



# 使用在线固相萃取富集水和果汁中的痕量有机污染物

## 应用简报

环境与食品

### 作者

E. Michael Thurman 和 Imma Ferrer  
环境质谱分析中心  
环境工程系  
科罗拉多大学  
科罗拉多州波尔得  
美国

Jerry A. Zweigenbaum  
安捷伦科技有限公司  
2850 Centerville Road  
Wilmington, DE 19808  
美国

### 摘要

使用 Agilent Flex Cube 解决方案并采用三重四极杆质谱检测，开发出了用于环境水样和果汁中痕量有机污染物（药物和农药）定性和定量分析的在线固相萃取 (SPE) 方法。在聚合物柱上预浓缩了少量体积 (900  $\mu$ L) 的样品。本文展示并讨论了实际样品中用于线性、回收率和检测限的在线 SPE 系统的分析性能数据。回收率在 41% 至 115% 之间。方法检测限在 1 ng/L 至 500 ng/L 的范围内。



**Agilent Technologies**

## 前言

手动 SPE 方法的自动化具有许多优势，例如，对于操作者来说这种方法更加健康安全，同时可以改进分析结果、节省费用。使用在线 SPE 可以自动化完成手动 SPE 方法，能够实现从包含有害物质的环境水样以及有机洗脱溶剂中分离目标分析物。同时也消除了手动方法中操作者因反复操作 SPE 引起怠倦状态而引入的常见错误。此外，还能实现过夜运行，最大程度地利用样品前处理时间。由于在手动 SPE 和溶剂处理中会有样品损失，在线 SPE 最重要的优势是能够最大程度提高分析物的回收率。

本应用简报展示了如何自动化 SPE 方法以用于包含农药、药物的环境水样和含有农药的果汁样品的分析。SPE 在水样分析中的重要性肇始于二十世纪 80 年代早期，因为当时需要使用现代的 GC/MS 和 LC/MS 仪器将检测浓度由  $\mu\text{g/L}$  降低到  $\text{ng/L}$ 。通常需使用真空歧管通过手动 SPE 方法得以完成。通过该系统可以将水样手动添加到活化小柱中，然后洗脱到试管中，再在氮气气氛下蒸发。最后，将萃取液转移至样品瓶中用于 LC/MS 分析。即使是非常小心的操作，样品前处理的多个步骤也会造成约 10% 的样品损失。此外，SPE 小柱的不完全洗脱也可能会损失样品。这两个问题都可以通过在线 SPE 得以解决。这是因为样品和 LC/MS 系统在同一路中，并且洗脱溶液与运行色谱仪使用的溶剂相同。这意味着在线 SPE 色谱柱能处理大体积样品，并使得小柱的洗脱效率更高。果汁分析需要对小体积（例如，1 mL）样品进行分析。由于处理的样品体积较小，手动方法很难对其进行分析，而自动 SPE 却能轻松克服。基于以上原因，在线 SPE 成为这两种应用的不二之选。

## 实验部分

### 标准品与试剂

校准标样（最高纯度）购自 Cerilliant 和 AccuStandards 公司。制备 1–1000  $\text{ng/L}$  浓度范围的校准标样溶液。标记的替代内标物卡马西平 d-10 购自 Cambridge Isotopes 公司。使用的所有溶剂均达到最高纯度。农药级水、甲醇和乙腈购自 Burdick & Jackson 公司。

### 仪器

Agilent 1290 Infinity 系列在线解决方案系统包括：

- 带内部脱气机的 Agilent 1290 Infinity 二元泵 (G4220A)
- Agilent 1260 Infinity 标准自动进样器，配有 900  $\mu\text{L}$  定量环 (G1329B #020) 和恒温器 (G1330B)
- 带 2 位/10 通阀 (G4232C) 的 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube (G4227A)
- Agilent 1290 Infinity 柱温箱 (G1316C)

