

# 使用 HILIC 色谱和 Agilent InfinityLab LC/MSD iQ 质量选择检测器分析无机阴离子

## 作者

Lilla Guricza  
安捷伦科技有限公司

## 摘要

本应用简报介绍了使用亲水相互作用色谱 (HILIC) 与 Agilent InfinityLab LC/MSD iQ 质谱检测对无机阴离子的分析。该方法为极性和离子化合物的分离提供了除离子交换 (IEX) 或离子色谱 (IC) 以外的替代解决方案。它采用智能且易于使用的系统，该系统将 InfinityLab LC/MSD iQ 与 OpenLab CDS 软件的主要优势融为一体。

## 前言

由于极性阴离子在相对非极性环境中的性质，无机阴离子的分析一直是反相色谱中的一个难题。IEX 和 IC 通常用于小阴离子分析，但它们具有更长的平衡和分析时间，需要更专业的化学品和仪器配置，且难以兼容 MS。

HILIC 是一种稳定可靠的分析方法，可轻松应用于已常规使用反相色谱的实验室中<sup>[1]</sup>。HILIC 凭借最新进展，提供了一种用于极性化合物的替代分析方法。与 IEX 和 IC 相比，使用 HILIC 的主要优势是流动相体系（通常是水-乙腈）不含任何强酸性或碱性添加剂；方法设置简单，无需再生或系统净化等后处理；以及能够在单次分析运行中同时分析不同的分析物（阳离子、阴离子和中性物质）。

本研究基于之前发表的应用简报，使用通过安捷伦 ELSD 进行检测的 Agilent 1260 Infinity LC 同时分析无机阴离子和阳离子<sup>[2]</sup>。Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱及其两性离子键合相提供了理想的固定相，为无机阴离子提供了出色的峰形并大幅减少了次级相互作用。

本研究将质谱检测与 InfinityLab LC/MSD iQ 质量选择检测器配合使用，因为它比 ELSD 具有更高的选择性和灵敏度。由于

流动相及其添加剂会显著影响检测器响应，因此本研究对流动相组成进行了详细研究。在 HILIC 中，提高缓冲液浓度将缩短保留时间并提供更好的峰形<sup>[1]</sup>。但是，质谱仪检测器的响应以及检测灵敏度也受到缓冲液浓度的影响，需要针对总体分析确定理想的平衡。

## 实验部分

### 标准品与化学品

所有试剂和溶剂均为 HPLC 或 LC/MS 级。水和乙腈购自安捷伦科技公司 (Santa Clara, CA, USA)。甲酸铵、氢氧化铵和无机离子标准品购自 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)。

### 仪器

分析系统包括以下模块：

- Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II 样品瓶进样器 (G7129B)，配备带 3  $\mu$ L 热交换器的集成式柱温箱、40  $\mu$ L 分析头、20  $\mu$ L 定量环（默认设置）以及样品恒温箱（选项 #101）
- Agilent InfinityLab LC/MSD iQ (G6160A)

### 样品前处理

无机离子以盐的形式购得，溶于水中得到 1 g/L 储备液。将用于分析的样品稀释至最终浓度 5  $\mu$ g/mL，然后单独进样，无需进一步的样品前处理。

表 1. 所研究的无机离子的信息

无机离子	保留时间 (min)	目标质量 ( $m/z$ )	碎裂电压 (V)
氯离子	3.262	35	120
溴离子	1.169	79	120
亚硝酸根	0.782	46	120
硝酸根	0.783	62	100
碘离子	0.574	127	120
六氟磷酸根	0.439	145	100

表 2. Agilent 1290 Infinity II 液相色谱方法参数

参数	HPLC 方法值
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1 $\times$ 100 mm, 2.7 $\mu$ m (货号 685775-924)，柱温 30 $^{\circ}$ C
流动相 A	5 mmol/L 甲酸铵水溶液
流动相 B	乙腈
梯度	时间 (min) %B 0.00 95 2.00 95 11.00 60 11.01 95 14.00 95
停止时间	14 min
后运行时间	3 min
流速	0.4 mL/min
进样量	1 $\mu$ L

## OpenLab CDS

使用 Agilent OpenLab CDS 软件进行数据采集、处理和报告。OpenLab CDS 提供法规认证功能，可根据美国 FDA 21 CFR Part 11、欧盟附录 11 及其他类似法规提供数据可靠性支持。1290 Infinity II LC 和 InfinityLab LC/MSD iQ 旨在确保 GxP 实验室在常规应用中实现可靠且稳定的 LC/MS 分析。

