

液质联用分析技术 在水质分析中的应用

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

前 言

随着 GB 5749-2006 生活饮用水标准的强制执行，人们对饮用水水质安全越来越关心，希望我们日常饮用的水质完全符合标准。而饮用水水质会受水源水的质量、饮用水的处理过程、饮用水消毒物的残留等多方面影响。同时，伴随着工业活动的增加和地区经济的发展，环境污染对环境水质的影响也越来越复杂。在过去的十年间，各类农用除草剂、药物和个人护理用品（PPCP）、全氟有机物（PFO 和 PFOA）和内分泌干扰物已经成为了水源环境新的化学污染物。新型消毒工艺的应用，其消毒副产物残留的控制也是影响水质安全的关键步骤。尽管其中的很多化合物还缺乏监管，但已有越来越多化合物纳入审核名单，被列入监测名单的化合物每年都在增加。

为了有效监测这些痕量、对人类健康具有潜在威胁的新型污染物和判断未知的新兴威胁，安捷伦公司开发了一系列利用 LC/MS/MS 技术的水质分析应用，此论文集即为这些应用报告的集成，希望这些应用可以帮助您在检测水质中已知的新兴污染物和寻找未知新兴威胁时提供帮助。



目 录

Agilent 1290 Infinity UHPLC 在环境分析中的应用：色谱发展 (5990-4409CHCN) 5

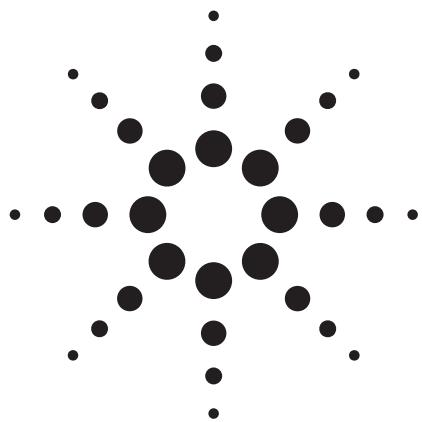
四极杆串联质谱技术的应用

采用配置 iFunnel 技术的 Agilent 6490 三重四极杆液质联用系统优化检测废水中的类固醇 (5990-9978CHCN)	17
采用双离子漏斗技术的安捷伦 6490 三重四极杆液-质联用仪直接检测水用 ppt 浓度水平的药物化合物 (5990-6431CHCN)	27
适用于 EPA 8330B 方法的固相萃取和液-质联用仪分析水中爆炸物 (5991-0676CHCN)	33
EPA 方法 538：采用 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统直接进水样测定饮用水中特定的有机污染物 (5990-9670CHCN)	40
采用具备喷射流技术的 Agilent 6460 LC/MS/MS 系统和超灵敏的 EPA 1694 方法测定水中的药品和 个人护理产品 (5990-4605CHCN)	47
安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪用于亲脂性海洋贝类毒素的高灵敏度可靠分析 (5990-6377CHCN)	66
使用安捷伦喷射流技术的 Agilent 6460 三重四极杆液/质联用系统对食品基质和饮用水中全氟化合物 进行亚飞克级靶标筛查的方法 (5990-5313CHCN)	73
使用喷射流离子聚焦技术的安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪和直接进样方式测定饮用水和环境样 品中的酸性除草剂 (5990-4864CHCN)	81
采用离子色谱串联质谱法定量分析高氯酸盐 (5989-7907CHCN)	88
采用三重串联四极杆液质联用仪应对痕量全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 分析的挑战 (5989-7790CHCN)	97
快速液相色谱-串联质谱和亲水作用色谱柱 (RRHD HILIC Plus) 用于 EPA-1694 方法中第四组药物的快 速分析 (5990-8433CHCN)	109
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 (5991-0871CHCN)	111
大体积进样 (LVI) —— 液相色谱-串联质谱用于城市污水中痕量的非法药物和处方药的分析 (5990-4622CHCN)	121
Agilent 6410BA 三重串联四极杆液质联用柱上直接进水样法测定饮用水和环境样品中选定的除草剂达 到了预期规定的灵敏度 (5990-3762CHCN)	127
采用液相色谱/三重四极杆质谱对食物样品中的 301 种农药进行多残留分析 (5989-8614CHCN)	136
EPA 方法 1694：使用 HPLC/MS/MS 检测水、土壤、沉积物和生物固体中的药物和个人护理用品的 Agilent 6410A LC/MS/MS 解决方案 (5989-9665CHCN)	155
固相萃取和液相色谱/质谱/质谱在正离子和负离子模式下检测水中的农药残留 (5989-5320CHCN)	167

利用固相萃取和液相色谱/质谱/质谱在正负离子模式下检测水中的医药类化合物 (5989-5319CHCN)	173
LC/MS/MS 法定量分析全氟辛酸 (5989-6577CHCN)	185
采用液相色谱-串联质谱法对土壤中的氯代酸类除草剂进行定量分析 (5989-5246CHCN)	189
安捷伦 6140 单四极杆液质联用系统和分析数据浏览器软件用于玩具和儿童护理品中邻苯二甲酸酯的高通量筛查分析 (5990-5281CHCN)	194
安捷伦 1290 Infinity 液相色谱/6140 单四极杆液质联用仪用于农药分析 (5990-5794CHCN)	200
使用 1120 一体式液相色谱/安捷伦 6140 单四极杆液质联用仪和分析数据浏览软件筛查纺织品中的欧盟禁用染料 (5990-5731CHCN)	208
液相色谱-三重串联四极杆质谱用于全氟化合物的检测	215
Agilent 1260 UHPLC/6460 QQQ MS 测定水中丙烯酰胺的含量	219
Agilent 1260 UHPLC/6460 QQQ MS 用于大田软海绵酸 (OA) 和鳍藻毒素-1 (DTX-1) 的检测	222
生活饮用水中消毒副产物卤乙酸的 UHPLC-MS/MS 分析	227
Agilent 1260 UHPLC/6460 QQQ 用于微囊藻毒素的检测	231

飞行时间质谱与四极杆-飞行时间串联质谱技术的应用

应用氯元素质量过滤器对环境样品的精确质量数据进行分析 (5990-9431CHCN)	237
用于农药多残留筛选的应用工具包 —— 应用于飞行时间质谱和四极杆飞行时间质谱数据分析的农药化合物数据库 (5990-4251CHCN)	242
用于筛查和鉴定的农药个人化合物数据库 (5990-3976CHCN)	267
超高分辨率 Q-TOF 液-质联用系统和精确质量数用于环境样品的分析: 怎样的分辨率能够满足要求? (5991-6430CHCN)	277
LC(IC)-ICP-MS 对 Cr(III) 和 Cr(VI) 的低含量形态分析 (5990-9366CHCN)	283
液相色谱/四极杆-飞行时间质谱 (QTOF) 分析环境有机物 第二部分: 氟调聚类不饱和脂肪酸 (5989-9132CHCN)	288
液相色谱/四极杆-飞行时间质谱 (LC/Q-TOF) 分析环境有机物 第三部分: 吡虫啉和汨杉醇 (5989-9129CHCN)	292
使用精确质量、同位素比和串联质谱对水中的个人护理用品进行分析 (5989-7339CHCN)	298



Agilent 1290 Infinity UHPLC 在环境分析中的应用： 色谱发展

应用简报 (5990-4409CHCN)

环境

作者

E. Michael Thurman 和 Imma Ferrer
环境质谱中心
环境工程系
科罗拉多大学
博尔德分校，科罗拉多州，美国

摘要

本文说明了采用新型 Agilent 1290 Infinity LC 在环境应用中进行 UHPLC（超高压液相色谱）分析的实例。这些实例包括采用 EPA 1694 方法和 UHPLC 分析废水中的药物残留，使方法更加高效和可靠。第二个展示的实例是采用快速色谱分析复杂的农药混合物，为许多 UHPLC 环境分析应用开启了新的方向。最后，我们展示了一个使用 UHPLC 和超快速梯度在 60 秒内完成的废水中药物残留的分析，这是第一个将该方法应用于环境分析的实例之一。本文还对高效 UHPLC 分析的理解进行了讨论和说明。

前言

UHPLC 的问世给液相色谱/质谱 (LC/MS) 分析带来了两个重要的革新。首先是 $1.8\text{ }\mu\text{m}$ 填料色谱柱的使用，与 $5\text{ }\mu\text{m}$ 填料色谱柱相比，塔板数提高了大约两倍。这对于具有复杂基质的环境分析应用来说非常重要，如废水中的药物残留分析。当然， $1.8\text{ }\mu\text{m}$ 填料色谱柱的使用在常规条件下需要耐压超过 600 bar 的高压泵，是 UHPLC 正常使用的压力范围。第二， $1.8\text{ }\mu\text{m}$ 填料色谱柱允许运行高分离度快速色谱，甚至分析时间可能短于 1 min 的超快速色谱。这些分析需要的高流速所产生的压力在 800-1000 bar，或更高，处于 UHPLC 的压力范围。

在短时间内实现高样品通量的需求已导致产生了使用 $1.8\text{ }\mu\text{m}$ 反相填料色谱柱的高效、快速液相色谱。对于那些每天需要分析数百个样品，或需要快速分析的实验室，必须拥有快速色谱。使用快速分离液相色谱，可以在几小时而非几天内报告一批样品的分析结果。在水质检测和食品分析行业，法规监管实验室在不到 1 小时内就可以给出有效的结果，那么在检测或给出分析结果的同一天，就可以进一步进行相应水处理或准予蔬菜装运。最终的结果是，对于用户来说更高效，对于出具报告的实验室来说也更节省费用。因此，通过缩短分析时间可以提高分析效率，这通常需要使用 UHPLC。高分离度快速液相色谱的定义很简单，短于 10 min 的液相色谱分离可谓快速，而短于 1 min 的分离通常称为超快速 [1]。

另外，当使用更长的 $1.8\text{ }\mu\text{m}$ 填料色谱柱时，运行 UHPLC 可以得到更高的峰容量。现在有可能实现高近 300 倍的峰容量，这对于废水中未知物的分析，以及其它如农药筛选等环境分析应用非常有价值。最后，UHPLC 系统应该耐用，并且可以在高压和高流速下（在 1200 bar 压力下大于 1 mL/min）实现快速分离和具有高峰容量的常规流速色谱。安捷伦提供专为耐受高达 1200 bar (18000 psi) 压力而设计的 $1.8\text{ }\mu\text{m}$ 填料色谱柱，并且具有多种

类型的固定相。（StableBond 和 ZORBAX Eclipse Plus 系列的 C8、C18 色谱柱）。这对于难于分析的水样很有用，正如本文所示，采用 EPA 方法 1694 进行废水中的药物残留分析时提高了峰容量。在采用三重四极杆质谱和液相色谱/飞行时间质谱进行药物和农药残留的快速分离分析时，它们也非常有用。

实验部分

本文工作由位于美国科罗拉多州的科罗拉多大学博尔德分校环境质谱中心的 Imma Ferrer 和 Michael Thurman 博士完成。使用 Agilent 1290 Infinity LC 系统，以及 Agilent 6430 三重四极杆 LC/MS 和 Agilent 6220 精确质量飞行时间 LC/MS 系统。

色谱柱

针对快速分离高通量 (RRHT) 分析，测试了两种不同的色谱柱，包括耐高压 (1000 bar) 的 $1.8\text{ }\mu\text{m}$ 粒径色谱柱。表 1 列出了本工作中测试的这些色谱柱及其理论塔板数。

表 1. 本研究中采用的色谱柱

色谱柱	内径 (mm)	粒径 (μm)	理论塔板数 (N)	额定耐压 (bar)
ZORBAX Eclipse Plus-C18	2.1×100	1.8	21688	1000
ZORBAX Eclipse Plus-C18	2.1×50	1.8	10392	1000

色谱和质谱条件

本文所有 UHPLC 色谱分离都使用 Agilent 1290 Infinity 液相色谱仪，同时，在标准 EPA 方法 1694 运行中使用 Agilent 1200 系列 SL。本文中各张色谱图的分析条件如下所述。

图 1. A 部分

液相色谱仪为 Agilent 1200 系列 SL。梯度程序为 30 min 内从 10% 乙腈/水升到 100% 乙腈，保持 5 min。流速是 0.6 mL/min。色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus-C18, 4.6 mm \times 150 mm, 3.5 μm 。峰宽为 15-18 s，峰容量为 100。最高压力 75 bar。

质谱仪为 Agilent 6410 三重四极杆 LC/MS 系统, 采用电喷雾正离子模式, 使用三个时间段的多反应监测 (MRM) 检测模式。每个化合物有两个离子对, 每个离子对的驻留时间为 10 ms。化合物为 EPA 方法 1694 的第 1 组化合物。有关这些化合物及其离子对的更详细信息请参见我们的应用简报 [2]。

图 1. B 部分

液相色谱仪为 Agilent 1290 Infinity LC。梯度程序为 10 min 内从 10% 乙腈/水升到 100% 乙腈, 保持 1 min。流速是 0.6 mL/min。色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μ m。峰宽为 5-6 秒, 峰容量为 100。最高压力 375 bar。

质谱仪为 Agilent 6430 三重四极杆 LC/MS 系统, 采用电喷雾正离子模式, 使用一个时间段的 MRM 检测模式。每个化合物有两个离子对, 每个离子对的驻留时间为 10 ms。化合物为 EPA 方法 1694 的第 1 组化合物。有关这些化合物及其离子对的更详细信息请参见我们的应用简报 [2]。

图 2

液相色谱仪为 Agilent 1290 Infinity LC。梯度程序为 20 min 内从 10% 乙腈/水升到 100% 乙腈, 保持 2 min。流速是 0.6 mL/min。色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μ m。峰宽为 5-6 秒, 峰容量为 100。最高压力 750 bar。

质谱仪为 Agilent 6430 三重四极杆 LC/MS 系统, 采用电喷雾正离子模式, 使用一个时间段的 MRM 检测模式。每个化合物有一个离子对, 每个离子对的驻留时间为 10 ms。化合物为 EPA 方法 1694 的 1-4 组化合物, 另加入了 15 种药物。有关这些化合物及其离子对的更详细信息请参见我们的应用简报 [2]。

图 3A

液相色谱仪为 Agilent 1290 Infinity LC。梯度程序为 2 min 内从 10% 乙腈/水升到 100% 乙腈, 无保持时间。流速是 1.2 mL/min。色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μ m。峰宽为 1-3 秒, 峰容量为 60。最高压力 780 bar。

质谱仪为 Agilent 6430 三重四极杆 LC/MS 系统, 采用电喷雾正离子模式, 使用两个时间段的 MRM 检测模式, 每个时间段六个化合物。每个化合物有一个离子对, 每个离子对的驻留时间为 5 ms。化合物为从 EPA 方法 1694 中选择的 12 个化合物。

图 3B

液相色谱仪为 Agilent 1290 Infinity LC。梯度程序为 2 min 内从 10% 乙腈/水升到 100% 乙腈, 没有保持时间。流速是 1.2 mL/min。色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μ m。峰宽为 1-3 秒, 峰容量为 60。最高压力 780 bar。

质谱仪为 Agilent 6430 三重四极杆 LC/MS 系统, 采用电喷雾正离子模式, 使用两个时间段的 MRM 检测模式, 每个时间段三个化合物。每个化合物有一个离子对, 每个离子对的驻留时间为 5 ms。化合物为 EPA 方法 1694 中的卡马西平、可替宁、咖啡因、苯海拉明、噻苯达唑和甲氧苄啶。

图 4 和 5

液相色谱仪为 Agilent 1290 Infinity LC。梯度程序为 2 min 内从 10% 乙腈/水升到 100% 乙腈, 没有保持时间。流速是 1.5 mL/min。色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μ m。峰宽为 1-3 秒, 峰容量为 60。最高压力 900 bar。

质谱仪为 Agilent 6520 精确质量 Q-TOF LC/MS 系统, 采用电喷雾正离子模式, 采用每秒扫描 20 次的 2 GHz 采集频率, 质量准确度高于 2 ppm。化合物包括 Thurman 等 (2008) 报告列表中的 220 种农药的混合物。

图 6

液相色谱仪为 Agilent 1290 Infinity LC。梯度程序为 2 min 内从 10% 乙腈/水升到 100% 乙腈, 没有保持时间。流速是 1.2 mL/min。色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus-C18, 2.1 mm × 50 mm, 1.8 μ m。峰宽随质谱仪每秒扫描次数的不同而不同。最高压力 780 bar。

质谱仪 Agilent 6430 三重四极杆 LC/MS 系统，为采用电喷雾正离子模式，使用一个时间段的 MRM 检测模式，每个时间段一个化合物，即卡马西平。每个化合物有一个离子对，驻留时间范围 1-300 ms，对应每秒 3-20 多次的扫描。

图 7

液相色谱仪为 Agilent 1290 Infinity LC。梯度程序分别在 2、6 和 30 min 内从 10% 乙腈/水升到 100% 乙腈，没有保持时间。流速是 0.6 mL/min。色谱柱为 ZORBAX Eclipse Plus-C18，2.1 mm × 100 mm，1.8 μ m。峰宽为 2-6 秒，峰容量为 60。最高压力 750 bar。

质谱仪为 Agilent 6430 三重四极杆 LC/MS 系统，采用电喷雾正离子模式，使用一个时间段的 MRM 检测模式，每个时间段一个化合物，即咖啡因。每个化合物有一个离子对，驻留时间 5 ms。

样品制备

药物分析标准品购自 Sigma 公司（圣路易斯，密苏里州，美国）。每种药物贮备液（约 1000 g/mL）根据化合物的溶解性采用纯乙腈或甲醇制备，并于 -18°C 下保存。取这些溶液适量，用乙腈和水稀释制备工作标准溶液。

农药分析标准品购自 Dr. Ehrenstorfer 公司（奥格斯堡，德国）。每种农药贮备液（1000 g/mL）根据化合物的溶解性采用纯乙腈或甲醇制备，并于 -18°C 下保存。取这些高浓度的溶液适量，用乙腈和水稀释制备工作标准溶液。

废水样品采自博尔德河（博尔德，科罗拉多州）的一个污水排放点，采用一个修订的 EPA 方法中的聚合物小柱进行提取。取 1 升水样直接采用含 500 mg 吸附剂的小柱进行提取，来调节 pH 值，于空气中干燥 10 分钟后，用 8 mL 甲醇进行洗脱。将甲醇洗脱液蒸发至 1 mL，并且采用下述的 LC/MS/MS 方法进行分析。为进行方法验证，采用“空白”废水提取物制备基质匹配的标准样品。采用不同浓度的药物混合物对废水提取物进行加标（范围为 0.1-500 ppb），然后采用 LC/MS/MS 进行分析。

结果与讨论

本文包括三个部分，分别讨论采用 EPA 方法 1694 快速分离废水中的药物残留及峰容量，农药残留的 UHPLC 和 LC/TOF-MS 分析，以及使用 UHPLC/MS 时有关色谱的一些重要注意事项。

第 1 部分：采用 LC/MS/MS 法进行环境药物残留分析

EPA 方法 1694 是一个标准方法，它需要用 20 分钟或更长的分析时间来满足方法的要求。然而，EPA 最近发布的一些变化提示，如果使用了充分的质谱分析（例如每个化合物有两个离子对），就可以使用其它色谱条件，如更短的分析时间和快速分离。图 1 展示了采用新型的 Agilent 1290 Infinity 和 UHPLC 进行分析，后者将分析时间由前者的 30 min 缩短到 10 min，分析时间缩短了 66%，两种方法的峰容量均为 100。原始的 EPA 方法要求使用 ZORBAX Eclipse Plus-C18，3.5 μ m 填料色谱柱，而快速分离法则使用 ZORBAX Eclipse Plus-C18，2.1 mm × 50 mm，1.8 μ m 填料色谱柱。

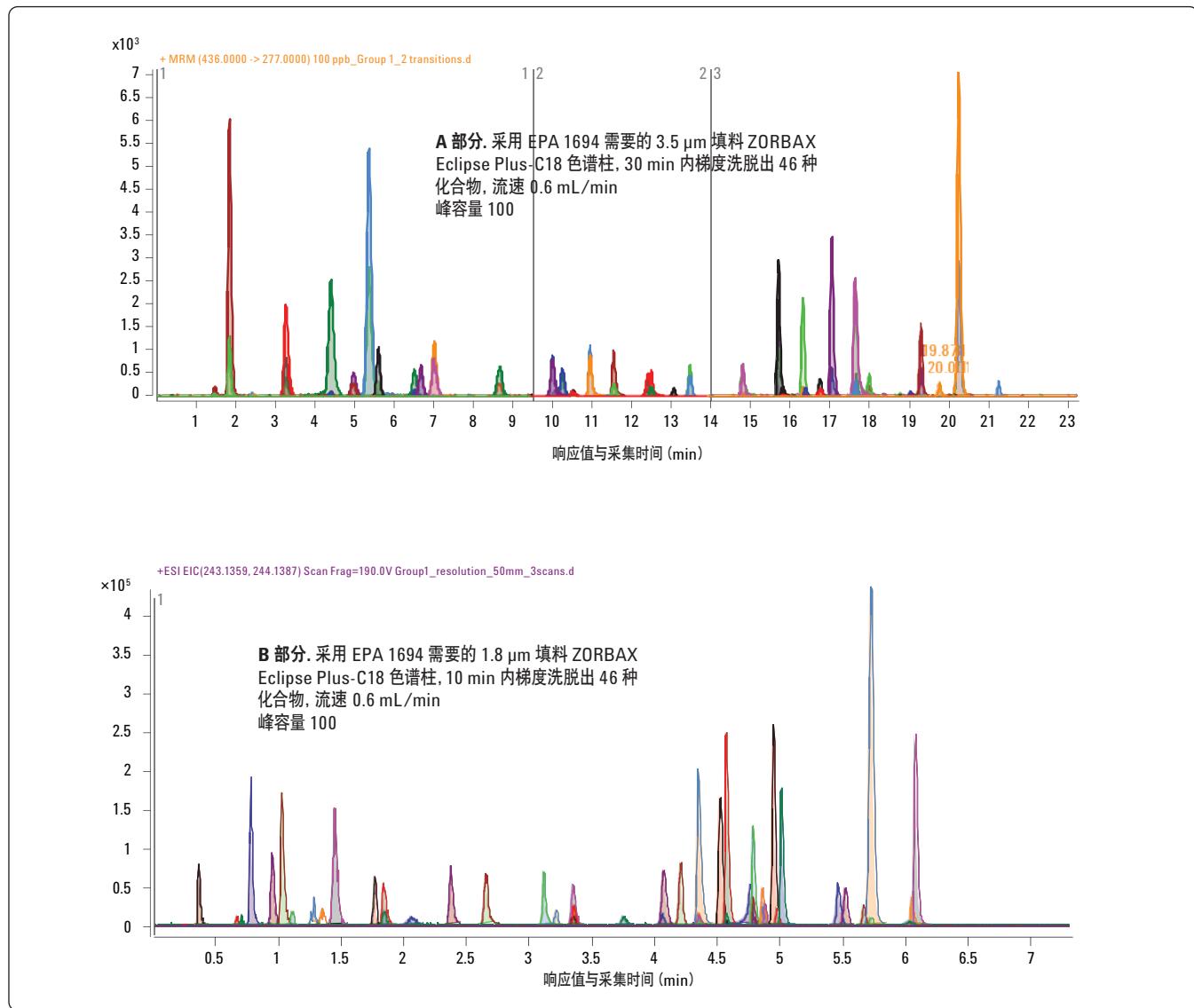


图 1. 采用 Agilent 1290 Infinity 及 UHPLC 对 EPA 方法 1694 第 1 组中的药物进行分析, 分析时间由 30 min 缩短到 10 分钟

因为压力仅有 375 bar, 这就能够很容易通过使用更长的色谱柱 (2.1 mm x 100 mm) 来提高峰容量和可能需要分离药物的数量, 并保持 0.6 mL/min 的相同流速。但这会使压力加倍, 由 375 bar 上升到 750 bar。结果见图 2。

还可以通过使用 Agilent 1290 Infinity LC 和三重四极杆质谱联用的 LC/MS 方法, 实现药物的超快色谱分离。如图 3 的示例, 为了获得每个色谱峰完成至少 20 次扫描, 化合物的数量减少到 12 个。

通过实现 20 或更多次扫描, 峰宽可以减小到 1-2 秒, 从而实现了超快速色谱分离。采用 ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm x 50 mm 色谱柱, 流速 1.2 mL/min, 梯度洗脱时间为 1.5 min。12 种药物在 60 秒内完成洗脱。据我们了解, 这应是第一例环境样品的超快速色谱分析。本例中, 采自科罗拉多州博尔德的废水样品包含下列药物: 卡马西平、可替宁、咖啡因、苯海拉明、噻苯达唑和甲氧苄啶。

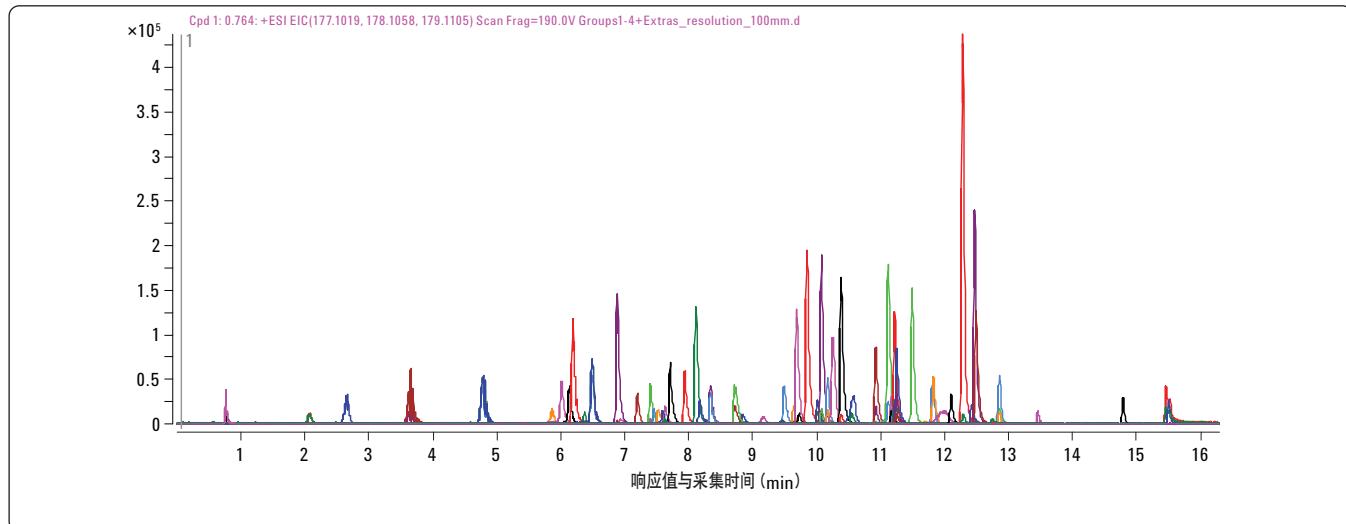


图2. 使用配备ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μ m 填料色谱柱的Agilent 1290 Infinity LC 进行UHPLC 分析, 峰容量的提高可在20 分钟内实现EPA方法1694所列药物加上另外15种新化合物总共90种药物的分离。峰宽有5-6秒, 峰容量为200

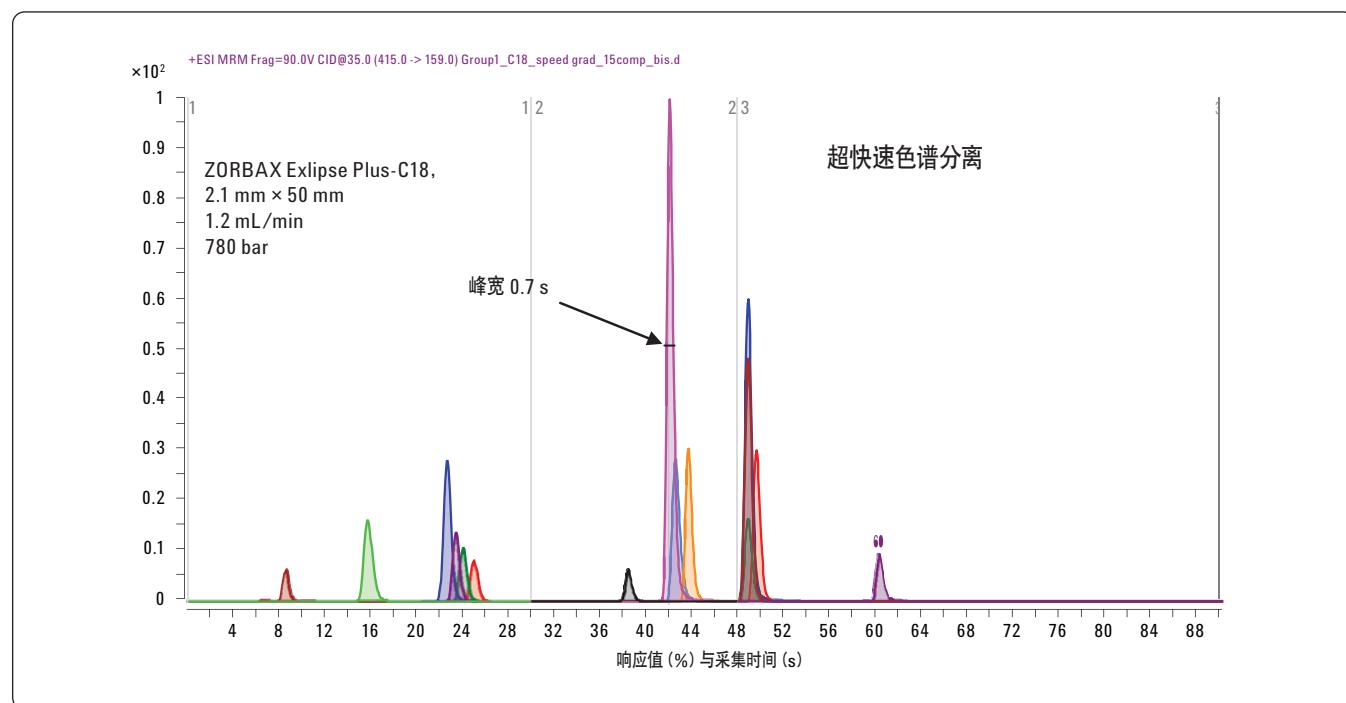
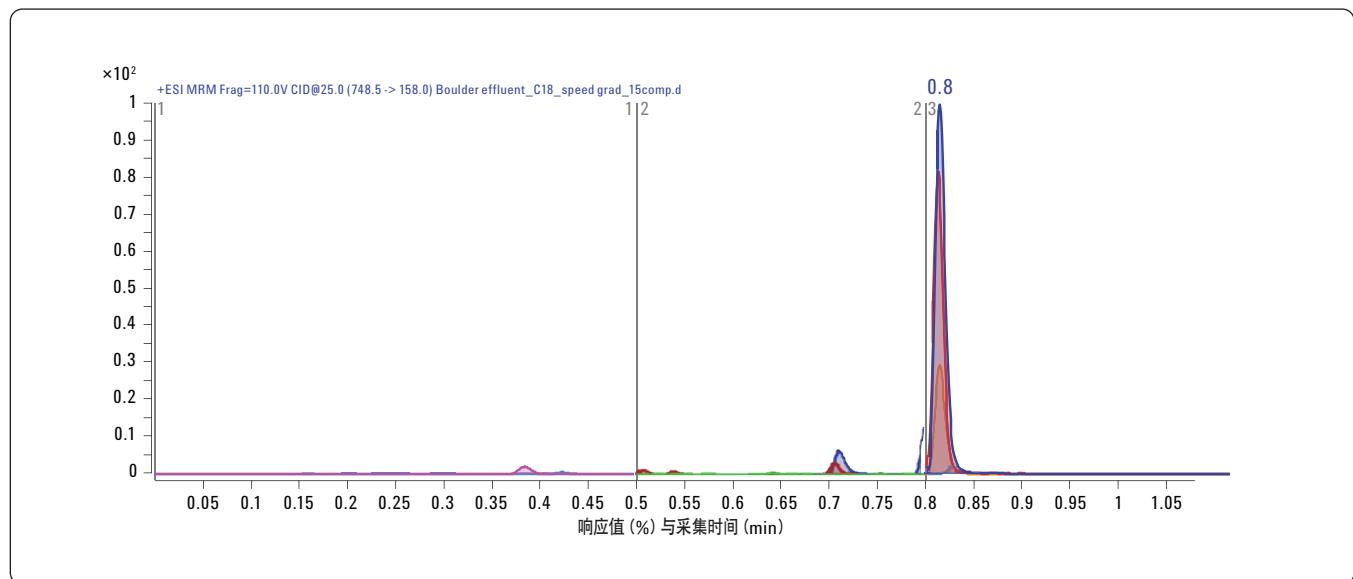


图3A. 12种药物标准品的“超快速”梯度洗脱

我们应该充分认识到，当使用超快速梯度条件时，要求质量准确性和质量控制数据。因此，所有样品的纯度测量必须在样品制备过程中进行，以使离子抑制作用最小化。还有必要使用标记的内标进行定量分析，因为所有样品基质会在很窄的时间窗内流出。

1290 Infinity 的重现性在 1 秒之内，这就能使我们非常容易地获得可靠的数据。另一个重要的事情是采用 LC/MS/MS 分析时至少要使用两个离子对，一个用于定量，另一个作为定性离子。请参见我们有关 EPA 方法更多实例的应用简报 [2]。



第 2 部分：UHPLC 与 LC/TOF/MS

我们运行快速分离时要密切关注的事项之一，就是采用质谱对峰宽 1-2 秒的很窄的峰实现良好的数据采集。在上一例中，我们展示了采用三重四极杆 LC/MS 如何实现这一目的，并且保持每个峰扫描 20 次。采用 LC/TOF-MS 和 LC/Q-TOF-MS 使完成这项任务变得容易，因为监测多种化合物就像监测一个一样。这是由于 TOF-MS 仪器总是以全谱的模式采集数据。这只需要设置软件

让 TOF-MS 仪器每秒采集 20 张谱图即可。图 4 展示了当采用 LC/TOF-MS 或 LC/Q-TOF-MS 进行 UHPLC 分析时，该策略是多么高效。采用配备 ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 50 mm 色谱柱的 Agilent 1290 Infinity LC，流速 1.5 mL/min 时，100 多种农药在 80 秒内完成分析。UHPLC 分析要求系统耐压达到 900 bar。分离获得的半峰宽仅有 0.7 秒。见图 5 除草剂特丁净的例子。

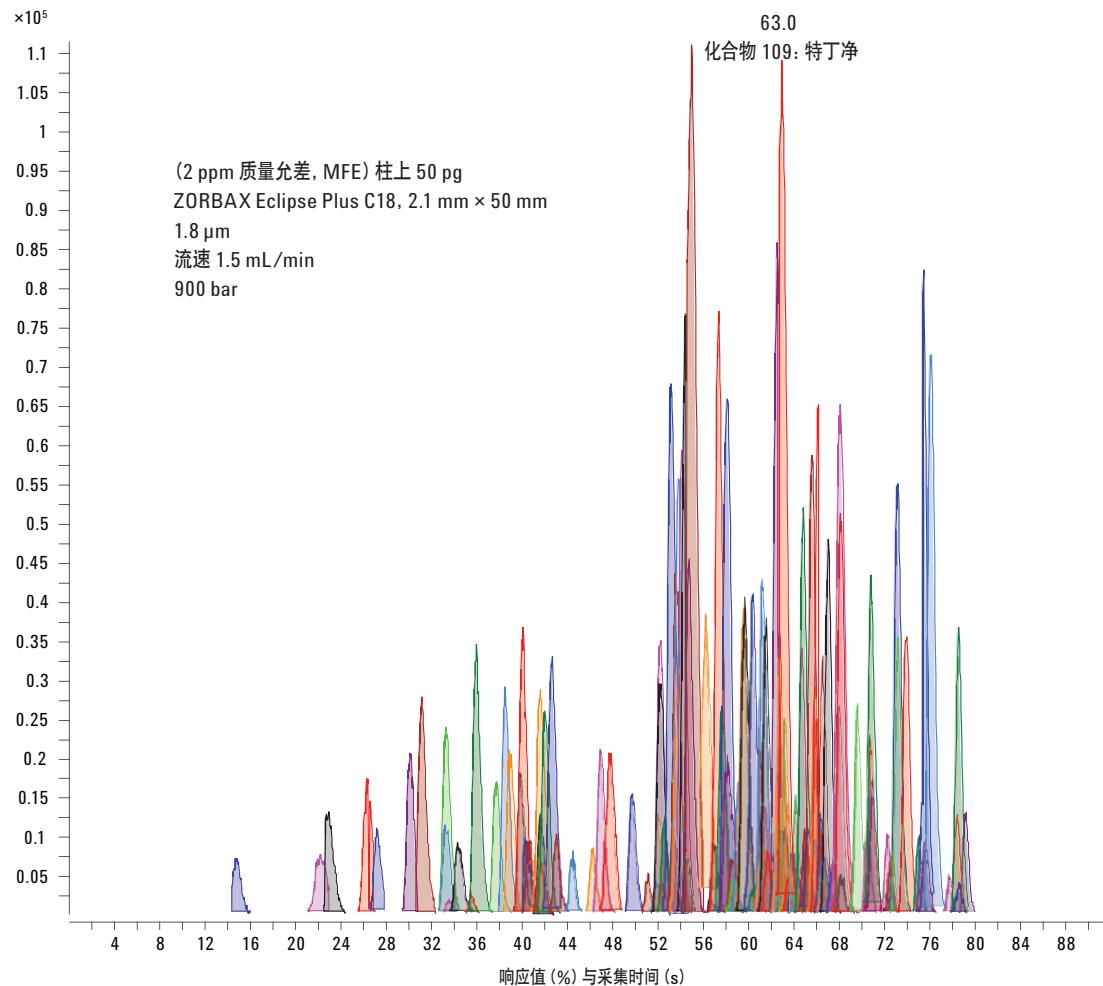


图 4. 采用 LC/TOF-MS 在不到 2 min 内实现超过 100 种化合物的农药分析

色谱分析的速度、分离度和 LC/TOF-MS 的强大功能，可实现在数分钟内对食品或水基质中复杂农药混合物的分析。这可以实现欧洲食品检测行业要求的快速分析，在欧洲，只有对运输的蔬菜和水果完成分析，方能卸货。因此，快速分析在这些情况下显得非常重要。

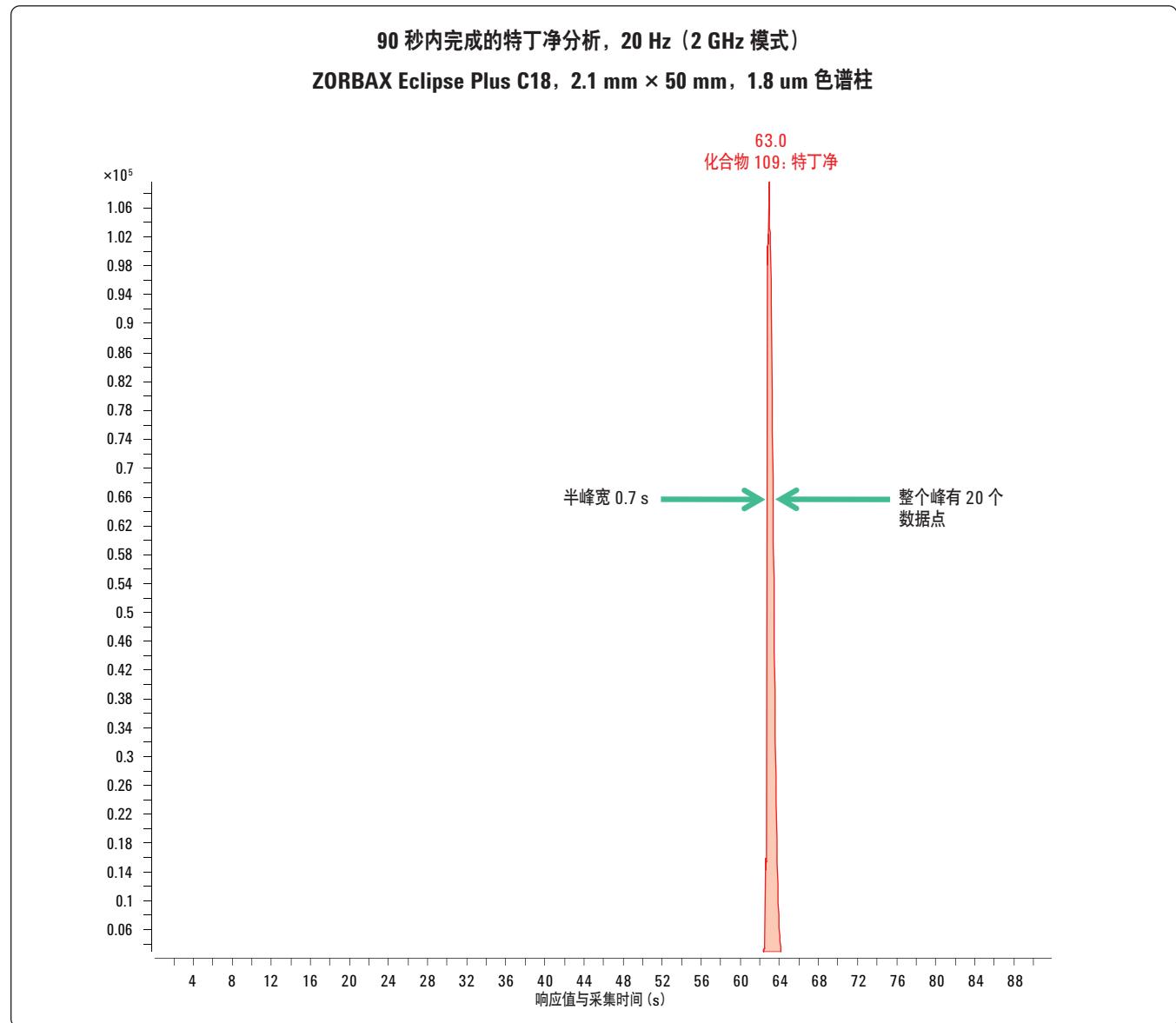


图 5. 半峰宽 0.7 s, 使用配置 ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 50 mm 色谱柱的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱仪, 流速 1.5 mL/min, 压力 900 bar

第3部分：UHPLC/MS 的色谱条件

为使 UHPLC 发挥最佳效能而优化色谱和质谱条件，需注意以下几点。首先，要在超快速色谱分析中获得 1-2 秒的峰宽，每个色谱峰包含至少 20 个 MS 数据点非常重要。每秒的采集多少数据的重要性见图 6 示例。

较低的循环率会导致峰展宽，这是由于为了实现良好的积分和定量，就要通过平滑处理调整色谱峰形状，这是所有色谱软件的一个常见的功能。所以，当使用三重四极杆 LC/MS 时，我们推荐使用 5 ms 的短驻留时间和动态 MRM 程序，以确保实现每个峰的 20 个数据采集周期。在使用 LC/TOF-MS 和 LC/Q-TOF-MS 的情况下，只需要对软件进行设置，即可实现在整个质量范围内每秒 20 张谱图的采集。

第二，UHPLC 的良好运行也需要考虑其定量分析方面的问题。在此分析中，获得最高的峰检测灵敏度就显得尤为重要。图 7 显示了一个通过不断调整梯度程序和流速，使咖啡因获得最大峰强度

和峰面积的实例。在本例中，运行一个 6 分钟的梯度程序，在保留时间 1.7 分钟处得到了最佳的信噪比 (S/N) 180 和 55000 的峰面积。注意，当运行较长的 30 min 的梯度程序时，信噪比仅为 91，下降了一半，而保留时间仅增加了 0.2 min。因此，测试不同的流速和保留时间来优化信号强度非常重要，尤其是对于色谱分析中极性化合物和早流出的化合物。

对于实现良好 UHPLC 色谱分析最后要考虑的是 LC/MS 信号的抑制作用。以前我们提到但现在仍要强调的是，在快速和超快速分析中，标准品信号经常很少或没有抑制现象，这是因为标准品混合物具有很高的纯度。当然，真实的样品会表现出信号抑制。因此，通过稀释样品或者在提取步骤中净化样品来减少基质干扰就非常重要。最后，当检测废水和其它复杂基质样品中的药物残留时，使用氘代或 C13 标记的标准品就很有价值。这是 EPA 方法 1694 推荐的过程，读者也可以参考我们与这一主题相关的应用简报 [2]。

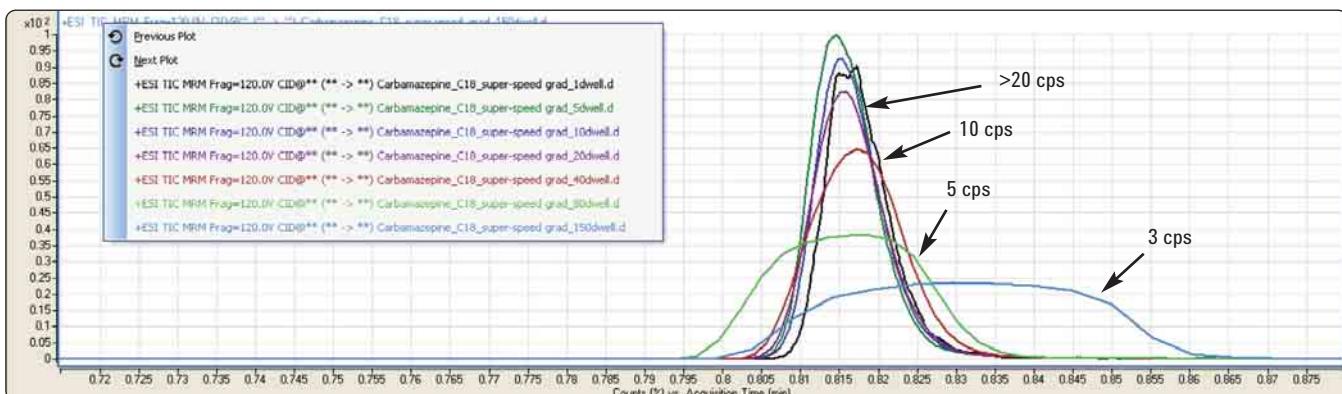


图 6. 本图显示了驻留时间和每个峰的数据点，以及它们如何影响单个化合物的色谱峰形状，以卡马西平为例，它从每秒 20 多次扫描 (cps) 得到的 1 s 的峰宽到每秒 3 次扫描 (cps) 得到的 3-4 s 的峰宽

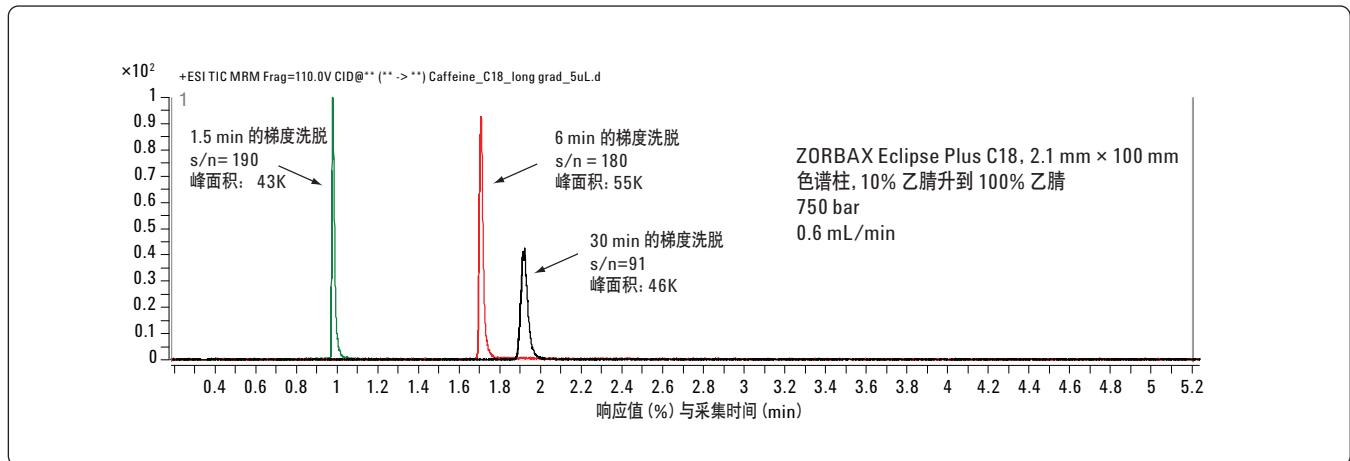


图 7. 咖啡因的 LC/MS 分析中, 保留时间对信噪比 (S/N) 和峰面积的影响

结论

总之, 我们推荐在快速分离和超快速色谱分离中使用 ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 50 mm 色谱柱, 而对于要获得最大的峰容量的分析, ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 100 mm 色谱柱是较理想的选择。我们的分析结果显示, 在流速高于 1.5 mL/min 的快流速和压力超过 1000 bar 时, 我们仍可以得到值得信赖和可靠的结果。最后我们可以看到, 从 Tsweet 的重力洗脱色谱柱, 到目前“简便的”超快速高压液相色谱 UHPLC, 新型的 Agilent 1290 Infinity LC 是当前色谱发展的最佳例证。

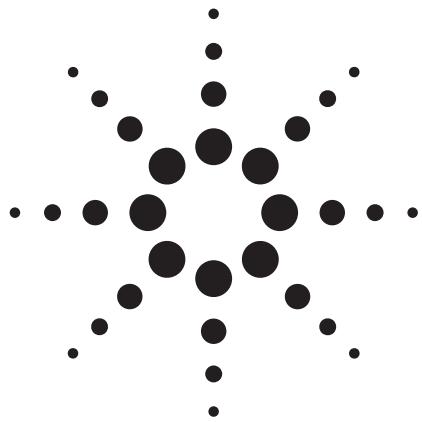
致谢

本环境质谱中心衷心感谢安捷伦有限公司的 Jerry Zweigenbaum、Michael Woodman 和 Peter Stone 博士所给予的帮助和建议。

参考文献

1. EPA Method 1694: Pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS (EPA 方法 1694: 使用 HPLC/MS/MS 检测水、土壤、沉积物和生物固体中的药物和个人护理用品), 2007 年 12 月, EPA-821-R-08-002.
2. I. Ferrer, E. M. Thurman, J. A. Zweigenbaum, “EPA 方法 1694: 使用 HPLC/MS/MS 检测水、土壤、沉积物和生物固体中的药物和个人护理用品的 Agilent 6410A LC/MS/MS 解决方案”, 2008, 应用技术, 出版号 5989-9665CHCN
3. E. M. Thurman, I. Ferrer, J. A. Zweigenbaum, “Multi-Residue Analysis of 301 Pesticides in Food Samples by LC/Triple Quadrupole Mass Spectrometry,” (采用 LC/三重四极杆质谱对食物样品中的 301 种农药进行多残留分析) 2008, 应用技术, 出版号 5989-6414EN

四极杆串联质谱技术的应用



采用配置 iFunnel 技术的 Agilent 6490 三重四极杆液质联用系统优化检测废水中的类固醇

应用简报 (5990-9978CHCN)

环境

作者

Neil Cullum
Anglian Water Services
Huntingdon, England

摘要

通过优化在其它三重四极杆平台上开发的方法参数可以充分实现 Agilent 6490 三重四极杆液质联用系统更胜一筹的灵敏度。优化复杂基质样品废水中类固醇的分析方法可以获得低于 1 ng/L (万亿分之一) 的灵敏度。

引言

全球范围内的药品消耗量很高，而且由于医疗卫生条件的改进和平均寿命的延长，这个数量将持续增加。大量的药物及其代谢物被人类排出体外，进入污水处理厂，这些物质在污水处理厂未被完全处理掉而最终留在了环境中。这些药物残留会对水陆生态环境产生负面影响。

美国地质调查局 (USGS) 最近的一项研究发现 80% 的溪流水样中存在化学污染物，而类固醇是最常检测到的一类化合物。这些类固醇在很低的浓度就能引起生物学反应，包括雄性鱼的雌性化。加拿大一项延续七年的全湖实验表明，某鱼种持续接触类固醇 17 α -炔雌醇中会导致湖中该鱼种几乎灭绝 [1]。这些类固醇也有可能进入食物链以及饮用水中。

欧盟水框架指令 (2000/60/EC) [2] 提倡合理利用水资源，包括长期减少废水污染物如类固醇排放到水环境中。指令的实施需要一个灵敏、准确且可靠的检测方法来支撑。

本文介绍了 2000/60/EC 指令中化学研究项目部分内容，即采用配置 iFunnel 技术的 Agilent 6490 三重四极杆液质联用系统对类固醇的高灵敏度检测方法进行优化。该仪器可获得比以往仪器更低的检测限，从而使得在传统流速下就可以获得介摩级 (zeptomole) 的灵敏度，这使它成为重点药物分析应用的理想选择，如环境中类固醇的检测。虽然早先的质谱仪器已经开发了类固醇检测和定量分析的液质联用的方法，但是，为了获得最高的灵敏度还必须在 6490 三重四极杆液质联用系统上对已有的方法进行优化。使用优化的参数检测废水中几种类固醇化合物，可以实现废水中低于 1 ng/L (万亿分之一) 的检测限。

实验部分

试剂和标准品

乙酸乙酯、乙腈、异丙醇、环己烷和甲醇均为 HPLC 级或 glass-distilled 级。盐酸 (37%) 和氨水 (30%) 均为分析纯。硝酸铜是通用级别试剂或者更高纯度。水为 HPLC 级或者 Elga 高纯水。

聚苯乙烯二乙烯苯固相萃取 (SPE) 小柱 (200 mg) 购自 Baker 公司。GF/D 玻璃微纤维滤纸购自 Whatman 公司 (Kent, UK)。

雌酮、雌二醇和炔雌醇的乙腈溶液 (浓度均为 100 mg/L) 购自 QMX Laboratories 有限公司 (Thaxted, UK)。取一定量的上述三种溶液分别加入到甲醇中制成浓度为 1.0 mg/L 的校正标。用甲醇/水 (10:90) 稀释成浓度为 1、2、5 和 10 μ g/L 的校正混标。这些混标中还包含 2 μ g/L 的内标溶液。

作为内标的氘代雌酮-D4、雌二醇-D5 和炔雌醇-D4 购自 QMX 实验室。各内标物先分别制成 100 mg/L 的乙腈溶液，再用甲醇稀释制成 1.0 mg/L 的内标混合溶液，并进一步稀释成 0.1 mg/L 的甲醇溶液。

仪器

通过配备 100 μ L 定量环的 Agilent 1260 Infinity 液相色谱系统与采用 iFunnel 技术的 6490 三重四极杆液质联用系统来实现方法优化和废水分析。通过连接于色谱柱和雾化器之间的三通阀上的另一个外部泵来实现柱后加入 0.1% 的氨水溶液。仪器条件见表 1。

样品采集、制备和净化

用 2 L 的棕色玻璃瓶采集样品，同时加入 2 mL 浓盐酸和 0.5 g 硝酸铜，并于 10 °C 以下储存。对此保存条件下样品的稳定性进行 14 天连续考察。样品提取后，提取物分析前在防爆冰箱中至少可保存 4 周。

每个样品在萃取之前都要用 GF/D 滤纸过滤。1 L 样品中加入 20 μ L 内标混合溶液。100 mL 未经处理的污水样品中加入 900 mL 水和 20 μ L 内标混合溶液。样品采用已依次用乙酸乙酯 (5 mL)、甲醇 (5 mL) 和水 (3 mL) 活化过的 SPE 小柱进行萃取。萃取柱上加样 250 mL，并依次用 3 mL 60% 甲醇和 3 mL 水进行淋洗。萃取柱真空干燥 40 min 后，用 4 mL 的乙酸乙酯洗脱。样品瓶置于 45 °C 的加热块上，洗脱液随着空气流蒸发，最后残渣用 250 μ L 的环己烷/异丙醇 (95:5) 复溶。

萃取物用正相色谱法进行纯化，收集保留时间 5.8-8.6 min 的洗脱液。色谱条件如下：仪器：Agilent 1100 系列液相色谱仪；色谱柱：安捷伦 ZORBAX Cyano 色谱柱 (部件号 883952-705)，4.6 x 150 mm, 5 μ m；柱温：55 °C；等度分离；流动相：环己烷/异丙醇 (95:5)；流速：1 mL/min。样品瓶置于 45 °C 的加热块上，洗脱液随着空气流蒸发，残渣用 250 μ L 的甲醇/水 (90:10) 复溶。最后得到终体积为 250 μ L 的溶液，浓度相当于起始浓度的 1000 倍。因此，校准标准溶液相当于原始浓度为 1、2、5 和 10 ng/L。

表 1. LC 和 MS 仪器条件

LC 条件

色谱柱	Agilent C-18 Eclipse Plus, 2.1 × 50 mm, 3.5 μm (部件号 959763-902)		
预柱	Luna C-18, 4.0 mm × 2.0 mm		
柱温	40 °C		
进样体积	25 μL		
流动相	A: 水 B: 乙腈		
运行时间	16.0 min		
流速	0.3 mL/min : 0.1 mL/min 柱后添加 0.1% 的氨水		
梯度程序	时间 (min)	% 流动相 A	% 流动相 B
	0	90	10
	0.5	60	40
	10.0	20	80
	10.2	0	100
	11.5	0	100
	11.6	90	10

MS 条件

采集参数	ESI 模式, 负离子; 动态 MRM
鞘气温度	300 °C
鞘气流速	11 L/min
干燥气温度	180 °C
干燥气	氮气, 16 L/min
雾化器压力	45 psig
喷嘴电压	1500 V
Vcap 电压	3000 V
碰撞池加速电压	随着优化实验条件而改变
EMV 增益	随着优化实验条件而改变
高、低压离子漏斗电压	随着优化实验条件而改变
扫描模式动态 MRM	Delta 增益 300 V

分析参数

安捷伦三重四极杆液质联用系统分析参数见表 2。

表 2. 优化分析类固醇类化合物时所采用的时间段、离子对和碎裂电压

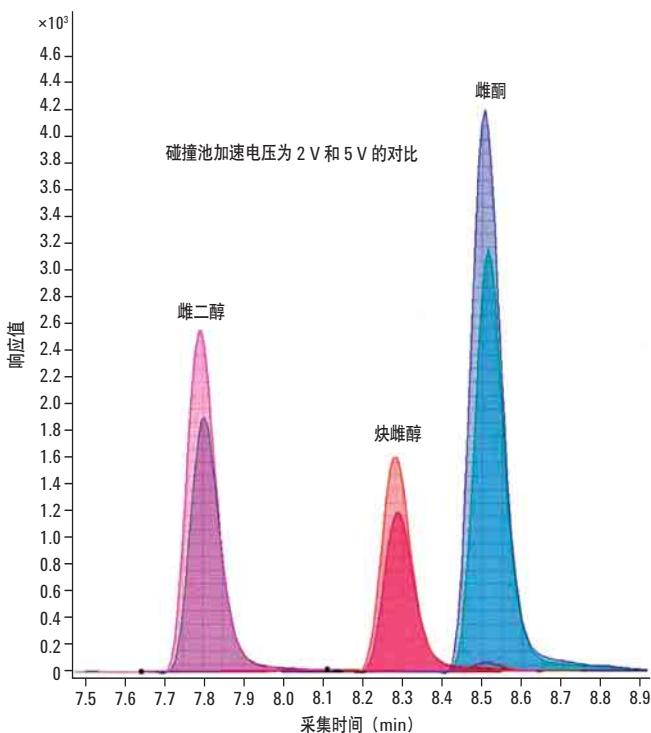
时间段	保留时间 (min)	化合物	母离子	子离子	CAV	碎裂电压	碰撞能量
1	8.0	雌二醇	271.0	145.0	2	380	50
1	8.0	雌二醇-D5	276.0	147.0	2	380	50
1	8.5	炔雌醇	295.0	145.0	2	380	52
1	8.5	炔雌醇-D4	299.0	147.0	2	380	52
1	8.8	雌酮	269.0	145.0	2	380	45
1	8.8	雌酮-D4	273.0	147.0	2	380	45

结果与讨论

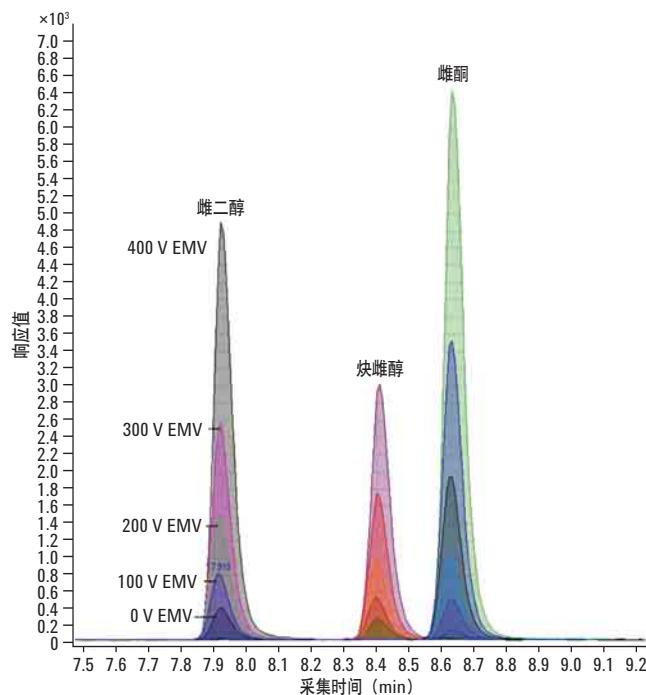
分析参数的优化

虽然已经有用老型号的仪器分析类固醇的方法，但是为了充分利用采用 iFunnel 技术的安捷伦 6490 三重四极杆液质联用系统无可比拟的灵敏度，这些方法参数必须进行优化。为此以在 6460 三重四极杆液质联用系统上开发的方法作为基础进行参数的优化。

碰撞池加速电压 (CAV) 是优化产物、检测和离子定量的关键参数。图 1 表明当加速电压由 5 V 变为 2 V 时，配制成标准校正溶液的 3 种类固醇物质的响应值显著增加。



倍增管电压 (即 EMV 增益) 是显著影响响应值的另一个参数。以 100 V 的步长从 100 V 递增到 400 V，整个范围内的响应值增加了 14 倍。当倍增管电压超过 400 V 时，响应值仍会继续增加，但信噪比保持不变甚至降低。实验发现最佳的电压值约为 200-300 V (图 2)。



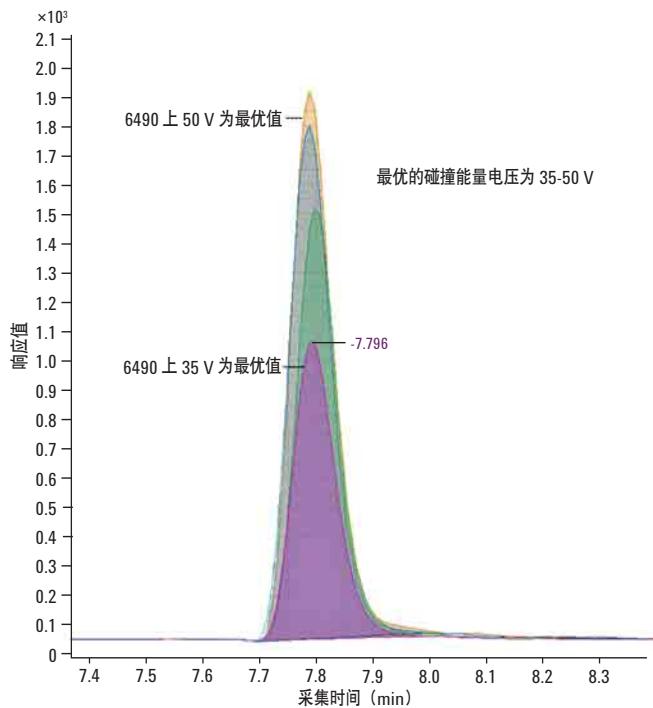


图 3. 与 6460 系统采用最优的碰撞能量 (35 V) 时的响应值相比, 安捷伦 6490 三重四极杆 LC/MS 系统采用最优的碰撞能量时雌二醇的检测响应值几乎增加了 2 倍

碰撞能量 (CE) 的优化对响应值最大化也很重要。雌二醇在 6460 系统方法上的最优碰撞能量是 35 V, 当碰撞能量在 6490 系统上以 5 V 的步长持续递增时, 雌二醇的响应值也不断增加, 达到 50 V 时响应值几乎增加了 2 倍 (图 3)。

安捷伦 6490 三重四极杆 LC/MS 系统提高灵敏度的关键因素之一是安捷伦独有的 iFunnel 技术, 它采用一种新型的双级离子漏斗组件。低压和高压电压在 6490 系统的仪器调整文件中均有默认设置。当然, 通过优化这两个电压可以显著提高灵敏度。例如, 把低压电压由默认的 60 V 变为 100 V 或者把高压 (高 RF) 电压由默认的 150 V 变为 160 V, 响应值都会提高 65% (图 4)。

在 6490 系统上, 方法采用所有这些优化参数得到的响应值与采用 6460 方法的最优参数得到的响应值相比, 前者是后者的 3 倍 (图 5)。采用这些优化参数可柱上检测到 0.1 pg 的雌酮 (图 6)、雌二醇和炔雌醇校正标准品 (样品浓度为 10 pg/L)。

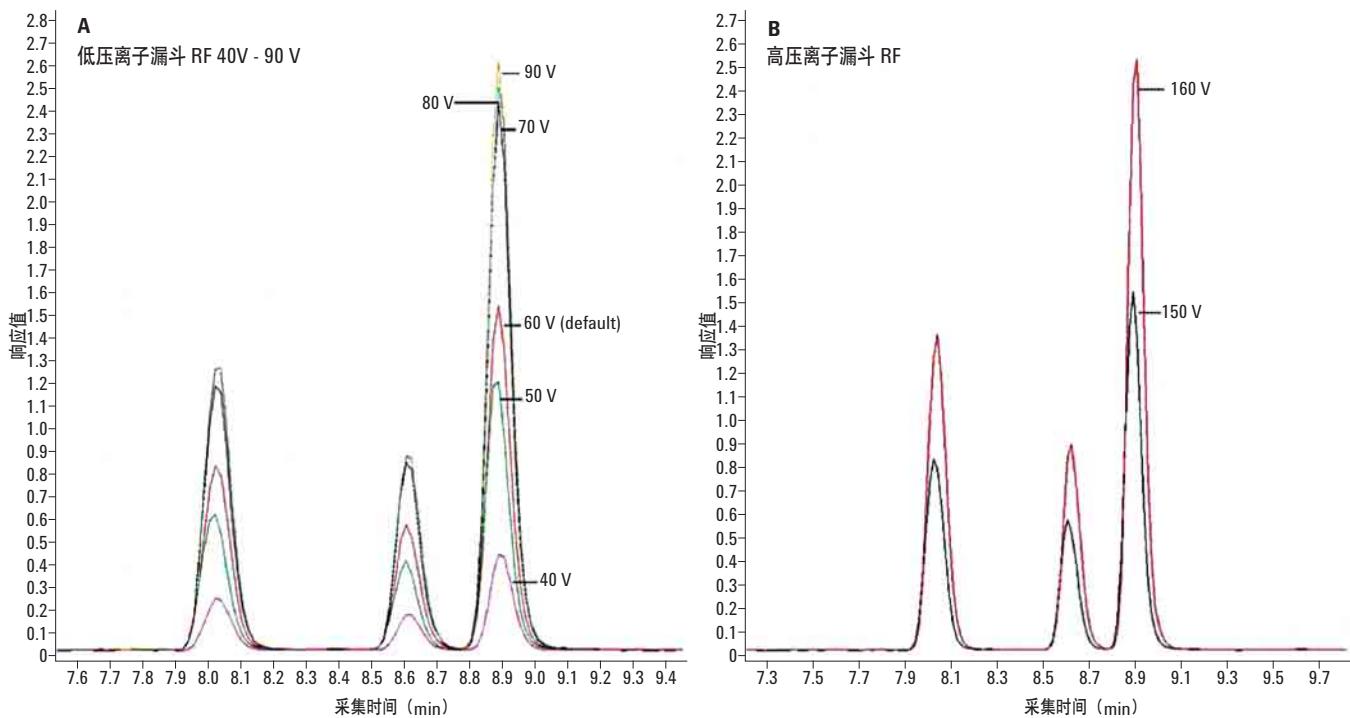


图 4. 分别优化安捷伦 6490 三重四极杆 LC/MS 系统的低压和高压离子漏斗电压, 3 种类固醇物质的响应值均会提高 65%

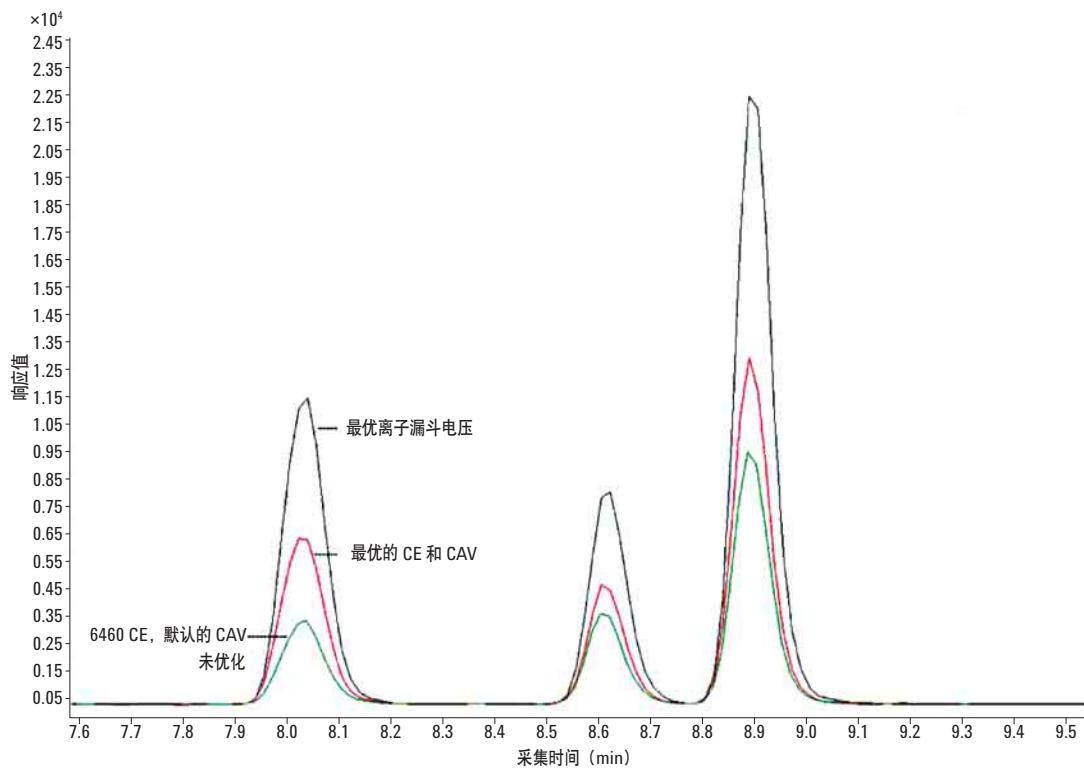


图 5. 展示了安捷伦 6490 三重四极杆 LC/MS 系统各个优化步骤的累积效应，它使得这些类固醇化合物获得的响应值是安捷伦 6460 三重四极杆 LC/MS 系统方法采用最优参数时的 3 倍

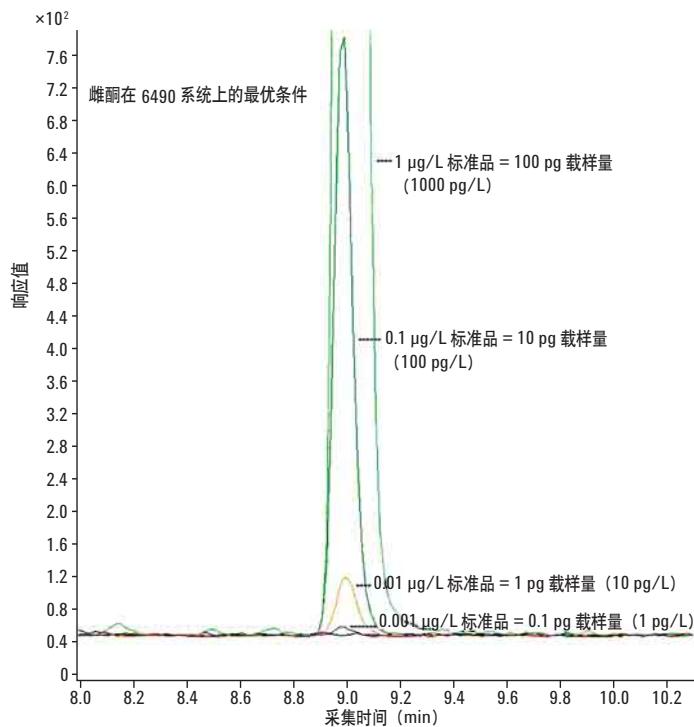


图 6. 使用优化的方法参数检测载样量 1 到 100 pg 的雌酮校正标准品

当使用优化的 MS 参数并以 0.1 mL/min 的流速柱后加入 0.1% 氨水溶液时，类固醇的响应值会增加，与未添加氨水溶液时相比，提高了 3-4 倍（图 7）。

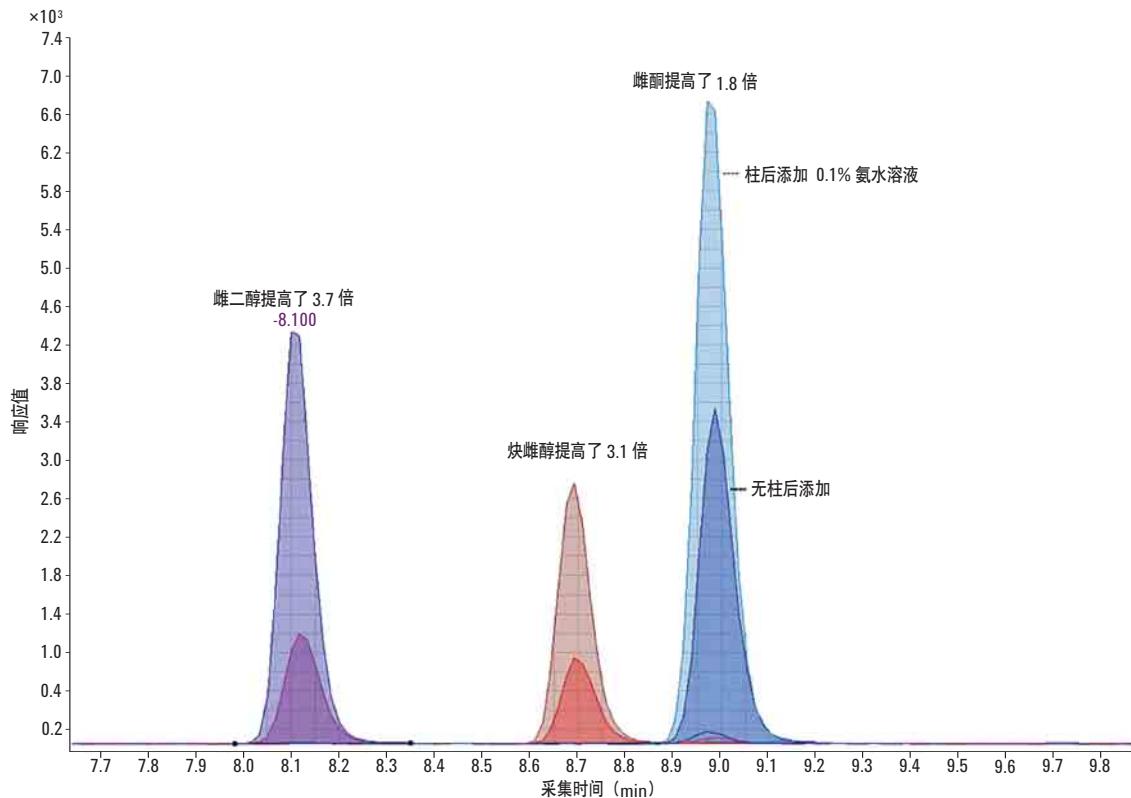


图 7. 柱后添加 0.1% 氨水溶液使 3 种被分析的类固醇物质的响应值提高了近 4 倍

污水中类固醇的灵敏检测

该优化方法可检测到污水中低于百万亿分之一 (ng/L) 的类固醇。图 8 给出了分析含有 0.91 ng/L 焓雌醇的未经处理的污水样品的相关谱图, 以及极好的校正曲线线性 ($R^2 > 0.9999$)。污水中 53.7 ng/L 的雌酮 (图 9) 和 44.5 ng/L 的雌二醇 (图 10) 都极易被检测到。定量分析这两种类固醇均展示了极好的线性, $R^2 > 0.9999$ 。

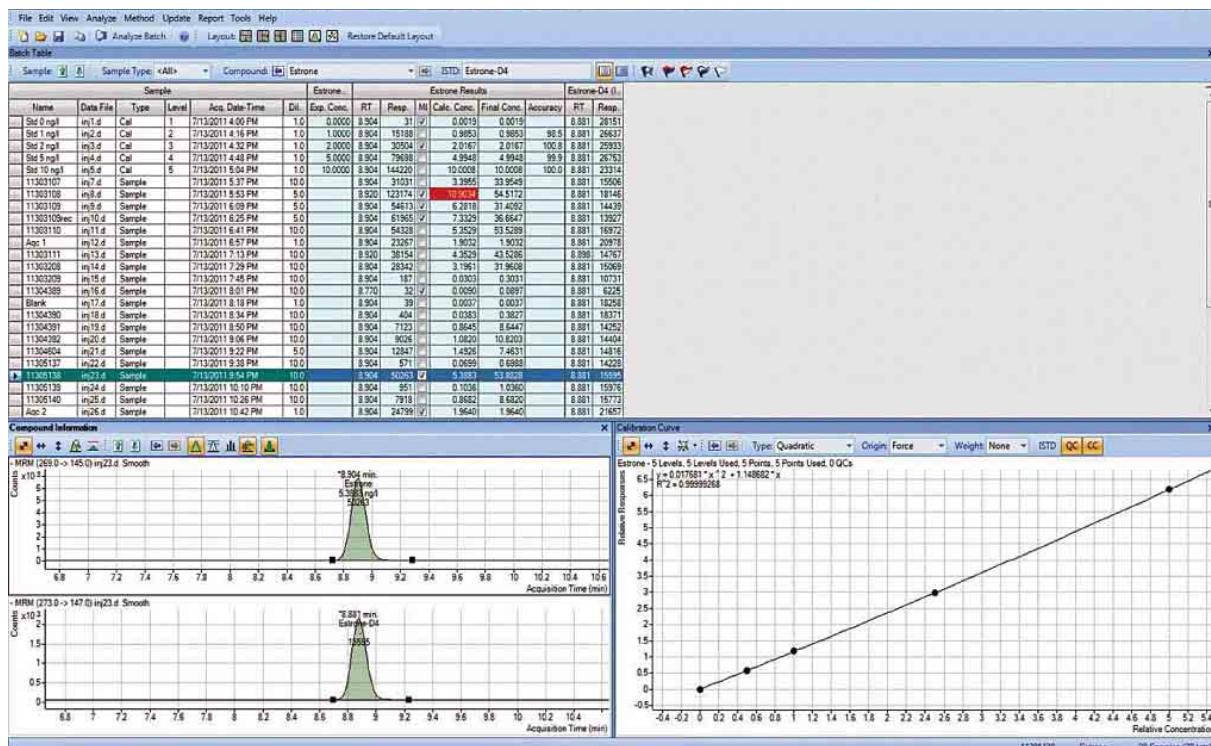


图 8. 展示了分析炔雌醇浓度为 0.91 ng/L 的污水样品时的 MRM 色谱图、内标色谱图以及校正曲线, $R^2 > 0.9999$

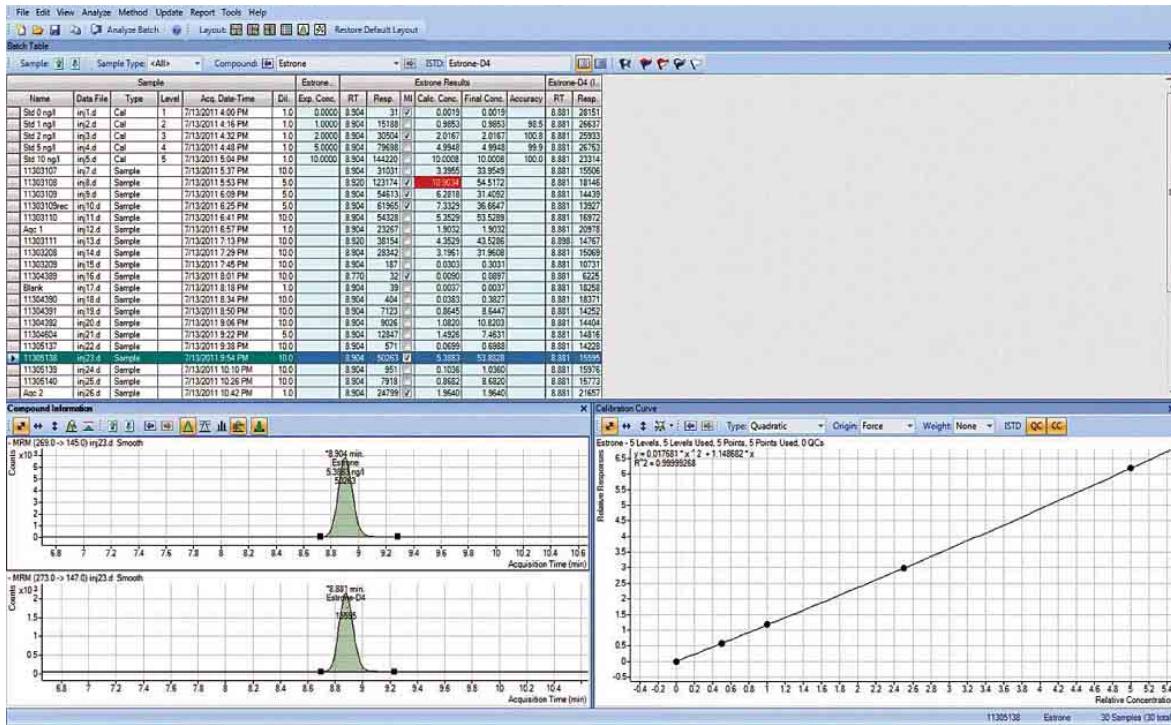


图 9. 展示了分析雌酮浓度为 53.7 ng/L 的污水样品时的 MRM 色谱图、内标色谱图以及校正曲线, $R^2 > 0.9999$

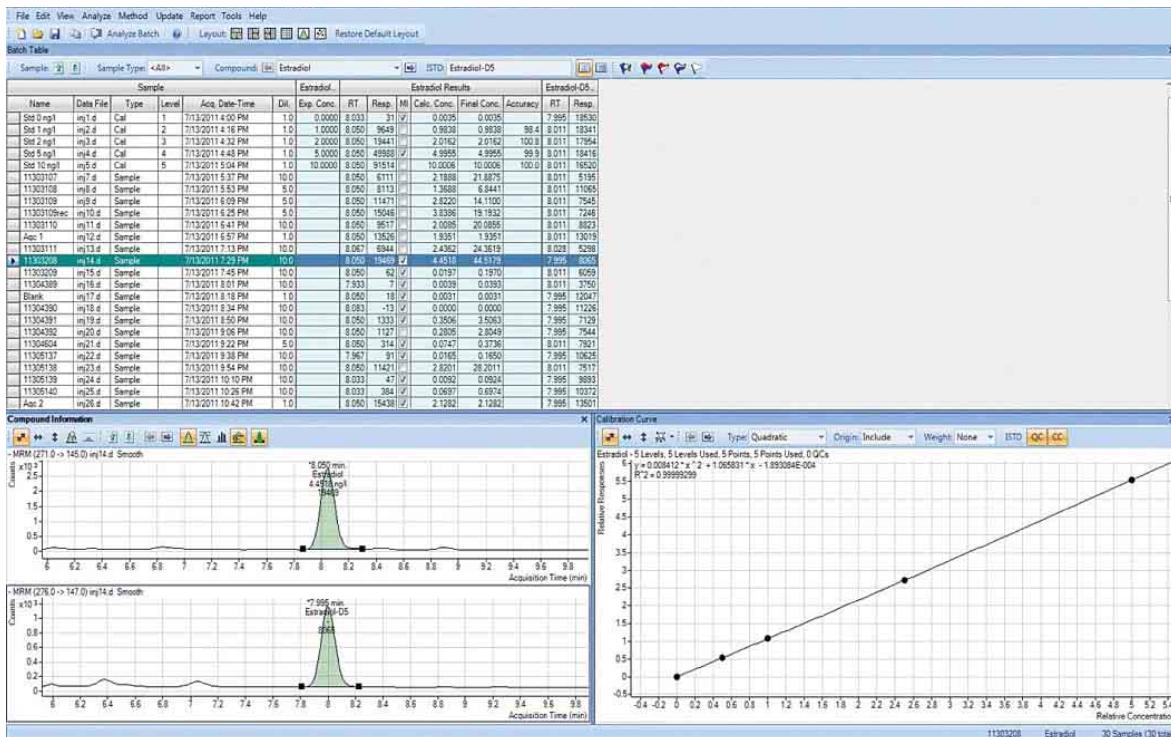


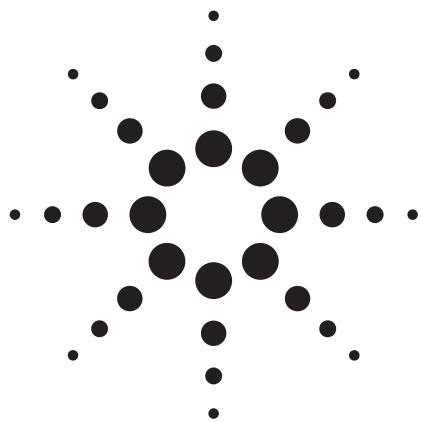
图 10. 展示了分析雌二醇浓度为 44.5 ng/L 的污水样品时的 MRM 色谱图、内标色谱图以及校正曲线, $R^2 > 0.9999$

结论

采用 iFunnel 技术的安捷伦 6490 三重四极杆 LC/MS 系统提供了极高的灵敏度，使其成为微量分析的理想选择。然而，与其它任何仪器一样，在老型号的 MS 仪器上开发的方法被应用到 6490 系统上时必须进行优化以最大限度地提高灵敏度。与使用在安捷伦 6460 三重四极杆 LC/MS 系统上开发的方法参数相比，这些优化参数能使类固醇的检测响应值提高 3 倍。该优化方法可使复杂基质的污水中类固醇的检测限低至 ng/L。

参考文献

1. K. A. Kidd, P. J. Blanchfield, K. H. Mills, V. P. Palace, R. E. Evans, J. M. Lazorchak, R. W. Flick, "Collapse of a fish population after exposure to a synthetic estrogen.", Proc Natl Acad Sci U S A 104, 8897-8901 (2007).
2. Pollutants in Urban Waste Water and Sewage Sludge, http://ec.europa.eu/environment/waste/sludge/pdf/sludge_pollutants_xsum.pdf



采用双离子漏斗技术的安捷伦 6490 三重四极杆液-质联用仪直接检测水用 ppt 浓度水平的药物化合物

应用简报 (5990-6431CHCN)

环境

作者

Imma Ferrer, E. Michael Thurman
环境质谱中心
环境工程系
美国科罗拉多大学
科罗拉多州博尔市 80309

Michael Flanagan
安捷伦科技公司
加利福尼亚州圣克拉拉

摘要

对于科学界和公众来说，包括药物及其代谢物在内的药物活性化合物是影响水质的一个重要问题，尽管其数量不占主要的比例。水中的药物残留对人、野生动物和鱼类可能会产生不利的影响。因此，需要一个灵敏而可靠的分析方法来检测这些痕量化合物。本研究利用安捷伦 1290 Infinity 液相色谱和带双离子漏斗技术的安捷伦 6490 三重四极杆液质联用仪直接分析地表水中 ng/L 浓度水平的药物和个人护理品 (PPCP) 类化合物。无需样品制备便可以在 1-500 mg/L 的检测限范围内检测 20 个药物和个人护理品 (PPCP) 类化合物，这是化合物之间的化学结构和离子化效率的差异所致。样品预浓缩阶段的去除可大大降低样品的制备时间、简化分析、降低分析成本，从而抵消了固相萃取方法常见的基质效应。

实验方法

样品制备

药物标准品购自 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)。制备浓度 1 mg/ml 的单标储备液，根据每个化合物的溶解度的不同选择乙腈或甲醇作为储备液的溶剂，并储存在 -180°C 的条件下。利用这些储备液，用乙腈和水溶液制备工作标准溶液。

废水样品取自 Boulder Creek (Boulder, CO) 的废水排放口，地表水取自科罗拉多州各处的湖和河中。

1290 Infinity 液相色谱条件

色谱柱	安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C-18 RRHT, 2.1 x 50 mm, 1.8 μm (部件号 959741-902)
柱温	25 °C
流动相	10% 乙腈和 90% 0.1% 甲酸的水溶液
流速	0.4 mL/min
梯度	$t_0 = 10\% \text{ ACN}$ $t_{1.7} = 10\% \text{ ACN}$ $t_{10} = 100\% \text{ ACN}$ $t_{10.3} = 100\% \text{ ACN}$
进样体积	40 μL

安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪参数 (正离子模式)

干燥气温度	250 °C
干燥气流速	10 L/min
雾化器压力	45 psi
鞘流气温度	375 °C
鞘流气流速	11 L/min
毛细管电压	4000 V
喷嘴电压	0 V
倍增器电压增幅	400 V

安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪参数 (负离子模式)

干燥气温度	250 °C
干燥气流速	10 L/min
雾化器压力	45 psi
鞘流气温度	375 °C
鞘流气流速	11 L/min
毛细管电压	3500 V
喷嘴电压	1500 V
倍增器电压增幅	400 V

安捷伦 6490 三重四极杆液质联用仪参数 (正离子模式)

干燥气温度	250 °C
干燥气流速	15 L/min
雾化器压力	45 psi
鞘流气温度	350 °C
鞘流气流速	11 L/min
毛细管电压	4000 V
喷嘴电压	0 V
倍增器电压增幅	400 V

安捷伦 6490 三重四极杆液质联用仪参数 (负离子模式)

干燥气温度	250 °C
干燥气流速	15 L/min
雾化器压力	45 psi
鞘流气温度	300 °C
鞘流气流速	11 L/min
毛细管电压	3000 V
喷嘴电压	1500 V
倍增器电压增幅	400 V

结果与讨论

表 1 列出了本研究中分析的药物和个人护理品类化合物的质谱分析参数和 MRM 参数。从美国 EPA 1694 方法中选择了 20 种药物和个人护理品类化合物 (PPCP)。这 20 个化合物代表着水和废水中常见的药物和个人护理品类化合物 (PPCP)，在文献中也有报道。每个组分设定两个 MRM 离子，一个是定量离子，另一个是定性离子。检测限要求这两个离子必须同时存在。正负电喷雾模式用于电离方法进行分析。

表 1. 药物和个人护理品 (PPCP) 的 MRM 和质谱操作参数。正/负离子模式。
负模式检测的化合物用粗体标出

化合物	碰撞电压	MRM (m/z)	碰撞解离能量 (eV)
对乙酰氨基酚	90	152 > 110	15
		152 > 65	35
沙丁胺醇	90	240 > 148	15
		240 > 166	5
阿替洛尔	130	267 > 145	20
		267 > 190	15
咖啡因	110	195 > 138	15
		195 > 110	25
卡马西平	120	237 > 194	15
		237 > 179	35
可替宁	90	177 > 98	25
		177 > 80	25
避蚊胺	110	192 > 119	15
		192 > 91	30
脱氢硝苯地平	130	345 > 284	25
		345 > 268	25
双氯芬酸	70	294 > 250	5
		294 > 214	10
地尔硫卓	130	415 > 178	25
		415 > 150	25
苯海拉明	70	256 > 167	15
		256 > 152	35
吉非罗齐	70	249 > 121	35
布洛芬	50	205 > 161	0
美托洛尔	135	268 > 116	15
		268 > 56	30
萘普生	50	229 > 170	5
		229 > 169	25
磺胺二甲氧嘧啶	80	311 > 156	20
		311 > 92	35
磺胺甲恶唑	80	254 > 156	10
		254 > 92	30
三氯卡班	90	313 > 160	5
		313 > 126	15
三氯生	75	287 > 35	5
		289 > 37	5
甲氧苄啶	75	291 > 230	25
		291 > 261	25

表 2 所示，用安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪（只有喷射流离子聚焦技术）和安捷伦 6490 三重四极杆液质联用仪（喷射流离子聚焦和双离子漏斗技术）对 40 μL 水样直接进样进行分析并比较其检测限和灵敏度。通常情况下，正/负模式下的 6490 三重四极杆液质联用仪的灵敏度提高 3-5 倍，但根据化合物的不同有所不同。6490 的检测限在 1-500 ng/L 范围内，平均检测限是 10 ng/L。

表 2. 安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪（只有喷射流离子聚焦技术）和安捷伦 6490 三重四极杆液质联用仪（喷射流离子聚焦和双离子漏斗技术）上，药物和个人护理品类化合物 (PPCP) 的检测限 (LOD)

化合物	LOD 6460 (ng/L)	LOD 6490 (ng/L)	LOD (倍数) 增加
对乙酰氨基酚	75	25	3
沙丁胺醇	10	5	2
阿替洛尔	50	10	5
咖啡因	500	50	10
卡马西平	25	5	5
可替宁	50	10	5
避蚊胺	10	1	10
脱氢硝苯地平	10	1	10
双氯芬酸	500	100	5
地尔硫卓	30	10	3
苯海拉明	10	10	1
吉非罗齐	500	25	20
布洛芬	1000	500	2
美托洛尔	25	5	5
萘普生	500	500	1
磺胺二甲氧嘧啶	50	10	5
磺胺甲恶唑	75	50	1.5
三氯卡班	75	25	3
三氯生	500	50	10
甲氧苄啶	75	25	3

图 1 所示为，安捷伦 6490 三重四极杆液质联用分析水中阿洛替尔得到的标准校正曲线。通常，所有的化合物都具有优异的线性以及极高的灵敏度，线性度超过 3 个数量级，线性相关系数 (r^2) 大于 0.99。

图 2 为在安捷伦 6490 三重四极杆液质联用上得到脱氢硝苯地平（常见的抗心绞痛药）的检测限和离子比率。

如图所示，利用 MRM 的定性离子可以确认这个化合物的柱上进样量为 40 fg。

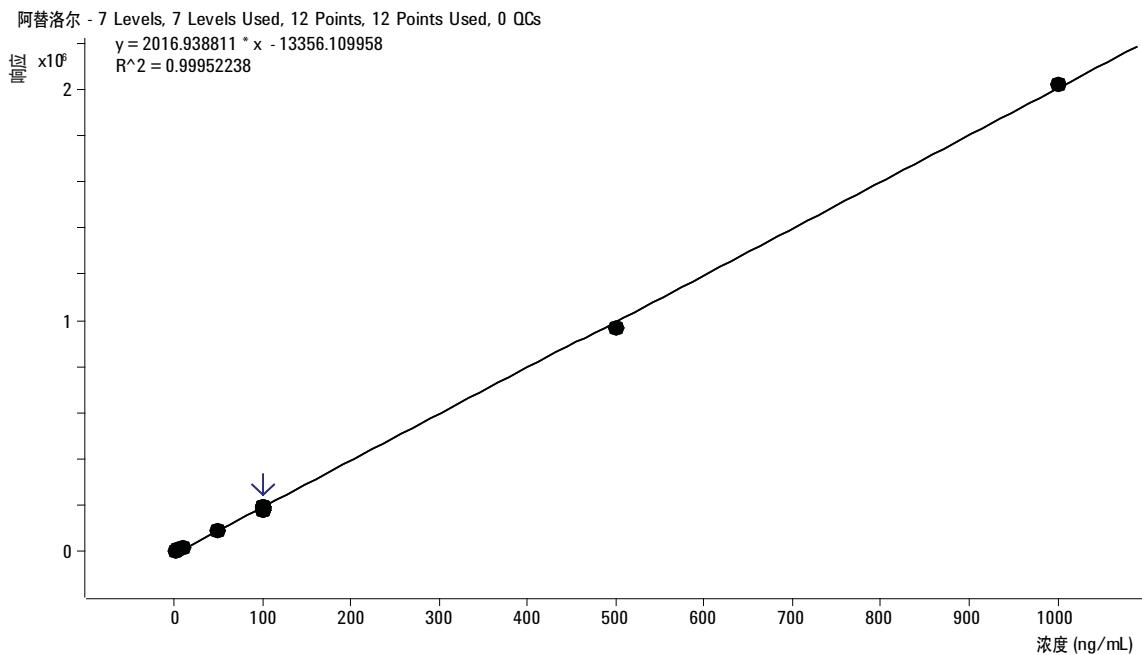


图 1. 阿替洛尔的校正曲线 (浓度范围为 1 ng/L 至 1000 ng/L)

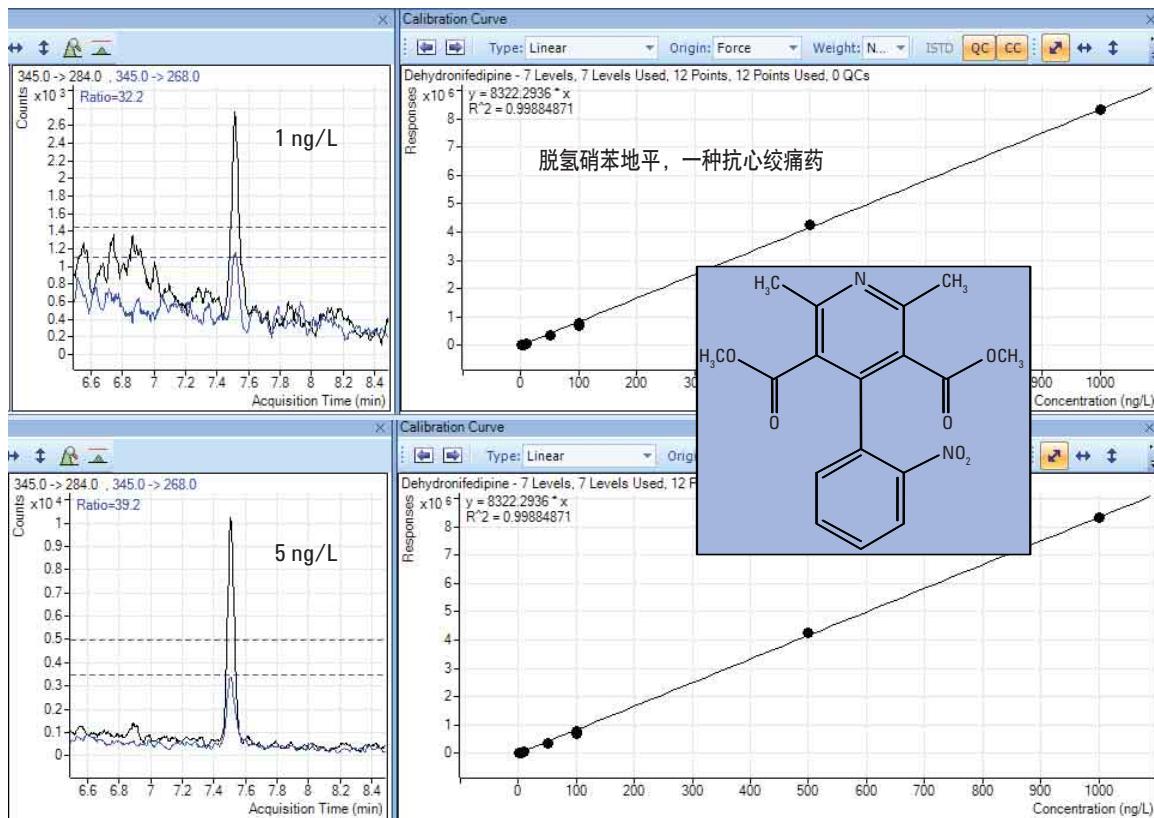


图 2. 脱氯硝苯地平的线性校正曲线和定性离子的比率

最后，在安捷伦 6490 三重四极杆液质联用仪上，用直接进样的方式分析废水和地表水，确认了水中含有药物和个人护理品类化合物（PPCP）。图 3 所示为两个化合物的定性离子的丰度比，

地表水中检测到地尔硫卓和磺胺甲基异恶唑。如图 3 所示，由于仪器的高灵敏度和 MRM 的高选择性，复杂样品中两个药物都被准确地鉴定出来。

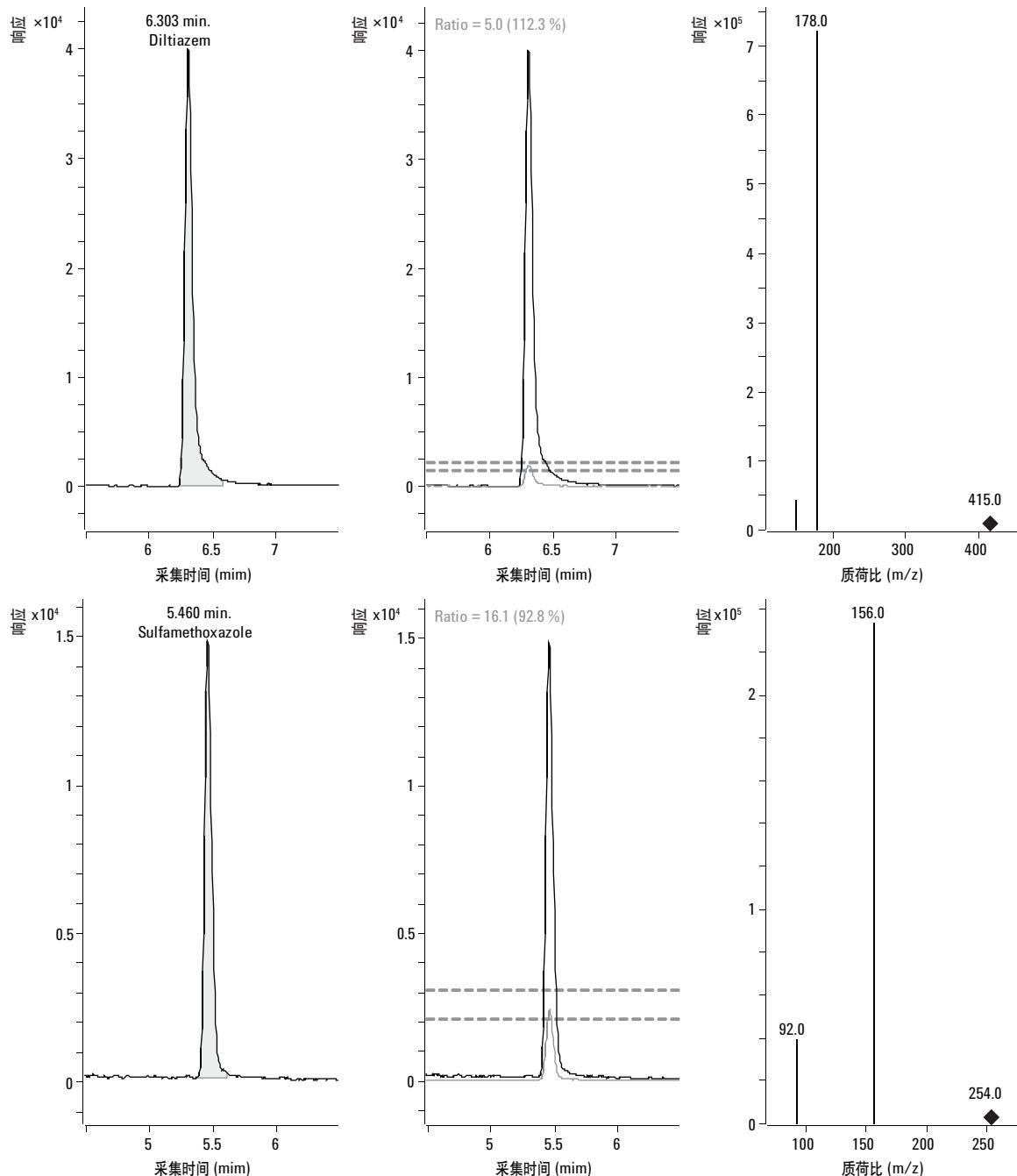
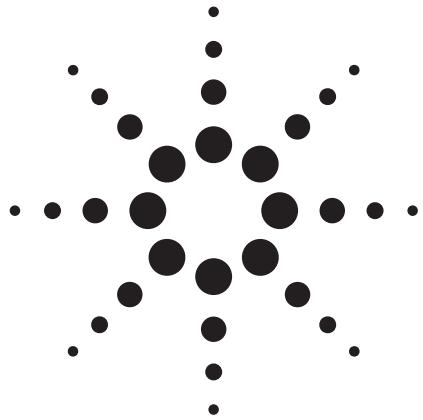


图 3. 检测到的化合物的离子流图，地表水（科罗拉多州丹佛市附近采集）中的 (a) 地尔硫卓和 (b) 磺胺甲 呋。在安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪上得到的离子比率和相应的谱图

结论

本文对配置了安捷伦双离子漏斗技术的 6490 三重四极杆液质联用仪与不带双离子漏斗的安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪进行了比较，结果表明，对于大多数测试化合物，6490 的灵敏度比 6460 高 3-5 倍。灵敏度的提高主要是源自新型的六孔毛细管和双离子漏斗技术。这一优异的灵敏度和三重四极杆质谱的高选择性的组合使它成为水样（如地表水）中药物和个人护理品（PPCP）类化合物分析的理想仪器。6460 和 6490 都适合环境水样中药物和个人护理品（PPCP）类化合物的检测，都具有优异的检测限。



适用于 EPA 8330B 方法的固相萃取和液-质联用仪分析水中爆炸物

应用简报 (5991-0676CHCN)

环境

作者

E. Michael Thurman and Imma Ferrer

环境工程系

科罗拉多大学

科罗拉多州博尔市

美国

摘要

用于水中爆炸物痕量检测的 EPA 8330B 方法中的检测方式经历了紫外检测到高效液相色谱检测到液-质联用仪检测的转移，本文使用配置了安捷伦 6460 三重四极杆液-质联用仪的安捷伦 1290 Infinity 液相色谱，在大气压化学电离源、负离子化模式条件下分析水中的爆炸物。用本方法分析了水中十一种痕量的爆炸物，检测限在 5-50 ng/L 范围内。使用固相萃取 (SPE) C18 萃取柱和聚合物萃取柱用于评价测试。聚合物固相萃取柱具有超高的回收率，范围在 80%-101% (离线固相萃取)。超高压液相色谱/6460 三重四极杆液质联用系统是检测水中爆炸物的有效方法。

前言

EPA 方法 8330B[1] 于 2006 年被提出，用来取代较早的版本 EPA 方法 8330。EPA 方法 8330 是结合紫外检测的高效液相色谱法，用于检测 17 种爆炸物。新的方法可以检测水中亚-ppb 浓度的痕量爆炸物。

军事行动和可能的生态破坏都能够导致爆炸物进入周边环境，由于它们对人体有急性和慢性毒性作用，所以环境中爆炸物的检测受到了很多关注。例如，2,4,6-TNT 会导致成年牛蛙产生急性毒性[2]。此外，军事设施地点的爆炸残留物还能够通过土壤进入到地下水中[3]。因此，潜在存在的环境问题的解决需要可靠而灵敏的检测方法，如质谱方法。

本应用简报介绍了将 EPA 8330B 方法转移至先进的质谱检测方法，此方法包括超高压液相色谱（UHPLC）法/三重四极杆质谱法。使用固相萃取，在结合了 6460 三重四极杆液质联用系统的 1290 Infinity 液相色谱系统上开发了爆炸物的检测方法并且测定了 11 种爆炸物的检测限（LOD），测试浓度范围是 5-50 ng/L，回收率是 80% 至 101%。

实验

试剂和标准品

所有标准品均购自 AccuStandard (New Haven, CT, USA)，17 种爆炸物分析标准品的产品编号是 M-8330-R。LC/MS 级甲醇、乙腈和水，购自 Burdick 和 Jackson (美国新泽西州莫里斯镇)。固相萃取柱为反相聚合物柱和 C18 萃取柱，购自安捷伦科技 (部件号 12102052)。所有的标准品都用甲醇溶解，浓度为 100 µg/mL，顺序稀释至合适的浓度。

仪器

本方法是在由二元泵、自动进样器、柱温箱和 UHPLC 柱组成的 1290 Infinity 液相色谱系统上开发的。液相色谱与 6460 三重四极杆液质联用系统。仪器操作条件列于表 1 中。

表 1. 液相色谱和质谱的运行条件

液相色谱条件

色谱柱 安捷伦 ZORBAX C18, 2.1 x 50 mm, 1.8 µm
(部件号 95975-902)

柱温 25 °C

进样体积 100 µL

流动相 A = 乙腈
B = 0.1% 乙酸水溶液

流速 0.4 mL/min

梯度	时间 (min)	% A	% B
	0	20	80
	1.7	20	80
	10	100	0
	10.3	100	0

后运行时间 4 min

总分析时间 10.3 min

质谱条件

离子化模式 大气压化学电离，负模式

干燥气温度 350 °C

汽化器温度 275 °C

干燥气流速 4 L/min

雾化器压力 30 psig

CORONA 电流 (负) 4 µA

毛细管电压 (负) 1500 V

MRM 参数 见表 4

样品制备

在 Gilson 271-GX 全自动固相萃取系统 (Gilson Inc., Madison, WI, USA) 上, 采用聚合物柱或 Bond Elut C18 柱对每个 100 mL 的样品进行富集浓缩。固相萃取柱先用 5 mL 甲醇、然后用 5 mL 水平衡。上水样, 速度控制在 10 mL/min, 最后用流速为 1 mL/min 的 5 mL 甲醇进行洗脱。在 Turbovap 浓缩工作站 (Caliper Life Sciences, Mountain View, CA) 上, 在温度为 45 °C、水浴条件下, 利用氮吹将甲醇浓缩至 0.5 mL, 然后注入到高效液相色谱-串联质谱系统中进行分析。

结果与讨论

选择电离模式

表 2 列出了 EPA 8330B 方法中的 17 种爆炸物的名称、缩写和 CAS 号。表中列举还包括用苯胺制造的新型炸药, 如 HMX、高熔点炸药和 RDX、研究单位的炸药。用负模式的电喷雾 (ESI) 和大气压化学电离 (APCI) 对这 17 种爆炸物进行了分析。

负模式大气压化学电离源 (APCI) 比负模式电喷雾电离更适合爆炸物的检测 (表 3), 早期发表的文章也确认了这一结果 [4]。由于结构的关系, 即使在大气压化学电离的负模式条件下, 还是有几个爆炸物无法离子化。尤其是, 如化合物含两个以下的硝基基团, 那么很难生成负离子。这里所指出的是, 硝基苯、2-硝基甲苯、3-硝基甲苯、4-硝基甲苯无法离子化。含有多个硝基基团的组分可以在 APCI 负模式下离子化, 它们通过丢失一个质子形成偶数电子离子, 或者捕获一个电子形成奇数电子离子。

表 4 显示了, 在负模式的大气压化学电离条件下形成的母离子的结构。17 个爆炸物中 11 个被有效离子化。值得注意的是, 表 4 中的所有化合物的结构都含有至少两个硝基基团, 这有助于在 APCI 负模式条件下被离子化。在超高压液相色谱 / 三重四极杆质谱联用仪上, 开发了这 11 种爆炸物的分析方法。

表 2. 本文研究的爆炸物的缩写、名称和 CAS 号

待测物 (缩写)	待测物名	CAS 号
1,3,5-TNB	1,3,5-三硝基苯	99-35-4
1,3-DNB	1,3-二硝基苯	99-65-0
2,4,6-TNT	2,4,6-三硝基甲苯	118-96-7
2,4-DNT	2,4-二硝基甲苯	121-14-2
2,6-DNT	2,6-二硝基甲苯	606-20-2
2-Am-DNT	2-氨基-4,6-二硝基甲苯	35572-78-2
2-NT	2-硝基甲苯	88-72-2
3,5-DNA	3,5-二硝基苯胺	618-87-1
3-NT	3-硝基甲苯	99-08-1
4-Am-DNT	4-氨基-2,6-二硝基甲苯	19406-51-0
4-NT	4-硝基甲苯	99-99-0
HMX	八氢-1,3,5,7-四硝基-1,3,5,7-奥克托今	2691-41-0
NB	硝基苯	98-95-3
NG	硝酸甘油	55-63-0
PETN	季戊四醇四硝酸酯	78-11-5
RDX	六氢-1,3,5 - 三硝基-1,3,5 - 三嗪	121-82-4
Tetryl	甲基-2,4,6 - 三硝基苯硝胺	479-45-8

表 3. 本文中研究的爆炸物的离子化选择
(X = 没有响应; ✓ = 有响应)

待测物缩写	ESI -	APCI -
1,3,5-TNB	✓	✓
1,3-DNB	X	✓
2,4,6-TNT	✓	✓
2,4-DNT	✓	✓
2,6-DNT	X	✓
2-Am-DNT	✓	✓
2-NT	X	X
3,5-DNA	✓	✓
3-NT	X	X
4-Am-DNT	✓	✓
4-NT	X	X
HMX	✓	✓
NB	X	X
NG	X	X
PETN	X	X
RDX	✓	✓
Tetryl	X	✓

表 4. 在 APCI 负模式条件下，爆炸物生成的母离子的化学结构

待测物缩写	化学结构	母离子	待测物缩写	化学结构	母离子
1,3,5-TNB		[M]• ⁺	3,5-DNA		[MH] ⁻
1,3,-DNB		[MH] ⁻	4-Am-DNT		[MH] ⁻
2,4,6-TNT		[MH] ⁻	HMX		[M+CH3COO-] ⁻
2,4-DNT		[M]• ⁺	RDX		[M+CH3COO-] ⁻
2,6-DNT		[M]• ⁺	Tetryl		[M+NO2] ⁻
2-Am-DNT		[MH] ⁻			

分析方法参数优化

对 11 个化合物的碰撞电压进行优化以使其母离子的响应最大。在所有三种情况下，母离子是去质子化分子峰或者分子离子峰。HMX 和 RDX (较新的硝基胺类的爆炸物) 均能在分子上形成乙酸加成物从而得到阴离子。另一方面，三硝基苯甲硝胺在碰撞反应池之前，失去一个硝基 (主要在离子源)，形成其母离子。

表 5 所示为 11 种爆炸物的母离子、碰撞电压和产生两个子离子所需的碰撞能量。四极杆的分辨率包括宽设置 (wide) MS1 和单位质量分辨率 MS2，以保证捕获最强的离子信号，同时消除基质和溶剂中的杂散离子，保持低的背景噪音。子离子中出现 m/z 46 离子，即硝基 (NO_2^-)，这是常见的现象，因为对于每种爆炸物化合物，硝基是一个重要的丢失基团。对于所有的组分，离子驻留时间设为 5 ms。11 种化合物的 MRM 和它们的子离子列于表 5。这些 MRM 用于建立可靠的串联四极杆液质联用的方法。

表 5. 大气压化学电离 (负模式) 条件下，检测爆炸物组分的 MRM 参数

化合物名	母离子	MS1 res	子离子	MS2 res	离子驻留时间	碰撞电压	碰撞能量	碰撞反应池电压
1,3,5-TNB	213	Wide	183	Unit	5	70	5	3
1,3,5-TNB	213	Wide	95	Unit	5	70	20	3
1,3-DNB	168	Wide	138	Unit	5	50	5	3
1,3-DNB	168	Wide	46	Unit	5	50	5	3
2,4,6-TNT	226	Wide	196	Unit	5	90	5	3
2,4,6-TNT	226	Wide	46	Unit	5	90	20	3
2,4-DNT	181	Wide	135	Unit	5	90	20	3
2,4-DNT	181	Wide	46	Unit	5	90	20	3
2,6-DNT	182	Wide	152	Unit	5	50	20	3
2,6-DNT	182	Wide	46	Unit	5	50	10	3
2-Am-DNT	196	Wide	136	Unit	5	90	20	3
2-Am-DNT	196	Wide	46	Unit	5	90	20	3
3,5-DNA	182	Wide	152	Unit	5	90	10	3
3,5-DNA	182	Wide	46	Unit	5	90	20	3
4-Am-DNT	196	Wide	119	Unit	5	90	10	3
4-Am-DNT	196	Wide	46	Unit	5	90	20	3
HMX	355	Wide	147	Unit	5	50	5	3
HMX	355	Wide	46	Unit	5	50	10	3
RDX	281	Wide	59	Unit	5	50	10	3
RDX	281	Wide	46	Unit	5	50	20	3
Tetryl	241	Wide	213	Unit	5	70	0	3
Tetryl	241	Wide	196	Unit	5	70	10	3

实验条件也被优化，以得到最优的灵敏度、汽化温度、干燥气温度、流速、电晕电流和毛细管电压。可观察到将气体流速从 6 L/min 降至 4 L/min 时，信号明显增强，之前应用简报中使用的 LC/APCI-TOF-MS 也得到这个现象 [4]。由于某些化合物是热不稳定的，所以最优的汽化温度设为 275 °C。

检测和定量

图 1 所示为 11 种爆炸物的超高压液相色谱分离的色谱图。大多数组分都是基线分离。然而，有两个同分异构体（2-氨基-DNT 和 4-氨基-DNT）没有完全分离。由于硝基和甲基基团的位置不同导致不同的碎裂机理，因此每个组分产生不同子离子，可以通过质谱的 MRM 的方式将两个同分异构体分开。

对 11 种爆炸物建立了标准曲线，结果显示，每个组分都具有很好的线性。图 2 显示了 2,4-DNT 的标准曲线，线性相关系数 (R^2) 是 0.999。外标校正曲线的浓度点分别是 1, 10, 25, 50, 和 100 $\mu\text{g/L}$ 或 ppb，这是固相萃取浓缩后，大多数爆炸物化合物的灵敏度。

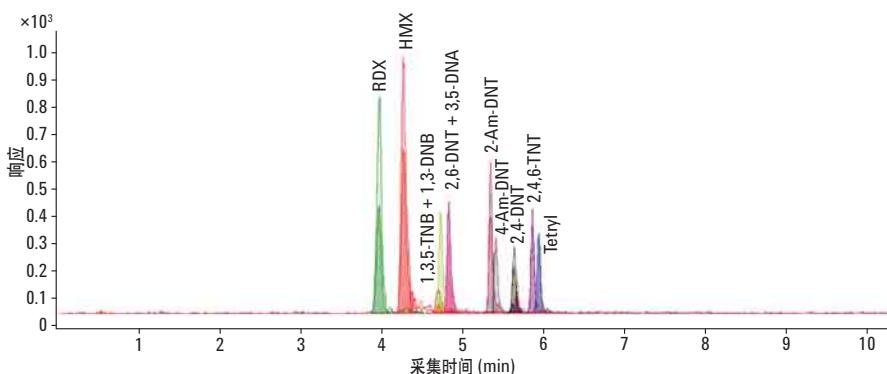


图 1. C18 柱上分离爆炸物化合物的色谱图

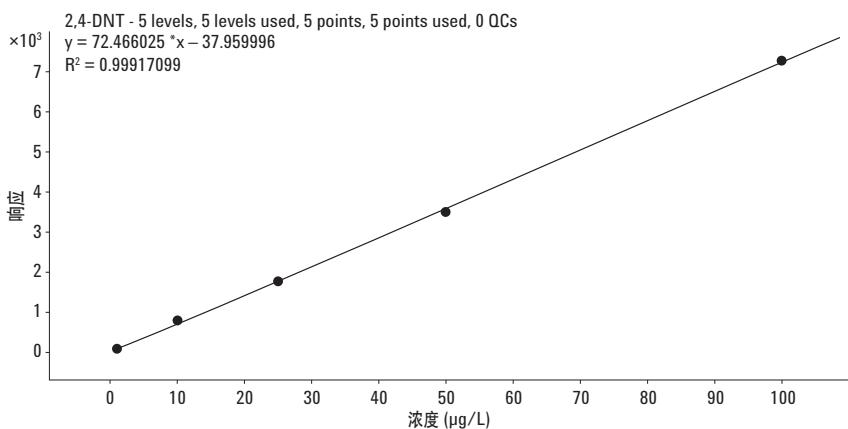


图 2. 2,4-DNT 的外标校正曲线，显示了良好的线性 ($R^2=0.999$)

样品制备

为了建立水中 ng/L 水平爆炸物的分析方法，需要使用固相萃取富集技术（2-3）。因此，用 C18 和聚合物固相萃取柱测定 11 种爆炸物的回收率，结果见表 6。大多数爆炸物在两种固相萃取柱上得到相近的回收率，范围在 72% 至 101% 的范围内，只有 HMX 和 RDX 在 C18 柱的回收率较低，这主要是因为这两个化合物的极性所致。

使用聚合物固相萃取柱的离线固相萃取和 UHPLC/MS/MS 的多反应监测（MRM）体系建立了 11 种爆炸物的高灵敏度检测方法。表 7 显示了加标的 100 mL 地表水富集浓缩后的 11 种爆炸物的检测限（LODs）。因为组分在大气压化学电离条件（负模式）下灵敏度的不同，其检测限在 5 至 50 ng/L 之间。

结论

用固相萃取进行样品的富集后，用 1290 Infinity 液相色谱/6460 三重四极杆液质联用系统建立了 EPA 8330B 中 11 种爆炸物的高灵敏度检测方法。这个可靠的方法采用两个 MRM 离子来进行地表水和地下水中爆炸物的定量和确认分析，检测限在 5-50 ng/L 范围内（经过固相萃取富集）。用聚合物固相萃取柱的离线固相萃取得到的回收率在 80% - 101% 之间。

参考文献

1. Anon, 2006, “液相色谱法（HPLC）分析芳香族硝基化合物、硝胺和硝酸酯”，U.S. EPA Method 8330B, 29p
2. N.E Paden, E. E.Smith, R. J. Kendal, “2,4,6-三硝基甲苯、2,4-二硝基甲苯和 2,6-二硝基甲苯导致成年牛蛙的急性中毒（*Lithobates catesbeiana*）” *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **80**, 487-491(2008)
3. K. Spiegel, J.V. Headley, K.M. Peru, N. Haidar, N.P. Gurprasard, “德国东部地区一处军事地点的爆炸物残留从土壤中迁移到水中”，*Communications in Soil Science and Plant Analysis* **36**, 133-153 (2005)
4. R. Kinghorn, C.Milner, J. Zweigenbaum, “安捷伦的飞行时间液质联用仪分析微量的爆炸物残留物”，安捷伦应用报告，5989-2449EN

表 6. 回收率 (%) *

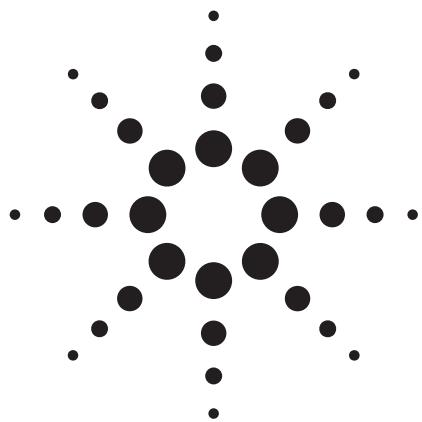
化合物缩写	C18 Bond Elut 萃取柱 (%)	聚合物柱 (%)
1,3,5-TNB	72	80
1,3-DNB	82	101
2,4,6-TNT	101	95
2,4-DNT	91	86
2,6-DNT	95	83
2-Am-DNT	91	97
3,5-DNA	95	83
4-Am-DNT	91	88
HMX	9.2	84
RDX	19	88
Tetryl	88	82

* 加标浓度为 100 ng/L 的 100 mL 地表水的固相萃取

表 7. 方法检测限 *

化合物缩写	检测限 LOD (ng/L)
1,3,5-TNB	25
1,3-DNB	50
2,4,6-TNT	5
2,4-DNT	25
2,6-DNT	10
2-Am-DNT	5
3,5-DNA	5
4-Am-DNT	10
HMX	10
RDX	25
Tetryl	20

* 加标浓度为 100 ng/L 的 100 mL 地表水的固相萃取



EPA 方法 538：采用 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统直接进水样测定饮用水中特定的有机污染物

应用简报 (5990-9670CHCN)

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 三重四极杆 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。

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 三重四极杆液质联用系统。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 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 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 三重四极杆 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，加毗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
涕灭威砜	1646-87-3
双特松	141-66-2
甲基磷酸二异丙酯 (DIMP)	1445-75-6
苯线磷砜	31972-44-8
苯线磷亚砜	31972-43-7
甲胺磷	10265-92-6
亚砜吸磷	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 种氘代内标物 [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 -亚砜吸磷
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极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 -亚砜吸磷	253→175	70	10
氘代 d_7 -喹啉	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
涕灭威亚砜	229	166	10	70	5	正离子模式
涕灭威亚砜	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
苯线磷砜	336	308	10	110	10	正离子模式
苯线磷砜	336	266	10	110	15	正离子模式
苯线磷亚砜	320	292	10	110	10	正离子模式
苯线磷亚砜	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
亚砜吸磷	269	191	10	110	5	正离子模式
亚砜吸磷	247	169	10	70	10	正离子模式
喹啉	130	103	10	110	25	正离子模式
喹啉	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砜在色谱图的前 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、苯线磷亚砜、苯线磷砜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砜（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，如苯线磷砜和久效威。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。喹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 三重四极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
涕灭威亚砜	5	1	2
甲基磷酸二异丙酯	10	10	20
双特松	10	10	20
苯线磷砜	5	5	10
苯线磷亚砜	5	5	10
甲胺磷	50	50	100
亚砜吸磷	5	5	10
喹啉	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）

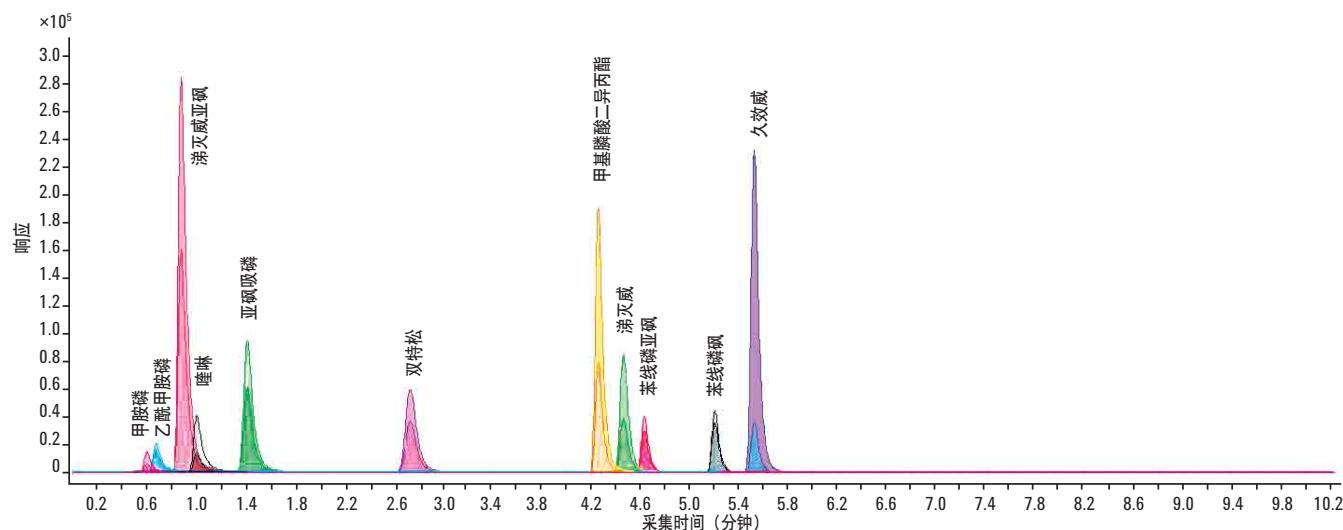


图 1. EPA 方法 538 中 11 种分析物的提取离子色谱图 (EIC)，采用超高效液相 (Agilent 1290 Infinity 液相系统) 进行分析

图 2 给出了直接进样方法分析喹啉和苯线磷砜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。

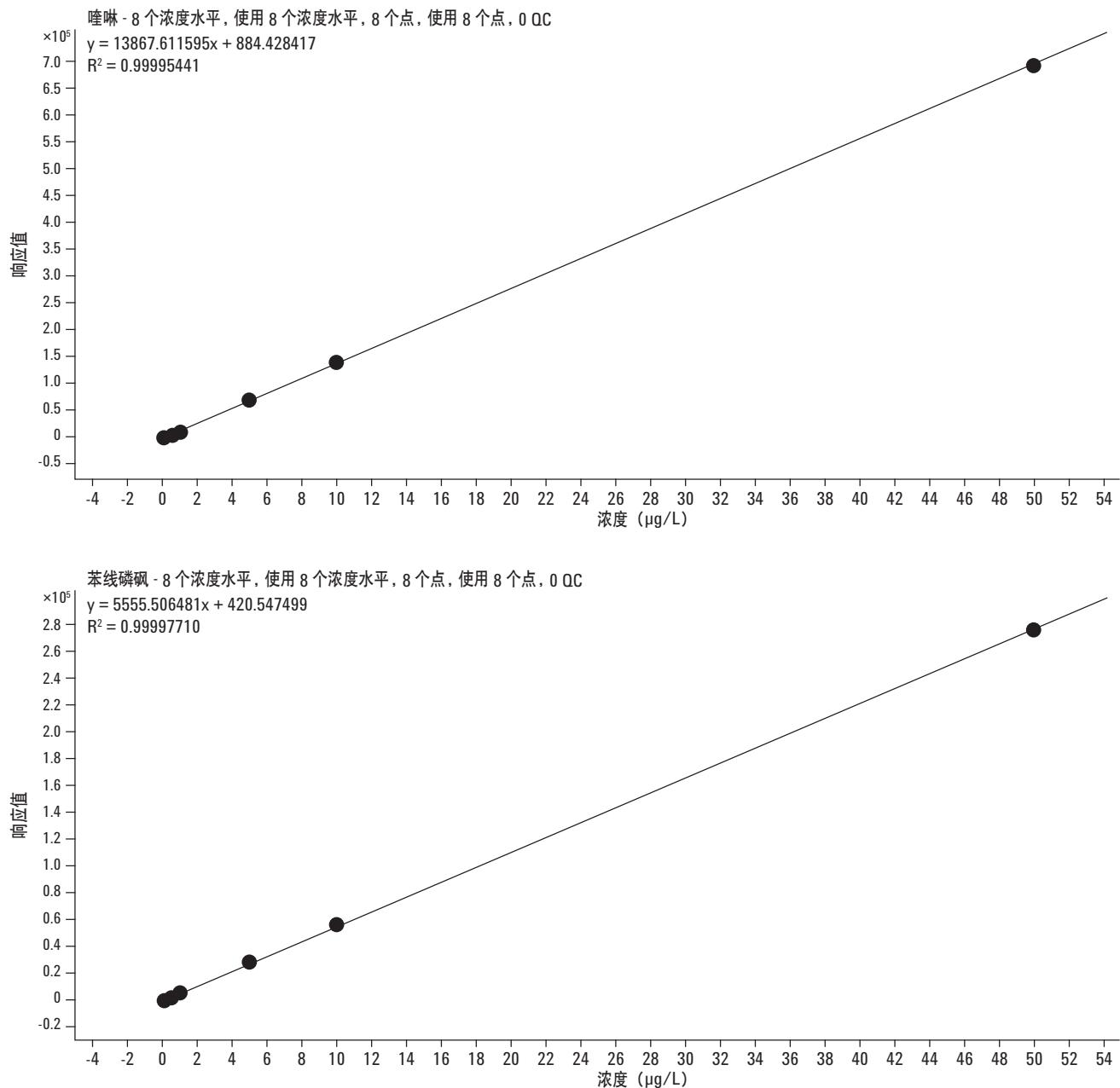


图 2. 喹啉和苯线磷砜的校准曲线

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。

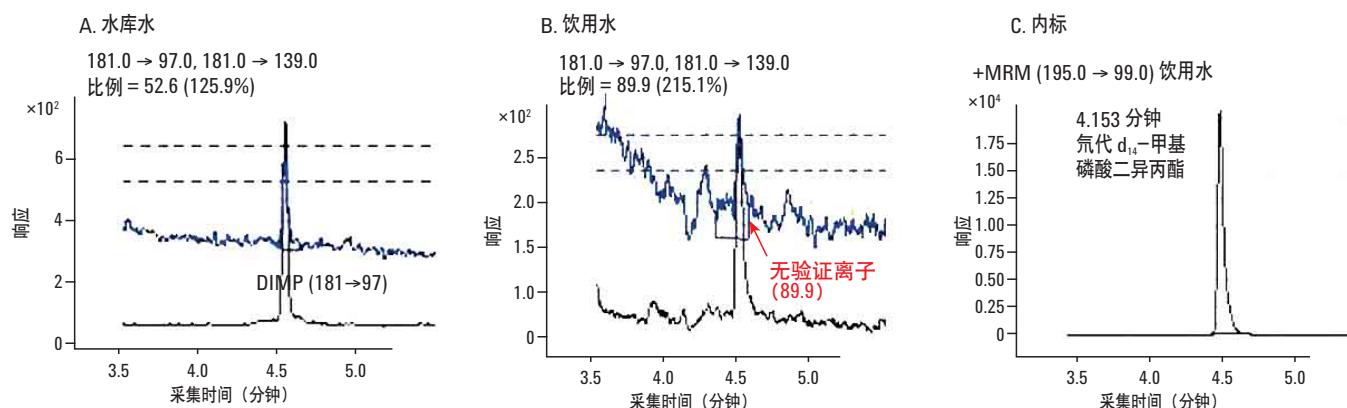


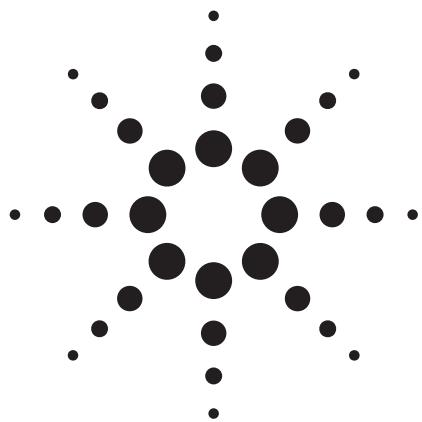
图 3. 采用改进的 538 方法检测未经处理水库水 (A) 和处理后饮用水 (B) 中的 DIMP。以 $181 \rightarrow 97$ 离子对作为定量离子, $181 \rightarrow 139$ 离子对作为定性离子来检测 DIMP。在饮用水的分析中, 未出现定性离子, 这使得定量离子与定性离子的比例很高, 意味着饮用水中不存在 DIMP。图中 C 为内标物——氟代 DIMP

结论

EPA 方法 538 在配备了喷射流技术的 Agilent 6460 三重四极杆 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.



