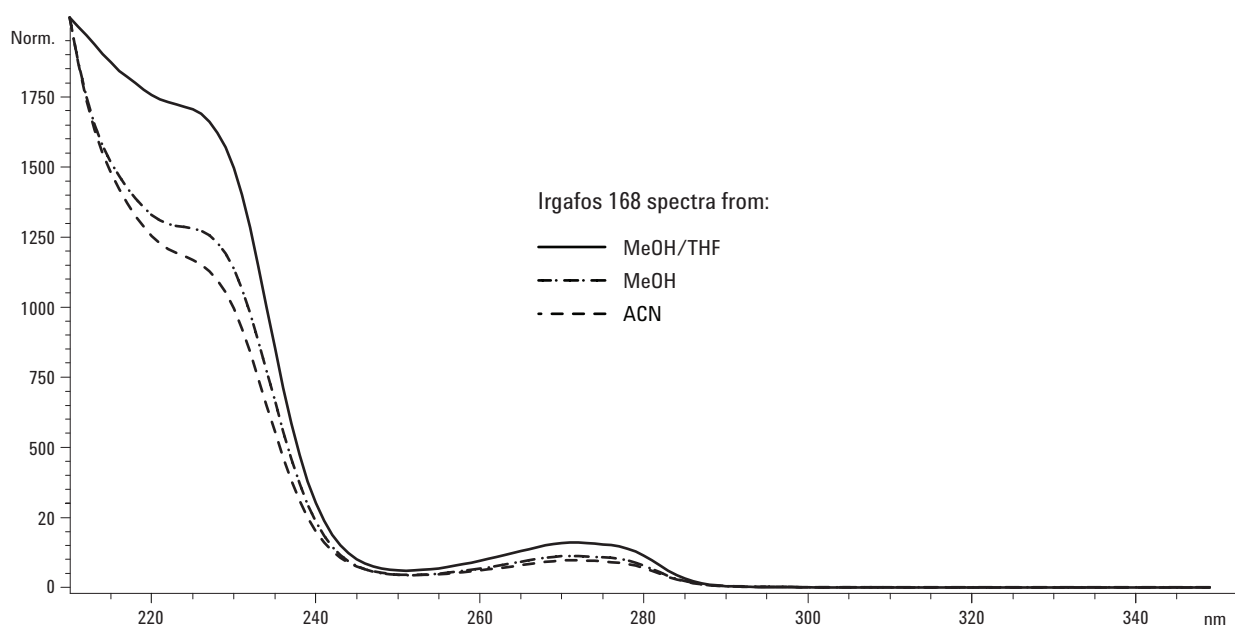


图 5. 溶剂对 Irgafos 168 的 UV/VIS 谱图的影响。

既然能影响离子强度,那么,流动相的组成对质谱中的离子丰度可能也有影响。

图6是在前已述及的3种溶剂条件下,Irgafos 168的正离子模式下萃取离子质谱图(分子量646.5,检测为[M+H]⁺离子),Irgafos 168在高有机溶剂浓度下被洗脱。观察明显的响应区别,在乙腈中响应最低。分子离子峰响应降低可能是因为离子化程度下降或裂分增

