

# Скрининг малолетучих органических соединений на частицах аэрозоля с помощью квадрупольно-времяпролетного анализатора Agilent 7200 для ГХ

## Рекомендации по применению

Экологический контроль

### Авторы

Тинтин Сюй (Tingting Xu) и Сян Ли (Xiang Li)

Фуданьский университет,  
Шанхай, Китай

Шифен Сюй (Shifen Xu)  
Agilent Technologies (Shanghai) Co., Ltd.,  
Шанхай, Китай

Кай Чен (Kai Chen)  
Agilent Technologies Inc.,  
Санта-Клара, Калифорния

### Аннотация

Состав органических соединений, поглощенных частицами аэрозоля, является источником информации, важной для экологических исследований загрязнений воздуха аэрозолями. Совместное использование квадрупольно-времяпролетного масс-спектрометра с точным измерением масс Agilent 7200 для ГХ в режиме полного сканирования с ионизацией электронным ударом и программного обеспечения Agilent MassHunter позволило провести ненаправленный скрининг большого количества соединений в сложном экстракте частиц. Tandemная система МС-МС с ионизацией электронным ударом была использована для изучения структуры неизвестных соединений на основании точных масс фрагментов дочерних ионов.



**Agilent Technologies**

## Введение

Малолетучие органические соединения характеризуются широким диапазоном молекулярных структур и связаны с образованием частиц аэрозоля и их влиянием на здоровье человека [1, 2]. Загрязнение окружающей среды мелкими частицами аэрозоля и разнообразными поглощенными органическими соединениями становится все более заметной проблемой. Одновременно возрастает сложность скрининга малолетучих органических соединений: повышаются требования к селективности, чувствительности и ненаправленному рабочему процессу анализа данных.

Использование точных масс с применением квадрупольно-времяпролетной масс-спектрометрии при анализе органической составляющей частиц аэрозоля обеспечивает более надежную идентификацию и одновременный скрининг практически неограниченного количества малолетучих органических соединений. Такой подход является идеальным аналитическим инструментом для скрининга и подтверждения целевых и неизвестных соединений в сложных экстрактах частиц аэрозоля.

Данный обзор демонстрирует рабочий процесс скрининга малолетучих органических соединений, поглощенных частицами аэрозоля, с помощью квадрупольно-времяпролетного анализатора высокого разрешения Agilent 7200 для ГХ. Совпадения по соединениям были получены с помощью массовых спектров после деконволюции, поиск которых выполняли по библиотеке спектров номинальных масс NIST. Для подтверждения формулы соединения использовали точные массы молекулярных ионов и фрагментных ионов. Дополнительным преимуществом квадрупольно-времяпролетной системы для ГХ является возможность функционирования в режиме MS-MS для исследования структур неизвестных соединений.

## Экспериментальная часть

### Приборы

Настоящие исследования были проведены с помощью системы ГХ Agilent 7890В в сочетании с квадрупольно-времяпролетной системой Agilent 7200А. Конфигурация прибора представлена на рис. 1, а его параметры приведены в табл. 1. ГХ эксплуатировался с использованием функции блокировки времени удерживания (RTL) в режиме полного скрининга постоянного потока с обратной продувкой по достижении середины колонки, включенном в базы данных MRM для пестицидов и экотоксикантов (P&EP) версии 3.0 (кат. № 9250АА).

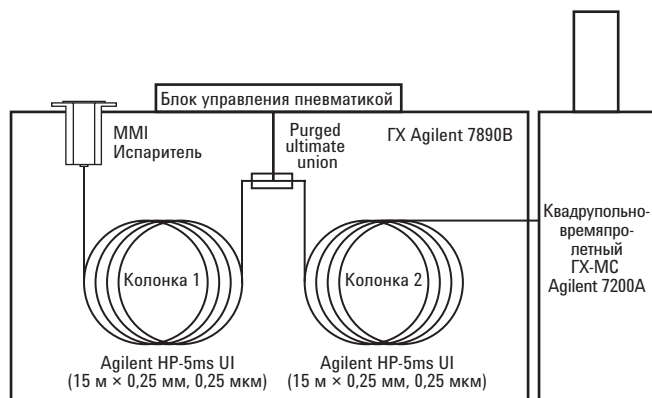


Рис. 1. Конфигурация квадрупольно-времяпролетного анализатора Agilent 7200 для ГХ с изображением обратной продувки по достижении середины колонки. ГХ Agilent 7890В был объединен с квадрупольно-времяпролетным анализатором Agilent 7200А

