

安捷伦新污染物分析解决方案



前言

随着工业化进程的加快，尤其是重工业的快速发展，每年数以万计的化学物质进入环境介质，产生极为复杂的化学、生态和健康效应。近年来，频频爆出化工产品或是一些化合物的有毒降解转化物，成为新污染物，受到国内外广泛关注。

新污染物，有不同于常规污染物的一些新特性，如隐蔽性、持久性、危害大、不易治理等。随着大量化学品进入生产和使用，新污染物的种类越来越多。现阶段，国际上主要关注的新污染物包括：环境内分泌干扰物 (EDCs)、全氟化合物等持久性有机污染物、抗生素、微塑料等。此外，常见的新污染物还有溴化阻燃剂、饮用水消毒副产物、药品及个人护理品 (PPCPs)、人造纳米材料、汽油添加剂、防污涂料及添加剂等。

《中共中央关于制定国民经济和社会发展第十四个五年规划和 2035 年远景目标的建议》明确提出了“持续改善环境质量”、“重视新污染物治理”的要求。因此，加强对新污染物的评估监测技术的发展，实施精准治污的重要性逐渐凸显。

安捷伦在长期引领的环境分析方案基础上，基于高端质谱结合生物分析的技术平台，开发了非靶向筛查和效应导向分析等新污染物筛查方案、评价新污染物与人体健康影响相关的独特的代谢流工作流程，以及针对抗生素、PFAS 等高关注新污染物的高通量全流程分析方案，助力新污染物治理和监测工作的开展。



目录

安捷伦新污染物分析解决方案聚焦

靶向分析 & 非靶向分析	4
效应导向分析 (EDA)	5
PFAS 分析方案	6
水中 95 种抗生素自动在线固相萃取 LC/MS/MS 分析解决方案 — 水中抗生素预警和耐药研究利器	7
一针进样可测定 82 中有机污染物的 LC/MS/MS 分析全流程解决方案	8
微塑料分析整体解决方案	9
环境暴露与疾病机理深入研究	10

安捷伦新污染物分析文集

水中新型污染物的自动化在线 SPE-UHPLC/MS/MS 分析	12
使用超高灵敏度三重四极杆质谱仪实现水中药物和个人护理用品 (PPCP) 的高通量检测	24
使用 Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统按照 EPA 537.1 和 EPA 533 分析饮用水中的全氟 / 多氟烷基化合物 (PFAS)	40
水和土壤基质中 PFOS 和 PFOA 的 LC/MS/MS 测定	48
对污水污泥中的环境污染物同时进行靶向定量和疑似物筛查	56
使用高分辨率 GC/Q-TOF 对地表水中的环境污染物进行全面分析	68
应用气相色谱 - 四极杆飞行时间质谱分析氯化石蜡的新方法	80
使用 GC/MS/MS 分析饮用水中的亚硝胺类化合物 — 满足 EPA 方法 521 的等效性	91
应用 GC/MS/MS 测定超痕量多氯代二苯并 - 对 - 二噁英和多氯代二苯并呋喃	100
使用热裂解和 GC/MSD 定量分析环境样品中的微塑料	108
Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统微塑料定性 / 定量分析解决方案	114

安捷伦新污染物分析解决方案聚焦

靶向分析 & 非靶向分析



靶向分析 & 非靶向分析

传统的多目标物靶向筛查方法以三重四极杆技术为基础。而高分辨飞行时间质谱 (TOF) 和高分辨四极杆飞行时间质谱 (Q-TOF) 平台可完美适配多种目标与非目标化合物的筛查。

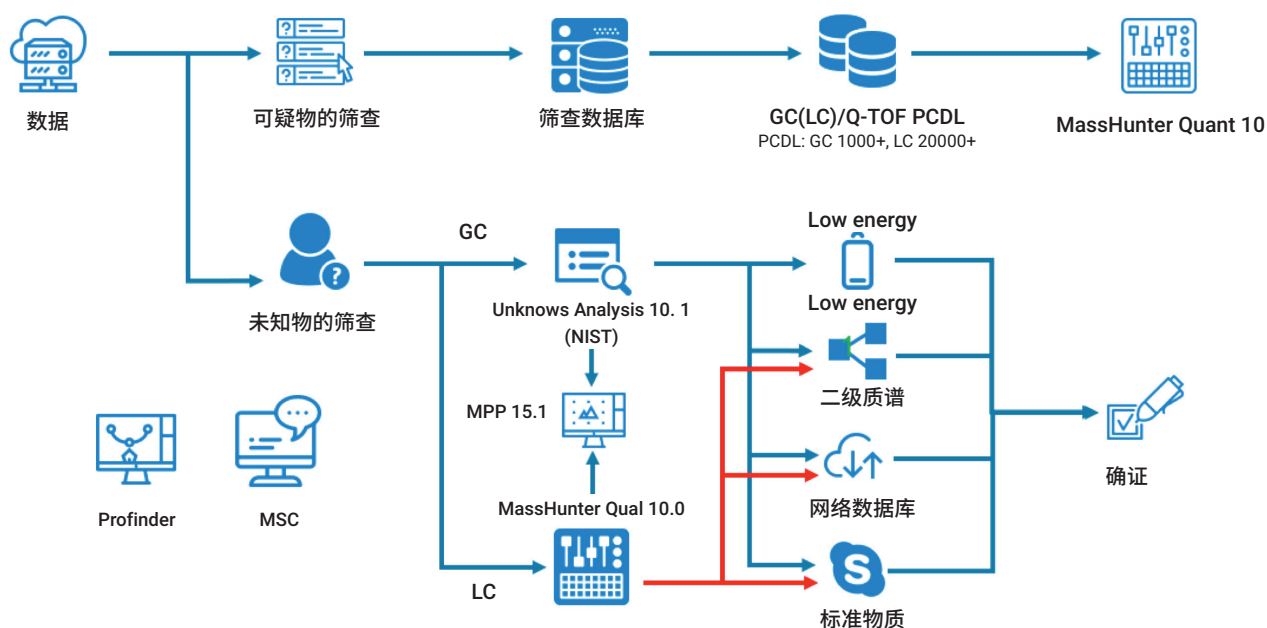


图 1. 基于 GC(LC)/Q-TOF/MS 的筛查流程



图 2. 安捷伦 GC/Q-TOF/MS



图 3. 安捷伦 LC/Q-TOF/MS

安捷伦新污染物分析解决方案聚焦 效应导向分析 (EDA)



效应导向分析 (EDA)

效应导向分析 (Effect-Directed Analysis, EDA), 主要用于识别对环境产生毒性影响的化学物质。与传统毒理学检测方法相比, EDA 是一种高通量方法, 能够节省时间和成本, 有利于风险评估和常规监测。EDA 是环境暴露组学研究的热点方向之一。

安捷伦拥有基于高分辨质谱的化学分析技术、化合物分级分离的制备液相技术, 以及生物检测技术, 包括 Seahorse 的活细胞的耗氧率 (OCR) 和胞外酸化率 (ECAR) 等细胞能量代谢分析生物传感阻抗监测和活细胞成像技术等。这些构成了生物测试—分级分离—化合物筛查的完整 EDA 工作流程, 可为客户提供完整解决方案。

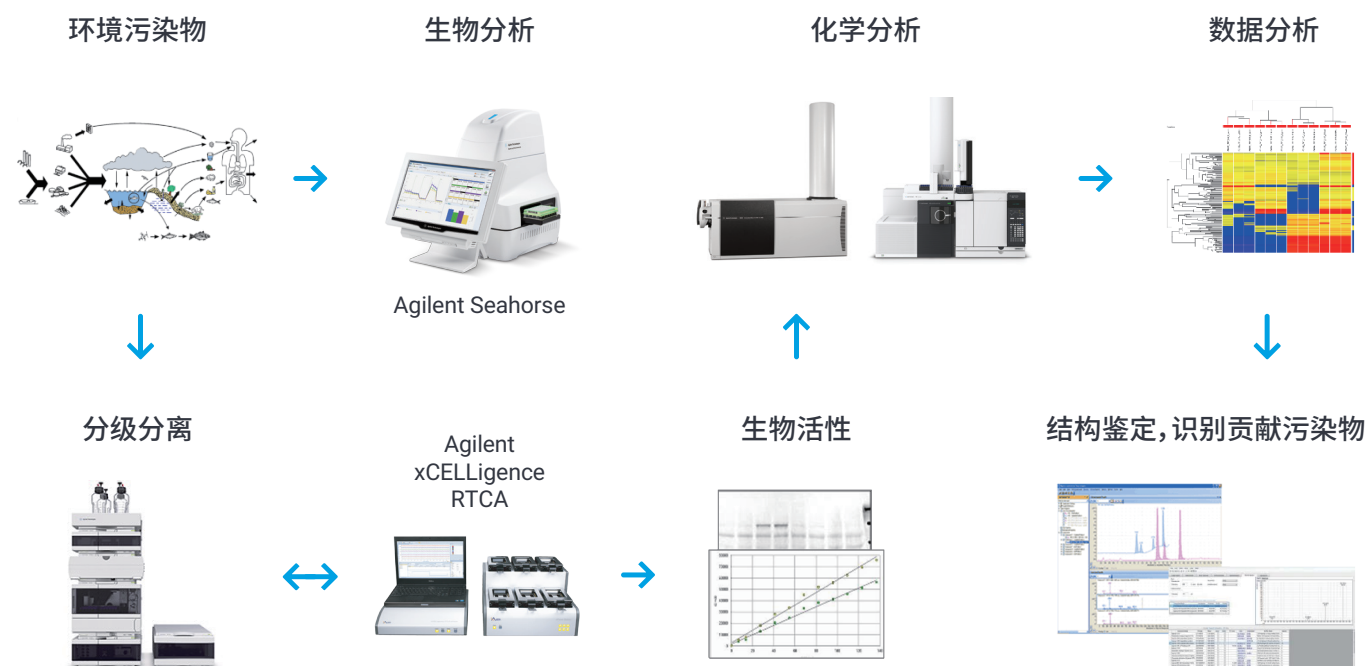


图 4. 效应导向分析 (EDA) 工作流程

安捷伦新污染物分析解决方案聚焦

PFAS 分析方案



PFAS 分析方案

- 使用 Agilent 三重四极杆液质联用系统分析水质、土壤、污泥等环境样品中多种传统和新型 PFAS
- 相关消耗品方案，包含样品前处理、色谱柱和溶剂，以及不含 PFC 的 HPLC 转换工具包、样品容器和其它 HPLC 备件。
- 不含 PFC 的 HPLC 转换工具包，消除了 PFAS 污染并降低假阳性结果风险。
- 不含 PFC 污染物的部件包括：管线 / 在线过滤器 / 清洗瓶头组件 / 配备 Quick Connect 快速连接液相色谱接头的延迟柱等
- 使用用于 LC/TQ 的安捷伦 PFAS MRM 数据库以及 100 多种天然的和同位素标记的 PFAS 化合物，快速建立靶向筛查和定量方法



SPE



PFC-free conversion kit



Delay Column



Vials & Caps



Solvents



HPLC Columns

图 5. 不含 PFC 的 HPLC 转换工具包

安捷伦新污染物分析解决方案聚焦

水中 95 种抗生素自动在线固相萃取 LC/MS/MS 分析解决方案



水中 95 种抗生素自动在线固相萃取 LC/MS/MS 分析解决方案 — 水中抗生素预警和耐药研究利器

安捷伦水中抗生素自动在线固相萃取 LC/MS/MS 分析解决方案，可对水中 95 种高风险抗生素（含磺胺类、喹诺酮类、四环素类、大环内酯类、头孢类、青霉素类和其它类）进行全面检测。不仅能为防控过量抗生素风险提供高效快速预警监测利器，还能高效低成本地为暴露组学研究水环境的抗生素危害提供有力分析数据，解决国内缺乏高效水中抗生素检测标准方法、样品前处理繁琐导致工作量大和分析成本高的问题。具有如下的特点：

- 涵盖水中 95 种高风险抗生素自动在线固相萃取 LC/MS/MS 分析解决方案
- 包括磺胺类、喹诺酮类、四环素类、大环内酯类、头孢类、青霉素类和其它类等 EPA 法规涉及，以及近年来科研工作中涉及的高关注抗生素
- 自动化程度高，几乎不需要手动样品前处理
- 分析时间短，每个水样的全分析时间为 30 分钟（含样品前处理）
- 方法灵敏度高，所有化合物的计算 LOQ 均小于 6 ng/L，大部分在 1-2 ng/L

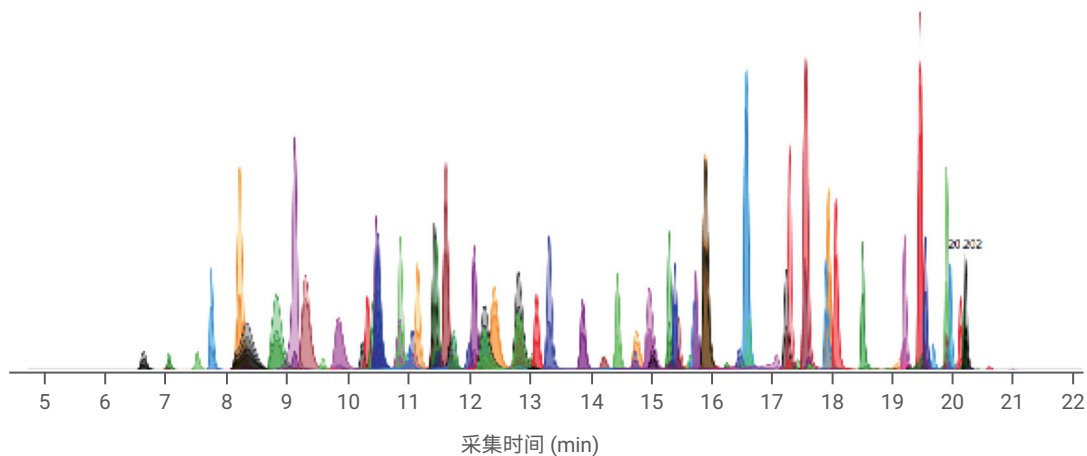


图 6. 95 种抗生素的 MRM 叠加色谱图

安捷伦新污染物分析解决方案聚焦

一针进样可测定 82 种有机污染物的 LC/MS/MS 分析全流程解决方案



一针进样可测定 82 种有机污染物的 LC/MS/MS 分析全流程解决方案

安捷伦水质有机物的 LC/MS/MS 分析全流程解决方案，在 25 种常检水质指标分析方法的基础上，增加了更多适合 LC/MS/MS 检测的有机污染物作为分析对象。

与常检指标分析方法相同，该方法的样品前处理过程非常简单，过滤后直接进样。一针可同时测定 82 种有机污染物，在一天内可轻松得到过去要用 30 多种分析方法运行两周以上才能得到的 82 种有机污染物（含 25 种有限量要求的有机污染物）的分析结果。

- 一针进样可测定 82 种有机污染物，包含氨基甲酸酯类、苯氧羧酸类、苯胺类、硝基酚类、农药类、微囊藻毒素和丙烯酰胺等传统污染物与新污染物。
- 全天候的全自动多方法解决方案，助您实现自动选择和切换分析方法，让多个方法自动序列运行，从而实现 365 天 24 小时的全天候监测。
- “交钥匙”全流程培训，助您以高性能三重四极杆液质联用系统为基础，快速建立水质分析能力，完美应对分析难题。

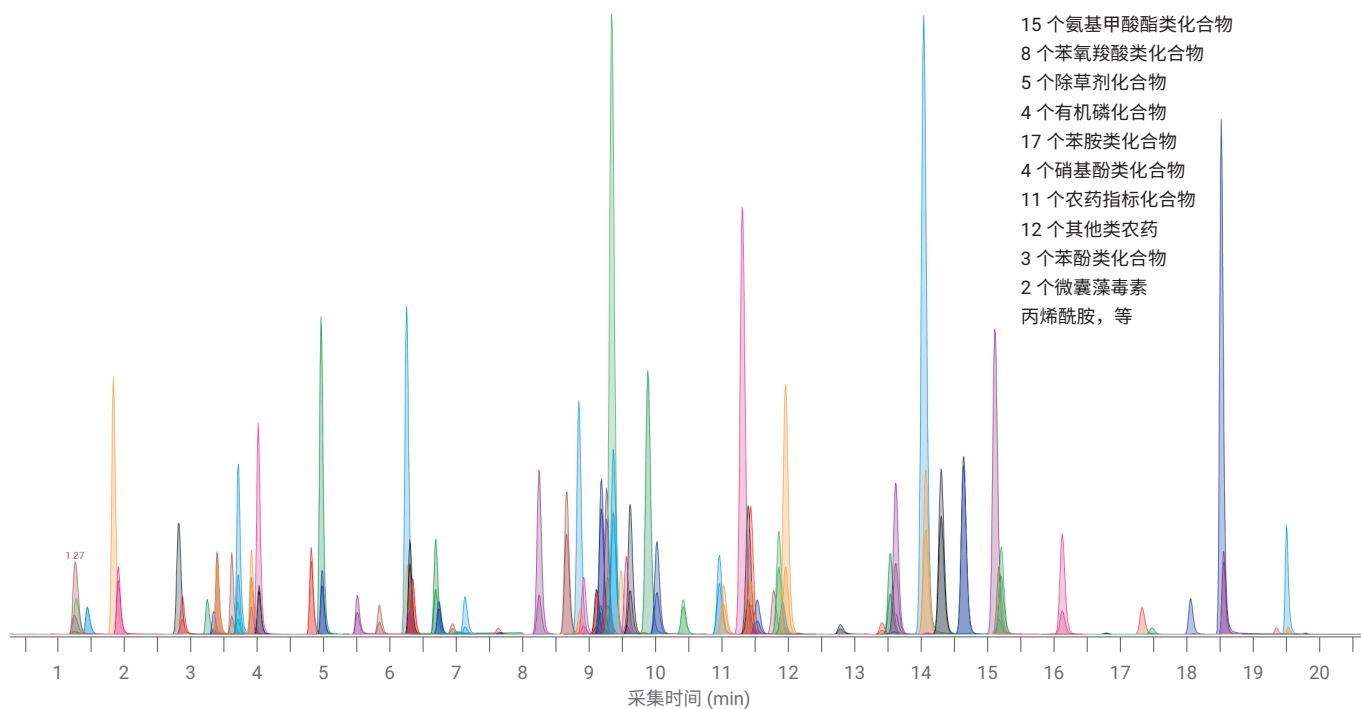


图 7. 82 种水质有机污染物的 MRM 叠加谱图

安捷伦新污染物分析解决方案聚焦

微塑料分析整体解决方案



微塑料分析整体解决方案

在微塑料对环境影响的研究领域，安捷伦推荐的 8700 LDIR 激光红外成像全自动工作流程、久经考验的 GC/MS 产品 以及独特的 Q-TOF GC/MS 系统，为微塑料定性定量分析提供了完备的方案，并将微塑料分析的效率和准确度大大提升。另外，安捷伦 GC/MS/MS、LC/MS/MS、ICP-MS 等产品，为微塑料添加剂，或吸附有害物质的分析提供了更多有效手段。

在环境微塑料的生物积累、毒性效应和生态安全，微塑料与污染物的相互作用及健康风险等微塑料与人类健康相关的方向，安捷伦高端 LC/MS 产品与 Seahorse、xCELLigence、NovoCyte 细胞分析技术结合的解决方案帮助您在微塑料相关的毒理学研究取得成功。

对环境的
影响



对环境 / 食品
等介质中微塑料
进行定性鉴别
及定量分析



与健康
相关



微塑料吸附和
解析的有害物
质对环境的影响



环境微塑料的
生物积累、毒
性效应和生态
安全

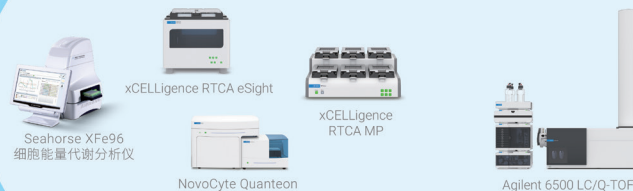


图 8. 安捷伦微塑料解决方案

安捷伦新污染物分析解决方案聚焦

环境暴露与疾病机理深入研究



环境暴露与疾病机理深入研究

代谢组学、代谢流与细胞分析的整合方案，实现从生物标记物发现到机理机制深入阐释的新阶段。

代谢组学正从生物标记物发现走向机理机制深入阐释的新阶段，而利用稳定同位素示踪的代谢流分析及正交的生物学验证是实现这一目标的有效手段。

安捷伦基于强大的代谢组学流程，整合了 VistaFlux 代谢流分析与 Seahorse XF 细胞代谢分析，xCELLigence RTCA 体外细胞毒力评估、NovoCyte 流式细胞技术，以及 BioTek 细胞水平毒性评价技术，形成了对复杂生物学问题从标记物发现到机理机制阐释的整体解决方案。

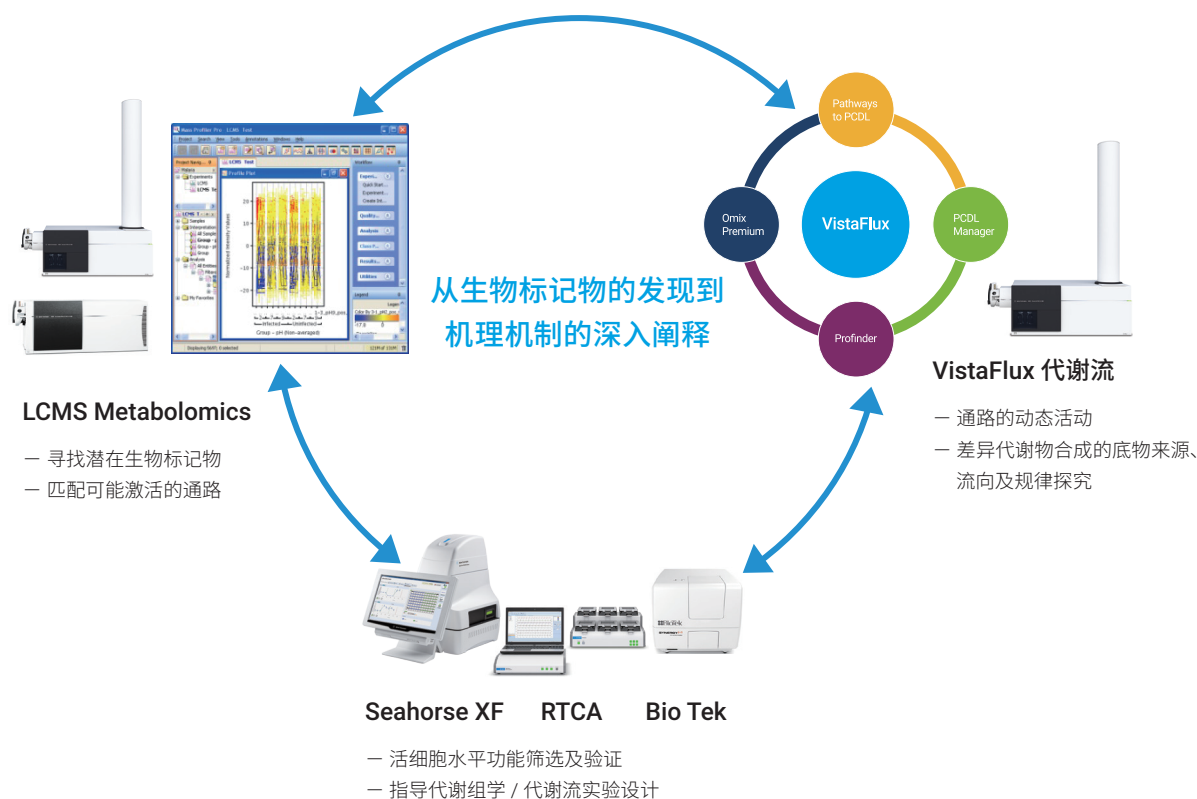


图 9. 代谢组学、代谢流与细胞分析的整合方案—环境暴露与疾病机理深入研究

安捷伦新污染物分析文集

水中新型污染物的自动化在线 SPE-UHPLC/MS/MS 分析

环境水基质中污染物的同时定量分析

作者

Mengmeng Zhong,
Tielong Wang, Jun Huang 和
Gang Yu

清华大学环境学院, 中国北京

Meiling Lu
安捷伦科技 (中国) 有限公司

摘要

本应用简报描述了一种自动在线固相萃取 (SPE) 与超高效液相色谱/串联质谱 (UHPLC/MS/MS) 联用的方法, 用于同时测定环境水基质中的新型有机污染物 (EOCs)。共选择 87 种 EOCs 作为目标分析物, 包括 58 种药物和个人护理用品 (PPCPs)、22 种全氟烷基化合物 (PFASs) 和 7 种有机磷阻燃剂 (PFRs)。通过优化在线 SPE 样品富集参数以及 LC/MS 分离和检测条件, 评估了该方法分析饮用水、地表水和废水出水等环境水基质中所有 87 种分析物的性能。经优化的方法具有良好的线性、分析灵敏度 (几乎所有分析物的 LOQ < 10 ng/L)、准确度和精密度, 能够可靠用于环境水基质中这些 EOCs 的高通量筛查。

前言

药物和个人护理用品 (PPCPs)、全氟烷基化合物 (PFASs) 和有机磷阻燃剂 (PFRs) 是日常生活及农业和工业活动中广泛使用的三类有机物质。由于缺乏相关法规和有效监管, 这些物质可能通过直接排放的废水或不是很有效的废水处理而进入环境。这些活动可能对居民赖以生存的饮用水资源和整个环境造成潜在危害。及时、准确地监测环境水体中的有机物污染物, 对于公众预警和评价废水处理可靠性至关重要。

此前的许多文献报道都侧重于检测水中的一类或几类有机污染物。传统的离线 SPE 是富集分析物的主要方法, 但费时费力。在线 SPE 富集结合 LC/MS/MS 分析已被证明是一种用于分析水中有机污染物的有前景的方法。过去十年间, 该方法已被用于分析特定种类的污染物, 例如水中的抗生素、药物和 PFASs^[1-3]。其他报道还显示在线 SPE-LC/MS/MS 联用方法在同时分析环境水基质中的多类分析物方

面的潜力^[4,5]。这种方法能够在最少的人工干预下完成水样分析, 可节省时间、溶剂和消耗品, 更加经济适用。然而, 不同种类的分析物在物理化学性质方面存在非常大的差异, 通常会限制单一方法的分析物覆盖范围。因此, 本方法的关键在于选择一种通用的在线 SPE 小柱, 在适宜的条件下尽可能多地富集各种类型的分析物。本应用简报基于最近的一项报道, 介绍了一种基于 PLRP 柱的在线 SPE 与 UHPLC/MS/MS 联用的方法, 用于同时筛查 87 种有机物质^[6], 涵盖不同环境水基质中的主要三类 EOCs (PPCPs、PFASs、PFRs)。

实验部分

材料与amp;方法

化学标准品和同位素标记内标购自 Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany)、Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany) 和 Toronto Research Chemicals (Toronto, Canada)。

研究的 87 种分析物包括: 58 种 PPCPs (例如磺胺类, 喹诺酮类和 β -内酰胺类药物)、22 种 PFASs (例如全氟烷基羧酸 (PFCAs, C₄ 至 C₁₃) 和全氟烷基磺酸 (PFASs, C₄、C₆、C₈ 和 C₁₀)) 以及 7 种 PFRs。另加 37 种同位素标记内标 (ILIS) 用于 ILIS 稀释校准, 避免基质干扰引起的定量偏差。附录 (表 1) 中列出了所有分析物和 ILIS, 也指定了每种分析物的 ILIS。

所有分析均使用购自 J. T. Baker (USA) 的 HPLC 级溶剂, 使用 Milli-Q 系统 (Millipore, USA) 制备超纯水。用甲醇 (MeOH) 配制储备液, 于 4 °C 避光保存。用超纯水对储备液进行连续稀释, 得到工作溶液。

在线 SPE 设置

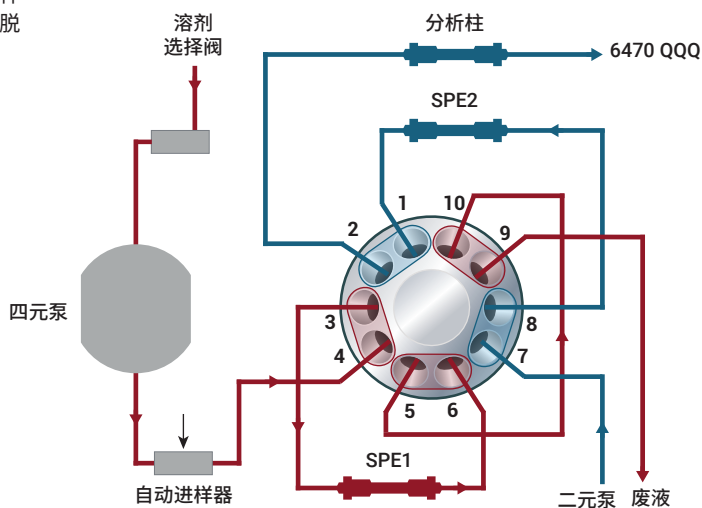
6 种在线 SPE 小柱均购自安捷伦科技公司 (Santa Clara, CA, USA):

- Agilent ZORBAX Bonus-RP (部件号 821125-928)
- Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 (部件号 821125-936)
- Agilent Bond Elut Plexa PCX (工厂定制)
- Agilent ZORBAX Eclipse Plus Phenyl-Hexyl (部件号 821125-938)
- Agilent PLRP-S (部件号 5982-1271)
- Agilent ZORBAX SB-Aq (部件号 821125-933)

除 Bond Elut Plexa PCX 和 PLRP-S 的填料粒径为 15–20 μm 外, 其余所有小柱的规格均为 2.1 \times 12.5 mm, 填料粒径为 5 μm 。

在线 SPE LC 系统配备一个 Agilent InfinityLab Quick Change 2 位/10 通快速切换阀，位于柱温箱中，由阀驱动控制来实现两根捕集柱的交替上样与洗脱。开始时，将阀位置设定为 1 → 2，第一根捕集柱 (SPE1) 处于上样模式，第二根 SPE 小柱 (SPE2) 处于洗脱模式 (图 1A)。四元 LC 泵与自动进样器连接，将样品冲入 SPE1 中以富集分析物。SPE2 含有在前一次运行中富集的分析物，通过二元 LC 泵在分析柱前洗脱。切换到 1 → 10 位置后，二元泵输送梯度流动相以反冲模式将 SPE1 富集的分析物洗脱到分析柱中进行分离 (图 1B)。同时，通过四元泵对 SPE2 进行清洗和再活化，以备下一次上样分析。这一设置能在 SPE1 和 SPE2 上交替富集分析物，从而提高分析通量。

A SPE1 上样
SPE2 洗脱



B SPE1 洗脱
SPE2 上样

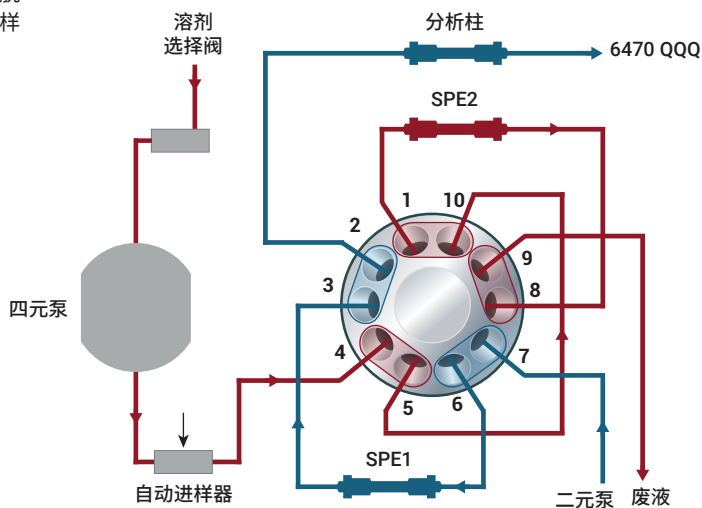


图 1. 用于两个 SPE 小柱交替上样和洗脱的阀位置

在线 SPE 条件

参数	值
富集泵	Agilent 1260 Infinity II 四元泵
自动进样器	Agilent 1260 Infinity II Multisampler
SPE 小柱	Agilent PLRP-S, 2.1 × 12.5 mm, 20 μm (部件号 5982-1271)
样品 pH	7
进样量	1.8 mL
上样/淋洗溶剂	含 2% 甲醇和 0.05% 甲酸的水溶液 (pH 4)
最大压力限值	400 bar
上样/淋洗速率	1 mL/min
清洁溶剂	甲醇/乙腈/异丙醇 (1:1:1)
清洁速率	0.6 mL/min
阀	Agilent InfinityLab Quick Change 2 位/10 通快速切换阀
阀切换时间	4 min
延迟柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 50 mm, 3.5 μm (部件号 959943-902) (在四元泵和自动进样器之间, 去除系统中的 PFCs 干扰)
梯度曲线	0–5 min: 98% A 相 (含 0.05% 甲酸水溶液), 2% B 相 (纯甲醇), 流速: 1 mL/min 5–5.01 min: 改用 100% C 相 (清洁溶剂); 流速: 0.6 mL/min

LC 分离条件

参数	值
LC	Agilent 1260 Infinity II LC
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 3.0 × 50 mm, 2.7 μm (部件号 699975-302)
延迟柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4.6 × 50 mm, 3.5 μm (部件号 959943-902) (在二元泵混合器和快速切换阀之间, 去除系统中的 PFCs 干扰)
流动相	A) 0.05% 甲酸水溶液 B) 乙腈
柱温	30 °C
流速	0.3 mL/min
最大压力限值	600 bar
梯度曲线	0–4 min: 5% 乙腈 4–9 min: 5%–40% 乙腈 9–16 min: 40%–100% 乙腈 16–21 min: 100% 乙腈
后运行时间	9 min

MS/MS 条件

参数	值
MS	Agilent 6470A 三重四极杆液质联用系统
电离模式	正离子和负离子 ESI
毛细管电压	3500 V (正离子/负离子模式)
喷嘴电压	500 V (正离子/负离子模式)
雾化气 (N ₂) 压力	45 psi
干燥气 (N ₂) 温度	300 °C
干燥气流速	7 L/min
鞘气 (N ₂) 温度	350 °C
鞘气流速	7 L/min
扫描模式	动态 MRM
加速电压	4 V
MRM 参数	通过 Agilent MassHunter Optimizer 获得, 列于附录中 (表 1)
软件	Agilent MassHunter 采集/定性分析/定量分析软件包

结果与讨论

选择 SPE 小柱实现最佳回收率

评估了 6 种在线 SPE 小柱在不同样品 pH 值 (3、7 和 10) 下富集的适用性。由于

目标分析物的理化性质存在显著差异，这里选取了 20 种代表性分析物来展示每根小柱的回收性能。综合比较发现，

PLRP-S 能为大多数分析物提供最佳的回收率。因此，选择使用 PLRP-S (图 2)。

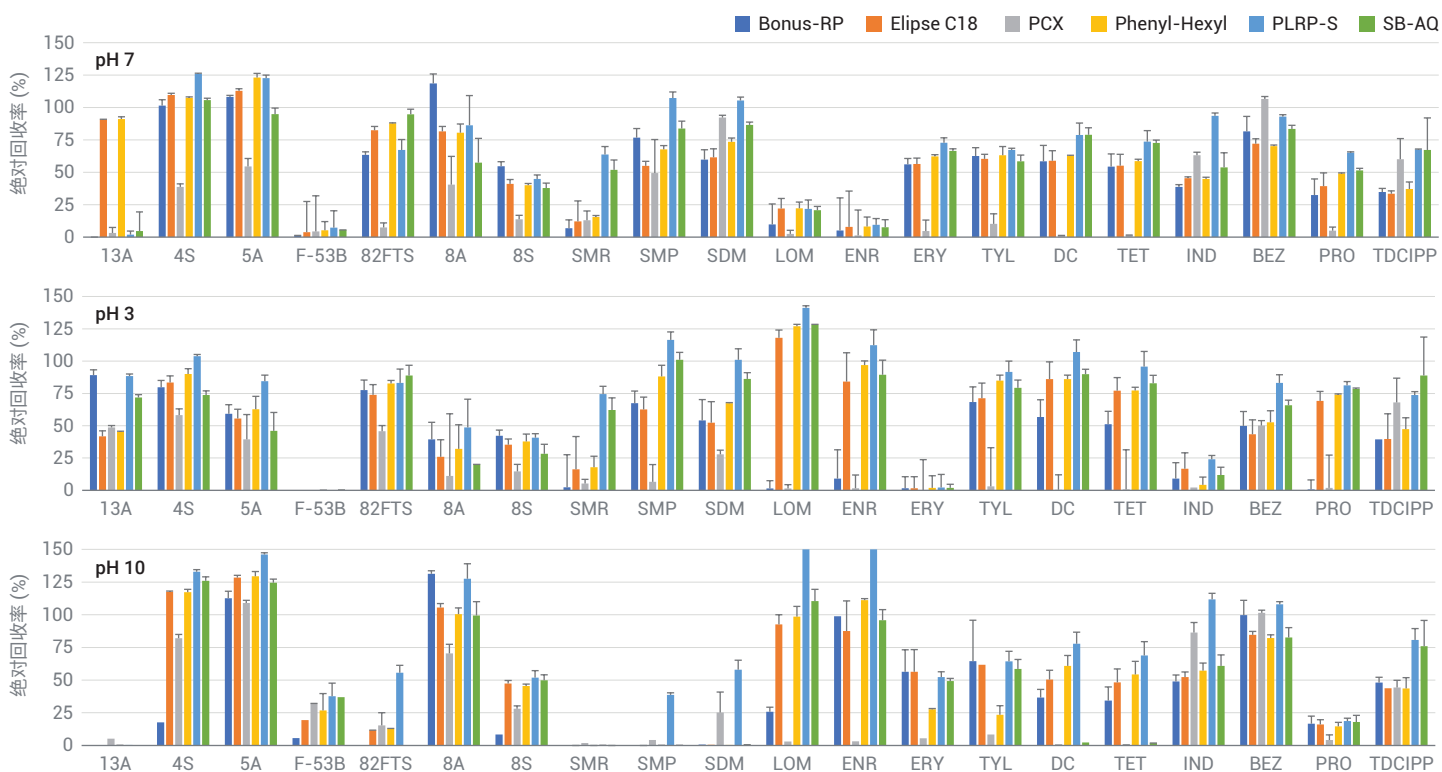


图 2. 3 种 pH 条件下，代表性分析物在 6 种不同 SPE 小柱上的绝对回收率

SPE 上样/淋洗和分析柱分离的溶剂选择

为了使大多数分析物获得更好的方法性能，使用每组的代表性分析物对 LC 分离和在线 SPE 萃取的多个参数分别进行了测试。对流动相添加剂和分析柱前的样品 pH 值进行了正交试验设计。这是采用未配置在线 SPE 的 UHPLC 系统完成的。结果表明，0.05% 的甲酸作为水相添加剂，样品 pH 值为 4 时，可以获得所有代表性分析物的最佳整体响应（图 3A）。因此，选择上述条件用于分析柱。