加。当溶剂有利于色谱分离和UV/VIS、但不利于质谱离子化的情况下,在紫外之后和进入MSD入口之前加入改性剂,有可能增强质谱的响应。

质谱的裂分程度也受流动相组成的影响。如图7所示为前已述及的3种溶剂条件下,Irgafos 168的萃取负离子质谱图。

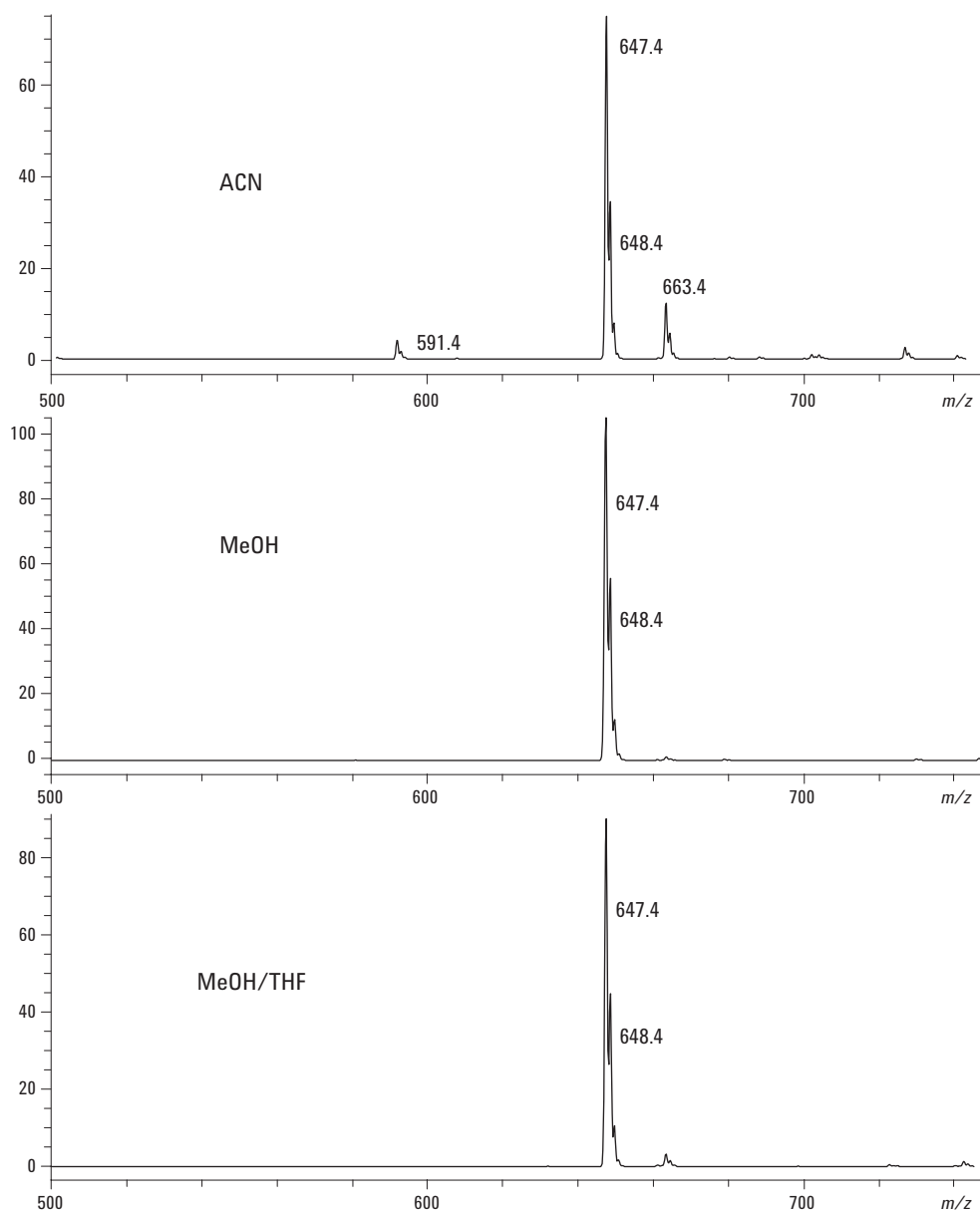


图6. 溶剂对Irgafos 168的正离子质谱图的影响。

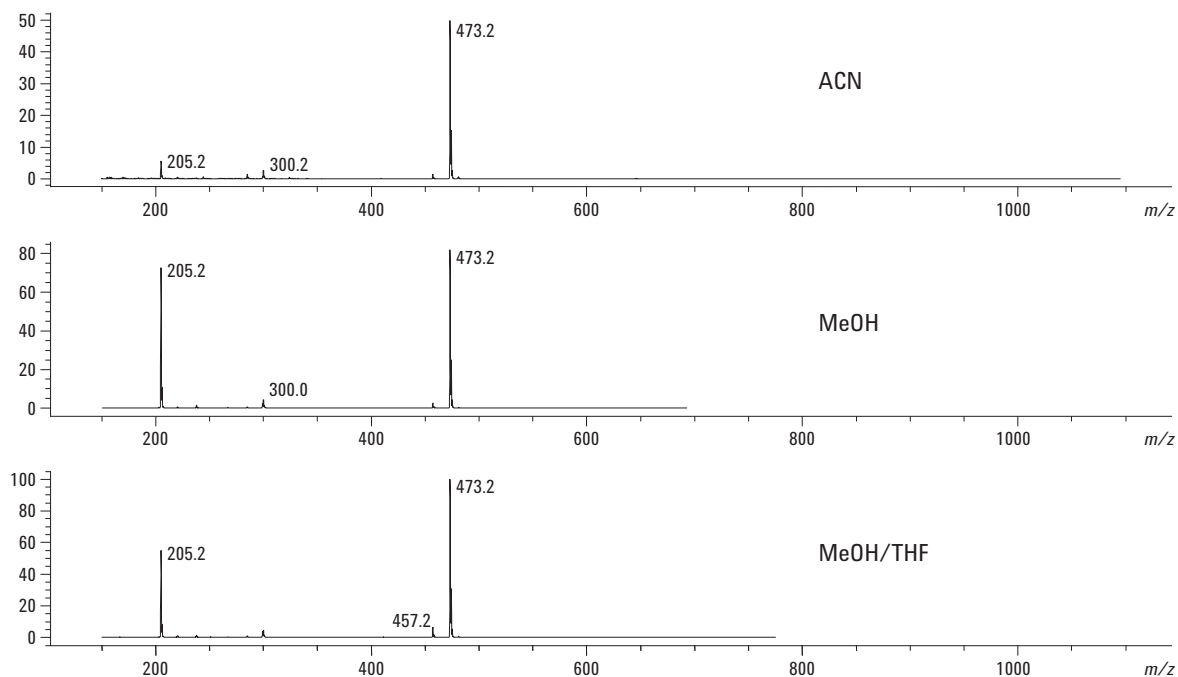


图7. 溶剂对 Irgafos 168 的负离子 MSD 谱图的影响。

注意到显著的响应差异，而在乙腈中响应最低。分子离子和裂分离子的响应下降说明乙腈的作用只是降低了离子化效率。基于对 Irgafos 168 和相似化合物化学降解的了解， m/z 473 碎片可能是 $[C_{28}H_{42}O_4P]^-$ ，其中失去了“臂” (m/z 205)，而一个氧保留在磷上，即 $P=O$ 。

未知物的鉴定

保留时间可以允许有经验的色谱工作者推测在相同的条件下，未知物的峰与一组已知物在结构上有什么差异，但是，鉴定总是需要更多的信息，而不是只靠所提供的色谱出峰模式。根据从 UV/VIS 数据，我们通常可以推断分子的类别，特别是在我们讨论的化合物中

都具有酚基团的化学结构更是如此。UV/VIS 谱图可以用于推测，若不预先掌握重要的相关知识，这种推测还不足以确证鉴定。另一方面，质谱数据具备推断结构细节必需的光谱分辨率，故可实现实际的化学鉴定。以下实例描述了几种情况，其中两个检测器对结构鉴定都是有帮助的。

在一个简单例子中，含有 BHA 或 BHT 的未知物的紫外谱图(图 8)足够独特，允许与特征保留时间一起进行合理的鉴定。在上述条件下，约 1.5 分钟就分离这 2 个峰，鉴定应该是肯定的。

