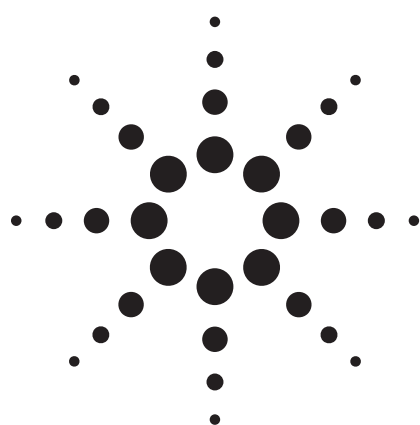


液相色谱/四极杆-飞行时间质谱(LC/Q-TOF) 分析环境化合物 第一部分：染料及颜料



应用报告

环境

作者

Jim Lau, Chin-Kai Meng, and Jennifer Gushue

Agilent Technologies, Inc.

2850 Centerville Road

Wilmington, DE 19808

USA

Vimal Balakrishnan and Mehran Alaei

Environment Canada

Aquatic Ecosystem Protection Research Division

867 Lakeshore Road

Burlington, ON, L7R 4A6

Canada

摘要

染料/颜料的生产分布在世界范围内，每年的产量约 10,000 吨。大约 10% 的染料/颜料以某种形式（原始化合物和降解产物）进入到环境中。染料/颜料已经被加拿大政府环保部定为优先监测物质。目前环境中存在大量的染料/颜料。液相色谱/四极杆-飞行时间质谱(LC/Q-TOF) 是化合物扫描鉴定的最佳技术。

液相色谱/四极杆-飞行时间质谱(LC/Q-TOF)具有优异的一级质谱和二级质谱质量精确度(< 3 ppm)，具有最高的结构确认能力和可信度。

前言

在过去，环境分析的主要手段是气相色谱、气质联用和其它手段。那时，液质联用技术对于那些化合物的分析灵敏度和可靠性都不尽如意。今天，由于液质联用技术的提高，它们已经成为环境应用中监测有害物质的常用技术，例如三重串联四极杆液质联用仪用于化合物的定性定量分析。

随着液质新技术的出现和性能的提高，能够检测出更多的化合物（包括新兴的化合物）。环境有机物分析分为三类：

1. 已知化合物：目标化合物是已知的（例如，三重串联四极杆用于目标化合物分析）
2. 有限的未知化合物：知道样品中存在某些化合物，但是不知道这些化合物是什么（例如，代谢物、降解物或者特征形态/丢失）
3. 完全未知化合物：不知道化合物是什么，也不知道样品中是否存在

三重串联四极杆质谱适合于第一类。然而四极杆-飞行时间质谱(Q-TOF)适合于第二类和第三类，因为这些化合物是需要鉴定的。四极杆-飞行时间质谱(Q-TOF)的精确质量数功能及相应的数据库可以被用于化合物的发现和鉴定。四极杆-飞行时间质谱(Q-TOF)的二级质谱则可以用于结构的进一步确证。



Agilent Technologies

加拿大环保部的任务是进行各种污染物对环境影响的危险评估分析[1,2]。染料/颜料在世界范围内都有生产, 每年约 10, 000 吨。大约 10% 的染料/颜料以某种形式(原始化合物和降解产物)进入到环境中。尽管环境中许多种染料/颜料, 但是相应的对照品却不多。一些标准品可以生产, 但是首先要鉴定和表征样品中的化合物。

本研究说明了高质量精确度以及四极杆-飞行时间质谱(Q-TOF)精确质量数产生准确匹配的化学分子式的能力。除此之外, 精确质量数的二级质谱被用于结构的确认分析。

实验部分

样品

本文中研究的两类染料/颜料分析是偶氮染料和蒽醌类染料。

被分析的化合物是: 酸性兰 80(Acid Blue 80)、酸性兰 129(Acid Blue 129)、苏丹绿 3(Sudan Green 3)、甲苯胺红(Toluidine Red)和苏丹红 III (Sudan III)。