使用在线 SPE 配置，考察了上样/淋洗溶剂和上样到 SPE 小柱前的样品 pH。如图 3B 所示，0.05% 的甲酸溶液作为上样/淋洗溶剂，且样品溶液 pH 为 10 时，得到的响应优于其他组合（图 3B 中紫色线）。其次是 0.05% 的甲酸溶液作为上样/淋洗溶剂，样品溶液 pH 为 7 的组合（图 3B 中红色线）。此结果与图 2 一致，其中大多数分析物使用 PLRP-S 柱在 pH 为 7 时获得了可接受的绝对回收率。样品 pH 为 7 时，所有代表性分析物均可获得足够高的强度，更便于实际操作。因此，选择 0.05% 甲酸溶液作为 SPE 柱的上样/淋洗溶液，选择 pH 7 作为上样前的样品 pH。由于淋洗溶液将富集在 SPE 小柱上的样品带到分析柱柱头，因此最佳的上样/淋洗溶液与分析柱对样品 pH 的要求一致。

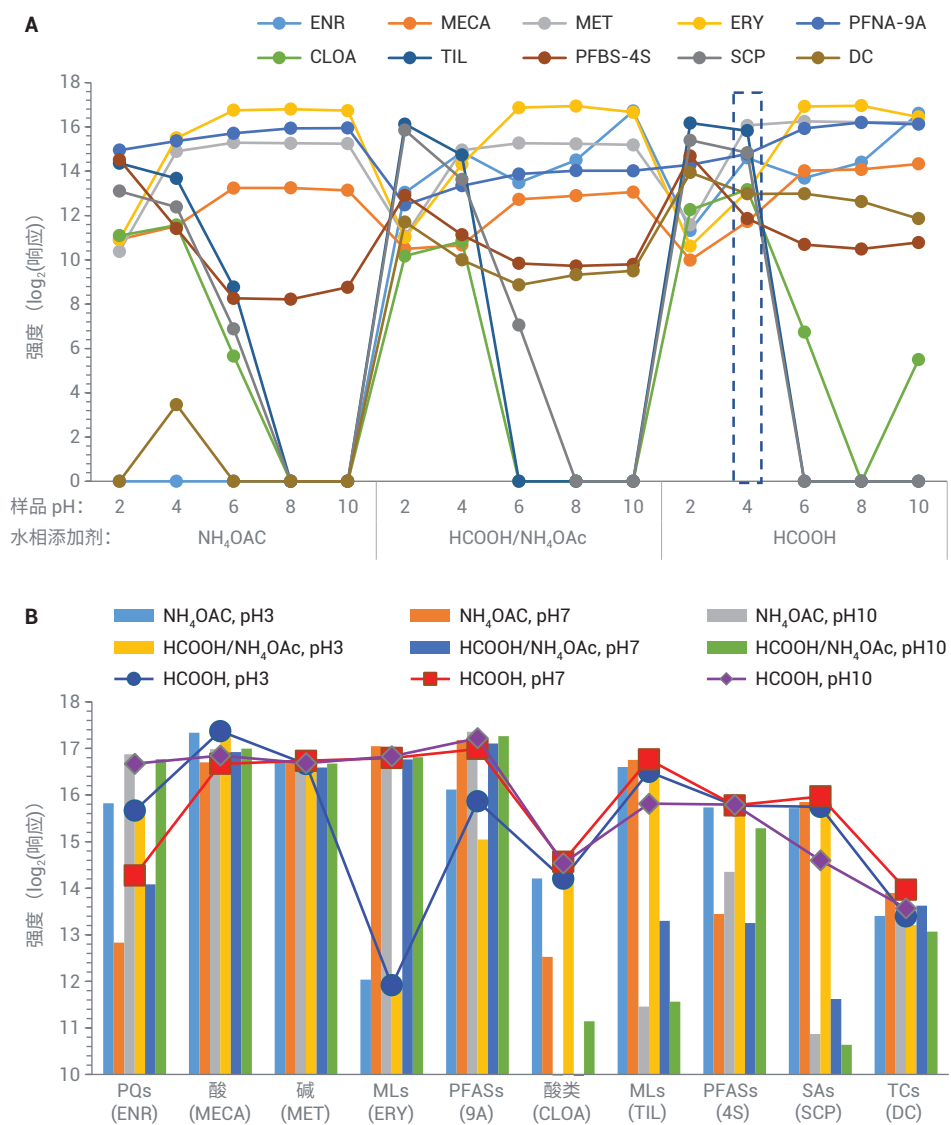


图 3. LC 分离和在线 SPE 条件的多参数优化。(A) 流动相添加剂 (5 mmol/L NH₄OAc、0.05% HCOOH 和 0.05% HCOOH/5 mmol/L NH₄OAc) 和样品 pH (2-10) 对代表性分析物响应的综合影响；(B) 水性上样/淋洗溶剂添加剂 (纯水 (pH 6-7)、0.05% HCOOH (pH 2.66) 和 0.005% 氨水 (pH 10)) 和样品 pH (3、7 和 10) 对代表性分析物响应的综合影响。**注：**B 中的系列标签用于上样/淋洗溶剂-样品 pH 值组合

另外，也对其他参数，包括有机溶剂、富集泵的流速和阀切换时间（后两项与淋洗体积有关）进行了优化，以确保更出色的分析物回收率。优化条件如实验部分所述。

优化条件下分析物的分离

在优化的在线 SPE 和 LC 分离条件下，从分析柱上洗脱出 87 种分析物，保留时间在 7–20 分钟范围内。在 87 种分析物中，有 3 对异构体和 7 对同质异位分析

物。尽管某些物质对的保留时间非常接近，但每对都具有特征的 MRM 离子对，不影响其确认和定量。典型的叠加 MRM 色谱图如图 4 所示。

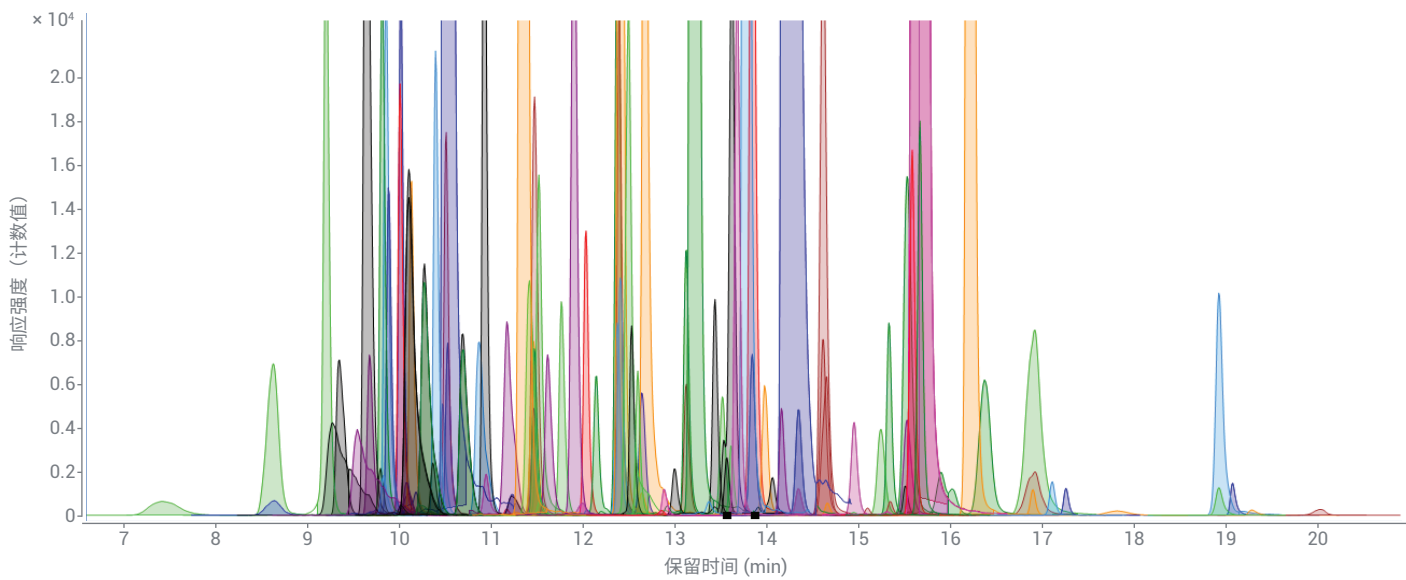


图 4. 纯水中所有 87 种分析物 (100 ng/L) 的叠加 MRM 色谱图

方法性能评估

为了尽可能减小基质效应对定量准确度的影响，采用了同位素标记的内标稀释法进行定量分析，共使用 37 种 IS 化合物，内标浓度设在 25 ng/L。采用纯水作溶剂，配制浓度在 1.0–200 ng/L 范围内的标准校正溶液，对方法线性进行评估。如图 5A 所示，87 种分析物中有 85 种的线性回归系数 (R^2) 大于 0.98，表明可对这些分析物进行定量筛查。只有双氯芬酸 (DLOA) 和 N,N-二乙基间甲苯酰胺 (DEET) 的 R^2 值偏低，分别为 0.9570 和 0.9772。这主要是由于纯水中这两种分析物的背景相对较高，因此在含量较低时只能对它们进行定性筛查。

在饮用水 (DW)、地表水 (SW) 和废水出水 (WWE) 三种环境水质中对方法的灵敏度进行了评估。如图 5B 所示，在 DW 中，所有 85 种可定量测定的分析物 (DLOA 和 DEET 除外) 的定量限 (LOQ) 均低于 10 ng/L。在 SW 中，85 种分析物中有 7 种的 LOQ 在 10–20 ng/L 之间，其余在 10 ng/L 以下；对于 WWE，有 15 种分析物的 LOQ 在 10–20 ng/L 之间，其余分析物的 LOQ 低于 10 ng/L (图 5B)。在这 85 种分析物中，分别有 76%、65% 和 48% 的分析物在 DW、SW 和 WWE 中的 $LOQ \leq 5$ ng/L。结果表明，该方法的灵敏度可以满足环境水质检测。

另外测定了三种水质基质的加标样品 (加标浓度为 25 ng/L 和 100 ng/L)，以评估方法的准确度和精密度。对于所有三种水质基质，超过 87% 的分析物回收率在 60%–130% 之间 (图 5C)，相应的 RSD 在 20% 以内。回收率较低的分析物主要是长链 PFASs、PFRs 和几种极性化合物。这一结果表明该方法能够准确、可靠地定量筛查其中的大部分化合物。

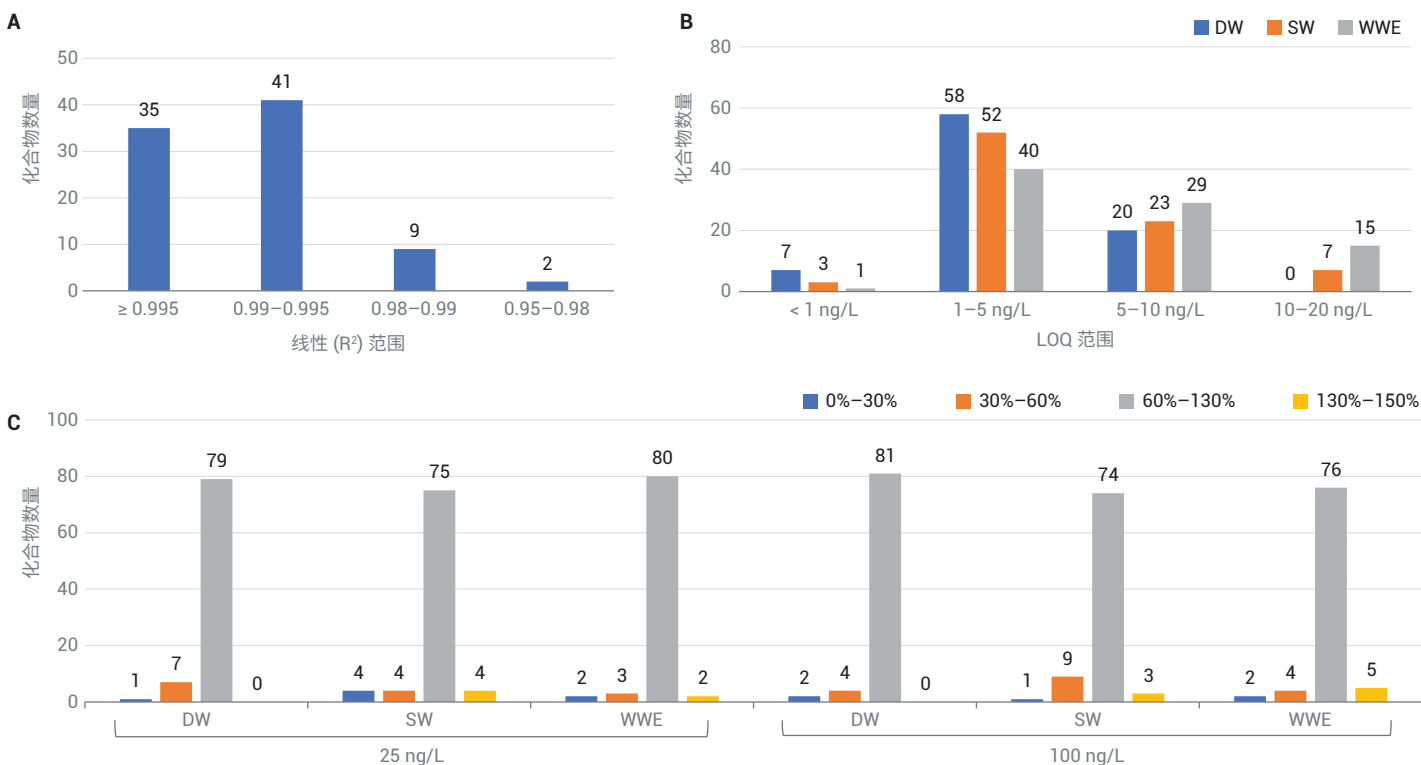


图 5. 方法性能评估。(A) 纯水中 1–200 ng/L 范围内的线性；(B) DW、SW 和 WWE 中的定量限；(C) DW、SW 和 WWE 中加标浓度为 25 ng/L 和 100 ng/L ($n = 3$) 的回收率

结论

本文描述了一种自动化在线 SPE 与 UHPLC/MS/MS 联用的方法，用于测定环境水基质中的 87 种 EOCs，包括 22 种 PFASs、58 种 PPCPs 和 7 种 PFRs。选择 PLRP-S SPE 小柱进行分析物富集，因为它具有出色的保留能力并且在优化条件下对大多数分析物都具有较高的回收率。对 LC 分离和在线 SPE 富集的多个参数进行了评估，以实现所有分析物的最佳整体性能。在测试的三种环境水基质中，大多数分析物在优化的方法下均获得了较好的线性、极低的定量限和满意的回收率和精密度。结果表明，该方法能可靠应用于实际环境水样的筛查。上述优化方法可扩展到水中其他类有机污染物的在线 SPE 分析中。

参考文献

1. Dinh, Q. T. *et al.* Measurement of Trace Levels of Antibiotics in River Water Using On-Line Enrichment and Triple-Quadrupole LC-MS/MS. *Talanta* **2011**, 85, 1238–1245
2. Ferrer-Aguirre, A. *et al.* Simple and Quick Determination of Analgesics and Other Contaminants of Emerging Concern in Environmental Waters by On-Line Solid Phase Extraction Coupled to Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2016**, 1446, 27–33
3. Mazzoni, M. *et al.* An On-Line Solid Phase Extraction-Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for the Determination of Perfluoroalkyl Acids in Drinking and Surface Waters. *J. Anal. Methods Chem.* **2015**, 942016
4. Anumol, T. *et al.* Rapid Analysis of Trace Organic Compounds in Water by Automated Online Solid-Phase Extraction Coupled to Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. *Talanta* **2015**, 132, 77–86
5. Wode, F. *et al.* Multiresidue Analytical Method for the Simultaneous Determination of 72 Micropollutants in Aqueous Samples with Ultra High Performance Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2012**, 1270, 118–126
6. Zhong, M. *et al.* Automated Online Solid-phase Extraction Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Investigation for Simultaneous Quantification of Per- and Polyfluoroalkyl Substances, Pharmaceuticals and Personal Care Products, and Organophosphorus Flame Retardants in Environmental Waters. *J. Chromatogr. A* **2019**, 1602, 350–358

附录

表 1. 化合物信息、保留时间以及使用 LC/QQQ 进行多反应监测的数据采集参数

化合物	缩写	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	子离子 (m/z) 定量/定性	CE (V) 定量/定性	IS	极性
全氟丁酸	4A	10.09	212.9	60	168.9	8	¹³ C ₄ -4A	负
¹³ C ₄ -全氟丁酸	¹³ C ₄ -4A	10.09	217.0	60	171.9	5	IS	负
全氟戊酸	5A	11.55	262.9	61	218.9	5	¹³ C ₅ -5A	负
¹³ C ₅ -全氟戊酸	¹³ C ₅ -5A	11.55	268.0	60	222.9	5	IS	负
全氟己酸	6A	12.36	312.9	60	268.9/119.0	5/21	¹³ C ₂ -6A	负
¹³ C ₂ -全氟己酸	¹³ C ₂ -6A	12.36	315.0	60	269.9	5	IS	负
全氟庚酸	7A	13.11	362.8	60	168.9/319.0	17/5	¹³ C ₄ -7A	负
¹³ C ₄ -全氟庚酸	¹³ C ₄ -7A	13.11	367.1	60	321.9	5	IS	负
全氟辛酸	8A	13.82	413.1	65	368.8/168.9	5/17	¹³ C ₄ -8A	负
¹³ C ₄ -全氟辛酸	¹³ C ₄ -8A	13.82	417.1	50	371.8	5	IS	负
全氟壬酸	9A	14.60	462.9	60	418.8/218.9	5/17	¹³ C ₅ -9A	负
¹³ C ₅ -全氟壬酸	¹³ C ₅ -9A	14.60	468.1	60	422.9	5	IS	负
全氟癸酸	10A	15.51	513.1	50	468.8/268.9	9/17	¹³ C ₂ -10A	负
¹³ C ₂ -全氟癸酸	¹³ C ₂ -10A	15.51	515.1	60	469.9	5	IS	负
全氟十一烷酸	11A	16.90	563.1	88	518.9/493.2	9/29	¹³ C ₂ -11A	负
¹³ C ₂ -全氟十一烷酸	¹³ C ₂ -11A	16.90	565.0	100	519.8	8	IS	负
全氟十二烷酸	12A	18.90	613.1	103	568.9/169	9/15	¹³ C ₂ -12A	负
¹³ C ₂ -全氟十二烷酸	¹³ C ₂ -12A	18.90	615.0	120	519.8	8	IS	负
全氟十三烷酸	13A	19.27	663.1	93	618.9/168.9	9/29	¹³ C ₂ -12A	负
全氟丁烷磺酸盐	4S	12.60	298.8	128	80.0/98.9	37/33	¹³ C ₃ -4S	负
¹³ C ₃ -全氟丁烷磺酸盐	¹³ C ₃ -4S	12.60	301.8	100	79.9	32	IS	负
全氟戊烷磺酸盐	5S	13.47	348.8	136	80.0/98.9	45/37	¹³ C ₃ -6S	负
全氟己烷磺酸盐	6S	14.30	398.8	161	80.0/98.9	45/41	¹³ C ₃ -6S	负
¹³ C ₃ -全氟己烷磺酸盐	¹³ C ₃ -6S	14.30	401.8	156	80.0/98.9	49/41	IS	负
全氟庚烷磺酸盐	7S	15.19	448.8	166	80.0/98.9	49/45	¹³ C ₄ -8A	负
全氟辛烷磺酸盐	8S	16.30	498.8	172	80.0/98.9	50/45	¹³ C ₄ -8A	负
全氟癸烷磺酸盐	10S	19.05	598.8	196	80.0/98.9	61/53	¹³ C ₂ -11A	负
3,3,4,4,5,5,6,6-九氟-1-己烷磺酸	4:2FTS	12.02	327.1	123	306.9/81.0	21/29	¹³ C ₃ -4S	负
1H,1H,2H,2H-全氟辛烷磺酸	6:2FTS	13.42	427.2	128	406.9/81.0	25/37	¹³ C ₄ -7A	负
1H,1H,2H,2H-全氟癸烷磺酸	8:2FTS	13.82	527.2	171	506.8/81.0	29/41	¹³ C ₃ -6S	负
N-乙基全氟辛烷磺酰胺	EtFOSA	17.22	526.2	128	168.9/218.9	29/25	¹³ C ₂ -11A	负
N-甲基全氟辛烷磺酰胺 (MeFOSA)	MeFOSA	16.87	512.2	128	168.9/218.9	29/25	¹³ C ₂ -11A	负
6:2 氯代多氟烷基磺酸盐	F-53B	17.68	530.7	136	83.0	29	¹³ C ₂ -11A	负
替米考星	TIL	11.16	869.3	260	174.3/696.9	50/46	D ₃ -TIL	正
D ₃ -替米考星	D ₃ -TIL	11.16	872.6	270	177.0/696.4	50/46	IS	正
甲红霉素	CTM	12.53	748.4	165	158.0/590.3	29/21	D ₇ -ROX	正
红霉素	ERY	11.78	734.4	155	158.0/576.3	29/17	D ₇ -ROX	正
罗红霉素	ROX	12.60	837.4	165	679.3/558.3	21/25	D ₇ -ROX	正
D ₇ -罗红霉素	D ₇ -ROX	12.60	844.4	170	686.4/558.3	21/25	IS	正
泰乐菌素	TYL	11.98	916.4	240	772.3	33	D ₇ -ROX	正
克林霉素	CLD	10.93	425.1	145	126.1/377.1	29/21	D ₃ -CLD	正
D ₃ -克林霉素	D ₃ -CLD	10.93	428.1	150	129.1/380.1	29/21	IS	正

化合物	缩写	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	子离子 (m/z) 定量/定性	CE (V) 定量/定性	IS	极性
林可霉素	LCM	9.22	407.1	148	126.1/359.1	33/21	D ₃ -LCM	正
D ₃ -林可霉素	D ₃ -LCM	9.22	410.1	150	129.1	33	IS	正
氟甲唑	FLU	12.66	262.0	120	244.0/201.9	21/37	¹³ C ₃ -FLU	正
¹³ C ₃ -氟甲唑	¹³ C ₃ -FLU	12.66	265.0	120	247.0/204.9	17/37	IS	正
奥索利酸	OXA	11.51	262.0	100	244.0/215.9	17/33	¹³ C ₃ -FLU	正
萘啶酸	不适用	12.48	233.0	89	215.0/186.9	13/29	D ₅ -DA	正
D ₅ -萘啶酸	D ₅ -DA	12.48	238.0	106	220.0/188.0	13/29	IS	正
二氟沙星	DIF	10.53	400.0	140	356.1/299.0	21/33	D ₅ -LOM	正
达氟沙星	DAN	10.02	358.1	135	340.1/82.1	25/49	D ₅ -LOM	正
马波沙星	MAR	9.69	363.0	130	320.0/345.1	13/21	D ₅ -LOM	正
沙氟沙星	SAR	10.47	386.0	130	368.1/342.1	25/21	D ₅ -LOM	正
洛美沙星	LOM	10.02	352.0	130	265.0/308.1	25/17	D ₅ -LOM	正
D ₅ -洛美沙星	D ₅ -LOM	10.02	357.1	135	270.1/313.1	25/17	IS	正
环丙沙星	CIP	9.89	332.1	130	314.1/288.0	21/41	D ₈ -CIP	正
D ₈ -环丙沙星	D ₈ -CIP	10.33	340.1	134	322.1/296.0	25/29	IS	正
司帕沙星	SPA	10.51	393.1	140	349.1/292.1	21/29	D ₅ -LOM	正
培氟沙星	PEF	9.87	334.1	125	316.1/290.1	25/17	D ₅ -LOM	正
恩诺沙星	ENR	10.14	360.1	130	342.1/316.1	25/21	D ₈ -OFL	正
诺氟沙星	NOR	9.80	320.0	130	302.1/276.1	25/17	D ₈ -OFL	正
氧氟沙星	OFL	9.82	362.0	140	318.1/261.0	21/29	D ₈ -OFL	正
D ₈ -氧氟沙星	D ₈ -OFL	9.82	370.1	135	326.1/265.0	21/33	IS	正
磺胺氯吡嗪	SCP	10.87	285.0	105	155.9/92.0	13/29	¹³ C ₆ -SCP	正
¹³ C ₆ -磺胺氯吡嗪	¹³ C ₆ -SCP	10.87	291.0	100	161.9/98.0	13/33	IS	正
磺胺嘧啶	SD	8.81	250.9	100	155.9/92.1	13/33	D ₄ -SD	正
D ₄ -磺胺嘧啶	D ₄ -SD	8.81	254.9	105	160.0/96.0	17/33	IS	正
磺胺甲恶唑	SMX	11.17	254.0	104	92.0/155.9	29/17	¹³ C ₆ -SIX	正
磺胺间甲氧嘧啶	SMM	10.70	281.0	115	155.9/92.0	17/37	D ₄ -SMM	正
D ₄ -磺胺间甲氧嘧啶	D ₄ -SMM	10.70	285.0	120	155.9/96.1	17/33	IS	正
磺胺噻唑	STZ	9.27	255.9	105	155.9/92.0	13/29	D ₄ -STZ	正
D ₄ -磺胺噻唑	D ₄ -STZ	9.27	259.8	105	159.9/96.1	17/33	IS	负
磺胺甲噁唑	SMR	9.55	262.9	115	92.0/155.9	33/17	D ₄ -STZ	正
磺胺异恶唑	SIX	11.41	267.9	105	155.9/92.0	13/33	¹³ C ₆ -SIX	正
¹³ C ₆ -磺胺异恶唑	¹³ C ₆ -SIX	11.41	274.0	115	161.9/98.0	13/29	IS	正
磺胺索嘧啶	SAAM	10.12	279.0	125	185.9/124.0	17/25	¹³ C ₆ -SCP	正
磺胺甲氧吡嗪	SMP	10.28	280.9	115	155.9/92.0	17/33	D ₃ -SMP	正
D ₃ -磺胺甲氧吡嗪	D ₃ -SMP	10.28	284.0	110	155.9/92.0	17/33	IS	正
磺胺二甲嘧啶	SMZ	10.12	278.9	120	185.9/92.0	17/33	D ₃ -SMP	正
磺胺地托辛	SDM	11.89	310.9	115	156.0/92.0	21/41	D ₄ -SDM	正
D ₄ -磺胺地托辛	D ₄ -SDM	11.89	315.0	125	156.0/96.0	25/37	IS	正
甲氧苄啶	TMP	9.65	291.1	145	230.0/264.0	25/29	D ₃ -TMP	正
D ₃ -甲氧苄啶	D ₃ -TMP	9.65	294.1	140	230.0/264.0	25/29	IS	正
多西环素	DC	10.14	445.0	130	154.0/428.5	13/18	D ₃ -DC	正
D ₃ -多西环素	D ₃ -DC	11.14	448.1	130	430.9/202.6	17/53	IS	正
美他环素	MEC	10.14	443.0	110	426.3/201.0	15/40	D ₃ -DC	正
土霉素	OTC	9.84	461.1	115	426.1/443.0	19/10	D ₆ -TET	正

化合物	缩写	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	子离子 (m/z) 定量/定性	CE (V) 定量/定性	IS	极性
氯四环素	CTC	10.37	479.0	135	462.0/444.0	14/22	D ₆ -TET	正
四环素	TET	10.14	445.1	120	154.0/410.1	29/21	D ₆ -TET	正
D ₆ -四环素	D ₆ -TET	10.14	451.3	115	416.1/160.0	21/29	IS	正
氟甲砜霉素	FF	11.20	357.8	95	337.9/185.0	5/17	D ₃ -FF	负
D ₃ -氟甲砜霉素	D ₃ -FF	11.20	360.8	95	340.9/188.0	8/20	IS	负
氯霉素	CAP	11.52	320.9	110	256.9/152.0	17/9	D ₇ -PEN-G	负
甲砜霉素	THI	11.22	355.8	110	185.0/291.9	21/9	D ₇ -PEN-G	负
吡哌美辛	IND	14.65	356.0	85	312.0/297.0	5/17	D ₄ -IND	负
D ₄ -吡哌美辛	D ₄ -IND	14.65	360.1	70	316.0/301.0	5/17	IS	负
双氯芬酸	DLOA	14.61	293.9	76	249.9/213.9	9/21	D ₄ -DLOA	负
D ₄ -双氯芬酸	D ₄ -DLOA	14.61	297.9	79	253.9/217.0	9/21	IS	负
甲芬那酸	MECA	15.32	240.0	105	196.0/192.0	17/29	D ₄ -BEZ	负
非那西丁	PHE	11.46	180.0	136	110.0/138.0	21/17	D ₇ -PEN-G	负
D ₇ -青霉素 G	D ₇ -PEN-G	12.10	342.1	170	218.0/98.0	13/61	IS	正
吉非罗齐	GEM	15.50	249.0	76	121.0/113.0	21/5	D ₄ -CLOA	负
苯扎贝特	BEZ	13.60	360.0	103	274.0/153.9	17/33	D ₄ -BEZ	负
D ₄ -苯扎贝特	D ₄ -BEZ	13.60	364.0	105	278.0/158.0	17/33	IS	负
氯贝酸	CLOA	13.55	212.9	73	126.9/85.0	17/5	D ₄ -CLOA	负
D ₄ -氯贝酸	D ₄ -CLOA	13.55	216.9	78	131.0/85.0	17/5	IS	负
美托洛尔	MET	10.40	268.1	127	74.1/116.0	25/21	D ₇ -PRO	正
心得安	PRO	11.46	260.1	122	116.0/56.1	17/33	D ₇ -PRO	正
D ₇ -心得安	D ₇ -PRO	11.46	267.1	125	123.1/79.1	21/25	IS	正
舒必利	SUL	8.63	342.1	140	112.0/213.9	29/37	IS	正
泰妙菌素	TIA	12.38	494.3	137	192.0/119.0	21/45	D ₃ -LCM	正
卡马西平	CMP	12.40	237.0	125	194.0/178.9	21/41	D ₁₀ -CMP	正
D ₁₀ -卡马西平	D ₁₀ -CMP	12.40	247.1	125	204.1/202.0	25/45	IS	正
咖啡因	CAF	9.36	194.9	120	138.0/42.2	21/45	—	正
灭蚊胺 (N,N-二乙基间甲苯酰胺)	DEET	13.20	192.1	120	119.0/91.0	17/37	D ₆ -DEET	正
D ₆ -灭蚊胺 (N,N-二乙基间甲苯酰胺)	D ₆ -DEET	13.20	198.1	135	119.0/91.0	21/37	IS	正
青霉素 G	PEN-G	12.13	335.1	165	216.9/91.0	10/58	D ₇ -PEN-G	正
喹乙醇	OLA	7.42	264.0	115	143.0/202.9	37/17	D ₄ -OLA	正
D ₄ -喹乙醇	D ₄ -OLA	7.42	268.1	125	143.0/216.0	41/25	IS	正
莫能菌素	MON	19.99	693.4	230	675.4/479.3	41/61	D ₂₇ -TNBP	正
磷酸三 (2-丁氧乙基) 酯	TBOEP	16.21	399.2	122	299.1/199.0	13/13	D ₂₁ -TPP	正
磷酸三 (1,3-二氯异丙基) 酯	TDCIPP	15.33	430.8	143	98.9/208.9	33/17	D ₁₅ -DCIPP	正
D ₁₅ -磷酸三 (1,3-二氯异丙基) 酯	D ₁₅ -DCIPP	15.33	446.0	143	102.0	33	IS	正
磷酸三乙酯	TEP	11.35	183.0	93	98.9/81.0	21/50	D ₁₅ -TEP	正
D ₁₅ -磷酸三乙酯	D ₁₅ -TEP	11.35	198.0	93	102.0/82.0	21/50	IS	正
磷酸三异丁酯	TIBP	15.71	267.1	90	98.9/211.0	17/5	D ₂₇ -TNBP	正
三羟甲基丙烷磷酸酯	TMPP	17.11	369.0	170	165.0/91.1	49/45	D ₂₇ -TNBP	正
磷酸三正丁酯	TNBP	15.61	267.1	94	99.0/211.0	21/5	D ₂₇ -TNBP	正
D ₂₇ -磷酸三正丁酯	D ₂₇ -TNBP	15.61	294.0	94	166.0/102.0	9/21	IS	正
磷酸三正丙酯	TPP	13.76	225.0	85	99.0/183.0	17/5	D ₂₁ -TPP	正
D ₂₁ -磷酸三正丙酯	D ₂₁ -TPP	13.76	246.0	85	150.0/102.0	9/21	IS	正

使用超高灵敏度三重四极杆质谱仪实现水中药物和个人护理用品 (PPCP) 的高通量检测

作者

杜伟、李建中、郭启雷、薄涛
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

本文采用安捷伦三重四极杆液质联用系统，建立了测定环境水中药物和个人护理用品 (PPCP) 的分析方法。文中利用直接进样方式，应用动态 MRM 采集模式实现了同时对环境水中 377 种 PPCP 快速准确的筛查和定量分析，多数化合物的检测限 (LOD) 低于 10 ng/L，无需进行样品富集。该方法线性关系良好，在添加浓度为 100 ng/L 时，超过 63% 的化合物的回收率在 80%-120% 之间，超过 78% 的化合物的 RSD < 20%，重复性和回收率良好，完全满足环境领域监测需求。

前言

药物和个人护理用品 (Pharmaceutical and Personal Care Products, PPCP) 作为一类新兴污染物日益受到人们的关注。PPCP 种类繁多, 包括各类抗生素、止痛药、降压药、避孕药、催眠药、减肥药、发胶、染发剂、香水和杀菌剂等, 人们的使用是 PPCP 进入环境的主要方式, 它通常以痕量浓度存在于地表水中, 对环境、野生动植物和人类的健康带来负面影响。

环境水中的 PPCP 浓度很低, 通常处于 ng/L 水平。采用常规的三重四极杆液相色谱与质谱联用系统进行检测时, 通常需要通过固相萃取 (SPE) 对样品进行富集。SPE 需要大量样品, 操作繁琐、耗时长, 成为限制检测通量和准确性的因素。随着超高灵敏度 Agilent 6495 三重四极杆质谱仪结合安捷伦喷射流离子源的出现, 可以采用直接进样的方式检测环境水中低至 ng/L 浓度水平的 PPCP, 简化了前处理过程, 显著提高了检测通量。

本文以直接进样方式, 采用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱/6495 三重四极杆液质联用系统, 建立了同时检测 377 种 PPCP 类化合物的可靠定量方法。包括抗生素类 104 种、兴奋剂类 29 种、激素类 46 种、精神类 48 种、解热镇痛类 28 种、抗过敏类 13 种、心血管类 20 种、农药 48 种以及其它类 41 种。该方法具有高通量、高灵敏度和覆盖范围广等特点, 适合于环境行业 PPCP 高通量的筛查和检测。

实验部分

试剂和样品

所有试剂均为 HPLC-MS 级。乙腈购自 Honeywell。超纯水产自 Milli-Q 纯水系统 (Merck KGaA)。5 mol/L 乙酸铵溶液购自 Fluka (09691-250ML)。乙酸购自 Aldrich (338828-25ML)。PPCP 标准品由外部合作方提供。实际水样取自于北京某湖泊及其周边水域。

仪器和设备

实验采用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱进行分离, 其由下列部件组成:

- Agilent 1290 Infinity II 二元高速泵 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II 高通量进样器 (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II 多柱柱温箱 (G7116B)

采用配有安捷伦喷射流 (AJS) 电喷雾离子源和 iFunnel 离子传输聚焦技术的 Agilent 6495 三重四极杆液质联用系统, 在正离子模式下进行检测。

采用 Agilent MassHunter 工作站软件 (B.07 版本) 进行数据采集和分析。

标准溶液配置

PPCP 标准品储备液以乙腈配制, 各化合物的浓度均为 10 mg/L。以 Milli-Q 纯水配制各化合物的混合标准溶液, 校准曲线浓度范围为 10-10000 ng/L。浓度为 100 ng/L 的加标样品由实际水样中添加混合标准溶液配制。

样品前处理

实际水样采用 0.22 μm 滤膜过滤后直接进样 20 μL 进行分析检测。

表 1. 用于正离子模式方法的液相色谱条件

色谱柱	ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm (部件号: 959758-902)	
柱温	40 °C	
进样量	20 μL	
流动相	A) 5 mM 乙酸铵 + 0.02% 乙酸的水溶液 B) 乙腈	
流速	0.3 mL/min	
梯度程序	时间 (min)	B(%)
	0	5
	0.5	5
	11	100
	15	100
停止时间	15 min	
后运行时间	3 min	

表 2. 用于负离子模式方法的液相色谱条件

色谱柱	ZORBAX Eclipse Plus C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm (部件号: 959758-902)	
柱温	40 °C	
进样量	20 μL	
流动相	A) 0.005% 乙酸水溶液 B) 乙腈	
流速	0.3 mL/min	
梯度程序	时间 (min)	B(%)
	0	5
	0.5	5
	6	100
	9	100
停止时间	15 min	
后运行时间	3 min	

表 3. 质谱离子源条件

离子模式	正离子模式/负离子模式
干燥气温度	250 °C (正) /200 °C (负)
干燥气流速	16 L/min (正) /12 L/min (负)
鞘气温度	380 °C
鞘气流速	12 L/min
雾化器压力	40 psi
毛细管电压	3000 V
喷嘴电压	0 V (正) /2000 V (负)
MS ₁ 和 MS ₂ 分辨率	单位分辨率
MRM 参数	如表 4 和表 5 所示

表 4. 正离子模式下化合物 MRM 离子对参数列表

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
10,11-dihydro-10-hydroxycarbamazepine	255.1	237	20	4.51	Lidocaine	235.1	86.2	8	4.03