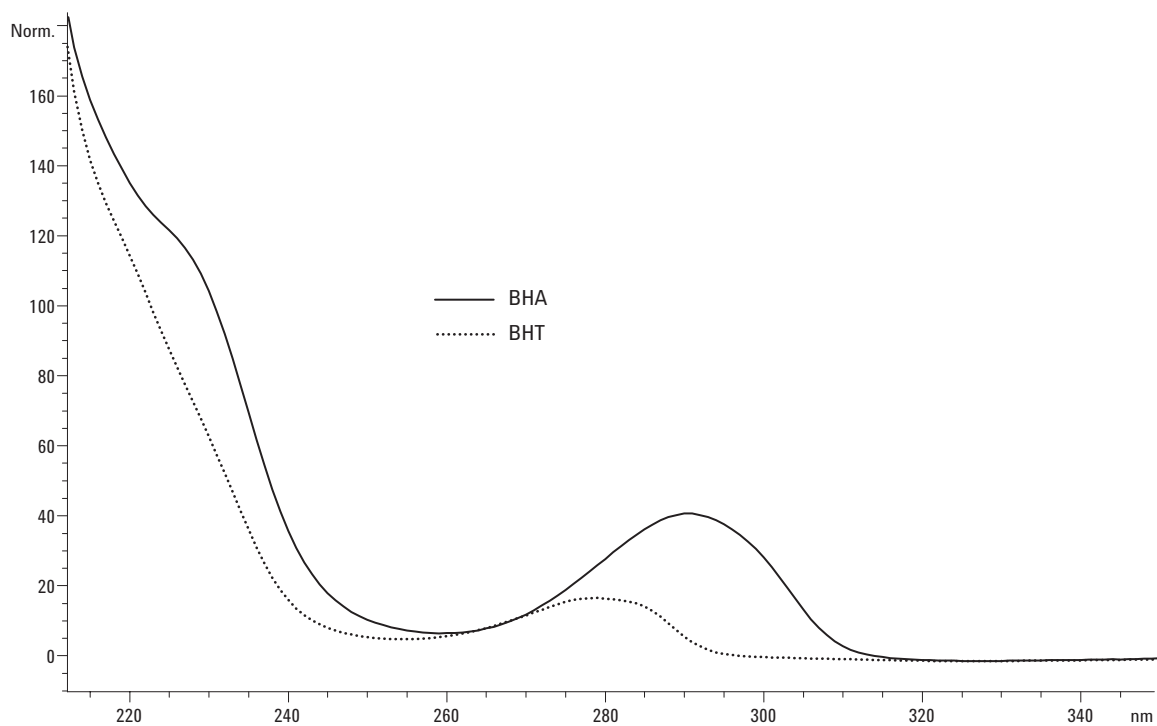


图 8. 从只含有 BHA 和 BHT 的混合物萃取的紫外光谱图。

对于相同样品, 采用质谱数据我们可得到类似结论, 参见图 9。

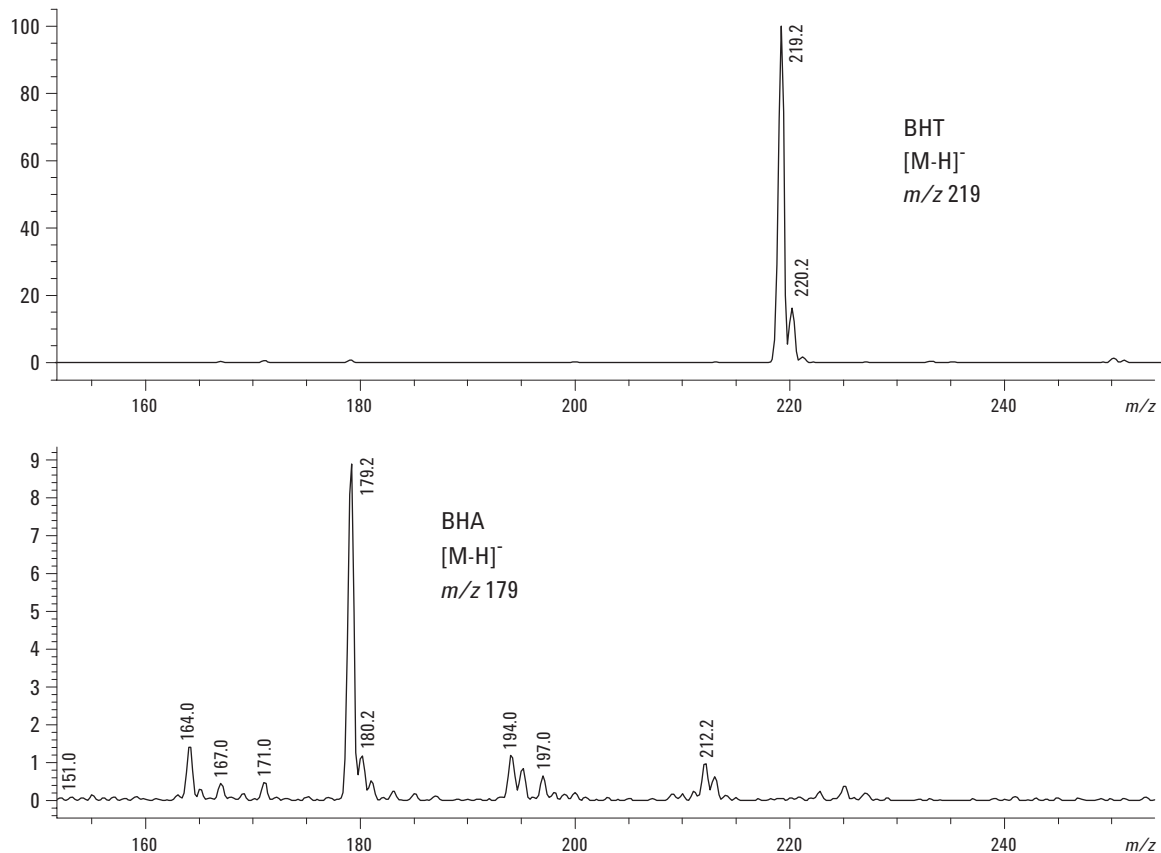


图 9. 从只含有 BHA 和 BHT 的混合物萃取的负离子质谱谱图。

根据保留时间推断两个不同的分子,得到了确认,不再需要任何质谱碎片数据。

当考察质谱数据时,我们一般期望看到典型的分子离子,或者是正离子模式的分子质量加1,或者是负离子模式的分子质量减1。再没有明显的加和离子或碎片离子形成的情况下,这些条件常常能得到最好的灵敏度和定量结果。图10所示的Irganox 565样品就是这种情况。

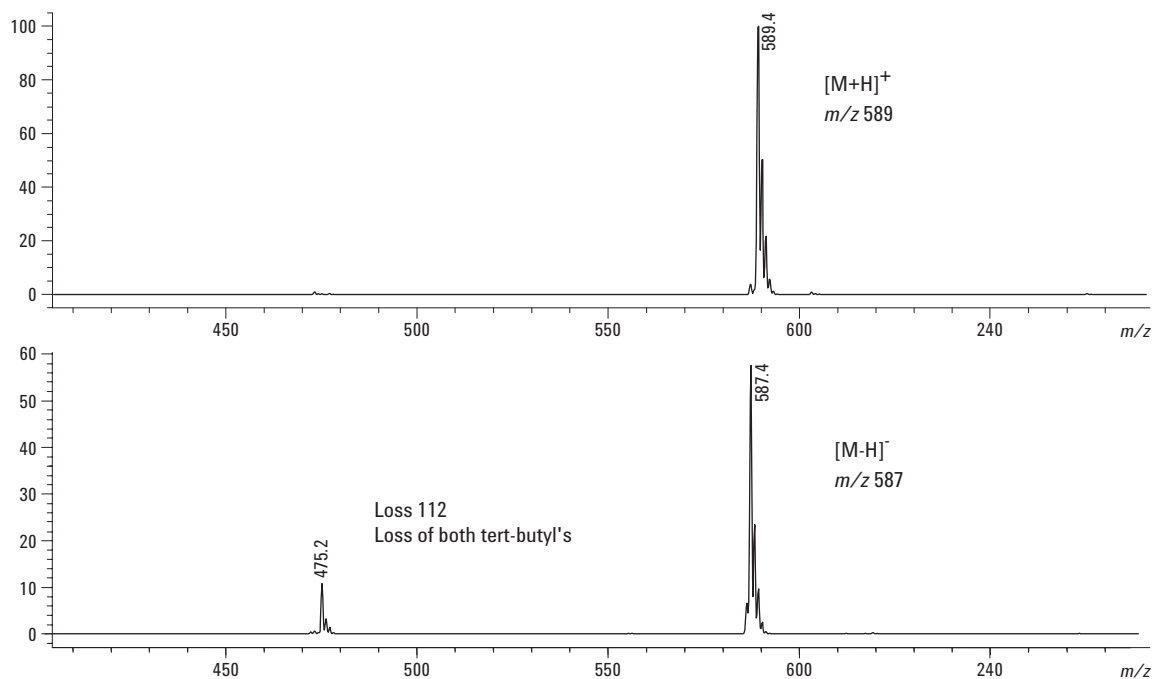


图10. 用甲醇/THF梯度, Irganox 565的正离子(上图)和负(下图)离子质谱图。

在负离子质谱图上只看到少量对应两个特丁基(tert-butyl)基团的丢失的碎片。在一些情况下,会形成自由基离子,而观察到的质谱离子将对应于分子量。很难预测这种情况何时可能发生,但用户对质谱图数据进行解析时必须考虑到这种情况。

