

利用在线固相萃取富集方法对水中农药进行高灵敏度检测

应用简报

环境应用

作者

Sarah Gledhill
South East Water
Frimley Green
England

摘要

在安捷伦 6410 三重四极杆液质联用仪上建立了用于 17 种氯化苯氧酸类除草剂和五氯酚的在线固相萃取 (SPE) 分析方法。这个方法符合英国饮用水监察局规定的标准偏差、误差、回收率和总误差要求，并且已经获得英国皇家认可委员会 (UKAS) 的认可。



Agilent Technologies

前言

氯化苯氧酸类除草剂及其衍生物被广泛用于控制作物中的阔叶杂草和清除路边的杂草。虽然治理的区域的径流可能污染地表水和地下水，但是，某些氯化苯氧羧酸类除草剂已经直接被投放到水道和水库中用于水草和藻类的控制。

这些水中农药检测的传统方法是，用液-液萃取或者固相萃取法对 1 L 样品进行提取，然后用重氮甲烷甲基化。用气-质联用 (GC/MS) 对衍生化的样品进行分析。然而，质谱的灵敏度使得液-质联用方法不需要样品的衍生化就能显著降低样品量。之前，英国东南水务用离线固相萃取-液质联用技术建立了除草剂的分析方法，采用的样品体积是 50 mL。

本应用简报描述了在线固相萃取用于 17 种氯化苯氧酸除草剂和五氯酚 (PCP) 的高灵敏度分析方法的建立和验证，所需的样品体积仅为 1.5 mL。与传统的气-质方法相比，所需的样品体积减少了近 3 个数量级。本方法使用聚合物型固相萃取柱，它在线连接到安捷伦 1200 四元液相泵上，然后与安捷伦的 6410 三重四极杆液-质联用仪 (升级版) 联用。本方法满足英国饮用水监察局规定的标准偏差、偏差、回收率和总误差要求，并已经获得英国皇家认可委员会 (UKAS) 的认可。

实验

试剂和标准品

所需试剂如下：液质级的纯度为 98% 的甲酸 (Fluka)；色谱级的冰醋酸 (Fisher Scientific)；色谱级的乙腈 (JT Baker)；丙酮和甲醇 (JT Baker)。PLRP-S 固相萃取柱 (安捷伦科技，部件号 5062-8547)。所有的农药和内标都为从 QMX 实验室纯化得到的固体。

称量 50 mg 的固体用丙酮溶解于 50 mL 的容量瓶中制成标准储备液，最终浓度是 1000 mg/L。对于混标的中间标准液的制备，取 10 μ L 单标储备液到 100 mL 的容量瓶中，最后用甲醇定容，最终浓度是 100 μ g/L 的每个农药。

称量 10 mg 的二氯苯基乙酸 (DCPAA) 用丙酮溶解于 50 mL 的容量瓶中制成标准储备液，最终浓度是 1000 mg/L。对于工作内标液的制备，取 250 μ L 内标储备液到 50 mL 的容量瓶中，最后用甲醇定容，使每个农药标准品的最终浓度均为 500 μ g/L。

校准标样的制备，首先在 1 L 超纯水中 (Milli-Q 制得) 加入 5 mL 甲酸制成酸化水。取 50 mL 酸化水分别加入到 5 个 60 mL 的琥珀色瓶中，然后在每个瓶中加入 50 μ L 的内标溶液。在五个 60 mL 的瓶中制备下表所示的校正液。

瓶号	混标中间液的加入体积 (μ L)	标液的最终浓度 (μ g/L)
1	100	0.20
2	50	0.10
3	20	0.04
4	10	0.02
5	0	0.00

所有的瓶子都充分晃动使瓶内液体混合，从每个瓶中取 2 mL 液体移至带标签的 2-mL 样品瓶中用于分析。校正液的浓度范围是 0.0-0.20 μ g/L。加标质控样品的浓度是 0.10 μ g/L。

仪器

分析系统包括安捷伦 1200 Infinity 系列液相色谱的各个模块及联用的 6410A 三重四极杆液-质联用仪（升级版）。升级套件（G2573A）包括增加的一个分子涡轮泵和用于碰撞池的可替换的入口和出口透镜。在线固相萃取的富集系统是使用 1200 四元泵，配置安捷伦 900 μL 定量环的自动进样器（采用精密计量泵和

