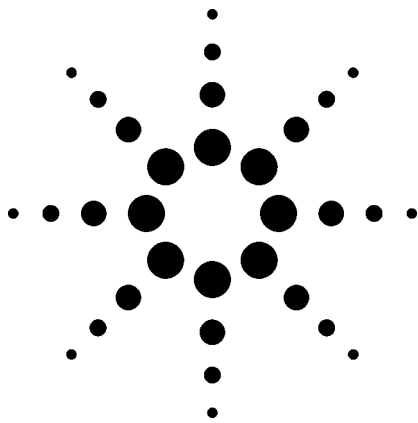


测定生水和饮用水中的丙烯酰胺

应用报告



环境

作者

Sophie Men, Johanne Beausse
Centre d'Analyses Environnementales
1, place de Turenne
F-94417 Saint Maurice cedex
France

Jean-Francois Garnier
Agilent Technologies France
1, rue Galvani
91745 Massy Cedex
France

摘要

用在线样品萃取与安捷伦液相色谱/飞行时间 (LC/MSD TOF) 质谱仪联用开发了快速, 高通量定量分析饮用水中丙烯酰胺的液质分析方法。分析定量检出限为 0.25 µg/L, 完全可以满足世界卫生组织设定的饮用水中丙烯酰胺的最高安全限量 0.5 µg/L 的要求。除灵敏度之外, 6.4 ppm 的质量准确度的专属性和小数点后第三位 (或更低) 的标准偏差的重现性都足以证明了选择飞行时间质谱作为检测器的优势。

介绍

丙烯酰胺单体 (参见图 1) 是聚丙烯酰胺的成分之一, 在水工业中用作凝结剂, 特别是饮用水处理中有助于水的澄清 [1]。然而, 丙烯酰胺单体也是一个众所周知的神经毒素和基因毒性致癌物, 因此当其出现在饮用水中可能产生对人体健康不利的影响。

经典分析方法, 气相色谱 – 电子捕获 (GC-ECD) 检测器或者液相色谱 – 紫外吸收检测器, 需要相应的溴化和固相萃取 (SPE) 样品净化步骤。但是此两种方法的问题在于检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 均远远高于

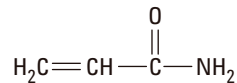


图 1. 丙烯酰胺的结构

目前世界卫生组织 (WHO) 规范 [2] 的 0.5 µg/L。所有目前正在使用的方法中唯一报道的最好的定量限高于 1 µg/L, 是规范要求值的 2 倍。

因此, 环境实验室需要一个适合的测定方法以监测饮用水中低含量的丙烯酰胺污染物。本应用报告旨在陈述此方法, 在线样品萃取与液相色谱/飞行时间 (LC/MSD TOF) 质谱联用可以快速, 高通量定量分析丙烯酰胺。至少小数点后第三位的重现性 (%RSD) 以及实验室测定的精确分析都从灵敏度和特异性的角度充分证明使用安捷伦液相色谱/飞行时间质谱仪的优势。



Agilent Technologies

此方法包括在线 C18 预柱萃取待测组份以后,再使用 C18 分析柱进行色谱分离以达到鉴定和定量的作用。经测定本方法的定量限为 0.25 µg/L,比以往方法的定量限至少低四倍。再者,预柱萃取和液相色谱/质谱联用避免了分析前的衍生化和耗时的固相萃取步骤。本文对方法认证与饮用水处理厂分析结果也作了陈述。

材料和方法

化学试剂和标准品

分析纯试剂, HPLC 级水和乙腈购自于 J. T. Baker (Atlantic Labo, Eysines, France)。甲醇购自于 Merk (Fontenay sous Bois, France) 和甲酸 (95%–97%) 购自于 Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France)。

纯丙烯酰胺标准品 (99.4%) 和丙烯酰胺-2,3,3-d₃ (99%) 购自于 C. I. L. Cluzeau (Sainte Foy la Grande, France)。

用丙烯酰胺 -d₃ 的甲醇溶液或 100 mg/L 的丙烯酰胺储备液的稀释液来制备水标样。上述溶液置于棕色瓶中于 -18 °C 储存一个月。

样品

分析前,样品于 4 °C 存储。水样使用 Whatman GD/X 0.45-µm 滤膜过滤,以获得高纯水,0.2-µm 滤膜用于过滤高纯水和饮用水样。然后,添加 1 ng/mL 的丙烯酰胺 -d₃ 用于定量。