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
10,11-dihydro-10-hydroxycarbamazepine	255.1	194.1	4	4.51	Lidocaine	235.1	58.1	32	4.03
2-Aminobenzimidazole	134.1	92	25	2.60	Lincomycin	407.2	359	15	3.23
2-Aminobenzimidazole	134.1	65.1	35	2.60	Lincomycin	407.2	126	30	3.23
2-aminoflubendazole	256.1	123	40	4.84	LMG	331.2	239.1	30	10.90
2-aminoflubendazole	256.1	95	40	4.84	LMG	331.2	223.1	55	10.90
2-Mercaptobenzimidazole	151	93	15	3.63	Loratadine	383.2	337.1	20	8.96
2-Mercaptobenzimidazole	151	65	20	3.63	Loratadine	383.2	267.1	40	8.96
2-Methyl-4(5)-nitroimidazole	128.1	82	16	2.04	Lorazepam	321	275.1	12	6.11
2-Methyl-4(5)-nitroimidazole	128.1	42	36	2.04	Lorazepam	321	229.2	28	6.11
2-Methyl-5-nitroimidazole	128.1	82	16	3.50	Maduramycin	934.4	647.3	16	12.38
2-Methyl-5-nitroimidazole	128.1	42	36	3.50	Maduramycin	934.4	629.4	20	12.38
2-Thiouracil	129	112	12	1.19	Malathion	331	127	5	8.39
2-Thiouracil	129	70	17	1.19	Malathion	331	99	10	8.39
3-Hydroxycarbofuran	238	181	5	4.37	MDA	180.1	163.2	4	3.32
3-Hydroxycarbofuran	238	163	10	4.37	MDA	180.1	105.2	20	3.32
4-Aminoantipyrine	204.1	159	8	4.05	MDEA	208.1	163.1	4	3.71
4-Aminoantipyrine	204.1	83	12	4.05	MDEA	208.1	77.1	44	3.71
4-Isopropylaminoantipyrine	246.2	153.2	8	5.02	MDMA	194.1	163.1	8	3.46
4-Isopropylaminoantipyrine	246.2	56.2	20	5.02	MDMA	194.1	77.1	40	3.46
4-Nitroimidazole	114.1	97	15	1.47	Mebendazole	296.1	264.1	18	5.98
4-Nitroimidazole	114.1	68	25	1.47	Mebendazole	296.1	105	35	5.98
5-Chloro-1-methyl-4-nitroimidazole	162.1	145	16	3.56	Mefenamic acid	242.1	224	16	7.59
5-Chloro-1-methyl-4-nitroimidazole	162.1	116	18	3.56	Mefenamic acid	242.1	208	36	7.59
5-Hydroxymebendazole/5-Hydroxyl-mebendazole	298.2	266.1	19	5.20	Megestrol acetate	385.2	325.2	8	8.70
5-Hydroxymebendazole/5-Hydroxyl-mebendazole	298.2	160	36	5.20	Megestrol acetate	385.2	267.2	12	8.70
5-Hydroxy-Thiabendazole	218	176	17	5.93	Melengestrol acetate	397.2	337.3	8	8.88
5-Hydroxy-Thiabendazole	218	148	25	5.93	Melengestrol acetate	397.2	279.2	20	8.88
5-Nitrobenzimidazole	164.1	118	22	4.10	Meperidine	248	220.2	16	4.49
5-Nitrobenzimidazole	164.1	91	40	4.10	Meperidine	248	174.1	16	4.49
6-Acetylmorphine	328.1	211.1	24	3.31	Meprobamate	219	158.1	0	4.65
6-Acetylmorphine	328.1	165.1	44	3.31	Meprobamate	219	97	12	4.65
Acebutolol	337.2	116	16	3.92	Mercaptodimethur	226.3	169	7	7.53
Acebutolol	337.2	56	40	3.92	Mercaptodimethur	226.3	121	20	7.53
Acetaminophen	152	110	12	2.54	Metaproterenol/Orciprenaline	212.1	194.1	6	1.54
Acetaminophen	152	65.1	32	2.54	Metaproterenol/Orciprenaline	212.1	152	14	1.54
Alanycarb	422	199	15	8.40	Metformin	130.1	71.1	24	0.62
Alanycarb	422	142	20	8.40	Metformin	130.1	60	12	0.62
Albendazole	266.1	234.1	16	6.69	Methadone	310.2	265.2	8	6.19
Albendazole	266.1	191	34	6.69	Methadone	310.2	104.9	28	6.19

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
Albendazole-2-aminosulfoxide	240.1	198.1	16	3.55	Methamphetamine	150.1	119.1	8	3.39
Albendazole-2-aminosulfoxide	240.1	133	30	3.55	Methimazole/Tapazole/TAP	115	88	16	1.53
Albendazole-Sulfone	298.1	266.1	16	4.82	Methimazole/Tapazole/TAP	115	57	19	1.53
Albendazole-Sulfone	298.1	159	39	4.82	Methiocarb	226	169	5	7.42
Albendazole-Sulfoxide	282.1	240.1	7	4.23	Methiocarb	226	121	10	7.42
Albendazole-Sulfoxide	282.1	208	21	4.23	Methiocarb sulfone	258.2	201	13	5.01
Albuterol	240.1	222.2	0	2.39	Methiocarb sulfone	258.2	121.7	15	5.01
Albuterol	240.1	148	12	2.39	Methiocarb sulfoxide	242.2	185	17	4.11
Alclomethasone dipropionate	521.2	301	10	8.53	Methiocarb sulfoxide	242.2	122	17	4.11
Alclomethasone dipropionate	521.2	279	10	8.53	Methomyl	163	106	5	3.50
Aldicarb	116	89	5	5.37	Methomyl	163	88	5	3.50
Aldicarb	116	70	5	5.37	Methomyl-oxime	106	88	7	3.48
Aldicarb sulfone	223	148	5	3.26	Methomyl-oxime	106	58	10	3.48
Aldicarb sulfone	223	86	15	3.26	Methotrexate	455.1	308.2	16	2.88
Aldicarb sulfoxide	207	132	5	2.74	Methotrexate	455.1	175.1	36	2.88
Aldicarb sulfoxide	207	89	5	2.74	Methylphenidate	234.1	84.2	20	4.17
Aminonide	503.2	338.9	10	8.54	Methylphenidate	234.1	56.2	52	4.17
Aminonide	503.2	321	14	8.54	Methylprednisolone	375.2	357.1	6	5.83
Aminocarb	209.1	152	10	5.57	Methylprednisolone	375.2	161.1	20	5.83
Aminocarb	209.1	137	20	5.57	Methylprednisolone 21-acetate	417.2	399.2	6	6.99
Amino-Mebendazole/ Mebendazole-amine(HMEB)	238	105	25	4.58	Methylprednisolone 21-acetate	417.2	253.2	18	6.99
Amino-Mebendazole/ Mebendazole-amine(HMEB)	238	77	40	4.58	Methylthiouracil/6-Methyl-2-thiouracil	143	126	14	1.59
Aminophenazone	232	113	10	4.54	Methylthiouracil/6-Methyl-2-thiouracil	143	84	15	1.59
Aminophenazone	232	111	10	4.54	Metolcarb	166.1	109	5	2.73
Amitriptyline	278.2	202.2	68	6.11	Metolcarb	166.1	94	35	2.73
Amitriptyline	278.2	91	24	6.11	Metoprolol	268.2	76.9	56	4.05
Amitriptyline metabolite	294.2	276.2	8	4.56	Metoprolol	268.2	56.2	24	4.05
Amitriptyline metabolite	294.2	214.9	48	4.56	Metronidazole	172.1	128	12	2.82
Amphetamine	136.1	119.1	4	3.22	Metronidazole	172.1	82	26	2.82
Amphetamine	136.1	91.1	12	3.22	Mevastatin	391.2	185.1	8	8.86
Aripiprazole	448.1	285.1	24	6.75	Mevastatin	391.2	159.1	24	8.86
Aripiprazole	448.1	98.2	40	6.75	MG	329.2	314.2	38	7.18
Astemizole	459.3	218.2	20	6.55	MG	329.2	285.1	42	7.18
Astemizole	459.3	135.1	40	6.55	m-Hydroxybenzoylecgonine	306.1	168.1	12	3.32
Atenolol	267.2	145.1	24	2.50	m-Hydroxybenzoylecgonine	306.1	65.2	72	3.32
Atenolol	267.2	74	20	2.50	Miconazole	415	159	40	9.97
Atorvastatin	559.2	440.2	20	6.95	Miconazole	415	69	20	9.97

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
Atorvastatin	559.2	250.2	40	6.95	MNZOH/Hydroxy metronidazole/2-hydroxy-methyl-5-nitroimidazol	188.1	126	15	2.21
Atrazine	216.1	174.1	8	6.51	MNZOH/Hydroxy metronidazole/2-hydroxy-methyl-5-nitroimidazol	188.1	123	10	2.21
Atrazine	216.1	68.2	36	6.51	Modafinil	296.1	129.2	8	5.17
Avermectin	895.5	751.4	45	11.12	Mometasone furoate	521.1	503	4	8.66
Avermectin	895.5	449.2	50	11.12	Mometasone furoate	521.1	263	24	8.66
Azaperol	330	149	25	4.73	Monensin-NH4	688.5	635.4	12	12.65
Azaperol	330	121	30	4.73	Monensin-NH4	688.5	461.3	23	12.65
Azaperone	328	165	7	5.30	Monoethylglycinexylidide	207.1	122.2	8	3.37
Azaperone	328	121	21	5.30	Monoethylglycinexylidide	207.1	58.2	4	3.37
Azlocillin	462	246	10	3.53	Montelukast	586.2	422.1	20	10.32
Azlocillin	462	218	20	3.53	Montelukast	586.2	278.1	28	10.32
Beclomethasone	409.2	391.1	6	6.13	Morphine	286.1	152.2	64	2.02
Beclomethasone	409.2	146.9	30	6.13	Morphine	286.1	128	68	2.02
Beclomethasone dipropionate	521.2	503	4	9.06	Naftifine	288.2	141.1	20	8.61
Beclomethasone dipropionate	521.2	319	10	9.06	Naftifine	288.2	117.1	20	8.61
Bendiocarb	224	167	5	6.14	Nalidixic Acid	233	215	10	5.91
Bendiocarb	224	109	10	6.14	Nalidixic Acid	233	187	20	5.91
Benfuracarb	411	252	10	9.90	Nandrolone/Nortestosterone	275.2	239.1	13	6.67
Benfuracarb	411	195	20	9.90	Nandrolone/Nortestosterone	275.2	109	24	6.67
Bentazon	241	184	8	6.57	Naproxen	231	185	10	6.43
Bentazon	241	57	20	6.57	Naproxen	231	141	40	6.43
Benzimidazole	119.1	92	30	2.65	Narasin	787.6	531.3	52	13.08
Benzimidazole	119.1	65.1	35	2.65	Narasin	787.6	431.2	56	13.08
Benzoylcegonine	290.1	168.2	16	3.55	Nifedipine	347.1	315.2	0	7.01
Benzoylcegonine	290.1	77	64	3.55	Nifedipine	347.1	195.1	36	7.01
Betamethasone valerate	477.3	354.9	4	8.14	Nifedipine oxidized	345.1	284	24	6.92
Betamethasone valerate	477.3	278.8	14	8.14	Nifedipine oxidized	345.1	268.1	24	6.92
Betamethasone dipropionate	505.2	318.9	10	8.79	Nigericin M+NH4	742.5	675.3	25	13.82
Betamethasone dipropionate	505.2	278.9	12	8.79	Nigericin M+NH4	742.5	657.2	25	13.82
Bifonazole	311.2	243.1	10	8.66	Nimorazole	227.1	114.1	10	3.56
Bifonazole	311.2	165.1	40	8.66	Nimorazole	227.1	100.1	20	3.56
Brompheniramine	319.1	274	20	5.20	Norfentanyl	233.1	84	12	3.74
Brompheniramine	319.1	167.1	40	5.20	Norfentanyl	233.1	55	40	3.74
Budesonide	431.2	413.1	6	7.26	Norfluoxetine	296.1	134.1	0	6.00
Budesonide	431.2	146.9	30	7.26	Norfluoxetine	296.1	30	8	6.00
Buprenorphine	468.3	84.2	48	7.51	Normeperidine	234.1	160.3	8	4.41
Buprenorphine	468.3	55.1	52	7.51	Normeperidine	234.1	91.2	48	4.41
Bupropion	240.1	184	4	4.80	Normeperidine	234.1	56.1	20	4.41
Bupropion	240.1	131	20	4.80	Norquetiapine	296.1	210.1	24	5.38
Butocarboxim	213	156	5	5.14	Norquetiapine	296.1	139.1	60	5.38

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
Butocarboxim	213	75	10	5.14	Norsertraline	275	159.1	16	6.33
Caffeine	195.1	138	20	3.20	Norsertraline	275	89	72	6.33
Caffeine	195.1	83	40	3.20	Norverapamil	441.2	165	20	5.94
Cambendazole	303.1	261	16	5.57	Norverapamil	441.2	150.3	36	5.94
Cambendazole	303.1	217.1	32	5.57	Olaquinox	264	212	20	2.43
Carazolol	299.2	222	15	4.74	Olaquinox	264	143	30	2.43
Carazolol	299.2	116	20	4.74	Omeprazole	346.1	198.1	4	5.46
Carbadox	263	231	5	3.54	Omeprazole	346.1	136	28	5.46
Carbadox	263	90	30	3.54	Orbifloxacin	396.1	352.1	15	3.95
Carbamazepine	237	194	15	5.84	Orbifloxacin	396.1	295.1	22	3.95
Carbamazepine	237	179	35	5.84	Oxacillin	402.1	243.1	8	5.12
Carbamazepine 10,11 epoxide	253.1	210.2	8	4.96	Oxacillin	402.1	160	12	5.12
Carbamazepine 10,11 epoxide	253.1	180.1	24	4.96	Oxamyl	237	120	10	5.36
Carbaryl	202	145	5	6.38	Oxamyl	237	118	10	5.36
Carbaryl	202	117	10	6.38	Oxazepam	287	268.9	8	5.97
Carbofuran	222	165.1	10	6.21	Oxazepam	287	240.9	16	5.97
Carbofuran	222	123.1	20	6.21	Oxcarbazepine	253.1	208	16	5.25
Carbosulfan	381.1	160	15	11.53	Oxcarbazepine	253.1	180.1	24	5.25
Carbosulfan	381.1	118	15	11.53	Oxfendazole	316.1	191	17	4.92
Carisoprodol	261.2	176.2	0	6.20	Oxfendazole	316.1	159	35	4.92
Carisoprodol	261.2	55.1	24	6.20	Oxfendazole-Sulfone/ Fenbendazole sulfone	332.1	300	19	5.61
Carnidazole	245.1	118	10	5.01	Oxfendazole-Sulfone/ Fenbendazole sulfone	332.1	159	40	5.61
Carnidazole	245.1	75	40	5.01	Oxibendazole	250.1	218.1	14	5.92
Cetirizine	389.2	201	20	5.95	Oxibendazole	250.1	176	27	5.92
Cetirizine	389.2	166.1	40	5.95	Oxolinic acid	262.1	216	30	5.02
Chlormadinone acetate	405.2	345.2	8	8.83	Oxolinic acid	262.1	160	40	5.02
Chlormadinone acetate	405.2	309.2	12	8.83	Oxycodone	316.1	298.2	8	3.28
Chlorpheniramine	275.1	230.1	20	5.06	Oxycodone	316.1	241.1	24	3.28
Chlorpheniramine	275.1	167.1	40	5.06	Oxymorphone	302.1	284.1	12	2.27
Chlorpromazine	319.2	246	20	6.51	Oxymorphone	302.1	227	20	2.27
Chlorpromazine	319.2	86	15	6.51	Oxymorphone glucuronide	478.1	284.1	28	0.75
Chlorpyrifos	350	198	15	10.35	Oxymorphone glucuronide	478.1	227.1	48	0.75
Chlorpyrifos	350	79	35	10.35	Paracetamol/ 4-Acetamidophenol	152.1	110	13	2.52
Cinoxacin	263	217	20	4.24	Paracetamol/ 4-Acetamidophenol	152.1	65	32	2.52
Cinoxacin	263	189	30	4.24	Paraxanthine	181.1	124.1	20	2.67
Ciprofloxacin	332.1	314.1	20	3.67	Paraxanthine	181.1	42	40	2.67
Clenbuterol	277.1	203	12	4.16	Paroxetine	330.1	192.1	16	5.71
Clindamycin	425.2	377	20	4.95	Paroxetine	330.1	70.1	32	5.71
Clindamycin	425.2	126	30	4.95	Penicilline G	335.1	176	6	2.91
Clobetasol 17-propionate	467.2	372.9	6	8.55	Penicilline G	335.1	160	5	2.91

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
Clobetasol 17-propionate	467.2	354.9	8	8.55	Phenacetin	180	138	11	4.99
Clobetasone 17-butyrate	479.2	342.8	12	9.26	Phenacetin	180	110	19	4.99
Clobetasone 17-butyrate	479.2	278.9	14	9.26	Phenazone/Antipyrine	189	147	20	3.98
Clopidogrel carboxylic acid	308	198.1	8	4.21	Phenazone/Antipyrine	189	77	30	3.98
Clopidogrel carboxylic acid	308	76.9	64	4.21	Phenmetrazine	178.1	115	32	3.33
Clopidol	192	101	30	2.95	Phenmetrazine	178.1	91	36	3.33
Clopidol	192	87	35	2.95	Phentermine	150.1	133.1	4	3.51
Cloxacillin	436	277	10	5.11	Phenylbutazone	309	160	20	7.76
Cloxacillin	436	160	6	5.11	Phenylbutazone	309	77	40	7.76
Cocaethylene	318.2	196.2	12	4.90	Phenylpropanolamine	152.11	134	4	2.55
Cocaethylene	318.2	82.2	28	4.90	Phenylpropanolamine	152.11	117	12	2.55
Cocaine	304.1	182.2	16	4.47	Pioglitazone	357.13	133.9	24	7.16
Cocaine	304.1	77	64	4.47	Pioglitazone	357.13	119	48	7.16
Codeine	300.2	165.1	40	2.99	Pipracil	518.2	160	15	3.94
Codeine	300.2	128.1	60	2.99	Pipracil	518.2	143	25	3.94
Cortisone	361.2	163.1	20	5.46	Pirimicarb	239	182	15	6.41
Cortisone	361.2	121	30	5.46	Pirimicarb	239	72	20	6.41
Cotinine	177.1	98.1	24	2.99	Prednicarbate	489.2	380.9	6	8.43
Cotinine	177.1	80.1	28	2.99	Prednicarbate	489.2	114.8	12	8.43
CV	372.2	356.2	42	8.17	Prednisolone	361.2	343.1	6	5.33
CV	372.2	340.2	55	8.17	Prednisolone	361.2	146.9	20	5.33
Cyproheptadine	288.3	191	28	6.10	Prednisone	359.2	341.1	6	5.35
Cyproheptadine	288.3	96	24	6.10	Prednisone	359.2	147	24	5.35
Dapsone	249.1	156	9	4.37	Pregabalin	160.1	142.2	8	2.35
Dapsone	249.1	92	23	4.37	Pregabalin	160.1	55.2	20	2.35
DEET	192.1	119.3	16	6.58	Primidone	219.1	162.1	4	3.95
DEET	192.1	91	32	6.58	Primidone	219.1	91.2	24	3.95
Deflazacort	442.2	141.9	36	6.73	Progesterone	315.2	109	25	8.75
Deflazacort	442.2	123.9	50	6.73	Progesterone	315.2	97	21	8.75
Dehydroaripiprazole	446.1	285.1	24	6.33	Promethazine	285.1	86.1	16	5.82
Dehydroaripiprazole	446.1	98.1	44	6.33	Promethazine	285.1	71.1	48	5.82
Demeton	281	89	24	7.07	Propamocarb	189	144	10	2.73
Demeton	259	89	14	7.07	Propamocarb	189	102	15	2.73
Desloratadine	311.1	259.1	20	5.35	Propionylpromazine	341.2	86	20	6.25
Desloratadine	311.1	258.1	40	5.35	Propionylpromazine	341.2	58	30	6.25
Desmethylcitalopram	311.1	262.2	8	5.37	Propoxur	210	168	5	6.13
Desmethylcitalopram	311.1	109.1	20	5.37	Propoxur	210	111	10	6.13
Desmethylvenlafaxine	264.2	246.2	4	4.13	Propranolol	260.2	116.1	12	5.00
Desmethylvenlafaxine	264.2	58.1	16	4.13	Propranolol	260.2	56.1	24	5.00
Dexamethasone	393.1	355	4	5.95	Propyl thiouracil	171	154	14	3.40
Dexamethasone	393.1	146.8	25	5.95	Propyl thiouracil	171	112	17	3.40
Dextromethorphan	272.2	171.1	36	5.19	Pseudoephedrine	166.1	115.1	24	2.92
Dextromethorphan	272.2	128.1	64	5.19	Pseudoephedrine	166.1	91	32	2.92

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
Dichlorvos	221	145	15	4.07	Quetiapine	384.2	253.1	16	5.75
Dichlorvos	221	109	15	4.07	Quetiapine	384.2	221	36	5.75
Dicloxacillin	470	310.9	8	5.34	Quinoxaline-2-carboxylic Acid	175	129	13	2.32
Dicloxacillin	470	160	8	5.34	Quinoxaline-2-carboxylic Acid	175	102	33	2.32
Diethofencarb	268	226	5	7.60	Ractopamine	302	164.1	10	3.70
Diethofencarb	268	152	20	7.60	Ractopamine	302	121	22	3.70
Diflorasone diacetate	495.2	316.8	8	7.79	Rafoxanide	625.8	373	32	10.15
Diflorasone diacetate	495.2	278.8	10	7.79	Rafoxanide	625.8	127	40	10.15
Diltiazem	415.1	178.1	20	5.64	Ritalinic acid	220.1	84.2	16	3.36
Diltiazem	415.1	109.1	76	5.64	Ritalinic acid	220.1	56.1	40	3.36
Dimethoate	230	199	5	4.60	Ronidazole	201.1	140	4	2.94
Dimethoate	230	171	10	4.60	Ronidazole	201.1	55	18	2.94
Dimetridazole	142.1	96	14	3.41	Salbutamol	240	222.1	5	2.39
Dimetridazole	142.1	81	30	3.41	Salbutamol	240	148	13	2.39
Dioxacarb	224	167	5	4.66	Salinomycin	768.5	733.4	15	12.43
Dioxacarb	224	123	15	4.66	Salinomycin	768.5	715.5	20	12.43
Diphenhydramine	256.2	167.1	4	5.44	Secnidazole	186.1	128.1	15	3.51
Diphenhydramine	256.2	165.1	44	5.44	Secnidazole	186.1	59	20	3.51
Dipyron	310.1	191	4	7.78	Sertraline	306.1	275	4	6.34
Dipyron	310.1	80	32	7.78	Sertraline	306.1	159.1	20	6.34
Disopyramide	340.2	239.1	8	4.38	Sildenafil	475.2	100	24	6.09
Disopyramide	340.2	194.2	48	4.38	Sildenafil	475.2	58.1	40	6.09
Donepezil	380.2	91.1	40	5.11	Simvastatin	419.3	198.9	12	9.84
Donepezil	380.2	65.2	76	5.11	Simvastatin	419.3	173	28	9.84
Doramectin	921.4	777.4	45	11.62	Sineptina-772	772.5	174	35	6.45
Doramectin	921.4	449.2	55	11.62	Sineptina-772	772.5	109	45	6.45
Doxepin	280.2	107.1	20	5.58	Sineptina-786	786.5	229.3	45	6.96
Doxepin	280.2	77.1	60	5.58	Sineptina-786	786.5	109	45	6.96
Duloxetine	298.1	153.9	0	5.93	Sotalol	273.1	255.1	4	2.55
Duloxetine	298.1	44	12	5.93	Sotalol	273.1	133.1	20	2.55
Ecgonine methyl ester	200.1	182	12	0.77	Spiramycin	843.5	174	42	5.43
Ecgonine methyl ester	200.1	82.1	24	0.77	Spiramycin	843.5	101	46	5.43
Econazole	381	125	40	9.25	Sulfabenzamide	277.1	156	10	4.35
Econazole	381	69	20	9.25	Sulfabenzamide	277.1	108	25	4.35
EDDP	278.2	249	20	5.78	Sulfachloropyridazine	285	156	10	4.38
EDDP	278.2	234.1	24	5.78	Sulfachloropyridazine	285	108	25	4.38
Epitestosterone	289.2	109	22	7.56	Sulfadiazine	251.1	156	10	3.07
Epitestosterone	289.2	97	24	7.56	Sulfadiazine	251.1	108	22	3.07
Eprinomectin	936.4	490.3	59	10.45	Sulfadimethoxine	311	156	20	5.31
Eprinomectin	936.4	352.2	65	10.45	Sulfadimethoxine	311	108	26	5.31
Erythromycin	734.5	576.3	14	5.46	Sulfadimidine	279.1	186.1	15	4.01
Erythromycin	734.5	158.1	30	5.46	Sulfadimidine	279.1	156.1	16	4.01
Erythromycin-anhydro	716.4	158	24	5.77	Sulfadoxine	311.1	156	15	4.65

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
Erythromycin-anhydro	716.4	83.2	76	5.77	Sulfadoxine	311.1	92	30	4.65
Escitalopram	325.2	262.2	16	5.46	Sulfaguanidine	215	156	10	1.33
Escitalopram	325.2	109.1	20	5.46	Sulfaguanidine	215	108	20	1.33
Famotidine	338	189.1	12	2.51	Sulfamerazine	265.1	172	12	3.61
Famotidine	338	155	28	2.51	Sulfamerazine	265.1	156	15	3.61
Fenbendazole	300.1	268	18	7.22	Sulfamer/ Sulfamethoxy pyridazine	281	156	15	3.99
Fenbendazole	300.1	159	36	7.22	Sulfamer/ Sulfamethoxy pyridazine	281	108	25	3.99
Fenobucarb	208.2	152.1	5	7.44	Sulfamethazine	279.1	186	8	3.97
Fenobucarb	208.2	95	10	7.44	Sulfamethazine	279.1	92.1	28	3.97
Fenoterol	304.1	286.2	8	2.97	Sulfamethizole	271	156	10	3.73
Fenoterol	304.1	135.2	15	2.97	Sulfamethizole	271	108	22	3.73
Fenoxycarb	302.1	116	10	8.27	Sulfamethoxazole	254.1	156	10	4.64
Fenoxycarb	302.1	88	20	8.27	Sulfamethoxazole	254.1	108	25	4.64
Fentanyl	337.2	188.3	20	5.45	Sulfamonomethoxine	281.1	156.1	15	4.27
Fentanyl	337.2	105.1	36	5.45	Sulfamonomethoxine	281.1	108.1	26	4.27
Flubendazole	314.1	282.1	18	6.23	Sulfamoxol	268	156	13	4.52
Flubendazole	314.1	123	37	6.23	Sulfamoxol	268	113	16	4.52
Fluconazole(l) (Diflucan)	307.1	238	10	4.11	Sulfanitran	336.1	293.9	8	6.07
Fluconazole(l) (Diflucan)	307.1	220	20	4.11	Sulfanitran	336.1	156	8	6.07
Fludrocortisone 21-acetate	423.2	238.9	22	6.62	Sulfaphenazole	315	222	15	5.38
Fludrocortisone 21-acetate	423.2	120.9	36	6.62	Sulfaphenazole	315	158	30	5.38
Fludroxycortide/Flurandrenolide	437.2	180.9	30	6.47	Sulfapyrazole	329.1	172	30	5.65
Fludroxycortide/Flurandrenolide	437.2	120.8	40	6.47	Sulfapyrazole	329.1	145	50	5.65
Flumequine	262	202	30	6.07	Sulfapyridine	250.1	184	15	3.45
Flumequine	262	126	50	6.07	Sulfapyridine	250.1	156	10	3.45
Flumethasone	411.2	253	10	6.00	Sulfaquinoxaline	301.1	156	11	5.26
Flumethasone	411.2	121.1	34	6.00	Sulfaquinoxaline	301.1	108	22	5.26
Flumethasone pivalate	495.3	475.2	10	8.66	Sulfathiazole	256	156	10	3.28
Flumethasone pivalate	495.3	57.1	20	8.66	Sulfathiazole	256	108	21	3.28
Flunixin/Flunixin Meglumine	297.1	279.1	32	6.27	Sulfisomidine	279	186	15	2.88
Flunixin/Flunixin Meglumine	297.1	264.1	4	6.27	Sulfisomidine	279	124	20	2.88
Fluocinolone acetonide	453.2	413.2	10	6.40	Sulphacetamide	215.1	156.1	5	2.60
Fluocinolone acetonide	453.2	121.1	40	6.40	Sulphacetamide	215.1	92	20	2.60
Fluoromethalone	377.2	320.9	8	6.59	Sulphisoxazole/Sulfisoxazole/ Sulfafurazole	268.1	156	10	3.78
Fluoromethalone	377.2	278.9	10	6.59	Sulphisoxazole/Sulfisoxazole/ Sulfafurazole	268.1	113	10	3.78
Fluoxetine	310.1	148.1	2	6.28	Sulpiride	342.1	214	40	2.74
Fluoxetine	310.1	44	8	6.28	Sulpiride	342.1	112.1	20	2.74
Fluphenazine	438.1	171.1	26	6.95	Sumatriptan	296.1	155.9	52	3.12
Fluphenazine	438.1	143	30	6.95	Sumatriptan	296.1	58	12	3.12
Fluticasone propionate	501.2	312.9	8	8.60	Tadalafil	390.1	268	0	6.32

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
Fluticasone propionate	501.2	292.9	10	8.60	Tadalafil	390.1	204	80	6.32
Formoterol	345	149	15	4.10	Temazepam	301.1	283	4	6.67
Formoterol	345	121	20	4.10	Temazepam	301.1	255	16	6.67
Furathiocarb	383	252	10	9.92	Terbutaline	226.1	152.1	10	2.35
Furathiocarb	383	195	15	9.92	Terbutaline	226.1	107	25	2.35
Gabapentin	172.1	154.1	8	2.37	Terfenadine	472.3	454.3	20	7.55
Gabapentin	172.1	55	24	2.37	Terfenadine	472.3	436.3	20	7.55
Glyburide	494.1	369	12	7.71	Testosterone	289.2	109	23	7.02
Glyburide	494.1	169.1	36	7.71	Testosterone	289.2	97	21	7.02
Griseofulvin	353.1	215	20	6.73	Thiabendazole	202	175	25	4.72
Griseofulvin	353.1	165.1	20	6.73	Thiabendazole	202	131	35	4.72
Halcinonide	455.2	121	40	8.42	Thiodicarb	355.1	163.1	12	6.01
Halcinonide	455.2	104.9	48	8.42	Thiodicarb	355.1	88.1	27	6.01
Halofuginone	414	138.1	16	4.84	Thiofanox	241	184	5	6.49
Halofuginone	414	100.1	16	4.84	Thiofanox	241	57.1	20	6.49
Haloperidol	376.1	165.1	20	5.74	Tilmicosin	869.6	696.4	45	6.15
Haloperidol	376.1	123	40	5.74	Tilmicosin	869.6	174	50	6.15
HMMNI/2-Hydroxymethyl-1-methyl-5-nitroimidazole	158.1	140	10	2.64	Tinidazole	248	121	15	3.70
HMMNI/2-Hydroxymethyl-1-methyl-5-nitroimidazole	158.1	55	18	2.64	Tinidazole	248	93	20	3.70
Hydrocodone	300.1	199.1	28	3.41	Tramadol	264.2	58.1	12	4.13
Hydrocodone	300.1	171.1	40	3.41	Tramadol	264.2	56.1	68	4.13
Hydrocortisone	363.2	121	24	5.40	Trazadone	372.1	176.1	20	5.45
Hydrocortisone	363.2	105.1	50	5.40	Trazadone	372.1	148.1	36	5.45
Hydromorphone	286.1	185.1	24	2.52	Triamcinolone	395.2	357.1	8	4.22
Hydromorphone	286.1	157.1	48	2.52	Triamcinolone	395.2	225.1	14	4.22
Hydroxybupropion	256.1	238.1	4	4.15	Triamcinolone acetonide	435.2	396.9	10	6.27
Hydroxybupropion	256.1	130.1	48	4.15	Triamcinolone acetonide	435.2	338.9	10	6.27
Hydroxyzine	375.2	201	20	6.14	Triamterene	254.1	237.1	24	3.66
Hydroxyzine	375.2	166.1	40	6.14	Triamterene	254.1	104.1	32	3.66
Imipramine	281.2	86.1	12	6.05	Triclabendazole	359	343.9	24	8.79
Imipramine	281.2	58.2	44	6.05	Triclabendazole	359	274	40	8.79
Indoxacarb	528	293	10	9.37	Trimethoprim	291.1	230.1	25	3.50
Indoxacarb	528	249	10	9.37	Trimethoprim	291.1	123	25	3.50
Iprnidazole	170.1	124	16	5.12	Tripelenamine	256.2	211.1	10	5.21
Iprnidazole	170.1	109	26	5.12	Tripelenamine	256.2	91.1	40	5.21
Iprnidazole-OH/Hydroxy-Iprnidazole	186.1	168	10	4.02	Tulobuterol	228.1	172	5	4.12
Iprnidazole-OH/Hydroxy-Iprnidazole	186.1	122	20	4.02	Tulobuterol	228.1	154	13	4.12
Isoprocarb	194	137	5	6.83	Tylosin	916.5	174	42	5.83
Isoprocarb	194	95	20	6.83	Tylosin	916.5	101	54	5.83
Ivermectin	897.4	753.3	46	12.26	Valsartan	436.2	235.1	12	5.85

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
Ivermectin	897.4	329.2	60	12.26	Valsartan	436.2	207.2	20	5.85
Ketoconazole	531.2	489.1	40	7.36	Venlafaxine	278.2	260.3	0	4.69
Ketoconazole	531.2	82.1	40	7.36	Venlafaxine	278.2	58.2	20	4.69
Ketoprofen	255.1	209.2	4	5.88	Verapamil	455.3	165.1	24	6.07
Ketoprofen	255.1	77.1	52	5.88	Verapamil	455.3	150.1	40	6.07
Lamotrigine	256	109	52	4.25	Virginiamycin M1	526.3	508.4	15	6.53
Lamotrigine	256	74	76	4.25	Virginiamycin M1	526.3	355	20	6.53
LCV	374.3	358.2	30	11.01	Xylazine	221.1	164	24	4.14
LCV	374.3	238.1	26	11.01	Xylazine	221.1	90	21	4.14
Levamisole	205	178	20	3.20	Zolpidem	308.2	236.1	24	5.51
Levamisole	205	91	30	3.20	Zolpidem	308.2	235.1	36	5.51
Levorphanol	258.2	199.1	20	3.95	Zolpidem phenyl-4-carboxylic acid	338.1	265	36	3.48
Levorphanol	258.2	157.2	32	3.95	Zolpidem phenyl-4-carboxylic acid	338.1	65.1	76	3.48

表 5. 正离子模式下化合物 MRM 离子对参数列表

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)	化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
11-nor-9-carboxy-delta-THC	343.2	299.3	20	6.10	Furosemide	329	285	8	4.26
11-nor-9-carboxy-delta-THC	343.2	245	24	6.10	Furosemide	329	204.9	16	4.26
17alpha-Estradiol	271.1	183	45	4.75	Gemfibrozil	249.1	127.1	4	5.85
17alpha-Estradiol	271.1	145	45	4.75	Gemfibrozil	249.1	121	4	5.85
17beta-Estradiol	271.1	183	45	4.9	Hexestrol	269.1	133	15	5.18
17beta-Estradiol	271.1	145	45	4.9	Hexestrol	269.1	119	43	5.18
2,4,5-T	255	197	10	4.91	Hydrochlorothiazide	295.9	268.9	12	2.89
2,4,5-T	253	195	10	4.91	Hydrochlorothiazide	295.9	205.2	20	2.89
2,4,5-TP	269	197	8	5.23	Ibuprofen	205	161	2	5.49
2,4,5-TP	267	195	8	5.23	MCPA	201	143	10	4.51
2,4-D	221	163	15	4.45	MCPA	199	141	10	4.51
2,4-D	219	161	15	4.45	MCPB	229	143	10	5.20
2,4-DB	249	163	10	5.18	MCPB	227	141	10	5.20
2,4-DB	247	161	10	5.18	MCPB	215	143	10	4.88
2,4-DP	235	163	5	4.82	MCPB	213	141	10	4.88
2,4-DP	233	161	5	4.82	MCPB	151	135.9	8	3.76
Bezafibrate	360.1	274	12	4.81	Methylparaben	151	92	16	3.76
Bezafibrate	360.1	154.1	28	4.81	Modafinil acid	273	167.1	8	4.17
Celecoxib	380.1	316.1	20	5.50	Modafinil acid	273	165	36	4.17
Celecoxib	380.1	276	28	5.50	Naproxen	229.1	170.1	4	4.78
Chloramphenicol	321	257	10	3.77	Naproxen	229.1	168.9	28	4.78
Chloramphenicol	321	152	15	3.77	n-Butylparaben	193.1	136	12	5.01
Diclozauril	407	336	15	5.53	n-Butylparaben	193.1	92	20	5.01
Diclozauril	405	334	14	5.53	Nicarbazin	301	137	5	5.23
Diclofenac	294	250	8	5.41	Nicarbazin	301	107	35	5.23
Diclofenac	294	35	32	5.41	Nitroxynil	288.9	162	20	5.02
Diclofenac 4-hydroxy	310	265.9	8	4.62	Nitroxynil	288.9	127	28	5.02
Diclofenac 4-hydroxy	310	34.7	32	4.62	Phenobarbital	231.1	188.1	0	3.73
Dienestrol	265.1	249	25	5.17	Phenobarbital	231.1	42.1	12	3.73
Dienestrol	265.1	93	30	5.17	Phenytoin	251.1	102.1	20	4.15
Diethylstilbestrol	267.1	251	27	5.11	Phenytoin	251.1	41.7	60	4.15
Diethylstilbestrol	267.1	237	30	5.11	Pravastatin	423.2	320.9	12	3.88
Estriol	287.1	171	43	3.66	Pravastatin	423.2	303.2	16	3.88
Estriol	287.1	145	50	3.66	Thiamphenicol	354	290	6	3.11
Ethynyl estradiol	295.2	269	35	4.95	Thiamphenicol	354	185	20	3.11
Ethynyl estradiol	295.2	145	45	4.95	Triclocarban	312.9	160.1	8	6.05
Fenbufen	253.1	153.1	20	4.87	Triclocarban	312.9	35	44	6.05
Fenbufen	253.1	55	24	4.87	Triclosan	286.9	35	4	6.07
Florfenicol	356	336	5	3.68	Warfarin	307.1	250	16	5.08
Florfenicol	356	185	15	3.68	Warfarin	307.1	161.2	16	5.08

结果与讨论

通过分析混合标准溶液对仪器方法进行优化,可在 20 min 内对 377 种 PPCP 进行有效分离。各化合物响应良好,绝大多数化合物检测限可低于 10 ng/L,灵敏度足够高,无需进行样品富集。图 1 显示了 100 ng/L PPCP 混合标准样品的提取离子色谱叠加图,保留时间如表 4 和表 5 所示。

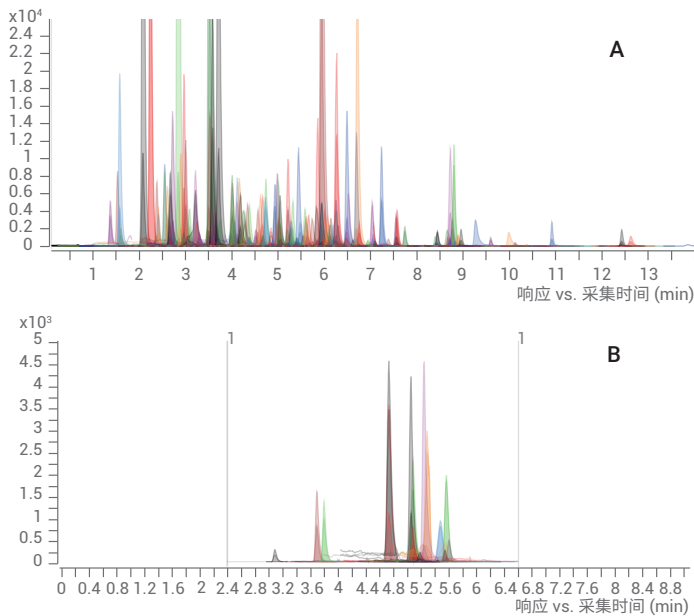


图 1. 377 种 PPCP 混合标准样溶液 (浓度 100 ng/L) 在正离子模式 (A) 和负离子模式 (B) 下的提取离子色谱叠加图

采用本文所述方法在浓度范围 10 ng/L 到 10^5 ng/L 内对 377 种 PPCP 的线性相关性进行讨论。如图 2 所示,在正离子模式下阿特拉津和负离子模式下布洛芬的校准曲线的线性相关系数 (R^2) 分别为 0.996 和 0.995,线性关系良好,大多数化合物的线性相关系数均大于 0.99。