多次抽样的方式）以及程序控制的六位选择阀。第二个程序控制六通/两位阀用于可重复使用的固相萃取柱的上样和将样品洗脱至分析柱的选择。整个系统的配置图如 1 所示，仪器的操作条件见表 1 和 2。定量分析要求的定性离子、碰撞电压、碰撞能量都通过 Mass Optimizer 软件自动优化获得。

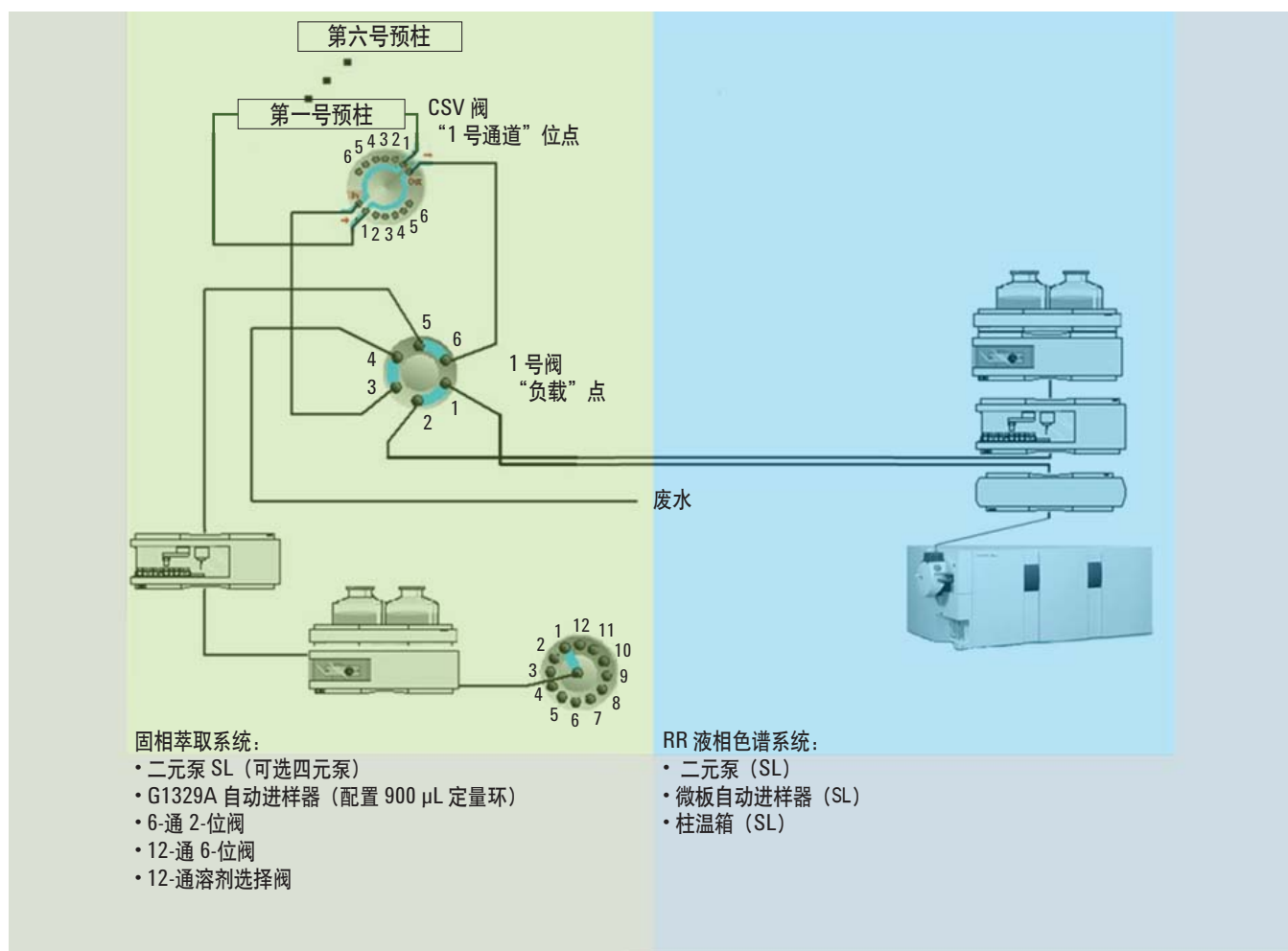


图 1. 在线固相萃取-液质联用系统的配置图

表 1. 在线固相萃取的条件

流动相	A: 1% 甲酸 B: 乙腈		
固相萃取柱	PLRP-S 10 × 2 mm, 15–25 μm		
温度	室温		
流速 (上样)	1 mL/min		
梯度	时间	梯度 (%B)	流速 (mL/min)
	0.0	0	1.0
	3.0	0	1.0
	3.5	0	0.5
	4.5	100	0.5
	18.0	100	0.5
	18.2	100	1.0
	25.0	100	1.0
	25.5	0	1.0
进样程序	指令: DRAW def. amount from sample 750 μL speed 800 VALVE mainpass WAIT 1.5 minutes EJECT def. amount into seat, max. speed DRAW def. amount from sample 750 μL speed 800 VALVE mainpass WAIT 1.5 minutes REMOTE start pulse EJECT def. amount into seat, max. speed		

表 2. 液相色谱和质谱的参数

液相色谱条件		
分析柱	安捷伦 ZORBAX C-18 Eclipse Plus, 2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm (部件号 959763-902)	
柱温	60 °C	
进样体积	进样程序, 2 × 750 pL, 总体积 1.5 mL	
流动相	A = 0.1% 乙酸 B = 乙腈	
分析时间	29.0 min	
流速	0.25 mL/min	
梯度	时间 (min)	梯度 (%B)
	0	15
	1.00	15
	1.01	25
	2.00	25
	17.00	70
	18.00	100
	20.00	100
	21.00	15
质谱条件		
采集参数	ESI, 正/负离子化模式; MRM (7 个时间段)	
干燥气温度	250 °C	
干燥气流速	8 L/min 氮气	
雾化器压力	40 psig	
毛细管电压	3000 V	

样品制备

从每个取样点采集的样品中, 取 50 mL 水样转移至 60-mL 的棕色瓶中。如果水样中含有颗粒物, 在量取 50 mL 样品之前, 要用 Whatman GF 过滤纸将它们进行过滤。在每个样品中加入 250 μL 甲酸和 50 μL 内标工作液。样品瓶充分震荡混合, 取 2 mL 样品, 转移至有标签的样品中, 用于分析。

分析参数

