

Recherche de composés organiques semi-volatils (COSV) dans des particules d'aérosol à l'aide du GC/Q-TOF série 7200 d'Agilent.

Note d'application

Environnemental

Auteurs

Tingting Xu et Xiang Li
Université Fudan
Shanghai, Chine

Shifen Xu
Agilent Technologies (Shanghai) Co., Ltd.
Shanghai, Chine

Kai Chen
Agilent Technologies Inc.
Santa Clara, CA, États-Unis

Résumé

La composition des composés organiques absorbés dans les particules d'aérosols peut fournir des informations importantes pour l'étude de la pollution de l'air causée par les aérosols. Le mode d'ionisation par impact électronique (EI) associé au balayage complet de masses précises du GC/MS Q-TOF série 7200 d'Agilent, et aux outils logiciels MassHunter d'Agilent, a permis de mettre en œuvre un processus permettant de trouver une large gamme de composés inconnus dans un extrait particulaire complexe. Le mode EI-MS/MS est utilisé pour étudier la structure des composés inconnus en se basant sur les masses précises obtenues pour les ions produits issus des ions précurseurs sélectionnés.



Agilent Technologies

Introduction

Les structures moléculaires des composés organiques semi-volatils (COSV) sont très variées et corrélées à la formation des aérosols particulaires et à leurs effets sur la santé [1,2]. En raison de l'intérêt croissant pour la pollution par les aérosols à petites particules, et à l'augmentation de la diversité des composés organiques absorbés, le dépistage des COSV est devenu une tâche plus complexe et plus exigeante qu'auparavant, nécessitant d'améliorer encore la sélectivité et la sensibilité, et d'utiliser un traitement des données adaptés à la recherche de composés inconnus

L'utilisation d'une approche d'identification par masse précise des composés organiques contenus dans les particules d'un aérosol, à l'aide de la spectrométrie de masse à quadripôle + temps de vol (Q-TOF) donne des résultats plus fiables et permet le dépistage simultané d'un nombre potentiellement illimité de COSV. Elle représente un outil analytique idéal pour dépister et confirmer la présence de composés ciblés et inconnus dans des extraits d'aérosols particulaires complexes.

Cette note d'application présente un processus de dépistage de COSV inconnus absorbés dans des aérosols particulaires à l'aide du GC/Q-TOF à haute résolution série 7200 d'Agilent. Les composés et leurs spectres de masse sont obtenus après déconvolution des courants ioniques et identifiés grâce à la bibliothèque de spectres de masse nominale NIST. Les masses précises des ions moléculaires et fragments ont été utilisées pour la confirmation de la formule du composé. De plus, le système de GC/Q-TOF peut être utilisé en mode MS/MS pour explorer la structure de composés inconnus.

Données expérimentales

Instruments

Cette étude a été réalisée à l'aide d'un GC Agilent série 7890B couplé à un Q-TOF Agilent série 7200A. La configuration de l'instrument est présentée dans la Figure 1 et les conditions d'analyse de l'instrument dans le Tableau 1. Le logiciel du GC a permis le calage des temps de rétention (RTL) des composés à rechercher et extraits de la base de données MRM d'Agilent de pesticides et polluants environnementaux (P&EP) version 3.0 (réf. 9250AA). La méthode chromatographique à débit constant et rétrobalayage mi-colonne est aussi fournie avec cette base de données.

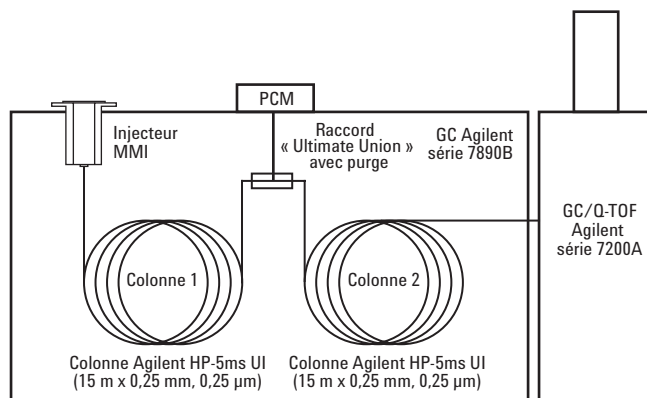


Figure 1. Configuration du GC/Q-TOF Agilent série 7200 montrant le rétrobalayage mi-colonne. Le GC Agilent série 7890B était couplé au Q-TOF Agilent série 7200A.