Таблица 1. Параметры ГХ Agilent 7890В и квадрупольно-времяпролетного масс-спектрометра Agilent 7200А для ГХ

Параметры ГХ	
Колонки	Agilent HP-5ms UI, 15 м × 0,25 мм, пленка 0,25 мкм (2 шт.)
Газ-носитель	Гелий
Поток колонки 1	1,0 мл/мин
Поток колонки 2	1,2 мл/мин
Температура испарителя	280 °С
Режим ввода	Без деления потока
Объем ввода	2 мкл
Режимы термостата	60 °С в течение 1 минуты, 40 °С/мин до 120 °С, 0 минут, 5 °С/мин до 310 °С, 10 минут
Время анализа	50,5 минуты
Обратная продувка	5 минут (после завершения анализа)
Температура транспортной линии	310 °С
Условия квадрупольно-времяпролетной масс-спектрометрии	
Режим ионизации	ЭУ
Температура источника	300 °С
Температура квадруполя	180 °С
Диапазон масс	от 50 до 500 m/z
Скорость сбора спектральных данных	5 Гц, сбор в центроидном и профильном режимах

## Пробоподготовка

Частицы аэрозоля (PM2.5) были собраны на кварцевых волоконных фильтрах (Whatman, 5 × 8 дюймов) с использованием пробоотборников (Гуанчжоу, Китай) при скорости потока 300 л/мин. Кварцевые волоконные фильтры уравнивали при температуре 20 °С и относительной влажности 40% в стерильном помещении с контролем температуры и влажности в течение 24 часов до и после отбора проб. Массу частиц на каждом кварцевом волоконном фильтре определяли по электронному микробалансу (Sartorius, Иллинойс, США) с чувствительностью 0,001 мг. Частицы экстрагировали с фильтра (половины) посредством экстрактора Сокслета с 50 мл смеси дихлорметан:гексан (1:1, об.) при 70 °С в течение 48 часов. Экстракт фильтровали посредством фильтровального устройства. После концентрации с помощью роторного испарителя выполняли дальнейшую концентрацию экстракта до 2 мл под струей чистого азота с заменой растворителя на *n*-гексан.

## Анализ данных

Данные обрабатывали посредством деконволюции хроматографических пиков с помощью инструмента Unknowns Analysis в программном обеспечении для количественного анализа Agilent MassHunter Qualitative Analysis (версия В.07.01) с последующей идентификацией соединений путем сравнения с библиотекой масс-спектров NIST 14. Идентичность пиков после деконволюции можно дополнительно подтвердить с помощью высокоточных данных о массах и средств точного измерения масс в программном обеспечении для качественного анализа

Agilent MassHunter Qualitative Analysis (версия В.07.01). Программное обеспечение для корреляции молекулярной структуры (MSC) использовали для дополнительного исследования экспериментально определенных соединений.

## Результаты и обсуждение

### Деконволюция хроматографических пиков и поиск по библиотеке

Данные обрабатывали с помощью деконволюции хроматографических пиков в программном обеспечении для анализа неизвестных соединений Unknowns Analysis с настройкой окна экстракции точных масс на 100 ppm и коэффициентом размера окна переменного времени удерживания 50–200 для определения максимального количества компонентов (рис. 2). Сравнение с библиотекой NIST с коэффициентом совпадения >50 выявило приблизительно 2600 соединений, включая алканы, гопаны, кетоны, полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), окисленные полициклические ароматические углеводороды (О-ПАУ), эфиры и гетероциклические соединения. Для подтверждения идентичности каждого из соединений, обнаруженных посредством деконволюции, использовали инструменты Molecular Formula Generator (генератор молекулярной формулы) и Formula Calculator (калькулятор формулы). Результаты скрининга ПАУ и О-ПАУ представлены ниже в качестве примеров (рис. 3 и 4). Аналогичный рабочий процесс может применяться для скрининга других групп химических соединений.