在相同条件下运行 Irganox 1010, 其负离子质谱图上只有非常少的碎片,在 m/z 1175.6处检测到的 $[M-H]^-$ 离子对应于分子量 1176.8, 参见图 11。

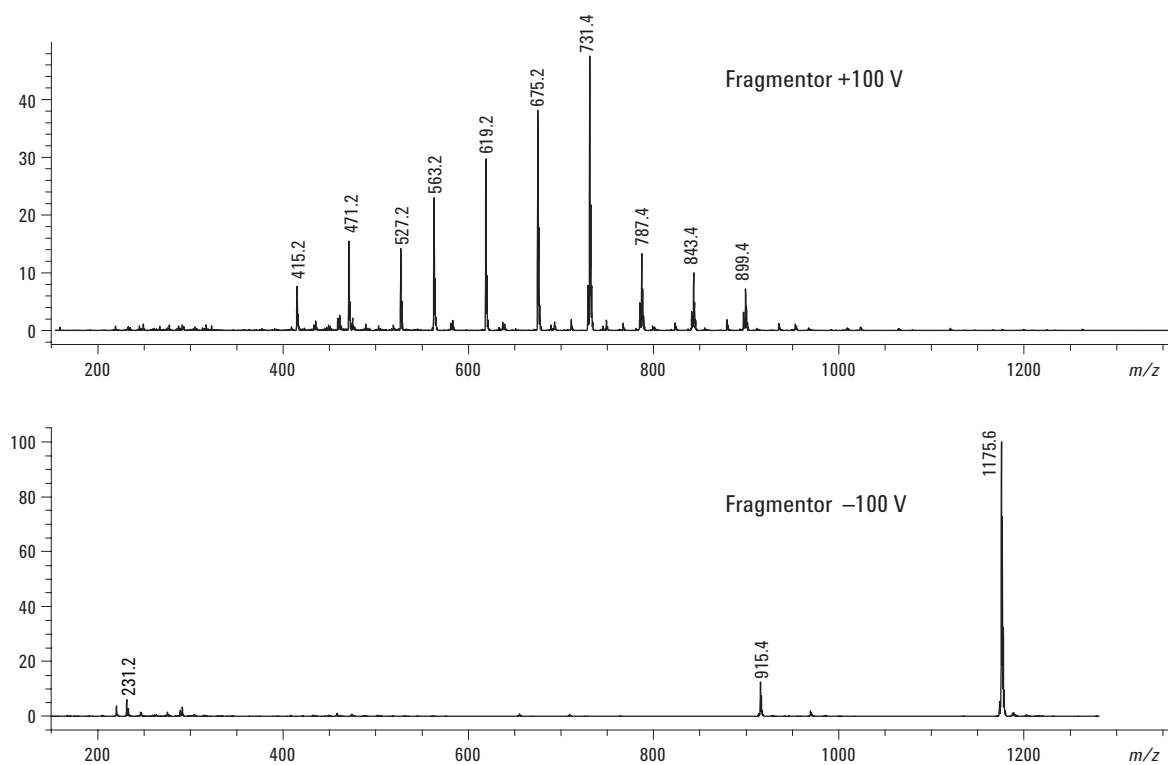


图 11. 用甲醇 /THF 梯度, Irganox 1010 的正离子(上图)和负离子(下图)质谱图。

然而,正离子质谱图缺乏任何有用的分子离子信息。所产生的碎片模式说明是一个具有大量丁基结构的分子,从负离子模式得到的分子离子,与所命名化合物的推测鉴定是一致的。

将碎裂器电压降至25 V时,所得碎裂模式几乎没有变化,虽然与100 V的实验结果相比,总的离子产率下降了。参见图12。

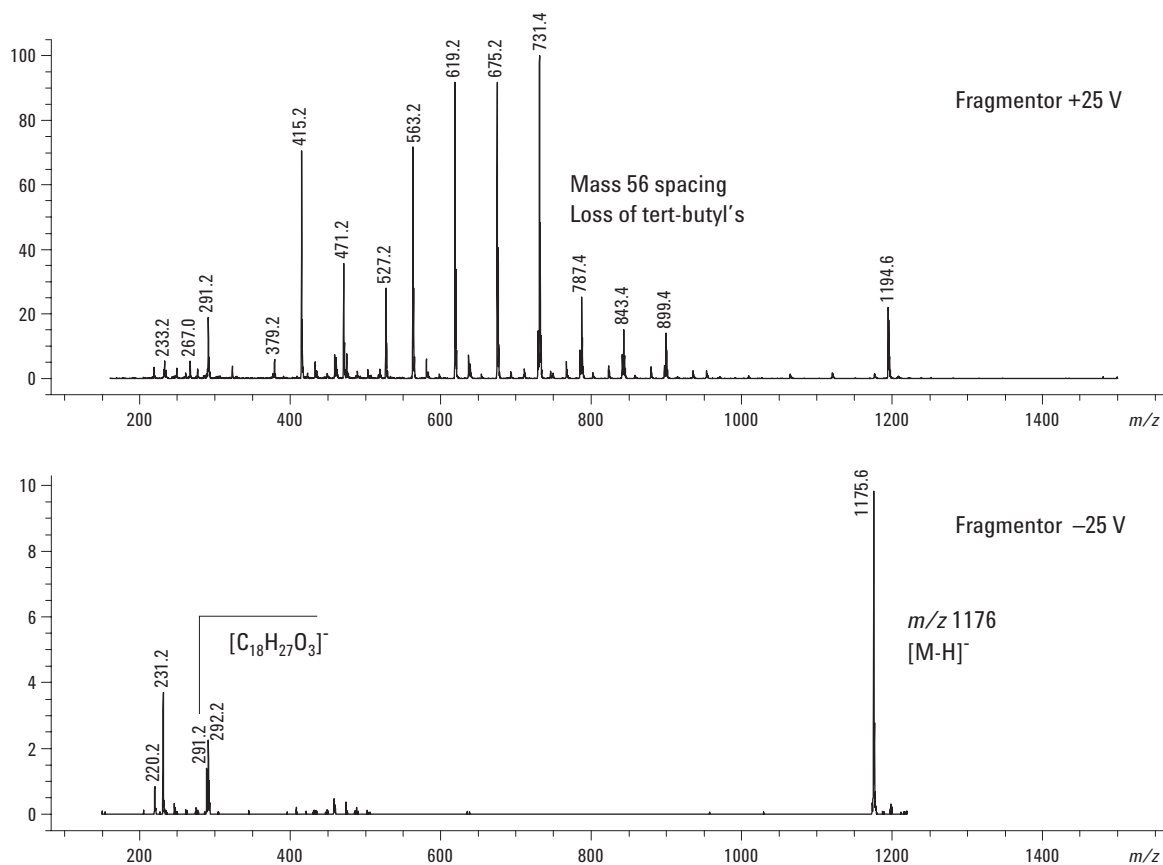


图12. 用甲醇梯度, Irganox 1010的正离子(上图)和负离子(下图)质谱图。

能够观察到 m/z 291 的碎片离子, 它对应于分子的对称“臂”之一。

图13显示从Naugard P的一个降解产物标准品的主峰提取的正离子和负离子质谱图。在正离子模式下，Naugard P的响应与Irganox 1010的响应具有可比性，产生一个容易观察到的分子离子。