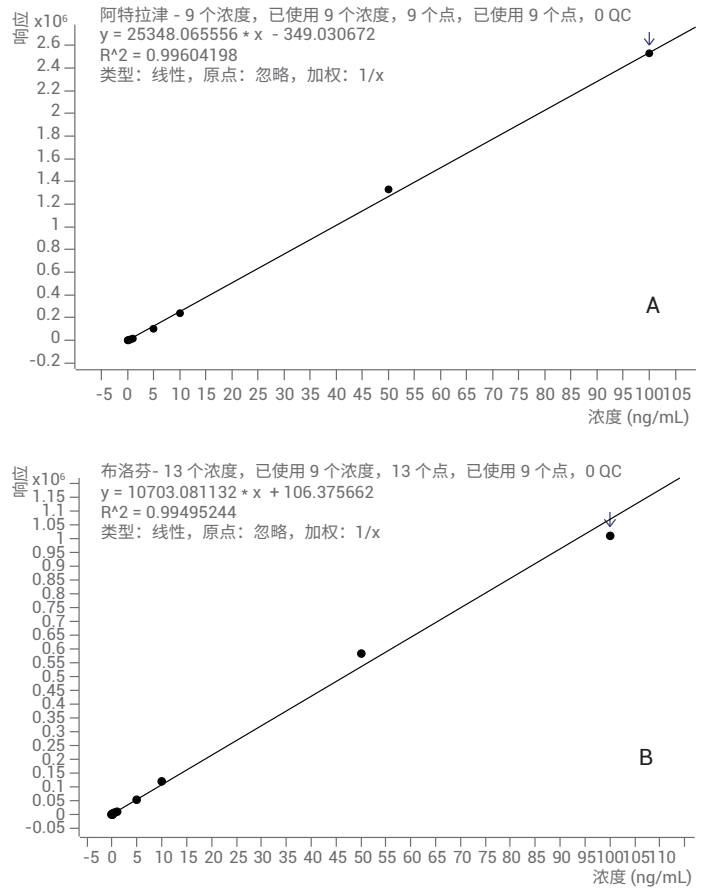


图 2. 阿特拉津 (A) 和布洛芬 (B) 的校准曲线 (浓度范围 10 - 10^5 ng/L)

浓度为 100 ng/L 实际水样加标样品,连续进样 7 针,计算各化合物的相对标准偏差。如图 3 所示,超过 78% 的化合物相对 RSD 小于 20%,具有良好的重复性。

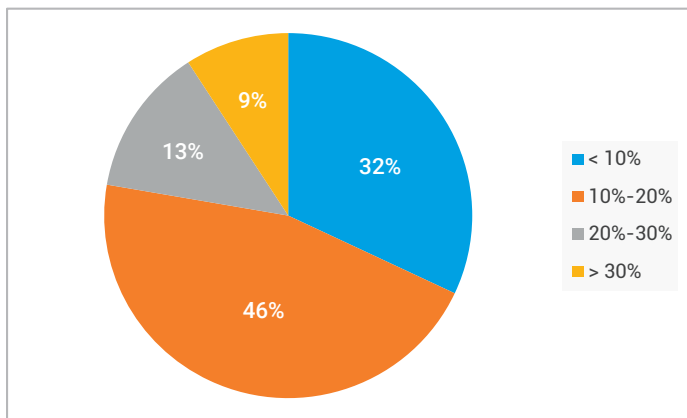


图 3. 100 ng/L 添加浓度下连续进样 7 针所得各化合物 RSD 分布图

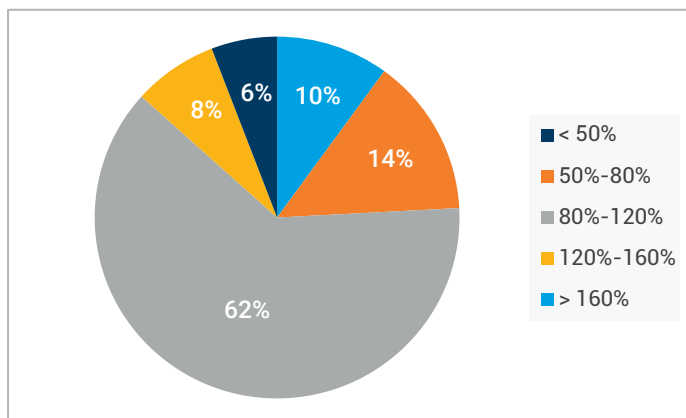


图 4. 100 ng/L 添加浓度下各化合物回收率分布图

浓度为 100 ng/L 实际水样加标样品，按方法进样定量分析，计算回收率。如图 4 所示，大多数样品回收率在 80%-120% 之间，回收率良好。

实际水样取自北京某湖泊及周边水域，在 10 个不同位置分别取 10 个水样，采用 0.22 μm 滤膜过滤后直接进样 20 μL 进行分析检测。如表 6 所示，共检测到 PPCP 共 13 个，其中尼泊金甲酯浓度超过 4 $\mu\text{g/L}$ ，林可霉素、舒必利、副黄嘌呤、阿特拉津、氟康唑、氟苯尼考部分水样中浓度超过 100 ng/L。

表 6. 实际水样 PPCP 检测结果（浓度单位：ng/L）

样品编号	扑热息痛	2-氨基苯并咪唑	副黄嘌呤	舒必利	可铁宁	林可霉素	氟康唑	磺胺甲恶唑	氯苯那敏	莠去津	益康唑	尼泊金甲酯	氟甲砜霉素
1	-	5.8	45.8	47.0	19.4	82.6	43.0	24.5	13.5	84.0	43.4	9336.2	68.2
2	-	4.7	45.3	11.5	10.7	31.9	64.3	17.8	12.9	70.6	14.2	4548.3	31.0
3	4.3	-	-	3.6	8.3	10	56.5	10.0	18.1	46.9	7.3	8265.4	9.1
4	4.9	2.7	38.4	23.8	19.5	51.9	144	17.1	11.9	24.0	8.7	9906.1	15.6
5	-	9.5	29.5	53.8	28.8	104	69.6	49.1	10.6	54.6	14.7	4289.8	127.4
6	1.7	3.8	43.8	22.8	20.5	66.8	53.1	-	11.5	33.2	22.6	9879.2	12.6
7	-	7.1	69.1	90.2	23.8	160	79.9	40.7	14.2	62.6	5.4	7010.9	279.5
8	92.7	8.3	144.7	88.4	25.7	164.3	85.9	39.8	40.1	55.9	10.0	6581.0	146.9
9	-	6.1	42.5	52.7	20.3	99.8	64.2	33.9	11.2	31.3	8.9	5288.0	35.5
10	4.5	21.2	285.5	137.4	6.6	560.7	70.7	54.1	40.1	240.8	5.7	5420.9	197.9

结论

本文采用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱/6495 三重四极杆液质联用系统，应用动态 MRM 方式成功实现了同时对环境水中 377 种 PPCP 的高灵敏度、快速、简单、准确的筛查和定量分析。本方法通过直接进样方法即可满足常规检测要求，有助于省掉繁琐的样品富集和净化步骤，从而显著提高样品分析通量。

使用 Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统按照 EPA 537.1 和 EPA 533 分析饮用水中的全氟/多氟烷基化合物 (PFAS)

作者

Agustin Pierr
Weck Laboratories 公司
美国加利福尼亚州因达斯特里

Tarun Anumol 和 Emily Parry
安捷伦科技有限公司
美国特拉华州威尔明顿市

摘要

本应用简报重点介绍了在商业实验室环境下采用 EPA 方法 537.1 和 533 分析饮用水中全氟/多氟烷基化合物 (PFAS) 的验证。两种方法均使用 Agilent Poroshell EC-120 色谱柱分离所有分析物。在运行时间不到 10 分钟的情况下，峰不对称因子仍在 EPA 指南规定的范围内，因此 EPA 方法运行时间的通量显著提高。按照 EPA 方法 537.1 和 533 所述方案，对 250 mL 样品进行固相萃取后，所有分析物的回收率均在 70%–130% 之间。根据 EPA 指南计算方法报告限值。尽管进样量低于规定值，该报告限值仍低于 2 ng/L，并且低于 EPA 方法单次实验室验证中所列的值。

前言

PFAS 具有独特的化学性质。这些化学物质在日常生活用品中的运用提供了诸多便利，逐渐成为必需品。自 20 世纪 40 年代以来，PFAS 被广泛应用于商业、工业和个人护理用品，在环境中无处不在^[1]。它们具有持久性、生物累积性和毒性^[2]。因此，美国国家环境保护局 (EPA)、欧洲化学品管理局 (ECHA) 及其他监管机构和政府机构都致力于限制其在环境中的存在。

美国目前提供两种用于监测和定量饮用水中 PFAS 的标准方法。EPA 537.1 是在固相萃取 (SPE) 后采用液相色谱 (LC) 串联质谱 (LC/MS/MS) 联用系统进行低 ng/L 级检测，分析饮用水中的 18 种 PFAS 化合物。2019 年，US EPA 发布了一种新方法 EPA 533，可分析 25 种 PFAS 化合物。该方法包括使用 SPE 和 LC/MS/MS 分析饮用水中的短链（少于 6 个碳原子）PFAS 和一些新型 PFAS。本应用简报介绍了上述两种方法的二次实验室验证数据，这两种方法均使用 SPE 和 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱与 Agilent Ultivo 串联四极杆质谱联用系统，以使系统满足甚至优于 EPA 方法要求。

实验部分

样品前处理

如 EPA 方法 537.1 和 EPA 533 中所述，使用抗微生物剂和氯淬灭剂处理一组 250 mL 饮用水样品。向样品中加入同位素标记替代标准品。然后按照相应 EPA 方法中所述方案，使用 SPE 对样品进行萃取。将萃取液蒸发至最终体积 1 mL，加入内标，妥善保存，以使用于 LC/MS 分析。EPA 方法 537.1 将 1 mL 最终萃取液溶于 96/4 甲醇/水中，而 EPA 533 方法则将萃取液溶于 80/20 甲醇/水中，使短链 PFAS 获得更出色的回收率。样品前处理方案以及优化后回收率、预期重现性与准确度详情请参阅其他安捷伦应用简报^[3,4]。

表 1. 液相色谱参数

参数	EPA 537.1	EPA 533
液相色谱仪	Agilent 1290 Infinity II	Agilent 1290 Infinity II
延迟柱	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 50 mm, 4 μm (部件号 699770-902T)	Agilent Poroshell 120 EB-C18, 2.1 × 50 mm, 4 μm (部件号 699770-902T)
分析柱	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 50 mm, 1.9 μm (部件号 699675-902)	Agilent Poroshell 120 SB-C18, 2.1 × 50 mm, 1.9 μm (部件号 699675-902)
柱温	55 °C	55 °C
流动相	A) 0.1% 乙酸水溶液 B) 甲醇	A) 20 mmol/L 乙酸铵水溶液 B) 甲醇
总运行时间	9 min	9 min
后运行时间	2.5 min	2.5 min
进样量	4 μL	7 μL
流速	0.7 mL/min	0.7 mL/min

表 2. 质谱参数

参数	EPA 537.1	EPA 533
质谱仪	Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统	Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统
电离模式	负离子模式, ESI	负离子模式, ESI
毛细管电压	3500 V	3500 V
喷嘴电压	500 V	500 V
雾化器压力	45 psi	45 psi
干燥气温度	300 °C	300 °C
干燥气流速	9.0 L/min	9.0 L/min
鞘气温度	260 °C	260 °C
鞘气流速	11.0 L/min	11.0 L/min

标样配制

适当稀释标样储备液，得到以下浓度的校准溶液：30、20、10、5、1 和 0.5 ng/mL。每种校准溶液均使用符合 EPA 方法 537.1 或 EPA 533 要求的甲醇/水混合溶剂配制。

仪器

使用配备高速泵的 1290 Infinity II 液相色谱仪与 Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统进行分析。该液相色谱仪配备 20 μL 进样定量环和 Multisampler 进样器。为避免 PFAS 污染以及溶剂与液相色谱系统的背景干扰，采用了表 1 所列的延迟柱，详细的设置信息请参阅其他安捷伦应用简报^[5]。

表 1 和表 2 列出了液相色谱和质谱参数。

质谱采集方法

使用 Agilent MassHunter (1.1 版) 进行动态 MRM (dMRM) 采集。使用具有 Quant-My-Way 模板的 MassHunter 定量分析软件进行所有数据处理工作。表 3 显示了采用 Ultivo 三重四极杆液质联用系统时, 以 EPA 537.1 和 533 运行 PFAS 分析所采用的优化离子对和化合物参数。

表 3. 针对特定化合物的参数

方法	化合物名称	ISTD	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)
537.1	PFTeDA	无	712.9	668.5	100	12
537.1	PFTeDA	无	712.9	169	60	0
537.1	PFTrDA	无	663	618.7	101	8
537.1	PFTrDA	无	663	169	101	15
两种方法	11Cl-PF3OUdS	无	631	451	70	38
两种方法	11Cl-PF3OUdS	无	631	85	70	30
533	PFDaA-13C2	有	614.9	570	104	5
两种方法	PFDaA	无	613	268.7	100	7
两种方法	PFDaA	无	613	568.9	79	12
537.1	Et-FOSAA-D5	无	589	419	115	15
537.1	Et-FOSAA	无	584	525.9	115	15
537.1	Et-FOSAA	无	584	419	115	15
537.1	Me-FOSAA-D3	有	573	418.9	115	19
537.1	Me-FOSAA	无	570	482.9	115	15
537.1	Me-FOSAA	无	570	418.9	115	12
533	PFUnA-13C7	无	570	525	98	8
两种方法	PFUnA	无	563	519	83	8
两种方法	PFUnA	无	563	218.7	100	15
两种方法	9Cl-PF3OUdS	无	531	351	100	28
两种方法	9Cl-PF3OUdS	无	531	351	98	20
两种方法	9Cl-PF3OUdS	无	531	83	98	30
533	8-2 FTS-13C2	有	529	80.9	173	56
533	8-2 FTS	无	527	506.8	173	28
533	8-2 FTS	无	527	81	173	56
533	PFDA-13C6	有	519	474	102	5
537.1	PFDA-13C2	无	514.9	469.9	91	8
两种方法	PFDA	无	513	468.6	91	8
两种方法	PFDA	无	513	218.7	100	8
533	PFOS-13C8	有	507	80	210	50
两种方法	PFOS-13C4	有	502.9	80	110	46
两种方法	PFOS	无	498.9	99	100	46
两种方法	PFOS	无	498.9	80	100	46
533	PFNA-13C9	有	472	427	66	5
两种方法	PFNA	无	462.9	418.9	76	8
两种方法	PFNA	无	462.9	169	76	17
533	PFHpS	无	448.9	98.7	170	44
533	PFHpS	无	448.9	79.7	170	52
533	6-2 FTS-13C2	有	429	81	161	48
533	6-2 FTS	无	427	407	116	24
533	6-2 FTS	无	427	81	116	48
533	PFOA-13C8	有	421	376	79	8
两种方法	PFOA-13C2	有	415	370	79	8
两种方法	PFOA	无	412.9	368.9	79	8
两种方法	PFOA	无	412.9	169	79	17
533	PFHxS-13C3	有	401.9	99	164	45
两种方法	PFHxS	无	398.9	99	80	42
两种方法	PFHxS	无	398.9	80	110	45

结果与讨论

化合物实现了有效的色谱分离，目标峰得到充分分离且峰不对称因子满足并优于 EPA 方法标准。两种 EPA 方法均使用 Agilent Poroshell EC-120 色谱柱进行分离。该色谱柱采用表面多孔的亚 2 μm 直径填料，可在高流速下形成尖锐峰形，不会造成较高反压。因此，色谱分析满足 EPA 要求，同时，分析方法的运行时间缩短至不到 10 分钟，EPA 533 和 537.1 的后运行时间均为 2.5 分钟。与运行时间超过 20 分钟的 EPA 方法相比，采用高流速显著提高了通量。在实验室验证过程中采用 EPA 537.1 和 EPA 533 分析 PFAS 的代表性色谱图如图 1 和图 2 所示。

采用 1/x 加权进行线性拟合生成校准曲线，并按照两种 EPA 方法的要求使校准曲线强制过零点。在本研究中，EPA 533 和 537.1 中所有分析物均获得了出色的线性 ($R^2 > 0.99$)，其中每种化合物至少使用五个校准标样点。

方法	化合物名称	ISTD	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)
两种方法	ADONA	无	377	251	95	1
两种方法	ADONA	无	377	84.9	95	38
533	PFHpA-13C4	有	367	322	66	5
两种方法	PFHpA	无	362.9	319	82	1
两种方法	PFHpA	无	362.9	169	82	17
533	PFPeS	无	349	99	110	45
533	PFPeS	无	349	80	110	45
533	4-2FTS-13C2	无	329	309	113	20
533	4-2 FTS	无	327	307	113	20
533	4-2 FTS	无	327	80.9	113	28
533	PFHxA 13C5	有	318	272.9	66	5
537.1	PFHxA 13C2	无	314.9	269.9	70	4
533	PFEESA	无	315	135	103	20
533	PFEESA	无	315	69.1	103	56
两种方法	PFHxA	无	313	268.6	70	4
两种方法	PFHxA	无	313	119	70	22
533	PFBS-13C3	有	302	98.9	133	29
两种方法	PFBS	无	298.9	98.9	110	30
两种方法	PFBS	无	298.9	80	110	42
533	NFDHA	无	295	201	83	0
533	NFDHA	无	295	85	83	24
两种方法	HFPO-DA-13C3	有	287	169	100	1
两种方法	HFPO-DA	无	285	185	100	12
两种方法	HFPO-DA	无	285	169	100	1
533	PFMBA	无	279	235	68	0
533	PFMBA	无	279	85	68	4
533	PFPeA-13C5	有	268	223	59	4
533	PFPeA	无	263	219	59	0
533	PFMPA	无	229	185	89	8
533	PFMPA	无	229	85	89	8
533	PFBA-13C4	有	217	171.7	62	4
533	PFBA-13C3	有	216	171.7	62	4
533	PFBA	无	213	168.7	62	4

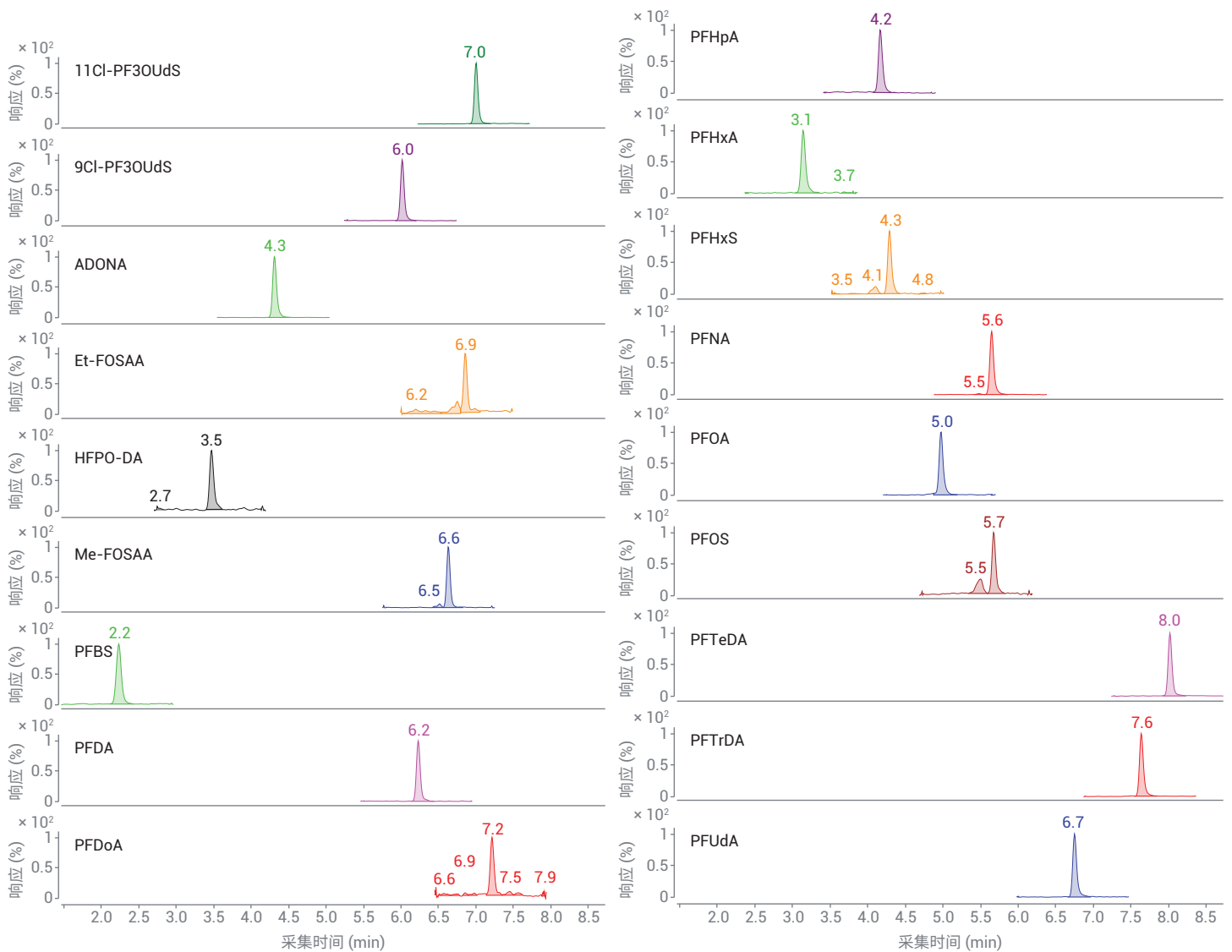


图 1. 采用 EPA 537.1 分析饮用水中加标浓度为 2 ng/L 的 18 种 PFAS 得到的 MRM 色谱图

空白污染

本研究表明，使用延迟柱可以充分降低两种 EPA 方法中的背景 PFAS 污染，使其低于方法报告限值。此外，在运行最高浓度校准标样后进行了交叉污染研究，用于确

定空白标样中是否存在任何 PFAS 污染。大多数情况下均未发现交叉污染，仅少数化合物存在微量交叉污染，且浓度仅为最低浓度校准标样的 1/5。此低浓度水平（样品中浓度低于 2 ng/L 的 1/5）下的

LC/MS/MS 灵敏度证明，三重四极杆液质联用系统具有高灵敏度，远优于 EPA 537.1 和 EPA 533 方法对运行实验室的要求。

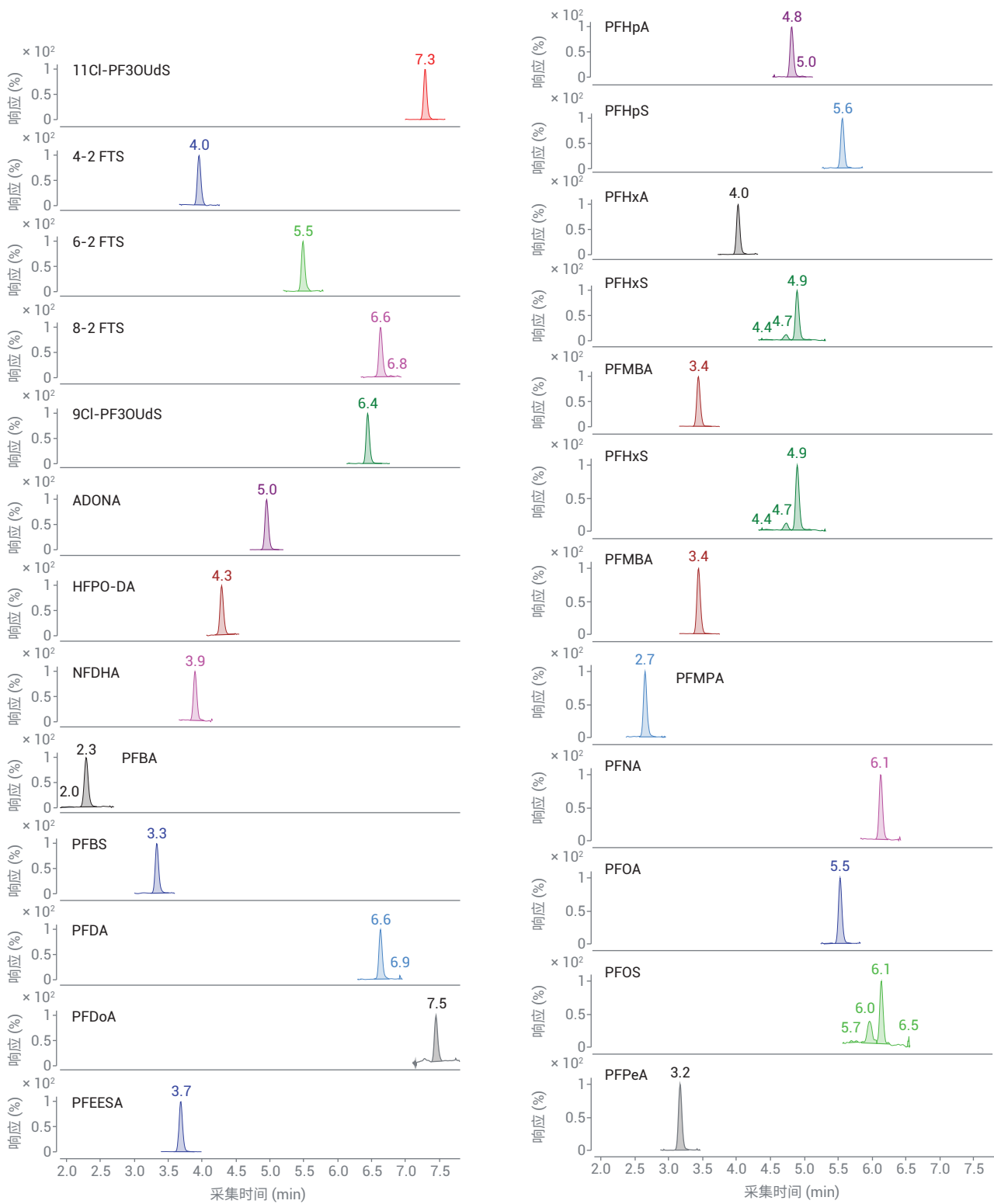


图 2. 使用 EPA 533 方法时实验室加标空白 (1 ng/L) 中 25 种 PFAS 的提取 MRM 色谱图 (定量离子对)

回收率与重现性

向 250 mL 饮用水样品中加入已知浓度的所有分析物，评估整个方法的回收率和重现性。适当保存样品，然后加入 EPA 537.1 或 533 对应的内标。EPA 537.1 和 533 中列出的所有分析物均以 4 ng/L 的浓度加入 5 种试剂和饮用水样品中。将

这些样品通过 SPE 萃取，并使用 Ultivo 三重四极杆液质联用系统进行分析。平均回收率和相对标准偏差 (RSD) 列于表 4 中。回收率均在 EPA 方法要求的 70%–130% 范围内。对于所有试剂和最终饮用水，EPA 533 和 537.1 方法检测的所有分析物的 RSD 均小于 20%。

方法报告限值

使用八个重复样，以逐渐降低的浓度进行加标，直到 EPA 533 和 537.1 中所有分析物的回收率介于 50%–150% 之间，计算方法检测限值 (MDL)。对加标样品进行 SPE 萃取、蒸发，并用三重四极杆液质联用系统进行分析。EPA 533 和 537.1

表 4. 按照 EPA 533 和 537.1 检测试剂水和最终饮用水中 PFAS 的回收率和 RSD (%)

分析物	试剂水				最终饮用水			
	EPA 533		EPA 537.1		EPA 533		EPA 537.1	
	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
PFBA	97%	2%	–	–	92%	3%	–	–
PFMPA	79%	5%	–	–	77%	3%	–	–
PFPeA	91%	3%	–	–	92%	5%	–	–
PFBS	96%	4%	109%	5%	95%	5%	106%	8%
PFMBA	94%	3%	–	–	92%	6%	–	–
PFEESA	93%	6%	–	–	91%	5%	–	–
NFDHA	93%	8%	–	–	98%	7%	–	–
4:2 FTS	96%	6%	–	–	91%	10%	–	–
PFHxA	93%	5%	119%	9%	90%	3%	116%	8%
PFPeS	95%	5%	–	–	96%	7%	–	–
HFPO-DA	92%	12%	116%	11%	93%	6%	111%	10%
PFHpA	81%	9%	–	–	85%	4%	–	–
PFHxS	92%	8%	102%	7%	100%	8%	114%	5%
ADONA	90%	2%	112%	8%	87%	1%	109%	8%
6:2 FTS	101%	15%	–	–	104%	3%	–	–
PFOA	89%	7%	101%	5%	89%	5%	117%	7%
PFHpS	92%	5%	–	–	85%	10%	–	–
PFNA	95%	6%	115%	6%	95%	6%	113%	8%
PFOS	94%	9%	98%	6%	100%	6%	103%	7%
8:2 FTS	109%	3%	–	–	97%	8%	–	–
9Cl-PF3OUdS	110%	17%	110%	6%	122%	10%	109%	9%
PFDA	93%	6%	112%	6%	93%	6%	110%	8%
PFUnA	94%	4%	–	–	89%	3%	–	–
11Cl-PF3OUdS	81%	7%	106%	7%	77%	8%	109%	10%
PFDoA	96%	12%	101%	14%	100%	14%	96%	17%
Me-FOSAA	–	–	126%	8%	–	–	122%	9%
Et-FOSAA	–	–	120%	6%	–	–	118%	8%
PFHpA	–	–	122%	6%	–	–	126%	7%
PFTeDA	–	–	97%	9%	–	–	102%	9%
PFTriDA	–	–	103%	5%	–	–	110%	9%
PFUnA	–	–	98%	4%	–	–	104%	9%

中所有分析物的 MDL 均低于 1 ng/L，表明 Ultivo 三重四极杆液质联用系统具有出色的灵敏度。该检测限远低于 EPA 方法中报道的限值。进样少量萃取物（低于两种 EPA 方法中规定的量）即可实现出色的灵敏度。进样量更小有助于获得更尖锐的峰形，并且分析型液相色谱柱和 MS/MS 中加载的基质化合物越少，有利于减少污染并可能延长 MS 离子源清洁前的间隔时间。

结论

Agilent Ultivo 三重四极杆液质联用系统在定量分析 EPA 方法 533 和 537.1 所需浓度 PFAS 中展现了出色的灵敏度。该方法在商业实验室环境中的性能表明，其报告限值优于 EPA 方法的要求。将 Agilent Poroshell EC-120 色谱柱与延迟柱结合使用，实现了较好的分离效果。该方法获得的峰不对称因子优于规定值，能够在无背景干扰分析的情况下充分分离并有效定量所有 PFAS。分离所需运行时间远少于 EPA 方法的时间。使用 SPE 对 250 mL 样品进行萃取后，两种 EPA 方法中试剂水和最终饮用水均获得了优于 EPA 方法指南的回收率。1290 Infinity II 液相色谱仪与 Ultivo 三重四极杆 LC/MS 联用非常适合用于饮用水中 PFAS 的分析和定量。

表 5. 采用 EPA 533 和 EPA 537.1 分析的所有 PFAS 的方法检测限

化合物	EPA 533	EPA 537.1
	MDL (ng/L)	MDL (ng/L)
PFBA	0.44	-
PFMPA	0.28	-
PFPeA	0.24	-
PFBS	0.26	0.67
PFMBA	0.33	-
PFEESA	0.13	-
NFDHA	0.42	-
4:2FTS	0.36	-
PFHxA	0.39	0.67
PFPeS	0.41	-
HFPO-DA	0.44	0.81
PFHpA	0.27	-
PFHxS	0.4	0.79
ADONA	0.27	-
6:2FTS	0.67	-
PFOA	0.29	0.39
PFHpS	0.44	-
PFNA	0.41	0.62
PFOS	0.44	0.55
9Cl-PF3ONS	0.48	0.82
8:2FTS	0.49	-
PFDA	0.27	0.68
PFUnA	0.41	-
11Cl-PF3OUdS	0.16	0.63
PFDoA	0.59	0.45
Me-FOSAA	-	0.82
Et-FOSAA	-	0.91
PFHpA	-	0.54
PFTeDA	-	0.62
PFTrDA	-	0.41
PFUnA	-	0.56
ADONA	-	0.46

参考文献

1. Zhanyun, W. et al. A Never-Ending Story of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs)? *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51, 5, 2508–2518
2. ATSTR, PFAs Toxicological Profile Key Messages, **2018**
3. Hunt, K. 等，使用安捷伦离线固相萃取技术萃取水中的全氟/多氟烷基化合物，*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-0250ZHCN，**2018**
4. Hindle, R. et al. EPA Method 533 for Analysis of Per/Polyfluoroalkyl Substances in Drinking Water Using Agilent 6470 Triple Quadrupole LC/MS（使用 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统的 EPA 方法 533 — 饮用水中全氟/多氟烷基化合物分析），*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5994-1628EN，**2020**
5. Anumol, T. et al. Recommended Plumbing Configurations for Reduction in Per/Polyfluoroalkyl Substance Background with Agilent 1260/1290 Infinity (II) LC Systems（可降低全氟/多氟烷基化合物在 Agilent 1260/1290 Infinity (II) 液相色谱系统中背景的建议管路配置），*安捷伦科技公司应用简报*，出版号 5991-7863EN，**2017**

水和土壤基质中 PFOS 和 PFOA 的 LC/MS/MS 测定

使用 Agilent 1290 Infinity II LC 和 Ultivo 串联质谱仪

作者

Wenlong Yang, Jing Guo,
Liang Dong 和 Yeru Huang
国家环境分析测试中心

Wei Du, Hua Wu 和 Meiling Lu
安捷伦科技（中国）有限公司,
北京

摘要

本应用简报根据最近的报告^[1]，介绍了 Agilent Ultivo 三重四极杆 LC/MS 与 Agilent 1290 Infinity II LC 联用系统分析水和土壤基质中全氟辛烷磺酸 (PFOS) 和全氟辛酸 (PFOA) 的性能。简单来说，过滤环境水样，用甲醇萃取土壤样品。使用弱阴离子交换柱对所得样品进行净化，以富集目标化合物并去除干扰物。然后在高 pH 下洗脱目标化合物，在氮气下进一步蒸发，然后复溶于甲醇中用于 Ultivo LC/MS/MS 分析。采用内标同位素稀释法进行定量。溶液中的 PFOA 和 PFOS 在 0.5–200 µg/L 范围内均表现出优异的线性关系，线性回归系数达 0.997。PFOA 和 PFOS 的检测限 (LOD) 在水中为亚 ng/L 级，在土壤中为 ng/kg 级。以 2.5、40 和 200 ng/L 浓度加标至纯水、河水和废水中的 PFOA 和 PFOS 的平均加标回收率分别为 88.4%–98.8% 和 88.0%–97.3%，所有 RSD 值 (n = 6) 均在 0.60%–14% 范围内。对于加标浓度分别为 0.50、5.0 和 20 µg/kg 的空白土壤、田间土壤和沉积物基质，PFOA 和 PFOS 回收率分别为 98.6%–113% 和 96.8%–111%，两种化合物的 RSD 均在 0.4%–6.6%。上述结果表明，使用 Ultivo LC/MS/MS 开发的方法十分准确可靠。该方法还符合各种环境水和土壤基质中痕量 PFOA 和 PFOS 常规监测的标准。

前言

环境（包括水、土壤、沉积物、淤泥和生物基质）中存在两种主要的全氟烷基物质 PFOA 和 PFOS^[2,3]。对实验动物和流行病学暴露的研究表明，全氟辛烷磺酸和全氟辛酸可能对人类健康产生有害影响，包括肝毒性、发育毒性、可能的生殖毒性和潜在致癌性^[4]。欧洲食品安全局 (EFSA) 于 2008 年公布了 PFOA 和 PFOS 的每日耐受摄入量 (TDI)^[4]，美国国家环境保护局 (EPA) 在 2016 年规定了饮用水中 PFOA 和 PFOS 总量的健康警告值^[5]。中国是全氟烷基物质的主要制造和使用大国。并且，在过去十年中，国内的各种环境基质和食品中发现了更多的 PFOA、PFOS 和相关化合物^[6-8]。但是，国内还没有针对食品或饮用水中 PFOA 和 PFOS 的最高容许浓度。最近，国家发布了一种测定植物源食品中 PFOA 和 PFOS 的参考方法^[9]。为了确保可靠地监测环境中全氟烷基物质的残留情况，必须建立一种稳定的方法来测定各种环境基质中的 PFOA 和 PFOS。这种监测有利于将来的环境监管。

为了测定基质中 PFOA、PFOS 和其他全氟烷基物质的含量，先采用固相萃取 (SPE) 净化，然后进行液相色谱三重四极杆串联质谱 (LC/MS/MS) 分析的这一方法已得到广泛应用^[2-3,6-8]。用于全氟烷基物质的 SPE 净化柱主要基于反相色谱和弱阴离子交换 (WAX) 机制。这些 SPE 净

化柱可有效去除大多数样品基质^[6,8]，有利于后续采用 LC/MS/MS 对分析物进行准确可靠的测量。本应用简报表明，将 WAX 柱净化与 Ultivo LC/MS 结合是一种灵敏可靠的方法，能够准确测定各种环境基质中的 PFOA 和 PFOS。

实验部分

材料和试剂

PFOA、PFOS、¹³C₄-PFOA 和 ¹³C₄-PFOS 储备标准溶液购自加拿大 Wellington Laboratories，各自浓度为 50.00 µg/mL（溶于甲醇）。甲醇、乙腈、乙酸、乙酸铵和氢氧化铵 (W% = 20%) 均为 HPLC 级，购自 Fisher Scientific (Fair Lawn, NJ)。在整个实验中均使用 Milli-Q 水作为纯水（电阻为 18 MΩ）。所有其他试剂均为分析纯，均购自 SinoChem（中国北京）。WAX 柱 (150 mg/6 mL) 来自安捷伦科技公司 (Little Falls, DE)。

混标校准溶液配制

首先由储备溶液配制含有 10 ng/mL 每种内标的最高浓度混标校准溶液 (200 ng/mL)。然后，由储备溶液配制 10 ng/mL 内标混合物的甲醇溶液作为稀释溶剂。使用含有 10 ng/mL 每种内标的稀释溶剂依次稀释最高浓度混标校准溶液，得到其他混标校准溶液 (0.5、1.0、2.0、5.0、10、20、50 和 100 ng/mL)。每种校准溶液中的最终内标浓度为 10 ng/mL。

水和土壤样品的采集、运输和储存

地表水和废水采集自国内的河流和工业废水。土壤样品采集、运输和储存遵循 GB17378.3 和 HJ/T 166 土壤采样指南。将所有采集的样品在 4 °C 下避光储存在聚丙烯装置中，在两周内净化，并在一个月进行分析。

样品净化和富集

将水样 (500 mL) 采用石英滤膜过滤。然后，将 10 ng ¹³C₄-PFOA 和 ¹³C₄-PFOS 加入滤液中，涡旋混合 30 秒，然后在室温下静置 30 分钟。WAX 净化方案按照参考文献 1 中的步骤进行，或者减少每个步骤中使用的溶剂量以使该方法更环保。各步骤细节如下：

