

使用 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 模块对水中的痕量有机污染物进行自动在线 SPE LC/MS/MS 分析

应用简报

环境

作者

Shane Snyder
化学与环境工程系
BIO5 研究院
亚利桑那大学
Tucson, AZ, USA

Tarun Anumol
安捷伦科技有限公司
Wilmington, DE, USA

摘要

针对多种水源中的 34 种 ng/L 量级痕量有机化合物的检测和定量，Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 模块已能够实现全自动化的在线 SPE 萃取 LC/MS/MS 分析，这些化合物包括药物、个人护理产品、杀虫剂和全氟化合物等。分析过程 仅需 1.7 mL 样品，且一个分析周期不超过 15 分钟，这在一定程度上是由于 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统具有同时正、负离子化分析的功能。该方法可以自动进行在线样品前处理，实现了无与伦比的高通量和高重现性，并且还节省时间、人力和溶剂。



Agilent Technologies

前言

现代社会高度依赖有机化学品的使用，如个人护理产品（化妆品，牙膏）、药物（布洛芬）、激素、农药（杀虫剂和除草剂），以及大量工业材料。不幸的是，这些化学品，统称为痕量有机化合物 (TOrc)，通常最终会进入我们的水源。虽然我们不希望它们对我们的健康产生显著不良影响，但长期接触这些化合物的混合物，其协同效应尚未可知 [1]。

实行监管措施，建立可接受的 TOrc 浓度限度，通常需要大量的制订时间，鉴于当前大量化合物的存在，这并不现实。无论如何，虽然对这些化合物的毒性以及与之接触所产生的影响的研究正在进行，但监测它们在水源中的存在仍然非常有意义。

液相色谱 - 串联质谱 (LC/MS/MS) 法在检测水中极低浓度 TOrc 方面应用最为广泛。但是，这些方法仍受限于对目标化合物的提取和浓缩，它们非常费时费力，并且要消耗大量的有机溶剂。因为它们包括了一些人为干预步骤，所以分析的准确度和重现性也会下降。我们需要自动化的样品前处理步骤来缩短获取结果的时间、增加分析通量，并且提高 TOrc 分析的准确度和重现性。

本应用简报就一篇已发表的水中自动化 TOrc 分析的可行性研究，及其对水源监测的适用性作了总结。实现自动化的关键是使用 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube LC 模块，它包含两个在线 SPE 小柱。该配置有利于在洗脱后对一个小柱进行反冲的同时，在另一个小柱上进行下一个样品的进样。

大多数当前用于分析 TOrc 的方法是针对特定种类化合物开发的，如农药或激素。本研究的目标是开发出一种单次的自动化方法，可实现 34 种指示物的快速分析，这些指示物代表了各种水基质中几类 TOrc。此自动化方法使用的样品量不足 2 mL，可在不超过 15 分钟的分析周期内获得低至 ng/L 的检测限，不需要进行手动样品前处理，也不需要使用大量的有机溶剂。

实验部分

试剂与标准品

所有试剂和标准品均按所述文献 [1] 获得。使用同位素标记的替代标准品提供每种水基质类型的实际方法报告限 (MRL)，如前文所述 [2]。表 1 展示了本研究中所分析的 34 种 TOrc 及其所属类别。

表 1. 通过自动在线 SPE 方法分析的目标 TOrc

化合物	类别
阿替洛尔	药物
卡马西平	药物
氯贝酸	药物
双氯芬酸	药物
苯海拉明	药物
地尔硫卓	药物
氟西汀	药物
吉非罗齐	药物
氢氯噻嗪	药物
布洛芬	药物
眠尔通	药物
萘普生	药物
扑米酮	药物
心得安	药物
磺胺甲恶唑	药物
甲氧苄啶	药物
二苯甲酮	个人护理产品
咖啡因	个人护理产品
N,N-二乙基-m-甲苯酰胺 (DEET)	个人护理产品
尼泊金丙酯	个人护理产品
磷酸三(2-氯乙基)酯 (TCEP)	个人护理产品
磷酸三(2-氯丙基)酯 (TCPP)	个人护理产品
三氯卡班	个人护理产品
三氯生	个人护理产品
苯并三唑	工业化合物
双酚 A	工业化合物
全氟己酸 (PFHxA)	工业化合物
全氟辛酸 (PFOA)	工业化合物
全氟辛烷磺酸盐 (PFOS)	工业化合物
氢化可的松	激素
甲基炔诺酮	激素
睾酮	激素
莠去津	农药
西玛津	农药