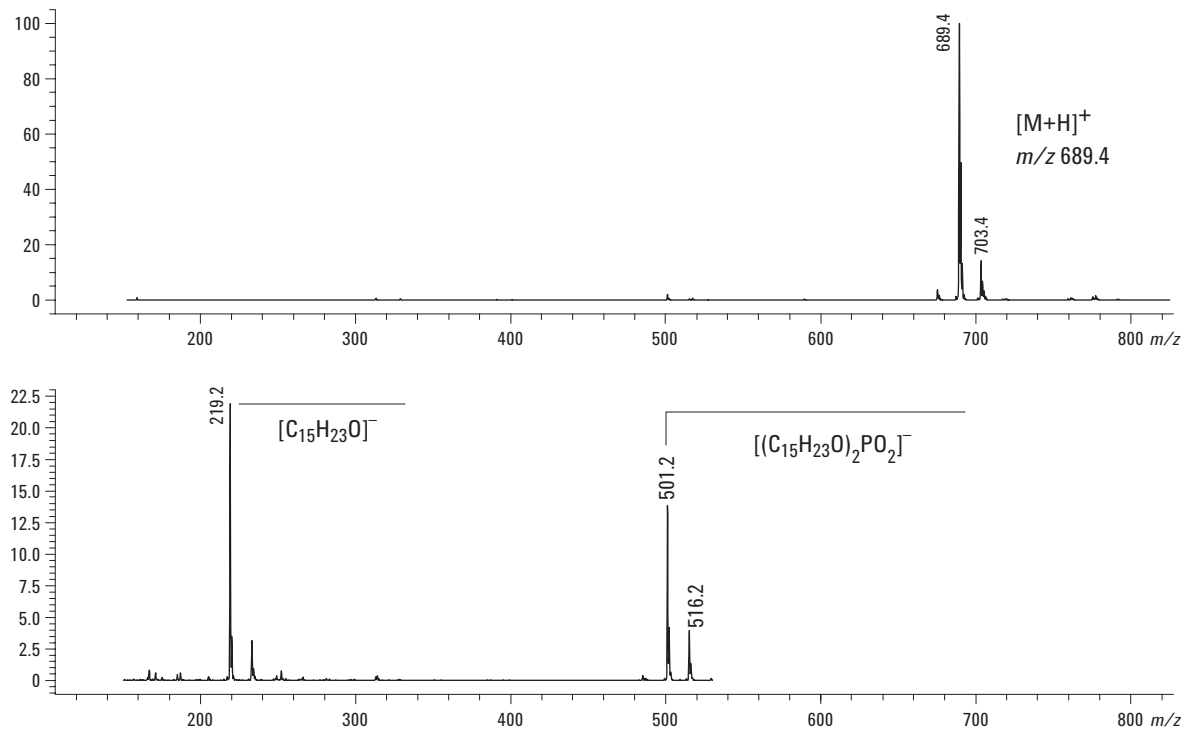


图 13. Naugard P 的一个降解产物标准品主峰的萃取正离子(上)和负离子(下)谱图。

负离子模式的较差响应可能是由于过多的的碎裂，没有观察到任何分子离子。在这些条件下所发现的碎片和极少的重排对于这类样品是很好的标志，在分析未知样品时，这将是鉴定化合物很好的标志物。

降解 Naugard P 分析的峰具有特征的正离子和负离子质谱图，能够研究这些峰的确证或推断未知降解产物的结构。所有峰似乎都有烷基侧链。其他变化很可能与结合在磷上的氧原子数量相关。如图 14 所示 11.6 分钟处的峰的质谱图，就说明了这种结构。