采用具备喷射流技术的 Agilent 6460 LC/MS/MS 系统和超灵敏的 EPA 1694 方法 测定水中的药品和个人护理产品

应用简报 (5990-4605CHCN)

环境分析

作者

Imma Ferrer, E. Michael Thurman
Center for Environmental Mass
Spectrometry
University of Colorado
Boulder, CO
USA

Jerry Zweigenbaum
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19809-1610
USA

摘要

建立了一种采用 Agilent 6460 三重串联四极杆质谱（三重串联质谱）和喷射流技术筛查和确认水样中 84 种药物和 23 个标记的标准品共 107 个组分的分析方法。该法可用于 EPA 1694 规定的化合物和 14 种废水中普遍存在药物的检测。与 Agilent 6410A 三重串联四极杆质谱得到的结果相比，6460 的检测限降低 10 到 100 倍。同时，该方法采用 1.8 μm 粒径的色谱柱，可实现快速分离和分辨，从而获得与 EPA1694 方法相当或更好的分离效果。本方法中，根据不同药物的极性和提取方法，采用了 4 种不同的色谱梯度和液相条件。本文色谱条件实验表明，4 个梯度条件可统一为两个色谱条件，保证不降低测定的灵敏度和准确度，并且总分析时间可从 90 分钟减少到 30 分钟。用该方法分析处理过的废水，可鉴定出含量低至 1 ng/L 的 5 种不同药物。由于其卓越的灵敏度和检出限，这种新的喷射流技术成为一种用于水和废水中药物分析的非常有价值的新工具。

引言

过去 20 年来，对环境中新污染物的检测，一直是科学家们研究的重点。特别是在过去十年，药物成为一类备受关注的待测污染物。在医药和个人护理用品 (PPCPs) 领域，有一个 EPA 方法（尽管尚未广为人知）用于这些目标物的检测，即 2007 年 12 月公布的 EPA 1694 方法 [1]。标准的 EPA 方法流程中，将水样经过固相萃取 (SPE) 后采用串联质谱进行 LC/MS 分析，对每个化合物使用一对跃迁离子监测。最近我们出版的一个应用报告对 EPA 1694 方法进行了改进，对每个化合物使用两对跃迁离子进行监测，并将其作为标准分析方法，而且采用的所有安捷伦色谱柱都满足 EPA 指定的色谱条件 [2]。

本应用报告采用具有喷射流技术的 Agilent 6460 LC/MS 三重串联质谱介绍了针对 EPA 方法的最新安捷伦解决方案。用该方法分析的化合物数增加了 14 个，其中不仅包括在 EPA1694 方法包括的标准分析物（包括 74 种分析物中的 70 种 – 另外 4 个不适用），而且还包括 14 常见的药品和 23 种标记内标共 107 个化合物。尽管化合物数量增加了，但由于被分析物分类从 4 组减小到 2 组，色谱分析过程缩短了。此外，分析时间从 90 分钟缩短到不超过 30 分钟，同时对不同的被分析物灵敏度提高 10 至 100 倍。该方法是一个可普遍用于水中 PPCPs 分析的快速、灵敏的方法，同时可保持最高的分析标准以得到正确结果。

实验部分

样品制备

药物标准品购自 Sigma (美国)。各个药物标准品储备液（约 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）根据化合物溶解性用纯乙腈或甲醇配制， -18°C 保存。工作液由储备液用乙腈和水稀释。

废水样品采自博尔德克里克 (Boulder, CO) 的一个排污口，用 Oasis HLB 柱以改进的 EPA 方法提取。1 升水样不调 pH，直接上样到 500 mg 小柱，空气干燥 10 分钟后，用 8 mL 甲醇洗脱。将甲醇挥发至 1 mL，采用下述条件直接进行 LC/MS/MS 分析。将“空白”废水提取物作为基质匹配的标准品用于方法验证。将不同浓度药物混合物（从 0.1 至 500 ng/mL 或 ppb）加入上述废水提取物，随后进行 LC/MS/MS 分析。

采用喷射流技术的 Agilent 6460 的 LC/MS/MS 分析条件

被分析物分成几组（根据 EPA 样本提取方法），根据标准 EPA 分析方法，每组化合物的色谱分离条件如下。

第 1 组化合物的 LC 条件-酸性提取，电喷雾正离子模式 (ESI +) 仪器条件

色谱柱:	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C-18 窄径柱, 100 mm \times 2.1 mm, 3.5 μm , p/n 959793-902
柱温:	25 $^\circ\text{C}$
流动相:	含 0.1% 甲酸的 10% 乙腈 和 90% H_2O
流速:	0.2–0.3 mL/min
梯度条件:	$t_0 = 10\%$ 乙腈, 0.2 mL/min $t_5 = 10\%$ 乙腈, 0.2 mL/min $t_6 = 10\%$ 乙腈, 0.3 mL/min $t_{24} = 60\%$ 乙腈, 0.3 mL/min $t_{30} = 100\%$ 乙腈
进样量:	15 μL

第 2 组化合物的 LC 条件

酸性提取, 电喷雾正离子模式 (ESI +) 仪器条件

色谱柱:	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C-18 窄径柱, 100 mm × 2.1 mm (3.5 μ m)
柱温:	25 °C
流动相:	10% 含 0.1% 甲酸的乙腈和 90% H ₂ O
流速:	0.2 mL/min
梯度条件:	$t_0 = 10\%$ 乙腈 $t_{10} = 10\%$ 乙腈 $t_{30} = 100\%$ 乙腈
进样量:	15 μ L

第 3 组化合物的 LC 条件

酸性提取, 电喷雾负离子模式 (ESI -) 仪器条件

色谱柱:	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C-18 窄径柱, 100 mm × 2.1 mm (3.5 μ m)
柱温:	25 °C
流动相:	含 0.1% 甲酸铵 (pH 5.5) 的 40% 甲醇 和 60% H ₂ O
流速:	0.2 mL/min
梯度条件:	$t_0 = 40\%$ 甲醇 $t_{0.5} = 40\%$ 甲醇 $t_7 = 100\%$ 甲醇
进样量:	15 μ L

第 4 组化合物的 LC 条件

碱性提取, 电喷雾正离子模式 (ESI +) 仪器条件

色谱柱:	Agilent ZORBAX Eclipse HILIC Plus 窄径柱, 100 mm × 2.1 mm (3.5 μ m), p/n 959793-901
柱温:	25 °C
流动相:	含 10 mM 乙酸铵 (pH 6.5) 的 95% 乙腈 和 5% H ₂ O
流速:	0.25 mL/min
梯度条件:	$t_0 = 95\%$ 乙腈 $t_5 = 70\%$ 乙腈 $t_{15} = 70\%$ 乙腈
进样量:	15 μ L

第 5 组化合物的 LC 条件

EPA 1694 方法中未涉及的废水中广泛存在的其它化合物, 电喷雾正离子模式 (ESI +) 仪器条件。其它条件同第 1 组化合物。

Agilent 6460 LC/MS/MS 喷射流条件

载气温度:	250 °C
载气流速:	8 L/min
喷雾器:	35 psi
鞘气温度:	300 °C
鞘气流速:	10 L/min
V_{cap} :	4000 V
喷嘴电压:	0
Delta EMV:	400 V

结果与讨论

LC/MS/MS 条件优化

用三重串联四极杆进行 LC/MS 方法开发通常包括两个部分。第一步是优化每个被测药物分子的裂解电压, 确保母离子的信号最大。一般使用质子化分子作为母离子。各个化合物分别用自动程序分析 (安捷伦优化软件), 以检查不同电压时的裂解器。该数据可用作最佳裂解电压, 继续优化各个化合物的裂解电压确定定性和定量离子的碰撞能量。这些优化由软件自动完成。碰撞能量在 5 V 到 45 V 之间变化。对每个离子的碰撞能量进行优化, 选择灵敏度最高的电压进行后续分析。表 1A 到 1E 列出了 EPA 1694 方法分析的 PPCPs 名单中的化合物和另外 18 个化合物以及内标, 同时给出了本研究中使用的优化 MRM 条件。

表 1A. 用于第 1 组药物分析的 MRM Transition 和 MS 参数。黑体是同位素标记标准品。

化合物	裂解电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量 (eV)
对乙酰氨基酚	90	152 > 110 152 > 65	15 35
¹³C₂-¹⁵N-乙酰氨基酚	90	155 > 111 155 > 93	15 25
氨苄青霉素	70	350 > 160 350 > 106	10 15
¹³C₃-莠去津	120	219 > 177 219 > 98	15 25
阿奇霉素	130	749.5 > 591.4 749.5 > 158	30 35
咖啡因	110	195 > 138 195 > 110	15 25
¹³C₃-咖啡因	110	198 > 140 198 > 112	15 25
卡巴	80	263 > 231 263 > 130	5 35
卡马西平	110	237 > 194 237 > 179	15 35
卡马西平-d10	110	247 > 204 247 > 202	15 35
头孢噻肟	90	456 > 396 456 > 324	5 5
环丙沙星	110	332 > 314 332 > 231	20 35
¹³C₃-¹⁵N-环丙沙星	110	336 > 318 336 > 235	15 35
克拉霉素	110	748.5 > 158 748.5 > 590	25 15
氯唑西林	90	436 > 160 436 > 277	15 15
可待因	154	300 > 165 300 > 215	41 21
可待因-d3	162	303 > 165 303 > 61	45 25
可铁宁	90	177 > 98 177 > 80	25 25
可铁宁-d3	90	180 > 80 180 > 101	25 25
脱氢硝本地平	130	345 > 284 345 > 268	25 25
洋地黄毒苷	90	391 > 355 391 > 337	15 15
地高辛		无响应, 钠加合物	
地尔硫	130	415 > 178 415 > 150	25 25

(续)

化合物	裂解电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量 (eV)
1,7-二甲[基]黄嘌呤	90	181 > 124 181 > 99	15 15
苯海拉明	70	256 > 167 256 > 152	15 35
恩诺沙星	130	360 > 316 360 > 342	15 15
红霉素	90	734.5 > 158 734.5 > 576	35 15
¹³C₂-红霉素	90	736.5 > 160 736.5 > 578	25 15
红霉素无水	90	716.5 > 158 716.5 > 116	25 25
氟甲喹	90	262 > 174 262 > 244	35 15
氟西汀	90	310 > 148	5
氟西汀-d6	90	316 > 154	5
林可霉素	110	407 > 126 407 > 359	25 15
洛美沙星	130	352 > 308 352 > 265	15 25
咪康唑	90	415 > 159 415 > 69	35 25
诺氟沙星	70	320 > 302 320 > 276	15 15
氧氟沙星	110	362 > 318 362 > 261	15 25
苯唑	70	402 > 160 402 > 243	15 5
恶唑酸	90	262 > 244 262 > 216	15 25
青霉素 G	90	335 > 160 335 > 176	5 5
青霉素 V	70	351 > 160 351 > 114	5 25
罗红霉素	130	837.5 > 679 837.5 > 158	15 35
沙拉沙星	130	386 > 299 386 > 368	25 25
磺胺氯哒嗪	90	285 > 156 285 > 92	10 25
磺胺嘧啶	110	251 > 156 251 > 92	15 25
磺胺间	80	311 > 156 311 > 92	20 35
磺胺甲基嘧啶	110	265 > 156 265 > 92	15 25
磺胺二甲嘧啶	90	279 > 156 279 > 186	15 15

(续)

化合物	裂解电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量 (eV)
¹³ C ₆ -磺胺二甲嘧啶	90	285 > 186 285 > 162	25 25
磺胺甲二唑	80	271 > 156 271 > 92	10 25
磺胺甲基异恶唑	110	254 > 156 254 > 92	15 25
¹³ C ₆ -磺胺甲基异恶唑	110	260 > 162 260 > 98	15 25
磺胺	70	173 > 156 173 > 92	5 15
磺胺噻唑	108	256>156 256>92	9 21
噻菌灵	130	202 > 175 202 > 131	25 35
甲氧苄	110	291 > 230 291 > 261	25 25
¹³ C ₃ -甲氧	110	294 > 233 294 >264	25 25
泰乐菌素	110	916.5 > 174 916.5 > 772	35 35
维及霉素	110	526 > 508 526 > 355	5 15

表 1B. 用于第 2 组药物分析的 MRM Transition 和 MS 参数。

化合物	裂解电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量 (eV)
脱水氯四环素	122	461 > 444 461 > 410	13 13
无水四环素	90	427 > 410 427 > 154	15 25
金霉素	110	479 > 462 479 > 197	15 35
美环素	130	465 > 430 465 > 448	25 15
强力霉素	110	445 > 428 445 > 154	15 25
4-差向脱水氯四环素	134	461 > 444 461 > 426	13 13
4-差向脱水四环素 (EATC)	90	427 > 410 427 > 105	15 35
4-差向氯四环素	134	479 > 462 479 > 197	17 17
4-差向土霉素	130	461 > 444 461 > 426	13 17
4-差向四环素 (ETC)	110	445 > 410 445 > 427	15 5
异氯四环素	138	479 > 462 479 > 252	17 45
氯甲烯土霉素	110	477 > 460	15
米诺环素	90	458 > 441	15
四环素 (技术)	110	445 > 410 445 > 427	15 5

表 1C. 用于第 3 组药物分析的 MRM Transition 和 MS 参数。

化合物	裂解电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量 (eV)
吉非罗齐	100	249 > 121	5
吉非罗齐-d6	100	255 > 121	5
布洛芬	75	205 > 161	5
¹³ C ₃ -布洛芬	75	208 > 163	5
萘普生	75	229 > 169 229 > 170	25 5
¹³ C-萘普生-d3	75	233 > 169 233 > 170	25 5
康洁	100	313 > 160 313 > 126	10 25
¹³ C ₆ -康洁	90	319 > 160 319 > 132	5 25
三氯生	75	287 > 35	5
¹³ C ₁₂ -三氯生	75	299 > 35	5
华法林	125	307 > 117 307 > 161	35 15
华法林-d5	90	312 > 161 312 > 255	15 25

表 1D. 用于第 4 组药物分析的 MRM Transition 和 MS 参数。

化合物	裂解电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量 (eV)
沙丁胺醇 (舒喘灵)	90	240 > 148 240 > 166	15 5
西咪替丁	100	253 > 159 253 > 95	10 25
二甲双胍	80	130 > 60 130 > 71	10 25
雷尼替丁	110	315 > 176 315 > 130	15 25

表 1E. 用于方法中其它常见药物被测物 – 第 5 组药物分析的 MRM Transition 和 MS 参数。

化合物	裂解电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量 (eV)
安非他明	70	136 > 91 136 > 119	13 5
安非他明-d5	74	141 > 93 141 > 124	13 5
阿替洛尔	134	267 > 145 267 > 190	21 13
可乐定	150	230 > 44 230 > 213	25 21
右美沙芬	152	272 > 171 272 > 147	41 29
地西洋	162	285 > 154 285 > 193	25 33
安定-d5	162	290 > 198 290 > 154	33 25
双氯芬酸	83 83	294 > 250 294 > 214	5 21
呋塞米	95 95	329 > 285 329 > 205	13 21
氢可酮	158	300 > 199 300 > 171	29 41
氢可酮-d6	166	306 > 202 306 > 174	29 41
安宁片	70	219 > 158 219 > 55	5 20
美托洛尔	136	268 > 116 268 > 56	13 29
去甲安定	158	271 > 140 271 > 165	25 25
羟考酮	134	316 > 298 316 > 241	13 25
羟考酮-d6	134	322 > 304 322 > 247	13 29
普萘洛尔	122	260 > 116 260 > 56	13 29
舍曲林	88	306 > 159 306 > 275	25 5
¹³C₆-2,4,5-三氯苯氧乙酸	110	259 > 201 259 > 165	5 25

每组化合物分别进行色谱分离，每个 MRM Transition 的驻留时间为 10 ms。图 1A 到 1D 为标准品柱上浓度为 100 ppb 时所有被分析药物的色谱图。每组中各个目标化合物根据各自的 MRM 离子对的分子离子和子离子的提取离子流色谱图叠加在一起。

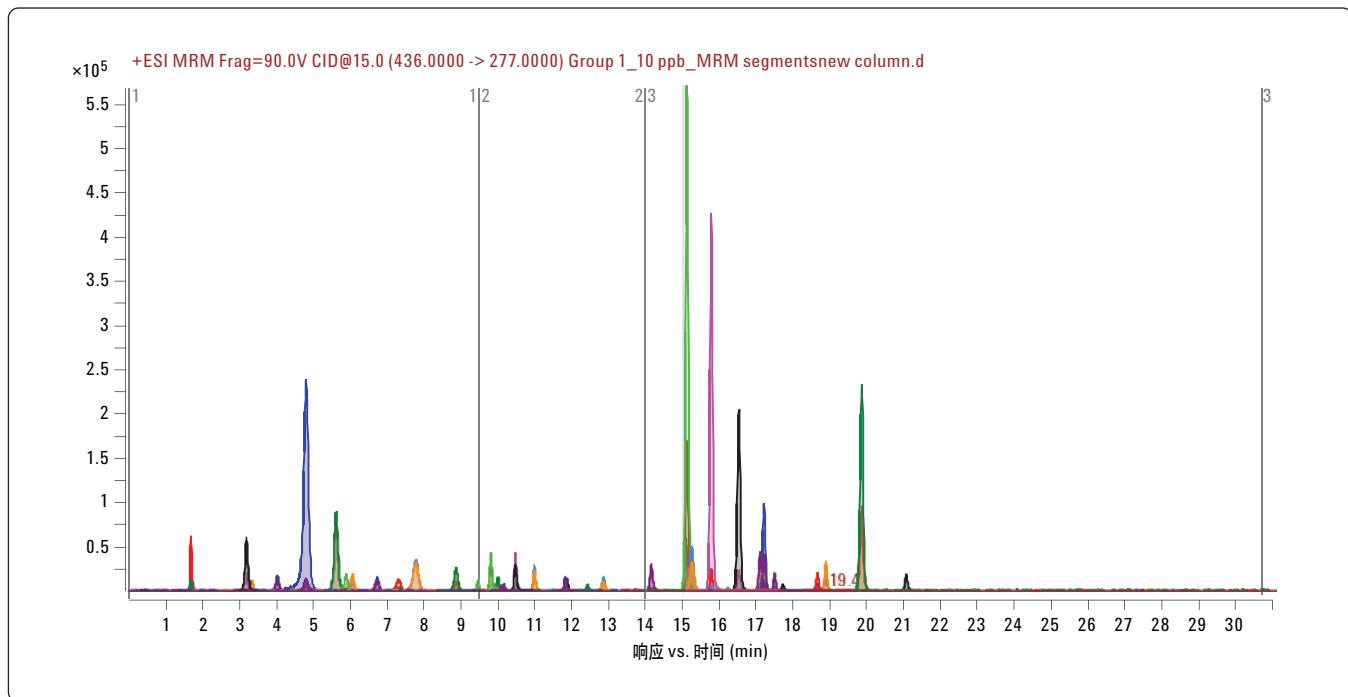


图 1A. 第 1 组药物的 MRM 的提取离子流色谱图。该分析过程使用了三个时间段，采用了粒径为 $1.8 \mu\text{m}$ 的色谱柱和安捷伦喷射流技术。浓度均为 10 ppb 。

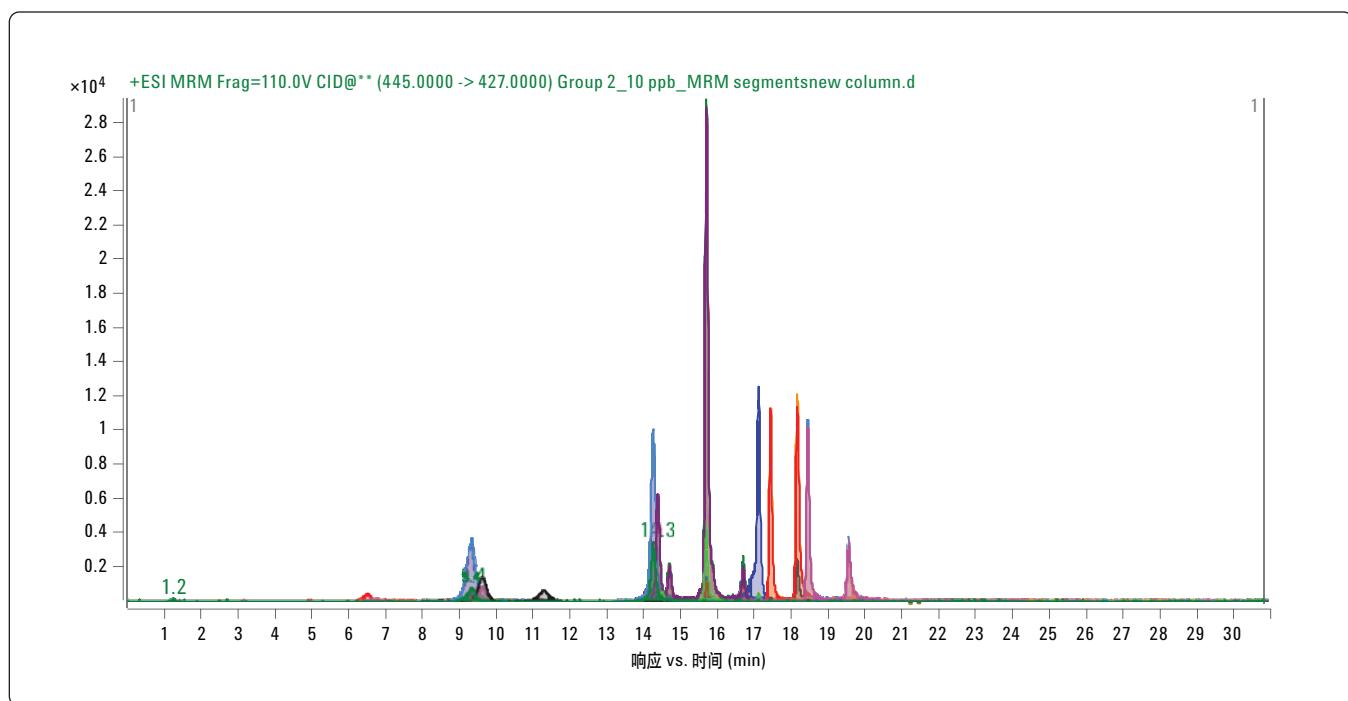


图 1B. 浓度为 10 ppb 的第 2 组药物的 MRM 提取离子流色谱图

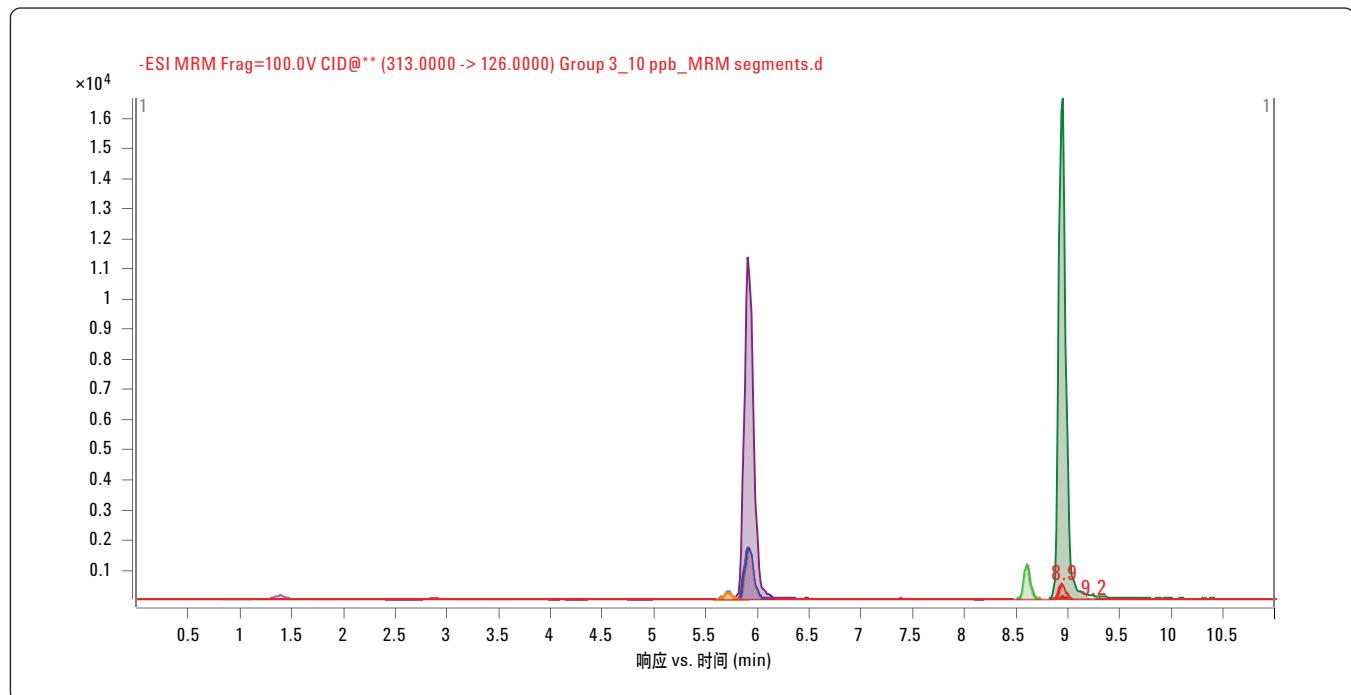


图 1C. 浓度为 10 ppb 的第 3 组药物的 MRM 提取离子流色谱图

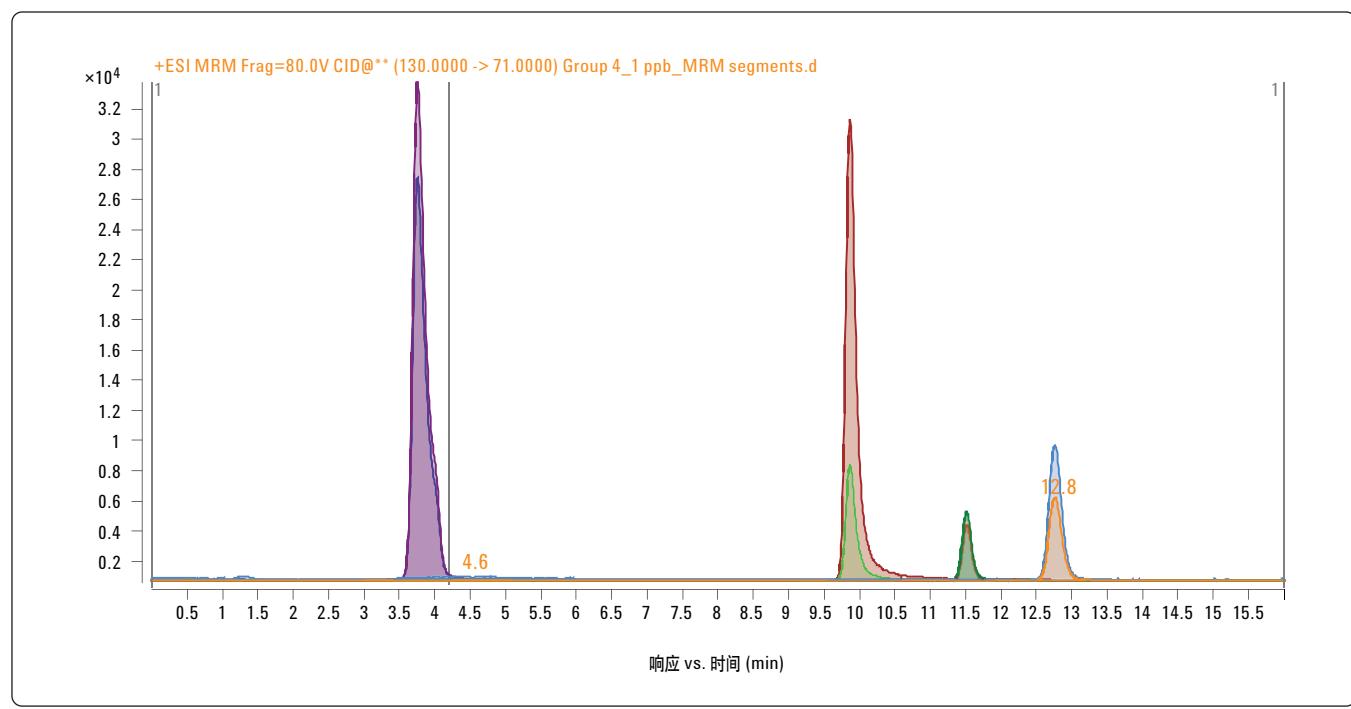


图 1D. 浓度为 1 ppb 的第 4 组药物的 MRM 提取离子流色谱图

简化 EPA 1694 方法

EPA 1694 方法中的化合物分为 4 组，需要进行 4 次分析，总共耗时大约 90 分钟。因此，本应用报告有两个目标，一个是简化色谱分析为 2 个组并尽量缩短分析时间，另一个是最大限度的提高灵敏度。为实现这个目标，方法需进行下列改变：首先将第 1, 2, 4 和 5 组（第 5 组为其它常见的 14 个分析物）合并为一次色谱分离，采用 $1.8 \mu\text{m}$ Eclipse-C18 色谱柱，使 EPA 方法中的目标化合物和 14 个 5 组中的 PPCPs 均可实现很好的分离。这样这 35 个化合物和内标就组成了新的组 I。这些化合物可以采用正离子模式在 20 分钟内完成分析。第二组（组 II）由 6 个被分析物和内标组

成，可以采用负离子模式在 10 分钟内完成分析。虽然可以把这两组结合起来，同时进行正、负离子切换分析，但不建议采用这种方法。因为进行正、负切换的分析方法要使用相同的流动相（0.1% 甲酸的水溶液/乙腈），这会降低负离子模式的灵敏度。因此，我们建议分两次进行分析，其中利用快速色谱进行原第 3 组的负离子模式分析。这样，总的分析时间由 90 分钟缩短至 30 分钟，分析速度快了 3 倍，但不损失灵敏度和检测的可靠性，同时被分析物数量增加了约 25%。

图 2A 和 2B 为新的组 I 和组 II 采用 $1.8 \mu\text{m}$ 色谱柱的色谱图，组 I 的峰容量增加同时组 II 实现了快速分离。

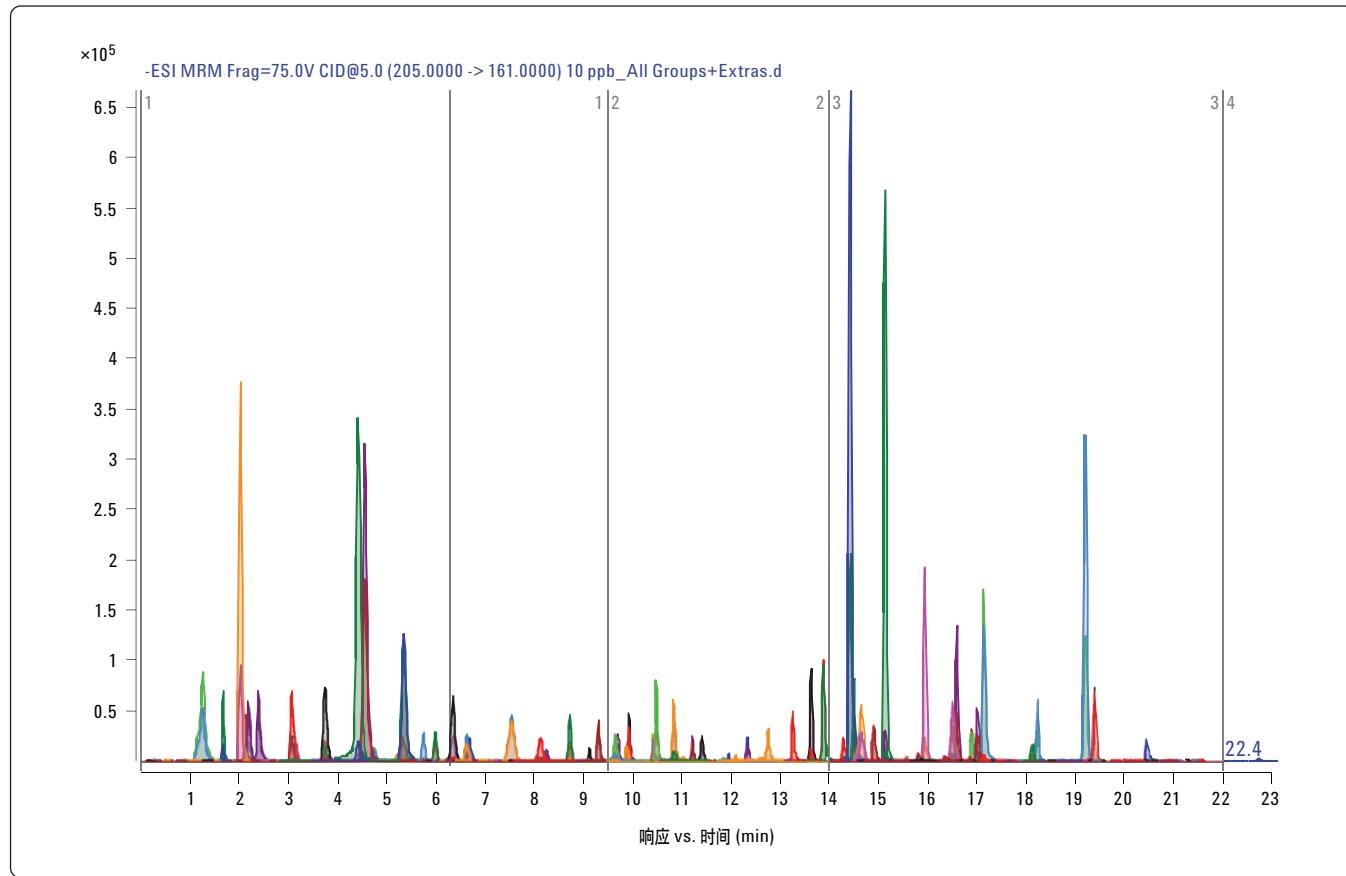


图 2A. 正离子模式分离新组 I 中的被分析物。其中包括原来的 EPA 1694 方法中的组 1, 2, 4 和其它 14 个常见的药物，包括内标共 85 个化合物。

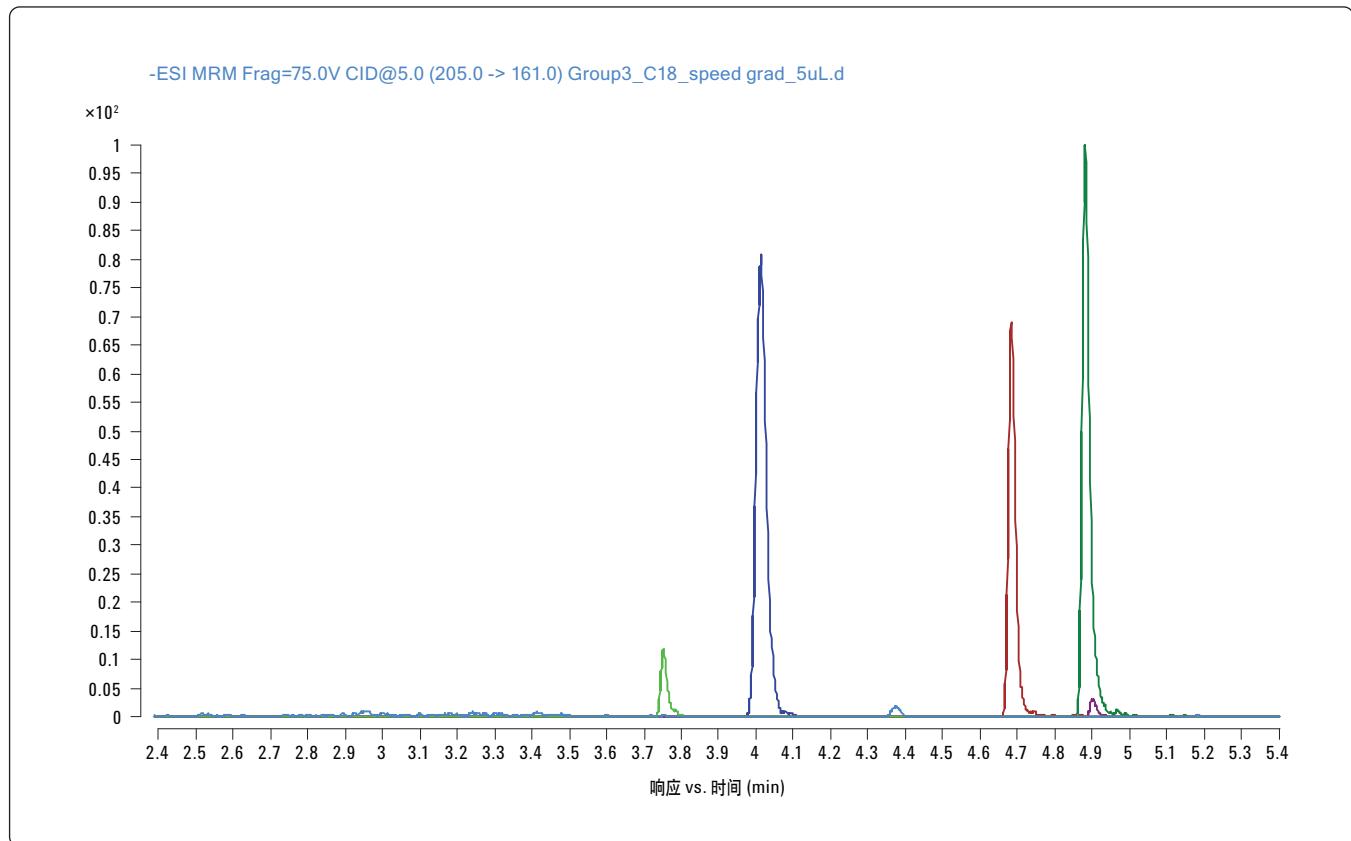
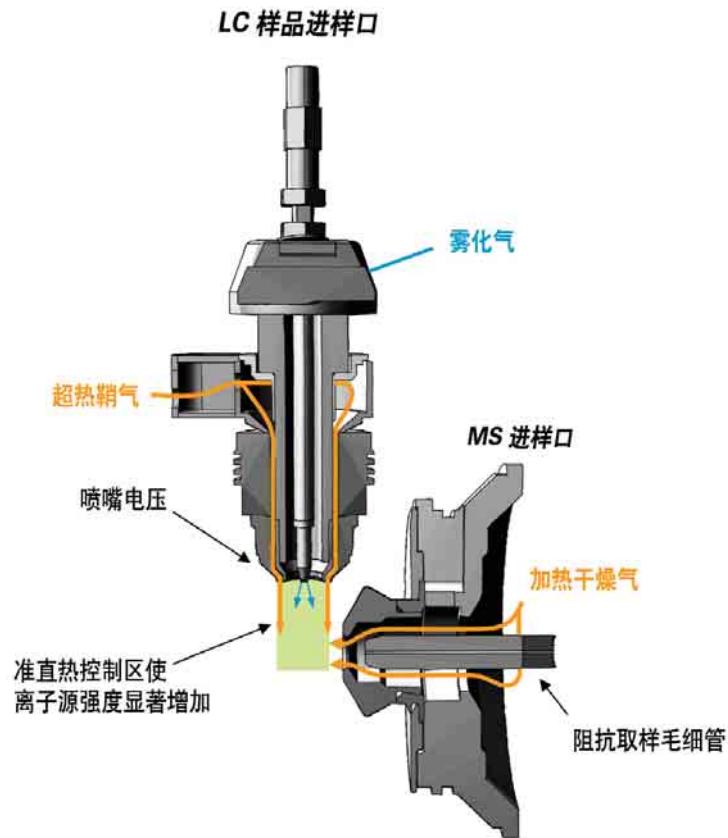


图 2B. 负离子模式采用 1.8 μm 色谱柱 6 分钟内实现新组 II 中被分析物的快速分析色谱

此外，我们比较了采用新安捷伦喷射流技术后可能带来的灵敏度的增加和检测限 (LODs) 的降低。安捷伦喷射流使用鞘气来增加直接进入质谱离子源的离子数。通过热梯度聚焦增加被分析物离子化和捕获，采用超热氮气鞘气增加电喷雾脱溶剂效率并减小背景离子。图 3 为喷射流技术工作原理。



安捷伦喷射流热梯度聚焦技术使更多离子进入质谱，同时降低了中性溶剂簇数量。这样，信号更强，检出限 RSDs 更低。

图 3. 喷射流技术的工作原理

喷射流技术使得进入质谱仪第一八极杆透镜的离子数增加了 5 至 10 倍，灵敏度明显增加。这也与各个被分析物的性质有关。例如，每个分析物都有各自的离子化效率，这与表面活性效应、接受或给出质子的能力以及在 4000v 电喷雾电压的喷射流中的稳定性有关。这些效应一起增加了灵敏度，降低了 PPCP 被分析物的检出限。我们用两台仪器，6410A 三重串联四级杆和 6460 三重串联四级杆，分别测试了 70 个化合物，数据列于表 2，分组方式与 EPA 中的相同（1 到 4 组）。这些化合物未经浓缩直接进样。

表 2. 根据 EPA 1694 方法进行 PPCPs 分组样品的分析。给出了两种三重串联四极杆质谱, 6410A 和具有喷射流技术的 6460A 的分析结果 (注: 表中加入 4 个甲酯类化合物作为标准解决方案的组成化合物, 不属于官方 EPA 1694 方法公布的范围。)

化合物	采用喷射流技术 6460 的检测限 ($\mu\text{g/L}$)	检测限 6410 ($\mu\text{g/L}$)	增加检测限 (倍)
对乙酰氨基酚	0.06	2.0	33
氨苄青霉素	0.6	8.0	13
阿奇霉素	6.0	120	20
咖啡因	0.5	10	20
卡巴	0.3	10	33
卡马西平	0.06	3.0	50
头孢噻肟	2	60	30
环丙沙星	0.5	20	40
克拉霉素	0.1	10	100
氯唑西林	3.0	10	3
氯唑西林甲酯	3.0	10	3
可待因	0.3	30	100
可铁宁	0.05	1.0	20
脱氢硝苯地平	0.03	3.0	100
洋地黄毒苷	0.4	4.0	10
地尔硫	0.1	1.0	10
1,7-二甲[基]黄嘌呤	0.6	6.0	10
海拉明	0.05	0.4	8
恩诺沙星	0.3	7.0	23
红霉素	0.3	50	150
红霉素无水	0.3	50	150
氟甲喹	0.05	4.0	80
氟西汀	0.4	8.0	20
林可霉素	0.05	3.0	60
洛美沙星	0.4	5.0	12
咪康唑	0.5	7.0	14
诺氟沙星	1.0	20	20
氧氟沙星	0.4	7.0	17
氧氟沙星甲酯	0.4	7.0	17
苯唑西林			
恶唑酸	0.03	3.0	100
青霉素 G	1.0	5.0	5
青霉素 G 甲酯	1.0	5.0	5
青霉素 V	1.0	5.0	5
青霉素 V 甲酯	1.0	5.0	5
罗红霉素	0.5	40	80
沙拉沙星	0.5	8.0	16
磺胺氯哒嗪	0.2	5.0	25

(续)

化合物	采用喷射流技术 6460 的检测限 (μg/L)	检测限 6410 (μg/L)	增加检测限 (倍)
磺胺嘧啶	0.5	10	20
磺胺间	0.05	3.0	60
磺胺甲基嘧啶	0.1	6.0	60
磺胺二甲嘧啶	0.3	7.0	23
磺胺甲二唑	0.3	5.0	16
磺胺甲基异恶唑	0.2	5.0	25
磺胺	4.0	50	12
磺胺噻唑	0.4	8.0	20
噻菌灵	0.05	7.0	140
甲氧苄	0.5	5.0	10
泰乐菌素	6.0	100	16
维吉尼亚霉素	0.4	10	25

第 2 组化合物

化合物	采用喷射流技术 6460 的检测限 (μg/L)	检测限 6410 (μg/L)	增加检测限 (倍)
脱水氯四环素	5.0	50	10
无水四环素	1.0	50	50
金霉素	0.5	10	20
美环素	4.0	100	25
强力霉素	1.0	60	60
4-差向脱水氯四环素	5.0	30	6
4-差向脱水四环素	0.5	30	60
4-差向金霉素	1.0	80	80
4-差向土霉素	5.0	100	20
4-差向四环素	1.0	50	50
异氯四环素	5.0	10	2
氯甲烯土霉素	5.0	50	10
米诺环素	20	100	5
四环素	0.8	60	75

第 3 组化合物

化合物	采用喷射流技术 6460 的检测限 (μg/L)	检测限 6410 (μg/L)	增加检测限 (倍)
吉非罗齐	0.1	0.1	1
异丁苯丙酸	7.0	7.0	1
萘普生	1.0	1.0	1
康洁	0.1	0.5	0.2
三氯生	1.0	1.0	1
华法林	0.1	0.1	1

第 4 组化合物

化合物	采用喷射流技术 6460 的检测限 (μg/L)		增加检测限 (倍)	检测限 6410 (μg/L)
	0.02	0.05		
沙丁胺醇	0.02	0.05	2	0.05
西咪替丁	0.01	0.1	10	0.1
二甲双胍	0.05	0.1	2	0.1
雷尼替丁	0.05	0.5	10	0.5

结果表明，采用安捷伦喷射流技术后 PPCPs 类化合物检测的灵敏度至少提高 10 倍，许多化合物灵敏度提高 20 至 30 倍。EPA 1694 方法中的大部分 PPCPs 类化合物的检出限为 ng/L 或 ppt 浓度范围（大约为 70 个化合物中的 50 个，或 71%）。低检测限使得直接采用 EPA 方法将 1L 水样浓缩到 1mL，对其中 ng/L 或更低浓度水平的 EPA 1694 方法中大部分 PPCPs 化合物的日常监测成为可能。

废水分析

为了确认该方法用于实际样品检测的适用性，采用废水基质（采自一个废水排污口）进行了八个浓度水平加标分析（0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 和 500 ng/mL 或 ppb 浓度水平）。图 4 是废水基质的磺胺标准曲线。一般来说，所有化合物都具有卓越的检测灵敏度，线性范围可达 3 个数量级，R² 值不小于 0.99。

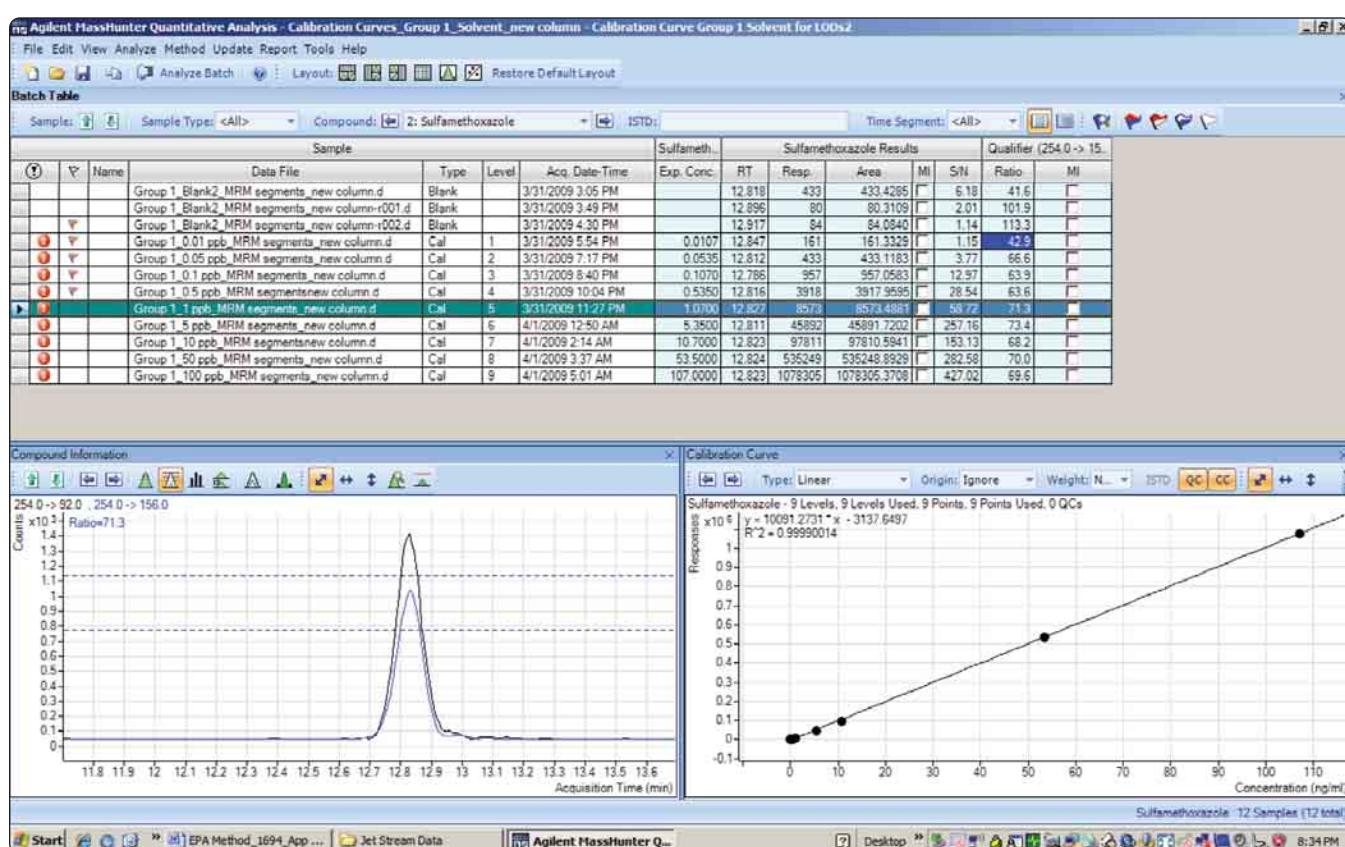


图 4. 磺胺在废水基质中从 0.1 到 100 ng/mL (ppb) 范围内六个浓度点未经处理直接进行线性拟合的标准曲线。注意软件如何在合适范围内显示离子率。

最后, 对“非加标”污水样本进行了分析, 其中的 5 种药物: 卡马西平, 可铁宁, 苯海拉明, 噻菌灵和甲氧苄啶分别通过两个 MRM Transition 分析得到了确认。图 5 显示了废水提取物中其中两个化合物的定性和定量离子率。正如在图 5 中看到的两个离子谱, 这两种药物依靠 MRM Transition 的选择性和仪器的高灵敏度很容易地从复杂基质中鉴定出来。

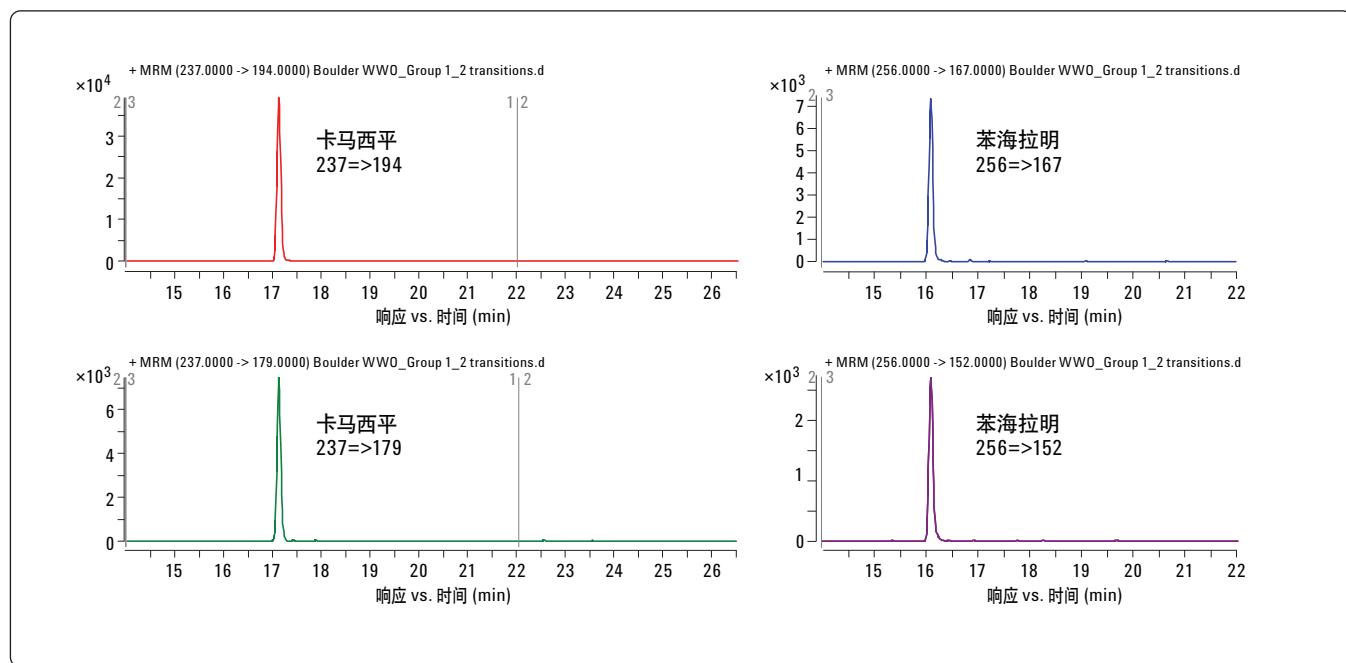


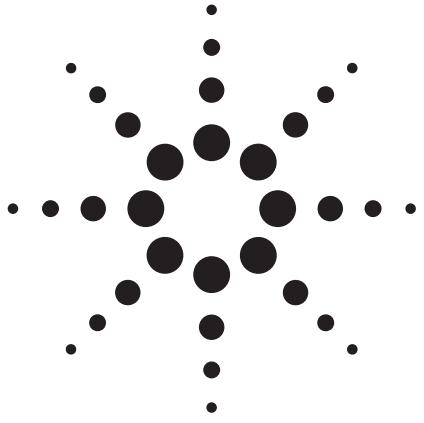
图 5. 废水样品中卡马西平和苯海拉明使用 2 个 MRM Transition 的色谱图。

结论

本研究结果表明，进行水中药物分析时，Agilent 6410 和 6460 三重四极杆质谱仪是可以用于高通量方法的强大的、灵敏的和可重复的仪器。采用喷射流技术可使 PPCPs 类化合物的检测灵敏度提高 10 至 20 倍。这样，就可将废水由 1 L 浓缩至 1 mL，检测 ng/L 或 ppt，甚至更低浓度水平的 EPA 1694 方法中列出的化合物的日常分析。同时，将 MRM 方法和快速分离结合起来可加快 EPA 1694 方法中药物分析的速度，从原来的 90 分钟减少到约 30 分钟。最后，加入了 18 个常见药物和内标使该方法可分析的总化合物个数达到了 107 个。

参考文献

1. EPA Method 1694: Pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS, December 2007, EPA-821-R-08-002.
2. Ferrer, I., Thurman, E.M., Zweigenbaum, J.A., 2008, Application Note 5989-9665EN, EPA Method 1694: Agilent's 6410A solution LC/MS/MS solution for pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS.



安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪用于亲脂性海洋贝类毒素的高灵敏度可靠分析

应用简报(5990-6377CHCN)

环境, 食品安全

作者

Oliver Keuth
Chemical and Veterinary Analytical
Institute Muensterland-Emscher-Lippe,
Muenster, Germany

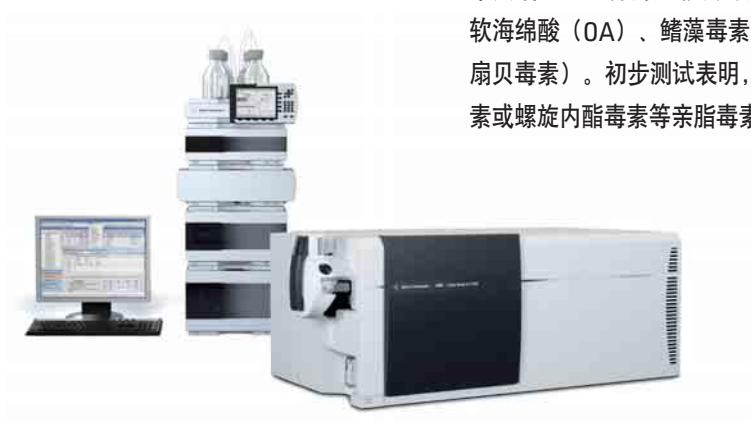
Thomas Glauner
Agilent Technologies,
Waldbonn, Germany

摘要

海洋生物毒素正在世界各个地方日益威胁着人类的健康。毒素是由几类微观浮游藻类生成的, 其浓度很低, 但可以在双壳贝类中累积并达到毒性剂量。食用受污染的贝类或鱼类可导致人体中毒, 甚至死亡。在动物和人类中, 根据症状划分出了四类公认的贝毒: 腹泻性贝毒 (DSP) 、麻痹性贝毒 (PSP) 、神经性贝毒 (NSP) 、记忆缺失性贝毒 (ASP) 。

小白鼠生物法 (MBA) 是用于监测亲脂性生物毒素的欧盟官方标准的参考方法 [委员会法规 (EC) 第 2074/2005 号]。最近, 欧洲食品安全局 (EFSA) 认为, 由于小白鼠生物法 (MBA) 的高变异性、低检测能力和有限的特异性, 使得这个方法不能满足要求 (EFSA 杂志, 2009, 1306, 1-1)。因此需要一个具体的、能够替代低检测限 (LOD) 的方法来用于海洋生物毒素的检测。

本文描述了一种高灵敏度的液相色谱-串联质谱方法来测定亲脂性的海洋毒素, 包括大田软海绵酸 (OA) 、鳍藻毒素 (DTX 毒素) 、聚醚类毒素 (如原多甲藻酸, 蛤毒素和虾夷扇贝毒素) 。初步测试表明, 若能找到标准物质, 这种方法也适用于软骨藻酸、环亚胺毒素或螺旋内酯毒素等亲脂毒素的进一步检测。



前言

海洋生物毒素是海洋植物藻类产生的次生代谢物，其浓度一般很低。在藻类生长时，毒素的浓度可以达到有毒水平，特别是双壳类软体动物中毒素的积累。在过去的二十年中，有害藻类大量繁殖，其数量和强度都日益增加，大量的有毒化合物在海洋食物链中被发现 [海洋生物毒素。粮农组织食品和营养文件 (80) 2004]。由于欧盟现有的官方的标准方法中，小白鼠生物法的高变异性、低检测能力和有限的特异性，欧洲食品安全局 (EFSA) 要求需要开发出更灵敏、更可靠的方法，用于脂性海洋生物毒素的测定。

您面对的挑战

目前的挑战是需要寻找灵敏和可靠的分析方法用于海产品中亲脂性的海洋毒素的测定，这些海洋毒素包括大田软海绵酸 (OA)、鳍藻毒素 (DSP 毒素)、聚醚类毒素 (如原多甲藻酸、蛤毒素和虾夷扇贝毒素)。这种方法应该能够扩展到亲脂毒素 (如软骨藻酸、环亚胺毒素或螺旋内酯毒素) 的进一步检测。欧盟立法规定检测限 (LOD) 应该低于原多甲藻酸、大田软海绵酸和鳍藻毒素和蛤毒素的总和以及

虾夷扇贝毒素的最大残留限量 (MRL)。基质使得痕量毒素的定量和确认分析更加复杂。由于很多标准品很难得到，所以只能根据其它的毒素进行定量分析。

我们的综合方法

当前，海洋生物毒素的分析方法主要是基于物理化学技术，如液相色谱-串联质谱。三重四极杆质谱能大幅减少或消除基质的干扰。多反应监测 (MRM) 是根据待测物的母离子在碰撞反应池产生特征离子，然后采集这些特征离子来完成检测。而且，待测物母离子 (MS1 设置成选择离子扫描模式) 与单四极杆质谱的选择离子扫描的选择性相同，生成的子离子 (MS2 的选择离子扫描模式) 更有可能成为目标化合物的特征离子，这样的模式能够大大提高 MRM 的选择性。特征的子离子组合 (更高的选择性) 和背景噪音的消除使得即使在复杂基质样品中也能得到更低的检测限。本文的方法中，使用安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪和多反应监测 (MRM)、安捷伦 1200 SL 快速高分离液相色谱以及 MassHunter 工作站软件，建立了贝类样品中亲脂性海洋生物毒素的高灵敏度和高选择性的分析方法。本文介绍的样品净化方法非常简单，因此很适合常规检测。它可以

用于 OA、DTX-1、DTX-2 的分析，包括水解后的脂、YTX、OH-YTX、PTX-1、PTX-2、AZA-1、AZA-2 和 AZA-3。由于缺少某些商品化的毒素标样，因此使用 *CopyCalibration Level.quant.script* 对其它的毒素化合物进行定量分析。

方法和运行

用于海洋生物毒素的现代分析方法是基于三重四极杆液质联用系统的技术。样品前处理很简单，只需要用溶液提取，然后过滤。液相色谱进行毒素的分离，然后用液相色谱-电喷雾离子源-串联质谱 (MRM 正/负模式) 进行待测物的定量分析。

分析步骤

液相萃取

高效液相色谱，线性梯度进行分离

液相色谱-电喷雾离子源-串联质谱 (MRM)

用于毒素检测

样品制备步骤

称取 2 g 熟的研磨贝类。加入 9 mL 甲醇溶液 (80%)。进行两次提取步骤。将两次提取液混合在一起，移至 50 mL 容量瓶。取一定体积的样品溶液，过滤 (RC 0.45 μ m)，10 μ L 样品进到液相色谱-串联质谱中进行分析。

待测物的结构 (举例)

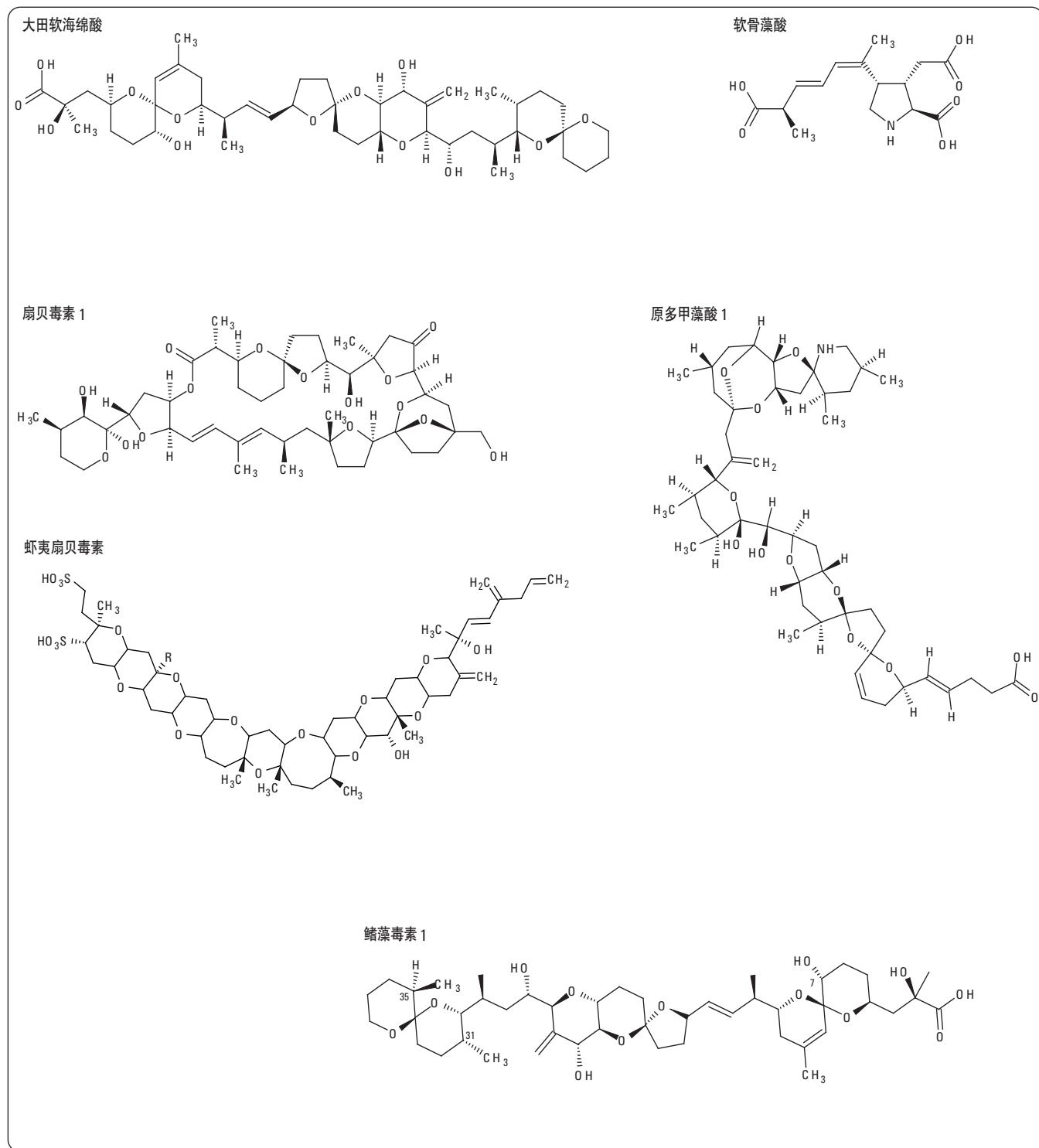


图 1. 一些海洋生物毒素的化学结构

液相色谱-串联质谱方法

亲脂性海洋生物毒素的总分析时间小于 30 min。分析方法中，对于 OA、DTX-1、DTX-2、PTX-1、PTX-2、AZA-1、AZA-2 和 AZA-3 采用正离子模式。YTX 需要用不同的色谱柱和流动相另外进行分析。提取物 (10 μ L) 直接进到液相色谱-串联质谱系统进行分析。对于液相色谱方法，

正离子模式下用 0.1% 甲酸溶液 (A) 和甲醇 (B)；对于负离子模式下用 2 mM 醋酸铵溶液 (A) 和甲醇 (B)。色谱柱 (Phenomenex Luna 5 pm C18 (2) 100 \AA 150 x 2.0 mm [正离子模式]，ZORBAX Eclipse Plus C 8 4.6 x 75 mm 3.5 pm [负离子模式])，柱温为 30 $^{\circ}$ C，流速为 0.2 mL/min。

梯度*	溶剂比例 B [%]
0	5
10	85
22	85
23	5
30	5

表 1. 梯度设置

*适用于正、负电离模式

样品制备步骤



图 2. 检测贝类中海洋生物毒素过程中的样品前处理步骤

参考: McNabb, P., A.I. Selwood, and P.T. Holland “贝类中藻毒素多多残留检测方法” J AOAC Int, 2005. 88: p. 761-772

Chapela, M.J., et al., 液相色谱-质谱用于鲜的冷冻，处理过的软体动物中亲脂性毒素分析，并且与小白鼠生物法的比较 J Agric Food Chem, 2008. 56 (19) : p. 8979-86

Moutfort, D.O., T. Suzuki, and P. Trueman, 蛋白磷酸酶抑制法适用于测定受污染贻贝中的总 DSP, Toxicol, 2001.39: p. 383-390

质谱参数设置和喷射流离子聚焦电喷雾源参数

安捷伦 6460 QQQ 喷射流电喷雾离子源参数

气体温度: 300 °C
 气体流速: 5 L/min
 雾化器压力: 45 psi
 鞘流气温度: 250 °C
 鞘流气流速: 11 L/min
 毛细管电压: + 3500 V
 - 3500 V
 喷嘴电压: +/- 500 V
 Delta EMV: 400

Agilent 6410 QQQ 离子源参数

离子源: ESI
 气体温度: 300 °C
 干燥气流速: 10 L/min
 雾化器压力: 43 psi
 毛细管电压: + 4500 V
 - 5200 V
 Delta EMV: 400

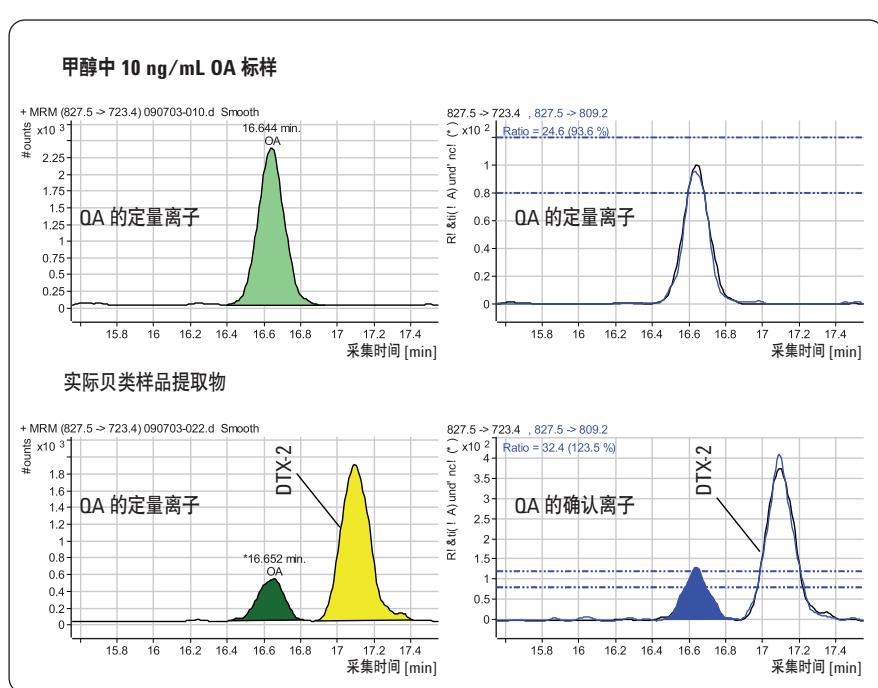


图 3. 含有 OA 和 DTX-2 的大田软海绵酸标样和实际贝类样品 (样品与图 4 所示相同)

OA 23 µg/kg 和 DTX-2 130 µg/kg

待测物	极性	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞电压 [V]	CE [eV]	定量离子
OA and DTX-2	pos	827.5	723.4	220	55	X
	pos	827.5	809.2	220	45	
DTX-1	pos	841.5	737.2	220	55	X
	pos	841.5	823.2	220	45	
PTX-1	pos	897.5	555.3	230	70	X
	pos	897.5	853.5	230	60	
PTX-2	pos	881.5	539.3	230	70	X
	pos	881.5	837.5	230	60	
PTX-2sa*	pos	899.5	855.5	230	60	X
	pos	899.5	557.3	230	70	
YTX	neg	1141.5	1061.3	135	35	X
	neg	1141.5	925.5	135	60	
Homo-YTX*	neg	1155.4	1075.5	135	35	X
OH-YTX	neg	1157.4	1077.5	135	35	X
OH-Homo-YTX*	neg	1171.4	1091.5	135	35	X
AZA-1	pos	842.5	824.5	200	40	X
	pos	842.5	806.5	200	55	
AZA-2	pos	856.5	838.5	200	40	X
	pos	856.5	820.5	200	55	
AZA-3	pos	828.5	810.5	200	40	X
	pos	828.5	792.5	200	55	

*MRM 参数参考文献

表 2. MRM 参数和质谱设定

结论

通过国际合作研究进行方法验证。合作研究是在 § 64 LFGB 工作小组的“藻类毒素”框架下进行的，由联邦消费者保护和食品安全 (BVL) 办公室主办。

化合物	检测限	定量限
¹ OA	6 $\mu\text{g}/\text{kg}$	20 $\mu\text{g}/\text{kg}$
¹ DTX-1 & 2	6 $\mu\text{g}/\text{kg}$	20 $\mu\text{g}/\text{kg}$
² AZA-1 to 3	6 $\mu\text{g}/\text{kg}$	20 $\mu\text{g}/\text{kg}$
¹ PTX-1 & 2	6 $\mu\text{g}/\text{kg}$	20 $\mu\text{g}/\text{kg}$
³ YTX	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	35 $\mu\text{g}/\text{kg}$

¹方法检测限 (MRL)：原始贝类样品中 OA, DTX-1 & 2,

PTX-1 & 2 的总和：相当于 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ OA

²方法检测限 (MRL)：原始贝类样品中原多甲藻酸的总和：

相当于 160 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AZA-1

³方法检测限 (MRL)：原始贝类样品中虾夷扇贝毒素的总

和：相当于 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ YTX

表 3

熟的研磨贝类样品中亲脂性海洋生物毒素的检测限和定量限

分析结果的重现性 (S.D.) 在 10 % 至 35 % 之间 (取决于样品基质、浓度、待测物)。提取回收率在 75 % 至 102 % (取决于待测物和样品基质)。

优势

- 安捷伦 1200 SL 快速高分离液相色谱 / 6460 三重四极杆液质联用系统用于贝类中海洋生物毒素的高灵敏度和高选择性分析
- 样品前处理简单、成本低、分析流程容易，适合常规分析，具有很高的可靠性
- 符合 EFSA 的法规要求
- 具有很高的灵活性，可以扩展至其它亲脂性毒素的检测分析

实际贝类样品的总离子流图

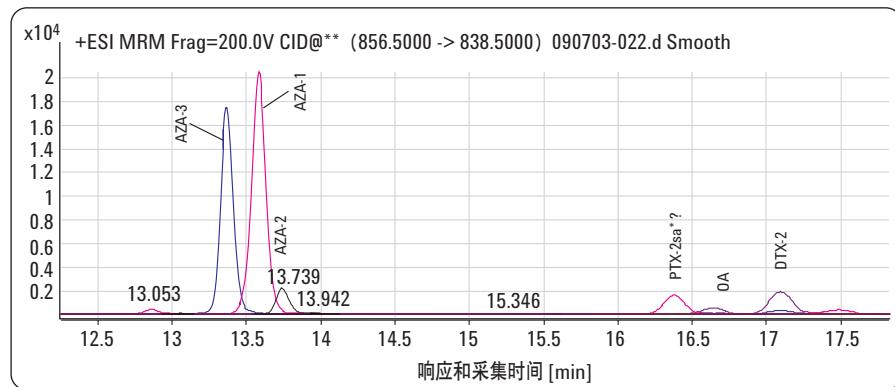


图 4. 实际样品提取物

浓度: 96 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AZA-1, 22 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AZA-2, 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AZA-3, 23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ OA 和 130 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DTX-2

*根据文献的数据暂时定义得到 PTX-2sa，无法获得 PTX-2sa 标样

实际贝类样品的提取离子流图

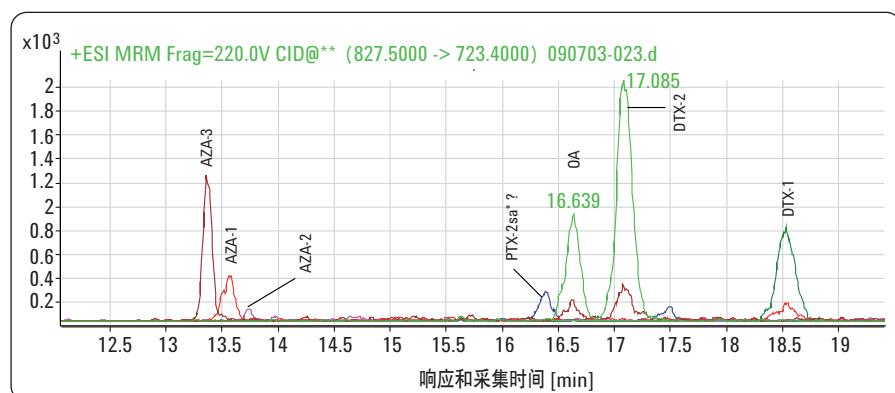


图 5. 实际贝类样品提取物, AZA-1 检测限-3 < 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$

浓度: 37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ OA, 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DTX-2 和 69 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DTX-1

*根据文献的数据暂时定义得到 PTX-2sa，无法获得 PTX-2sa 样品

质控样品的离子流图

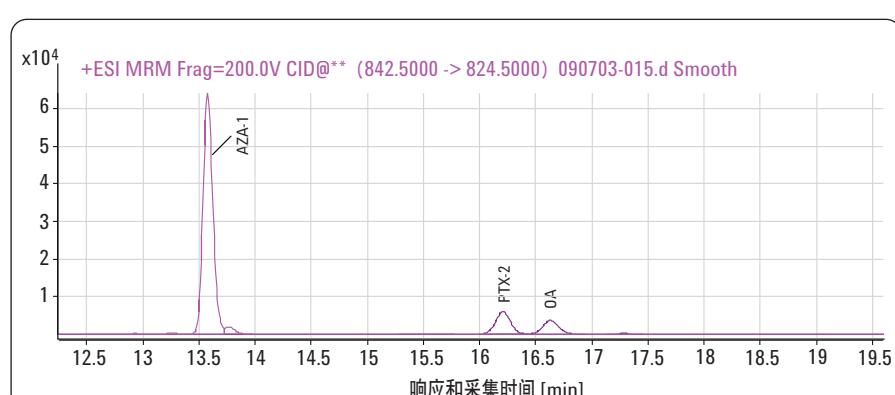


图 6. 质控样品, 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ AZA-1, PTX-2 和 OA, 贝类加标提取样品

校正曲线 (基质匹配)

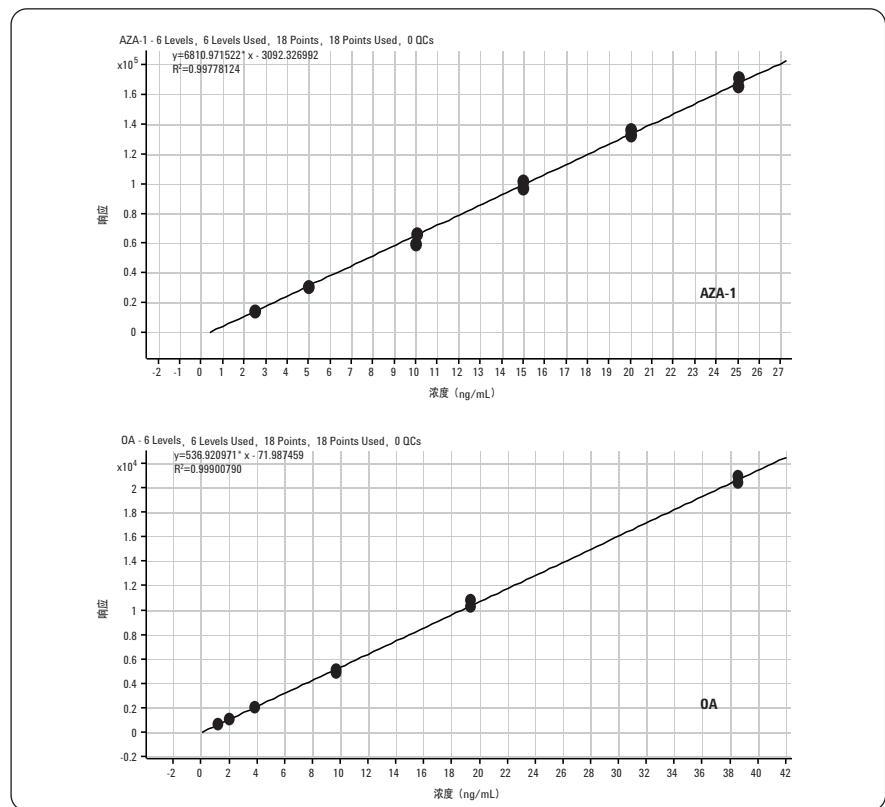


图 7. 贝类提取物中的 AZA-1 和加标 OA 的校正曲线, 线性拟合, 包括原点, 没有权重。AZA-1 的浓度范围是 2.5 至 25 ng/mL, OA 的浓度范围是 1.1 至 38 ng/mL

校正曲线 (甲醇)

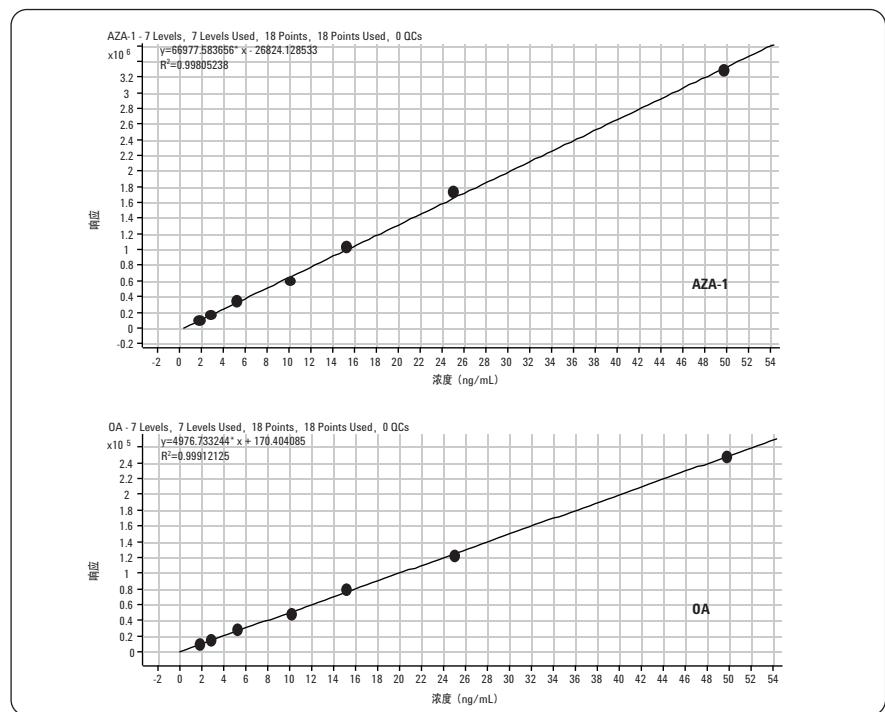
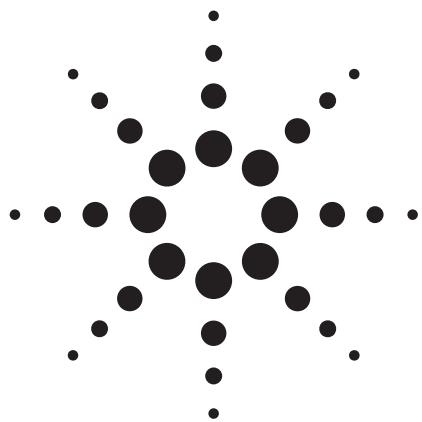


图 8. 甲醇中 AZA-1 和 OA 的校正曲线, 线性拟合, 包括原点, 没有权重。两个化合物的浓度范围都是 1.5 至 50 ng/mL



使用安捷伦喷射流技术的 Agilent 6460 三重四极杆液/质联用系统对食品基质和饮用水中全氟化合物进行亚飞克级靶标筛查的方法

应用简报 (5990-5313CHCN)

环境, 食品安全

作者

Peter JW Stone
Agilent Technologies Inc
Stevens Creek Boulevard
Santa Clara, CA, 95051
USA

Linda Côté and Jennifer Gushue
Agilent Technologies Ltd
Montreal, Quebec
Canada

Robert J. Letcher and Shaogang Chu
Environment Canada
National Wildlife Research Centre
Carleton University (Raven Road)
Ottawa, ON
Canada

摘要

本应用介绍了一种通过增加液相色谱系统在线污染物捕集模块, 实现对亚飞克级全氟羧化物 (PFCA) 和全氟磺酸盐 (PFSA) 进行可靠检测的、以免受背景成分干扰的可行方法。观测表明此方法对于所有的全氟化合物均具有良好的色谱分离度。本文对一组典型的 PFCA 和 PFSA 化合物加以分析, 所有化合物均在色谱柱上样量 (饮用水基质) 低于 75 fg ($S/N > 3$) 的条件下被检出。最灵敏的分析物 PFHxS, PFDS 和 PFBS 分别在 2.6, 3.2 和 5 fg 水平上被检出。对于该组中的所有化合物, 加标猪肝基质提取物样品的方法检测限在整个分析过程中低于 600 fg 色谱柱上样量。该研究中任意分析物的空白进样均未观察到可检测的背景污染。整组化合物在五个数量级的范围内均呈线性, 且 R^2 值超过 0.996。

前言

新兴污染物，如全氟化工业加工的副产品（PFC）的暴露、生物积累和潜在毒性一直是环境生物群和它们的食品链持续出现的问题。因为这些物质在大气中含量较高而且很稳定，因此很难获得可靠、准确的低浓度检测结果。

在本应用中，利用动态反应监测模式（DMRM）对饮用水和猪肝加标样品中的全氟羧酸盐（PFCA）和磺酸（PFSA）进行筛查分析，方法的检测低至亚飞克水平，并且未发现背景干扰 [1]。这种方法使得我们在很低的检测限下也能获得准确的鉴别结果。利用在线污染物捕集柱，可以保证液相色谱的洁净度，同时可以使用膜式脱气机，并且没有增加死体积或降低分析速度。

对包括同位素内标在内的一系列全氟化合物（PFCA & PFSA）进行了系统评价，内容包括灵敏度和线性范围。使用自动的碰撞电压和碰撞解离能量（CE）优化功能对每个组分的动态 MRM 进行优化，获得了最高的信噪比。对于全氟类化合物（PFCA & PFSA），安捷伦喷射流离子聚焦技术 [2] 的灵敏度比传统电喷雾高 14 倍。

表 1. 本研究涉及的化合物

目标化合物	
全氟-1-丁磺酸酯	(PFBS)
全氟-正己酸	(PFHxA)
全氟-正庚酸	(PFHpA)
全氟己烷磺酸盐	(PFHxS)
全氟正辛酸	(PFOA)
全氟-正壬酸	(PFNA)
全氟辛基磺酸盐	(PFOS)
全氟-正十一烷酸	(PFUA)
全氟-1-癸烷磺酸盐	(PFDS)
全氟-正十二烷酸	(PFDoA)
全氟正十三烷酸	(PFTriA)
全氟-正十-四烷酸	(PFTA)

实验

使用安捷伦 1200 SL 系列液相色谱/6460 三重四极杆质谱对样品进行了分析。液相色谱包括二元泵（G1312B）、真空脱气机（G1379B）、低残留自动进样器（G1367D）、柱温箱（G1316B）和 MassHunter 数据系统。

样品处理

由于实验耗材和器材的磨损会产生背景干扰，所以样品处理在痕量的全氟羧酸盐和磺酸盐检测中是非常重要的。在本应用的分析中考虑到这些因素，并采取措施消除了此类的交叉污染。用硅烷化的玻璃样品瓶收集固相萃取洗脱液。使用丁腈橡胶瓶盖和非 PTFE 吸头。实验室防护手套只使用丁腈橡胶手套。

仪器

快速高分离液相色谱及配置

配置：

安捷伦 1200 SL 二元泵:	(G1312B)
SL Plus 高性能微板自动进样器:	(G1367D)
控温器:	(G1330B)
柱温箱	(G1316B)

方法条件：

色谱柱:	安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 50 mm,	
	1.8 m	
柱温:	55 °C	
进样体积:	1 µL	
样品温度:	4 °C	
洗针:	洗针座 (100% 甲醇), 5 秒	
流动相:	A = 2 mM 醋酸铵水溶液	
	B = 2 mM NH ₄ 醋酸铵甲醇溶液	
流速:	0.5 mL/min	
梯度:	时间 (min)	%B
	0	6
	0.5	6
	6	95
	8	95
总分析时间:	9.0 min (含 1 min 平衡时间)	

质谱条件 (DMRM) 和配置:

配置:

安捷伦 6460 喷射流离子聚焦技术的三重四极杆液质联用仪

离子源条件:

离子化模式:	ESI/安捷伦喷射流离子聚焦, 负模式
毛细管电压:	3750 V
喷嘴电压:	0 V
干燥气 (氮气) :	4 L/min
干燥气温度:	320 °C
雾化器 (氮气) :	60 psi
鞘流气温度:	350 °C
鞘流气流速:	12 L/min

动态 MRM 采集模式:

循环时间:	250 ms
总动态 MRM:	29
最大并行 MRM:	12
保留时间窗口:	30 sec
最小/最大驻留时间:	17.33/246.50 ms
Q1 和 Q2 分辨率:	0.7 amu [unit]
Delta EMV:	0 V

表 2. 动态 MRM PFSA/PFCA 设置

化合物名	母离子	Q1 - 分辨率	子离子	Q2 - 分辨率	碰撞电压	碰撞解离能量 (eV)	保留时间 (min)	保留时间窗口 (min)	离子极性
PFBS	298.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	133	45	3.623	1	负离子模式
PFBS (Q)	298.9	单位质量分辨率	98.9	单位质量分辨率	133	29	3.623	1	负离子模式
PFDA	512.9	单位质量分辨率	469	单位质量分辨率	102	5	5.543	1	负离子模式
PFDA (C13)2	514.9	单位质量分辨率	469.9	单位质量分辨率	102	5	5.542	1	负离子模式
PFDoA	612.9	单位质量分辨率	569	单位质量分辨率	97	5	5.961	1	负离子模式
PFDoA (C13)2	614.9	单位质量分辨率	570	单位质量分辨率	97	5	5.961	1	负离子模式
PFDoA (Q)	612.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	97	25	5.961	1	负离子模式
PFDS	598.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	205	94	5.752	1	负离子模式
PFHpA	362.9	单位质量分辨率	319	单位质量分辨率	66	5	4.626	1	负离子模式
PFHpA (Q)	362.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	66	13	4.626	1	负离子模式
PFHxA	312.9	单位质量分辨率	268.9	单位质量分辨率	66	5	4.143	1	负离子模式
PFHxA (C13)2	314.9	单位质量分辨率	269.9	单位质量分辨率	66	5	4.141	1	负离子模式
PFHxS	398.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	174	49	4.671	1	负离子模式
PFHxS (O18)2	402.9	单位质量分辨率	83.9	单位质量分辨率	174	49	4.671	1	负离子模式
PFHxS (Q)	398.9	单位质量分辨率	99	单位质量分辨率	174	45	4.671	1	负离子模式
PFNA	462.9	单位质量分辨率	418.9	单位质量分辨率	66	5	5.296	1	负离子模式
PFNA (C13)5	467.9	单位质量分辨率	423	单位质量分辨率	66	5	5.296	1	负离子模式
PFNA (Q)	462.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	66	17	5.296	1	负离子模式
PFOA	412.9	单位质量分辨率	368.9	单位质量分辨率	86	5	5.003	1	负离子模式
PFOA (C13)4	416.9	单位质量分辨率	371.9	单位质量分辨率	86	5	5.001	1	负离子模式
PFOA (Q)	412.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	86	13	5.003	1	负离子模式
PFOS	498.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	210	50	5.302	1	负离子模式
PFOS (C13)4	502.9	单位质量分辨率	80	单位质量分辨率	210	50	5.301	1	负离子模式
PFOS (Q)	498.9	单位质量分辨率	99	单位质量分辨率	210	50	5.302	1	负离子模式
PFTA	712.9	单位质量分辨率	669	单位质量分辨率	112	9	6.255	1	负离子模式
PFTriA	662.9	单位质量分辨率	619	单位质量分辨率	102	9	6.117	1	负离子模式
PFUA (C13)2	564.9	单位质量分辨率	519.9	单位质量分辨率	92	5	5.764	1	负离子模式
PFUA	562.9	单位质量分辨率	519	单位质量分辨率	92	5	5.762	1	负离子模式
PFUA (Q)	562.9	单位质量分辨率	169	单位质量分辨率	92	21	5.762	1	负离子模式

表 2 为动态多反应监测 (DMRM) 参数。使用安捷伦 MassHunter Optimizer 软件测定所有组分的最优碰撞电压、相应的碰撞能量 (CE) 和丰度最高的子离子。

离子源优化

为了使安捷伦 6460 电喷雾质谱对所有待测组分的灵敏度都达到最高, 用一个混标测定最优的动态多反应监测 (DMRM) 条件。另外, 使用系统的、单个离子源参数测定随后的样品。这样可以获得最佳灵敏度的优化条件, 但是每次都需要进行测定。

在真实情况下, 一个离子源条件无法使得所有化合物的灵敏度达到最佳, 所以需要设定一个综合的条件, 以适合所有的全氟类化合物的分析。即将发表的技术简报详细描述了这些化合物的优化条件。

结论与讨论

在线污染物捕集

对于飞克水平的 PFCA 和 PFSA 的高灵敏度检测，需要保证消除来自采样、流动相杂质或仪器组件的全氟化合物的背景干扰。PFCA 和 PFSA 一般情况下是很难自然降解的。它们的前体被广泛地释放到大气中，最后降解为 PFCA 和 PFSA。

一种防止 PFCA 和 PFSA 进入液相色谱系统的方法是，在液相泵头后、梯度混合器之前安装在线反相色谱柱或保护柱，以有效消除这些化合物。图 1 所示为低死体积二元泵的系统配置。

在线污染物捕集柱 [ZORBAX Eclipse Plus C18 (4.6 mm × 30 mm, 3.5 μ m, p/n-959936- 902)] 在梯度泵混合点之前，在水相泵的通道上（本文是泵 A）。在这个位置上，是 100% 的等梯度水相流动相，可以有效低捕集所有进入液相色谱的 PFCA 和 PFSA 污染物。另外，在线捕集柱在梯度混合点之前，因此不存在液相色谱分离的死体积。必须注意的是，这不是一个标准的液相配置，安捷伦可能不提供支持。

此外，样品的处理也需要极其小心注意，以保证在样品前处理过程中，不会人为引入 PFCA 和 PFSA 污染物。例如，要小心选择带橡胶密封垫的硅烷化玻璃瓶，选择不含 PTFE 的吸头和保护服（丁腈橡胶手套）。样品稀释溶液也通过等梯度的 C18 捕集柱来去除 PFCA 和 PFSA 的背景干扰。

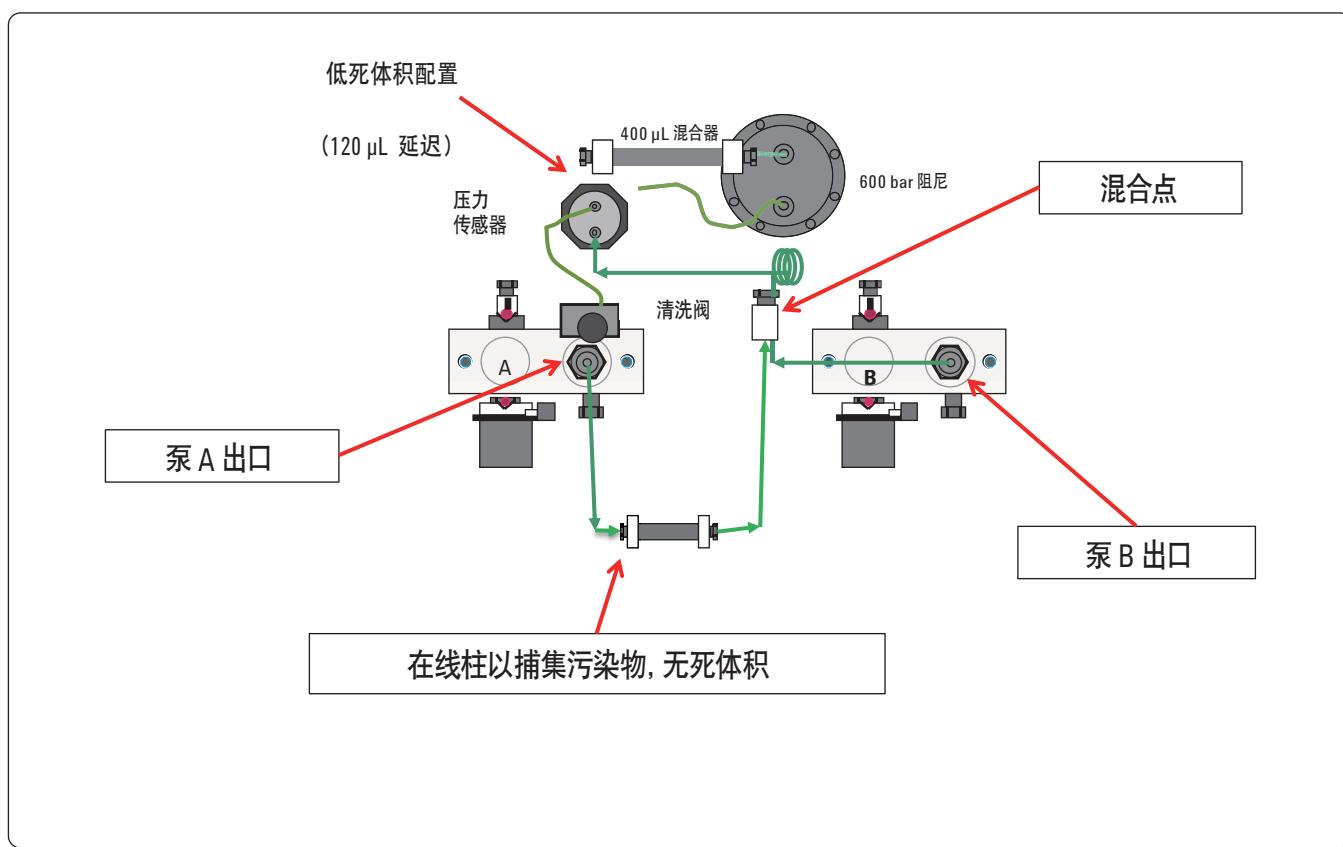


图 1. 在线污染物捕集结构图

图 2 为一个典型的低浓度 PFHxS 的分析 (transition 398.9 到 $80 m/z$) 分析谱图, 三次重复进样和一个在样品之前的空白样品。空白样品的基线完全没有发现 PFHxS 残留, 这表明在线污染物捕集柱能够保证液相色谱系统的洁净度。对于其它的化合物情况也相同, 由于篇幅有限, 本文中只显示了 PFHxS。完整的数据将在未来的应用简报中发表。

图 2 结果显示, 安捷伦 6460 三重四极杆液质的负极性分析对于饮用水中全氟化合物检测具有优异灵敏度。在本研究中, 全氟己烷磺酸具有极低的最低检测限 (LOD), 柱上进样量 (三次进样) 为 2.6 fg 时的信噪比大于 3。其它的全氟烃类的检测限为 75 fg (柱上进样量)。图 3 显示了 100 fg (柱上进样量) 水平的全氟烃类化合物的叠加谱图。

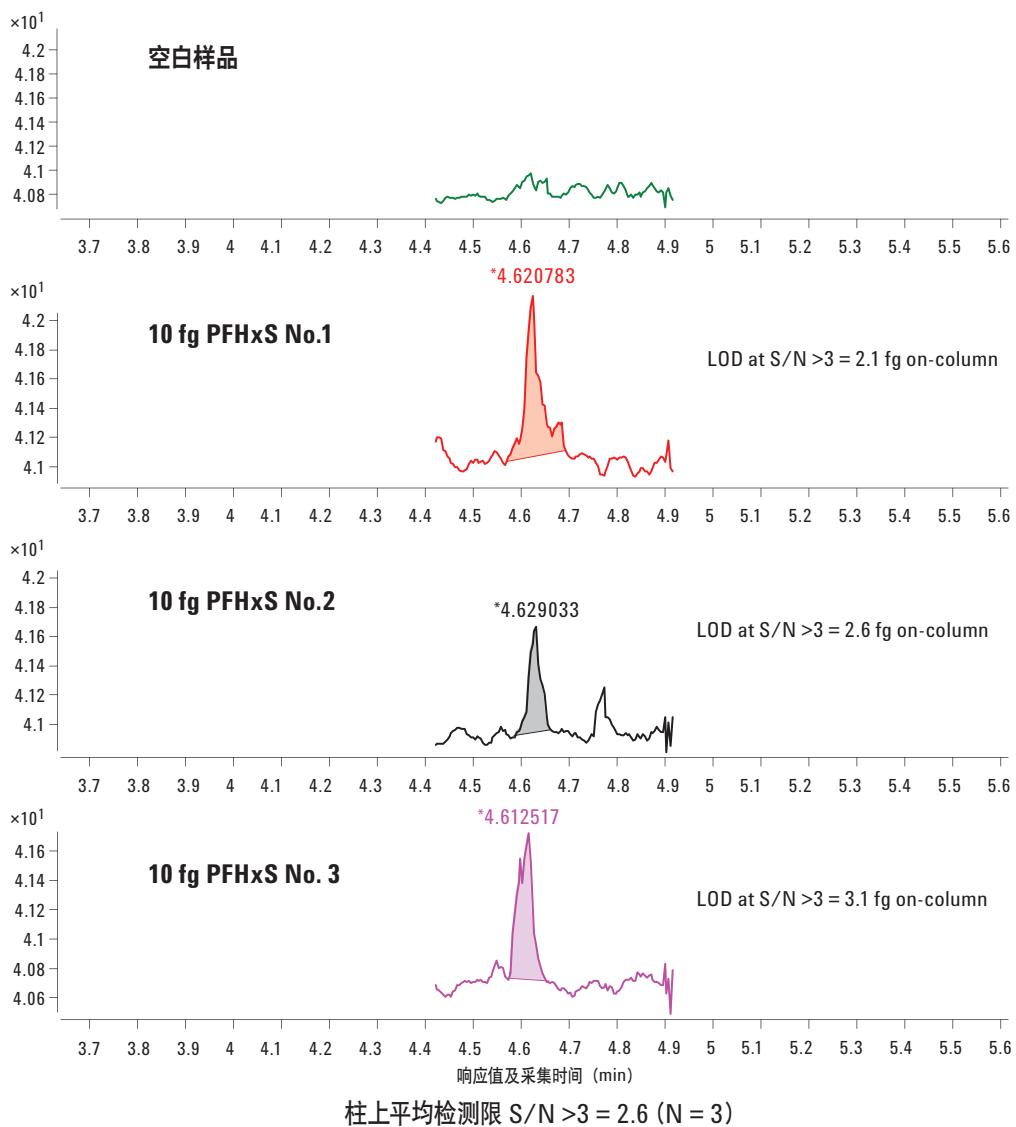


图 2. PFHxS 的饮用水加标样品 (10 fg 柱上量) 的三次进样分析和一次空白样品分析

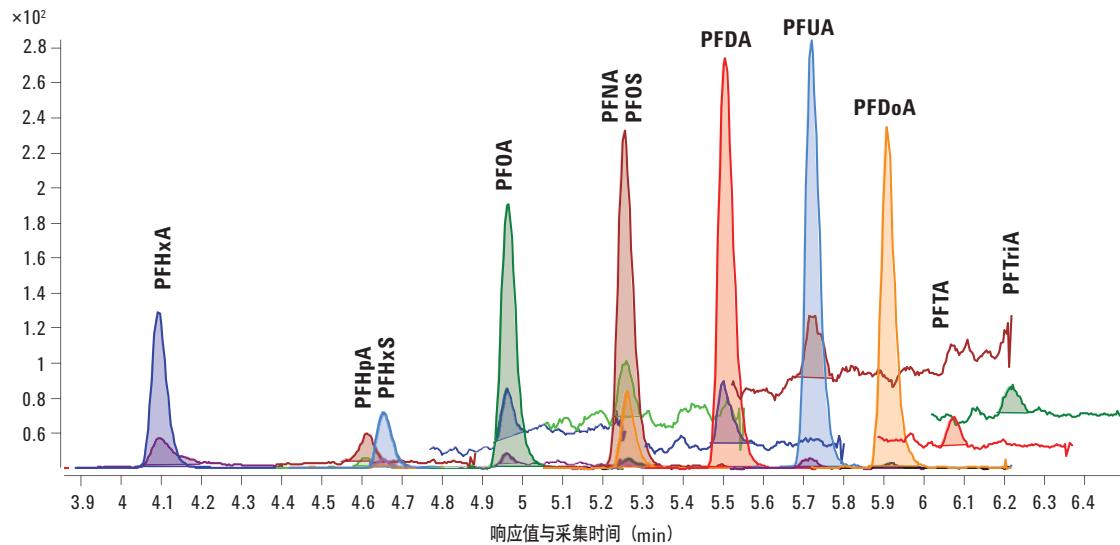


图 3. PFCA/PFSA 动态多反应监测 (DMRM) 的离子流图, 柱上进样量为 100 fg (饮用水加标)

检测限 (饮用水加标)

表 3 列出了未经处理的饮用水的加标样品的全氟化合物 (PFC) 的检测限。所有全氟化合物 (PFCA/PFSA) 的检测限 (LOD) 均低于 75 fg (色谱柱上样量)。通过仔细优化碰撞电压、碰撞解离能量、以及安捷伦喷射流离子聚焦离子源参数, 得到了极高的灵敏度, 同时没有背景残留的干扰。

全氟类化合物 (PFOS) 的其中一个组分的内标校正曲线见图 4。三次重复进样的线性回归系数 (R^2) 是 0.99957820, 线性范围为 5 个数量级。

表 3. 饮用水加标样品的检测限

化合物	LOD (飞克, 柱上进样量, S/N >3)
PFBS	5
PFHxA	8.4
PFHpA	12.2
PFHxS	2.6
PFOA	43.7
PFNA	75
PFOS	5.7
PFDA	36.3
PFUA	44
PFDS	3.2
PFDoA	55.9
PFTriA	74.2
PFTA	21.7

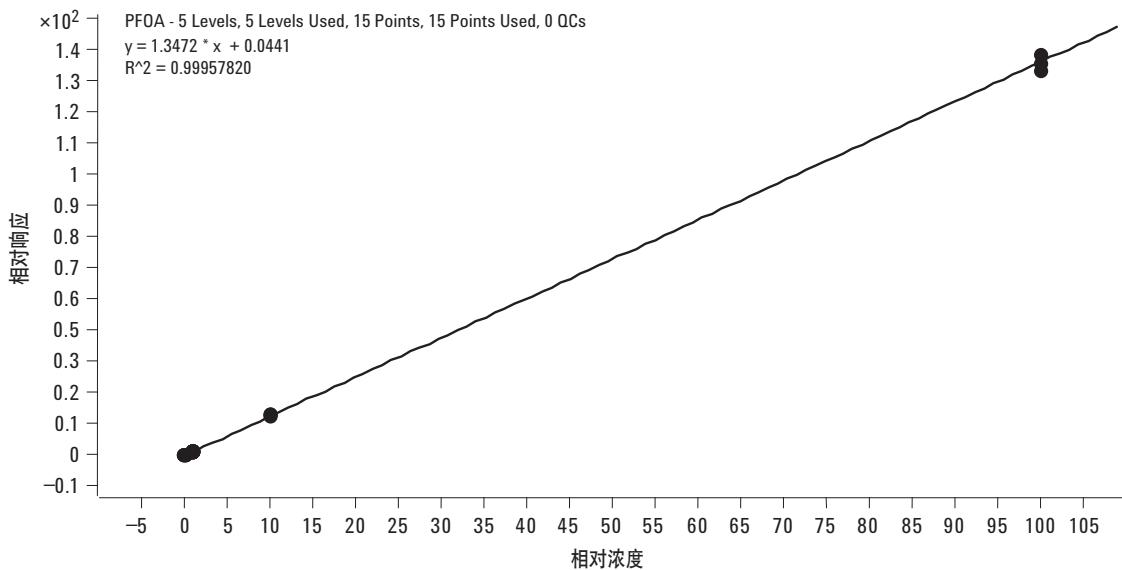


图 4. 饮用水全氟辛酸 (PFOA) 加标的校正曲线, 线性范围为 5 个数量级 (10 fg-100 pg 柱上进样量 [$N = 3$])

方法检测限 (猪肝加标样品)

表 4 总结了猪肝加标样品中每一个全氟化合物 (PFCA 或 PFSA) 的方法检测限 (MDL)。

在方法检测限 (MDL) 浓度下, 超过一半的化合物的分析结果精密度小于 10% RSD (基于峰面积)。

猪肝加标的方法检测限 (MDL) 在 600 fg 至 45 fg (柱上进样量) 之间。

表 4. PFCA/PFSA 的方法检测限

化合物 (猪肝加标样品提取物)	方法检测限 (飞克, 柱上进样量, $S/N > 10$)
PFBS	97.7
PFHxA	110.5
PFHpA	249
PFHxS	44.62
PFOA	291.5
PFNA	421.3
PFOS	58.3
PFDA	275.3
PFUA	303.9
PFDS	54.9
PFDoA	594.5
PFTriA	494.5
PFTA	503.2

结论

在安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪上，利用动态多反应监测 (DMRM) 建立的高灵敏度方法用于全氟化合物的分析 (PFCA 和 PFSA)，方法对复杂的食品基质和饮用水样品具有优异的精密度 (在亚飞克的柱上进样量条件下)。

通过仔细的样品前处理和在线污染物捕集柱消除影响低浓度全氟化合物检测的 PFCA 和 PFCS 背景干扰。

用一个全氟化合物来优化离子源参数。与标准的电喷雾离子源相比，喷射流离子聚焦技术的离子源的灵敏度提高了 14 倍。

参考文献

1. “New Dynamic MRM Mode Improves Data Quality and Triple Quad Quantification in Complex Analyses,” Agilent Technologies publication 5990-3595EN.
2. “Agilent Jet Stream Thermal Gradient Focussing Technology,” Agilent Technologies publication 5990-3494EN.

更多信息

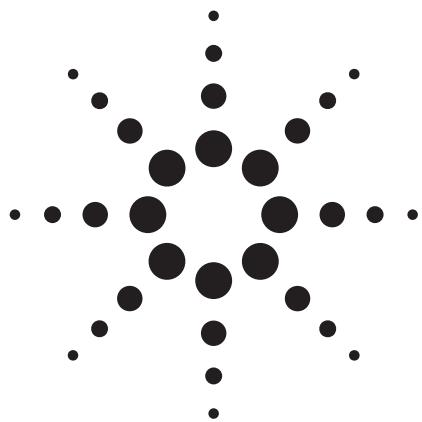
更多有关我们产品和服务，请访问我们的网站

www.agilent.com/chem/cn

更多有关本应用简报的详细信息，请联系

Peter JW Stone at Agilent Technologies Inc., 5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, CA, 95051, USA.