仪器

将 Agilent 1290 Infinity 系列 LC 和 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统联用。在线富集系统使用 Agilent 1200 液相色谱仪二元泵，带有 900 μL 计量装置并具有多次抽取功能的 Agilent 1200 自动进样器，以及配备单活塞泵、一个 10 通切换阀和两个 SPE 小柱的 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube (G4227A)，可使样品通量最大化，如图 1 所示。表 2 和 3 列出了系统操作条件。

表 2. 在线 SPE 条件

进样

SPE 小柱	PLRP-S, 21.1 \times 12.5 mm, 15 μm (部件号 5982-1271) (检测了几种小柱，此小柱为最优)
温度	30 $^{\circ}\text{C}$
进样量	2 \times 850 μL ，总共 1.7 mL
抽取样品速率	500 $\mu\text{L}/\text{min}$
注射样品速率	500 $\mu\text{L}/\text{min}$
抽取位置	0.0 mm

四元泵 (Flexible Cube 泵)

流速	1.0 mL/min												
流动相	A) 水 (95%) + 乙腈 (5%) + 0.1% (v/v) 乙酸 B) 1/1/1 (v/v/v): 甲醇/异丙醇/乙腈												
台阶梯度	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>流动相</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>100% A</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>100% A</td> </tr> <tr> <td>4.01</td> <td>100% B</td> </tr> <tr> <td>8.0</td> <td>100% B</td> </tr> <tr> <td>8.01</td> <td>100% A</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	流动相	0	100% A	4	100% A	4.01	100% B	8.0	100% B	8.01	100% A
时间 (min)	流动相												
0	100% A												
4	100% A												
4.01	100% B												
8.0	100% B												
8.01	100% A												

切换阀位置	时间 (min)	位置
	0	进样
	4	洗脱

进样程序
命令:
以默认速度抽取 850 μL
以默认速度注射进针座
以默认速度抽取 850 μL
进样

表 3. HPLC 和同时的 ESI- 与 ESI+ MS 仪器条件

高效液相色谱条件

分析柱	Agilent Poroshell 120 EC C18, 50 mm \times 2.1 mm, 2.7 μm (部件号 699775-902)										
柱温	30 $^{\circ}\text{C}$										
流动相	A) 水 + 0.1% (v/v) 乙酸 B) 乙腈 0.1% (v/v) 乙酸										
分析时间	12.5 分钟 + 2 分钟后运行时间 = 14.5 分钟分析 周期时间										
流速	0.350 mL/min										
洗脱梯度	<table border="1"> <thead> <tr> <th>时间 (min)</th> <th>流动相</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>5% B</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>从线性梯度开始</td> </tr> <tr> <td>11</td> <td>100% B</td> </tr> <tr> <td>12.5</td> <td>5% B</td> </tr> </tbody> </table>	时间 (min)	流动相	0	5% B	4	从线性梯度开始	11	100% B	12.5	5% B
时间 (min)	流动相										
0	5% B										
4	从线性梯度开始										
11	100% B										
12.5	5% B										
后运行时间	2.0 分钟										

质谱条件

采集参数	ESI 模式，带有快速极性切换的同时正、负离子化模式；动态 MRM
溶剂延迟	0.7 分钟
鞘气温度	375 $^{\circ}\text{C}$
鞘气流速	12 L/min
干燥气温度	250 $^{\circ}\text{C}$
干燥气流速	11 L/min
雾化器压力	45 psig
喷嘴电压	4000 V 正压；3500 V 负压
毛细管电压	4000 V 正压；3500 V 负压
Δ EMV	400 V