使用配备安捷伦喷射流技术的 Agilent 6460 三重四极杆液质联用系统进行质谱检测。

不同模块的示意图如图 1 所示。本系统使用两个小柱，一个用于上样，另一个用于洗脱，从而最大程度缩短了总分析时间。

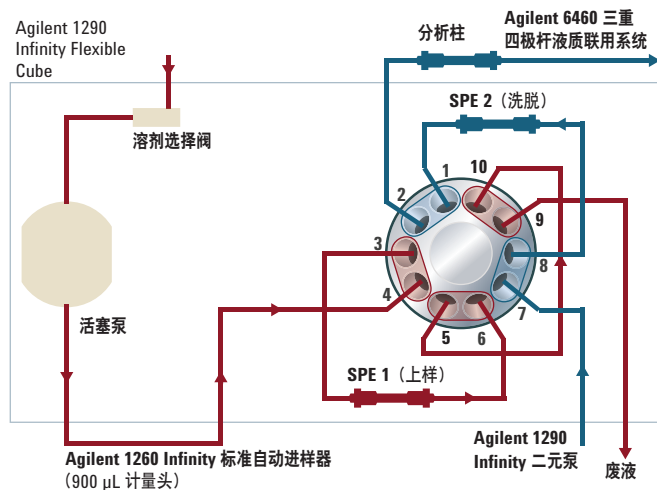


图 1. 在线过程示意图

表 1 给出了 1290 Infinity Flexible Cube 和液质联用系统的分析操作条件

表 1. 在线 SPE 条件

Agilent 1290 Infinity Flexible Cube			
在线 SPE 小柱	PLRP-S, 4.6 × 12.5 mm (部件号 5982-1270)		
温度	25 °C		
进样量	900 µL		
进样吸取速度	1000 µL/min		
注射样品速度	1000 µL/min		
吸取位置	0.5 mm		
流速	1 mL/min		
溶剂	A1) 水 A2) 甲醇 B2) 乙腈		
活化小柱	2 mL 甲醇 4 mL 水		
清洗小柱	2 mL 乙腈		
高效液相色谱条件			
分析柱	Agilent ZORBAX Eclipse XDB C8 色谱柱 150 × 4.6 mm, 3.5 µm (部件号 963967-906)		
温度	25 °C		
流动相	A) 水 (0.1% 乙酸) B) 乙腈		
流速	0.6 mL/min		
SPE 色谱柱的洗脱梯度	时间 (min)	A	B
	0	90%	10%
	2	90%	10%
	10	0%	100%
	12	0%	100%
质谱条件			
采集参数	动态 MRM 模式		
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 psig		
喷嘴电压	正压 0 V; 负压 1500 V		
Vcap	3,500 V		
电子倍增器电压 (EMV)	正压 200 V; 负压 400 V		

图 2 显示了一系列 SPE 阀的位置和时间表的截图。



图 2. SPE 阀功能截图

## 样品前处理

地表水样品取自污水处理厂下游。样品中添加了 80 ng/L 卡马西平 d-10 替代标样，并经 0.2 μm 注射式过滤器过滤。将 6 mL 每种样品分别移入 6 mL 样品瓶中。用同样的方式过滤 6 mL 果汁样品（柠檬汁和果汁），并采用在线 SPE 系统进行分析。

该在线系统显示，当样品上样至一根色谱柱时，另一根色谱柱就会进行洗脱，因此每个样品的总分析时间可缩短在 12 min 以内。

## 分析参数

表 2 列出了本次分析的所有分析物的 MRM 离子对。每个化合物采用两个离子对（如有）用于正确鉴定污染物。

表 2. 用于所有分析物研究的 MRM ESI 分析参数

化合物名称	母离子	子离子	保留时间 (min)	碎裂电压	碰撞能量	极性
2,4-D	219	161	10.22	70	10	负
2,4-D	219	125		70	25	负
阿替洛尔	267	190	5.47	110	15	正
阿替洛尔	267	145		110	20	正
阿特拉津	216	174	9.57	120	15	正
阿特拉津	216	146		120	20	正
咖啡因	195	138	6.33	110	15	正
咖啡因	195	110		110	25	正
卡马西平	237	194	8.56	120	15	正
卡马西平	237	179		120	35	正
卡马西平 d10	247	204	8.5	120	15	正
多菌灵	192	160	6.3	80	15	正
多菌灵	192	132		80	20	正
甲红霉素	748.5	590	7.22	110	15	正
甲红霉素	748.5	158		110	25	正
可铁宁	177	98	5.41	90	25	正
可铁宁	177	80		90	25	正
DEET	192	119	9.62	110	15	正
DEET	192	91		110	30	正
二嗪农	305	169	11.72	90	15	正
二嗪农	305	153		90	20	正
地尔硫卓	415	178	7.02	130	25	正
地尔硫卓	415	150		130	25	正
苯海拉明	256	167	7.01	70	15	正
苯海拉明	256	152		70	35	正
敌草隆	235	72	9.53	90	20	正
敌草隆	233	72		90	20	正
氟啶草酮	330	310	9.98	110	30	正
氟啶草酮	330	294		110	50	正
吉非罗齐	249	121	11.19	70	5	负
抑霉唑	297	159	7.4	120	20	正
抑霉唑	297	255		120	20	正
吡虫啉	256	209	7.7	80	10	正
吡虫啉	256	175		80	10	正
拉莫三嗪	258	213	6.34	120	25	正
拉莫三嗪	256	211		120	25	正
美托洛尔	268	116	6.31	110	15	正
美托洛尔	268	56		110	30	正
心得安	260	116	6.83	110	15	正
心得安	260	56		110	30	正
三氯蔗糖	419	239	6.59	110	15	正
三氯蔗糖	419	221		110	15	正
新诺明	254	156	8.02	80	10	正
新诺明	254	92		80	30	正
噻菌灵	202	175	6.5	120	30	正
噻菌灵	202	131		120	30	正
绿草定	256	198	10.19	50	5	负
绿草定	254	196		50	5	负
甲氧苄啶	291	261	5.98	110	25	正
甲氧苄啶	291	230		110	20	正