对于待测组分, 三重四极杆液质的多反应监测模式 (MRM) 采集参数见表 3。

表 3. 安捷伦 6410 三重四极杆液质联用仪分析待测物的 MRM 参数

保留时间(min)	化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	离子 驻留时间	碰撞电压	碰撞能量 (V)	极性
5.387	二氯吡啶酸	194	148	100	65	19	正模式
		192	146	100	65	19	正模式
6.103	毒莠定	243	197	100	75	18	正模式
		241	195	100	75	18	正模式
6.576	咪唑烟酸	262.2	234.3	50	130	14	正模式
			217.2	50	130	17	正模式
8.933	麦草畏	221	177	100	60	0	负模式
		219	175	100	60	0	负模式
9.455	草除灵	242	198	70	100	0	负模式
			170	70	100	8	负模式
9.782	氯氟吡氧乙酸	255	197	75	100	8	负模式
		253	195	75	100	8	负模式
11.361	苯达松	239	197	25	130	20	负模式
			132	25	130	25	负模式
12.379	2,4-D	221	163	35	80	15	负模式
		219	161	35	80	15	负模式
12.426	溴苯腈	276	81	75	110	35	负模式
		274	79	75	110	35	负模式
12.613	2-甲基-4-氯苯氧乙酸	201	143	35	100	15	负模式
		199	141	35	100	15	负模式
12.63	DCPAA (内标)	205	161	35	50	0	负模式
		202.9	159	35	50	0	负模式
13.476	绿草定	256	198	200	60	5	负模式
		254	196	200	60	5	负模式
14.114	碘苯腈	369.8	214.9	50	120	30	负模式
			126.9	50	120	35	负模式
14.223	敌草腈	235	163	50	80	10	负模式
		233	161	50	80	10	负模式
14.359	2,4,5-三氯苯氧乙酸	254.9	196.9	50	80	10	负模式
		252.9	194.9	50	80	10	负模式
14.371	2 甲 4 氯丙酸	215	143	50	80	20	负模式
		213	141	50	80	20	负模式
15.319	2,4-D 丁酸	249	163	75	80	10	负模式
		247	161	75	80	10	负模式
15.466	2 甲 4 氯丁酸	229	143	75	105	2	负模式
		227	141	75	105	2	负模式
19.636	五氯酚	266.9	266.9	50	126	0	负模式
		264.9	264.9	50	126	0	负模式
		262.9	262.9	50	126	0	负模式