此处引用的任何特定的商业产品或非营利组织、过程、或服务贸易名称、商标、制造商、或其他条款，并不一定构成或暗示它的认可、推荐、或美国政府的偏爱。本文作者表达的观点和意见不代表美国政府的意见，而且不得用于广告或产品宣传的目的。



使用喷射流离子聚焦技术的安捷伦 6460 三重四极杆液质联用仪和直接进样方式测定饮用水和环境样品中的酸性除草剂

应用简报 (5990-4864CHCN)

环境

作者

Neil Cullum
Anglian 水务实验室
亨廷顿
剑桥
英国

摘要

利用直接进样的方式分析几种水样中的酸性除草剂，决定了此方法不再需要固相萃取进行样品前处理。对 11 组样品进行了分析，其结果的精密度在 2.5% 到 6.6% 之间（标准偏差），回收率在 91.5% 到 105.1% 之间。所有的化合物的检测限均小于 10 ng/L (10 ppt)，完全满足现有的行业要求。

Peter JW Stone
安捷伦科技公司
史蒂文斯溪大道圣克拉拉，
CA, 95051 美国

前言

酸性除草剂（一类覆盖范围广泛的化合物）被广泛用于农作物的保护和控制常见杂草的生长。因此，需要可靠、耐用的分析方法来进行饮用水和环境水样中的除草剂检测。目前，典型的样品前处理和分析步骤包括固相萃取（SPE）、样品的衍生化、和气质联用分析；或固相萃取、和液质联用分析。这两种方法都非常耗时，并且气质分析中的衍生化还具有一定危险性。

利用液质联用的负离子化模式对酸性除草剂进行分析。与正离子模式下的苯脲和三嗪类化合物相比，它们的信号响应相对较低。因此，酸性除草剂的分析通常需要先进行样品的富集，然后再进行分析。自从有了安捷伦全新的喷射流离子聚焦技术的 6460 三重四极杆液质联用系统，其灵敏度比安捷伦 6410 三重四极杆液质联用高了 5 至 10 倍。而其灵敏度的提高也使得可以用直接进样的方式分析水样，免去了高成本的消耗品，如固相萃取柱和其它耗时的样品前处理步骤 [1]。

本应用简报介绍了一种可靠、耐用的分析方法，它适用于饮用水和环境水样中酸性除草剂的检测，精密度 $\leq 12.5\%$ ，回收率在 90% 到 110% 之间，检测限 $\leq 10 \text{ ng/L}$ (10 ppt)。

本方法介绍了通过直接进样的方式分析不同水样中酸性除草剂混合物（图 1）。总结了完整的验证数据。

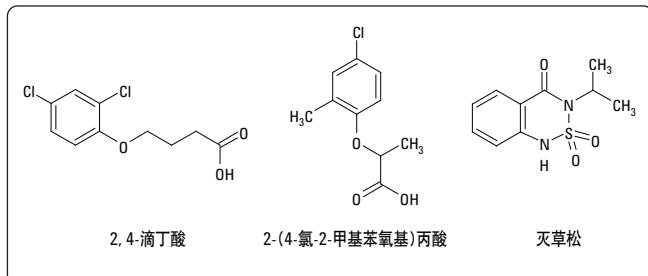


图 1. 酸洗除草剂的分子结构

实验部分

使用安捷伦 1200 系列液相色谱/安捷伦 6460 三重四极杆液质联用系统进行样品分析。液相色谱系统包括二元泵 (G1312B)、真空脱气机 (G1379B)、自动进样器 (G1367C)、柱温箱 (G1316B) 和 MassHunter 数据系统。

样品制备

仅需要对所有标准和样品进行酸化的最少量样品准备。用含 0.1% 甲酸作为酸化剂。

Instrumentation

液相色谱条件

色谱柱： 安捷伦 ZORBAX SB C18, 2.1 mm \times 100 mm, 1.8 μm , 柱温是 60 $^{\circ}\text{C}$

流动相 A: 0.2% 醋酸溶液 B: 乙腈

梯度：	时间 (min)	A (%)	B (%)	流速 mL/min
起始	95	5	0.3	
0.5	95	5	0.3	
8.0	68	32	0.3	
20.0	35	65	0.3	
20.1	95	5	0.3	

进样体积： 100 μL

分析时间： 26.0 min

三重四极杆质谱参数

电喷雾源参数：

电喷雾接口（正离子化模式）：

气体温度： 275 $^{\circ}\text{C}$
干燥气流速： 氮气 8 L/min
雾化器压力： 45 psig
毛细管电压： 3500 V
鞘流气温度： 300 $^{\circ}\text{C}$
鞘流气流速： 氮气 11 L/min
喷嘴电压： 500 V

电喷雾接口（负离子化模式）：

气体温度： 250 $^{\circ}\text{C}$
干燥气流速： 氮气 8 L/min
雾化器压力： 45 psig
毛细管电压： 2000 V
鞘流气温鞘流气温度： 300 $^{\circ}\text{C}$
鞘流气流速： 氮气 11 L/min
喷嘴电压： 500 – 1000 V

碰撞电压：

见表 1

MRM 参数：

见表 1

MRM 参数

表 1. 除草剂的 MRM 参数

时间编程	时间 (min)	Delta EMV (V)	化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞电 (V)	碰撞解离 能量 (V)	离子驻留 时间
1	0.0	400	氯氨吡啶酸 +ve ion	206.8	161.0	75	15	500
2	2.8	500	二氯吡啶酸 +ve ion	192.0	146.2	65	19	500
3	4.9	500	氨基吡啶酸 +ve ion	241.0	195.0	75	18	500
4	7.0	300	灭草烟 +ve ion	262.2	234.3	95	14	500
5	9.0	0	氯甲喹啉酸 +ve ion	222.0	204.0	75	6	500
6	11.1	500	除草定 +ve ion	261.1	205.1	85	11	100
			氯氟吡氧乙酸 +ve ion	255.0	209.1	90	9	300
			草除灵 +ve ion	244.0	170.0	90	20	100
			灭草松 +ve ion	241.1	199.2	80	6	100
7	13.8	400	溴苯腈 -ve ion	275.9	79.0	130	40	100
			2,4-D -ve ion	219.1	161.0	80	7	300
			2-甲基-4-氯苯氧乙酸 -ve ion	199.2	141.1	90	7	100
8	15.3	400	碘苯腈 -ve ion	369.9	127.0	135	50	125
			绿草定 -ve ion	254.1	196.1	65	6	125
			2,4,5-T -ve ion	253.1	195.1	75	7	125
			2,4 D 丙酸 -ve ion	233.1	161.0	75	5	125
			2-甲基-4-氯丙酸 -ve ion	213.2	141.1	80	9	125
9	17.3	400	2,4-DB -ve ion	247.1	161.0	65	7	300
			2-甲基-4-氯丁酸 -ve ion	227.2	141.1	65	0	300
10	18.6	400	戊炔草胺 -ve ion	254.2	228.2	125	9	500

结果和讨论

酸性除草剂浓度为 $0.5 \mu\text{g/L}$ (500 ppt) 的标样的 TIC MRM 的总离子流图见图 2，同时也显示了时间窗口。

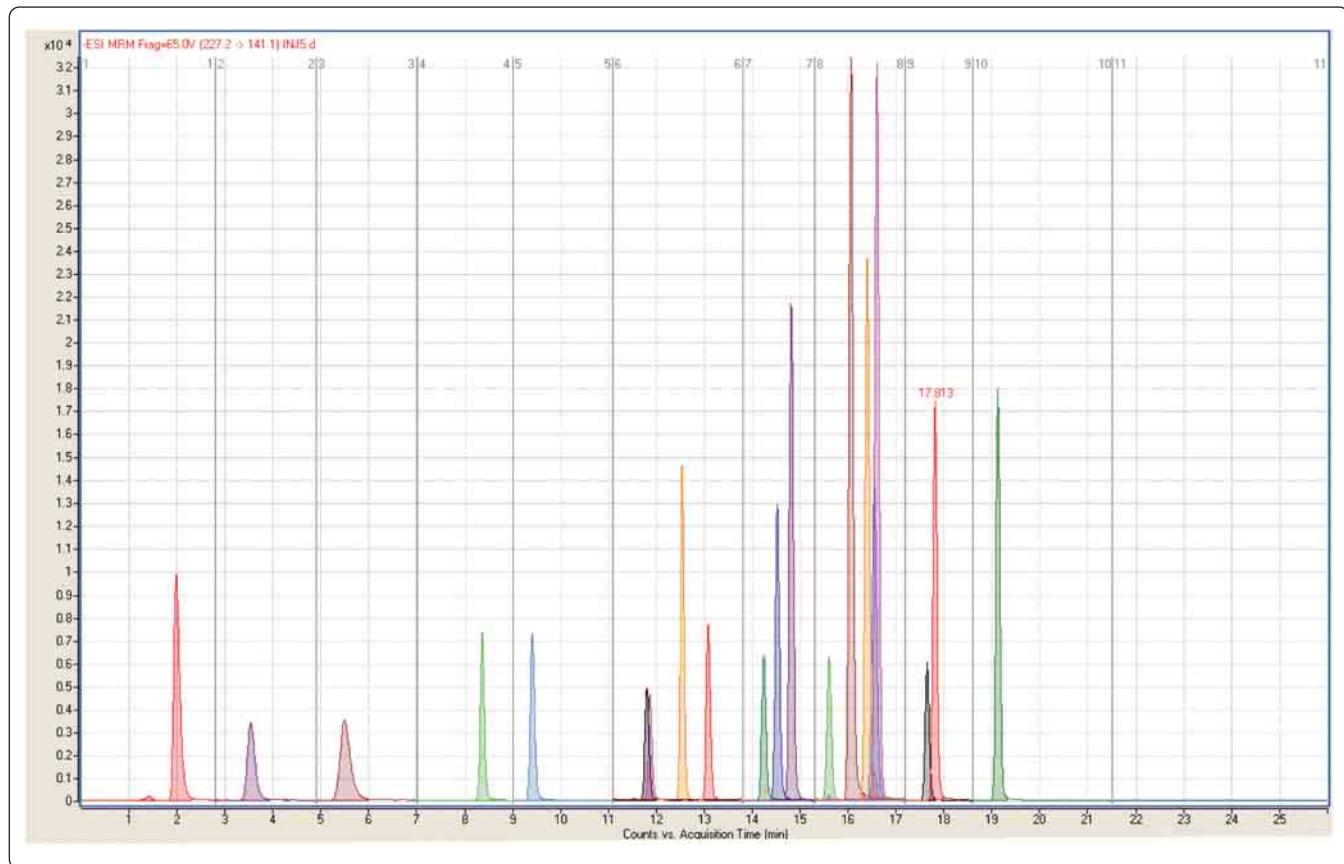


图 2. 浓度为 $0.5 \mu\text{g/L}$ 的除草剂标样的 MRM 离子流图

5 个水平的校正曲线，浓度分别是 0.0、0.05、0.10、0.30 和 $0.50 \mu\text{g/L}$ (ppb)。图 3a 到 3c 显示了一些化合物的校正曲线。

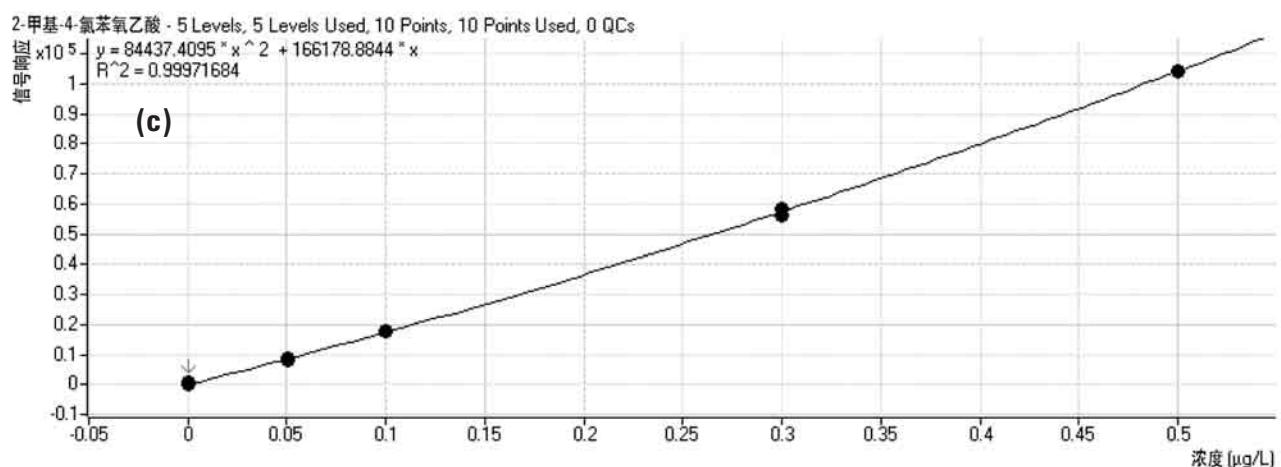
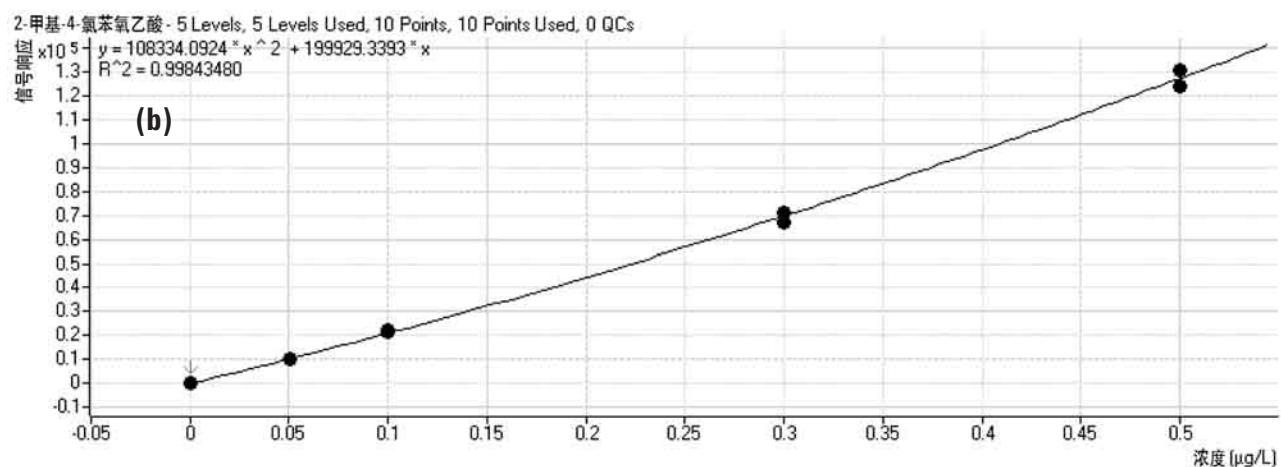
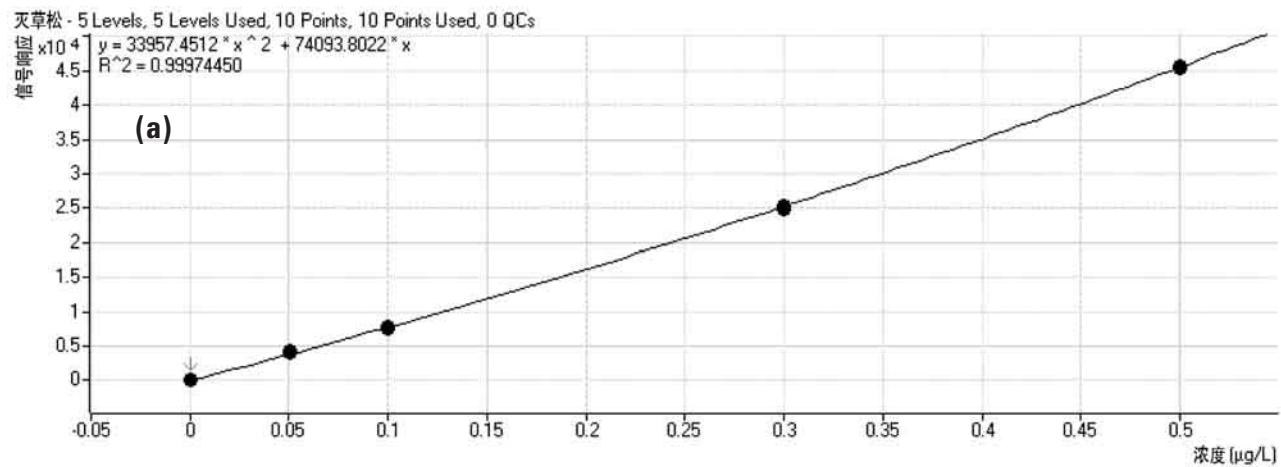


图3. (a) 灭草松, (b) 2-甲基-4-氯苯氧乙酸和 (c) 2-甲基-4-氯丁酸乙酯的校正曲线

用 11 组样品进行方法的验证实验。地下水、饮用水（取自地表水）和河水分别添加两个浓度的除草剂，浓度为 0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$ (10 ppt) 和 0.10 $\mu\text{g}/\text{L}$ (100 ppt)。去离子水添加三个浓度水平的除草剂，浓度分别是 0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、0.10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 0.40 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。每一组样品随机分析两次。每个除草剂的检测限 (LOD) 是通过添加浓度为 0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的去离子水样，在 5 倍标准偏差条件下计算得到的。地下水、饮用水和河水的待测组分回收率是通过基质添加 0.1 $\mu\text{g}/\text{L}$ (100 ppt) 的样品测得的。

表 2 为全部的实验和验证数据结果。

表 2. 验证数据 – % 回收率、 $\pm\%RSD$ 和检测限 (LOD)

化合物	地下水 %Rec	自来水 %Rec	河水 %Rec	检测限 ($\mu\text{g}/\text{L}$)
二氯吡啶酸	96.6, \pm 4.6	91.5, \pm 3.4	91.9, \pm 6.6	0.004
毒莠定	102.1, \pm 3.5	105.1, \pm 2.5	99.9, \pm 4.5	0.003
草除灵	97.0, \pm 5.1	95.2, \pm 3.4	96.2, \pm 5.3	0.005
氟草烟	100.0, \pm 6.3	96.9, \pm 3.5	97.3, \pm 4.0	0.003
除草定	99.0, \pm 3.6	94.9, \pm 3.6	92.3, \pm 4.7	0.003
灭草松	99.2, \pm 4.4	97.1, \pm 3.7	96.6, \pm 3.3	0.004
溴苯腈	99.0, \pm 4.4	97.1, \pm 5.8	94.8, \pm 4.4	0.005
2,4-D	96.9, \pm 3.9	96.9, \pm 3.9	96.4, \pm 2.9	0.005
MCPA	97.7, \pm 4.1	94.4, \pm 4.4	95.8, \pm 3.7	0.004
绿草定	97.8, \pm 5.0	94.9, \pm 5.4	97.0, \pm 4.0	0.006
碘苯腈	99.7, \pm 4.8	101.3, \pm 4.7	98.6, \pm 3.7	0.004
2,4-滴丙酸	98.3, \pm 4.9	96.6, \pm 3.1	96.7, \pm 3.0	0.002
2,4-滴丁酯	97.4, \pm 3.4	97.6, \pm 3.5	96.2, \pm 2.5	0.003
2,4,5-T	96.2, \pm 4.5	95.1, \pm 4.6	96.3, \pm 3.4	0.004
2,4-DB	100.0, \pm 4.0	98.1, \pm 3.5	97.2, \pm 3.5	0.004
MCPB	98.5, \pm 4.1	97.1, \pm 3.4	97.4, \pm 3.1	0.003
戊炔草胺	99.2, \pm 4.2	99.0, \pm 2.5	99.8, \pm 3.0	0.002
整体混合物	98.5, \pm 4.4	97.0, \pm 3.8	96.5, \pm 3.9	0.004

氯氨吡啶酸/灭草烟和氯甲喹啉酸也包括在混合物里，但只作为筛查分析使用。

图 4 是一些实际样品中酸性除草剂的 MRM 的离子流图。

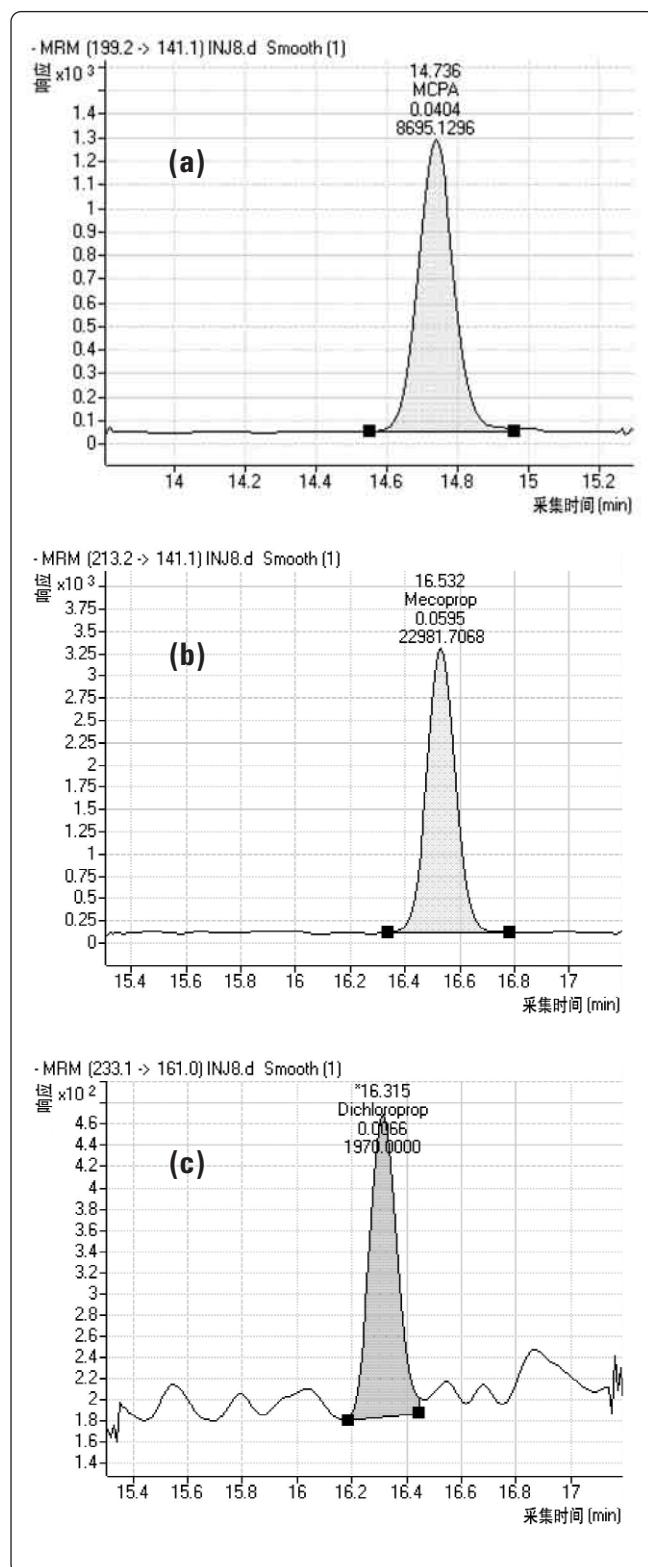


图 4. MRM 的离子流图 (a) 河水中的 MCPA (b) 河水中的 2-甲基-4-氯丙酸 (c) 河水中的：2,4D 丙酸

结论

这些数据表明，通过直接进样方式将 100 μL 水样进到分析柱上的方法可以实现酸性除草剂灵敏的定量分析。本方法无需固相萃取进行样品制备，只要酸化水样即可。本方法满足所有现有的行业标准的要求，精密度 $\leq 12.5\%$ ，回收率在 90% 至 110% 之间，检测限 $\leq 10 \text{ ng/L}$ (10 ppt)。

本应用简报显示，由于安捷伦喷射流离子聚焦的 6460 三重四极杆液质联用仪的灵敏度和选择性都获得了明显的提升，所以这种将 100 μL 水样直接进到分析柱的分析方法可以达到规定的性能要求。由于不再需要样品的前处理，所以这种方法可以明显降低成本（固相萃取柱）。

参考文献

1. "Achieving the Desired Prescribed Sensitivities of Selected Herbicides by Direct On-Column Aqueous Injection of Potable and Environment Samples using the Agilent 6410BA LC/QQQ," Agilent Technologies publication 5990-3762EN.

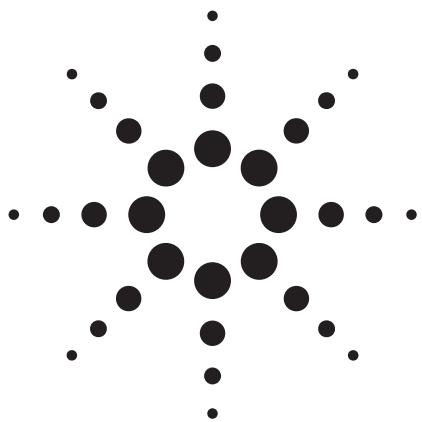
更多信息

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

更多有关本文的详细资料，请联系 Anglian 水务实验室的 Neil Cullum (Huntingdon, Cambridgeshire, UK)。

此处引用的任何特定的商业产品或非营利组织、过程、或服务贸易名称、商标、制造商、或其他条款，并不一定构成或暗示它的认可、推荐、或美国政府的偏爱。

本文作者表达的观点和意见不一定反映美国政府的意见，而且不得用于广告或产品宣传的目的。



采用离子色谱串联质谱法定量分析高氯酸盐

应用简报 (5989-7907CHCN)

环境

作者

Johnson Mathew
USEPA Region 6
10625 Fallstone Rd.
Houston, TX 77099
美国

Jay Gandhi
技术经理
Metrohm-Peak, LLC
12521 Gulf Freeway
Houston, TX 77034
美国

Sheher Mohsin
安捷伦科技有限公司
10 N. Martingale Rd., Suite 550
Schaumburg, IL, 60173
美国

Michael Zumwalt
安捷伦科技有限公司
9780 S. Meridian Blvd.
Englewood, CO, 80112
美国

摘要

将 Metrohm 离子色谱系统与 Agilent 6410 三重四极杆 (QQQ) 质谱联用分析水中的高氯酸盐。根据两个高氯酸盐氯同位素 (^{35}Cl 和 ^{37}Cl) 相应的多反应监测 (MRM) transitions 的总响应对其进行定量分析。采用 Metrohm 电导检测器分析校准标准品，在 0.5-25 ppb 范围内线性关系良好，线性相关系数 $R^2 > 0.999$ 。在 0.01-10 ppb 范围内，三重串联四极杆质谱的线性相关系数 $R^2 > 0.998$ 。连续七次进样对标准品进行三重串联四极杆质谱分析，重复性仍旧良好，0.1 ppb 水平的标准品连续七次进样峰面积的相对标准偏差 (RSD) 仅为 5.33%。

QQQ 质谱通过测量同位素 ^{35}Cl 和 ^{37}Cl 相应的两个 MRM transitions 的峰面积比来确证高氯酸盐的存在。两个 transitions 是 $101 > 85$ 和 $99 > 83$ 。两者之和用于定量分析，后者作为定性离子。因此，只要分析样品时发现其定性离子与定量离子峰面积的比值在某校准标准品相应测定值的 $\pm 20\%$ 之内，就可以确证高氯酸盐的存在。

对同时含有氯化物、碳酸盐和硫酸盐等溶解性总固体 (TDS) 的试剂水中的高氯酸盐也进行了分析。例如，在 3000 ppm TDS 的浓度下采用离子色谱 (IC) 电导检测器分析，1 ppb 高氯酸盐七次连续进样的重复性 RSD 仅为 0.2%。串联 IC 电导与串联质谱检测得到的结果非常相近。串联质谱的优势是用于确证，而 Metrohm 抑制器可以对基质脱盐，以获得更高的串联质谱检测灵敏度。

当采用三重串联四极杆质谱分析盐水中的高氯酸盐时，重复性也非常理想。例如，在 1000 ppm 的盐水中分析 1 ppb 的高氯酸盐，三次进样峰面积重复性的 RSD 仅为 0.63%。

引言

高氯酸盐通常被用在火箭和导弹的固体燃料中作为氧化剂。最近，在许多与科罗拉多河（加利福尼亚州）有关的地下水中都发现了高氯酸盐污染。对其它地点做了分析鉴定之后，发现目前为止高氯酸盐最严重的污染问题出现在加利福尼亚州、内华达州和亚利桑那州。在被污染的水灌溉过的作物中也发现了较高浓度的高氯酸盐。配备电导检测器的离子色谱（IC）可用于检测饮用水和废水中的高氯酸盐（按照 EPA 方法 314）。该方法检测饮用水中约 1-5 ppb 高氯酸盐的结果是可靠的，但随着样品基质复杂性的上升（如地表水和废水），其检测灵敏度急剧下降。基质效应及非特异性电导检测的共流出组分，可能是出现假阳性和假阴性结果的原因。我们需要高氯酸盐具有较低的检测限（DL），因为 EPA 和国家环境部门一直希望检测能够达到 1-2 ppb 水平。复杂基质样品测试的可靠性也是非常重要的。

使用质谱检测器在极低的 DL (50-100 ppt) 水平检测高氯酸盐已展现出诱人的前景；当然，结果的可靠性、以及典型基质带来的有关电喷雾（ESI）信号的抑制现象也同样很受关注。降低抑制作用的关键是确保分析物和高浓度基质充分分离，使其不会同时进入离子源和接口。

除了在离子源处出现的离子抑制，高氯酸盐阴离子的 m/z (99 和 101) 还存在由于极小量硫酸盐同位素的同质量带产生的干扰，它来自实验所用的有机材料、IC 色谱柱的流失、以及相关的阳离子抑制物。分离色谱柱和抑制物的选择对于减少样品流失和实现高水平干扰离子，尤其是硫酸盐共存时的高效分离非常关键。

采用离子色谱质谱（ICMS）和/或离子色谱串联质谱（ICMSMS）检测该分析物的两个 USEPA 方法（EPA 方法 332.0 和 SW-846 方法 6860）已经建立和发布。使用串联质谱的优势是硫酸氢根 (HSO_4^{1-} , m/z 99) 的干扰可被完全去除，这是因为在二级碎片

中，高氯酸盐存在 transition 99>83 (丢失 ^{16}O)，而硫酸氢根 (HSO_4^{1-}) 却完全被破坏，不再产生干扰。这就可以通过采用无干扰的氯同位素比率 (^{35}Cl 和 ^{37}Cl) 实现高氯酸盐离子准确的定量分析。对该应用的数据结果进行了论证。该应用也适用于复杂基质样品如绿叶蔬菜、水果、植物（高氯酸盐的生物聚积）、葡萄酒和液体药物制剂的分析。

高氯酸盐的化学结构见图 1。因其在溶液中以离子状态存在，故非常适合于采用负极性电喷雾离子化。

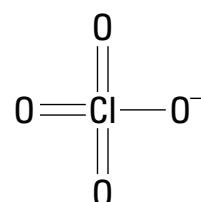


图 1. 高氯酸盐的化学结构

实验部分

样品制备

分析中所用样品的制备：高氯酸盐标准贮备液 (1000 ppm) 采用高氯酸钠制备（Sigma 部件号 S-1513, MW 122.4, CAS 7601-89-0）。将该标准贮备液适量加入试剂级的水中，制备校准标准液和最低浓度最小报告限量（LCMRL）。LCMRL 样品用做质控样品，采用不同浓度溶液重复进样进行重复性评价分析。

溶解性总固体样品（TDS）用试剂级的水制备，包含氯化物、碳酸盐和硫酸盐各 3000 ppm，使用购自 Aldrich 公司（密尔沃基，威斯康星洲）ACS 级的氯化钠、碳酸钠和硫酸钠。

富含 ^{18}O 同位素的高氯酸钠用做内标，并加标于所有 TDS 样品、校准溶液和系列 LCMRL，浓度 10 ppm。内标溶液购自 SPEX 公司（梅塔钦，新泽西州）。

离子色谱串联质谱详细实验条件

Metrohm IC 组件

Metrohm Model 818 惰性双柱塞泵
 Metrohm Model 819 电导检测器
 Metrohm Model 820 分离中心 (配备两个进样阀)
 Metrohm Model 830 接口
 Metrohm Model 833 MSM-II
 Metrohm Model 853 序列抑制器
 Metrohm Model 838 自动样品处理器
 Metrosep ASUPP7-250 色谱柱 (4.0 mm 内径 \times 250 mm)
 Metrosep RP 保护柱

离子色谱条件

洗脱液 10 mM 碳酸钠 (Na_2CO_3) + 35% 乙腈
 柱温 45 °C
 色谱柱流速 0.7 mL/min
 进样体积 100 μL
 电导检测器 范围及满量程刻度 = 100 $\mu\text{S}/\text{s}$

质谱为 Agilent 6410 三重四极杆质谱

质谱条件

模式 负离子 ESI, Agilent G1948B
 离子源
 雾化器压力 45 psig
 干燥气流速 12 L/min
 干燥气温度 350 °C
 毛细管电压 1750 V
 分辨率 (FWHM) $Q1$ (单位) = 0.7 amu, $Q2$ (单位) = 0.7 amu
 碎裂电压 120 V
 碰撞能量 30 V
 驻留时间 200 ms
 MRM transitions:
 高氯酸盐 (^{35}Cl 和 ^{37}Cl 同位素的总和) = m/z 99 > 83 + 101 > 85
 高氯酸盐内标 (^{18}O) = m/z 107 > 89

结果与讨论

第 1 部分：校准溶液浓度和系列 LCMRL

采用 Metrohm IC 系统的 Model 819 电导检测器产生的信号对溶液浓度回归的电导校准曲线见图 2。电导测量用单位微西门子每

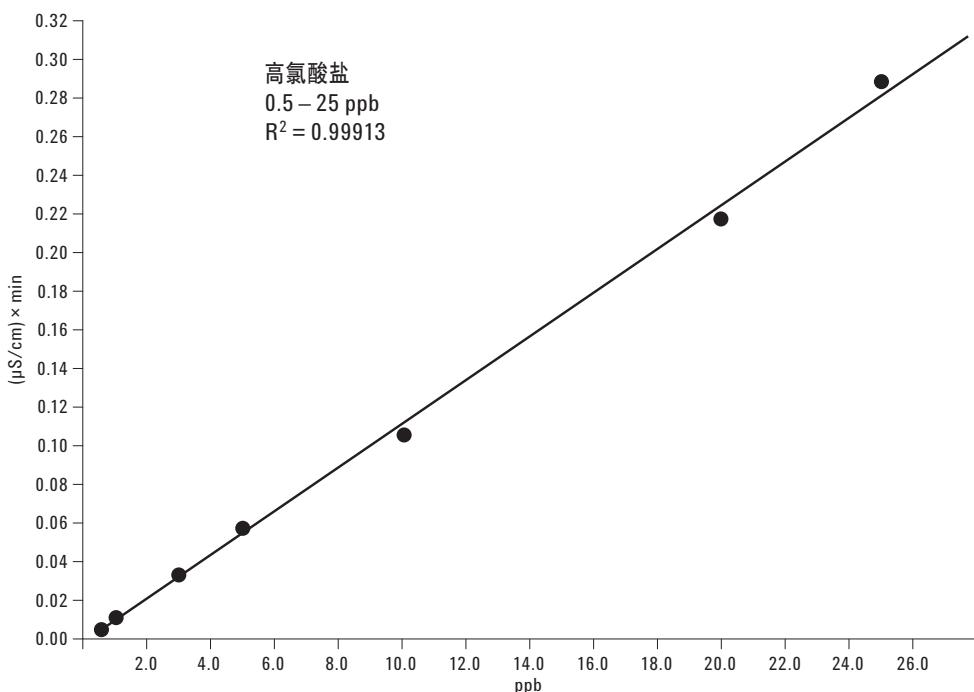


图 2. 电导校准曲线

秒 ($\mu\text{S/sec}$) 表示。校准曲线拟合的线性回归系数 $R^2 > 0.999$, 校准浓度范围 0.5 - 25 ppb。

本工作三重串联四极杆质谱分析的校准曲线见图 3。测量信号是来自 ^{35}Cl (99 > 83) 和 ^{37}Cl (101 > 85) 两个同位素离子 MRM

transitions 响应的总和。由校准曲线可见，在最低的三个浓度下都表现出良好的准确度，在 0.1 ppb 浓度下最低水平 LCMRL 样品也具有良好的重复性。更详细的重复性数据见表 1，以七次重复进样后计算浓度的百分相对标准偏差 (RSD%) 得到。良好的重复性也可以通过图 4a 到图 4c 的重叠色谱图说明。

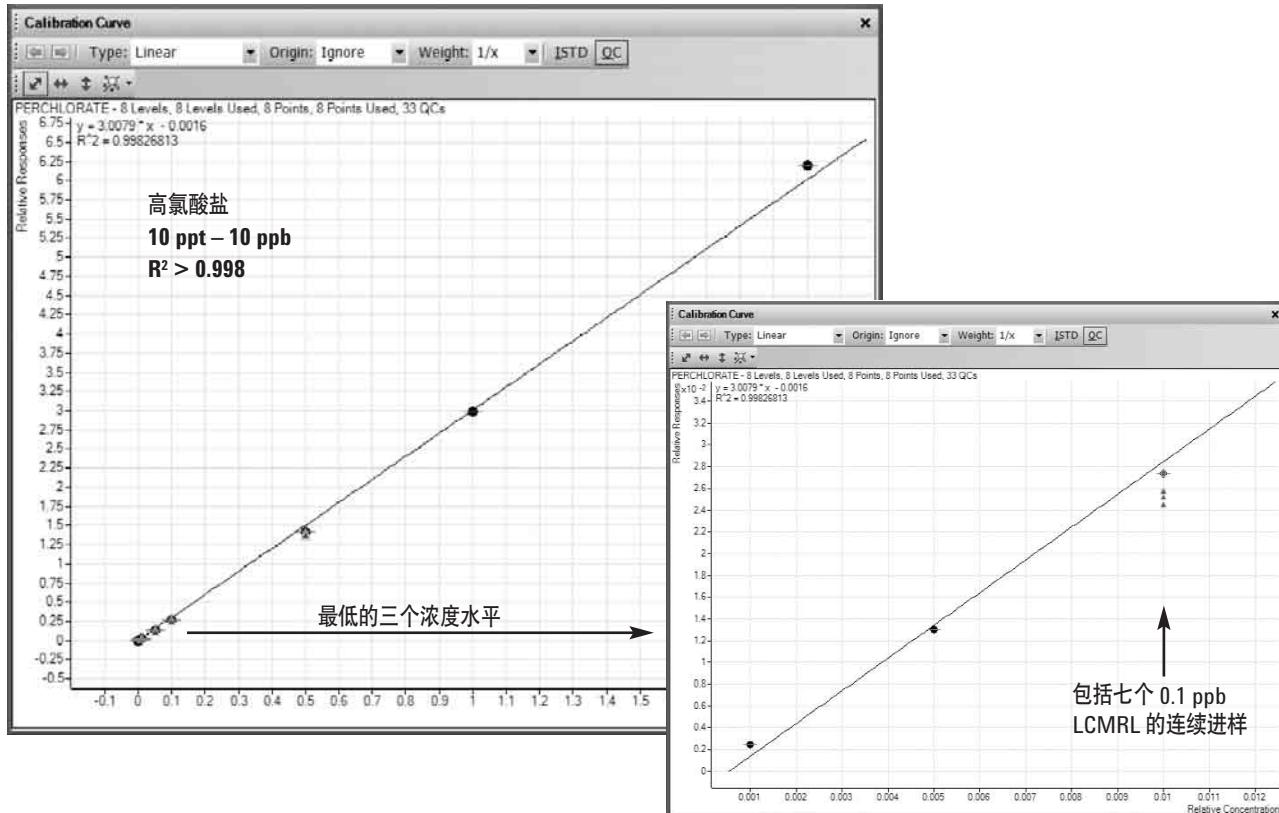


图 3. 高氯酸盐在三个数量级范围内具有良好的质谱线性，较低浓度端准确度良好

表 1. LCMRL 计算浓度的重复性

LCMRL 重复进样	0.1 ppb 计算浓度	0.5 ppb 计算浓度	1 ppb 计算浓度
1	0.1191	0.5546	1.0713
2	0.1089	0.5267	1.0863
3	0.1110	0.5149	1.0897
4	0.1140	0.5206	1.0809
5	0.1073	0.5417	1.1000
6	0.1087	0.5406	1.0888
7	0.1002	0.5534	1.0975
标准偏差	0.006	0.016	0.010
平均	0.110	0.536	1.088
% RSD	5.33	2.92	0.90

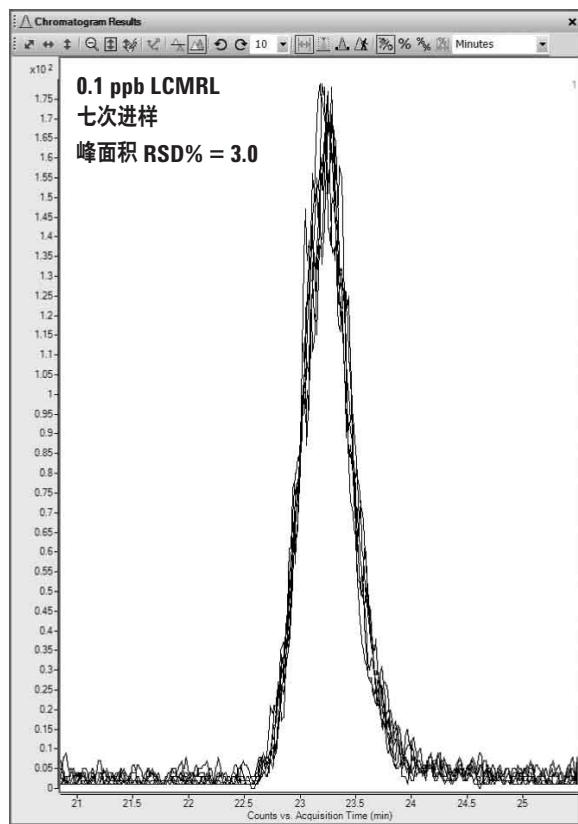


图 4a. 0.1 ppb LCMRL 质谱重叠色谱图

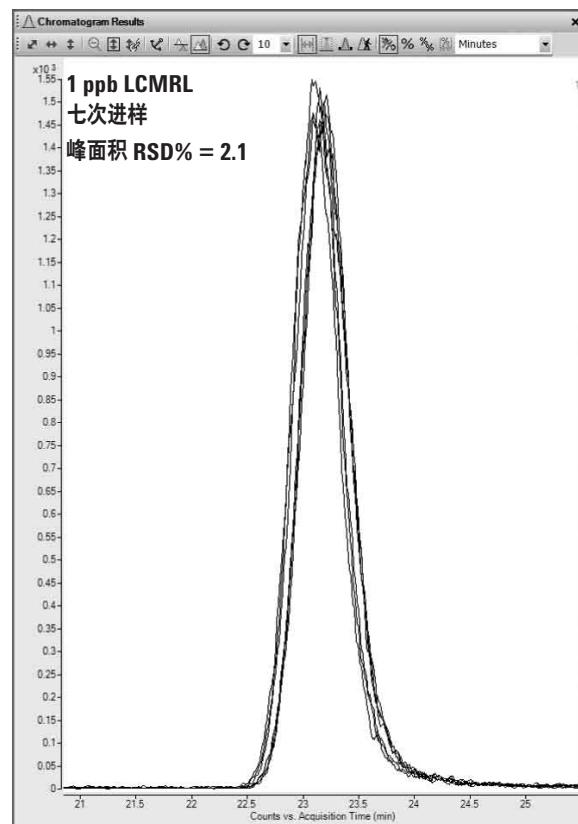


图 4c. 1 ppb LCMRL 质谱重叠色谱图

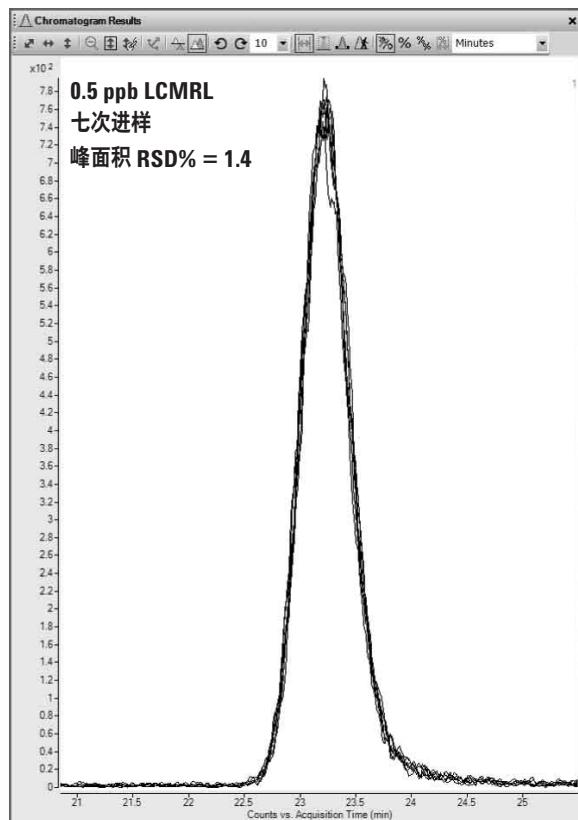


图 4b. 0.5 ppb LCMRL 质谱重叠色谱图

为了确证高氯酸盐离子的存在, 可以使用较低强度的 ^{37}Cl MRM transition 作为定性离子。只要任何样品的离子比率在期望值的 $\pm 20\%$ 以内, 就可以确证样品中含有高氯酸盐。一次 0.5 ppb LCMRL 进样的示例见图 5。

第 2 部分: TDS 样品

这些样品由试剂级水制备, 加入高氯酸盐分析物和内标, 以及浓度均为 3000 ppm 的氯化物、碳酸盐和硫酸盐。

图 6 展示了在 3000 ppm TDS 存在下高氯酸盐的 Metrohm 电导色谱图, 表明高氯酸盐与 TDS 基质的色谱分离需要大约 21 分钟相对较长的洗脱时间来实现。图 7 也展示了七次进样的重复性, 相应峰面积重复性的数据见表 2。

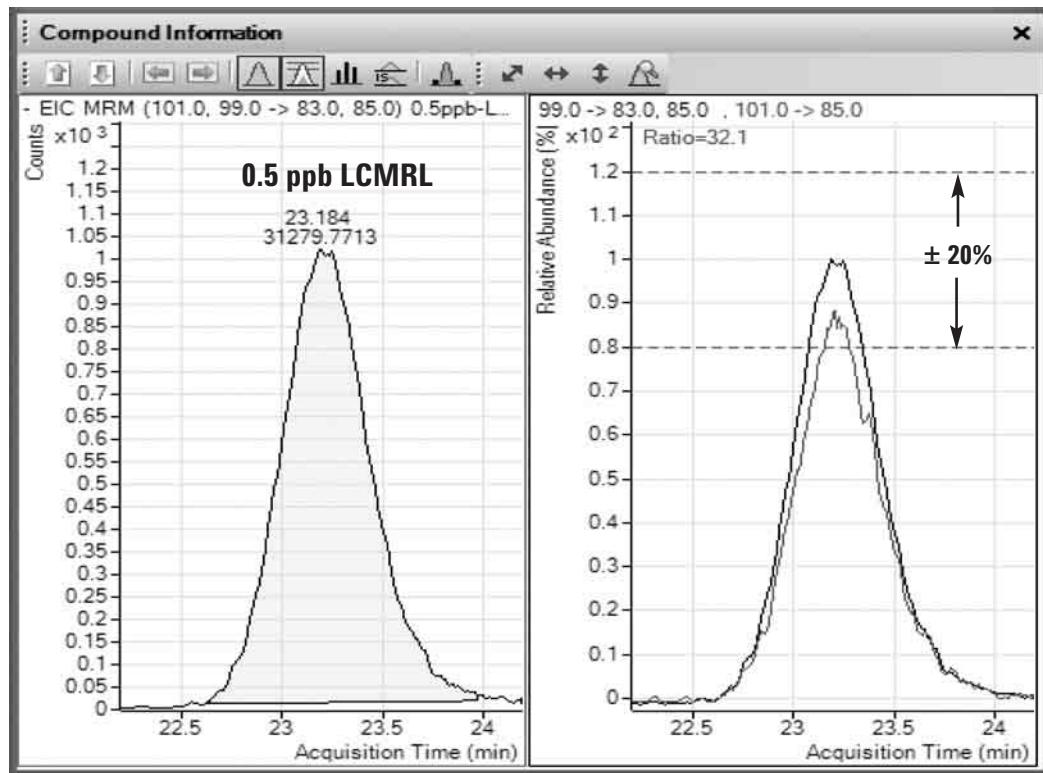


图 5. 采用定性/定量离子峰面积比确证高氯酸盐的存在

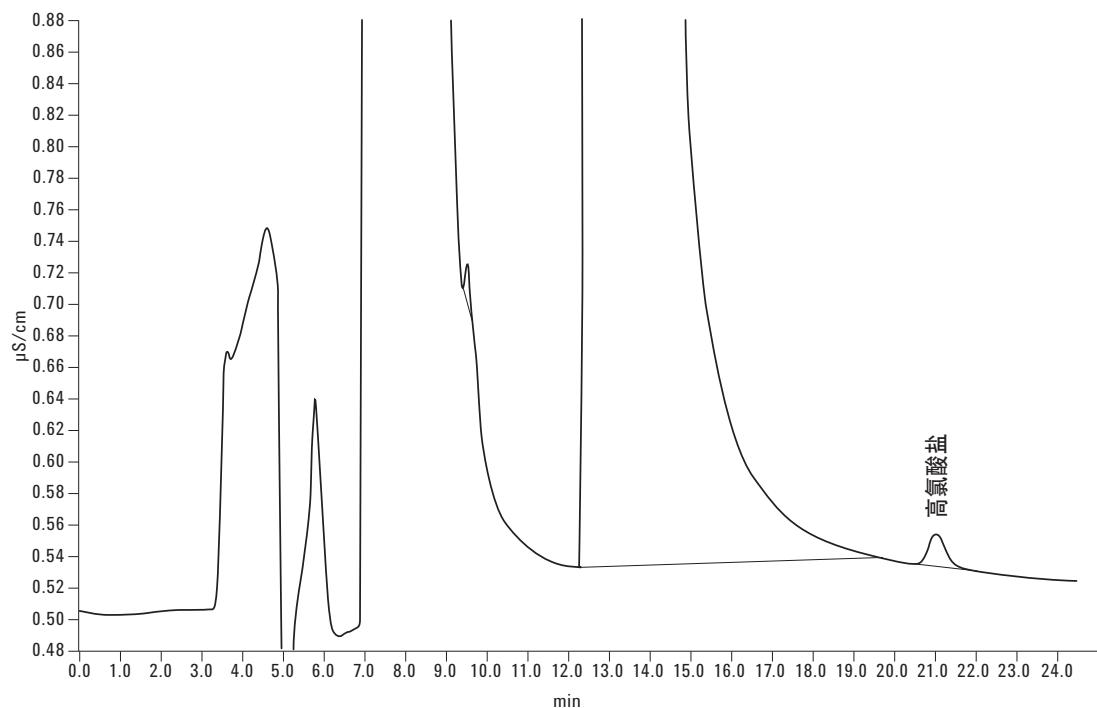


图 6. 3000 ppm TDS 存在下的 1 ppb 高氯酸盐 ($RT = 21$ min) 色谱图。电导 ($\mu S/sec$) 与时间 (min) 相对应的色谱图

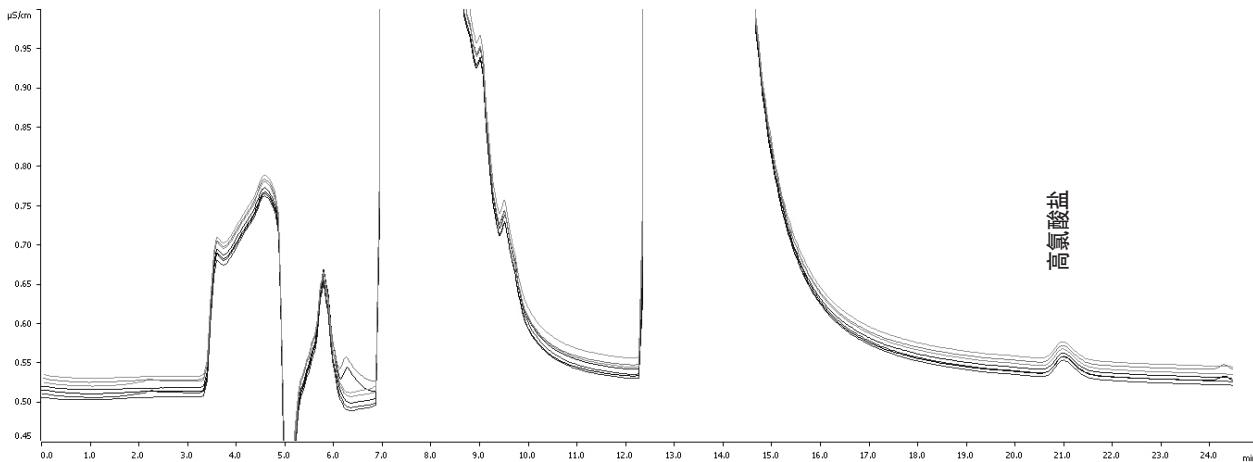


图 7. 3000 ppm TDS 存在下七次 1 ppb 高氯酸盐重复进样的重叠色谱图

表 2. 3000 ppm TDS 存在下七次 1 ppb 高氯酸盐重复进样的重复性
(浓度根据图 2 的电导校准曲线计算)

样品名称	高氯酸盐 ug/L
MDL-1	1.220
MDL-2	1.221
MDL-3	1.223
MDL-4	1.221
MDL-5	1.216
MDL-6	1.220
MDL-7	1.219
平均	1.220
标准偏差	0.002
RSD%	0.177
真实值	1.200
回收率%	101.67

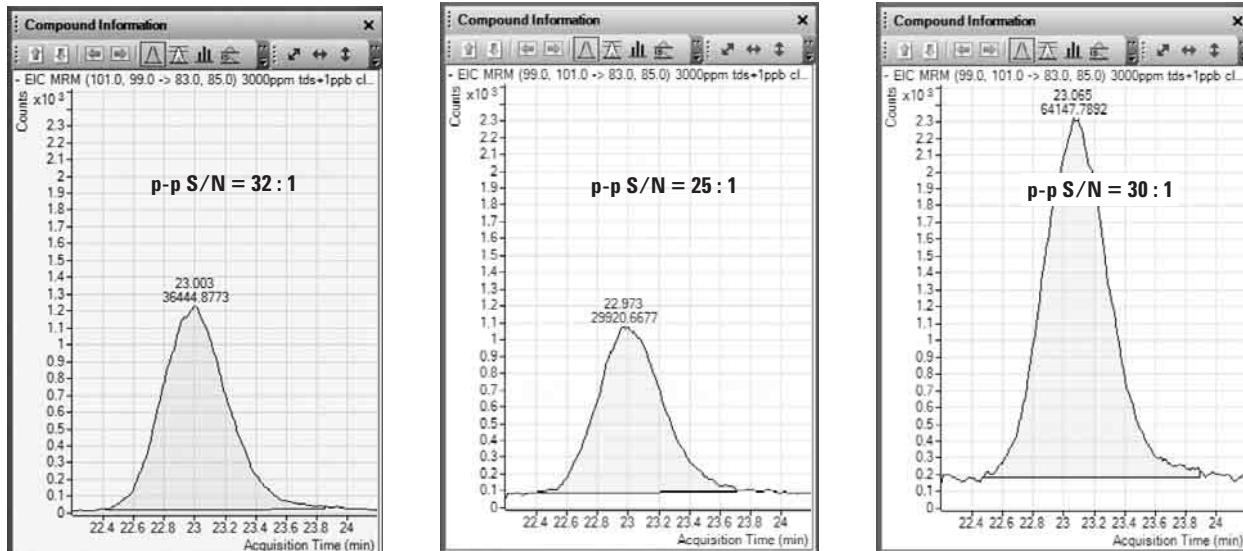


图 8. 在 3000 ppm TDS 存在下 1 ppb 高氯酸盐三次进样峰面积重复性的 RSD 为 41%

图 8 展示了在 3000 ppm TDS 存在下高氯酸盐三次进样的情况。峰面积重复性不是很好，并且能够看出明显受到试剂级水溶解的氯化物、碳酸盐和硫酸盐的影响。峰面积 RSD 大约是 41%，尽管最小峰峰信噪比 (p-p S/N) 为 25 : 1。

然而，当使用三重串联四极杆质谱分析盐水中的高氯酸盐时，重复性非常好。例如，如图 9 所示，三次进样 1000 ppm 盐水中的 1 ppb 高氯酸盐，峰面积重复性的 RSD 只有 0.63%。

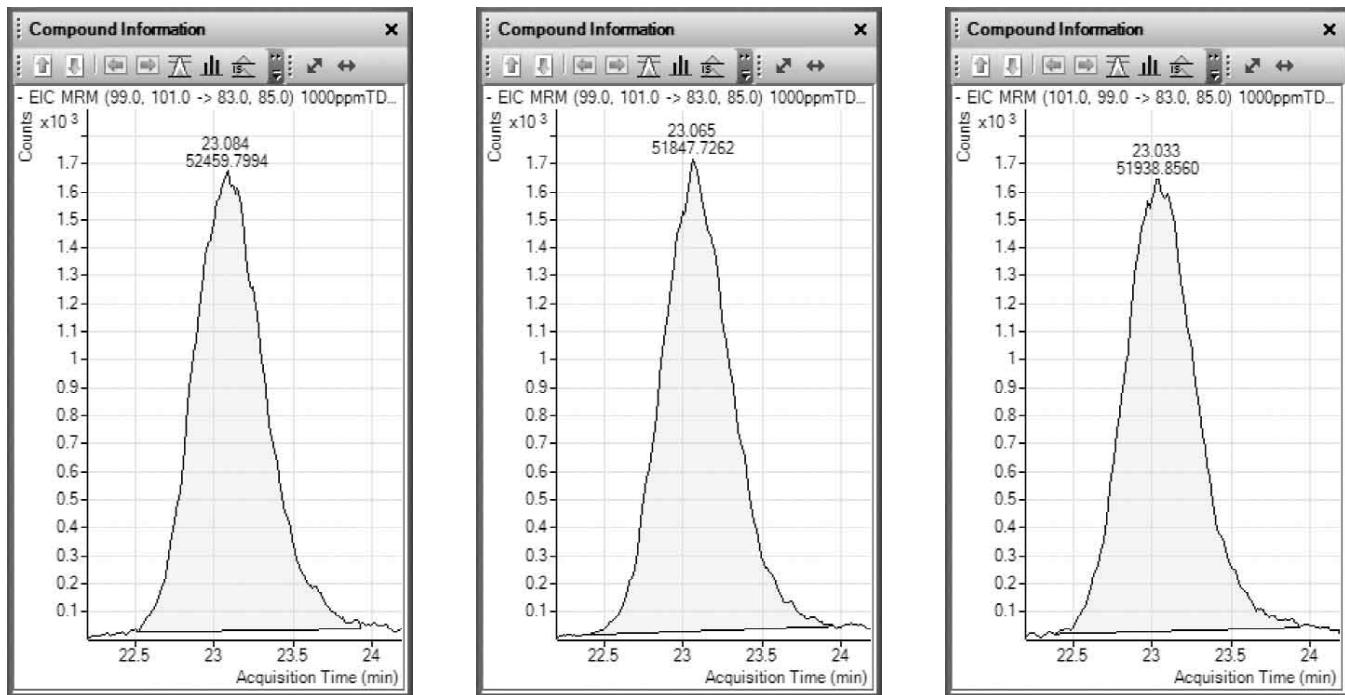


图 9. 在 1000 ppm 盐水中, 1 ppb 高氯酸盐三次进样峰面积重复性的 RSD 为 0.63%

结论

采用包含不同浓度氯化物、碳酸盐和硫酸盐等的 TDS 的试剂级水制备了校准标准溶液, 同时将 Metrohm 离子色谱系统与 Agilent 6410 三重串联四极杆质谱联用实现了水中高氯酸盐的分析。在高氯酸盐标准液 0.5-25 ppb 浓度范围内, 线性相关系数 $R^2 > 0.999$ 。三重串联四极杆质谱的线性相关系数 $R^2 > 0.998$, 浓度范围 0.01-10 ppb。采用三重串联四极杆质谱检测, 标准溶液七次进样的重复性也非常理想, 0.1 ppb 浓度七次进样峰面积重复性的 RSD 仅有 5.33%。

通过三重串联四极杆质谱的定性离子响应比对高氯酸盐也进行了确证。

在 3000 ppm TDS 浓度下, 七次高氯酸盐进样的重复性良好。使用 IC 电导检测器, 1 ppb 高氯酸盐分析的 RSD 仅为 0.2%。然而, 在负离子电喷雾模式下进行三重串联四极杆质谱检测, 尽管所有峰的峰峰信噪比至少为 25 : 1, RSD 在相同浓度水平下均可达到 41%。

当使用三重串联四极杆质谱分析盐水中的高氯酸盐时, 重复性非常理想。例如, 进样三次 1000 ppm 盐水中的 1 ppb 高氯酸盐, 峰面积重复性的 RSD 只有 0.63%。

致谢

M. Johnson 非常感谢 EPA 6 区的 David Neleigh、Rick McMillin 和 Melvin Ritter 博士的大力支持。

免责声明

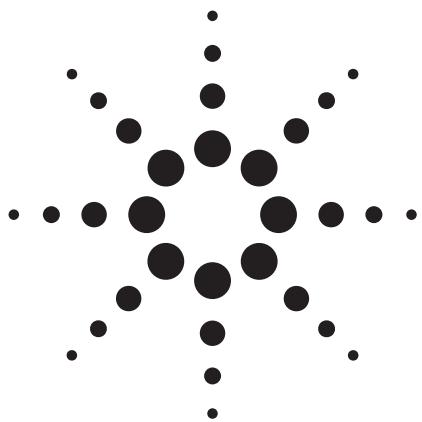
此处提到的任何具体商业产品或非营利性组织，流程或服务的商品名、商标、制造商或其它，并不一定构成或暗示其被认可、推荐，或美国政府的支持。本文作者表达的观点和意见并不说明或反映美国政府的观点和意见，并不得用于广告或产品代言。

更多信息

如需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。

本应用中有关离子色谱部分的更多详细信息，请联系 Metrohm - Peak, LLC 的 Jay Gandhi。

本应用中有关质谱部分的更多详细信息，请联系安捷伦科技有限公司的 Sheher Mohsin。



采用三重串联四极杆液质联用仪应对痕量全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 分析的挑战

应用简报 (5989-7790CHCN)

食品, 环境

作者

Robert D. Voyksner
LCMS Limited
PO Box 27228
Raleigh, NC 27611-7228
美国

Chin-Kai Meng
Agilent Technologies
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
美国

摘要

针对在复杂基质中很难实现的痕量全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 的定量分析, 建立了一种液相色谱-串联质谱 (LC/MS/MS) 分析方法。该技术使用同位素标记的分析物实现精确定量分析 (柱上量 0.4-400 pg)。重要的是, 应认识到如果使用直链样品作为标准品进行校准, 真实样品 (支链和直链异构体的混合物) 的定量分析结果将偏离至少 40%。

前言

全氟辛酸 (PFOA) 是一种工业表面活性剂, 也是制造含氟聚合物时必需的一种加工助剂 [1]。含氟聚合物具有许多有价值的特性, 包括耐火性和防止油类、污渍、油脂, 以及水的吸附全氟辛酸的一个主要用途是用于聚四氟乙烯 (PTFE) 的加工, 它更广泛地被称为特氟隆®。全氟辛酸还是些加工过程的副产物, 如加工直接和间接接触食品的包装 (例如微波爆米花袋、松饼或炸薯条袋、比萨包装盒衬垫、汉堡包盒和三明治包装等), 以及具有防水和抗污功能的衣物制造。

全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 常以钠盐和钾盐的形式存在, 统称为全氟辛烷磺酸盐。见图 1。

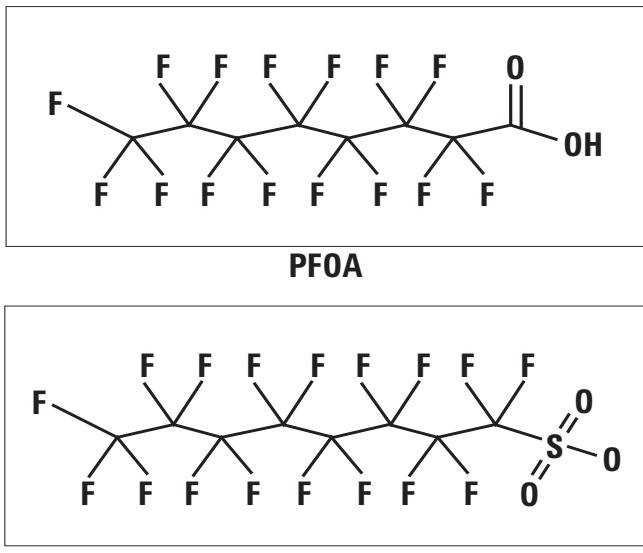


图 1. 全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 的化学结构。注意两者均含有 C8 链

全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 的分析方法

- 由于在复杂基质分析中具有高检测灵敏度和高专属性, 所以液相色谱-串联质谱是首选的检测方法
- 采用多反应监测 (MRM) 模式进行定量分析, 使用两个或更多子离子进行确证
- 检测限通常在 1-100 pg/mL (ppt) 范围, 要求高灵敏度检测
- 在线或离线固相萃取 (SPE) 和富集技术对于实现低浓度水平 (1 pg/mL) 的检测是必要的

全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 检测

问题 1: 当采用直链标准品进行定量分析时, 应使用哪种 *transitions* 来获得最高的准确度?

虽然全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 的定量分析一般采用直链标准品, 但是在实际样品中除了含有直链异构体外, 还同时含有一系列支链异构体。这些异构体的比例随其在生物降解和工业加工过程中生成状态的不同而不同; 因此, 不太可

能构造出一个与实际样品组成相似的标准品。MRM transitions 的相对强度也会随着支链异构体分支状况不同而不同, 这就使一些 transitions 的使用优于其它 transitions。异构体分支状况影响离子化效率和 CID 能量; 因此, 它会影响分析测定的准确度 [2]。

问题 2: 能够在基质中使用同位素标记的标准品来测定非标记的全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 吗?

大多数生物和环境样品基质都含有一定水平的全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS); 即使使用基质匹配的校准物也可以获得满意的结果, 提高准确度。添加标准品可以解决这个问题, 但这需要在分析中增加进样次数。样品基质可能含有不同强度的背景响应。添加标准品的方法并不适用于分析不同基质类型的样品。溶剂校准并不能校正基质效应。

实验部分

样品制备

- 所有溶剂标准品均使用甲醇制备
- 通过乙腈沉淀和离心制备血浆提取物, 取上层液用已知浓度的全氟辛酸 (PFOA) 或全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 溶液进行加标处理

液相色谱

- Agilent 1200 Rapid Resolution 液相色谱系统
- ZORBAX Eclipse Plus C18 快速分离高通量色谱柱 2.1 cm × 50 mm, 1.8-μm 填料 (部件号 959741-902)
- 进样量为 20 μL, 流速为 0.4 mL/min
- 10 min 内流动相 B 从 0% 升到 100%, A = 2 mM 乙酸铵水溶液; B = 甲醇

串联质谱

- 安捷伦三重串联四极杆质谱
- 负离子检测
- 毛细管电压为 3500 V, 干燥气流速为 9.5 L/min, 温度为 350 °C, 雾化器压力为 45 psi
- 碎裂电压、碰撞能量 (CE) 和 transitions 依实验情况而定

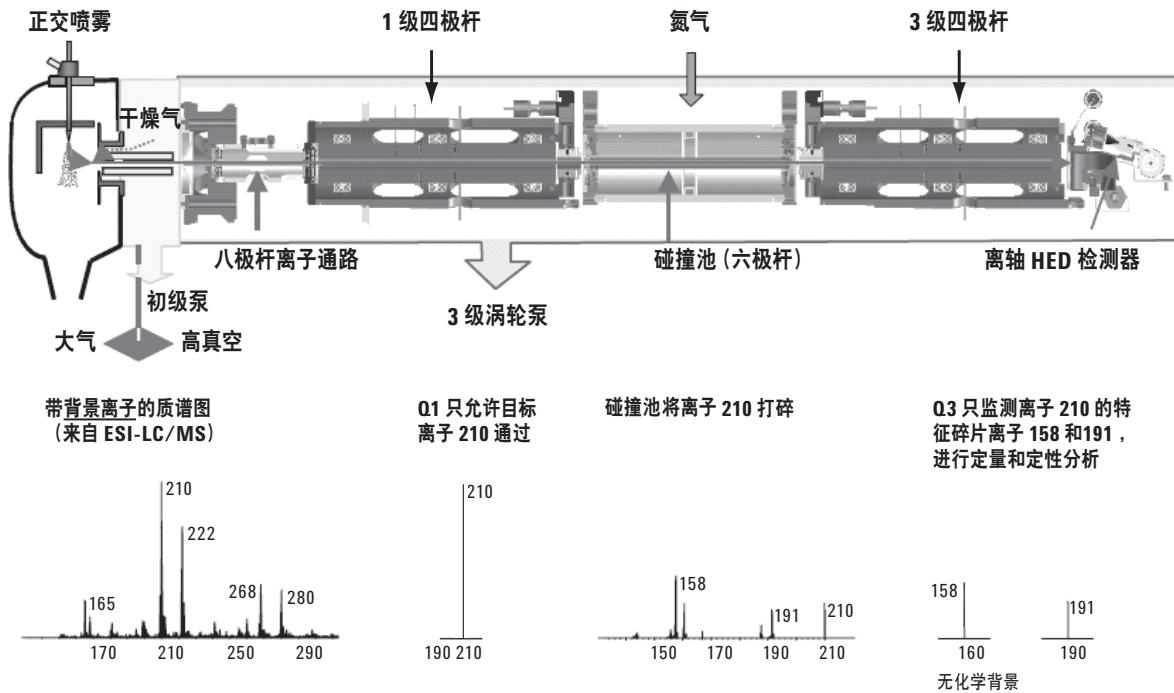


图 2. 仪器内假设样品的离子转换质谱图特征序列之上的 Agilent 6410 QQQ 质谱仪剖面图（无 PFOA 或 PFOS）。注意最后的质谱图非常干净，只包含所需的目标离子。（HED = 高能打拿极电子倍增器）

多反应监测 (MRM)

图 2 展示了一个在仪器内假设的离子 transitions 谱图特征序列之上的 Agilent 6410 QQQ 质谱仪剖面图。

离子源产生的离子显示在图的最左端。然后从这个离子混合物中选择目标母离子，并通过作为质量过滤器的 Q1 四极杆分离。这类似于选择离子监测 (SIM)。通过 Q1 之后，在碰撞池 (Q2，尽管不是一个四极杆) 产生具有母离子专属结构特征的碎片离子。通过使用 Q3 四极杆，这些碎片离子被筛选并被检测器测量。这是碰撞诱导裂解 (CID) 的选择形式，称做串联质谱。针对碰撞池中存在的特定碎片离子，通过设定 Q3，可以从分析信号中去除几乎全部的化学或者背景噪音，显著提高了信噪比。离子 210 为母离子，而离子 158 和 191 为子离子。每一个 transitions (210&191 或 210&158) 都是对于特定目标物的反应。通常，QQQ 用于检测多种分析物或者质量 transitions，因此被称为 MRM。离子 158 可被认为是定量离子，因为它具有最大的响应强度，而通过使用 191 定性离子与 158 定量离子峰面积的比可作

为确证判定标准，来确证离子 191。通过使用 MRM，大多数化学噪音在 Q1 中被消除，并在 Q3 中被进一步消除，从而可以使我们实现 ppt 级的检测。

碎裂电压是玻璃毛细管出口端的电压，那里的气压约为 1 mTorr。需要对碎裂电压和碰撞能量进行优化。若碎裂电压太小，将无法有足够的力量推动离子通过气体。若碎裂电压太大，在真空中会导致母离子于分析前发生 CID，从而降低检测灵敏度。最终的电压大小取决于化合物性质、质量数和所带电荷数，因此电压需要优化以获得最高的检测灵敏度。碰撞池中的 CE 也需要优化，以生成每种目标化合物最高强度的代表性离子。碰撞池电压取决于化合物的键合强度、分子量，以及离子形成的途径（直接从母离子生成，或者通过一系列中间过程生成）。通常每种子离子都会有最优的碰撞能量，从而获得最高的信号丰度。

要求实验操作达到最优的条件，一系列实验示例见图 3-5。

两化合物全氟辛酸 (PFOA) (m/z 413) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) (m/z 499) 的 $[M-H]^-$ 离子碎裂电压的优化见图 3。

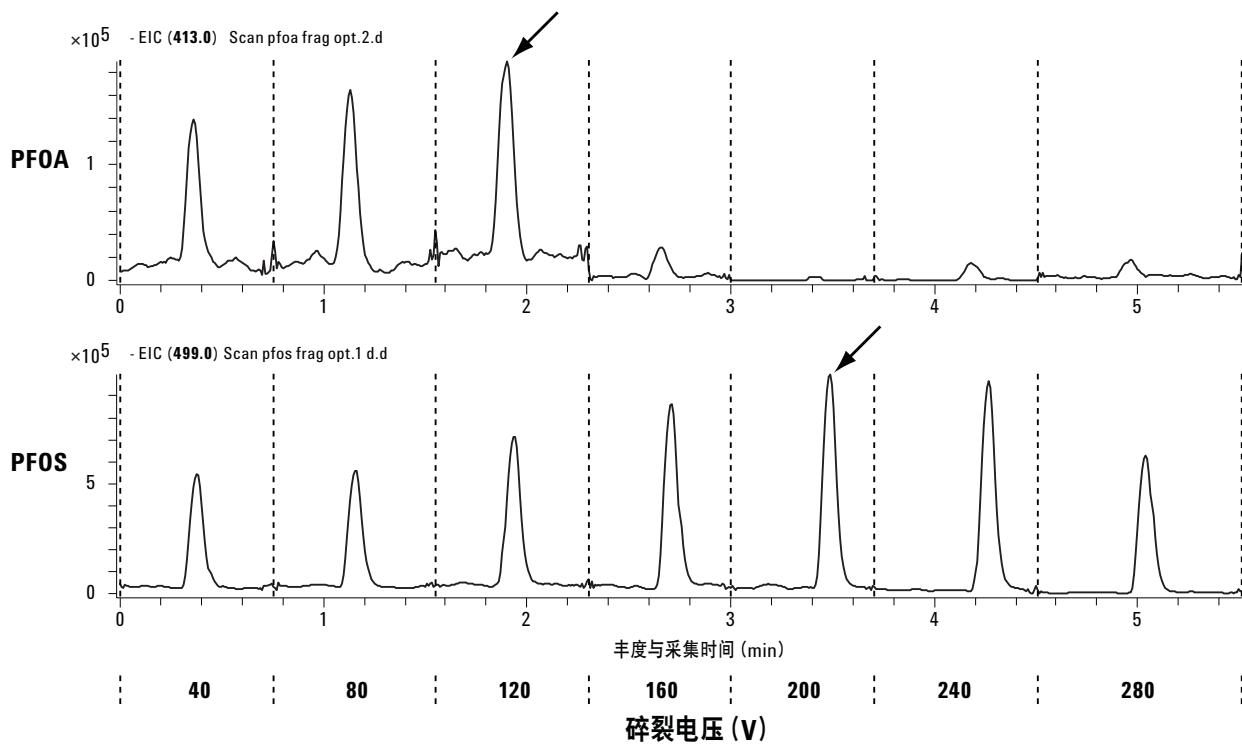


图 3. 通过对系列信号强度与施加电压作图, 确定最佳的碎裂电压

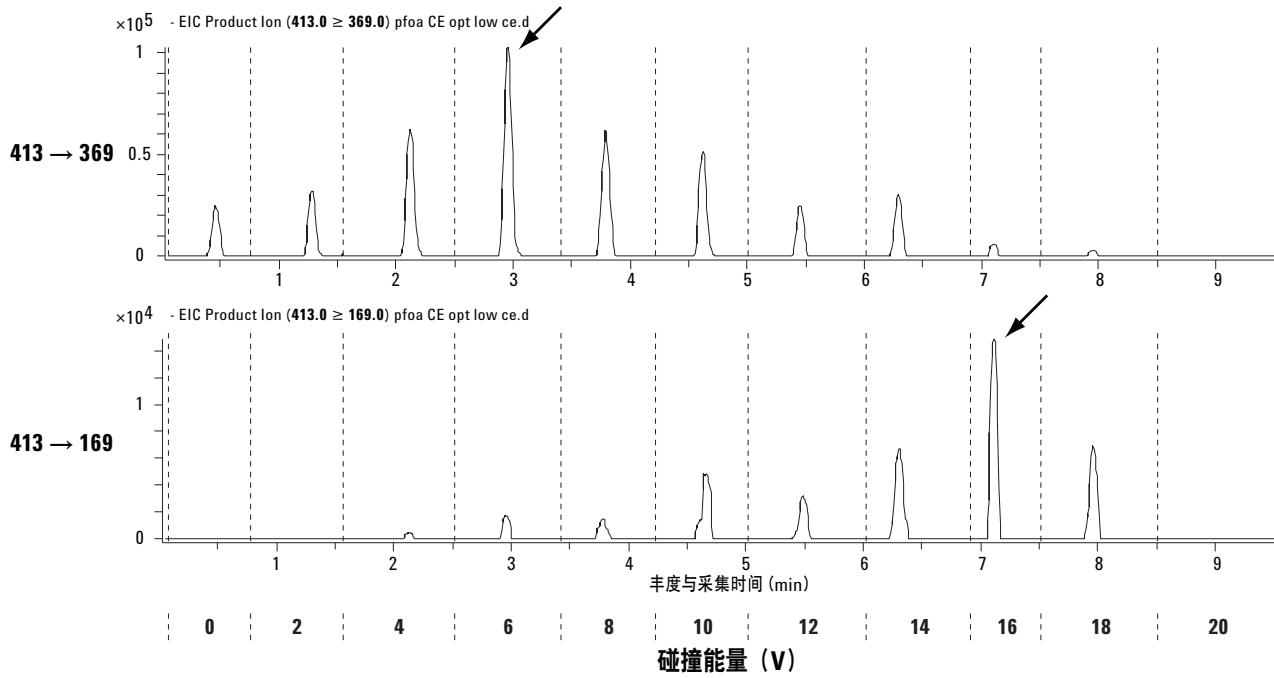


图 4. 信号强度表征全氟辛酸 (PFOA) 子离子 m/z 369 [$M-CO_2H$] 和 m/z 169 [$C_3F_7^+$] 的碰撞能量

请注意在全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 最佳的碎裂电压条件下 (200 V)，全氟辛酸 (PFOA) 几乎检测不到信号。离子 413 和 499 被称做母离子。PFOA 相对易碎裂，它的母离子信号强度在 160 V 时即会下降。全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 比全氟辛酸 (PFOA) 较难碎裂，它的最佳碎裂电压是 200 V。

通过实验可以确定子离子 m/z 369 [$M-CO_2H$] 和 m/z 169 [C_3F_7]⁺ 合适的碰撞能量，并用于全氟辛酸 (PFOA) 的定量分析。见图 4。

任何情况下，我们选择在分析中可获得每种离子最高强度峰的碰

撞能量。全氟辛酸 (PFOA) 仅需要很小的碰撞能量即可碎裂产生离子 m/z 369 (6 V 时可获得最高强度)。

为获得 m/z 169 时最高的离子强度，碰撞能量需设为 16 V。

使用 QQQ 软件可以非常快速地转换碰撞能量。所以在方法优化中，可以为每个离子的 transition 选择最佳碰撞电压。

全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 的子离子 m/z 169、99 和 80 也以相同的方式通过实验测得并用于其定量分析。三个离子 transitions 的最佳碰撞能量分别是 45 V、50 V 和 70 V。见图 5。

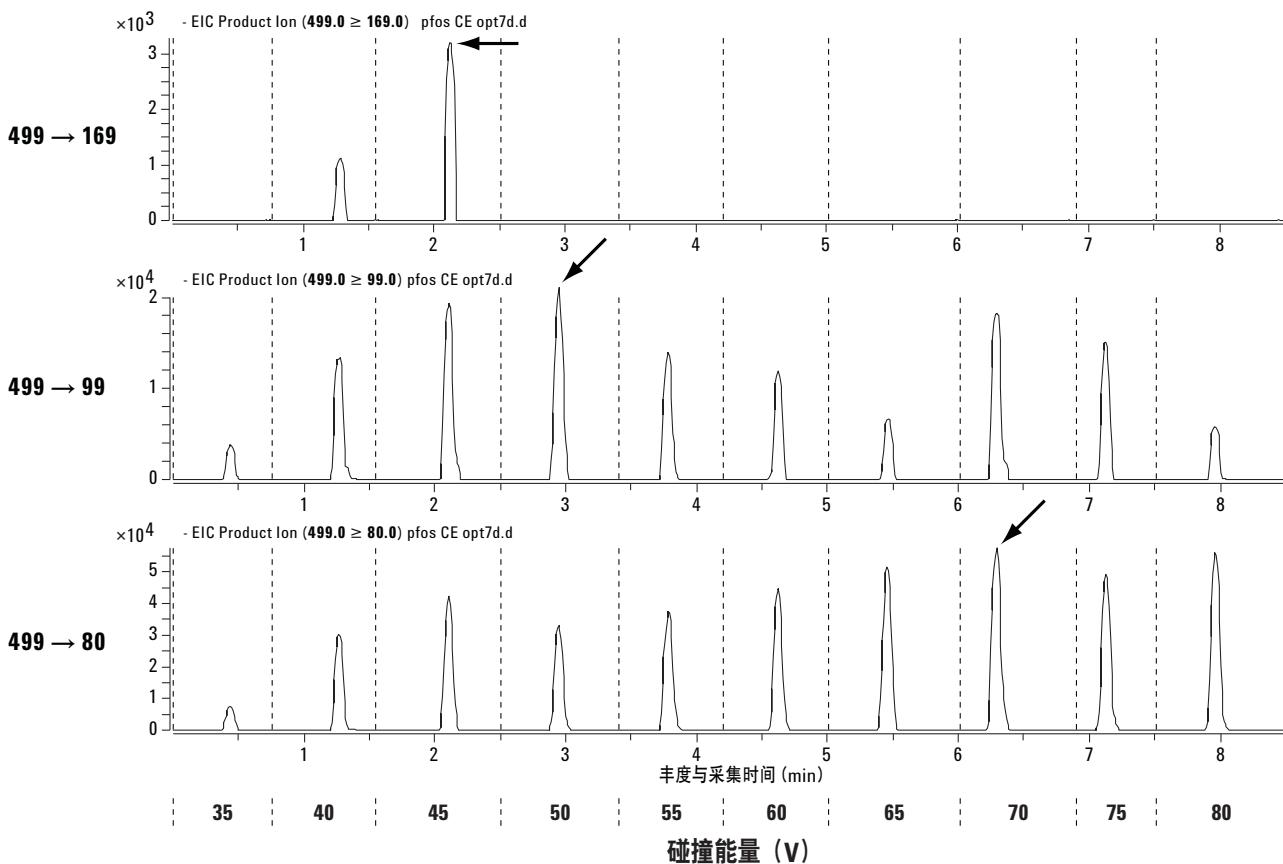
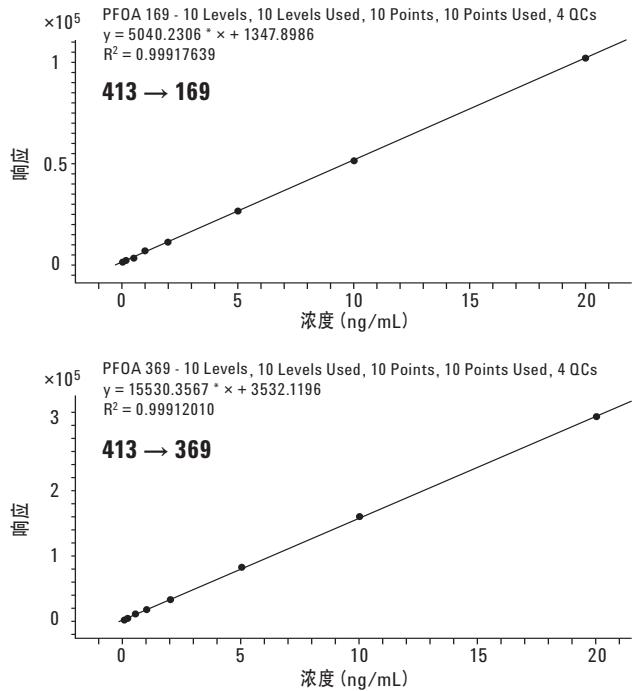
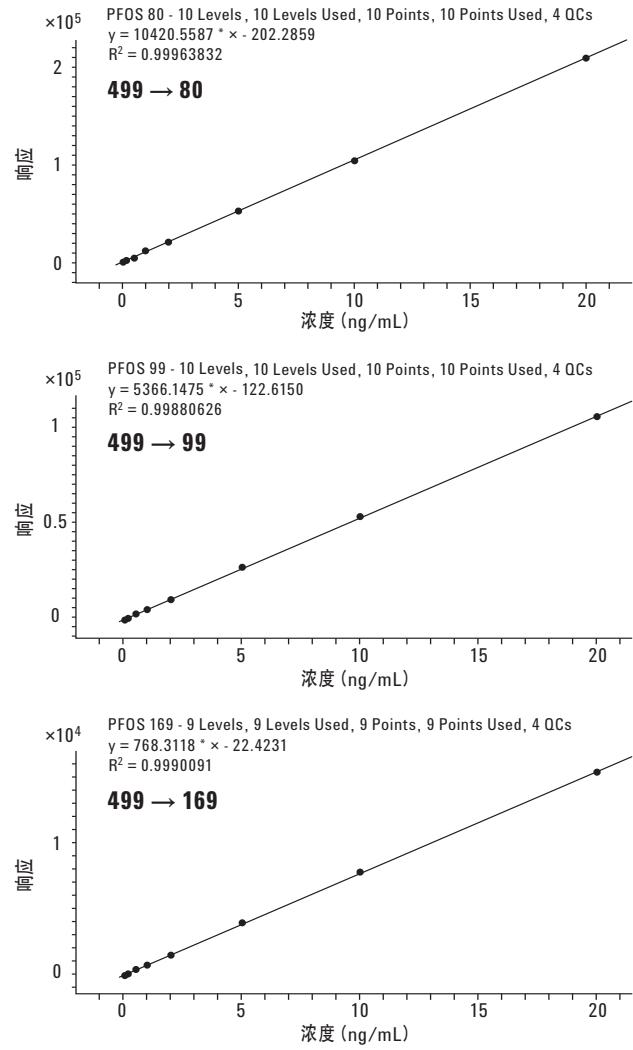


图 5. 信号强度表征 PFOS 子离子 m/z 169、99 和 80 的碰撞能量

PFOA



PFOS



浓度范围 0.02-20 ng/mL (柱上进样量 0.4-400 pg)

图 6. 用于测定 PFOA 和 PFOS 的子离子的校准曲线

值得注意的是，全氟辛酸（PFOA）（6-16 V）与全氟辛烷磺酸盐（PFOS）（45-70 V）两者间的碰撞能量差异很大。从碎裂电压的优化可以看出，与全氟辛烷磺酸盐（PFOS）相比，全氟辛酸（PFOA）相对来说更易碎，其最佳碎裂电压分别为 120 V 和 200 V。CE 也在这方面有所加强。

用于定量分析全氟辛酸（PFOA）和全氟辛烷磺酸盐（PFOS）的特定子离子的校准曲线见图 6。分析人员也可以利用这些 MRM transitions 的强度加合来获得校准曲线。

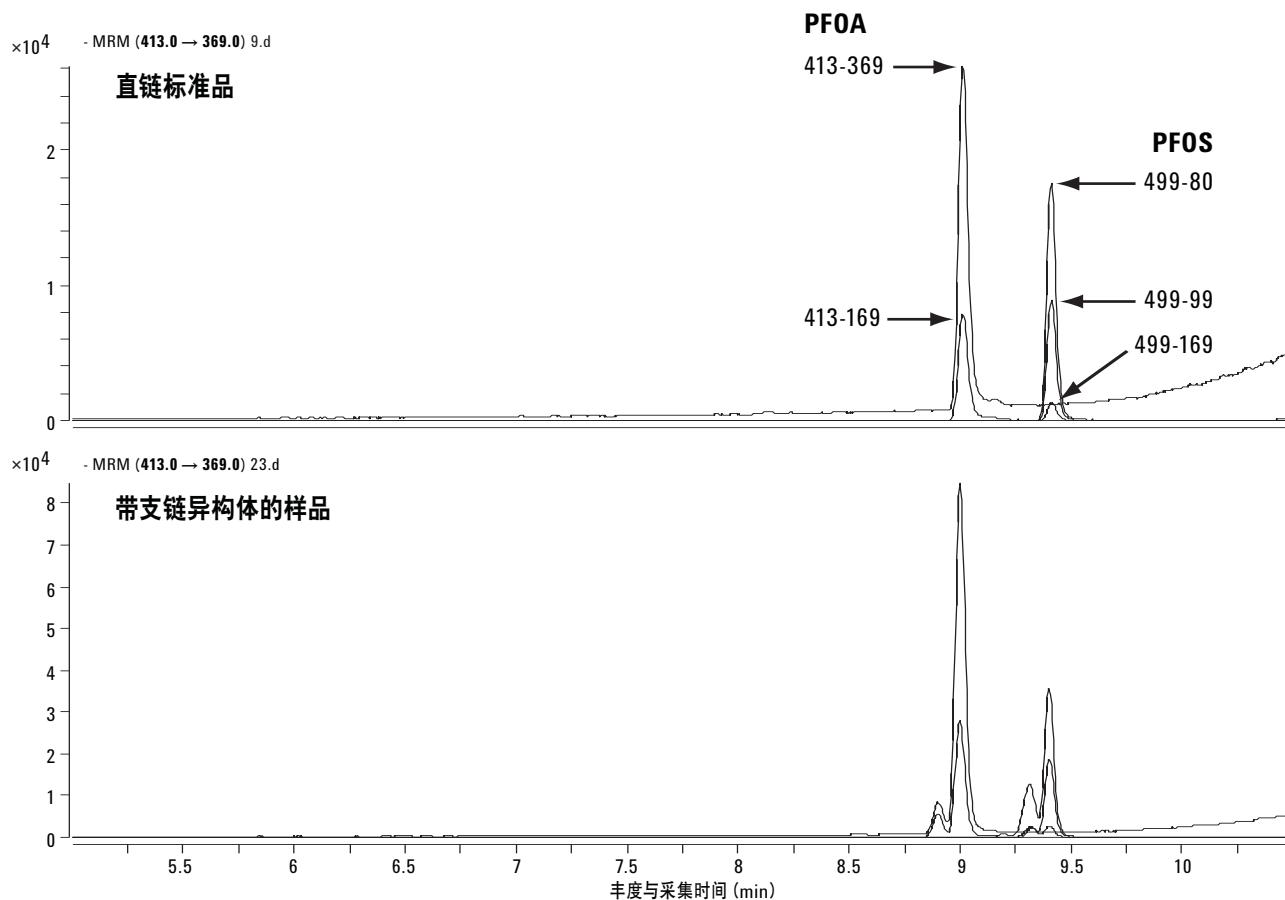


图 7. PFOA 和 PFOS 的直链和支链样品的 MRM 色谱图

这五个 transitions 的线性相关系数大于 0.998，在三个数量级范围内可实现良好的定量分析。请注意最低的柱上量是 0.4 pg。

关于问题 1：当采用直链标准品进行定量分析时，应使用哪种 transitions 来获得最高的准确度？

可以利用图 7-9 来加以说明。

图 7 展示了全氟辛酸 (PFOA) 和全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) 的直链标准品和包含支链异构体样品 (10 min 的梯度洗脱) 的代表性 transitions 的色谱图。

由于实际样品是在制造过程、新陈代谢和降解过程中产生的，所以应该通过支链异构体来检测。图 7 顶部的色谱图仅显示了标准品的直链化合物。底部色谱图显示的是一个来自环境中的实际样品。在色谱图中能看出来自支链异构体的附加峰（肩峰）。

可在图 8 中更详细地检查这些峰。

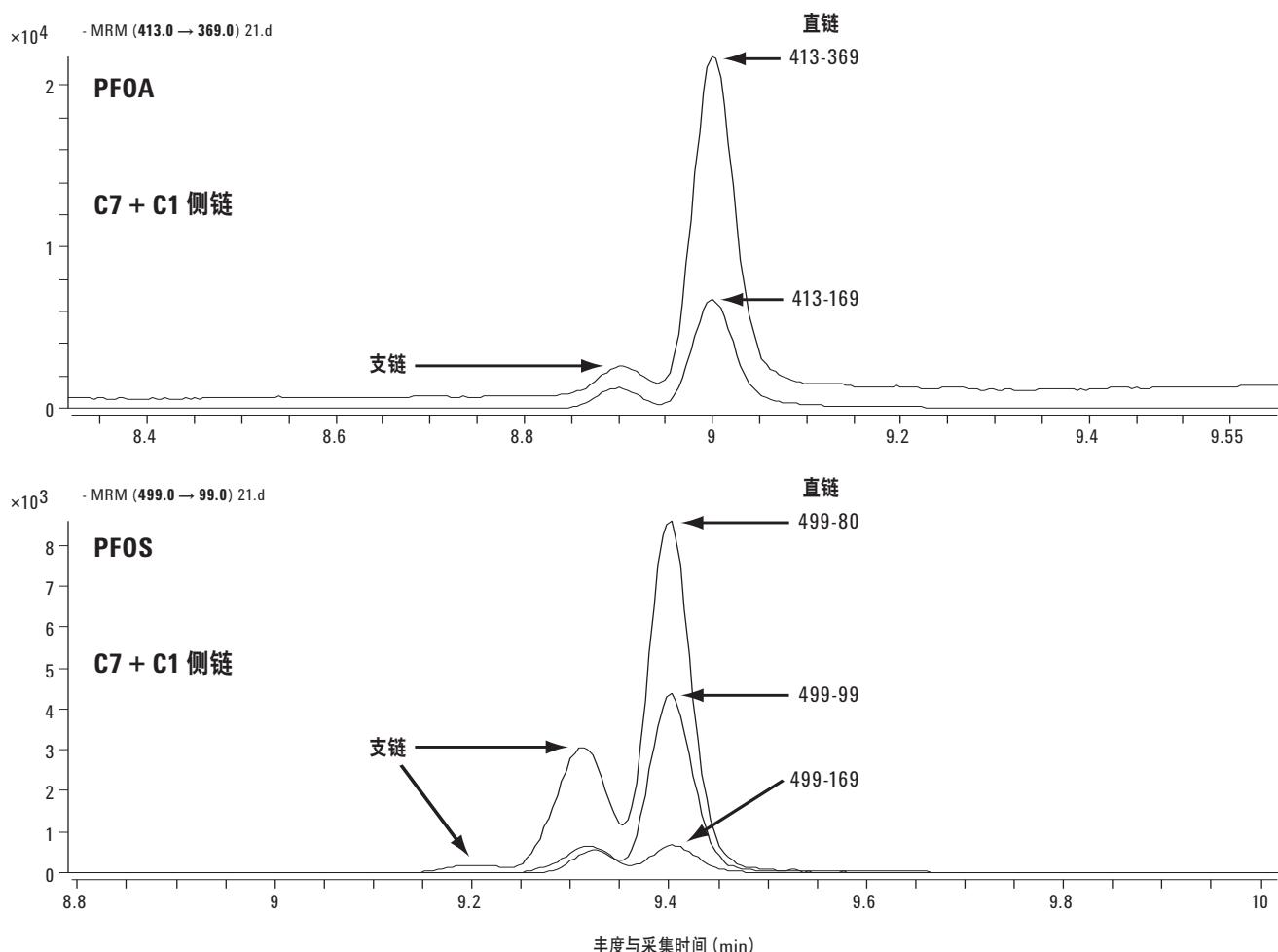


图 8. PFOA 和 PFOS 直链和支链样品的 MRM 色谱图

每个 MRM transitions 的相对丰度大小取决于化合物的分支位置和特定质量 transitions。图 8 展示了一个 10 min 的运行分析。直链和支链异构体可以实现色谱分离。支链样品是一个典型的带有甲基侧链的 C7 链（异辛基异构体）。分析中最有趣的是，支链化合物的离子比例与直链化合物的非常不同 [3,4,5]。对于直链全氟辛酸 (PFOA)，离子 m/z 169 大约是离子 369 的 30%-40%，而支链异构体的这个比例是 90%-100%。

分析中的另一个变量是梯度洗脱时间。图 9 比较 3 min 与 10 min 梯度洗脱的效果。

在快速洗脱的情况下（右图），分支异构体（虚线）没有与直链异构体（实线）分离，导致测量值出现显著误差（PFOS 最为明显）。

左边的两张色谱图与图 8 中的相同。它们在这儿用来与右图未分离的分析物（3 min 的运行分析）进行比较。虽然希望能够减少分析时间，但支链和直链异构体必须实现分离以获得准确的定量结果。

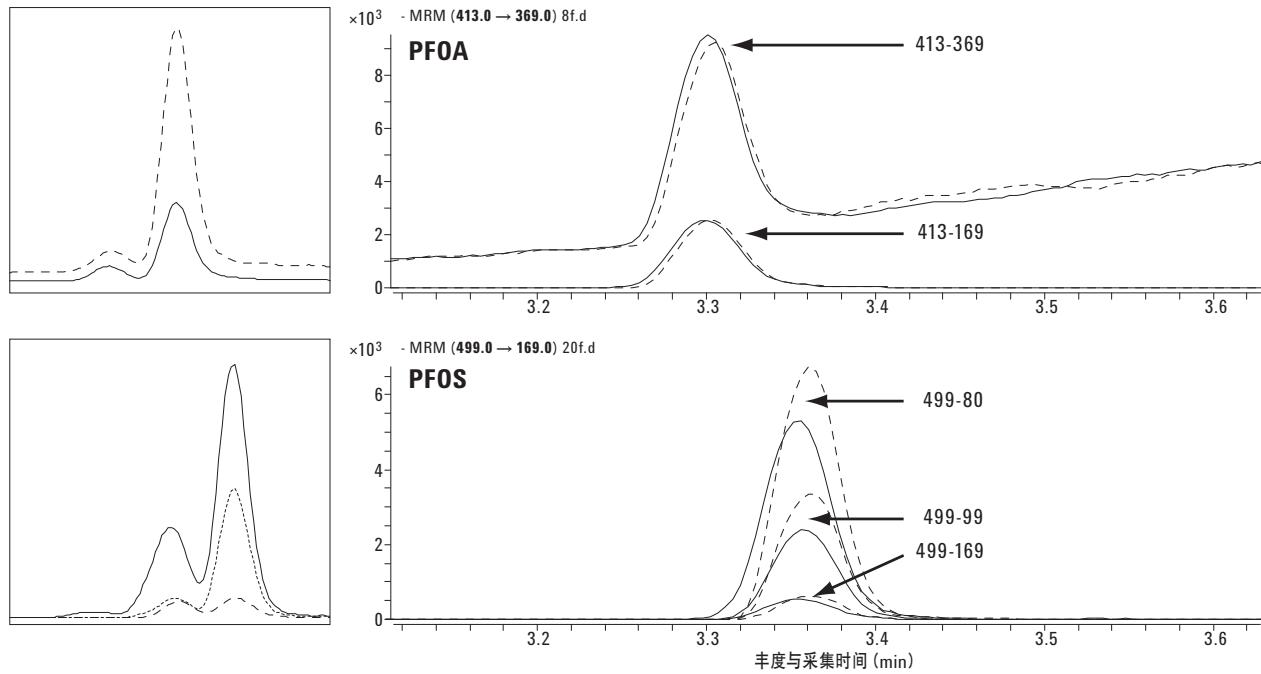


图 9. 对分别采用 10 min 和 3 min 梯度洗脱得到的 PFOA 和 PFOS MRM 色谱图进行对比。右图为运行 3 min 时梯度洗脱的色谱图

两个样品浓度相同。一个样品是纯粹的直链异构体，而另一个则混有支链异构体。假如其 MRM 响应（离子比例）相同，即使这些异构体未分开，它们也可以获得相同的结果。但实例显示，当这些异构体未分开时，其响应不同。如果分别加入同一样品带侧链的分析物和直链分析物的响应，每个离子 transitions 的响应面积则与纯直链分析物的不同，如右侧两张色谱图所示，全氟辛烷磺酸盐（PFOS）最明显。假如使用直链样品作为标准品进行校准，真实样品（支链和直链异构体的混合物）的定量分析结果将偏离至少 40%（见表 1）。定量分析将会失败。

与每个 MRM transition 的直链标准品相比，含支链样品的总 PFOA 和 PFOS 测量准确度（非离子比例）的影响见表 1。

表 1. 测量准确度（目标物为 100%）与化合物、transition 及运行时间的关系

化合物	MRM transition	百分比响应 (n = 8)	
		运行 10 min	运行 3 min
PFOA	413→369	105.9	108.2
	413→169	96.4	89.4
PFOS	499→169	102.5	112.2
	499→99	75.0	73.3
	499→80	59.3	61.1

最佳的 MRM 离子用粗体表示。最佳的 PFOA 分析结果可通过两个 MRM 离子的响应平均值获得

离子比例不合适会导致定量失败。对于全氟辛酸（PFOA），运行 3 min 抑或 10 min 影响不大：离子 369 transition 的响应总是较高，而离子 169 transition 的响应总是较低。运行 3 min 的分析误差较大。PFOS 分析的偏差更大。在文献中，PFOS 分析监测了离子 80 transition，但它的结果偏差很大，可低至 60%，见表 1。499&169 是用于定量分析的理想 transition。它非常准确，但与 499&80 相比，其检测灵敏度较低。

关于问题 2：能够在基质中使用同位素标记的标准品来测量非标记的全氟辛烷磺酸盐（PFOS）和全氟辛酸（PFOA）吗？

可以利用图 10-12 来说明。

关于不同基质对信号响应的影响见图 10。较高的曲线反映了甲醇中全氟辛酸（PFOA）的响应。当相同量的全氟辛酸（PFOA）加到血浆提取物中后，响应出现下降。

基质效应（通常采用电喷雾离子化）会导致信号抑制或增强；因此，为实现准确的定量分析，需要采用基质匹配的标准品进行校准。由于全氟辛烷磺酸盐（PFOS）和全氟辛酸（PFOA）基质背景水平不同，无法使用基质匹配的标准品进行校准并定量分析所研究样品中全氟辛烷磺酸盐（PFOS）或全氟辛酸（PFOA）的浓度。而且，添加标准品的方法对于含不同水平目标分析物的多种基质来说也不实用。

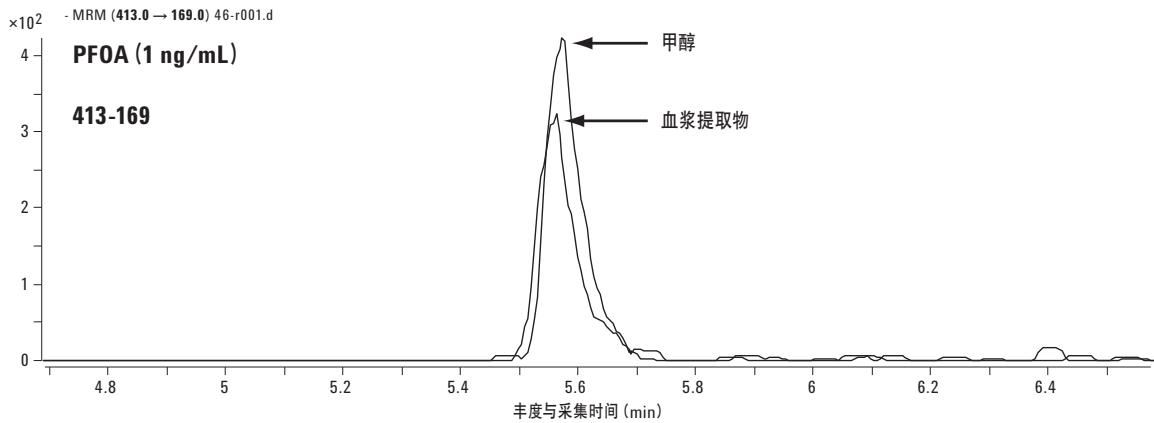
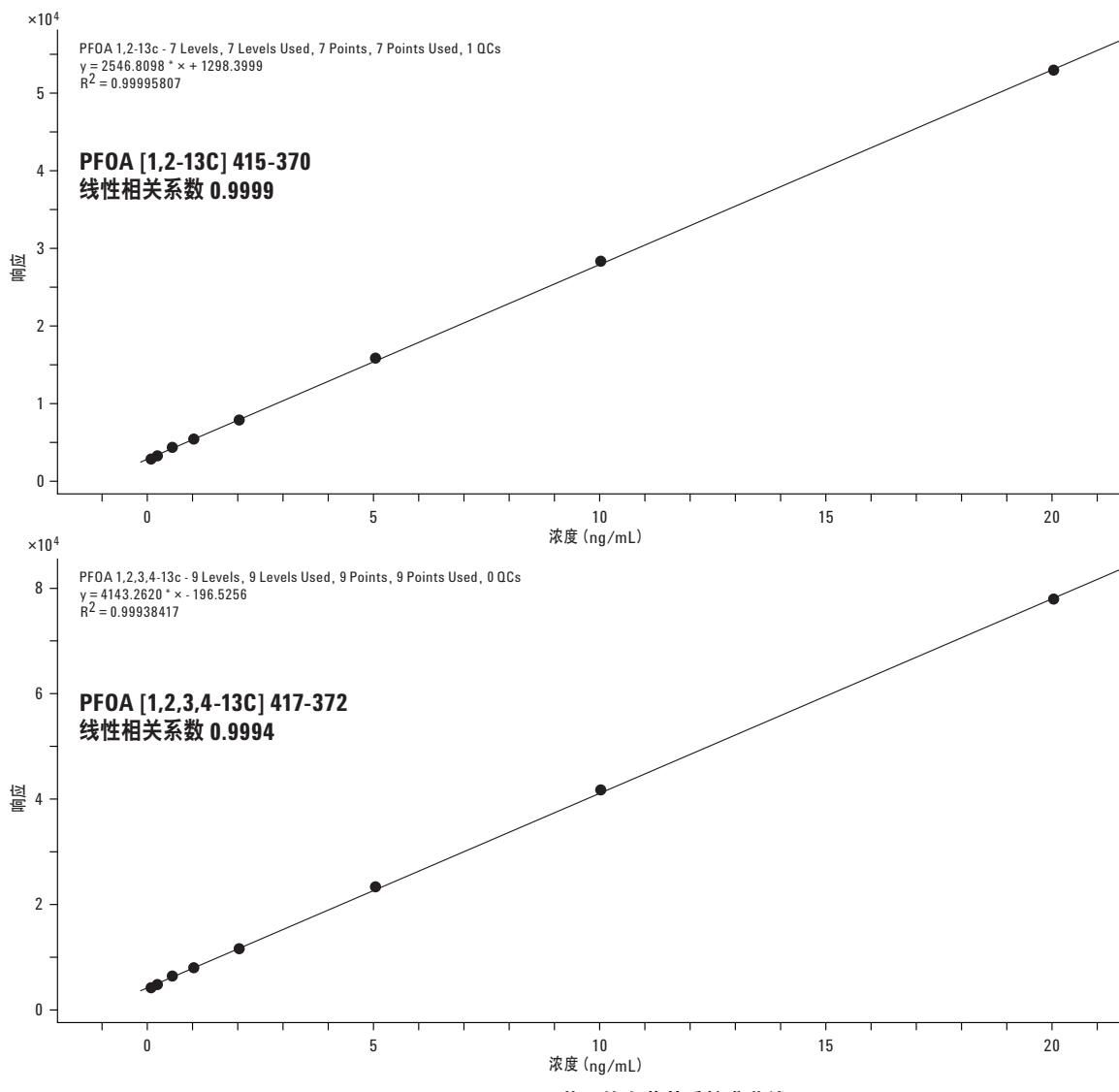


图 10. 相同浓度下, PFOA 在甲醇和血浆提取物中的响应



0.02-20 ng/mL 范围的血浆基质校准曲线

图 11. 采用两种不同的同位素标记校准标准品实现的 PFOA 的线性相关性

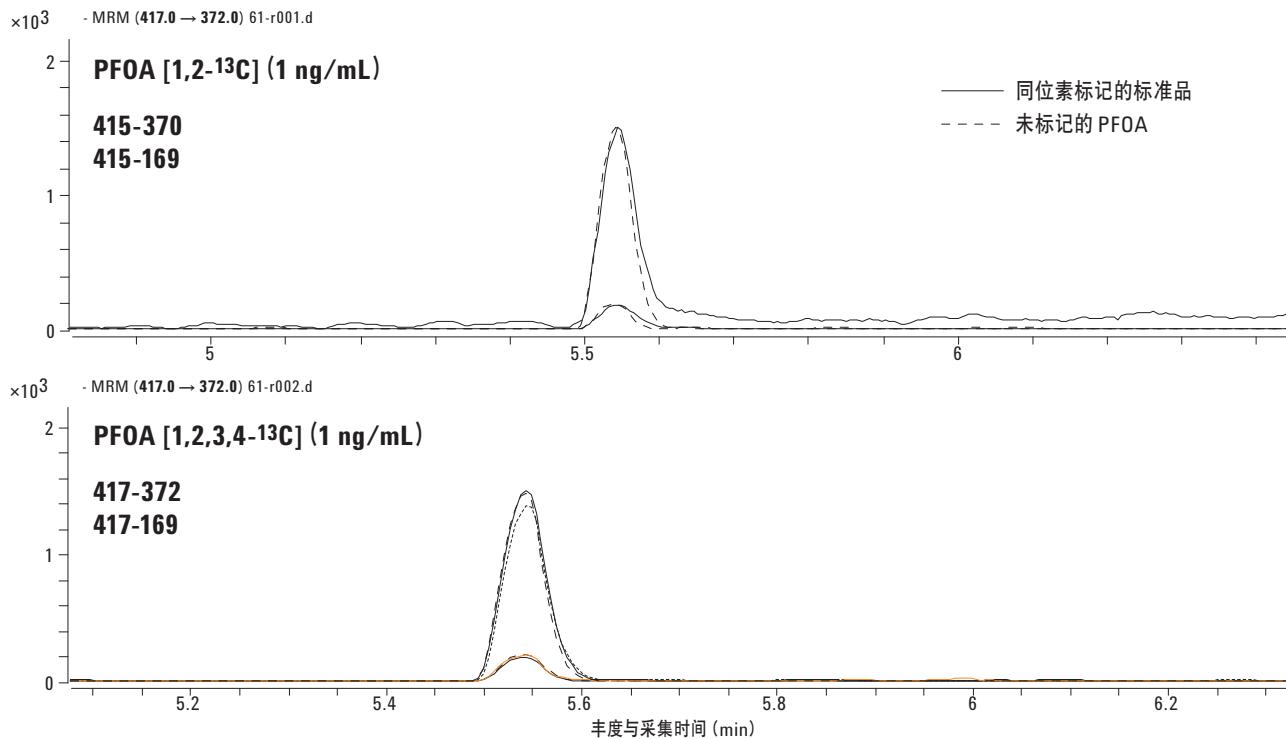


图 12. 两种同位素标记的 PFOA 化合物与未标记的 PFOA 具有良好的相关性。标记和未标记的 PFOA 使用了相同的 transitions

表 2. 测定血浆中的 PFOA 时不同基质匹配的校准效果比较

校准标准品	校准用基质	血浆样品响应 (标准偏差)
1 PFOA	MeOH	71 ($\pm 33\%$)
2 PFOA [1,2- ¹³ C]	Plasma	100.4 ($\pm 3.1\%$)
3 PFOA [1,2,3,4- ¹³ C]	Plasma	97.3 ($\pm 5.1\%$)

采用同位素标记的 PFOA 进行基质匹配校准效果良好

为了实现实用性, 考察了采用同位素标记的基质匹配的标准品测量全氟辛酸 (PFOA) 的方法。结果见图 11 和 12。

图 11 表明, 同位素标记的标准品可在 0.02-20 ng/mL (柱上量 0.4-400 pg) 定量范围内得到良好的线性校准曲线。并且得到优异的线性相关系数 (≥ 0.9994)。

第 1 行数据中, 校准标准品采用甲醇作为溶剂, 由于基质抑制效应, 血浆样品仅显示了 71% 的响应。因此, 我们不能使用甲醇溶解的校准标准品来定量分析含基质的样品, 因为偏差达到将近 30%。第 2 和第 3 行数据表明, 如果在基质中使用同位素标记的化合物进行校准, 实际血浆样品就可以得到准确的分析结果: 100% 和 97%。

结论

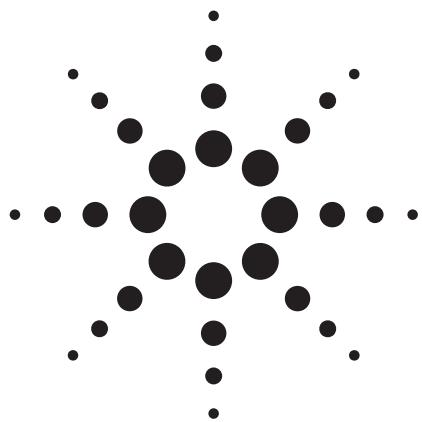
- 安捷伦三重串联四极杆液质联用仪 (LC/QQQ) 是定量分析复杂基质中痕量目标化合物的理想仪器
- 用于分析的最佳 transitions 需要通过实验确定
- 碎裂电压和碰撞能量需要通过实验确定和优化
- 在 QQQ 中使用 MRM 可以获得复杂基质样品分析中最低的检测限
- 如果不进行校正, 支链 PFOA/PFOS 可使定量准确度偏离 40%
- 基质抑制效应可导致定量分析结果的准确度下降 30%。使用同位素标记的分析物能够准确定量基质中不同背景水平的全氟辛酸 (PFOA) /全氟辛烷磺酸盐 (PFOS) , 效果良好

参考文献

1. Perfluoroctanoic Acid (PFOA), USEPA, <http://www.epa.gov/oppt/pfoa/>
2. T. J. Wallington, M. D. Hurley, J. Xia, D. J. Wuebbles, S. Sillman, A. Ito, J. E. Penner, D. A. Ellis, J. Martin, S. A. Mabury, O. J. Nielsen, and M. P. Sulbaek Andersen, "Formation of $C_7F_{15}COOH$ (PFOA) and Other Perfluorocarboxylic Acids During the Atmospheric Oxidation of 8:2 Fluorotelomer Alcohol," *Environ. Sci. Technol.*, 40 (3), 924–930, 2006
3. Jonathan P. Benskin, Mahmoud Bataineh, and Jonathan W. Martin, "Simultaneous Characterization of Perfluoroalkyl Carboxylate, Sulfonate, and Sulfonamide Isomers by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry," *Anal. Chem.*, 79 (17), 6455–6464, 2007
4. I. Langlois and M. Oehme, "Structural identification of isomers present in technical perfluorooctane sulfonate by tandem mass spectrometry," *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20, 844–850, 2006
5. Amila O. De Silva and Scott A. Mabury, "Isomer Distribution of Perfluorocarboxylates in Human Blood: Potential Correlation to Source," *Environ. Sci. Technol.* 40, 2903–2909, 2006

致谢

衷心感谢 3M 公司环境实验室 (圣保罗, 明尼苏达州) 提供的支持和本研究所用的标准品。



快速液相色谱-串联质谱和亲水作用色谱柱 (RRHD HILIC Plus) 用于 EPA-1694 方法中 第四组药物的快速分析

应用简报 (5990-8433CHCN)

环境

作者

Anne E. Mack
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road,
Wilmington, DE 19808
USA

摘要

使用安捷伦 1290 Infinity UHPLC 和 ZORBAX RRHD HILIC Plus 柱提高 EPA-1694 中第四组化合物的分析速度。结果表明，所有的组分都具有优异的峰形，流速和样品通量也比原来的方法提高四倍。

前言

药品和个人护理用品 (PPCP) 是环境实验室重点跟踪的一组重要的污染物。有包括 EPA-1694 在内的几种方法可以用于此类化合物的分析。本研究工作侧重分析 EPA-1694 中第四组化合物 (西咪替丁、沙丁胺醇、雷尼替丁和二甲双胍)，方法将通过超高压液相色谱 (HPLC) 得到改进。较早发表的安捷伦应用简报中，已经介绍了用超高压液相色谱 (HPLC) 和安捷伦 ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 柱分析 EPA-1694 中的第一、二和三组化合物 (参见出版号 5990-4409EN 和 5990-4605EN)。

液相色谱法的改善大大提高了样品的分析通量，这对很多的环境实验室都非常有利。安捷伦的 1290 Infinity 超高压液相色谱仪和 ZORBAX 快速高分离色谱柱 (RRHD) 的最高耐压可达 1200 bar，从而允许更快的流速和更高的分析通量。

新推出的安捷伦 ZORBAX RRHD HILIC Plus 色谱柱是一款 1.8 μm 粒径的高压色谱柱，最高耐压可达 1200 bar。基于硅胶的非键合硅胶生产的 Eclipse Plus 柱保证了优异的峰形。HILIC 柱是分离极性小分子化合物 (如 EPA-1694 中第四组中的化合物) 的理想色谱柱。

实验

本实验使用安捷伦 1290 Infinity UHPLC 和 6410 三重四极杆质谱仪，以及安捷伦 ZORBAX RRHD HILIC Plus 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm 色谱柱（部件号 959758-901）。

流动相	A: 10 mM 醋酸铵 pH 6.7 的水溶液, pH 6.7; B: 乙腈
流速	1 mL/min
梯度	在 1.75 min 内从 90% 降到 55% B
样品	溶解于乙腈/水 (3:1) 的每个组分浓度分别为 0.1 mg/mL 的西米替丁、沙丁胺醇、雷尼替丁和二甲双胍，进样体积为 0.1 μL
柱温箱	25 °C
质谱	dMRM, ESI 正模式, 循环时间 35 ms, 干燥气: 9 L/min, 300 °C; 雾化器压力: 40 psig; 毛细管电压: 4000; MRM transition 见表 1

B.03.01, B.02.00 和 B.03.01 版本的 MassHunterwere 软件用于数据采集、定性和定量分析

表 1. EPA-1694 中第四组化合物的 MRM 参数

化合物	母离子	碰撞电压	子离子	碰撞解离能量
西米替丁	253	100	159	10
			95	25
沙丁胺醇	240	90	166	5
			148	15
雷尼替丁	315	110	176	15
			130	25
二甲双胍	130	80	71	25
			60	10

结果与讨论

如图 1 所示，ZORBAX RRHD HILIC 柱可用于 EPA-1694 中第四组化合物的快速筛查分析。典型的分析条件流速是 0.25 mL/min，但是最高耐压为 1200 bar 的色谱柱的流速可达 1 mL/min，所以在柱压达到最大的 960 bar 时可降低 75% 的分析时间。所有四个化合物：西米替丁、沙丁胺醇、雷尼替丁和二甲双胍都具有出色的峰形。

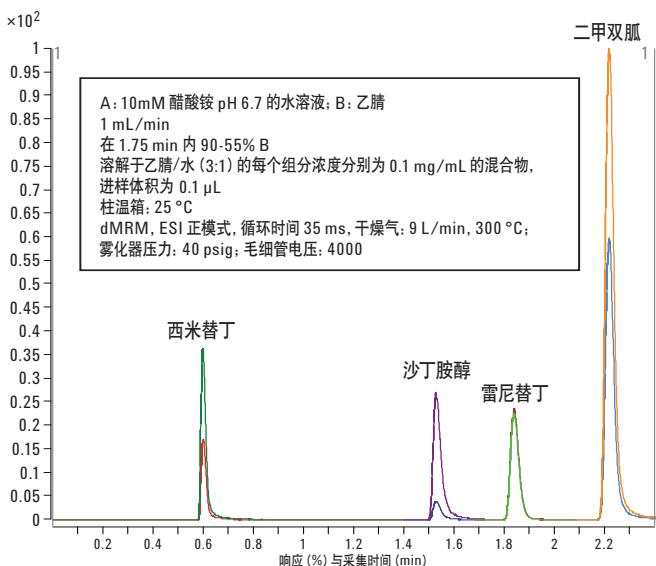
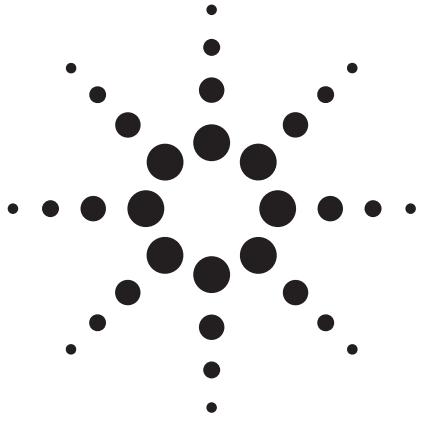


图 1. 安捷伦 ZORBAX RRHD HILIC 柱用于 EPA-1694 中第四组化合物的快速筛查分析，有关实验方法的参数参见实验部分

结论

安捷伦 1290 Infinity UHPLC 和 ORBAX RRHD HILIC Plus 色谱柱成功地用于 EPA-1694 中第四组医药化合物的检测。流速和分析速度提高了 4 倍，同时所有组分都具有出色的峰形。



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 (5991-0871CHCN)