## 结果与讨论

### 在线 SPE 性能

表 3 给出了地表水样品中分析物的回收率。除了吉非罗齐和三氯蔗糖外，大多数分析物都获得了令人满意的回收率。吉非罗齐是疏水化合物，可能不能从聚合物柱上完全洗脱。相反，三氯蔗糖本身具有极性，可能会从吸附剂中流过。其他固定相如 C-18 或离子固定相或许是分析这两类化合物的理想选择。所有其他化合物的回收率都很高。因此，该方法可以用于受污水影响的地表水分析。

表 3. 在 PLRP-S 小柱上预浓缩 900  $\mu$ L 样品后的回收率

化合物	回收率%	LODs (ng/L)
2,4-D	88	10
阿替洛尔	102	5
阿特拉津	98	5
咖啡因	102	5
卡马西平	88	5
甲红霉素	107	5
可铁宁	114	5
DEET	82	10
二嗪农	96	1
地尔硫卓	115	5
苯海拉明	114	2
敌草隆	79	10
氟吡草酮	96	5
吉非罗齐	35	50
拉莫三嗪	96	10
美托洛尔	110	5
心得安	109	5
三氯蔗糖	41	500
新诺明	83	10
绿草定	79	10
甲氧苄啶	104	5

表 3 列出了地表水样品中所有化合物的检测限 (LOD)。这些 LOD 也将确证的离子对计算在内。研究的化合物不同，其 LOD 会有变化。对一些分析物的灵敏度高达 1 ng/L。大部分化合物都可以在 10 ng/L 或更低的浓度检出。

校准曲线的浓度范围为 1 ng/L 至 1000 ng/L，展现了良好的线性。图 3 显示了水中最常检测的药物卡马西平的示例。图 3 也给出了浓度为 5 ng/L 的离子对的检测结果。

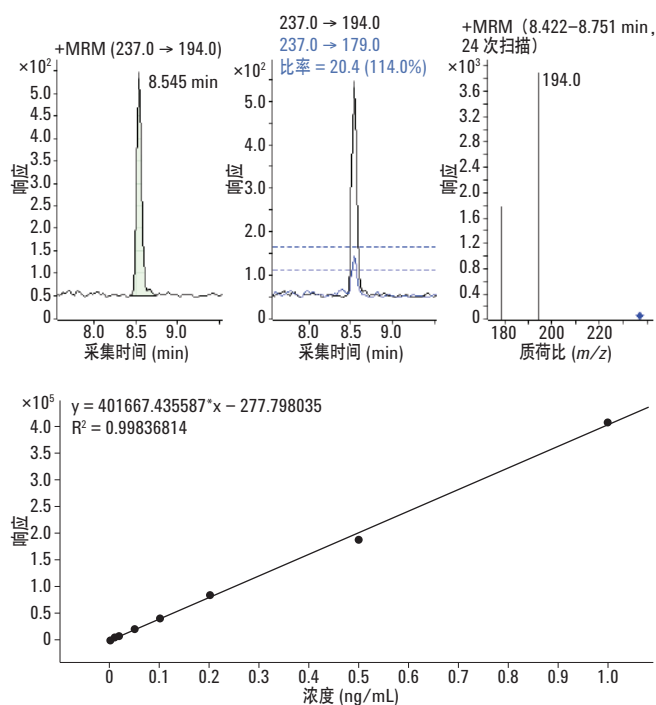


图 3. 地表水样品中卡马西平的定量结果和线性曲线

## 样品分析

图 4 显示了受污水影响的地表水对应的色谱图。检测到了该样品中的 12 种低浓度分析物。

还使用该方法分析了两种果汁样品（柠檬汁和水果混合饮料）。在正离子模式下检测了柠檬汁样品中的多菌灵和抑霉唑，如图 5 所示。该方法能够通过最少的样品前处理实现饮料中农药的快速检测。但是，该基质容易污染在线 SPE 小柱，因此在常规使用中需要对样品进行稀释。本研究未对果汁的分析进行优化。