结果与讨论

小体积样品的分析

使用在线固相萃取方法，可以在自动进样器上的 2 mL 标准样品瓶中满足 1.5 mL 样品体积进样，所以 100 位的样品盘可大大提高样品的分析通量。图 2 所示为 1.5 mL 样品体积、浓度为 0.10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的加标溶液的总离子流图。其中一些浓度为 0.10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 除草剂和五氯酚（PCP）提取离子流图（EIC）见图 3。

高灵敏度和准确定量分析

如图 4 所示，本方法可以检测浓度小于等于 0.010 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的除草剂。从浓度 0.02 至 0.20 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围中选取四个点建立校正曲线。所有化合物的线性相关系数 (R^2) 都大于 0.999。图 5 显示了三个具代表性的校正曲线。

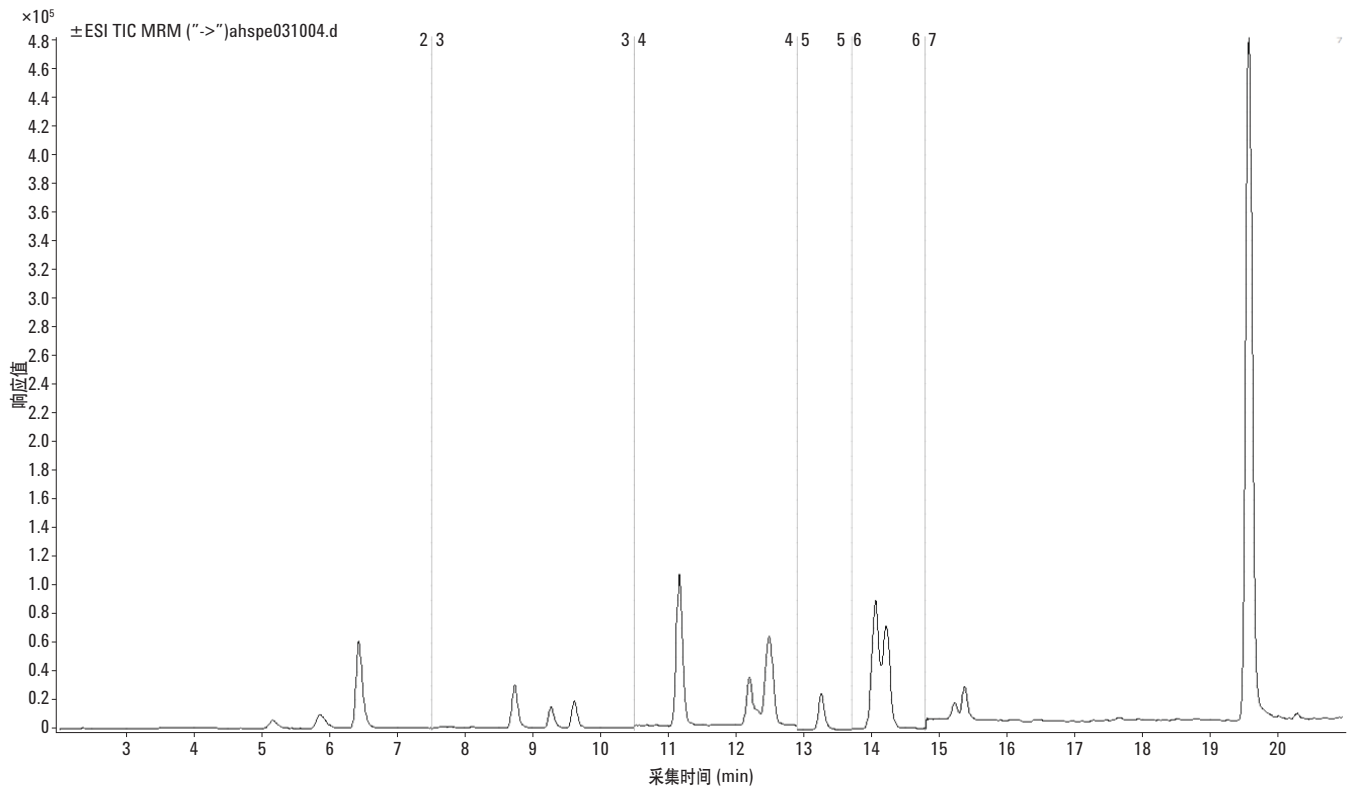


图 2. 浓度为 0.10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 17 个除草剂的总离子流图和时间段的位置