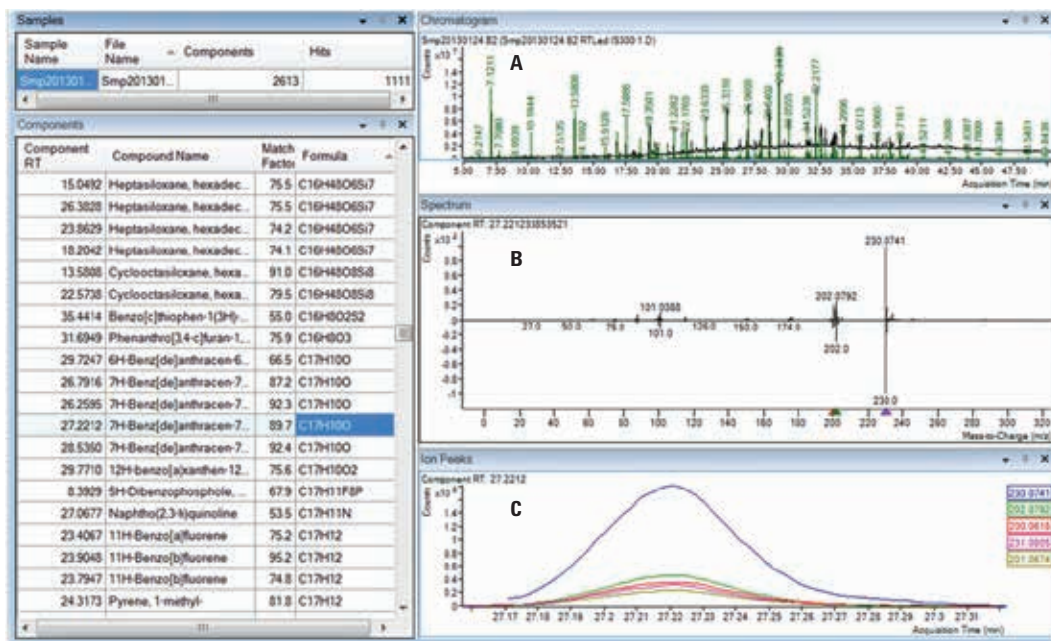


Рис. 2. Для выполнения деконволюции хроматограммы использовали ПО Unknowns Analysis. Изображены общая ионная хроматограмма (А), зеркальный график спектров компонента и совпадения по библиотеке (В) и наложенные хроматограммы по выделенным ионам компонента (С)

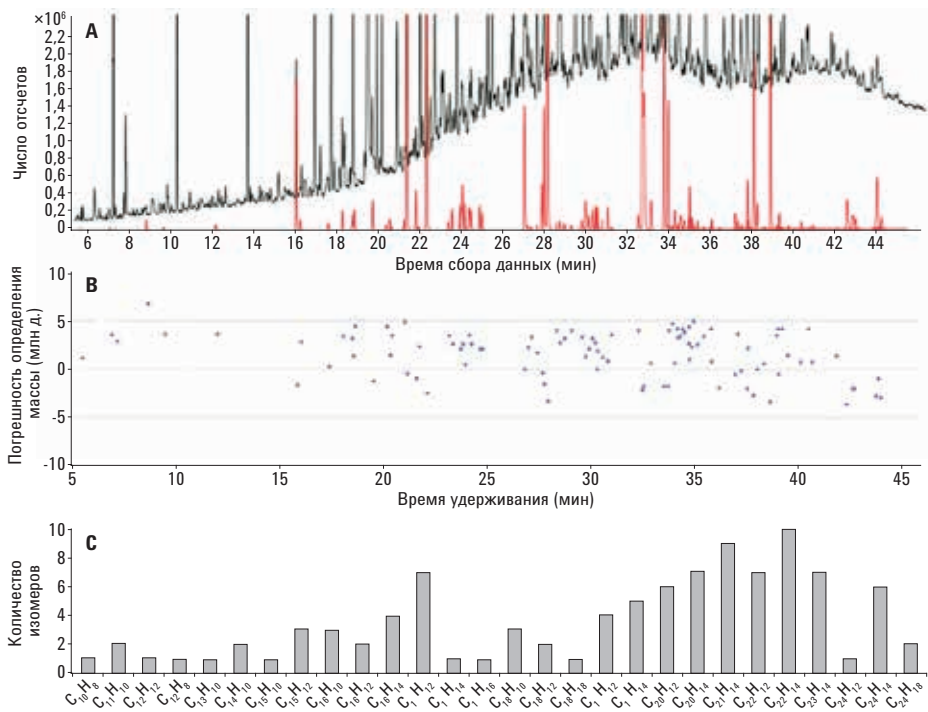


Рис. 3. Результаты скрининга ПАУ. Хроматограмма (А) наложена на общие ионные хроматограммы (черн.) и профили компонентов идентифицированных ПАУ (красн.); погрешности определения массы молекулярных ионов идентифицированных ПАУ, рассчитанные на калькуляторе формул, представлены в области В; распределение формул показано в области С