## 结果与讨论

### 使用质谱检测分析无机阴离子

我们需要找到优化的 MS 参数，以便使用 InfinityLab LC/MSD iQ 系统进行分析时获得理想的灵敏度。根据经验观察结果，载气温度对信号强度无显著影响，毛细管电压也不存在显著影响（仅观察到轻微影响）。但是，碎裂电压对结果具有相当显著的影响。一般而言，碎裂电压（约 120 V）越高，总体强度越好。因此，需要在选择离子监测 (SIM) 模式下找到每种阴离子的优化碎裂电压（表 1）。

碎裂电压的影响如图 1 所示。对于亚硝酸根离子，碎裂电压 70 V、100 V 和 120 V 比较结果表明，120 V 下的信号丰度最高。

示例数据见图 2，其中示出浓度为 5  $\mu\text{g/mL}$  的靶向阴离子的 SIM 提取离子色谱图 (EICs)。氯离子 ( $m/z$  35)、溴离子 ( $m/z$  79)、亚硝酸根 ( $m/z$  46)、硝酸根 ( $m/z$  62)、碘离子 ( $m/z$  127) 和六氟磷酸根 ( $m/z$  145) 可通过这种方式分别检测。

表 3. Agilent InfinityLab LC/MSD iQ 参数

参数	InfinityLab LC/MSD iQ 方法值
离子源	ESI
极性和扫描类型	负离子扫描和 SIM (驻留时间: 43 ms)
采集模式	高级采集模式
数据点/秒	2
干燥气温度	350 °C
气体流速	10 L/min
雾化器压力	40 psi
毛细管电压	3.0 kV
碎裂电压	70–140 V
扫描范围	$m/z$ 10–150

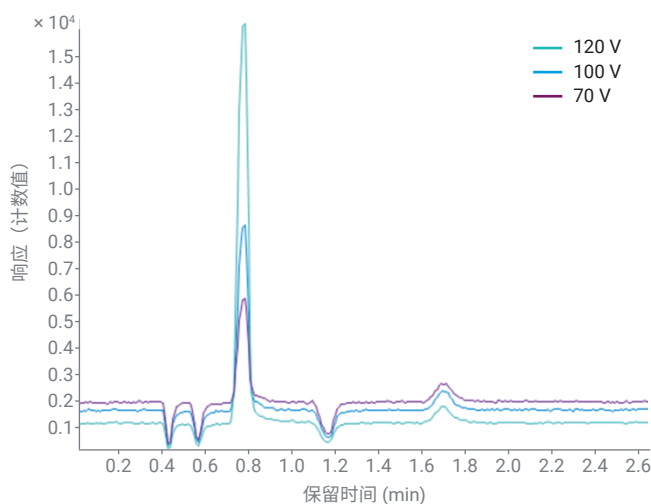


图 1. 比较在碎裂电压 70 V、100 V 和 120 V 下得到的亚硝酸根离子 ( $m/z$  46 处的 SIM) 信号

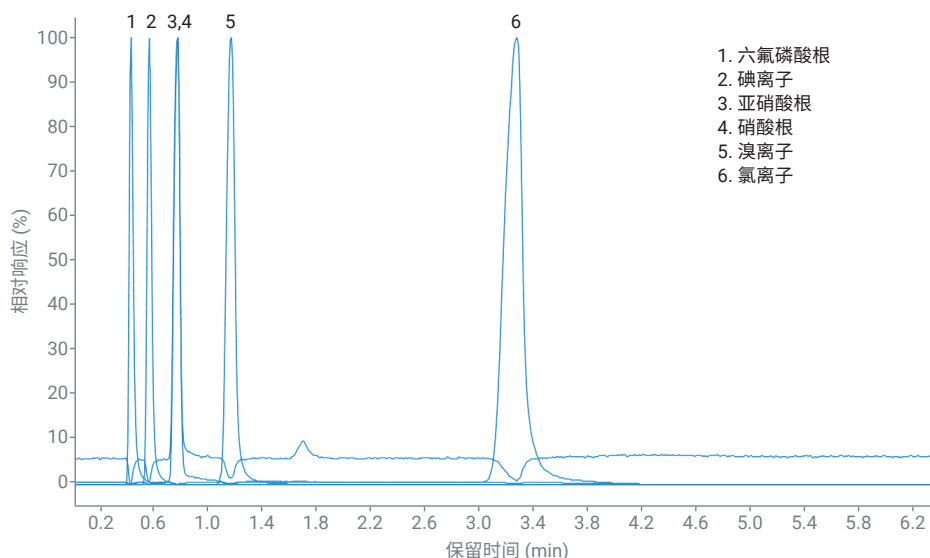


图 2. 浓度为 5  $\mu\text{g/g}$  的目标阴离子的叠加 SIM EIC 色谱图：氯离子 ( $m/z$  35)、溴离子 ( $m/z$  79)、亚硝酸根 ( $m/z$  46)、硝酸根 ( $m/z$  62)、碘离子 ( $m/z$  127) 和六氟磷酸根 ( $m/z$  145)