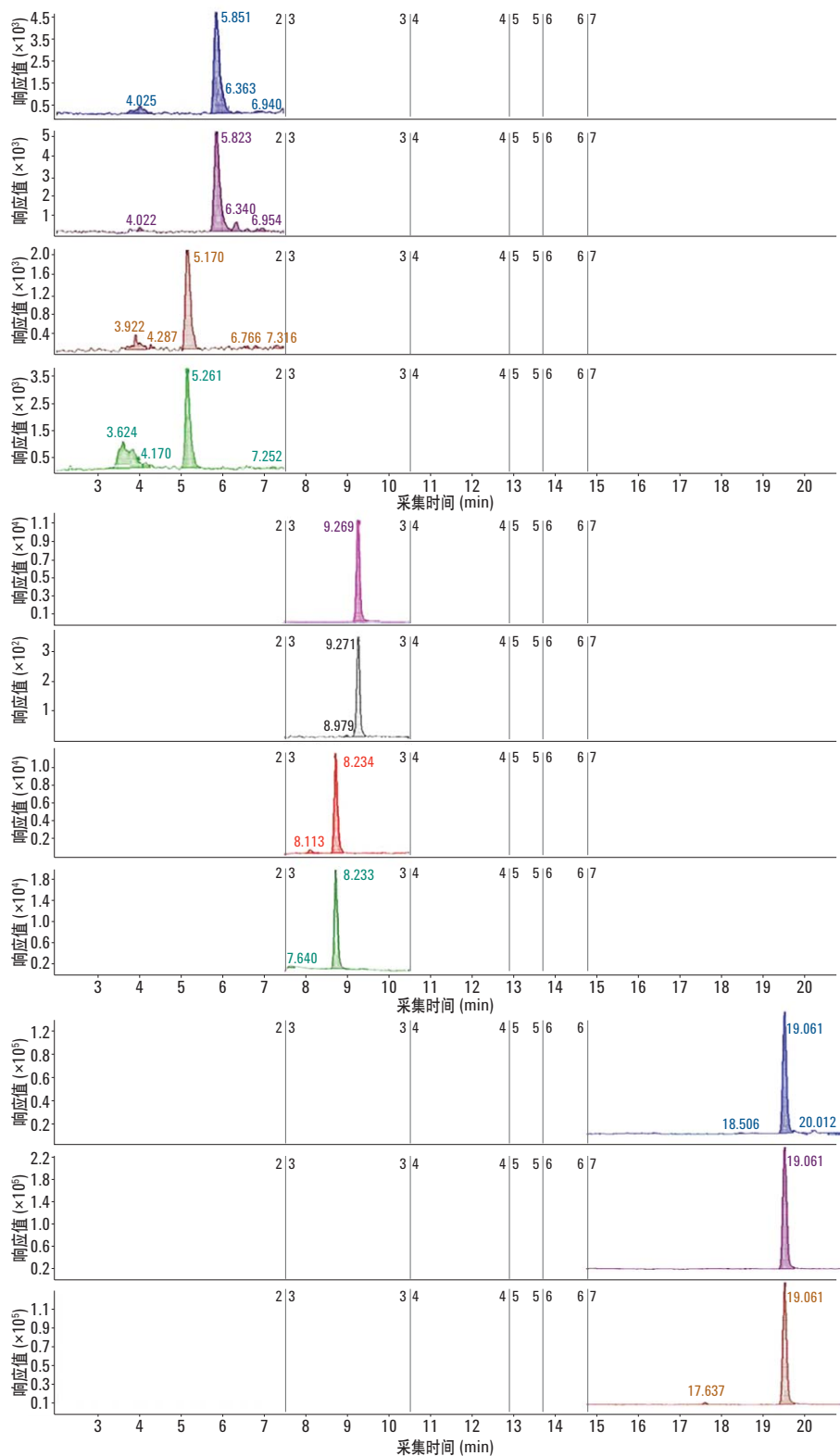


图 3. 浓度为 $0.10 \mu\text{g/L}$ 的几个除草剂的提取离子流图；毒莠定（最上部的两个离子流图）和二氯吡啶酸（最上部的下面的两个离子流图）；草除灵（中间部分的上面两个离子流图）；麦草畏（中间部分的下面两个离子流图）；五氟酚（底部的三个离子流图）

