

EPA 方法 538: 采用 Agilent 6460 三重四级杆 LC/MS 系统直接进水样测定饮用水中特定的有机污染物

应用报告

环境保护

作者

Imma Ferrer and Michael Thurman
Center for Environmental
Mass Spectrometry
University of Colorado in Boulder,
Colorado, USA

摘要

本文采用超高效液相色谱和 Agilent 6460 三重四级杆 LC/MS 联用系统建立了 EPA (538) 直接进水样液相色谱串联质谱 (LC/MS/MS) 测定饮用水中 11 种特定有机污染物的新方法。EPA 方法的一个优点是样品不再需要进行固相萃取。这意味着分析时间至少可以缩短一半。此外,超高效液相色谱的使用可以缩短大约三分之二的分析时间。并且新方法具有优异的线性(线性相关系数大于等于 0.9999)和灵敏度(检测限均在 1~500 ng/L 范围内)。

前言

饮用水中的农药以及其他的有机污染物对人类的健康存在着潜在的威胁。这些污染物主要来源于农业以及工业中使用的化学试剂。为了确保饮用水的质量,美国环保局(EPA)要求对大量的主要污染物进行监测,并建立了 EPA 方法 538 用于检测饮用水中特定的有机污染物,其中的大部分污染物是有机磷农药。

EPA 方法 538 采用直接进水样的 LC/MS/MS 方法对水样进行分析。该方法使用 5 种氘代内标,对 11 种目标分析物进行测定。通过比较理想 LC/MS/MS 条件下校准标准品与分析物的离子对和保留时间对其进行分离和鉴定。按照标准规程通过内标校正的方法来实现每种分析物的浓度测定。由于无需样品萃取,因此相对于其他的 LC/MS/MS 方法而言,该方法快速且经济。



Agilent Technologies

本应用报告描述了将 EPA 方法 538 通过 Agilent 仪器系统得以实现，文中使用了 1290 Infinity 液相系统和装备喷射流技术的 Agilent 6460 三重四级杆液质联用系统。UHPLC 色谱分析只需 10 分钟，速度比原 EPA 方法 538 提高了不止 2 倍，不仅节省了时间还减少了试剂的消耗。新方法的改进之处是增加了二级质谱并对所有的分析物离子进行确证，这也符合欧盟关于使用质谱进行定性的要求。新方法定性结果的准确度要比 EPA 方法的还要高。研究人员采用当地的水样对新方法进行了验证。

实验部分

试剂与标准品

所有的标准品溶液（100 µg/mL）均购自 Accustandards 公司（New Haven, CT）。氘代标准品由 Cambridge Isotopes（Cambridge, MA）提供。色谱纯乙腈和甲醇购自 Burdick and Jackson 公司（Muskegon, MI, USA）。甲酸购自 Sigma-Aldrich 公司（St. Louis, MO, USA）。单个贮备液配制为浓度为 1 µg/mL 的甲醇溶液，并于 -18 °C 保存。所使用的标准溶液系用乙腈和水稀释贮备液配制而成。

仪器

实验在装备了 100 µL 定量环的 Agilent 1290 UHPLC 系统上运行，并与配备了喷射流技术的 Agilent 6460 三重四级杆 LC/MS 系统相串联。仪器运行条件见表 1。

表 1. LC 和 MS 条件

LC 条件	
色谱柱	Agilent ZORBAX C-18 Eclipse Plus, 2.1 x 50 mm, 1.8 µm (部件号 959757-902)
柱温	25 °C
进样体积	100 µL
流动相	A = 乙腈 B = 0.1% 醋酸溶液
运行时间	10 min
流速	0.4 mL/min
梯度程序	起始 90% B, 保持 1.7 min, 1.7 min - 10 min 线性增至 100% B。
MS 条件	
鞘气温度	350 °C
鞘气流速	11 L/min
干燥气温度	250 °C
干燥气流速	10 L/min
雾化器压力	45 psi
毛细管电压	4000 V
喷嘴电压	0 V
Delta EMV	200 V

样品制备

按照方法 538 要求取 40 mL 水样，加吡硫钠和醋酸铵进行保存。每次取 950 µL 水样和 5 种氘代内标物的内标液 50 µL 置于小瓶中，其中有机溶剂的含量应不超过 5%。分析前，样品要置于棕色玻璃瓶中并于 4 °C 保存。在加入内标前水样要用 0.2 µm 的聚四氟乙烯滤膜过滤，以防堵塞色谱柱。如此处理后样品就可以直接进到 LC/MS/MS 系统进行分析。空白样品也应经滤膜过滤用来检查有无干扰存在。