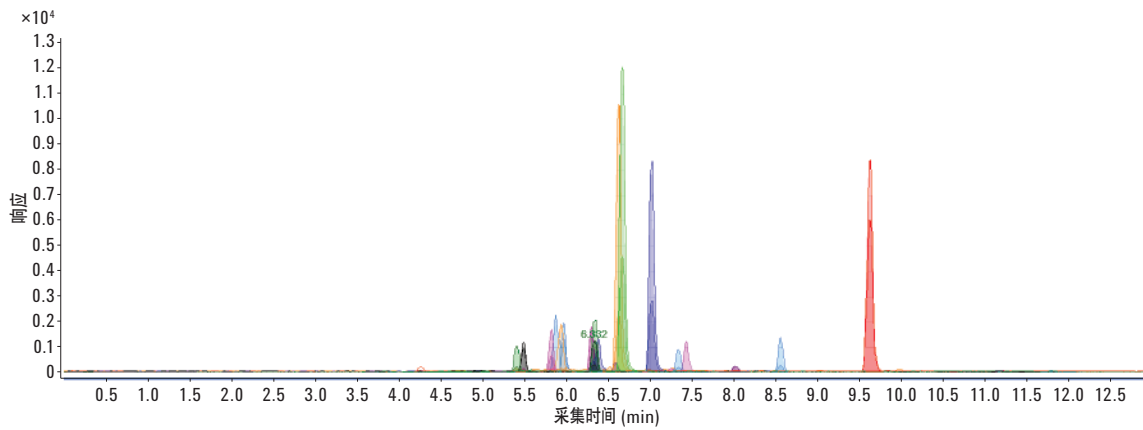


图 4. 对在科罗拉多采集的地表水样品进行 LC/MS/MS 分析

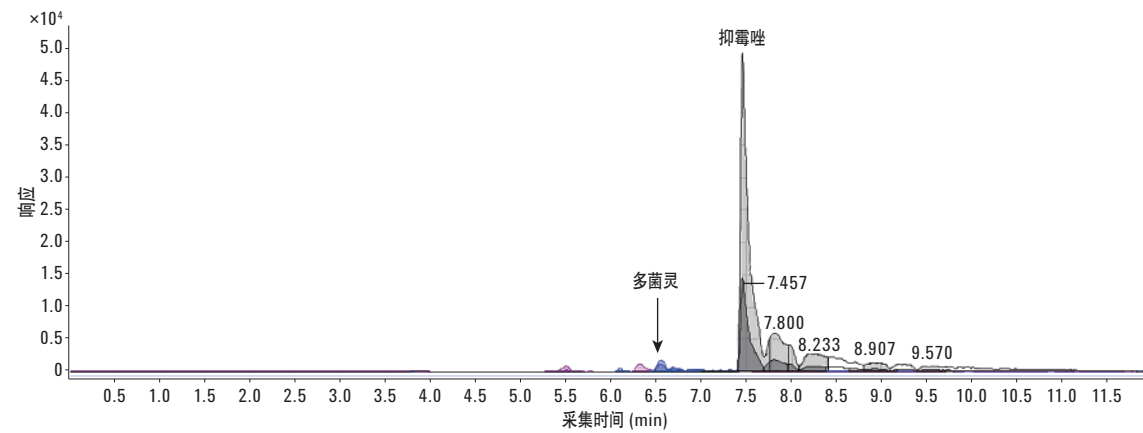


图 5. 柠檬汁样品的 LC/MS/MS 谱图

## 结论

本应用简报展示了自动化在线 SPE 是一款可用于环境水样中痕量农药和药物分析的有力工具。几种小体积果汁样品（小于 1 mL）可通过在线 SPE LC/MS 轻松进行分析。然而要将果汁在线方法常规化还需要进行额外的样品调节。Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 与 Agilent 1260 Infinity 标准自动进样器组合使分析物进行在线 SPE 和色谱分析的同时在另一根小柱上进行上样。因此，在样品前处理中充分利用了时间。恰当的清洗和洗脱技术使同一根 SPE 小柱在更换前可用于多种应用。

## 更多信息

这些数据代表典型结果。有关我们的产品与服务的信息，请访问我们的网站 [www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

[www.agilent.com/chem/cn](http://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。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2014  
2014 年 6 月 9 日，中国印刷  
5991-4562CHCN



**Agilent Technologies**