样品采集与前处理

样品采自两家水处理厂（分别采集处理过程中多个阶段的水样）、化粪池、地表水和地下水。向样品中加入 1 g/L 的叠氮化钠进行防腐保存，并且在 72 小时内加入替代标样储备液，以制成最终浓度为 100–200 ng/L 的样品。随后使用 0.2 μm 安捷伦针头过滤器进行样品过滤，并且在采集后两周内完成分析。

分析参数

表 4 列出了 34 种分析物及其替代内标物的多反应监测 (MRM) 离子对。

表 4. MRM ESI 分析参数

化合物	保留时间 (min)	母离子	子离子	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)	反应池加速器电压 (V)	ESI 模式
阿替洛尔	5.2	267.1	190.1 (145)	130	15 (20)	2	正离子
阿替洛尔-d ₇	5.2	274	190.1	130	15	2	正离子
莠去津	7.6	218	176 (174)	140	15 (15)	2	正离子
莠去津-d ₅	7.6	221	179	140	15	2	正离子
二苯甲酮	8.0	183	105.1	85	15	2	正离子
二苯甲酮-d ₁₀	8.0	183	110	85	15	2	正离子
苯并三唑	6.5	90.1 (50)	85	16 (28)	7	2	负离子
苯并三唑-d ₄	6.5	94	85	16	7	2	负离子
双酚 A	7.7	227	212 (13)	115	11 (19)	7	负离子
双酚 A- ¹³ C ₃	7.7	239	224	115	11	7	负离子
咖啡因	5.7	195.1	138 (110.1)	104	16 (24)	2	正离子
咖啡因- ¹³ C ₃	5.7	198.1	140	104	16	2	正离子
卡马西平	7.2	237	194 (179)	120	15 (35)	2	正离子
卡马西平-d ₁₀	7.2	247	204	120	15	2	正离子
氯贝酸	7.8	213	127	80	10	7	负离子
DEET	7.6	192	119 (91)	110	15	2	正离子
DEET-d ₆	7.6	198	119	110	15	2	正离子
双氯芬酸	8.6	294	250 (214)	75	4 (16)	7	负离子
双氯芬酸- ¹³ C ₆	8.6	316	272.1	75	5	7	负离子
地尔硫卓	7.0	415.2	178 (150)	130	24 (48)	2	正离子
地尔硫卓-d ₃	7.0	418.2	178	130	24	2	正离子
苯海拉明	7.1	256.2	167.1 (165.1)	60	4 (44)	2	正离子
苯海拉明-d ₅	7.1	261.2	172.1	60	4	2	正离子
氟西汀	7.50	310	148	90	5	2	正离子
氟西汀-d ₅	7.50	315	153	90	5	2	正离子
吉非罗齐	9.2	249.2	121	75	6	7	负离子
吉非罗齐-d ₆	9.2	255	121	75	6	7	负离子
氢氯噻嗪	5.9	296	268.9 (204.7)	130	10 (15)	7	负离子
氢化可的松	6.9	363.2	327 (120.9)	130	13 (24)	2	正离子
布洛芬	8.8	205	161	50	0	7	负离子
布洛芬-d ₃	8.8	208	164	50	0	7	负离子
眠尔通	6.5	219	158 (55)	70	5 (20)	2	正离子
眠尔通-d ₇	6.5	226.1	165	70	5	2	正离子
萘普生	8.0	229	170 (169)	55	4 (24)	7	负离子
萘普生- ¹³ C ₁ d ₃	8.0	233	169	55	24	7	负离子