1. 依次使用 0.5% 氨甲醇溶液 (4 mL)、甲醇 (4 mL) 和水 (4 mL) 预活化 WAX 柱
2. 然后将水样以 3–5 mL/min 的流速上样至 WAX 柱
3. 在所有水样通过净化柱后，使用水 (5 mL) 和乙酸缓冲液 (5 mL, pH 4.0) 依次清洗净化柱
4. 然后将净化柱在真空下干燥 1 小时
5. 干燥后，使用 3 mL 甲醇清洗净化柱，弃去流出的溶液
6. 然后，使用 0.5% 氨甲醇溶液 (4 mL) 从净化柱中洗脱目标化合物；将洗脱液收集在 10 mL 聚丙烯试管中，在 40 °C 下用氮气干燥至近干

- 然后，通过充分涡旋将残余物溶解在 1 mL 甲醇中
- 使用 0.22 μm 滤膜进一步过滤所得溶液，并转移至 2 mL 聚丙烯样品瓶中用于 LC/MS/MS 分析

土壤/沉积物样品的萃取、净化和富集

将 5.0 (±0.1) g 干燥样品转移到 100 mL 聚丙烯管中。然后，将 10 ng 每种内标 (¹³C₄-PFOA 和 ¹³C₄-PFOS) 加入样品中，涡旋混合，然后在室温下静置 30 分钟。

然后使用甲醇对样品进行萃取。萃取方案可以按照参考文献 1 中的步骤进行。或者，如下所述稍微更改萃取条件可以缩短萃取时间。向样品管中加入 10 mL 甲醇，涡旋以实现均匀混合。然后使用振荡器在 37 °C 下将样品管振荡 20 分钟，然后在 6000 rpm 下离心 5 分钟。将所得上清液转移到 500 mL 聚丙烯烧杯中。将萃取步骤重复两次，并将所得萃取物收集到相同烧杯中。接下来，为了使样品溶液中的甲醇浓度低于 10%，将 300 mL 纯水加入到烧杯中。然后使用 WAX 柱按照与水样相同的步骤对稀释的样品萃取物进行进一步净化和富集。

加标回收率测试

使用空白水、河水和废水基质来评估水基质的回收率。空白土壤、农业土壤和河流沉积物用于测试土壤基质的回收率。对于每种基质，将 1–3 种浓度的 PFOA 和 PFOS 加标至基质中，一式六份。表 1 列

出了每种基质中 PFOA 和 PFOS 的加标浓度。此外，将 10 ng 内标添加到基质中。将加标样品在室温下涡旋混合 30 分钟，然后分别进行水或土壤基质的样品前处理。

LC 和 MS 条件

将 1290 Infinity II LC 和先进的 Ultivo 串联四极杆 LC/MS 联用进行 LC/MS/MS 分析。表 2 展示了详细的 LC 和 MS/MS 条件。

表 1. 每种基质中 PFOA 和 PFOS 的加标浓度

水基质	L1 (ng/L)	L2 (ng/L)	L3 (ng/L)
空白水	2.5	40	200
地表水	2.5	40	–
工业废水	–	–	200
土壤基质	L1 (μg/kg)	L2 (μg/kg)	L3 (μg/kg)
空白土壤	0.5	5	20
土壤	–	5	20
沉积物	–	5	20

表 2. 详细的 LC/MS/MS 分析条件

液相色谱条件	
仪器	内置有脱气机的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱仪
自动进样器	带温控功能的 Agilent 1290 Infinity II 自动进样器
柱温	1290 Infinity II 柱温箱
色谱柱	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C18, 2.1 × 100 mm, 2.7 μm
柱温	35 °C
流动相	2.0 mmol/L 乙酸铵溶液 B) 乙腈
流速	0.30 mL/min
进样量	5.0 μL
后运行时间	3 min
梯度洗脱曲线	0–3 min: 30%–65% B 3–4 min: 65% B 4–5 min: 65%–100% 5–8 min: 100%
MS/MS 条件	
仪器	Ultivo LC/TQ
电离模式	负离子模式
干燥气温度	325 °C
干燥气流速	6 L/min
雾化器气体压力	30 psi
鞘气温度	350 °C
鞘气流速	11 L/min
毛细管电压	2500 V
喷嘴电压	0 V
CAV	9 V

结果与讨论

LC 和 MS/MS 条件优化

首先，为了找到用于检测两种化合物的正确母离子，在负离子模式下对 PFOA 和 PFOS 标准溶液进行 Q1 MS 扫描。然后对所选择的母离子进行子离子扫描。通过优化母离子传输和碎裂的参数，选择 413/369 和 499/99 离子对分别用于 PFOA 和 PFOS 定量。选择其他离子对 (413/169、499/80) 用于定性确证。同样，也确定了同位素标样的离子对，如表 3 所示。

确定 MRM 采集参数后，选择 InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 色谱柱，并使用乙腈和乙酸铵水溶液作为流动相分离 PFOA 和 PFOS。使用五分钟的梯度洗脱，PFOA 和 PFOS 实现基线分离，如图 1 所示。对于相对干净的水基质，五分钟足以分离分析物。但是，在分析复杂基质（如废水、土壤或沉积物）时，净化后样品中的残留基质可能会干扰分析并缩短色谱柱寿命。因此，为确保在每次分析后完全净化色谱柱，在两种分析物从色谱柱中洗脱

表 3. 用于检测 PFOA 和 PFOS 的 MRM 采集参数

化合物	母离子 (m/z)	碎片离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (V)	驻留时间 (ms)
PFOA	413	369*	80	1	30
		169	80	12	30
M4-PFOA	417	372*	80	1	30
		169	80	12	30
PFOS	499	99*	200	52	30
		80	200	68	30
M4-PFOS	503	99*	200	52	30
		80	62	68	30

* 定量离子

后，将梯度曲线立即升至纯乙腈并保持三分钟。此外，由于全氟烷基化物质普遍存在，LC 系统的背景水平可能很高。在这

种情况下，建议在混合溶剂和自动进样器之间连接一根捕集柱，以捕获残留物^[7]并消除共洗脱干扰，实现准确定量。

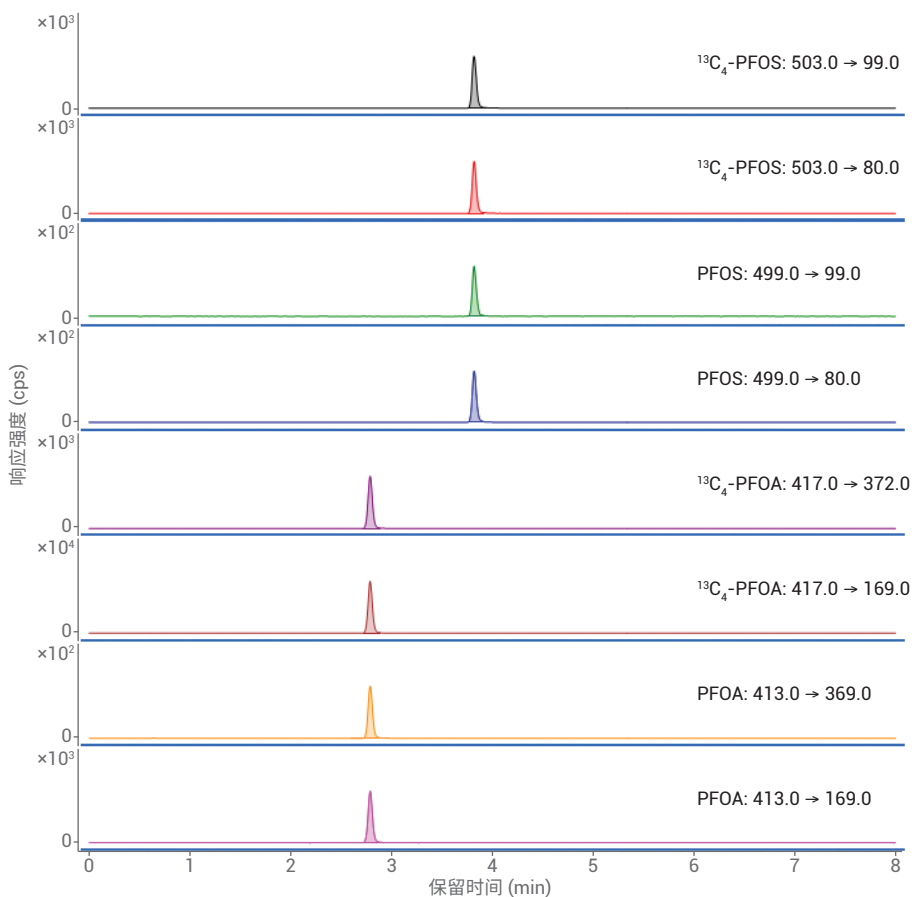


图 1. 使用 Ultivo LC/TQ 获得的 PFOA、PFOS 及其同位素标记类似物的典型 MRM 色谱图

样品萃取和净化优化

先将水样过滤，再进行净化。然而，对于土壤样品，需要适当的萃取步骤来高效地萃取目标化合物。萃取溶剂、萃取方式和土壤样品中 TOC 百分比都可能影响目标化合物的萃取效率。固定土壤中的 PFOA 和 PFOS 加标浓度 (5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)，改变萃取溶剂、萃取方式和土壤基质中的 TOC 百分比，对比回收率变化。改变萃取方式 (使用振荡或超声) 不会造成 PFOA 和 PFOS 回收率的明显差异。在测试的 TOC 范围内 (0.81%–2.4%) 改变 TOC 百分比，PFOA 和 PFOS 回收率没有显著差异。但是，当比较不同的萃取溶剂时，包括水、甲醇及中性和碱性 pH (0.1% KOH) 下的甲醇/水 (1:1, v/v) 混合溶液，发现甲醇对于同时实现 PFOA 和 PFOS 的高效萃取十分重要。甲醇/水 (1:1, v/v) 和甲醇均可高效萃取 PFOA 和 PFOS。然而，甲醇会比甲醇/水 (1:1, v/v) 萃取出更多的干扰物，这可以解释回收率偏差相对较高的原因。

过滤后的水样可以直接上样到 WAX 柱上进行净化。对土壤萃取物进行稀释，使样品溶液中的最终甲醇浓度低于 10%，然后上样至净化柱。WAX 净化柱在 pH 4.0 下对 PFOA 和 PFOS 具有强保留特性。因此，在将样品上样至净化柱后，依次使用乙酸 (pH 4.0) 和纯甲醇清洗净化柱。这些清洗溶剂不会洗脱目标化合物，但可以有效地洗脱土壤萃取物中的干扰化合物。通过改变氨/甲醇洗脱溶剂，可以有效地将目标化合物从净化柱中洗脱出来。最终的优化过程如实验部分所述。

校准曲线和灵敏度

校准溶液由混标溶液配制，PFOA 和 PFOS 浓度范围为 0.5–200 $\mu\text{g}/\text{L}$ ，每种内标浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。将目标化合物峰面积与其内标峰面积的比值相对于溶液中的目标物浓度与其内标浓度的比值作图。图 2 显示 PFOA 和 PFOS 的峰面积比与浓度比线性相关，回归系数高达 0.997。

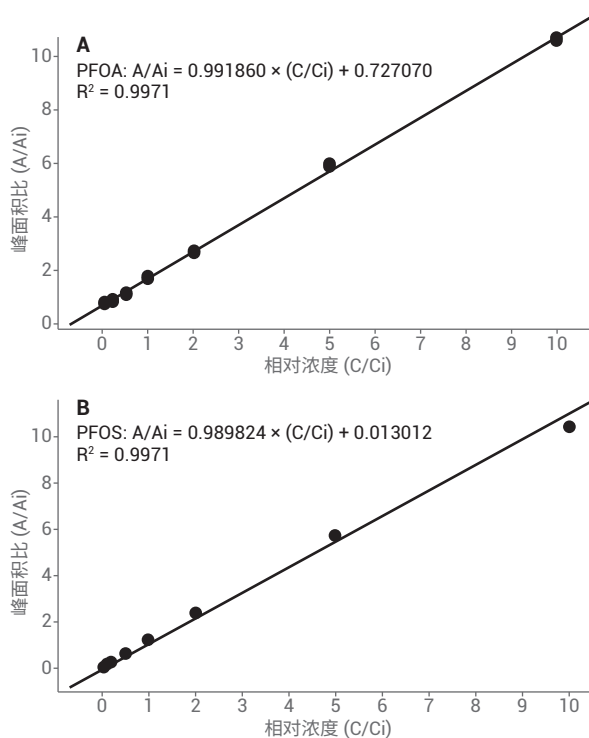


图 2. 测试浓度范围内的 PFOA 和 PFOS 校准曲线

纯水和空白土壤中 PFOA 和 PFOS 的最低加标浓度证明了该方法的高灵敏度。如图 3 所示，在水中 2.5 ng/L 的低加标浓度下，PFOA 和 PFOS 的信噪比 (S/N) 分别为 1193 和 120。上述 S/N 比表明，水中 PFOA 和 PFOS 的 LOD 为亚 ng/L 级或更低浓度。在空白土壤中 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标浓度下，PFOA 和 PFOS 的 S/N 分别达到 1382 和 226。这表明 PFOA 和 PFOS 的 LOD 在空白土壤中可以达到 ng/kg 或更低浓度。结果表明，所开发的方法能够检测极低浓度的痕量 PFOA 和 PFOS。

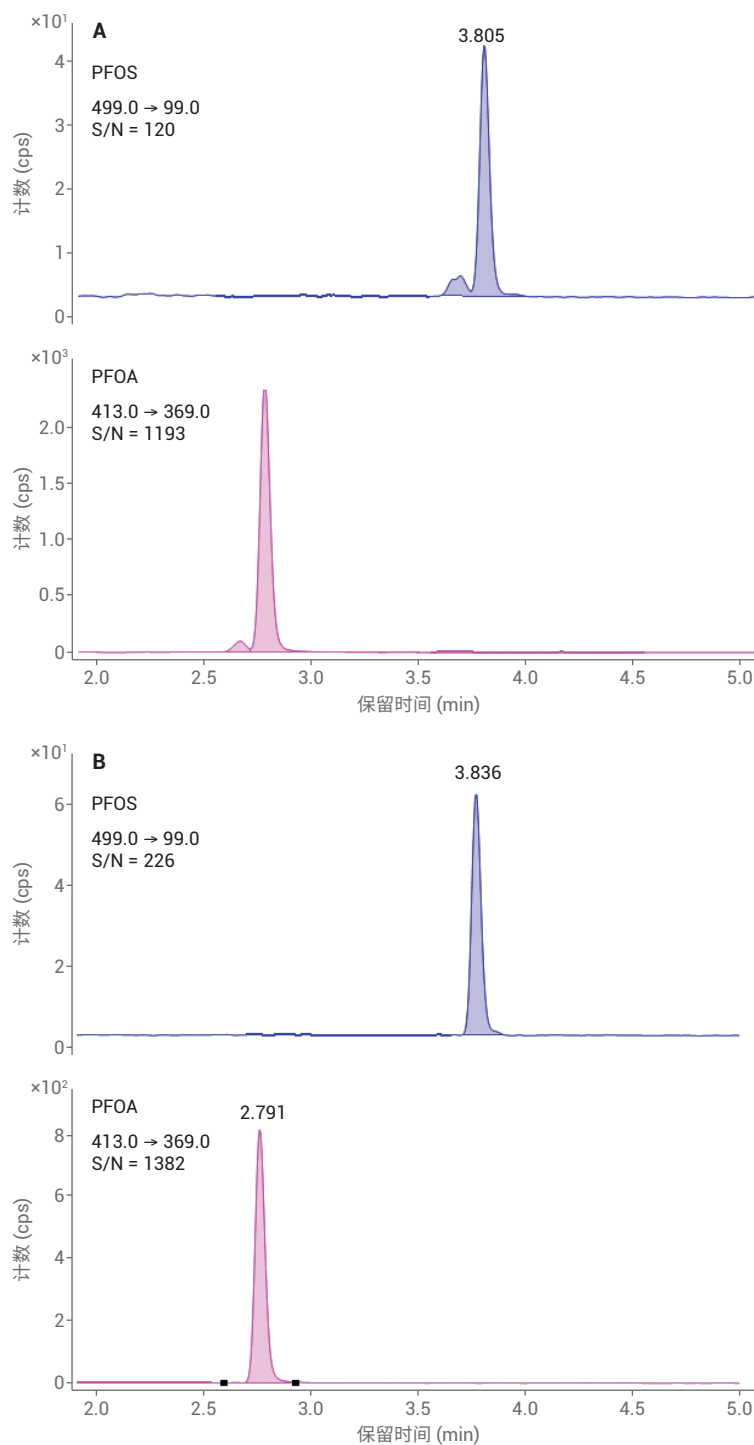


图 3. PFOA 和 PFOS 的色谱图, (A): 加标浓度为 2.5 ng/L 的水; (B) 加标浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的空白土壤。注意: 每种化合物仅显示定量离子色谱图

方法准确度与精密度

通过加标实验评估方法的准确度和精密度。选择纯水、河水、废水、空白土壤（石英砂）、田间土壤和沉积物作为测试基质。图 4 显示，加标浓度为 2.5、40 和 200 ng/L 时，PFOA 回收率在 91.1%–94.1% 之间，相对标准偏差（RSD, n = 6）在 1.3%–4.8% 之间。PFOS 的回收率在 88.0%–93.8% 之间，RSD 在 0.8%–5.3% 之间。对于加标浓度为 2.5 ng/L 和 40.0 ng/L 的河水，以及加标浓度为 200 ng/L 的废水，PFOA 和 PFOS 的回收率分别为 88.4%–98.8% 和 88.0%–97.3%，RSD 分别为 2.2%–13.8% 和 0.9%–4.1%。对于加标浓度为 0.5、5.0

和 20.0 µg/kg 的空白土壤、田间土壤和沉积物，PFOA 的回收率在 98.5%–112.8% 之间，RSD 在 0.6%–5.7% 之间。PFOS 的回收率也在 96.8%–111.1% 之间，RSD 在 0.4%–6.6% 之间。结果表明，该方法可以准确可靠地测定各种环境水和土壤基质中痕量的 PFOA 和 PFOS。

实际样品分析

使用该方法监测地下水、地表水、周围土壤和当地采集的沉积物中 PFOA 和 PFOS 的含量。结果表明，地表水和地下水都受到了极低浓度的 PFOA 和 PFOS 污染，浓度范围从几 ng/L 到几十 ng/L。对于周围土壤和沉积物，大多数样品中未检测到 PFOA 和 PFOS。

结论

将 1290 Infinity II 液相色谱仪与新型 Ultivo 四极杆质谱仪联用，检测各种环境水和土壤基质中的 PFOA 和 PFOS。通过 WAX 柱净化和富集，空白水中 PFOA 和 PFOS 的 LOD 可低至亚 ng/L 级。空白土壤中 PFOA 和 PFOS 的 LOD 可低至 ng/kg 级。同位素稀释校准在 0.5–200 µg/L 测试范围内表现出优异的线性关系，回归系数高达 0.997。该方法具有高准确度和精密度，所有测试基质的加标回收率均在 88%–113% 之间，RSD 在 0.6%–13.8% 之间。结果表明，该方法可以可靠地应用于环境水和土壤基质中痕量 PFOA 和 PFOS 的常规测量。

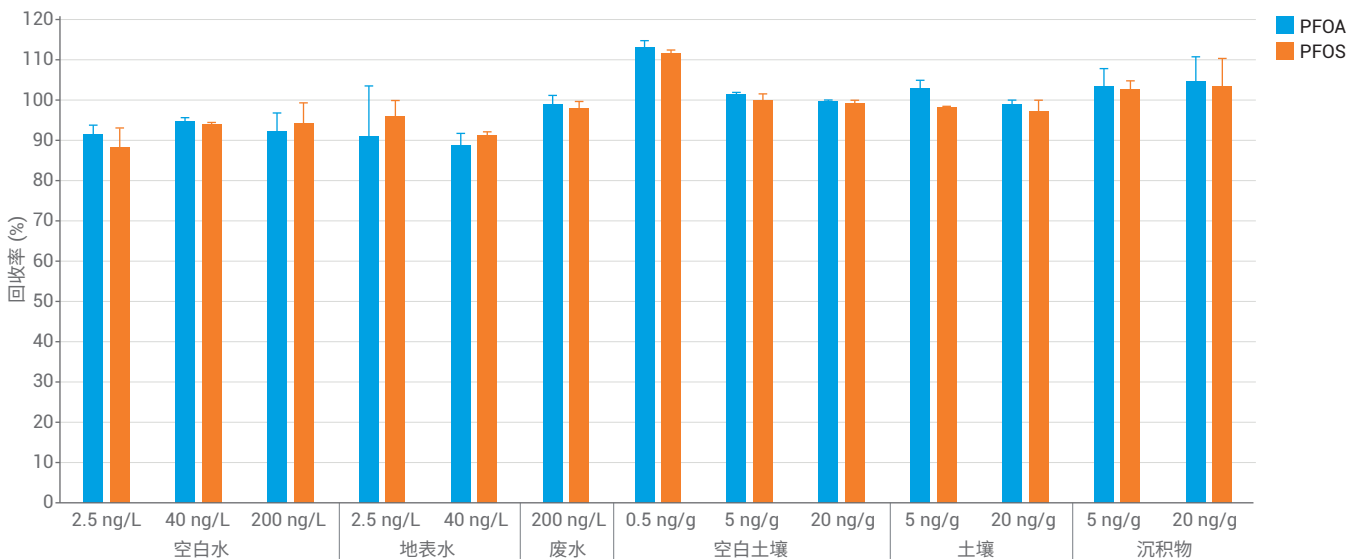


图 4. 测试的水和土壤基质中每种加标浓度下的 PFOA 和 PFOS 回收率

参考文献

1. Yang W. L.; *et al.* Determination of Perfluorooctanoic Acid and Perfluorooctanesulfonates in Various Environmental Water and Soil Matrices Using Ultra High Performance Liquid Chromatography Coupled with State-of-Art Tandem Quadrupole Mass Spectrometry. *China Journal Environmental Chemistry* (in press)
2. Loos, R.; *et al.* Analysis of perfluorooctanoate (PFOA) and other perfluorinated compounds (PFCs) in the River Po watershed in N-Italy. *Chemosphere* **2008**, *71*(2), 306–313
3. Inoue, K.; *et al.* Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Related Perfluorinated Compounds in Human Maternal and Cord Blood Samples: Assessment of PFOS Exposure in a Susceptible Population during Pregnancy. *Environmental Health Perspectives* **2004**, *112*(11), 1204–1207
4. European Food Safety Authority (EFSA). EFSA opinion on two environmental pollutants (PFOS and PFOA) present in food. July 21, **2008**
5. US Environmental Protection Agency. PFOA & PFOS drinking water health advisories. *Fact Sheet*, EPA 800-F-16-003. **2016**
6. Pan, Y. Y.; *et al.* Evaluation of perfluorinated compounds in seven wastewater treatment plants in Beijing urban areas. *Science China Chemistry*, **2011**, *54*(3), 552–558
7. Yu, Y.; *et al.* QuEChERS Combined with Online Interference Trapping LC-MS/MS Method for the Simultaneous Determination of 20 Polyfluoroalkane Substances in Dietary Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2015**, *63*(16), 4087–4095
8. Wang, Y. X.; *et al.* Dietary sources of human exposure to perfluorooctanoic acid, perfluorooctanesulfonate and their isomers. *China Journal Environmental Chemistry*, **2018**, *37*(6), 1197
9. GB5009.253—2016. 动物源性食品中 PFOS 和 PFOA 测定的 GB 方法, **2016**.8.31

对污水污泥中的环境污染物同时进行 靶向定量和疑似物筛查

Agilent 6546 LC/Q-TOF

作者

James S. Pyke
安捷伦科技有限公司
Santa Clara CA USA

Gabrielle Black
美国加州大学戴维斯分校

Kai Chen
安捷伦科技有限公司
Santa Clara, CA, USA

Tarun Anumol
安捷伦科技有限公司
Santa Clara, CA USA

Thomas M. Young
美国加州大学戴维斯分校

摘要

环境污染物列表内容不断增加，法规也日益严格。各种环境监管机构都需要快速、准确且高灵敏度的分析工具。环境实验室经常遇到需要进行一系列分析的样品：从高毒性污染物的痕量分析（以保护生态系统），到筛查庞大的新型污染物（常规生产并超出预期使用期限持久存在）库。目前已经针对数据采集、定量分析和报告结果制定了相应的技术和程序，通常使用靶向 LC-TQ 技术。但监测日益增加的新型环境毒物列表仍在不断向环境科学家们发起挑战。

本应用简报使用 Agilent 6546 LC/Q-TOF MS 系统评估定量分析和筛查的综合工作流程。6546 同时具有扩展动态范围和高质量分辨率功能，还具有无与伦比的采集速率。该工作流程结合安捷伦个人化合物数据库和谱库 (PCDL) 中经过高度优化的 MS/MS 谱图和保留时间，以及更新的 MassHunter 定量分析软件，可同时进行无缝靶向定量与疑似物筛查。软件增强功能和硬件功能可快速简化受监管化合物的定量分析，同时根据一次进样即可筛查数千种新型污染物。

前言

污水污泥是一种由许多化合物浓缩而成的复杂混合物，大多数情况下将其处理后用于农田应用。对农田应用的污水污泥而言，对来源于消费品的持久性有毒化学物质所进行的监管监测有限。然而，许多上述化合物的毒性值仍属未知，这表明需要研究并减轻排放下游生态系统影响的风险。问题在于随着可用的产品越来越多，毒物及其转化产物的列表也在不断增加。对上述化合物进行广泛筛查可以更全面地了解来源于消费品的高度持久性化学物质，以及使用稳定的废物处理技术无法去除这些化学物质时对下游的影响。

内分泌干扰物是对生物系统（受激素控制）具有干扰作用的化学物质，因此在污水处理厂的工艺流程中进行监测。目前更新了规定污水污泥中内分泌活性有机环境污染物分析的分析方法^[1]，以充分利用 6546 四极杆飞行时间 (Q-TOF) 系统。6546 LC/Q-TOF 同时具有扩展动态范围和高质量分辨率功能，且采集速率不受影响。与 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱 (LC) 系统联用可通过快速 LC 梯度提高色谱分离度，同时确保运行时间适合高通量运行。

这些功能的组合能够快速定量已知毒物，同时监测许多其他可疑毒物是否存在，从而提升已完成工作的价值。数据非依赖型采集 (DIA) 功能还允许在发现新毒物时对数据进行回顾性分析。

我们将精心挑选的化合物加标至污水污泥基质中，以此评估 6546 LC/Q-TOF 系统的定量分析能力：将之前在污水污泥中检测到疑似具有内分泌活性特征的化合物汇编为约 50 种化合物的列表。在这些化合物中，选择 12 个替代物用于方法验证，其代表列表中大部分化合物的理化性质。由于加标的替代物化学性质各不相同，足以涵盖整个色谱洗脱过程，因此，我们将替代化合物的保留时间 (RT) 与已发表用于测量相同化合物的分析方法相关联。然后使用模型预计同一数据文件中各种毒物的 RT。此外，还监测了不存在 RT 相关性的化合物。

除加标的替代物外，总共监测了 4856 种具有高度优化的 MS/MS 谱图的化合物。数据分析工作流程极为简单，根据高质量分辨率数据从高度优化的化合物库中提取化合物的已知母离子和碎片离子质量数，然后：

- 测量质量数准确度和提取质量数的共洗脱
- 将已知的理论同位素模式与准确测量的同位素模式进行比较
- 将已知或预计的 RT 与测量的 RT 进行比较

SANTE 指南^[3] 建议，推断鉴定应遵循基本的鉴定标准，同时软件应侧重于审查过程并减少可能的假阳性结果。通过传统定量分析流程（与 LC/TQ 工作流程相似）发现和定量加标的替代物来验证工作流程之后，我们将通过进一步向经高度优化的化合物数据库中扩充新毒物，回顾性地不断发现可疑污染物。

实验部分

在可能的情况下，污水污泥样品的样品前处理步骤应特意设置为不具备化学选择性，从而检测各种环境污染物。使用高质量溶剂和消耗品，减少引入可能导致错误结果的化合物。

试剂与化学品

使用安捷伦 LC/MS 级乙腈 (部件号 G2453-85050)、甲酸 (Merck, 5330020050) 和氟化铵 (Sigma-Aldrich, 338869) 配制溶剂。将 100 μ L Agilent HP-0921 和 200 μ L 嘌呤 (部件号 G1969-85001) 加入 100 mL 5% 水的乙腈溶液中，配制参比质量溶液。按照仪器手册中的规定配制 ESI-L 校准溶液。用 20% 甲醇水溶液在加州大学戴维斯分校配制标样。

标样和样品前处理

表 1 列出了目标化合物。为了评估 6546 Q-TOF LC/MS 系统的动态范围和灵敏度，用 20% 甲醇水溶液配制标样，校准浓度为 1000、750、500、250、100、50、25、10、5、2.5、1、0.5、0.25 和 0.1 ppb。未使用内标对数据进行归一化。样品来自美国加利福尼亚州的污水处理厂，如前所述进行前处理^[1]，在样品前处理前后加标 200 ppb 的目标化合物，评估回收率和样品基质抑制效应。

仪器

将包含表 2 中所述模块的 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统与 6546 Q-TOF LC/MS 系统 (G6546A) 联用。

表 1. 目标化合物

名称	CAS	分子式	中性质量数
AHTN/吐纳麝香	1506-02-1	C ₁₈ H ₂₆ O	258.19837
卡马西平	298-46-4	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	236.09496
DEET/避蚊胺	134-62-3	C ₁₂ H ₁₇ NO	191.13101
双氯芬酸	15307-86-5	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂	295.01668
二氢茉莉酸甲酯	24851-98-7	C ₁₃ H ₂₂ O ₃	226.15690
依法韦仑	154635-17-3	C ₁₄ H ₆ ClF ₃ NO ₂	315.02739
氟尼辛	38677-85-9	C ₁₄ H ₁₁ F ₃ N ₂ O ₂	296.07726
氟西汀	54910-89-3	C ₁₇ H ₁₈ F ₃ NO	309.13405
氟伏沙明	54739-18-3	C ₁₅ H ₂₁ F ₃ N ₂ O ₂	318.15551
拉莫三嗪	84057-84-1	C ₉ H ₇ Cl ₂ N ₅	255.00785
甲芬那酸	61-68-7	C ₁₅ H ₁₅ NO ₂	241.11028
美托洛尔	37350-58-6	C ₁₈ H ₂₅ NO ₃	267.18344
咪康唑	22916-47-8	C ₁₈ H ₁₄ Cl ₄ N ₂ O	413.98602
甲基炔诺酮	797-63-7	C ₂₁ H ₂₈ O ₂	312.20893
磺胺甲恶唑	723-46-6	C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	253.05211
三氯卡班	101-20-2	C ₁₃ H ₉ Cl ₃ N ₂ O	313.97805
甲氧苄啶	738-70-5	C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃	290.13789
雌酮 (E1)	53-16-7	C ₁₈ H ₂₂ O ₂	270.16198
炔雌醇 (EE2)	57-63-6	C ₂₀ H ₂₄ O ₂	296.17763
2-苯基苯酚 (邻苯基苯酚)	90-43-7	C ₁₂ H ₁₀ O	170.07316
吉非罗齐	25812-30-0	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	250.15689
雌三醇	50-27-1	C ₁₈ H ₂₄ O ₃	288.17254
4-叔-辛基酚 (4-(1,1,3,3-四甲基丁基)-苯酚)	140-66-9	C ₁₄ H ₂₂ O	206.16707

表 2. Agilent 1290 Infinity II UHPLC 条件

模块	正离子参数	负离子参数
高速泵 (G7120A)	溶剂 A1) 0.1% 甲酸水溶液 溶剂 B1) 0.1% 甲酸乙腈溶液	溶剂 A2) 1 mmol/L 氟化铵水溶液 溶剂 B2) 乙腈
	流速: 0.4 mL/min 最大压力限值: 1300 bar (操作压力低于 450 bar)	
	梯度: 时间 (min) %B 0.00 2.00 0.50 2.00 15.50 100.00 19.50 100.00 20.00 2.00	
	停止时间: 20.00 分钟 后运行时间: 1.00 min	
Multisampler (G7167B)	进样量: 1 µL 多重清洗: 先后采用 100% 异丙醇、100% 乙腈、100% 水反冲针座和清洗针头各 5 秒	
大容量柱温箱 (G7116B)	柱温: 30 °C 色谱柱: Agilent InfinityLab Poroshell EC -C18 2.1 × 100 mm, 1.9 µm (部件号 685775-924)	

表 2 中所列参数产生的液相色谱梯度如图 1A 所示。160 次进样污水污泥、空白和校准品得到的泵压力曲线重叠 (图 1B)。图 1C 所示为正离子模式 (红色) 和负离子模式 (黑色) 下得到的代表性总离子流 (TIC) 色谱图。

表 3 列出了在 6546 LC/Q-TOF 系统上以 DIA 模式测量化合物所用的条件。

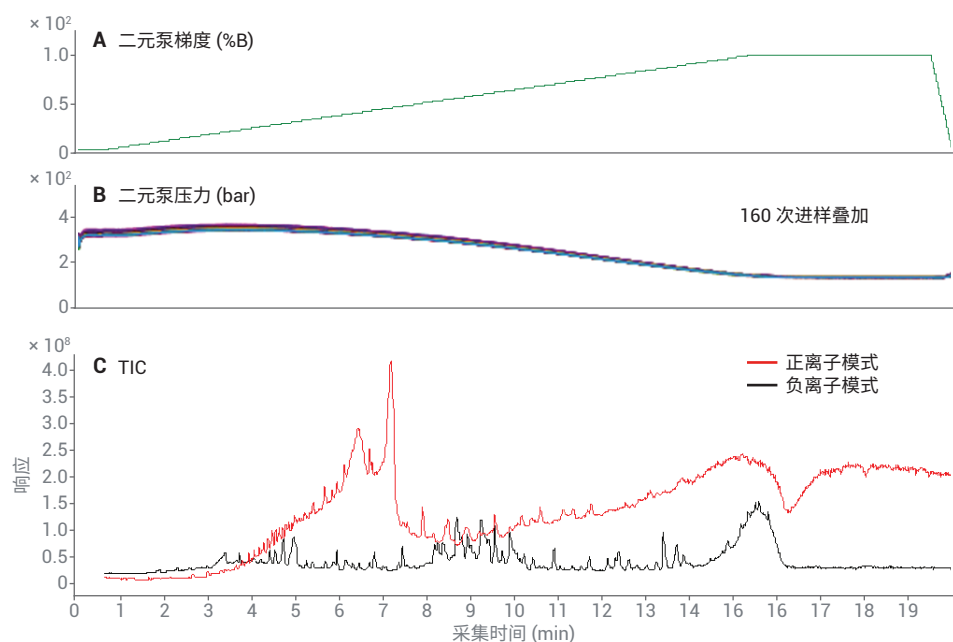


图 1. 污水污泥进样至 1290 Infinity II 液相色谱系统得到的色谱结果

表 3. 6546 LC/Q-TOF LC/MS 系统 (G6546A) 条件

参数	正离子参数	负离子参数
安捷伦喷射流离子源		
干燥气温度	225	
干燥气流速	12	
雾化器	30	
鞘气温度	350	
鞘气流速	350	
毛细管电压	3500	
喷嘴电压	500	
碎裂电压	110	
调谐模式		
离子极性	正离子	负离子
质量数范围	低 (1700 m/z)	
限幅器模式	高分辨率	
采集模式		
	50 - 1050 m/z	
速率	8 张谱图/秒	
碰撞能量	0、10、20、40 V	
参比质量校正	采用样品瓶 A 启用	
参比质量	121.050873 (M+H) ⁺ 嘌呤加合物 922.009798 (M+H) ⁺ HP-0921 加合物	119.03632 (M-H) ⁻ 嘌呤加合物 940.001473 (M+F) ⁻ HP-0921 加合物

图 2 所示为目标化合物的提取离子色谱图 (EIC)。

数据分析工作流程

自动化常规工作流程使用 Agilent MassHunter 采集软件 (10.0.111 版) 在正负离子模式下采集全离子 MS/MS 数据, 该软件使用 Agilent SureMass 技术^[3] 进行自动处理, 以便快速准确地定量分析目标化合物, 同时通过 MassHunter 定量分析 (适用于 TOF, 10.1 版原型) 检测可疑化合物。

通过从安捷伦高度优化的个人化合物数据库和谱库 (PCDL) 中导入化合物设置 MassHunter 定量方法。文献中概述了安捷伦 PCDL 中数据的质量数检查以及添加未来新型污染物的推荐步骤^[4]。将定量离子设置为母离子, 且每种化合物至少设置两个 MS/MS 碎片离子为定性离子。

如之前的分析方法^[5] 所述, 安捷伦高度优化的环境水质筛查 PCDL 具有经优化的 RT。图 4 中的文氏图总结了相关内容。

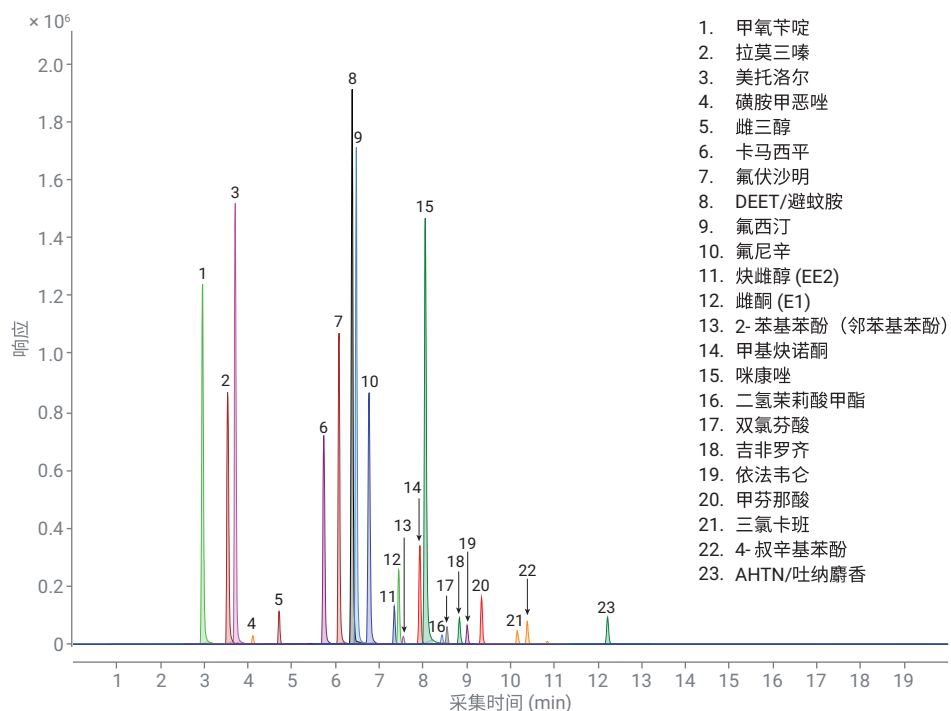


图 2. 表 1 中定义的目标化合物的提取离子色谱图

带 Study Manager 的 MassHunter 采集软件



图 3. 靶向定量分析和疑似物筛查工作流程

水质筛查分析仪 PCDL 目录

总化合物 = 1451 种

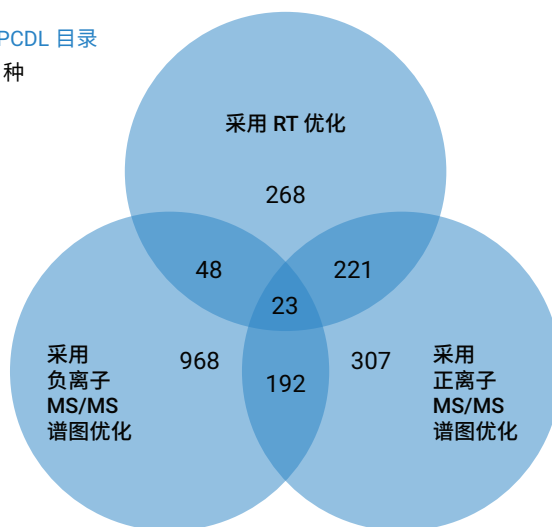


图 4. 水质筛查个人化合物数据库和谱库内容

由于本应用中使用的液相色谱方法与环境水质筛查 PCDL 中优化 RT 使用的方法不同，因此使用两种分析中的常见目标化合物对本分析中可疑化合物的 RT 进行建模。图 5 显示了 RT 在两种方法中皆已知的 9 种化合物（以黑色圆圈表示）、曲线强制性拟合到原点的能力，以及采用本应用简报中所述液相色谱方法分析时环境水质筛查 PCDL 中化合物的可疑 RT。图中预计的 RT 以蓝色圆圈表示，并用误差线表示搜索到的可疑化合物的 RT 窗口。