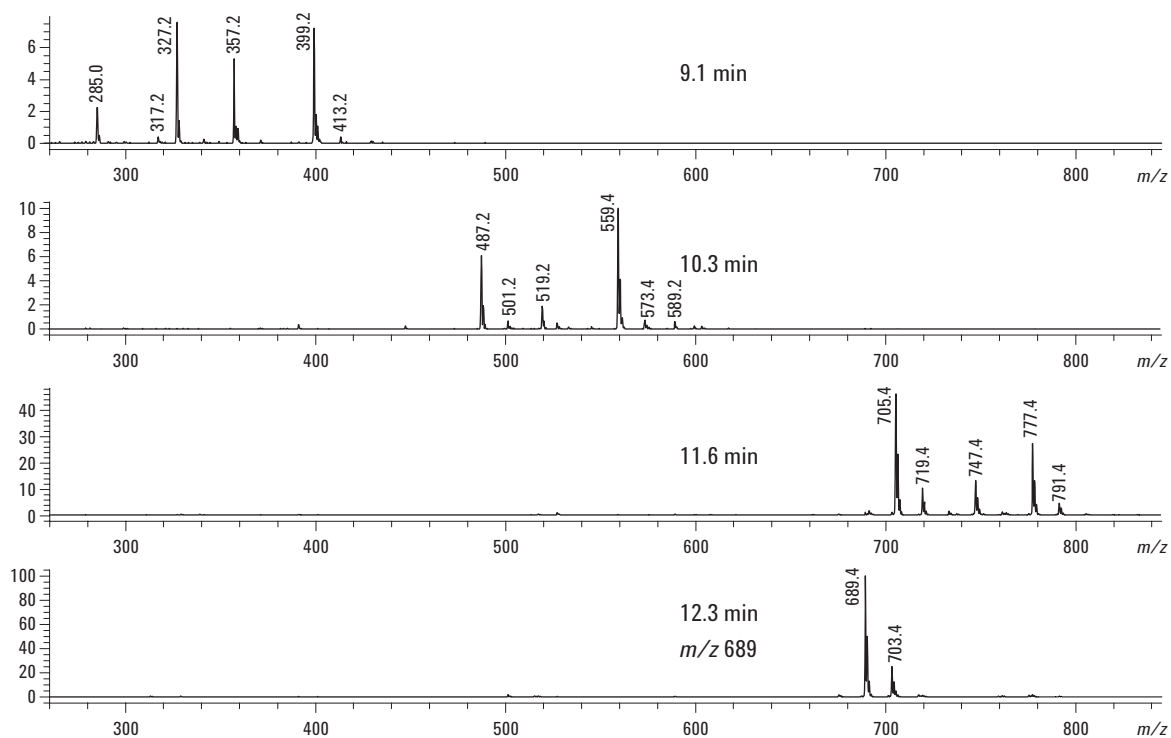


图 14. Naugard P 的萃取正离子质谱图。

同样，图 15 显示的负离子裂分模式有助于通过显示烷基链或 P-O 键的差异进行这种研究。

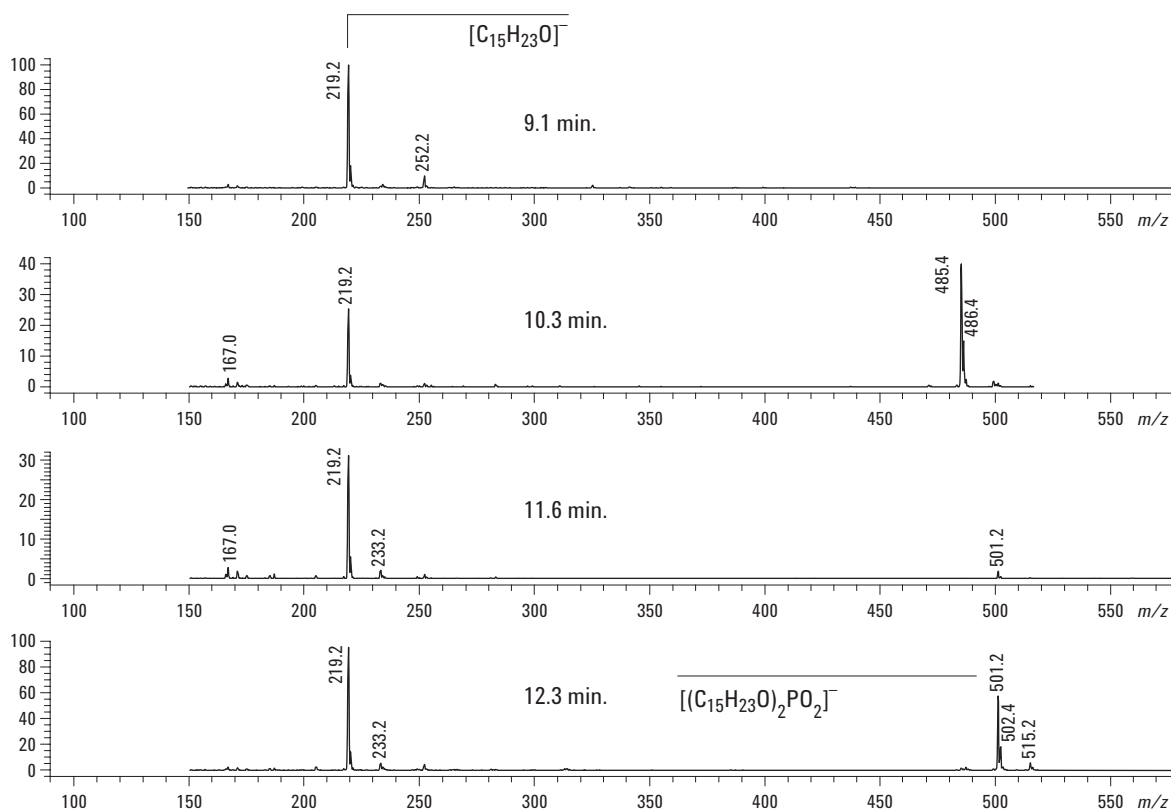


图 15. Naugard P 的负离子模式下的萃取离子质谱图。

我们收到几个含有聚合物添加剂的未知样品。将其配制成溶液，与各种的已知的抗氧化剂和其他添加剂标准品一起进行了分析。在所有被分析的标准品中，Naugard P的色谱图，如图16所示，与未知物最为匹配。下面进行另外的质谱图研究。