仪器参数

所有的样品都是在 Agilent 1200 SL 型高分离度快速液相色谱/6520 四极杆-飞行时间质谱(Q-TOF)上进行的。

质谱的参数都是以自动调谐得到的。测量了每个组分的质量精确度、灵敏度和分离度。但是针对喷雾的形式、液相色谱流速和样品的热稳定性, 对离子源的条件做了优化。

流动相 A	5 mM 醋酸铵, pH 4 的水溶液
流动相 B	甲醇
色谱柱	ZORBAX XDB 2.1 x 50 mm, C-18, 3.5 μ m 粒径
流速	0.5 mL/min
质谱	2 张谱图/秒 50–1100 m/z
正离子模式内标离子	m/z 121, 922
负离子模式内标离子	m/z 113, 1034
自动质谱/质谱	2 张谱图/秒扫描和 2 张谱图/秒质谱/质谱扫描
Q-TOF 参数	全自动调谐
干燥气	13 L/min 氮气, 300 °C
雾化器压力	50 psi
电喷雾正离子模式 (+)	3 KV
碰撞诱导解离电压	140 V

结果与讨论

利用 Q-TOF 检索化合物的方式之一是直接输入化学分子式。化学式可以以单个或一组的形式输入到 CSV 格式的数据库中(见图 1)。数据包括化合物名、化合式和精确质量数。化合物的保留时间是一个选项, 但是有助于提高结果可信度。图 2 显示了在 ± 5 ppm 区间里得到的 5 个匹配结果的质谱图。质子化离子会自动以化学式标记。表 1 是本方法研究的 5 个化合物分析结果的质量精确度。所有的质子化离子和加钠离子的质量精确度都在 3 ppm 内。