Tableau 1. Paramètres du GC série 7890B et du spectromètre de masse GC/Q-TOF série 7200A d'Agilent.

Paramètres GC	
Colonnes	Agilent HP-5ms UI 15 m x 0,25 mm, film de 0,25 µm (x 2)
Gaz vecteur	Hélium
Débit colonne 1	1,0 mL/min
Débit colonne 2	1,2 mL/min
Température de l'injecteur	280 °C
Mode d'injection	Sans division (splitless)
Volume d'injection	2 µL
Programme de température du four	60 °C pendant 1 minute, 40 °C/min jusqu'à 120 °C, 0 minutes, 5 °C/min jusqu'à 310 °C, 10 minutes
Temps d'analyse	50,5 minutes
Rétrobalayage	5 minutes (postanalyse)
Température de la ligne de transfert	310 °C
Paramètres MS Q-TOF	
Mode d'ionisation	EI
Température de la source	300 °C
Température du quadripôle	180 °C
Gamme de masse	50 à 500 uma
Vitesse d'acquisition des spectres	5 Hz, en modes centroïde et profil

Préparation d'échantillons

Des particules d'aérosol (PM2.5) ont été recueillies sur des filtres de fibres en quartz (QFF, Whatman, 5 x 8 pouces) à l'aide d'échantillonneurs (Guangzhou, Chine) filtrant l'air à un débit de 300 L/min. Les QFF ont été équilibrés à 20°C et 40 % d'humidité relative (RH) pendant 24 heures avant et après l'échantillonnage, dans une enceinte en salle blanche contrôlée. La masse des particules recueillies sur chaque QFF a été déterminée par pesée sur une microbalance électronique (Sartorius, IL, États-Unis) ayant une sensibilité de 0,001 mg. Les composés contenus par le filtre ont été extraits par Soxhlet avec 50 mL d'un mélange dichlorométhane/hexane (1:1, v/v) à 70 °C pendant 48 heures. L'extrait a ensuite été filtré. Après une première étape de concentration à l'aide d'un évaporateur rotatif, l'extrait a été encore concentré à 2 ml à l'aide d'un courant d'azote pur et le solvant remplacé par de l'hexane.

Traitement des données

Les données ont été traitées par déconvolution des pics chromatographiques à l'aide de l'outil Unknowns Analysis du logiciel d'analyse quantitative MassHunter (B.07.01) d'Agilent, puis les composés ont été identifiés par comparaison des spectres avec ceux de la bibliothèque de spectres de masse NIST 14. De plus, l'identité des pics obtenus par déconvolution a pu être confirmée en utilisant les informations données par la précision en masse et les outils spécifiques associés du logiciel d'analyse qualitative MassHunter (B.07.01). Le logiciel

de corrélation de structures moléculaires Molecular Structure Correlator (MSC) a été utilisé pour étudier de manière plus approfondie les composés en cours d'identification.

Résultats et discussion

Déconvolution des pics chromatographiques et recherche en bibliothèque

Les données ont été traitées par déconvolution des pics chromatographiques à l'aide du logiciel Unknowns Analysis avec la fenêtre d'extraction de masse précise réglée sur 100 parties par million (ppm) et la fenêtre du facteur de temps de rétention variable réglée de 50 à 200 afin de détecter le plus grand nombre de composants possible (Figure 2). La comparaison à la bibliothèque NIST avec un facteur de correspondance > 50 a permis d'identifier environ 2 600 composés dont des alcanes, des hopanoïdes, des cétones, des hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH), des hydrocarbures aromatiques polycycliques oxygénés (O-PAH), des esters et des composés hétérocycliques. Le générateur de formules moléculaires (MFG) et les outils de calcul de formules (Formula Calculator) ont été utilisés pour confirmer l'identité de chaque composé détecté par déconvolution. À titre d'exemple, les résultats de dépistage des PAHs et O-PAHs sont présentés ci-dessous (Figures 3 et 4). Un processus similaire peut être utilisé pour le dépistage des composés des autres familles de molécules.

