

使用在线 SPE 和 LC/MS/MS 联用系统 定量测定痕量新兴水污染物

应用简报

环境

作者

Sheher Bano Mohsin 和
Michael Woodman
安捷伦科技公司

摘要

此应用简报展示了使用 Agilent Infinity 系列在线 SPE 解决方案与 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统联用分析美国环保局污染物候选物名单 3 中列出的水中痕量化合物的性能。该方法检测了 12 种复杂的污染物，所有目标化合物的定量限 (LOQ) 均小于 0.1，展现出卓越的分析性能。本应用分析了来自地下水、湖泊、防洪水库等真实水源的样本，戊唑醇的分析结果均良好。



Agilent Technologies

前言

近年来，有报道称在美国境内发现饮用水和地表水中存在痕量水平的药物和其他不应存在的化学物质。由于这些被关注的新型污染物 (CEC) 通常处于很低的水平，因此需要检测的样品数量无法通过大规模的离线样品制备而得到。

相比离线 SPE，在线 SPE 具备许多为人熟知的优势。然而，在线 SPE 的安装非常复杂，需要使用多个泵用于上样和分析，还需要使用多个阀控制每个泵的流速。这就增加了在线 SPE 的成本，也带来技术壁垒和潜在技术转移等问题。

本应用简报描述了一种创新的集成阀和液体计量系统，将在线 SPE 与液相色谱三重四极杆质谱仪 (LC/MS/MS) 结合在一起。这种在线 SPE 系统具有一个内置的单活塞泵，具有溶剂选择功能，还将用户可选阀整合在一个 FlexCube 模块中。通过在线 SPE Flexible Cube 解决方案，能显著降低 HPLC 系统的复杂性、成本和占地空间，无需进行样品前处理，就可以获得非常低的检出限。

实验部分

仪器设备

Agilent 1200 Infinity 在线 SPE 解决方案	型号
带脱气机模块的 Agilent 1260 Infinity 二元泵	G1312B
Agilent 1260 Infinity 标准自动进样器	G1329B
带 2 位/10 通阀的 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube	G4227A
具有安捷伦喷射流离子聚焦技术的 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统	G6460A
Agilent 1290 Infinity 柱温箱	G1316C

色谱条件 液相色谱方法

参数	设置
分析柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 3.0 × 50 mm, 1.8 μm
流动相	A = 水 + 0.1% 甲酸 B = 乙腈 + 0.1% 甲酸
流速	0.4 mL/min
自动 SPE 进样量	900 μL
抽取和进样速度	1000 μL/min
直接进样体积	90 μL

Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 设置

- 阀：两个 2 位/10 通快速切换阀
- 溶剂选择阀：
 - 溶剂 A1：3% 甲醇/水
 - 溶剂 B1：乙腈/异丙醇/甲醇/水

操作原理

如图 1 所示的 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 液相色谱模块配置了一个带三种溶剂选择阀的单活塞泵。还配有一个或两个快速切换阀。

图 2 显示了用于直接柱上进样或在线 SPE 的管路设置。左边的阀可控制将样品直接引入分析柱用于直接进样，还能引入固相萃取柱用于在线富集。对于在线 SPE，活塞泵（或冲洗泵）用于将样品从自动进样器泵入捕集柱，同时在每次进样后可用多达三种不同溶剂冲洗这些捕集柱。自动进样器与活塞泵相连，将样品直接载入其中一个捕集柱 (SPE1)，而另一个捕集柱 (SPE2) 位于分析柱之前并与二元泵相连。当样品载入第一个捕集柱时，2 位/10 通阀切换至捕集柱的位置。在改变至接通捕集柱的位置后，二元泵将输送梯度溶剂以将样品从捕集柱 (SPE1) 反冲到分析柱中。与此同时，清洗上一次进样使用的捕集柱 (SPE2) 并重新平衡。在 1290 Infinity Flexible Cube 中使用溶剂选择阀，操作者可使用多达三种溶剂清洗和重新平衡捕集柱[1]。