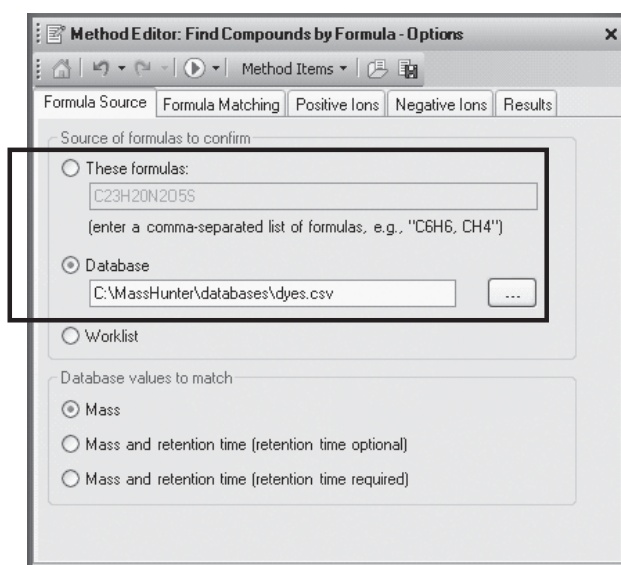


图 1. 利用手动输入化学式或者化学式数据库方式检索 Q-TOF 数据之后的结果

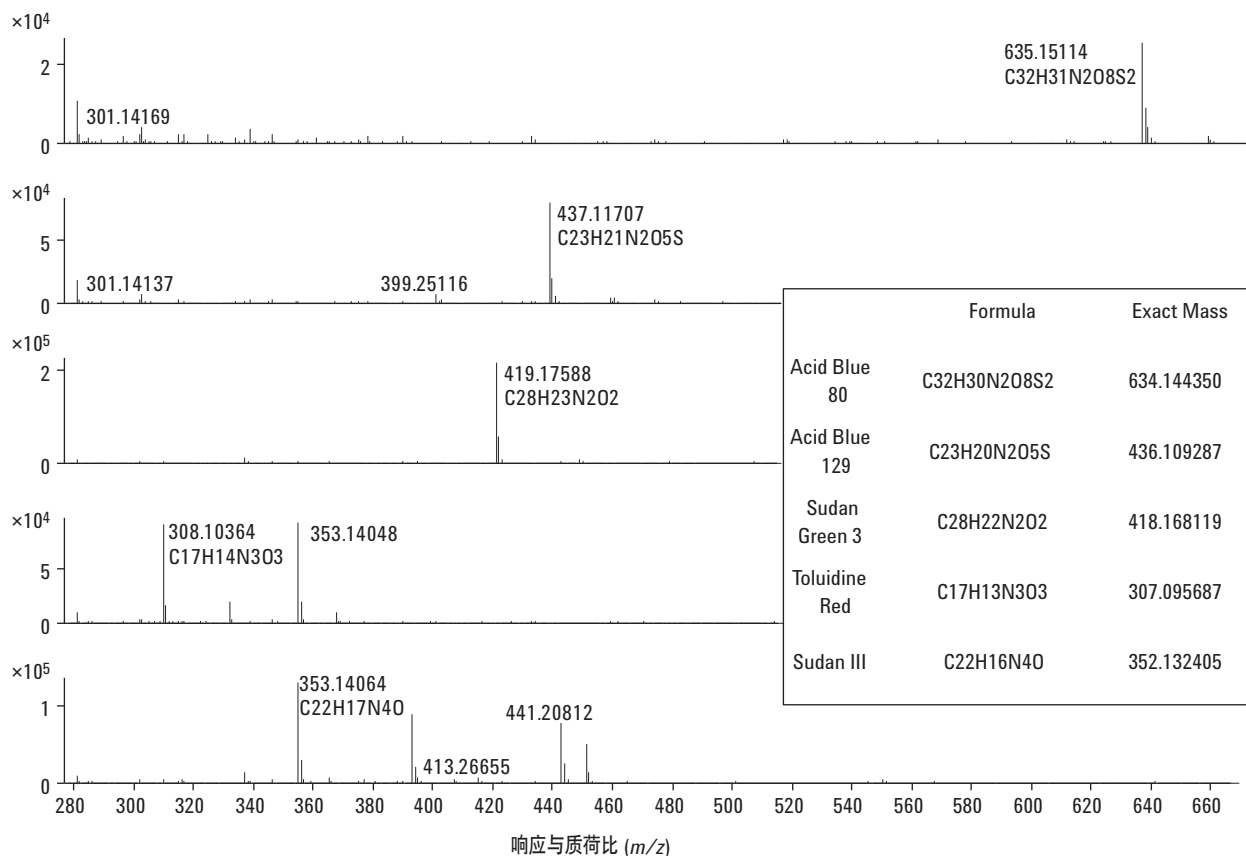


图2. 化学式数据检索之后找到的5个染料化合物

表1. 5个组分的质量精确度

	化学式	精确质量数	浓度 (甲醇溶液)	MH ⁺	MNa ⁺
酸性兰 80	C ₃₂ H ₃₀ N ₂ O ₈ S ₂	634.144350	10 mg/L	0.33 ppm	0.40 ppm
酸性兰 129	C ₂₃ H ₂₀ N ₂ O ₅ S	436.109287	10 mg/L	-1.13 ppm	-0.73 ppm
苏丹绿 3	C ₂₈ H ₂₂ N ₂ O ₂	418.168119	10 mg/L	-1.65 ppm	-0.97 ppm
甲苯胺红	C ₁₇ H ₁₃ N ₃ O ₃	307.095687	10 mg/L	-2.39 ppm	-1.69 ppm
苏丹红 III	C ₂₂ H ₁₆ N ₄ O	352.132405	10 mg/L	-2.89 ppm	-1.28 ppm

另外一种检索化学组分的方式是利用分子特征提取(MFE)。此功能着眼于离子特征并从总离子流图中将化合物提取出来。图3是总离子流图的叠加图,通过分子特征提取(MFE)计算,筛选出18个化合物(信号响应大于100)。为了对每一个化合物进行定性,所有的化合物都在精确质量数数据库的基础上进行检索。图4显示了数据库检索结果,18个化合物的5个组分符合要求。图5是Mass Hunter软件的屏幕拷贝,显示了5个化合物与该数据库匹配。发现的5个组分的两个都被鉴定为苏丹红III虽然保留时间,但

具有非常相似的质谱图。通过点击Mass Hunter软件内部的热链接,可以利用在线的其它数据库进行进一步的检索和确认。图6是苏丹红III在线ChemID数据库检索的结果,发现苏丹红III有两个位置异构体,其二级质谱相似,以及四个异构体,不仅位置不同,其二级质谱差异也很明显。图7是利用相关数据质谱/质谱模式采集的谱图,碎片离子和丢失的中性分子基团的化学式也被自动计算出来。两个峰的碎裂特征一致,最后确认两个化合物是苏丹红III的异构体。