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。

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。

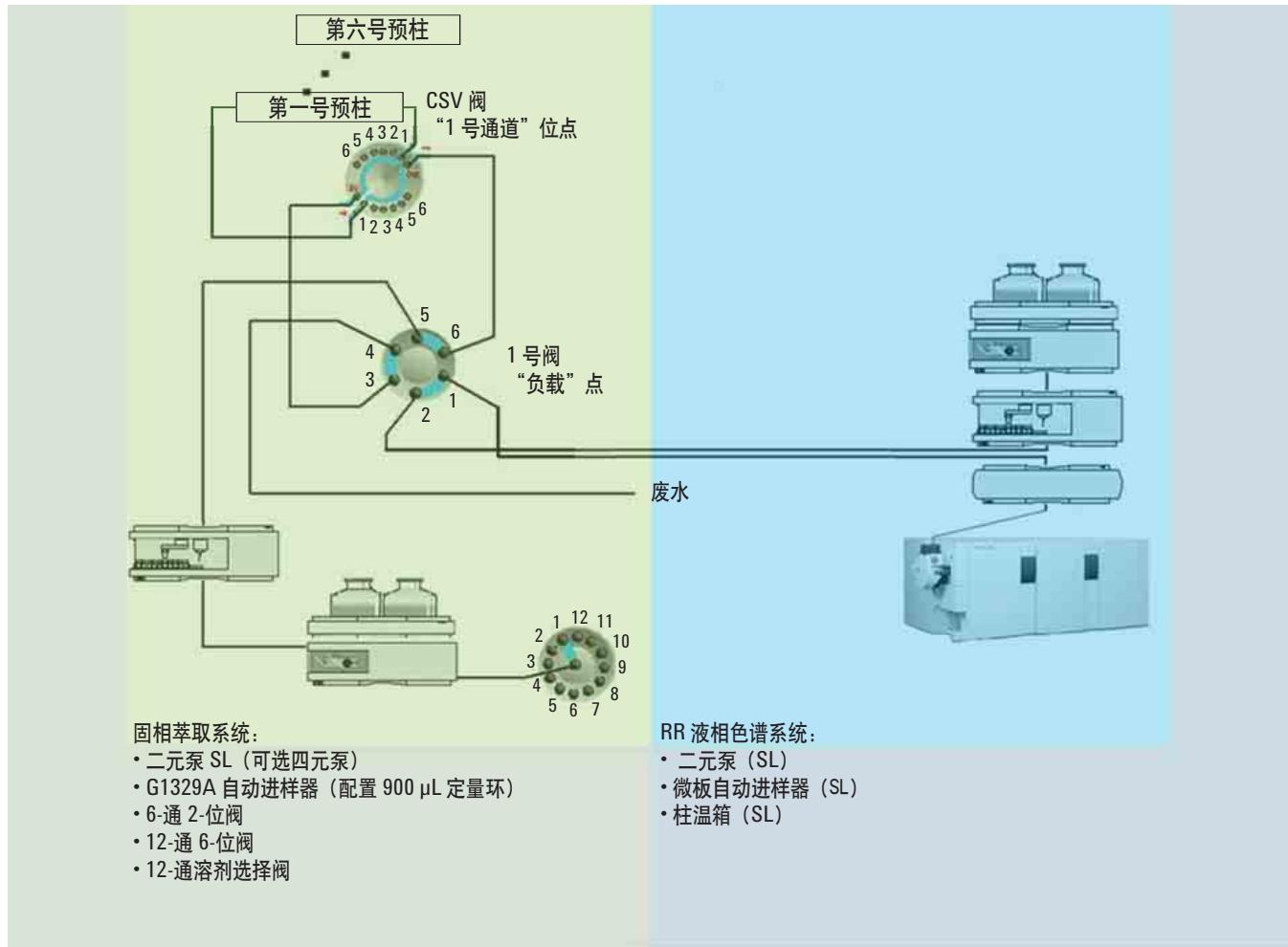


图 1. 在线固相萃取-液质联用系统的配置图

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 μ m		
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 μ L speed 800 VALVE mainpass WAIT 1.5 minutes EJECT def. amount into seat, max. speed DRAW def. amount from sample 750 μ L 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 μ m (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 μ L 甲酸和 50 μ L 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(<i>m/z</i>)	子离子(<i>m/z</i>)	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	
13.476	DCPAA (内标)	205	161	35	50	0	负模式	
		202.9	159	35	50	0	负模式	
14.114	绿草定	256	198	200	60	5	负模式	
		254	196	200	60	5	负模式	
14.223	碘苯腈	369.8	214.9	50	120	30	负模式	
			126.9	50	120	35	负模式	
14.359	敌草腈	235	163	50	80	10	负模式	
		233	161	50	80	10	负模式	
14.371	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	
15.319	2,4-D 丁酸	215	143	50	80	20	负模式	
		213	141	50	80	20	负模式	
15.466	2 甲 4 氯丙酸	249	163	75	80	10	负模式	
		247	161	75	80	10	负模式	
19.636	五氯酚	229	143	75	105	2	负模式	
		227	141	75	105	2	负模式	
		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。

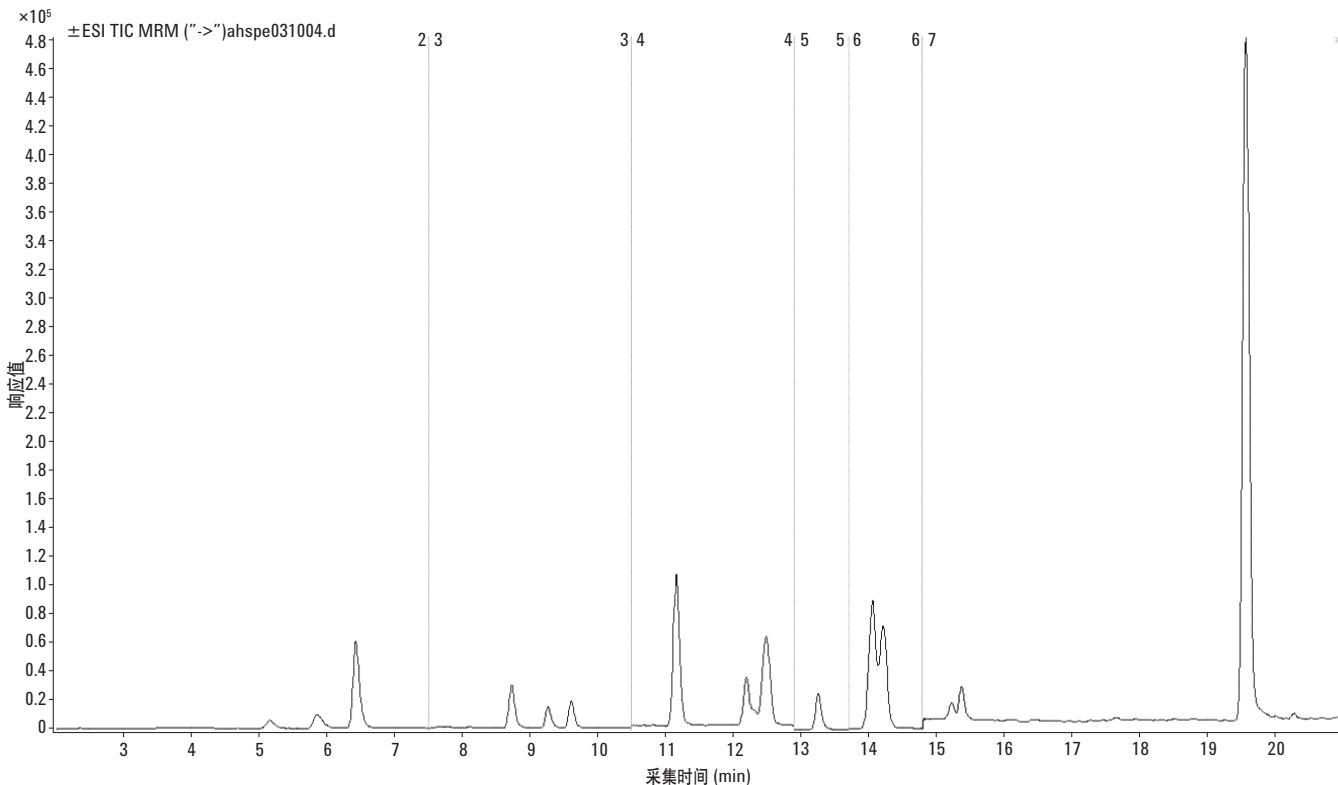


图 2. 浓度为 0.10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的 17 个除草剂的总离子流图和时间段的位置

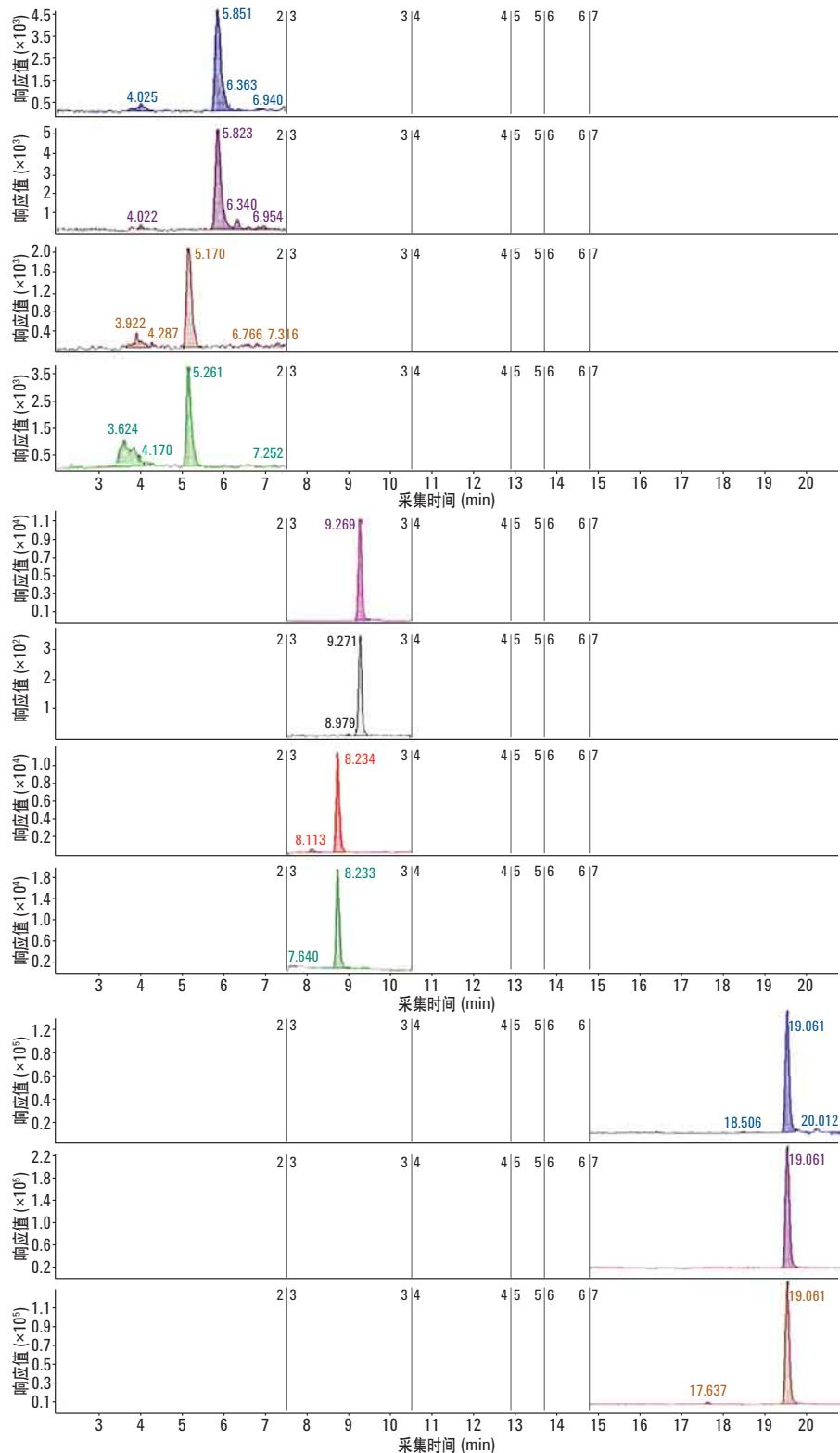


图3. 浓度为 $0.10 \mu\text{g/L}$ 的几个除草剂的提取离子流图：毒莠定（最上部的两个离子流图）和二氯吡啶酸（最上部的下面的两个离子流图）；草除灵（中间部分的上面两个离子流图）；麦草畏（中间部分的下面两个离子流图）；五氯酚（底部的三个离子流图）

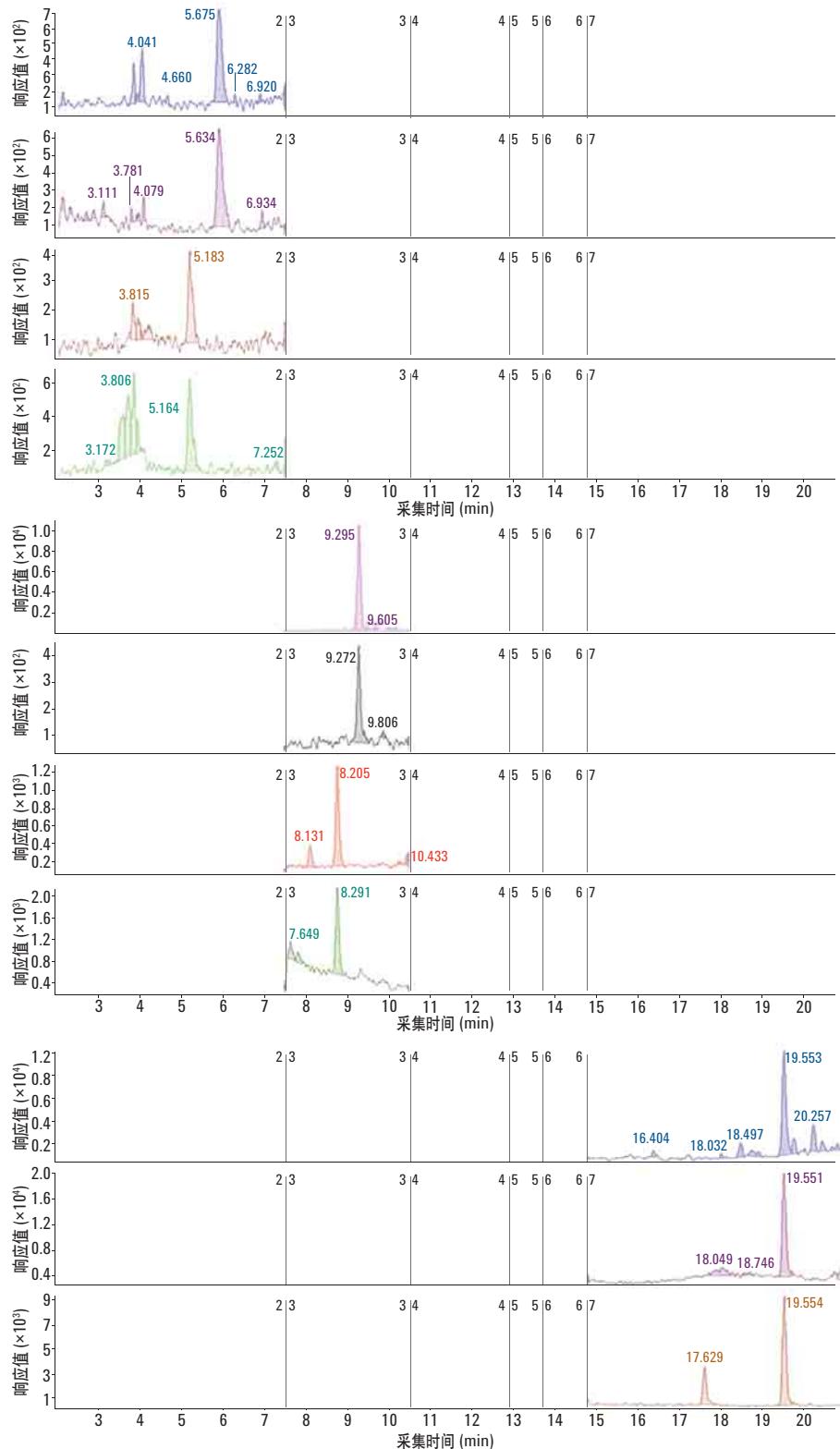


图 4. 浓度为 $0.010 \mu\text{g/L}$ 的几个除草剂的提取离子流图：毒莠定（最上部的两个离子流图）和二氯吡啶酸（最上部的下面的两个离子流图）；草除灵（中间部分的上面两个离子流图）；麦草畏（中间部分的下面两个离子流图）；五氯酚（底部的三个离子流图）

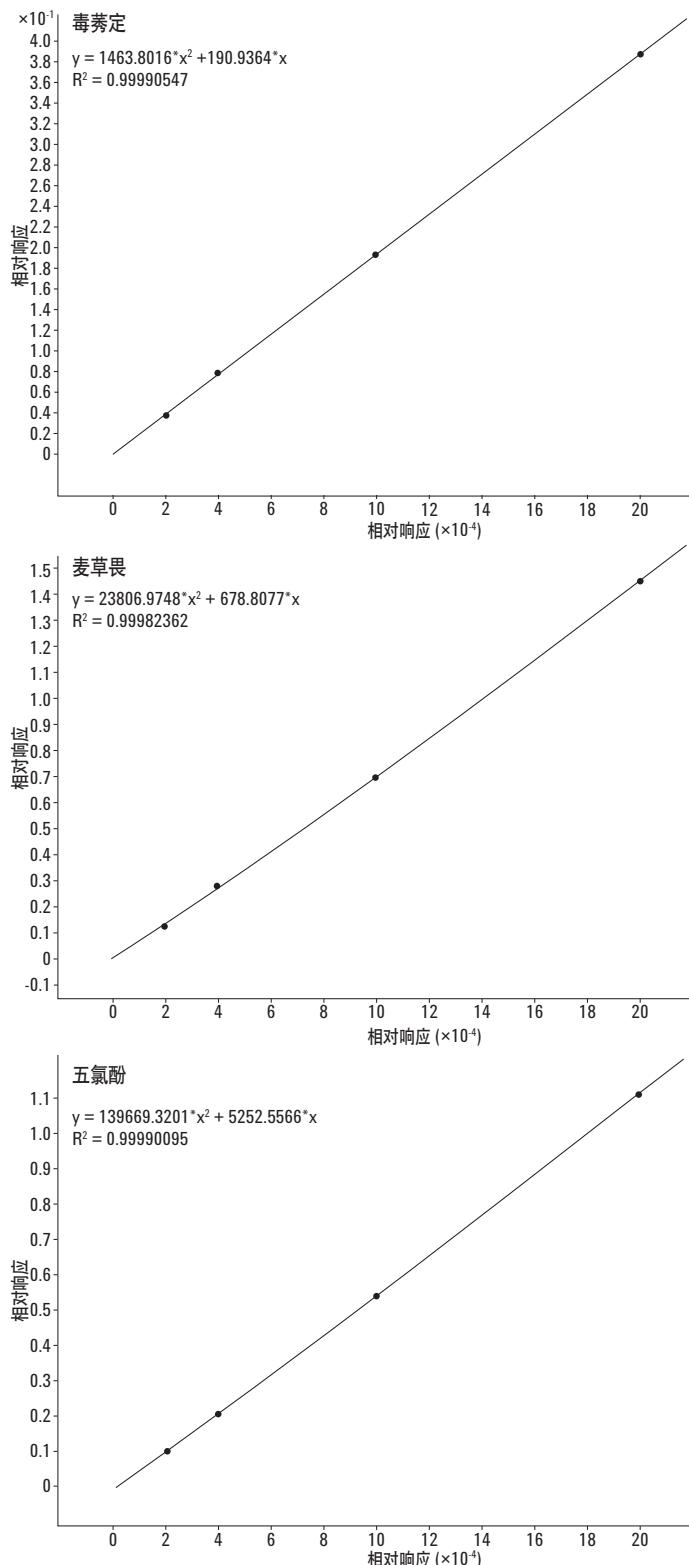


图 5. 浓度从 0.02 到 $0.20 \mu\text{g/L}$ 范围内的校正曲线，毒莠定（上）、麦草畏（中）和五氯酚（下）。三个化合物的校正曲线的线性相关系数 (R^2) 均大于 0.999

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 $\mu\text{g}/\text{L}$) 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 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。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%。除了分析样品种体积显著减少之外，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。

表 4. 在线固相萃取方法的验证数据

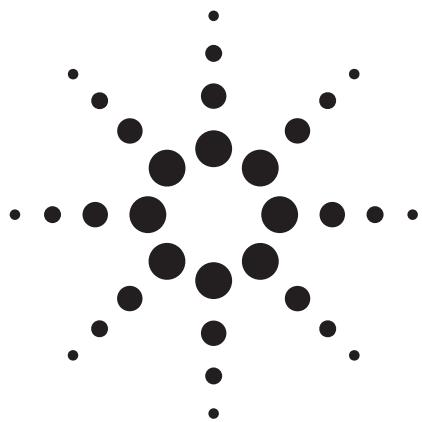
化合物	% 回收率			LOD* ($\mu\text{g}/\text{L}$)
	地表水	井水	处理过的水	
异恶草松	86.29	97.34	86.62	0.012
毒莠定	99.58	96.74	93.33	0.009
咪唑烟酸	124.87	96.92	96.72	0.009
麦草畏	98.94	95.36	93.64	0.003
草除灵	92.54	96.71	96.13	0.003
氯氟吡氧乙酸	92.50	97.26	96.96	0.003
苯达松	97.59	97.58	96.50	0.003
2,4-D	98.48	96.67	97.47	0.003
溴苯腈	95.84	95.00	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



大体积进样 (LVI) —— 液相色谱-串联质谱 用于城市污水中痕量的非法药物和处方药的 分析

应用简报 (5990-4622CHCN)

环境

作者

Syam S. Andra
Jennifer A. Field
环境和分子毒理学系
美国俄勒冈州立大学科瓦利斯，
OR 97331
美国

摘要

安捷伦新型自动进样器被用于升级安捷伦系列的高效液相色谱，以替代离线或在线固相萃取进行样品富集。使用连接在液相色谱的 1800 μL 的大体积 (LVI) 进样环和串联四极杆液质联用仪，检测城市污水（原进水）中一些非法药物和它们的代谢物。本应用简报描述的方法使用了 ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱，并具有优异的线性（9 pg 到 450 ng）。在不降低灵敏度的前提下，该方法具有优异的精确度、回收率和精密度。

前言

污水监测作为鉴别药物滥用情况并且成本效率很高的工具，正在受到广泛关注 [1]。研究人员在原水、经过污水处理厂处理过的废水 (WWTP)、饮用水和娱乐场所的水中发现了一定数量的非法和/或处方药物。由于这些化合物在这些基质中的浓度很低，现在的分析方法包括样品前处理和富集技术，如固相萃取 (SPE)。然而，固相萃取 (SPE) 的主要缺点是：费时、耗力、以及需要从 50 到 1000 mL 的大体积样品。尽管具有很好的样品净化和富集效率，但是由于低的进样体积和固相萃取材料的污染，固相萃取 (SPE) 也存在明显缺点，即待测物的低富集效率和较差的回收率精密度 [2]。

本应用简报介绍了大体积 (LVI) 进样和液相色谱-串联质谱用于分析污水中的微量药物，包括处方药和街头毒品。

与传统的进样体积 (5-20 μ L) 相比，大体积进样 (LVI) 的直接进样体积可达 2000 μ L 或更高。大体积进样 (LVI) 的原理是，在低洗脱强度流动相时，大体积进样装置将待测物富集到分析柱的柱头进行分析。盐和其它没有分配到固定相的基质组分则直接穿过色谱柱。与固相萃取相似，待测物在分析柱上被浓缩之后，随着流动相的洗脱强度的增加，被富集的待测物被洗脱并被分离。大体积进样 (LVI) 的主要优点包括：提高了灵敏度、精确度和精密度，减少了样品体积 (如 2 mL)。大体积进样方法非常可靠，适合有机污染物的常规检测，如城市污水中的含氟化合物 [2、3]、违禁药物和相关的物质 [4]。

通过对加标实验的基体效应研究、结果准确度和精密度的检测，优化与评价了大体积进样 (LVI) 方法。用这些优化条件测定仪器和方法的检测限和定量限。最后，在特定社区内，使用该分析方法对特定污水处理厂 (WWTP) 中收集到的 24 小时平均组成的污水进行分析，以便测定非法药物和它们的代谢物水平。本研究中的九个待测物的结构如图 1 所示。

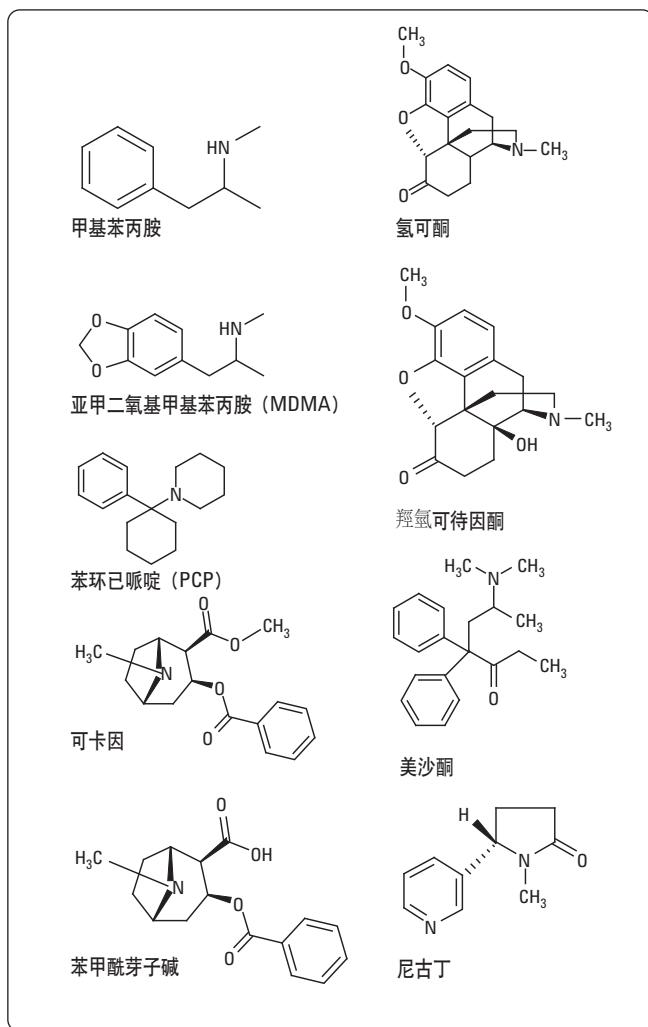


图 1. 研究涉及的化合物结构

实验

试剂

试剂纯的冰醋酸，EMD 化学品 (Gibbstown, NJ, USA)。

液相色谱纯的乙腈和甲醇，Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ, USA)。

标准品

标准品（分析纯 > 99%，溶于甲醇或乙腈，浓度 1 mg/ml），购自 Cerilliant（德克萨斯州 Round Rock），包括：

1. (±) 甲基苯丙胺，(±) 3,4-亚甲二氧基-甲基苯丙胺 (MDMA)，苯环己哌啶
2. 可卡因，苯甲酰芽子碱
3. (±) - 美沙酮，氢可酮，羟考酮
4. 尼古丁

同位素标准品（分析纯 > 99%，溶于甲醇或乙腈，浓度 100 µg / ml），购自 Cerilliant（德克萨斯州 Round Rock），包括：

1. 甲基苯丙胺-D₅，(±) 3,4-亚甲二氧基-甲基苯丙胺-D₅ (±) MDMA-D₅，苯环己哌啶-D₅
2. 可卡因-D₃，苯甲酰芽子碱-D₃ (±)
3. 美沙酮-D₉，氢可酮-D₆，羟考酮-D₃
4. 尼古丁-D₃

取样和样品制备

1. 从当地污水处理厂的聚丙烯塑料管中取 15 mL 24 小时平均组成的污水，然后将水样储存在 -80 °C 温度下
2. 将冷冻样品升至室温，取 7 mL 等份样品，在 IEC 临床用离心机上离心 30 min (Thermo IEC, Nutley, NJ)，最大离心速度为 7100 转 (5125 克)
3. 离心后，将上清液转移到一个 6 mL 的自动进样器的玻璃小瓶中，并添加氘代内准。所有的样品都要在制备后 24 小时内完成分析

液相色谱 – 串联质谱仪器

通过安装 900 µL 进样升级套件，可以进行 1800 µL 的大体积进样（安捷伦部件号 G1363A），升级套件包括 900 µL 分析进样头、900 µL 不锈钢定量环（安捷伦部件号 G1313-87303）和安装在针座接头与分析头的第 5 个进口的 1400 µL 扩展进样针座（安捷伦部件号 G1313-87308）（图 2）。自动进样器的样品瓶（6 mL）（部件号 9301-1377），瓶盖（部件号 9301-1379），密封垫（部件号 9301-1378）和相应的进样盘（安捷伦部件号 G1313-44503）（图 3）。

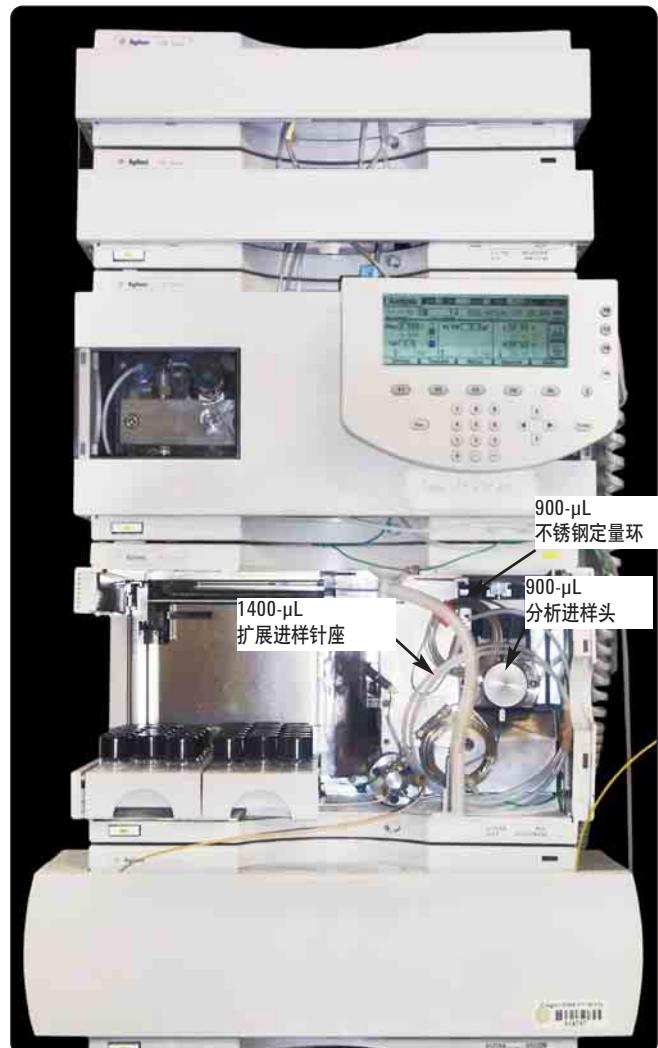


图 2. 配置了大体积进样升级套件的 G1313A 型自动进样器的 1100 液相色谱系统
(面板已经拿掉)

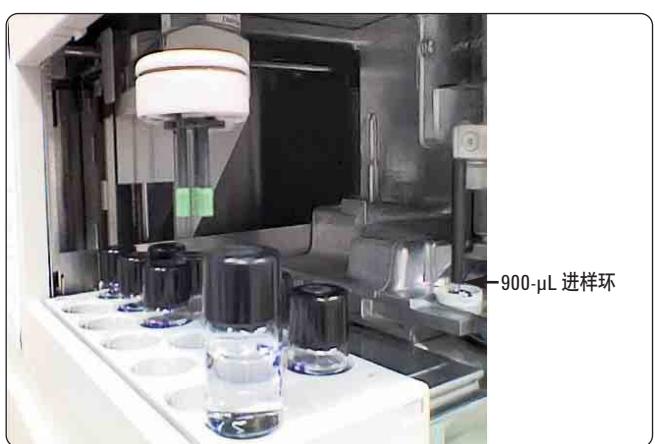


图 3. 大体积自动进样器的样品瓶 (6 mL)

液相色谱/三重四极杆质谱联用进行样品分析，待测组分多反应监测 (MRM) 的参数如表 1 所示。

表 1. 对于待测药物和内标的定量离子的 MRM 设定。定性离子和参数见括号中

待测物	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碰撞电压 (V)	碰撞解离 能量 ^a (E)	梯度 :	时间 (min)	%B
1. 甲基苯丙胺	150.0	119.2 (91.1)	20 (25)	10 (15)	0-9	5	
2. 亚甲二氧基甲基苯丙胺 (MDMA)	194.1	163.4 (105.1)	25 (30)	10 (25)	9-13	5 to 20	
3. 苯环己哌啶	244.2	159.4 (86.2)	20 (20)	10 (10)	13-23	20	
4. 可卡因	304.1	182.3 (105.1)	30 (35)	20 (25)	23-27	20 to 100	
5. 苯甲酰芽子碱	290.2	168.4 (105.1)	20 (30)	20 (20)	27-29	100	
6. 氢可酮	300.2	199.4 (171.3)	35 (40)	30 (40)	29-30	100 to 5	
7. 美沙酮	310.3	265.5 (105.1)	25 (25)	20 (25)	30-35	5	
8. 羟考酮	316.2	298.5 (241.1)	25 (25)	20 (30)			
9. 尼古丁	177.1	98.1 (80.0)	30 (30)	20 (20)			
内标							
甲基苯丙胺-D ₅	155.1	91.7	20	20			
亚甲二氧基甲基苯丙胺-D ₅	199.2	165.2	25	10			
苯环己哌啶-D ₅	249.4	164.4	15	15			
可卡因-D ₃	307.3	185.5	30	20			
苯甲酰芽子碱-D ₃	293.2	171.4	30	20			
氢可酮-D ₆	306.3	202.4	45	30			
美沙酮-D ₉	319.4	268.5	25	20			
羟考酮-D ₃	319.3	301.5	25	20			
尼古丁-D ₃	180.2	80.1	25	25			

^a 碰撞解离能量

液相色谱条件

色谱柱 : 安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C18 快速高分离柱, 4.6 × 150 mm, 3.5 μm
(部件号 959963-902)

保护柱 : 安捷伦 ZORBAX 保护柱
(12.5 × 4.6 mm i.d.)
(部件号 820950-936)

柱温 : 35 °C

流动相 : A=0.1% 乙酸的 5% 甲醇
B=100% 乙腈

流速 : 0.5 mL/min

进样体积 : 1800 μL
洗针 : 5% 甲酸的异丙醇

进样程序

步骤	功能	参数
1	洗针	样品瓶位置
2	抽样	900 μL 样品
3	注射	900 μL 针座
4	抽取	900 μL 样品
5	注射	
6	等待	9.00 min
7	阀位置	旁路

质谱条件

模式 : ESI 正模式	
雾化器压力 :	氮气 (350 psi)
碰撞气 :	氩气
离子源温度 :	150 °C
去溶剂化气体温度 :	450 °C
毛细管电压 :	3.57 kV
提取器电压 :	3 V
RF 透镜电压 :	0.2 V
锥孔气流速 :	25 L/h
去溶剂化气流速 :	650 L/h
离子能量 1 和 2:	0.5 V 和 2.0 V
入口和出口电位 :	11 V 和 25 V

结果与讨论

在自动进样程序运行的过程中，进样阀初始时处于“main pass”的位置，此时样品流向分析柱（图 4）。之后，样品被载入分析柱，然后系统阀转至“bypass”，此时，流动相/梯度绕过大体积进样环。因此，梯度到达分析柱头的时间将会缩短，减少了分析时间（图 4）。色谱分离是在安捷伦的 ZORBAX Eclipse Plus C18 快速高分离柱上进行的（图 5）。

用新配置的溶于去离子水中的标准溶液建立了八点校正曲线。线性回归系数 R^2 为 0.99, 1/X-权重，未强制通过原点。

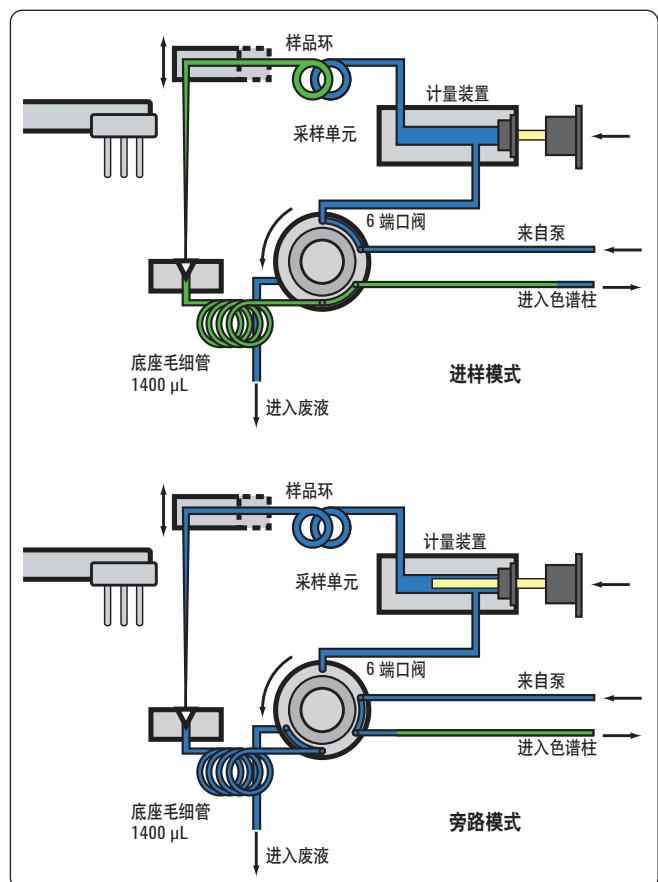


图 4. 大体积进样操作的示意图

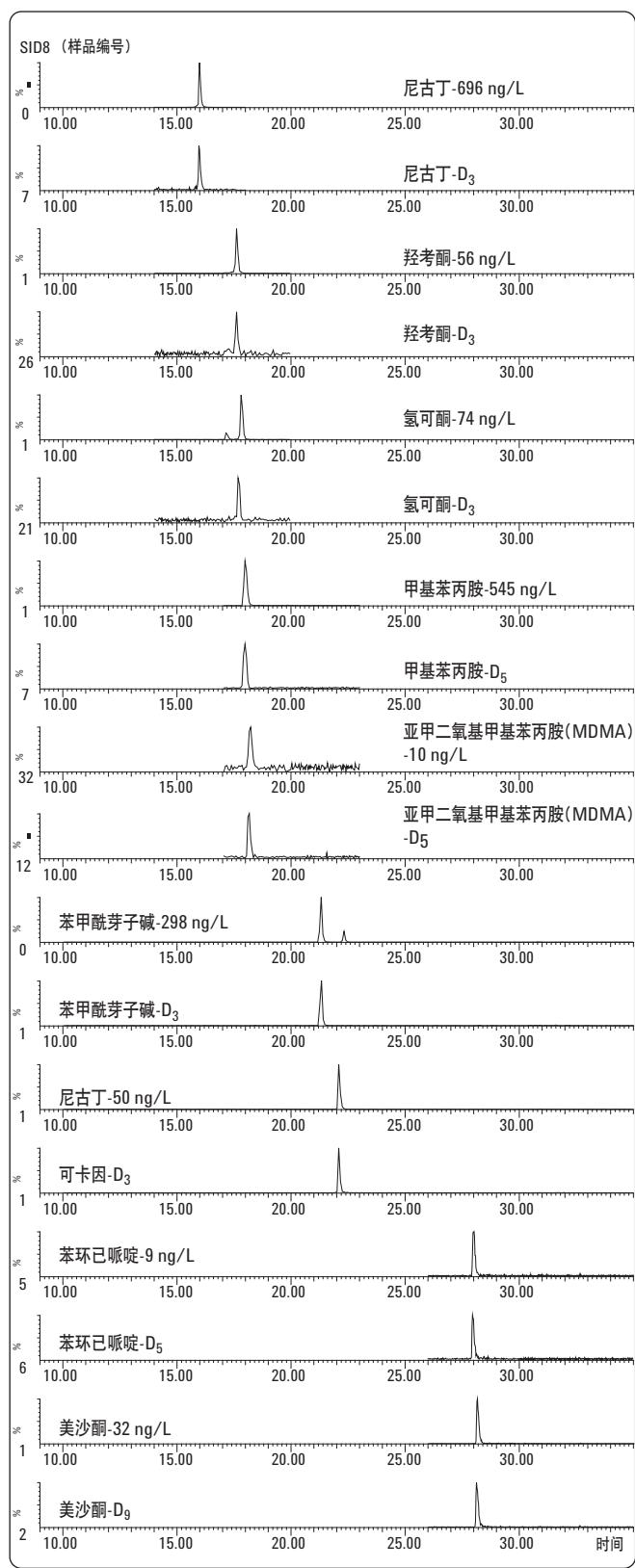


图 5. 本研究所用水样中待测药物的浓度和 MRM 离子流图

验证

1. 从纯溶剂建立的校正曲线得到的非加标废水样品的平均浓度与加标样品测得的浓度值在 95% 可信区间 (CI) 几乎相同 (表 2)。稳定性同位素内标抵消了基质效应的影响, 所以可以用溶于去离子化水制成的标准溶液建立的校正曲线直接计算废水中药物的浓度
2. 仪器检测限 (IDL) 在 1.5-5.0 ng/L 的范围内, 定量限 (LOQ) 在 5-250 ng/L 范围内 (表 2)
3. 日内和日间的精密度 (相对标准偏差, RSD) 在 2-11% 之间 (表 2)
4. 用去离子化水制成的标准溶液进行测试, 没有观察到残留效应
5. 空白和废水样品中内标的原始峰面积相似, 证明基质效应降低到最小

表 2. LVI-液相色谱-串联质谱系统的仪器检测限 (IDL)、定量限 (LOQ) 线性、准确度、回收率、以及精密度

待测物			废水浓度 (ng/L)		精密度	
	IDL (ng/L)	LOQ (ng/L)	平均 \pm 95% CI	(%RSD)	标准溶液建立的校正曲线的计算值	标准添加
					日内	日间
甲基苯丙胺	1.5	10	550 \pm 11	549 \pm 5	7	5
亚甲二氧基甲基苯丙胺	2.5	5	9.5 \pm 0.5	9.6 \pm 0.2	5	7
苯环己哌啶	2.5	5	9.7 \pm 0.5	9.7 \pm 0.1	5	9
可卡因	2.5	5	48 \pm 3	49 \pm 1	3	6
苯甲酰芽子碱	1.5	10	288 \pm 9	284 \pm 3	2	5
氢可酮	2.5	10	72 \pm 3	70 \pm 1	9	11
羟考酮	2.5	10	54 \pm 3	54 \pm 1	6	8
美沙酮	2.5	5	32 \pm 2	29 \pm 1	5	8
尼古丁	5.0	250	698 \pm 27	703 \pm 7	6	8

结论

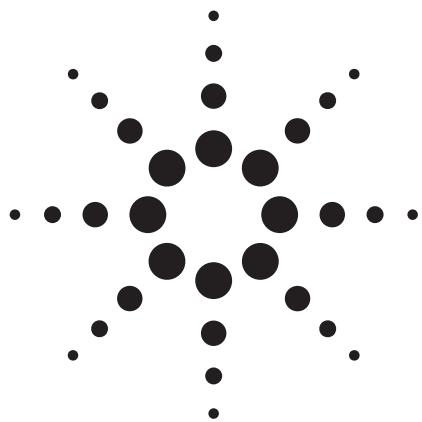
本应用表明, 对于废水中非法和合法使用的药物的分析, 大体积进样与液相色谱-串联质谱联用是一种省时的技术。尽管进的样是大体积废水, 但是没有出现质谱污染和色谱柱寿命降低的问题。准确度和重现性均满足 EPA 的要求。内标抵消了基质效应的影响。

致谢

作者对于 Lenore Kelly, Dawn Fulton, John Puryear, John W. Henderson, Jr., 和安捷伦的 Doug Martin 的技术支持表示由衷的感谢。

参考文献

1. Banta-Green, C.J.; Field, J.A.; Chiaia, A.C.; Sudakin, D.L.; Power, L.; de Montigny, L., The spatial epidemiology of cocaine, methamphetamine and 3,4-methylene-dioxymethamphetamine (MDMA) use: a demonstration using a population measure of community drug load derived from municipal wastewater. *Addiction* 2009., Jul 14 (Early View Section)
2. Schultz, M. M.; Barofsky, D. F.; Field, J. A., Quantitative determination of fluorinated alkyl substances by large-volume-injection liquid chromatography tandem mass spectrometry-characterization of municipal wastewaters. *Environmental Science and Technology* 2006, 40, (1), 289-295.
3. Huset, C. A.; Chiaia, A. C.; Barofsky, D. F.; Jonkers, N.; Kohler, H.-PE.; Ort, C.; Giger, W.; Field, J. A., Occurrence and mass flows of fluoroochemicals in the Glatt Valley watershed, Switzerland. *Environmental Science and Technology* 2008, 42, (17), 6369-6377.
4. Chiaia, A. C.; Banta-Green, C.; Field, J.A., Eliminating Solid Phase Extraction with Large-Volume Injection LC/MS/MS: Analysis of Illicit and Legal Drugs and Human Urine Indicators in US Wastewaters." *Environmental Science and Technology* 2008, 42, (23), 8841-8848.
5. Isaacson, C. W.; Usenko, C. Y.; Tanguay, R. L.; Field, J. A., Quantification of fullerenes by LC/ESI-MS and its application to in vivo toxicity assays. *Analytical Chemistry* 2007, 79, (23), 9091-9097.



Agilent 6410BA 三重串联四极杆液质联用柱上直接进水样法测定饮用水和环境样品中选定的除草剂达到了预期规定的灵敏度

应用简报 (5990-3762CHCN)

环境

作者

Neil Cullum
Anglian Water Services Laboratory
Huntingdon
Cambridgeshire
United Kingdom

摘要

本应用介绍了采用柱上直接进水样法对含某些基质的未经预处理的环境水样中 20 种选定除草剂进行了分析。结果表明，其分析灵敏度完全能满足英国饮用水标准的要求。20 种除草剂的实验结果精密度在 2.2 -7.0%，样品回收率在 90.2 - 104.7% 之间。所有化合物的检测限都小于 10 ng/L (10 ppt)。

Paul Stephens
Agilent Technologies UK Ltd.
Winnersh
Berkshire
United Kingdom

Dr Peter J. W. Stone
Agilent Technologies Inc.
Stevens Creek Boulevard
Santa Clara, CA, 95051
USA

前言

目前主要有几种样品制备/分离方法测定水样中的除草剂，典型的固相萃取-液质联用法，甚至是采用在线样品富集的液质联用分析法[1]。固相萃取法耗费时间，将会增加消耗品成本以及人工带来的附加成本。在线富集法也一样会增加消耗品的成本，需要购买额外硬件，如开关阀和附加液相色谱泵。利用安捷伦经济实用、可靠而灵敏的 6410BA 三重串联四极杆液质联用仪，现在只

要通过直接进水样到分析柱（最大进样量为 100 μL ）上，就可以达到预期规定的灵敏度。

本应用的目的是介绍一种可靠耐用的分析方法，检测饮用水和环境中 20 种除草剂，具有精密度< 12.5%，回收率为 90 至 110% 及所有化合物的检测限为< 10 ng/L (10 ppt) 的性能指标。

本方法介绍了通过直接进水样方式分析不同水质中 20 种酸性、中性和碱性除草剂的分析方法。总结了全部确认数据。

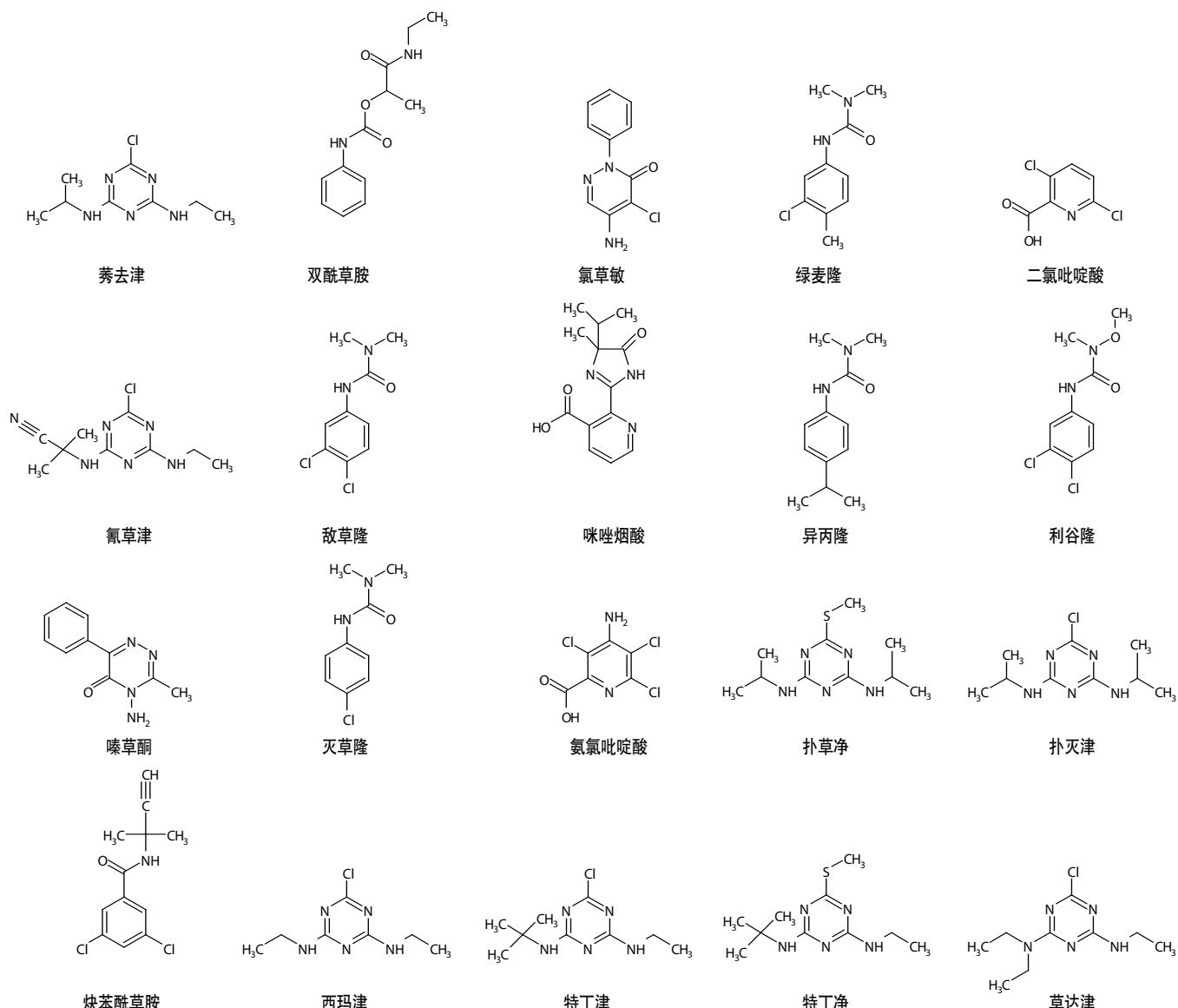


图 1. 中性、酸性和碱性除草剂的结构图

实验部分

本实验是在带 hotbox 升级包的安捷伦 6410BA 三重串联四极杆质谱仪连接 Agilent 1200 系列液相色谱系统上进行的。液相色谱包括二元泵 G1312B)、在线真空脱气机(G1379B)、自动液体进样器(G1367C)、柱温箱组件(G1316B)和 MassHunter 质谱数据系统。hotbox 高灵敏度升级包(G2573A)，包括一个带控制器的分子涡轮泵和用于碰撞反应池可更换的入口和出口透镜组。

样品前处理

几乎不需要任何样品处理，只要将标准品溶液和样品酸化即可。利用 0.1% 的甲酸（做为 PH 调节剂）进行样品和标准溶液酸化。

仪器参数

液相色谱条件

色谱柱:	Agilent ZORBAX SB-C18, 2.1 × 100 mm 1.8 μ m 70 °C 恒温																										
流动相	A: 0.1% 甲酸溶于液相色谱级水溶液 B: 甲醇																										
梯度:	<table><thead><tr><th>时间 (分钟)</th><th>A (%)</th><th>B (%)</th><th>流速 (mL/min)</th></tr></thead><tbody><tr><td>初始</td><td>95</td><td>5</td><td>0.3</td></tr><tr><td>0.5</td><td>95</td><td>5</td><td>0.3</td></tr><tr><td>1.0</td><td>80</td><td>20</td><td>0.3</td></tr><tr><td>20.0</td><td>20</td><td>80</td><td>0.3</td></tr><tr><td>20.1</td><td>95</td><td>5</td><td>0.3</td></tr></tbody></table>			时间 (分钟)	A (%)	B (%)	流速 (mL/min)	初始	95	5	0.3	0.5	95	5	0.3	1.0	80	20	0.3	20.0	20	80	0.3	20.1	95	5	0.3
时间 (分钟)	A (%)	B (%)	流速 (mL/min)																								
初始	95	5	0.3																								
0.5	95	5	0.3																								
1.0	80	20	0.3																								
20.0	20	80	0.3																								
20.1	95	5	0.3																								
进样量:	100 μ L																										
总分析时间:	26.0 分钟																										

QQQ 质谱参数

离子源参数

大气压-电喷雾离子源:	正离子模式
干燥气温度和流速:	300 °C, 10 L/min
雾化气压力:	40 psi
毛细管电压:	3000 V
碰撞电压:	见表 1
MRM 参数:	见表 1

MRM 参数

表 1. 每个除草剂的 MRM 转换

时间 编程	时间 (分钟)	Delta EMV (V)	化合物	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碰撞诱导解 离电压 (V)	碰撞能量 (V)	离子驻留时间 (msec)
2	0.2	600	二氯吡啶酸	192.0	146.2	75	19	400
			二氯吡啶酸	192.0	174.2 (q)*	75	6	100
3	6.4	600	氨氯吡啶酸	241.0	223.1	95	9	400
			氨氯吡啶酸	241.0	195.0 (q)*	95	18	100
4	7.6	400	苯嗪草酮	203.1	175.1	115	14	90
			苯嗪草酮	203.1	104.1 (q)*	115	22	90
			咪唑烟酸	262.2	234.3	130	14	90
			咪唑烟酸	262.2	217.2 (q)*	130	17	90
			杀草敏	222.1	104.2	135	22	90
			杀草敏	222.1	92.1 (q)*	135	27	90
5	10.0	400	双酰草胺	237.1	192.3	80	2	70
			双酰草胺	237.1	72.2 (q)*	80	22	70
			灭草隆	199.1	72.2	105	16	70
			灭草隆	199.1	126.1 (q)*	105	25	70
			氰草津	241.2	214.2	125	12	70
			氰草津	241.2	104.1 (q)*	125	31	70
			西马津	202.1	132.2	125	16	70
			西马津	202.1	104.1 (q)*	125	27	70
6	14.5	400	绿麦隆	213.1	72.2	110	21	250
			绿麦隆	213.1	140.2 (q)*	110	24	250
7	15.6	400	敌草隆	233.1	72.2	110	22	90
			敌草隆	233.1	160.3 (q)*	110	26	90
			莠去津	216.2	174.2	120	15	90
			莠去津	216.2	104.1 (q)*	120	32	90
			异丙隆	207.2	72.2	110	22	90
			异丙隆	207.2	165.3 (q)*	110	10	90
8	17.0	400	扑草净	242.2	200.3	135	17	30
			扑草净	242.2	158.2 (q)*	135	24	30
			去草净	242.2	186.2	120	17	30
			去草净	242.2	91.2 (q)*	120	30	30
			利谷隆	249.1	182.1	105	18	100
			利谷隆	249.1	160.3 (q)*	105	12	100
			扑灭津	230.2	188.2	125	15	30
			扑灭津	230.2	146.1 (q)*	125	24	30
			特丁津	230.2	174.2	110	15	30
			特丁津	230.2	104.1 (q)*	110	30	30
9	19.6	400	炔苯酰草胺	256.1	190.1	95	12	30
			炔苯酰草胺	256.1	173.0 (q)*	95	22	30
			草达津	230.2	202.2	130	18	250
			草达津	230.2	99.2 (q)*	130	24	250

*(q) = 辅助定量离子

结果与讨论

浓度为 $0.5 \mu\text{g/L}$ (500 ppb) 的除草剂的总离子流图见图 2，并且标示出了时间段。

浓度分别为 0.0 、 0.05 、 0.10 、 0.30 和 $0.50 \mu\text{g/L}$ 5 个水平的校正标准品的校正曲线见图 3a 至 3c。

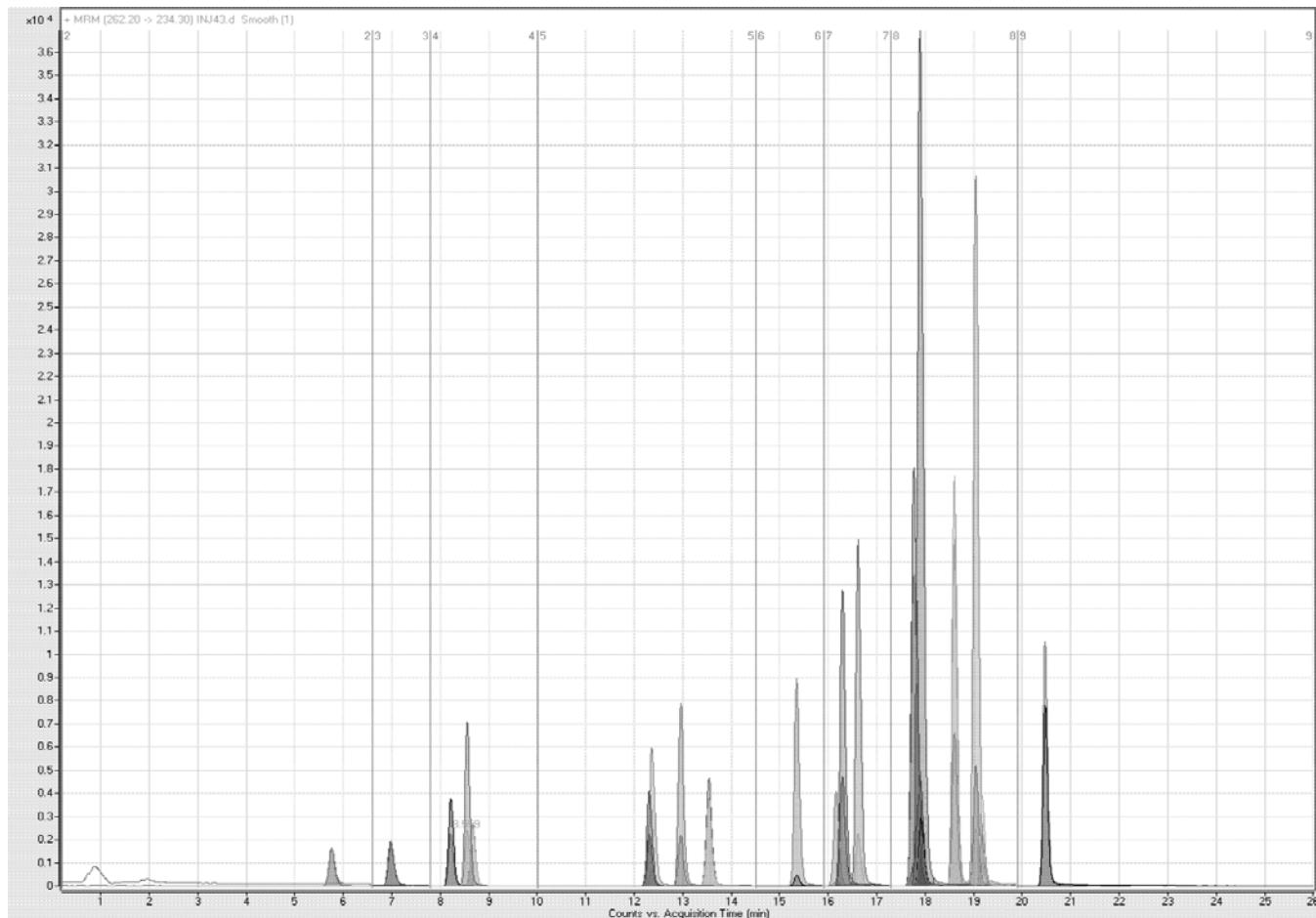


图 2. $0.5 \mu\text{g/L}$ 标准品的 20 种除草剂的 MRM 叠加总离子流图

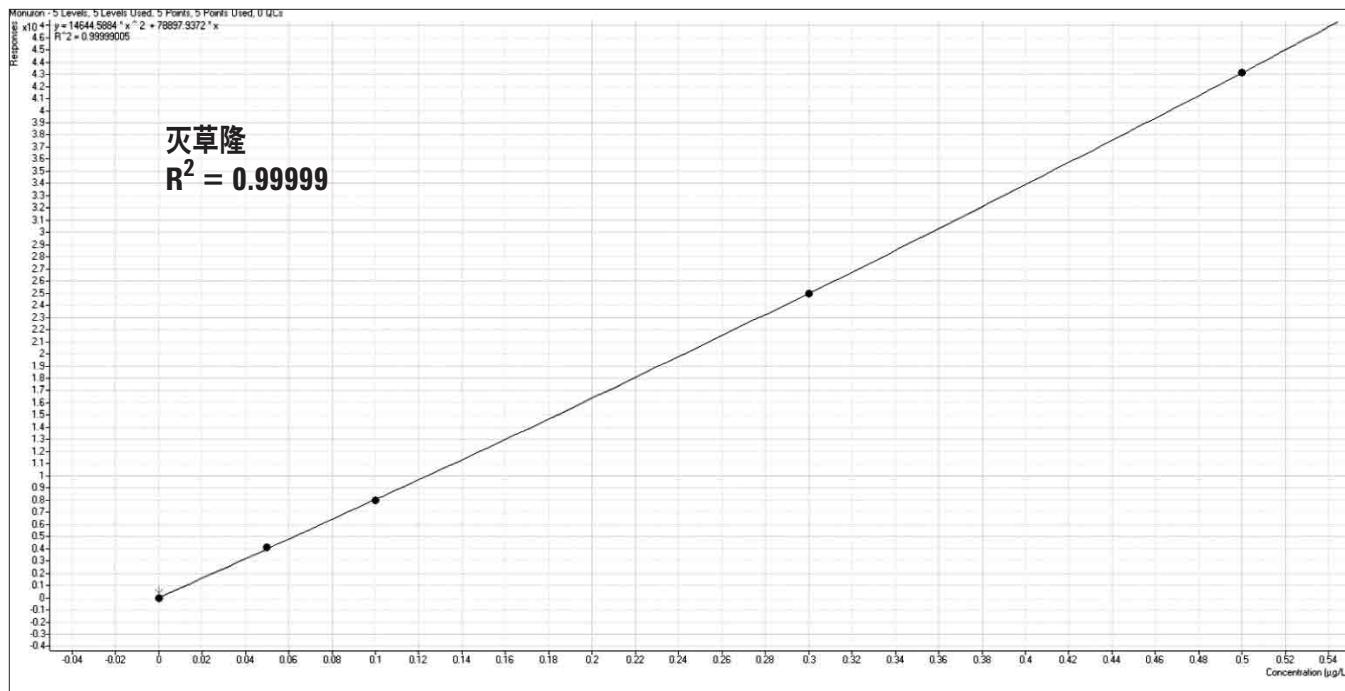


图 3a. 灭草隆的校正曲线

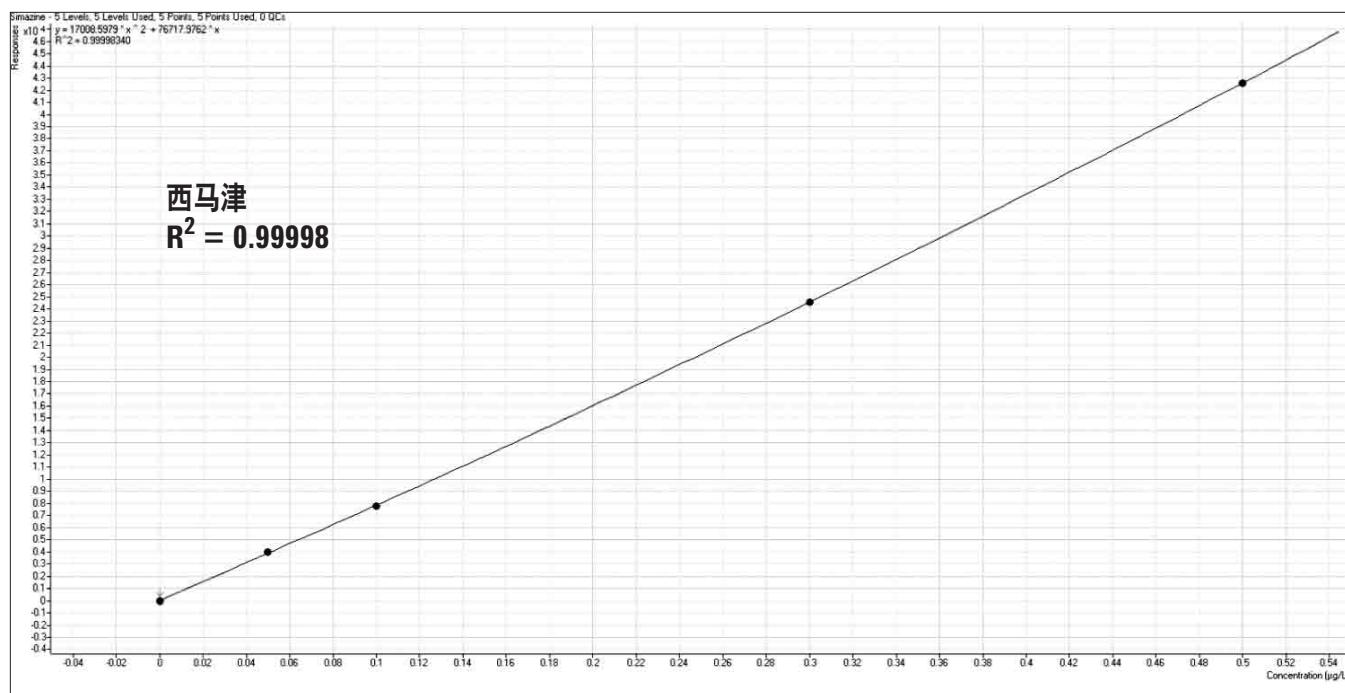


图 3b. 西马津的校正曲线

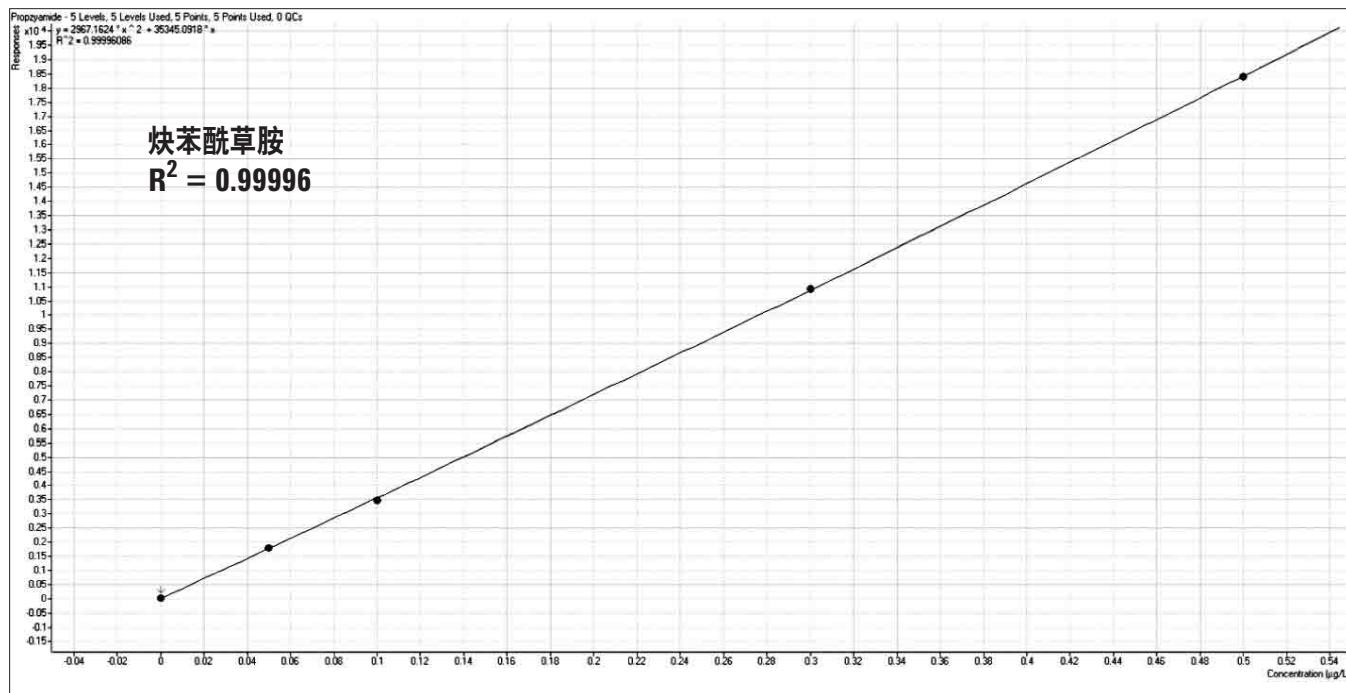


图 3c. 炔苯酰草胺的校正曲线

11 个批次的样品用于分析方法的确认分析。地下水、饮用水 (取自地表水) 以及河水样品, 添加 0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 0.10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 两个浓度水平的除草剂。去离子水添加三个浓度水平 (0.01, 0.10, 和 0.40 $\mu\text{g}/\text{L}$) 的除草剂。每个批次按随机顺序重复分析两次。每个除草剂的检测限的测定是利用添加浓度为 0.01 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的去离子水样品, 然后根据 5 倍信噪比得到的。回收率的测定是利用地下水、饮用水以及河水添加 0.1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 的组分而得到的。

实验结果见表 2。

表 2. 确认数据: 回收率 %, $\pm\%RSD$ 和检测限 (LOD)

化合物	%回收率 地下水	%回收率 饮用水	%回收率 河水	检测限 ($\mu\text{g}/\text{L}$)
二氯吡啶酸	100.8 \pm 5.7	104.7 \pm 5.7	101.4 \pm 7.0	0.007
氨氯吡啶酸	99.7 \pm 4.0	94.2 \pm 4.0	94.3 \pm 5.5	0.005
苯嗪草酮	100.5 \pm 4.3	96.2 \pm 3.9	97.1 \pm 3.4	0.003
咪唑烟酸	101.7 \pm 3.4	97.9 \pm 3.2	97.3 \pm 3.9	0.005
杀草敏	99.7 \pm 3.5	93.0 \pm 4.5	92.9 \pm 4.5	0.004
双酰草胺	98.0 \pm 5.2	90.2 \pm 4.7	93.8 \pm 3.9	0.009
灭草隆	99.8 \pm 3.3	92.5 \pm 3.8	90.8 \pm 3.5	0.005
氟草津	99.4 \pm 4.5	91.0 \pm 4.5	92.7 \pm 3.2	0.004
西马津	100.1 \pm 2.9	98.9 \pm 2.9	98.2 \pm 3.1	0.004
绿麦隆	99.5 \pm 3.2	99.9 \pm 3.8	99.7 \pm 3.7	0.003
敌草隆	98.3 \pm 3.7	100.2 \pm 5.0	98.9 \pm 5.3	0.006
莠去津	99.4 \pm 2.2	99.4 \pm 2.9	100.5 \pm 3.5	0.002
异丙隆	99.1 \pm 3.8	99.7 \pm 3.7	99.0 \pm 3.9	0.003
扑草净	99.7 \pm 2.9	100.1 \pm 3.0	100.5 \pm 3.5	0.003
去草净	99.0 \pm 2.9	99.1 \pm 3.4	99.7 \pm 3.3	0.002
利谷隆	99.3 \pm 5.8	100.2 \pm 3.3	102.4 \pm 6.4	0.003
扑灭津	99.6 \pm 3.2	99.9 \pm 3.3	99.4 \pm 2.9	0.002
特丁津	99.8 \pm 3.8	99.0 \pm 3.0	100.6 \pm 2.9	0.003
炔苯酰草胺	101.4 \pm 4.4	99.4 \pm 3.3	99.8 \pm 3.8	0.004
草达津	99.9 \pm 2.8	100.0 \pm 2.7	101.0 \pm 2.5	0.002
均值	99.7 \pm 3.8	97.8 \pm 3.7	98.0 \pm 4.0	0.004

图 4 为真实样品分析的典型的 MRM 离子流图。

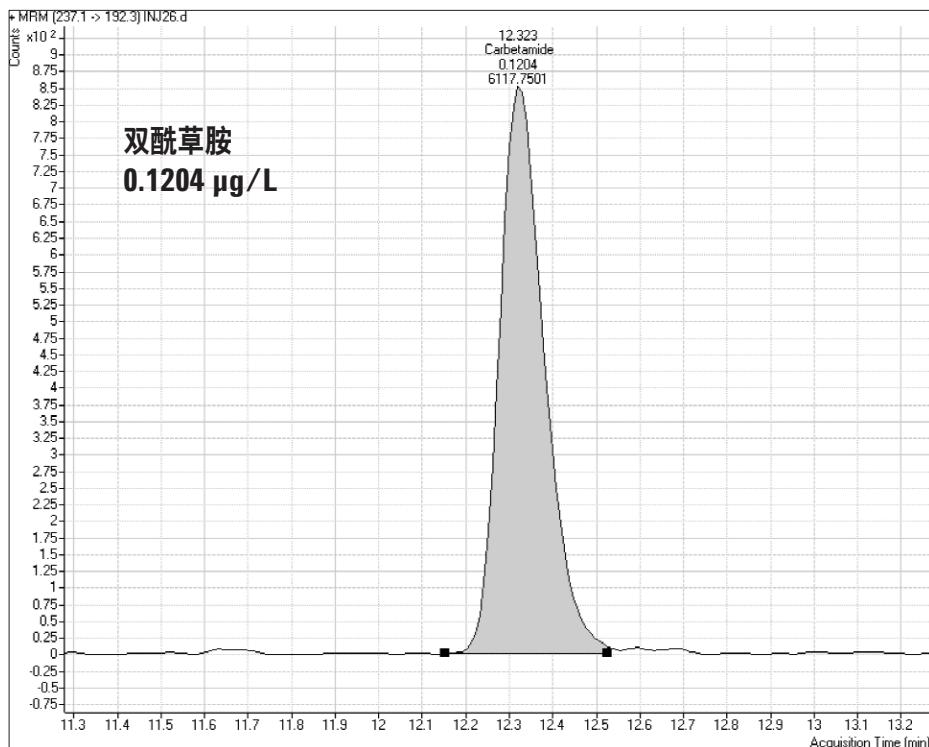


图 4a. 河水样品中双酰草胺的 MRM 离子流图

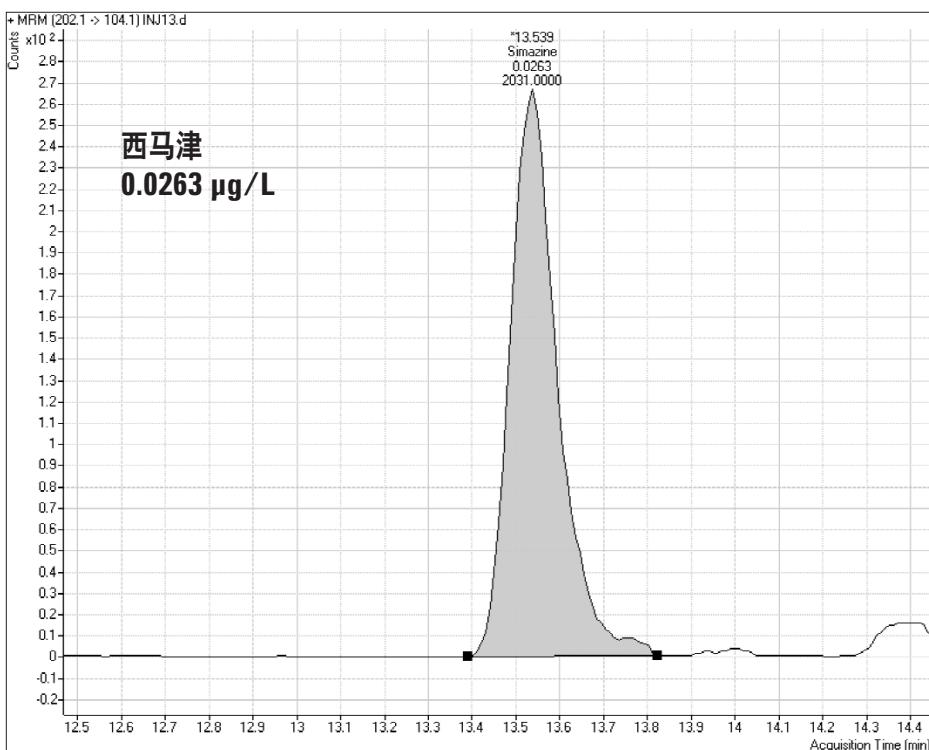


图 4b. 河水样品中双酰草胺的 MRM 离子流图

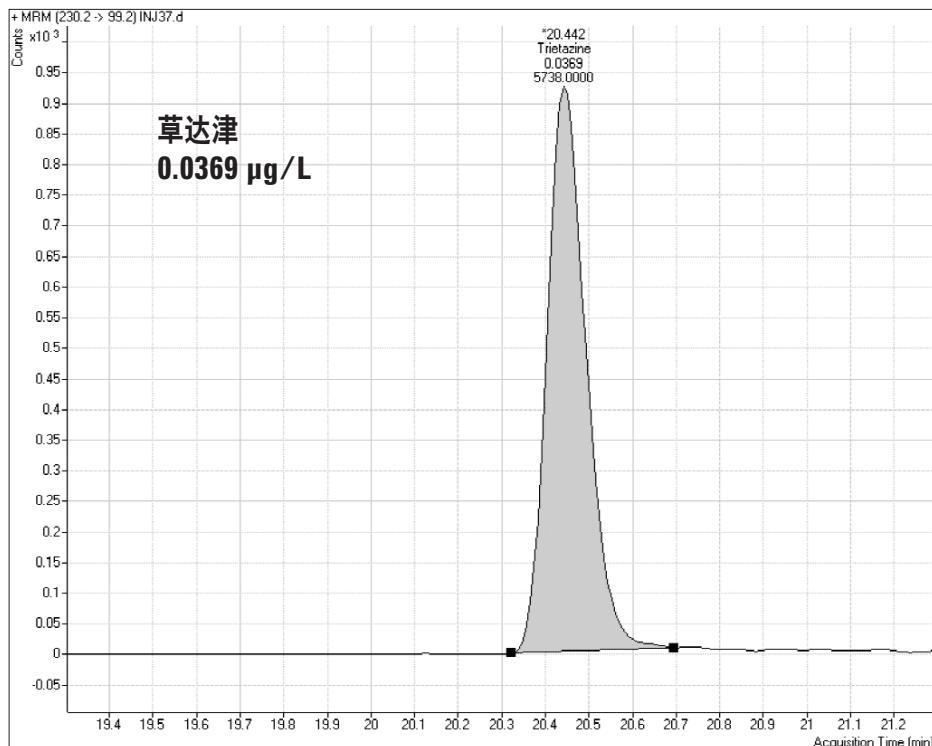


图 4c. 河水样品中草达津的 MRM 离子流图

结论

结果表明，本文介绍的方法可以用 100 μL 水样直接进样到分析柱上，然后实现 20 种除草剂的高灵敏度的定量分析。样品前处理极为简单，只需要样品的酸化过程。方法满足性能指标，即 < 12.5% 的分析精度，90 至 110% 的回收率以及 < 10 ng/L (10 ppt) 的检测限。

本应用显示，100 μL 样品直接进入分析色谱柱，即可达到要求的方法性能，这些得益于 Agilent 6410BA 三重串联四极杆液质联用仪的优异灵敏度和选择性。本方法的最大好处是直接降低了购买消耗品（固相小柱）的成本，因为不再需要购买，同时显著降低了人力成本，因为仅需要很少的样品前处理步骤（酸化）。

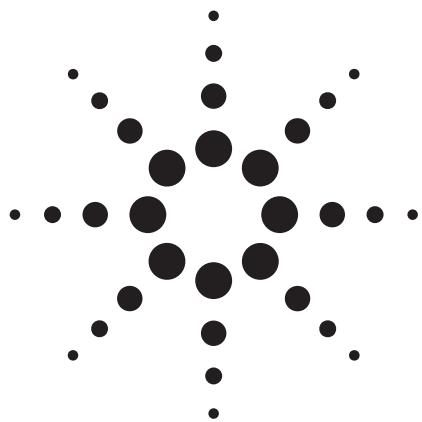
参考文献

1. "利用液质联用仪的 AP-ESI 选择离子监测和大体积直接进水样方法分析饮用水和地下水中的苯脲类和三嗪类除草剂," 安捷伦应用文摘 5989-0813EN。

更多信息

如需了解有关此应用更详细的信息，请联系英国水分析实验 (Huntingdon, Cambridgeshire, UK) 的 Neil Cullum 先生。

这里涉及的任何特殊的商业产品或非盈利组织、工序、或是商品名、商标、厂商以及其他，都没有必然的肯定或是暗示它是被美国政府所许可、推荐、欢迎的。本文中作者的观点不代表美国官方，同时不允许用于广告宣传或者用于产品推广之目的。



采用液相色谱/三重四极杆质谱对食物样品中的 301 种农药进行多残留分析

应用简报 (5989-8614CHCN)

农药

作者

E. Michael Thurman 与 Imma Ferrer
Department of Civil, Environmental and
Architectural Engineering Center for
Environmental Mass Spectrometry
University of Colorado
ECOT 441, 428 UCB
Boulder, CO 80309
美国

Jerry A. Zweigenbaum
安捷伦科技有限公司
2850 Centerville Road
Wilmington, Delaware 19806
美国

摘要

采用安捷伦 G6410A 三重四极杆质谱 (QQQ) 开发了一种用于筛选和确证蔬菜样品中 301 种农药的分析方法。我们发现这 301 种化合物中的 90% 都可以通过该方法被鉴定出来，蔬菜基质样品的分析检测限 (LOD) 为 0.01 mg/kg (ppm) 或更低，该检测限符合婴儿食品和禁用物质的限量要求，也是欧盟规定的最大残留限量 (MRL)。本文采用正离子电喷雾模式，在每个时间段 99 次的监测速度下，使用每种化合物的定量和确认离子，在单次分析中即可达到上述浓度。利用不同类型的蔬菜（西红柿和青椒）对该方法的分析性能进行评价，发现基质效应很小或几乎没有。所有化合物的响应值在 2 个数量级范围内线性关系良好 ($r^2 > 0.99$)。

前言

当前世界上用于食品以及土壤与作物处理的农药（包括合法的与不合法的）就有 900 多种。为保护消费者安全，食物和饮用水中的上述大多数农药都有最大残留限量（MRL）。作为食物质量控制的一部分，尤其是水果和蔬菜，必须对其最大残留限量浓度进行监测；因此，食物质量控制需要涉及数百种农药的多残留分析方法。然而，一次分析同时监测数百种农药的要求，对于色谱和质谱分析来说都是一种极大的挑战。

在本文中，我们联合使用了新型的 1.8 μm 液相色谱柱（可获得最大的峰容量）及每个时间段可进行 100 次 transitions 的八个时间段，评价了单次分析中采用安捷伦 6410 三重串联四极杆质谱对 301 种农药的筛选和确证，以获得相应的满足欧盟（EU）采用质谱分析实现明确鉴定规定的定量离子和定性离子。本研究在检测限、响应速度以及色谱分离方面拓展了仪器的测试能力。

本研究系首次全面检验安捷伦三重串联四极杆质谱在单次运行中分析食物中数百种农药的能力。选择本课题是因为这些化合物与食品的相关性，以及其在食品上的广泛使用。三重串联四极杆质谱的检测灵敏度很容易满足食物中 90% 所研究农药的限量规定。

实验部分

样品制备

农药分析标准品购自 Chem Services 有限公司（费城，美国）和 Sigma Aldrich 公司（路易斯维尔，美国）。各农药贮备液（浓度约 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）根据每个化合物的溶解性采用纯乙腈或甲醇制备，并于 -18°C 贮藏。取上述母液适量，用乙腈和水稀释制备工作标准溶液。

蔬菜样品采自当地市场。为进行方法验证，采用“空白”蔬菜提取物制备基质匹配的标准样品。因此，采用 QuEChERS 方法 [2] 对两种蔬菜（青椒和西红柿）进行提取。将农药标准品混合物以不同浓度加标到蔬菜提取物中（0.1 - 100 ng/mL 或 ppb），然后采用液相色谱-串联质谱进行分析。

液相色谱串联质谱联用仪

液相色谱条件

色谱柱： Agilent SB C18, 4.6mm \times 150 mm, 1.8 μm
(部件号 829975-902)

柱温： 25 $^\circ\text{C}$

流动相： 10% ACN 和 90% H_2O , 含 0.1% HCOOH

流速： 0.6 mL/min

梯度程序： 时间 0 = 10% ACN 线性升至

时间 28 = 98% ACN

时间 30 = 100% ACN

时间 31 = 100% ACN

进样体积： 10 μL

质谱条件

模式： 正离子 ESI 模式的 Agilent G6410AA
三重四极杆质谱

雾化器： 40 psig

干燥气流速： 9 L/min

毛细管电压： 4000 V

干燥气温度： 350 $^\circ\text{C}$

碎裂电压： 70-120 V

碰撞能量： 5-30 V

MRM： 各化合物的两个离子 transitions 见表 1

驻留时间： 10 ms

结果与讨论

液相色谱串联质谱联用条件优化

初始研究包括两方面的内容：首先是优化这 301 个化合物各自的碎裂电压，以获得相关母离子的最大信号。通常质子化的分子可以用来作为母离子。采用自动程序分别对每个化合物进行分析，考察每个电压下的碎片丰度。选择产生最佳碎片信号的碎裂电压，在程序运行中注入浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的各化合物，测定定量和定性离子的碰撞能量。研究中对这些化合物施加了不同的碰撞能量（5、10、15、20、25 和 30 V）。针对每种离子进行能量优化，最终选择能给出最高检测灵敏度的电压。本研究中的 MRM transitions 和这 301 种化合物均列于表 1A 和 1B。

表 1A. 分析条件、MRM、检测限和测试化合物的 r^2

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
3,4,5-三甲威	194	137 122	0.9	0.5	0.999
3-羟基呋喃丹	238	163 220	5.0	5.0	0.999
高灭磷	184	143 125	9.0	5.0	1.000
啶虫脒	223	126 56	0.2	0.5	1.000
苯草醚	265	248 193	20.0	10.0	0.979
涕灭威	116	89 70	1.5	5.0	1.000
涕灭威砜	223	148 76	6.0	1.0	1.000
涕灭威亚砜	207	89 132	4.0	1.0	0.999
莠灭净	228	186 96	4.3	4.3	0.999
灭害威	209	137 152	4.5	2.0	1.000
阿特拉津	216	174 132	0.8	0.6	1.000
甲基吡啶磷	325	183 139	0.9	0.9	0.993
甲基谷硫磷	318	132 160	1.0	1.0	0.975
嘧菌酯	404	372 344	0.5	0.5	0.973
苯霜灵	326	148 294	1.0	0.5	0.992
恶虫威	224	109 167	1.0	1.0	0.996
苄嘧磺隆	411	149 182	0.5	0.4	0.998
苯螨特	364	199 105	1.0	0.5	0.999
治草醚	342	189 310	25.0	40.0	***
双苯三唑醇	338	99 269	0.6	2.0	0.995
除草定	261	205 188	2.0	1.0	0.999

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
糠菌唑 1	376	159 70	1.0	1.0	1.000
糠菌唑 2	376	159 70	4.0	2.0	0.983
磺酸丁嘧啶	317	166 272	1.0	5.0	0.999
稻虱净	306	201 116	0.7	0.8	0.999
丁酮威	213	156 75	5.0	***	0.940
丁酮威亚砜	207	75 132	5.0	5.0	0.997
播土隆	237	84 126	1.0	0.5	0.999
苏达灭	218	57 156	5.0	45.0	0.990
西维因	202	145 117	5.0	5.0	0.999
多菌灵	192	160 132	0.5	1.0	0.997
长杀草	237	118 192	0.5	0.5	0.996
呋喃丹	222	165 123	1.0	1.0	0.999
萎锈灵	236	143 87	0.5	0.5	0.993
唑酮草酯	412	346 366	8.0	8.0	0.998
氯溴隆	293	204 182	7.0	10.0	0.996
毒虫畏	359	155 127	2.0	1.0	0.990
定虫隆	540	383 158	1.0	1.0	0.989
氯草敏	222	104 92	0.9	1.0	1.000
枯草隆	291	72 218	0.5	2.0	0.983
氯苯胺灵	214	172 154	1.0	1.0	0.998
甲基毒死蜱	322	125 290	7.0	35.0	0.978

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
氯磺隆	358	141 167	1.0	1.0	0.999
醚磺隆	414	183 157	3.0	1.0	0.998
烯草酮	360	164 268	5.0	10.0	0.940
炔草酯	350	266 238	5.0	1.0	0.993
四螨嗪	303	138 102	6.0	10.0	0.998
异恶草酮	240	125 89	0.9	5.0	0.999
解毒唑	336	238 192	0.1	0.5	0.990
蝇毒磷	363	227 307	1.0	5.0	1.000
草净津	241	214 174	2.0	1.0	0.999
草灭特	216	83 154	1.0	10.0	0.999
霜脲氰	199	128 111	6.0	5.0	1.000
环唑醇	292	70 125	1.0	2.0	0.993
嘧菌环胺	226	93 108	5.0	7.0	1.000
环丙马奎	167	85 125	10.0	10.0	0.997
丁酰肼	161	143 61	50.0	40.0	0.999
脱乙基阿特拉津	188	146 104	1.0	1.0	0.999
去乙基特丁津	202	146 110	1.0	0.5	0.999
脱异丙基莠去津	174	96 132	4.0	5.0	0.998
内吸磷-S-甲基砜	263	169 125	0.5	0.5	0.990
甜菜安	301	136 182	1.0	10.0	0.999
二嗪农	305	169 153	0.5	0.2	1.000

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
除线磷	315	287 259	10.0	40.0	0.520
抑菌灵	333	123 224	10.0	10.0	0.999
敌敌畏	221	109 145	5.0	5.0	0.999
苄氯三唑醇	328	70 159	2.0	5.0	1.000
乙霉威	268	152 226	0.5	1.0	0.998
苯醚甲环唑-1	406	251 337	0.3	0.5	0.989
苯醚甲环唑-2	406	251 337	0.3	0.5	0.989
枯萎隆	287	72 123	0.6	0.2	0.980
除虫脲	311	158 141	6.0	6.0	0.959
吡氟草胺	395	266 246	5.0	1.0	0.999
唑隆	339	72 167	0.5	1.0	0.991
二甲草胺	256	224 148	0.5	1.0	0.993
二甲噁草胺	276	244 168	0.6	0.1	0.987
乐果	230	199 171	0.7	0.7	0.994
烯酰吗啉 1	388	301 165	0.6	0.6	0.998
烯酰吗啉 2	388	301 165	0.6	0.6	0.998
烯唑醇	326	70 159	1.0	1.0	0.988
二苯胺	170	93 65	0.5	0.1	0.985
乙拌磷	275	89 61	5.0	10.0	0.991
敌草隆	233	72 160	0.8	1.0	0.996
吗菌灵	282	116 98	10.0	10.0	0.983
EPN	324	157 296	30.0	10.0	0.991

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
氟环唑	330	121 141	20.0	***	***
乙硫苯威	226	107 164	0.9	1.0	0.995
乙硫苯威砜	258	107 201	6.0	6.0	0.998
乙硫苯威亚砜	242	107 185	0.5	1.0	0.990
乙硫磷	385	171 199	1.0	5.0	1.000
乙菌定	210	98 140	50.0	45.0	0.990
唑啶草	287	121 161	7.0	10.0	0.974
灭线磷	243	173 215	2.0	2.0	0.987
乙嘧硫磷	293	125 265	0.7	5.0	0.999
唑菌酮	331	195 238	5.0	5.0	***
苯线磷	304	217 234	1.0	0.5	0.989
氯苯嘧啶醇	331	81 268	5.0	6.0	0.984
喹螨醚	307	57 161	1.0	5.0	0.999
腈苯唑	337	125 70	0.5	2.0	1.000
甲氟酰胺	202	109 83	5.0	2.0	0.999
环酰菌胺	302	97 55	3.0	9.0	1.000
仲丁威	208	95 152	1.0	1.0	1.000
恶唑禾草灵	362	288 244	0.6	2.0	0.999
苯氧威	302	88 116	1.0	1.0	0.999
拌种咯	237	202 166	1.0	10.0	0.998
甲氰菊酯	350	125 97	50.0	5.0	0.967
丁苯吗啉	304	147 130	10.0	10.0	1.000

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
倍硫磷 1	279	247 169	5.0	9.0	0.998
倍硫磷 2	279	169 247	5.0	10.0	0.999
非草隆	165	72 120	1.0	2.0	0.999
氟虫腈	437	263 368	10.0	50.0	0.994
麦草氟异丙酯	364	105 304	5.0	10.0	0.974
麦草氟甲酯	336	105 304	5.0	9.0	0.986
啶嘧磺隆	408	182 301	8.0	5.0	0.898
吡氟禾草灵	384	282 328	1.0	0.5	0.991
氟噻草胺	364	152 194	0.5	1.0	0.991
氟虫脲	489	158 141	9.0	5.0	0.990
咯菌腈	229	158 185	5.0	10.0	0.987
伏草隆	233	72 160	2.0	1.0	0.988
乙羧氟草醚	344	223 300	25.0	10.0	0.999
氟草烟	255	209 181	10.0	5.0	0.997
呋草酮	334	247 303	0.5	0.4	0.996
氟硅唑	316	247 165	0.1	0.1	0.991
粉唑醇	302	70 123	1.0	1.0	0.998
灭菌丹	260	130 232	5.0	50.0	***
地虫磷	247	109 137	1.0	5.0	***
伐虫脒	222	165 120	10.0	9.0	0.995
麦穗宁	185	157 156	1.1	1.0	1.000
呋线威	383	195 252	0.5	0.1	0.991

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
氟吡甲禾灵	376	316 288	1.0	5.0	1.000
蚜螨磷	251	127 125	2.0	1.0	0.999
己唑醇	314	70 159	1.0	0.6	0.993
氟铃脲	461	158 141	5.0	10.0	0.984
环嗪酮	253	171 71	0.5	1.0	0.994
噻螨酮	353	168 228	2.0	1.0	0.996
羟基莠去津	198	156 86	4.0	4.0	0.998
抑霉唑	297	159 255	10.0	10.0	0.850
咪唑烟酸	262	217 234	1.0	1.0	0.996
咪唑喹啉酸	312	199 267	0.6	1.0	0.998
吡虫啉	256	175 209	5.0	1.0	0.993
茚虫威	528	249 293	5.0	1.0	0.997
碘苯腈	372	118 245	30.0	10.0	0.998
咪唑霉	330	245 288	10.0	30.0	0.999
缬霉威	321	119 203	1.0	1.0	0.997
2-甲硫基-4-叔丁基氨基-6-环丙基氨基-S-三嗪	254	198 156	1.0	1.0	0.999
2-甲硫基-4-叔丁基氨基-6-环丙基氨基-S-三嗪代谢物	214	158 110	5.0	4.0	1.000
氯唑磷	314	120 162	1.0	0.5	0.991
异丙胺磷	346	217 245	3.0	0.5	0.996
异丙隆	207	72 165	1.0	1.0	0.999
异 喹草酮	360	251 69	1.0	20.0	1.000

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
醚菌酯	314	206 267	5.0	5.0	0.997
环草定	235	153 136	5.0	25.0	0.998
利谷隆	249	160 182	1.0	5.0	1.000
氯芬奴隆	511	158 141	5.0	10.0	0.995
马拉氧磷	315	99 127	1.0	0.5	0.996
马拉硫磷	331	99 127	0.8	2.0	0.998
甲苯咪唑	296	264 105	0.6	0.6	0.990
灭蚜磷	330	199 227	2.0	1.0	0.989
嘧菌胺	224	77 106	1.0	1.0	0.997
甲霜灵	280	192 220	1.0	2.0	0.994
苯嗪草酮	203	175 104	1.0	1.0	1.000
吡草胺	278	134 210	1.0	1.0	0.986
叶菌唑	320	70 125	1.0	0.5	0.979
噻唑隆	222	165 150	0.5	1.0	0.999
甲胺磷	142	94 125	1.0	1.0	0.999
呋菌胺	230	137 111	0.5	0.4	1.000
杀扑磷	303	85 145	1.0	0.5	0.987
灭虫威	226	121 169	0.9	1.0	0.996
灭多虫	163	88 106	1.0	1.0	0.990
秀谷隆	259	170 148	5.0	10.0	0.999
甲氧毒草安	284	252 176	0.5	1.0	0.988
速灭威	166	109 91	3.0	1.0	1.000

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
磺草唑胺	418	175 354	5.0	1.0	0.993
甲氧隆	229	72 156	0.5	1.0	0.996
赛克津	215	187 131	2.0	0.5	0.999
甲磺隆	382	167 141	1.0	0.5	0.996
草达灭	188	126 83	2.0	5.0	0.999
绿谷隆	215	126 148	1.0	2.0	1.000
灭草隆	199	72 126	1.0	5.0	0.995
腈菌唑	289	70 125	0.5	1.0	0.997
二溴磷	379	127 297	10.0	10.0	0.997
敌草胺	272	129 171	1.0	1.0	1.000
草不隆	275	57 88	1.0	0.5	0.989
烟嘧磺隆	411	182 213	1.0	0.6	0.937
氟苯嘧啶醇	315	81 252	1.0	1.0	***
呋酰胺	282	160 254	0.5	1.0	0.981
氧化乐果	214	125 183	1.1	1.0	1.000
恶霜灵	279	219 102	5.3	5.0	0.989
草氨酰	242	72 121	45.0	50.0	0.990
砜吸磷	263	169 109	1.1	1.0	0.990
多效唑	294	70 165	0.5	2.0	0.998
甲基对氧磷	248	90 202	3.0	5.0	0.994
乙基对硫磷	292	236 264	5.0	10.0	0.999
甲基对硫磷	264	125 232	10.0	10.0	0.986

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
戊菌唑	284	70 159	0.5	1.0	0.986
戊菌隆	329	125 218	0.5	5.0	0.987
二甲戊乐灵	282	212 194	5.0	2.0	0.990
苯敌草	301	136 168	1.0	1.0	0.999
稻丰散	321	163 247	5.0	9.0	0.975
甲拌磷	261	75 199	25.0	8.0	0.999
伏杀磷	368	182 322	5.0	1.0	1.000
亚胺硫磷	318	160 133	5.0	7.0	0.988
肟硫磷	299	77 129	5.0	5.0	0.998
氟吡酰草胺	377	238 359	1.0	1.0	0.999
啶氧菌酯	368	145 205	0.5	0.5	0.991
抗蚜威	239	72 182	2.0	8.0	0.999
乙基虫螨磷	334	198 182	0.1	0.1	0.995
甲基虫螨磷	306	164 108	0.1	0.1	0.934
甲基氟嘧磺隆	469	254 199	1.0	1.0	0.980
咪鲜胺	376	308 266	5.0	10.0	0.999
腐霉利	284	256 67	30.0	8.0	0.998
丙溴磷	373	303 345	5.0	5.0	1.000
猛杀威	208	109 151	1.0	1.0	0.998
扑灭通	226	142 184	3.0	3.0	1.000
扑草净	242	158 200	1.0	5.0	0.999
扑草胺	212	170 152	1.0	1.0	0.998

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
霜霉威	189	102 144	8.7	9.0	0.999
敌稗	218	127 162	1.0	4.0	0.963
扑灭津	230	146 188	1.0	0.5	1.000
巴胺磷	282	138 156	5.0	0.5	0.972
苯胺灵	180	120 138	5.0	2.0	1.000
戊唑醇-1	342	159 69	0.5	1.0	0.997
戊唑醇-2	342	159 69	0.5	1.0	0.995
残杀威	210	111 168	0.5	0.5	0.999
拿草特	256	190 173	3.0	1.0	0.998
苄草丹	252	91 128	0.8	1.0	1.000
氟磺隆	420	141 167	1.0	1.0	0.989
吡蚜酮	218	105 79	30.0	50.0	0.980
吡唑醚菌酯	388	163 194	0.5	0.1	0.976
定菌膦	374	222 194	0.5	0.1	0.996
哒螨灵	365	147 309	0.1	0.5	0.997
嘧霉胺	200	107 183	8.0	5.0	0.999
吡丙醚	322	96 227	0.6	0.5	0.999
喹硫磷	299	147 163	1.0	1.0	0.999
氯甲喹啉酸	222	204 176	4.7	5.0	0.999
灭螨猛	235	207 163	5.0	10.0	0.994
喹氧灵	308	197 272	1.0	0.5	0.998

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
喹禾灵	373	299 271	0.5	5.0	1.000
玉嘧磺隆	432	182 325	5.0	1.0	0.810
鱼藤酮	395	213 192	1.0	1.0	0.999
西玛津	202	132 124	1.0	1.0	0.998
西草净	214	124 144	10.0	10.0	0.998
螺甲螨酯	371	273 255	7.0	10.0	0.968
磺酰磺隆	471	211 261	1.0	1.0	1.000
硫特普	323	171 143	1.0	5.0	0.999
硫灭克磷	323	219 247	30.0	30.0	0.990
戊唑醇	308	70 151	1.0	0.5	0.983
虫酰肼	353	133 297	0.5	0.1	0.983
牧草胺	234	91 192	0.5	0.5	0.987
特丁噻草隆	229	172 116	0.9	1.0	1.000
伏虫隆	381	158 141	10.0	9.0	0.981
特丁磷	289	57 103	12.0	10.0	0.976
特丁通	226	170 114	5.0	5.0	1.000
特丁津	230	174 132	0.1	0.5	0.999
特丁净	242	186 71	5.0	2.0	1.000
杀虫畏	365	127 239	1.0	5.0	0.999
噻苯达唑	202	175 131	6.0	1.0	0.999
噻虫啉	253	126 186	3.0	1.0	0.998
噻虫嗪	292	211 181	5.0	8.0	0.990

(续)

化合物	母离子	子离子	青椒的检测限 (ppb)	西红柿的检测限 (ppb)	r^2
噻吩磺隆	388	167 141	0.9	1.0	0.998
杀虫环	182	137 73	54.0	54.0	0.986
硫双威	355	88 163	5.0	1.0	0.980
久效威	241	184 57	5.0	10.0	0.987
甲基硫菌灵	343	151 311	10.0	1.0	0.999
甲基立枯磷	301	125 269	6.0	10.0	0.999
甲苯氟磺胺	347	137 238	10.0	1.0	0.999
三唑酮	294	69 197	1.0	1.0	0.998
三唑醇	296	70 227	10.0	1.0	0.976
醚苯磺隆	402	167 141	2.0	0.5	0.991
三唑磷	314	162 286	0.7	1.0	0.984
苯磺隆	396	155 181	100.0	10.0	0.981
敌百虫	257	109 221	10.0	10.0	0.997
三氯卡班	315	162 128	1.0	1.0	0.998
三环唑	190	163 136	1.0	1.0	0.998
草达津	230	132 202	2.0	0.8	1.000
肟菌酯	409	186 206	0.5	0.5	0.997
氟菌唑	346	278 73	4.0	1.0	0.974
杀铃脲	359	156 139	4.0	1.0	0.999
氟胺磺隆	493	264 238	4.0	1.0	0.990
蚜灭多	288	146 118	0.8	2.0	0.998

表 1B. SB C18 色谱柱检测的灵敏度低和色谱分离度差的化合物

	母离子	子离子	溶剂检测限 (μg)	原因
乙草胺	270	148 224	10	在 SB C18 色谱柱上分离度差
苯并噻二唑	211	136 91	50	超出窗口
草不绿	270	162 238	10	在 SB C18 色谱柱上分离度差
涕灭砜威	223	149 177	50	干扰
敌菌灵	275	153 178	1	超出窗口
乙基谷硫磷	346	160 132	1	超出窗口
丙硫克百威	411	195 252	1.0	超出窗口
溴苯腈	278	199 223	>100	灵敏度低
绿麦隆	213	72 140	20	超出窗口
乙氧喹	218	174 148	>100	色谱分离度差
苯锈啶	274	147 57	100	色谱分离度差
伊曲康唑	705	450 404	***	无定性离子
甲硫威砜	258	122 217	***	无定性离子
尼古丁	163	130 132	***	离子化效率低
大灭虫	300	129 153	100	超出窗口
克螨特	373 Na	81 57	>100	灵敏度低
啶虫脒	295	93 263	>100	灵敏度低
多杀菌素 A	732.4	142 99	20	未从 SB C18 柱流出
多杀菌素 D	746.4	558 142	100	未从 SB C18 柱流出
螺环菌胺	298	144 100	>100	标准品分解
特草定	217	161 144	>100	灵敏度低

MRM transitions 的驻留时间为 10 ms。记录了色谱运行中八个不同的时间段，每个时间段包含大约 50 种农药。为了监测恰好在时间段交界处流出的化合物，有必要交叠此时流出的农药。图 1 为浓度均为 100 ppb 的 301 种化合物标准品经色谱分离的色谱图。根据每个质子化的分子及其 MRM transitions 子离子，将每个目标分析物的萃取离子色谱图进行重叠。

蔬菜基质样品的分析应用

为确证方法是否可适用于实际样品的分析，对两个不同基质（青椒和西红柿）匹配的标准样品进行了分析，并与相应纯溶剂标准

样品比较，采用六个样品浓度（0.1、0.5、1.0、10.0、50.0 和 100 ng/mL 或 ppb）。图 2 展示了青椒基质中二嗪农的标准曲线。表 1A 列出了青椒基质条件下分析的 r^2 值，还有纯溶剂和西红柿基质的相关数据。各化合物在超过两个数量级的浓度范围内线性关系良好，并且检测灵敏度高，大多数化合物的线性相关系数 r^2 大于 0.99，其中 150 个化合物的检测限在 1-10 pg 范围内，而另 140 个化合物的检测限在 10-100 pg 范围内。有 11 个化合物离子化效果很差或色谱分离不佳，未能达到 0.010 mg/kg 的检测水平。这些化合物见表 1B。

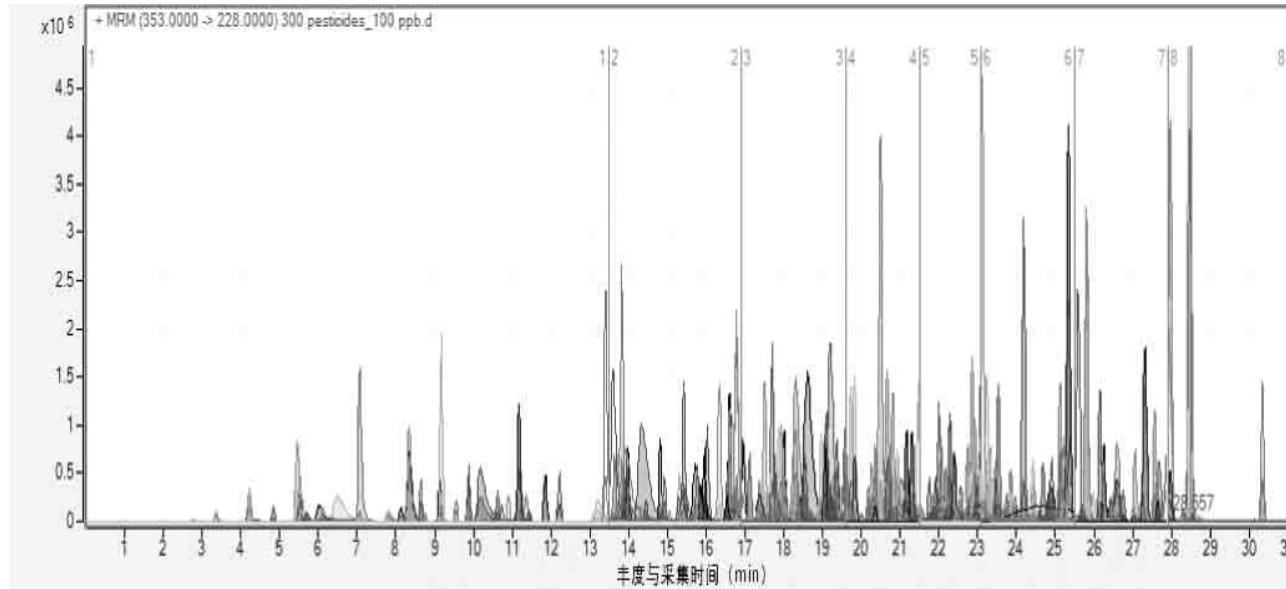


图 1. 八个时间段下浓度均为 100 ppb 的 301 种农药标准品子离子的色谱图 (MRM)

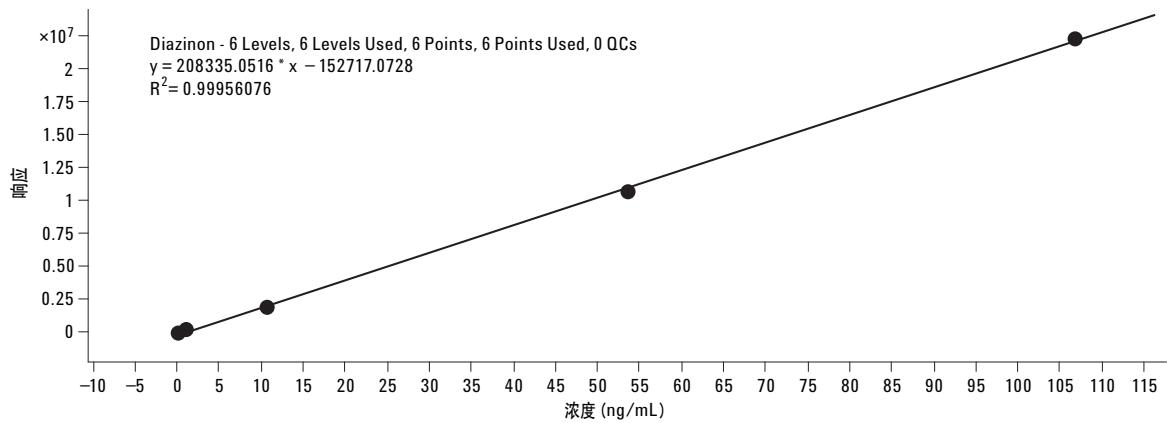


图 2. 未经任何处理的青椒中二嗪农在 0.1-100 ng/mL (ppb) 范围内六 MRM 个浓度点的校准曲线

图 3 展示了青椒提取物中二嗪农的定性离子比率，农药混合物加标浓度 0.010 $\mu\text{g/g}$ (柱上 100 pg)。 m/z 169 的离子作为定量离子， m/z 153 的离子作为定性离子，范围定为离子比率的 $\pm 20\%$ 。如图 3 的两个离子曲线所示，由于 MRM transitions 的选择性和仪器的检测灵敏度，在这种复杂基质中，二嗪农很容易被鉴定。大体上，301 种农药的检测限符合当前欧盟规定的相应最大残留限量要求。

而且，使用 1.8 μm 填料色谱柱可以得到 5-10 s 峰宽的尖锐色谱峰。因此，使用 10 ms 快速的驻留时间对于获得表 1A 所列的定量结果非常重要。最后，定量离子仪器的五次重复性分析的相对标准偏差 (RSD) 是 6% (中间) 或者 6.7% (平均)。这些数据在 0.1 mg/kg 浓度水平下得到。

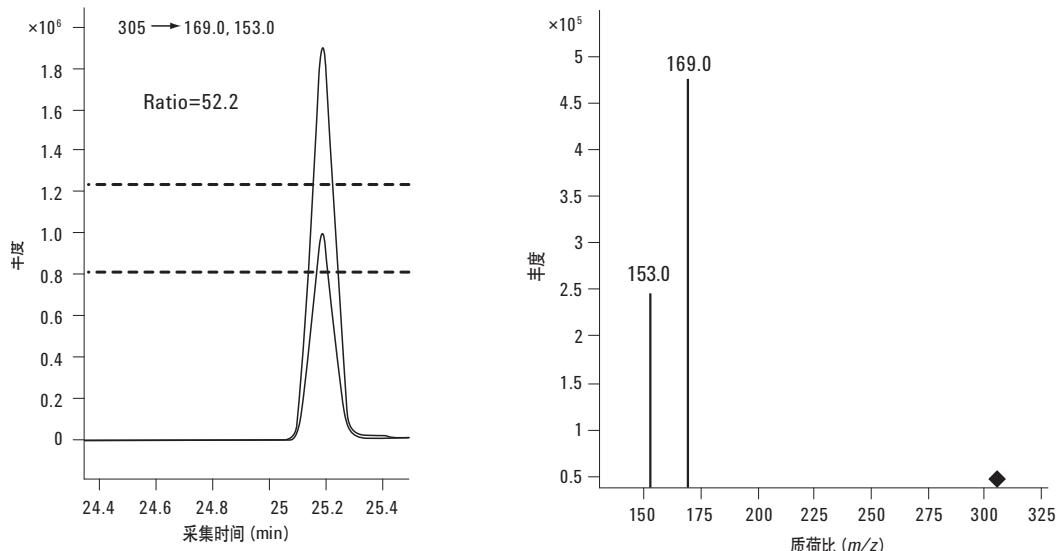


图 3. 展示了青椒基质中二嗪农定性离子和定量离子的离子比率

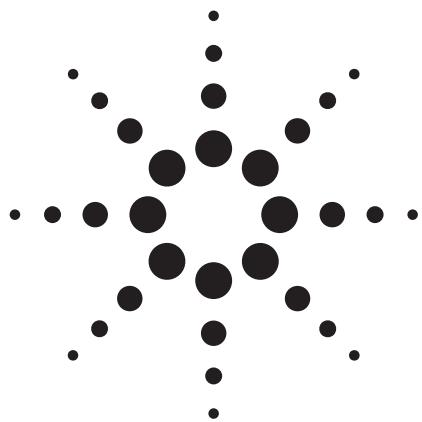
结论

本研究的结果显示，Agilent 6410 三重四极杆是一种耐用性强、灵敏度高并且重现性好的仪器，可用于食物如蔬菜提取物中农药的高通量研究。50% 的化合物仪器的检测限在 1-10 pg 范围内，90% 的化合物在 100 pg 以下。这些检测限包括对于化合物鉴定非常重要的定量离子和定性离子。由于每个时间段包含 100 次 transitions，所以这些检测限使检测非常灵敏，足够每个时间段分析约 30-40 个化合物（当方法具有良好重现性时，每个时间段最少重叠 5-10 个化合物）。

采用 Agilent 6410 三重四极杆质谱和两种子离子确证，进样体积 10 μ L 时，对于至少 90% 的农药，检测限一可达到 0.010 mg/kg (ppm)。该最大残留限量是婴儿食品限量、禁用农药限量以及环境与食品分析科学家使用新购液相色谱串联质谱联用系统进行实际食品基质样品检测的一般要求。

参考文献

1. Imma Ferrer, E. M. Thurman, Y. Fang, P. Zavitsanos, J. A. Zweigenbaum, “采用液相色谱/三重串联四极杆质谱技术进行食品中 100 种农药的多残留分析”，安捷伦科技出版号 5989- 5469CHCN, 2006 年 8 月
2. M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, and F. J. Schenck, *J. AOAC International*, 86 (2003) 412–431.