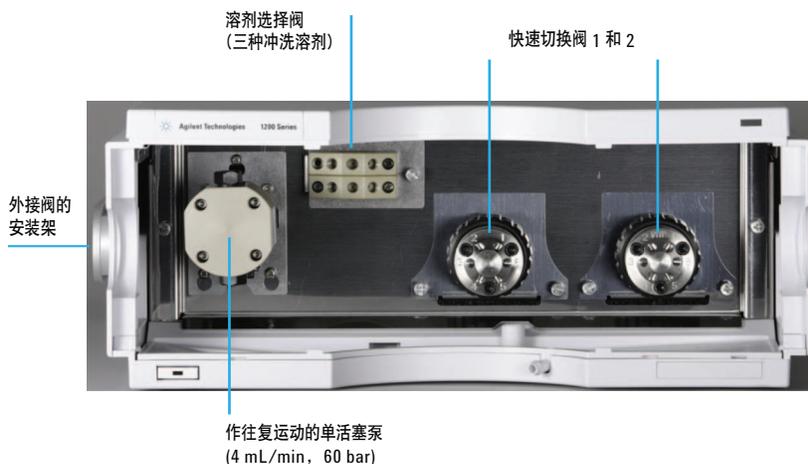


图 1. 带内置单活塞泵和阀的 Agilent Flexible Cube

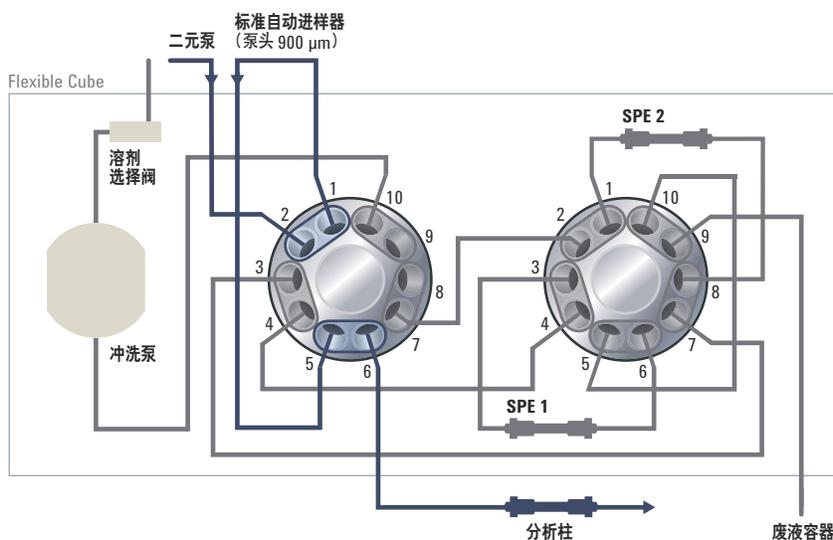


表 2. 直接柱上进样或在线 SPE 的管路。样品直接引入分析柱的流路如蓝色箭头所示

图 3A 和 B 展示了在不同分析阶段下样品流经 1290 Infinity Flexible Cube 的流路。分析开始阶段如图 3A 所示，二元泵将样品通过左边的阀送入 SPE2 捕集柱，再进入分析柱（蓝色流路）。与此同时，活塞泵将样品从自动进样器经由 SPE1 反冲至废液容器来清洗 SPE1（红色流路）。图 3B 显示流路变化。此时，二元泵正将样品输送至此刻在分析柱之前的 SPE1（蓝色流路）。同时，活塞泵正将样品从自动进样器反冲至 SPE2 以进行清洗（红色流路）。

样品

本研究评估了安全饮用水法案 (SDWA) 监管的十二种化合物 [2]:

- 4,4'-亚甲基二苯胺
- 羟基克百威
- 地散磷
- 烯草酮
- 苯胺磷
- 苯胺磷砷
- 苯胺磷亚砷
- 灭多威
- 喹啉
- 戊唑醇
- 虫酰肼
- 硫双威