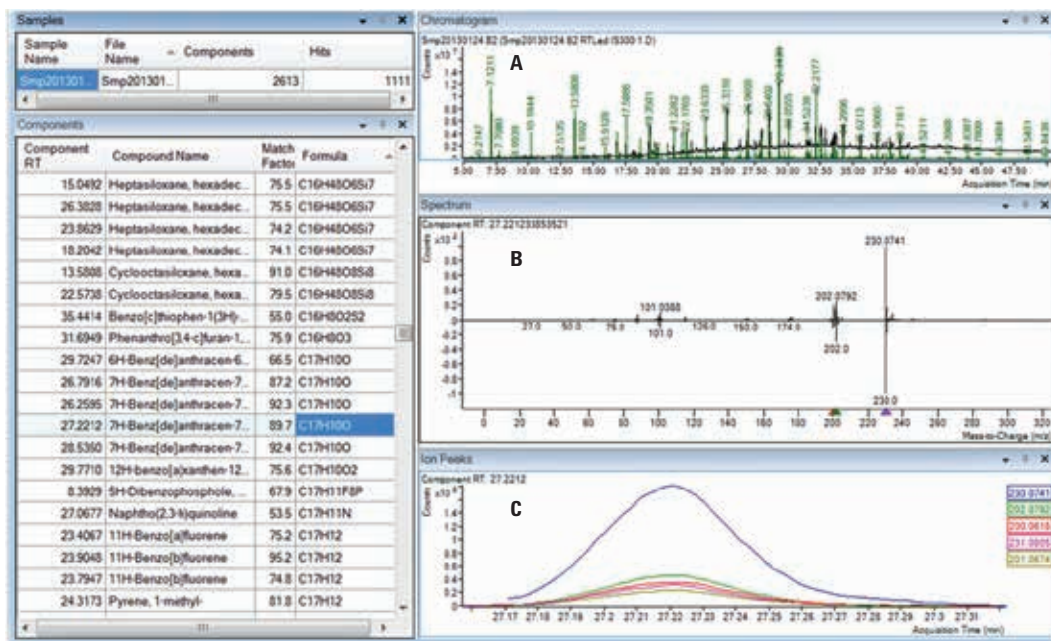


Figure 2. Le logiciel d'analyse Unknowns Analysis a été utilisé pour la déconvolution du chromatogramme. Sont illustrés : le chromatogramme d'ions totaux (TIC) (A), le spectre en miroir du composé et de sa correspondance en bibliothèque (B), et la superposition des chromatogrammes d'ions extraits (EIC) du composé (C).

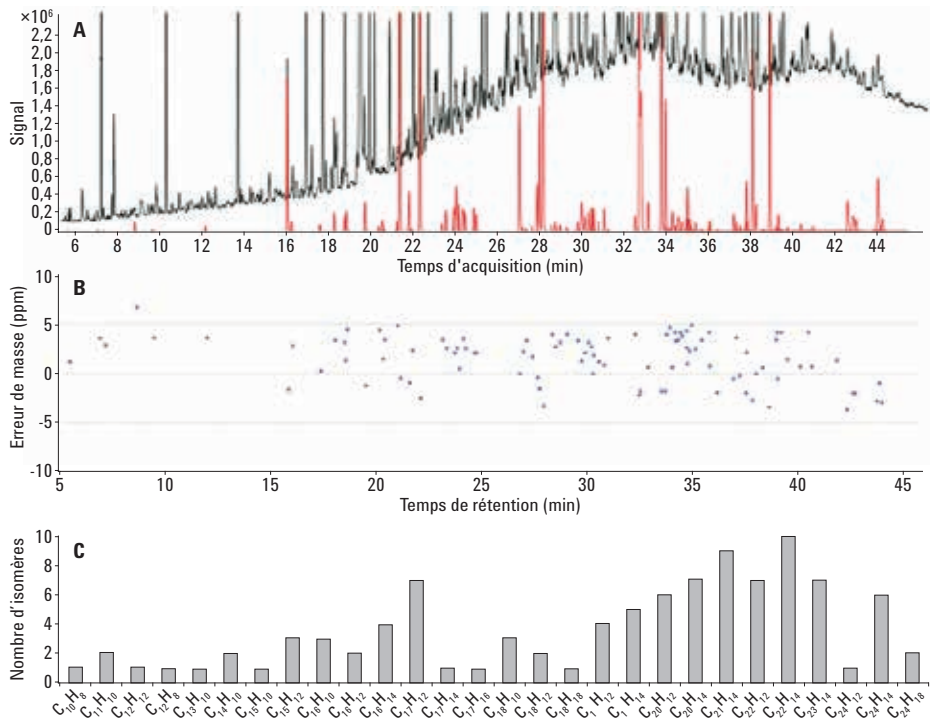


Figure 3. Résultats de dépistage des PAHs. Le chromatogramme (A) montre la superposition du TIC en noir et des profils des PAHs identifiés en rouge. En (B) les erreurs de masse pour les ions moléculaires des PAHs identifiés sont calculés par l'outil de calcul des formules (FC). La distribution des formules est montrée en (C).