EPA 方法 1694：使用 HPLC/MS/MS 检测水、土壤、沉积物和生物固体中的药物和个人护理用品的 Agilent 6410A LC/MS/MS 解决方案

应用简报 (5989-9665CHCN)

环境分析

作者

Imma Ferrer and E. Michael Thurman
Center for Environmental Mass Spectrometry
University of Colorado
Civil, Environmental, and Architectural Engineering
ECOT 441, 428 UCB
Boulder, CO 80309
USA (美国)

Jerry Zweigenbaum
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA (美国)

摘要

使用 Agilent G6410A 三重串联四极杆质谱仪 (QQQ) 建立了水样中 65 种药物的筛选和确认方法。该方法按照美国国家环保局 (EPA) 1694 号方法指南进行开发。根据不同药物的极性和提取方式，使用了 4 种不同的色谱梯度和液相色谱条件。应用了正、负两种模式的电喷雾电离和两种裂解转变的多反应监测分析 (MRM) (每个化合物有一个定量离子和一个定性离子)，这使得本方法比 EPA 方法拥有更多的结构确证信息。所有药物的响应值在三个数量级范围具有很好的线性 ($r^2 > 0.99$)。为评价本方法的分析性能，对从 Boulder Creek (Colorado) 采集的污水样品进行了实样分析，在该样品中检出了卡马西平和苯海拉明。

引言

近 20 年来，一项挑战性的分析任务——检测环境中出现的污染物，已经成为科学家们的重要研究目标之一。药物和个人护理用品 (PPCPs) 是污染物中一组重要的检测目标，近十年来尤其如此。在个人护理用品检测领域，已经研发出一系列有关此类物质的分析方法，包括最近发布的 EPA 方法 1694 (2007 年 12 月) [1]。EPA 的这种方法使用固相萃取 (SPE) 进样水样的制备[1]。所得提取物直接用串联质谱仪分析，每种化合物用到一种裂解转变。本应用报告阐述了应用这种方法的安捷伦解决方案，通过

Agilent 6410A LC/MS 三重串联四极杆质谱仪得到了验证。安捷伦对 EPA 方法 1694 的初步应用涵盖了 PPCPs 混合物中的 65 种被分析物 (总共 75 种被分析物) 和 17 种标记内标物质 (总共 20 种)，每种化合物用一个 MRM 通道进行定量分析。(说明：当时其他化合物和内标物质无法获得。) 该方法中，使用 Agilent C-18 柱和 HILIC 柱 (亲水性相互作用色谱柱) 对所有化合物进行分析。为了得到更多的结构确证信息，对 65 种被分析物中的 60 种追加应用了第二碎片离子 MRM 加以定性确认，由此得到的鉴定结果比 EPA 方法更有保证。本文中研究的药物名称见表 1。

表 1. 本文中研究的被分析物

EPA 1694 中的第 1 组化合物：46 种被分析物

对乙酰氨基酚	可待因	氟甲喹	青霉素 V	磺胺
氨苄青霉素	可天宁	氟西汀	罗红霉素	噻苯哒唑
阿奇霉素	脱氢硝苯地平	林可霉素	沙拉沙星	甲氧苄氨嘧啶
咖啡因	洋地黄毒苷	洛美沙星	磺胺氯哒嗪	泰乐菌素
卡巴多	地尔硫卓	咪康唑	磺胺嘧啶	维吉尼霉素
卡马西平	1,7-二甲基黄嘌呤	诺氟沙星	磺胺二甲氧嘧啶	地高辛 *
头孢噻肟	苯海拉明	氧氟沙星	磺胺甲基嘧啶	
环丙沙星	恩诺沙星	苯唑青霉素	磺胺二甲嘧啶	
克拉霉素	红霉素	喹酸	磺胺甲二唑	
邻氯青霉素	脱水红霉素	青霉素 G	磺胺甲恶唑	

* 化合物在当前条件下生成无法分析的钠加合物。

EPA 1694 中的第 2、3 和 4 组化合物：19 种被分析物

脱水四环素(2)	强力霉素(2)	二甲胺四环素(2)	三氯卡班(3)
			三氯生(3)
金霉素(2)	4-差向脱水四环素(2)	四环素(2)	华法林(3)
		甲氯环素(2)	沙丁胺醇(4)
去甲金霉素(2)	4-差向四环素(2)	吉非罗齐(3)	西咪替丁(4)
		布洛芬(3)	二甲双胍(4)
		萘普生(3)	雷尼替丁(4)

标记内标物质

$^{13}\text{C}_2\text{-}^{15}\text{N}$ -对乙酰氨基酚	$^{13}\text{C}_2$ -红霉素	$^{13}\text{C}_6$ -磺胺甲嘧啶	$^{13}\text{C}_3$ -甲氧苄氨嘧啶
$^{13}\text{C}_3$ -莠去津	氟西汀-d ₆	$^{13}\text{C}_6$ -磺胺甲恶唑	华法令-d ₅
$^{13}\text{C}_3$ -咖啡因	吉布罗齐-d ₆	$^{13}\text{C}_6\text{-}2,4,5\text{-三氯-}$ 苯氨基乙酸	卡马西平-d ₁₀ (不含于 EPA 清单)
$^{13}\text{C}_3\text{-}^{15}\text{N}$ -环丙沙星	$^{13}\text{C}_3$ -布洛芬	$^{13}\text{C}_6$ -三氯卡班	
可天宁-d ₃	^{13}C -萘普生-d ₃	$^{13}\text{C}_{12}$ -三氯生	

实验部分

样品制备

药品标准品购自 Sigma (St. Louis, MO)。根据各种药物组分的溶解性, 用纯乙腈或甲醇制得单一组分的药品贮备液, 浓度约为 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 在 -18°C 保存。取这些贮备液, 用乙腈和水稀释制成工作标准溶液。

水样从 Boulder Creek (Boulder, CO) 污水处理厂的排水口采得, 并按 EPA 方法提取。安捷伦介绍过的一种具有亲水/亲脂性的 SPE 聚合吸附剂可能也适合于这种样品的提取。用“空白”污水提取物制备基质相同的标准溶液用于验证。在污水提取物加入混合药物标准溶液, 制成不同浓度的加标溶液 (浓度范围为 0.1~500 ng/mL 或 ppb), 然后用 LC/MS/MS 分析。

LC/MS/MS 仪器条件

根据 EPA 的样品提取方法, 将被分析物分组, 各组的液相色谱分析分离条件如下:

第 1 组的液相色谱条件——酸性提取, 电喷雾正离子化 (ESI+) 仪器条件

色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 2.1 \times 100 mm, 3.5 μ (部件号 959793-902)
柱温	25 $^\circ\text{C}$
流动相	乙腈-0.1% 的甲酸水溶液 (1:9)
流速	0.2~0.3 mL/min
梯度	$t_0 = 10\%$ 乙腈, 0.2 mL/min $t_5 = 10\%$ 乙腈, 0.2 mL/min $t_6 = 10\%$ 乙腈, 0.3 mL/min $t_{24} = 60\%$ 乙腈, 0.3 mL/min $t_{30} = 100\%$ 乙腈
进样量	15 μL

第 2 组的液相色谱条件——酸性提取, 电喷雾正离子化 (ESI+) 仪器条件

色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 2.1 \times 100 mm, 3.5 μ (部件号 959793-902)
柱温	25 $^\circ\text{C}$
流动相	乙腈-0.1% 的甲酸水溶液 (1:9)
流速	0.2 mL/min
梯度	$t_0 = 10\%$ 乙腈 $t_{10} = 10\%$ 乙腈 $t_{30} = 100\%$ 乙腈
进样量	15 μL

第 3 组的液相色谱条件——酸性提取, 电喷雾负离子化 (ESI-) 仪器条件

色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 2.1 \times 100 mm, 3.5 μ (部件号 959793-902)
柱温	25 $^\circ\text{C}$
流动相	甲醇-5 mM 醋酸铵水溶液 (4:6, pH 5.5)
流速	0.2 mL/min
梯度	$t_{0.5} = 40\%$ 甲醇 $t_7 = 100\%$ 甲醇
进样量	15 μL

第 4 组的液相色谱条件——酸性提取, 电喷雾负离子化 (ESI-) 仪器条件

色谱柱	Agilent ZORBAX HILIC Plus 2.1 \times 100 mm, 3.5 μm (部件号 959793-901 自 2008 年 11 月 1 日起接受订购)
柱温	25 $^\circ\text{C}$
流动相	乙腈-10 mM 醋酸铵水溶液 (98:2, pH 6.7)
流速	0.25 mL/min
梯度	$t_0 = 98\%$ 乙腈 $t_5 = 70\%$ 乙腈 $t_{12} = 70\%$ 乙腈
进样量	15 μL

所有各组通用的质谱条件如下：

Agilent G6410A 三重串联四极杆质谱仪的质谱条件

模式	电喷雾离子化器根据不同组别采用正离子模式或负离子模式
雾化器	40 psig
干燥气流速	9 L/min
毛细管电压	4000 V
干燥气温度	300 °C
碰撞诱导解离电压	70–130 V
碰撞能量	5–35 V
多反应监测分析 (MRM)	每个化合物监测 2 种 transitions, 见表 1
驻留时间	10 msec

结果与讨论

LC/MS/MS 条件优化

初步研究分两部分进行，第一部分对各种药物的碰撞诱导解离电压进行优化，以使前体离子产生最大的信号。通常选取质子化分子作为前体离子。使用一种自动程序（安捷伦科技公司的 MassHunter 优化软件）对每种化合物分别分析，检查各种电压下的裂解情况，根据数据选择最佳裂解信号。然后对各化合物再次进行自动测定，确定各种碰撞能量对定性、定量离子的影响。最佳碰撞能量在 5~35 V 之间。MRM transitions 和最佳碰撞能量见表 2A~2D。

表 2A. 第 1 组药物的 MRM transitions 和 MS 参数（标记内标物质以粗体字表示）

化合物	碰撞诱导解离电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量(eV)
对乙酰氨基酚	90	152 → 110 152 → 65	15 35
¹³C₂-¹⁵N-对乙酰氨基酚	90	155 → 111 155 → 93	15 25
氨苄青霉素	70	350 → 160 350 → 106	10 15
¹³C₃-莠去津	120	219 → 177 219 → 98	15 25
阿奇霉素	130	749.5 → 591.4 749.5 → 158	30 35
咖啡因	110	195 → 138 195 → 110	15 25
¹³C₃-咖啡因	110	198 → 140 198 → 112	15 25
卡巴多	80	263 → 231 263 → 130	5 35
卡马西平	110	237 → 194 237 → 179	15 35
卡马西平-d₁₀	110	247 → 204 247 → 202	15 35
头孢噻肟	90	456 → 396 456 → 324	5 5
环丙沙星	110	332 → 314 332 → 231	20 35
¹³C₃-¹⁵N-环丙沙星	110	336 → 318 336 → 235	15 35

表 2A. 第 1 组药物的 MRM transitions 和 MS 参数 (标记内标物质以粗体字表示) 续

化合物	碰撞诱导解离电压	MRM transitions (<i>m/z</i>)	碰撞能量(eV)
克拉霉素	110	748.5 → 158 748.5 → 590	25 15
邻氯青霉素	90	436 → 160 436 → 277	15 15
可待因	130	300 → 215 300 → 165	25 35
可天宁	90	177 → 98 177 → 80	25 25
可天宁-d ₃	90	180 → 80 180 → 101	25 25
脱氢硝苯地平	130	345 → 284 345 → 268	25 25
洋地黄毒昔	90	391 → 355 391 → 337	15 15
地高辛		钠加合物, 无响应	
地尔硫卓	130	415 → 178 415 → 150	25 25
1,7-二甲基黄嘌呤	90	181 → 124 181 → 99	15 15
苯海拉明	70	256 → 167 256 → 152	15 35
恩诺沙星	130	360 → 316 360 → 342	15 15
红霉素	90	734.5 → 158 734.5 → 576	35 15
¹³ C ₂ -红霉素	90	736.5 → 160 736.5 → 578	25 15
脱水红霉素	90	716.5 → 158 716.5 → 116	25 25
氟甲喹	90	262 → 174 262 → 244	35 15
氟西汀	90	310 → 148	5
氟西汀-d ₆	90	316 → 154	5
林可霉素	110	407 → 126 407 → 359	25 15
洛美沙星	130	352 → 308 352 → 265	15 25
咪康唑	90	415 → 159 415 → 69	35 25
诺氟沙星	70	320 → 302 320 → 276	15 15
氧氟沙星	110	362 → 318 362 → 261	15 25

表2A. 第1组药物的 MRM transitions 和 MS 参数 (标记内标物质以粗体字表示) 续

化合物	碰撞诱导解离电压	MRM transitions (<i>m/z</i>)	碰撞能量(eV)
苯唑青霉素	70	402 → 160 402 → 243	15 5
噁唑酸	90	262 → 244 262 → 216	15 25
青霉素 G	90	335 → 160 335 → 176	5 5
青霉素 V	70	351 → 160 351 → 114	5 25
罗红霉素	130	837.5 → 679 837.5 → 158	15 35
沙拉沙星	130	386 → 299 386 → 368	25 25
磺胺氯哒嗪	90	285 → 156 285 → 92	10 25
磺胺嘧啶	110	251 → 156 251 → 92	15 25
磺胺二甲氧嘧啶	80	311 → 156 311 → 92	20 35
磺胺甲基嘧啶	110	265 → 156 265 → 92	15 25
磺胺二甲嘧啶	90	279 → 156 279 → 186	15 15
¹³ C ₆ -磺胺二甲嘧啶	90	285 → 186 285 → 162	25 25
磺胺甲二唑	80	271 → 156 271 → 92	10 25
磺胺甲恶唑	110	254 → 156 254 → 92	15 25
¹³ C ₆ -磺胺甲恶唑	110	260 → 162 260 → 98	15 25
磺胺	70	173 → 156 173 → 92	5 15
噻苯哒唑	130	202 → 175 202 → 131	25 35
¹³ C ₆ -2,4,5-三氯-苯氨基乙酸	110	259 → 201 259 → 165	5 25
甲氧苄氨嘧啶	110	291 → 230 291 → 261	25 25
¹³ C ₃ -甲氧苄氨嘧啶	110	294 → 233 294 → 264	25 25
泰乐菌素	110	916.5 → 174 916.5 → 772	35 35
维吉尼霉素	110	526 → 508 526 → 355	5 15

表 2B. 第 2 组药物的 MRM transitions 和 MS 参数

化合物	碰撞诱导解离电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量(eV)
脱水四环素	90	427 → 410 427 → 154	15 25
金霉素	110	479 → 462 479 → 197	15 35
去甲金霉素	130	465 → 430 465 → 448	25 15
强力霉素	110	445 → 428 445 → 154	15 25
4-差向脱水四环素 (EATC)	90	427 → 410 427 → 105	15 35
4-差向四环素 (ETC)	110	445 → 410 445 → 427	15 5
二甲胺四环素	90	458 → 441	15
四环素 (TC)	110	445 → 410 445 → 427	15 5

表 2C. 第 3 组药物的 MRM transitions 和 MS 参数

化合物	碰撞诱导解离电压	MRM transitions (m/z)	碰撞能量(eV)
吉非罗齐	100	249 → 121	5
吉非罗齐-d ₆	100	255 → 121	5
布洛芬	75	205 → 161	5
¹³ C ₃ -布洛芬	75	208 → 163	5
萘普生	75	229 → 169 229 → 170	25 5
¹³ C-萘普生-d ₃	75	233 → 169 233 → 170	25 5
三氯卡班	100	313 → 160 313 → 126	10 25
¹³ C ₆ -三氯卡班	90	319 → 160 319 → 132	5 25
三氯生	75	287 → 35	5
¹³ C ₁₂ -三氯生	75	299 → 35	5
华法令	125	307 → 117 307 → 161	35 15
华法令-d ₅	90	312 → 161 312 → 255	15 25

表2D. 第4组药物的 MRM transitions 和 MS 参数

化合物	碰撞诱导解离电压	MRM transitions (<i>m/z</i>)	碰撞能量(eV)
沙丁胺醇	90	240 → 148	15
		240 → 166	5
西咪替丁	100	253 → 159	10
		253 → 95	25
二甲双胍	80	130 → 60	10
		130 → 71	25
雷尼替丁	110	315 → 176	15
		315 → 130	25

分别对各组化合物进行色谱分离，且每个 MRM transitions 的驻留时间为 10 毫秒。图 1A~1D 为所有药物标准品的相应色谱图 (柱上浓度 100 ppb)。根据各个目标分析物相应的质子化分子及碎片离子的 MRM transitions 分别得到了提取离子色谱图。

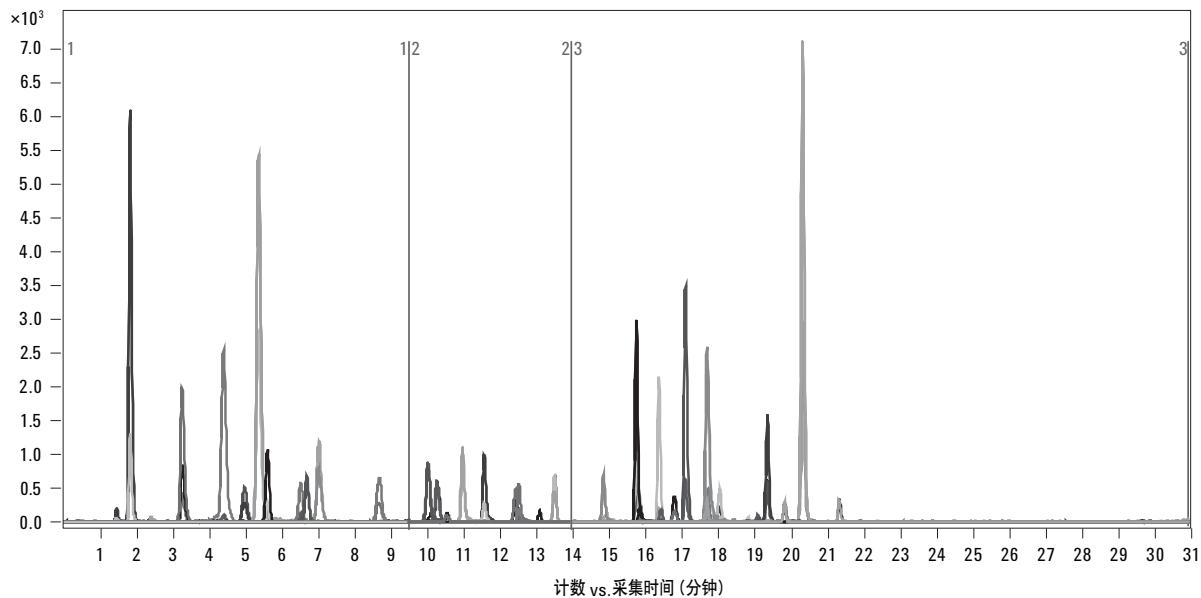


图 1A. 第1组药物的 MRM 提取离子色谱图，利用了色谱分离过程中的三个时间片段

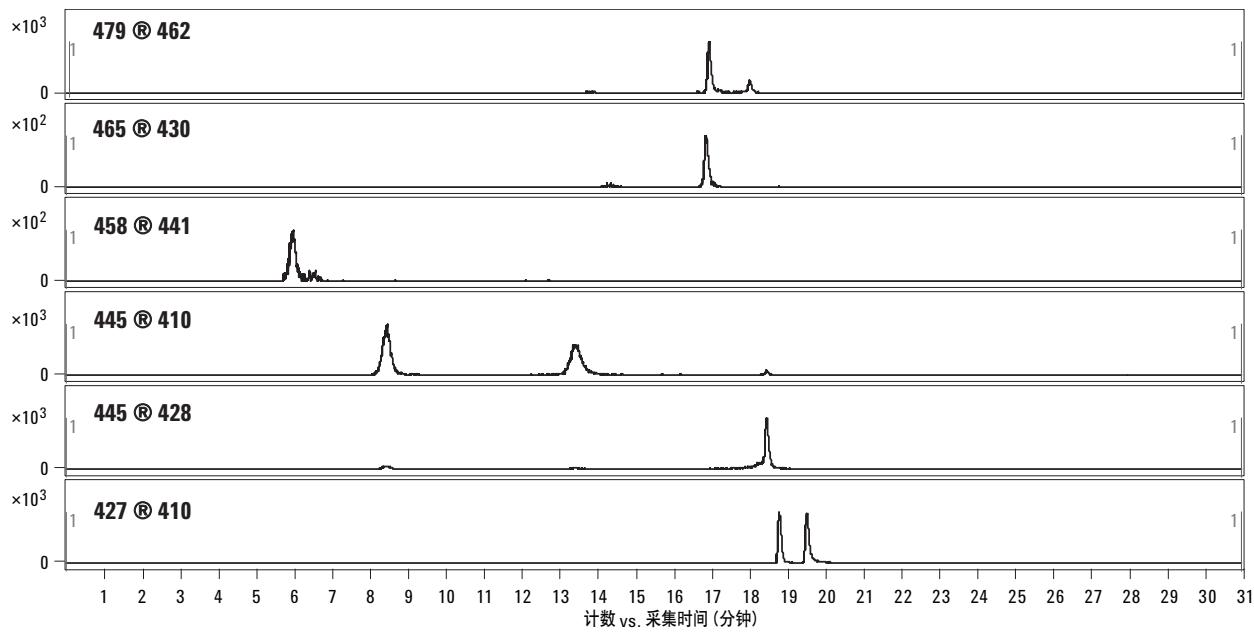


图 1B. 第 2 组药物的 MRM 提取离子色谱图, 仅显示一种 transitions。化合物的鉴定结果见表 2B

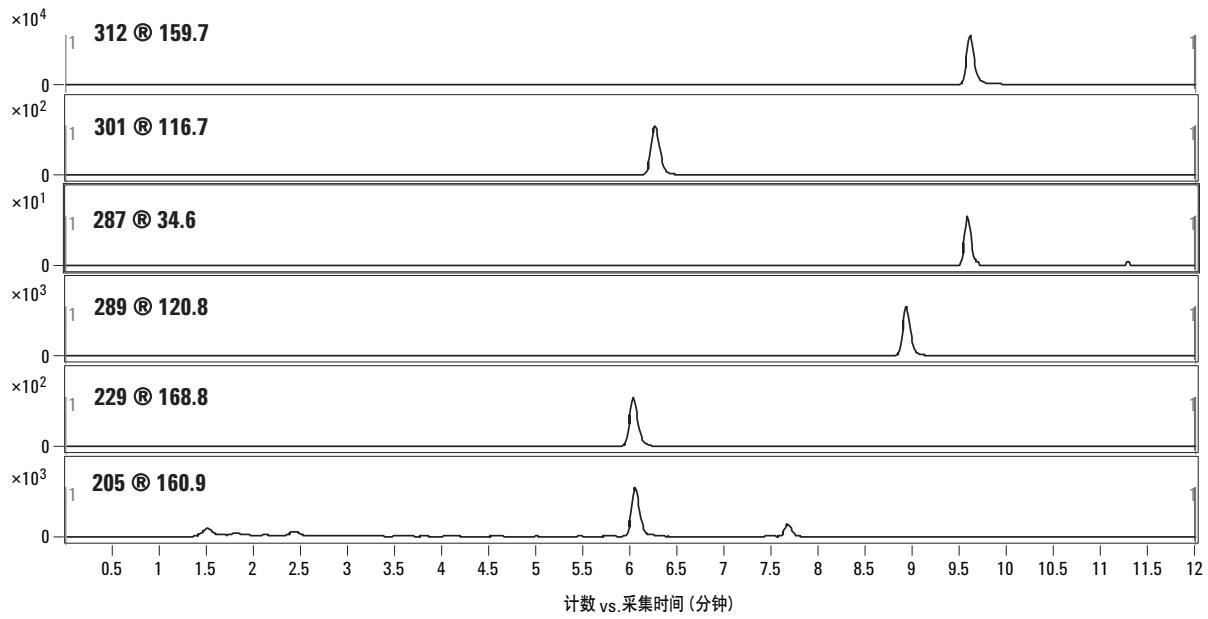


图 1C. 第 3 组药物的 MRM 提取离子色谱图, 仅显示一种 transitions。化合物的鉴定结果见表 2C

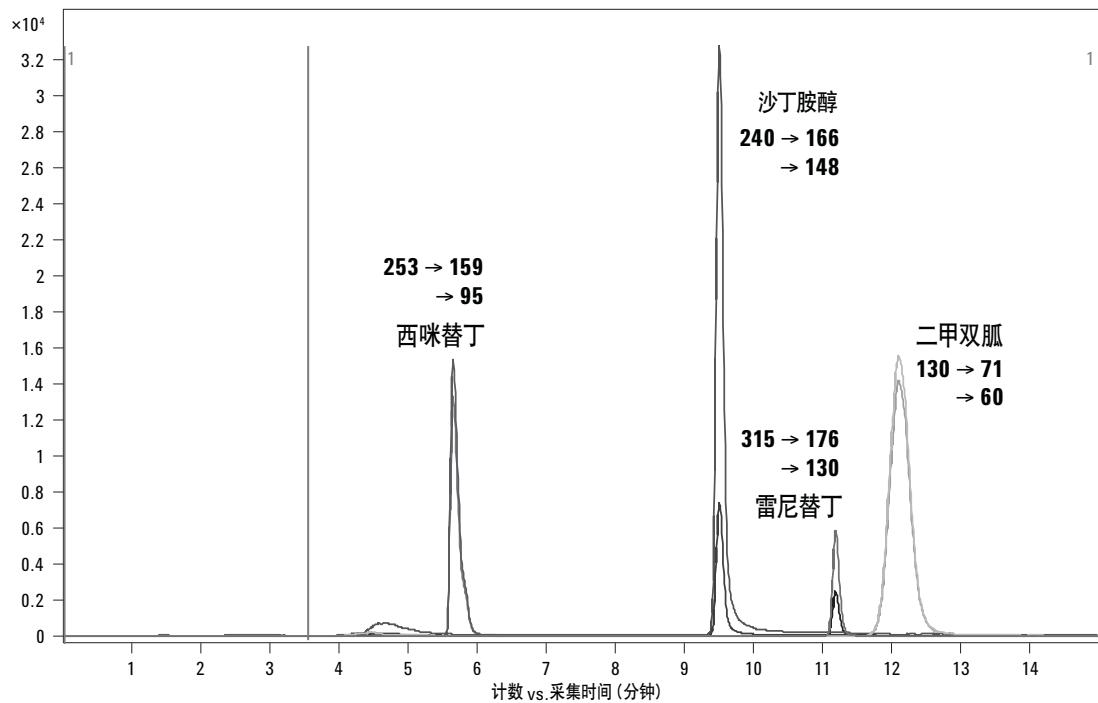


图 1D. 第 4 组药物的 MRM 提取离子色谱图

对污水样品的实际应用

为了证实本方法对实样分析的适用性, 用污水处理厂出口处的污水作为基质, 制备了 8 种浓度水平 (0.1, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100 和 500 ng/mL 或 ppb) 的加标样品进行分析。以对乙酰氨基酚的标准曲线为例, 如图 2 所示。总之, 所有的化合物均显示了出色的灵敏度, 并且在三个数量级的浓度范围内表现出良好的线性, $r^2 \geq 0.99$ 。

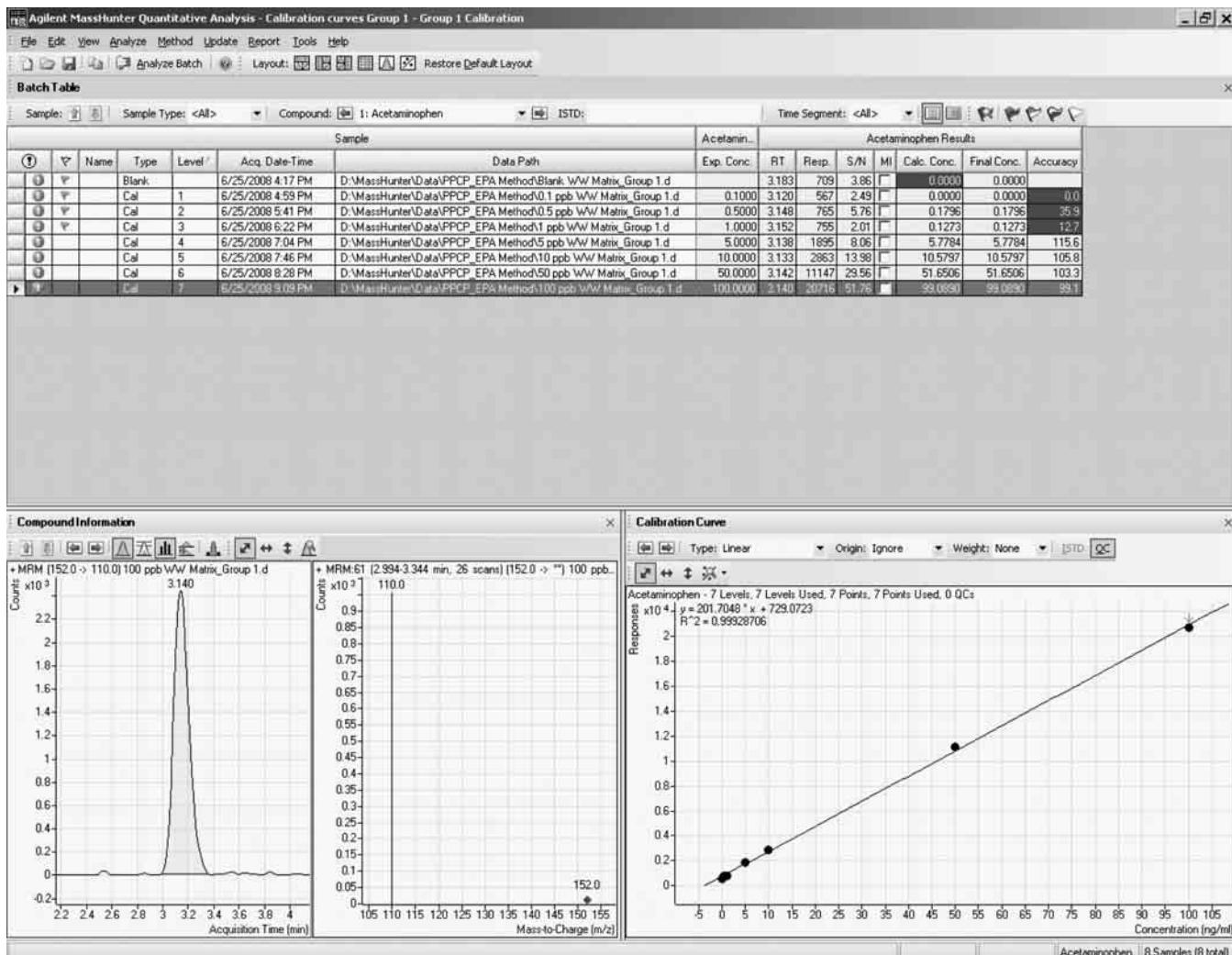


图2. 污水基质中对乙酰氨基酚的7点校正曲线，浓度范围为0.1~100 ng/mL (ppb)，线性拟合不通过原点

最后，对“空白”污水样品进行分析，检出其中存在两种药物——卡马西平和苯海拉明，用两种MRM transitions对其进行结构确证。污水提取物中这两种化合物的定性离子比见图3。如图3中两种MRM提取离子色谱图所示，由于MRM transitions的选择性和仪器的高灵敏度，尽管这两种化合物存在如此复杂的基质中，仍然能够方便地得到鉴定。

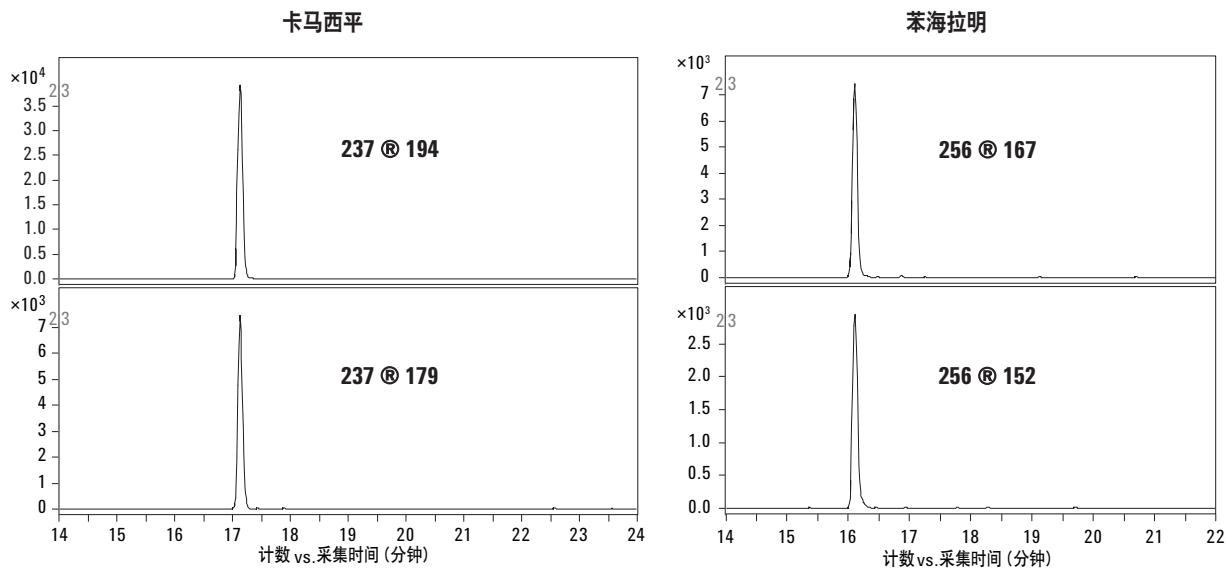


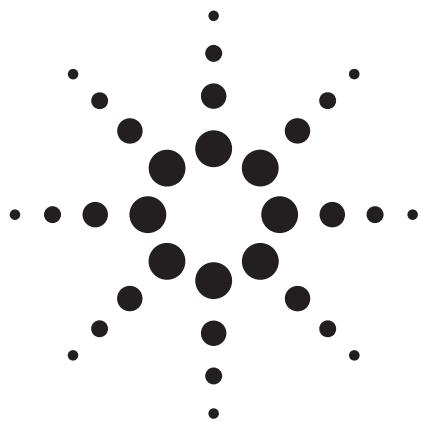
图3. 污水样品中卡马西平和苯海拉明的两种 MRM transitions 色谱图

结论

本次研究的结果显示,对于高通量方法在水样中药物研究的应用,Agilent 6410A 三重串联四极杆质谱仪是一种稳健的、灵敏的和可靠的仪器。Agilent 6410A 三重串联四极杆质谱仪能够确保 EPA 方法 1694 的成功实施。

参考文献

1. EPA Method 1694: Pharmaceuticals and personal care products in water, soil, sediment, and biosolids by HPLC/MS/MS, December 2007, EPA-821-R-08-002.



固相萃取和液相色谱/质谱/质谱在正离子和负离子模式下检测水中的农药残留

应用简报 (5989-5320CHCN)

环境分析

作者

Chin-Kai Meng
Agilent Technologies
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

Stephen L. Werner and Edward T. Furlong
National Water Quality Laboratory
U.S. Geological Survey
PO Box 25046, MS 407, Building 95,
Denver Federal Center
Denver, CO 80225
USA

摘要

使用固相萃取和液相/质谱/质谱，在正/负离子模式下，分别分析了 46 个和 14 个农药化合物。无需衍生化，就达到 pg 水平的分析灵敏度。对于所有的化合物，在 5 pg-1 ng 的样品量范围内具有很好的线性。

前言

为了监测地下水和地表水中微量的农药残留化合物，需要建立快速有效的样品制备和分析方法以满足上述要求。在 1996 年，美国地质调查局国家水质量实验室 (NWQL) 建立了利用活性炭固相萃取柱和液相色谱检测极性农药化合物的方法^[1]。

后来，又建立了液相色谱/质谱方法以提高分析灵敏度和选择性。这个方法对于农药及其代谢物的定量限可至 10 ng/L。

使用液质的多反应监测模式，可以大大消除来自样品的干扰和基质对信号响应的影响，因此可以获得更低的检测限，更高的确认度。在本应用中，利用固相萃取和液相色谱/质谱/质谱技术在正离子模式和负离子模式下，分别分析 46 个和 11 个农药化合物。

实验

样品制备步骤

有关样品制备更详细的信息可以参见参考文献¹

1. 使用 0.7 微米的玻璃纤维滤膜，在现场或是实验室将水样过滤。
2. 以 20 ml/min 的流速，将 1 升水样通过 Carbopak-B 固相萃取柱，其填料是 500 毫克的活性炭吸附剂。
3. 先用 1.5 毫升的甲醇，然后再用 13 毫升的含 0.2% 的三氟乙酸酐的 80:20 的二氯甲烷：甲醇混合液将吸附化合物洗脱出来。
4. 将两部分流出液吹至近干，然后合并。最后定容至 1 毫升。

仪器条件

正离子模式

液相色谱:	1200 LC
色谱柱:	ZORBAX Extend-C-18, RRHT, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm
柱温:	40 °C
流动相:	A: 0.1% 甲酸水溶液，用氨水将 pH 值调至 5.5 B: 乙腈
流速:	0.3 mL/min
梯度:	时间 %B 0 0 15 100 20 100 21.5 0
进样体积:	1.0 微升
质谱:	G6410A 三重串联四极质谱
离子化模式:	电喷雾正离子模式
质量范围:	100–500 amu
扫描时间:	300 ms
毛细管电压:	3500 V
雾化器压力:	40 psi
干燥气流速:	9 L/min
干燥气温度:	350 °C
锥孔电压:	35 V

负离子模式

液相色谱:	1200 LC
色谱柱:	ZORBAX Extend-C-18, RRHT, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm
柱温:	60 °C
流动相:	A: 0.04% 乙酸水溶液 B: 乙腈
流速:	0.3 mL/min
梯度:	时间 %B 0 0 1 40 2 52 3 60 4 100 8 100 9 0
进样体积:	1.0 微升
质谱:	G6410A 三重串联四极质谱
离子化模式:	电喷雾负离子模式
质量范围:	120–400 amu
扫描时间:	300 ms
毛细管电压:	3500 V
雾化器压力:	40 psi
干燥气流速:	9 L/min
干燥气温度:	200 °C
锥孔电压:	35 V

校正标样

分别将正离子模式或负离子模式下分析的储备液稀释至 1 至 10 倍，以制备校正标准溶液。七点校正溶液的浓度分别是 5、10、50、100、200、500 和 1000 pg/μL (ppb)。

多反应监测 (MRM) 参数列于表 1 和 2 中。

表 1. 正离子模式下, 多反应监测采集的参数

化合物	保留时间	母离子	定量离子	确认离子	CID 能量	驻留时间	分组
3 (4-氯苯基) 尿素	8.05	185	128	93	10	30	4
3-羧基-呋喃丹	8.24	236	179	151	10	30	4
3-羟基-呋喃丹	6.90	238	163	181	10	40	3
涕天威	8.20	116	89	70	5	30	4
涕天威砜	5.52	223	76	86	5	50	2
涕天威亚砜	4.99	207	89	132	5	150	1
阿特拉津	9.86	216	174	96	20	40	5
恶虫威	9.32	224	167	109	5	40	5
苯菌灵	6.61	192	160	132	30	40	3
苄嘧磺隆	10.86	411	149	182	15	60	7
除草定	8.44	261	205	162	20	30	4
咖啡因	5.48	195	138	110	15	50	2
西维因	9.69	202	145	127	15	40	5
呋喃丹	9.36	222	165	123	10	40	5
氯嘧磺隆	11.57	415	186	213	10	60	8
草灭特	14.52	216	83	154	15	60	8
去乙基阿特拉津	7.06	188	146	79	15	40	3
去丙基阿特拉津	5.94	174	68	104	30	50	2
去乙基, 丙基阿特拉津	1.76	142	86	57	15	150	1
双苯酰草胺	10.82	240	134	167	20	60	7
敌草隆	10.02	233	72	160	20	75	6
非草隆	6.90	165	72	92	15	40	3
唑嘧磺草胺	7.49	326	129	262	20	30	4
伏草隆	9.70	233	72	168	20	40	5
羟基-阿特拉津	6.82	198	156	114	20	40	3
咪唑喹啉酸	7.68	312	267	252	20	30	4
咪唑乙烟酸	6.99	290	177	69	30	40	3
吡虫啉	7.01	256	175	209	15	40	3
利谷隆	11.45	249	160	182	15	60	7
甲霜灵 (Apron)	10.15	280	220	192	10	75	6
灭虫威	11.28	226	169	121	5	60	7
灭多虫	5.77	163	88	106	5	50	2
甲磺隆	8.43	382	167	199	15	30	4
草不隆	12.99	275	57	88	20	60	8
烟嘧磺隆 (Apronaccent)	7.97	411	182	213	15	30	4
达草灭	10.51	304	284	160	30	75	6
黄草消	12.58	347	288	305	10	60	8
草氨酰	5.59	237	72	90	10	50	2
苯胺灵	10.68	138	120	92	10	75	6
丙环唑 (til)	12.89	342	156	69	20	60	8
残杀威	9.26	210	111	168	5	40	5
环草隆	11.12	233	137	94	15	60	7
环草隆异构体	11.28	233	137	94	15	60	7
甲嘧磺隆, 甲酯	9.25	365	150	199	15	40	5
丁噁隆	8.14	229	127	116	15	30	4
特草定	8.69	161	144	88	15	30	4

表 2. 负离子模式下, 多反应监测采集的参数

化合物	保留时间	分子量	定量离子	定性离子	锥孔电压	CID 电压	驻留时间	分组
二氯吡啶酸	3.47	191	190 > 146	192 > 148	80	5	70	1
毒莠定	3.69	240	239 > 195	241 > 198	80	5	70	1
麦草畏	4.31	220	219 > 175	219 > 145	60	0	50	2
DCPA	4.49	330	273 > 215	271 > 213	100	5	50	2
苯达松	4.69	240	239 > 132	239 > 197	120	25	50	2
2,4-D	5.02	220	219 > 161	221 > 163	80	15	25	3
溴苯腈	5.06	275	274 > 79	274 > 81	120	25	25	3
二甲四氯	5.09	200	199 > 141	201 > 143	100	10	25	3
三氯吡氧乙酸	5.26	255	254 > 196	256 > 198	80	10	25	3
2,4-DP	5.42	234	233 > 161	235 > 163	80	5	25	3
2,4-DB	5.66	248	247 > 161	249 > 163	80	10	40	4
三氯吡氧乙酸	5.70	228	227 > 141	229 > 143	80	5	40	4
三氟羧酸醚	5.89	361	360 > 316	360 > 286	60	5	40	4
硝丁酚	6.50	240	239 > 193	239 > 163	120	25	40	4

结果与讨论

图 1 显示了正离子模式下的液-质分析的总离子流图 (TIC)。如图所示, 对于 46 个化合物, 其总的分析时间小于 15 分钟。使用

1.8 微米粒径的色谱柱, 每个峰的峰宽只有 0.1 分钟。更窄的峰宽有利于提高信噪比。负离子模式下的 11 个农药的总分析时间小于 7 分钟, 见图 2。

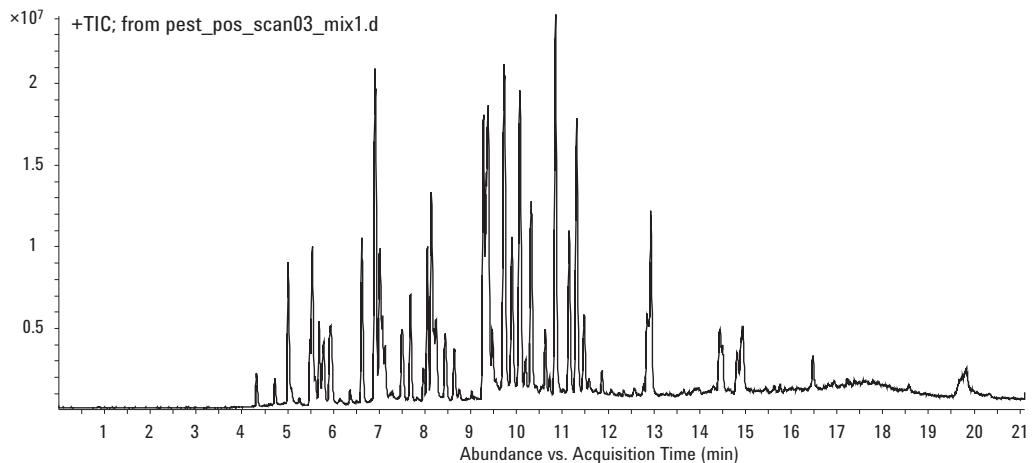


图 1. 正离子模式下, 46 个农药分析的总离子流图

一些化合物，如麦草畏，MCPB 和 2, 4-DB 对干燥气的温度敏感。较高的干燥气温度 (350 °C) 会降低母离子的响应强度。

因此，在负离子模式，干燥气的温度设定在 200 度。图 3 显示了所有 14 个农药（每个化合物的柱上进样量为 5 皮克）的多反应监测 (MRM) 的重叠离子流图。

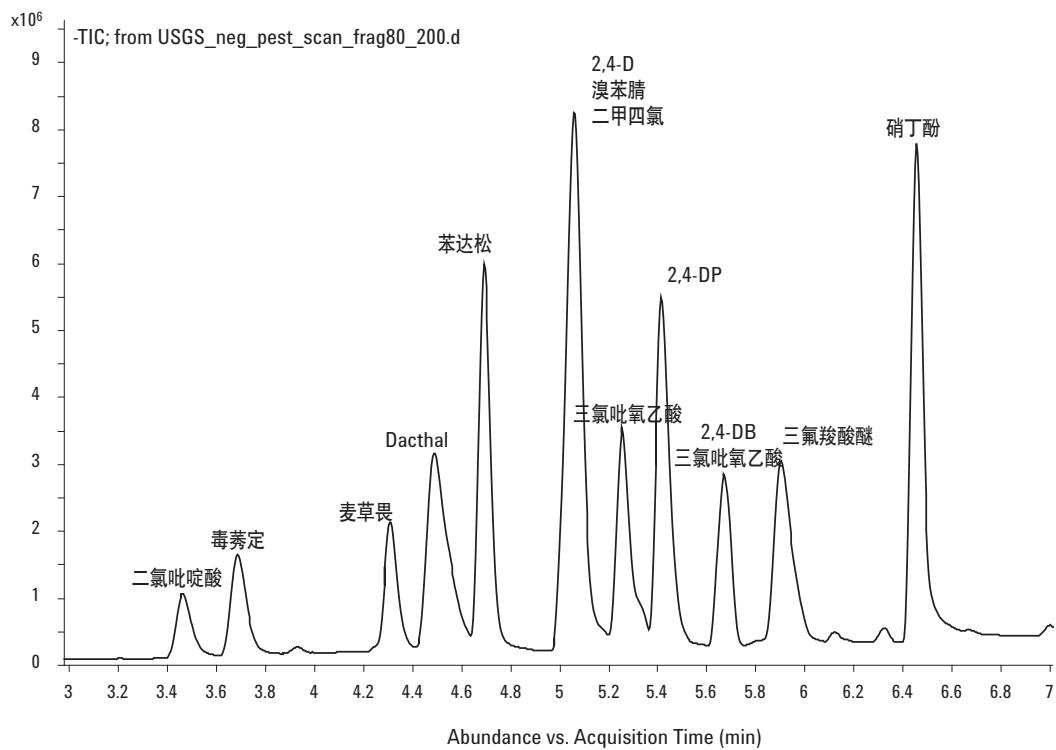


图 2. 在负离子模式下 14 个农药总离子流图

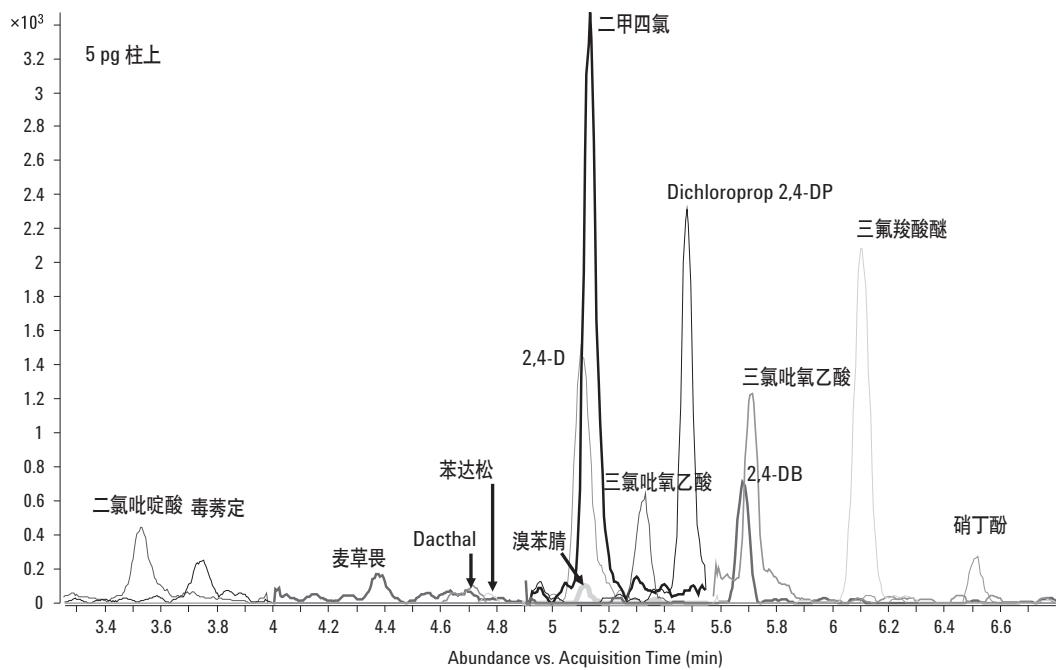


图 3. 14 个农药的多反应监测 (MRM) 的重叠离子流图

表 3 是 14 个农药在浓度是 5、10、50、100、200、500 和 1000 pg 柱上进样量范围的线性结果。校正曲线是用线性包括原点的模式计算的。所有 14 个化合物都显示了很好的线性。

表 3. Pesticide linearity: 5, 10, 50, 100, 200, 500, 1,000 pg on column

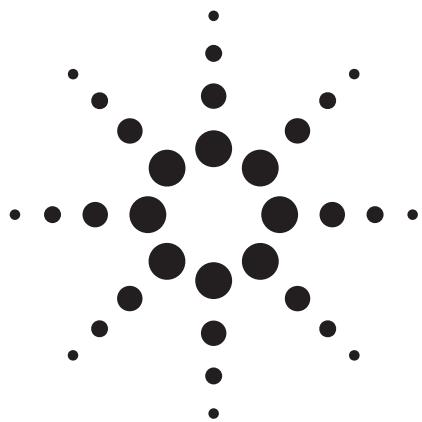
化合物	R ² (线性拟合, 过原点, 不计权重)
二氯吡啶酸	0.9976
毒莠定	0.9993
麦草畏	0.9975
DCPA	0.9994
苯达松	0.9975
2,4-D	0.9990
溴苯腈	0.9999
二甲四氯	0.9980
三氯吡氧乙酸	0.9990
2,4-DP	0.9948
2,4-DB	0.9887
三氯吡氧乙酸	0.9847
三氟羧酸醚	0.9969
硝丁酚	0.9905

结论

使用固相萃取和液相色谱/质谱/质谱, 在正/负离子模式下, 分别分析了 46 个和 14 个农药化合物而无需衍生化。分析灵敏度可达到 pg 水平的分析灵敏度。对于所有的化合物, 在 5 pg-1 ng 的样品量范围内具有很好的线性。

参考文献

1. U.S. Geological Survey Water-Resources Investigations Report 01-4134,
<http://nwql.usgs.gov/Public/pubs/WRIR01-4134.html>



利用固相萃取和液相色谱/质谱/质谱在正负离子模式下检测水中的医药类化合物

应用简报 (5989-5319CHCN)

环境分析

作者

Chin-Kai Meng
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610

USA

Stephen L. Werner and Edward T. Furlong
National Water Quality Laboratory
U.S. Geological Survey
PO Box 25046, MS 407, Building 95,
Denver Federal Center
Denver, CO 80225
USA

摘要

使用固相萃取技术和液相色谱/质谱/质谱技术，分别对 19 个（正离子模式）和 11 个（负离子模式）医药类化合物进行了分析，检测灵敏度可低至皮克，无需进行衍生化。在 1 皮克至 1 纳克的柱上进样量的范围内，表现出极好的线性。

柱上进样量为 5 皮克的条件下，六次进样的精密度（平均标准偏差）小于 15%，只有复西汀是例外，为 23%。

前言

多个著名的医学杂志和报纸的许多文章都报导了人类和动物的性发展动态和生殖健康问题，例如精子数量少，生殖器畸形，雄性鱼产卵等等。科学家提到，人造的化学品（例如农药和医学药品）都在扰乱生物的内分泌系统。

诸如抗生素、非处方药和咖啡因等化合物从下水道大量地被冲入河流，甚至少量的化合物还进入了饮用水系统。为了监测地表水和地下水中的微量药物化合物，需要建立有效的样品制备和分析方法。

在 1999 年，美国地质调查局国家水质量实验室开发了相应的分析方法，利用 OASIS HLB 固相萃取净化，高效液相色谱 – 质谱技术来分析这些化合物。

使用多反应监测 (MRM) 技术，可以将来自水中的杂质和基质干扰信号降至最低，从而提高信噪比，最后获得目标化合物的最佳定量分析结果。在本应用文摘中，利用固相萃取技术，液相色谱 / 质谱 / 质谱分析 19 个药物化合物（在正离子模式）和 11 个药物化合物（在负离子模式）。

实验部分

样品制备步骤

更详细的信息可以参见参考文献¹。

1. 利用 0.7-μm 的玻璃纤维过滤器在现场或是实验室将采来的水过滤。
2. 抽取 1 升经过过滤的水，以 10 ml/min 的流速通过固相萃取柱，固相萃取柱的填料数量是 0.5 克。
3. 用 6 毫升的甲醇洗脱固相萃取柱，然后再用 4 毫升 0.1% 三氟乙酸的甲醇溶液洗脱。

4. 洗脱液浓缩至 100 微升。

5. 加入内标 (ISTD)。萃取物最后被定容至 1 毫升。

校正标样

对于正离子模式，准备 9 点校正：1、5、10、20、40、100、200、400 和 1000 pg/μL。对于负离子模式，准备 6 点校正：10、20、40、80、400 和 800 pg/μL。

仪器

正离子模式

液相色谱:	1200 液相色谱	
色谱柱:	ZORBAX Extend-C-18, RRHT, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm	
柱温:	40 °C	
流动相:	A: 0.1% 甲酸水溶液， 用氨水将 pH 值调至 5.5 B: 乙腈	
流速:	0.3 mL/min	
梯度:	时间	%B
	0	0
	15	100
	20	100
	21.5	0
进样体积:	1.0 微升	
质谱:	G6410A QQQ	
离子化模式:	ESI-(+)	
扫描范围:	125 to 800 amu	
扫描时间:	300 毫秒	
毛细管电压:	3500 V	
雾化器压力:	40 psi	
干燥气流速:	9 L/min	
干燥气温度:	350 °C	
锥孔电压:	35 伏	

负离子模式

液相色谱:	1200 液相色谱	
色谱柱:	ZORBAX Extend-C-18, RRHT, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm	
柱温:	60 °C	
流动相:	A: 0.04% 乙酸水溶液 B: 乙腈	
流速:	0.3 mL/min	
梯度:	时间	%B
	0	0
	1	40
	2	52
	3	70
	6	100
	13	100
	14	0
进样体积:	1.0 微升	
质谱:	G6410A QQQ	
离子化模式:	ESI (-)	
扫描范围:	120–800 amu	
扫描时间:	300 毫秒	
毛细管电压:	3500 V	
雾化器压力:	40 psi	
干燥气流速:	9 L/min	
干燥气温度:	200 °C	
锥孔电压:	35 伏	

正负离子模式的多反应监测参数见表 1 和 2。

表 1. 正离子下的多反应监测的参数

化合物名	保留时间	分子量	母离子	定量离子	碰撞能量	驻留时间	分组
甲福明二甲双胍盐酸盐	0.856	129	130.4	71.5	15	300	1
对乙酰氨基酚	4.591	151	152.3	110.3	18	30	2
舒喘宁	4.717	239	240.4	148.4	15	30	2
甲氰咪胍	4.815	252	253.4	94.9	17	30	2
1, 7-二甲基黄嘌呤	4.89	180	181.3	123.9	20	30	2
可铁宁	5.24	176	177.3	118.3	29	30	2
可待因	5.321	299	300.4	164.9	30	30	2
咖啡因	5.493	194	195.3	137.9	22	30	2
甲氧苄氨嘧啶	5.935	290	291.4	122.8	25	30	2
塞苯哒唑	7.194	201	202.3	131.3	35	100	3
磺胺甲基异噁唑	7.309	253	254.3	156.0	15	100	3
阿奇霉素	7.326	749	375.5	157.9	16	100	3
苯海拉明	8.446	255	256.5	167.1	5	100	4
盐酸地尔硫卓	8.693	414	415.4	177.6	18	100	4
卡马西平	8.912	236	237.4	194.0	20	100	4
氟西汀盐酸盐	9.71	309	310.4	148.5	0	100	5
去羟尼非地平	10.635	344	345.4	283.9	27	100	5
杀鼠灵	11.152	308	309.4	163.3	15	100	5
霉康唑	12.865	416	417.2	159.3	30	300	6

表 2. 负离子下的多反应监测的参数

化合物名	保留时间	分子量	母离子	定量离子	碰撞电压	碰撞能量	驻留时间	分组
二氢氯噻	3.42	297	296	269	140	20	70	1
阿司匹林	3.49	180	179	122	120	15	70	1
依那普利拉	3.71	348	347	114	120	10	70	1
速尿灵	4.51	330	329	285	140	15	70	1
酮洛芬	5.17	254	253	209	80	5	70	2
降固醇酸	5.20	214	213	127	80	10	70	2
萘普生	5.20	230	229	170	80	10	70	2
双氯芬酸钠盐	5.84	294	294	250	100	10	100	3
布洛芬	6.03	206	205	161	80	0	100	3
布洛芬-d3	6.03	209	208	164	80	0	100	3
吉非贝齐	6.49	250	249	121	120	25	150	4
三氯二苯脲	6.66	314	313	160	140	15	150	4

结果与讨论

图1显示了负离子模式下的总离子流图。负离子模式下，11个化合物的分析时间小于7分钟。使用1.8微米的色谱柱，峰宽一般在0.1分钟。相对于3.5微米或更大粒径的色谱柱，其色谱峰更窄，信噪比更高。

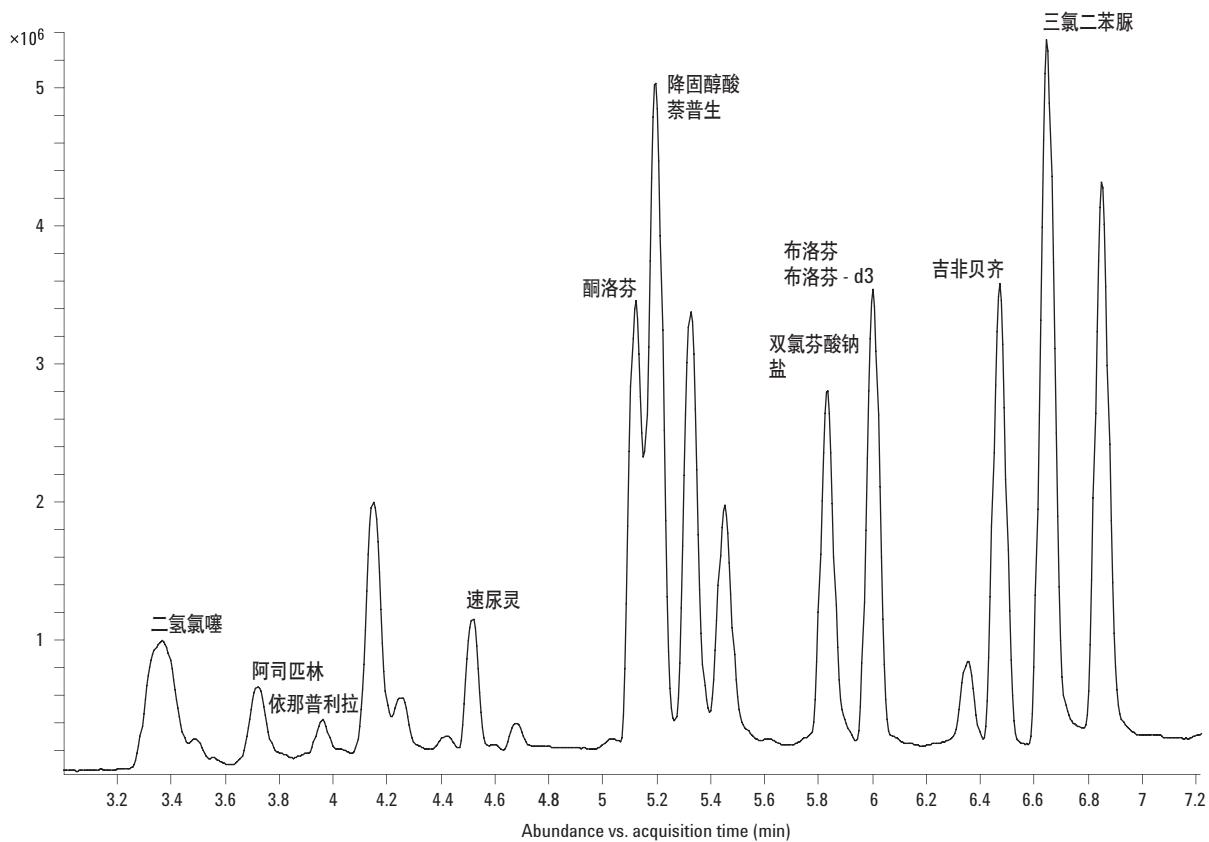


图1. 11个化合物的负离子模式下的总离子流图

如图 2 所示，某些化合物，如酮洛芬对干燥气的温度很敏感。温度（350 °C）越高，母离子响应强度越低。所以，在负离子模式下，干燥气的温度设置为 200 °C。

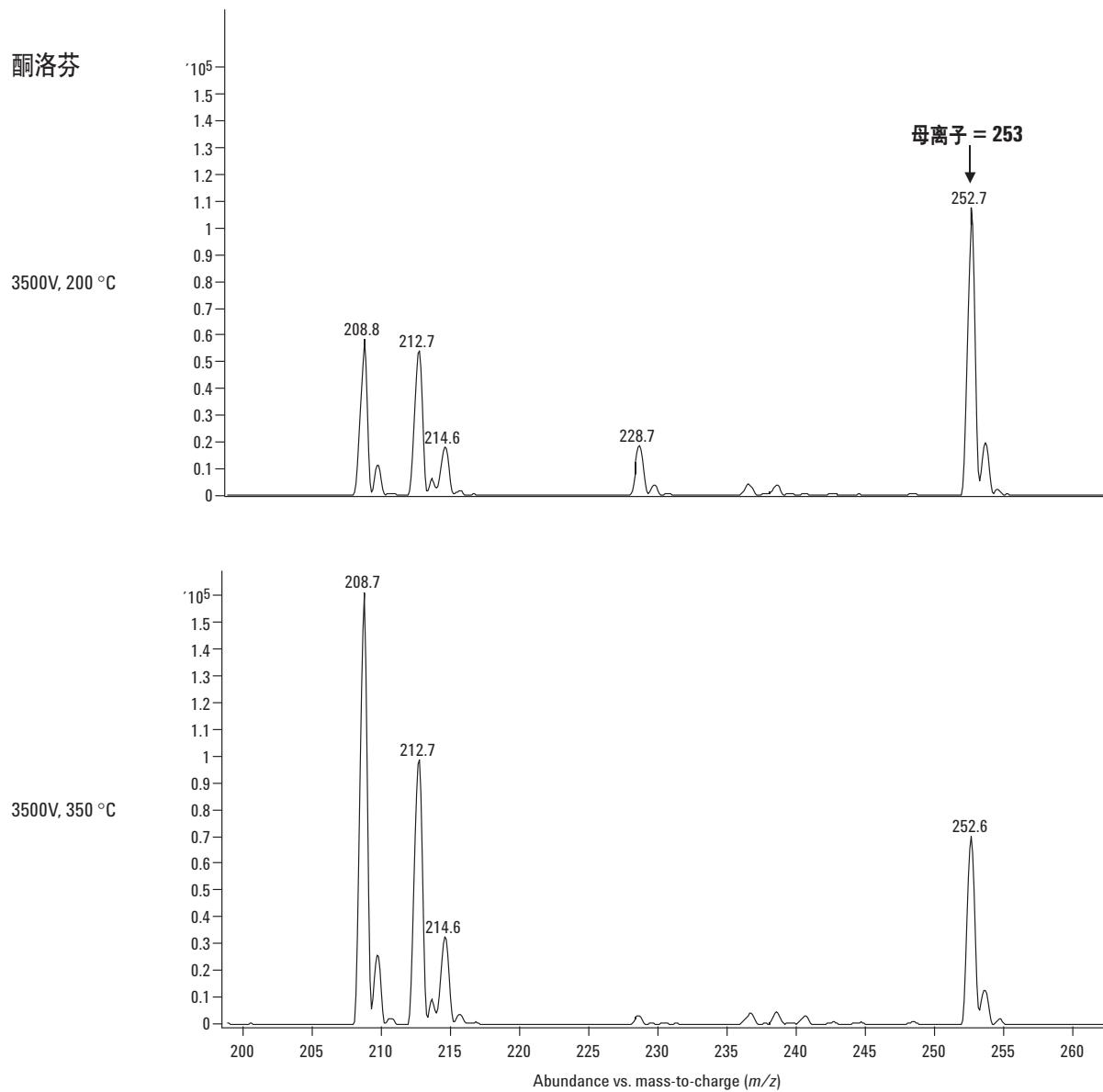


图 2. 更高的干燥气温度会降低某些化合物母离子的响应

在图 3 中, 发现子离子碎片的质荷比大于母离子。对于阿奇霉素, 由于二价离子的响应高于一价离子, 因此被选为母离子。因此, 根据母离子的选择, 有时候子离子的质荷比可以大于母离子, 所以扫描范围需要更高一些。

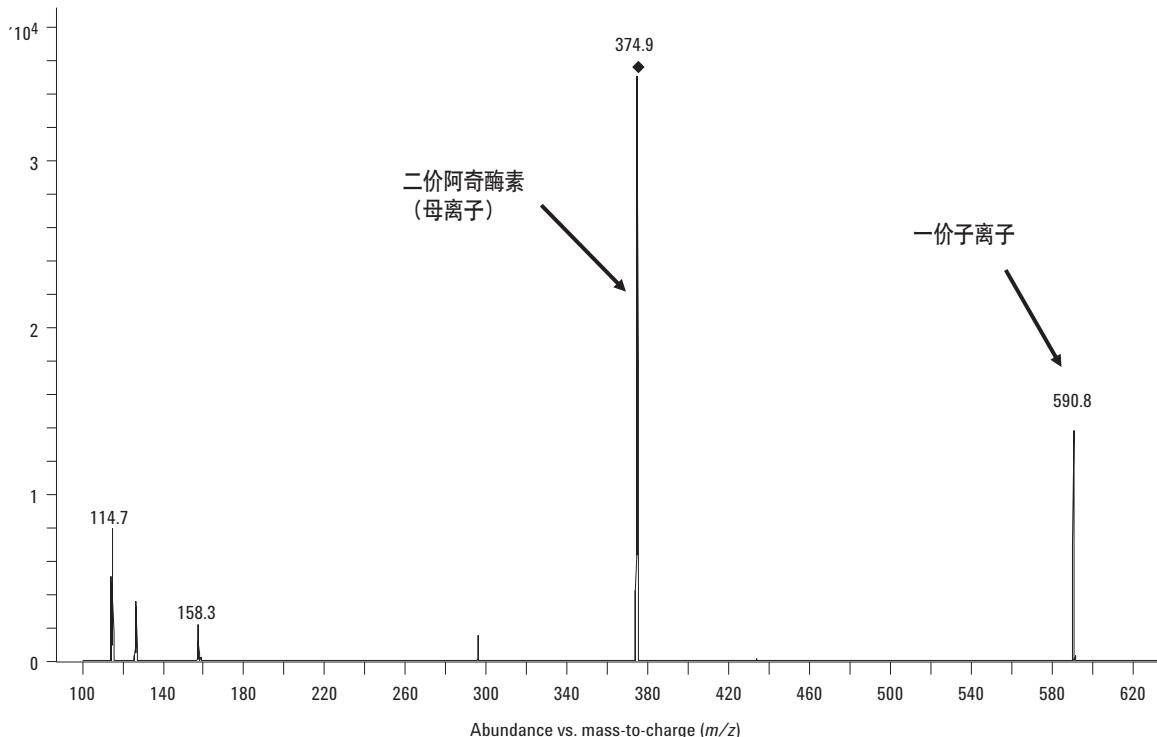


图 3. 在较大的质荷比下, 二价母离子转变成为子离子

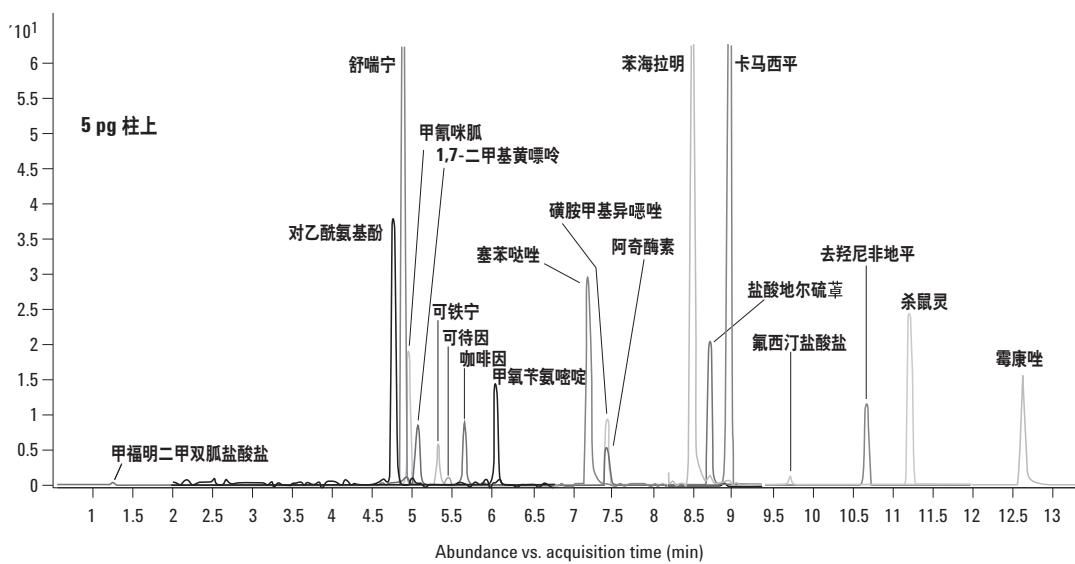


图 4. 在正离子模式下, 19 个化合物的多反应监测离子流图的叠加图

图 4 为, 每个化合物的柱上进样量为 5 皮克时, 19 个化合物的正离子模式多反应监测离子流图的叠加图。

图 5 为在负离子模式下，柱上进样量为 10 皮克时的 10 个药物化合物的多反应监测离子流图的叠加图。在图 4 和 5 中，分析时间相对变短，信噪比提高。

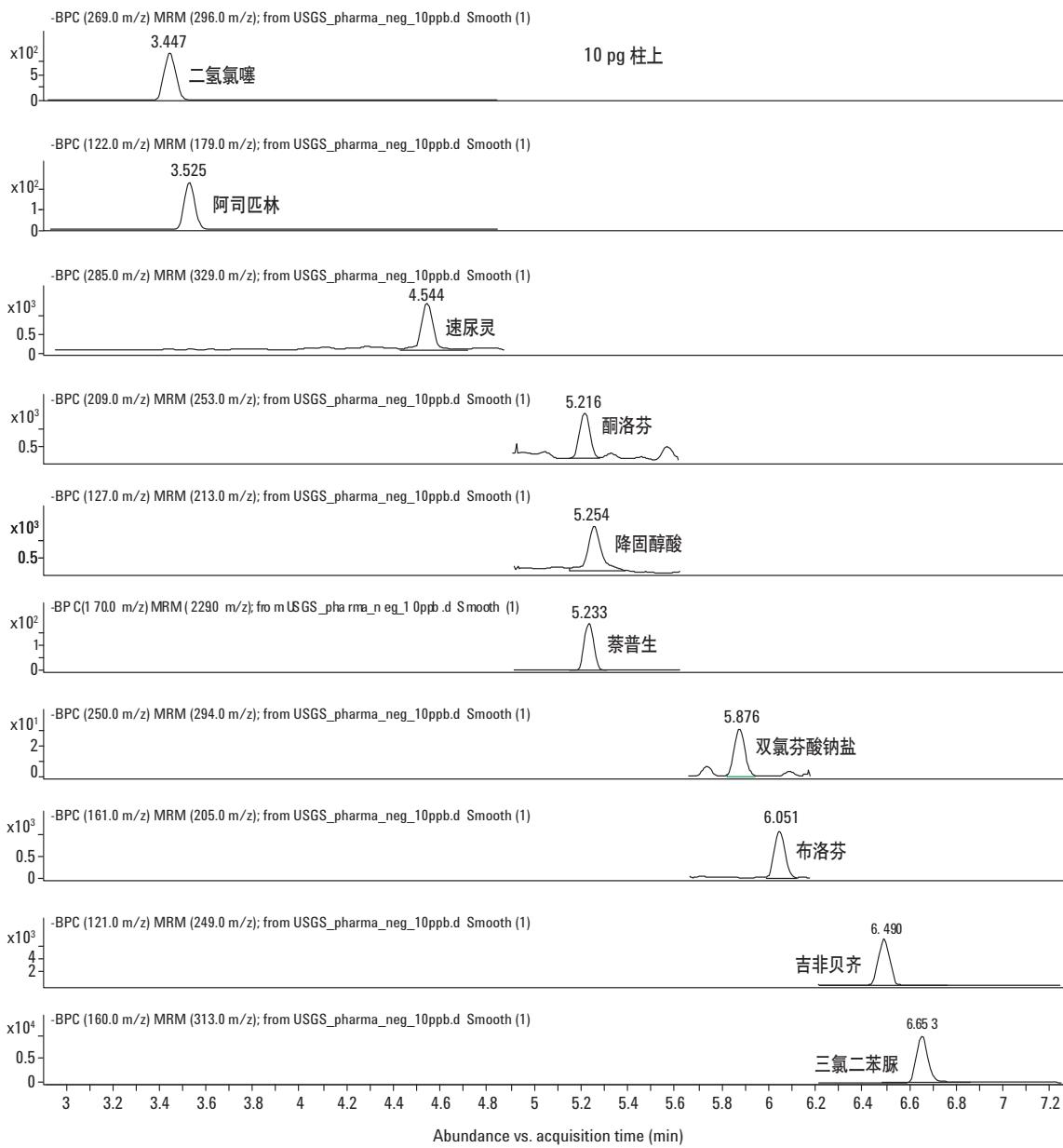


图 5. 在负离子模式下，10 个化合物的多反应监测离子流图的重叠图

表 3 列出了 19 个化合物 (ESI 正离子模式) 在浓度范围是 1、5、10、20、40、100、200、400 和 1000 pg 的线性曲线。采用两种校正模式, 线性和二次方程模式, 两种模式都采用过原点及无权重计算。某些化合物的拟和度从线性模式到二次方程模式有了明显的改进。这是化合物的特性所决定的。

表 3. 1、5、10、20、40、100、200、400 和 1,000 pg 的线性度 (ESI+)。过原点, 无权重

化合物	R ² (线性)	R ² (二次方程)
甲福明二甲双胍盐酸盐	0.9975	0.9999
1, 7-二甲基黄嘌呤	0.9998	0.9998
对乙酰氨基酚	0.9852	0.9999
咖啡因	0.9992	0.9997
甲氯咪胍	0.9968	0.9998
可待因	0.9989	0.9997
可铁宁	0.9971	0.9998
舒喘宁	0.9850	0.9994
甲氧苄氨嘧啶	0.9980	0.9999
阿奇霉素	0.9633	0.9998
磺胺甲基异噁唑	0.9998	0.9999
塞苯哒唑	0.9997	0.9998
卡马西平	0.9926	0.9999
盐酸地尔硫卓	0.9997	0.9997
苯海拉明	0.9975	0.9998
去羟尼非地平	0.9985	0.9993
氟西汀烟酸盐	0.9984	0.9997
杀鼠灵	0.9989	0.9997
霉康唑硝酸盐	0.9989	0.9995

表 4 显示了每个分析化合物的柱上进样量约为 5 皮克时, 六次进样分析的精密度数据。除了氟西汀 (精密度的平均偏差是 23%), 所有的化合物的分析结果精密度都小于 15%。

表 4. 每个化合物的浓度是 5 pg/μL (柱上进样量是 5 pg), ESI(+) 的六次分析结果的精密度

化合物	%RSD
甲福明二甲双胍盐酸盐	12.4
1, 7-二甲基黄嘌呤	8.6
对乙酰氨基酚	6.1
咖啡因	5.7
甲氯咪胍	4.1
可待因	16.2
可铁宁	10.5
舒喘宁	3.7
甲氧苄氨嘧啶	3.6
阿奇霉素	9.4
磺胺甲基异噁唑	10.7
塞苯哒唑	5.3
卡马西平	2.8
盐酸地尔硫卓	4.7
苯海拉明	3.7
去羟尼非地平	5.4
氟西汀烟酸盐	23.4
杀鼠灵	4.4
霉康唑硝酸盐	2.9

表 5 列出了在电喷雾负离子模式下, 11 个药物的线性度 (样品浓度范围是, 10、20、40、80、400 和 800 pg 的柱上进样量)。除了三氯二苯脲之外 (R² 是 0.97), 所有的 R² 值都大于 0.99。

表 5. 在电喷雾负离子模式下, 11 个药物在浓度范围是 10、20、40、80、400 和 800 pg 的柱上进样量时的线性结果 (包括原点)

化合物名	R ² (线性)
二氢氯噻	0.9999
阿司匹林	0.9977
依那普利拉	0.9981
速尿灵	0.9997
酮洛芬	0.9988
降固醇酸	0.9997
萘普生	0.9994
双氯芬酸钠盐	0.9993
布洛芬	0.9997
布洛芬-d3	0.9998
吉非贝齐	0.9993
三氯二苯脲	0.9655

当分析方法建立完成之后，就可以进行环境样品中目标化合物的筛选和定量分析。图 6、7、8 是水样在正离子和负离子模式下，多反应监测分析结果。

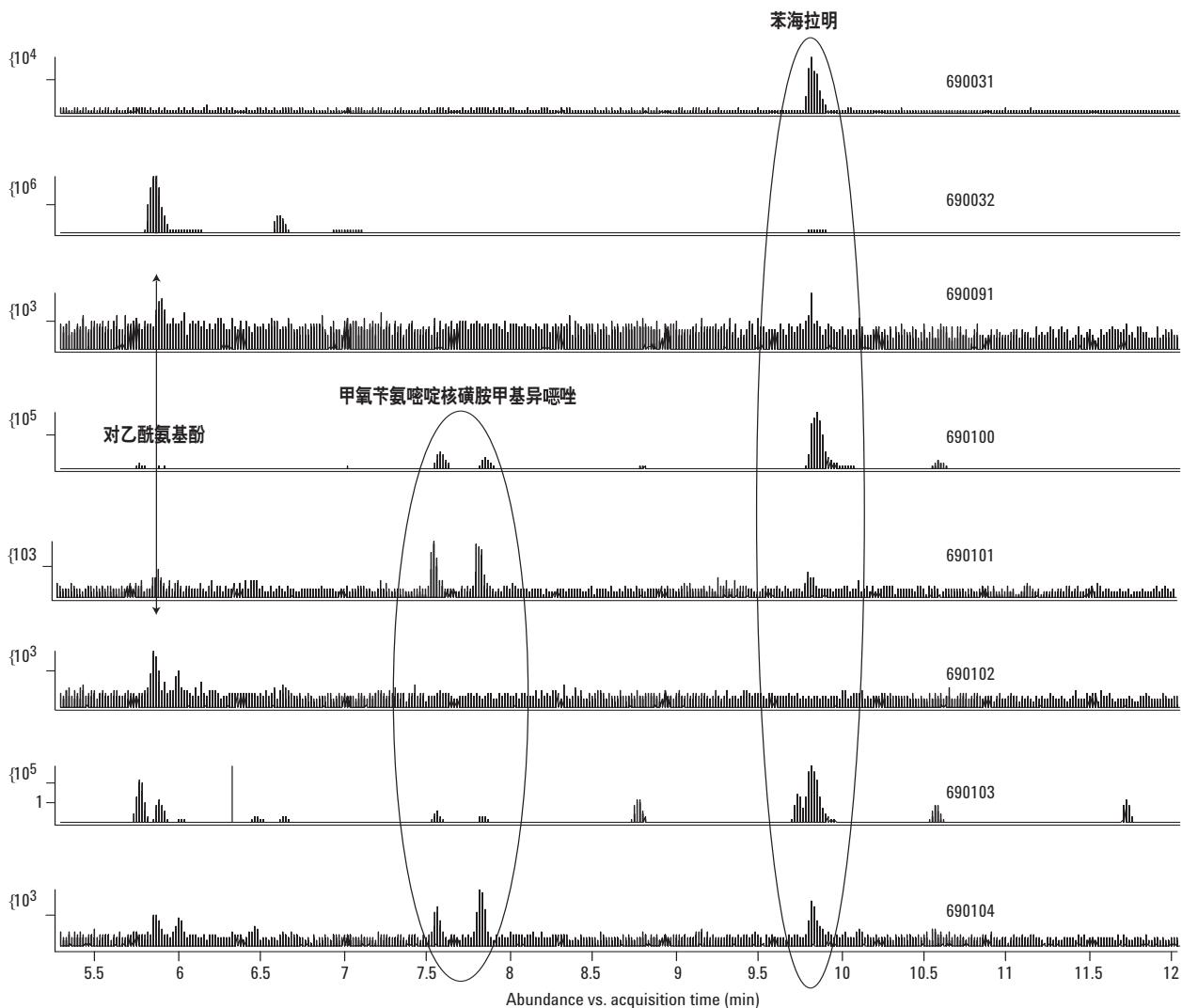


图 6. 在正离子模式下药物筛选的分析结果

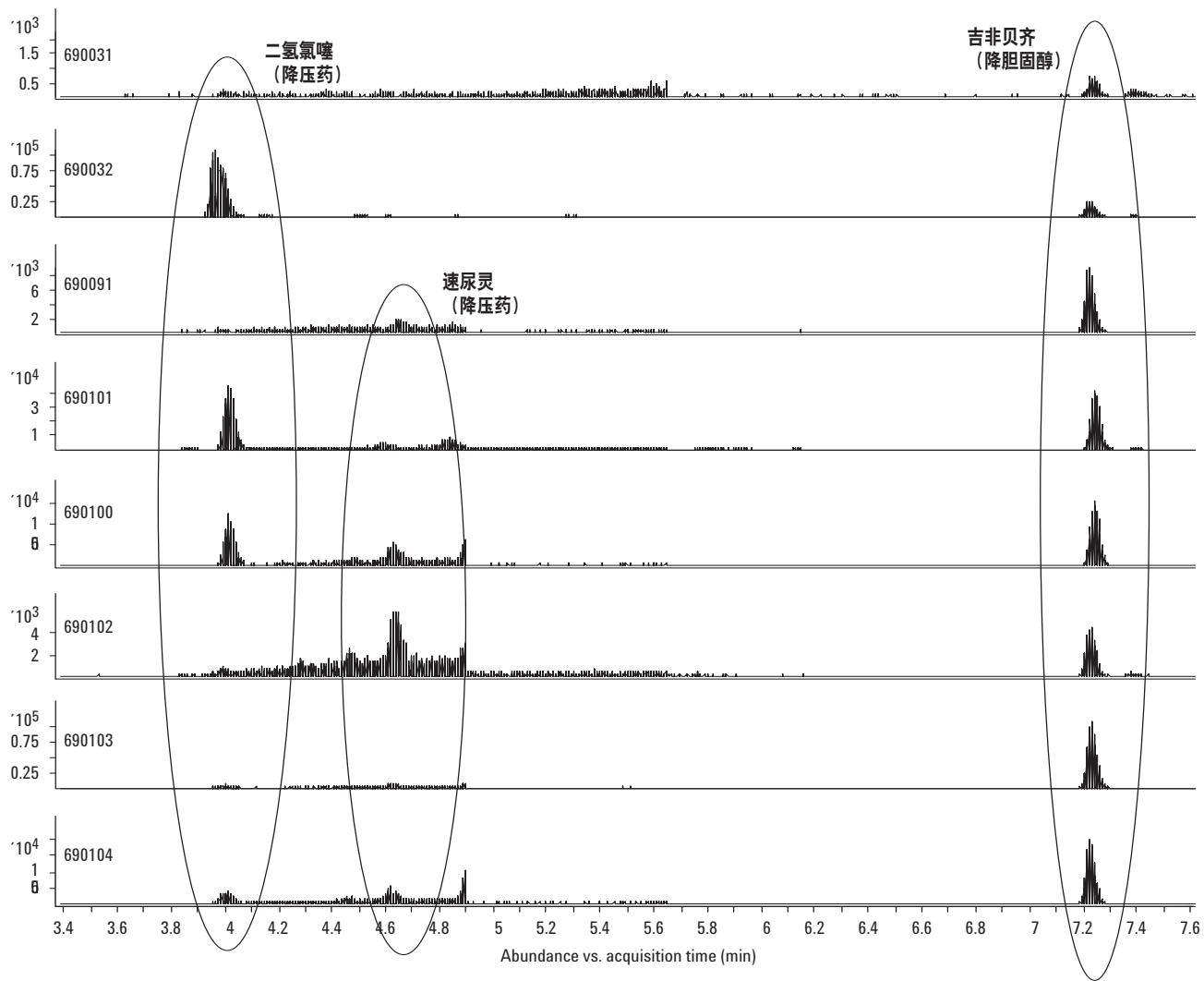


图 7. 在负离子模式下, 药物的筛选结果

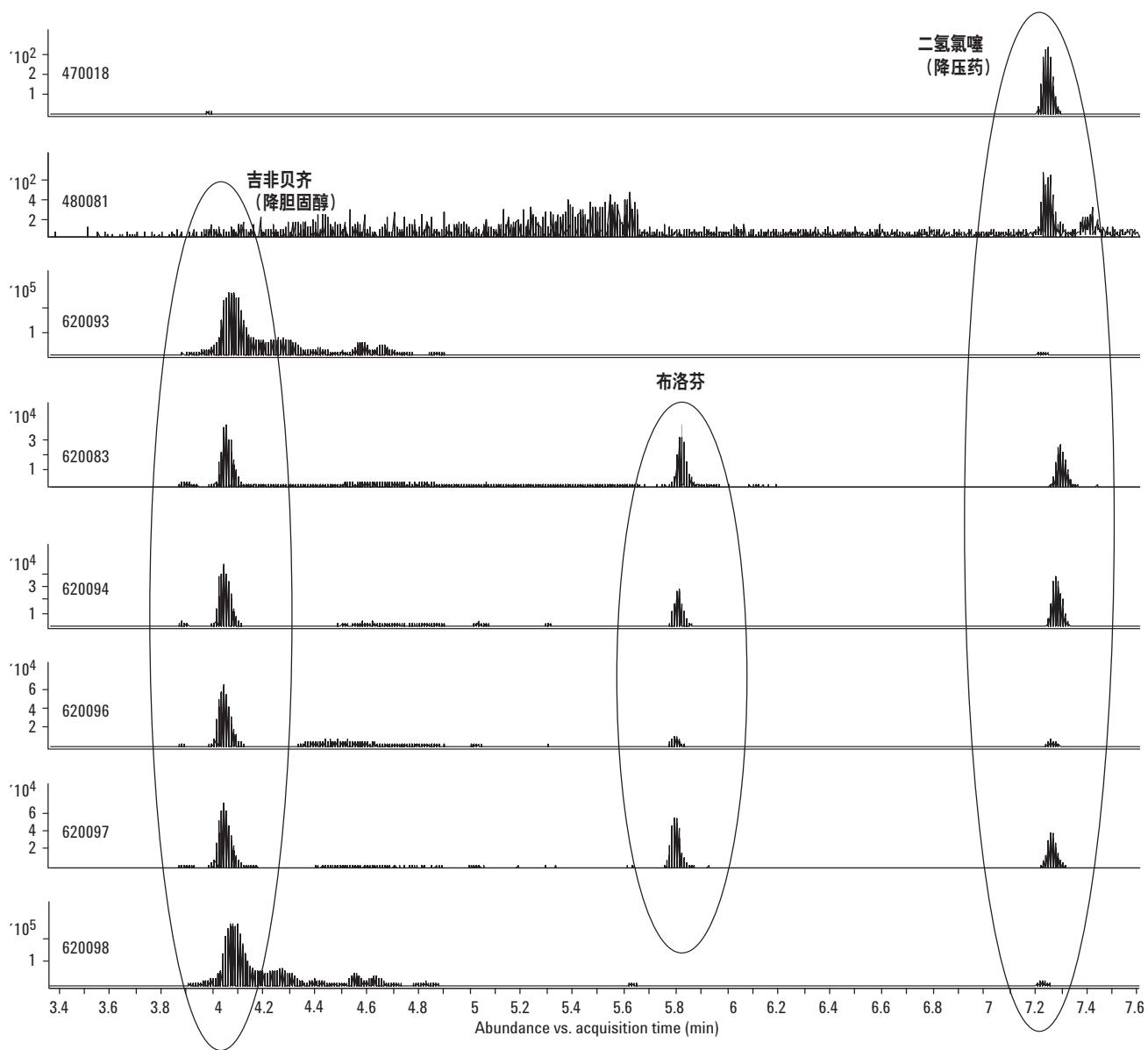


图 8. 在负离子模式下，药物的筛选结果

图 6 的分析结果表明，水样中检出如苯海拉明和对乙酰氨基酚。这两个化合物对于几个水样都很常见。另外，还检出一些抗生素化合物。更有趣的是，在图 7 和 8 所示的结果中，还检出与高血压和胆固醇的治疗药物。

结论

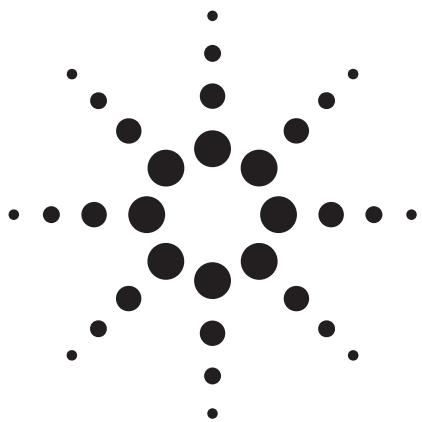
使用固相萃取和液相色谱/质谱/质谱技术，分析了正离子模式下 19 个化合物，负离子模式下 11 个化合物，灵敏度可到皮克水平，而且无需衍生化。在 1 皮克到 1 纳克的浓度范围内，具有很好的线性度。

在 5 皮克浓度下（柱上样品量），六次进样的精密度（%RSD）都在 15% 之内，只有氟西汀在 23%。

本方法可以用于水样品中常见药物的筛选和定量分析。

参考文献

1. USGS SOP: Instrumental Analysis for Determination of Human Health Pharmaceuticals in Water by Chemically Modified Styrene-Divinylbenzene Resin-Based Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry, by Steve Werner, 2006.



LC/MS/MS 法定量分析全氟辛酸

应用简报 (5989-6577CHCN)

环境

作者

Sheher Mohsin
安捷伦科技公司,
10 N. Martingale Rd., Suite 550
Schaumburg, IL 60173-2292
USA

Michael Zumwalt
安捷伦科技公司,
9780 S Meridian Blvd., MS 1-1E
Englewood, CO 80112-5910
USA

摘要

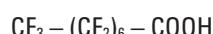
建立了用 Agilent 6410 三重串联四极杆质谱仪 (QQQ) 分析全氟辛酸 (PFOA) 的方法。在一根快速分离高通量 C18 柱 (粒径 1.8 μm) 上, 用含有 10 mM 醋酸铵的水和甲醇为流动相, 进行简单的等度洗脱, PFOA 的保留时间仅为 2.3 分钟。在从 9 fg/ μL 到 150 pg/ μL 4 个数量级的范围内呈良好的线性, 9 fg/ μL 浓度水平上的峰面积重现性好, RSD 为 5.5 %, 该浓度下的平均信噪比 (S/N) 为 7.2。相当于检测地表水提取物所需要的灵敏度。

引言

全氟辛酸 (PFOA) 是合成的化学物质, 不是天然存在的。各公司使用 PFOA 制造含氟聚合物, 这些聚合物是极具应用价值的物质, 具有阻燃、抗油、防污、防油脂等特点。毒理学研究表明, 接触 PFOA 可引发生殖 / 发育毒性、肝损伤, 并可能致癌。PFOA 在环境中长期存在, 已经发现在环境和普通美国人群的血液中都有低水平含量的 PFOA。EPA 近期研究表明, 需要加强测试和监测 PFOA 的量。欧盟要求饮用水中 PFOA < 100 ppt。

在本研究中, 测定了浓度范围从 9 fg/ μL 到 150 pg/ L 的 PFOA 标准溶液, 校正曲线的线性相关系数为 $R^2 > 0.997$ 。到 1,500 pg/ μL 浓度水平时不再呈线性。9 fg/ μL 浓度连续进样 6 次测定重复性。最低浓度下根据所测的峰面积计算得到的 RSD 为 5.5%。进样体积为 10 μL , 因此这一最低浓度的进样量仅为 90 fg。

PFOA 的结构式如下所示:



该分子为羧酸, 电喷雾电离 (ESI) 负离子模式应有较高的灵敏度。

实验部分

样品制备

PFOA 母液浓度为 1,500 ng/μL。用甲醇稀释成 0.009、0.015、0.15、0.45、0.75、1.5、15.0、150 和 1,500 pg/μL 一系列浓度。

LC/MS 方法

LC 条件

Agilent 1100 系列二元泵、脱气机、多孔板进样器和柱温箱。

色谱柱: Agilent ZORBAX Eclipse Plus RRHT C18,
2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm (部件号 959764-902)
柱温: 40 °C
流动相: A = 10 mM 醋酸铵水溶液,
B = 10 mM 醋酸铵溶于 80:20 甲醇/水
流速: 0.3 mL/min
进样量: 10 μL
等度: 85% B
停止时间: 3 分钟
针头清洗: 75:25 甲醇/水; 冲洗 10 秒

MS 条件

离子化模式: Agilent G1948B 离子源, ESI 负离子模式
雾化器: 35 psig
干燥气流速: 10 L/min
干燥气温度: 300 °C
 V_{cap} : 4,000 V
分辨率(FWHM): $Q1 = 0.7 \text{ amu}; Q2 = 0.7 \text{ amu}$
MRM transition: $m/z 413.0 > 369.0$
碰撞诱导解离电压: 67 V
碰撞能量: 3 V
驻留时间: 200 msec

结果与讨论

图 1 是校正曲线。最低测定浓度 (9 fg/μL) 重复进样 9 次。15 fg/μL 浓度也重复进样 9 次。如图 2 所示, 浓度为 9 fg/μL 时, 峰面积重复性为 5.5% RSD。定义 1 到 1.5 分钟内为噪音, 该浓度下的信噪比为 7.2。

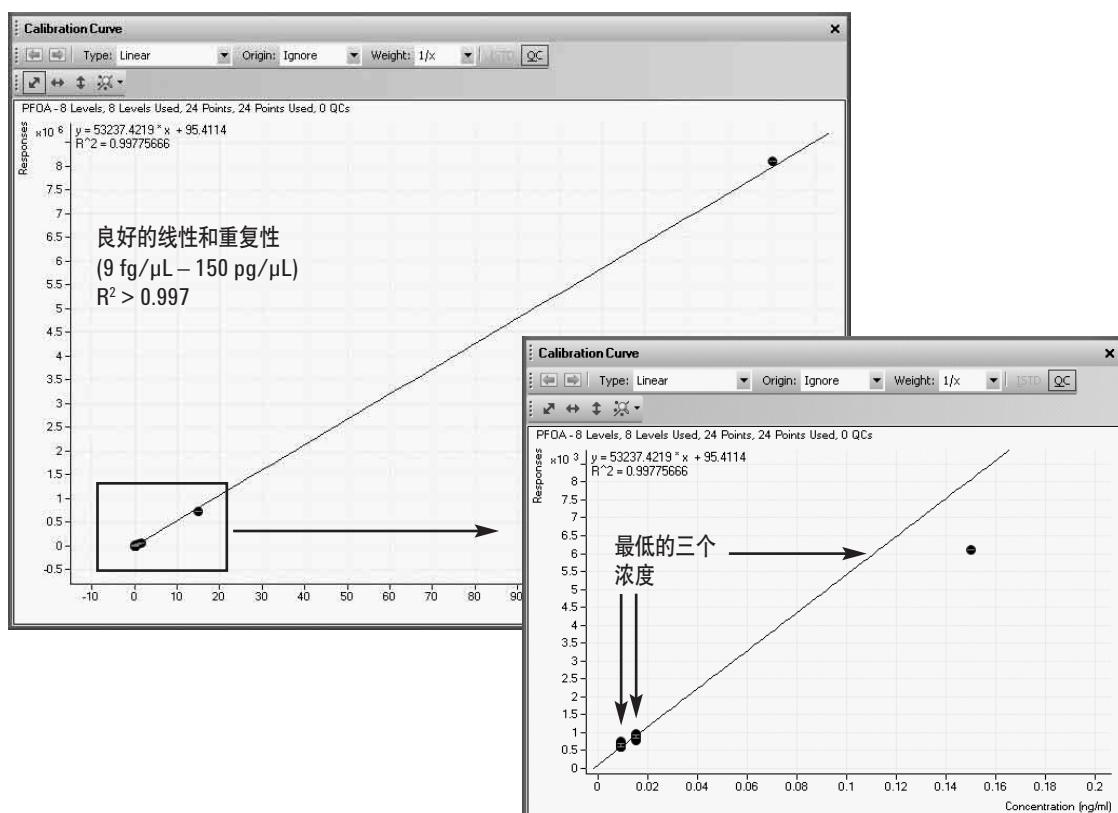


图 1. PFOA 的校正曲线。在最低的三个浓度重复进样, 分别是 9 fg/μL 和 15 fg/μL 各 9 次, 150 fg/μL 一次进样

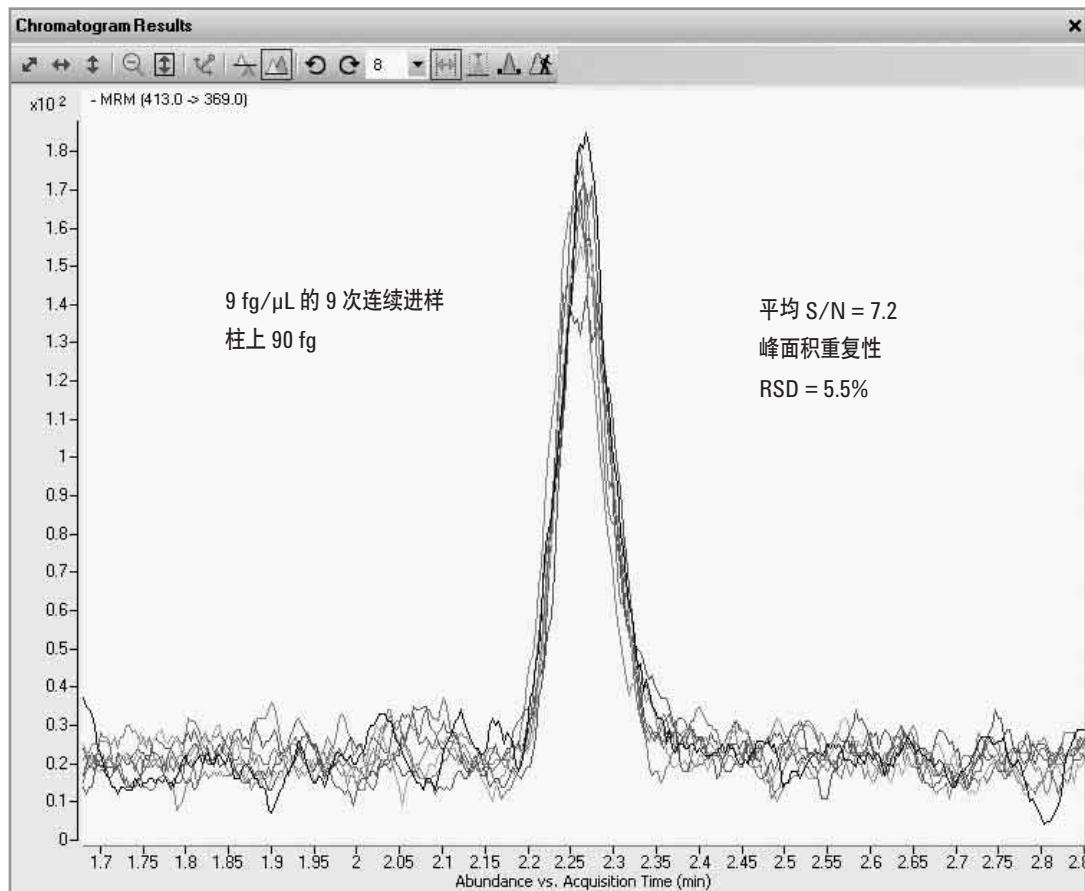


图 2. 在最低测定浓度下具有良好的灵敏度和重复性

将 1,500 pg/μL 浓度添加到校正曲线中，就会看到图 3 中的结果，需要对数据进行 2 次曲线拟合。但可以看出，其相关系数良好 $R^2 > 0.99999$ 。

结论

全氟辛酸化合物对负离子电喷雾电离模式非常敏感。标准液在 9 fg/μL 到 150 pg/μL 范围内显示了非常好的线性，相当于柱上进样量在 90 fg 到 1.5 ng 之间。在 9 fg/μL 测定的最低浓度下峰面积的重复性为 5.5% RSD，这个浓度下连续进样的平均信噪比为 7.2。可以看出 1,500 pg/μL，或柱上 15 ng 时出现信号饱和。由于饮用水是比较干净的基质，预计测定实际样品时也能达到类似的灵敏度。

更多信息

如需了解本公司产品和服务的更多信息，请访问本公司网站 www.agilent.com/chem/cn。

如果需要进一步了解本应用简报中的信息，请与安捷伦科技公司的 Michael Zumwalt 联系。

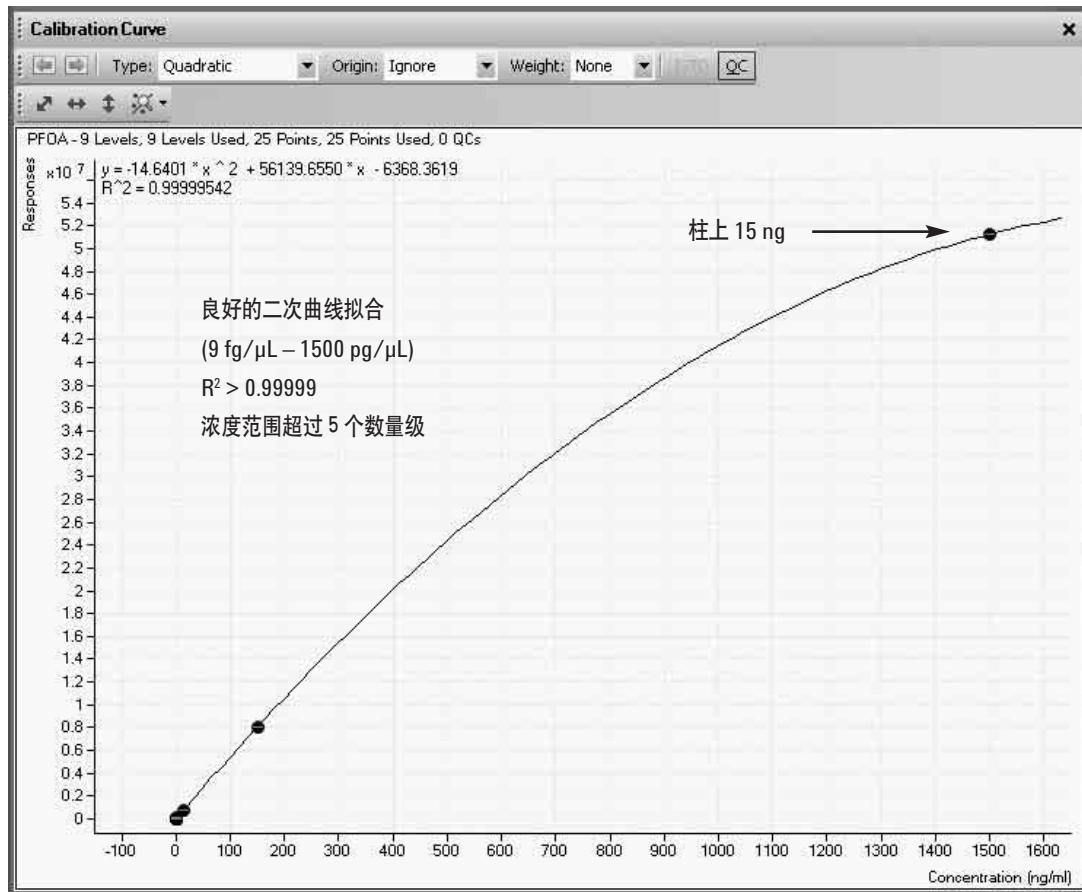
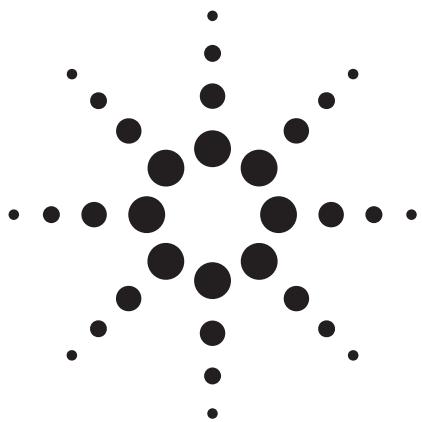


图 3. 增加到 1500 pg/ μ L 浓度水平 (或柱上 15 ng) 时出现饱和



采用液相色谱-串联质谱法对土壤中的氯代酸类除草剂进行定量分析

应用简报 (5989-5246CHCN)

环境

作者

Chin-Kai Meng
安捷伦科技
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1601
美国

摘要

在不经过任何衍生化的情况下，对柱上 pg 水平的氯代酸类除草剂进行液相色谱串联质谱 (LC/MS/MS) 分析。所有目标分析物从柱上量极低的 pg 到 ng 级水平，均呈现良好的线性关系。

前言

氯代酸类除草剂广泛用于草坪和粮食作物种植中阔叶杂草的去除。由于其应用甚广，所以因其流失而造成的水体和土壤等环境污染也已成为人们密切关注的问题。

气相色谱 (GC) 和/或质谱 (MS) 的传统分析方法需要对分析物进行衍生。将液相色谱与负离子模式下的电喷雾离子化 (ESI) 联用，无需衍生即可对这些除草剂进行分析。串联质谱作中的多反应监测操作中的多反应监测 (MRM) 模式可实现低至 pg 级的检测限。

本文所述的方法是根据位于蒙大拿州波兹曼市的蒙大拿农业局颁布的样品制备过程及其标准品建立的。

实验部分

标准溶液和样品制备

用甲醇制备 200 ppm 浓度的各分析物贮备液。精密量取适量单个标准贮备液并混合，制备加标土壤样品和校准标准液。本研究使用的工作溶液中各分析物的浓度见表 1。

表 1. 甲醇溶液中酸性除草剂混合标样

二氯吡啶酸	5930 (pg/μL)	3,6-二氯-2-吡啶羧酸
毒莠定	1800	4-氨基-3,5,6-三氯吡啶羧酸
麦草畏	8200	3,6-二氯-2-甲氧基苯甲酸
2,4-D	1740	2,4-二氯苯氧乙酸
MCPA	5480	2-甲基-4-氯苯氧乙酸
定草酯	1240	[(3,5,6-三氯-2-吡啶)氧]乙酸
2,4-DP	1410	2,4-二氯苯氧丙酸或滴丙酸
MCPP	2710	2-(2-甲基-4-氯苯氧基)丙酸
2,4-DB	6900	2,4-二氯苯氧丁酸

样品提取和净化过程如下。

样品提取过程

- 称取土壤 20 ± 0.1 g
- 向每份样品中加入 50 mL 含 0.5N KOH 的 10% KCl 提取溶液。振摇使其充分混合
- 将样品置于沸水浴中加热 15 min
- 将样品置于水平摇床中振荡 15 min
- 将样品以 1200-1500 rpm 的速度离心 15 min
- 将 3.0 mL 上清液转移到 13 mL 锥形离心管中，加入 150 μL 12 N 硫酸
- 涡旋并确证 pH < 1.5。如果 pH 值不低于 1.5，再加入一些酸溶液

样品净化过程

- 在酸性提取物中加入 2 mL 氯仿
- 涡旋 30 s 并以 3000 rpm 的速度离心 2 min
- 移取下面的氯仿层置另一离心管中。重复操作上述三个步骤两次
- 蒸干氯仿提取物
- 立即加入 4.0 mL HPLC-级水，短暂涡旋后超声 5 min，再短暂停涡旋一次。将样品液装入自动进样器样品瓶中

请浏览参考文献 1 了解样品制备的更多详细信息。

仪器

液相色谱:	1200 液相色谱
色谱柱:	ZORBAX Extend-C18, RRHT,
	2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm
柱温:	60 °C
流动相:	A: 0.04% 乙酸溶液 B: 乙腈 (ACN)
流速:	0.3 mL/min
进样体积:	1.0 μL
梯度程序:	时间 (min) %B
	0 0
	1 40
	2 52
	3 60
	4 100
	8 100
	9 0
质谱:	G6410A QQQ
离子化模式:	ESI (-)
质量范围:	120 to 400 amu
毛细管电压:	3500 V
雾化器压力:	40 psi
干燥气流速:	9 L/min
干燥气温度:	200 °C
截取锥电压:	35 V

MRM 参数见表 2。

表 2. MRM 的方法参数

名称	保留时间	分子量	定量离子	定性离子	碎裂电压	碰撞池电压	驻留时间	时间段
二氯吡啶酸	3.47	191	190 > 146	192 > 148	80	5	70	1
毒莠定	3.69	240	239 > 195	241 > 197	80	5	70	1
麦草畏	4.31	220	219 > 175	219 > 145	60	0	150	2
2,4-D	5.02	220	219 > 161	221 > 163	80	15	25	3
MCRA	5.09	200	199 > 141	201 > 143	100	10	25	3
定草酯	5.26	255	254 > 196	256 > 198	80	10	25	3
2,4-DP	5.42	234	233 > 161	235 > 163	80	5	25	3
MCPP	5.46	214	213 > 141	215 > 143	100	10	25	3
2,4-DB	5.66	248	247 > 161	249 > 163	80	10	25	3

由于这些分析物在工作溶液（表 1）中的浓度不同，故将麦草畏的浓度选做“浓度水平”，见表 3。

表 3. 本研究中使用的浓度水平 (8000-10 pg/L)

溶液浓度								
水平	8000	800	400	200	80	40	20	10
二氯吡啶酸	5930	593	296.5	148.2	59.3	29.7	14.8	7.4
毒莠定	1800	180	90	45	18	9.0	4.5	2.3
麦草畏	8200	820	410	205	82	41.0	20.5	10.3
2,4-D	1740	174	87	43.5	17.4	8.7	4.4	2.2
MCRA	5480	548	274	137	54.8	27.4	13.7	6.9
定草酯	1240	124	62	31	12.4	6.2	3.1	1.6
2,4-DP	1410	141	70.5	35.2	14.1	7.1	3.5	1.8
MCPP	2710	271	135.5	67.7	27.1	13.6	6.8	3.4
2,4-DB	6900	690	345	172.5	69	34.5	17.3	8.6

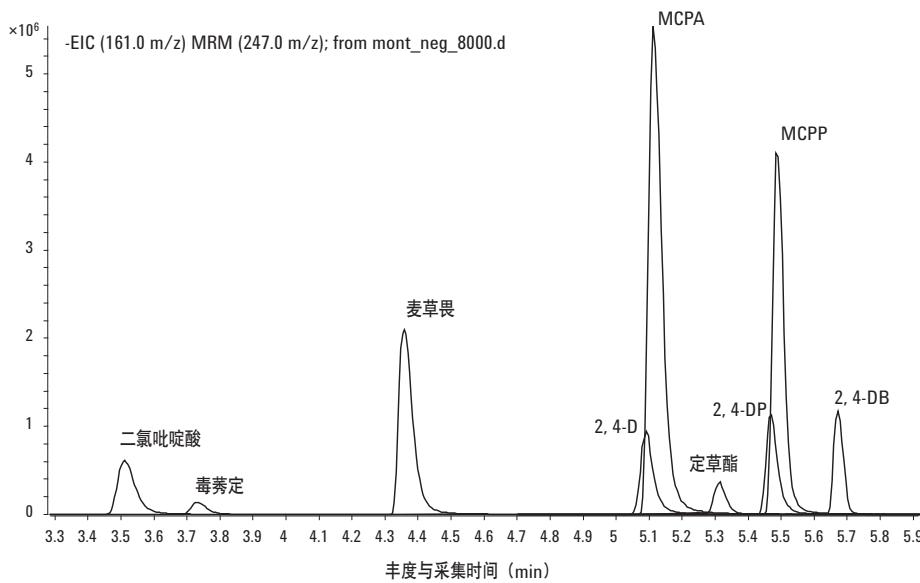


图 1. 九种目标除草剂 MRM 分析的叠加色谱图

例如，浓度水平为 8000 的是工作液原浓度，浓度水平为 20 的是工作液 1:400 的稀释液。

结果与讨论

图 1 展示了这九种除草剂 MRM 分析的重叠色谱图。运行时间少于 6 min。使用一根 1.8 μm 填料的色谱柱分析，这些分析物的峰宽在 0.1-0.2 min 范围内。较窄的峰宽有助于获得更高的信噪比。

这九种除草剂在柱上量 1.6-10.3 pg 范围内的 MRM 结果见图 2。

如表 3 所示，各农药线性范围（柱上量分别 10、20、40、80、200、400、800 和 8000 pg 时）与麦草畏的浓度类似。

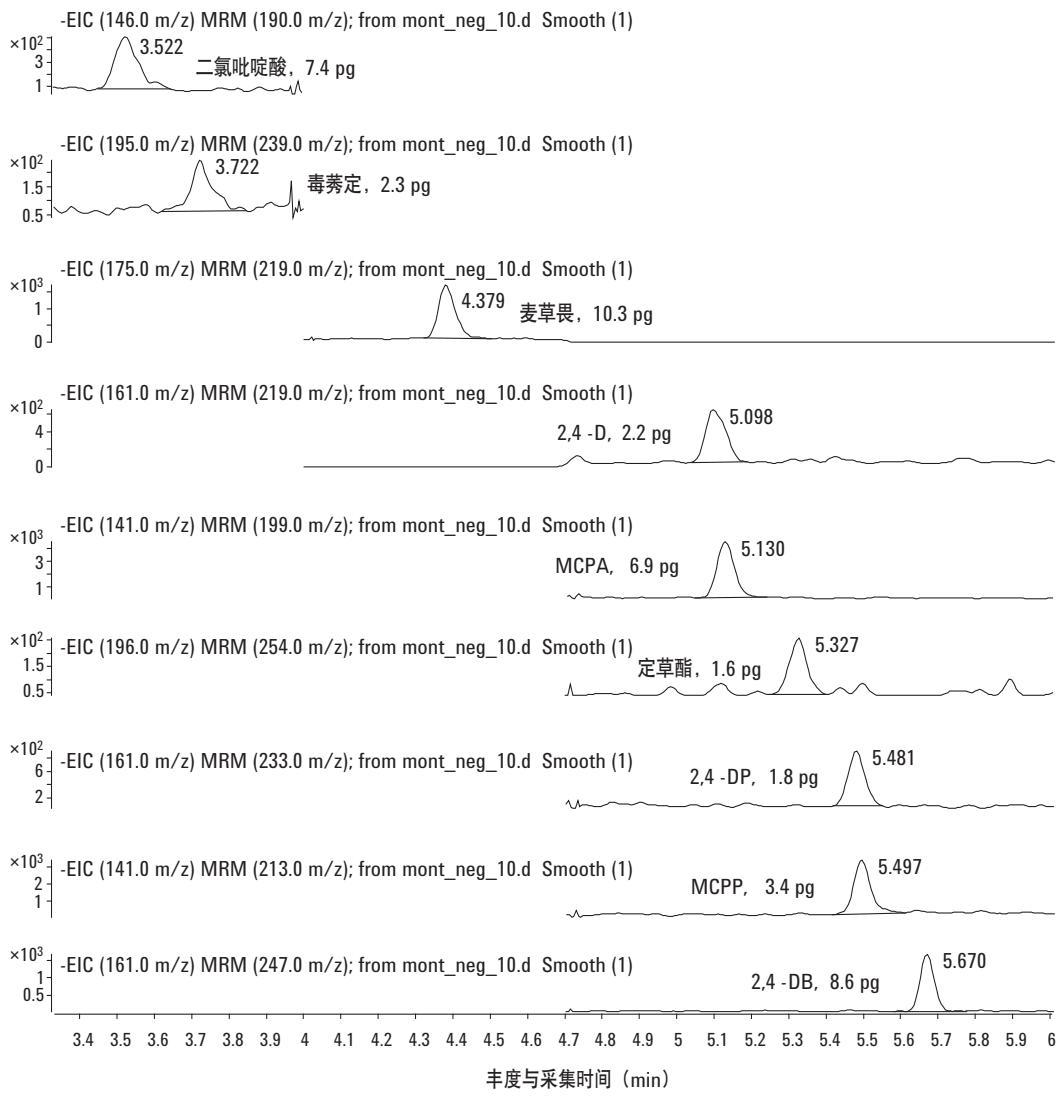


图 2. MRM 结果

因此, 定草酯相应的柱上量是: 1.6、3.1、6.2、12.4、31、62、124 和 1240 pg。所用校准模型均为包括原点不加权重的线性模型。所有分析物均呈现良好的线性关系。

在重复性实验中, 连续七次进样浓度水平为 40 的溶液 (表 4) 1 μ L 进行分析并计算其相对标准偏差 (RSD)。在这种低浓度水平下, 所有分析物的相对标准偏差均在 15% 以下, 其中大多数不超过 9%。

对三种不同的基质进行基质效应评价。取除草剂标准品对水体和土壤提取物加标 (将 50 μ L 浓度为 400 水平的标准液加到 950 μ L 水、淤泥、泥土或泥沙中)。最终的分析物浓度相当于浓度水平为 20 的溶液 (表 3)。

表 4. 线性 (10-8000 pg/L) 和重复性

化合物	R ² (线性拟合系数, 包括原点)	重复性, %RSD (n=7)	柱上量
二氯吡啶酸	0.9995	3.5	29.7 pg
毒莠定	0.9991	13.1	9.0
麦草畏	0.9999	2.4	41.0
2,4-D	0.9998	6.5	8.7
MCPA	0.9999	2.2	27.4
定草酯	0.9993	11.9	6.2
2,4-DB	0.9998	4.5	7.1
MCPP	0.9999	5.0	13.6
2,4-DB	0.9973	8.4	34.5

表 5 展示了在三种基质中八次连续进样 $1 \mu\text{L}$ 浓度水平为 20 的样品溶液的相对标准偏差，每种分析物的柱上量均低于 20 pg 。如预期所料，较低绝对响应的分析物有较高的相对标准偏差值。

表 5. 柱上量低于 20 pg 的各分析物在三种基质中连续进样八次的相对标准偏差

	泥土	泥沙	淤泥	柱上
定草酯	27	22	22	3.1 pg
MCPP	6	5	7	6.8
MCPA	2	6	5	13.7
二氯吡啶酸	14	15	13	14.8
2,4-DP	9	8	13	3.5
2,4-DB	9	3	9	17.3
2,4-D	11	14	13	4.4

除了定草酯的相对标准偏差大于 20% 外，其它所有分析物在三种基质中响应重复性的相对标准偏差均低于 15%。

对水和其它基质中小于等于 20 pg 分析物的响应的比较可参见图 3。所列每种基质的响应系连续八次进样的平均值。图 3 对比了水和其它三种基质的相对标准偏差。一般情况下，除了 2,4-D 因淤泥基质响应较高使其相对标准偏差接近 10% 以外，水及其它不同基质响应对其余所有分析物的影响均小于 5%。这表明本文方法基本不受泥土、泥沙和淤泥等基质的干扰。

结论

使用液相色谱-串联质谱能够在无需衍生的条件下即实现柱上 pg 级氯代酸类除草剂的分析。柱上量小于 40 pg 时，连续七次进样

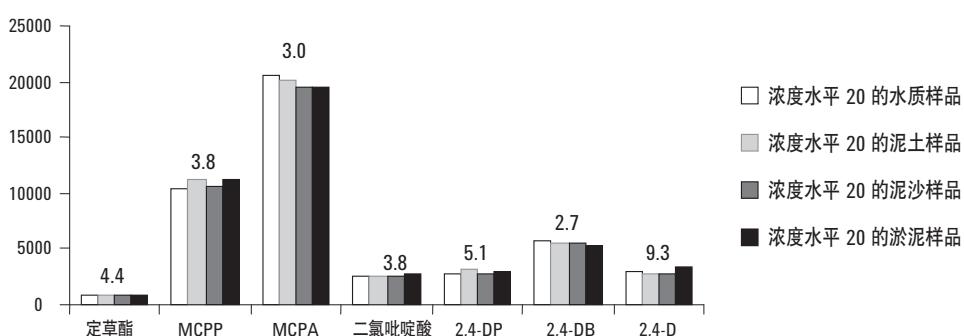


图 3. 比较分析物在水质和土壤提取物基质中的相对标准偏差

$1 \mu\text{L}$ 重复性的相对标准偏差低于 15%。所有分析物从柱上极低的 pg 到 ng 级水平，均呈现了良好的线性关系。

除了 2,4-D 因淤泥而得到较高的响应外，柱上量 20 pg 的其它分析物在所选择评价基质中响应的相对标准偏差与其水溶液相当（相对标准偏差约为 5%）。

致谢

衷心感谢蒙大拿农业部的 Heidi Hickes 女士和 Angela Schaner 女士所给予的有价值的讨论、样品制备过程和本研究所用的样品！

参考文献

1. "Determination of Chlorinated Acid Herbicides in Soils by Liquid Chromatography Electrospray/Mass Spectrometry/Mass Spectrometry," by Angela Schaner and Laura Luckey, Revision 2, April 2, 2004. Montana Department of Agriculture, Laboratory Bureau, McCall Hall, Montana State University, Bozeman, MT 59717.