结果与讨论

方法 538

表 2 列出了 EPA 方法 538 涉及的 10 种有机磷农药和 1 种多环芳香族杂环类化合物——喹啉。这 11 种化合物是饮用水中最有代表性的污染物。表 3 列出了 EPA 方法中的 5 种氘代标准品。

表 2. EPA 方法 538 检测的饮用水中的 10 种有机磷农药和喹啉

分析物	CAS 号
乙酰甲胺磷	30560-19-1
涕灭威	116-06-3
涕灭威砒	1646-87-3
双特松	141-66-2
甲基磷酸二异丙酯 (DIMP)	1445-75-6
苯线磷砒	31972-44-8
苯线磷亚砒	31972-43-7
甲胺磷	10265-92-6
亚砒吸磷	301-12-2
喹啉	91-22-5
久效威	39196-18-4

EPA 方法的一个优点是样品前处理不再需要进行固相萃取，这意味着整个分析时间至少减少一半。此外，由于样品基质没有被 SPE 浓缩，因此伴随 SPE 产生的基质的抑制效应也减少了。虽然浓缩样品会提高灵敏度，但另一方面也会增强基质的抑制作用。并且本应用报告中所用的仪器具备优异的灵敏度而无需对样品进行浓缩。新方法的样品制备相当简单，只需在水样中加入内标混合物即可。

表 3. EPA 方法 538 中使用的 5 中氘代内标物 [1]

内标
氘代 d_6 -乙酰甲胺磷
氘代 d_{14} -甲基磷酸二异丙酯 (DIMP- d_{14})
氘代 d_6 -甲胺磷
氘代 d_6 -亚砒吸磷
氘代 d_7 -喹啉

检测限和线性

在 EPA 方法 538 中每个化合物只采用一个 MRM 离子对进行检测 [1]。新方法中增加了一个离子对的检测，这为物质的测定提供了一个确证离子。这也符合标准分析规程要求的当使用三重四级杆串联质谱时需要采用第二组离子对进行确证并查看离子百分比。表 4 给出了 11 种物质的监测离子对以及裂解电压和碰撞能量。表 5 所示为用于定量的每种氘代内标的监测离子对，以及其相应的裂解电压和碰撞能量。

表 5. EPA 方法 538 中 5 种氘代内标的监测离子对、裂解电压和碰撞能量

化合物	离子对	裂解电压	碰撞能量
氘代 _d ₆ -乙酰甲胺磷	190→149	50	0
氘代 _d ₁₄ -甲基磷酸二异丙酯	195→99	70	5
氘代 _d ₆ -甲胺磷	148→97	70	10
氘代 _d ₆ -亚砷吸磷	253→175	70	10
氘代 _d ₇ -啉	137→81	110	35

表 4. EPA 方法 538 中 11 种标准品的监测离子对、裂解电压和碰撞能量

化合物名称	母离子	子离子	驻留时间	裂解电压 (V)	碰撞能量 (V)	极性
乙酰甲胺磷	206	165	10	90	5	正离子模式
乙酰甲胺磷	184	143	10	50	0	正离子模式
涕灭威	213	116	10	90	5	正离子模式
涕灭威	213	89	10	90	15	正离子模式
涕灭威亚砷	229	166	10	70	5	正离子模式
涕灭威亚砷	229	109	10	70	10	正离子模式
双特松	238	193	10	70	0	正离子模式
双特松	238	112	10	70	5	正离子模式
甲基磷酸二异丙酯	181	139	10	70	0	正离子模式
甲基磷酸二异丙酯	181	97	10	70	5	正离子模式
苯线磷砷	336	308	10	110	10	正离子模式
苯线磷砷	336	266	10	110	15	正离子模式
苯线磷亚砷	320	292	10	110	10	正离子模式
苯线磷亚砷	320	233	10	110	20	正离子模式
甲胺磷	142	125	10	70	10	正离子模式
甲胺磷	142	94	10	70	10	正离子模式
亚砷吸磷	269	191	10	110	5	正离子模式
亚砷吸磷	247	169	10	70	10	正离子模式
啉	130	103	10	110	25	正离子模式
啉	130	77	10	110	35	正离子模式
久效威	241	184	10	90	5	正离子模式
久效威	241	57	10	90	15	正离子模式