化合物	保留时间 (min)	母离子	子离子	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)	反应池加速器 电压 (V)	ESI 模式
甲基炔诺酮	6.2	313.2	91 (77.1)	130	60 (75)	2	正离子
PFHxA	7.4	312.9	268.9	66	5	7	负离子
PFHxA- ¹³ C ₂	7.4	314.9	269.9	66	5	7	负离子
PFOA	8.0	412.9	368.9 (169)	86	5 (5)	7	负离子
PFOA- ¹³ C ₄	8.0	416.9	371.9	86	5	7	负离子
PFOS	9.2	498.9	99 (80)	210	50 (50)	7	负离子
PFOS- ¹³ C ₄	9.2	502.9	99	210	50	7	负离子
扑米酮	6.1	219.3	162.1 (91.1)	70	9 (25)	2	正离子
扑米酮-d ₅	6.1	224	167	70	9	2	正离子
心得安	6.6	260	116 (56)	122	13 (29)	2	正离子
尼泊金丙酯	7.7	179.1	137.1 (92)	80	7 (20)	7	负离子
尼泊金丙酯-d ₄	7.7	183.1	141.1	80	7	7	负离子
西玛津	7.0	202.1	132 (68.1)	72	16 (36)	2	正离子
磺胺甲恶唑	6.5	254	156 (92)	80	10 (30)	2	正离子
磺胺甲恶唑-d ₆	6.5	260	162	80	10	2	正离子
TCEP	7.5	285	222.8	95	10	2	正离子
TCEP-d ₁₂	7.5	297	232	95	10	2	正离子
TCPP	8.4	327	99 (81)	72	16 (70)	2	正离子
鞣酮	7.8	289	109 (97)	115	25 (25)	2	正离子
三氯卡班	9.4	313	160 (126)	110	5 (25)	7	负离子
三氯卡班- ¹³ C ₆	9.4	318.9	159.9	110	5	7	负离子
三氯生	9.4	289 (287)	37 (35)	75	5 (5)	7	负离子
三氯生- ¹³ C ₁₂	9.4	299	35	75	5	7	负离子
甲氧苄啶	5.8	291	261 (230)	75	25 (25)	2	正离子
甲氧苄啶-d ₃	5.8	294	264	75	25	2	正离子

() = 次要离子对

结果与讨论

方法开发

从 SPE 小柱的选取、清洗条件和进样流速，到色谱条件、目标化合物的数据采集参数，以及基质效应等方面对方法进行了全面优化。由于对大多数化合物的高重现性和回收率需求，我们选用了 Agilent PLRP-S SPE 小柱。Agilent Poroshell 120 EC C18 色谱柱在仅仅 12 分钟内即可实现充分的分离，并且 6460 三重四极杆 LC/MS 系统的正、负离子化同时分析功能具有快速极性切换和动态 MRM，能够对所有 34 种化合物采集参数进行快速优化。

Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 可实现自动化的在线 SPE

Flexible Cube 模块与一个大容量安捷伦自动进样器联用，可实现自动多次抽取。样品从 Flexible Cube 切换阀的“加载”位置处进样（图 1），流动相 A（表 2）及不被第一个 SPE 小柱 (SPE1) 保留的物质被送至废液。一旦完成进样，切换阀自动转至“洗脱”位置（图 1），由二元泵提供的梯度将被保留的样品从 SPE1 洗脱到分析柱（表 2）。同时，切换阀处在“加载”位置，采用强溶剂（流动相 B，表 2）对第二个 SPE 小柱 (SPE2) 进行清洗，以除去所有可能存在的污染物，并准备好进样。当切换阀处于“洗脱”位置，将第一个样品从 SPE1 洗脱到分离柱时，SPE2 采用流动相 A 进行平衡（如果需要，第二个样品也可以加载）。（图 1）。同时，SPE1 采用流动相 B 清洗，准备好进行第三个样品的进样。

方法性能

按照文中所述方法测定了每个分析物的仪器检测限 (LOD) 和方法检测限 (MDL) [1]，如表 5 所示。34 种化合物中，大多数的 MDL 是 $< 5 \text{ ng/L}$ 。只有 4 种化合物的 MDL $> 10 \text{ ng/L}$ ：甲基炔诺酮、双酚 A、苯并三唑和二苯甲酮。虽然使用了比以前发表的研究小许多的样品量，但是在大多数情况下，该方法还是能获得更低的 MDL。小样品量也大大减少了所需的内标用量，从而大幅度降低了分析费用。

校准曲线的线性关系良好，使用了 7 个标准溶液，浓度从 MDL 到 100 ng/L 。对于所有目标分析物，校准系数 (R^2) 为 > 0.99 ，其中，71% (24 种) 的分析物的 R^2 值 > 0.995 （表 6）。使用日内和日间重现性测定，该方法的精密度也十分出色。日内重现性的范围为 1-10.4%，只有氟西汀的值高于 10%（表 6）。除阿替洛尔之外的所有其它化合物的日间重现性均低于 10%，范围为 1-11.9%。

