

DMDPIB 荧光标记和 LC-APCI-MS 检测环境水样中游离直链脂肪胺

赵昌盛¹, 孙志伟¹, 朱 叶¹, 尤进茂^{1,2}

(1.曲阜师范大学 化学科学学院, 山东 曲阜 273165; 2.中国科学院 西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001)

摘 要:采用新型荧光试剂 2,5-二羰基吡咯烷-1-(4-(1-甲基-1H-菲并[9,10-d]咪唑)-2-)苯酸酯(DMDPIB)柱前衍生法,通过高效液相色谱分离衍生物,对衍生物进行荧光检测.在短时间内实现了 12 种直链脂肪胺衍生物的完全分离和准确定量.实验证明:该方法重现性好,对所测定的直链脂肪胺衍生物的线性方程回归系数(r)均不小于 0.9996,各直链脂肪胺标准品的检出限范围为 11.3-33.1fmol,对养鱼池水中游离直链脂肪胺进行测定也收到了满意的结果.

关键词: 高效液相色谱; 荧光; 质谱; 直链脂肪胺

中图分类号: O657 文献标识码: A 文章编号: 1673-260X(2013)03-0008-02

以直链脂肪胺为代表的胺类化合物对环境危害严重,对环境中这类化合物的快速、准确检测具有重要意义.但这类化合物水溶性较好,极性且无荧光,直链脂肪胺直接液相测定存在着色谱峰拖尾、分离度低、检测限高等问题,另一方面现有直链脂肪胺的荧光衍生试剂及测定方法不能满足日益严格的环境标准检测要求,研究快速、灵敏、高选择的液相色谱衍生试剂和方法变得日益迫切.

本实验用通过使用新合成的新型衍生试剂 2,5-二羰基吡咯烷-1-(4-(1-甲基-1H-菲并[9,10-d]咪唑)-2-)苯酸酯(DMDPIB),该试剂较原有试剂更灵敏且在 MS 检测中质子化效率更高.在实际样品的直链脂肪胺检测中该试剂也表现出了令人满意的灵敏度和稳定性.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

安捷伦 LC1100 液相色谱仪 (1100 Series LC-MSD Trap) 配备真空在线脱气机(G1322A),四元泵(G1311A),标准自动进样器(G1329A),荧光检测器(G1321A),柱温箱,LC/MS 离子阱质量检测器(Trap MSD),HypersilBDS C18 色谱柱 (416mm × 200mm, 10 μm i.d.),DMDPIB (自制),12 种直链脂肪胺标准样品(Sigma 公司),光谱纯乙腈(禹王公司),甲酸等均为分析纯,纯水使用屈臣氏蒸馏水.

1.2 工作标液液的配制

(1)直链脂肪胺的工作标液液:准确称取计算量

C1~C12 直链脂肪胺标准品,用乙腈定容配成 1.0×10^{-1} mol/L 的工作标液,用乙腈逐级稀释至 10^{-4} mol/L,取相同量的单标混合为 12 种直链脂肪胺混标冷藏备用.

(2)DMDPIB 的配备:准确称取 45mg 的 DMDPIB,逐滴滴入 dmf 溶解,完全溶解后用乙腈定容至 10mL,浓度为 1.0×10^{-4} mol/L.

1.3 衍生化条件

向 2mL 安瓿中依次加入 pH=10 硼砂溶液 45 μL,直链脂肪胺标准品 60 μL,DMDPIB 溶液 45 μL,密封后于 60℃ 水浴 10min,冷却至室温后用乙腈稀释至原体积 10 倍,使用 0.45 μm 有机相滤膜过滤后进样 10 μL.衍生模式如图 1:

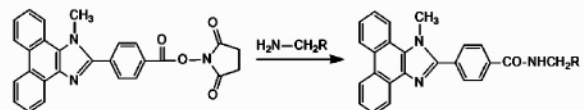


图 1 DMDPIB 与直链脂肪胺衍生模式图

1.4 色谱条件

本实验摸索出的短时间内实现十二种直链脂肪胺完全分离液相色谱条件为:进样量:10ul,在 HypersilBDS C18 色谱柱 (416mm × 200mm, 10 μm i. d.)上.流动相 A:5%乙腈水溶液;流动相 B:乙腈.在 20min 内,流动相从 100%A 等梯度变为 100%B,流速 1.0mL/min,柱温 30℃. 荧光激发波长为: $\lambda_{ex}=262\text{nm}$, 荧光发射波长为: $\lambda_{em}=446\text{nm}$.