本文采用超高效液相色谱系统的一个 10 分钟快速梯度洗脱程序（见表 1）来分析 EPA 方法 538 里的 11 种化合物，其提取离子色谱图如图 1 所示。这 11 种物质大约 6 分钟就可以洗脱完全。极性较大的化合物，如甲胺磷、乙酰甲胺磷和涕灭威亚砷在色谱图的前 1 分钟即出峰。极性小的化合物如甲基磷酸二异丙酯、涕灭威、苯线磷亚砷、苯线磷砷和久效威则在色谱运行的后半部分出峰。采用此梯度洗脱程序得到的色谱峰峰形良好，从而提高了检测灵敏度和检测限。

11 种分析物的检测限（LOD）均在 1~500 ng/L 范围内（见表 6），检测限最低的是涕灭威亚砷（1 ng/L），最高的是乙酰甲胺磷（500 ng/L）。最低检测限的差异反应了每种化合物电喷雾离子化的能力不同。极性大的化合物检测灵敏度低，如甲胺磷和乙酰甲胺磷，而极性小的物质检测灵敏度反而较高，如苯线磷砷和久效威。与方法 538 相比，11 种物质中有 9 种物质的检测限比表 6 中所列的更低，并且这 9 种物质的方法报告限（MRL）与表 6 中所列相同或者更低。啶啉属于含氮杂环类化合物，性质稳定，它在使用喷射流技术的 Agilent 6460 三重四级杆液质联用系统上进行检测时灵敏度极高。因此，对 538 方法的这种应用，建立了一种灵敏的方法用于饮用水中有机磷农药的检测。

新方法在 538 方法的基础上又加入了一个 MRM 监测离子对，这使之成为通过分析水样中农药残留来评估水质的有效方法。欧盟规定采用质谱进行定性分析必须使用两个监测离子对，这也成了非官方的全球标准。

表 6. EPA 方法 538 中各分析物的检测限

化合物	添加浓度 (ng/L) ^a	最低检测限 (ng/L) ^b	方法报告限 (ng/L) ^c
乙酰甲胺磷	500	500	1000
涕灭威	5	2	5
涕灭威亚砷	5	1	2
甲基磷酸二异丙酯	10	10	20
双特松	10	10	20
苯线磷砷	5	5	10
苯线磷亚砷	5	5	10
甲胺磷	50	50	100
亚砷吸磷	5	5	10
啶啉	10	10	20
久效威	5	2	5