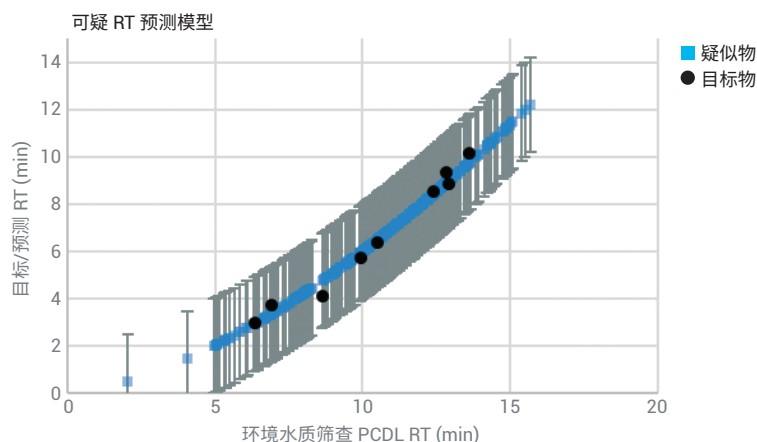


图 5. 不同分析方法之间相同的替代物保留时间相关性

结果与讨论

靶向定量分析能力

通过监测污水污泥中加标的替代物，我们评估了采用 6546 LC/Q-TOF 系统的分析方法的定量分析能力。利用 0.1 - 1000 ppb 范围内校准标样的线性回归结果评估表 4 中所列化合物的线性动态范围。表 4 中报告了将信噪比 (S/N) 低于 3 的校准浓度排除后得到的检测下限 (LLOD)，其中最低校准浓度的 S/N ≥ 3 。表 4 中报告的饱和极限 (LOS) 为线性动态范围上限；除去高浓度校准点，直至决定系数 (R^2) > 0.99，当线性曲线拟合 $1/x$ 加权（其中 x 为浓度）时，每个校准品的定量准确度 $< \pm 20\%$ 。

表 4. 6546 LC/Q-TOF 的定量分析能力

名称	定量离子	R^2	LLOD (ppb)	LOS (ppb)
AHTN/吐纳麝香	(M+H) ⁺	> 0.99	5.0	1000
卡马西平	(M+H) ⁺	> 0.99	1.0	250
DEET/避蚊胺	(M+H) ⁺	> 0.99	0.50	500
双氯芬酸	(M+H) ⁺	> 0.99	25	> 1000
二氢茉莉酸甲酯	(M+H) ⁺	> 0.99	50	> 1000
依法韦仑	(M+H) ⁺	> 0.99	5.0	> 1000
氟尼辛	(M+H) ⁺	> 0.99	0.50	2500
氟西汀	(M+H) ⁺	> 0.99	0.50	> 1000
氟伏沙明	(M+H) ⁺	> 0.99	1.0	> 1000
拉莫三嗪	(M+H) ⁺	> 0.99	0.10	100
甲芬那酸	(M+H) ⁺	> 0.99	5.0	> 1000
美托洛尔	(M+H) ⁺	> 0.99	0.50	> 1000
咪康唑	(M+H) ⁺	> 0.99	0.50	500
甲基炔诺酮	(M+H) ⁺	> 0.99	2.5	750
磺胺甲恶唑	(M+H) ⁺	> 0.99	50	> 1000
三氯卡班	(M+H) ⁺	> 0.99	50	> 1000
甲氧苄啶	(M+H) ⁺	> 0.99	0.10	100
雌酮 (E1)	(M-H) ⁻	> 0.99	2.5	> 1000
炔雌醇 (EE2)	(M-H) ⁻	> 0.99	5.0	> 1000
2-苯基苯酚 (邻苯基苯酚)	(M-H) ⁻	> 0.99	25	> 1000
吉非罗齐	(M-H) ⁻	> 0.99	5.0	> 1000
雌三醇	(M-H) ⁻	> 0.99	5.0	> 1000
4-叔-辛基酚 (4-(1,1,3,3-四甲基丁基)-苯酚)	(M-H) ⁻	> 0.99	5.0	> 1000

在大多数情况下，当拟合的线性曲线包含 权 $1/x$ ，其中 x 为浓度）时，除了拉莫 可包含更高的校准点以准确定量浓度高达 1000 ppb 校准样品时，未观察到 LOS。 三嗪（一种基本有效电离的化合物）之 1000 ppb 的化合物。图 6 所示为本分析 但是，当化合物拟合非线性曲线回归（加 外，进样 0.5 μL 时，其他所有化合物均 中目标化合物的校准曲线。

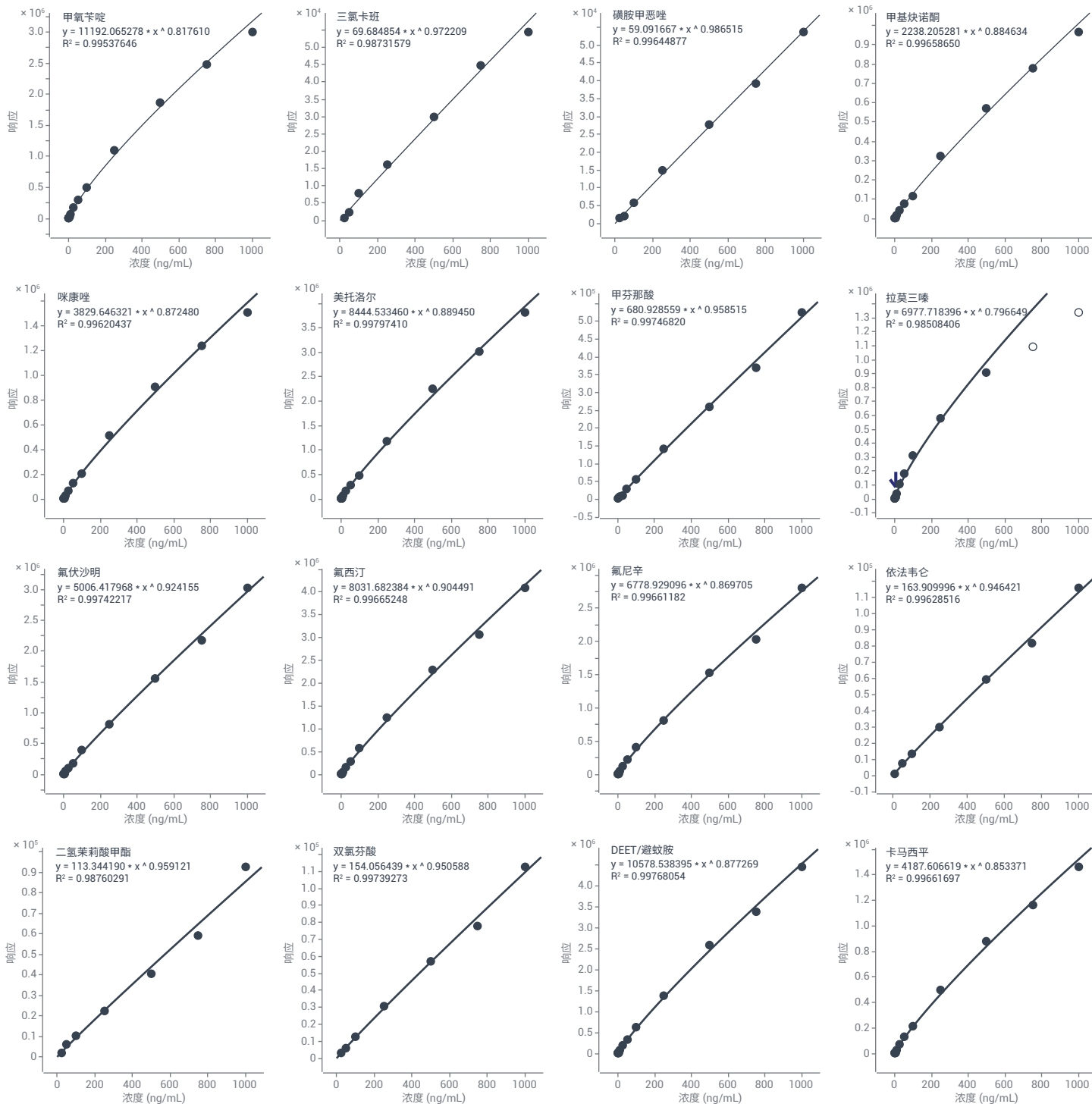


图 6. 目标化合物的校准曲线

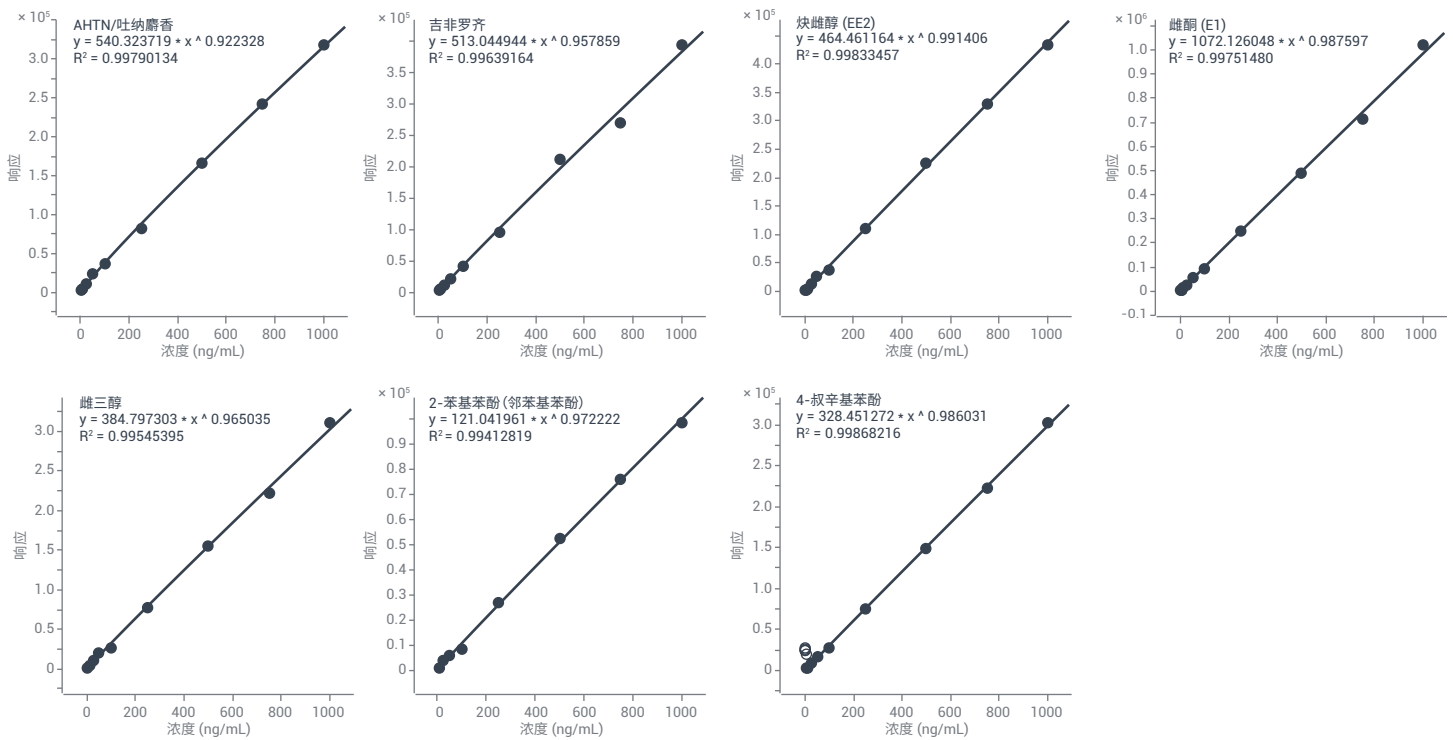


图 6. 目标化合物的校准曲线 (续)

对于拉莫三嗪, 未观察到检测限 (LOD), 因为当进样最低浓度校准品 (0.1 ppb) 时, 该峰的 $S/N > 3$ 。分析方法中使用的进样体积为 1.0 μL , 因此 100 ppb 的浓度相当于柱上进样 100 μg 。

使用与 LC-TQ 数据相同的方式显示目标化合物结果 (如图 7)。LC/TQ 和 LC/Q-TOF 采集方法之间的定量离子积分和预期 RT (图 7A) 以及定性离子的共洗脱 (图 7B, 根据由校准品确定的预期比例进行缩放) 相同。在已知化学式和天然同位素丰度的

情况下, 精确质量数测量额外增加的小数位以及比较预期同位素模式 (图 7C, 红色框) 与实测同位素模式 (图 7C, 黑色光谱) 的能力可大幅提高化合物鉴定的结果可信度。

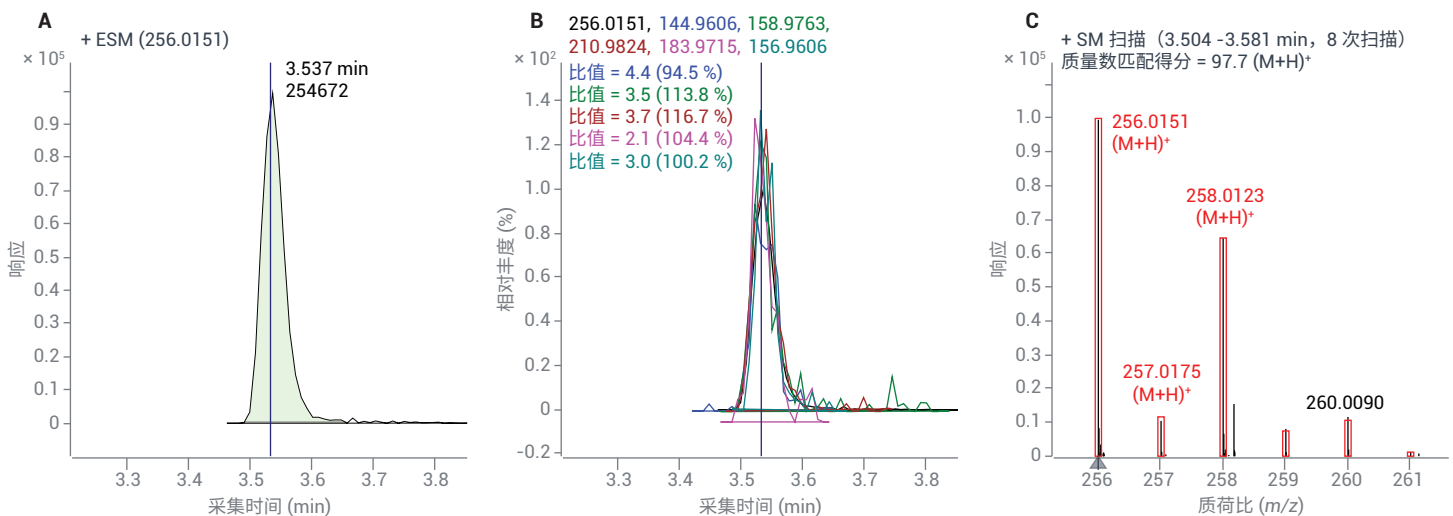


图 7. 500 ppb 加标污水污泥中的拉莫三嗪结果

疑似物筛查

MassHunter 定量分析软件内置的 LC Screener 工具可根据代表 SANTE 指南^[2] 的标准对推断鉴定进行颜色编码。在图 8 中,绿色表示有两种以上的离子(母离子和/

或碎片离子) 经测量符合预期的质量数准确度, 发生共洗脱且在预期 RT 范围内(已知时)。此外, 还验证了母离子的同位素模式。如图 8 所示, 验证了预计在负离子模式下测量的所有六种目标化合

物。还在负离子模式下验证了其他两种化合物。橙色表示该化合物需要审查, 红色表示该化合物未在所选样品中检测到。

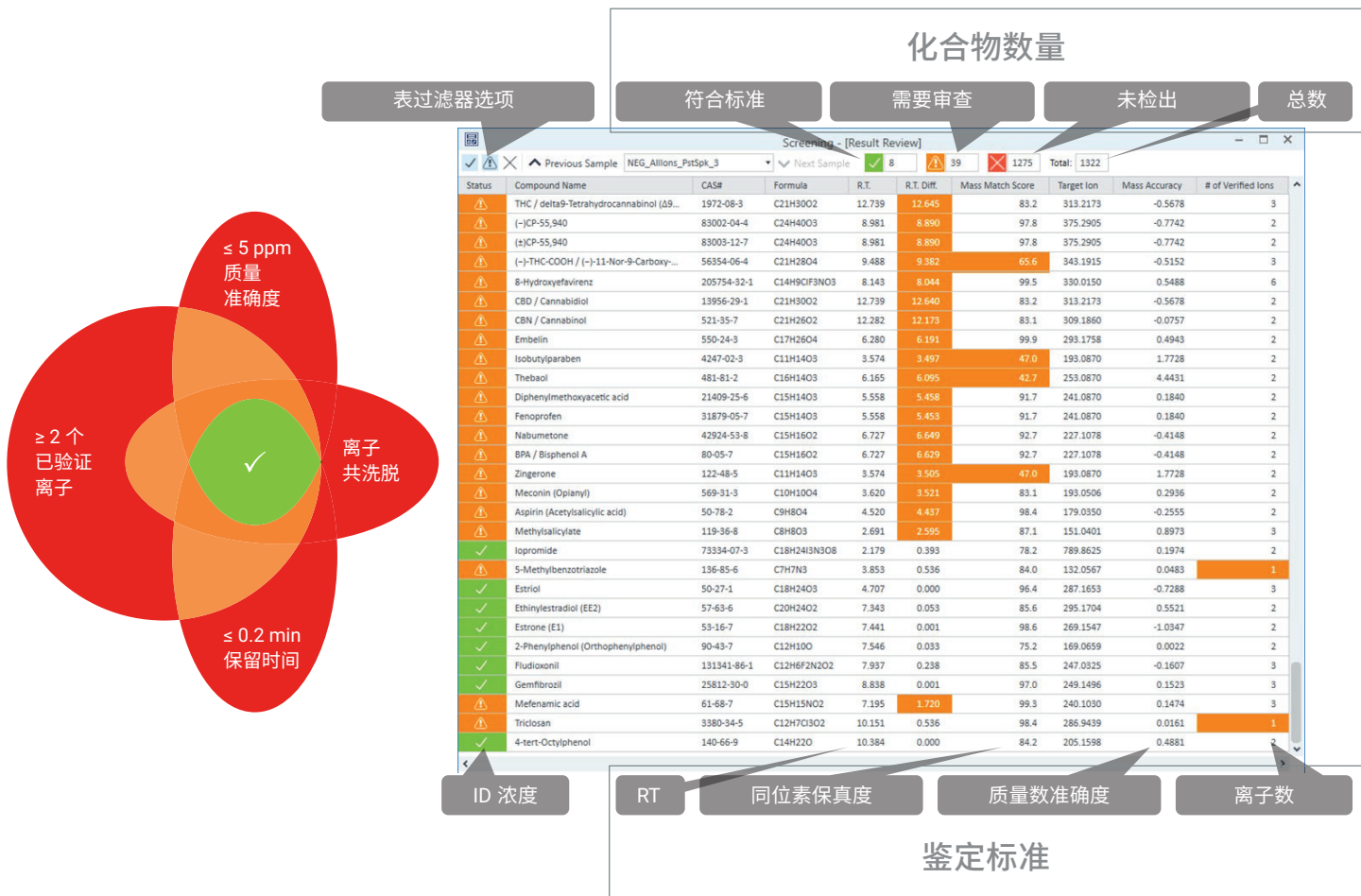


图 8. 显示推断鉴定可疑化合物所用标准的 LC Screener 工具

通过在污水污泥中检测加标的替代物来验证数据分析工作流程后，报告了加标化合物和其他推断鉴定的负离子化合物，截取

部分如图 9 所示。表 4 总结了负离子和正离子化合物的完整报告。

表 4. 经过验证、需要审查以及在加标的污水污泥样品中未检出的化合物汇总

电离模式	经过验证	需要审查	未检出
正离子	18	159	3998
负离子	8	47	1267

Screening Summary Report



Sample name:		NEG_AllIons_PstSpk_3		Good	8	Warning	47	Error	1267
Status	Screening Summary Report	Formula	R.T.	R.T. Diff.	Match Score	Target Ion	Mass Accuracy	# of Qualified Ions	Final Conc.
!	Xanthohumol	C21H22O5	9.411	9.310		353.1394	-0.61 PPM	3	
!	Lauryl hydrogen sulfate	C12H26O4S	8.249	8.144		265.1479	0.11 PPM	2	
!	Harmine	C13H12N2O	4.923	4.825		211.0877	-1.28 PPM	3	
!	THC / delta9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC)	C21H30O2	12.739	12.645		313.2173	-0.57 PPM	3	
!	(-)-CP-55,940	C24H40O3	8.981	8.890		375.2905	-0.77 PPM	2	
!	(±)CP-55,940	C24H40O3	8.981	8.890		375.2905	-0.77 PPM	2	
!	(-)-THC-COOH / (-)-11-Nor-9-Carboxy-tetrahydrocannabinol	C21H28O4	9.488	9.382		343.1915	-0.52 PPM	3	
!	4-Methylphenol (p-Cresol)	C7H8O	7.370	7.290		107.0502	7.94 PPM	2	
!	Fenofibric acid	C17H15ClO4	5.606	5.498		317.0586	-1.73 PPM	2	
!	Bisphenol E	C14H14O2	4.634	4.532		213.0921	0.19 PPM	2	
!	BPS / Bisphenol S	C12H10O4S	4.522	4.415		249.0227	0.02 PPM	4	
!	Silibinin	C25H22O10	5.707	5.610		481.1140	-1.58 PPM	3	
!	Losartan	C22H23ClN6O	5.482	5.379		421.1549	-0.12 PPM	2	
!	Veratramine	C27H39NO2	14.185	14.087		408.2908	-0.96 PPM	2	
!	BKF (Cyanox 2246) (2,2'-methylene-bis(6-tert-butyl-4-methylphenol))	C23H32O2	12.898	12.796		339.2330	0.43 PPM	2	
!	Curcumin	C21H20O6	8.113	8.011		367.1187	0.45 PPM	2	
!	Iloprost	C22H32O4	6.119	6.037		359.2228	-0.23 PPM	2	
!	Phenylpyruvic acid	C9H8O3	1.530	1.424		163.0401	1.24 PPM	3	
!	THC-COOH / 11-Nor-9-Carboxy-tetrahydrocannabinol	C21H28O4	9.488	9.382		343.1915	-0.52 PPM	3	
!	8-Hydroxyefavirenz	C14H9ClF3NO3	8.143	8.044		330.0150	0.55 PPM	6	
!	CBD / Cannabidiol	C21H30O2	12.739	12.640		313.2173	-0.57 PPM	2	
!	CBN / Cannabinol	C21H26O2	12.282	12.173		309.1860	-0.08 PPM	2	
!	Embelin	C17H26O4	6.280	6.191		293.1758	0.49 PPM	2	
!	Isobutylparaben	C11H14O3	3.574	3.497		193.0870	1.77 PPM	2	
!	Thebaol	C16H14O3	6.165	6.095		253.0870	4.44 PPM	2	
!	Diphenylmethoxyacetic acid	C15H14O3	5.558	5.458		241.0870	0.18 PPM	2	
!	Fenopropfen	C15H14O3	5.558	5.453		241.0870	0.18 PPM	2	
!	Nabumetone	C15H16O2	6.727	6.649		227.1078	-0.41 PPM	2	
!	BPA / Bisphenol A	C15H16O2	6.727	6.629		227.1078	-0.41 PPM	2	
!	Zingerone	C11H14O3	3.574	3.505		193.0870	1.77 PPM	2	
!	Meconin (Opianyl)	C10H10O4	3.620	3.521		193.0506	0.29 PPM	2	
!	Aspirin (Acetylsalicylic acid)	C9H8O4	4.520	4.437		179.0350	-0.26 PPM	2	
!	Caffeic acid	C9H8O4	4.520	4.425		179.0350	-0.26 PPM	2	
!	Phenacetamide	C9H10N2O2	3.982	3.906		177.0670	0.79 PPM	2	
!	2-Phenylphenol	C12H10O	7.546	7.478		169.0659	0.00 PPM	2	
!	Homogentisic acid	C8H8O4	3.471	3.348		167.0350	-0.37 PPM	2	
!	Methylsalicylate	C8H8O3	2.691	2.595		151.0401	0.90 PPM	3	
!	Iopromide	C18H24I3N3O8	2.179	0.393		789.8625	0.20 PPM	2	
!	Primidone	C12H14N2O2	4.406	0.717		217.0983	4.33 PPM	1	
!	5-Methylbenzotriazole	C7H7N3	3.853	0.536		132.0567	0.05 PPM	1	
!	Estriol	C18H24O3	4.707	0.000		287.1653	-0.73 PPM	3	225.9218
!	Oxazepam	C15H11ClN2O2	6.267	0.261		285.0436	-1.38 PPM	1	
!	Isooroturon	C12H18N2O	6.942	0.186		205.1346	-0.42 PPM	1	
!	Diuron	C9H10Cl2N2O	6.517	0.250		231.0097	1.20 PPM	1	
!	Naproxen	C14H14O3	6.835	0.390		229.0870	0.92 PPM	1	
!	Butyl 4-hydroxybenzoate (Butylparaben)	C11H14O3	6.913	0.463		193.0870	1.19 PPM	1	
!	Ethinylestradiol (EE2)	C20H24O2	7.343	0.053		295.1704	0.55 PPM	2	166.2993
!	Estrone (E1)	C18H22O2	7.441	0.001		269.1547	-1.03 PPM	2	163.2462
!	2-Phenylphenol (Orthophenylphenol)	C12H10O	7.546	0.033		169.0659	0.00 PPM	2	215.1786
!	Fludioxonil	C12H6F2N2O2	7.937	0.238		247.0325	-0.16 PPM	3	
!	Gemfibrozil	C15H22O3	8.838	0.001		249.1496	0.15 PPM	3	382.1097
!	Mefenamic acid	C15H15NO2	7.195	1.720		240.1030	0.15 PPM	3	
!	Triclosan	C12H7Cl3O2	10.151	0.536		286.9439	0.02 PPM	1	
!	Fipronil	C12H4Cl2F6N4O5	9.522	0.102		434.9314	-2.36 PPM	1	
!	4-tert-Octylphenol	C14H22O	10.384	0.000		205.1598	0.49 PPM	2	413.4864

图 9. 在负离子模式下检测加标目标化合物的污水污泥进行推断鉴定的化合物

结论

本工作流程能够定量分析加标至污水样品中的目标化合物。由于 6546 LC/Q-TOF 系统的分辨率和动态范围提升，在 PCDL 的 4856 种筛查化合物中，8 种化合物经验证在负离子模式下具有高可信度，18 种化合物在正离子模式下具有高可信度。159 种正离子化合物和 47 种负离子化合物需要验证 RT 或审查谱图。许多需要验证的化

合物与使用大麻有关，这在采样地点是合法的。有些化合物（如黄腐酚）在正负离子模式下均具有优化的谱图，因此在正负离子模式下均能检测到，进一步提高了其鉴定可信度。还检测到保留时间与预期一致的化合物，如噻菌灵。通过使用保留时间预测和新毒物进一步优化我们的 PCDL，用户可以回顾性地不断发现可疑污染物。预测或预计更多 RT 可能会进一步减少需

要审查的化合物数量，但该工作流程确实排除了大量不太可能符合 SANTE 可疑物鉴定标准的化合物，从而减少了审查工作量。

随着环境毒物列表不断增加，非靶向分析提高了传统 LC-TQ 技术的价值，提供了监测新化合物的能力（甚至进行回顾性监测），同时对定量分析能力基本没有影响。

参考文献

1. Black, G. P.; Anumol, T.; Young, T. M.;
Analyzing a broader spectrum
of endocrine active organic
contaminants in sewage sludge
with High Resolution LC-QTOF-MS
suspect screening and QSAR toxicity
prediction (In preparation)
2. European Commission, Directorate
General for Health and Food
Safety. SANTE/11813/2017.21–22
November **2017** rev.0
3. Agilent SureMass 技术概述,
安捷伦科技公司技术概述, 出版号
5991-8048CHCN, **2017**
4. Rennie, E. E. 等人, 安捷伦科技公司,
出版号 5991-8580ZHCN, **2017**
5. Berset, J. D.; Rennie, E. E.; Glauner, T.
安捷伦科技公司, 出版号
5991-6627CHCN, **2016**

使用高分辨率 GC/Q-TOF 对地表水中的环境污染物进行全面分析

作者

Sofia Nieto 和 Kai Chen
安捷伦科技有限公司

Chris Alaimo 和
Thomas Young
加利福尼亚大学戴维斯分校土木与环境工程系，
美国加利福尼亚州

摘要

地表水中环境污染物的监测是一项极具挑战性的任务，因为污染物的数量众多，它们与环境的相关性不断变化，并且低浓度下的毒性化合物（例如，拟除虫菊酯和一些有机磷农药）需要采用具有低检测限的方法来进行检测^[1]。使用精确质量高分辨率质谱 (HRMS) 技术表征样品中的已知和未知污染物的方法越来越受欢迎。然而，一些环境污染物分子量低，具有挥发性或为非极性，这使得它们更适合通过 GC 而不是 LC 进行分析。

因此，为实现高灵敏度并扩大分析范围，我们采用了一种全面的工作流程，包括基于高分辨率精确质量 GC/Q-TOF 的靶向定量分析、疑似物筛查以及非靶向方法对水样中的环境污染物进行了筛查。

前言

有机微量污染物的研究是环境质量评估的一个重要方面。此监测的传统方法涉及使用质谱法分析确定数量的目标化合物，此时仪器在选定的数据采集模式下运行以分析目标分析物。然而有证据表明，与更全面的非靶向筛查相比，这种方法可能大大低估了污染物的暴露和风险。

近年来，质谱技术的不断发展使其分析范围也逐渐扩大，在全谱采集模式下运行高分辨率精确质量仪器不再受灵敏度或选择性的限制。精确质量信息可提供更多详细信息，从而实现目标和非目标组分的测定。

这些信息丰富的数据所带来的挑战之一是，要确定哪些样品需要进行更详细的研究。本应用简报提供了一种工作流程，采用精确质量高分辨率 GC/Q-TOF 分析目标样品中的环境污染物。本研究也可为未知化合物的鉴定提供指导。

实验部分

样品前处理

在位于北加利福尼亚萨克拉曼多-圣华金河三角洲的 Cache Slough Complex 的多个地点进行采样。预测点源微量污染物和面源污染物的主要来源是通过 Ulatis 河。所有样品在运输过程中均冷藏，并在提取之前于 4 °C 避光保存。

通过 GF/F 过滤器对 1 L 地表水进行提取。让滤液通过聚合物固相萃取 (SPE) 小柱。干燥 1 小时后，用 10 mL 乙酸乙酯对小柱进行洗脱。使用己烷/丙酮对过滤器进行萃取，然后用乙酸乙酯进行部分溶剂交换。

数据采集与预处理

在配置有柱中反吹（图 1，用于减少离子源污染，缩短运行时间以及减少交叉污染）的 Agilent 7890B 气相色谱仪上进行样品分离后，使用高分辨率 Agilent 7250 GC/Q-TOF 系统进行数据采集。在 20 分钟法中，将甲基毒死蜱的保留时间锁定 (RTL) 至 9.143 分钟，以确保 RT 与农药和环境污染物的 GC/Q-TOF 精确质量谱库一致。表 1 描述了 GC/Q-TOF 参数。

将采集的数据文件转换为 SureMass 格式^[2]，用于所有下游数据处理。

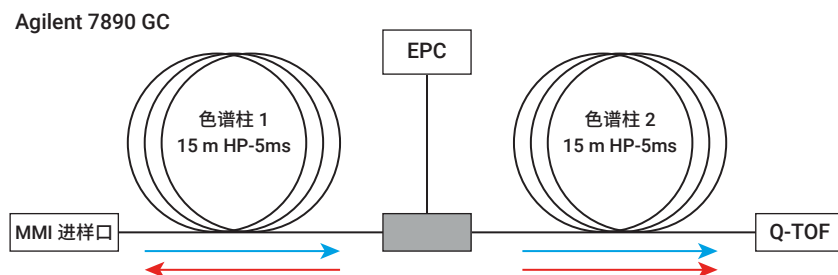


图 1. 柱中反吹配置。红色箭头表示运行结束时反吹过程中的氮气流路。吹扫两三通接头处的压力升高，而进样口压力降低。这使得第一根色谱柱中的气流反向，使高沸点化合物通过分流出出口排出

疑似物筛查和非靶向筛查工作流程

使用结合了靶向定量分析和疑似物筛查的工作流程来鉴定水和过滤器提取物中的污染物（图 2）。在此一体化工作流程中采用了 Agilent MassHunter 定量分析软件 10.1 中的 GC/Q-TOF 筛查功能。疑似物筛查基于安捷伦农药和环境污染物 GC/Q-TOF 精确质量个人化合物数据库与谱库 (PCDL)，其中包含 1000 多种化合物的 RT 和谱图。筛查方法使用从每个 PCDL 谱图中自动选择的最具特异性的精确质量离子。根据 SANTE 和 FDA 指南^[3,4] 选择筛查方法参数，例如谱库匹配得分、RT 窗口、共流出得分和质量数误差等。

为鉴定 PCDL 范围之外的污染物，采用 MassHunter 定量分析软件 10.1 提供的 Agilent MassHunter 未知物分析软件进行了色谱解卷积和 NIST17.L 谱库搜索。然后使用未知物分析软件的 ExactMass 工具，根据单位质量 NIST17 谱库匹配，对解卷积精确质量 GC/Q-TOF 谱图进行碎片分子式标注。此步骤有助于根据精确质量偏差消除假阳性匹配。

表 1. GC/Q-TOF 采集参数

GC	Agilent 7890B 气相色谱仪
惰性流路配置	柱中反吹
色谱柱	2 根 Agilent J&W HP-5ms 超高惰性柱, 15 m, 0.25 mm 内径, 0.25 μm 膜厚
进样口	MMI, 4 mm UI 单锥衬管, 带玻璃毛
进样量	1 μL
进样模式	冷不分流
进样升温程序	60 °C 保持 0.2 分钟
	以 600 °C/min 升至 300 °C, 保持
	330 °C, 后运行
进样口流速 (色谱柱 1)	1.0 mL/min (甲基毒死蜱锁定在 9.143 min 处)
PUU 流速 (色谱柱 2)	色谱柱 1 流速 + 0.2 mL/min
柱温箱升温程序	60 °C (保持 1 分钟)
	再以 40 °C/min 升至 170 °C,
	然后以 10 °C/min 升至 310 °C (保持 3 分钟)
运行时间	20.75 分钟
传输线温度	280 °C
柱中反吹	
时间	后运行期间持续 5 分钟
柱温箱温度	310 °C
辅助 EPC 压力	约 50 psi
进样口压力	约 2 psi
MS	Agilent 7250 Q-TOF
离子源温度	280 °C
四极杆温度	150 °C
碰撞池气体流速	1 mL/min N ₂
	4 mL/min He
电子能量	70 eV (标准 EI)
	15 eV (低能量 EI)
采集质量数范围	m/z 45–550
谱图采集速率	5 张谱图/秒



图 2. 污染物筛查工作流程，结合了使用 GC/Q-TOF PCDL 的靶向和疑似物筛查方法以及使用 NIST 谱库且随后进行未知物结构解析的非靶向筛查

未知物鉴定

未知物鉴定的第一步是找到分子离子的 m/z 。为鉴定未知物软电离的分子离子，采用了 GC/Q-TOF 的低电子能量模式。确认了分子离子后，将初步鉴定的分子离子 m/z 作为母离子，在靶向 MS/MS 模式下生成未知物的精确质量产物离子谱图。然后将 MS/MS 数据导入分子结构关联 (MSC) 软件，帮助进行结构解析。

结果与讨论

疑似物筛查结果

使用 GC/Q-TOF 筛查工作流程和 GC/Q-TOF PCDL 对每个水提取物（采集于雨后第三天）中的大量（超过 100 种）农药和环境污染物进行了鉴定和确认。部分用于化合物验证的标准为： $< 5 \text{ ppm}$ 的精确质量、谱库匹配和共流出得分均 > 70 且 $S/N > 3$ 。

图 3 为 GC/Q-TOF 筛查（上图）和定量结果（下图）窗口的示例。对筛查结果表进行设置，使其仅显示经验证的化合物（标记为绿色）和初步鉴定的化合物（标记为橙色）。初步鉴定的化合物（在当前视图中不可见）是指不满足一个或多个标准（例如，RT 差值），但仍然可能为真正匹配的化合物。需要手动审查这些初步匹配的化合物以对其进行验证。筛查汇总表下方的两个镜像图分别显示了全谱或仅特定离子（由上图和下图图中显示的筛选器选择）的解卷积（蓝色，上）与 PCDL（绿色，下）化合物谱图。