2 结果与讨论

2.1 衍生条件的优化

衍生反应的时间,温度及 DMDPIB 与胺类化合物的摩尔比对反应的产率均有较大的影响,针对上述三种影响因素采用单因素法进行了优化实验.

优化实验结果表明:当反应温度达 60℃时具有最大衍生率.衍生反应 10min 后获得稳定荧光强度产物,增加时间衍生物荧光强度不再增加.在 DMDPIB 用量为脂肪胺类用量 4 倍时,各衍生物的荧光强度达到最大,继续增加试剂用量对产率无显著影响.

2.2 标准品的高效液相色谱分离及质谱鉴定

采用 1.4 中所述色谱条件,在 30 分钟内实现了 12 种直链脂肪胺衍生物的完全分离(图 2),并以癸

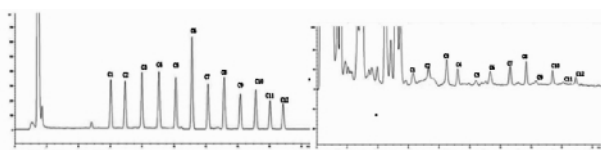


图 2 12 种直链脂肪胺标准品衍生物及养鱼池水中游离直链脂肪胺衍生物色谱图

C1-C12 分别代表甲胺到十二胺十二种直链脂肪胺

表 1 直链脂肪胺衍生物的线性回归方程、相关系数、检测限及样品含量

胺类	线性回归方程	r	检出限 (fmol)	养鱼池水中含量(ug/L)
C1	$Y=13.61X+4.12$	0.9999	26.4	15.67
C2	$Y=43.12X+13.20$	0.9999	18.3	26.89
C3	$Y=21.055X-9.12$	0.9996	32.4	50.92
C4	$Y=40.12X+0.120$	0.9997	33.1	32.47
C5	$Y=61.89X-12.54$	0.9996	25.4	8.62
C6	$Y=61.23X+13.46$	0.9998	23.8	22.65
C7	$Y=60.59X+6.00$	0.9999	22.8	43.84
C8	$Y=69.78X-16.54$	0.9998	26.7	54.26
C9	$Y=96.67X-8.04$	0.9999	19.4	11.32
C10	$Y=72.50X-27.82$	0.9999	16.8	27.11
C11	$Y=71.63X-20.04$	0.9999	12.4	6.24
C12	$Y=78.34X-16.21$	0.9999	11.3	20.08

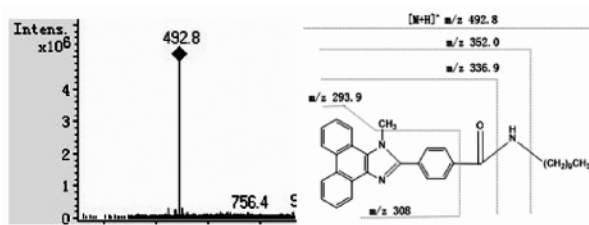


图 3 癸胺的 MS 和 MS/MS 质谱分析

2.3 可重复性检查

在同样的最优色谱条件下,使用同一直链脂肪胺标准品衍生物对该方法的可重复性进行检查,实验结果表明:色谱峰面积相对标准偏差 RSD(%) 小于 2.6%,保留时间相对标准偏差 RSD (%) 小于 0.12%.

3 实际样品的测定

按照渔业水质标准(GB11607-89)所述方法对曲阜尼山水库养鱼池池水取样.500ml 样品过滤出去固体悬浮物,用 Agilent Bond Elute 固相萃取小柱进行富集.固相萃取小柱用 5mL 色谱纯乙腈洗脱,洗脱液经 0.45 μm 有机相滤膜过滤后加 1mL 0.01mmol 盐酸使胺类成盐,混合液用氮气吹干,残余固体用少量 90%(体积分数)乙腈超声,完全溶解后用 90%乙腈定容到 10mL 容量瓶中密封冷藏备用.根据上述最佳实验条件,养鱼池水样提取液中有有机胺类色谱图见图 2,具体含量并列于表 1.各直链脂肪胺经回收率实验回收率在 96.7%-106.8%之间.

参考文献:

- [1]Jinmao Y., Yongfei M., Yunwei S., Xianen Z., et al. Talanta [J]. 2005, 68: 448-458.
- [2]Xin-Qi Zhan, Dong-Hui Li, Qing-Zhi Zhu, Jin-Gou Xu and Hong Zheng. Sensitive fluorimetric determination of formaldehyde by the co-quenching effect of formaldehyde and sulfite on the fluorescence of tetra-substituted amino aluminium phthalocyanine [J]. Analyst 2000, 125, 2330-2334.