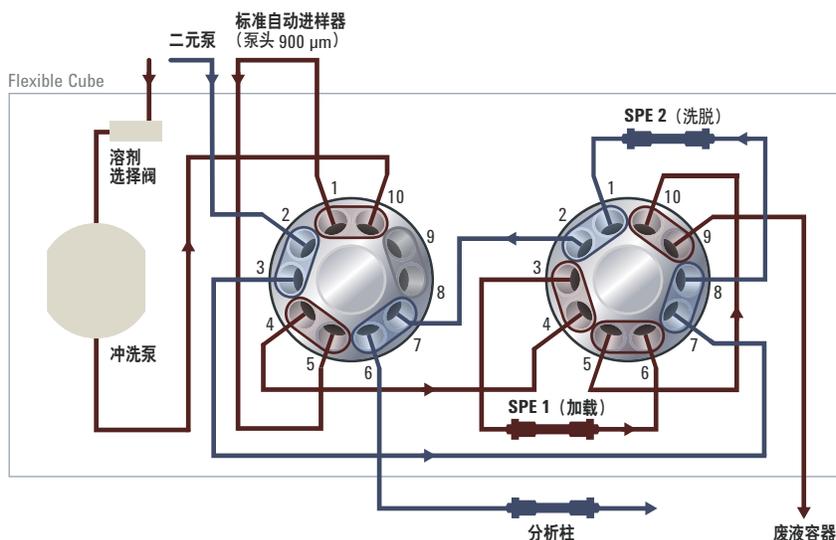


图 3A. 向 SPE 捕集柱进样的流路

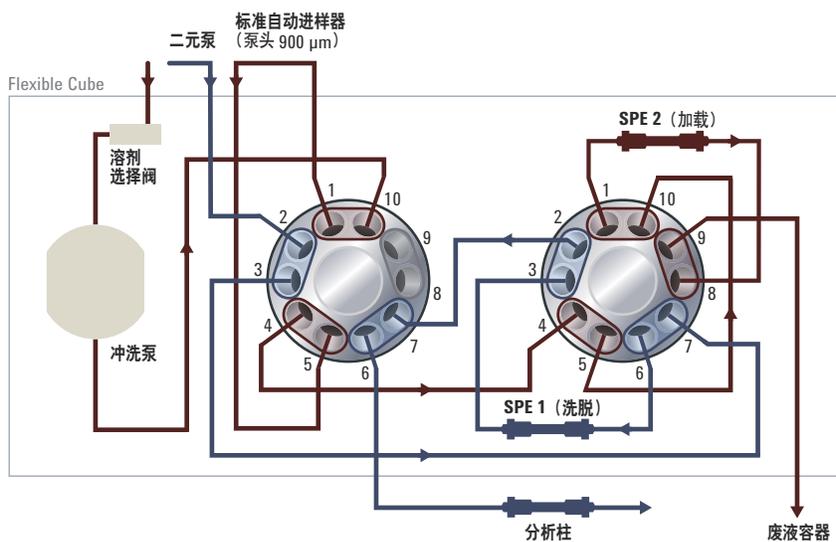


图 3B. 向 SPE 捕集柱进样的流路

表 1 列出了本应用中使用的动态多反应监测方法的参数，包括每种化合物转移的最佳碎裂电压 (V) 和碰撞能量 (eV)。

色谱条件 – 质谱方法

参数	设置
气体温度	300 °C
气体流速	10 L/min
雾化器压力	45 psi
鞘气温度	300 °C
鞘气流量	11 L
毛细管电压	4000 伏
喷嘴电压	0 伏

表 1. 动态多反应监测方法条件

化合物名称	母离子	碎片离子	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)	池加速电压 (V)	保留时间 (min)	保留时间窗口	极性
4,4'-亚甲基二苯胺	199.1	106	120	28	3	6.74	1.81	正电荷
地散磷	398	356	100	1	2	11.06	1.11	正电荷
地散磷	398	314	100	6	2	11.06	1.11	正电荷
地散磷	398	158	100	26	2	11.06	1.11	正电荷
羟基克百威	238.1	181	110	8	2	8.15	0.94	正电荷
羟基克百威	238.1	163	110	11	2	8.15	0.94	正电荷
烯草酮	360.1	206	120	12	4	11.67	1.15	正电荷
烯草酮	360.1	166	130	27	4	11.67	1.15	正电荷
苯胺磷	304.1	234	150	15	3	10.28	1.03	正电荷
苯胺磷	304.1	217	150	23	3	10.28	1.03	正电荷
苯胺磷	304.1	202	150	31	3	10.28	1.03	正电荷
苯胺磷砒	336.1	308	130	15	3	9.13	0.91	正电荷
苯胺磷砒	336.1	266	130	18	3	9.13	0.91	正电荷
苯胺磷砒	336.1	188	130	24	3	9.13	0.91	正电荷
苯胺磷亚砒	320.1	292	150	9	3	8.64	0.99	正电荷
苯胺磷亚砒	320.1	233	150	23	3	8.64	0.99	正电荷
苯胺磷亚砒	320.1	171	150	18	3	8.64	0.99	正电荷
灭多威	163	107	170	17	2	8.15	1.14	正电荷
灭多威	163	95	170	17	2	8.15	1.14	正电荷
噻啉	130	103	120	30	3	6.97	1.81	正电荷
噻啉	130	77	120	30	3	6.97	1.81	正电荷
戊唑醇	308.1	125	130	42	3	10.49	1.05	正电荷
戊唑醇	308.1	70	130	23	3	10.49	1.05	正电荷
虫酰肼	353.2	297	85	1	3	10.85	1.09	正电荷
虫酰肼	353.2	133	85	15	3	10.85	1.09	正电荷
硫双威	355	163	80	2	3	9.17	1.28	正电荷
硫双威	355	108	80	14	3	9.17	1.28	正电荷
硫双威	355	88	80	17	3	9.17	1.28	正电荷