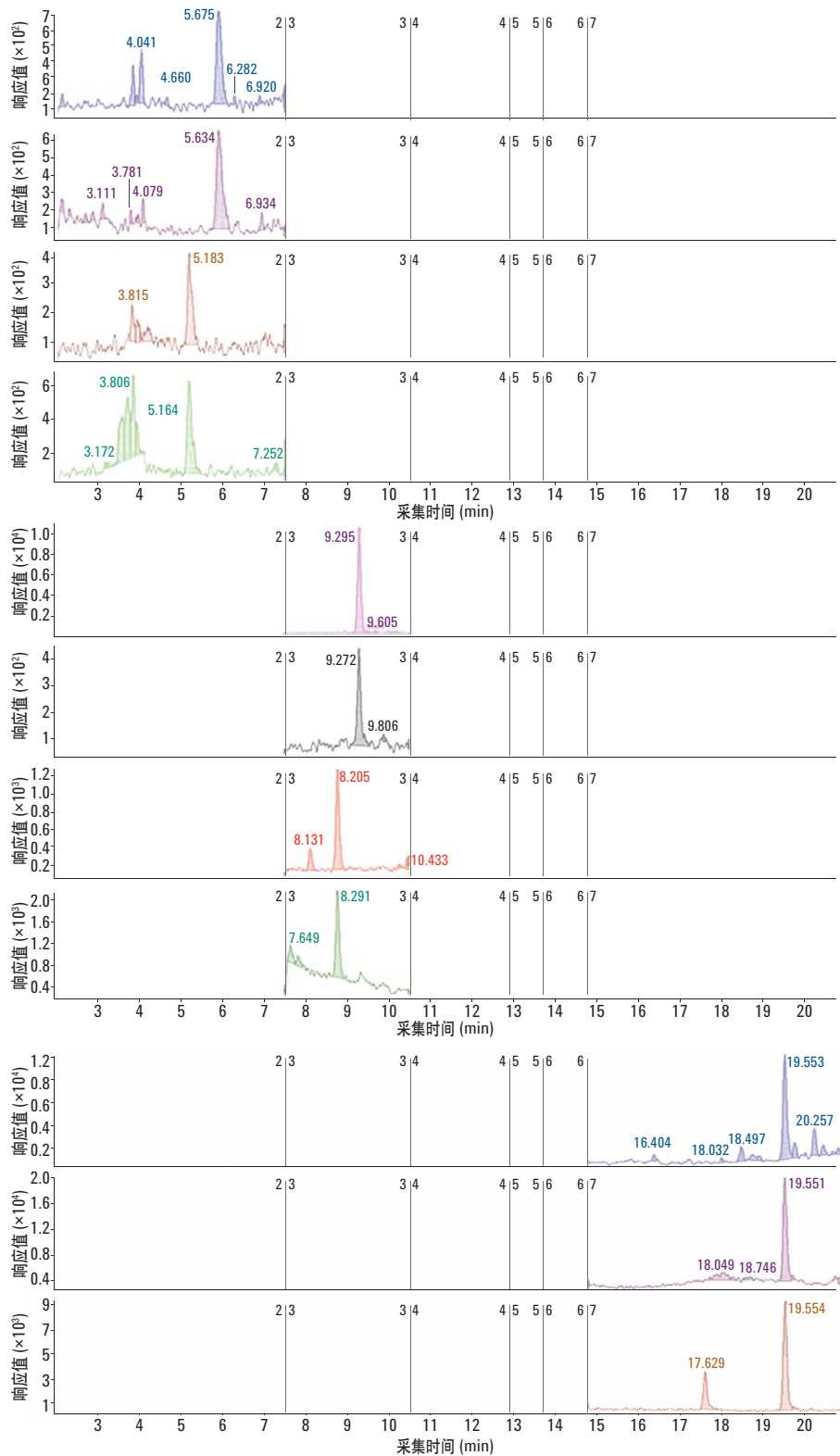


图 4. 浓度为 $0.010 \mu\text{g/L}$ 的几个除草剂的提取离子流图；毒莠定（最上部的两个离子流图）和二氯吡啶酸（最上部的下面的两个离子流图）；草除灵（中间部分的上面两个离子流图）；麦草畏（中间部分