a. 测定最低检测限所用的添加浓度

b. 最低检测限（3 倍信噪比）

c. 方法报告限（每种化合物的两个监测离子对均达到 6 倍信噪比）

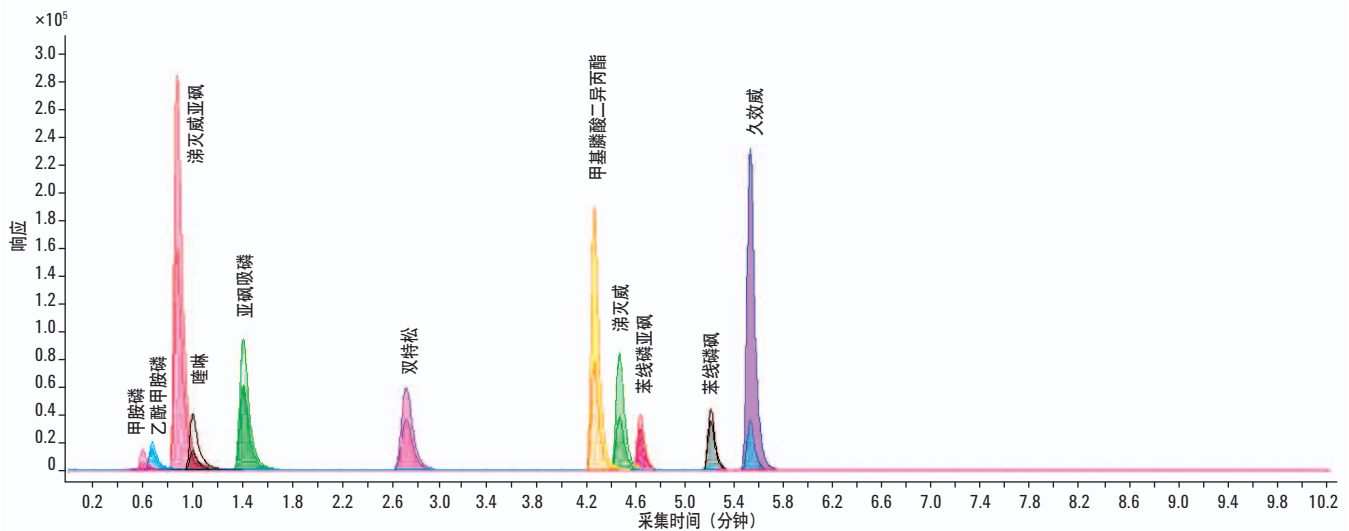


图 1. EPA 方法 538 中 11 种分析物的提取离子色谱图（EIC），采用超高效液相（Agilent 1290 Infinity 液相系统）进行分析

图 2 给出了直接进样方法分析喹啉和苯线磷砒两种分析物时获得的优异的线性。事实上，该方法中的所有化合物的线性系数 (R²) 均大于 0.9999。

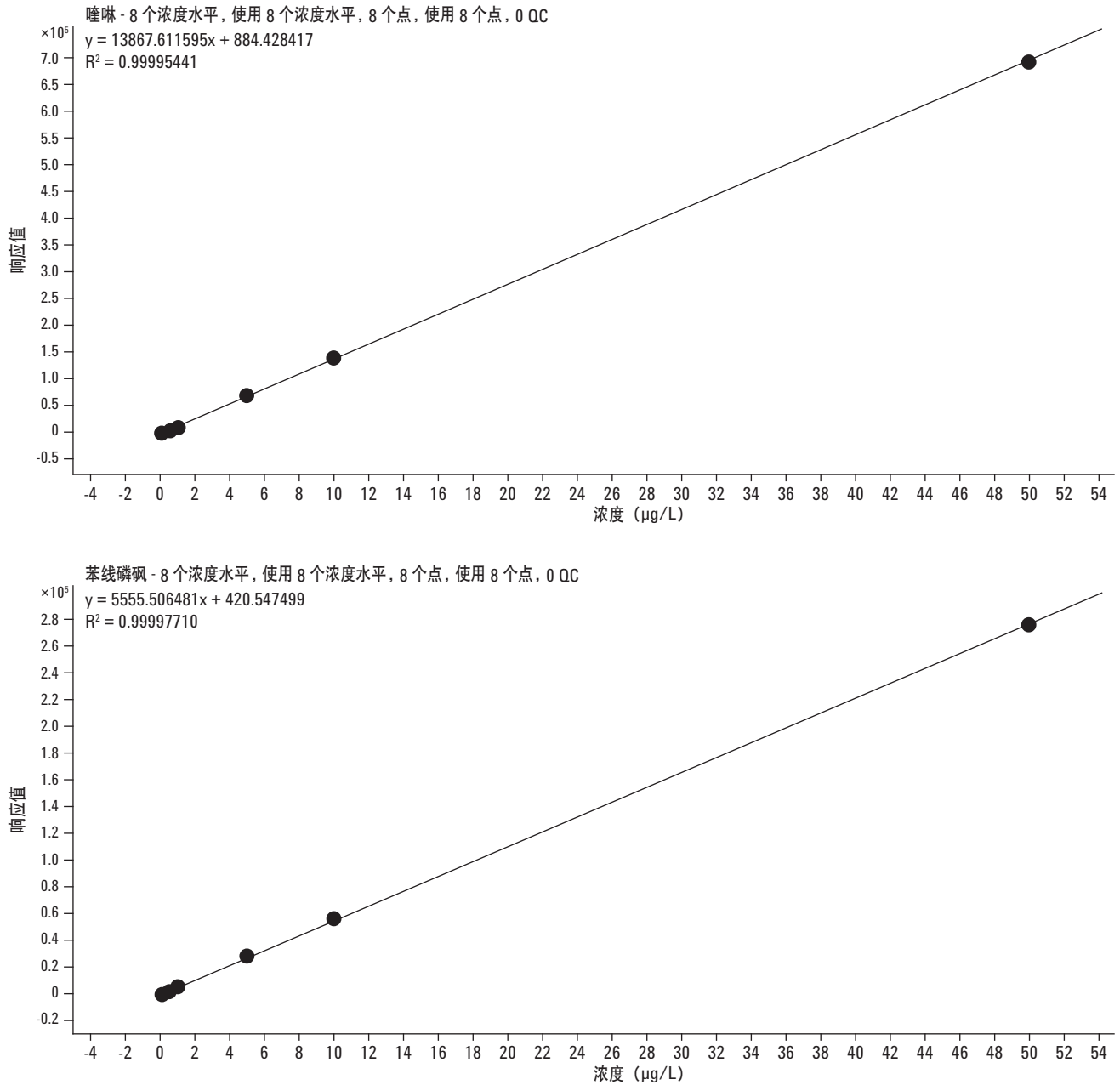


图 2. 喹啉和苯线磷砒的校准曲线

饮用水样品的检测

采用 EPA 方法 538 对河水、水库水和饮用水样品进行了检测。结果三个样品中只有水库水（处理后则作为饮用水使用）的样品中检测出了甲基磷酸二异丙酯（如图 3 所示）。处理过的饮用水中不存在可检测到的有机磷农药。因此，该方法是一种可靠、实用、快速而且灵敏的方法，可以用于饮用水中污染物的检测。

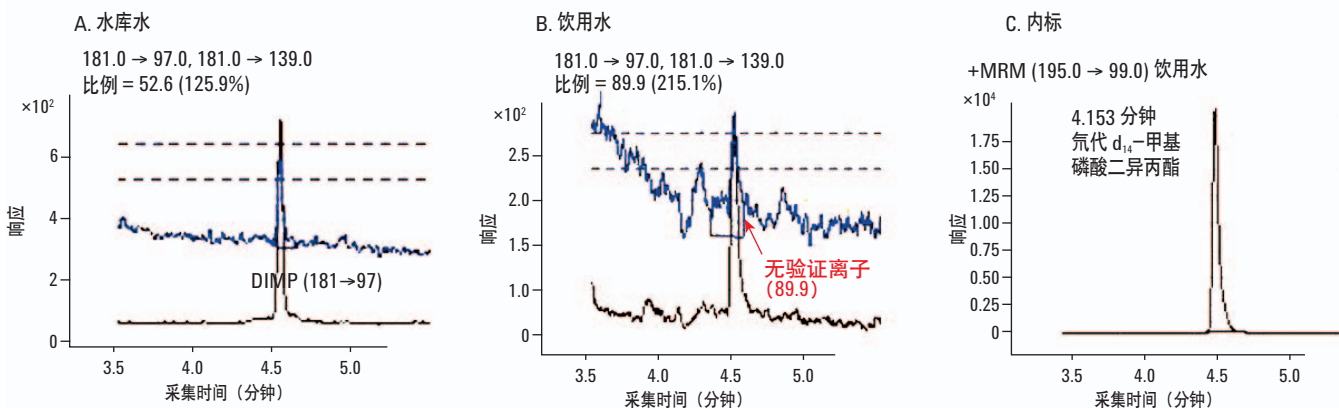


图 3. 采用改进的 538 方法检测未经处理水库水 (A) 和处理后饮用水 (B) 中的 DIMP。以 181→97 离子对作为定量离子，181→139 离子对作为定性离子来检测 DIMP。在饮用水的分析中，未出现定性离子，这使得定量离子与定性离子的比例很高，意味着饮用水中不存在 DIMP。图中 C 为内标物——氘代 DIMP

结论

EPA 方法 538 在配备了喷射流技术的 Agilent 6460 三重四级杆 LC/MS 系统和 Agilent 1290 Infinity LC 系统上运行，可以缩短分析时间至原来的三分之一。并且验证离子对的使用使结果的可靠性大大的提高。同时该方法的检测限和耐用性都能达到环境检测的要求 [1]。

参考文献

1. J.A. Shoemaker, 2009, EPA Method 538: Determination of selected organic constituents in drinking water by direct aqueous injection-liquid chromatography/tandem mass spectrometry, EPA/600/R-09/149, 40p.

更多详细信息

这些数据代表了典型的结果。有关我们产品和服务的更多信息，请访问 www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和性能指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012
2012年1月17日，中国印刷
5990-9670CHCN



Agilent Technologies