

使用高效液相色谱仪/ 电感耦合等离子体质谱仪 进行溴形态分析的进展

简介

溴是水的自然组成部分，溴离子通常表示为 Br^- 。纯化饮用水的常规方法是利用臭氧杀死细菌。臭氧分解的副作用是将溴化物转化为溴酸盐 (BrO_3^-)，众所周知，这是一种致癌物质。因此，需要测定饮用水中存在的溴化物和溴酸盐，而不是总的溴含量。

溴形态分析的早期工作主要是通过阴离子交换高效液相色谱仪分离 Br^- 和 BrO_3^- ，以及使用电感耦合等离子体质谱仪¹检测物质。此方法已粗略经过验证，但每个样品检测需要 8 分钟。本方法侧重于大幅降低分析时间和研究分离在几种水样品中发现的其它含溴化合物的可能性。

实验

高效液相色谱仪条件

PerkinElmer Series 200 高效液相色谱系统由四元泵、自动进样器（带有聚丙烯样品瓶）、真空脱气机和 Peltier 柱温箱组成，可用于所有分析。分离操作由阴离子交换色谱柱完成（ZirChrom®-SAX; ZirChrom Separations, Anoka, MN USA）。

我们对等度和梯度高效液相色谱方法都进行了研究。对于仅包含溴化物和溴酸盐的样品，鉴于样品通量较高，因此等度方法为首选方法。对于包含其它溴化化合物的样品，应采用梯度方法。表 1 和 2 中分别显示两种方法的详细信息。应注意的是，在流动相中不需要做任何 pH 调整；所使用的 pH 是按指定的浓度混合流动相成分所得的 pH。

作者

Kenneth R. Neubauer
Pamela A. Perrone
Wilhad M. Reuter
珀金埃尔默生命与分析科学部
710 Bridgeport Avenue
Shelton, CT 06484 USA

表 1. 高效液相色谱等度法参数。

高效液相色谱系统	PerkinElmer Series 200 四元泵、自动进样器、真空脱气机、Peltier 柱温箱
色谱柱	ZirChrom®-SAX (3 μm , 100 x 4.6 mm)
流动相	18 mM NH_4OH + 3 mM HNO_3
pH	10.2
pH 调整	无
流速	1.5 mL/分钟
色谱柱温度	50 °C
进样量	50 μL
运行时间	4 分钟
总分析时间	4 分钟

表 2. 高效液相色谱梯度法参数。

高效液相色谱系统	PerkinElmer Series 200 四元泵、自动进样器、真空脱气机、Peltier 柱温箱
色谱柱	ZirChrom®-SAX (3 µm, 100 x 4.6 mm)
溶剂 A	14 mM NH ₄ OH + 6 mM HNO ₃ ; pH=7.3
溶剂 B	18 mM NH ₄ OH + 3 mM HNO ₃ ; pH=10.2
梯度结构	2 分钟位于 100% A 跳至 100% B 4 分钟位于 100% B
重新平衡时间	5 分钟
pH 调整	无
流速	1.5 mL/分钟
色谱柱温度	50 °C
进样量	50 µL
运行时间	6 分钟
总分析时间	11 分钟

电感耦合等离子体质谱仪条件

使用 ELAN® DRCII 电感耦合等离子体质谱仪 (PerkinElmerSCIEX, Shelton, CT USA) 完成对高效液相色谱的洗脱检测。表 3 列出了仪器条件。所有分析都在标准模式下完成（即不使用任何反应气）；在 m/z 79 下对 Br^+ 实施监控。产生包含其它峰的色谱的样品也在 DRC 模式下进行了分析，在 m/z 95 和 97 下对 BrO^+ 实施监控。DRC 模式下（以及标准模式下）溴同位素处显示的相同的峰确定其它峰包含溴而且不是干扰所导致的结果。