分在线萃取和液相色谱/飞行时间质谱联用的分析条件分别参见表 1 和 2。

表 1. 优化后的预柱萃取

仪器设备	安捷伦 1100 系列二元泵, 自动进样器, 6 位切换阀和柱温箱
萃取柱	ZORBAX SB-C18, 4.6 mm x 12.5 mm x 5 µm
预柱温度	20 °C
进样量	400 µL
上样流速	0.5 mL/min
上样溶剂	100% HPLC 级水
反冲起始	0.6 min (经分析柱)
反冲结束	3.2 min (经废液)

上样后,阀切换至分析柱,按表 2 中所给条件洗脱丙烯酰胺。

表 2. 优化后的分析条件

HPLC 分离	安捷伦 1100 系列二元泵 (第二个), 柱温箱
色谱柱	ZORBAX SB-C18, 2.1 mm x 150 mm x 5 µm
色谱柱温度	40 °C
分析流速	0.5 mL/min
流动相	A: 97% HPLC 级水 (0.01% 甲酸) B: 3% 乙腈 (0.01% 甲酸)
反冲	关闭
分析起始	0.6 min
分析结束	3.2 min
检测器	安捷伦飞行时间质谱
离子源	ESI
离子极性	正
干燥气流速	12 mL/min
干燥气温度	300 °C
雾化器压力	50 psi
碎裂器	150 V
八极杆射频电压	100 V
质量范围	50 至 1000 质荷比
参考离子	121.05087 和 922.00979

实际样品和 HPLC 水标样都采用了如图 2 和 3 样品流程示意图所示的操作程序 (在线预柱萃取)。

样品的萃取

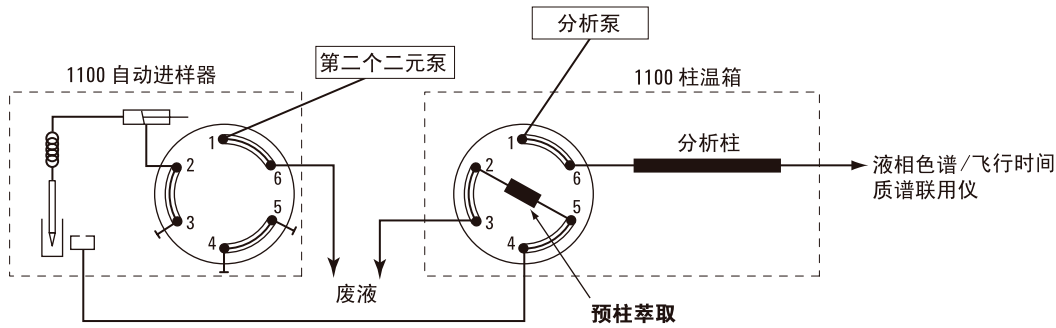


图 2. 在预柱上进行样品萃取

样品的色谱分析

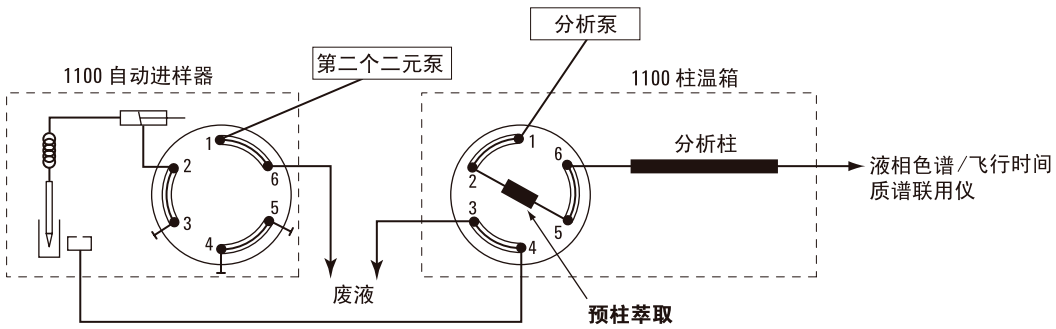


图 3. 在分析柱上进行样品的色谱分析

结果与讨论

标样的特异性

表 3 显示了共流出组份保留时间 (RTs) 和理论与实测的丙烯酰胺同位素质量的差异。

表 3. 丙烯酰胺的同位素质量

丙烯酰胺	保留时间 min	理论单一 同位素质量	平均离子数	质量准确度 aum	质量误差 ppm
天然	1.93	72.0443	72.0454	0.0011	14
氘代的	1.93	75.0632	75.0647	0.0015	19.7