使用 SIM 模式时，色谱共洗脱阴离子可以按质量单独检测。通过这种方式，可以区分并单独分析亚硝酸根和硝酸根离子，即使它们共洗脱也可实现。图 3 示出两种阴离子的单一 SIM 信号： $m/z$  46 处的亚硝酸根和  $m/z$  62 处的硝酸根，两者均在约 0.8 分钟洗脱。

### 流动相组成的研究

在 HILIC 中，流动相添加剂（及由此得到的 pH 值）以及缓冲液浓度对检测器响应有显著影响。质谱仪的电离效率主要取决于流动相组成。本文研究了不同的流动相体系和缓冲液浓度，以比较检测灵敏度：以 100、10 和 5 mmol/L 甲酸铵以及 0.3% 氢氧化铵作为水相组分，并以含或不含 0.3% 氢氧化铵的乙腈作为有机相组分。

比较结果如图 4 所示，以氯离子 ( $m/z$  35 处的 SIM) 作为示例。使用 5 mmol/L 甲酸铵，可提供出色的总体信号强度。使用 0.3% 氢氧化铵无法提供足够的保留，而 100 mmol/L 甲酸铵显示出明显的离子抑制，因此信号强度较弱。

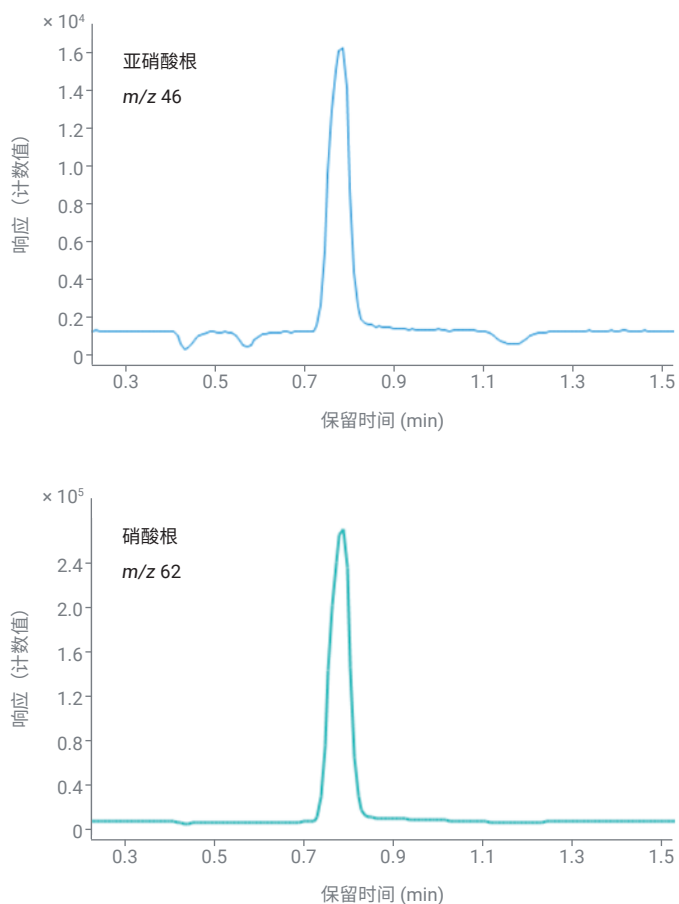


图 3. 约 0.8 分钟处共洗脱阴离子的 SIM EICs: 分别在  $m/z$  46 和  $m/z$  62 处的亚硝酸根和硝酸根，浓度为  $5 \mu\text{g/mL}$