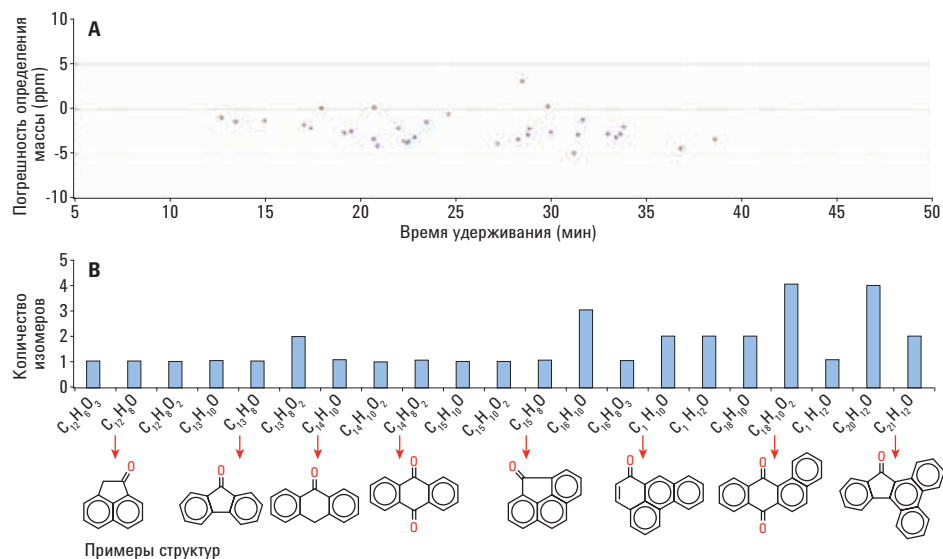


Рис. 4. Подтверждение О-ПАУ с помощью высокоточных данных о массах. Погрешности определения массы молекулярных ионов идентифицированных О-ПАУ, рассчитанные с помощью калькулятора формул, представлены в области А; распределение формул и примеры структур приведены в области В

## Идентификация ПАУ и О-ПАУ

Средствами Unknowns Analysis идентифицировали большое количество ПАУ, коэлюирующих с неразрешенной сложной смесью, как показано на рис. 3. Высокоточные данные о массах использовали для подтверждения приблизительно 100 ПАУ с погрешностью определения массы менее 5 ppm. Для дополнительного подтверждения совпадений использовали базу данных P&EP MRM, содержащую значения времени удерживания для нескольких ПАУ. Все различия во времени удерживания между значениями базы данных и результатами анализа пробы укладывались в интервал 0,03 минуты. Высокие коэффициенты совпадения времен удерживания подтверждают возможность использования высокоточных данных о массах в качестве средства подтверждения. Распределение формул демонстрирует широкий диапазон ПАУ в экстракте частиц аэрозоля с числом углеродных атомов от 10 до 28.

Аналогичным образом идентифицировали О-ПАУ в экстракте частиц аэрозоля с 34 компонентами, подтвержденными посредством высокоточных данных о массах. На рис. 4 представлены погрешности определения массы и распределение формул идентифицированных О-ПАУ. Структуры нескольких характерных О-ПАУ также приведены на рис. 4.

## Структура неизвестного соединения, предлагаемая МС-МС

На рис. 5 представлены результаты обнаружения неизвестных соединений посредством деконволюции хроматографических пиков. Ближайшим совпадением для этого спектра в библиотеке NIST оказался антра[1,9-сд]пиразол-6(2H)-1 с формулой  $C_{14}H_8N_2O$ . Однако это экспериментальное совпадение легко может быть отвергнуто на основании только лишь точности определения массы, поскольку погрешность по молекулярному иону составляет 48,62 ppm. Это свидетельствует о преимуществе высокоточных данных о массе, полученных посредством квадрупольно-времяпролетного анализатора, по сравнению с отдельным масс-спектрометром.