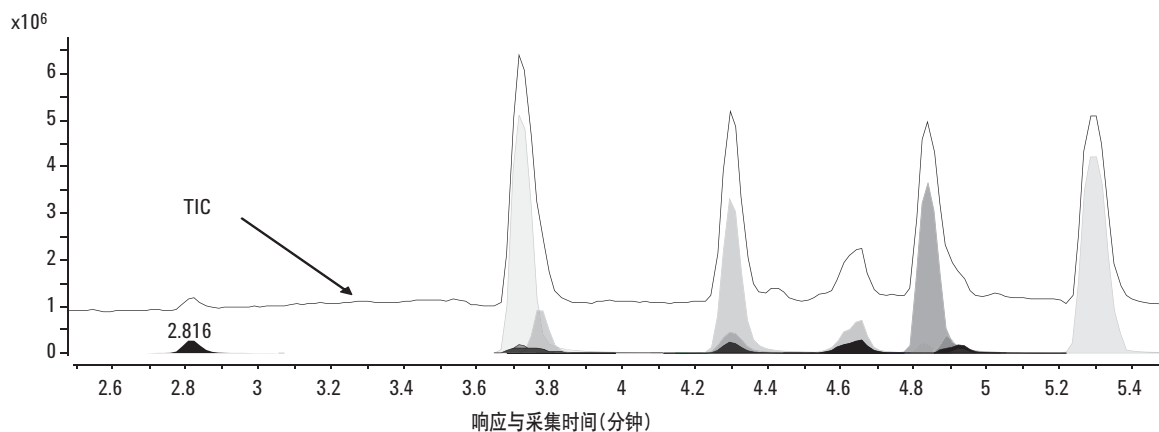


图3. 总离子流图的叠加图和分子特征提取色谱图。在响应大于 100 的阈值下，发现 18 个峰

Compound List						
Name	RT	Mass	DB Formula	DB Diff (ppm)	Height	
Cpd 1: Acid Blue 129	2.816	436.10981	C23H20N2O5S	-1.19	175661	
Compound 2	3.72	307.25877			178040	
Cpd 3: Toluidine Red	3.722	307.0967	C17H13N3O3	-3.27	3385650	
Compound 4	3.733	329.07803			96154	
Cpd 5: Sudan III	3.775	352.13362	C22H16N4O	-3.44	739956	
Compound 6	4.299	232.1104			204562	
Compound 7	4.3	334.2155			2067458	
Compound 8	4.3	148.01592			191203	
Compound 9	4.301	392.26843			364637	
Compound 10	4.622	329.10603			141919	
Compound 11	4.641	420.29968			210481	
Compound 12	4.642	362.24654			471542	
Compound 13	4.83	390.27811			156716	
Cpd 14: Sudan III	4.84	352.13377	C22H16N4O	-3.86	2430832	
Compound 15	4.893	440.2012			281429	
Compound 16	4.921	390.27759			128443	
Compound 17	4.928	157.05266			100077	
Cpd 18: Sudan Green	5.296	418.16943	C28H22N2O2	-3.12	2842571	