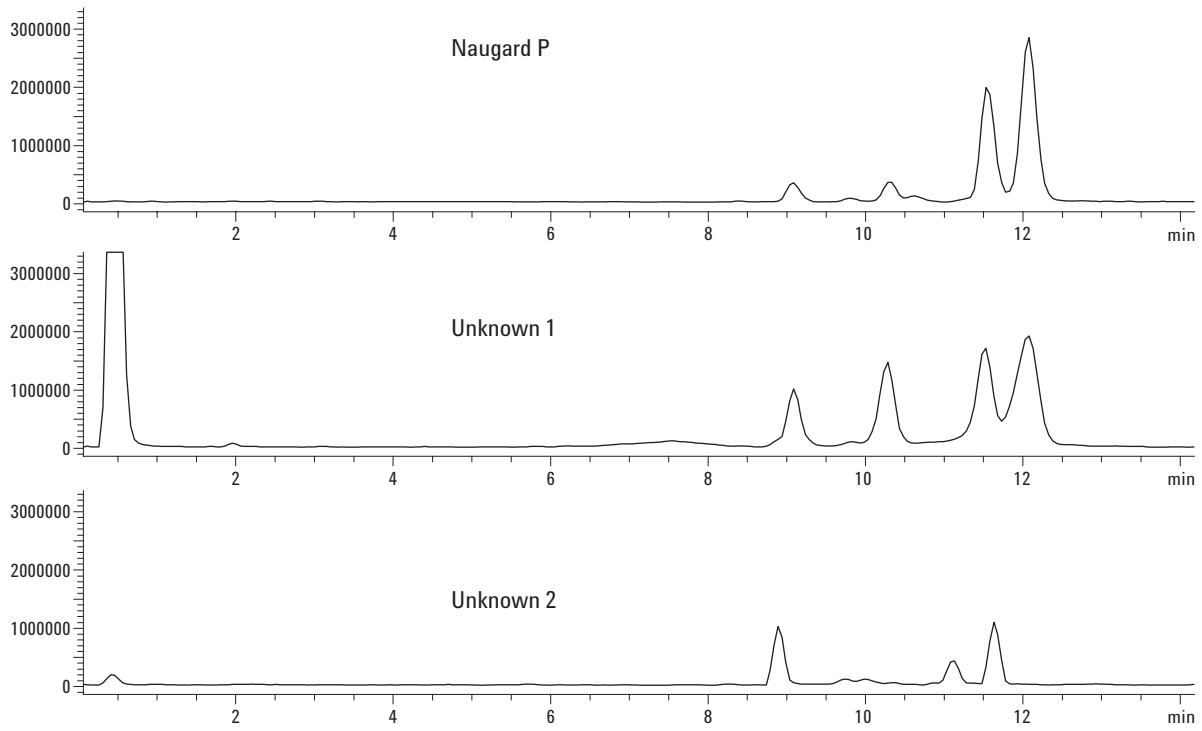


图 16. Naugard P 和两个未知物的总正离子色谱图的比较。

图 17 所示的这些相同样品的 UV 光谱图是相似的，尽管仍然有许多芳香化合物（具有少量的环取代基）的一般特征。这些数据很有用，但不能据此作出决定性的结论。

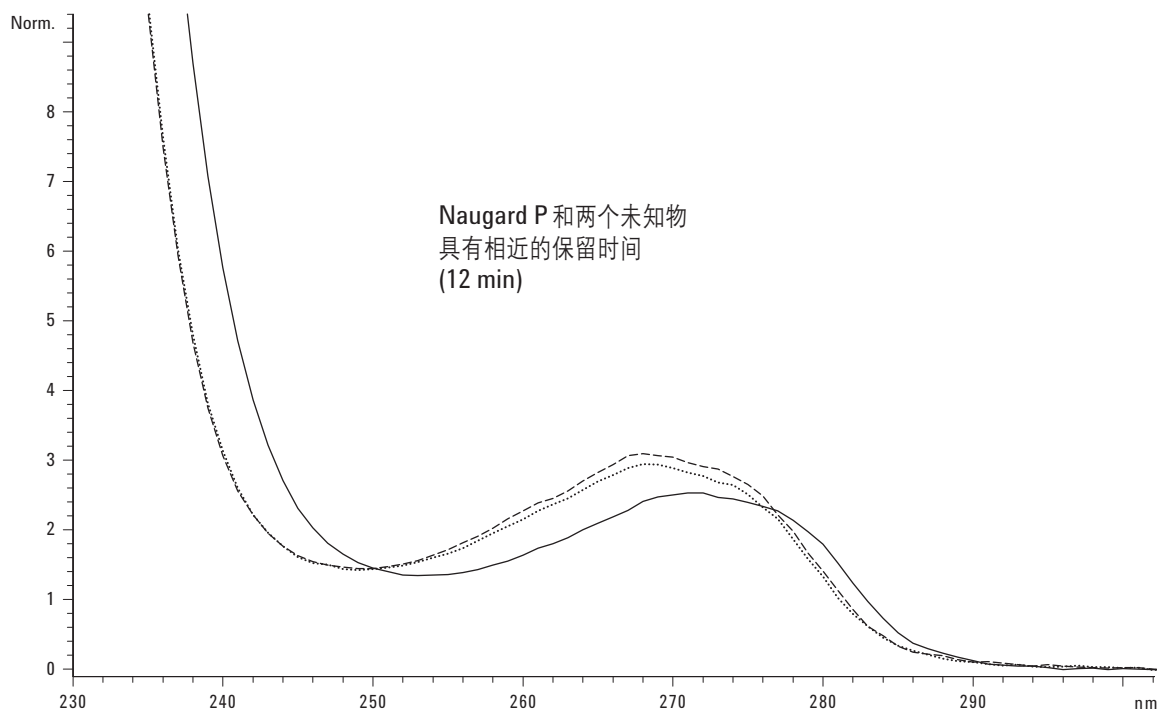


图 17. Naugard P 和两个未知物的 UV 光谱图。

图 18 所示的未知物 1 的正离子质量谱图与 Naugard P 的正离子质量谱图非常匹配，比标准品具有稍微多一些的烷基变化。这可能是另一批号的 Naugard P 或来自另一个供应商的产品。未知物 2 在 m/z 647 处具有基本的正离子，这很可能是因为与 Naugard P 的烷基链 C_9H_{19} 相比，未知物具有较短的烷基链 C_8H_{17} 。

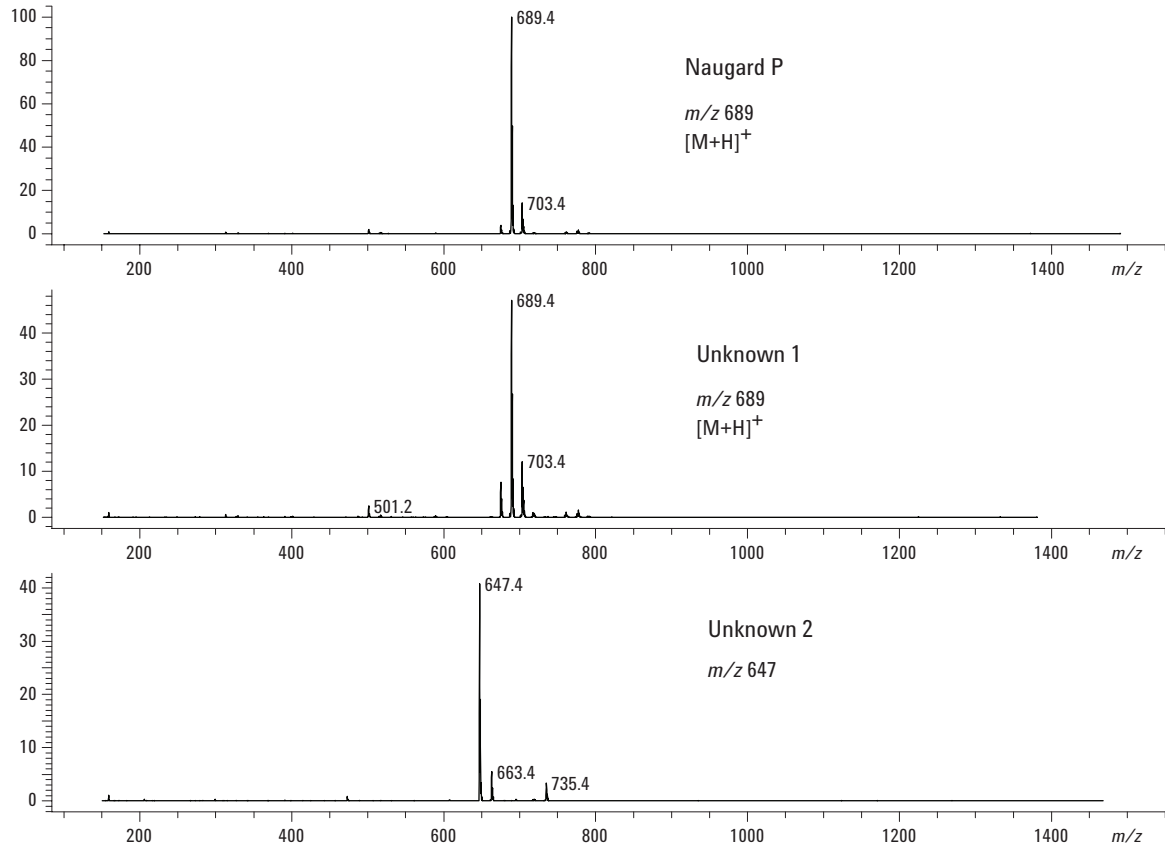


图 18. Naugard P 和两个未知物的正离子质谱图

在负离子质谱图中,我们看到在未知物1与Naugard P的相似处,以及与未知物2的明显不同之处。从前面的讨论中,我们知道Naugard P在负离子模式下高度碎裂,负离子质谱图应该非常有助于支持我们从正离子质谱图得到的最初想法。参见图 19。