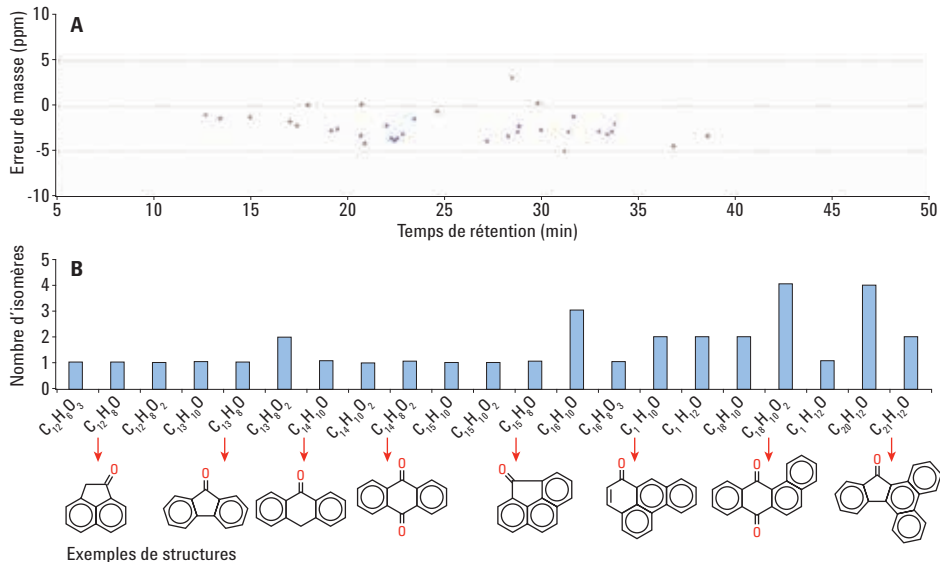


Figure 4. Confirmation de O-PAH à l'aide d'informations de précision en masse. Les erreurs de masse des ions moléculaires des O-PAHs identifiés calculés avec Formula Calculator sont montrées en A, et la distribution des formules et des exemples de structures sont montrés en B.

Identification des PAHs et O-PAHs

Unknowns Analysis a permis d'identifier un grand nombre de PAH coélusés dans un mélange complexe non résolu, comme illustré Figure 3. Les informations de masse exacte ont été utilisées pour confirmer l'identité d'environ 100 PAHs, avec des erreurs de masse inférieures à 5 ppm. La base de données MRM P&EP contient les temps de rétention (RT) pour plusieurs de ces PAHs ; elle a été utilisée en complément pour reconfirmer les composés détectés. Les différences de RT entre la base de données et l'échantillon étaient toutes inférieures à 0,03 minutes. Cette bonne correspondance des RT valide encore l'utilisation des informations de précision en masse en tant qu'outil de confirmation. La distribution des formules démontre le nombre important de PAHs différents dans l'extrait de particules d'aérosol, leur nombre de carbones varie de 10 à 28.

De la même manière, des O-PAHs ont également été identifiés dans l'extrait de particules d'aérosol et 34 composés ont été confirmés par les informations de masse exacte. La Figure 4 présente les erreurs de masse et la distribution des formules pour tous les O-PAHs identifiés. Les structures moléculaires de certains O-PAHs classiques sont également illustrées dans la Figure 4.

Structure d'un composé inconnu proposée par MS/MS

La déconvolution des pics chromatographiques a permis de détecter certains composés inconnus, comme illustré dans la Figure 5. La correspondance la plus proche pour ce spectre dans la bibliothèque NIST est l'antra[1,9-cd]pyrazol-6(2H)-one, dont la formule est $C_{14}H_8N_2O$. Toutefois, cette correspondance a pu être rejetée d'emblée sur la base de la précision en masse uniquement, car l'erreur pour l'ion moléculaire était de 48,62 ppm. Cela souligne l'avantage des spectres en masses précises du Q-TOF comparé aux spectres en résolution unitaire obtenus sur d'autres appareils.

