安捷伦 (**Agilent**)
环境科学专栏

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 (一)

Michael Woodman
(安捷伦化学分析部, 美国)

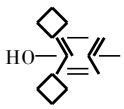
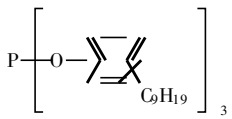
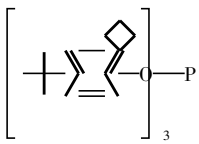
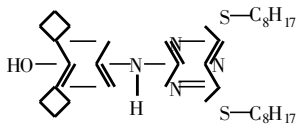
摘 要 紫外/可见光-质谱检测器是分析和鉴定抗氧化剂的一种有效的方法. 应用实例证明, 流动相条件影响采集数据的质量和可用性. 获得的质谱数据能够鉴定未知化合物, 并能快速评价添加剂的降解.

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、阻燃性, 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物的高效液相色谱 (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、膦酸盐连接的芳香化合物. 表 1 和表 2 列出了一些实例.

表 **1** 所研究的抗氧化剂的结构

名 称	BHT	丁基羟基甲苯	商品名	Naugard P(Uniroyal)	Tris 壬基苯基亚磷酸酯
分子式	$C_{15}H_{24}O$		分子式	$(C_{15}H_{23}O)_3P$	
分子量 (MW)	220.2		分子量 (MW)	688.5	
商品名	Irgafos 168		商品名	Irganox 565(CibaGeigy)	
分子式	$C_{42}H_{63}O_3P$		分子式	$C_{33}H_{56}N_4OS_2$	
分子量 (MW)	646.5		分子量 (MW)	588.4	

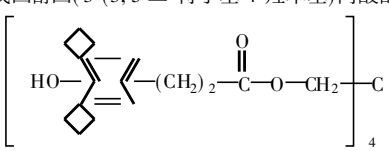
商品名	Irganox 1010(CibaGeigy)	季戊四醇四(3-(3,5-二-特丁基-4-羟苯基)丙酸酯)
分子式	$C_{73}H_{108}O_{12}$	
分子量 (MW)	1176.8	

表 2 其它常见的抗氧化剂

名 称	分子式	分子量	名 称	分子式	分子量
BHA	$C_{11}H_{16}O_2$	180.1	Ethanox 330	$C_{54}H_{76}O_3$	772.6
t-BHQ	$C_{10}H_{14}O_2$	166.1	Irganox 1076	$C_{35}H_{62}O_3$	530.5
Cyanox 1790 杀螟晴	$C_{42}H_{57}N_3O_6$	699.4	Sandostab P-EPQ	$C_{68}H_{92}O_4P_2$	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官能团、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. 这些碎片可以帮助用户推断化合物的结构.

1 仪器和分析方法

Agilent 1100 液相色谱系统:

● 配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2ml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:

● 梯度洗脱条件: 水/乙腈（ACN）、水/甲醇（MeOH）、水/甲醇/四氢呋喃（THF），HPLC级; ● 从200到400nm范围采集UV/VIS光谱图数据，狭缝为1nm，分辨率是4nm; ● UV/VIS单波长采集数据，210nm和280nm，分辨率为4nm.

化学工作站用于数据的采集和分析:

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℃，喷雾器: 50psi氮气，干燥气: 6LPM氮气，色谱柱: Zorbax XDB-C8，4.6mm id×50mm，3.5μm粒度.

梯度:（流速: 1）

时间	方法1*				时间	方法2*				时间	方法3*			
(min)	%水	%MeOH	%ACN	%THF	(min)	%水	%MeOH	%ACN	%THF	(min)	%水	%MeOH	%ACN	%THF
0	40	50	0	10	0	40	60	0	0	0	40	0	60	0
15	0	90	0	10	10	0	100	0	0	10	0	0	100	0
20	0	90	0	10	15	0	100	0	0	15	0	0	100	0
21	40	50	0	10	16	40	60	0	0	16	40	0	60	0

* 方法1: “MeOH/THF”，柱温30℃，25min循环; 方法2: “MeOH”，柱温40℃，20min循环; 方法3: “ACN”，柱温50℃，20min循环.

2　实验结果

图1至图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. 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—12min的区域出现分离下降. 但这些分子具有各不相同的分子量, 可以使用MS的选择性进行分析.

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—12min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.

同样, 小分子的分离没有任何问题. 较大分子在10—12min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特征的谱图时, 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表明, 环的数目对所观察到的质量范围的影响.