的下面两个离子流图）；五氟酚（底部的三个离子流图）

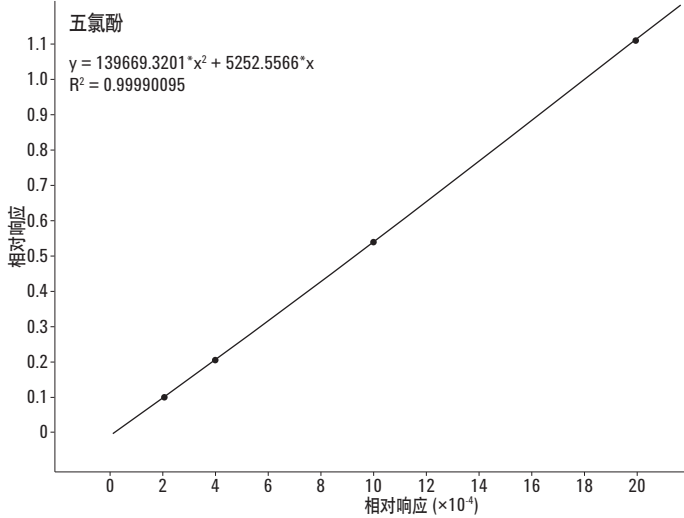
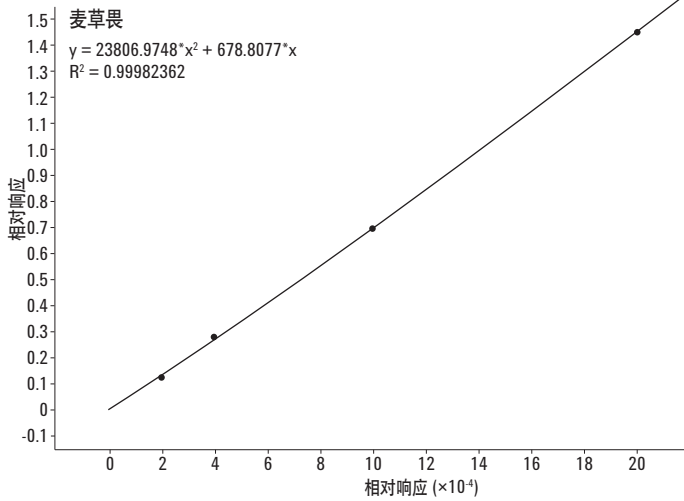
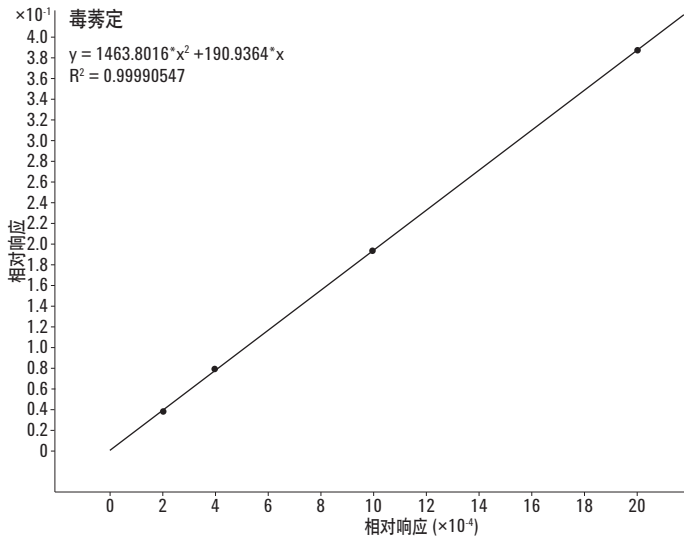