标准液和样品

通过每天将 1000 mg/L 储备溶液 (Spex, Charleston, SC USA) 放入 18 MΩ-cm 水中稀释制备溴化物和溴酸盐标准液。

样品的来源多种多样，有些是从各国当地的食杂店购买的瓶装水，有些则是自来水。除通过过滤可见微粒而得到的水之外，不使用任何制备的样品或稀释样品。

表 3. 电感耦合等离子体质谱仪条件。

仪器	PerkinElmer ELAN DRC II
雾化器	石英同心
雾室	石英旋流
RF 电源	1500 W
停留时间	250 ms
分析物	标准模式 - $^{79}\text{Br}^+$ DRC 模式 - $^{79}, ^{81}\text{BrO}^+$ (m/z 95, 97)
反应气	标准模式 - 无 DRC 模式 - $\text{N}_2\text{O} = 0.5$
RPq	标准模式 - 0.25 DRC 模式 - 0.50

软件

所有仪器控制、数据处理和分析均使用 Chromera™ 软件 (PerkinElmer LAS, Shelton, CT USA) 完成。峰面积和外部校正曲线用于定量测量。尽管偶尔有些样品的浓度高于校正标准上限，但校正利用 18 MΩ-cm 水进行，选择这个水平的目的是为了涵盖发现大量物质的范围。

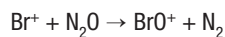
结果和讨论

图 1 显示包含溴化物和溴酸盐的 10 µg/L 混合标准液的色谱。物质可在不到三分钟的时间内分离并进行基线分辨。图 2 显示 1 µg/L 混合标准液的色谱。峰的强度大概是基线噪音的两倍，表示可进行测量的较低级别。进样体积越大，可测量的级别越低，但可以在更高的浓度下超载色谱柱。

建立分离后，此方法将用于大量的饮用水样品中。要确定此方法的可靠性，需要在非连续的四天重复测量样品；表 4 显示的是测量结果。结果中的细微差异表示此方法的可靠性。此外，单个样品在 3.75 小时内连续分析了 49 次。图 3 显示此研究的覆盖色谱，以及测量的平均浓度和标准偏差。另外，对于两个峰而言，其保留时间的相对标准偏差分别是 0.5 和 0.4。总而言之，这些测试都证明了此方法的耐用性和可重复性。

图 4 显示除溴化物和溴酸盐外还包含其它峰的两个样品的色谱。要确定这些峰确实是包含 Br 的物质而不是干扰，则

应在 DRC 模式下对这些样品进行分析。在本研究中， BrO^+ 在 m/z 95 和 97 下进行监控，表示溴同位素。根据下列气相化学反应²， Br^+ 到 BrO^+ 的转换将通过与反应池中 N_2O 反应来完成：



$$k = 2.80 \times 10^{-10} \text{ cm}^3\text{s}^{-1}$$

速率常数 k 的相对高值表示反应快速发生，这表明此反应可在反应池内轻松完成。

图 5 显示图 4 所显示两个样品在 m/z 95 和 97 下 BrO^+ 的覆盖色谱。因为 DRC 模式下两个溴同位素的色谱相同，而且与标准模式 (Br 79) 下采集的色谱相符，因此可以断定其它峰是由包含 Br 的物质产生，而不是干扰。

然后制订梯度高效液相色谱分离方案，以用于分离其它化合物。图 6 显示了图 4 所显示两种水样品的色谱，但采用的是梯度高效液相色谱仪方法。通过图 6 中的其它峰（与图 4 相比）可以确定存在其它包含 Br 的物质，并且指明需要执行梯度分离以获得 BrO_3^- 的真实浓度。图 7 进一步显示了确认信息，此图显示了图 6 中在 DRC 模式下执行梯度分离获得的样品色谱。表 5 显示使用梯度方法对水样品中溴化物和溴酸盐进行定量分析的结果。