С помощью высокоточных данных о массе была предложена формула неизвестного соединения  $C_{15}H_8O_2$  с погрешностью определения массы 2,83 ppm. Однако в библиотеке масс-спектров NIST не было найдено соединений с этой формулой. Одним из преимуществ квадрупольно-времяпролетного анализатора 7200 для ГХ является возможность выполнять эксперименты по точному измерению масс МС-МС, представляющие большую ценность при расшифровке структуры неизвестных соединений.

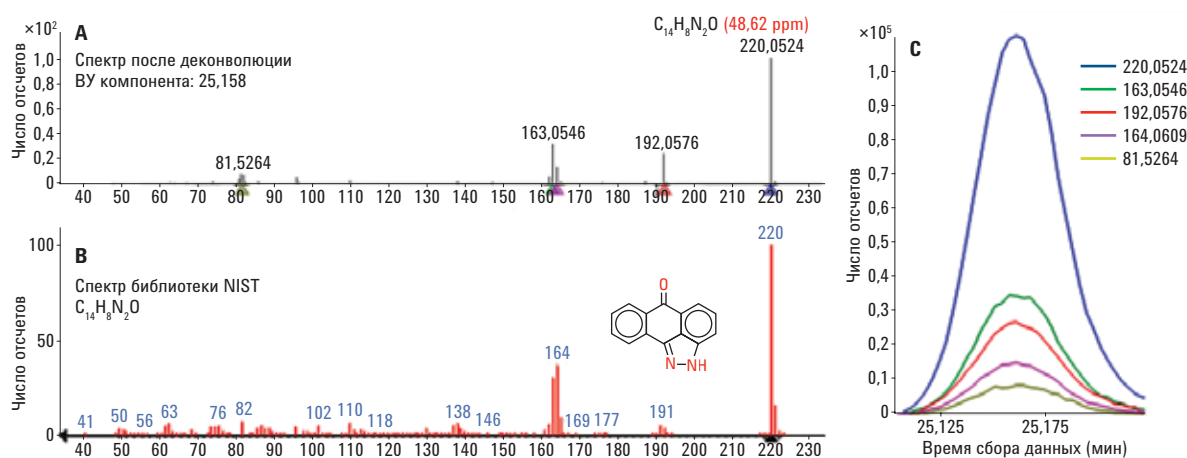


Рис. 5. Сравнение масс-спектров неизвестного соединения и экспериментального совпадения по библиотеке NIST (А, В). Профили коэлюирования ионов после деконволюции (С) подтверждают их принадлежность одному компоненту. Однако это соединение легко может быть отвергнуто на основании только лишь точности определения массы, поскольку погрешность по молекулярному иону составляет 48,62 ppm

На рис. 6 представлен рабочий процесс с использованием режима МС-МС с фрагментами точных масс для выдвижения предположения о структуре неизвестного соединения. Инструмент Formula Generator (генератор молекулярной формулы) использовали для присвоения точной эмпирической формулы молекулярным и крупным фрагментным ионам. Для выдвижения предположения о структуре этого неизвестного соединения спектр импортировали в программное обеспечение для

корреляции молекулярной структуры (MSC) в виде файла с расширением CEF и посредством MSC выполнили поиск всех возможных структурных изомеров по базе данных ChemSpider. Хотя этот способ подтверждения не является безошибочным, он обеспечивает дополнительную валидацию экспериментально идентифицированного О-ПАУ. На рис. 7 представлен предположительный путь фрагментации, созданный на основании фрагментов, приведенных в ПО MSC.