结果与讨论

本实验从美国环境保护署确认的污染物候选物列表 (CCL3) 中挑选出十二种最为复杂的污染物进行分析。目前 CCL3 污染物不受任何饮用水条例的约束，但安全饮用水法案 (SDWA) 可能会要求对它们实施监管[2]。

图 4 显示了浓度均为 10 ppt (ng/L) 的 12 种化合物的校准样品的叠加色谱图（使用定量离子和定性离子）。每次进样均根据操作原理中所述在两个不同 SPE 萃取柱间切换。所有目标样品的谱图均显示非常好的重现性和峰形。对于所有分析，12 种目标样品中绝大部分样品的回收率在可接受的范围内。

图 5 显示了 0.1 ppt 浓度下混标的色谱图。如图所示，化合物之间没有柱残留，峰窄、峰形好。

图 6 显示了 1 ppt 和 0.1 ppt 浓度下混标的叠加色谱图。如图所示，此方法在两个浓度下均具有优异的灵敏度。

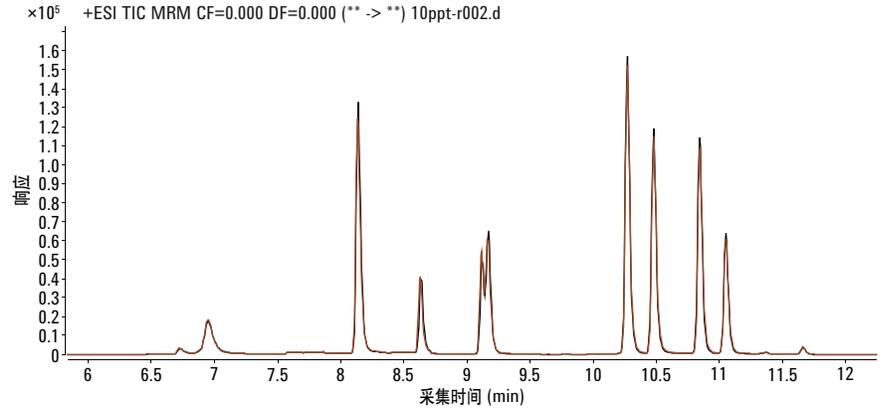


图 4. 使用两个不同的萃取柱运行两次，在保留时间和峰响应方面，叠加色谱图显示了优异的重现性

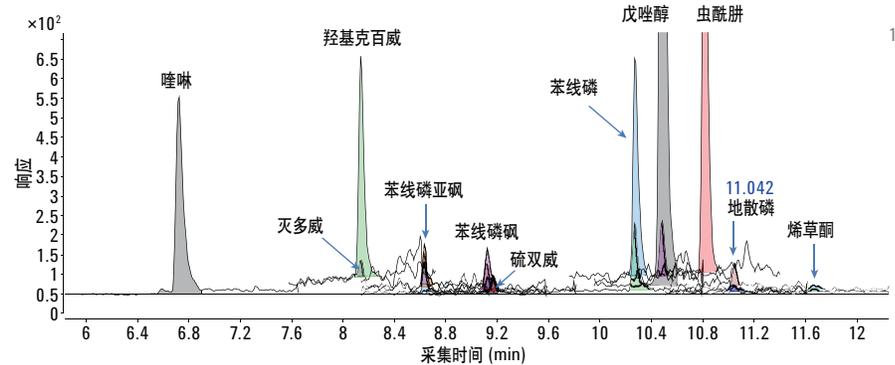


图 5. 0.1 ppt 浓度混标的色谱图

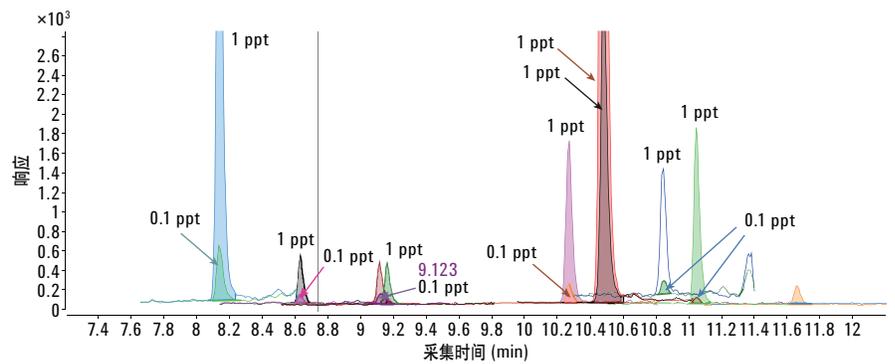


图 6. 1 ppt 和 0.1 ppt 浓度样品的叠加色谱图

图 7 显示了目标化合物之一戊唑醇在 0.1、0.5 和 1.0 ppt 浓度下定量离子 m/z 308.1 \rightarrow 70.0 的色谱图。结果显示在 0.1 ppt 水平下，信噪比 $> 400:1$ 。戊唑醇在美国被广泛用于维护草坪的杀菌剂，已被明确规定为检测地下水和其他环境测试的典型化合物。因此，戊唑醇是此应用中的重要目标化合物。

所有 12 种化合物的校准曲线都显示出优异的线性关系，在七点组成的校准曲线上，校正系数 > 0.999 。不需要进行加权曲线就能通过原点。具有最低校正系数的是喹啉，其在十点组成的校准曲线中校正系数为 0.96。

图 8 显示了经过连续稀释后，浓度分别为 0.1 至 100 ppt 的戊唑醇溶液的校准曲线。每个标样均以 900 μ L 进样两次，并在 SPE 捕集柱中富集。校准曲线显示了优异线性关系， $R^2 > 0.999$ 。

我们还提取了来自市政供水湖（自来水）、住宅用井（地下水）、城郊蓄水池（西湖）和防洪水库（春溪）的水样进行了分析。来自湖泊和防洪水库的样品含有可见浮游生物。分析前用 0.45 μ m 过滤器过滤样品。对于定量离子 Transition (308.1 \rightarrow 70.0) 和定性离子 Transition (308.1 \rightarrow 125.0)，实验结果取两次分析的平均值。这些 Transition 的离子来自用于草坪维护杀菌剂的戊唑醇。西湖为临近的公共场所供水，而春溪则为附近的私人高尔夫球场供水。分析结果的色谱图如图 9 所示。