比较表 4 和表 5 中等度和梯度分离结果时，少数水样品显示使用等度方法分析的溴浓度比使用梯度方法分析的溴浓度要高（泰国 1 和 3，中国 3 和 4）。发

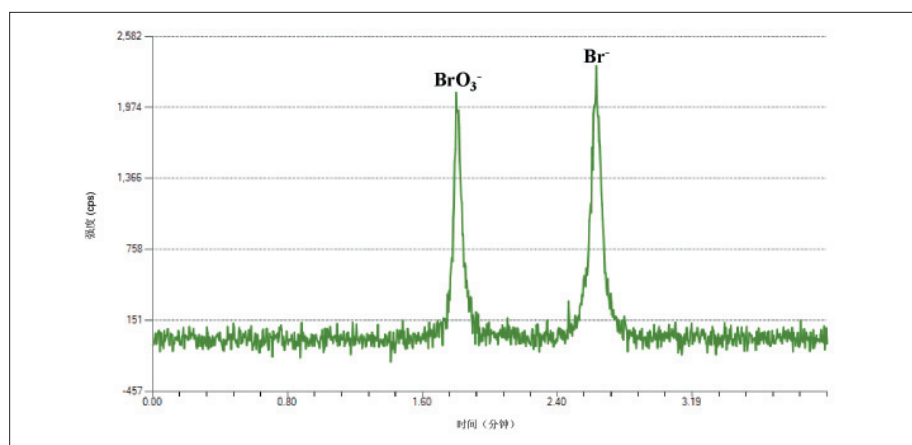


图 1. 包含 10 µg/L 溴化物和溴酸盐的标准液的色谱（液相质谱等度法）。

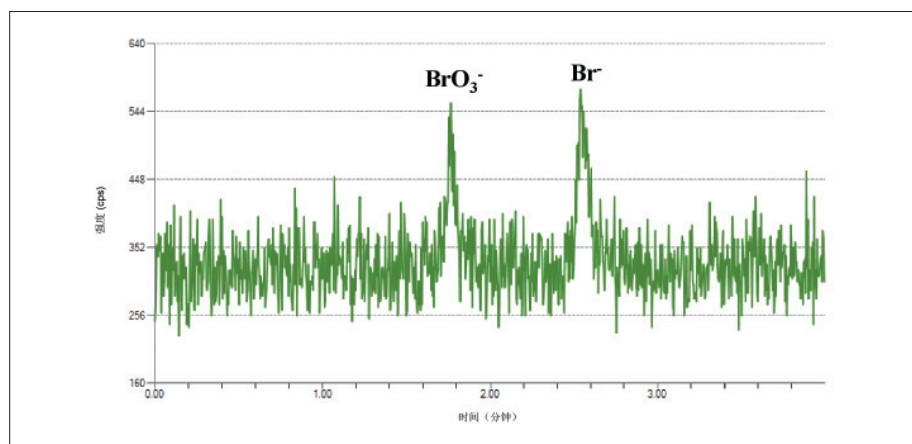


图 2. 包含 1 µg/L 溴化物和溴酸盐的标准液的色谱（液相质谱等度法）。

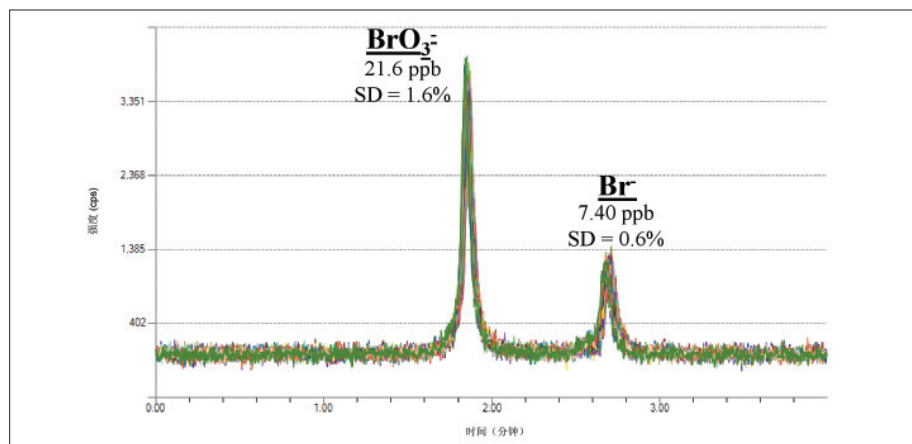


图 3. 通过连续进样获取的 24 个水样品的色谱（液相质谱等度法）覆盖图。显示了各物质的平均浓度和标准偏差。