安捷伦 6140 单四极杆液质联用系统和分析数据浏览器软件用于玩具和儿童护理品中邻苯二甲酸酯的高通量筛查分析

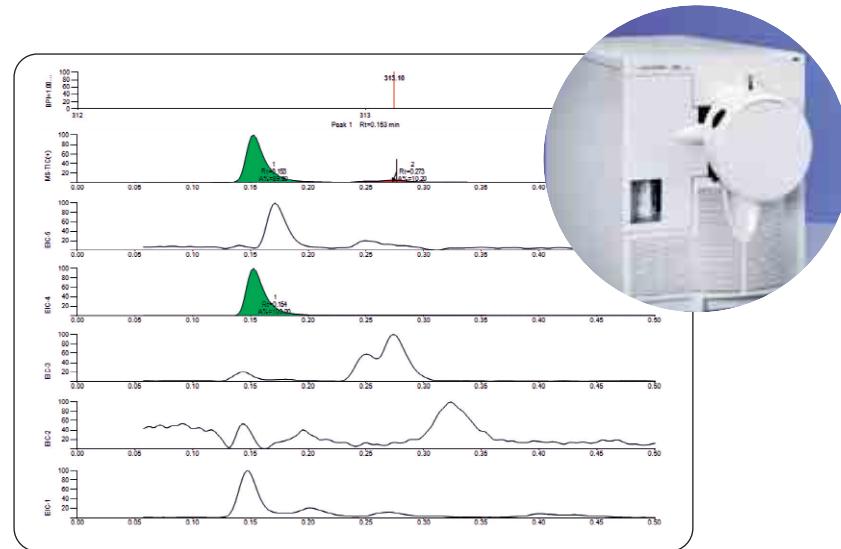
快速识别不符合法规要求的样品，提高生产率

应用简报 (5990-5281CHCN)

环境

作者

Syed Salman Lateef
Agilent Technologies, Inc.
Bangalore, India



摘要

欧洲委员会禁止了包含含量超过 0.1% 的六种邻苯二甲酸酯的任何玩具或儿童护理品进入市场，包括二异壬酯 (DINP)、邻苯二甲酸二 (2-乙基己基) 酯 (DEHP)、二-n-辛基邻苯二甲酸酯 (DNOP)、邻苯二甲酸二异癸酯 (DIDP)、邻苯二甲酸丁基苄基酯 (BBP) 和邻苯二甲酸二丁酯 (DBP)。此外，世界上各种其他监管机构也已经禁止了这些邻苯二甲酸酯 [1] 在玩具中的过度使用。

在本应用简报中，我们介绍了玩具或儿童护理品中邻苯二甲酸酯的高通量分析方法，分析时间小于 1 min，色谱柱采用亚 2 μm 粒径的填料。使用安捷伦 6140 单四极杆液质联用仪和分析数据浏览器软件，可以快速鉴别不符合法规要求的样品。快速分析方法降低了消耗品测试机构或玩具生产商质控部门的分析时间。本方法节省了时间和成本，同时还能快速鉴别不符合法规要求的样品。

前言

邻苯二甲酸酯（增塑剂）用于聚合物材料，如聚氯乙烯（PVC）塑料，以增加它们的灵活性。这些非共价键结合的邻苯二甲酸酯能够从产品中渗出，并有可能对环境和健康造成危害。六种邻苯二甲酸酯（DEHP, DINP, DNOP, DIDP, BBP 和 DBP）被列为对健康构成威胁的物质。孩子们在玩耍这些玩具时，常常用口嚼的方式将渗出的邻苯二甲酸酯吃入口中。

安捷伦 1200 系列快速高分离液相色谱与安捷伦 6140 单四极杆质谱联用，以及分析数据浏览软件（Analytical Studio Browse）为邻苯二甲酸酯的高通量筛查分析提供了灵活的工具。通过简单的提取步骤，1 min 的分析时间内，就能快速鉴别含有超标邻苯二甲酸酯的样品。单四极杆液质（MSD）的自动调谐特征不需要用户参与即可完成质谱参数的优化。安捷伦的 ZORBAX Eclipse Plus RRHT 1.8 μm 色谱柱可进行快速的分离。安捷伦 1200 SL 自动进样器的叠加进样功能使得分析周期更短。

分析数据浏览软件（Analytical Studio Browser, ASB）是一种快速鉴别超标样品的可视化工具，分析数据浏览软件（ASB）使得用户能：

- 快速浏览大量液相色谱/质谱数据
- 来自各种检测器的数据质量评估
- 编辑数据，并通过自动化系统代替数据处理决定

• 用适合他们工作环境的特定格式来报告数据

这种方法可以扩展到其它需要更多样品的高通量筛选分析中，以满足快速筛查是否能够通过法规样品标准的要求。

实验

十二邻苯二甲酸酯标准品购自 Sigma Aldrich。专门为 3 岁以下儿童设计的毛绒玩具购自印度当地的商店，用来对六种禁用邻苯二甲酸酯进行测试。使用适当的碰撞电压，选择扫描模式（SIM），同时分析六种邻苯二甲酸酯。

实验条件	详细信息	
色谱柱	安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C18 30 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm 部件号 959731-902；柱温 27.5 °C	
液相色谱	安捷伦 1200 系列快速高分离液相色谱	
流动相	含 0.01% 甲酸的甲醇	
等梯度	分析时间（分钟）：0.5 min	
流速	0.6 mL/min	
样品制备	<u>储备液</u> ：所有的邻苯二甲酸酯标样都溶解于 100% 甲醇中，浓度为 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ <u>12 个邻苯二甲酸酯的工作液</u> ：十二个邻苯二甲酸酯（表 1）标准品溶解于甲醇中，浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ <u>禁用的邻苯二甲酸酯标样</u> ：六个禁用的邻苯二甲酸酯用甲醇配成不同浓度的标准溶液 – 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 1.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ <u>玩具样品</u> ：取十个玩具，并切成小块；0.1 g 样品置于 5 mL 甲醇中，并超声 30 min (20000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，上清液用带过滤头的过滤器进行过滤。限量在 0.1% w/w 的邻苯二甲酸酯相当于 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液浓度 玩具样品被进一步地从 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 稀释至 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，作为工作液 <u>空白样品</u> ：不含任何样品的甲醇被用于对照玩具样品的实验	
进样体积	2 μL	
1200 SL 二极管阵列检测器	旁路	
洗针	50% 流动相和 50% 去离子化水洗针 5 s	
6140 质谱检测器参数	干燥气 雾化器压力 干燥气温度 毛细管电压	13 L/min 40 psig 250 °C 4000 V
	离子源：电喷雾（ESI）：正模式，选择离子扫描，峰宽 0.01 min	

结果与讨论

使用流动注射分析方法快速优化质谱的离子源参数

流动注射分析 (FIA) 是在没有色谱柱的条件下进行的，常常被用来快速测定某个化合物的最佳质谱参数。使用 "Run Multiple FIA Method" 测定所有十二个邻苯二甲酸酯的最佳碰撞电压值。表 1 为使用流动注射分析 (FIA) 获得的十二个邻苯二甲酸酯和它们的碰撞电压。虽然存在钠附加离子，但是“分子离子”这一列表示邻苯二甲酸酯的正离子。

十二个邻苯二甲酸酯的分析时间小于一分钟

在快速高分离色谱柱 (RRHT) 上对十二个邻苯二甲酸酯混合物进行了分离。如图 1 所示，在 0.5 min 内，所有的邻苯二甲酸酯都得到了分离。同时流出的 DEHP 和 DNOP 是同分异构体。由于它们均属于禁用类化合物，所以它们的定量结果可被加和。DBP 和邻苯二甲酸二异丁酯也是同分异构体，保留时间也一样（表 2），但是只有 DBP 是禁用化合物。如果邻苯二甲酸酯总量超过限值，就需要优化方法对 DBP 和邻苯二甲酸二异丁酯进行分离。

序号	化合物名	化合物简称	分子离子峰 (M+H) ⁺	碰撞电压 (V)	离子驻留时间 (msec)
1	邻苯二甲酸二乙酯	DEP	223.1	105	10
2	邻苯二甲酸二丙酯	DIPP	251.1	89	10
3	邻苯二甲酸二-正丁基酯	DBP*	279.1	83	10
4	邻苯二甲酸二异丁酯	DIBP	279.2	84	10
5	邻苯二甲酸二甲基乙二酯	DMGP	283.1	106	10
6	邻苯二甲酸二戊酯	DNPP	307.2	112	10
7	邻苯二甲酸二环己酯	DCP	331.1	94	10
8	邻苯二甲酸丁基苄酯	BBP*	313.1	88	10
9	邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯	DEHP*	391.1	106	10
10	邻苯二甲酸二(正辛基)酯	DNOP*	391.2	93	10
11	邻苯二甲酸二异壬酯	DINP*	419.1	97	10
12	邻苯二甲酸二异癸酯	DIDP*	447.2	90	10

表 1. 使用流动注射分析 (FIA) 方法测定了十二个邻苯二甲酸酯的最优的碰撞电压。* 禁用邻苯二甲酸酯 - 只针对六个邻苯二甲酸酯的分析，驻留时间为 14 ms

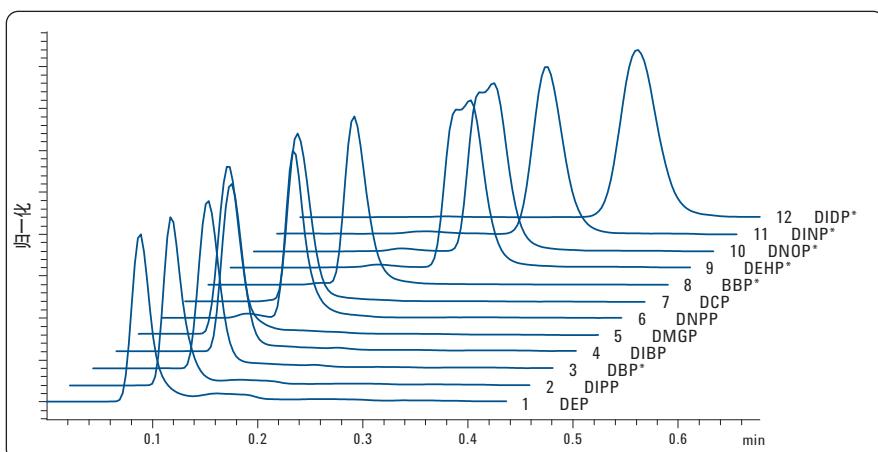


图 1. 含有十二个邻苯二甲酸酯的样品的提取离子流图
* 第 3、8、9、10、11 和 12 邻苯二甲酸酯是禁用邻苯二甲酸酯

使用叠加进样，对六个禁用邻苯二甲酸值进行高通量分析

在等梯度和叠加进样条件下，玩具样品和禁用邻苯二甲酸酯样品的分析不超过一分钟。对于叠加进样，前一个分析还在进行时，进样器就会开始取样及洗针。进样之间的滞留时间被消除，从而缩短了整个样品的分析时间。如图 2 所示，重叠进样在 0.3 min 后被启用，这使得之前的运行一结束，后续的样品会立即被注入。

序号	化合物名	保留时间 (minutes)	半峰宽 (sec)
1	邻苯二甲酸二乙酯	0.153	1.6
2	邻苯二甲酸二丙酯	0.162	1.4
3	邻苯二甲酸二 - 正丁基酯	0.173	1.4
4	邻苯二甲酸二异丁酯	0.173	1.4
5	邻苯二甲酸二甲基乙二酯	0.145	1.4
6	邻苯二甲酸二戊酯	0.189	1.5
7	邻苯二甲酸二环己酯	0.202	1.5
8	邻苯二甲酸丁基苄酯	0.171	1.6
9	邻苯二甲酸二 (2 - 乙基己基) 酯	0.282	2.5
10	邻苯二甲酸二 (正辛基) 酯	0.282	2.5
11	邻苯二甲酸二异壬酯	0.317	1.9
12	邻苯二甲酸二异癸酯	0.381	2.3

表 2. 十二个邻苯二甲酸酯的保留时间和它们的峰宽 (s)。所有组分的保留时间都在 30 s 内，所以，分析时间还有减少的余地

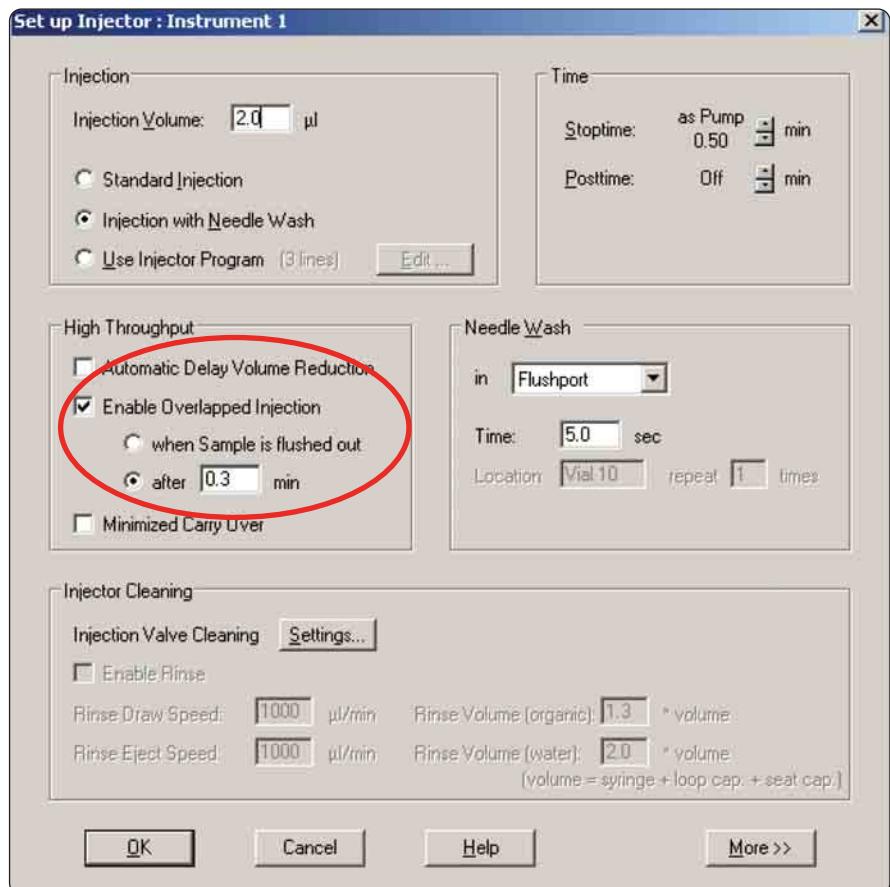


图 2. 在化学工作站 (B03.02) 中进行，使用叠加进样方式进行高通量分析

使用分析数据浏览软件 (ASB) 轻松评估结果

分析数据浏览软件 (ASB) 是安捷伦化学工作站的附加软件，它可以快速浏览含有特定化合物的样品鉴定。数据采集和化学工作组站的数据分析之后，ASB 显示了分析结果和自动进样器的样品位置。积分事件参数定义被积分的组分峰。在 ASB 计算中，只有积分的组分才被显示。初始阶段，在质谱测定中进样低浓度的邻苯二甲

酸酯的混合物 (0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 来测定每个组分的峰面积。这些参数在“积分进程”中被用于检测样品中超过限量的组分。

“积分参数”中任何超过阈值的邻苯二甲酸酯组分都被积分，并且在 ASB 中用绿色表示。分析数据浏览软件 (ASB) 的截屏见图 3。在本例中，在样品 4E 中发现 m/z 419.1 离子，鉴定为 DINP (邻苯二甲酸二异壬酯)。尽管还有其它的邻苯二甲酸酯，但是它们都没有超过阈值。标记为红色的样品在 0.01% w/w 限制内，

没有检测到邻苯二甲酸酯。ASB 有助于直观地判断哪一个样品需要进行仔细分析。分析工作者可以观察每个邻苯二甲酸酯的峰面积，以确定它是否超过法规限量，或者其它邻苯二甲酸酯的总量是否超标。

如图 3 所示，绿点表示包含一个或多个邻苯二甲酸酯超过 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 限值 (每个邻苯二甲酸酯含量 0.01%) 的样品。

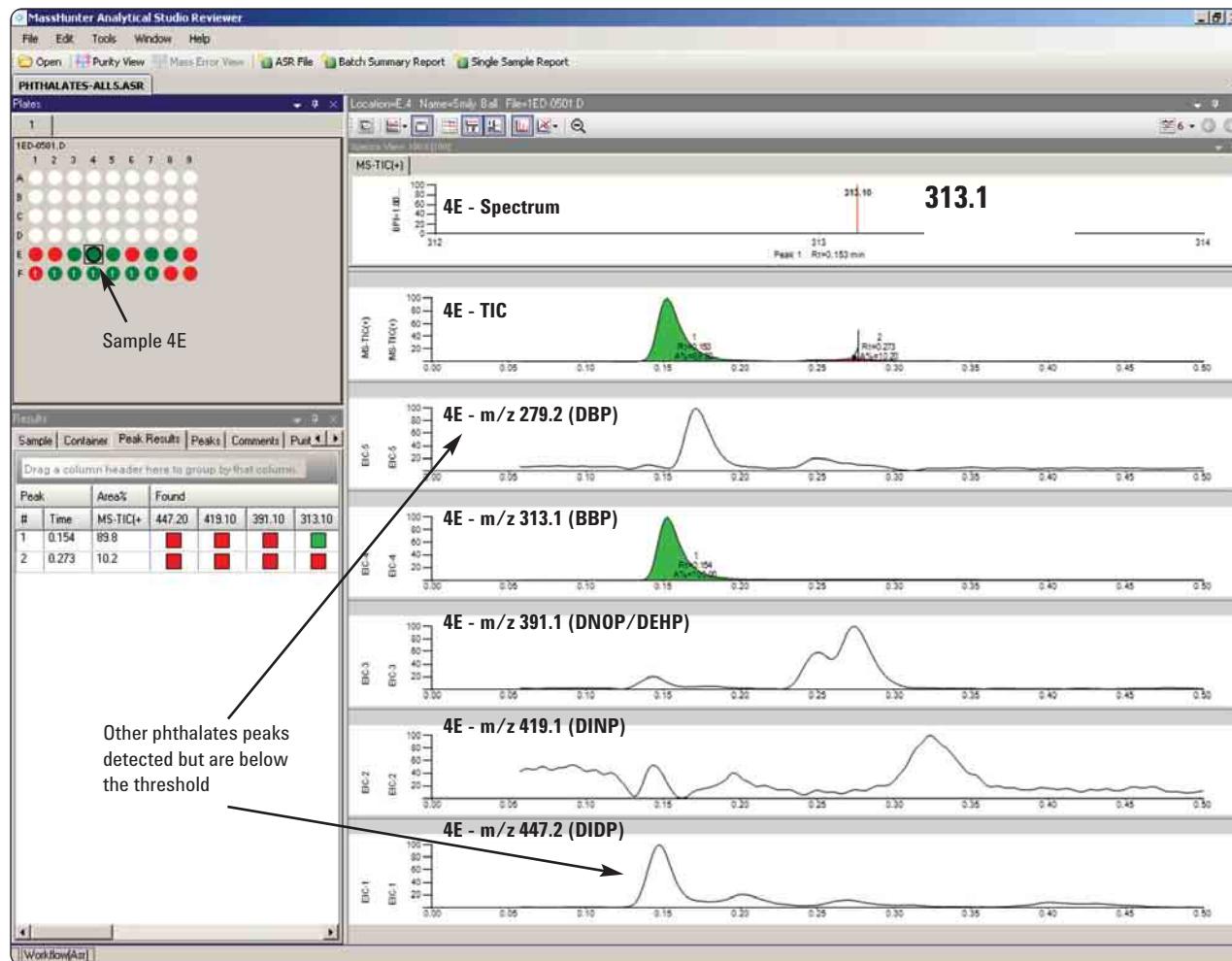


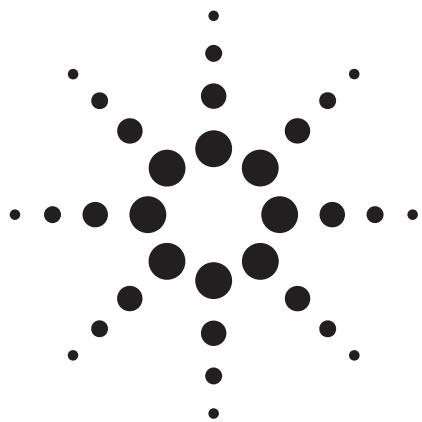
图 3. 分析数据浏览软件 (ASB) 的截屏

结论

安捷伦 6140 单四极杆液质联用仪和分析数据浏览软件 (ASB) 为玩具中邻苯二甲酸酯的高通量分析提供了有效的方法。通过简单的提取、叠加进样和快速分析，进行玩具中邻苯二甲酸酯的高通量检测，用分析数据浏览软件 (ASB) 对邻苯二甲酸酯进行快速鉴别。样品分析时间明显降低，因此，该方法是低成本的解决方案。

参考文献

1.
http://europa.eu/legislation_summaries/consumers/consumer_safety/l32033_en.htm



安捷伦 1290 Infinity 液相色谱/6140 单四极杆液质联用仪用于农药分析

应用简报 (5990-5794CHCN)

环境

作者

Rob Sample
Littleover
Derby, DE23 3XH, UK

Edgar Naegele
Agilent Technologies
Waldbronn, Germany

摘要

本应用简报描述了安捷伦 1290 Infinity 液相色谱/6140 单四极杆液质联用仪用于干净至中度污染水（如河水或饮用水）中的农药分析。开发了用于相对干净基质的水样分析的分离方法，样品的制备只需要用固相萃取（SPE）对其进行简单的富集和净化。本方法演示了如何利用分析方法来降低分析时间。

前言

在农药分析的文献中，有很多关于液相色谱与三重四极杆质谱联用的例子。虽然这些技术对“脏”的样品基质（如土壤或作物提取物）中的农药检测具有极高的灵敏度，但是对于干净的或中度污染的样品（如饮用水或河水）来说，单四极杆液质联用仪却是一种成本较低的分析技术。另外，将单四极杆质谱检测器加入到二极管阵列检测器系统通常是开始质谱检测方法的第一步。本应用简报建立了一种用于相对干净的水样分析的分离方法，样品经过固相萃取（SPE）柱进行简单的浓缩和净化。方法还演示了是如何缩短分析时间，以及用于方法转换的简单技术。

实验

所有的分析都在安捷伦 1290 Infinity 液相色谱上进行，系统包括二元泵、自动进样器、柱温箱和二极管阵列检测器，与其联用的是安捷伦 6140 单四极杆质谱，配置了大气压电喷雾离子源 (API-ESI)。

安捷伦 ZORBAX 快速高分离色谱 (RRHD)， $1.8 \mu\text{m}$ 柱用于安捷伦 1290 Infinity 液相色谱系统。色谱柱的最大压力可达 1200 bar。对于初始的方法开发，选择安捷伦 ZORBAX StableBond C18 RRHD 100 mm, 2.1 mm, $1.8 \mu\text{m}$ 色谱柱。

样品

从 Dr. Ehrenstorfer GmbH (Pesticide Mix 44, part no. 18000044 - Dr. Ehrenstorfer GmbH Bgm.-Schlosser-Str. 6 A, 86199 Augsburg, Germany) 获得 17 种农药的乙腈混标溶液，每个农药的浓度分别 $10 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 。取一份混标，用水稀释 10 倍，即 $1 \text{ ng}/\mu\text{L}$ (1 ppm)，用于分离方法开发。

混合物包含三嗪、苯和氯乙酰苯胺类的除草剂。表 1 列出了所有的组分及其结构。所有的组分在酸性流动相条件下形成正离子。

结果与讨论

建立标准方法

选择安捷伦 ZORBAX StableBond C18 RRHD 100 mm, 2.1 mm, $1.8 \mu\text{m}$ 柱用于分离方法的建立。优化分离条件，以使得 17 个组分能在 10 min 左右得到分离。在乙腈/水的流动相中加入甲酸 (0.1% v/v)，这样能使质谱检测中的电喷雾离子化效率更高，产生的正离子强度更高。

组分	m/z [M+H] ⁺	结构	组分	m/z [M+H] ⁺	结构
脱乙基阿特拉津	188		甲基苯噻隆 (也称为甲基苯噻隆)	222	
莠去津	216		溴谷隆	259	
绿麦隆	213		异丙甲草胺	284	
草净津	241		甲氧隆	229	
敌草隆	233		绿谷隆	215	
环嗪酮	253		另丁津	230	
异丙隆	207		西玛津	202	
利谷隆	249		特丁津	230	
吡唑草胺	278				

表 1. 农药测试混合物中的组分

17 个组分中 15 个组分在 10 min 内得到分离，有两个化合物在 5.8 min 分钟时共流出 (敌草隆和异丙隆)。使用质谱检测器的优点是，两共流出的组分可以根据质

荷比的差异得到分离。色谱柱梯度分离的最大压力是 546 bar，远远低于液相色谱 1200 bar 的最大操作压力。表 2 显示了组分峰，表 3 总结了本文中使用的液质联用分析的条件。

安捷伦 6140 单四极杆液质联用仪可以同时采集四个通道的质谱信号 (MSD1 到 MSD2)。MSD1 可以设为全扫描模式, 用来获得总离子流图中每个组分的质谱图 (图 1), 并确认每个组分的分子离子峰, 以进行组分的鉴别和定量。所有组分都得到了高质量的质谱图, 如图 4a 和 4b 所示为两个举例。

对于待测物的定量分析, 采用选择离子扫描 (SIM) 以获得最高的选择性和比全扫描模式更高的灵敏度, 因为这种模式下, 质谱会在特定质荷比离子的采集循环上花更多的时间。选择离子扫描 (SIM) 可以更灵活的采集一系列质量离散的离子。色谱上的共流出峰也可以用选择离子扫描 (SIM) 或用特定质荷比的提取离子流图 (EIC) 来进行分离。在本文中, m/z 207 和 233 代表异丙隆和敌草隆 (图 2)。图 3 为总离子图的局部放大图与提取离子流图的叠加图, 可以更详细检查共流出组分。异丙隆和敌草隆的选择离子谱图见图 4a 和 4b。敌草隆的质谱 (图 4a) 显示了很高的分辨率和含两个氯原子的同位素分布, 很容易与不含氯的异丙隆区分开 (图 4b)。

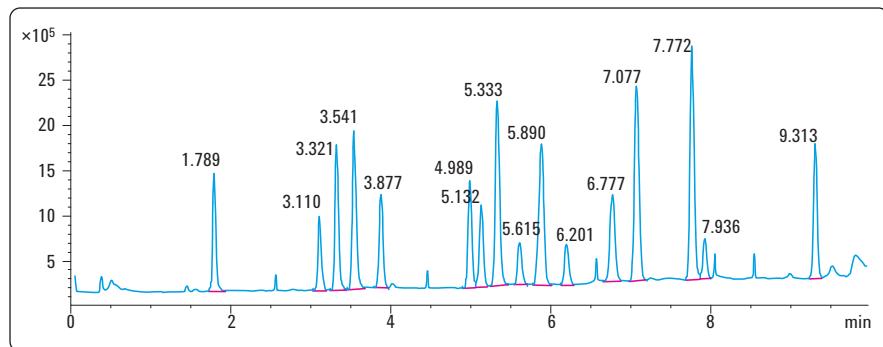


图 1. 农药混合物的色谱图

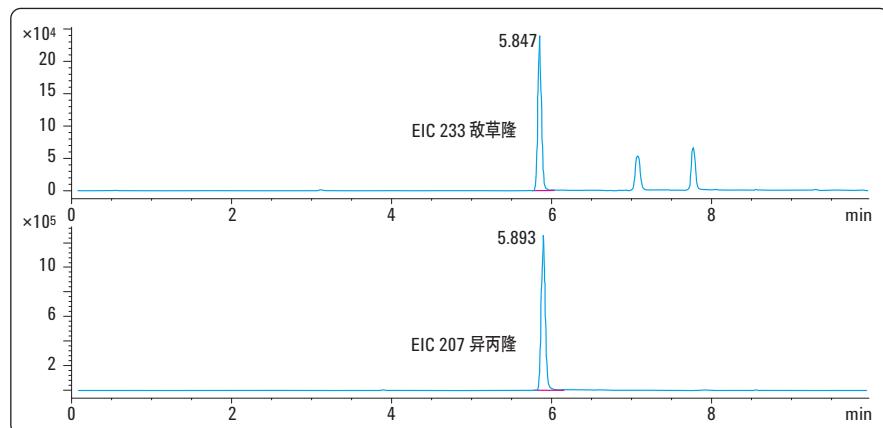


图 2. 农药混合物中 m/z 233 和 207 的提取离子流图

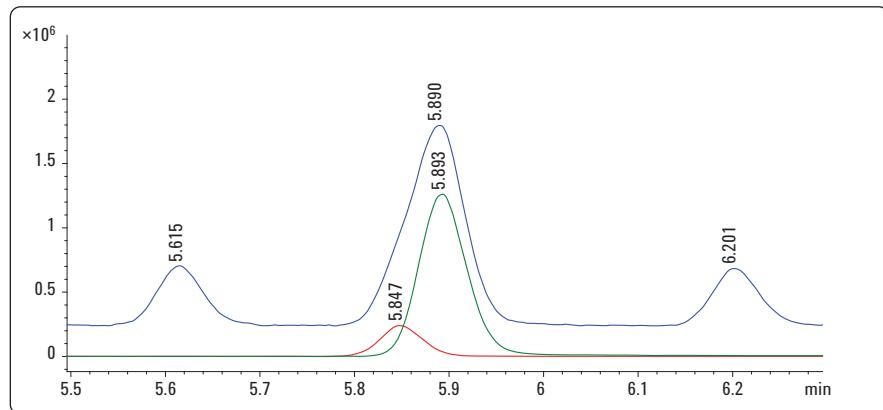


图 3. 共流出组分异丙隆和敌草隆的全扫描总离子流图和提取离子流图的叠加图

峰序号	组分	保留时间 (mins)	m/z [M+H] ⁺
1	脱乙基阿特拉津	1.791	188
2	甲氧隆	3.111	229
3	环嗪酮	3.323	253
4	西玛津	3.542	202
5	氰草津	3.878	241
6	甲基苯嘧隆	4.990	222
7	绿麦隆	5.133	213
8	莠去津	5.336	216
9	绿谷隆	5.616	215
10*	敌草隆	5.847	233
11*	异丙隆	5.893	207
12	溴谷隆	6.203	259
13	吡唑草胺	6.777	278
14	另丁津	7.080	230
15	特丁津	7.773	230
16	利谷隆	7.936	249
17	异丙甲草胺	9.313	284

* 敌草隆和异丙隆是共流出

表 2
组分峰

使用 100 mm 色谱柱建立快速分析方法

ZORBAX C18 RRHD 1.8 μm 柱的固定相材料具有很高的分离效率，并支持更高的流速，这是由与小粒径相关的 Van Deemter 剖面决定的。将流速提高一倍并调整梯度时间（为原来的一半），以保持同样的梯度斜率，即在梯度期间通过柱的流动相体积，这样，10 min 的分析方法就会转换为 5 min 的分析方法（图 5）。

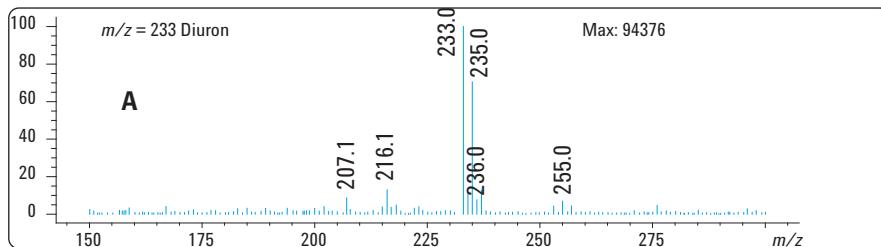


图 4a. 敌草隆的质谱图

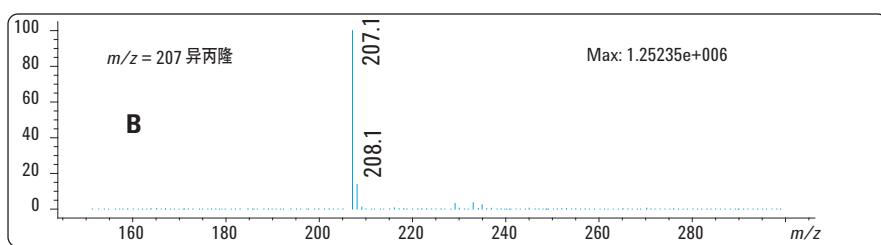


图 4b. 异丙隆的质谱图

安捷伦 1290 Infinity 液相色谱/紫外检测的条件

色谱图:	图 1	图 5	图 7	图 8
柱 1	安捷伦 ZORBAX RRHD SB-C18 2.1 mm \times 100 mm, 1.8 μm			
柱 2	安捷伦 ZORBAX RRHD SB-C18 2.1 mm \times 50 mm, 1.8 μm			
柱温	40 °C			
流动相 A	0.1% 甲酸的水溶液			
流动相 B	0.1% 甲酸的乙腈溶液			
进样体积	10 μL	10 μL	5 μL	5 μL
进样针清洗	In Flush Port, 10 s, acetonitrile/water (50/50)			
二极管阵列信号 A	242 nm, bandwidth 4 nm. Reference Off.			
二极管阵列信号 B	226 nm, bandwidth 4 nm. Reference Off			
光谱仪狭缝宽度	4 nm			

安捷伦 6140 单四极杆质谱的条件

离子源	大气压电喷雾 (API-ESI)
离子极性	正模式
毛细管电压	4000 V
干燥气流速	12 L/min
干燥气温度	350 °C
雾化器压力	在 0.5 mL/min 时为 30 psi; 在 1.0 mL/min 时为 50 psi
MSD Signal 1	Scan m/z 150 – 350
MSD Signal 2	SIM m/z 188, 202, 207, 216, 222, 229, 249, 278 (分别延迟 5 ms)
MSD Signal 3	SIM m/z 213, 215, 230, 233, 241, 253, 259, 284 (分别延迟 5 ms)
碰撞电压	90 V, 所有信号

表 3. 安捷伦 1290 Infinity 液相色谱/紫外检测的条件

梯度斜率和流速之间的关系用下列方程表示

$$\text{梯度斜率} = \frac{\text{强溶剂的增加}}{\text{柱体积数}}$$

$$\text{梯度斜率} = \frac{\Delta \% B \cdot V_M}{F \cdot t_G}$$

这里：

$\Delta \% B$ 是梯度过程中较强流动相组成的范围

V_M 是色谱柱的延迟体积或色谱柱中流动相的体积

F 是流速

t_G 是梯度的时间范围

这与梯度保留因子，即下列方程中的 k^* 相关，并显示了恒定的梯度斜率是如何保持相对峰间距的恒定的：

$$k^* = \frac{t_G}{\Delta \% B} \cdot \frac{F}{V_M} \cdot \frac{100}{S}$$

S 是每个溶质与化合物相关的因子

正如预期的那样，色谱图总体上是相同的，但保留时间是原来的一半。仔细观察发现了选择性的一些细微变化。在 2.9 min 时，敌草隆、异丙隆共流出峰显示了独特的峰肩，表示这两种化合物之间轻微的分离。峰 6 和峰 7 变得稍微重叠（与图 1 比较）。

由于梯度斜率保持恒定，可以得出结论，流速和压力可产生摩擦发热。在温度从 30 °C 至 45 °C 的条件下，进行分离数据的采集，以测试温度变化对分离的影响。正如预期的那样，总的的趋势是，保留时间随着温度的增加而降低。也可以看出，不同的峰对之间的选择性也是温度敏感的。

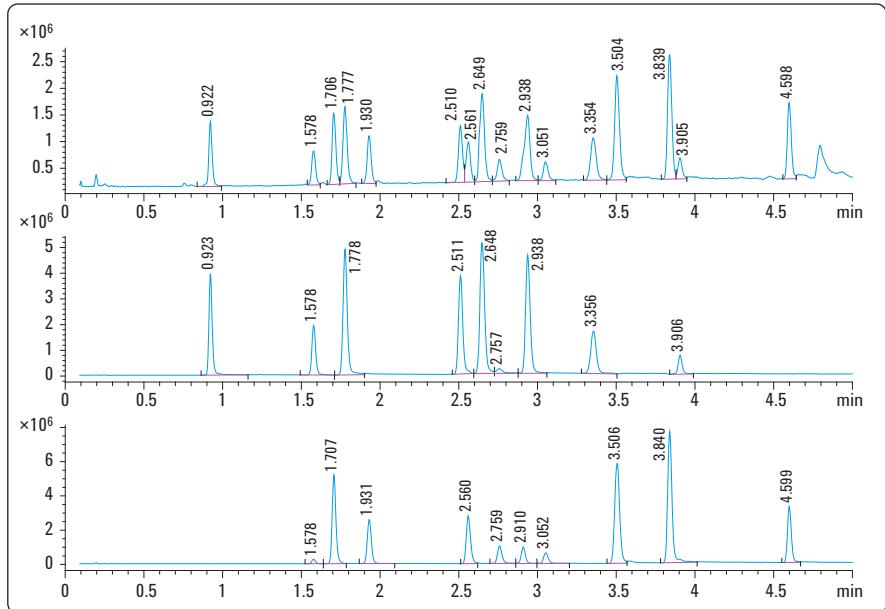


图 5. 农药混合物在 100 mm 色谱柱上，在 5 min 梯度、1 mL/min 的流速条件下的分离情况

选择性随着温度的增加而变化：甲基苯噻隆和绿麦隆（峰 6 和 7）的选择性降低；绿麦隆和阿特拉津（峰 7 和 8）的选择性增加；敌草隆和异丙隆（峰 10 和 11）的选择性增加；特丁津和利谷隆（峰 15 和 16）的选择性下降。

改变流速和压力观察到的选择性变化可能是通过摩擦加热效果来显示的。这可由从 1 °C 到 2 °C 的经验比较来预计。在这种情况下，可以将柱温箱的温度降低 1 °C 至 2 °C 来抵消影响，详细内容将另有报告 [1]。

如果在色谱柱内产生径向温度梯度，摩擦产生的热会导致峰展宽。系统使用的柱温箱类型决定所受到的影响。

1290 Infinity 液相色谱仪柱温箱的设计避免了这个问题。因此，观察到的峰宽没有其它的扩展。

温度增加，降低了流动相的粘度，导致压力读数的差异（如 30 °C 时，压力读数为 1110 Bar；而在 45 °C 时，压力读数为 920 bar）。这种现象可以为压力和流速的增加创造更多的空间（图 6）。

使用 50 mm 色谱柱建立快速分析方法

安捷伦 ZORBAX C18 RRHD 1.8 μm 色谱柱能够提供高效率的分离。100 mm 色谱柱分离数据表明，同样填料的 50 mm 色谱柱也足以达到要求。从 100 mm 色谱柱到 50 mm 色谱柱的方法转换与我们上面讨论的方法相同。因为固定相是相同的，所以只要梯度一样，分离性能也应该是一样的。流速保持不变，色谱柱的长度减半，所以组分峰的保留时间也减半。为了保持梯度斜率不变，时间表里的时间步长 (t_G) 应该除以 2，因为柱体积 (V_M) 也只有一半。100 mm 长的色谱柱的 10 min 分析在 50 mm 长的色谱柱分析时间降低为 5 min。

得到的色谱图如图 7 所示。它与图 1 中 100 mm 色谱柱的色谱图相似。可以预料，与 100 mm 色谱柱相比，等梯度条件下通过理论塔板数 (N) 测量的 50 mm 色谱柱的分离效率将减半。分离度的影响因子大约是 1.5，从表 4 的实验结果看到，峰宽、分离度和峰容量因为这个因子而降低。全扫描色谱图中的组分峰分离的最关键的分辨率是峰 14 和 15 之间，其分离度是 1.2。然而，选择离子扫描 (SIM) 将这两个峰完全分离。50 mm 色谱柱的最大压力是 290 bar，而 100 mm 色谱柱的最大压力是 550 bar。虽然常规液相色谱 (400 bar) 也可以满足 290 bar 的条件，如安捷伦的 1200 液相色谱系统，但是系统延迟体积的增加使得梯度更长。另外，较大流动池导致的峰扩展也会降低分离度。

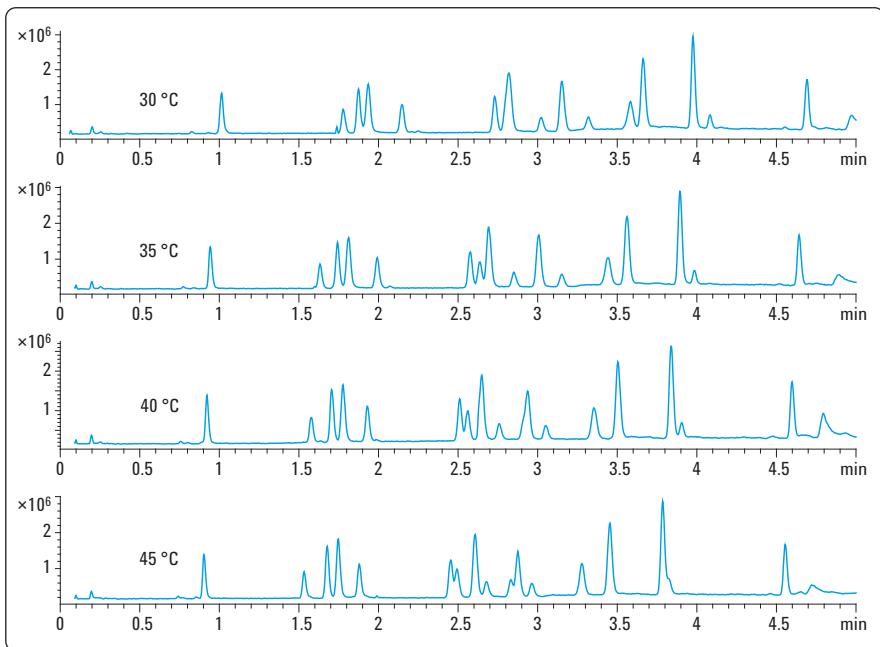


图 6. 温度对分离的影响：30 °C 下的色谱图 (压力, $\Delta P = 1110 \text{ bar}$)、35 °C 下的色谱图 (压力, $\Delta P = 1045 \text{ bar}$)、40 °C 下的色谱图 (压力, $\Delta P = 970 \text{ bar}$)、45 °C 下的色谱图 (压力, $\Delta P = 920 \text{ bar}$)

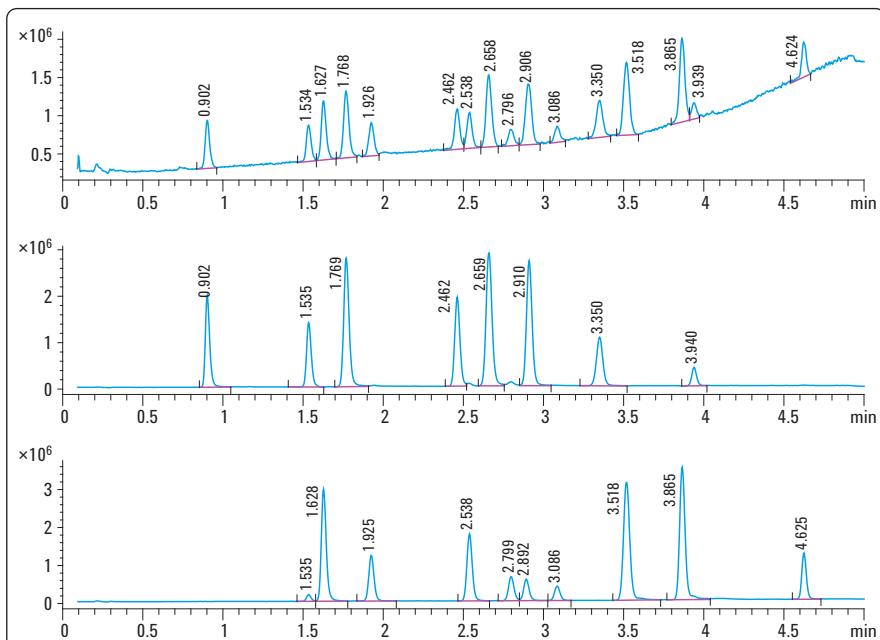


图 7. 农药混合物在 50 mm 色谱柱上，在 5 min 梯度、0.5 mL/min 流速条件下的分离情况

对于 100 mm 的色谱柱，同样可以通过增加流速。降低梯度时间的技术，来维持梯度斜率。图 8 显示的色谱图为，在 50 mm 色谱柱上，在 2.5 min 梯度以及 1 mL/min 的流速条件下，操作压力为 550 bar。全扫描的总离子流图显示，分辨率有所降低，但是选择离子扫描 (SIM) 仍然具有很好的分辨率。安捷伦 1290 Infinity 液相色谱的最大操作压力为 1200 bar，这使得流速提高了两倍。电喷雾离子源的最大流速是 1 mL/min，因此，需要分流器来保持很好的质谱检测效率。

峰	100 mm 柱, 10 min 梯度, 0.5 mL/min				50 mm 柱, 5 min 梯度, 0.5 mL/min			
	保留时间	峰宽	分辨率	峰容量	保留时间	峰宽	分辨率	峰容量
1	1.789	0.043		173	0.902	0.030		123
2	3.110	0.046	18.0	163	1.534	0.033	12.0	114
3	3.321	0.046	2.7	162	1.627	0.033	1.7	112
4	3.541	0.053	2.6	142	1.768	0.037	2.4	99
5	3.877	0.050	3.8	150	1.926	0.035	2.6	107
6	4.989	0.053	12.7	141	2.462	0.036	9.0	102
7	5.132	0.051	1.6	147	2.538	0.035	1.3	107
8	5.333	0.054	2.2	138	2.658	0.038	1.9	99
9	5.615	0.050	3.0	152	2.796	0.040	2.1	92
10	5.890	0.064	2.7	117	2.906	0.044	1.6	85
11	6.201	0.049	3.0	154	3.086	0.037	2.6	101
12	6.777	0.065	5.7	116	3.350	0.043	3.9	86
13	7.077	0.062	2.8	121	3.518	0.041	2.3	91
14	7.772	0.055	7.0	136	3.865	0.037	5.2	101
15	7.936	0.051	1.8	146	3.939	0.034	1.2	109
16	9.313	0.047	16.3	159	4.624	0.033	11.8	113

表 4. 100 mm 和 50 mm 色谱柱上各组分峰参数的比较

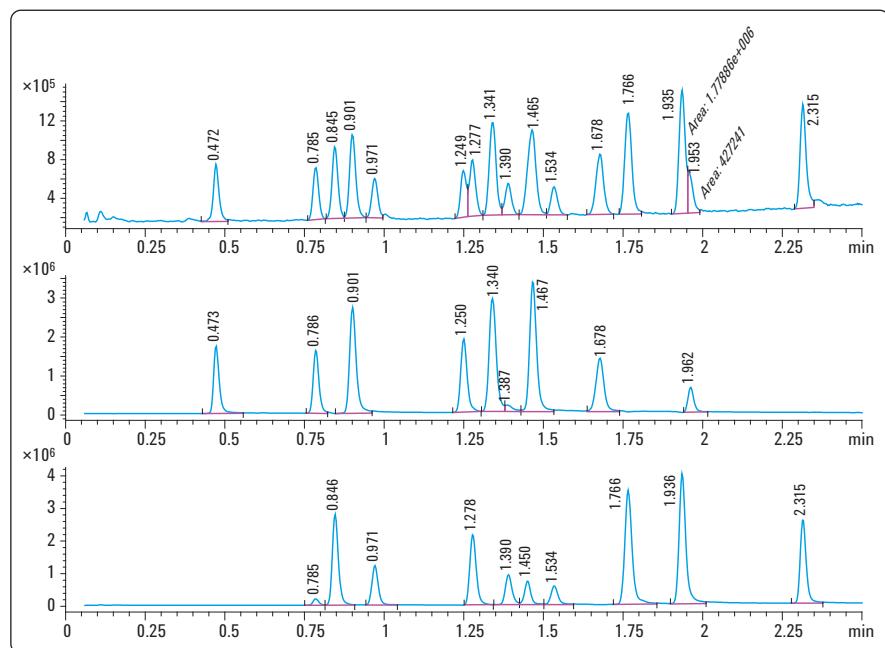


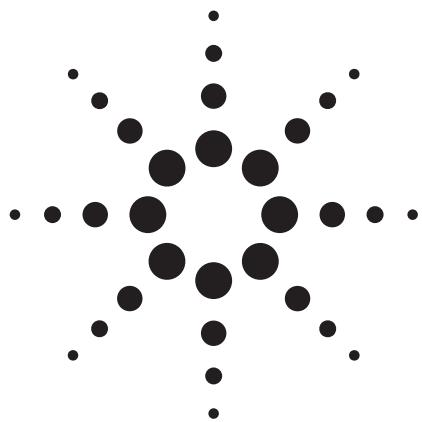
图 8. 农药混合物在 50 mm 色谱柱上，在 2.5 min 梯度与 1 mL/min 的流速条件下的分离情况

结论

本应用简报介绍了一种用于三嗪、苯和氯乙酰苯胺类除草剂的快速分析方法，方法采用了配备 1290 Infinity 液相色谱以及安捷伦 6140 单四极杆液质联用仪的亚 2 μm 色谱柱，整个分析时间小于 10 min。本文着重介绍了包括摩擦生热效应在内的超高压液相色谱方法开发的几个方面。通用的分析方法转换技术显示，利用质谱检测方法进行的分离，其速度得到了大大提高，并且能够在 2.5 min 内完成分离。

参考文献

1. Pat Sandra, "Increasing productivity in the analysis of impurities in metoclopramide hydrochloride formulations using the Agilent 1290 Infinity LC system", Agilent Application Note 5990-3981EN, 2009.



使用 1120 一体式液相色谱 / 安捷伦 6140 单四极杆液质联用仪和分析数据浏览软件 筛查纺织品中的欧盟禁用染料

快速鉴别不符合法规要求的样品，提高生产率
应用简报 (5990-5731CHCN)

环境

作者

Syed Salman Lateef
安捷伦科技公司
印度班加罗尔



摘要

欧盟委员会已经限制了含有某种偶氮染料的纺织品进入市场。偶氮染料中的偶氮化学键 ($-N=N-$) 被还原裂解生成芳香胺等副产物，其中的一些还具有潜在的致癌毒性。欧盟指令规定了 22 个芳香胺，它们在纺织品中的浓度不得超过 30 ppm。在本文中，根据文献方法，优化成与质谱兼容的流动相，用于纺织品中欧盟禁用的偶氮染料的检测。使用安捷伦 1120 一体式液相色谱仪 / 安捷伦 6140 单四极杆液质联用系统和安捷伦分析数据浏览器软件 (ASB) 进行样品分析。分析数据浏览器软件 (ASB) 能快速识别超过法规要求的样品。这样的设置能够帮助纺织品检测实验室进行大量纺织品样品的定性分析。

前言

欧盟列出了 22 个具有潜在致癌性的芳香胺，并规定纺织品中每一个芳香胺的浓度不得超过 30 ppm。这个测试方法用还原剂将纺织品中的染料还原，然后提取副产物。副产物与 22 个禁用芳香胺和它们的测定浓度相匹配。除了官方方法，还有一些其它最大化回收率的文献发表方法。本文介绍了改进的文献方法 [1]：使用与液质相兼容的流动相。

化学工作站 (B.04.02) 控制安捷伦 1120 一体化液相色谱/安捷伦 6140 单四极杆质谱的运行和数据采集。

分析数据浏览软件 (ASB) 是一种可视化工具，可以快速识别超过用户设定阈值的样品。它是化学工作站的附加软件。ASB 的主要特点是为用户提供以下的功能：

- 非常快速地浏览大量的液质数据
- 评价来自各种检测器的数据质量
- 编辑数据，并对自动化系统做出的数据处理决定进行修正
- 用符合特定要求和它们工作环境的格式来报告数据

该方法可以扩展到其它的消耗品样品（如玩具或食品）的分析，利用简单的可视化评价来判别样品是否符合法规的要求。

实验

22 个禁用芳香胺购自 Sigma Aldrich。四种颜色的聚酯纺织品样品从印度当地的商店购买。

22 个禁用芳香胺标准储备液

22 个芳香胺标准品溶解于乙腈 (90 : 10)：25 mM 醋酸铵溶液中，浓度约为 3000 ppm（也可以使用 100% 的甲醇）。标准储备液进一步被稀释至 100 ppm。然后 100 ppm 的溶液进一步用 10% 的流动相 B 和 90% 的流动相 A 稀释至 1 ppm，以测定碰撞电压。

纺织品样品

1.0 mL 新制备的含 50 mg 亚硫酸氢钠的 1 M 氨水 p 加入到 0.1 g 切碎的纺织样品中，并在 80 °C 下加热 90 分钟。然后，将 1 mL 100% 流动相 B 加入到纺织品中，并微波 (1350 W) 提取 10 s，取出上清液。用 10% 流动相 B 和 90% 流动相 A 作为提取溶剂，重复两次。提取液组合在一起，加入 100 μL 甲酸，以中和 pH 值。用水稀释至 5 mL。溶液用 0.45 μm 注射器过滤器过滤，然后进行分析。

测定线性范围的样品溶液

用 5% 的流动相 B 制备不同浓度的 22 个禁用芳香胺溶液，浓度分别为：9 μg/5 mL、6 μg/5 mL、3 μg/5 mL、1 μg/5 mL、0.6 μg/5 mL。

实验参数	详细信息
色谱柱	安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C18, 150 mm × 3.0 mm, 3.5 μm 部件号 959963-302；柱温 30 °C
流动相	流动相 A: 0.1% 甲酸水溶液 流动相 B: 0.1% 甲酸的甲醇溶液
梯度	分析时间 (min) : 42 min 8.8% B – 0 min 10% B – 10 min 16% B – 10.1 min 22% B – 20 min 53% B – 20.1 min 62% B – 30 min 100% B – 30.5 min 100% B – 35 min 8.8% B – 35.1 min 8.8% B – 42 min
流速	0.7 mL/min
进样体积	5 μL
可变波长检测器 (VWD)	254 nm
6140 质谱检测器参数	干燥气流速 13.0 L/min
电喷雾：正模式	雾化器压力 40 psig
选择离子扫描，峰宽 0.03 min	干燥气温度 350 °C 毛细管电压 4000 V
ASB 参数 (B.02.00)	总离子流图 – 在各个时间点上取积分 BPI – 40%

阳性对照样品

酸性红 4 (对照 1) 和直接蓝 15 (对照 2) 的甲醇溶液将聚酯纤维进行染色, 作为阳性对照样品。

结论与讨论

方法开发与混标溶液的分析

22 个芳香胺混标（每个组分的浓度为 1 ppm）分别用可变波长检测器和质谱进行分析。与苯基柱相比，在 15 mm 安捷伦 ZORBAX Eclipse Plus C18 柱上，采用 10% 至 90% 的流动相 B 线性梯度，几乎所有的组分都得到了很好地分离。另外，对于 ZORBAX Eclipse Plus C18 色谱柱，甲醇优于乙腈或者甲醇和乙腈的混合液。采用更缓慢的梯度在 30 °C 的柱温下能够使得未分开的组分得到分离（9 和 10, 14 和 15）。时间编程的选择离子扫描的质谱方法提高了分析选择性。在数据采集过程中，选取四组时间：0—5 min、5—10 min、10—20 min 和 20 min—42 min，每个时间段内都设定了特定的分子离子，从而提高了离子驻留时间（表 1）。图 1 为 22 个禁用芳香胺混合物（3 µg/5 mL）的质谱总离子流图和紫外色谱图。22 个芳香胺混合物的紫外检测波长在 254 nm 处的响应各不相同。与紫外检测相比，质谱检测的优势是，它提高了分析灵敏度和选择性。

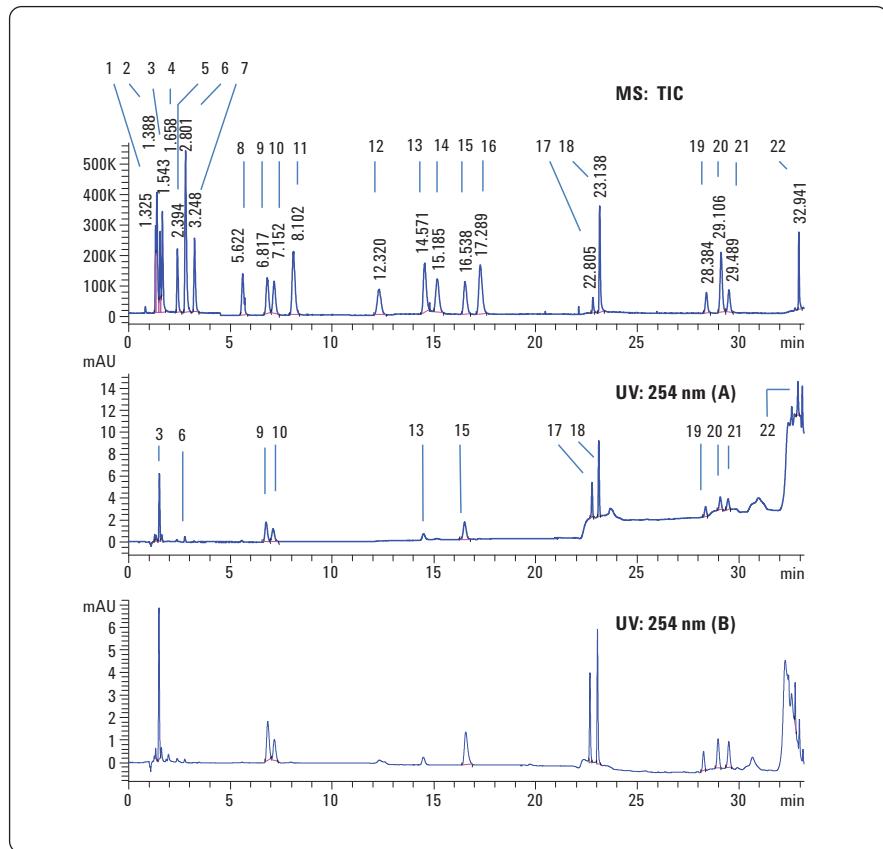


图 1. 时间编程的选择离子扫描分析 22 个芳香胺混合物的总离子流图。波长在 254 nm 的紫外检测信号对于不同的芳香胺，其响应也不同。紫外色谱图 (A) 由于梯度的快速改变导致基线变化；紫外色谱图 (B) 如果流动相 B 中不加甲酸，基线则相对平稳

化合物名 (基于时间段)	化合物名简称	分子离子峰 (M+H) ⁺	碰撞电压 (V)	保留时间 (min)
时间段: 0 – 5 min				
4-甲氧基-间-苯二胺	1	139.1	82	1.3
2,4-二氨基甲苯	2	123.1	60	1.4
联苯胺	3	185.1	98	1.5
4,4'-二氨基二苯醚	4	201.1	134	1.7
4,4'-二氨基二苯甲烷	5	199.1	108	2.4
邻甲氧基苯胺 (2-甲氧基苯胺)	6	124.1	78	2.8
邻甲基苯胺	7	108.1	100	3.2
时间段: 5 – 10 min				
4-氯苯胺	8	128.1	110	5.6
邻联甲苯胺	9	213.1	112	6.8
联甲氧基苯胺 (3,3'-二甲氧基联苯胺)	10	245.1	90	7.2
2-甲氧基-5-甲基苯胺	11	138.1	90	8.1
时间段: 10 – 20 min				
4,4'-亚甲基双 (2-甲基苯胺)	12	227.3	128	12.3
2-萘胺	13	144.1	92	14.6
4-氯-2-甲基苯胺	14	142.1	102	15.2
4,4'-二氨基二苯硫醚	15	217.1	130	16.5
2,4,5-三甲基苯胺	16	136.1	112	17.3
时间段: > 20 min				
2-甲基-5-硝基苯胺	17	153.1	110	22.8
4-氨基联苯	18	170.1	138	23.1
3,3'-二氯联苯	19	253	114	28.4
4-氨基偶氮苯	20	198.1	98	29.1
4,4'-亚甲基-二 (2-氯苯胺)	21	267	144	29.5
氨基偶氮苯	22	226.1	94	32.9

表 1. 欧盟禁用的芳香胺的碰撞电压和时间段

对浓度为 $3 \mu\text{g}/5 \text{ mL}$ 的样品进行六次重复分析, 测得的方法精密度见表 2。结果表明, 保留时间的精密度 (RSD) 小于 0.1 min , 峰面积的精密度 (RSD) 小于 5.6。五个浓度点的提取离子流图的线性相关系数 (R^2) 大于 0.99。

化合物 名称缩写	保留时间的 RSD, n=6	峰面积的 RSD, n=6	相关系数 R^2
1	0.06	2.3	0.992
2	0.13	3.2	0.998
3	0.10	1.5	0.999
4	0.08	2.1	0.999
5	0.15	1.9	0.999
6	0.03	2.7	0.999
7	0.07	5.6	0.997
8	0.03	2.6	0.999
9	0.06	3.3	0.999
10	0.04	1.8	0.999
11	0.08	2.6	0.999
12	0.11	3.4	0.999
13	0.03	4.9	0.999
14	0.06	5.0	0.998
15	0.03	2.9	0.999
16	0.04	4.8	0.999
17	0.01	2.8	0.999
18	0.01	2.6	0.999
19	0.01	2.4	0.999
20	0.02	2.0	0.999
21	0.02	2.6	0.999
22	0.02	4.2	0.997

表 2. 对浓度为 $3 \mu\text{g}/5 \text{ mL}$ 的样品进行六次重复分析, 所有 22 个禁用芳香胺的保留时间和峰面积的精密度 (RSD) 和相关系数 (R^2)。样品为水溶液样品

使用分析数据浏览软件 (ASB) 对结果进行评价

ASB 显示了分析结果并将自动上样位置与结果相关联。积分事件参数定义了被积分的组分峰。在 ASB 计算中，只有被积分的峰和基峰强度 (BPI) 的百分比被用于显示特定样品中特定待测组分是否存在。

用芳香胺混标 (浓度为 $3 \mu\text{g}/5 \text{ mL}$) 测定每个组分的保留时间 (RT) 和峰面积。使用这个数据库，任何落在这个范围内的质荷比、保留时间和峰面积的组分，都将被积分并被显示为目标化合物 (图 2)。

偶氮染料，如酸性红 4 和直接蓝 15 可以降解生成禁用芳香胺：

分别得到 2-甲氧基苯胺和 3,3'-二甲氧基联苯胺 [2]。用酸性红 4 和直接蓝 15 分别将两种聚酯纺织品染色。如图 2 所示，用酸性红 4 染色的纺织品产生 m/z 124.1 的化合物 (化合物 6; 2-甲氧基苯胺)。同样，直接蓝 15 染色的纺织品产生 m/z 245.1 (化合物 10)。

还分析了四个染色聚酯纺织品，但是没有发现任何禁用芳香胺。如果检测到禁用芳香胺，那么需要对检测到的目标化合物进行定量分析。结果表明，ASB 能够确认芳香胺是否存在；所以无需对所有的 22 个芳香胺进行定量分析。

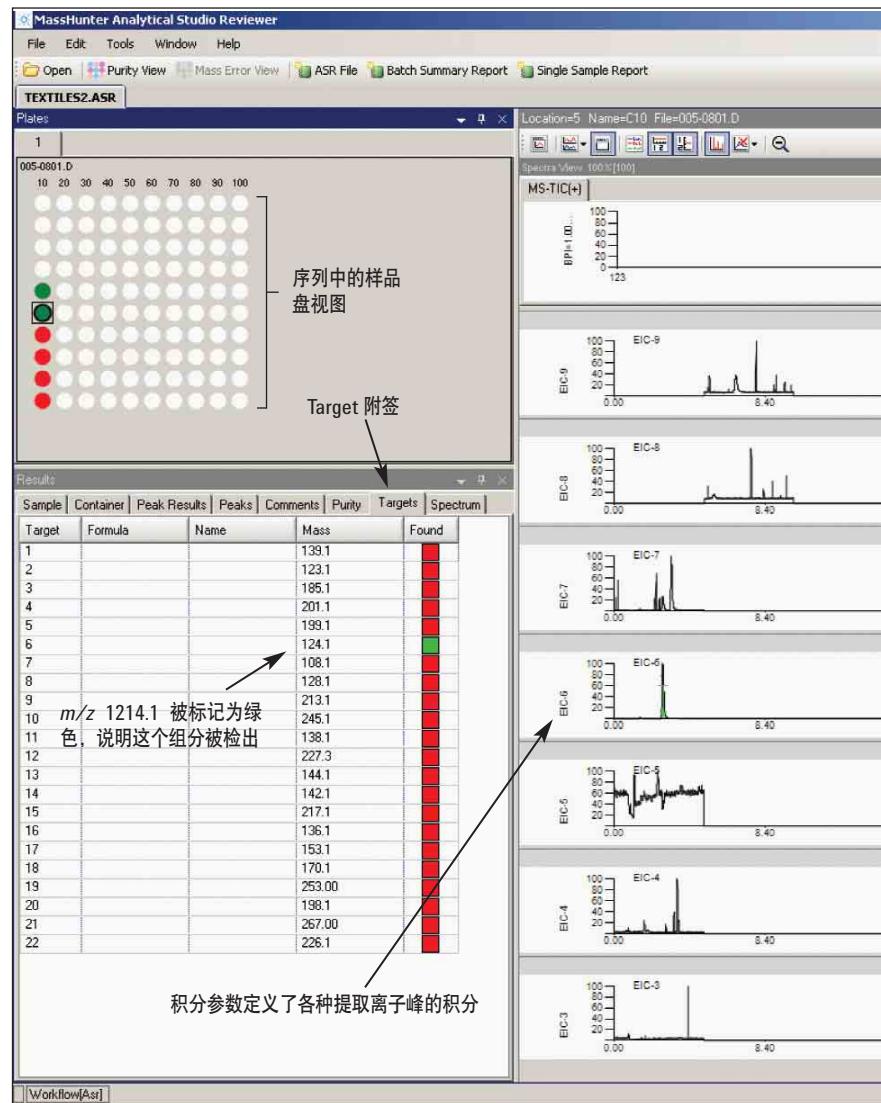


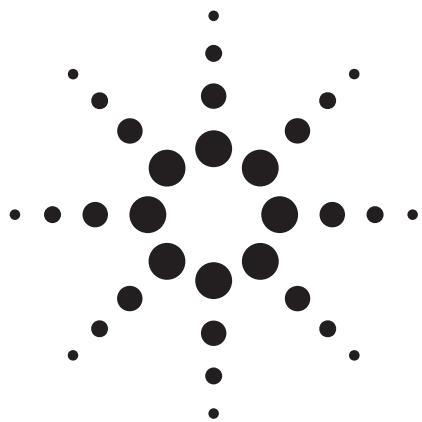
图 2. 分析数据浏览软件的截屏显示了用酸性红 4 染色的纺织品分析结果 (对照 1, 样品位置 20)。ASB 目标列表发现目标组分, m/z 124.1

结论

安捷伦 6140 单四极杆液质联用仪和分析数据浏览软件 (ASB) 提供了一种快速筛查分析纺织品是否符合法规要求的多功能工具。超标样品的快速识别降低了分析时间。分析数据浏览软件 (ASB) 提供了超标样品的可视化识别结果。

参考文献

1. L. H. Ahlstrom, J. Raab, L. Mathiasson, "Application of standard addition methodology for the determination of banned dyes in different leather types," *Analytica Chimica Acta*, 552: 76-80, 2005.
2. L. H. Ahlstrom, E. Bjorklund, L. Mathiasson, "Optimization of an analytical procedure for the determination of banned azo dyes in leather," *Anal Bioanal Chem*, 382: 1320-1327, 2005.



液相色谱-三重串联四极杆质谱用于全氟化合物的检测

应用简报

环境

作者

冉小蓉，张政祥
安捷伦科技（中国）有限公司，北京

摘要

采用 Agilent 6410 LC/MS/MS 液相色谱-三重串联四极杆质谱建立了水中及土壤中十种全氟羧酸及磺酸类化合物 PFHxA、PFBS、PFHpA、PFOA、PFHxS、PFNA、PFDA、PFOS、PFDoA、PFTA 残留量测定的高效液相色谱-串联质谱方法。十种化合物的线性均大于 0.997，检测灵敏度可达 10 pg/mL。

实验方法

液相色谱条件：Agilent 1200 液相色谱；色谱柱：Agilent Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 3.5 μm；流动相：A-10 mM 醋酸铵水溶液，B-乙腈；梯度洗脱：0~9 min, 40~90% B；9~11 min, 90% B；stoptime: 10 min；post time: 8 min；流速：0.25 mL/min；进样体积：20 μL；柱温：40 °C。

质谱条件：Agilent 6410 三重四极杆质谱；离子源：电喷雾离子源，负离子模式 (ESI-)；雾化气 (N2): 38 psi；干燥气 (N2): 流速 9 L/min；干燥气温度：350 °C；毛细管电压：4000V；质谱扫描方式：多反应离子监测 (MRM)；各化合物优化的保留时间，MRM 离子对，碎裂电压，碰撞能量，见表 1；

表1. 十种全氟辛酸及其同系物的 MRM 参数

Time Segment	化合物	保留时间	母离子	子离子	驻留时间	碎裂电压	碰撞能量
1	PFHxA	1.6	313	269	75	70	3
				119	75	70	15
	PFBS	1.9	299	99	75	120	30
				80	75	120	40
	PFHpA	2.2	363	319	75	80	5
				169	75	80	10
2	PFOA	3.4	413	369	75	90	5
				169	75	90	15
	PFHxS	4.3	399	99	75	130	50
				80	75	130	50
	PFNA	5.4	463	419	75	80	5
				219	75	80	10
3	PFDA	6.8	513	469	100	100	5
				269	100	100	15
	PFOS	7.4	499	99	100	120	55
				80	100	120	60
4	PFDoA	8.7	613	569	100	125	5
				369	100	125	10
	PFTA	10.3	713	669	100	125	8
				469	100	125	10

试验结果

液相色谱分离结果

在本实验条件下，十种化合物实现了较好的液相分离，图1为浓度 1 ppb 十种化合物混标的总离子流 (TIC) 图：

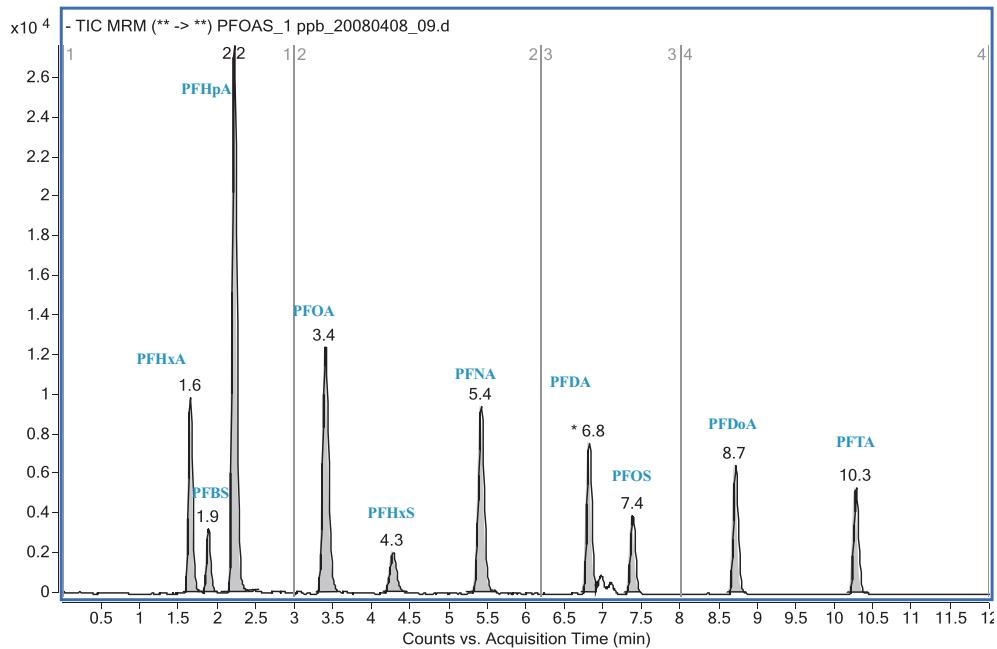


图1. 十种全氟辛酸及其同系物的 TIC (浓度: 1 ppb)

检出限

在本实验条件下, 十种全氟辛酸及其同系物的检出限可到 0.01 ppb, 表2 为各化合物在 0.01 ppb 时的信噪比 (S/N) :

表2. 十种全氟辛酸及其同系物 0.01 ppb 浓度水平的信噪比

No.	化合物	母离子	子离子	S/N
1	PFBS	299	80	33
2	PFDA	513	469	23
3	PFHxA	313	269	40
4	PFHxS	399	80	29
5	PFHpA	363	319	15
6	PFOS	499	80	28
7	PFNA	463	419	25
8	PFTA	713	669	4
9	PFDA	613	569	4
10	PFOA	413	369	29

校正曲线

在 0.1、0.5、1、2、5、10 ppb 六个浓度水平作校正曲线, $R^2 \geq 0.995$; 各化合物的线性回归结果见表3:

表3. 十种全氟辛酸及其同系物的校正曲线

化合物	母离子	子离子	校正曲线	R^2
PFBS	299	80	$Y=18171.60X-1315.9$	0.9993
PFHxA	313	269	$Y=736.92X+147.7$	0.9971
PFHxS	399	80	$Y=19121.97X-1566.2$	0.9988
PFHpA	363	319	$Y=31876.87X+1406.6$	0.9987
PFOS	499	80	$Y=11826.00X-976.1$	0.9985
PFNA	463	419	$Y=44529.45X-2619.9$	0.9983
PFOA	413	369	$Y=45672.76X-1484.3$	0.9981
PFTA	713	669	$Y=120633.14X-65722.9$	0.9940
PFDoA	613	569	$Y=21715.89X-3518.5$	0.9953
PFDA	513	469	$Y=44936.09X-4694.6$	0.9977

回收率

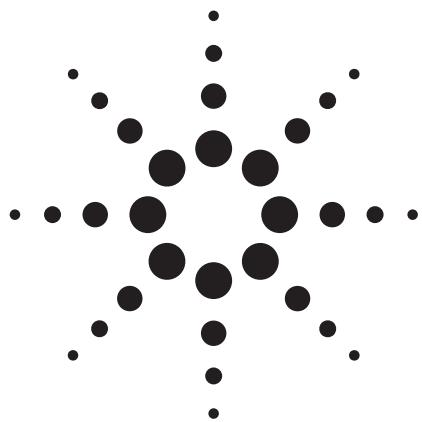
优化了水及土壤中样品的前处理方法，其中土壤中的回收率试验采用添加 6 ppb 浓度计算。土壤中 10 种十种全氟辛酸及其同系物的加标回收率在 53.2~105.6% 之间，RSD 在 4.3~15.0% 之间，具体结果见表 4。

表 4. 土壤中全氟辛酸及其同系物的回收率和 RSD (n=3, 加标水平 6 ppb)

No.	化合物	回收率 (%)	RSD (%)
1	PFBS	98.6	4.3
2	PFDoA	74.6	8.6
3	PFHxA	105.6	5.5
4	PFHxS	88.6	10.4
5	PFHpA	101.4	6.9
6	PFOS	64.4	9.0
7	PFNA	75.0	10.1
8	PFTA*	53.2	15.0
9	PFDA	100.9	7.2
10	PFOA	100.6	5.6

结论

本文应用 Agilent 6410 LC/MS/MS 开发了环境水及土壤中 PFCs 化合物的痕量分析方法，该方法的稳定性、重现性、灵敏度完全满足实际样品的测定，可用于当前环境水及土壤分析研究热点 PFCs 化合物的痕量测定。



Agilent 1260 UHPLC/6460 QQQ MS 测定 水中丙烯酰胺的含量

应用简报

环境

作者

薄涛
安捷伦科技（中国）有限公司，北京

摘要

三重串联四极杆质谱 (QQQ MS) 能够通过多反应监测模式 (MRM) 实现对目标化合物的高选择性、高灵敏度、高重现性的定量分析，是复杂基质目标化合物检测的有力分析手段。本文采用 Agilent 1260 UHPLC/6460 QQQ 开发了对水中的丙烯酰胺的检测方法。

实验方法

液相条件：Agilent 1260 UHPLC；色谱柱为 Agilent SB-Aq C18 (2.1×100; 3.5 μ m；柱温 30 °C)；流速为 0.3 mL/min；流动相：A-0.1% FA 水溶液；B-乙腈 (A:B=95:5)；进样量 20 μ L。质谱条件：AJS+ESI (+)；MRM 参数：72>55；Fragmentor 100V；CE 10V。

水样信息：编号 S100527D010、S1005270101 和 S1005270102。

实验结果

灵敏度

采用上述建立的方法，测定了丙烯酰胺在 0.1 ppb 浓度水平的响应， $S/N=38.8$ ，表明该方法具有很好的检测灵敏度。

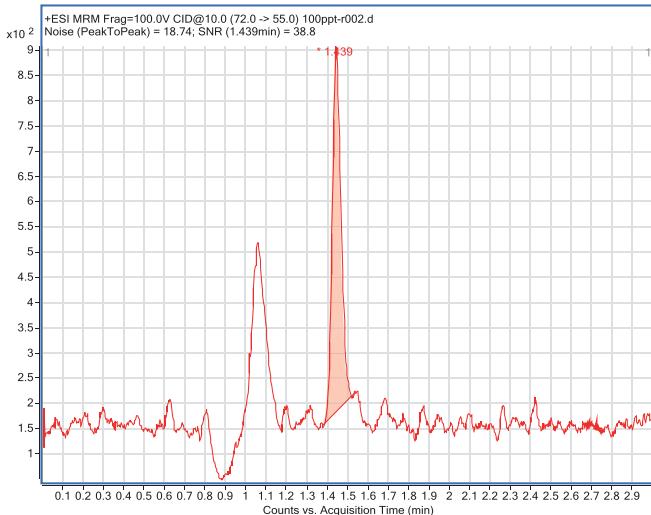


图 1. 丙烯酰胺 0.1 ppb 的 MRM 提取色谱图

重复性

连续进样 5 针，分别考察了 0.1 ppb 及 0.5 ppb 下响应的重现性，0.1 ppb 浓度水平峰面积的 $RSD=3.1\%$ ；0.5 ppb 浓度水平峰面积的 $RSD=2.6\%$ 。

校正曲线 (0.1 ppb-10 ppb)

采用 0.1、0.5、1 及 10 ppb 四个浓度水平建立校正曲线（见图 2），线性相关性 $R^2=0.998$ 。

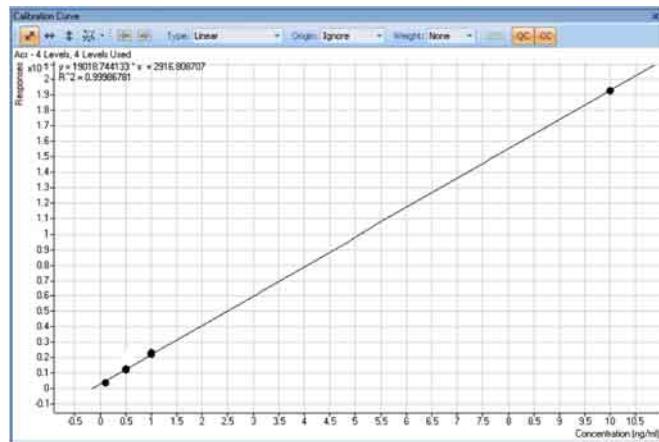


图 2. 丙烯酰胺 0.1、0.5、1 及 10 ppb 的校正曲线

样品定量结果

采用上述的校正曲线对 3 个实际水样中的丙烯酰胺进行了定量分析，S100527D010 样品中的含量为 0.02 ppb，其余两个样品 S1005270101 和 S1005270102 均未检测到目标化合物。

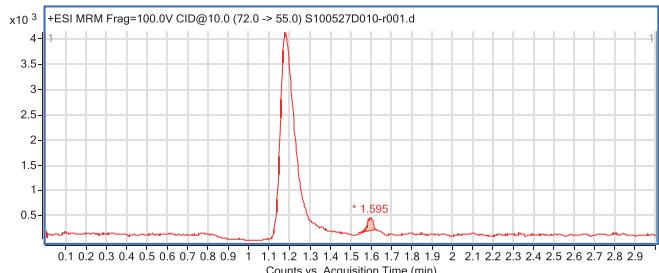
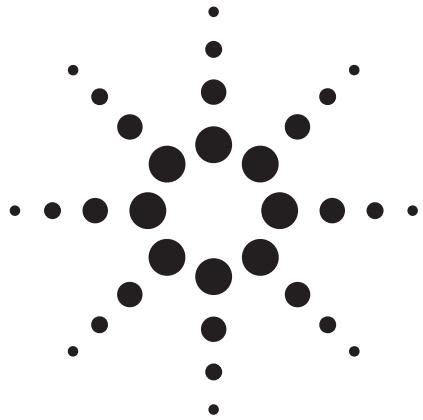


图 3. 水样 S100527D010 检测结果

结论

对于丙烯酰胺的检测，采用 Agilent 1200 RRLC/6460 QQQ MS 可达 0.01 ppb 的检测限，完全满足日常样品的分析；

26460 QQQ 采用安捷伦专利的喷射流离子聚焦技术 (AJS)，有效消除基质效应，更有利于复杂基质中微量成分的检测。



Agilent 1260 UHPLC/6460 QQQ MS 用于 大田软海绵酸 (OA) 和鳍藻毒素-1 (DTX-1) 的检测

应用简报

环境

作者

王颖
安捷伦科技（中国）有限公司，上海

摘要

三重串联四极杆质谱 (QQQ MS) 能够通过多反应监测模式 (MRM) 实现对目标化合物的高选择性、高灵敏度、高重现性的定量分析，是复杂基质目标化合物定量分析的有力分析手段。

实验方法

运用 Agilent 1200 RRLC/6460 QQQ 对大田软海绵酸 (OA) 和鳍藻毒素-1 (DTX-1) 进行了定量分析。液相条件：Agilent 1260 UHPLC；色谱柱为 Agilent Zorbax Extend C18 (2.1×100；1.8 μm；柱温 45 °C)；流速为 0.25 mL/min；流动相：A-0.1% FA 水溶液，B-乙腈，A:B=30:70。质谱条件：AJS+ ESI (-)；dMRM 参数如下：

表1. OA 及 DTX-1 的 dMRM 参数

Compound	Precursor ion	Product ion	Fragmentor	Collision energy	Retention Time (min)	Delta retention Time (min)
OA	803.5	563.4	185	45	1.9	2
OA	803.5	255	185	52		
DTX-1	817.5	255	185	54	3.2	2
DTX-1	817.5	113	185	72		

实验结果

灵敏度

在 0.1 ppb 浓度水平进样 10 μ L, OA 的 S/N=14; DTX-1 的 S/N=3.6。

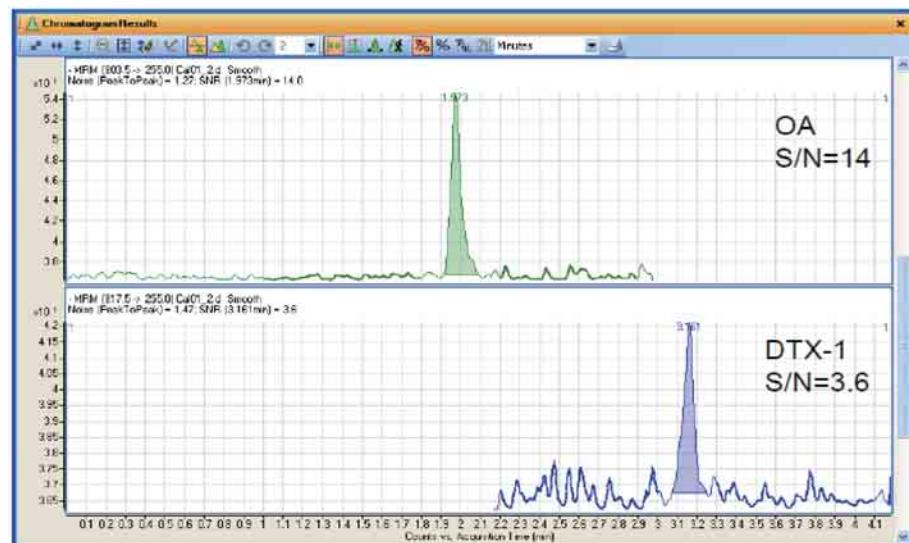


图1. 0.1 ppb OA 及 DTX-1 的 MRM 提取色谱图

校正曲线

在 0.1 ppb ~ 100 ppb 分别建立 OA 及 DTX-1 的校正曲线，OA 的线性相关系数 $R^2=0.9983$ ；DTX-1 的线性相关系数 $R^2=0.9998$ 。

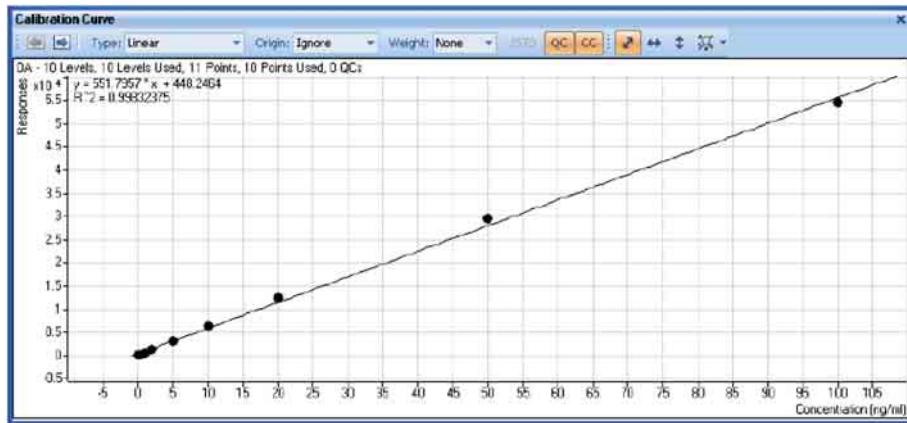


图 2. OA 的校正曲线 (0.1 ppb ~ 100 ppb)

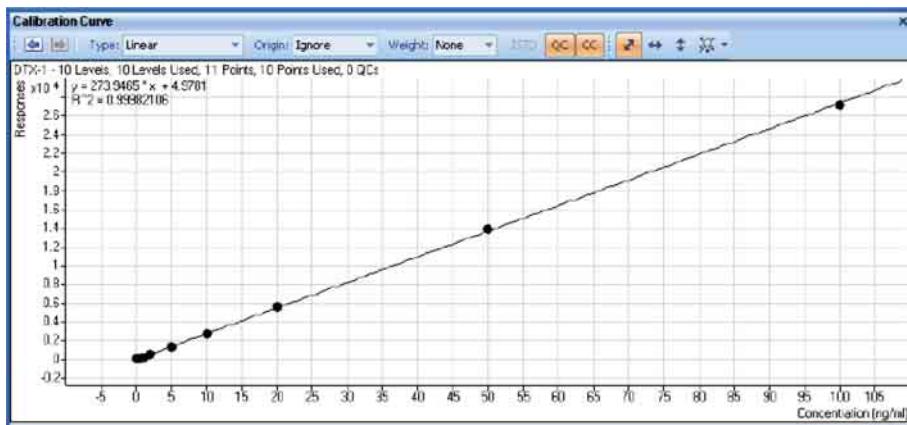


图 3. DTX-1 的校正曲线 (0.1 ppb ~ 100 ppb)

样品定量结果

采用上述的校正曲线对样品中的 OA 及 DTX-1 进行了定量分析，结果如下：1# 样品中测得 OA 含量为 34.04 ppb；DTX-1 的含量为 35.63 ppb。

同理，对 2# 和 3# 样品也进行了定量分析。2# 样品结果：OA 浓度为 6.6 ppb，DTX-1 为 7.5 ppb；3# 样品中两个化合物均未检出。

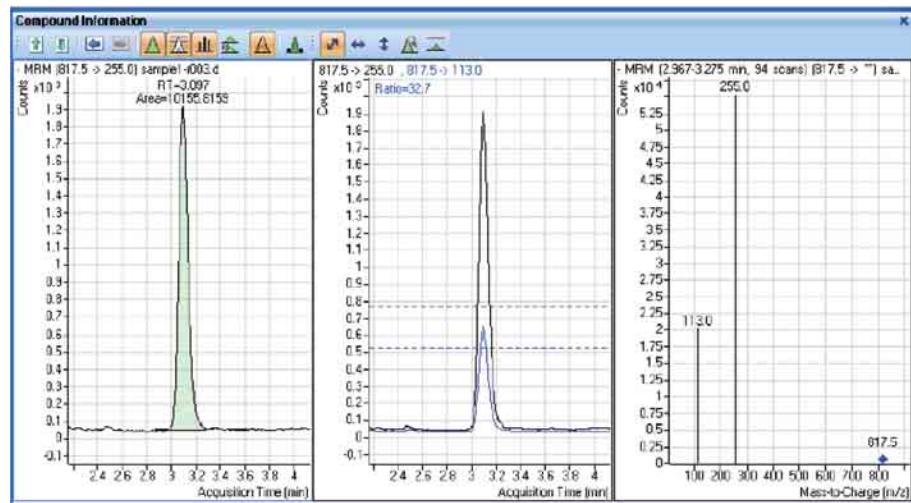


图 3. 1# 样品检测的 OA 结果

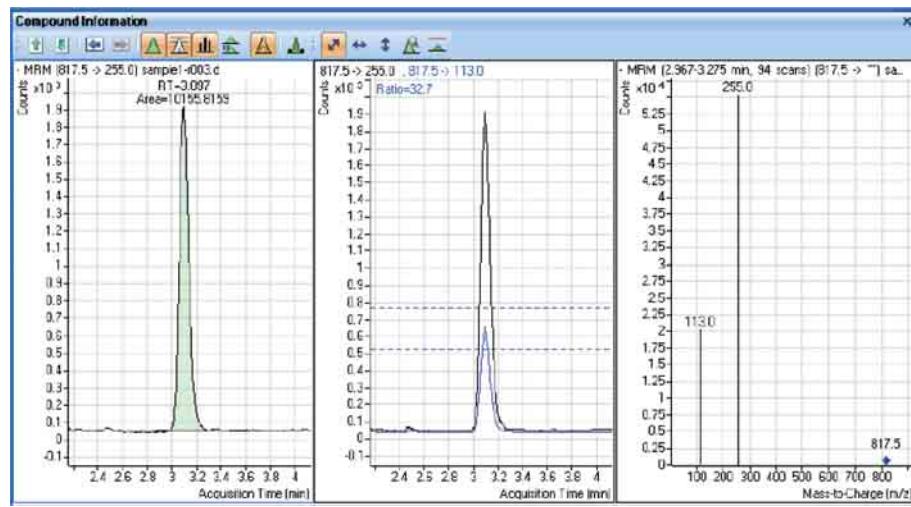


图 3. 1# 样品检测的 DTX-1 结果

样品重现性考察结果

取 1# 样品连续进样 8 针，对重现性进行考察，OA 的 RSD 为

1.3%；DTX-1 的 RSD 为 1.9%。

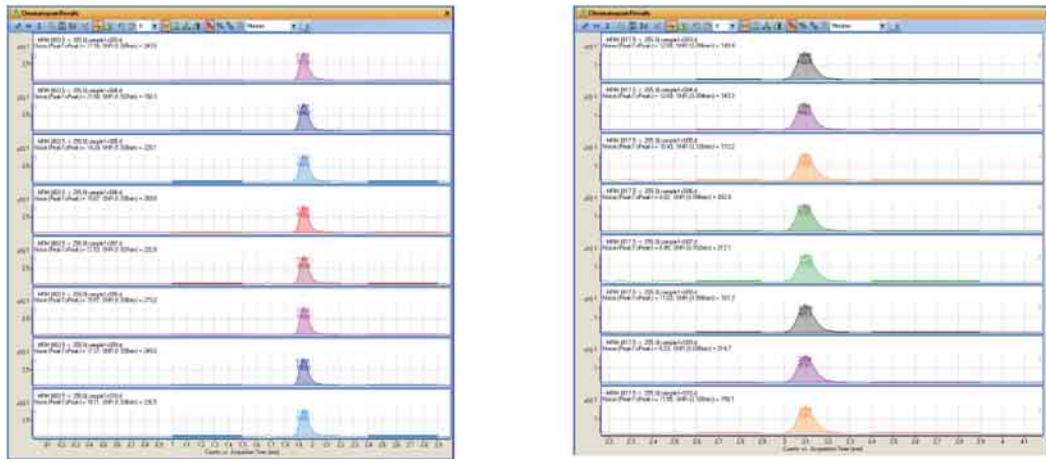


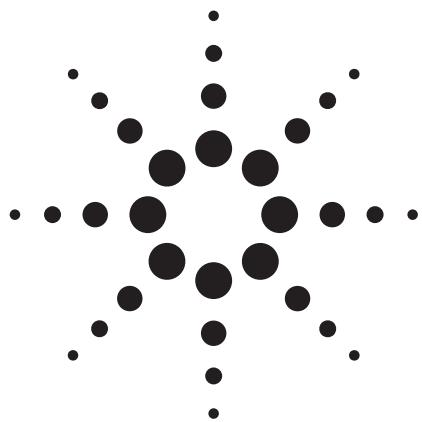
图 4. 1# 样品 OA 及 DTX-1 重现性考察结果

结论

对于 OA 和 DTX-1 的检测，采用 RRLC/6460 QQQ MS 可达 0.1 ppb 的检测限，完全满足日常样品的分析；

Dynamic MRM 的应用，避免检测时间的“浪费”，每个化合物仅在出峰过程中即可获得足够的检测数据点，保证了良好的检测灵敏度和重现性；

采用安捷伦专利的离子聚焦喷射流技术 (AJS)，有效消除基质效应，更有利于复杂基质中微量成分的检测。



生活饮用水中消毒副产物卤乙酸的 UHPLC-MS/MS 分析

应用简报

环境

作者

李建中，陈伟，薄涛，
王祝伟，张之旭
安捷伦科技（中国）有限公司，北京

摘要

采用 Agilent UHPLC1290-6460 QQQ 建立了自来水中消毒副产物 9 种卤乙酸的高效快速分析方法。本方法采用 Zobax Plus Eclipse C8 和甲醇 - 水流动相体系在 4 min 实现一氯乙酸 (MCAA)、二氯乙酸 (DCAA)、三氯乙酸 (TCAA)、一溴乙酸 (MBAA)、二溴乙酸 (DBAA)、三溴乙酸 (TBAA)、一氯一溴乙酸 (BCAA)、一氯二溴乙酸 (CDBAA) 和一溴二氯乙酸 (BDCAA)；在 $1\text{-}100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内，9 种卤乙酸的相关系数 (R^2) 均大于 0.99； $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下，连续进样 6 针，RSD 在 1.98%-4.04% 范围内。其中二氯乙酸和三氯乙酸在 $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下，信噪比 (S/N) 分别为：315 和 50。本方法完全满足生活饮用水卫生标准要求，可以作为消毒副产物卤乙酸类物质的监测方法。

关键词

饮用水在消毒过程中，水中的天然有机物和消毒剂反应会形成消毒副产物 (Disinfection by Products, DBPs)，消毒副产物涵盖的范围很广，主要有 4 类即三卤甲烷 (THMs)，卤乙酸 (HAAs)，卤乙腈 (HANs) 和致诱变化合物 (MX)。Trussell 和 Umphres 研究认为游离氯与醛、酮发生反应可以形成二氯乙酸、三氯乙酸等。研究表明卤乙酸在氯化消毒副产物 (DBPs) 中的含量高达到 14%。卤乙酸作为饮用水氯化消毒中一类主要的消毒副产物，可引起 DNA 损伤，导致遗传毒性，成为饮用水监测中被广泛关注的消毒副产物，我国现行的《生活饮用水卫生标准》(GB5749-2006) 规定：二氯乙酸和三氯乙酸分别不得超过 $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ；WHO 推荐的限值分别为 $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ；美国 EPA 则规定一氯乙酸、二氯乙酸、三氯乙酸、一溴乙酸、二溴乙酸的总和不超过 $60 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

气相色谱测定 HAA，常用前处理方法有液液萃取，固相萃取，固相微萃取。目前卤乙酸的分析主要采用气相色谱，液相色谱和离子色谱。卤乙酸是难挥发性物质，美国环保局方法 552.1, 552.2 和 6251B 等需要使用叠氮甲烷或酸化甲醇衍生化后才能在气相色谱上进行检测。

本文研究了采用 Agilent UHPLC-MS/MS 技术直接分析生活饮用水中 9 种常见卤乙酸的快速高效灵敏的检测分析方法。

实验部分

仪器

Agilent Infinity 1290 UHPLC 超高效液相色谱系统，配置有二元泵系统、自动进样器、柱温箱、Agilent Zorbax Plus Eclipse C8 色谱柱 (2.1 x 50 mm, 1.8 μ m)；Agilent 6460 三重四极杆质谱；Agilent MassHunter 质谱数据软件。

试剂与材料

一氯乙酸 (MCAA)、二氯乙酸 (DCAA)、三氯乙酸 (TCAA)、一溴乙酸 (MBAA)、二溴乙酸 (DBAA)、三溴乙酸 (TBAA)、一氯一溴乙酸 (BCAA)、一氯二溴乙酸 (CDBAA) 和一溴二氯乙酸 (BDCAA) 标准品来自济南自来水监测中心，用水配制成所需浓度的标准品混合溶液。以水稀释分别配制成 1、5、10、50、100 μ g · L⁻¹ 的标准溶液系列。

甲酸铵 (NH₄COOH, 99% DIKMA)，甲醇 (色谱纯，DIKMA)，超纯水 (UPW, 18 M Ω) 取自 Milli-Q 纯水机 (Millipore, Bedford, MA)。

表 1. 卤乙酸动态多反应通道监测质谱参数

化合物	Precursor Ion	MS1 Res	Product Ion	MS2 Res	碎裂电压	CE	Cell Accelerator Voltage	Ret Time /min	Delta Ret Time
一氯乙酸 (MCAA)	93	Unit	35	Unit	40	6	3	0.74	1.6
一溴乙酸 (MBAA)	136.9	Unit	79	Unit	50	8	3	0.88	1.6
二氯乙酸 (DCAA)	126.9	Unit	83	Unit	50	6	3	0.73	1.6
一氯一溴乙酸 (BCAA)	172.9	Unit	129	Unit	60	6	3	0.8	1.6
二溴乙酸 (DBAA)	216.8	Unit	173	Unit	50	4	3	0.9	1.6
三氯乙酸 (TCAA)	160.9	Unit	116.9	Unit	50	2	3	1.45	1.6
一溴二氯乙酸 (BDCAA)	206.8	Unit	79	Unit	50	8	3	1.87	1.6
一氯二溴乙酸 (CDBAA)	250.8	Unit	112.8	Unit	50	4	3	0.88	1.6
三溴乙酸 (TBAA)	296.7	Unit	171	Unit	50	3	3	1.44	1.6

液相色谱条件

流动相 A 为含有 5 mmol · L⁻¹ 乙酸铵和 0.05% 甲酸的水溶液；流动相 B 为甲醇；流动相梯度条件 (B%/min): 5/0、5/1、70/2、5/2.1；进样量 10 μ L，柱温 40 °C，流速 0.4 mL · min⁻¹。

质谱条件与参数

离子源参数：干燥气温度 300 °C，干燥气气流量 6 L · min⁻¹，雾化器压力 40 psi，鞘流气温度 350 °C，鞘流气气流量 11 L · min⁻¹，毛细管电压 -1500 V；动态多反应通道监测 (DMRM) 参数如下：

结果与讨论

卤乙酸的仪器参数优化

图 1 为 50 μ g · mL⁻¹ 浓度混合标准溶液的 DMRM 图谱。Agilent 软件可以提供动态多反应监测模式 (DMRM) 实现 9 种卤乙酸的监测，即指定了化合物的保留时间 (RT) 和允许采集的时间窗口宽度 (ΔT)，可以自动分配每个离子对的驻留时间 (Dwell Time)，保证每对离子对驻留时间充分，并且实现色谱峰采样数据点达到定量要求。

由于卤乙酸类化合物的极性酸性强，在反相色谱柱保留弱，所以采用 C8 色谱柱降低非极性属性，增加色谱保留行为；采用甲醇作为有机相也可以增加保留；另外水相中添加低浓度的甲酸可以抑制卤乙酸的解离，同样可以改善保留和分离。

考虑到卤乙酸化合物的结构特点易在高温和高电场下发生源内裂解、脱羧(COO^-)等反应，所以源温度优化采用300 °C即减少热裂解又兼顾气化干燥雾化；毛细管电压在-1000 V—-4000 V范

围内经优化发现-1500 V下灵敏度最佳；分别通过选择离子监测和子离子扫描模式优化9种卤乙酸的碎裂电压(Fragment)和碰撞能量(CE)实现最佳的灵敏度和稳定性。

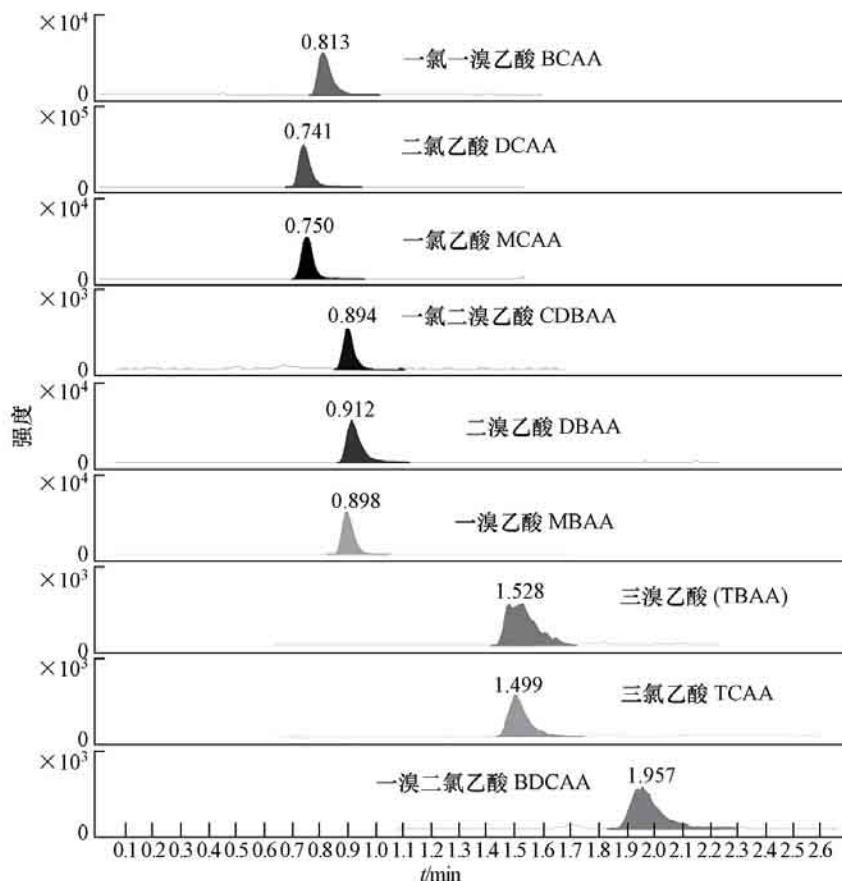


图1. 卤乙酸混合标准溶液的MRM图谱

方法学考察

实验考察了检测灵敏度，在 $1 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下，一氯一溴乙酸、二氯乙酸、一氯乙酸、一氯二溴乙酸、二溴乙酸、一溴乙酸、三溴乙酸、三氯乙酸、一溴二氯乙酸的信噪比分别为16.5、47.8、36.1、11.8、46.4、64.9、35.6、12.6、37.1。

在 $1\text{--}100 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度范围内，9种卤乙酸的线性方程见下图2；所有相关系数均大于0.99。

采用 $50 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度的卤乙酸混合标准品连续进样6针，一氯一溴乙酸、二氯乙酸、一氯乙酸、一氯二溴乙酸、二溴乙酸、一溴乙酸、三溴乙酸、三氯乙酸、一溴二氯乙酸峰面积RSD(%)分别为：3.54、1.98、3.49、2.23、3.91、2.10、4.04、3.98、3.60。

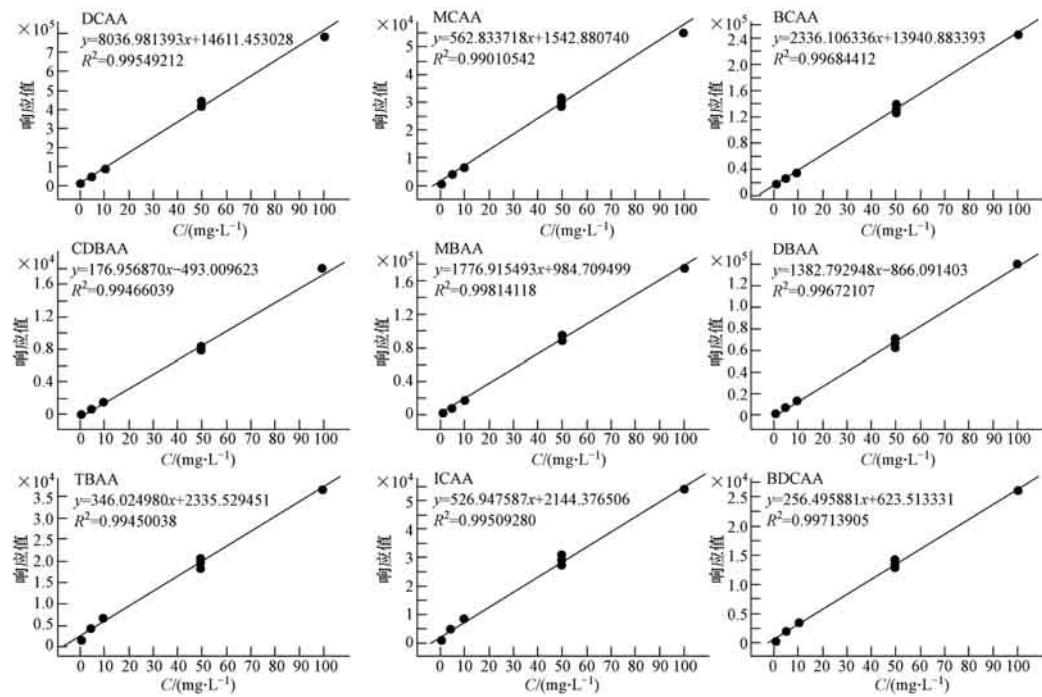


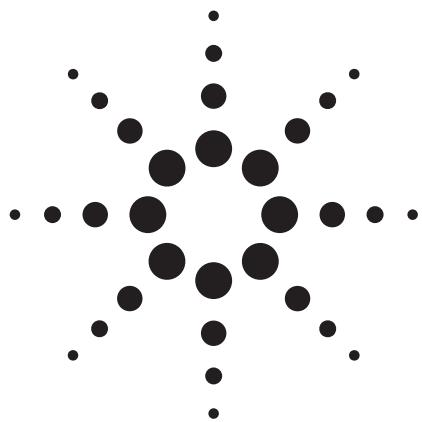
图2.9 9种卤乙酸的线性方程

结论

本文建立了9种卤乙酸的LCMS快速分析方法，该方法2 min内完成一次测试，方法灵敏度均可达到生活饮用水监测要求，具有较宽的线性测试范围和良好的稳定性，完全满足实际监测需求。

参考文献

- Chen C, Chang S, Wang G. Determination of ten haloacetic acids in drinking water using high-performance and ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatographic Science, 2009, 47(1): 67-74
- Meng L P, Wu S M, Ma F J, et al. Trace determination of nine haloacetic acids in drinking water by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217 (29): 4873-4876



Agilent 1260 UHPLC/6460 QQQ 用于微囊藻毒素的检测

应用简报

环境

作者

李建中，宋越，陈伟，
薄涛，张之旭
安捷伦科技（中国）有限公司，北京

实验方法

运用 Agilent 1200 RRLC/6460 QQQ 建立了水中三种微囊藻毒素 LR, YR, RR 的检测方法。液相条件：Agilent 1260 UHPLC；色谱柱为 Agilent Eclipse Plus C18 (2.1×50 mm, 1.8 μ m)，柱温 40°C；流速为 0.5 mL/min；流动相：A-0.1% FA 水溶液: B-乙腈（梯度洗脱）。质谱条件：Agilent 6460 QQQ；ESI (+)，毛细管电压 5000V，MRM 检测，化合物优化参数如下：

表 1. 微囊藻毒素 LR, YR 及 RR 的 MRM 参数

化合物名称	前导离子	子离子	Fragmentor	碰撞能量 CE
YR	1045.5	135.0	220	75
LR	995.5	135.0	210	80
RR	520.0	135.0	150	32

样品信息

2、20、200 ng/mL 微囊藻毒素 (LR, YR, RR) 混合标准品；空白水质样品；添加样品 1 (平行 10 个样品)；添加样品 2 (平行 10 个样品)。

实验结果

灵敏度

在本实验条件下，三种微囊藻毒素 LR, YR, RR 获得了好的检测灵敏度。在 0.2 ppb 下，各化合物的灵敏度测试结果如下：
MCYST-YR: S/N=21.7; MCYST-LR: S/N=65.8; MCYST-RR:
S/N=103.1。

标准曲线

采用 2、20 及 200 ng/mL 三个浓度水平的混合标准品检测并绘制标准曲线，结果见图 2。线性相关系数 R² 均大于 0.998。

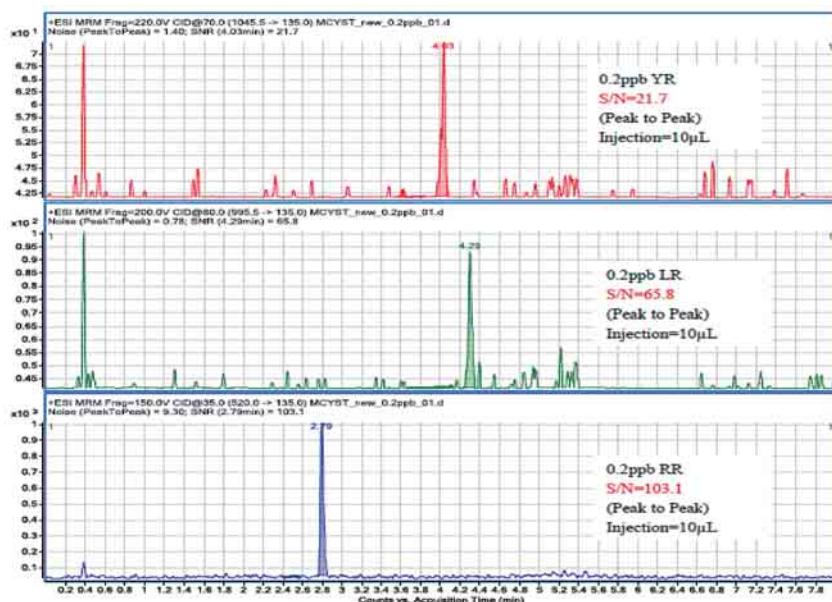


图 1. 0.2 ng/mL MCYST 混合标准品灵敏度谱图

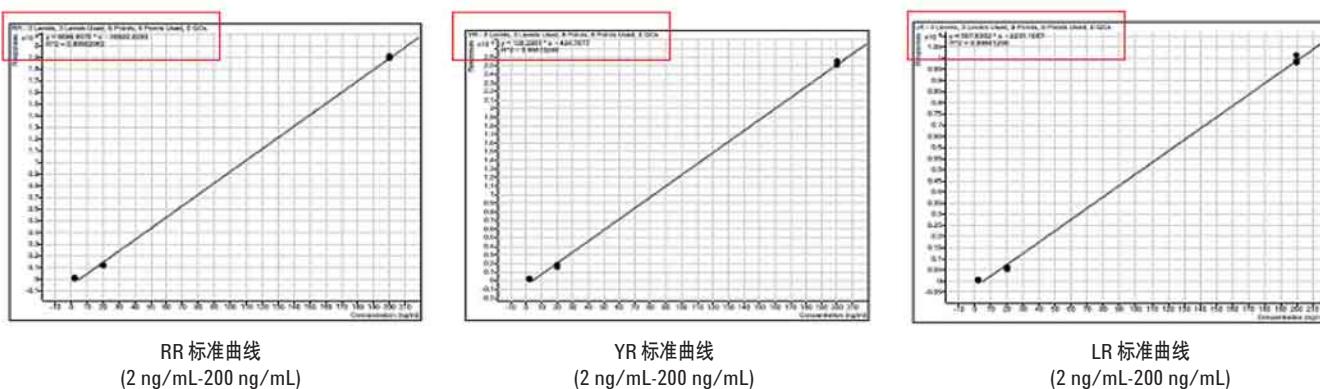


图 2. 微囊藻毒素 (LR, YR, RR) 的标准曲线

样品测试结果

图 3 为空白样品分析结果，从图中可以看出，三种样品在系统中无残留，保证了后续实际样品定量结果的准确性。

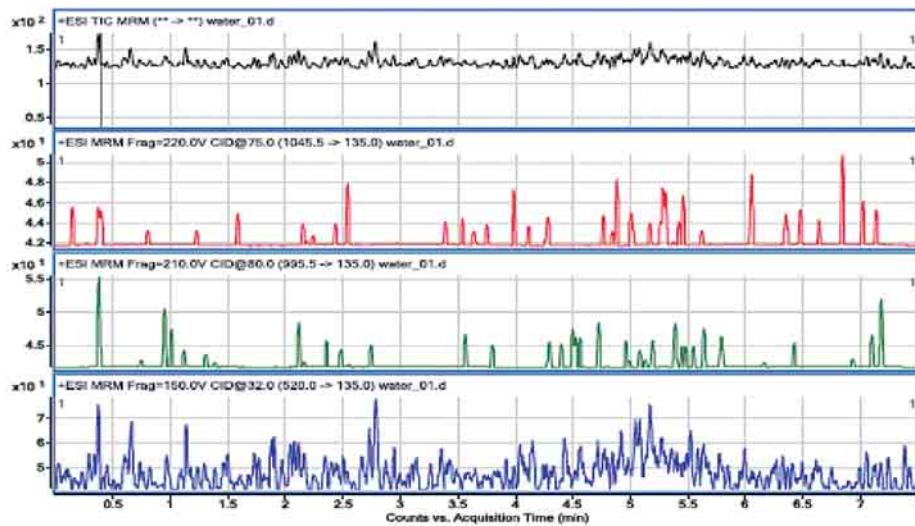


图 3. 溶剂空白 TIC 和 MRM 谱图

10 个平行的添加样品 1 及添加样品 2 的测试结果见表 2 及表 3

表 2. 添加样品 1 的测试结果

	RR		YR		LR	
	面积	浓度	面积	浓度	面积	浓度
样品 1_01	3349	1.78	131.58	1.74	213.94	1.84
样品 1_02	3162	1.76	121.13	1.69	222.12	1.80
样品 1_03	3496	1.79	135.20	1.80	188.73	1.71
样品 1_04	3704	1.82	113.13	1.59	189.71	1.71
样品 1_05	3364	1.78	134.25	1.83	224.30	1.78
样品 1_06	3636	1.81	140.58	1.91	182.08	1.65
样品 1_07	3634	1.81	124.65	1.65	193.85	1.64
样品 1_08	3353	1.78	136.07	1.88	201.56	1.74
样品 1_09	3588	1.80	122.85	1.72	207.77	1.75
样品 1_10	3475	1.79	119.84	1.60	197.63	1.73
Average	3476	1.79	127.52	1.74	202.17	1.73
SD	169		8.82		14.48	
RSD (%)	4.87		6.91		7.16	

表 3. 添加样品 2 的测试结果

	RR		YR		LR	
	面积	浓度	面积	浓度	面积	浓度
样品 2_01	27968	4.41	460.35	4.70	1611	4.63
样品 2_02	5315	1.99	165.49	2.05	1125	3.63
样品 2_03	28575	4.48	512.60	5.10	1670	4.75
样品 2_04	26177	4.22	461.15	4.88	1416	4.23
样品 2_05	27233	4.34	508.37	5.03	1573	4.56
样品 2_06	28264	4.45	507.50	4.86	1646	4.70
样品 2_07	29569	4.59	479.70	4.97	1705	4.83
样品 2_08	26226	4.23	491.21	4.72	1400	4.20
样品 2_09	26542	4.26	511.38	4.89	1577	4.56
样品 2_10	28815	4.51	451.97	4.40	1526	4.46
Average	27708	4.39	487.14	4.84	1569.35	4.55
SD	1222		24.50		106.21	
RSD (%)	4.41		5.03		6.77	

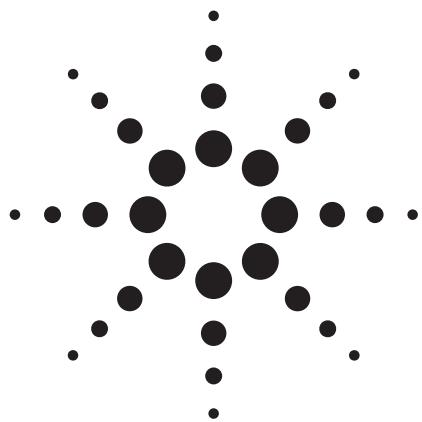
结论

通过 Agilent UHPLC-6460 QQQ 系统分析客户提供的微囊藻毒素样品可以得到以下结论：

- 1) 在 2 ng/mL-200 ng/mL 范围内，RR, YR, LR 均具有良好的线性，R₂ 分别为 0.9990, 0.9987, 0.9984；2) 在 0.2 ng/mL 浓度下，RR 的信噪比为 103.1；YR 的信噪比为 21.7；LR 的信噪比为 65.8；
- 3) 10 个平行样品 1 进样测定，RR 经标准曲线校正的平均浓度为 1.79，面积 RSD 为 4.87%；YR 经标准曲线校正的平均浓度为 1.74，面积 RSD 为 6.91%；LR 经标准曲线校正的平均浓度为 1.73，面积 RSD 为 7.16%；
- 4) 10 个平行样品 2 进样测定，RR 经标准曲线校正的平均浓度为 4.39，面积 RSD 为 4.41%；YR 经标准曲线校正的平均浓度为 4.84，面积 RSD 为 5.03%；LR 经标准曲线校正的平均浓度为 4.55，面积 RSD 为 6.77%；（其中样品 2 中 2 号样品可能由于样品降解导致结果偏低，属于离群值，不参与平均值和 RSD 的计算）
- 5) 溶剂空白未检出三项微囊藻毒素；客户提供水样空白有微量的 RR 被发现，强度相当于 0.04 ng/mL 浓度水平。

采用 Agilent RRLC-6460 系统实现了微囊藻毒素 RR, YR, LR 的分离和测定，方法具有优异的灵敏度，精密度及线性范围。

飞行时间质谱与四极杆-飞行时间串联质谱技术的应用



应用氯元素质量过滤器对环境样品的精确质量数据进行分析

应用简报 (5990-9431CHCN)

环境

作者

Imma Ferrer 与 E. Michael Thurman
Center for Environmental Mass
Spectrometry
科罗拉多大学
博尔德，科罗拉多
美国

摘要

氯元素质量过滤器用于筛查 LC/TOF-MS 和 LC/QTOF-MS 数据文件，从而发现含氯的化合物。氯元素质量过滤器使用 Mass Hunter 软件生成含氯化合物的分子式。本文例举了对药物污染的环境水样（来自废水排放污染的南普拉特河）的分析。氯元素质量过滤器是一个实用的数据分析工具，可应用于环境化学领域中复杂样品的分析。

引言

LC/TOF-MS 和 LC/QTOF-MS 产生的数据文件包含着数千个离子的信息，采用人工技术难以处理。因此使用软件使数据分析变得快速而高效是非常重要的。在本应用报告中，我们介绍了这样的一个数据分析工具——氯元素质量过滤器。许多农药和药物产品中含有氯，它们是重要的环境分析对象。由于氯元素含有 Cl35 和 Cl37 两种同位素，因此含单个氯原子的分子可以产生特征性的 A+2 模式的同位素峰。此外，由于 Cl37 存在同位素质量亏损，从而使分子中氯元素的鉴定变得相对容易 [1]。含一个以上氯原子的分子可以产生 A+2 和 A+4 模式的同位素峰，这一现象特征性强，一般在任何质谱书中都可查阅到，对于含氯化合物的鉴定非常关键 [2]。

在本应用报告中，我们设定 MassHunter 软件参数，使其自动实现从废水污染的地表水水样数据文件中生成含氯化合物的分子式。此外，自动输出的报告包含一个针对法医或农药数据库的搜索结果，方便化合物的鉴定。

此时，用户只需要审核数据报告以达到质量控制和质量保证的目的。氯元素质量过滤器可处理任何环境样品的 .d 格式数据文件，如农药残留的食品或药物污染的水样。

实验条件

任意一款 Agilent 6200 或 6500 系列精确质量质谱仪，均可用于获取该分析所需的数据文件，我们使用 6220 质谱仪获取分析地表水中药物的数据文件，地表水样品来自被丹佛市区居民生活废水污染的南普拉特河。数据文件为 .d 格式，可直接导入 MassHunter 软件包的定性分析软件进行分析。所有 6200 或 6500 系列精确质量质谱仪均可采用该定性分析软件进行数据分析。

结果与讨论

应用氯元素质量过滤器

氯元素质量过滤器的使用分八步，第一步首先要打开定性分析软件包及目标 .d 文件。

步骤 1. 点击绿色图标，在定性分析软件包中打开目标 .d 文件。点击 **<Find Compounds Menu>** (见图 1)，打开 **<Find by Molecular Feature>** 选项。点击图 1 中蓝色箭头所指图标可激活该程序。打开化合物过滤选项，设置响应相对高度为 1.5%、绝对高度为 10000。对于较低丰度化合物的测定，相对高度也可不设定。当然，这些设置可能需要根据具体仪器和数据的噪音水平进行调整。这三项设置可以对复杂样品信息进行过滤，并可充分利用软件功能去发现含氯化合物的小色谱峰。

其它需要设置的有离子种类，设置 **+H** 和 **+Na** 两种阳离子类型，负离子设置为 **-H**。提取小分子（色谱峰的）的信息并选用响应大于 1000 的峰高数据。同样，此设置可能需要根据具体仪器背景和样品噪音进行调整。**<Charge State>** 设置为 0.0025 加 7 ppm 的峰间距，同位素峰模型设置为普通的有机分子，电荷状态分配的最大极限设置为 1。**<Mass Filter>** 和 **<Mass Defect>** 均无需设置。**<Results>** 设置为提取 EIC，关注所有化合物，并删除先前的结果。这些设置可实现程序在“Molecular Feature”意图下的完美运行。

步骤 2. 点击如图 1 所示箭头所指的图标运行 “Find by Molecular Feature” 程序。该程序可鉴定 .d 文件里所有的离子并将相关离子进行分组，如同位素离子和钠加合离子。该程序不能将碎片离子合理归属，而认为它们是不同的化合物。

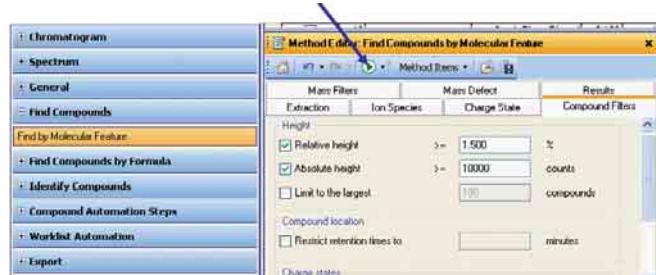


图 1. Find by Molecular Feature 选项设置

步骤3. 打开 **<Identify Compounds>** 选项（图 2），选中 **<Generate Formulas>**。打开如图 2 所示的窗口，我们从此表中指定化合物最多含两个氯原子，最少含一个氯原子（如图 2 箭头所示）。请注意，本例中仅过滤了含 1-2 个氯原子的化合物，但可以选择过滤包含更多氯原子的化合物的参数。图 3 显示了 **<Limits>** 项和 **<Charge State>** 项的设置，此设置可得到良好的分析结果。请复制这些参数。

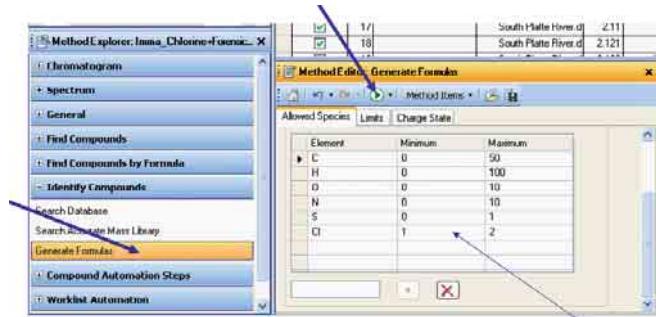


图 2. Identify Compounds 和 Generate Formulas 选项设置

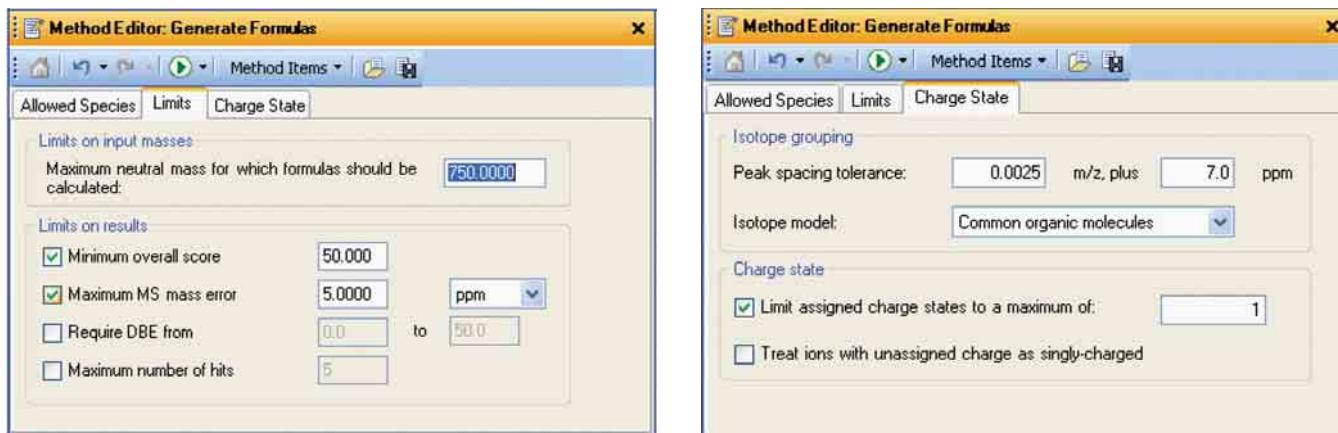


图 3. 其它选项设置

步骤 4. 运行包含氯原子参数的“Generate Formulas”程序。根据步骤 2 中已鉴定出的所有特征生成化合物分子式，并仅能生成包含 1-2 个氯原子的分子式。

步骤 5. 打开 **<Search Database>** 窗口，点击 **<Search Criteria>**。按图 4 所示选择 **<Molecular Formula>** 选项。强制使搜索结果仅显示与生成分子式匹配的化合物（并仅包含 1-2 个氯原子）。下一步选择数据库。这里例举的是法医或农药数据库（图 5）。选项设置如下：阳离子设置为 $+H$ ，阴离子置为 $-H$ ，**Search Results** 项设为空白，**Peak Limits** 设置为 5，**Search Criteria** 设置为质量数和 5 ppm。这些设置将保证顺利完成化合物的鉴定。法医数据库收载了超过 7500 多种化合物，包含药物和农药。含氯化合物归入到标有 MFG Formula 的列或分子式生成器中。

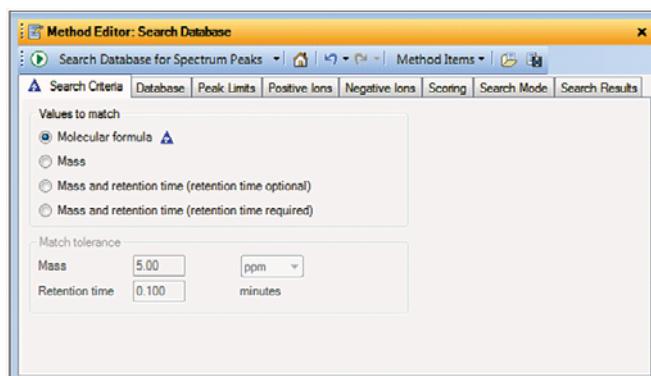


图 4. 根据分子式设置搜索条件

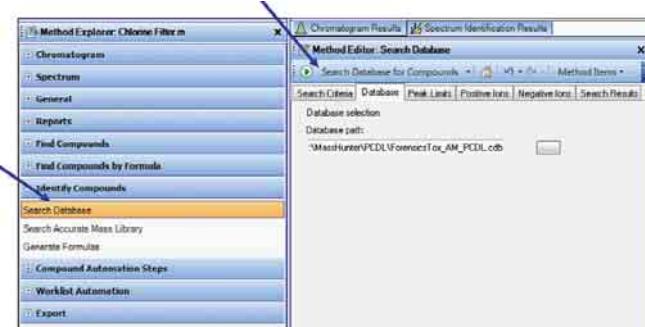


图 5. 使用收载 7500 种化合物的法医数据库的 Search Database 程序

步骤 6. 运行 Search Database 程序。该程序现在开始运行并审验步骤 4 中生成的所有分子式，如果某化合物的分子式在数据库中，则分配给该化合物一个相应的名称。如果某化合物分子式不在数据库中，则最后报告中该化合物的 Name 栏为空白。在这种情况下，所有含氯化合物最合适的分子式会打印在 Molecular Formula Generator 栏中。

步骤 7. 打印报告。报告包括以下栏目：化合物标记、保留时间、中性化合物的质量、名称（如果在数据库中可检索到）、分子式生成器（MFG）元素分子式、MFG 质量精确度差异、数据库分子式（DB）和 DB 质量精确度差异。河水样品的检测报告如图 6 所示。

Qualitative Compound Report								
Data File	South Platte River.d	Sample Name						
Sample Type	Sample	Position	P1-C6					
Instrument Name	Instrument 1	User Name						
Acq Method	Multiresidue_Pesticides.m	Acquired Time	8/10/2009 7:09:22 PM					
IRM Calibration Status	Success	DA Method	Chlorine Filter Automated.m					
Comment								
Compound Table								
Compound Label	RT	Mass	Name	Formula	MFG Formula	MFG Diff (ppm)	DB Formula	DB Diff (ppm)
Cpd 464: Lamotrigine	13.641	255.0077	Lamotrigine	C9 H7 Cl2 N5	C9 H7 Cl2 N5	0.54	C9 H7 Cl2 N5	0.54
Cpd 499: Ketamine	13.858	237.0923	Ketamine	C13 H16 Cl N O	C13 H16 Cl N O	-0.89	C13 H16 Cl N O	-0.89
Cpd 637: C9 H10 Cl N	15.265	167.0502		C9 H10 Cl N	C9 H10 Cl N	-0.39	C9 H10 Cl N	
Cpd 640: C13 H20 Cl N O	15.266	241.1233		C13 H20 Cl N O	C13 H20 Cl N O	0.33	C13 H20 Cl N O	
Cpd 735: C19 H27 Cl N6 O2 S	16.37	438.1611		C19 H27 Cl N6 O2 S	C19 H27 Cl N6 O2 S	-1.36	C19 H27 Cl N6 O2 S	
Cpd 775: C14 H34 Cl2 N10 O2	16.768	444.2245		C14 H34 Cl2 N10 O2	C14 H34 Cl2 N10 O2	-0.5	C14 H34 Cl2 N10 O2	
Cpd 889: C18 H29 Cl N2 O3 S	18.264	388.1583		C18 H29 Cl N2 O3 S	C18 H29 Cl N2 O3 S	1.18	C18 H29 Cl N2 O3 S	
Cpd 1015: Losartan	19.635	422.1629	Losartan	C22 H23 Cl N6 O	C22 H23 Cl N6 O	-1.7	C22 H23 Cl N6 O	-1.7
Cpd 1137: C18 H29 Cl N2 O6 S	21.105	436.1439		C18 H29 Cl N2 O6 S	C18 H29 Cl N2 O6 S	-0.9	C18 H29 Cl N2 O6 S	
Cpd 1159: C28 H41 Cl N4 O2	21.311	500.2929		C28 H41 Cl N4 O2	C28 H41 Cl N4 O2	-2.1	C28 H41 Cl N4 O2	
Cpd 1194: C18 H33 Cl N2 O4	21.64	376.2118		C18 H33 Cl N2 O4	C18 H33 Cl N2 O4	2.91	C18 H33 Cl N2 O4	

图 6. 应用法医数据库搜索首次测定河水中一种抗抑郁药的输出报告 [3]。

步骤 8. QA/QC 人工报告。最后, 分析人员有必要人工审核已检出的含氯化合物。这一步需要人工调出合适保留时间的相应离子信息并核对该离子的同位素峰信息特征。图 7 为一个在受附近废水流入污染的南普拉特河中检出了拉莫三嗪的实例。拉莫三嗪是一种抗抑郁药, 它在样品中被检出, 保留时间为 13.4 min [3]。测定的离子质量为 m/z 256.0150, 并显示出 $A+2$ 和 $A+4$ 同位素峰特征, 质量分别为 m/z 258.0121 和 m/z 260.0092。请特别注意该化合物的 $A+2$ 和 $A+4$ 相关同位素峰出现质量亏损。两峰的相对质量亏损分别是 -0.0029 和 -0.0029。这些值非常接近理论值 -0.0030, 是分子中存在两个氯原子的有力证据 [1]。这一步是氯元素质量过滤器应用的关键一步, 并需人工操作。因为分子式生成器运行仅仅关注离子质量, 它可能产生一些不符合同位素特征的分子式。在该分析南普拉特河样品的实例中, 大约获得 100 个可能的含氯化合物峰, 其中 20 个已根据相对质量亏损和同位素特征确定含氯元素。

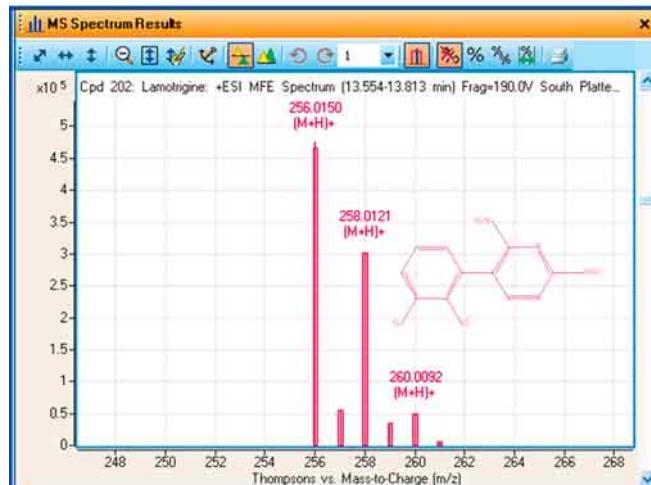


图 7. 拉莫三嗪的质谱图

在这 20 个不同的离子中，有 15 个离子是不同的组分，其余 5 个离子是这些离子的碎片离子，这已经通过保留时间匹配得到确证。例如，图 8 为西替利嗪的结构，通过法医数据库检索，它的保留时间 18.3 min 与两种离子吻合，分别是 m/z 为 389.1626 的质子化分子和 m/z 为 201.0466 的碎片离子。结合质量精确度、数据库匹配和碎片离子识别，证明采用氯元素质量过滤器发现和鉴定废水污染水样中的微量氯化物非常有效。本报告介绍的氯元素质量过滤器同样适用于被农药污染的食品样品或其它类似的环境样品分析。

结论

应用 Agilent 6200 系列或 6500 系列 TOF 或 Q-TOF 精确质量 LC/MS，以及 5.0 版 MassHunter 定性分析软件，通过氯元素质量过滤器可有效筛选出所有包含 1-2 个氯原子的化合物的 MS 数据。这个过程可以修改为筛选任意特定数量的卤族元素或任意其它特定元素，例如氟元素过滤器或铁元素。通过使用 Worklist Automation 选项使程序自动化运行，然后进行人工 QC 鉴定。

参考文献

1. E.M. Thurman, I. Ferrer, 2010, The isotopic mass defect: A tool for limiting molecular formula by accurate mass: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 397: 2807-2816.
2. R.M. Smith, 2004, Understanding Mass Spectra, John Wiley & Sons, Inc., New York, 290p.
3. I. Ferrer, E.M. Thurman, 2010, Identification of a new anti-depressant and its glucuronide metabolite in water samples using liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry: *Analytical Chemistry*, v. 82: 8161-8168.