图 5. 浓度从 0.02 到 0.20 $\mu\text{g/L}$ 范围内的校正曲线，毒莠定（上）、麦草畏（中）和五氯酚（下）。三个化合物的校正曲线的线性相关系数 (R^2) 均大于 0.999

方法验证

方法验证过程包括 11 组样品，包括两个重复加标、空白和用加 17 个除草剂和五氯酚混标 (0.10 µg/L) 的地表水、井水和处理过的水的 AQC 样品。大多数化合物的检测限 (LODs) 低于 0.01 µg/L。所有组分的回收率在 86%–125% 之间，大多数的化合物在 95%–104% 之间 (见表 4)。Aquacheck 测试由 LGC 标准品公司有效执行，LGC 标准品公司是 UKAS 认可的能力验证计划服务的国际供应商。它显示了优异的均值相关性，Z 值 (Z score) 必须在 ±2 范围内才能通过验证测试 (见表 5)。另外，本方法还满足英国饮用水监察局规定的标准偏差、偏差、回收率和总误差要求 (数据未显示)。

结论

在 6410 三重四极杆液质联用系统上建立了 17 种氯化苯氧酸除草剂和五氯酚 (PCP) 的在线固相萃取方法，此方法获得 UKAS 认可，与传统的气质联用方法相比，此方法将所需分析样品的体积降低了近一千倍。而且，检测限低至 12 ppt，大多数的组分的回收率大于 95%。除了分析样品体积显著减少之外，此方法还具有分析速度快、成本低的优点。固相萃取柱可重复使用且所需的萃取溶剂更少。最后，由于系统是自动化运行，所以结果的重现性和准确性更高。

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。欲了解更多有关我们产品和服务的信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem/cn。

表 4. 在线固相萃取方法的验证数据

化合物	% 回收率			LOD* (µg/L)
	地表水	井水	处理过的水	
异恶草松	86.29	97.34	86.62	0.012
毒莠定	99.58	96.74	93.33	0.009
咪唑烟酸	124.87	96.92	96.72	0.009
麦草畏	98.94	95.36	93.64	0.003
草除灵	92.54	96.71	96.13	0.003
氟氯吡氧乙酸	92.50	97.26	96.96	0.003
苯达松	97.59	97.58	96.50	0.003
2,4-D	98.48	96.67	97.47	0.003
溴苯腈	95.84	95.00	96.75	0.003
2-甲基-4-氯苯氧乙酸	98.88	95.97	96.47	0.003
绿草定	98.22	95.78	96.15	0.003
碘苯腈	100.03	98.65	99.87	0.003
2,4-滴丙酸	100.08	97.01	97.79	0.003
2,4,5-T	102.60	99.07	99.42	0.003
2-甲-4-氯丙酸	101.86	98.29	98.45	0.003
2,4-DB	98.21	97.73	97.30	0.003
2 甲 4 氯丁酸	99.45	98.18	98.83	0.003
五氯酚	103.68	98.22	98.08	0.006

*LOD = 检测限 (是每种农药低标的 3 倍标准偏差)

表 5. 在线固相萃取方法的 Aquacheck 测试数据

化合物	Aquacheck 的指定浓度 (ng/L)	在线固相萃取的测量结果 (ng/L)	Z 值 *
麦草畏	115.6	116.7	0.09
苯达松	85.9	81.85	-0.47
2,4-D	84.4	88.7	0.51
溴苯腈	118.3	115.15	-0.27
2-甲基-4-氯苯氧乙酸	83.8	80.95	-0.34
绿草定	44.4	41.2	-0.64
碘苯腈	103	94.05	-0.87
2,4-滴丙酸	54.1	54.95	0.17
2-甲-4-氯丙酸	53	54.45	0.27
2,4-DB	32.8	28.35	-0.89
2 甲 4 氯丁酸	42.6	39.55	-0.61

*Z 值是指与特定值相关的测量指标，特定值必须在 ±2 内才能进行有效测试

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8月2日，中国印刷
5991-0871CHCN



Agilent Technologies