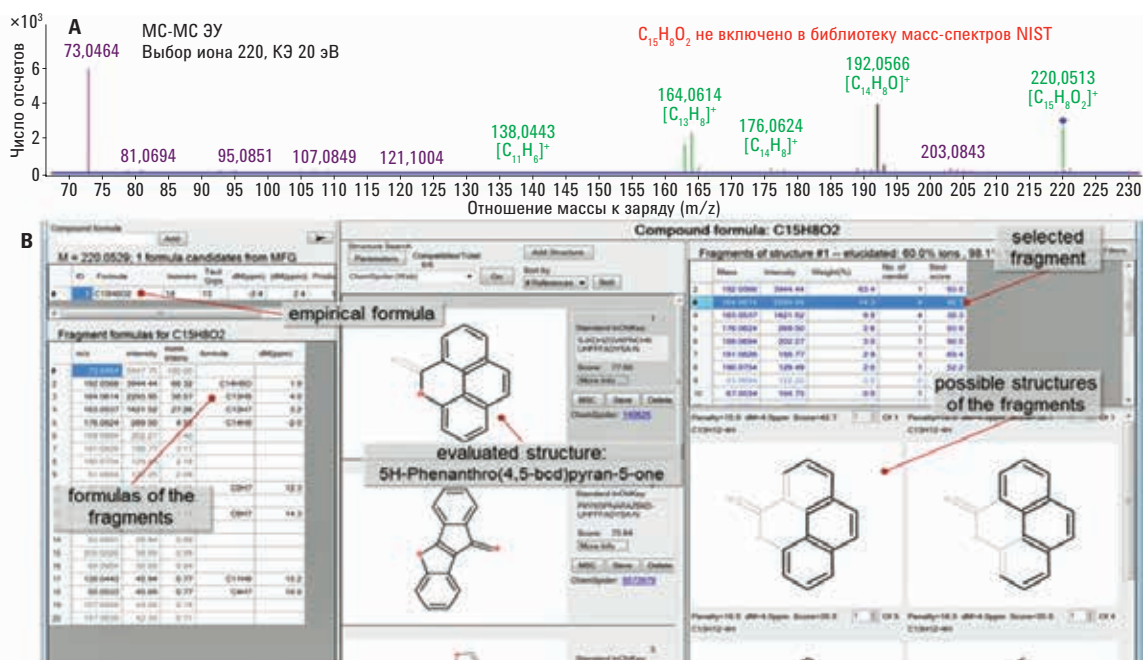


Рис. 6. Эмпирические формулы, полученные на основании спектра МС-МС с применением инструмента калькулятор формул (А), и результаты уточнения структуры неизвестного соединения с эмпирической формулой  $C_{15}H_8O_2$  с применением ПО MSC (В). Каждому отдельному фрагментному иону присваивается рейтинг на основании погрешности определения массы, соответствующей предложенной формуле, наряду со штрафными баллами, зависящими от того, сколько связей необходимо разрушить, чтобы получить предложенную формулу

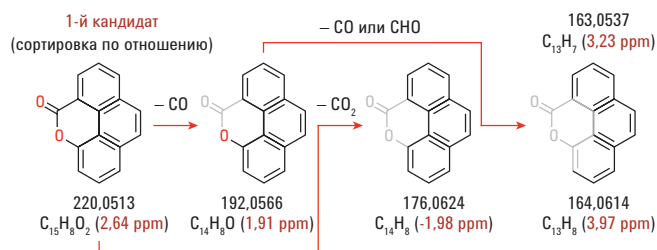


Рис. 7. Путь фрагментации кандидата  $C_{15}H_8O_2$  на основании фрагментов, приведенных в ПО MSC

## Выводы

Исследования малолетучих органических соединений, поглощенных частицами аэрозоля, существенно выигрывают от применения многочисленных функций квадрупольно-времяпролетного анализатора Agilent 7200 для ГХ, таких как использование высокоточных данных о массах, высокой чувствительности в режиме полного спектра и функционала МС-МС. Применение таких возможностей ПО Agilent MassHunter, как деконволюция, автоматическое описание формулы фрагмента и уточнение структуры неизвестных позволило выполнять ненаправленный скрининг малолетучих органических соединений. К важным исследовательским инструментам также относятся подтверждение соединений путем поиска по библиотеке и выдвижение предположений о структуре неизвестных соединений.

## Литература

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. (China)*, **19**, 1–11 (2007).

## Дополнительная информация

Представленные данные являются стандартными значениями. Дополнительную информацию о продуктах и услугах нашей компании см. на веб-сайте [www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem).

[www.agilent.com/chem](http://www.agilent.com/chem)

Компания Agilent не несет ответственности за возможные ошибки в настоящем документе, а также за убытки, связанные или являющиеся следствием получения настоящего документа, ознакомления с ним и его использования.

Информация, описания и спецификации в настоящем документе могут быть изменены без предупреждения.

© Agilent Technologies, Inc., 2016.  
Напечатано в США 9 февраля 2016 г.  
5991-5899RU



**Agilent Technologies**