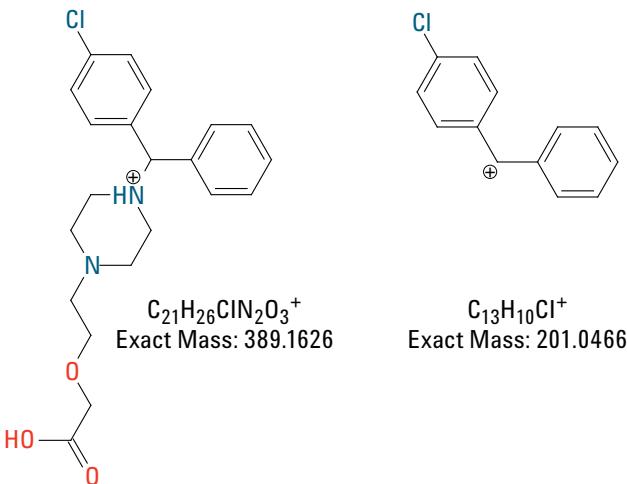
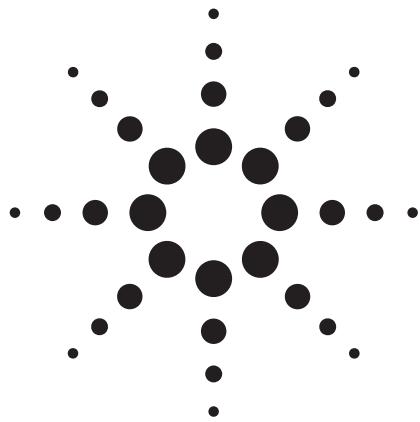


图 8. 同时在保留时间 18.3 min 出现的西替利嗪的两个离子



用于农药多残留筛选的应用工具包—— 应用于飞行时间质谱和四极杆飞行时间质谱 数据分析的农药化合物数据库

应用简报 (5990-4251CHCN)

食品安全与环境

作者

Jerry Zweigenbaum 和 Peter Stone
安捷伦科技有限公司
2850 Centerville Road Wilmington,
DE 19808
美国

摘要

使用包含近 1600 个条目的数据库在安捷伦飞行时间 (TOF) 质谱和四极杆飞行时间 (Q-TOF) 质谱上建立了一套农药筛选的应用工具包。该方法快速简便，适用于检测和鉴定大量农药的食品和环境样品分析。该系统允许用户建立包括分析目标化合物保留时间的定制数据库。采用该数据库进行筛选可实现目标及非目标农药的检测。本文采用可用于正离子和负离子两种模式下的测试混合物进行该工具功能的论证。例举了一个农药筛选的常规方法，以及一个采用安捷伦 SampliQ 提取和分散固相萃取试剂盒处理的菠菜样品的完整食品分析过程。

前言

在上世纪已有超过 1000 种农药被广泛使用，并且还有新的农药被不断得研发出来，所以实现食品和环境中目标和非目标农药的筛选是当前最为迫切的需要。安捷伦飞行时间 (TOF) 质谱可以提供高质量的分辨率和准确度，实现某离子化合物测定质量与其精确质量的比较。另外，一台串联混合四极杆飞行时间 (Q-TOF) 质谱仪器即可同时实现化合物的筛选和确认 [1]。液相色谱 (LC) 联用飞行时间质谱与四极杆飞行时间质谱可以在国际社会要求的浓度水平上实现这类耐用和灵敏的筛选方法。由于飞行时间质谱是脉冲型仪器，所以其数据结果是全质量范围谱，可以实现要寻找的（目标）和那些可能未料到的（非目标）化合物的筛选 [2]。对比采用三重四极杆的液相色谱-串联质谱最灵敏的检测模式，多反应监测 (MRM) 仅能够对目标化合物进行筛选和确认。[3]

最近，安捷伦推出了农药化合物数据库 (PCD)，包含 1600 种化合物和农药。通过使用农药化合物数据库，分析人员可以使用农药数据库进行非目标化合物的筛选，或者从供应的只读型数据库创建定制数据库。定制数据库可以通过改变条目、添加和删除条目进行编辑。另外，数据库具有可以更新保留时间的强大功能，允许用户的定制数据库随用户的色谱条件修改相应保留时间。[4] 分析人员就可以基于液相色谱保留时间根据需要来创建定制数据库。这就简化了目标（特定条件下使用标准品验证的化合物）和非目标（未经验证的数据库中的化合物）化合物的分析。检测和鉴定食品和环境样品中非目标化合物的能力非常重要。当然，不能将这种能力与确证混淆，认为某化合物没有检测到就不存在。只能通过验证研究来证实，对于特殊基质采用特殊的液相质谱方法能够检测到在关注浓度水平下报告的不存在的化合物。例如，农药数据库中就包括不适宜采用液相质谱分析的化合物，如六氯苯。这些会被列入用户的附加信息。此外，农药的阳性确证总是需要在相同色谱条件下运行分析标准品，以提供指示性的保留时间，以及通过串联质谱分析产生的碎片提供附加结构信息。通过这些分析手段，还能够将飞行时间质谱或四极杆飞行时间质谱与安捷伦农药化合物数据库联用，实现大量农药的筛选，这对于不应存在的化合物的检测和鉴定是非常有价值的。

实验部分

试剂与化学品

农药标准品有多个来源：Sigma 公司、Ultra-Scientific 公司、ChemService 公司和 Dr. Ehrenstorfer 公司。对于痕量分析，推荐使用最高纯度的流动相。本文中使用 B&J 液相质谱级乙腈和甲醇。缓冲液应采用最高质量的化学品制备，如 GFS 双蒸的乙酸、甲酸和氢氧化铵。如果要使用固体乙酸铵和甲酸铵，应将它们制备成一定浓度的溶液，并用 0.2 μm 过滤器滤去所有微粒。安捷伦农药测试混合物，部件号 5190-0469，按照说明分别将其中的酸性和碱性化合物用 10% 乙腈/90% 水稀释至 10 ppb。安捷伦 SampliQ QuEChERS AOAC 提取试剂盒，部件号 5982-5755。用于高色素含量水果和蔬菜分析的安捷伦 SampliQ QuEChERS AOAC 分散固相萃取试剂盒，部件号 5982-5321 (2 mL) 和 5982-5356 (15 mL)。

液相质谱方法列于附录中：

附录 I，测试混合物正/负离子样品分析的液相色谱-串联质谱条件。

附录 II，Agilent 1200 Series SL 液相色谱参数。

附录 III，Agilent 1290 Infinity 液相色谱参数。

菠菜样品的制备

- 称取 15 g (± 0.1 g) 匀质的菠菜样品
- 必要时需加入标准品或内标溶液
- 涡旋 30 s
- 加入 15 mL 1% 乙酸乙腈溶液
- 加入 1 包提取缓冲试剂（部件号 5982-5982-5755）到 QuEChERS 提取管中，根据 AOAC 方法 2007.01 加入 6 g MgSO_4 , 1.5 g 乙酸钠
- 加盖并且手动强力振摇 1 min
- 以 4000 rpm 的速度离心 5 min

- 将 1 mL 或 8 mL 上清液移入用于高色素含量水果和蔬菜分析的分散固相萃取试剂盒（部件号 5982-5321 或部件号 5982-5356）
- 涡旋 1 min
- 2 mL 试管以 13000 rpm 的速度离心 2 min，或者 15 mL 试管以 4000 rpm 的速度离心 5 min
- 将 200 μ L 上清液移入自动进样瓶中
- 加入 800 μ L 水或者适量的加标溶液
- 涡旋 1 min，用于液相色谱-串联质谱分析

结果与讨论

采用安捷伦测试混合物快速简便地开始

为方便农药筛选的快速启动，安捷伦应用试剂盒中包括了一个含有正/负离子化合物的测试混合物。这种筛选需要获得精确质量数据，并且需要能够使用合适的参考离子进行飞行时间质谱或四极杆飞行时间质谱操作，这样才可以获得最佳的分析结果。每种

测试混合物制备的用于最终进样的溶液浓度是 10 ppb，这是全世界公认的农药限量。正离子混合物中每种农药的提取离子色谱图 (EIC) 见图 1。使用应用试剂盒的方法可以方便用户重复该分析。该方法只能进行数据采集。相似的结果证明了系统在正常运行。还有两种方法为工作表提供自动数据分析，这将会生成一份农药化合物数据库搜索的总结报告。一种方法是 MFE_pesticide，它使用 MassHunter 定性分析软件中的“通过分子特征提取 (MFE) 找到化合物”算法，是一款强大的数据挖掘工具。这种独特的数据挖掘程序为所有与真正色谱峰相关的离子搜索数据，它可以代表一个分子的“特征”。数据文件中不包括参考离子和连续的背景离子，以及不是样品中真正化合物的“加标物”。MFE 会在数据文件中针对所有峰生成一个经确证并代表一系列真正分子的化合物列表。该算法运行快速，并且如果设置恰当就可以得到良好的结果。正离子测试混合物的分析结果报告见表 1。这个混合物中仅包括报告中突出显示的化合物。请注意数据库搜索筛选不能确证化合物的存在，结果中列出的化合物并不表明它们一定存在。列出的化合物可能来自空白、交叉污染，或者其它来源。

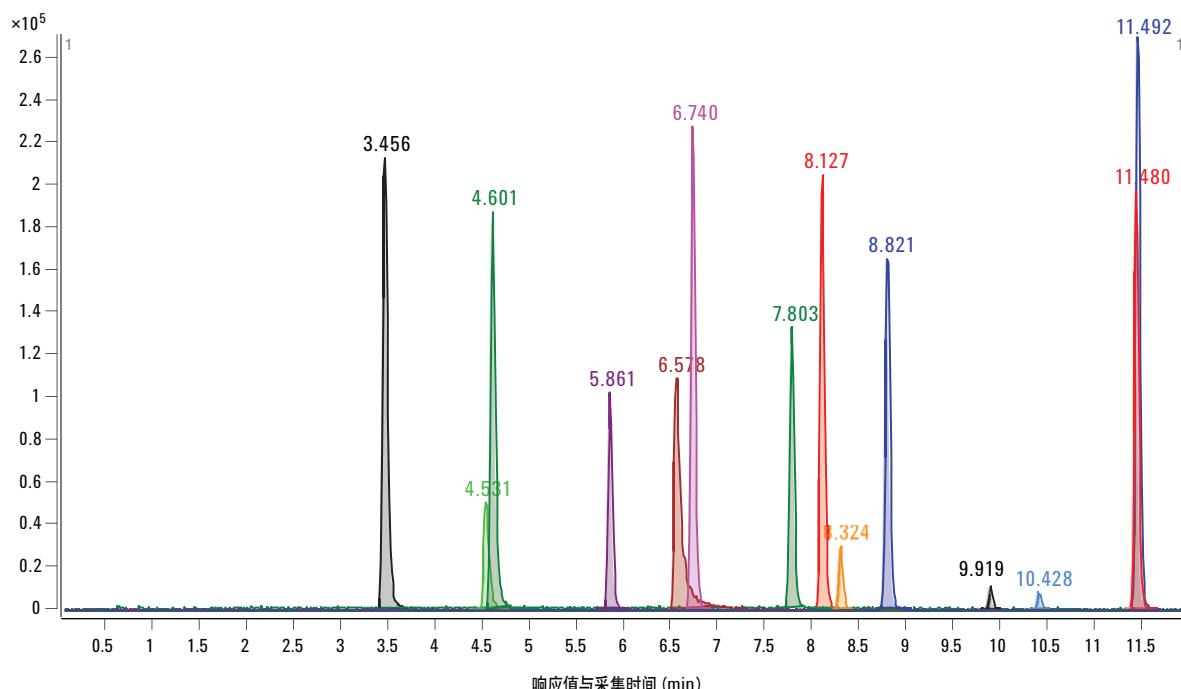


图 1. 正离子测试混合物的提取离子色谱图

表 1. 针对正离子测试混合物，通过附有农药数据库检索报告的分子特征提取找到的化合物

数据文件	TestMix_pos_1.d	样品名称	Test_Mix_pos_1
样品类型	Sample	位置	P1-F2
仪器名称	CAS6530_1	用户名	
采集方法	Test_Mix_Pos.m	采集时间	6/1/2009 3:28:51 PM
IRM 校准状态	Success	DA 方法	MFE_Pesticide.m
注释			

化合物表

化合物标签	RT	质量	名称	DB 分子式	DB 差异 (ppm)
Cpd 19: 灭害威	3.472	208.1213	灭害威	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ O ₂	-0.44
Cpd 40: 咪唑烟酸	4.543	261.1113	咪唑烟酸	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₃	-0.03
Cpd 41: 噻苯达唑	4.612	201.036	噻苯达唑	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	0.2
Cpd 52: 乙硫苯威亚砜	5.176	241.0777	乙硫苯威亚砜	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃ S	-1.91
Cpd 62: 乐果	5.866	228.9998	乐果	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	-0.75
Cpd 65: 抑霉唑	6.549	296.0488	抑霉唑	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	-1.58
Cpd 66: 抑霉唑	6.579	296.0485	抑霉唑	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	-0.65
Cpd 68: 甲氧隆	6.746	228.0666	甲氧隆	C ₁₀ H ₁₃ CIN ₂ O ₂	-0.09
Cpd 85: 呋喃丹	7.805	221.1054	呋喃丹	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	-1.05
Cpd 88: 莎去津	8.138	215.094	莎去津	C ₈ H ₁₄ CIN ₅	-0.92
Cpd 89: 避蚊胺	8.2	191.1309	避蚊胺	C ₁₂ H ₁₇ NO	0.53
Cpd 90: 硫代苯酸苄	8.323	228.0607	硫代苯酸苄	C ₁₄ H ₁₂ OS	1
Cpd 91: 磺草唑胺	8.33	417.0069	磺草唑胺	C ₁₄ H ₁₃ Cl ₂ N ₅ O ₄ S	-0.98
Cpd 92: 乙羧氟草醚	8.33	419.0033	乙羧氟草醚	C ₁₆ H ₉ ClF ₃ NO ₇	-3.28
Cpd 93: 硫代苯酸苄	8.433	228.0608	硫代苯酸苄	C ₁₄ H ₁₂ OS	0.39
Cpd 97: 硫代苯酸苄	8.527	228.0609	硫代苯酸苄	C ₁₄ H ₁₂ OS	-0.12
Cpd 99: 吡草胺	8.837	277.0983	吡草胺	C ₁₄ H ₁₆ CIN ₃₀	-0.53
Cpd 107: 草达灭	9.927	187.1027	草达灭	C ₉ H ₁₇ NOS	2.02
Cpd 111: 马拉硫磷	10.448	330.036	马拉硫磷	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	0.2
Cpd 113: 苯丙烯酸	10.558	148.0522	苯丙烯酸	C ₉ H ₈ O ₂	1.59
Cpd 121: 磷酸三丁酯	11.177	266.1645	磷酸三丁酯	C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	0.58
Cpd 123: 磷酸三丁酯	11.272	266.1646	磷酸三丁酯	C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	0.32
Cpd 125: 吡唑醚菌酯	11.477	387.0989	吡唑醚菌酯	C ₁₉ H ₁₈ CIN ₃ O ₄	-0.9
Cpd 127: 二嗪农	11.497	304.1012	二嗪农	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	-0.56

数据库检索结果

化合物	命中					
灭害威	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
灭害威	正确	C ₁₁ H ₁₆ N ₂ O ₂	208.1213	208.1212	-0.44	3.472

数据库检索结果

化合物	命中					
咪唑烟酸	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
咪唑烟酸	正确	C ₁₃ H ₁₅ N ₃ O ₃	261.1113	261.1113	-0.03	4.543

数据库检索结果

化合物	命中					
噻苯达唑	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
噻苯达唑	正确	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	201.036	201.0361	0.2	4.612

数据库检索结果

化合物	命中					
乙硫苯威亚砜	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
乙硫苯威亚砜	正确	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	201.036	201.0361	0.2	4.612

数据库检索结果

化合物	命中					
乙硫苯威亚砜	2					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
乙硫苯威亚砜	正确	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃ S	241.0777	241.0773	-1.91	5.176
灭虫威亚砜	错误	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃ S	241.0777	241.0773	-1.91	5.176

数据库检索结果

化合物	命中					
乐果	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
乐果	正确	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	228.9996	228.9996	-0.75	5.866

数据库检索结果

化合物	命中					
抑霉唑	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
抑霉唑	正确	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	296.0488	296.0483	-1.58	6.549

数据库检索结果

化合物	命中					
抑霉唑	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
抑霉唑	正确	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	296.0485	296.0483	-0.65	6.579

数据库检索结果

化合物	命中					
甲氧隆	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
甲氧隆	正确	C ₁₀ H ₁₃ ClN ₂ O ₂	228.0666	228.0666	-0.09	6.746

数据库检索结果

化合物	命中					
呋喃丹	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
呋喃丹	正确	C ₁₂ H ₁₅ NO ₃	221.1054	221.1052	-1.05	7.805

数据库检索结果

化合物	命中					
莠去津	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
莠去津	正确	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	215.094	215.0938	-0.92	8.138

数据库检索结果

化合物	命中					
避蚊胺	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
避蚊胺	正确	C ₁₂ H ₁₇ NO	191.1309	191.131	0.53	8.2

数据库检索结果

化合物	命中					
硫代苯酸苄酯	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
硫代苯酸苄酯	正确	C ₁₄ H ₁₂ OS	228.0607	228.0609	1	8.323

数据库检索结果

化合物	命中					
磺草唑胺	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
磺草唑胺	正确	C ₁₄ H ₁₃ Cl ₂ N ₅ O ₄ S	417.0069	417.0065	-0.98	8.33

数据库检索结果

化合物	命中					
乙羧氟草醚	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
乙羧氟草醚	正确	C ₁₆ H ₉ ClF ₃ NO ₇	419.0033	419.002	-3.28	8.33

数据库检索结果

化合物	命中					
硫代苯酸苄酯	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
硫代苯酸苄酯	正确	C ₁₄ H ₁₂ OS	228.0608	228.0609	0.39	8.433

数据库检索结果

化合物	命中					
硫代苯酸苄酯	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
硫代苯酸苄酯	正确	C ₁₄ H ₁₂ OS	228.0609	228.0609	-0.12	8.527

数据库检索结果

化合物	命中					
吡草胺	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
吡草胺	正确	C ₁₄ H ₁₆ CIN ₃ O	277.0983	277.0982	-0.53	8.837

数据库检索结果

化合物	命中					
草达灭	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
草达灭	正确	C ₉ H ₁₇ NOS	187.1027	187.1031	2.02	9.927

数据库检索结果

化合物	命中					
马拉硫磷	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
马拉硫磷	正确	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	330.036	330.0361	0.2	10.448

数据库检索结果

化合物	命中					
苯丙烯酸	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
苯丙烯酸	正确	C ₉ H ₈ O ₂	148.0522	148.0524	1.59	10.558

数据库检索结果

化合物	命中					
磷酸三丁酯	2					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
磷酸三丁酯	正确	C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	266.1645	266.1647	0.58	11.177
磷酸三异丁酯		C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	266.1645	266.1647	0.58	11.177

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
磷酸三丁酯	2					
化合物	最佳					
磷酸三丁酯	正确	C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	266.1646	266.1647	0.32	11.272
磷酸三异丁酯		C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	266.1646	266.1647	0.32	11.272

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
吡唑醚菌酯	1					
化合物	最佳					
吡唑醚菌酯	正确	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₃ O ₄	387.0989	387.0986	-0.9	11.477

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
二嗪农	1					
化合物	最佳					
二嗪农	正确	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	304.1012	304.1011	-0.56	11.497

第二个方法是 `Find_formula_pesticide`。这个方法使用 MassHunter 定性分析软件中的“Find by Formula”算法。该算法能够在数据库中针对每个分子的离子检索相关数据。对于支持数据库，这需要生成乘以加合物数量（如 1600 的 H⁺ 加合离子，1600 的 Na⁺ 加合离子等）的各项条目的提取离子色谱图。这样做虽然很全面，但处理速度较慢。当然，如果这些检索能通过工作表自动运行，处理时间就可以被接受了。分析人员必须挑选出与分析目标最匹配的程序。注意自动数据库检索可以在工

作表采集期间进行，也可以在其后进行。利用 MassHunter 采集的“工作表运行”参数，我们可以对采集和数据分析进行选择，或者仅在数据采集后进行数据分析。可以通过向 MassHunter 工作表中加入“Override DAMethod”列并插入使用的方法将数据分析方法添加进工作表。（该定性分析方法可以使用采集方法的名称保存，而勿需再添加“Override”列。当然，分别保留数据采集方法和数据分析方法会更加灵活。）所有方法均可以定制，以满足特定分析的需要。

图 2 展示了负离子化合物测试混合物的色谱图。表 2 展示了采用 MFE_pesticide 方法自动生成的负离子混合物的分析结果。使用“搜寻并鉴定”化合物自动选择功能并检索了包含 1600 个化合物的农药数据库，即 pesticides.mtl，生成该报告。工作表自动运行使用了“化合物自动检索和报告”选项。为了获得显示报告，必须选择 MassHunter 定性分析软件的 General Navigation 栏中“Common Reporting Options”上的“CompoundReportwithIdentificationHits.xlsx”模板。这非常重要，因为如表 2 化合物所示，错误的同分异构体硝丙酚也被列出。这是数据库中发现的第一个同分异构体。

选择的报告模板随后可列出各数据库中的命中结果，数据库中的三个同分异构体显示在报告的标题下方。假如使用“Find by Formula”算法分析数据，报告主体里将会包括数据库中所有的相关同分异构体。假如定制数据库中包含与化合物匹配的保留时间，那将只报告匹配的同分异构体（目标分析）。（注意，对于在工作表引导下运行 Find by Formula 的方法，方法的 Worklist Actions 应分别先后列出“Compound Automation without report”与“Generate Compound Report”。）

真正存在的化合物是二硝丁酚，如果这是一个非目标分析，分析人员需要确证其存在。

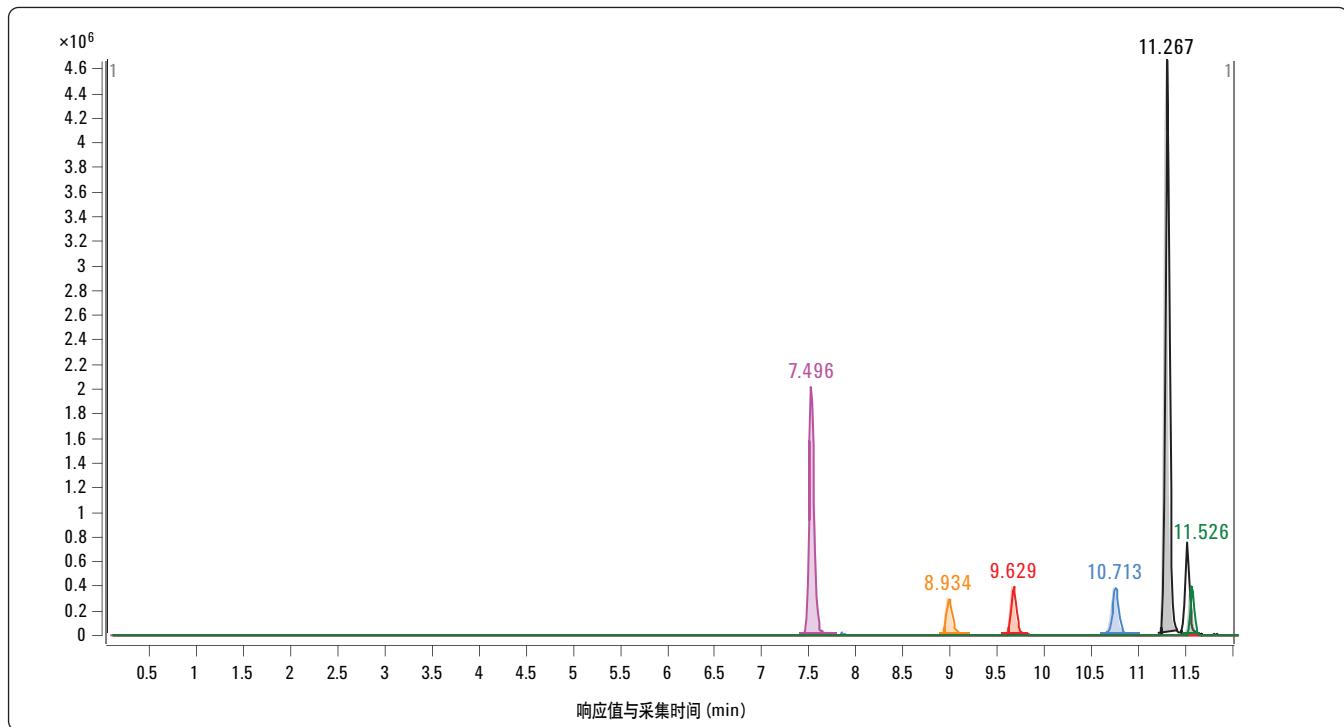


表 2. 针对负离子测试混合物，通过附有农药数据库检索报告的分子特征提取找到的化合物

数据文件	Test_mix_neg_01.d	样品名称	Test Mix Neg 1
样品类型	Sample	位置	P1-F1
仪器名称	CAS6530_1	用户名	
采集方法	Test_mix_neg.m	采集时间	6/1/2009 1:33:54 PM
IRM 校准状态	Success	DA 方法	MFE_Pesticide.m
注释			

化合物表

化合物标签	RT	质量	名称	DB 分子式	DB 差异 (ppm)
Cpd 12: 噻草平	7.491	240.0573	噻草平	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	-1.69
Cpd 15: 丁二酸二丁酯	7.904	230.1517	丁二酸二丁酯	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	0.5
Cpd 24: 2,4-二氯苯氧乙酸甲酯	8.768	233.9847	2,4-二氯苯氧乙酸甲酯	C ₉ H ₈ Cl ₂ O ₃	1.7
Cpd 26: 2,4,5-三氯苯氧乙酸	8.934	253.9306	2,4,5-三氯苯氧乙酸	C ₈ H ₅ Cl ₃ O ₃	-0.72
Cpd 32: 三氯苯氧丙酸	9.623	267.9465	三氯苯氧丙酸	C ₉ H ₇ Cl ₃ O ₃	-1.6
Cpd 37: 水合香茅醛	10.219	172.1465	水合香茅醛	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-1.25
Cpd 39: 水合香茅醛	10.37	172.1464	水合香茅醛	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-0.47
Cpd 41: 三氟羧草醚	10.716	360.9967	三氟羧草醚	C ₁₄ H ₇ ClF ₃ NO ₅	-0.55
Cpd 42: 水合香茅醛	10.736	172.1466	水合香茅醛	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-1.37
Cpd 51: 土木香内酯	11.249	232.1462	土木香内酯	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	0.35
Cpd 52: 硝丙酚 (见下)	11.267	240.075	硝丙酚	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₅	-1.72
Cpd 56: 氟铃脲	11.53	459.982	氟铃脲	C ₁₆ H ₈ Cl ₂ F ₆ N ₂ O ₃	-0.76

数据库检索结果

化合物	命中					
噻草平	1					
化合物	最佳					
噻草平	正确	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
		C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	240.0573	240.0569	-1.69	7.491

数据库检索结果

化合物	命中					
丁二酸二丁酯	1					
化合物	最佳					
丁二酸二丁酯	正确	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
		C ₁₂ H ₂₂ O ₄	230.1517	230.1518	0.5	7.904

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
2,4,5-三氯苯氧乙酸	2					
化合物	最佳					
2,4,5-三氯苯氧乙酸	正确	C ₈ H ₅ Cl ₃ O ₃	253.9306	253.9304	-0.72	8.934
三氯茴香酸		C ₈ H ₅ Cl ₃ O ₃	253.9306	253.9304	-0.72	8.934

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
三氯苯氧丙酸	1					
化合物	最佳					
三氯苯氧丙酸	正确	C ₉ H ₇ Cl ₃ O ₃	267.9465	267.9461	-1.6	9.623

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
水合香茅醛	1					
化合物	最佳					
水合香茅醛	正确	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.1465	172.1463	-1.25	10.219

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
水合香茅醛	1					
化合物	最佳					
水合香茅醛	正确	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.1464	172.1463	-0.47	10.37

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
三氟羧草醚	1					
化合物	最佳					
三氟羧草醚	正确	C ₁₄ H ₇ ClF ₃ NO ₅	360.9967	360.9965	-0.55	10.716

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
水合香茅醛	1					
化合物	最佳					
水合香茅醛	正确	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.1466	172.1463	-1.37	10.736

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
土木香内酯	1					
化合物	最佳					
土木香内酯	正确	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	232.1462	232.1463	0.35	11.249

数据库检索结果

(注意下列均为具有相同分子式的同分异构体，即使是列出标明“错误”的化合物。)

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
硝丙酚	3					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
硝丙酚	正确	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₅	240.075	240.0746	-1.72	11.267
二硝丁酚	错误	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₅	240.075	240.0746	-1.72	11.267
特乐酚		C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₅	240.075	240.0746	-1.72	11.267

数据库检索结果

化合物	命中	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
氟铃脲	1					
化合物	最佳	分子式	质量	目标质量	差异 (ppm)	RT
氟铃脲	正确	C ₁₆ H ₈ Cl ₂ F ₆ N ₂ O ₃	459.982	459.9816	-0.76	11.53

用户添加了保留时间的定制数据库

支持数据库的一个最大优点就是可以为用户保存定制数据库。创建可读写的定制数据库，用户可选择“File”菜单选项和“New Database”。然后软件即允许选择一个已有的数据库并命名为一个新的数据库。也可以添加一个说明。当选择了“Create”时，新命名的数据库就包含了所选择数据库的所有条目。以这种

方式，可以创建多个定制数据库。农药 PCD 的技术说明书[4]可以指导用户如何采用特定的色谱条件运行分析标准品，并顺利地将其保留时间更新到他们的定制数据库中。图 3 和 4 分别展示了正离子和负离子测试混合物的保留时间定制的农药化合物数据库。

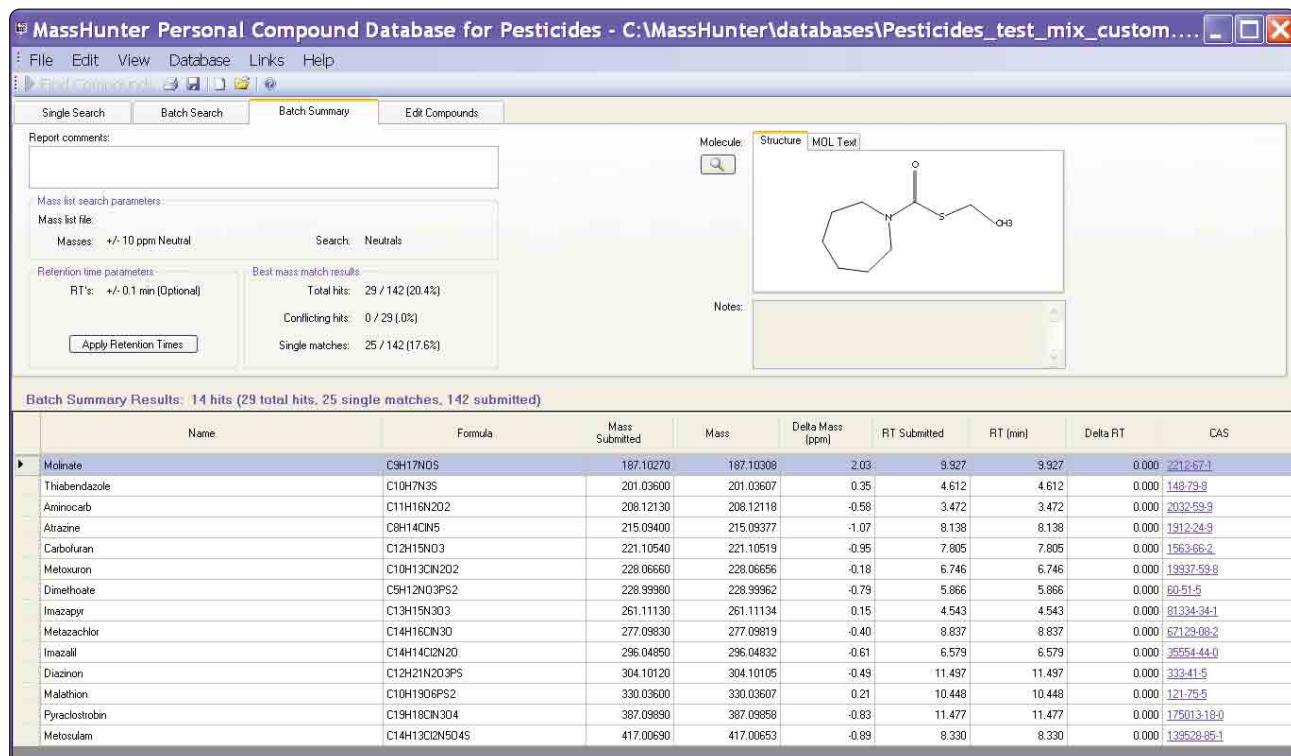


图 3. 采用正离子测试混合物的保留时间定制的农药化合物数据库 (现在是 PCDL 库，未显示)

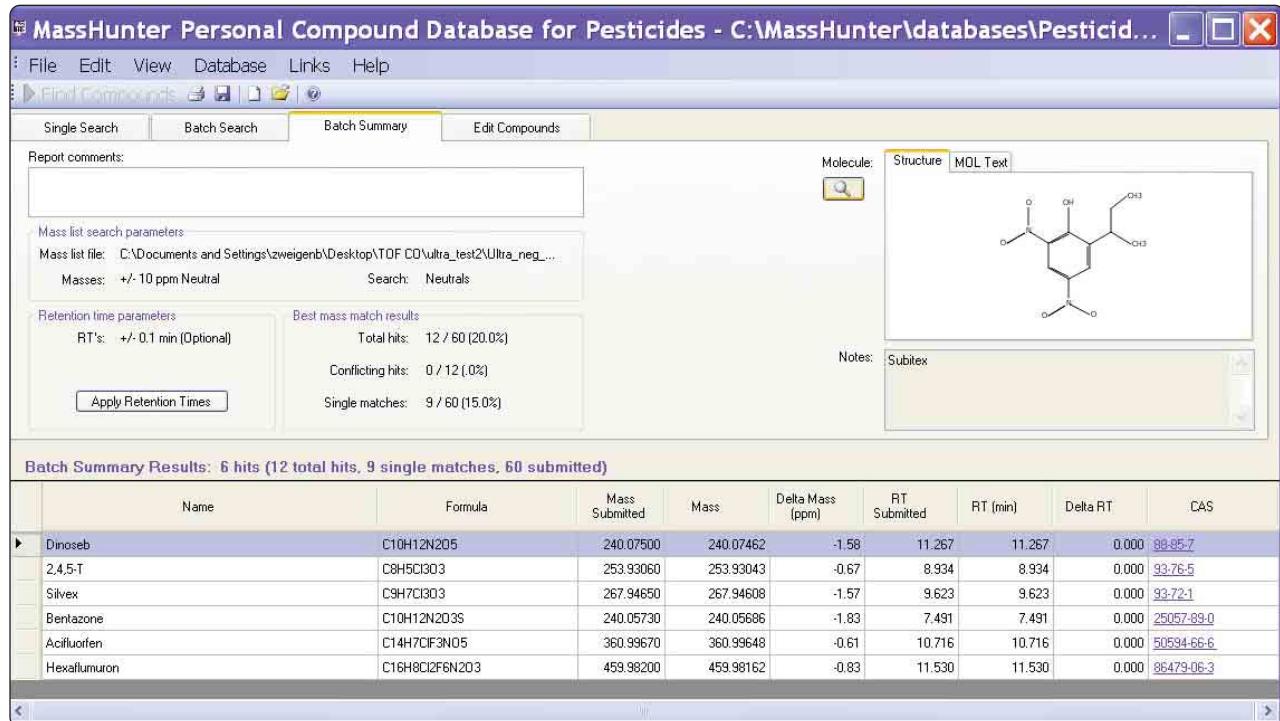


图 4. 采用负离子测试混合物的保留时间定制的农药化合物数据库 (PCDL)

假如对保留时间已知的目标化合物进行分析，就需要将二硝丁酚与其它同分异构体色谱分离。获得测试混合物的结果很容易，并且利用提供的农药数据库和更新的保留时间可以顺利地创建定制数据库。可以创建一个目标分析。针对目标和非目标分析，每一个数据分析方法都可以通过选择检索条件的“质量和保留时间（任选）”进行修改。目标分析只会在选择了“质量和保留时间（必选）”时才会执行。采用 Find_by Formula 方法和带有二硝

丁酚保留时间的定制数据库，负离子测试混合物目标和非目标分析的报告将只会列出这一个化合物。该结果只报告二硝丁酚，因为在定制数据库中只有这个化合物与相应保留时间匹配。即使使用了保留时间，在数据库中鉴定了的化合物还必须进行进一步确认。化合物的筛选和确认均可以使用液相色谱飞行时间串联质谱。

表 3. 针对负离子测试混合物，通过附有农药数据库检索报告的分子式找到的化合物

数据文件	Test_mix_neg_01.d	样品名称	Test Mix Neg 1
样品类型	Sample	位置	P1-F1
仪器名称	CAS6530_1	用户名	
采集方法	Test_mix_neg.m	采集时间	6/1/2009 1:33:54 PM
IRM 校准状态	Success	DA 方法	find_by_formula_pestcids.m
注释			

化合物表

化合物标签	RT	质量	丰度	名称	分子式	目标质量	DB 差异 (ppm)
Cpd 1: 二氯苯甲醚	5.583	175.9796	9712	二氯苯甲醚	C ₇ H ₆ Cl ₂ O	175.9796	0.11
Cpd 2: 噻草平	7.492	240.0573	108523	噻草平	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₃ S	240.0569	1.69
Cpd 3: 丁二酸二丁酯	7.904	230.1517	7790	丁二酸二丁酯	C ₁₂ H ₂₂ O ₄	230.1518	-0.5
Cpd 6: 二氯丙烯	8.764	233.9845	33463	二氯丙烯	C ₉ H ₈ Cl ₂ O ₃	233.985	-2.39
Cpd 7: 麦草畏甲酯	8.764	233.9845	33463	麦草畏甲酯	C ₉ H ₈ Cl ₂ O ₃	233.985	-2.39
Cpd 4: 2,4-二氯苯酚	8.764	161.9633	6051	2,4-二氯苯酚	C ₆ H ₄ Cl ₂ O	161.9639	-3.59
Cpd 5: 2,4-二氯苯氧乙酸甲酯	8.764	233.9845	33463	2,4-二氯苯氧乙酸甲酯	C ₉ H ₈ Cl ₂ O ₃	233.985	-2.39
Cpd 9: 三氯茴香酸	8.941	253.9306	15646	三氯茴香酸	C ₈ H ₅ Cl ₃ O ₃	253.9304	0.75
Cpd 8: 2,4,5-三氯苯氧乙酸	8.941	253.9306	15646	2,4,5-三氯苯氧乙酸	C ₈ H ₅ Cl ₃ O ₃	253.9304	0.75
Cpd 10: 2,4,6-三氯苯酚	9.613	195.9245	5877	2,4,6-三氯苯酚	C ₆ H ₃ Cl ₃ O	195.9249	-2.12
Cpd 11: 三氯苯氧丙酸	9.624	267.9468	18804	三氯苯氧丙酸	C ₉ H ₇ Cl ₃ O ₃	267.9461	2.64
Cpd 14: 三氟羧草醚	10.708	360.9966	18261	三氟羧草醚	C ₁₄ H ₇ ClF ₃ NO ₅	360.9965	0.43
Cpd 13: 三氟甲草醚	10.708	317.0062	10928	三氟甲草醚	C ₁₃ H ₇ ClF ₃ NO ₃	317.0067	-1.41
Cpd 12: 甲基谷硫磷	10.708	317.0061	9536	甲基谷硫磷	C ₁₀ H ₁₂ N ₃ O ₃ PS ₂	317.0058	1
Cpd 15: 水合香茅醛	10.732	172.1466	132453	水合香茅醛	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.1463	1.39
Cpd 16: 土木香内酯	11.251	232.1462	10414	土木香内酯	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	232.1463	-0.54
Cpd 20: 乙硫苯威亚砜	11.262	241.078	23056	乙硫苯威亚砜	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃ S	241.0773	2.86
Cpd 21: 灭虫威亚砜	11.262	241.078	23056	灭虫威亚砜	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃ S	241.0773	2.86
Cpd 19: 硝丙酚	11.262	240.0752	249379	硝丙酚	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₅	240.0746	2.22
Cpd 17: 二硝丁酚	11.262	240.0752	249379	二硝丁酚	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₅	240.0746	2.22
Cpd 18: 特乐酚	11.262	240.0752	249379	特乐酚	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O ₅	240.0746	2.22
Cpd 22: 氟铃脲	11.533	459.9823	19824	氟铃脲	C ₁₆ H ₈ Cl ₂ F ₆ N ₂ O ₃	459.9816	1.44

四极杆飞行时间质谱的筛选和确证能力

为了证明这种技术的强大，将 Agilent 1200 Series SL 液相色谱与 Agilent 6520 四极杆飞行时间串联质谱进行联用并对加标的草莓提取物进行分析。图 5 展示了 100 多种农药加标样品的提取离子色谱图。四极杆飞行时间质谱的农药筛选与使用飞行时间质谱的效果相同。当然，液相色谱四极杆飞行时间串联质谱提供了具有精确质量测量的高选择性串联质谱，可以同时实现筛选和确证工作。[1]

将 Agilent 1200 Series SL 与 6230 飞行时间质谱联用，实现数百种目标与非目标农药的筛选

对 200 多种农药在相似方式下进行运行分析，通过数据库检索，采用“分子特征提取搜寻化合物”方法检测这些农药产生的 EIC，见图 4。方法使用 Agilent 1200 Series SL 和带有喷射流技术的 Agilent 6230 飞行时间质谱。这是首选的配置，因为它可以

提供更高的检测灵敏度，满足更为苛刻的多残留分析的需求。该分析方法还为飞行时间质谱和四极杆飞行时间质谱提供了安捷伦农药筛选的应用试剂盒。

实现良好色谱分离和质谱分辨率是获得最高品质结果的保证。检测和鉴定数千种化合物的能力取决于这些参数的合理设置和精确质量测量。当然，对于实际的食物样品，我们仅能在其中发现几种农药。但环境样品可能不会是这样，每个地点的样品中一般不会超过 10-20 种农药。鉴于这种情况，能够在一次快速分析中检测数百种化合物的验证方法将提供实现快速分析。图 6 展示了一个与新型 Agilent 6540 Q-TOF 联用的新型 Agilent 1290 Infinity 液相色谱对 100 多种农药进行 3 min 运行分析。鉴于实现了良好的色谱分离和质谱分辨率，该分析可适用于食品和环境样品中农药的筛选。质谱的数据质量见图 7。这些数据的采集以每秒 10 张谱图的速度进行。

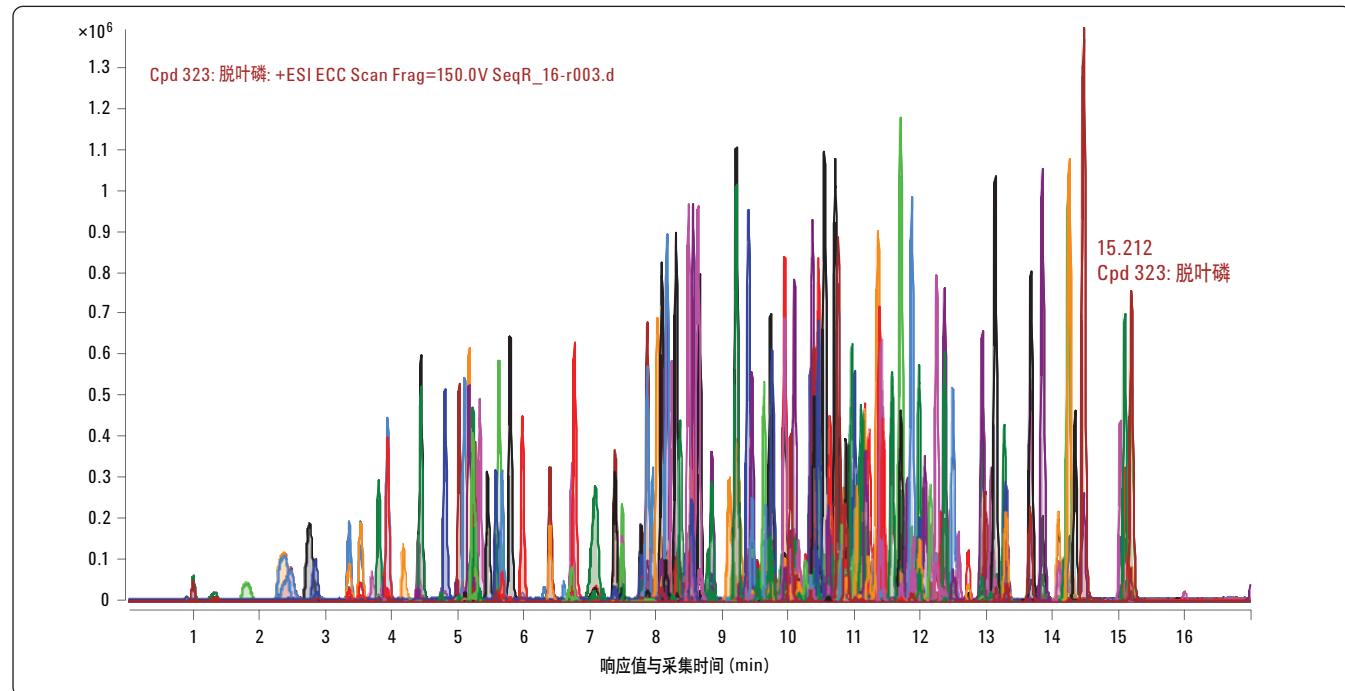


图 5. 采用 Agilent 1200 Series SL 液相色谱与 Agilent 6230 飞行时间质谱联用分析 200 种农药的提取化合物得到的色谱图（由 MFE 发现的化合物）

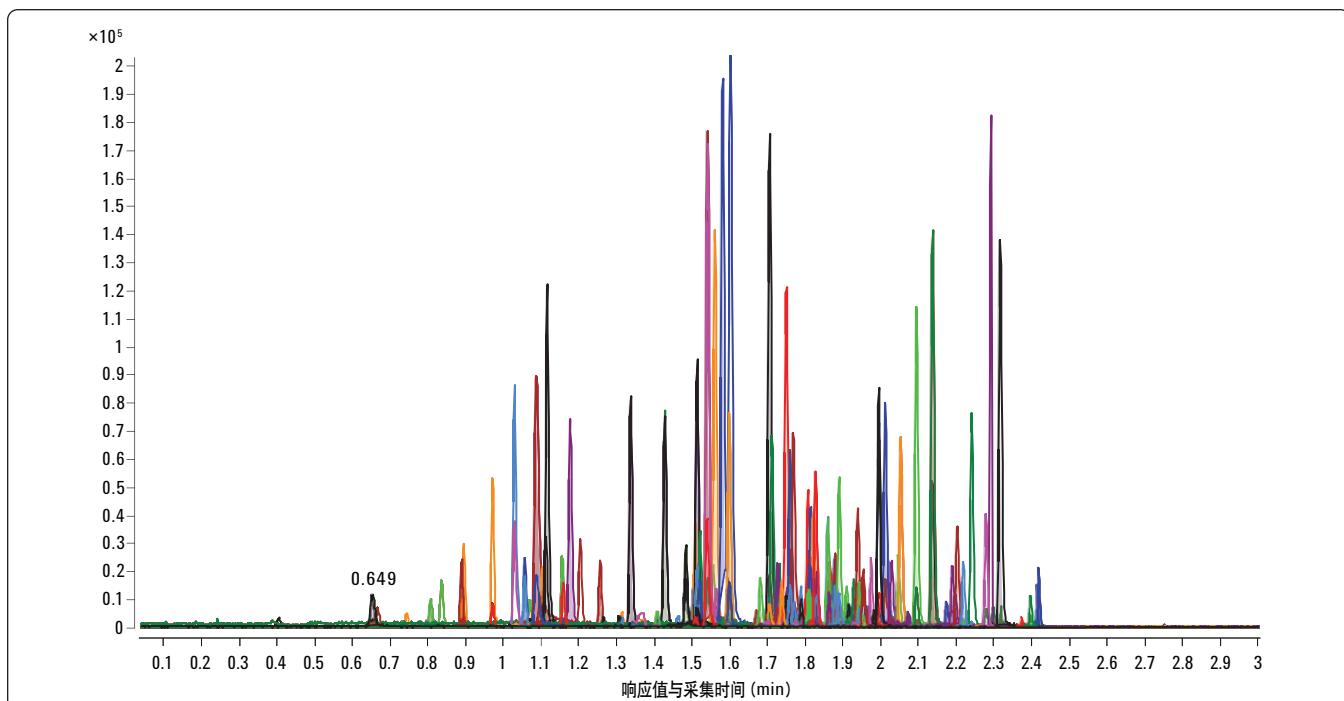


图 6. 采用新型的 Agilent 1290 Infinity 液相色谱与新型的 Agilent 6540 四极杆飞行时间质谱联用，在 3 min 内运行分析 100 多种农药的提取化合物色谱图

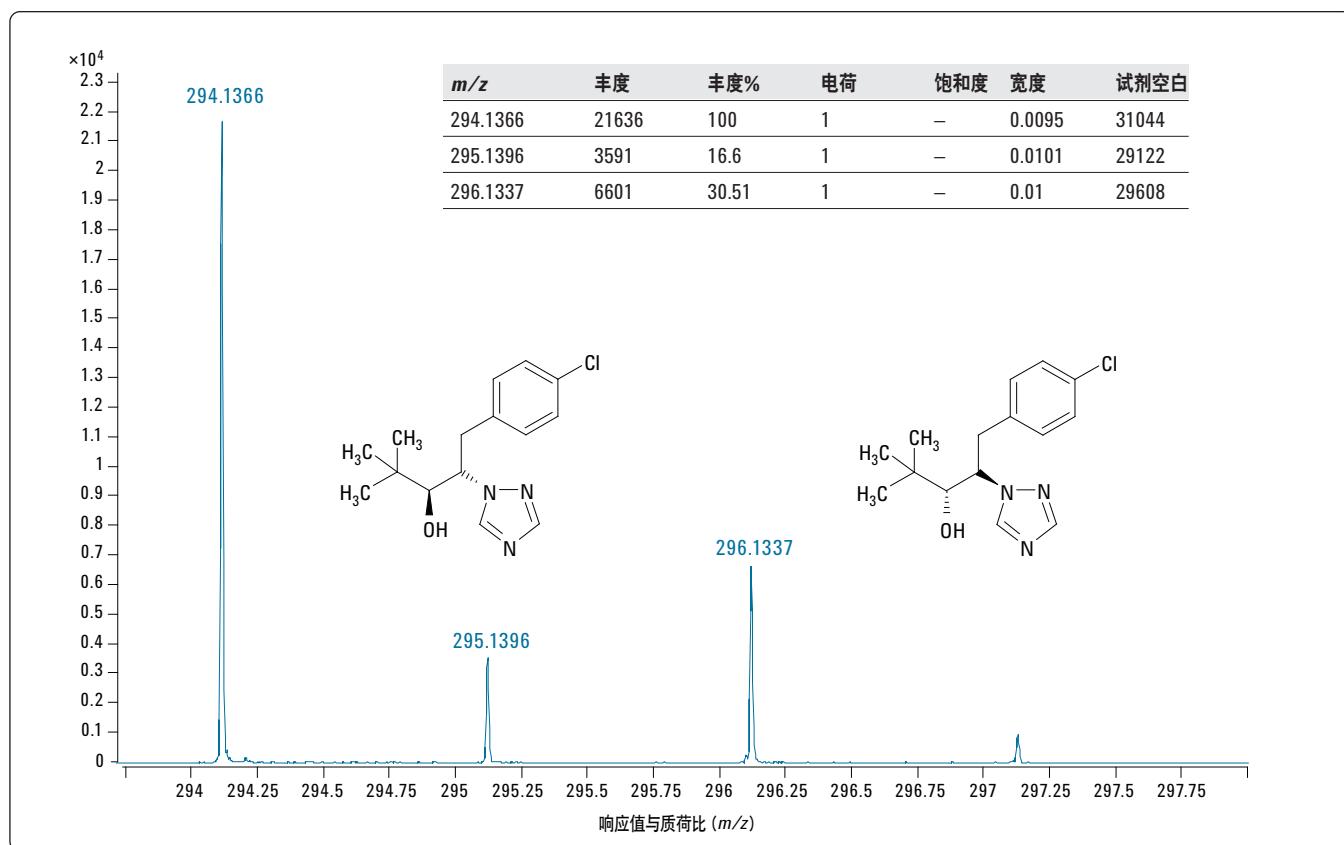


图 7. 采用 Agilent 1290 Infinity 液相色谱与 Agilent 6540 四极杆飞行时间质谱联用，在 3 min 内运行分析数据的质谱实例。所示为每秒 10 张谱图采集速度下的质量分辨率

采用 SampliQ 提取和固相萃取试剂盒进行提取分析

最后，作为一个完整分析的例子，在浓度水平为 10 ppb 条件下，对一个菠菜样品加标农药，并且采用 SampliQ QuEChERS 试剂盒（部件号 5982-5755）对其进行提取。然后采用专门分析高色素含量水果和蔬菜的安捷伦 SampliQ QuEChERS AOAC 分散固相萃取试剂盒（部件号 5982-5356, 15 mL）进行净化。另外，还制备了试剂空白，并采用 Agilent 1200 Series SL/6530 液相色谱四极杆飞行时间串联质谱运行此空白，并采用“通过分子特征提取搜寻”和农药数据库（非定制）进行标准品的筛选。从试剂空白得到的质量列表通过将它输出到一个 .csv 文件来放置

到 MFE 设置中，在“过滤质量”项下选择“排除这些质量”，并且使用输出的 .csv 文件作为相应数据库。通过这种方式将所有试剂空白中的离子从标准品中去除，样品也可采用这种方法处理。利用相同的采集方法和工作表自动运行功能对加标溶液（纯标准品）进行分析。结果见表 4，标出了标准品中的农药。需要注意的是，假如背景被去除，质量列表就需要通过数据库来检索，以确保目标化合物不会被排除在外。可以在 Excel 中编辑.csv 文件，必要时可以从排除列表中去除某些质量（例如，当空白中发现农药的相应质量数时）。

表 4. 用于菠菜提取的纯农药标准品

数据文件	2ppb neat std .d	样品名称	2ppb neat in 20:80 ACN/H2O
样品类型	Sample	位置	P1-F1
仪器名称	CAS6530_1	用户名	Jaz
采集方法	MFE_Compound_report.m	采集时间	7/10/2009 12:43:56 PM
IRM 校准状态	Success	DA 方法	MFE_Pesticide_report.m
注释			

化合物表

化合物标签	RT	质量	名称	DB 分子式	DB 差异 (ppm)	命中 (DB)
Cpd 12: 多灭磷	2.053	141.0012	多灭磷	C ₂ H ₈ NO ₂ PS	0.96	1
Cpd 15: 高灭磷	2.467	183.0115	高灭磷	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	2.24	1
Cpd 18: 高灭磷	2.632	183.0119	高灭磷	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	-0.02	1
Cpd 24: 吡蚜酮	3.242	217.0967	吡蚜酮	C ₁₀ H ₁₁ N ₅ O	-1.54	1
Cpd 25: 吡蚜酮	3.361	217.0965	吡蚜酮	C ₁₀ H ₁₁ N ₅ O	-0.5	
Cpd 29: 多菌灵	4.259	191.0695	多菌灵	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	0.06	1
Cpd 35: 噻苯达唑	4.633	201.0359	噻苯达唑	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	0.81	1
Cpd 44: 吡虫啉	5.564	255.0527	吡虫啉	C ₉ H ₁₀ CIN ₅ O ₂	-1.43	1
Cpd 51: 抑霉唑	6.587	296.0489	抑霉唑	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	-1.92	1
Cpd 54: 地昔尼尔	7.172	190.0968	地昔尼尔	C ₈ H ₁₀ N ₆	-0.77	1
Cpd 55: 甲基托布津	7.426	342.0463	甲基托布津	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂	-1.97	1
Cpd 86: 残杀威	7.621	209.1053	残杀威	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	-0.35	1
Cpd 87: 邻苯二酚	7.621	110.0368	邻苯二酚	C ₆ H ₆ O ₂	-0.59	1
Cpd 89: 异炔诺酮	7.631	298.192	异炔诺酮	C ₂₀ H ₂₆ O ₂	4.2	1
Cpd 91: 西维因	7.994	201.079	西维因	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	-0.07	7
Cpd 92: 1-萘酚	7.995	144.0575	1-萘酚	C ₁₀ H ₈ O	0.01	1
Cpd 97: 灭克磷	9.908	242.0569	灭克磷	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	-2	1
Cpd 99: 戊菌唑	10.219	283.0649	戊菌唑	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃	-2.26	1
Cpd 101: 噻菌环胺	10.482	225.1268	噻菌环胺	C ₁₄ H ₁₅ N ₃	-0.68	1
Cpd 105: 醚菌酯	10.924	313.132	醚菌酯	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	-1.93	1

图 8 展示了菠菜提取物经过“分子特征提取”的提取化合物色谱图。即使经过了样品净化过程并且去除了背景离子干扰，这仍然是一个复杂的样品。表 5 展示了菠菜提取物的数据库检索结果，所有标准品中的化合物在提取物中均有检出。假如这是针对目标和非目标化合物的分析，那么在进一步分析前，所有非目标阳性化合物（那些与保留时间不匹配的化合物）都需要在 MassHunter 定性分析软件中进行进一步鉴定。

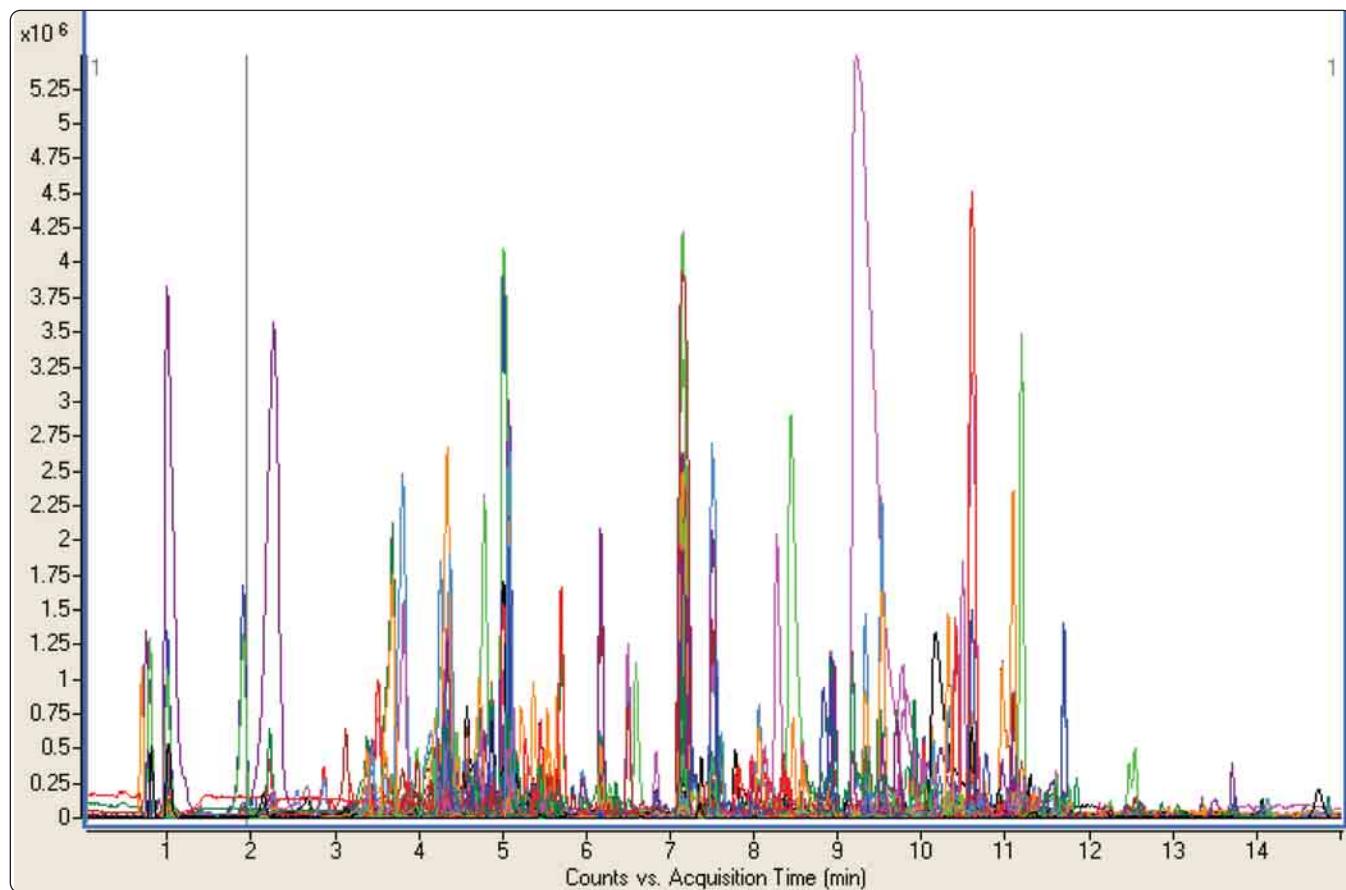


图 8. 菠菜样品提取化合物的色谱图，显示了 1200 多种化合物特征

表 5. 采用分子特征提取获得的菠菜样品筛选结果

数据文件	Spinach AOAC 10ppb.d	样品名称	Spinach AOAC 10 ppb (2 ppb in sample)
样品类型	Sample	位置	P1-A4
仪器名称	CAS6530_1	用户名	Jaz
采集方法	MFE_Compound_report.m	采集时间	7/10/2009 12:40:59 PM
IRM 校准状态	Some Ions Missed	DA 方法	MFE_Pesticide_report.m
注释			

化合物表

化合物标签	RT	质量	名称	DB 分子式	DB 差异 (ppm)
Cpd 36: 多灭磷	2.042	141.001	多灭磷	C ₂ H ₈ NO ₂ PS	2.37
Cpd 42: 呋喃丹-3-羟基-7-酚	2.226	180.0786	呋喃丹-3-羟基-7-酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	0.12
Cpd 44: 速灭威	2.233	165.0789	速灭威	C ₉ H ₁₁ NO ₂	0.43
Cpd 74: 高灭磷	2.614	183.0116	高灭磷	C ₄ H ₁₀ NO ₃ PS	1.72
Cpd 94: 单甲基克百威	3.127	207.0896	单甲基克百威	C ₁₁ H ₁₃ NO ₃	-0.45
Cpd 97: 硫酸喹烯酮	3.14	187.0631	硫酸喹烯酮	C ₁₁ H ₉ NO ₂	1.39
Cpd 103: 灭除威	3.197	179.0945	灭除威	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	0.78
Cpd 119: 3-羟基呋喃丹	3.323	237.1003	3-羟基呋喃丹	C ₁₂ H ₁₅ NO ₄	-0.88
Cpd 121: 吡蚜酮	3.36	217.0963	吡蚜酮	C ₁₀ H ₁₁ N ₅ O	0.44
Cpd 136: 残杀威	3.445	209.1053	残杀威	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	-0.42
Cpd 140: 灭除威	3.471	179.0953	灭除威	C ₁₀ H ₁₃ NO ₂	-3.52
Cpd 161: 8-羟基喹啉	3.59	145.0526	8-羟基喹啉	C ₉ H ₇ NO	0.82
Cpd 198: 甲霜灵	3.805	279.1478	甲霜灵	C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	-2.52
Cpd 207: 异氰酸苯酯	3.817	119.0373	异氰酸苯酯	C ₇ H ₅ NO	-1.32
Cpd 221: 绵马酚	3.946	224.1049	绵马酚	C ₁₂ H ₁₆ O ₄	-0.24
Cpd 284: 苯氧乙酸	4.155	152.0472	苯氧乙酸	C ₈ H ₈ O ₃	1.13
Cpd 303: 邻苯二甲酸二甲酯	4.188	194.0579	邻苯二甲酸二甲酯	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	0.28
Cpd 310: 抗倒酯	4.21	224.0685	抗倒酯	C ₁₁ H ₁₂ O ₅	0.08
Cpd 316: 多菌灵	4.254	191.0695	多菌灵	C ₉ H ₉ N ₃ O ₂	-0.21
Cpd 323: 香叶醇	4.282	154.1357	香叶醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.55
Cpd 338: 邻苯二甲酸二甲酯	4.316	194.0579	邻苯二甲酸二甲酯	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	-0.1
Cpd 368: 残杀威	4.372	209.1054	残杀威	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	-1.02
Cpd 386: 涕灭威	4.443	190.0776	涕灭威	C ₇ H ₁₄ N ₂ O ₂ S	-0.09
Cpd 455: 苯氧乙酸	4.617	152.0474	苯氧乙酸	C ₈ H ₈ O ₃	-0.33
Cpd 461: 噻苯达唑	4.628	201.0362	噻苯达唑	C ₁₀ H ₇ N ₃ S	-0.66
Cpd 492: 避蚊酮	4.723	226.1207	避蚊酮	C ₁₂ H ₁₈ O ₄	-0.65
Cpd 584: 仲草丹	4.904	279.167	仲草丹	C ₁₆ H ₂₅ NOS	-4.82

化合物标签	RT	质量	名称	DB 分子式	DB 差异 (ppm)
Cpd 587: 醚菌酯	4.905	313.132	醚菌酯	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	-1.89
Cpd 641: 除虫菊酯	5.022	328.2041	除虫菊酯	C ₂₁ H ₂₈ O ₃	-0.8
Cpd 642: 丙烯菊酯	5.022	302.1884	丙烯菊酯	C ₁₉ H ₂₆ O ₃	-0.79
Cpd 644: 螺甲螨酯	5.022	370.2148	螺甲螨酯	C ₂₃ H ₃₀ O ₄	-1.01
Cpd 720: 氯化磷	5.19	396.1312	氯化磷	C ₁₉ H ₃₂ Cl ₃ P	-1.33
Cpd 721: 山道年	5.197	246.1259	山道年	C ₁₅ H ₁₈ O ₃	-1.43
Cpd 740: 邻苯二甲酸二甲酯	5.255	194.0576	邻苯二甲酸二甲酯	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	1.68
Cpd 743: 聚乙醛	5.265	176.1044	聚乙醛	C ₈ H ₁₆ O ₄	2.75
Cpd 804: 氯化磷	5.439	396.1301	氯化磷	C ₁₉ H ₃₂ Cl ₃ P	1.47
Cpd 816: 丙烯菊酯	5.454	302.1882	丙烯菊酯	C ₁₉ H ₂₆ O ₃	-0.08
Cpd 830: 丁硫啶	5.498	372.1696	丁硫啶	C ₂₁ H ₂₈ N ₂ S ₂	-0.67
Cpd 858: 吡虫啉	5.57	255.0527	吡虫啉	C ₉ H ₁₀ CIN ₅ O ₂	-1.47
Cpd 976: 醚菌酯	6.15	313.1321	醚菌酯	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	-2.14
Cpd 1047: 醚菌酯	6.366	313.132	醚菌酯	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	-1.78
Cpd 1063: 土木香内酯	6.463	232.1463	土木香内酯	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	0.23
Cpd 1075: 山道年	6.521	246.1258	山道年	C ₁₅ H ₁₈ O ₃	-0.98
Cpd 1089: 抑霉唑	6.595	296.049	抑霉唑	C ₁₄ H ₁₄ Cl ₂ N ₂ O	-2.29
Cpd 1124: 沙丁胺醇	6.838	239.1522	沙丁胺醇	C ₁₃ H ₂₁ NO ₃	-0.34
Cpd 1144: 避蚊酮	6.93	226.1206	避蚊酮	C ₁₂ H ₁₈ O ₄	-0.52
Cpd 1212: 环庚草醚	7.152	274.1937	环庚草醚	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	-1.56
Cpd 1242: 地昔尼尔	7.22	190.0968	地昔尼尔	C ₈ H ₁₀ N ₆	-0.54
Cpd 1274: 甲基托布津	7.419	342.0457	甲基托布津	C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S ₂	-0.24
Cpd 1331: 双酚 A	7.596	228.1141	双酚 A	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	4.06
Cpd 1335: 残杀威	7.614	209.1052	残杀威	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	-0.1
Cpd 1337: 邻苯二酚	7.615	110.0369	邻苯二酚	C ₆ H ₆ O ₂	-1.11
Cpd 1348: 环庚草醚	7.7	274.1933	环庚草醚	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	-0.16
Cpd 1357: 双酚 A	7.778	228.1147	双酚 A	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	1.28
Cpd 1394: 1-萘酚	7.996	144.0574	1-萘酚	C ₁₀ H ₈ O	0.69
Cpd 1395: 西维因	7.996	201.0791	西维因	C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	-0.39
Cpd 1410: 多杀菌素 B	8.128	717.4462	多杀菌素 B	C ₄₀ H ₆₃ NO ₁₀	-1.38
Cpd 1429: 多杀菌素 A	8.278	731.4619	多杀菌素 A	C ₄₁ H ₆₅ NO ₁₀	-1.43
Cpd 1438: 螺环菌胺	8.364	297.2675	螺环菌胺	C ₁₈ H ₃₅ NO ₂	-2.27
Cpd 1477: 多杀菌素 D	8.621	745.4775	多杀菌素 D	C ₄₂ H ₆₇ NO ₁₀	-1.29
Cpd 1494: 恩贝酸	8.752	294.1838	恩贝酸	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	-2.25
Cpd 1501: 环庚草醚	8.797	274.1935	环庚草醚	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	-0.9
Cpd 1506: 山道年	8.81	246.1261	山道年	C ₁₅ H ₁₈ O ₃	-2.01
Cpd 1526: 环庚草醚	8.908	274.1935	环庚草醚	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	-0.82
Cpd 1574: 环庚草醚	9.184	274.1936	环庚草醚	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	-1.21
Cpd 1578: 溴硫磷	9.22	363.8501	溴硫磷	C ₈ H ₈ BrCl ₂ O ₃ PS	-2.55
Cpd 1604: 溴硫磷	9.279	363.8502	溴硫磷	C ₈ H ₈ BrCl ₂ O ₃ PS	-2.57
Cpd 1715: 喹唑乙烟酸	9.883	289.1417	咪唑乙烟酸	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃	3.08

化合物标签	RT	质量	名称	DB 分子式	DB 差异 (ppm)
Cpd 1728: 灭克磷	9.911	242.0566	灭克磷	C ₈ H ₁₉ O ₂ PS ₂	-0.93
Cpd 1746: 咪唑乙烟酸	10.027	289.1419	咪唑乙烟酸	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₃	2.59
Cpd 1782: 戊菌唑	10.224	283.0649	戊菌唑	C ₁₃ H ₁₅ Cl ₂ N ₃	-1.99
Cpd 1797: 环庚草醚	10.325	274.1931	环庚草醚	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	0.68
Cpd 1829: 噬菌环胺	10.49	225.1271	噬菌环胺	C ₁₄ H ₁₅ N ₃	-2.07
Cpd 1833: 鹅去氧胆酸	10.526	392.291	鹅去氧胆酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₄	4.36
Cpd 1838: 恩贝酸	10.541	294.1837	恩贝酸	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	-2.12
Cpd 1885: 鹅去氧胆酸	10.749	392.2909	鹅去氧胆酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₄	4.45
Cpd 1908: 环庚草醚	10.852	274.1936	环庚草醚	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	-1.24
Cpd 1927: 酰菌酯	10.933	313.1321	酰菌酯	C ₁₈ H ₁₉ NO ₄	-2.18
Cpd 1933: 环庚草醚	10.967	274.1934	环庚草醚	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	-0.53
Cpd 1951: 环庚草醚	11.089	274.1939	环庚草醚	C ₁₈ H ₂₆ O ₂	-2.13
Cpd 1978: 呋喃酚	11.235	164.0841	呋喃酚	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	-2.38
Cpd 2017: 螺环菌胺	11.536	297.2666	螺环菌胺	C ₁₈ H ₃₅ NO ₂	0.5
Cpd 2044: 螺环菌胺	11.731	297.2663	螺环菌胺	C ₁₈ H ₃₅ NO ₂	1.49
Cpd 2054: 螺环菌胺	11.846	297.2673	螺环菌胺	C ₁₈ H ₃₅ NO ₂	-1.65
Cpd 2062: 螺环菌胺	11.955	297.2672	螺环菌胺	C ₁₈ H ₃₅ NO ₂	-1.26
Cpd 2096: 乙烯硅	12.24	316.1098	乙烯硅	C ₁₁ H ₂₅ ClO ₆ Si	3.42
Cpd 2205: 螺环菌胺	12.797	297.267	螺环菌胺	C ₁₈ H ₃₅ NO ₂	-0.58
Cpd 2206: 伊维菌素 B1b	12.806	860.488	伊维菌素 B1b	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₄	4.9
Cpd 2253: 伊维菌素 B1b	13.128	860.4891	伊维菌素 B1b	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₄	3.61
Cpd 2314: 伊维菌素 B1b	13.372	860.4896	伊维菌素 B1b	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₄	3.04
Cpd 2474: 伊维菌素 B1b	14.122	860.4906	伊维菌素 B1b	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₄	1.85

结论

开发了安捷伦飞行时间质谱和四极杆飞行时间质谱农药应用工具包，可以全面实现目标与非目标化合物的综合农药筛选。数据库包括近 1600 个化合物，可以帮助用户使用起来更加灵活。

工具包能够提供：

- 快速方便的启动复杂的分析
- 近 1600 个化合物的综合农药数据库，包括：
 - 化学结构、分子式和精确质量
 - Direct Chemical 在因特网上与 PUBCHEM 和 ChemSpider 的链接
 - IUPAC 名称
 - 可以创建特殊的数据库
 - 完全的添加/删除定制功能，以及添加用户色谱条件下的化合物保留时间
- 可直接从农药化合物数据库软件中检索结果
- 强大的检索工具对结果进行数据挖掘，如分子特征提取和 Find by Formula
- 可通过采用 MassHunter 定性分析软件和 MassHunter 采集工作表，来实现半自动或全自动数据库检索

参考文献

1. 安捷伦科技应用 5990-3935CHCN，“液相色谱/四极杆-飞行时间串联质谱仪 (Q-TOF) 用于草莓中非目标农药残留的筛查和确认”。
2. 安捷伦科技应用 5989-5496CHCN，“LC/TOF MS 分子特征数据库检索方法进行食品中 600 种农药的自动筛选”。
3. 安捷伦科技应用 5990-4253CHCN，“使用三重串联四极杆液质联用仪和动态多反应监测功能 (DMRM) 进行复杂样品中农药多残留的快速定性定量分析”。
4. 安捷伦科技应用 5990-3976EN，“Pesticide Personal Compound Database for Screening and Identification”（用于筛选和鉴定的农药化合物数据库）。

更多信息

如需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。

附录 I

测试混合物正/负离子样品分析的液相色谱-串联质谱条件

Agilent 1200 Series SL 液相色谱参数

色谱柱 :	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μ m 安捷伦部件号 959764-902
柱温 :	35 °C
进样体积 :	5
自动进样器温度 :	室温
进样针冲洗 :	用甲醇冲洗 5 s
流动相 :	A = 5 mM 乙酸水溶液 B = 100% 乙腈
流速 :	0.3 mL/min
梯度程序 :	由 t = 0 时的 5% B 渐变到 t = 12 min 时的 95% B
停止时间 :	12 min
后运行时间 :	3 min

Agilent 6530 四极杆飞行时间串联质谱参数

喷射流条件

干燥气温度 :	250 °C
干燥气流速 :	7 L/min
雾化器 :	40 psi
鞘气温度 :	325 °C
鞘气流速 :	11 L/min
毛细管电压 (正离子) :	3500 V
喷嘴电压 :	0 V
毛细管电压 (负离子) :	2500 V
喷嘴电压 :	1500 V
采用模式 :	MS1
最小质量范围	100 m/z
最大质量范围	1100 m/z
扫描速度	1.4/s
参考质量 :	正离子 121.050873 (嘌呤 M+H ⁺) 922.009798 (HP-921 M+H ⁺)
参考质量 :	负离子 119.0362 (嘌呤 M-H ⁻) 980.016375 (HP-921 M+C ₂ H ₃ O ₂ ⁻ 乙酸根加合物)

附录 II

Agilent 1200 Series SL 液相色谱参数

Agilent 1200 Series 液相色谱参数

色谱柱 :	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 mm × 100 mm, 1.8 μ m 安捷伦部件号 959764-902		
柱温 :	55 °C		
进样体积 :	5.0 μ L		
自动进样器温度 :	6 °C		
进样针冲洗 :	冲洗口 (甲醇:水 75:25), 5 s		
流动相 :	A = 水 w/5 mM 甲酸铵溶液 + 0.01% 甲酸 B = 5 mM 甲酸铵溶液 + 0.01% 甲酸的 95:5 乙腈:水溶液		
流速 :	0.3 mL/min		
梯度泵时间表			
时间	流速	压力	溶剂比例 B
0.5	无变化	600	6
14	无变化	600	95
17	无变化	600	95
停止时间	17 min		
后运行时间	3 min		

Agilent 6230 飞行时间质谱参数

喷射流条件

干燥气温度 :	225 °C
干燥气流速 (氮气) :	9 L/min
雾化气压力 (氮气) :	25 psig
毛细管电压 :	4500 V
鞘气温度 :	350 °C
鞘气流速 :	11 L/min
喷嘴电压 :	500 V

采集模式 MS1

最小质量范围	25 m/z
最大质量范围	3200 m/z
扫描速度	3
参考质量 :	121.050873 (嘌呤 M+H $^+$) 922.009798 (HP-921 M+H $^+$)

附录 III

Agilent 1290 Infinity 液相色谱参数

色谱柱 : Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 HD,
2.1 mm × 100 mm, 1.8 μ m
安捷伦部件号

柱温 : 60 °C

进样体积 : 5.0 μ L

自动进样器温度 : 6 °C

进样针冲洗 : 冲洗口 (甲醇 : 水 75 : 25), 5 s

流动相 : A = 水 w/5 mM 甲酸铵溶液 + 0.01% 甲酸
B = 5 mM 甲酸铵溶液 + 0.01% 甲酸的 95 : 5
乙腈 : 水溶液

液相色谱流速 : 1.0 mL/min

梯度泵时间表

时间	流速	压力	溶剂比例 B
0.15	无变化	600	6
2.1	无变化	600	95
3	无变化	600	95

停止时间 3 min

后运行时间 1 min

6540 四极杆飞行时间串联质谱参数

喷射流条件

干燥气温度 : 325 °C

干燥气流速 (氮气) : 8 L/min

雾化气压力 (氮气) : 60 psig

毛细管电压 : 4000 V

鞘气温度 : 350 °C

鞘气流速 : 12 L/min

喷嘴电压 : 500

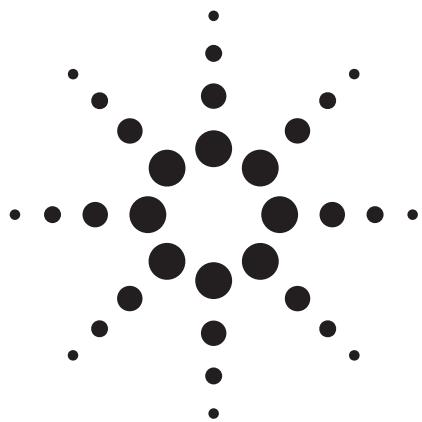
采集模式 : MS1

最小质量范围 100 m/z

最大质量范围 1000 m/z

扫描速度 10 /s

参考质量 : 正离子
121.050873 (嘌呤 M+H $^+$)
922.009798 (HP-921 M+H $^+$)



用于筛查和鉴定的农药个人化合物数据库

应用简报 (5990-3976CHCN)

引言

农药个人化合物数据库开发用于实现大量化合物的快速筛查。本文介绍了此数据库的内容及其使用方法。该数据库除包含农药筛查和鉴定必需的飞行时间质谱 (TOF) 信息外，还可通过更新保留时间对“目标”化合物信息进行快速的半自动定制。除筛查外，还可向农药分析人员提供化合物的其他重要信息，包括结构式、指向 NIH PUBCHEM 数据库的链接以及大量有用的网络链接。

在上世纪，1000 多种农药被广泛用于农作物保护。一旦超出允许和建议的用量，其中的任何一种化合物就有可能残留在环境中，并因此而进入食品供应。在调查型监控中，目标化合物的检测和识别对于环境保护和人类健康而言非常重要。液相色谱/飞行时间质谱 (LC/TOFMS) 凭借其全谱精确质量数测量能力，能够提供高灵敏度和高特异性检测。此外，安捷伦还开发了涵盖 1600 多种农药及相关化合物信息的精确质量数保留时间 (AMRT) 数据库，对这一功能进行补充。该数据库包括通用名称、分子式、结构式和 CAS 登记号。还可轻松使用用户条件下获得的色谱保留时间对库中的保留时间进行半自动更新。本技术报告将介绍如何使用安捷伦的个人化合物数据库 (PCD) 软件从该数据库中检索经处理的 LC/TOFMS 数据。还介绍了如何通过安捷伦 MassHunter 定性数据处理软件手动和自动检索该数据库。

说明

个人化合物数据库

个人化合物数据库软件的用户界面如图 1 所示，为用户提供了四个选项卡：单次检索、批次检索、批次摘要和编辑化合物。第一个选项卡的内容见图 1，展示了农药数据库所提供的功能和数据。该选项卡的功能包括按质量（质子化、中性和去质子）、保留时间（可选或必需）、化学式和 CAS 登记号进行检索。单次检索可包含这些参数中的任何一个或全部，同时还允许检索阳离子和/或阴离子。数据包括农药或化学品的通用名称、分子式、精确质量、结构和 CAS 登记号。登记号链接至美国国家健康研

究所在线数据库 PUBCHEM，单击后将启动用户的网络浏览器并在 PUBCHEM 中检索该 CAS 号。请注意，并非所有化合物都列于 PUBCHEM 中，或者即使列于其中也可能不含 CAS 登记号。此外，并非农药数据库中的所有化合物都登记于化学文摘库中。例如，图 1 显示的阿特拉津 D-5 没有 CAS 号。关于农药数据库需要注意另外两个要点。其一，它包括在进行农药筛查的样品中通常可能发现的非农药化合物，例如双酚 A。其二，它还包括在液/质联用分析中无响应的农药，例如六氯苯。这使其成为一个信息量极大的数据库。数据库中未填充保留时间列，因为保留时间高度依赖于用户的液相色谱条件和配置。下面我们将详细介绍其强大功能。

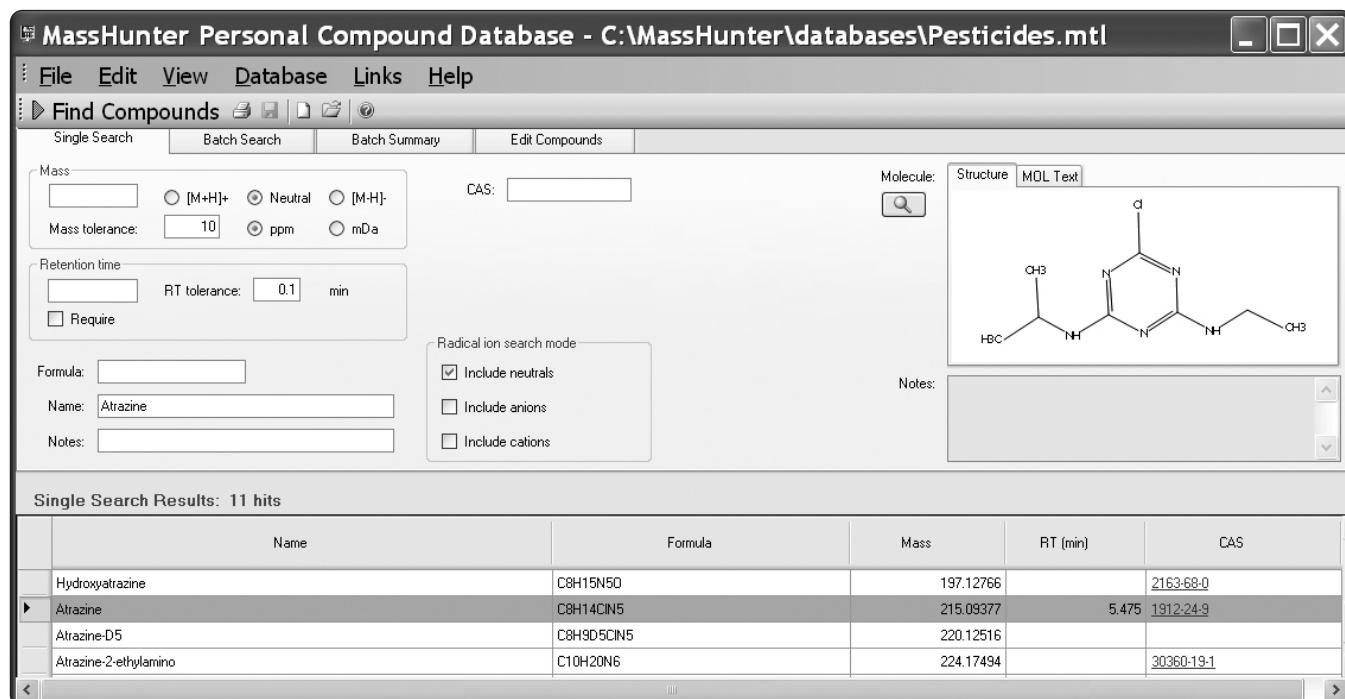


图 1. 农药个人化合物数据库的“单次检索”选项卡，显示了以“阿特拉津”作为名称进行检索的结果

批次检索

第二个选项卡“批次检索”如图 2 所示。该选项卡允许用户从其仪器采集的数据中导入包含保留时间的质量列表。生成质量列表和检索数据库功能用于配合采集精确质量数据的安捷伦 LC/MS TOF 或 LC/MS QTOF 系统。使用其他仪器采集的标称质量列表会提供过多的检索结果，因为数据库中存在许多标称质量等同的化合物。在所示的例子中，列出了异构体。质量列表通常经过安捷伦 MassHunter 定性分析软件的“查找化合物—分子特征提取器”功能处理过的标样和样品生成。质量列表还可以作为 .csv 或 .txt 格式文件导入。也可以直接从如图 2 所示的 MassHunter 定性分析软件中复制并粘贴质量列表。导入质量列表（例如农药标样的质量列表）后，查找到的具有相似质量的化合物将以红色显示。

示。图 2（个人化合物数据库软件的黑白截屏）中以箭头指示。这些冲突的检索结果必须由用户加以人工判定。在本示例中，显示了 10 ppm 允差内的三个质量数（151.0631、151.0641 和 151.0634），它们具有不同的保留时间。值得注意的是，从 MassHunter 分子特征提取器导入的质量数是分子（而非离子）的计算质量数，因此必须考虑所有的加合物可能性。它们可能属于异构体或为不同的化合物。安捷伦飞行时间质谱仪和四极杆飞行时间质谱仪通常能够提供优于 3 ppm 的质量精度，因此较低的允差（例如 3 ppm）将能够避免一些冲突。由于这些示例均是标样，因此分析人员应当了解进样分析的化合物并能够选择正确的化合物及保留时间。

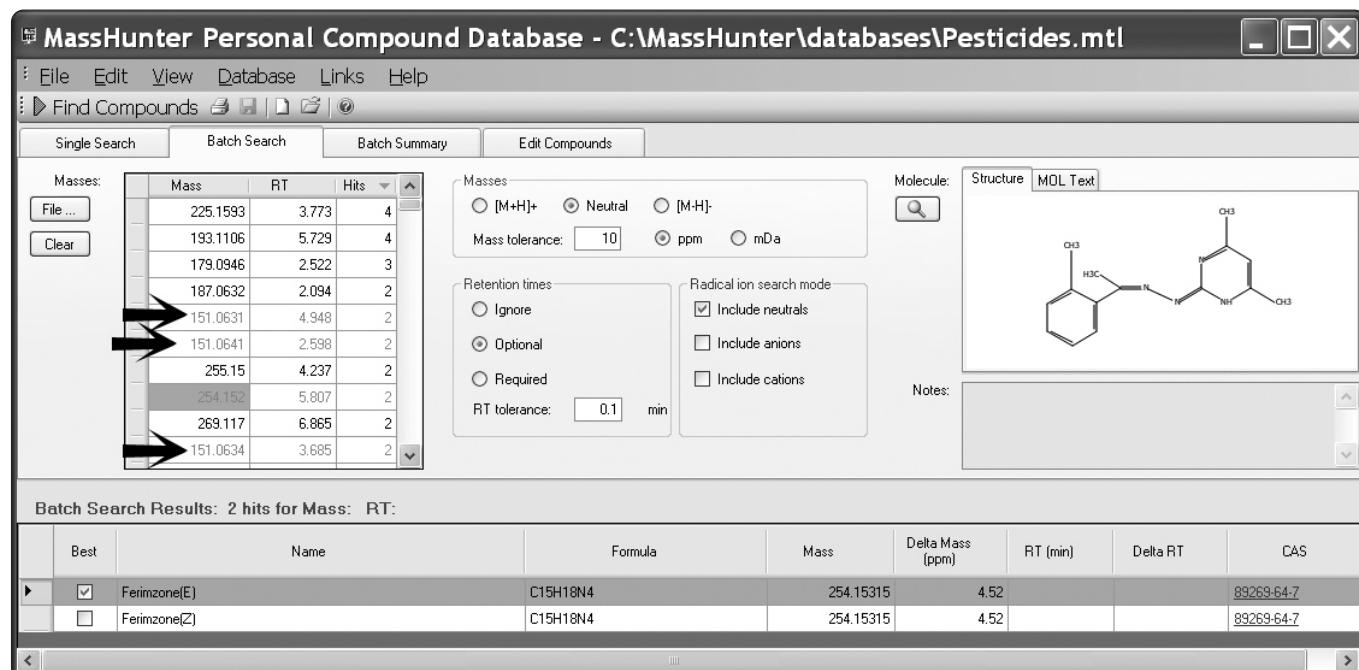


图 2. 农药个人化合物数据库的“批次检索”选项卡，显示了农药混合标样所生成的质量列表的结果红色的检索结果（用箭头指示）显示了具有相近质量数和保留时间的多个结果，表明存在冲突

批次摘要

第三个选项卡“批次摘要”如图 3 所示。该选项卡具有非常强大的功能。使用批次检索功能解决了所有冲突后，用户就可以对选定色谱条件下的重要目标化合物的保留时间进行更新。然后，将该信息添加至用户的自定义数据库中。原始的安捷伦农药数据库为“只读”，无法进行编辑。但是，如果用户根据安捷伦农药数据库新建了一个数据库后，那么该自定义文件就可以进行编辑，并能更新保留时间以及添加（或删除）化合物。可以重复该过程，从而针对各种不同基质分析物所需的色谱条件而创建自定义数据库。这为分析人员提供了适合其特定需求的定制“目标”分析。

编辑化合物

最后一个选项卡“编辑化合物”允许用户更改其自定义数据库中的信息，单独编辑名称、结构、保留时间及其他参数。该选项卡如图 4 所示。可以从中添加或删除化合物，而数据库的更新必须通过该屏幕进行。创建自定义数据库后，可以采用上述方法进行检索或直接在 MassHunter 定性分析软件中检索。这一点将在后文进行详细描述。总之，农药个人化合物数据库提供了信息丰富、用户友好的界面，允许专门定制以满足特定需求。与网络的直接链接实现了在数据库中根据 CAS 号直接进行各化合物的 PUBLCHEM 检索。它直接链接至 TOXNET，该文献使用户能够高效地获取关于感兴趣农药或所关注农药的信息。通过个人化合物数据库软件的链接下拉菜单可以访问许多有用的网站，例如 PUBLCHEM、Chem Industry、Compendium of Pesticides、EPA-Pesticides、NIPC、NIH NLM、TOXNET、PAN Database 和 WHO – Pesticides。

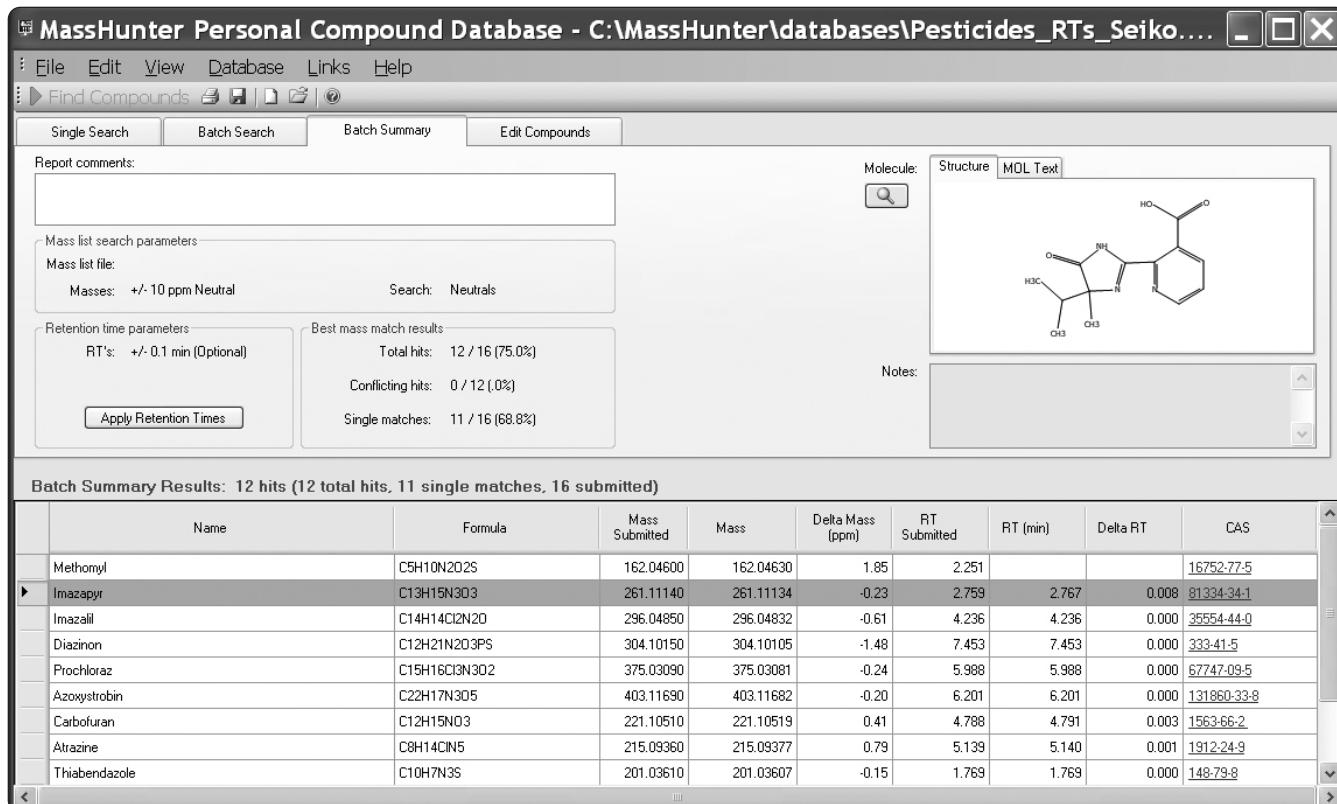


图 3. 农药个人化合物数据库的“批次摘要”选项卡，显示了通过“批次检索”选项卡获得的结果来更新保留时间

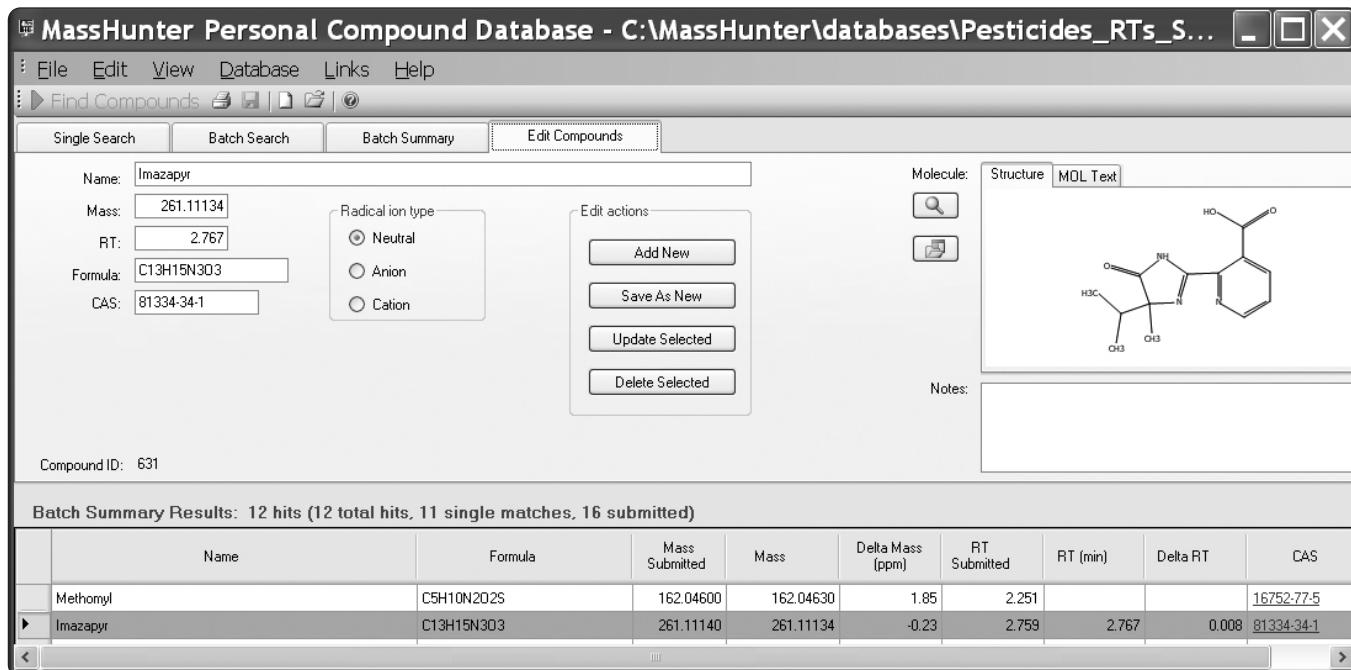


图 4. 农药个人化合物数据库的“编辑化合物”选项卡，允许编辑条目、添加条目、删除条目和更新定制数据库

检索 PCD 农药

该数据库信息丰富，能够手动、半自动或自动地检索其中所含化合物的液相色谱/单级飞行时间质谱或四极杆飞行时间质谱的精确质量数据。清楚这一点后，还需提醒用户在该数据库所含的 1600 种化合物中，某些农药在液/质联用仪通常采用的离子化方法下不会发生离子化。例如，化合物六氯苯在电喷雾离子化 LC/MS TOF 所采集的数据文件中检测不到。但是，仍然有 1000 多种化合物能够在不同的基质中以不同的检测限检出。虽然显而易见但还是必须说明，仅在正电离模式下才能充分离子化的化合物只能在正电离模式下检测，而仅在负电离模式下才能充分离子化的化合物则只能在负电离模式下检测。当然，已在特定条件下分析的农药（在良好实验室规范和质量控制流程下记录了保留时间和检测限）将最可能在含有相应化合物的样品中检出。尽管需要注意这些说明，但该数据库仍然具有强大的分析能力，能够针对如此庞大的农药列表来筛查样品以确定非寻求的化合物（非目标化合物）是否存在。采集质量精度通常优于 3 ppm 的数据并检索精确质量数据库的能力使得这一切成为可能。检测和鉴定可能以显著水平存在于真实样品中但非目标化合物的技术是一项很有必要且值得付出的努力。

可以采用真实样品的数据通过下列途径检索个人化合物农药数据库。由 LC/MS TOF 或 QTOF 数据得到的单个 m/z 数值可以直接输入个人化合物数据库软件的“单次检索”屏幕。检索中可以包含保留时间。它应当作为可选项，这样将返回与 m/z 值匹配的所有包含和不含保留时间的“检索结果”。使用自带或自定义农药数据库的个人化合物数据库软件，可以使用“批次检索”选项卡通过导入或粘贴质量列表来检索在 MassHunter 定性分析软件中根据样品数据所创建的质量列表。这与更新标样保留时间时所用的流程相同。但是，最有效的数据库检索方法是利用 MassHunter 定性分析软件。制定出检索方法后，该方法可以纳入 MassHunter 采集软件的工作列表，从而在每次数据采集运行后自动进行数据分析 (DA) 与检索。利用具体基质所需的色谱条件来创建自定义数据库这一功能允许用户进行目标筛查。目标筛查是对农药的具体检索，其标样已在限定的条件下完成分析，且保留时间也已输入自定义数据库。此外，通过可选的保留时间检索整个数据库能够检测非目标化合物，或者那些未运行标样但存在于数据库中并且已经离子化和检测到的化合物。

MassHunter 定性分析检索方法示例

如上所述，农药分析人员可能关注三种类型的化合物鉴定：目标化合物、非目标化合物以及未知化合物。对于目标化合物测定，可以根据所提供的含 1600 种化合物的农药数据库创建自定义数据库。然后，将在 LC/MS TOF 或 QTOF 上运行一个标样或一系列标样。图 5 给出了农药标样的示例性色谱图。使用 MassHunter 的“查找化合物”和“分子特征提取器”，创建在标样分析中找到的化合物质量列表，并将其复制到个人化合物数据库的“批次检索”选项卡中。如果如图 2 所示存在任何冲突，则必须通过核

对正确的异构体对它们加以判定。在本示例中，两种异构体 (acetachlor 和 arachlor) 的冲突示于图 6 并得到判定。判定冲突结果后，如图 7 所示在“批次摘要”选项卡上更新保留时间，从而将更新保存到自定义数据库中。

一旦分析人员通过目标农药分析所用色谱条件下的具体保留时间定制了数据库，或者决定了在非目标分析中简单检索数据库中所有可能的可发生离子化的化合物后，该检索过程便可在 MassHunter 定性分析软件中自动完成。可以通过工作列表或直接从 MassHunter 定性分析软件自动进行检索。不论哪种情况，

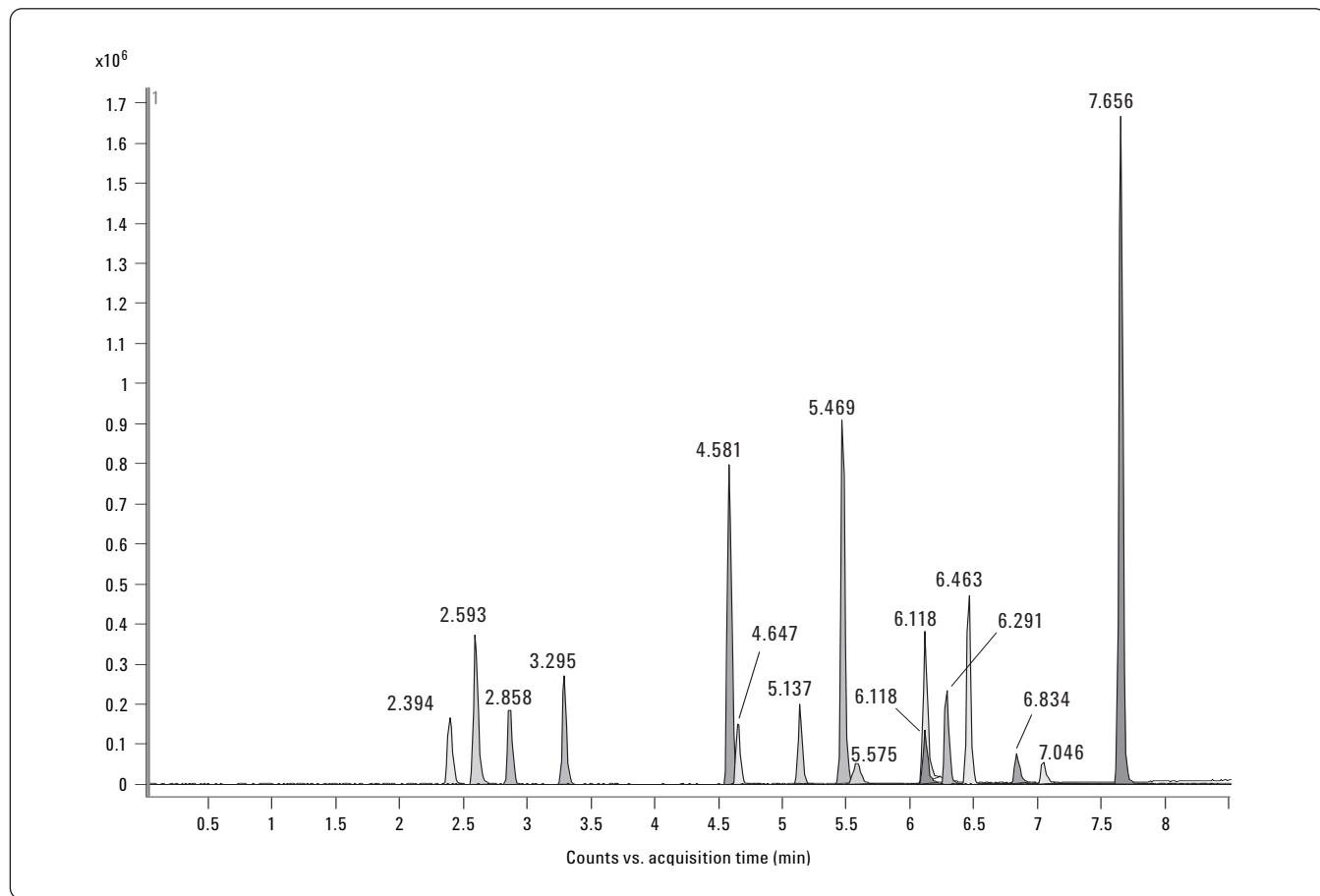


图 5. 在 Agilent LC/MS TOF 系统上运行并经过 MassHunter 定性分析软件处理的农药混合标样的总离子流色谱图

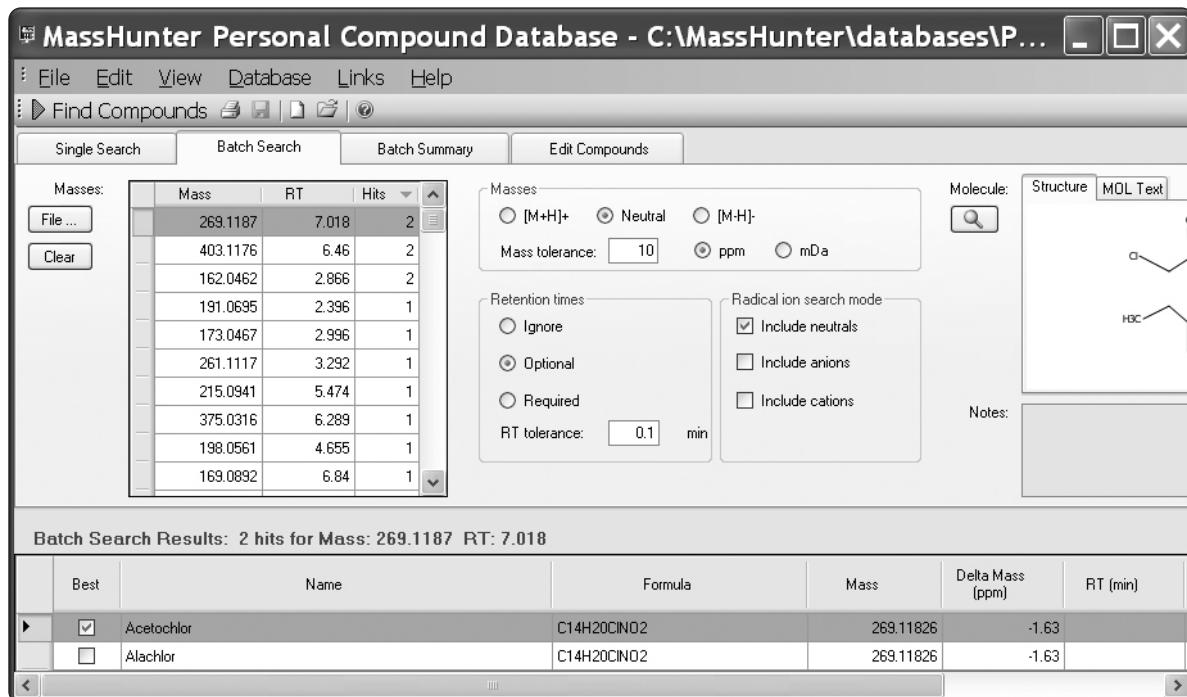


图 6. 图 5 所示色谱图的数据文件的批次检索结果

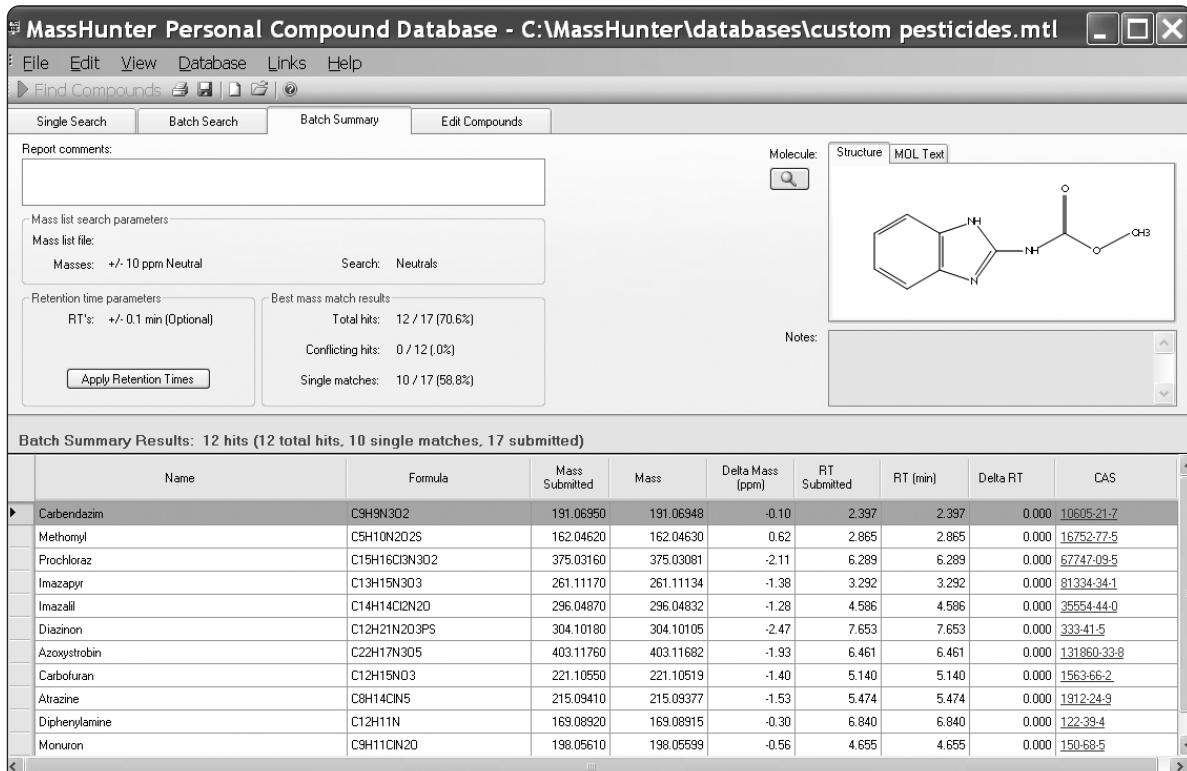


图 7. 保留时间更新后的批次摘要结果

第一步都是创建数据分析方法 (DA)。图 8 显示了在与标样相同的分析条件下分析甜椒提取物的总离子流色谱图。该色谱图显示了非常复杂的基质。使用 MassHunter 的“分子特征提取器”，在该数据文件中找到了 4000 多种化合物。使用质量和可选保留时间（图 9）检索定制的农药数据库能够快速确定样品中的所有“目标”化合物或那些通过保留时间来寻找的化合物。它还能够确定

存在于数据库中的检测到的“非目标”化合物。该示例的结果如图 10 所示。应当注意的是，具有保留时间的化合物评分高于 90，不含保留时间的化合物评分为 50 或以下。评分根据所有同位素的质量精度、与理论值相比的同位素丰度以及与理论间隔相比的同位素间隔计算得到。分析人员可使用该评分来评估检索结果是否真实可信。

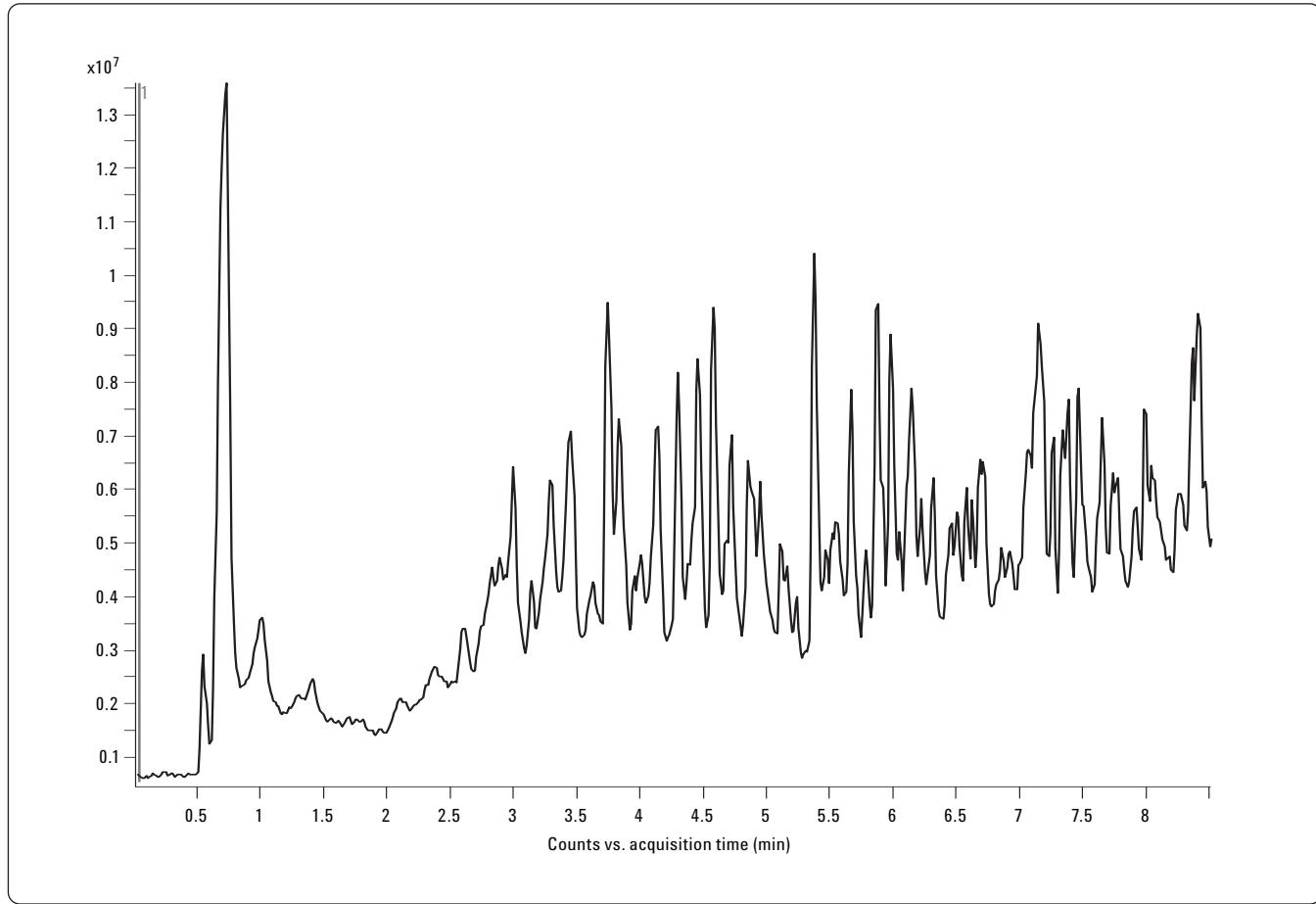


图 8. 在同一安捷伦 LC/MS TOF 系统上分析甜椒提取物的总离子流色谱图

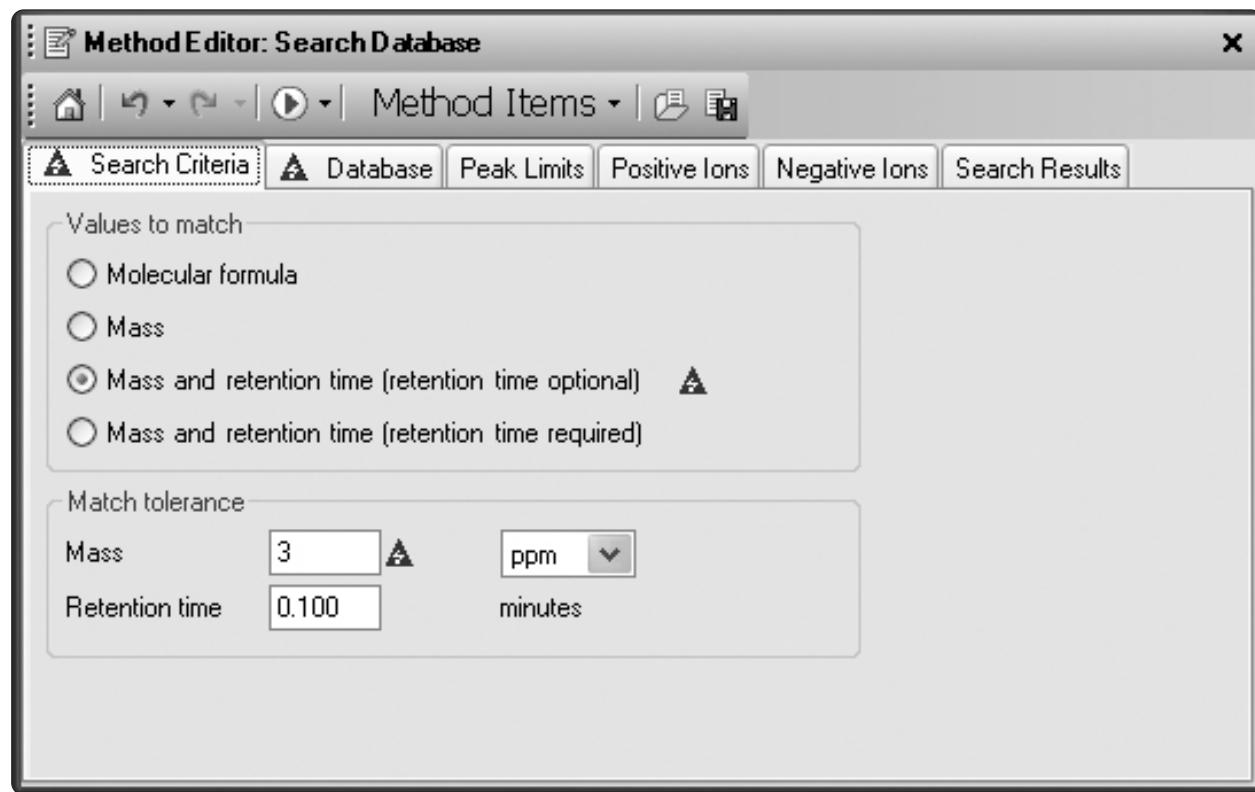


图 9. 在 MassHunter 定性分析软件中使用包含 1600 多种化合物的定制农药数据库的数据库检索条件以及从标样分析中添加的保留时间。需要注意的是，这些设置将实现“目标化合物”（以保留时间来寻找的化合物）和“非目标化合物”（数据库中未运行标样的化合物）的确定