Sur la base des informations de précision en masse, la formule proposée pour ce composé inconnu était $C_{15}H_8O_2$, avec une erreur de masse de 2,83 ppm. Cependant, la bibliothèque MS NIST ne contenait aucun composé ayant cette formule. Un des autres avantages du GC/Q-TOF 7200 est sa capacité à réaliser des expériences MS/MS en masse précise dont les résultats sont précieux pour l'élucidation des structures des composés inconnus.

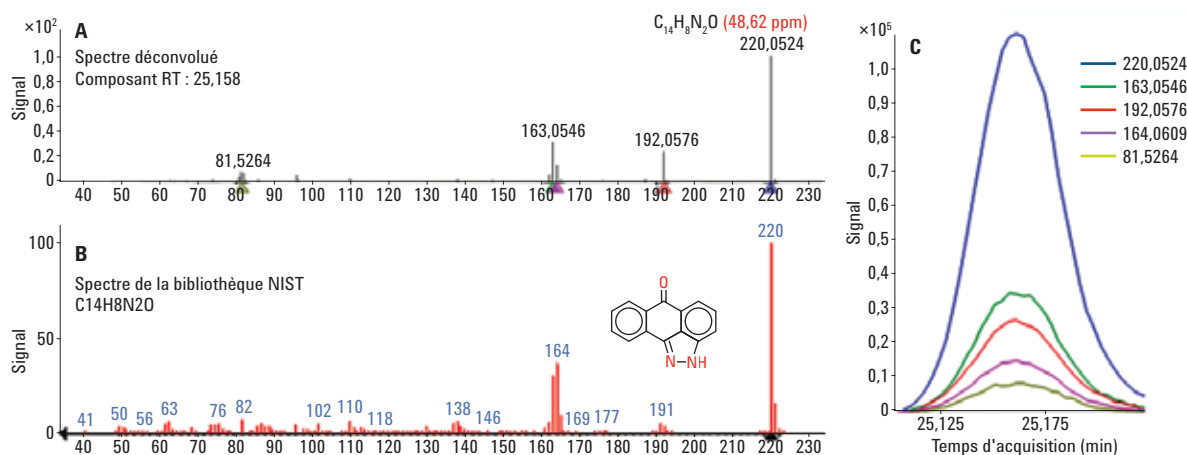


Figure 5. Comparaison du spectre de masse d'un composé inconnu et d'une possible correspondance dans la bibliothèque NIST (A, B). Ce profil de coélution de ces chromatogrammes d'ions déconvolués (C) confirment qu'ils correspondent tous au même composé. Toutefois, ce composé peut être rejeté d'emblée sur la base de la précision en masse uniquement, car l'erreur pour l'ion moléculaire est de 48,62 ppm.

La Figure 6 montre le processus utilisé en mode MS/MS à partir des fragments de masse exacte pour proposer la structure de ce composé inconnu. L'outil générateur de formules moléculaires (FG) a été utilisé pour attribuer une formule empirique à l'ion moléculaire et aux principaux ions fragments. Afin de proposer la structure de ce composé inconnu, le spectre a été importé dans le logiciel de corrélation de structures moléculaires (MSC) sous

forme d'un fichier CEF, puis MSC a permis de chercher dans la base de données ChemSpider tous les isomères de structures possibles. Bien que ce type de confirmation ne soit pas totalement dépourvu de risque d'erreur, elle fournit une information supplémentaire à cette tentative d'identification d'un O-PAH. La Figure 7 montre le mécanisme de fragmentation proposé sur la base des ions fragments répertoriés par le logiciel MSC.