值得一提的是平均离子质量 72.0454，即使一个 20 ppm 的质量窗口，也只能给出一个可能的实验式， C_3H_6NO 。因为分子越小实验式的可能性也越少，与高质量数端的分子相比就不会苛求质量的准确度。使用具有 77,000 个化合物的 ChemIndex 数据库得到的合理匹配只有丙烯酰胺 (C_3H_5NO)，中性分子时带五个氢，质子化离子状态时带六个氢。参见图 4。

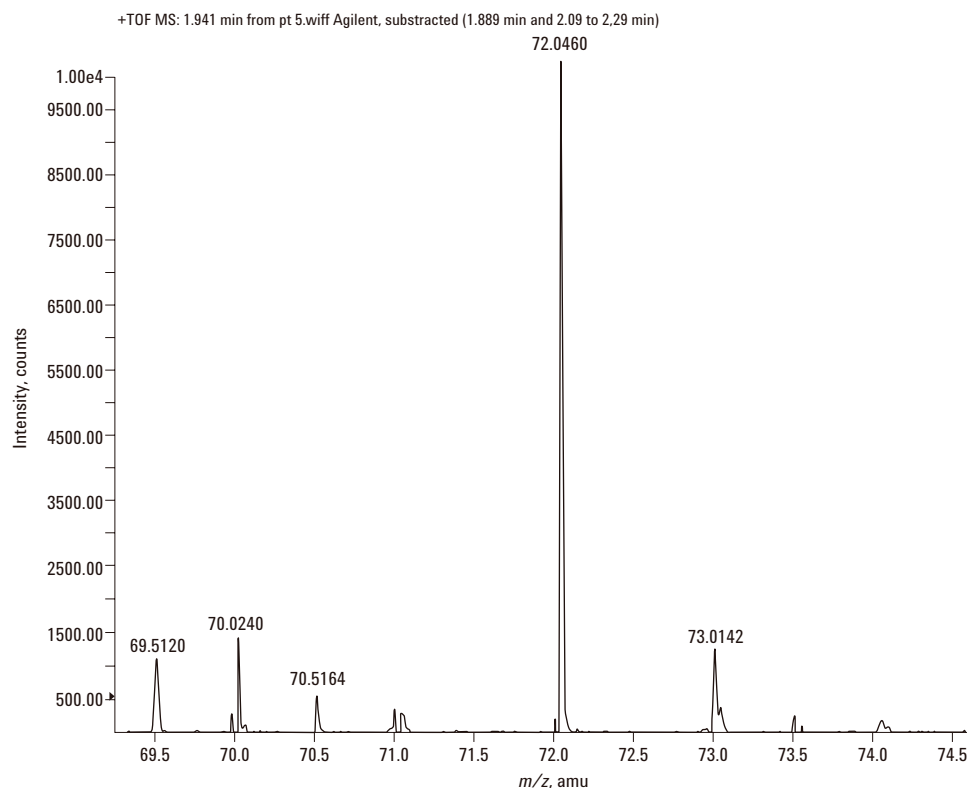


图 4. 一次进样得到的丙烯酰胺单一同位素分子离子峰 72.0460 ($M+H$)⁺

图 5 和图 6 分别显示了单个的丙烯酰胺和丙烯酰胺-d₃提取离子流图 (EICs)。每个离子的贡献都仅与原化合物对应。

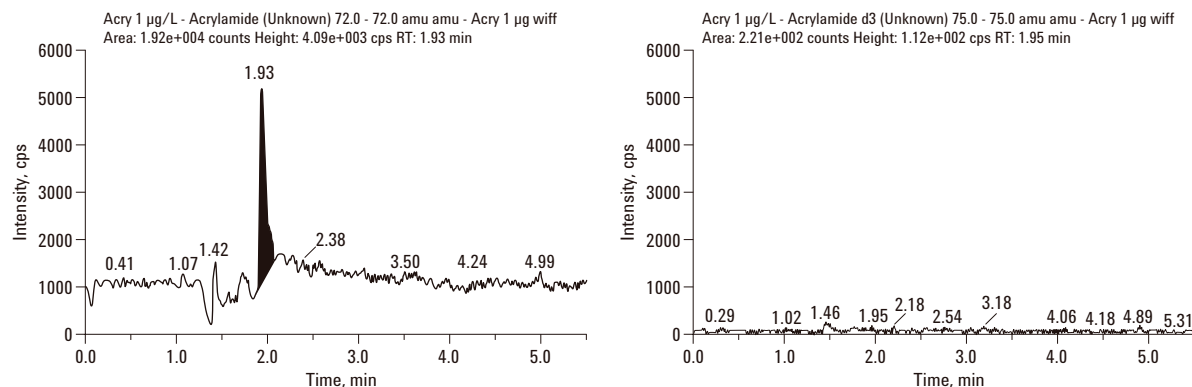


图 5. 1 µg/L 时丙烯酰胺的提取离子流图