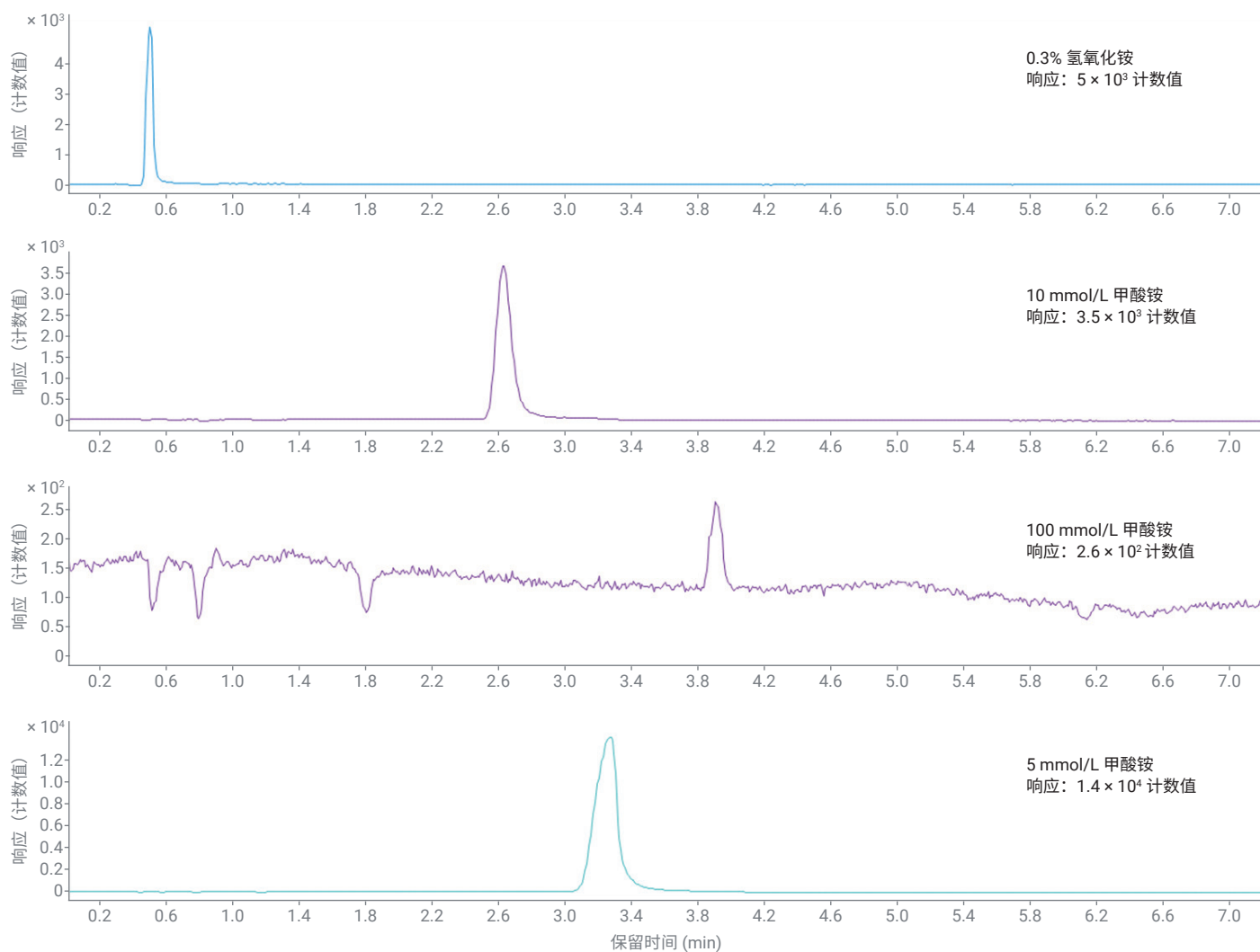


图 4. 用于检测无机阴离子的不同流动相的比较。此处以氯离子 ( $m/z$  35 处的 SIM) 的结果作为示例

## 结论

本研究展示使用 HILIC 方法成功分析了  
几种小的无机阴离子，该方法将 Agilent  
1290 Infinity II 液相色谱与用于选择性、  
高灵敏度检测的安捷伦 LC/MSD iQ 质  
量选择检测器联用。Agilent InfinityLab  
Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱能够用典型  
的反相系统保留极性离子，除亚硝酸根和  
硝酸根离子外，所有其他离子均获得基  
线分离。然而，当使用质谱检测器的 SIM  
模式按质量单独检测亚硝酸根和硝酸根  
时，可轻松分离这两种离子。本文研究了  
不同的流动相，并对碎裂电压进行了优  
化，使系统实现了理想的信号强度。

Agilent InfinityLab LC/MSD iQ 质量选择  
检测器非常适合单原子和多原子离子分  
析，在这些分析中可能难以检测低质量分  
析物。

## 参考文献

1. 亲水相互作用色谱方法开发和故障排  
除，*安捷伦科技公司技术概述*，出版  
号 5991-9271ZH-CN，**2018**
2. Mack, A. 和 Bivens, B. 亲水相互作用  
色谱法分析金属、卤化物和无机离  
子，*安捷伦科技公司应用简报*，出版  
号 5991-8602ZH-CN，**2017**

查找当地的安捷伦客户中心：

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

免费专线：

**800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)**

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

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

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

DE44209.4478935185

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2021  
2021 年 3 月 4 日，中国出版  
5994-3013ZH-CN