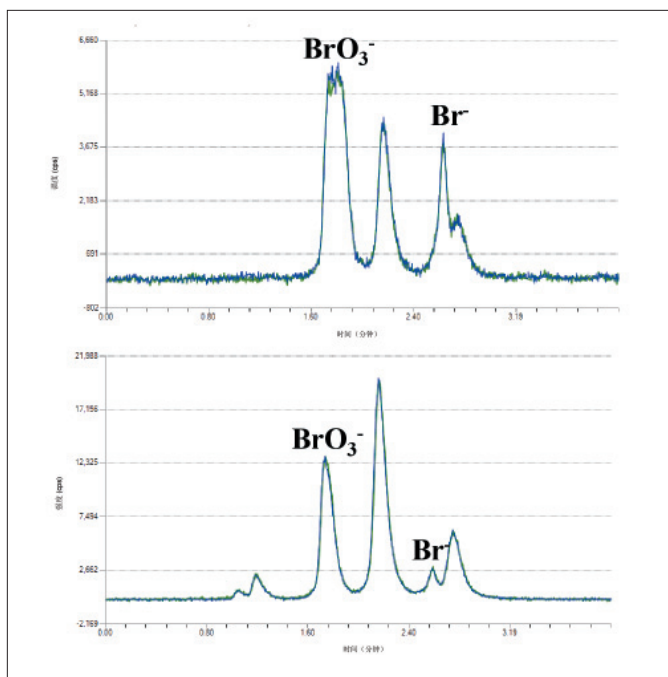


图 4. 包含多个峰的水样品的色谱（液相质谱等度法）：溴化物、溴酸盐和未确认物质。

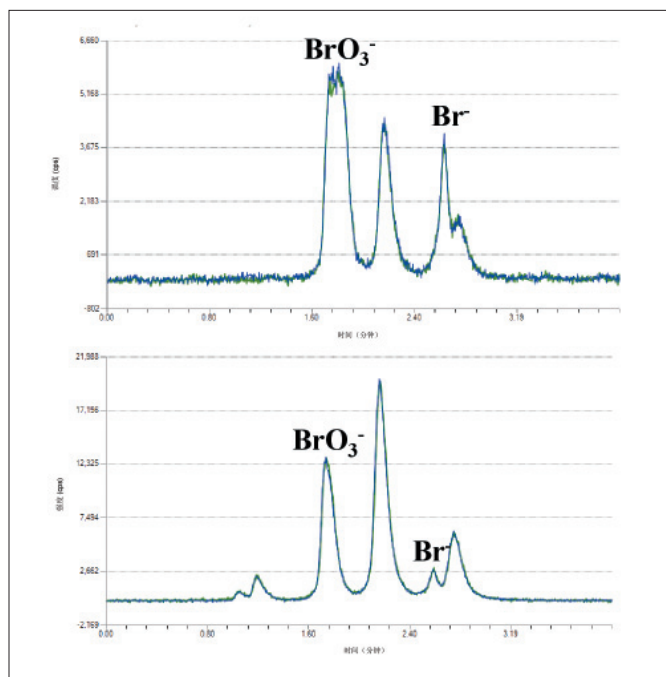


图 5. DRC 模式下采集的图 4 中样品的色谱（液相质谱等度法）。对于各样品，有两个覆盖色谱： m/z 95 和 97 的 BrO^+ 。

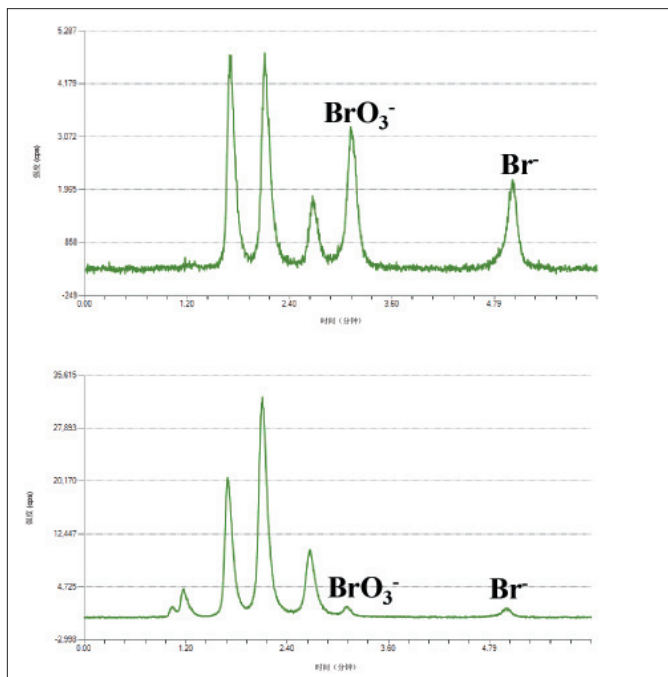


图 6. 使用液相质谱梯度法获取的图 4 中样品的色谱。

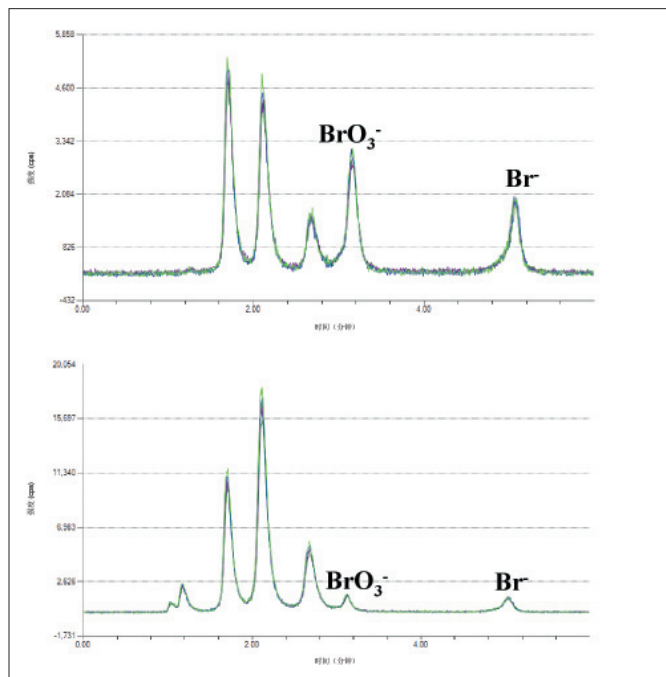


图 7. 使用液相质谱梯度法在 DRC 模式中获取的图 6 中样品的色谱。

生此情况的原因是未完整分离未确认物质（使用等度方法与溴化物一起洗脱）。尽管不完整分离会导致较高的错误结果，但是可以结合使用等度与梯度方法，等度方法用于快速筛选，梯度方法用于溴化物浓度高于预定义级别的样品。既然两种方法使用相同的色谱柱和流动相成分，因此在两种方法之间进行切换非常简单。

应注意的是，并未做任何工作来标识其它溴物质。利用高效液相色谱仪/电感耦合等离子体质谱仪分析其它已知的含溴化合物并与未识别的溴化合物的保留时间进行比较，可识别其它溴物质。也可以使用液相色谱/质谱联用仪，通过检查化合物的碎裂方式来识别未知的物质。但是与液相色谱仪/电感耦合等离子体质谱仪相比，液相色谱/质谱联用仪的局限性主要在于其灵敏度较低。