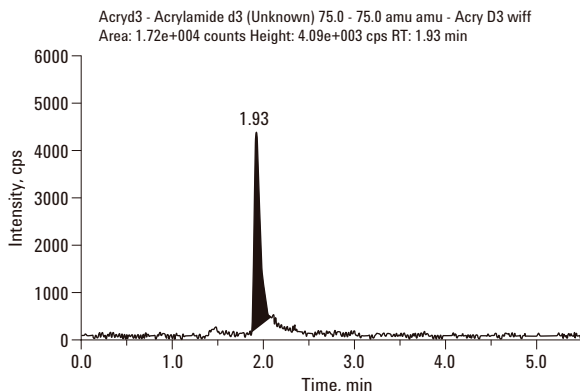
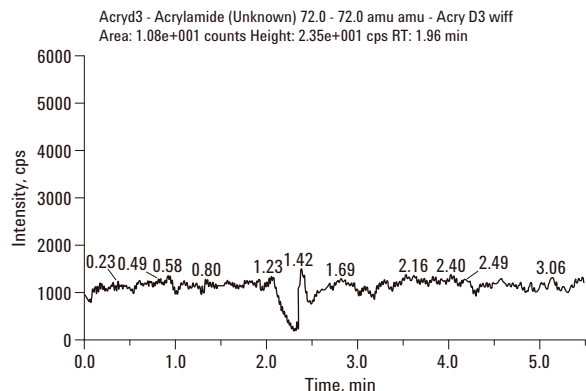


图 6. 1 µg/L 时丙烯酰胺 -d₃ 的提取离子流图

线性和定量限

图 7 显示了 0.25 和 3 µg/L 的丙烯酰胺内标标准曲线

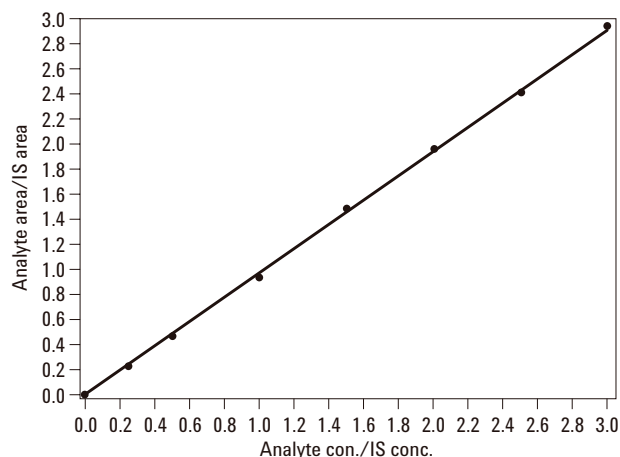


图 7. 丙烯酰胺和丙烯酰胺 -d₃ 线性响应图

经 HPLC 级水验证此线性关系良好，0.25 µg/L 的定量限可被接受

表 4 和 5 列出了验证分析方法有效性时的统计学结果

表 4. 0.25 – 3.00 µg/L 的标准曲线的重现性

标准曲线	R ²	斜率	El ⁺ -d ₃ 区的 %RSD
1	0.9980	0.98	5.5
2	0.9998	1.02	9.4
3	0.9998	1.06	11.9
4	0.9998	0.88	6.0
5	0.9994	0.84	5.5