Name	RT	RT (DB)	RT Diff (DB)	Mass	Mass (DB)	Diff (DB, ppm)	Score (D)	Hits (DB)	Ions	Height
Diphenylamine	6.843	6.84	-0.003	169.0893	169.0892	-0.62	99.8	1	2	44736
Atrazine	5.476	5.474	-0.002	215.094	215.0938	-1.09	99.68	1	4	814783
Thiabendazole	2.594	2.598	0.004	201.0362	201.0361	-0.61	99.64	1	3	230596
Carbofuran	5.142	5.14	-0.002	221.1055	221.1052	-1.22	99.56	1	5	114690
Monuron	4.65	4.655	0.005	198.0562	198.056	-1.25	99.09	1	3	84376
Azoxystrobin	6.463	6.461	-0.002	403.1175	403.1168	-1.64	98.76	1	11	595918
Carbendazim	2.386	2.397	0.011	191.0696	191.0695	-0.43	97.79	4	2	103038
Prochloraz	6.295	6.289	-0.006	375.0319	375.0308	-2.97	95.82	1	7	193455
Imazapyr	3.279	3.292	0.013	261.1119	261.1113	-1.95	95.63	1	2	206899
Methomyl	2.848	2.865	0.017	162.0465	162.0463	-1.15	94.09	2	18	460124
Imazalil	4.603	4.586	-0.017	296.0489	296.0483	-1.86	93.53	1	6	490117
Propamocarb	0.567			188.1525	188.1525	0.05	50	1	2	63608
Dimetan	1.238			211.1208	211.1208	0	50	1	2	8908
Aldicarb-oxime	2.128			133.0561	133.0561	0.09	50	1	3	331757
3,5-Xylyl methylcarb...	2.522			179.0946	179.0946	0.14	50	3	2	37673
ICIA0858	3.685			192.0899	192.0899	-0.07	50	2	2	92685
Sulfentrazone	5.345			385.9819	385.9819	-0.03	50	1	5	48976
Arecoline	0.739			155.0947	155.0946	-0.23	49.99	1	3	72940

图 10. MassHunter 定性分析软件中甜椒提取物的检索结果，显示了阳性目标分析检索结果（含保留时间）和非目标分析检索结果

小结

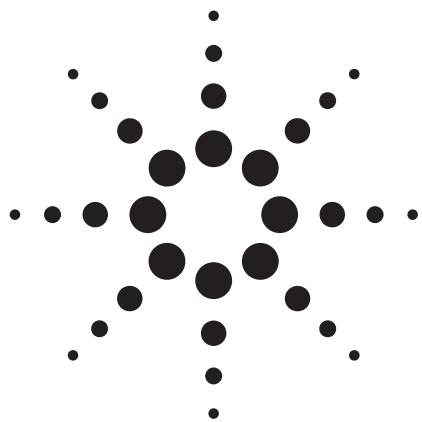
安捷伦农药个人化合物数据库专为分析人员设计，可轻松准确地筛查大量目标农药和非目标化合物。该数据库具有以下特点：

- 信息丰富的资源
- 简便强大的定制功能
- 与安捷伦 MassHunter 定性分析软件无缝集成，可实现自动测定

更多信息

有关我们产品和服务的详细信息，请访问我们的网站：

www.agilent.com/chem/cn



超高分辨率 Q-TOF 液-质联用系统和精确质量数用于环境样品的分析：怎样的分辨率能够满足要求？

应用简报 (5991-6430CHCN)

食品安全和环境分析

作者

Imma Ferrer and E. Michael Thurman

环境质谱中心

环境工程系

美国科罗拉多大学

科罗拉多州博尔德市 80309

摘要

本研究利用安捷伦 1290 Infinity 液相色谱/6540 精确质量数 Q-TOF 液质联用系统测定分析水样中磺胺类抗生素和合成代谢类固醇的高分辨率和高质量精度。首次在四极杆-飞行时间质谱仪上，用高分辨 (> 20000 FWHM) 进行了符合欧盟关于禁用药物的鉴定点要求的分析。

前言

欧盟对于高分辨质谱分析食品和食物产品中禁用兽药的要求是，在 10% 峰谷的分辨率大于 10000。这相当于使用半峰宽 (FWHM) 时的分辨率是 20000 [1]。对于精确质量数，每个离子的鉴定点是 2 或是 2.5，如二级质谱分析，其总鉴定点是 4，因此可以对化合物进行确认定性分析 [1]。已经利用系统被用于环境水样中的鉴定点概念发表了几篇用 Q-TOF 分析水样的文章 [2]。然而，在所有发表的 TOF 应用中，10% 峰谷的分辨率都没有满足大于 10000 (20000 FWHM) 的最低要求条件。其原因是，飞行时间质谱在分辨率为 20000 (FWHM) 时无法分开小分子的碎片离子 (m/z 小于 150 的离子)。本应用简报介绍了使用超高分辨率的安捷伦 6540 精确质量数 Q-TOF 液-质联用系统用于分析液体样品中的抗生素、合成代谢类固醇和其它药物，其在 10% 峰谷的分辨率轻松超过大于 10000 (20000 FWHM) 的要求。

此外，它能够区分合成代谢类固醇、康力龙的同量异构离子，可以分辨质量数相差 0.252 的 CH_2CH_2 或 N_2 [3]。之前对于这类离子的分析被认为只能靠傅里叶质谱 (FT/MS) 或轨道阱质谱 [4] 来完成。在本研究中，分析结果优于已发表文章中两种仪器得到的结果 [4]，具有更宽的质量范围，从 m/z 69 到 m/z 279。结果显示了超过 20000 (FWHM) 要求的分辨率，定义了小分子 (小于 m/z 300) 的分辨率的要求。使用一级质谱和二级质谱得到的数据精确度小于 1 ppm。本应用将讨论两个例子：根据欧盟对于兽药的法规 [5]，分析水中的磺胺类抗生素和康力龙碎裂离子。

实验条件

在安捷伦 1290 Infinity 超高分离度液相色谱仪上，在含 0.1% 甲酸：乙腈流动相的条件下，得到磺胺抗生素混合物的高分辨分离色谱图。使用安捷伦 ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 2.1 x 50 mm, 1.8 μm 色谱柱（部件号 959757-902），梯度分析时间为 10 min。样品是组分浓度为 1 ppm 的溶液，根据灵敏度的要求，进样体积为 5-10 μL 。采用线性梯度，8 min 内从 90% B 至 100% A，维持 2 min，总共 10 min；B 为含 0.1% 的水溶液 (Sigma Aldrich)，A 为乙腈。

安捷伦喷射流离子聚焦串联四极杆质谱的条件：鞘流气温度是 375 $^{\circ}\text{C}$ ，鞘流气流速 11 L/min，干燥气温度 250 $^{\circ}\text{C}$ ，干燥气流速 10 L/min，雾化器压力 45 psi，毛细管电压 4000 V (正离子模式)，喷嘴电压 0 V。碎裂电压 100 至 190 V，其它的参数为自动调谐的参数。

结果与讨论

食品或水中磺胺抗生素的鉴定

图 1 为三个磺胺抗生素的超高压液相色谱图：磺胺二甲基嘧啶、磺胺甲基嘧啶、磺胺二甲氧嘧啶。其中两个抗生素被用于 ppm 浓度的猪饲料（磺胺二甲基嘧啶和磺胺甲基嘧啶），而磺胺二甲氧嘧啶被用于家养鸟的饮用水中；因此，它们可能会出现于食品或水里。而且有报道说，因为污水排放的关系水中经常出现磺胺类抗生素。重要的是，结果显示，高分辨率质谱很容易鉴定这些化合物，并符合欧盟关于食品或水中化合物鉴定点的要求 [1-2, 5]。

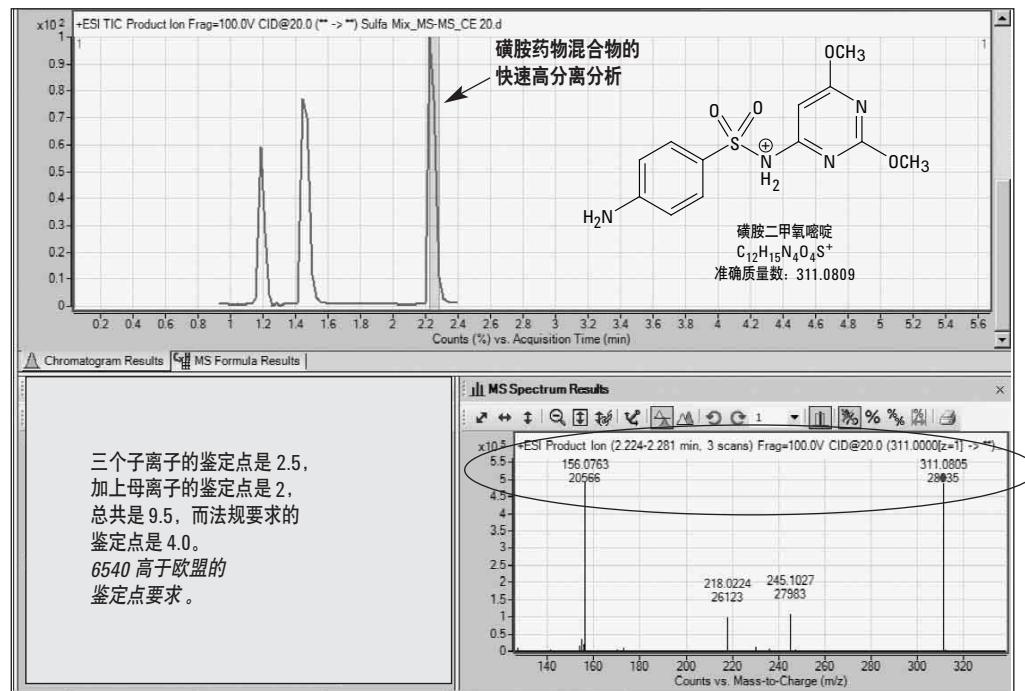
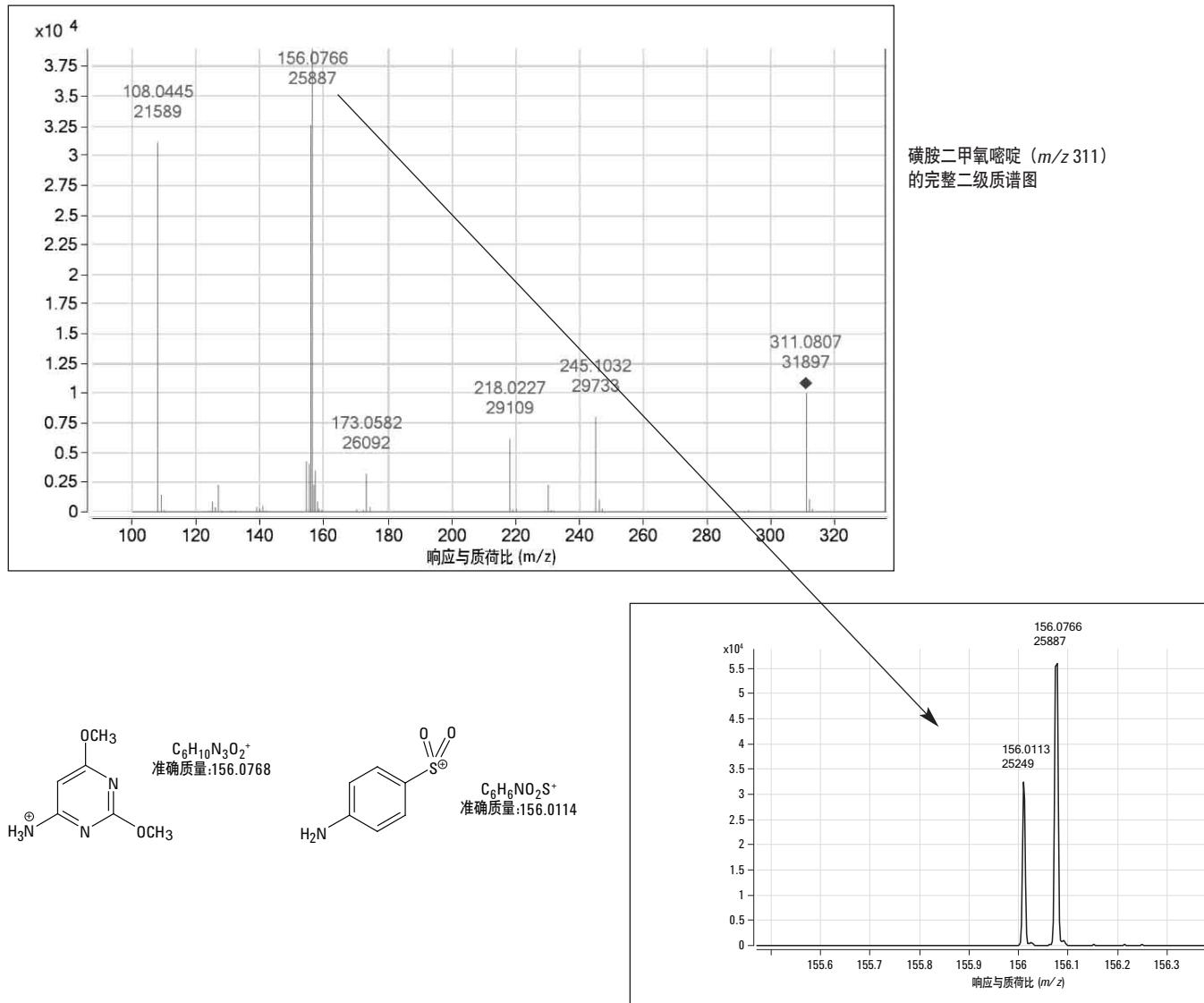


图 1. 安捷伦 6540 超高分辨率精确质量数 Q-TOF 液-质联用系统分析水中的磺胺药物

在快速梯度条件下，三个药物的分析时间小于 3 min，峰宽小于 6 s（见图 1）。磺胺二甲氧嘧啶的分子离子峰的质量精确度和分辨率见图 1。每个组分的测量质量数与理论值的误差都在 0.5 毫道尔顿内，相当于一个电子的质量。根据欧盟指令关于禁用兽药检测鉴定点的要求，分子离子峰可以得到 2 分，在二级质谱中，三个碎片离子中每个离子得到 2.5 分，总共是 9.5 分（见图 1）。所有离子的分辨率都大于 10000（10% 峰谷）或 20000

（FWHM）。磺胺类药物中有一个特征离子，其准确离子是 m/z 156.0114，见图 2，所有的磺胺抗生素的碎片离子都含有这个离子。所以，这个离子的准确质量数可以用于扫描其它的磺胺药物或代谢物。对于这个特征离子，分辨率超过最低要求值 20000（FWHM）。欧盟指令没有规定准确质量，但只是显示了测量值与理论值的误差值。还有的就是，还有一个 m/z 156 的同量异构离子，它的质量数是 156.0768，是磺胺二甲氧嘧啶的另一半结构（见图 2）。



利用精确质量测定的磺胺二甲氧嘧啶分子式随着误差 10 ppm、5 ppm 和 2 ppm 的降低而减少，从 10 ppm 时的 10 个可能分子式，到 5 ppm 的 6 个化学式，到 2 ppm 的 2 个化学式，化学组成计算用 C、H、N、O、S 和 P。图 3 所示，对于磺胺二甲氧嘧啶，将合适的原子输入后计算得到的同位素分布结果。同位素分布中强度较高的 A+2 峰（图 3）表明，分子中含有硫元素。所以，只有误差在 2 ppm 时，才能得到正确的磺胺二甲氧嘧啶分子式。有关使用相对质量亏损来计算分子式的详细信息可参考 LC/TOF-MS 分析书中文献 3。一般情况下，根据一些知名期刊关于未知物分析的发表要求，精确度误差限值设定在 5 ppm。然而，很快能够发现，在遇到大量可能存在的分子式时，这个精度限制是不够的。因此，对高分辨率和精确质量分析来说，建议把精度误差限设为 2 ppm 以下，并且使用同位素分布和丰度。MassHunter 软件包含这些功能。

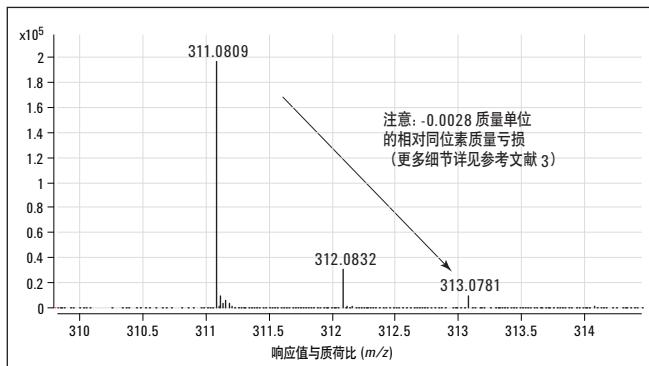


图 3. 磺胺二甲氧嘧啶的同位素分布显示了 A+1 和 A+2 离子，以及硫的相对质量亏损 [3]

康力龙：Q-TOF 液质联用仪上得到的离子的分辨率

N_2 、 CH_2CH_2 和 CO 中性丢失的分子质量数都是 28，可能这对于拥有高分辨率和精确质量数的二级质谱分析来说是最大的挑战之一 [4]。Nielen et al. [4] 的发表文献测定了康力龙（一种禁用合成代谢类固醇）的碎裂丢失，其中包括 N_2 或 CH_2CH_2 的中性丢失，误差等于 0.0252 质量单位。特别指出的是，傅里叶变换质谱和轨道阱质谱可以分辨这样的离子，他们分辨率分别是 ~50000 (FWHM) 和 ~100000 (FWHM)。此外，他们发现，Q-TOF 液质联用仪无法分离同量异构的离子，因此提出了利用超高分辨率的 Q-TOF 液质联用仪来应对这个挑战。

按照这样的方式，我们在安捷伦 6540 精确质量数 Q-TOF 液质联用上，用分辨率大于 40000 (FWHM) 的二级质谱和色谱的联合方式重复了康力龙的分析实验。如图 4 中所示的， m/z 161.1068 和 m/z 161.1317 这两个子离子代表着因为 CH_2CH_2 和 N_2 的质量差异而不同的同量异构离子。两个中性丢失分子精确计算的质量差异是 0.0252 质量单位，而测量值为 0.00249。表 1 所示为 10 个康力龙二级质谱产生的可能的同量异构丢失的中心分子。值得注意的是，所有碎片离子的平均丢失是 0.0252。这与 CH_2CH_2 和 N_2 的差异非常匹配，标准偏差为 0.0002 质量单位，小于 1%。整个质量范围内，所有碎片离子的质量精度大约是 1ppm，分辨率为 25000 (FWHM)（见图 5）。因此，安捷伦 6540 精确质量数 Q-TOF 液质联用仪可以满足康力龙的分析要求，以及满足欧盟关于高分辨率和精确质量数质谱的规定要求。用高分辨质谱得到的分子离子峰和子离子可以准确鉴定禁用的合成代谢类固醇，如康力龙，满足欧盟鉴定点大于 4 的要求。事实上，真正测得的鉴定点等于 $2.0 + 10(2.5)$ ，总鉴定点为 27。

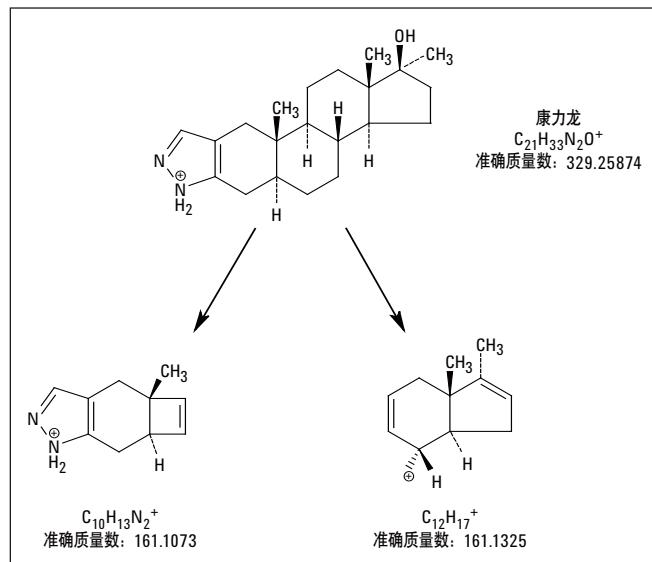


图 4. 禁用合成类固醇（康力龙）的同量异构离子，差异是乙烯离子减去双原子 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}_2$)，即 0.0252 质量单位

表 1. 康力龙子离子的质量精度和差异

子离子	元素组成 MH^+	理论质量数 329.2587	测量离子的 精确质量数 329.2591	质量精 度误差 1.2 ppm	测量误差
229	C15H21N2	229.1699	229.1703	1.7	0.0252
229	C17H25	229.1951	229.1955	1.7	
189	C12H17N2	189.1386	189.1385	-0.5	0.0255
189	C14H21	189.1638	189.1640	1.1	
161	C10H13N2	161.1073	161.1068	-3.0	0.0249
161	C12H17	161.1325	161.1317	-5.0	
149	C9H13N2	149.1073	149.1072	-0.7	0.0248
149	C11H17	149.1325	149.1320	-3.4	
147	C9H11N2	147.0917	147.0914	-2.0	0.0255
147	C11H17	147.1168	147.1169	0.7	
135	C8H11N2	135.0917	135.0917	0.0	0.0252
135	C10H15	135.1168	135.1169	0.7	
119	C7H7N2	119.0604	—	—	
119	C9H11	119.0855	119.0856	0.8	
109	C6H9N2	109.0760	109.0761	0.9	0.0252
109	C8H13	109.1012	109.1013	0.9	
95	C5H7N2	95.0604	95.0604	0.0	0.0252
95	C7H11	95.0855	95.0856	1.1	
81	C4H5N2	81.0447	81.0449	2.5	0.0251
81	C6H9	81.0699	81.0700	1.2	
69	C3H5N2	69.0447	69.0448	1.4	0.0251
69	C5H9	69.0699	69.0699	0.0	
测量离子丢失				0.0252	
相对标准偏差				0.0002	
计算的中性丢失				0.0252	

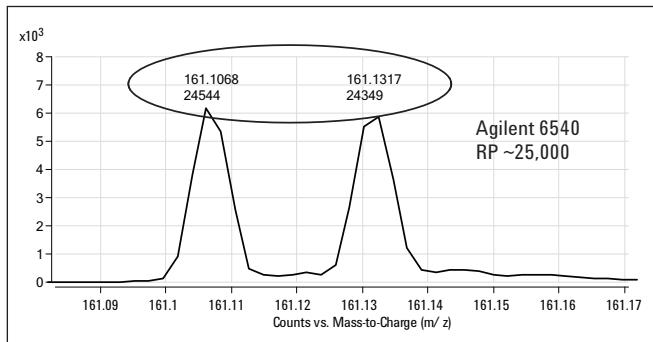


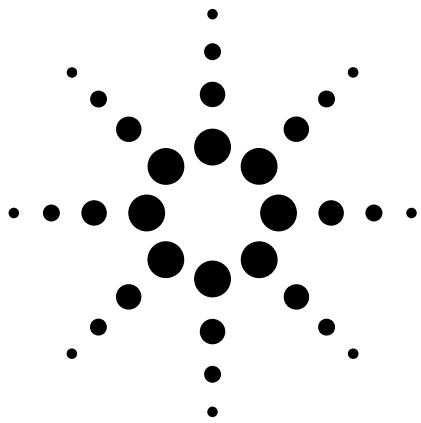
图 5. m/z 161 子离子是康力龙的同量异构子离子。安捷伦 6540 精确质量数 Q-TOF 液-质联用仪可轻易分离和鉴定这两个离子，每个子离子的鉴定点是 2.5

结论

总之，安捷伦 6540 精确质量 Q-TOF 液质联用系统在离子最大调谐质量 (m/z 2721.8948) 下的分辨率 (FWHM) 大于 40000。其同时也与快速色谱分离兼容，对最小的碎片离子分辨率可大于 20000 (FWHM)。这些性能特点可以用于食品中禁用兽药，如康力龙，的准确鉴别以及水中药物和抗生素的可靠分析。还定义了小分子鉴定所需的分辨率，满足欧盟关于高分辨质谱的要求。

参考

1. E. M. Thurman, I. Ferrer, J. A. Zweigenbaum, 2006, “高分辨精确质量数质谱用于食品中外源性物质的分析”, *Analytical Chemistry*, 78: 6703-6708
2. F. Hernandez, J. V. Sancho, M. Ibanez, 2009 Chapter 5, “使用 UHPLC-(Q)TOF MS 进行水中微量有机物的快速筛查分析”, *Liquid Chromatography Time- of-Flight Mass Spectrometry*, Ferrer, I. and Thurman, E.M., John Wiley & Sons, Inc., New York
3. E. M. Thurman, I. Ferrer, Chapter 2, “质量亏损、同位素分布以及精确质量数用于元素组成的测定”, *Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry*, Ferrer, I. and Thurman, E.M., John Wiley & Sons, Inc., New York
4. M. W. F. Nielen, M. C. van Engelen, R. Zuiderent, R. Ramaker, 2007 “精确质量数飞行时间液质联用仪、傅里叶变换质谱和轨道阱质谱用于激素残留检测的筛查和确认分析标准”, *Analytical Chimica Acta*, 586: 122-129
5. O. J. L 221/8 17.8.2002; Commission Decision 2002/657/EC.



LC(IC)-ICP-MS 对 Cr(III) 和 Cr(VI) 的低含量形态分析

应用简报 (5990-9366CHCN)

环境

作者

Mina Tanoshima¹, Tetsushi Sakai¹, Craig Jones²

1. 安捷伦科技, 东京, 日本

2. 安捷伦科技, 圣克拉拉, 美国



引言

铬 (Cr) 可用于不锈钢和其他合金, 通常作为抗腐蚀镀层用于钢铁和其他金属。铬还广泛地应用于印染、防腐和制革工业。铬一般以两种形式存在: Cr(III), 称为 Cr³⁺ 或者三价铬; Cr(VI), 称为 Cr⁶⁺ 或者六价铬。两种氧化态的性质差别很大, Cr(III) 是人体必需的微量元素饮食营养元素, 而 Cr(VI) 是一种常见的致癌物质。因此, 需对多种样品 (包括环境、食品、饮用水、药品和生活用品) 中的铬进行监测和控制。世界各地对饮用水中铬含量的最大限制浓度一般约为 50 到 100 $\mu\text{g/L}$ (ppb) 之间, 但在加利福尼亚的环境保护署 (EPA) 的环境健康风险评估办公室 (OEHHA) 最近发布的公共卫生目标中, 针对饮用水中的 Cr(VI) 提出了“最低风险”控制限, 即饮用水中 Cr(VI) 的浓度为 0.02 $\mu\text{g/L}$ (20 ng/L 或 ppt), 比之前的控制限低了 1000 倍。

预计美国环境保护署也会采取类似措施。例如，根据欧盟对有害物质 (RoHS) 的限制条例，即对电器、电子产品中某些有害物质（包括 Cr(VI)）进行控制，美国 EPA 对废弃物中的 Cr(VI) 也进行了管制。在众多工业领域中，Cr(VI) 的职业照射已被严格控制。最近的研究也显示了与铬慢性接触时摄入低含量 Cr(VI) 的健康风险问题。因此，有必要建立一个常规的、高灵敏度的铬形态分析方法，以测定各种不同类型样品中的 Cr(III) 和 Cr(VI)。以下介绍的是采用带有碰撞/反应池技术在氦池模式操作的 HPLC-ICP-MS 方法。

实验

安捷伦 7700 系列 ICP-MS 配有八极杆反应池系统 (ORS³) 碰撞/反应池 (CRC)，可以在多种干扰存在下为铬 (Cr) 提供灵敏特效的分析。这些干扰来自碳 (ArC) 和氯化物 (ClO)，能够影响铬的两个主要同位素，即 ⁵²Cr 和 ⁵³Cr。ORS³ 在氦模式操作时，可以消除基体引起的多原子对这两个同位素的干扰，使这两个同位素的测量结果经得起内部的比较验证。不过，在直接测定 Cr(VI) 之前必须先将 Cr(III) 分离，一般是在 ICP-MS 测量之前，先采用阴离子交换色谱法 (LC) 或离子色谱法 (IC)。LC/IC-ICP-MS 是一种常规的已得到确认的形态分析技术。单独测定 Cr(VI) 很简单，但是测定 Cr 的两种形态却比较复杂，因为在溶液中 Cr(III) 是阳离子而 Cr(VI) 却是阴离子。在实际样品分析中，检测也因样品中所含的矿物元素在色谱柱上与 Cr 竞争结合位点而受到影响，导致回收率低、保留时间改变。一个最新的研究方法克服了这些挑战。

HPLC 条件

本研究工作采用的安捷伦 1200 高效液相色谱 (HPLC) 配备一个二元泵、自动进样器和真空脱气装置。液相色谱与安捷伦的液相色谱生物兼容套具（零件编号 5065-9972）相匹配，该系统用惰性材料比如 PEEK 代替了液相色谱样品路径中的金属部件。用安捷伦的液相色谱联接套具将 HPLC 和 ICP-MS 联机。阴离子交换色谱柱 (4.6 mm 内径 x 30 mm 多羟基甲基丙烯酸酯树脂) 用于分离。所有实验中，色谱柱都是在环境温度下运行。详细的操作条件见表 1。

ICP-MS 条件

安捷伦 7700x ICP-MS 用于 Cr 的检测，仪器操作条件列于表 1。ORS³ 在氦模式下操作，用以消除 ArC 和 ClOH 对 Cr 的主同位素 m/z 52 和次同位素 m/z 53 基于基体的干扰。为了确认主同位素测量结果的可靠性，除了测量主同位素 ⁵²Cr，还测量了 ⁵³Cr。氦模式是通用型（对所有多原子种类有效）检测模式，因此对于两种 Cr 同位素都是用相同的氦模式条件。

表 1. HPLC 和 ICP-MS 的操作条件

HPLC 参数

色谱柱	安捷伦阴离子交换柱，部件号 G3268-80001 4.6 mm x 30 mm
流动相	5 mM EDTA (2Na) [*] – 5 mM NaH ₂ PO ₄ /15 mM Na ₂ SO ₄ , pH = 7.0 (用 NaOH 调节)
流速	1.2 mL/min
温度	Ambient
注入体积	100 µL

ICP-MS 参数

RF 功率	1550 W
采样深度	8 mm
载气	1.05 L/min
停留时间	0.5 s/isotope
监测同位素	⁵² Cr、 ⁵³ Cr
池气体	He, 4 mL/min

* 本工作采用高纯 Na-EDTA (Dojindo 实验室, 日本)，没有遇到痕量金属污染问题

结果和讨论

在上述条件下, $^{52}\text{Cr}(\text{III})$ 和 $^{52}\text{Cr}(\text{VI})$ 的检出限 (DL) 小于 200 ng/L。检出限以峰-峰信噪比的三倍计算。进样量从 5 μL 到 100 μL 获得的检出限列于表 2。

表 2. 不同注入体积时的 Cr 形态的检出限

注入体积 (μL)	峰高/响应值		噪音	面积/响应值		DL ($\mu\text{g/L}$)	
	$^{52}\text{Cr}(\text{III})$	$^{52}\text{Cr}(\text{VI})$		$^{52}\text{Cr}(\text{III})$	$^{52}\text{Cr}(\text{VI})$	$^{52}\text{Cr}(\text{III})$	$^{52}\text{Cr}(\text{VI})$
5	32621	24233	204	514586	503778	1.88	2.53
20	130764	97934	314	2101007	2007572	0.72	0.96
50	323593	241948	300	5154321	4970771	0.28	0.37
100	632808	475244	274	10204281	9796463	0.13	0.17

表 3. 三种不同矿泉水的主要元素组成

元素	水样 A (ppm)	水样 B (ppm)	水样 C (ppm)
Na	6.5	11.6	9.4
Ca	9.7	11.5	468
Mg	1.5	8	74.5
K	2.8	6.2	2.8
硫酸盐	-	-	1121

图 1 为矿泉水 A 的色谱图: 分别为未加标与加标 10 $\mu\text{g/L}$ $\text{Cr}(\text{III})$ 和 $\text{Cr}(\text{VI})$ 的色谱图。表 4 列出了对三种矿泉水长时间分析的结果 (8 小时, 每个样品 $n=30$)。两个 Cr 同位素 ppb 级加标所获得的极好的长期稳定性和准确回收率证明了该最佳化方法的有效性, 尤其高基体水样 C 更加让人印象深刻。 $\text{Cr}(\text{VI})$ 和 $\text{Cr}(\text{III})$ 峰面积和浓度的 RSD 均小于 2.5%, 证明了该方法对于常规实验室应用具有很好的稳定性和再现性。而且, 加入 EDTA 所形成的 $\text{Cr}(\text{III})$ -EDTA, 避免了 $\text{Cr}(\text{III})$ 和 $\text{Cr}(\text{VI})$ 之间的相互转化, 证明了两形态良好的加标回收率。

饮用水分析

此方法应用于加标和未加标矿泉水中 $\text{Cr}(\text{III})$ 和 $\text{Cr}(\text{VI})$ 的形态分析。检测了三个样品, 一个日本矿泉水 (水样 A)、两个法国矿泉水 (水样 B 和水样 C)。选择的饮用水覆盖了一般矿泉水成份范围。水样 C 矿化度很高 (Ca 含量高于 450 ppm, 硫酸盐含量高于 1000 ppm)。这些水样的主要元素组成列于表 3。

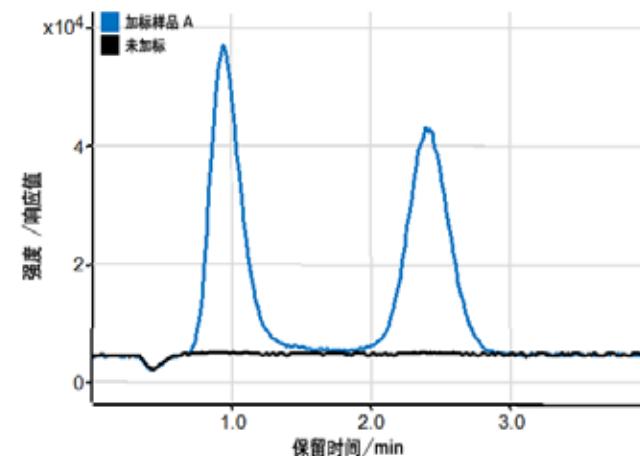


图 1. 矿泉水 A——未加标 (黑色) 和加标 10 $\mu\text{g/L}$ Cr 形态 (蓝色)。 $\text{Cr}(\text{III})$ 大约在 1 分钟被洗脱, $\text{Cr}(\text{VI})$ 大约在 2.5 分钟被洗脱

表 4. 10 $\mu\text{g/L}$ 加标矿泉水的浓度和稳定性试验 (8 小时, $n=30$)

样品	$^{52}\text{Cr}(\text{III})$ -EDTA		$^{52}\text{Cr}(\text{VI})$		
	面积	浓度 $\mu\text{g/L}$	面积	浓度 $\mu\text{g/L}$	
水样 A	平均值	906410	10.4	913019	10.3
	%RSD	1.4	1.4	2.1	2.1
水样 B	平均值	933560	10.7	920154	10.3
	%RSD	1.0	1.0	2.3	2.3
水样 C	平均值	900775	10.3	879234	9.9
	%RSD	0.8	0.8	1.4	1.4

超痕量级 Cr(VI) 的定量

虽然已建立的新方法可以测定饮用水中 Cr(III) 和 Cr(VI) 含量，但美国加利福尼亚州最近（2009）新提出的“公共健康目标”中，规定饮用水中 Cr(VI) 含量不得高于 0.02 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。为了满足这个目标，针对 Cr(VI) 的检测对方法进行了优化，使其具有更高的灵敏度和选择性。方法仍采用相同的色谱柱进行分离，但是增大了进样体积同时降低了流动相中 EDTA (2Na) 浓度。由于这些改动，因为大体积进样产生的水浴干扰使得 Cr(III) 无法定量。

采用大体积进样和改变流动相的方法，Cr(VI) 检出限降低到几个 ng/L (ppt)。如图 2 对 50 ng/L 标准溶液和三个加利福尼亚水样的色谱图所示，尽管饮用水中存在高浓度的阴离子，但是没有出现峰形或保留时间的变化。图 3 Cr(VI) 的校准曲线线性优于 0.9995 (校准范围 0.05-1.00 $\mu\text{g}/\text{L}$)。Cr(VI) 检出限为 0.008 $\mu\text{g}/\text{L}$ (峰-峰信噪比的三倍)。

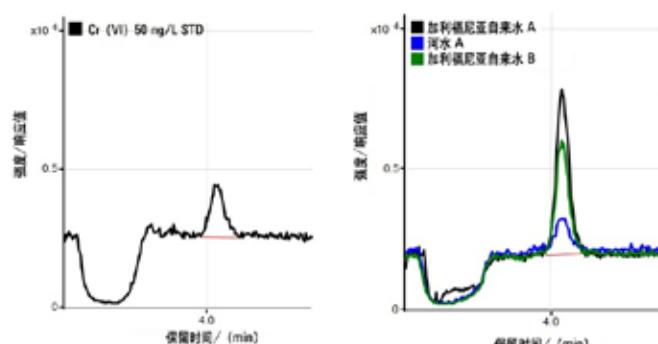


图 2. 50 ng/L Cr(VI) 标准溶液色谱图 (左) 和加利福尼亚州的三个不同水样 (未加标) 色谱图 (右)

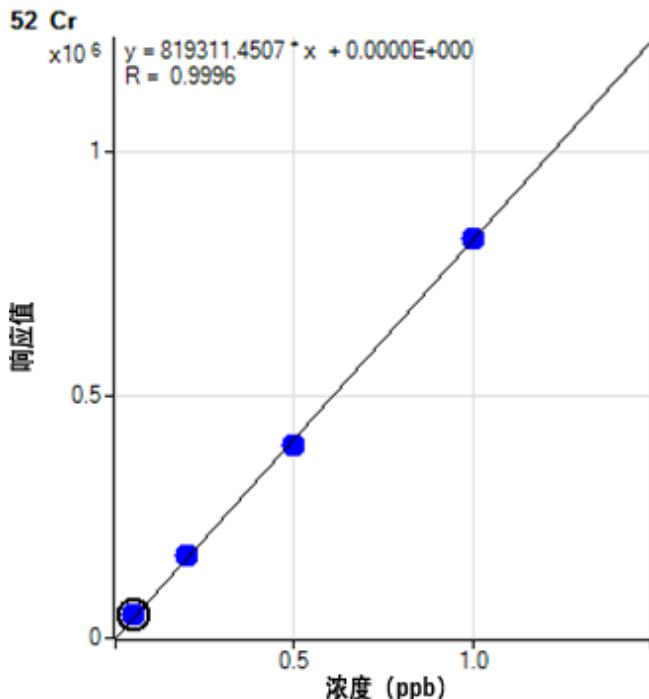


图 3. 利用改进方法测定 Cr(VI) 的校准曲线

表 5 列出了加利福尼亚州的两个饮用水 (自来水 A 和 B) 和一个河水 (河水 A) 样品的分析结果和加标回收率。所有三个样品的 Cr(VI) 实测浓度超出了加利福尼亚提出的 0.02 ppb。自来水 A (未加标和加入 0.5 $\mu\text{g}/\text{L}$ Cr(VI)) 的色谱图如图 4 所示。

表 5. 三个不同水样的分析结果和加标回收率数据 ($0.5 \mu\text{g/L Cr(VI)}$)，单位: $\mu\text{g/L}$

	自来水 A			自来水 B			自来水 C		
	未加标	加标	回收率 (%)	未加标	加标	回收率 (%)	未加标	加标	回收率 (%)
1	0.1840	0.6335	90.58	0.1203	0.6198	99.12	0.0411	0.5231	96.27
2	0.1772	0.6470	93.28	0.1281	0.6222	99.60	0.0423	0.5282	97.30
平均值	0.1806	0.6403	91.93	0.1242	0.6210	99.36	0.0417	0.5256	96.79

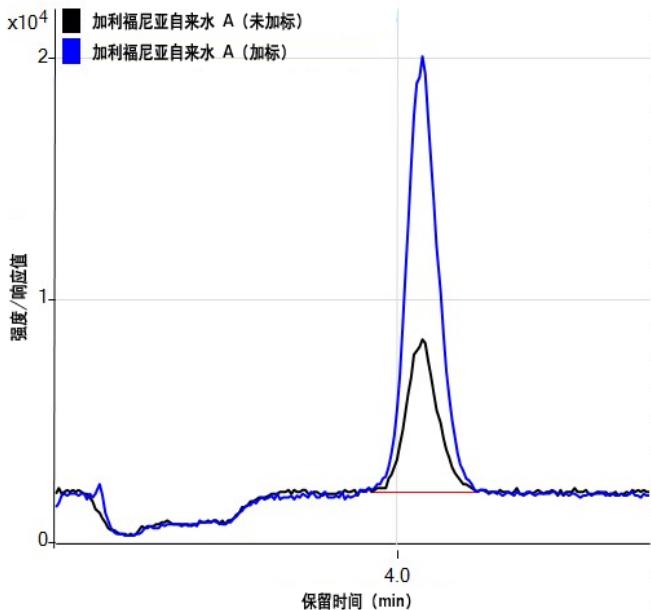
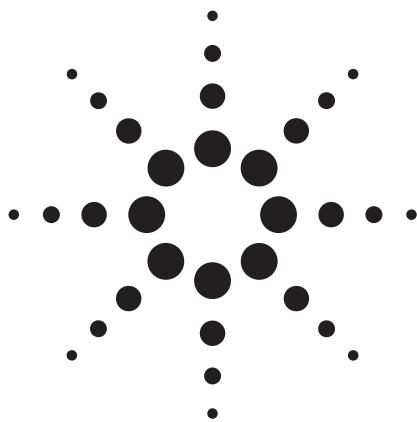


图 4. 加标 ($0.5 \mu\text{g/L}$) 和未加标自来水 A Cr(VI) 的色谱图

结论

本文论证了一个能够准确灵敏测定高矿化度水样中铬形态的分析方法，将阳离子形式的 Cr(III) 与 EDTA 络合转化成阴离子，采用阴离子交换色谱法分离后测定。分析速度快（仅需 3 分钟），能够测定浓度低于 200 ng/L 的两种铬形态。采用调整流动相组成和增大进样体积的改进方法，可以进一步提高 Cr(VI) 的灵敏度。改进后的方法使得 Cr(VI) 的检出限降低到 $0.008 \mu\text{g/L}$ (8ppt)，但是不能同时测定 Cr(III)。改进后的检出限远低于加利福尼亚州提出的 $0.02 \mu\text{g/L}$ 公共健康目标。



液相色谱/四极杆-飞行时间质谱 (QTOF) 分析环境有机物 第二部分：氟调聚类不饱和脂肪酸

应用简报 (5989-9132CHCN)

环境

作者

Jim Lau, Chin-Kai Meng, and Jennifer Gushue
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

Robert J. Letcher and Shaogang Chu
Wildlife and Landscape Science Directorate
Science and Technology Branch
Environment Canada
National Wildlife Research Centre
Carleton University
Ottawa, Ontario, K1A 0H3
Canada

摘要

全氟烷基化合物 (PFASs) 由于其优良的化学惰性、抗热性和防水油的特点而被广泛地用于各种产品。由于全氟烷基化合物 (PFASs) 在野生物中持续存在而且生物积聚的趋势越来越强，因此开始受到关注。由于不同的生产和降解过程，所以环境中存在不同长度的烷基链和功能团的全氟烷基化合物 (PFASs)。液相色谱 / 四极杆 – 飞行时间质谱 (LC/Q-TOF) 是不同样品基质中筛查、定性及定量全氟烷基化合物 (PFASs) 的最佳手段。

本方法中的四极杆 – 飞行时间质谱 (QTOF) 具有优异的质量精确度 (小于 3 ppm) 和高分离度 (> 13,500)。结果表明对于肝脏盲样中的全氟烷基化合物 (PFASs) 具有很好的定量线性。

前言

加拿大环保部的任务是对各种环境基质化合物（包括野生物组织、水、沉积物和空气）的影响进行危险评估分析^[1, 2]。全氟烷基化合物 (PFASs) 由于其优良的化学惰性、抗热性和防水油的特点而被广泛地用于各种产品。一些全氟烷基化合物 (PFASs) 商品包括润滑剂、胶连剂、污渍和灰尘防护剂、纸张涂层和防火泡沫等。由于其独特的化学和生物稳定性，许多全氟烷基化合物 (PFASs) 在野生物的生物积聚的现象越来越严重。近几年来，生活在北极区域的海洋哺乳动物、海鸟以及鱼类中发现了全氟烷基化合物 (PFASs)，这受到人们的关注和担忧。特别是像全氟辛烷磺酸 (PFOS) $[CF_3(CF_2)_7SO_3H]$ 和 8 碳到 15 碳链的全氟羧酸类 (PFCAs) 在北极熊体内的含量与持久性有机氯化合物含量相当甚至更高^[3-5]。

大多数全氟烷基化合物(PFASs)都来自于两个生产过程，分别是电化学氟化(全氟烷基磺酰醇降解为全氟辛烷磺酸，PFOS)和调聚反应(调聚全氟辛基乙醇[FTOHs]转换为全氟辛酸PFOA)。降解途径是：

从8:2调聚全氟辛基乙醇到：

- 主产物：8:2调聚全氟辛基乙醛(8:2 FTAL),
8:2调聚全氟辛基羧酸酯(8:2 FTCA),
以及全氟辛酸(PFOA)
[CF3(CF2)6CO2H]
- 次产物：8:2调聚全氟辛基不饱和羧酸酯(8:2 FTUCA,
CF3(CF2)6CF=COOH和全氟正壬酸(PFNA)

然后从8:2调聚全氟辛基羧酸酯和8:2调聚全氟辛基不饱和羧酸酯(来自上面的化合物的降解物)到：

- 主产物：全氟辛酸(PFOA)
- 次产物：全氟正壬酸(PFNA)

本文以氟调聚类不饱和羧酸酯为例评价在液相色谱/四极杆-飞行时间质谱(LC/Q-TOF)上获得的质量精确度、分离度和定量的结果。

实验部分

样品

本研究中使用三个标准溶液，分别是1 ppb、100 ppb和250 ppb。三个内标物，每个化合物的浓度是50 ppb。第四个样品是肝脏盲样提取物，但是没有三个目标化合物的浓度信息。

目标化合物：

- FHUEA (C8, 6:2 FTUCA)** 2氢-全氟-2-辛烯酸
(CF3(CF2)4CF=CH-COOH)
- FOUEA (C10, 8:2 FTUCA)** 2氢-全氟-2-癸烯酸
(CF3(CF2)6CF=CH-COOH)
- FDUEA (C12, 10:2 FTUCA)** 2氢-全氟-2-十二碳烯酸
(CF3(CF2)8CF=CH-COOH)

内标物：

- MFHUEA 2氢-全氟-[1,2-¹³C₂]-2-辛烯酸
CF3(CF2)4CF=C13H-C13OOH
- MFOUEA 2氢-全氟-[1,2-¹³C₂]-2-癸烯酸
CF3(CF2)6CF=C13H-C13OOH
- MFDUEA 2氢-全氟-[1,2-¹³C₂]-2-十二碳烯酸
CF3(CF2)8CF=C13H-C13OOH

仪器参数

所有的样品分析都是在安捷伦高分离度快速液相色谱/四极杆-飞行时间质谱联用仪上进行的。

质谱的参数都是以自动调谐得到的参数。测量了每个组分的质量精确度、灵敏度和分离度。但是针对喷雾的形式、液相色谱流速和样品的热稳定性，对离子源的条件作了优化。

流动相A	3 mM 醋酸铵水溶液
流动相B	甲醇
色谱柱	ZORBAX XDB 2.1 mm × 50 mm, C-18, 3.5-μm 粒度
流速	0.5 mL/min
进样量	10 μL
质谱	扫描速度 2.5 谱图/秒 50 至 1,100 <i>m/z</i>
负离子模式的参比离子	<i>m/z</i> 113, 1034
Q-TOF的参数	自动调谐
干燥气	12 L/min 氮气；温度是 300 °C
雾化器压力	50 psi
电喷雾(-)	3 KV
碰撞电压	275 V

结果与讨论

表1显示了六个化合物的质量精确度和分离度。每个化合物的质量精确度优于3 ppm，分离度高于13,500。表2为化合物的定量离子和分析结果。定量离子不是分子离子，而是由碰撞解离产生的碎片离子。碎片是分子离子丢失“FCOOH”基团的离子([M-H]⁻ - 64)。校正曲线的范围是1至250 ppb(也就是10 pg至2.5 ng的柱上进样量)。1 ppb的三个标准物得到了极好的信噪比，结果如图1所示，谱图未经平滑处理。

利用Q-TOF对肝脏提取物的三个化合物添加的盲样进行了定量分析。对于三个化合物获得了很好的定量结果。

化合物	测量	真实值	
FOUEA	4.0 ppb	5 ppb	
FHUEA	2.7 ppb	5 ppb	
FDUEA	6.7 ppb	5 ppb	通过与内标化合物比较，肝脏基质样品有离子抑制效应产生。使用带有大气压光电离 (APPI) 的三重串联四极杆液质联用 (LC/QQQ) 系统在分析调聚全氟辛基乙醇和全氟磺酰胺方面更有效 ^[6] 。

表 1. 六个全氟烷基化合物测得的质量精确度和分离度

	化学式	质量精确度 (ppm)	分离度
FHUEA	$C_8H_2F_{12}O_2$	-0.98	13692
MFHUEA	$[^{13}C]_2C_6H_2F_{12}O_2$	-0.39	13789
FOUEA	$C_{10}H_2F_{16}O_2$	-0.19	14018
MFOUEA	$[^{13}C]_2C_8H_2F_{16}O_2$	-2.08	13564
FDUEA	$C_{12}H_2F_{20}O_2$	-0.62	15399
MFDEA	$[^{13}C]_2C_{10}H_2F_{20}O_2$	-1.33	14322

表 2. 全氟烷基化合物的定量离子和线性 (定量离子是分子离子减去 “FCOOH” 基团)

	化学式	定量离子 [M-H] ⁻	定量离子 ([M-H] ⁻ - 64)	R ² (1-250 ppb)
FHUEA	$C_8H_2F_{12}O_2$	357	293	0.9992
MFHUEA	$[^{13}C]_2C_6H_2F_{12}O_2$	359	294	-
FOUEA	$C_{10}H_2F_{16}O_2$	457	393	0.9998
MFOUEA	$[^{13}C]_2C_8H_2F_{16}O_2$	459	394	-
FDUEA	$C_{12}H_2F_{20}O_2$	557	493	0.9972
MFDEA	$[^{13}C]_2C_{10}H_2F_{20}O_2$	559	494	-

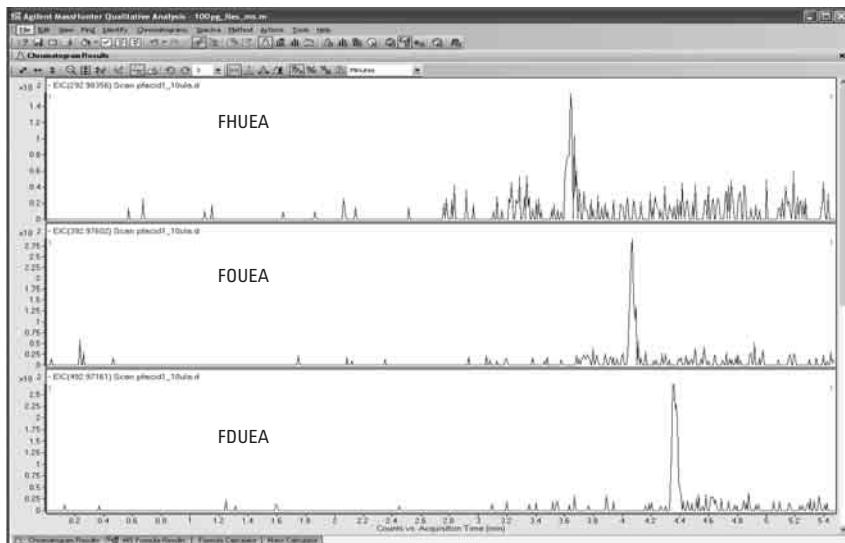


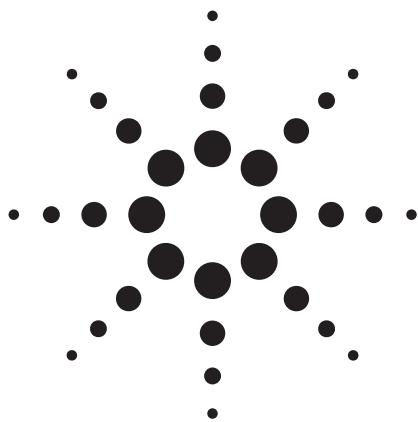
图 1. 1 ppb 全氟烷基标样的定量离子的萃取离子流图 (信噪比大于 5, 信号未平滑处理)

结论

液相色谱/四极杆 – 飞行时间质谱 (LC/Q-TOF) 的最大的优势质量精确度、线性动态范围以及信噪比。对于环境应用，使用 Q-TOF 可以明显降低由于复杂基质而导致的干扰，从而提高结果的精度。本应用中使用的 Q-TOF 具有优良的质量精确度（小于 3 ppm）和高分离度 (> 13,500)。结果表明对于肝脏盲样中的提取物具有优异的定量结果。

参考文献

1. Jim Lau, Chin-Kai Meng, Jennifer Gushue, Mehran Alaee, and Vimal Balakrishnan, "Analyzing Compounds of Environmental Interest Using an LC/Q-TOF – Part 1: Dyes and Pigments," Agilent Technologies publication 5989-9336EN, August 2008.
2. Jim Lau, Chin-Kai Meng, Jennifer Gushue, Mark Hewitt, and Suzanne Batchelor, "Analyzing Compounds of Environmental Interest Using an LC/Q-TOF – Part 3: Imidacloprid and Manool," Agilent Technologies publication 5989-9129EN, August 2008.
3. J. W. Martin, M. M. Smithwick, B. M. Braune, P. F. Hoekstra, D. C. G. Muir, and S. A. Mabury, "Identification of Long-Chain Perfluorinated Acids in Biota from the Canadian Arctic," *Environ. Sci. Technol.*, 2004, 38, 373–380.
4. M. M. Smithwick, D. C. G. Muir, S. A. Mabury, K. R. Solomon, J. W. Martin, C. Sonne, E. W. Born, R. J. Letcher, and R. Dietz, "Perfluoroalkyl Contaminants in Liver Tissue from East Greenland Polar Bears (*Ursus maritimus*)," *Environ. Toxicol. Chem.*, 2005, 24, 981–986.
5. M. M. Smithwick, S. A. Mabury, K. R. Solomon, C. Sonne, J. W. Martin, E. W. Born, R. Dietz, A. E. Derocher, R. J. Letcher, T. J. Evans, G. W. Gabrielsen, J. Nagy, I. Stirling, M. K. Taylor, and D. C. G. Muir, "Circumpolar Study of Perfluoroalkyl Contaminants in Polar Bears (*Ursus maritimus*)," *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39, 5517–5523.
6. S. G. Chu and R. J. Letcher, "Methodological Comparison of the Determination of Fluorotelomer Alcohols and Perfluorinated Sulfonamides in Biotic Samples by Liquid Chromatography-Atmospheric Pressure Photoionization and -Electrospray Mass Spectrometry," in preparation.



液相色谱/四极杆-飞行时间质谱 (LC/Q-TOF) 分析环境有机物 第三部分：吡虫啉和汨杉醇

应用简报 (5989-9129CHCN)

环境

作者

Jim Lau, Chin-Kai Meng, and Jennifer Gushue
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

L. Mark Hewitt and Suzanne Batchelor
Aquatic Ecosystem Protection
Research Division
Water Science and Technology Directorate
Environment Canada
867 Lakeshore Road
Burlington, ON, L7R 4A6
Canada

摘要

纸浆厂、排污口或者农药径流将大量的废水以复杂混合物的形式排放至水生环境中。本研究以两类排放物（杀虫剂和纸浆厂冷凝物）来说明液相色谱 / 四极杆-飞行时间质谱 (LC/Q-TOF) 的灵敏度、线性范围和定量分析功能。

前言

加拿大环境署的任务是对各种化合物对环境的影响和潜在风险进行评估^[1,2]。纸浆厂、排污口或者农药径流将大量的废水以复杂混合物的形式排放至水生环境中。固相萃取 (SPE) 或凝胶渗透色谱 (GPC) 和 GC/MS 通常用来表征排放物。液质联用技术已被用来鉴定这些极难检测的极性化合物。然而，LC/MS 鉴别未知的极性化合物的潜力还有待开发。

本研究采用了两种类型的排放物来说明 Q-TOF 的灵敏度、线性范围、数量和定性分析功能。吡虫啉（一种杀虫剂）用 GC / MS 分析较为困难。它已被用于加拿大大西洋地区（来自马铃薯田间的径流），而且确实存在一些此杀虫剂的非定标毒理学影响。Q-TOF 的精确质量和定量分析能力对目标化合物的常规检测至关重要。

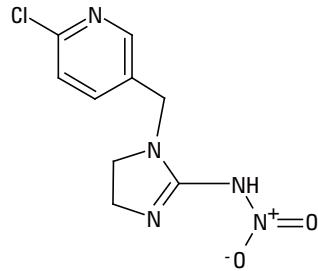
另一个样品是纸浆厂冷凝物。纸浆厂是加拿大最大的淡水用户。漂白制浆和造纸厂的终出水是已知的污染源，它会影响鱼的生殖内分泌稳态^[3, 4]。加拿大环境署与纸浆厂有着密切的合作，已建立了反渗透过程帮助纸浆厂满足其废水的监管要求的毒性。汨杉醇，树中的萜类化合物，是通过反渗透过程而去除的化合物之一，它被怀疑是引起鱼的生殖问题的相关化合物。需要通过分析来确认反渗透处理之后冷凝物中是否还存在上述化合物。Q-TOF 能筛选和识别杂质和降解产物。

实验部分

样品

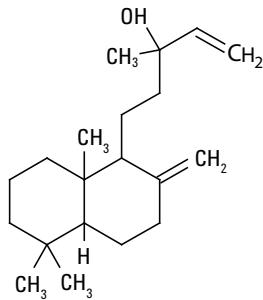
图 1 和图 2 给出了本研究的两种化合物。吡虫啉的校准溶液 (10 ppb、20 ppb、50 ppb、100 ppb 和 200 ppb) 通过 10.11 ppm 的储备液 (甲醇作溶剂) 制备而成。一个未知浓度的吡虫啉作为盲样用于评估 Q-TOF 的定量能力。

泪杉醇及储备液 (甲醇作溶剂) 和纸浆提取物通过反渗透过程处理。



分子式: C₉H₁₀ClN₅O₂
CAS: 13826-41-3
分子量: 255.05230

图 1. 吡虫啉



分子式: C₂₀H₃₄O
CAS: 596-85-0
分子量: 290.26095

图 2. 泪杉醇

仪器参数

所有的样品分析都是在 Agilent 1200 SL 型高分离度快速液相色谱/Agilent 6520 四极杆-飞行时间质谱联用系统上进行的。

质谱的参数都是以自动调谐得到的参数。不改变 6520 Q-TOF 任何参数, 只是针对雾化室类型、液相色谱流速和样品的热稳定性对离子源的条件进行优化, 测定了每个组分的质量精确度、灵敏度和分辨率。

流动相 A	5 mM 醋酸铵溶液, pH 4
流动相 B	甲醇
液相色谱柱	ZORBAX XDB 2.1 × 50 mm, C-18, 粒径 3.5 μm
流速	0.5 mL/min
进样量	5 μL
MS	扫描速度 2 谱图/秒 50 至 1,100 m/z
正离子模式的参比离子	m/z 121, 922
自动质谱/质谱	2 谱图/秒扫描和 2 谱图/秒质谱/ 质谱扫描
Q-TOF 参数	自动调谐
干燥气	12 L/min 氮气
干燥气温度	300 °C (吡虫啉), 150 °C (泪杉醇)
雾化器压力	50 psi
ESI (+)	3 KV
碰撞电压	120 V

结果与讨论

吡虫啉

图 3 是来自 Mass Hunter 软件的“一览全貌”界面。所有的样品分析结果都列在界面的上半部分。校正曲线和每个化合物的定量离子都显示在界面的下半部分。所有的校准标样 (10 ppb、20 ppb、50 ppb、100 ppb 和 200 ppb) 和样品都重复分析三次, 以计算出精确度和精密度。

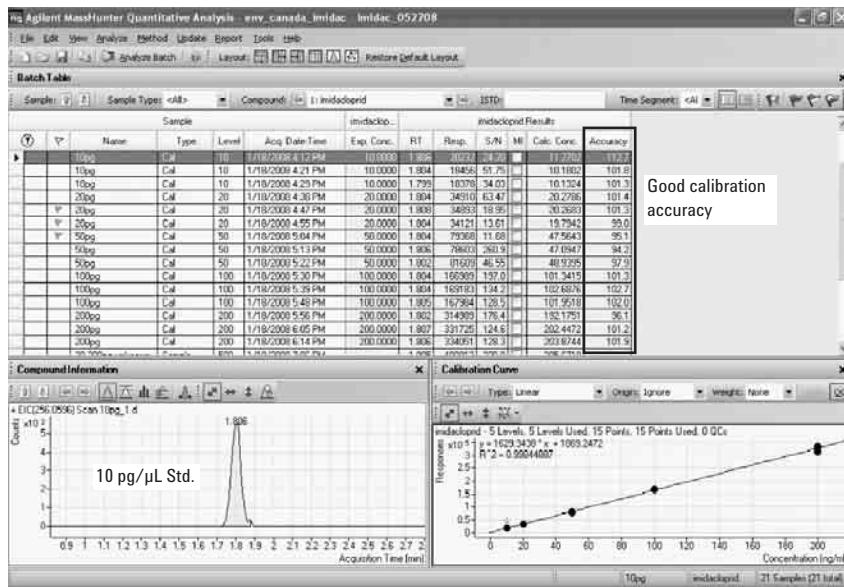


图3. 来自 Mass Hunter 软件的“一览全貌”界面显示了吡虫啉的定量分析和校正曲线结果

校正曲线的相关系数 (R^2) 是 0.9984 而且每个标样的准确度在 94% 至 113% 之间。未知吡虫啉浓度的样品定量结果 (三次分析) 分别是 305 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、287 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 296 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。测量结果与真实值 (303.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 极为接近。与真实值差异最大点的误差小于 6% (287 相对于 303.3)。表 1 为每个校准标样的精密度结果 (每个样品进样三次)。结果表明液相色谱/四极杆-飞行时间质谱 (LC/Q-TOF) 具有良好的精确度和精密度。

表1. 每个校准标样和未知样品的仪器精度 (每个浓度水平进样三次)

Level	%RSD
10	5.5
20	1.3
50	2.0
100	0.7
200	3.2
(303.3)	3.1

表2. 不同浓度吡虫啉 ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{ClN}_5\text{O}_2$) 的质量精确度

	精确质量数	理论值 MH^+	测量值 MH^+	精确度
10 ppb	255.052299	256.05958	256.06003	1.76 ppm
200 ppb	255.052299	256.05958	256.05984	1.03 ppm

表2 显示 10-ppb 吡虫啉标样的质量精确度为 1.76 ppm; 200-ppb 标样的质量精确度为 1.03 ppm。结果表明在自动调谐条件下, 质量精确度和动态范围都得到了最优。

泪杉醇

泪杉醇的甲醇溶液在液相色谱/四极杆 - 飞行时间质谱联用仪上被分析。多组分的峰显示在图 4 中。其中几个峰是与泪杉醇相关的杂质峰 (二萜类)。有趣的是在 Q-TOF 上没有发现 4 泪杉醇的 MH^+ 峰 (见图 5)。最强的色谱峰是 $\text{MH}^+ \text{- H}_2\text{O}$ 。其它离子包括 $\text{MNH}_4^+ \text{- H}_2\text{O}$, MNH_4^+ 和 MNa^+ 。热中性丢失离子由二级质谱得到确认。图 6 和 7 分别是 m/z 308 和 290 离子的一级和二级质谱图。两个离子的二级质谱图相似, 说明母离子类似, 差异是丢失一个水分子 (m/z 18)。

纸浆厂的冷凝提取物也在液相色谱 / 四极杆 - 飞行时间质谱联用仪上被分析。图 8 是总离子流图叠加图，并且利用分子特征提取功能找到了质荷比最大的 15 个化合物（质荷比在 m/z 200 至 600 之间）。

- $C_{20}H_{30}O_4$ (邻苯二甲酸二己酯)
- $C_{20}H_{34}O$ (泪杉醇)
- $C_{22}H_{34}O_4$ (邻苯二甲酸二庚酯)
- $C_{24}H_{38}O_4$ (邻苯二甲酸二辛酯)

还有一些未知的化合物，其分子式为 $C_{20}H_{30}O$, $C_{20}H_{30}O_3$ 以及 $C_{20}H_{34}O_2$ ，怀疑是含 20 个碳原子的泪杉醇的二萜类化合物。

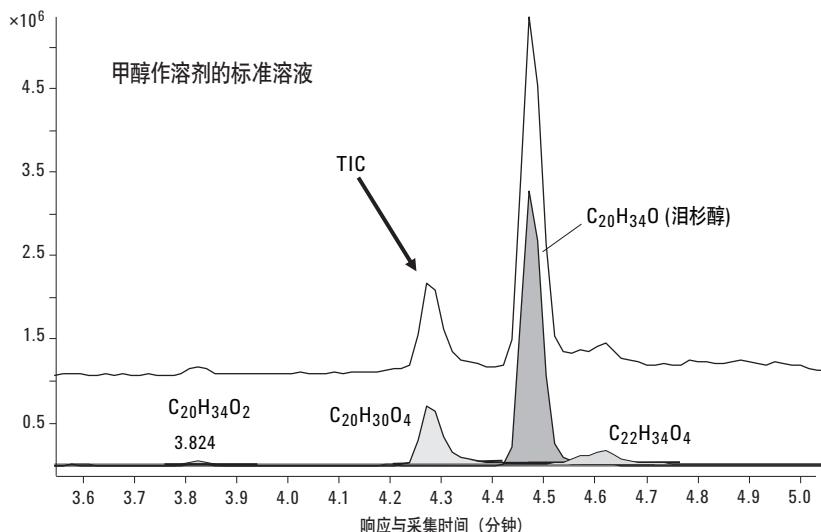


图 4. 泪杉醇及杂质的表征

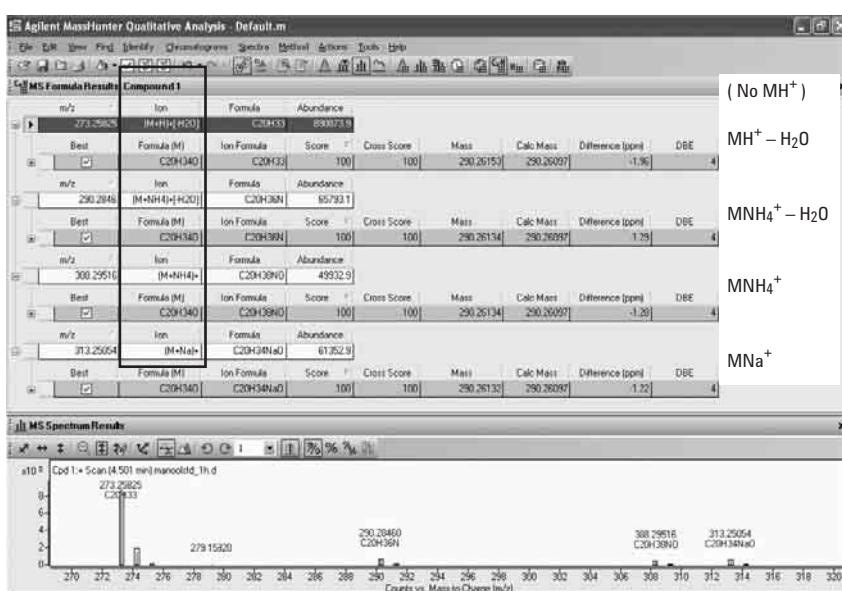


图 5. 泪杉醇的表征。质谱显示了所有的可能性(例如, 丢失峰, 附加离子)

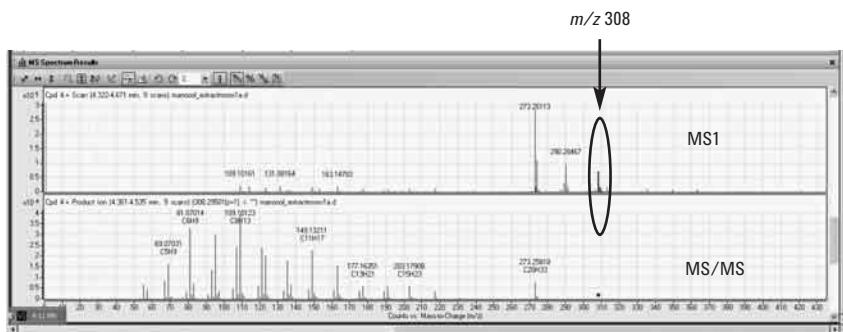


图 6. 确认热中性丢失离子来源的纸浆厂流出物样品的二级质谱图，图中质荷比为 308 (汨杉醇+NH₄)⁺

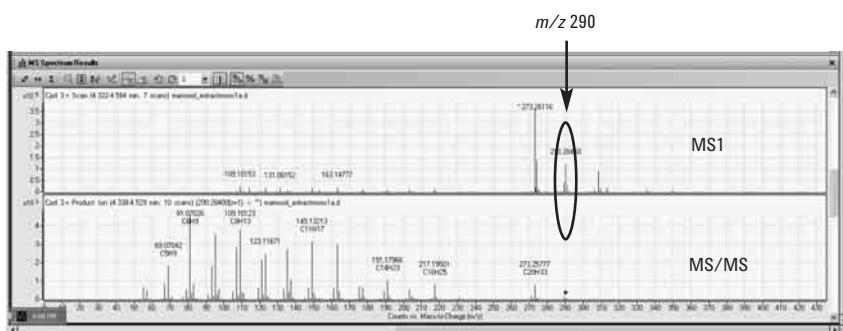


图 7. 确认热中性丢失离子来源的纸浆厂流出物样品的二级质谱图，图中质荷比为 290 (汨杉醇-H₂O + NH₄)⁺

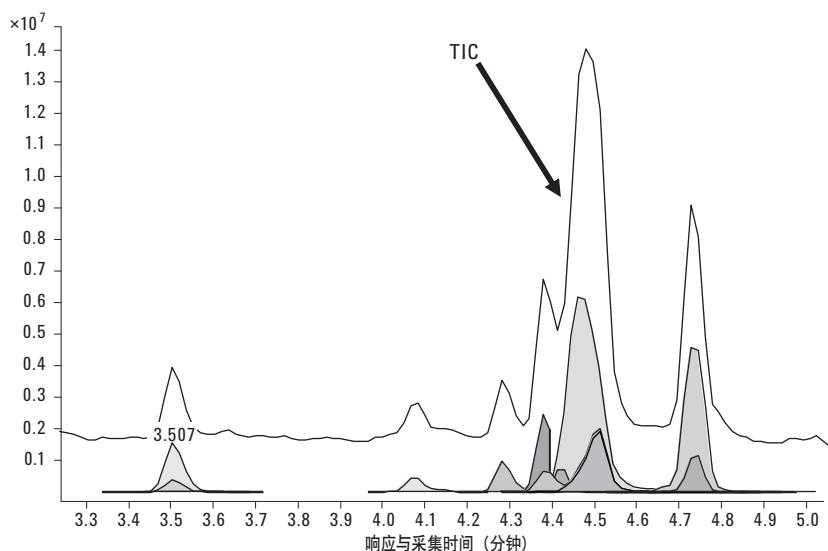


图 8. 分子特征提取提取的 15 个最大质荷比在 200 至 600 之间的组分的总离子流图

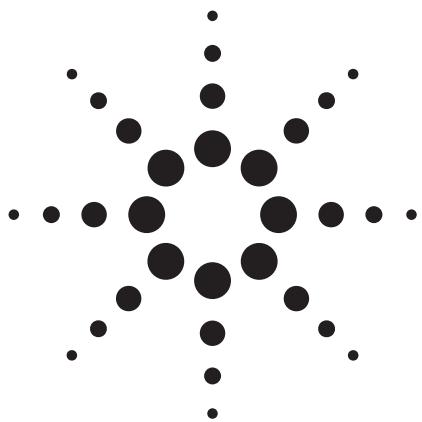
结论

对于吡虫啉分析，在液相色谱 / 四极杆 – 飞行时间质谱联用仪上获得了极佳的质量精确度(< 2 ppm)、精密度(%RSD < 6%)和定量结果准确度(准确度 < 6%)。

通过精确质量数数据库检索和 Q-TOF 的化合物分子式检索或分子特征提取还鉴定出了多个汨杉醇的相关化合物（萜烯类）。降低离子源温度和流动相里加醋酸铵对于获得分子离子和二级质谱离子至关重要。

参考文献

1. Jim Lau, Chin-Kai Meng, Jennifer Gushue, Mehran Alaee, and Vimal Balakrishnan, "Analyzing Compounds of Environmental Interest Using an LC/Q-TOF – Part 1: Dyes and Pigments," Agilent Technologies publication 5989-9336EN, August 2008.
2. Jim Lau, Chin-Kai Meng, Jennifer Gushue, Robert J. Letcher, and Shaogang Chu, "Analyzing Compounds of Environmental Interest Using an LC/Q-TOF – Part 2: Fluorotelomer Unsaturated Acids," Agilent Technologies publication 5989-9132EN, August 2008.
3. L. Mark Hewitt et al., "Isolation of Compounds from Bleached Kraft Mill Recovery Condensates Associated with Reduced Levels of Testosterone in Mummichog (*Fundulus heteroclitus*)," *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 21, No. 7, pp. 1359–1367, 2002.
4. L. Mark Hewitt et al., "Altered Reproduction in Fish Exposed to Pulp and Paper Mill Effluents: Roles of Individual Compounds and Mill Operating Conditions," *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 27, No. 3, pp. 682–697, 2008.



使用精确质量、同位素比和串联质谱对水中的个人护理用品进行分析

应用简报 (5989-7339CHCN)

环境

作者

Michael Zumwalt
安捷伦科技有限公司
9780 S Meridian Blvd.
Englewood, CO 80112-5910
美国

David Weil
安捷伦科技有限公司
10 N. Martingale Road, Suite 550
Schaumburg, IL 60173-2292
美国

Chin-Kai Meng
安捷伦科技有限公司
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
美国

摘要

采用 Agilent 6510 四极杆飞行时间质谱 (QTOF) 分析地表水样品中存在的药物。采用快速分离高通量 Extend C18 色谱柱 (粒径 1.8 μm) 运行一个简单的梯度洗脱程序。在 54 种潜在的化合物中, 使用安捷伦分子特征提取算法 (MFE) 在一个样品中鉴定出多达 11 种化合物。另一种算法 (即 Mass Profiler) 也被应用于 MFE 数据处理过程, 用来对几个样品进行比较。由于 MFE 根据特征可能生成数千个潜在化合物, 所以用 Mass Profiler 对两个不同样品的特征进行统计比较时, 能够判断出哪一个是独有的, 哪一个是共存的。所有工作都采用全扫描质谱数据进行。确定目标化合物时, 可借助精确质量全扫描串联质谱进行结构鉴定。

前言

在 20 世纪后三十年里, 化学污染的研究主要被限定为农药污染。随着 C. Daughton [1] 有影响力的文章的发表, 研究重心开始逐渐转移到药物和个人护理用品 (PPCP) 对环境的影响上。许多药物 (包括雌激素), 已被公认为内分泌干扰物, 或者干扰机体激素生理功能的化学药品。2004 年, 一份来自美国地质调查局 (USGS) 的报告 [2] 显示, 波托马克河中的小口黑鲈出现了很多的雌雄同体的现象 (雄鱼表现出雌鱼的特征)。

USGS 已经在波托马克河中发现了含有已知或推测为内分泌干扰化合物的农药、阻燃剂和个人护理用品。这些化合物之所以不断成为新出现的污染物被人们所熟知, 是因为它们不在当前的任何监控目标物名单中, 却仍在不断地被发现。因此, 运用足够强大的技术手段去鉴定这些化合物及其可能的代谢物是非常重要的。

在全扫描（质量范围）质谱（MS）中使用精确质量，可得到用来鉴定的化合物的经验式。此外，高度的质谱分辨率可以实现共流出化合物的选择性鉴定。同位素比也是有助于鉴定高碳数化合物，以及包含氯和硫的化合物的有效工具。虽然这些工具的应用可以在很大程度上确证化合物的分子式，但用户还是需要判断哪一个才是同分子量化合物可能的结构。

为了辅助结构鉴定的分析需要，我们使用了四极杆飞行时间质谱（QTOF）的选择性串联质谱。因为安捷伦四极杆飞行时间质谱在串联质谱阶段仍可获得非常精确的质量，更容易确定子离子的结构（即母离子的次级结构）。因此，与派生出的经验式有关的可能的结构数目就从多个降为一个。

需要从环境中寻找的药物监测名单总是在不断增加，其中有许多是结构未知的代谢物。鉴定这些化合物需要四极杆飞行时间质谱技术。此外，在 10-100 s 的相对较短的运行时间里鉴定样品中的这些化合物，快速扫描功能也是十分必要的。安捷伦四极杆飞行时间质谱能以每秒 20 张质谱图的速度采集全扫描质谱数据。这些海量的数据可能蕴含着数目众多的化合物，这就需要将它们转换为有用的信息。安捷伦分子特征提取（MFE）是 MassHunter 定性分析软件中的一个标准模块，它可运行以下步骤：

- 持续移除化学背景
- 消除共流出干扰
- 识别并归类同位素组
- 2D/3D 数据可视化
- 化学识别（精确质量、同位素匹配）
- 检索数据库（NIST、ChemIDPlus）

除了使用质量特征提取算法从色谱数据中抽取化合物特征外，另一个被称为 Mass Profiler 的算法也被用于不同样品的特征分析，来确定差异和共性。通过对每个样品进样分析三次，或者分析同一来源的多个样品，来确定采用 MFE 提取的样品特征在统计学上的一致性。各样品的称取结果称为一组。可对两组不同来源的样品进行比较，观察其特征差异是独有的还是具有共性的；若存在共性，可观察其丰度是否有差异。

采用固相萃取法对一批水样进行过滤和提取，能够使富集倍数增加约 1000 倍。本文分析的样品中包含 10-100 ppb 浓度水平的化合物，即其在原水样中相应的浓度范围为 10-100 ppt。这些可能存在于这些样品中的化合物及其精确中性质量见表 1。

表 1. 给定样品中可能存在的化合物名单及其中性质量

化合物	中性质量	化合物	中性质量	化合物	中性质量
对乙酰氨基酚	151.06333	苯海拉明	255.16231	帕罗西汀	329.14272
沙丁胺醇	239.15214	度洛西汀	297.11873	雷尼替丁	314.14126
阿司匹林	180.04226	依那普利拉	348.16852	舍曲林	305.07380
安非他酮	239.10769	红霉素	573.51210	辛伐他汀	418.27192
咖啡因	194.08038	氟西汀	309.13405	磺胺氯哒嗪	284.01347
卡马西平	236.09496	氟伏沙明	318.15551	磺胺地索辛	310.07358
西咪替丁	252.11572	呋塞米	330.00772	磺胺二甲嘧啶	278.08375
氯贝酸	214.03967	吉非罗齐	250.15698	磺胺甲二唑	270.02452
西酞普兰	324.16379	氢氯噻嗪	296.96447	磺胺甲噁唑	253.05211
可待因	299.15215	酮洛芬	254.09429	噻苯达唑	201.03607
可替宁	176.09496	咪康唑	413.98602	三氯卡班	313.97805
脱氢硝苯地平	344.10084	萘普生	230.09429	三氯生	287.95116
双氯芬酸	295.01668	诺氟西汀	295.11840	甲氧苄啶	274.14298
地尔硫卓	414.16133	去甲舍曲林	293.05000	文拉法辛	267.12593
		1,7-二甲黄嘌呤	180.06473	华法林	308.10486

实验部分

样品制备

制备好的样品由位于科罗拉多州丹佛市的美国地质调查局国家水质实验室 (USGS/NWQL) 提供。样品制备过程的细节不包括在本应用中，但可以根据需要提供。一般采用内含 0.5 g 聚合物吸附剂的一次性聚丙烯注射器式固相萃取小柱从地表水中提取药物。通过泵压使 1 L 样品通过固相萃取 (SPE) 小柱。随后分析物被 1 mL 甲醇洗脱，浓度可被提高三个数量级。

液质联用系统 方法说明

液相色谱条件

Agilent 1100 系列二元泵、脱气机、孔板进样器和柱温箱

色谱柱 Agilent ZORBAX RRHT Extend C18
2.1 mm x 50 mm, 1.8 μ m
安捷伦部件号: 727700-902

柱温 40 °C

流动相 A = 0.1% 甲酸水溶液
B = 0.1% 甲酸乙腈溶液

流速 0.3 mL/min

进样体积 5 μ L

梯度程序
时间 (min) %B
0.0 0
10.0 67 停止时间: 15 min
11.0 100 后运行时间: 10 min

质谱条件

模式 正离子电喷雾离子化，使用 Agilent G3251A

Dual ESI 源

雾化器压力 40 psig

干燥气流速 9 L/min

干燥气温度 350 °C

毛细管电压 3500 V

扫描范围 m/z 50–1000

扫描速度 1 次扫描/s

串联质谱条件

碰撞能量 30 V

扫描范围 m/z 50–1000

扫描速度 1 次扫描/s

结果与讨论

对所分析的几个样品中的样品 4 和 10 进行讨论。为了了解当前的工作，我们在图 1 中展示了一张样品 4 首次进样的总离子流和基峰的重叠色谱图。基峰色谱图的生成有助于分析人员鉴别色谱图中的色谱峰所对应的实际化合物。图 2 为展示了这种峰顶端的质谱图。注意这张质谱图的复杂性和困难性，困难性主要是指我们不仅要判断哪个峰有价值（因为它们可能属于共流出的化合物），还不得不把这种情况推演到色谱图的其它一些峰上。

利用分子特征提取程序算法处理这些数据文件，可以得到经过处理的色谱图，其等值线图见图 3。上部左侧的色谱图是未经加工的 TIC，与图 1 展示的相同。右侧是经过如上所述步骤处理的色谱图。随机背景噪音已经被去除。下列每张色谱图都有与之相对应的等值线图，代表了 m/z 表示的质谱数据点和色谱保留时间点。左下角的等值线图展示了分布非常稠密的数据点，其中大多数都是随机噪音。

右下角的等值线图是处理过的数据结果，所以生成的大量分子特征可用于进行进一步仔细分析。实际上，可采用下述设置进行数据过滤。该样品首次进样大约生成了 5431 个特征：

- 谱图的信噪比 > 2
- 质量范围: m/z 150 - 800
- 考虑 $[M + Na]^+$ 与 $[M + NH_4]^+$ 加合离子
- 谱图相对强度 > 0.1%
- 每个特征必须包含至少 2 个离子

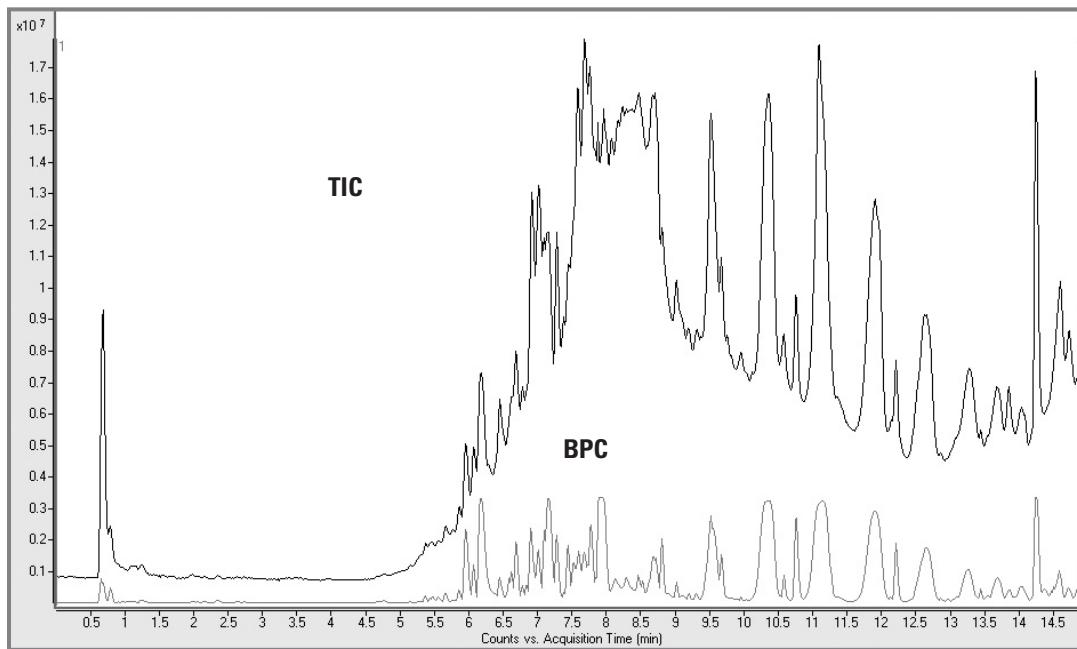


图 1. 样品 4 的总离子流色谱图 (TIC) 和基峰色谱图 (BPC) 的叠加图

假如我们现在需要考察已经发现的一些特征，我们可以从图 2 色谱峰顶点的谱图开始。保留时间为 6.445 min，在 6.448 min 时 MFE 生成的特征见图 4。图上部未处理的谱图与图 2 匹配。

然而，在图的底部显示了处理过的包含 12 个生成特征的谱图，去除了随机噪音并进行过滤。特征列表的一部分见图右侧所示。

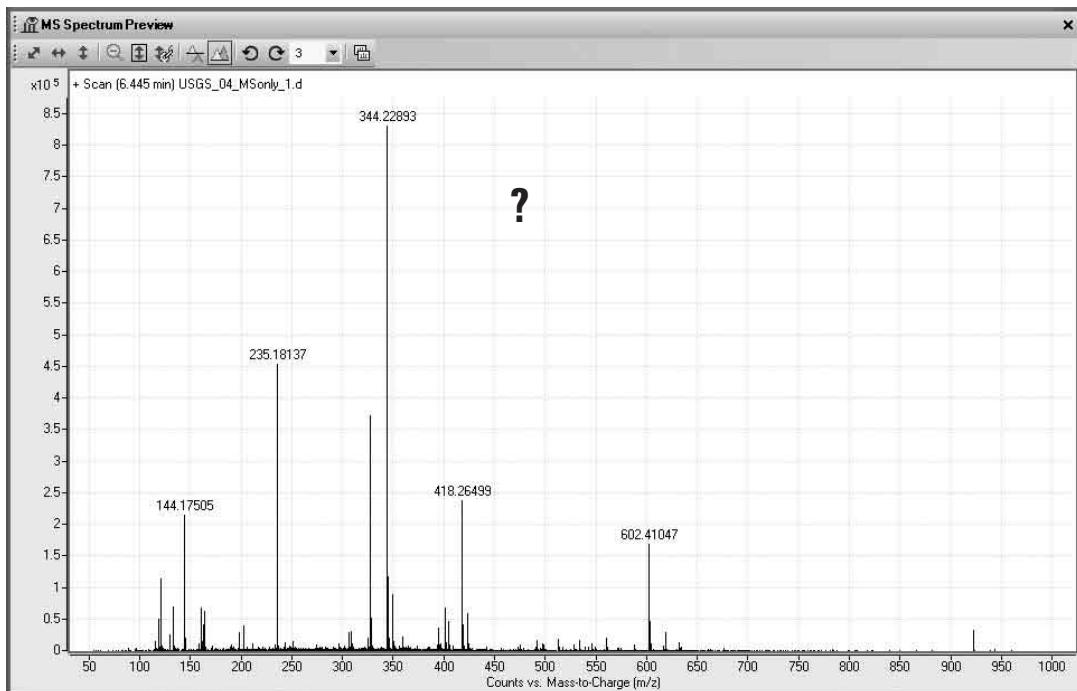


图 2. 保留时间为 6.445 min 时基峰顶点的质谱图

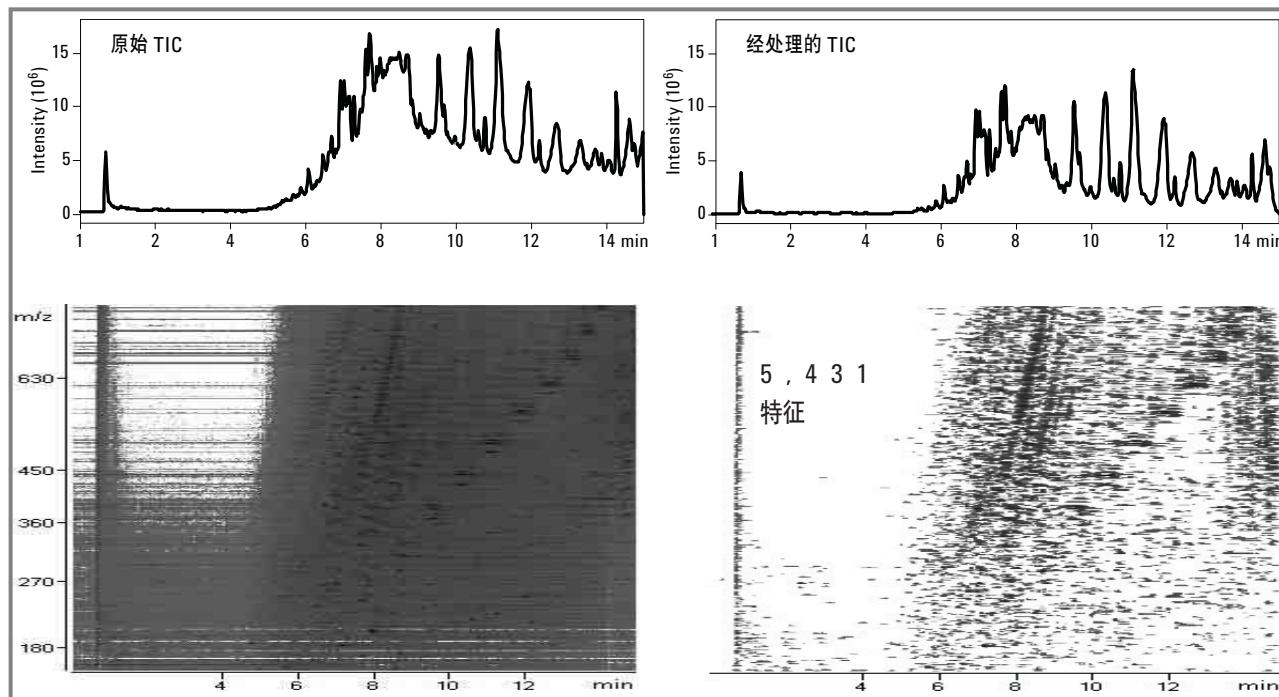


图 3. 样品 4 未经处理和经 MFE 处理的数据

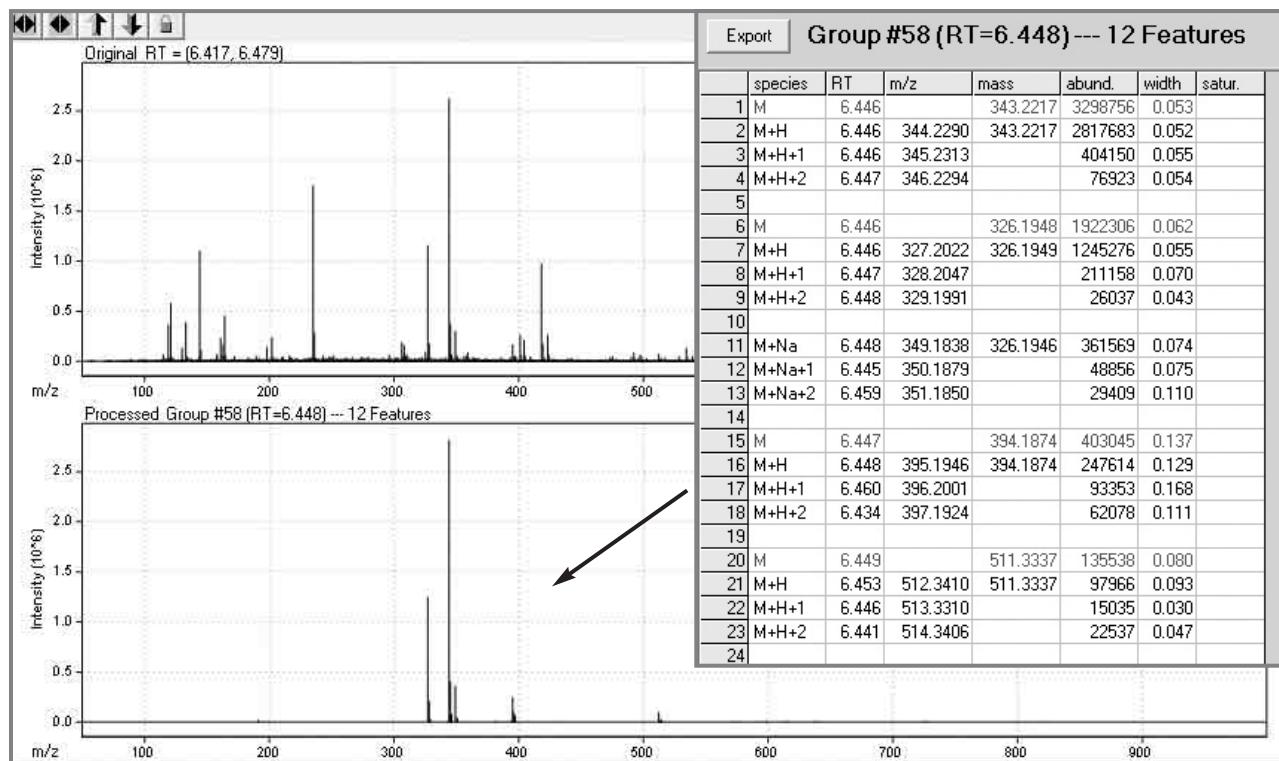


图 4. 生成的保留时间 6.448 min 时的 12 个特征

假如我们希望在过滤数据后只显示本文开头列出的化合物，我们可以将中性质量加入 MFE 列表，如图 5 所示。我们还假设目标化合物在 4 min 后才流出，且其质量范围为 150-600，与表 1 中所列化合物相对应。

图 5 所示化合物的数据被过滤以后，发现了样品 4 的 8 个特征，在图 6 中显示。包含这 8 个特征的色谱图也一并展示出来。

在更仔细地检查任一化合物之前，先将样品 4 的数据与另一个样品，即样品 10 的数据进行比较，采用 Mass Profiler 的算法

来完成。为了使用 Mass Profiler，每个样品必须进行三次进样，以确定出现频率高的特征，以及随机出现可被忽略的特征。本工作中每个样品均进样三次。数据先通过 MFE 处理生成特征。采用 Mass Profiler 过滤掉每个样品三次进样分析中不一致的特征。该数据结果称为一组。因此，在比较样品 4 和 10 的时候，Mass Profiler 将把它们作为组 4 和组 10。

在图 7 中，Mass Profiler 展示了组 4 和组 10 两者的共同特征（根据质量与保留时间所得）。通过点击显示的任一个特征点，我们可以看到两组共有的特征，以及生成中性质量的可能经验式。

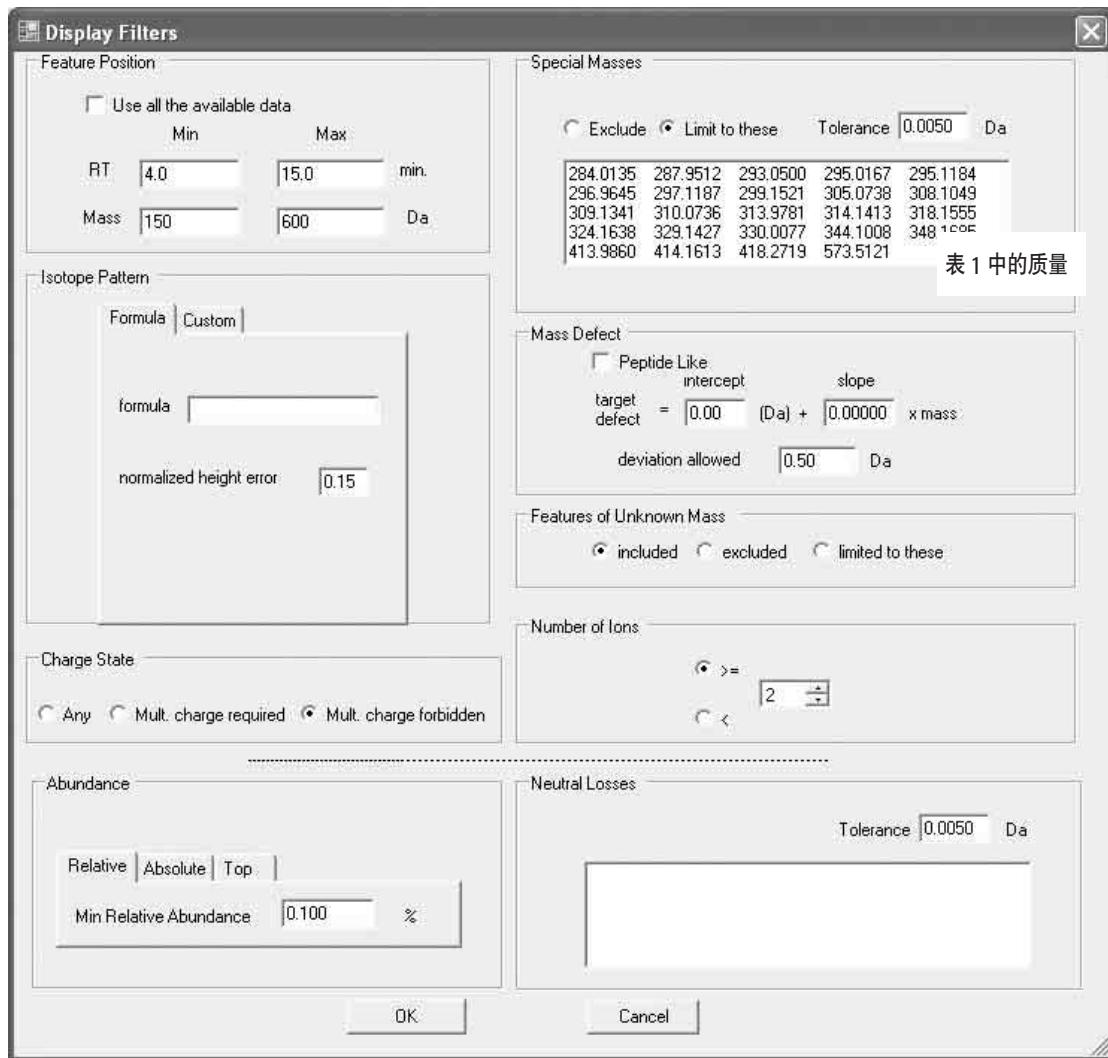


图 5. 显示寻找与表 1 所列化合物匹配特征的过滤设置

Export | features:8 / groups:8

	Group	RT	mass	mass SD	abund.	satur.	height	#ions	minZ	maxZ	#z	width	#features
1	1	9.629	236.0961		915731		267469	2	1	1	1	0.045	1
2	2	5.678	299.1536		431958		91085	2	1	1	1	0.083	1
3	3	8.095	236.0961		382835		96590	2	1	1	1	0.052	1
4	4	8.671	299.1527		229538		23883	3	1	1	1	0.121	1
5	5	6.064	299.1525		146722		26146	2	1	1	1	0.076	1
6	6	11.598	250.1607		134252		19366	2	1	1	1	0.128	1
7	7	8.262	252.1204		63528		12743	2	1	1	1	0.058	1
8	8	5.307	296.9660	0.0019	28147		3522	4	1	1	1	0.072	1

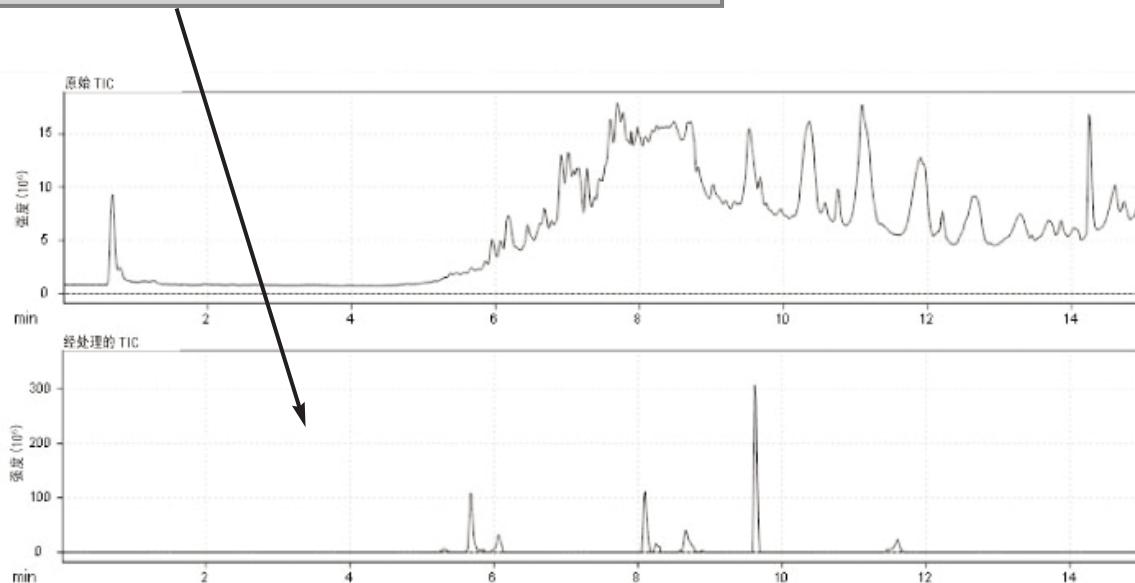


图 6. 与表 1 所列中性质量对应的 8 个特征。同时也展示了相应处理过的色谱图

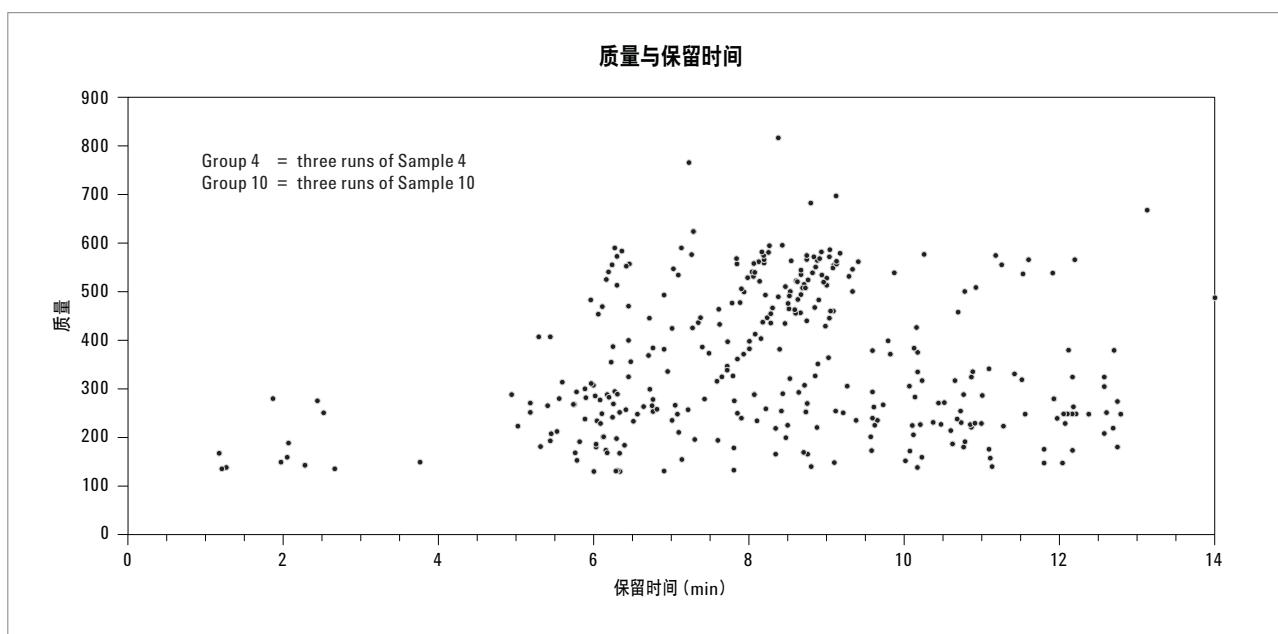


图 7. 组 4 和组 10 的共 346 个特征

例如, 比较两个样品组之间的特征时, 可以生成如图 8 所示的差异分析图。该图显示了组 10 与组 4 相类似的特征丰度。更明显的是, 在保留时间 8.495 min 处, 图 8 中与组 10 对应的特征数据点的强度大约是与组 4 对应的特征的 4 倍, 对应于两者的 log2 比。点击图 8 中显示的这个数据点, 我们可以看到这个特征被鉴

定为苯海拉明, 其化学式为 $C_{17}H_{21}NO$, 质量精确度 0.7 ppm。见图 9。

我们也可以使用 Mass Profiler 根据在两个样品特征存在情况不同来对两个样品进行比较。在图 10 中我们可以看到这样的比较。

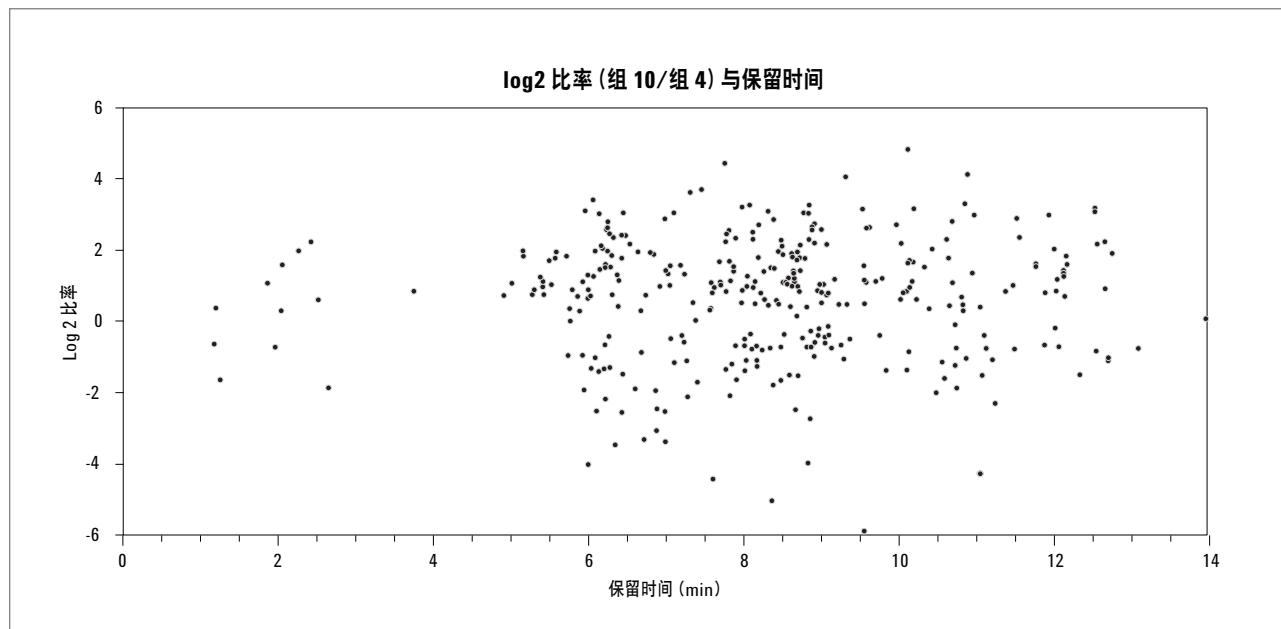


图 8. 组 4 和 10 中共有的但大小不同的特征

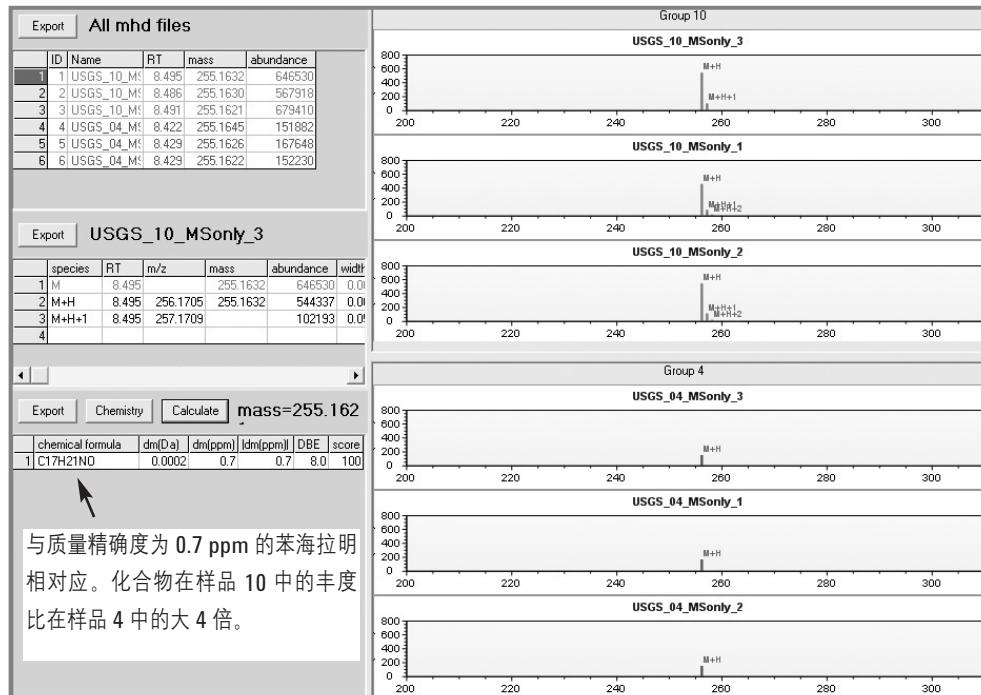


图 9. 保留时间 8.495 min 时与苯海拉明相对应的特征

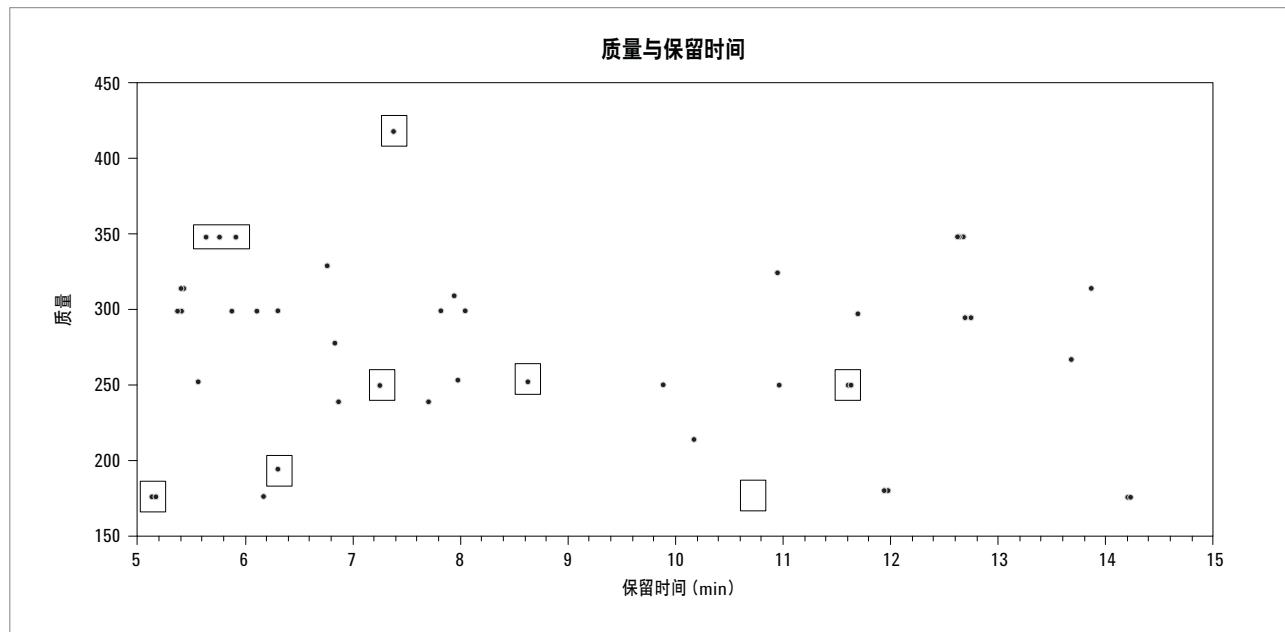


图 10. 只在组 4 (用方框标出) 或组 10 中出现的特征

采用 Mass Profiler 可以判断出总共有 33 个特征存在于组 4 或者组 10，不同时存在于两个样品中。Mass Profiler 中的显示均为彩色的，组 4 的特征为蓝色，组 10 的特征为红色，但由于安捷伦的应用一般都采用黑白色印刷出版，所以我们给组 4 的蓝色特征加上方框以方便观察。

迄今为止，用全扫描质谱模式对所有数据进行采集。一旦鉴别出的化合物需要更多的结构信息，或者需要对它进一步定量，我们可以运行有针对性的串联质谱分析，此时，可以将特征的离子质量看做母离子，将碎片看做具有精确质量的子离子。通过这些具有精确质量的子离子可以判断其化学式和可能的结构。因为四极杆飞行时间质谱在串联质谱模式下仍具有很高的质谱分辨率，我们就可以得到每个离子非常窄的萃取离子色谱图，并将它们汇总为定量信号。

在图 11 中，我们可以看到咖啡因的精确质量串联质谱碎片，串联质谱设置见液质联用系统方法说明部分。咖啡因是很受关注的环境污染物，因为许多药物中都含有这种成分。每个子离子化学式的产生都基于 C、H、N 和 O 各原子的可能排列。由于我们知道咖啡因的结构，所以其碎片离子的结构可以通过其相应的化学式得到。碎片结构的生成使用 ACD/MS Frag-

mentor 软件 (ACD Labs 第 10 版，高级化学发展有限公司，多伦多，加拿大)

结论

使用全扫描质谱和串联质谱中的精确质量对化合物进行鉴定时，四极杆飞行时间质谱是一个非常理想的仪器。精确质量可以得到化学式，也可以在串联质谱分析得到子离子时给出结构信息。由于需要采用由这类仪器得到的大量数据来考察样品中可能含有的大量已知和未知化合物，所以采用分子特征提取这类算法将有用特征从化学背景中筛选出来就非常重要。去除随机背景信号并发现有意义的同位素组信息后，就可以从谱图中生成这些特征。

这种分析不仅对单个样品分析有用，而且对于多样品间的比较也非常重要。可采用 Mass Profiler 的另一种算法进行这种比较。更特别的是，这些比较可以使我们了解两个样品的共同特征以及它们在量上的差异。或者，存在于某个样品中的哪些特征在另一个样品中不存在。一旦某些特征需要进一步研究，就要对这些特征进行有针对性的串联质谱分析，然后通过产生的子离子获得其结构信息。

采用精确质量测量数据和 C、H、N、O 元素进行化学式计算

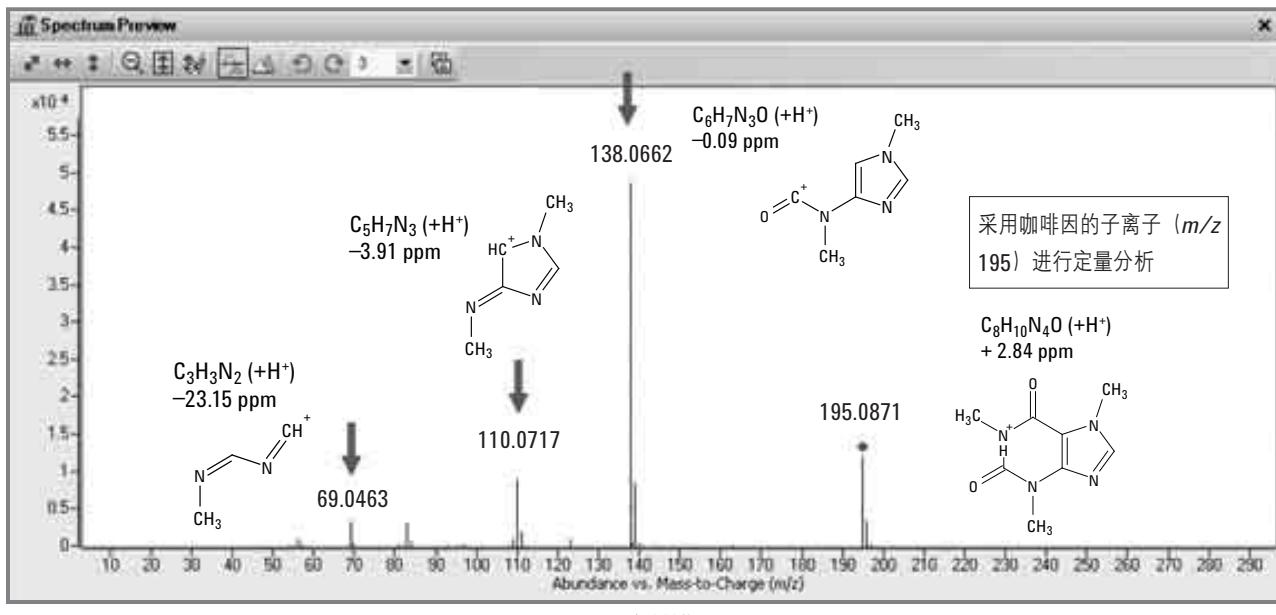


图 11. 咖啡因的有针对性的串联质谱模式分析-产生的子离子可以用于结构鉴定和定量分析

参考文献

1. C. G. Daughton and T. A. Ternes, "Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change?," *Environmental Health Perspectives*, 107, Suppl. 6, Dec 1999.
2. D. B. Chambers and T. J. Leiker, "A Reconnaissance for Emerging Contaminants in the South Branch Potomac River, Cacapon River, and Williams River Basins, West Virginia, April–October 2004," Open File Report 2006-1393, United States Geological Survey, <http://pubs.usgs.gov/of/2006/1393/>.

致谢

作者衷心感谢国家水质实验室·美国地质调查局（莱克伍德，科罗拉多州）的 Stephen Werner 和 Ed Furlong 提供用于本文分析的样品的帮助！

更多信息

如需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。

如需了解有关本应用的更多信息，请联系安捷伦科技有限公司的 Michael Zumwalt。

如需了解详细信息

了解更多:

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦科技公司生命科学与化学分析部
用户服务中心免费专线:

800-820-3278

400-820-3278 (手机用户)

传真: 800-820-1182

在线询价:

www.agilent.com/chem/qoute.cn

仅用于研究。本出版物的信息、技术指标和说明若有变更，恕不另行通知。

安捷伦科技对于本材料可能的错误或使用本材料所造成的事故或相关损害不负任何责任。

© 安捷伦科技（中国）有限公司, 2013

2013年1月24日中国印刷



Agilent Technologies