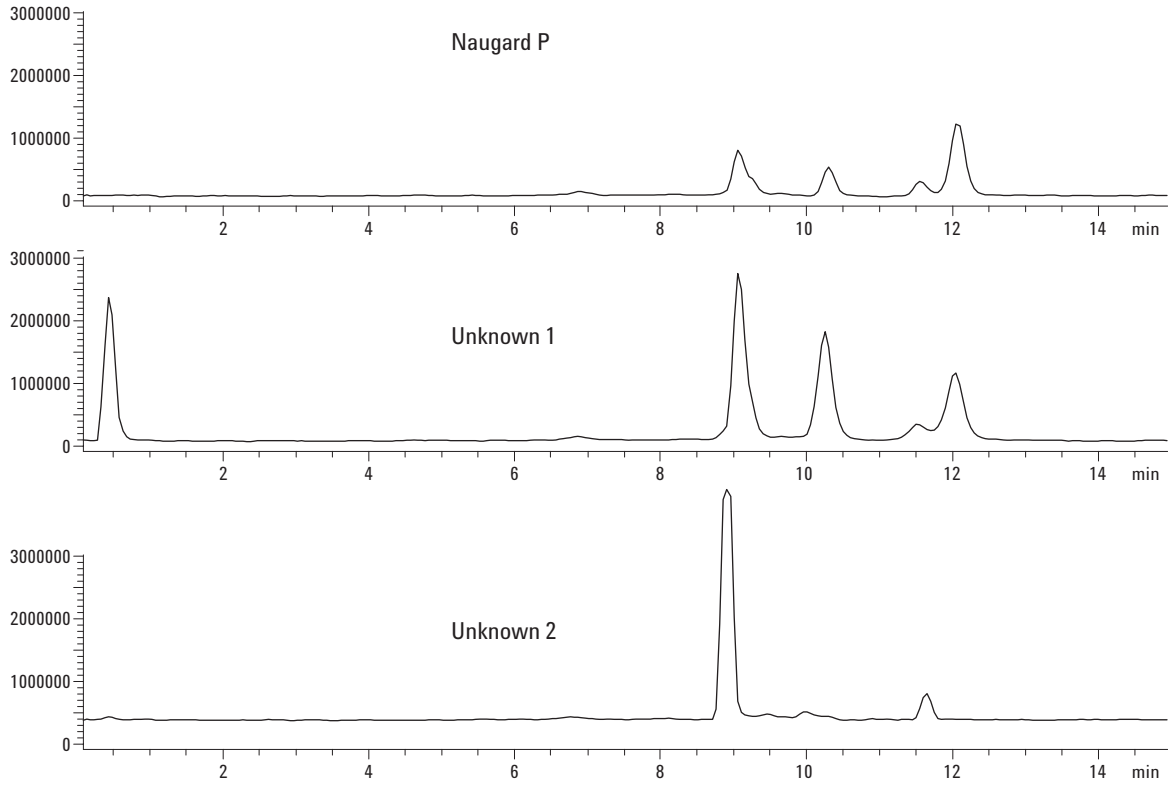


图 19. Naugard P和两个未知物的总负离子色谱图的比较。

Naugard P 的负离子质谱图与未知物 1 的负离子质谱图匹配得很好，这可能提供关于化学鉴定和结构细节的有力支持。但是，未知物 2 的质谱图上 m/z 473 与 m/z 501 碎片相比少 2 个 CH_2 ， m/z 205 碎片比 m/z 219 碎片少 1 个 CH_2 ，参见图 20。这强力支持从正离子数据得到的结构推断，并允许我们得出结论：虽然类似于 Naugard P，但它是另一个特定的产品，其结构最有可能是 $(\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}_8\text{H}_{17}-\text{O})_3\text{P}$ 。

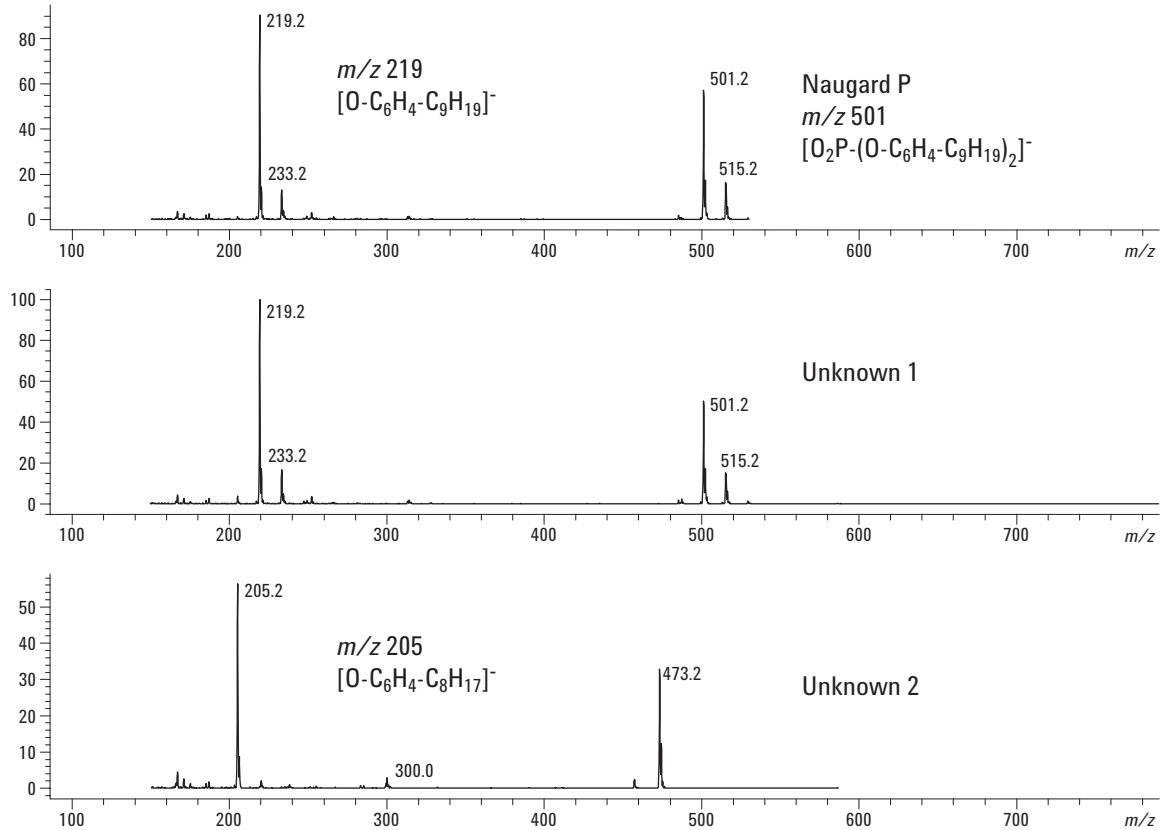


图 20. Naugard P 和两个未知物的负离子碎片质谱图。

结论

- 带有紫外/可见光检测器和质谱检测器的液相色谱是进行化合物分析和鉴定的一种强有力方法。
- 流动相条件影响所采集数据的质量和可用性。
- 利用质谱的数据进行未知物的鉴定
- 可以快速评价添加剂的降解,以便为更佳性能优化产品配方。

如需详细信息

如需得到有关我们产品和服务的详细信息,请访问我们的网站 <http://www.agilent.com/chem>

安捷伦将对在此材料包含的错误或与本材料的供应、性能或使用相关的损失不承担责任。

本出版物的信息、说明和规格如果变更,恕不另行通知。

安捷伦公司版权所有 © 2003

2003年3月17日中国出版
出版号 5988-8610CHCN