*EI 提取离子

表 5. 相对偏差值

浓度 µg/L (n = 5)	%RSD
0.25	4.3
0.50	9.2
1.00	5.7
1.50	4.3
2.00	3.4
2.50	2.2
3.00	2.5

准确的质量稳定性

从一个序列的较低的标准偏差（小数点后第四位 <10%）结果中，我们注意到质量稳定性很好。此外，比较质量的理论值和实测值得到的相对偏差达到了小数点后第三位，丙烯酰胺标样约为 ±0.0023，丙烯酰胺氘代物约为 ±0.0027。参见表 6。

表 6. 精确质量数的标准偏差 (SD)

序列 (样品数)	丙烯酰胺精确质量数的标准偏差	丙烯酰胺氘代物精确质量数的标准偏差
序列 1 (30)	0.00050 (n = 24)	0.00050 (n = 29)
序列 2 (30)	0.00046 (n = 23)	0.00040 (n = 29)
序列 3 (53)	0.00055 (n = 43)	0.00030 (n = 53)
序列 4 (53)	0.00072 (n = 30)	0.00036 (n = 53)

样品特异性和重现性

样品特异性和重现性数据汇总参见表 7。

表 7. 三种不同的饮用水处理厂样品的特异性和重现性

样品*	理论添加值 0.25 µg/L		理论添加值 0.5 µg/L	
	平均 /%RSD	% 回收率	平均 /%RSD	% 回收率
RW1 (n=4)	0.22/11.7	88	0.47/3.4	94
RW2 (n=5)	0.26/10.5	104	0.45/1.8	90
RW3 (n=3)	0.20/17.0	80	0.52/2.8	104
DW1 (n=4)	0.28/22.5	112	0.48/16.7	96
DW2 (n=5)	0.23/12.9	92	0.43/8.6	86
DW3 (n=3)	0.24/13.0	96	0.50/8.3	100