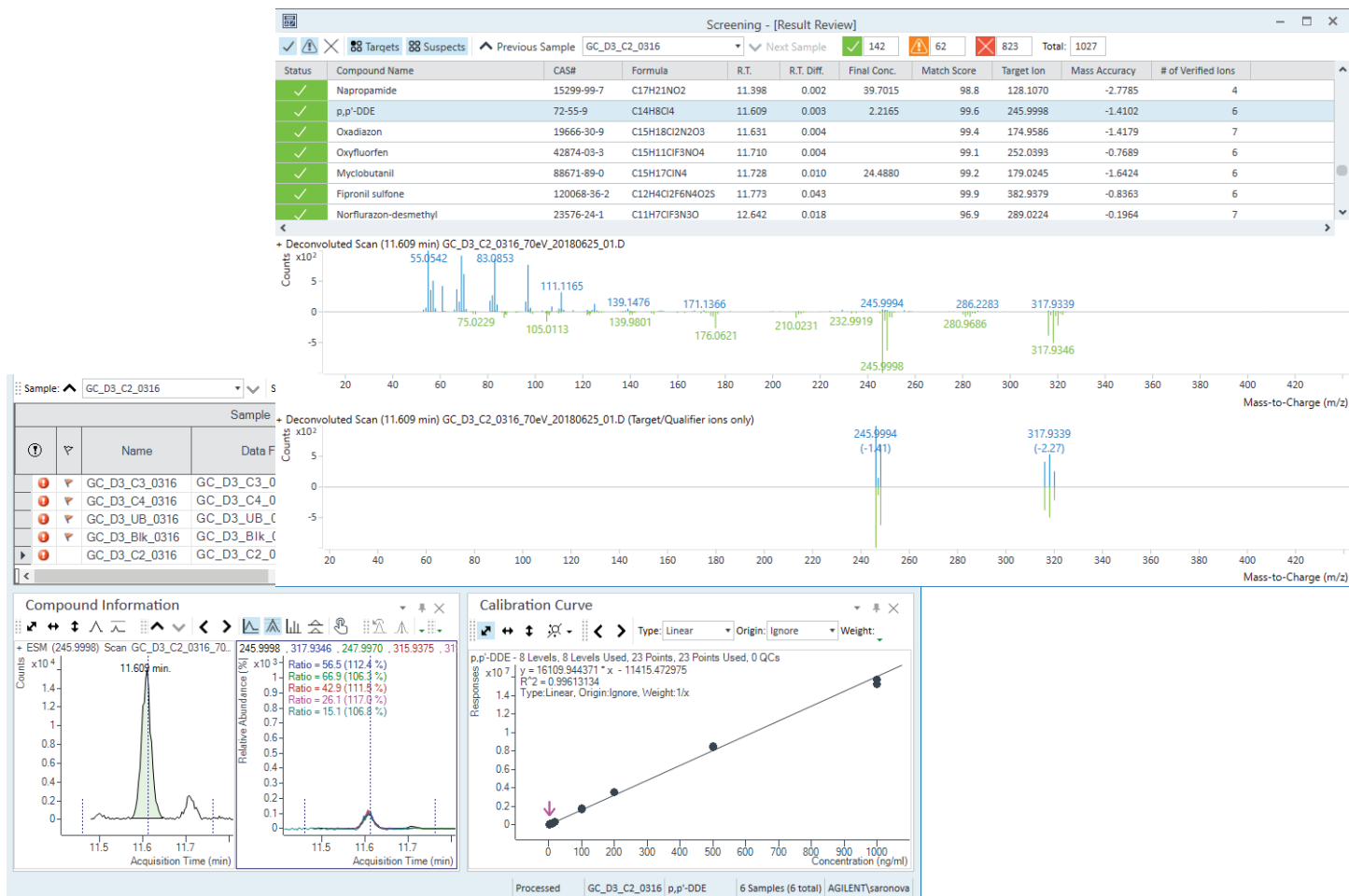


图 3. Agilent MassHunter 定量分析软件 10.1 中的疑似物筛查。筛查和定量结果窗口结合在一起，以简化审查过程

表 2 总结了本研究中最上游 (UB) 采样点的靶向定量分析和疑似物筛查结果。此列表不包括在空白提取物中同样鉴定出的污染物。鉴定出的污染物主要为除草剂 (36%)，其次为杀真菌剂 (25%) 和杀虫剂 (21%)，考虑到采样点临近农业开发区，因此这一结果并不奇怪 (图 4)。

表 2. UB 采样点的靶向和疑似物筛查结果汇总。报告含量为进样溶液中的浓度

化合物名称	碎片离子比得分	质量数误差 (ppm)	含量或疑似物 ID (ng/mL)
2,4,6-三溴苯甲醚	99.6	1.68	仅 ID
2-苯基苯酚	86.2	0.59	仅 ID
葱醌	93.7	2.35	仅 ID
莠去津	98.5	0.77	6.5
脱乙基莠去津	90.1	3.41	仅 ID
脱异丙基莠去津	94.4	2.42	仅 ID
啉菌酯	99.9	0.89	95.1
BAM/二氯苯甲酰胺	84.3	0.57	仅 ID
啶酰菌胺	99.8	0.03	仅 ID
除草定	99.4	0.53	116.5
香芹酮	86.6	3.5	仅 ID
氯虫苯甲酰胺	96.1	0.59	304.6
地茂散	96.1	0.57	仅 ID
百菌清	99.9	0.83	7.3
蝇毒磷	88.4	0.47	仅 ID
啉菌环胺	99.7	1.53	仅 ID
DCPA/氯酞酸二甲酯	99.4	2.06	仅 ID
避蚊胺 (DEET)	99.7	1.47	仅 ID
二嗪农 (敌匹硫磷)	86.5	0.86	265
二嗪磷氧同系物	99.5	0.21	仅 ID
敌草腈	98.1	1.24	仅 ID
苯醚甲环唑 (I)	95.7	1.32	26.1
甲酚噻草胺-P	99	1.11	仅 ID
乐果	98.6	2.03	1048.1
麦草畏甲酯	67.9	2.44	仅 ID
氟硫草定	99.8	1.38	仅 ID
敌草隆代谢物 [3,4-二氯苯基异氰酸酯]	100	0.64	仅 ID
腈苯唑	92.8	0.64	仅 ID
氟虫腈	91.9	1.26	仅 ID
氟虫腈亚砷	99.6	0.27	仅 ID
氟虫腈砷	99.9	0.06	仅 ID
氟啶虫酰胺	89.1	0.73	仅 ID
丙炔氟草胺	96.6	0.26	仅 ID
氟吡菌酰胺	99.1	1.11	仅 ID
氟啶草酮	96.1	1.43	仅 ID
氟啉醇	92.6	2.3	仅 ID
氟酰胺	78.5	0.34	仅 ID
氟唑菌酰胺	99.3	0.9	仅 ID
四氯苯酞	84.9	1.22	仅 ID
环嗪酮	84.4	1.89	仅 ID
茚虫威	71.6	1.5	37.9
异丙二酮 (异菌脲)	99.4	0.78	仅 ID

化合物名称	碎片离子比得分	质量数误差 (ppm)	含量或仅疑似物 ID (ng/mL)
异恶酰草胺	88.1	1.46	仅 ID
马拉硫磷	94.5	0.98	7.9
甲霜灵	90.4	0.59	11.6
异丙甲草胺	99.1	0.21	178
噻草酮	97.4	2.98	仅 ID
腈菌唑	99.5	1.22	10
N-(2,4-二甲苯基)甲酰胺	80.9	3.27	仅 ID
敌草胺	90.7	0.47	11.5
三氯甲基吡啶	72.2	2.84	仅 ID
氟草敏	96.3	0.98	仅 ID
脱甲基氟草敏	94.7	0.75	仅 ID
辛噻酮	94.3	1.06	仅 ID
氧化乐果	98.5	0.19	31.8
氨磺乐灵	99.8	0.35	仅 ID
恶草酮	99.9	0.78	仅 ID
乙氧氟草醚	99.2	0.27	仅 ID
<i>p,p'</i> -DDE	99.8	1.41	1.9
PCP/五氯酚	72.8	1.35	3.1
二甲戊乐灵 (Penoxalin)	99.8	0.54	仅 ID
五氯苯甲醚	89.8	0.09	仅 ID
菲	99.5	1.76	仅 ID
吩噻嗪	87.5	1.43	仅 ID
亚胺硫磷 (Imidan)	80.6	1.79	仅 ID
苯酞	94.5	2.81	仅 ID
氨氟乐灵	99.9	0.31	仅 ID
扑灭通	90.1	1.04	仅 ID
丙环唑 (I)	99.3	1.13	仅 ID
丙环唑 (II)	99.4	0.42	仅 ID
戊炔草胺 (拿草特)	80.1	1.07	2.2
唑菌胺酯	93.8	0.71	仅 ID
啞霉胺	88.6	2.26	仅 ID
西玛津	99.8	0.27	仅 ID
甲磺草胺	99.9	0.32	仅 ID
戊唑醇 (I)	91.4	1.03	仅 ID
丁噻隆	90.4	0.89	仅 ID
氟醚唑	84.3	1.74	仅 ID
敌稻瘟	86.5	3.98	仅 ID
噻虫嗪	97.1	1.24	34.1
三氯生	95.7	1.15	仅 ID
肟菌酯	87	1.27	仅 ID
氟乐灵	95.8	2.22	仅 ID
磷酸三(2-丁氧基乙基)酯	96	2.02	仅 ID
磷酸三(3-氯丙基)酯	98.6	2.63	仅 ID
磷酸三(2-氯丙基)酯	99.1	0.9	仅 ID

除水样外，还对过滤器填料颗粒进行了萃取。大多数污染物存在于水提取物中，但也有少量污染物存在于过滤器提取物中（图 5）。有趣的是，一些拟除虫菊酯和 PAH 仅在过滤器提取物中鉴定出。它们对过滤器填料颗粒的强亲和性可以通过其强疏水性来解释。

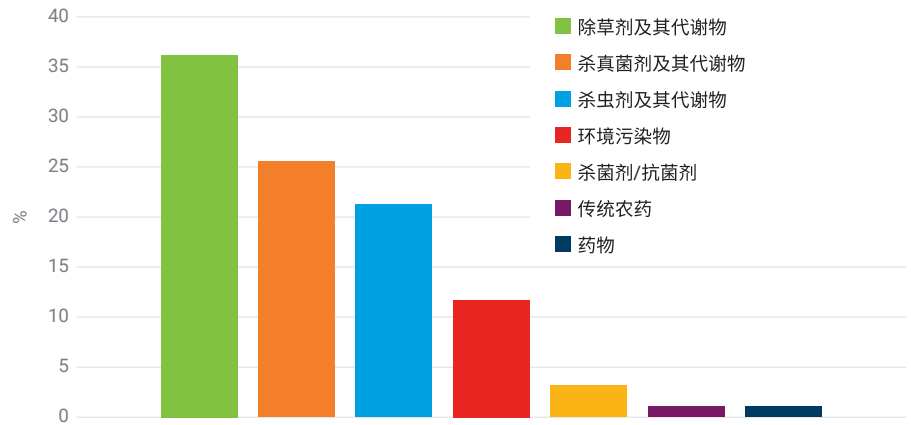
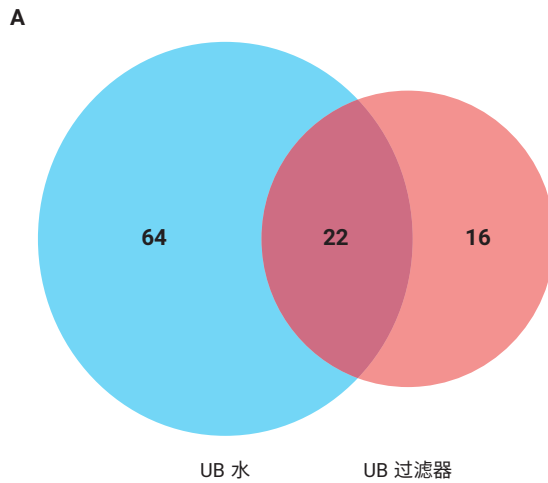


图 4. 通过 GC/Q-TOF 筛查工作流程和 PCDL 鉴定出的 UB 采样点的污染物分布



- B
- 仅在 UB 过滤器提取物中鉴定出的化合物：**
- | | |
|-----------|---------------|
| 二苯胺 (DFA) | 联苯菊酯 |
| 六氯苯 | 萘 |
| 五氯苯胺 | 顺式氯菊酯 |
| 茺萘 | 反式氯菊酯 |
| 茺 | 苯并[b]茺萘 |
| 反式九氯 | 苯并[a]茺 |
| p,p'-DDD | 邻苯二甲酸二壬酯 |
| 邻苯二甲酸二己酯 | 茺并[1,2,3-cd]茺 |

图 5. 来自 UB 采样点的水和过滤器提取物之间的污染物分布

对通过靶向和疑似物筛查方法在不同采样点的水提取物中鉴定出的污染物进行了比较。采用 PCDL 筛查方法在来自 C2 采样点的水提取物中鉴定出的污染物数量最多。在所有鉴定出的污染物中，约一半同时存在于 UB、C2 和 C4 采样点 (图 6A 和 6B)。还在 3D 区域图中绘制了在所有采样点中鉴定出的污染物的相对含量，以便更好地查看空间趋势 (图 7)。

非靶向筛查结果和初步匹配的验证

采用非靶向分析 (靶向和疑似物筛查的互补方法)，在水提取物中鉴定出了其他一些化合物。图 8 显示了通过未知物分析和 NIST17.L 谱库，在 UB 采样点的提取物中初步鉴定出的化合物示例。由于 NIST17.L 为单位质量谱库，因此在进行谱库匹配时不会自动考虑精确质量数据。

然而，当与 NIST 匹配的分子式相关联时，未知物分析软件可以根据精确质量信息帮助确认初步匹配的鉴定结果或使假阳性结果无效。此步骤使用未知物分析软件的 ExactMass 功能进行。如图 8 所示，每一个初步匹配中的大多数离子均可通过质量误差在 5 ppm 之内的一组匹配分子式得以解释。

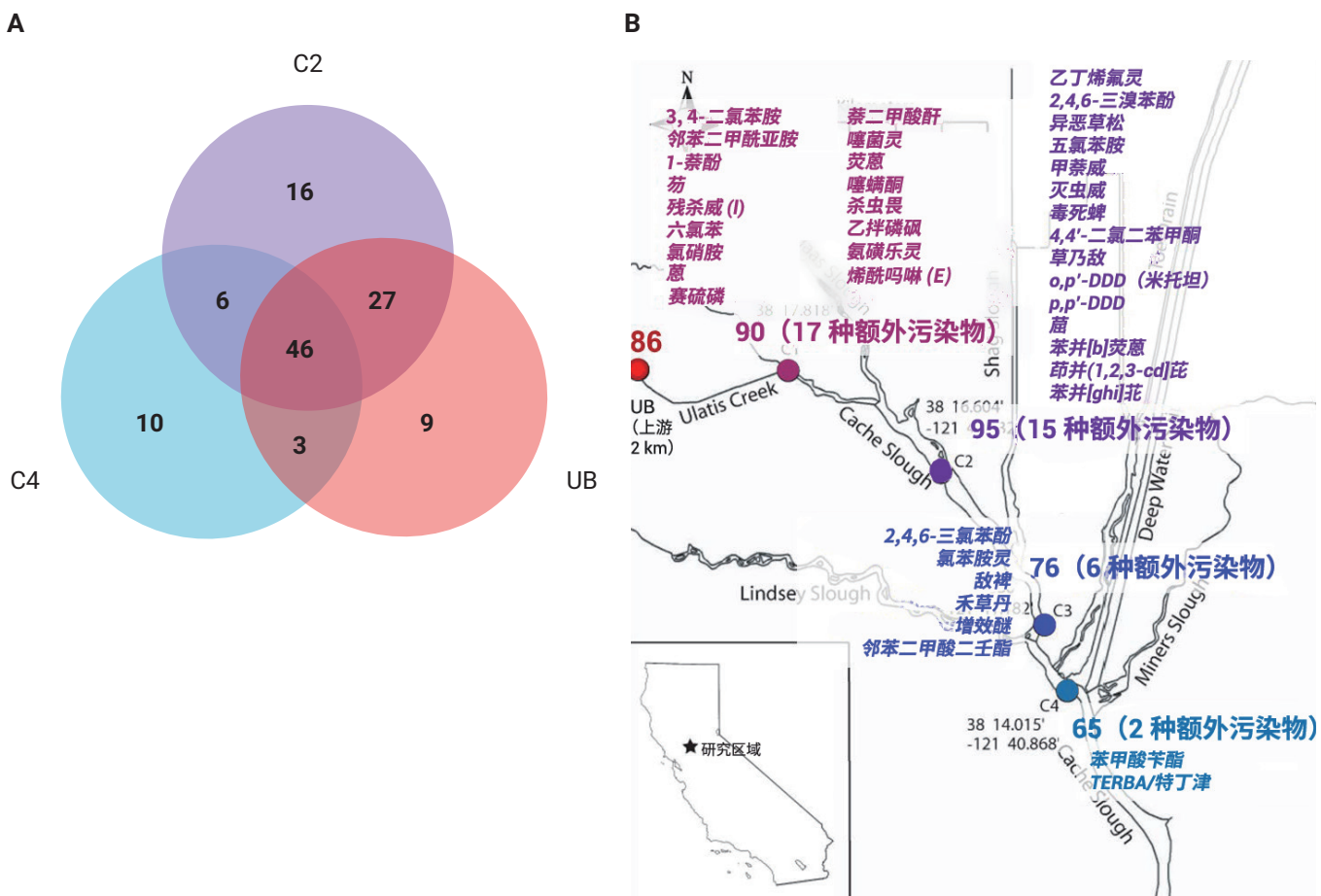


图 6. 污染物的地理分布。UB、C2 和 C4 采样点鉴定出的污染物的比较 (A)。采样地图显示了鉴定出的污染物数量以及每个采样点水流中增加的新污染物的数量 (B)

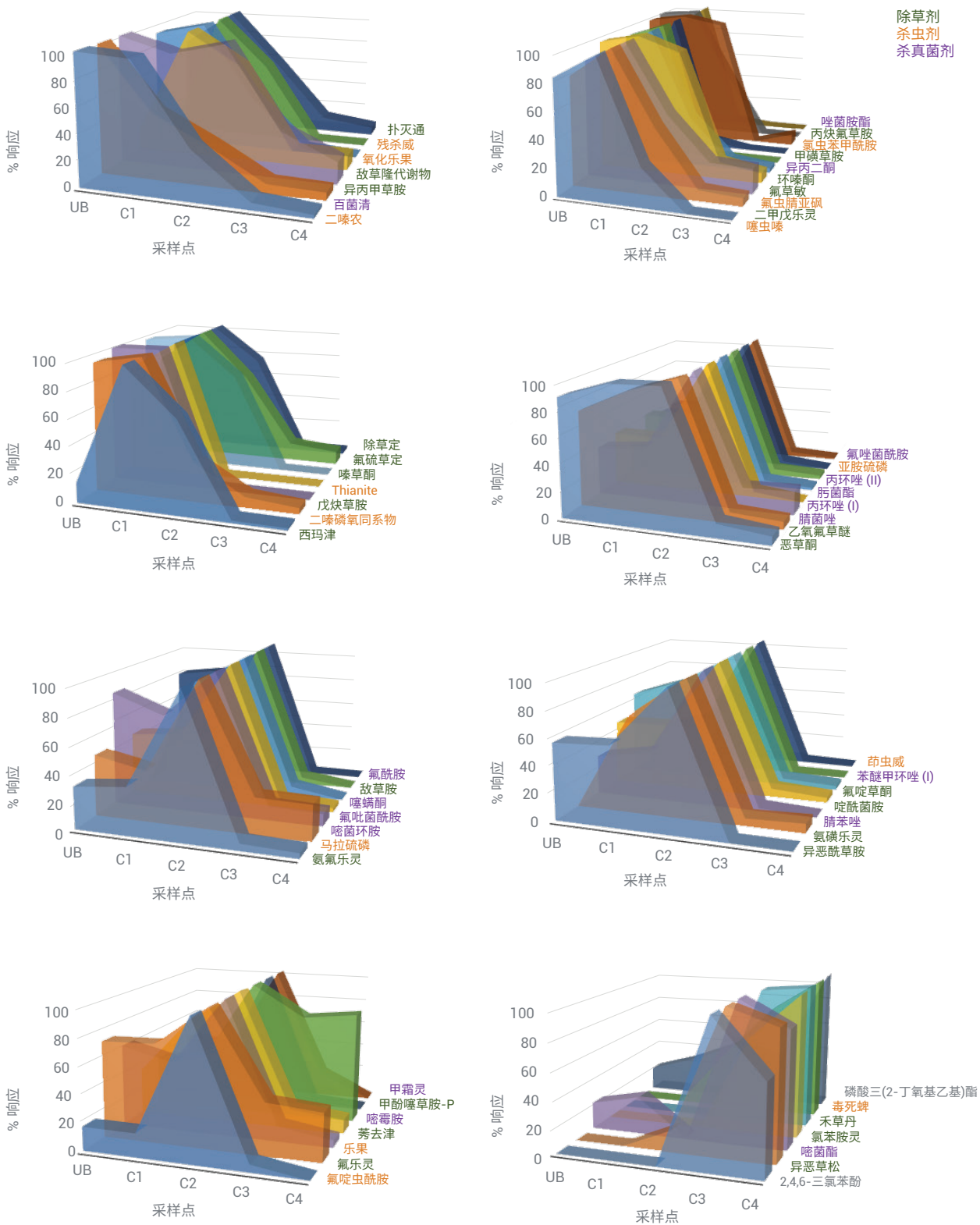
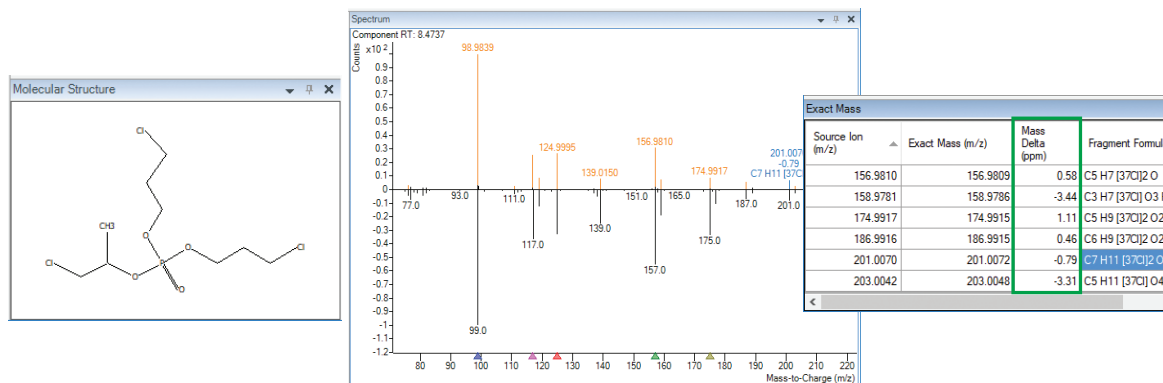
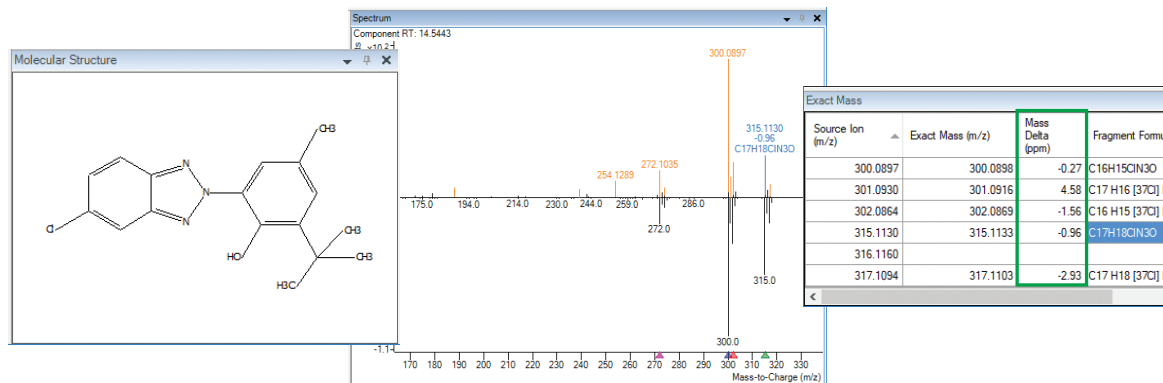


图 7. 所有采样点鉴定出的污染物的相对含量。根据化合物的地理分布情况对其进行分组

初步匹配：磷酸二(3-氯-2-丙基)(1-氯-2-丙基)酯 (C₉H₁₈Cl₃O₄P)



初步匹配：布美三唑 (C₂₇H₁₈ClN₃O)



初步匹配：甲氧沙林 (C₁₂H₈O₄)

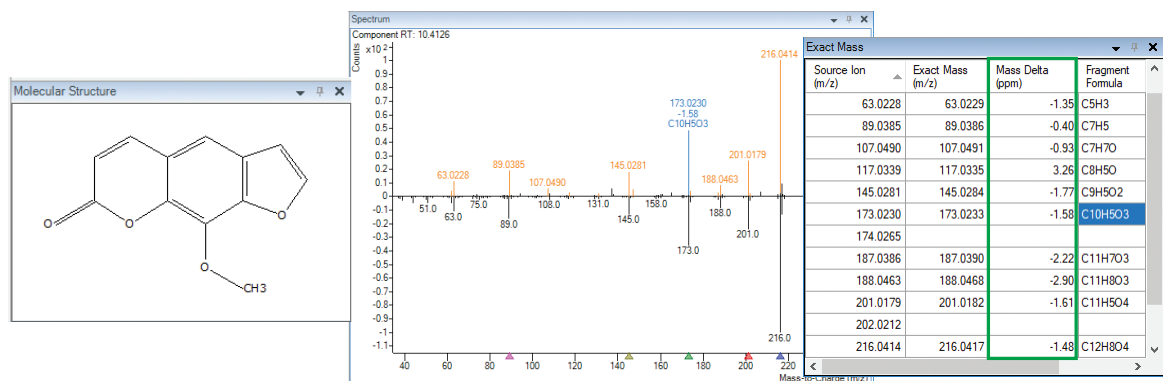


图 8. 使用 Agilent MassHunter 未知物分析软件和 NIST17.L 谱库初步鉴定出的 UB 采样点的污染物示例。解卷积谱图中碎片的低质量误差为确认匹配分子式提供了额外的依据

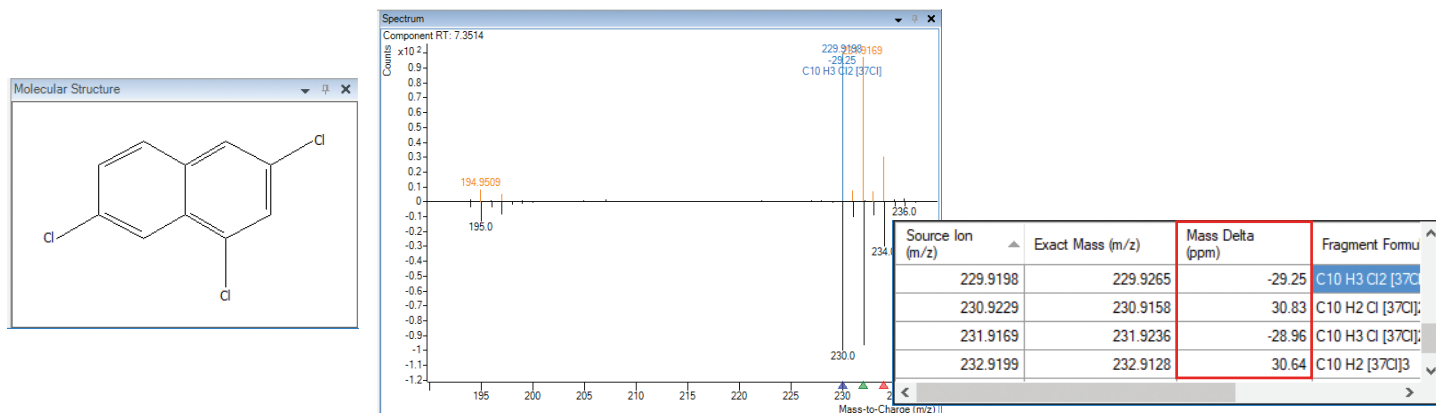
未知物鉴定

一些初步匹配结果由于质量误差较大而未得到确认，有待进一步研究。图 9 为此类情况的一个示例。经 NIST 谱库初步鉴定为 1,3,7-三氯萘（谱库匹配得分为

73.9）的一项匹配结果，在经 ExactMass 功能评估后，由于化合物谱图离子与理论离子（与该匹配结果的分子离子同位素簇相对应）之间存在较大的质量数差异（约 30 ppm）而被排除。

为鉴定该化合物，使用低电子能量 (15 eV) 确认了分子离子，并使用 MassHunter 定性分析软件的分子式生成 (MFG) 功能对初步分子离子的同位素簇进行了标注 (图 9B, 第 1 步)。接下来，将初步分子

A 初步 NIST17 匹配: 1,3,7-三氯萘 ($C_{10}H_5Cl_3$)



B 第 1 步: 确认 M+ → 第 2 步: 确认碎片离子 → 第 3 步: 候选物结构解析

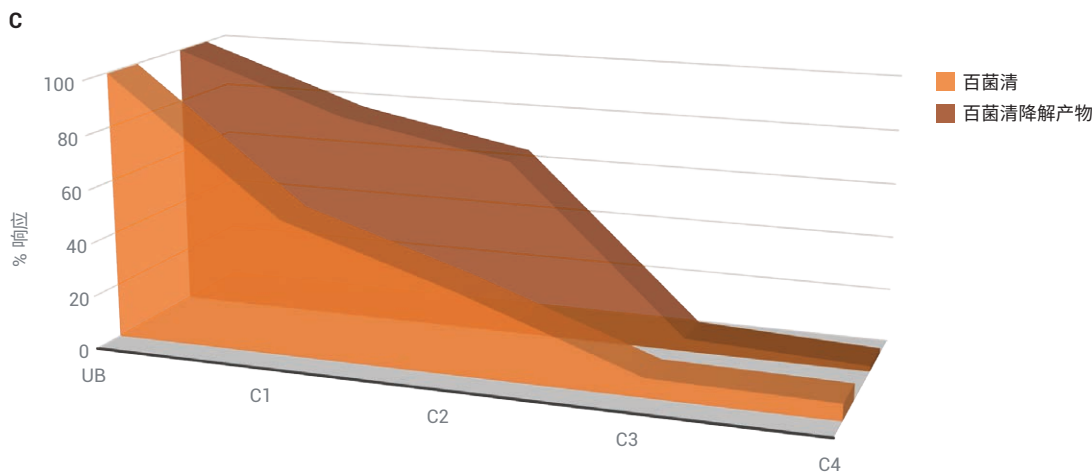
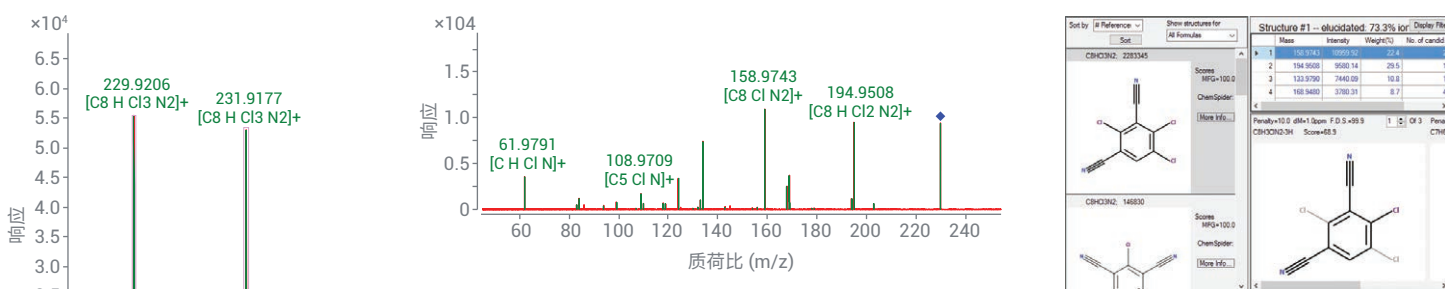


图 9. 一项初步匹配结果的鉴定确认和结构解析。明显的质量误差表明化合物鉴定错误 (A)。使用分子结构关联工具, 以精确质量产物离子谱图作为起始条件对化合物进行了鉴定 (B)。百草清及其降解产物 2,4,5-三氯间苯二甲腈在各采样点的分布 (C)

离子作为母离子进行了 MS/MS 分析 (图 9B, 第 2 步)。然后使用分子结构关联软件对 MS/MS 数据进行了处理, 以推测这种未知化合物的结构 (图 9B, 第 3 步)。根据大量的参考可知, 最可能的结构为 2,4,5-三氯间苯二甲腈 (百菌清的一种降解产物)。值得注意的是, 百菌清的分布特征与其降解产物极其相似 (图 9C)。

结论

使用包括靶向定量、基于 GC/Q-TOF 精确质量 PCDL 的疑似物筛查以及非靶向方法的全面工作流程, 在地表水样品中鉴定出了大量农药和其他环境污染物。

低能量 EI 和精确质量 MS/MS 有助于非靶向筛查的化合物鉴定和未知物的结构解析。其中一种未知物被初步鉴定为 2,4,5-三氯间苯二甲腈 (百菌清的一种降解产物)。

参考文献

1. Geissen, V.; *et al.* Emerging Pollutants in the Environment: A Challenge for Water Resource Management. *International Soil and Water Conservation Research* **2015**, *3(1)*, 57–65
2. Agilent SureMass, 安捷伦科技公司技术概述, 出版号 5991-8048CHCN, **2017**
3. SANTE/11945/2015. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed (**2015**)
4. Food and Drug Administration. Department of Health and Human Services. Memorandum: Acceptance Criteria for Confirmation of Identity of Chemical Residues using Exact Mass Data within the Office of Foods and Veterinary Medicine (**2015**)

应用气相色谱-四极杆飞行时间质谱分析氯化石蜡的新方法

作者

高伟, 吴静和王亚韡
中国科学院生态环境研究中心
环境化学与生态毒理学国家重点实验室
中国北京
王雯雯
安捷伦科技(中国)有限公司
中国北京

摘要

氯化石蜡 (CPs) 是一类大规模生产和应用的工业产品, 应用广泛。但是, 由于它们包含各种同族体和同分异构体, 是环境中组成最复杂的一类有机氯代污染物, 其分析方法面临极大挑战。本研究开发出一种针对短链 CPs (SCCPs) 和中链 CPs (MCCPs) 的分析方法, 该方法使用在负化学电离模式 (NCI) 下操作的气相色谱-四极杆飞行时间高分辨率质谱联用系统 (GC-NCI-Q-TOF-HRMS)。利用氯化度与 CPs 总响应因子之间的线性关系定量分析了 CPs 含量和同族体分布模式。实现一次进样, 定量分析了 24 种 SCCPs 同族体和 24 种 MCCPs 同族体。使用 TOF-HRMS 提取特征质量数, 可以实现对 SCCPs 和 MCCPs 的区分, 并有效避免其他化学物质 (例如 PCB) 引起的干扰。SCCPs 和 MCCPs 检测限分别为 24-81 ng/mL 和 27-170 ng/mL。将这些结果与气相色谱-低分辨率质谱联用系统在相同电离模式 (GC-NCI-LRMS) 下获得的结果进行比较, 表明所开发的技术是一种更准确、便捷的方法, 适用于不同环境基质样品中的 CPs。

前言

氯化石蜡 (CPs), 也称为多氯代正构烷烃, 几十年来一直广泛用于各种商业产品中^[1,2,3]。商品化 CPs 混合物可分为三类:

- 短链氯化石蜡 (SCCPs) C₁₀-C₁₃
- 中链氯化石蜡 (MCCPs) C₁₄-C₁₇
- 长链氯化石蜡 (LCCPs) C > 17

其中, SCCPs 因具有高毒性而备受关注^[2]; 但是, 由于 MCCPs 和 SCCPs 在环境中共存, 并且 MCCPs 可通过环境过程 (例如燃烧) 转化为 SCCPs, 因此 MCCPs 环境问题也引起了关注。

由于工业混合物的复杂性以及 CPs 不同同族体之间的互相干扰, 环境样品中 CPs 的准确定量一直是研究者所面临的挑战^[4]。目前, 文献报道已经开发出许多不同的方法来测定环境基质中的 SCCPs 和 MCCPs^[5-9]。但是, 不同的方法面临着一些挑战, 例如成本高, 以及具有相同名义质量的其他氯代污染物与 CPs 之间产生干扰的风险。此外, 还必须解决与 SCCPs 和 MCCPs 同族体之间的干扰, 并且应考虑碎裂模式造成的特征质量数重叠。考虑到这些挑战, 本应用简报介绍了一项已发表的关于新型分析方法开发的研究, 该方法基于 GC-NCI-Q-TOF-HRMS 系统, 能够在单次进样中同时分析 SCCPs 和 MCCPs^[10]。利用高分辨率 TOF 扫描模式直接定量分析 SCCPs, 并避免环境

样品中 MCCPs 可能产生的干扰。通过提取精确质量, 对 24 种不同的 SCCPs 同族体 (链长 C₁₀-C₁₃, 含有 5-10 个氯原子) 和 24 种 MCCPs 同族体 (链长 C₁₄-C₁₇, 含有 5-10 个氯原子) 进行了分析。此外, 还对低于 5 个氯原子和链长小于 10 的 CPs 进行了研究。使用开发的方法分析了一系列环境基质样品, 证明该方法是一种用于分析环境样品中 CPs 的更准确、便捷的方法。

实验部分

试剂和标准品

农药分析级溶剂购自 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)。溶于环己烷和 ε-六氯环己烷 (ε-HCH 的环己烷溶液, 10 ng/μL, 纯度 99.9%) 的 SCCPs 混合物 (100 ng/μL, C₁₀-C₁₃, 氯化度为 51%、55.5% 和 63%, 纯度 100%) 与 MCCPs 混合物 (100 ng/μL, C₁₄-C₁₇, 氯化度为 42%、52% 和 57%, 纯度 100%) 溶液购自 Dr. Ehrenstorfer GmbH (Augsburg, Germany)。1,5,5,6,6,10-六氯癸烷 (¹³C₁₀, 100 ng/μL, 溶于环己烷, 纯度 ≥ 98%) 和 1,5,5,6,6,10-六氯癸烷 (未标记, 100 ng/μL, 溶于环己烷, 纯度 ≥ 98%) 购自 Cambridge Isotope Laboratories (Andover, USA)。

仪器条件

气相色谱条件	
气相色谱系统	Agilent 7890B, 配备 CTC 自动进样器
色谱柱	Agilent HP-5MS UI, 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm (部件号 19091S-433 UI)
载气	氦气
柱温箱升温程序	100 °C 下保持 1 分钟, 以 5 °C/min 升至 160 °C 并保持 2 分钟, 以 30 °C/min 升至 310 °C 并保持 10 分钟
流速	1.0 mL/min
进样口温度	280 °C
进样量	2 μL
进样模式	不分流, 1.5 min 后开启吹扫
传输线温度	280 °C
Q-TOF MS 条件	
质谱系统	Agilent 7200 GC-Q-TOF-MS
电离模式	负化学电离 (NCI)
离子源温度	150 °C
四极杆温度	150 °C
质量数范围	50-600 m/z
谱图采集速率	5 Hz, 以棒状图和轮廓图两种模式采集
采集模式	4 GHz 高分辨率