图4. 数据库检索发现 5 个化合物

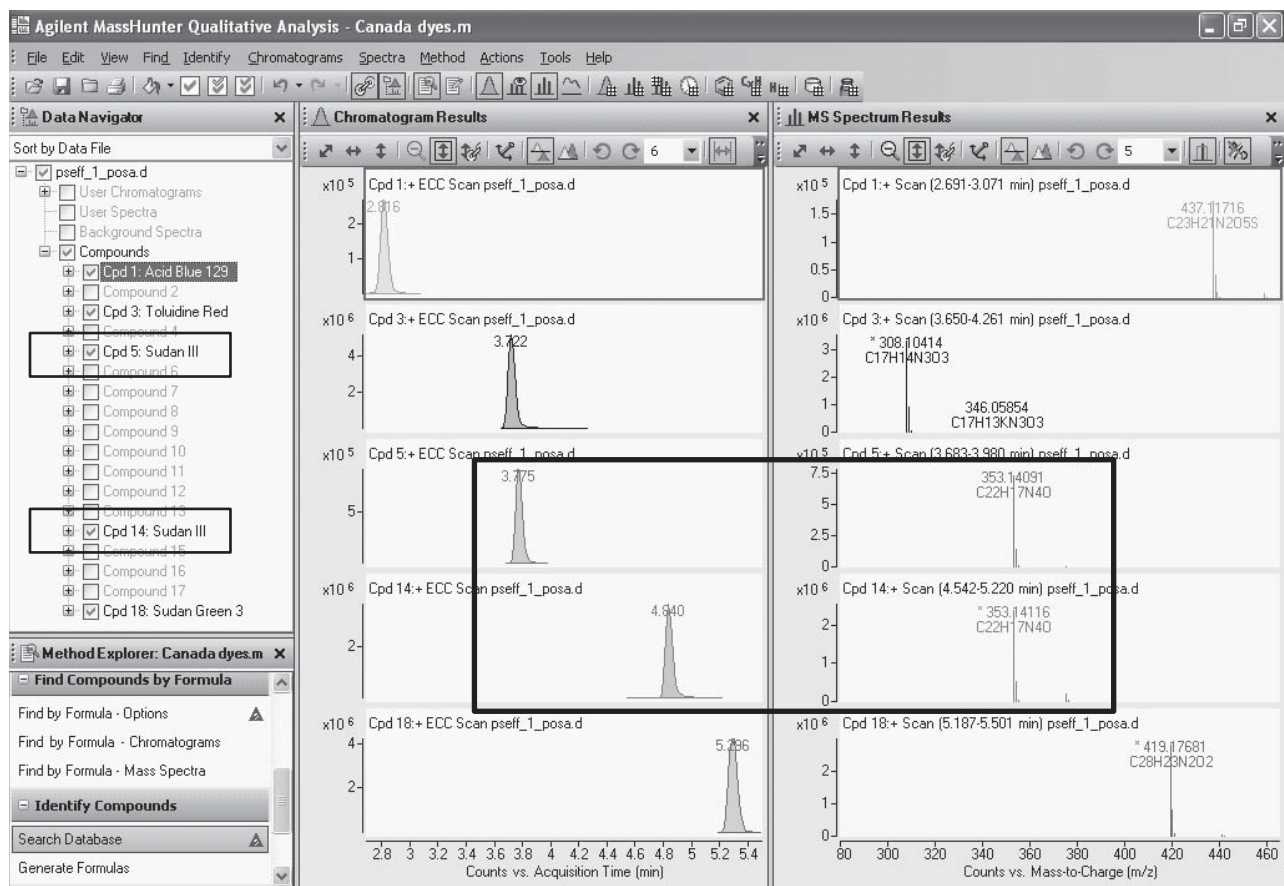


图5. Mass Hunter 软件经过数据库检索之后的 5 个化合物的结果

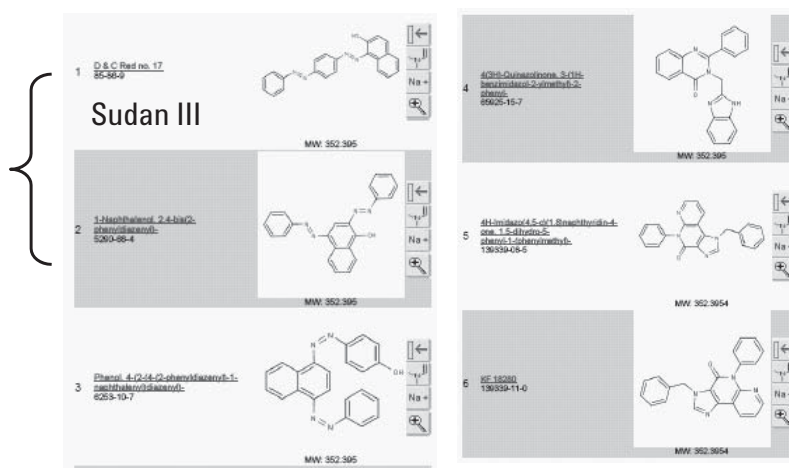


图6. 在线 ChemID 数据库的检测结果，苏丹红 III

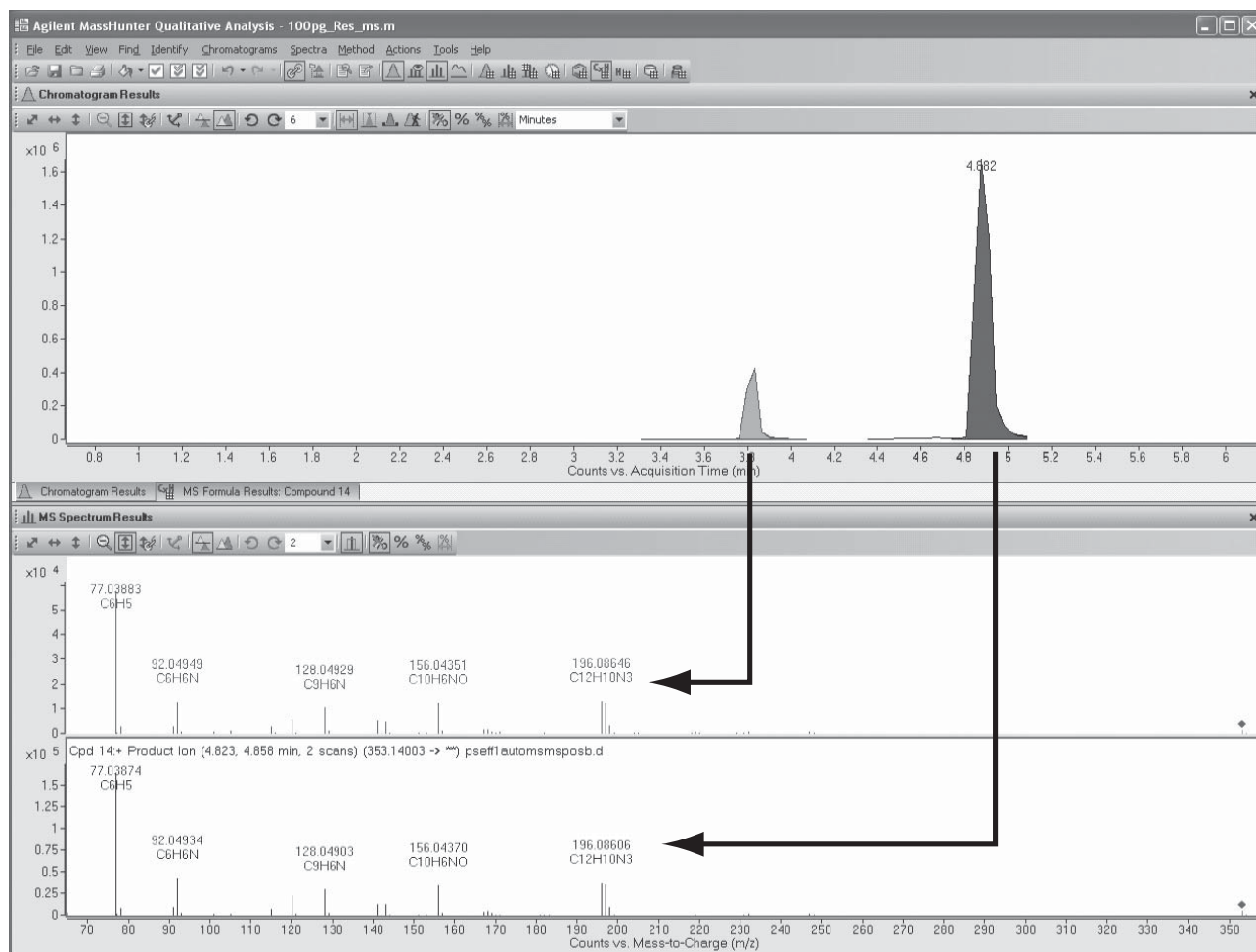


图7. 数据相关二级质谱的结果显示两个组分的碎裂方式一致，证明是苏丹红 III 的异构体

结论

- 样品的化合物可以通过化学式检索或者分子特征提取(MFE) 被发现，一次可以分析不限数量的化合物。
- 对于 5 个染料化合物，其优异的质量精确度 (< 3 ppm)显著提高结果可信度（生成化学式和化合物确认）。
- Q-TOF 的二级质谱可以用于确认离子特征和化合物结构，对未知化合物的最后确认极有帮助。
- Mass Hunter 软件中的热链接功能可以进行常见在线数据的快速检索。

参考文献

1. Jim Lau, Chin-Kai Meng, Jennifer Gushue, Robert J. Letcher, and Shaogang Chu, “Analyzing Compounds of Environmental Interest Using an LC/Q-TOF – Part 2: Fluorotelomer Unsaturated Acids,” Agilent Technologies publication 5989-9132, August 2008.
2. Jim Lau, Chin-Kai Meng, Jennifer Gushue, Mark Hewitt, and Suzanne Batchelor, “Analyzing Compounds of Environmental Interest Using an LC/Q-TOF – Part 3: Imidacloprid and Manool,” Agilent Technologies publication 5989-9129, August 2008.

更多信息

要了解有关我们产品和服务的更多信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦对本资料中出现的错误, 以及由于提供或使用本资料所造成的相关损失不承担责任。

本资料中涉及的信息、说明和指标, 如有变更, 恕不另行通知。

©安捷伦科技版权所有, 2008 年

中国印刷
2008 年 8 月 12 日
5989-9336CHCN



Agilent Technologies