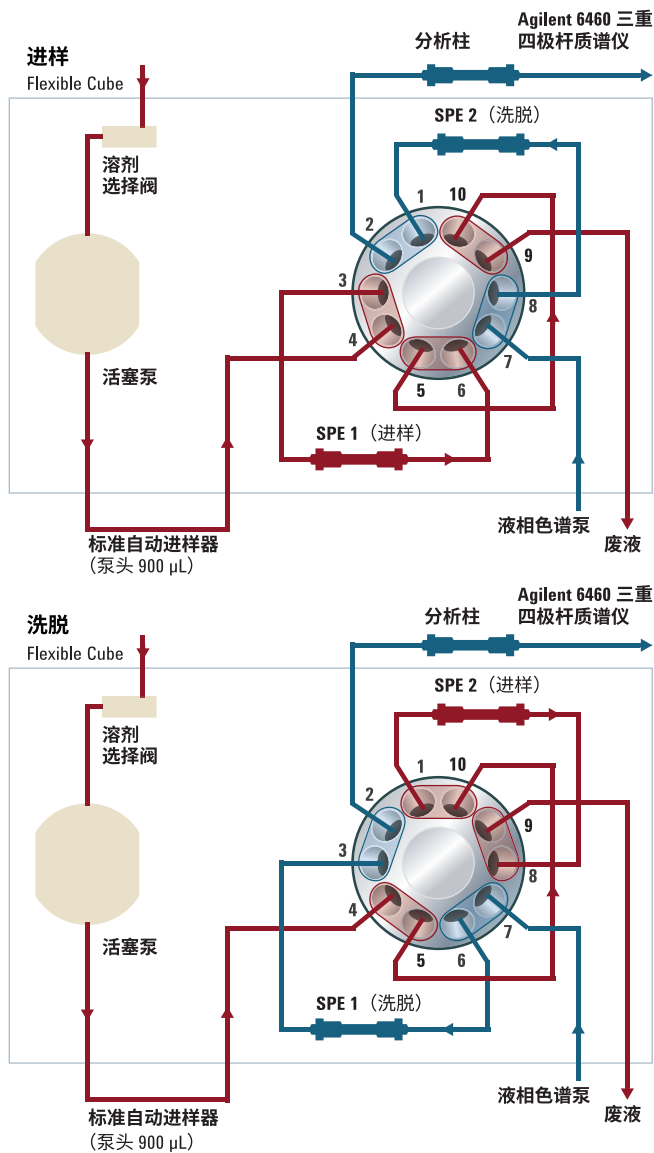


图 1. Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 的切换阀设置图，展示了“加载”和“洗脱”的位置

表 5. 所有目标分析物的 LOD 和 MDL

分析物	LOD (ng/L)	MDL (ng/L)
阿替洛尔	1	2.5
莠去津	0.2	0.3
二苯甲酮	5	11.3
苯并三唑	10	10.8
双酚 A	10	13.1
咖啡因	0.2	0.5
卡马西平	0.1 [#]	0.1
氯贝酸	0.2	0.7
DEET	0.1	0.3
双氯芬酸	2	2.8
苯海拉明	0.5	0.9
地尔硫卓	0.1	0.2
氟西汀	1	3
吉非罗齐	0.2	0.5
氢化可的松	5	9.3
氢氯噻嗪	0.2	0.4
布洛芬	0.5	1.9
眠尔通	0.2	0.4
萘普生	1	2.5
甲基炔诺酮	10	11.6
PFHxA	1	3.6
PFOA	0.5	3
PFOS	5	6.1
扑米酮	0.5	2
心得安	1	1.2
尼泊金丙酯	1	1.4
西玛津	0.2	0.4
磺胺甲恶唑	0.2	0.5
TCEP	1	2.1
TCPP	5	9
睾酮	2.5	4.4
三氯卡班	0.5	1.1
三氯生	1	2.6
甲氧苄啶	0.1 [#]	0.1