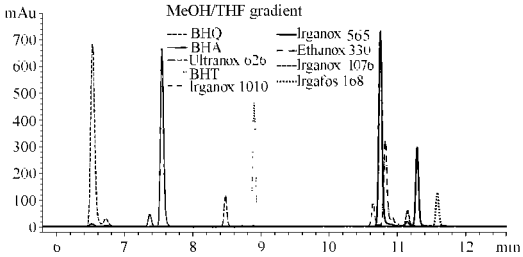


图 **1**　甲醇/THF梯度对抗氧化剂的分离

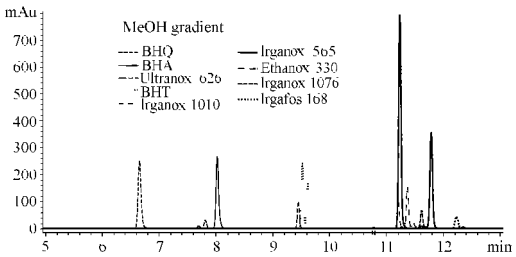


图 **2**　甲醇梯度对抗氧化剂的分离

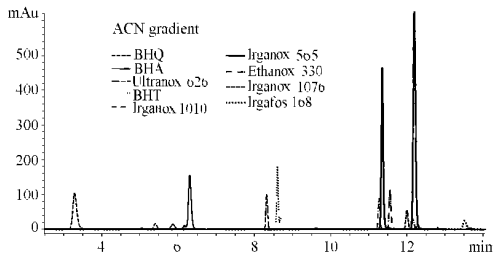


图 **3**　乙腈梯度对抗氧化剂的分离

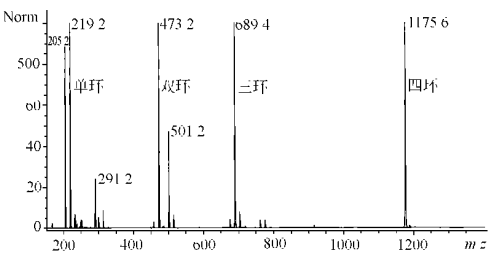


图 **4**　抗氧化剂的重叠质谱图

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, 对于一般抗氧化剂的筛选和分析, 采集超过1000Da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

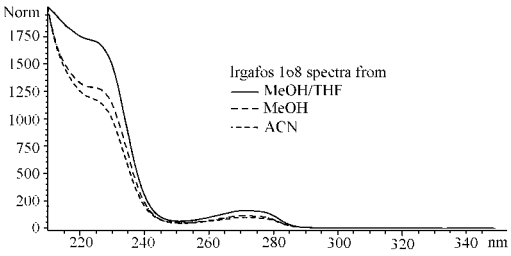


图 **5** 溶剂对 Irgafos 168 的 UV/VIS 谱图的影响

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. 在流动相种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.

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. 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.

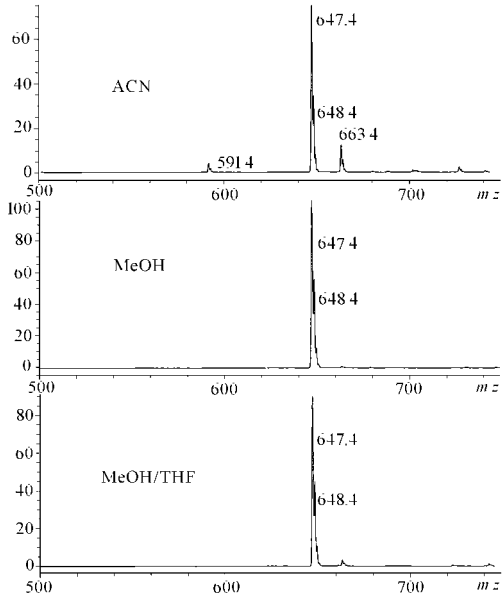


图 **6** 溶剂对 Irgafos 168 的正离子质谱图的影响

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. 分子离子峰的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. 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.

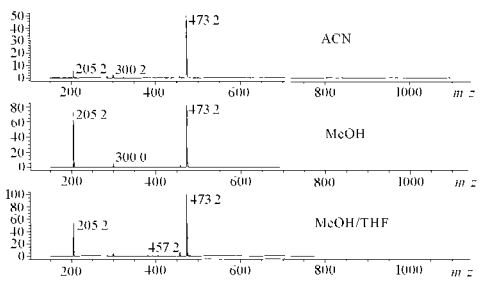


图 **7** 溶剂对 Irgafos 168 的负离子 MSD 谱图的影响

(未完，待续)