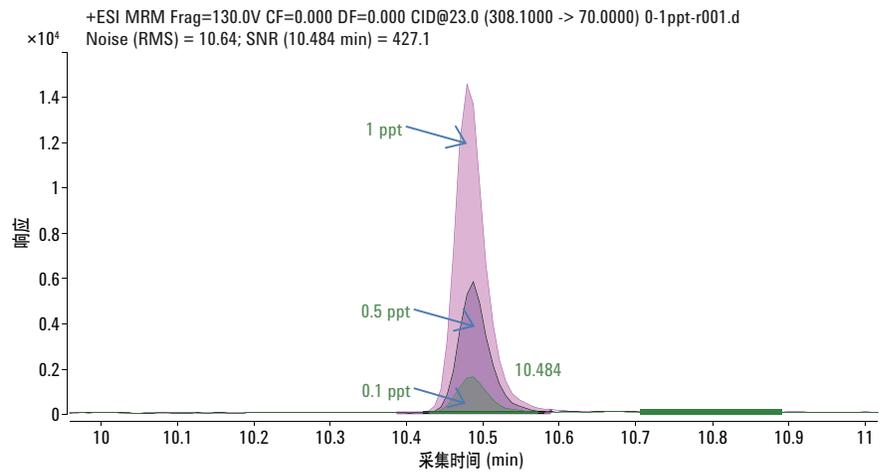


图 7. 在 0.1、0.5 和 1.0 ppt 浓度下戊唑醇定量离子 Transition m/z 308.1 \rightarrow 70.0 的色谱图

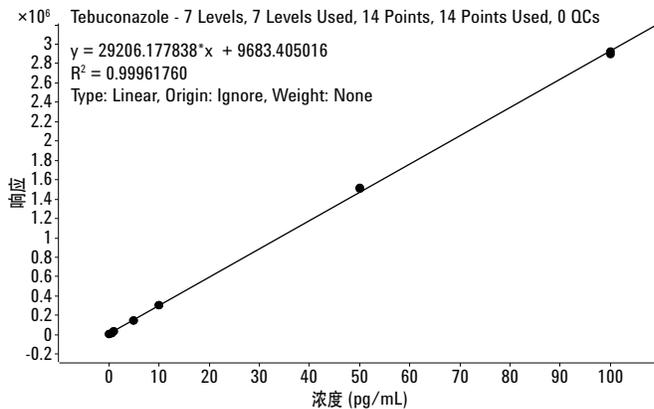


图 8. 经连续稀释后浓度分别为 0.1 至 100 ppt 的戊唑醇溶液的校准曲线

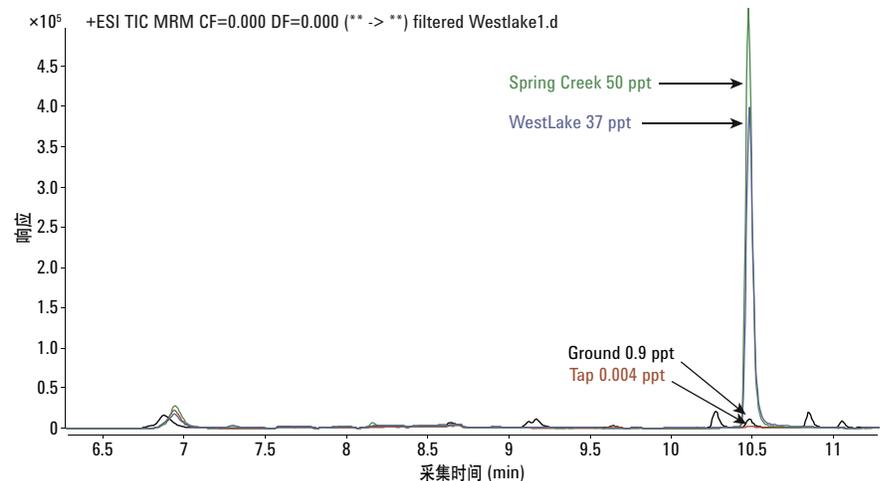


图 9. 不同来源的水样

表 2 列出了此项研究分析的所有化合物的数据, 基于 0.1 ppt 浓度下计算的信噪比 (S/N), 假定定量限约为 10:1 S/N。信噪比计算基于峰面积且噪音为 $RMS \times 3$ 。数据结果显示此方法具有高精度度和低信噪比。所有化合物的标称定量限不高于 0.1 ppt, 其中有两个化合物的定量限甚至低至 0.002 ppt。

结论

本应用简报表明使用 Agilent Infinity 系列在线 SPE 解决方案与 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统联用得到集成的, 经济实惠的在线 SPE-LC/MS/MS 解决方案。该方法基本免除了使用传统 SPE 系统通常带来的技术障碍或潜在的技术转化难题。通过 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 液相色谱模块创新的集成阀系统, 成功将 SPE 柱直接连接至 LC/MS/MS 系统。此外, 使用动态多反应监测能够有效分析复杂混合物。本方法分析了 CCL3 污染物列表中 12 种复杂污染物, 表现出极好的分析性能。分析包括地下水、湖泊、防洪水库等真实样品时, 能准确检测出其中的戊唑醇。