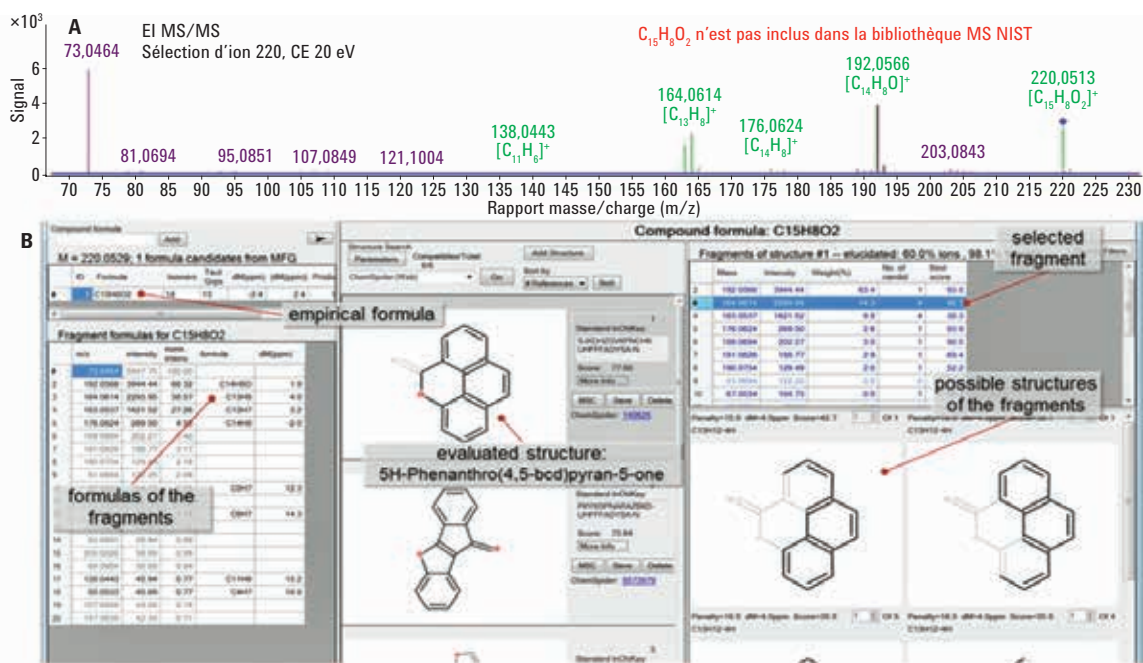


Figure 6. Formules empiriques engendrées à partir d'un spectre de MS/MS à l'aide de l'outil Formula Generator (A), et résultats d'élucidation des structures pour le composé de formule empirique C₁₅H₈O₂ à l'aide du logiciel MSC (B). Tous les ions fragments individuels sont classés selon l'erreur de masse correspondant à la formule proposée, avec une pénalité basée sur le nombre de ruptures de liaison nécessaires pour générer la formule proposée.

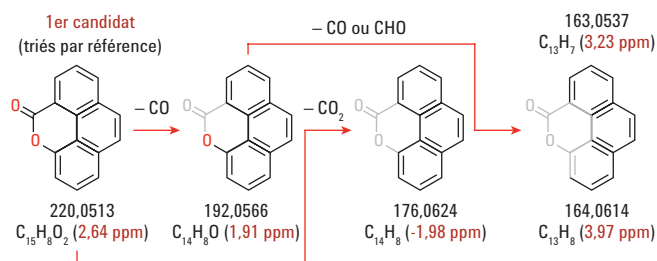


Figure 7. Mécanisme de fragmentation du candidat C₁₅H₈O₂ basé sur les fragments répertoriés dans le logiciel MSC.

Conclusion

Les nombreuses fonctionnalités du GC/Q-TOF Agilent série 7200, telles que les informations de masse précise, la sensibilité élevée en mode d'acquisition du spectre complet et les fonctionnalités MS/MS, permettent d'améliorer considérablement l'étude de COVS absorbés dans les particules d'aérosol. L'utilisation des différents outils du logiciel MassHunter d'Agilent, tels que la déconvolution, l'annotation automatique des ions fragments avec leurs formules brutes et l'élucidation des structures, a permis la mise en œuvre d'un processus d'identification de molécules inconnues lors d'un screening de COSY. L'identification des composés à partir de recherches dans des bibliothèques et les propositions de structures pour les composés inconnus représentent également des outils d'analyse importants.

Références

1. U. Pöschl. "Atmospheric aerosols: composition, transformation, climate and health effects" *Angew Chem. Int.*, Ed. **44**, 7520-7540 (2005).
2. L.B. Liu, *et al.* "Development of analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in airborne particulates: A review" *J. Environ. Sci. (Chine)*, **19**, 1-11 (2007).

Pour plus d'informations

Ces données représentent des résultats typiques. Pour plus d'informations sur nos produits et services, consultez notre site Internet sur www.agilent.com/chem.

www.agilent.com/chem

Agilent décline toute responsabilité en cas d'erreurs dans le présent document, ainsi qu'en cas de dommages fortuits ou consécutifs à la fourniture, aux performances ou à l'utilisation de ce matériel.

Les informations, descriptions et spécifications de cette publication peuvent être modifiées sans préavis.

© Agilent Technologies, Inc., 2016
Imprimé aux États-Unis
le 9 février 2016
5991-5899FR



Agilent Technologies