* RW 生水 (HPLC 级水); DW 饮用水

回收率和相对标准偏差结果令人满意。

图 8 饮用水和图 9 生水都添加了 0.25 µg/L 的丙烯酰胺和 1 µg/L 氘代的丙烯酰胺

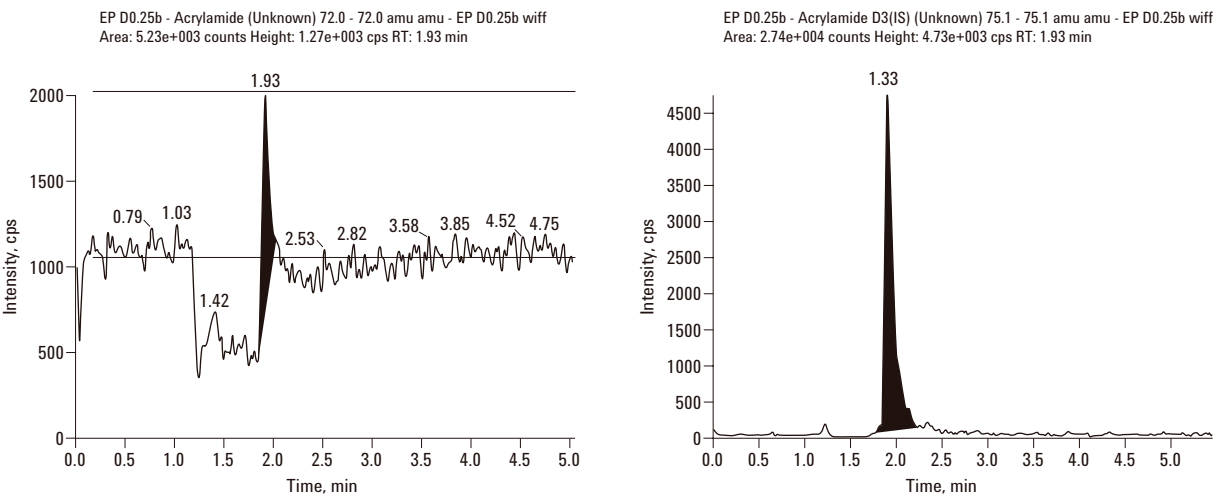


图 8. 饮用水添加了 0.25 µg/L 的丙烯酰胺和 1 µg/L 氘代的丙烯酰胺

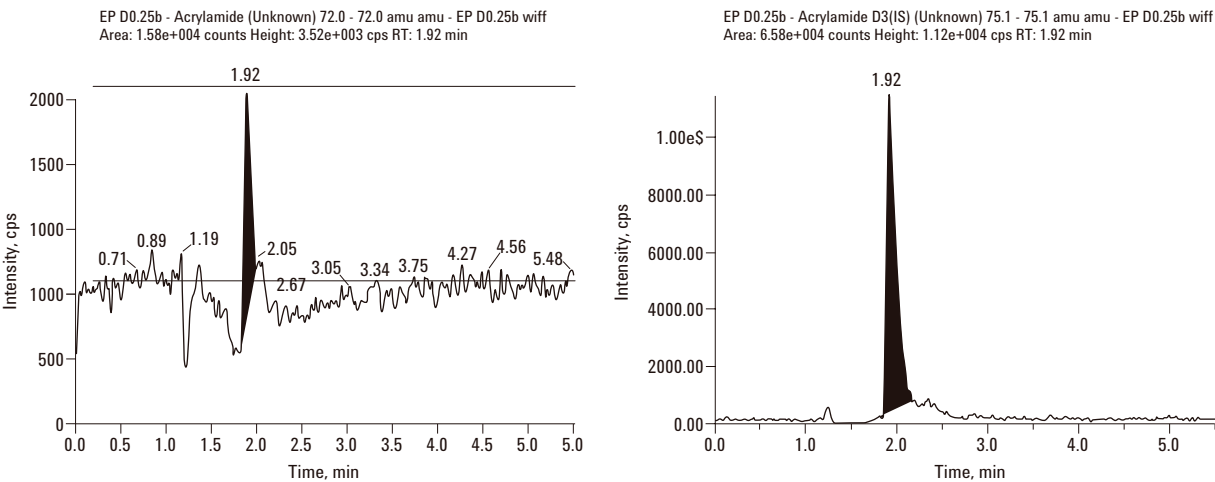


图 9. 生水 (HPLC 级水) 添加了 0.25 µg/L 的丙烯酰胺和 1 µg/L 氘代的丙烯酰胺

结论

此研究旨在开发一个用于测定饮用水处理厂水中痕量级的丙烯酰胺的分析方法。统计学数据证实飞行时间质谱 (TOF MS) 作为质谱检测器对此应用分析是正确的选择。灵敏度使得 0.25 µg/L 的定量限成为可能, 较好的专属性可以准确鉴定地表水、地下水和饮用水样品中的丙烯酰胺。与此相关分析技术联用, 在线萃取柱切换法能缩短分析时间。

参考文献

1. J.T. Novak and J.H. O'Brien, (1975), *J. Water Pollut. Control Fed.*, **47**, 2397。
2. 饮用水质量规范, 第二版, 卷 1。推荐, 日内瓦, 世界卫生组织, 1993, 72 页。

致谢

衷心感谢 Alain Vervaecke, Emmanuelle Godefroy 和 Pascal Roman (安捷伦科技, 法国), Jaumes C. Moralesi Sediles (安捷伦科技, 西班牙) 的技术支持。

更多信息

关于安捷伦产品和服务的更多信息, 敬请登陆 www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦科技公司对本材料可能存在的偏差或由于提供、执行或使用本材料的相关内容而导致的意外伤害和问题不负任何责任

本资料中的信息，说明和指标如有改变，恕不另行通知

© 安捷伦科技公司版权所有 2005

中国印刷
2005 年 4 月 26 日
出版号 5989-2884CHCN



Agilent Technologies