结论

经证明，此方法在分离和测量饮用水中溴化物和溴酸盐方面速度快捷且功能强大。分离可在不到三分钟的时间内完成，而且证明是可在几天之内重复进样。对于包含其它含溴物质的水，建立了高效液相色谱梯度法。总而言之，等度分离方案可作为快速筛选方法；那些包含其它溴物质的样品可通过更长的梯度方法进行分析。如果需要对较低级别进行测量，可以增加高效液相色谱仪自动进样器的进样量。

表 4. 对水样品中溴化物和溴酸盐进行的为期四天的定量测定（所有单位皆为 µg/L）。

样品	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	BrO ₃ ⁻	Br ⁻	BrO ₃ ⁻	Br ⁻
	BrO ₃ ⁻	Br ⁻	BrO ₃ ⁻	Br ⁻				
澳大利亚	—	39.9	—	40.8	—	40.4	—	42.6
巴西	—	6.91	—	6.53	—	7.02	—	7.40
西班牙	—	23.0	—	22.7	—	22.4	—	22.6
泰国-1	75.2	12.5	82.9	11.3	82.3	9.74	24.4	8.35
泰国-2	83.6	—	81.1	—	78.1	—	79.3	—
泰国-3	39.5	10.2	42.8	9.21	42.1	8.79	44.3	8.43
美国-1	—	10.7	—	10.0	—	10.1	—	8.36
美国-2	—	233	—	237	—	228	—	231
中国-1	20.0	6.72	22.9	7.23	22.0	5.14	19.8	6.13
中国-2	17.2	12.4	17.2	12.6	17.0	13.4	15.0	12.8
中国-3	14.2	416	23.0	422	23.0	400	26.1	421
中国-4	99.2	13.9	124	15.4	120	43.4	113	41.5
中国-5	—	68.1	—	67.1	—	66.5	—	66.9

除了中国 3 和中国 5 使用了自来水外，其它所有样品均为瓶装水。

表 5. 用梯度高效液相色谱仪方法对水样品中溴化物和溴酸盐进行定量测定（所有单位皆为 µg/L）。

样品	BrO ₃ ⁻	Br ⁻
澳大利亚	—	38.1
巴西	—	7.94
西班牙	—	23.5
泰国-1	37.4	17.3
泰国-2	76.0	—
泰国-3	3.03	9.36
美国-1	—	8.79
美国-2	—	224
中国-1	20.8	7.41
中国-2	16.1	11.9
中国-3	—	380
中国-4	14.0	11.8
中国-5	—	64.6

除了中国 3 和中国 5 使用自来水外，其它所有样品均为瓶装水。

参考文献

1. Perrone, P.A., Reuter, W.M., Neubauer, K.R., Bosnak, C.P., Hall, G.A., Grosser, Z.A, ***Bromine Speciation by HPLC/ICP-MS*** (Application Note), 2005, PerkinElmer LAS。
2. Anicich, V.G. ***An Index of the Literature for Bimolecular Gas Phase Cation-Molecule Reaction Kinetics***, 2003, National Aeronautics and Space Administration。

珀金埃尔默生命与
分析科学部
710 Bridgeport Avenue
Shelton, CT 06484-4794 USA
电话: (800) 762-4000 或
(+1) 203-925-4602
www.perkinelmer.com



要获取全球办事处的完整列表, 请访问 www.perkinelmer.com/lasoffices

©2006 PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。珀金埃尔默徽标和外观设计是珀金埃尔默有限公司的注册商标。Chromera 是珀金埃尔默有限公司及其子公司在美国或其它国家和地区的商标。ELAN 是 MDS, Inc. 分部 MDS Sciex 的注册商标。ZirChrom 是 ZirChrom Separations, Inc. 的注册商标。文中提及的其它非珀金埃尔默有限公司及其子公司所有的其它商标均为其各自所有者的财产。珀金埃尔默保留随时更改此文档的权利, 恕不另行通知。对于编辑、图片或排版错误概不承担任何责任。