参考文献

1. B. Schuhn, E. Naegle, T. Glauner, “使用 Agilent Infinity series Online SPE 解决方案检测饮用水、地表水和地下水中的灭草剂”, 2013 安捷伦科技应用简报, 出版号 5991-2405CHCN。
2. J. Shoemaker, D. Tettenhorst, “使用在线固相萃取-LC/MS/MS 分析美国环保局污染物候选物列表 3 中的化合物”。

表 2. 本研究分析的所有化合物的数据

化合物名称	浓度 (ppt)	信噪比 (S/N)	10:1 S/N 下的理论定量限
4,4'-亚甲基二苯胺	0.1	25	0.04
羟基克百威	0.1	10.3	0.1
地散磷	0.1	34.4	0.03
烯草酮	0.1	7	0.15
苯胺磷	0.1	301.2	0.005
苯胺磷砒	0.1	7.9	0.15
苯胺磷亚砒	0.1	8.2	0.15
灭多威	0.1	8.3	0.15
噻啉*	0.1	500	0.002
戊唑醇	0.1	427	0.0025
虫酰肼	0.1	9.4	0.15
硫双威	0.1	9	0.15

*因未解决柱残留问题而不确定

www.agilent.com/chem/cn

本文中的信息如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司, 2013
中国印制, 2013 年 10 月 8 日
5991-2731CHCN



Agilent Technologies