此浓度下 S/N >>3

表 6. 目标分析物校准的线性和精密度

化合物	线性	日内	日间
	R ²	差异* RSD‡ (%)	差异* RSD‡ (%)
阿替洛尔	0.9996	6.1	11.9
莠去津	0.9998	3.9	3.7
二苯甲酮	0.9911	9.0	7.7
苯并三唑	0.9939	2.0	3.2
双酚 A	0.9924	2.8	7.2
咖啡因	0.9978	7.1	2.0
卡马西平	0.9996	2.1	1.4
氯贝酸	0.9992	4.8	2.9
DEET	0.9997	1.0	1.3
双氯芬酸	0.9918	6.2	9.8
苯海拉明	0.9968	1.3	1.0
地尔硫卓	0.9976	3.5	4.3
氟西汀	0.9946	10.4	5.6
吉非罗齐	0.9987	2.0	2.5
氢氯噻嗪	0.9972	3.3	4.1
氢化可的松	0.9960	7.8	7.7
布洛芬	0.9949	4.5	6.1
眠尔通	0.9997	1.1	2.2
萘普生	0.9949	6.3	1.9
甲基炔诺酮	0.9962	3.8	5.0
PFHxA	0.9972	3.2	5.8
PFOA	0.9983	4.8	2.7
PFOS	0.9932	6.1	2.3
扑米酮	0.9930	9.9	3.7
心得安	0.9989	2.6	3.9
尼泊金丙酯	0.9993	1.5	1.5
西玛津	0.9997	2.5	2.9
磺胺甲恶唑	0.9980	7.7	3.6
TCEP	0.9918	5.3	3.9
TCPP	0.9954	7.3	7.2
睾酮	0.9979	8.8	4.4
三氯卡班	0.9983	2.9	2.3
三氯生	0.9962	5.3	3.8
甲氧苄啶	0.9967	6.8	7.2

* 4 次重复测定的

‡ 相对标准偏差

水样分析

使用优化的方法对来自五种不同水源的 34 种 TOC 的目标组进行了分析，五种水源分别是地表水、地下水、化粪池水，以及两个常规废水处理厂 (WWTP) 的四个不同处理阶段的水。

该方法展示了检测饮用水中 TOC 的应用，其中从地表水样品中检测到目标组中的 7 种药物、1 种个人护理产品，以及 2 种农药 [1]。在地下水样品中也检测到了一些低浓度的化合物。

来自两个 WWTP 的样品中包含了目标组中所有的药物和个人护理产品化合物，其中布洛芬和萘普生的浓度最高。在 WWTP 1 或 WWTP 2 水样经过生物或氯化处理（或者同时采用两种方法处理）之后，其中的大多数药物和个人护理产品都能够被完全去除。

结论

采用 Agilent 1290 Infinity Flexible Cube 的全自动在线 SPE 萃取方法，使用可同时实现正、负离子化 ESI 的 Agilent 6460 三重四极杆 LC/MS 系统能够在 ng/L 量级上对 34 种不同 TOC 进行 LC/MS/MS 分析。测量 MRL 不必再利用同位素回收率数据对每种基质进行费时的 MRL 测定。仅需少量样品 (1.7 mL) 即可在 15 分钟的分析周期内实现高通量分析。快速极性切换的应用也可显著节省分析时间，因为在 ESI 正、负离子化模式下，仅一次进样即可完成所有 34 种 TOC 的分析。这是唯一发表了使用了此项功能的在线 SPE 方法。与以前发表的方法相比，该自动在线 SPE 分析多种 TOC 的独特方法的优点是具有更高的重现性，并且可节省大量分析时间、人力和溶剂。通过分析各种类型水样该方法的实用性得到了证实。

参考文献

1. T. Anumol, S. Snyder. "Rapid analysis of trace organic compounds in water by automated online solid-phase extraction coupled to liquid chromatography–tandem mass spectrometry" *Talanta* **132**, 77-86 (2015)
2. T. Anumol, *et al.* "Ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for rapid analysis of trace organic contaminants in water" *Chem. Cent. J.* **7:104** (2013)

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

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

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2015
2015 年 7 月 30 日，中国出版
5991-6115CHCN



Agilent Technologies