样品前处理

为测试 NCI-TOF-HRMS 方法的性能，对几种环境基质样品中的 SCCPs 和 MCCPs 进行了分析。使用被动式空气采样器 (Xpress-Application Developer, XAD) 获取空气样品。工业 CPs 产品由制造商友情提供。食品样品购自几家知名的快餐店。样品前处理基于此前报道的方法^[11,12]，稍有修改。简言之，将冷冻干燥的样品 (1 g) 与硅藻土 (5 g) 混合，并加入 $^{13}\text{C}_{10}$ -1,5,5,6,6,10-六氯癸烷 (10 ng) 作为替代内标和定量内标，然后进行加速溶剂萃取 (ASE)。利用旋转蒸发法将提取物浓缩至约 1 mL。然后净化提取物，在 1.5 cm 硅胶-Florisil 复合色谱柱上进行分馏，该色谱柱填充有 Florisil (3 g)、中性硅胶 (2 g)、酸性硅胶 (5 g, 30%) 和无水硫酸钠 (4 g) (自下而上填充)。用正己烷 (50 mL) 对色谱柱进行老化，并用正己烷 (40 mL) 洗脱样品 (馏分 1 包含多氯联苯和毒杀芬)，然后用二氯甲烷 (50 mL) 和正己烷 (50 mL) 进行洗脱 (馏分 2 包含 CPs 和 HCH)。利用旋转蒸发法将第二馏分浓缩至约 2 mL，氮吹下进一步浓缩至接近干燥。然后将馏分复溶于环己烷 (200 μL) 中。加入 ϵ -HCH (10 ng) 作为进样内标以测定样品回收率，然后进行 MS 分析。环己烷用作仪器空白来监测仪器系统是否被污染。在空白进样后，未观察到 CPs。

结果与讨论

定量方法工作流程和自动积分程序

图 1 显示了基于氯化度与响应因子之间关系的定量方法的工作流程。

在 NCI-LRMS 方法中，传统上采用手动积分，与参比标样的峰形和保留时间进行比较。在 NCI-TOF-MS 方法中，观察到提取离子色谱 (EIC) 峰与标准品相当，因为高分辨率 MS 消除了基质干扰。利用 Agilent MassHunter 定量分析软件 B.07

进行自动积分。将 SCCPs 和 MCCPs 的精确质量以及定量和定性离子及其保留时间 (表 1) 添加到该方法中。构建新的批处理文件，并导入数据文件。积分结果可直接转移至客户自行创建的 excel 表中，以计算图 1 中列出的后续结果。基于响应因子和氯化度的线性关系的定量方法补偿了参比 CPs 混合物和实际样品之间响应因子的差异^[8]。图 2 显示了 MCCPs 和 SCCPs 的响应因子 (RF: 内标调节响应与 CPs 含量之比) 与计算出的氯化度 (%) 之间的线性关系。

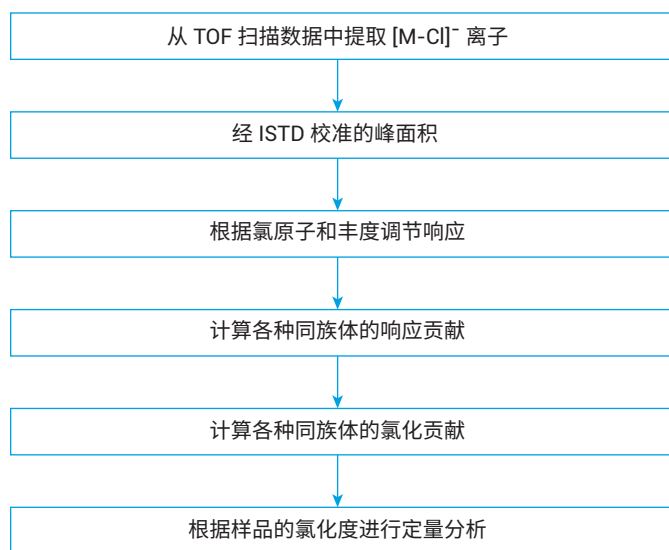


图 1. 用于 CPs 的定量方法工作流程。有关该定量方法的详细信息，请参见参考文献 10

表 1. 每种同族体的 SCCPs 和 MCCPs 的定量和定性 [M-Cl]⁻ 离子的精确质量, 平均分子量、保留时间和检测限 (下页续)

SCCPs 和 MCCPs 同族体 (n, z)	定量离子		定性离子		平均分子量	保留时间 (min)	LOD (ng/mL)
	m/z [M-Cl] ⁻	丰度	m/z [M-Cl] ⁻	丰度			
SCCPs							
C ₁₀ H ₁₇ Cl ₅	279.0006	37.60%	277.0009	29.40%	314.5	9.5-14	11.8
C ₁₀ H ₁₆ Cl ₆	312.9671	35.60%	314.9641	22.70%	349	11-13.5	7.5
C ₁₀ H ₁₅ Cl ₇	346.9281	32.30%	348.9251	25.90%	383.5	11.5-14	5.2
C ₁₀ H ₁₄ Cl ₈	380.8891	28.60%	382.8862	27.50%	418	12.5-14.5	4.78
C ₁₀ H ₁₄ Cl ₉	416.8472	27.80%	414.8501	24.80%	452.5	12.5-14.5	3.2
C ₁₀ H ₁₂ Cl ₁₀	450.8082	27.10%	448.8112	21.20%	487	11.5-16	1.1
C ₁₁ H ₁₅ Cl ₅	293.0217	37.20%	291.0246	29.10%	328.5	10-14	9.05
C ₁₁ H ₁₆ Cl ₆	326.9437	35.20%	328.9798	22.50%	363	11-14	6.5
C ₁₁ H ₁₇ Cl ₇	360.9437	32.00%	362.9408	25.60%	397.5	12-14.5	1.6
C ₁₁ H ₁₆ Cl ₈	394.9048	28.30%	396.9018	27.20%	432	12-14.5	0.75
C ₁₁ H ₁₅ Cl ₉	430.8628	27.50%	428.8658	24.50%	466.5	12.5-14.5	0.75
C ₁₁ H ₁₄ Cl ₁₀	464.8239	26.70%	462.8268	20.90%	501	13.5-15.5	0.75
C ₁₂ H ₂₀ Cl ₅	307.0373	36.80%	305.0403	28.70%	342.5	11-14	5.55
C ₁₂ H ₁₉ Cl ₆	340.9984	34.80%	342.9954	22.30%	377	11.5-14	5.15
C ₁₂ H ₁₈ Cl ₇	374.9594	31.70%	376.9564	25.30%	411.5	12.4-14.6	1.45
C ₁₂ H ₁₇ Cl ₈	408.9204	28.00%	410.9175	26.90%	446	12.5-15	1.2
C ₁₂ H ₁₆ Cl ₉	444.8785	27.10%	442.8814	24.20%	480.5	13-15	1
C ₁₂ H ₁₅ Cl ₁₀	478.8395	26.40%	476.8425	20.70%	515	13.5-16	1
C ₁₃ H ₂₂ Cl ₅	321.053	36.30%	319.0059	28.40%	356.5	11.5-14.5	10
C ₁₃ H ₂₁ Cl ₆	355.0123	34.40%	357.0111	22.00%	391	12.2-15	8.7
C ₁₃ H ₂₀ Cl ₇	388.975	31.30%	390.9721	25.00%	425.5	12.5-14.5	3.5
C ₁₃ H ₁₉ Cl ₈	422.9361	27.70%	424.9331	26.60%	460	13-15.5	2
C ₁₃ H ₁₈ Cl ₉	458.8941	26.80%	456.8971	24.00%	494.5	12.5-17	2
C ₁₃ H ₁₇ Cl ₁₀	492.8552	26.10%	490.8581	20.40%	529	14-17	1.75

表 1. 每种同族体的 SCCPs 和 MCCPs 的定量和定性 [M-Cl]⁻ 离子的精确质量, 平均分子量、保留时间和检测限

SCCPs 和 MCCPs 同族体 (n, z)	定量离子		定性离子		平均分子量	保留时间 (min)	LOD (ng/mL)
	m/z [M-Cl] ⁻	丰度	m/z [M-Cl] ⁻	丰度			
MCCPs							
C ₁₄ H ₂₅ Cl ₅	335.0686	37.60%	333.0716	29.40%	370.5	12.2-14.2	9.3
C ₁₄ H ₂₄ Cl ₆	369.0697	35.60%	371.0267	22.70%	405	12.4-14.6	2.6
C ₁₄ H ₂₃ Cl ₇	402.9907	32.30%	404.9877	25.90%	439.5	12.8-15.2	5.5
C ₁₄ H ₂₂ Cl ₈	436.9517	28.60%	438.9488	27.50%	474	13.6-15.8	7.5
C ₁₄ H ₂₁ Cl ₉	472.9098	27.80%	470.9127	24.80%	508.5	14-16.8	3.5
C ₁₄ H ₂₀ Cl ₁₀	506.8708	27.10%	504.8738	21.20%	543	15-18	3.1
C ₁₅ H ₂₇ Cl ₅	349.0843	37.20%	347.0872	29.10%	384.5	12.2-14.4	7.7
C ₁₅ H ₂₆ Cl ₆	383.0453	35.20%	385.0424	22.50%	419	12.5-15.5	10
C ₁₅ H ₂₅ Cl ₇	417.0063	32.00%	419.0034	25.60%	453.5	13.8-15.2	38
C ₁₅ H ₂₄ Cl ₈	450.9674	28.30%	452.9644	27.20%	488	13.5-16.8	5.6
C ₁₅ H ₂₃ Cl ₉	486.9254	27.50%	484.9284	24.50%	522.5	14.6-18	4.6
C ₁₅ H ₂₂ Cl ₁₀	520.8865	26.70%	518.8894	20.90%	557	15.5-19.5	2.1
C ₁₆ H ₂₉ Cl ₅	363.0999	36.80%	361.1029	28.70%	398.5	12.5-15.5	9.6
C ₁₆ H ₂₈ Cl ₆	397.061	34.80%	399.058	22.30%	433	13.5-15.5	11.7
C ₁₆ H ₂₇ Cl ₇	431.022	31.70%	433.019	25.30%	467.5	13.8-15.8	7.9
C ₁₆ H ₂₆ Cl ₈	464.983	28.00%	466.9801	26.90%	502	14.4-17.4	2.3
C ₁₆ H ₂₅ Cl ₉	500.9411	27.10%	502.9381	24.20%	536.5	15.5-19.5	1.6
C ₁₆ H ₂₄ Cl ₁₀	534.9021	26.40%	532.9051	20.70%	571	16.5-21	0.9
C ₁₇ H ₃₁ Cl ₅	377.1156	36.30%	375.1185	28.40%	412.5	12.5-15	8.6
C ₁₇ H ₃₀ Cl ₆	411.0766	34.40%	413.0737	22.00%	447	13.4-15.2	9.3
C ₁₇ H ₂₉ Cl ₇	445.0376	31.30%	447.0347	25.00%	481.5	13-17.5	2.7
C ₁₇ H ₂₈ Cl ₈	478.9987	27.70%	480.9957	26.60%	516	14.5-19	1
C ₁₇ H ₂₇ Cl ₉	514.9567	26.80%	512.9597	24.00%	550.5	16.5-20.5	1.2
C ₁₇ H ₂₆ Cl ₁₀	548.9178	26.10%	546.9207	20.40%	585	18-23	1.3

检测限 (LOD) 和线性范围

仪器 LOD 被确定为在 95% 置信水平下,五次重复进样的信号强度的标准偏差乘以学生 t 检验值。在标准品中,丰度最高离子可以被检出的浓度用来计算该同族体的仪器检出限。在实际样品中,一个同族体的定量和定性离子均有响应,且符合其理论比例才算检出。结果表明, MCPPs 的 LOD 在 27–170 ng/mL 范围内,而 SCCPs 的 LOD 在 24–81 ng/mL 范围内。表 1 提供了各个同族体的 LOD。使用加权线性回归在 0.25–100 ng/μL 浓度范围内拟合由 55.5% Cl SCCPs、52% Cl MCPPs 和 57% Cl MCPPs 混合物的标准溶液获得的强度值,确定 NCI-Q-TOF-HRMS 方法的线性。图 3 显示了相应的拟合曲线。结果表明, SCCPs 和 MCPPs 的线性范围均可达

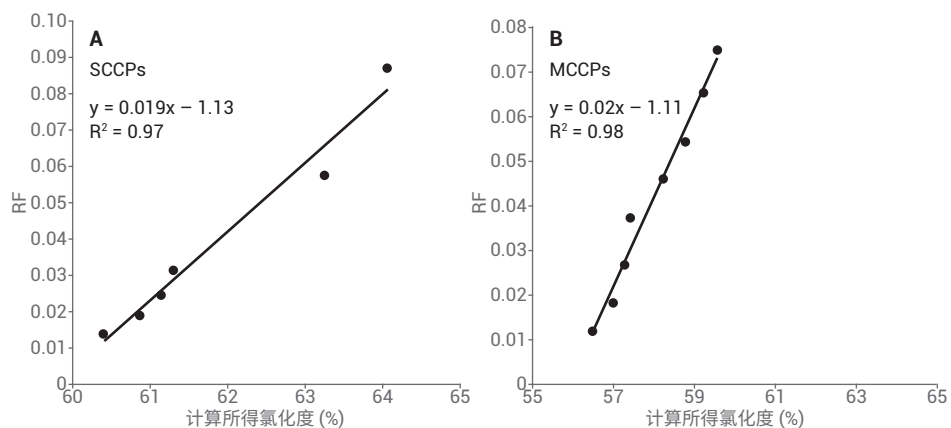


图 2. MCPPs 和 SCCPs 的总响应因子 (RF: 内标调节响应与 CPs 含量之比) 与计算出的所得氯化度 (%) 之间的线性关系。A) 10 ng/μL SCCPs 的标准曲线 (通过混合 51.5% Cl、55.5% Cl 和 63% Cl SCCPs 标准品获得不同的氯化度)。B) 10 ng/μL MCPPs 的标准曲线 (通过混合 42% Cl、52% Cl 和 57% Cl MCPPs 标准品获得不同的氯化度)

到三个数量级,高于 NCI-LRMS 方法的线性范围^[8]。这样宽的线性范围是由于,组成 CPs 的同族体众多,即使在总浓度较高的情况下也没有异构体达到其上限。

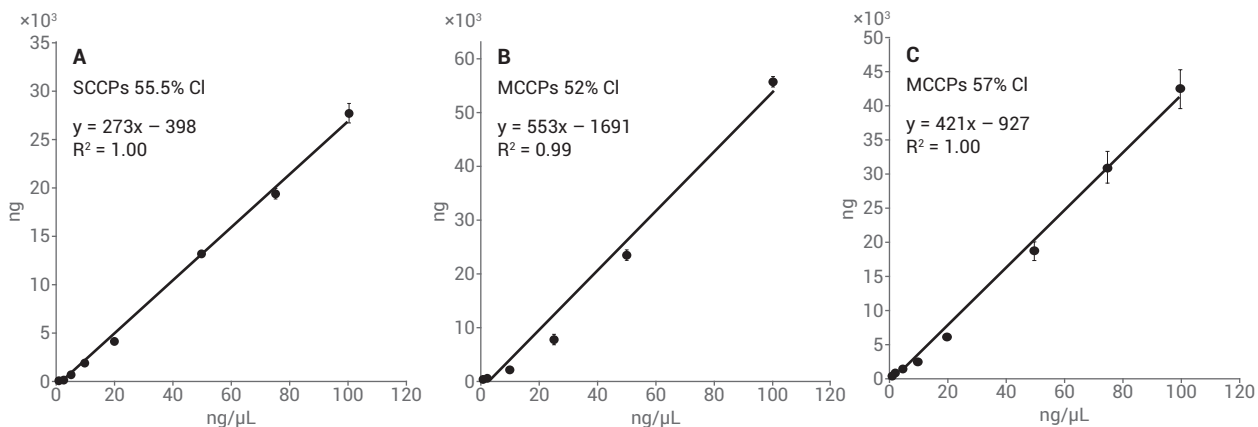


图 3. A) 55.5% 氯代 SCCPs 混合物 (0.25–100 ng/μL) 的线性。B) 52% 氯代 MCPPs 混合物 (0.25–100 ng/μL) 的线性。C) 57% 氯代 MCPPs 混合物 (0.25–100 ng/μL) 的线性

准确度和重现性

在不同的氯化百分比 (51.5% Cl SCCPs、55.5% Cl SCCPs、63% Cl SCCPs、52% Cl MCCPs 和 57% Cl MCCPs) 下, 计算平均实测浓度 ($n = 5$) 与参比 SCCPs 和 MCCPs 混标之比, 得到准确度。表 2 列出了结果。

使用 NCI-TOF-MS 方法, 获得的 SCCPs 和 MCCPs 的相对准确度分别在 86%–124% 和 114%–129% 范围内。当使用 SCCPs 和 MCCPs 的二元混标时, 观察到的阳性偏差要大于单一混标的阳性偏差。

重现性包括日内和日间重复进样结果 ($n = 18$, 55% Cl SCCPs 和 52% Cl MCCPs 的加标浓度均为 1、10 和 100 ng/L) 的标准偏差来确定。利用 NCI-TOF-MS 获得的三种浓度水平下日间进样的 SCCPs 的相对标准偏差 (RSD) 分别为 2.55%、1.95% 和 3.58%。对于 MCCPs, 相应的 RSD 分别为 12.3%、7.37% 和 0.97%。

CPs 分析中分辨率的影响

分辨率与质量数偏差 (DM) 之间的关系由公式 1 确定。

$$\text{分辨率} = \frac{M}{DM}$$

公式 1.

M 为碎片离子的 m/z 比, DM 为两个相邻峰之间的质量数差值。

表 2. NCI-TOF-HRMS 方法的准确度和重现性

性能测试	参考浓度 (ng/μL)	计算浓度 (±误差) (ng/μL)	准确度 ^a	二元混标	参考浓度 (ng/μL)	计算浓度 (±误差) (ng/μL)	准确度 ^a
SCCPs 检测							
51% Cl SCCPs	5.00	4.30 (±0.41)	86%				
55% Cl SCCPs	10.00	10.00 (±0.19)	100%	55% Cl SCCPs 和 57% Cl MCCPs (1:1, v/v 20 ng/μL)	10.00	12.43 (±4.6)	124%
63% Cl SCCPs	10.00	12.05 (±0.14)	120%				
MCCPs 检测							
52% Cl MCCPs	10.00	12.13 (±0.89)	121%				
57% Cl MCCPs	10.00	11.36 (±0.71)	114%	55% Cl SCCPs 和 57% Cl MCCPs (1:1, v/v 20 ng/μL)	10.00	12.89 (±0.27)	129%

^a 准确度定义为计算出的 CPs 浓度和 CPs 参考浓度的百分比

公式 1 表明, 信号的分辨率与物质的质量数相关。在本例中, 大多数 CPs 目标离子的 m/z 在 300–500 范围内, 对于 96 个定量和定性碎片, 分离两个最接近的 m/z 值 $C_{12}H_{16}^{35}Cl_7^{37}Cl_2$ (478.8395 Da) 和 $C_{17}H_{28}^{35}Cl_6^{37}Cl$ (478.9987 Da) 碎片所需的

最低分辨率为 3000 (表 3)。在本研究中, 选择的离子源温度为 150 °C, 以最大程度减小除 $[M-Cl]^-$ 以外的碎裂模式^[5,11]。因此, 本研究中使用的 TOF-HRMS 方法的分辨率为 12000–15000, 适用于分离 SCCPs 和 MCCPs 的 48 种同族体。

表 3. 生成具有相同名义质量的碎片离子的 MCCPs 和 SCCPs 同族体的精确质量, 以及两种离子之间的 D 值

名义质量	同族体	精确质量	同族体	精确质量	D 值 ^a (ppm ^b)
417	C ₁₀ Cl ₉	416.8472	C ₁₅ Cl ₇	417.0063	382
451	C ₁₀ Cl ₁₀	450.8082	C ₁₅ Cl ₈	450.9674	353
431	C ₁₁ Cl ₉	430.8628	C ₁₆ Cl ₇	431.022	369
465	C ₁₁ Cl ₁₀	464.8239	C ₁₆ Cl ₈	464.983	342
445	C ₁₂ Cl ₉	444.8785	C ₁₇ Cl ₇	445.0376	358
479	C ₁₂ Cl ₁₀	478.8395	C ₁₇ Cl ₈	478.9987	333

^a 两个离子质量的差值

^b 百万分之一

此外，即使经过复杂的样品前处理程序，仍发现存在基质干扰^[14]。在 NCI-LRMS 系统下，将 SIM 结合保留时间窗口来消除自干扰。但是，这种方法并未获得令人满意的结果（图 4：±0.5 amu 处的 EIC），因为无法实现组分的基线分离。图 4 显示，在提取精确质量时，采用 50 ppm 的质量容差，可以在很大程度上避免来自基质的干扰以及 CPs 自干扰（例如，由 C₁₀Cl₁₀ 和 C₁₅Cl₈ 生成的 m/z 451）。在图 4 中，将 MCCPs 作为干扰物质对待，而将 SCCPs 视为目标物。

环境样品分析和两种方法的比较

为评估在 CPs 环境测量质量方面的改善^[13]（图 5），必须对当前 HRMS 方法的结果与之前报道的 LRMS 方法的结果进行比较^[11,12]。定量分析工业产品、食品和基于 XAD 的空气样品中的 SCCPs 和 MCCPs，对 NCI-TOF-HRMS 方法进行了评估（图 5）。食品样品中 SCCPs 的浓度范围为 70–73172 ng/g。此外，基于 XAD

的空气样品中 SCCPs 的浓度范围为 0.04–29 ng/m³。最后，对于工业品，CP-52 产品 200 μL 中 10 (ng/μL) SCCPs 的含量范围为 54–1651 ng。还比较了使用两种不同的 MS 方法获得的 SCCPs 含量和氯化值（图 5）。

在基于 XAD 的空气样品中，使用 NCI-TOF-HRMS 方法检测结果普遍低于使用 NCI-LRMS 方法获得的结果，但以下两种情况除外：浓度极低的样品（13 bz）和浓度极高（14 dppl）的样品。通过 NCI-TOF-HRMS 测得的 SCCPs 浓度与通过 NCI-LRMS 获得的 SCCPs 浓度比值在 0.19–0.92 之间。

相反，由于基质效应不同，获得的食物样品的结果也有所不同。通过 NCI-TOF-HRMS 测得的 SCCPs 浓度与通过 NCI-LRMS 获得的 SCCPs 浓度比值在 0.16–2.55 之间。

对于工业 CPs 产品，使用 NCI-TOF-HRMS 方法获得的浓度通常高于使用 NCI-LRMS

方法所获得的结果，但 CP8 除外，因为 CP8 的 SCCPs 含量非常低。通过 NCI-TOF-HRMS 测得的 SCCPs 浓度与通过 NCI-LRMS 测得的结果比值在 3.79–6.05 之间。

为进一步考察使用两种方法获得的结果不相同的原因，对使用 NCI-TOF-HRMS 方法和 NCI-LRMS 方法获得的 SCCPs 的各种同族体含量进行了比较（图 6）。比较结果表明，在空气中，含氯原子较少且链长较短的 SCCPs 占主导地位，而在工业产品中则相反。在高分辨率下，检测含氯原子较少的 CPs 响应较低。因此，对于 XAD 的空气样品中发现的轻质组分，通过 NCI-TOF-HRMS 测得的含量较高，而对于工业产品中发现的重质组分，通过 NCI-TOF-HRMS 测得的含量较低（图 6）。然而，所获得的绝对含量的差异并不表示与真实值之间存在显著偏差。如上所述，氯含量不同的 CPs 表现出与不同仪器条件相关的各种响应模式，这主要是由于氯化度的不同。

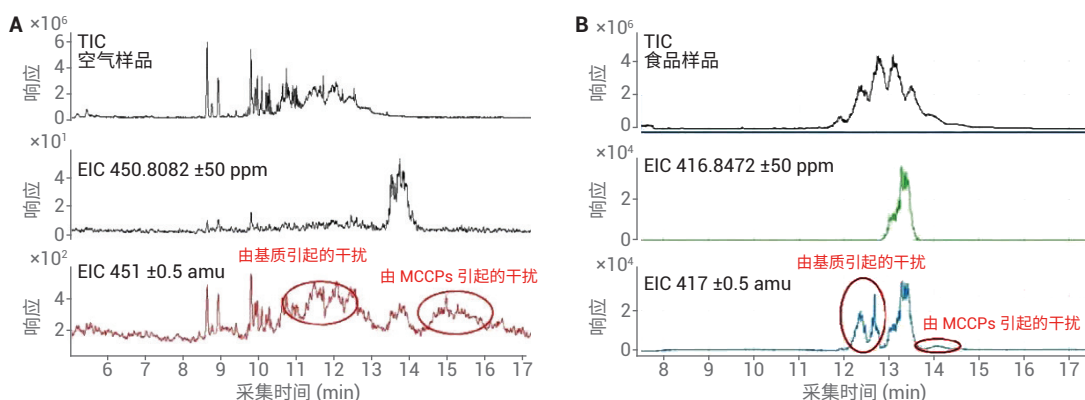


图 4. 通过精确质量提取消除样品中的基质效应，如 EIC 比较结果所示。A) 在不同的质量提取窗口（50 ppm 和 0.5 amu）下，空气样品的总离子流色谱图 (TIC) 及相应的 EIC 提取结果 (C₁₀Cl₁₀)；B) 在不同的质量提取窗口（50 ppm 和 0.5 amu）下，食品样品的 TIC 及相应的 EIC 提取结果 (C₁₀Cl₉)

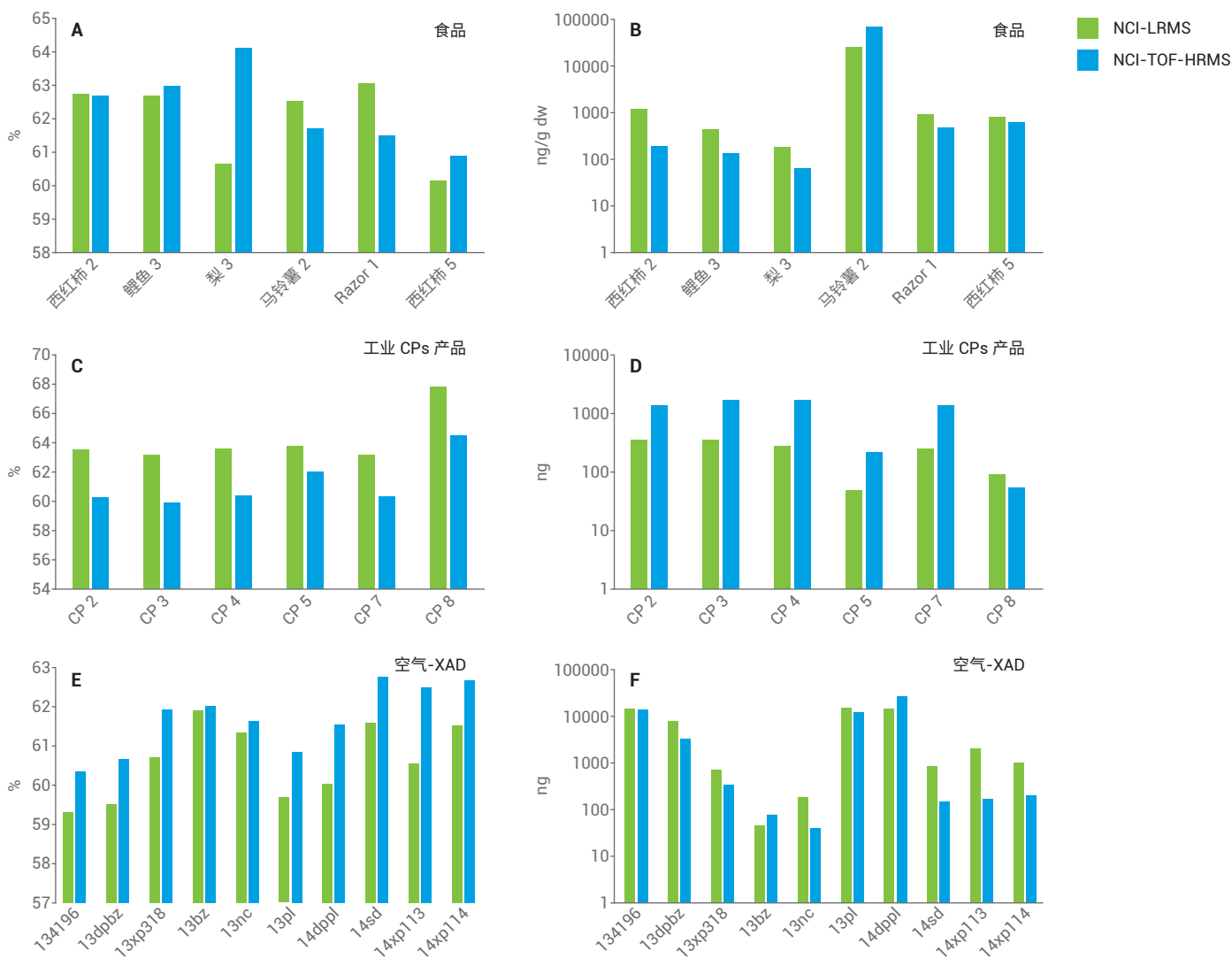


图 5. 通过 NCI-TOF-HRMS 方法 (蓝色条) 和 NCI-LRMS 方法 (绿色条) 获得的氯化度和 SCCPs 含量计算值的比较: (A) 食品样品中氯化度计算值的比较, (B) 食品样品中的含量比较, (C) 工业 CPs 产品中氯化度计算值的比较, (D) 工业 CPs 产品中的含量比较, (E) 基于 XAD 的空气样品中氯化度计算值的比较, 以及 (F) 基于 XAD 的空气样品中的含量比较

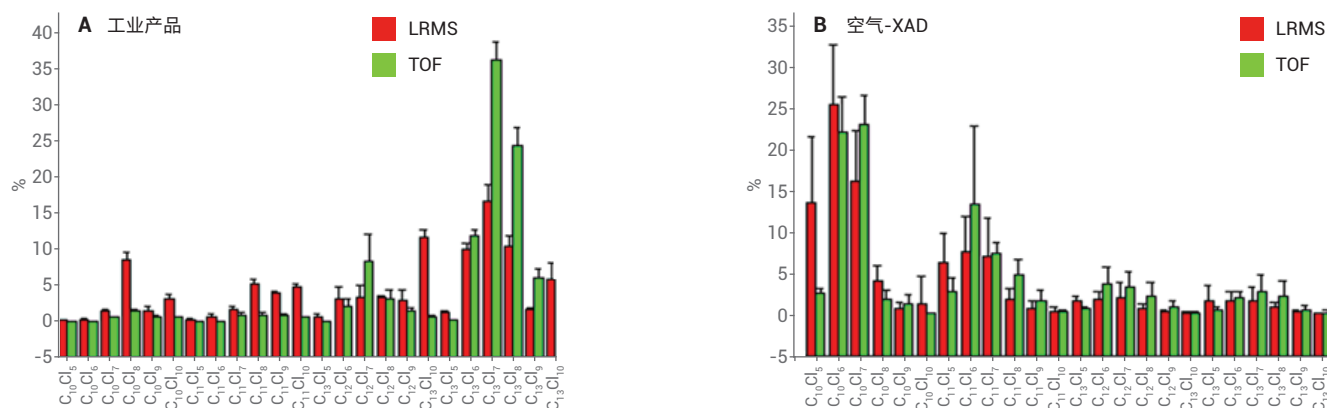


图 6. 使用 NCI-TOF-HRMS 方法 (绿色条) 和 NCI-LRMS 方法 (红色条) 获得的 SCCPs 单个同系物含量的比较: (A) 工业产品中 SCCPs 的同系物组分布, 以及 (B) 基于 XAD 的空气样品中 SCCPs 的同系物组分布

使用 NCI-TOF-HRMS 方法获得的氯含量计算值通常高于使用 NCI-LRMS 方法计算出的氯化度，但工业 CPs 产品和两种食品样品（马铃薯 2 和 Razor 1）除外。造成这种差异的可能原因是 LRMS 在低氯代 CPs 的特征质量 (m/z 值 300 左右) 处受基质干扰较严重，具有假阳性的响应，从而导致测出的 CPs 氯化度偏低。

本研究仅使用 NCI-Q-TOF-HRMS 系统对 MCCPs 进行了分析。由于文献中缺乏可用的参比数据，因此未得到 MCCPs 的实验间比较结果。本研究的结果表明，空气中的 MCCPs 浓度低于其他基质，且基于 XAD 的样品中 MCCPs 的浓度范围为 0.04–0.89 ng/m³。在食品样品中，MCCPs 含量在 603 ng/g–7478 ng/g 之间。对于工业产品，六个 CP-52 产品 (CP2、CP3、CP4、CP5、CP7 和 CP8) 中 10 ng/μL LCPs (SCCPs + MCCPs) 的浓度

在 3796–6235 ng 范围内 (CPs 的总含量应为 2000 ng)，表明结果被高估。计算出的工业产品的氯化度可能处于氯含量与 MS 响应的校准曲线的低浓度端。氯化度与定量结果成反比，相对于环境基质，工业产品中较低的氯含量可能导致 CPs 浓度被高估。结果表明，应在更宽的氯化范围内合成更有针对性的参比标样，以建立用于不同基质的更准确的定量和定性 CPs 分析方法。

时间效率以及在常规分析中的适用性

与早期需要单独运行四次以采集所有必要的 SIM 离子进行鉴定和定量分析的 LRMS 方法^[11,12] 不同，全新的 HRMS 方法只需进样一次。HRMS 方法提供了更高的选择性，可以在没有显著干扰的情况下有效使用自动峰积分，无需 LRMS 数据所需的费时的手动积分。这一组合将样品的分析周期由几个月缩短为几天。

结论

与已有的 GC/NCI-LRMS 方法相比，新颖的 GC-Q-TOF-MS 方法在分析环境样品中的 CPs 时具有诸多优势。该方法在同时分析复杂环境样品中的 SCCPs 和 MCCPs 时尤其高效，并且通过精确质量提取，可有效消除 CPs 内部的干扰。比较由不同环境样品定量的结果表明，高分辨率 TOF-MS 方法能够减少来自不同基质的干扰。此外，GC-Q-TOF-MS 方法表现出与之前的方法相当的线性范围和检测限，并具有更高的准确度。另外，由于该方法在分析时间和定量过程方面具有很高的效率，因此适用于大量样品的高通量分析。应考虑进一步应用该 GC-Q-TOF-MS 方法，以更准确地分析不同基质中的 CPs。

参考文献

1. Muir, G. A.; Stern, G. T.; Tomy, J.; Paasivirta (Eds.) *The Handbook of Environmental Chemistry*, in: D.C.G., Springer: New York, 2000
2. European Commission, Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy. *Official J. Eur. Commun.* **2000**
3. De Boer, J. *The Handbook of Environmental Chemistry*, Springer: Berlin Heidelberg, 2016, 2010
4. Van Mourik, L. M.; *et al.* Recent developments in capabilities for analysing chlorinated paraffins in environmental matrices: a review. *Chemosphere* **2015**, 136, 259–272
5. Tomy, G. T.; *et al.* Quantifying C₁₀–C₁₃ polychloroalkanes in environmental samples by high-resolution gas chromatography/electron capture negative ion high-resolution mass spectrometry. *Anal. Chem.* **1997**, 69, 2762–2771
6. Reth, M. Oehme, M. Limitations of low resolution mass spectrometry in the electron capture negative ionization mode for the analysis of short- and medium-chain chlorinated paraffins. *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, 378, 1741–1747
7. Korytar, P.; *et al.* Characterization of polychlorinated n-alkanes using comprehensive two-dimensional gas chromatography–electron-capture negative ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2005**, 1086, 71–82
8. Reth, M.; Zencak, Z.; Oehme, M. New quantification procedure for the analysis of chlorinated paraffins using electron capture negative ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2005**, 1081, 225–231
9. Steinberg, S. M.; Emerson, D. W. On-line dechlorination–hydrogenation of chlorinated paraffin mixtures using GC and GC/MS. *Environ. Monit. Assess.* **2012**, 184, 2119–2131
10. Gao, W.; *et al.* Quantification of short- and medium-chain chlorinated paraffins in environmental samples by gas chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2016**, 1452, 98–106
11. Zeng, L. X.; *et al.* Spatial and vertical distribution of short chain chlorinated paraffins in soils from wastewater irrigated farmlands. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, 45, 2100–2106
12. Wang, T.; *et al.* Summer-winter concentrations and gas-particle partitioning of short chain chlorinated paraffins in the atmosphere of an urban setting. *Environ. Pollut.* **2012**, 171, 38–45
13. Sverko, E.; *et al.* Improving the quality of environmental measurements on short chain chlorinated paraffins to support global regulatory efforts. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, 46, 4697–4698
14. Chen, L. G.; *et al.* Sample pretreatment optimization for the analysis of short chain chlorinated paraffins in soil with gas chromatography–electron capture negative ion-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2013**, 1274, 36–43

使用 GC/MS/MS 分析饮用水中的亚硝胺类化合物 — 满足 EPA 方法 521 的等效性

使用 Agilent 7010 和 7000 三重四极杆气质联用系统

作者

Andy Eaton、Charles Grady
和 Konjit Tadigo

Eurofins Eaton Analytical,
Monrovia, CA, USA

Yongtao Li 和 William Davis
Eurofins Eaton Analytical,
South Bend, IN, USA

Ralph Hindle
Vogon 实验室,
Cochrane, AB, Canada

Diana Wong、Ron Honnold
和 Craig Marvin
安捷伦科技有限公司

摘要

Eurofins Eaton Analytical-安捷伦方法 521.1 (EEA-安捷伦方法 521.1) 以使用电子电离 (EI) 模式下的三重四极杆 GC/MS (GC/MS/MS) 对饮用水中亚硝胺类化合物进行的多实验室研究为基础开发而来¹。目前, 离子阱 GC/MS (GC/IT) 是美国国家环境保护局 (EPA) 方法 521 推荐的技术, 但该技术现已过时。只要样品前处理步骤不变, EPA 也可采用其他检测方法。在 EPA 方法 521 中, 对分析物添加 N-亚硝基吗啉 (NMOR) 进行研究。研究分为两个阶段。在第 I 阶段, 实验室 A 证明与经过批准的 GC/IT 相比, GC/MS/MS 能够获得更低的最低浓度最小报告限值 (LCMRL) 和检测限 (DL)。GC/MS/MS 还具有更少的进样量和更短的分析时间。对大量实际样品中的亚硝胺类化合物进行分析后发现, GC/MS/MS 与 GC/IT 呈现了良好的相关性。在第 II 阶段中, 实验室 A 萃取 LCMRL 样品 (32) 并分发至实验室 B 与实验室 C, 分别采用 Agilent 7010 和 7000 GC/MS/MS 系统进行验证。7010 和 7000 GC/MS/MS 的结果均优于方法 521 中的 LCMRL 和 DL 要求。获得的线性校准曲线 $R^2 > 0.99$ 。方法性能经过三个不同实验室的验证并获得了 EPA 对方法等效性的书面批准。

前言

亚硝胺类化合物，特别是亚硝基二甲胺 (NDMA)，是存在于饮用水中的污染物，这类物质对健康的潜在威胁引发了环保团体的关注²。工业来源污染（如火箭燃料生产中产生的直接污染物）将产生高浓度的 NDMA。此外，NDMA 也是饮用水和废水进行氯化、氯胺化和臭氧化消毒的副产物³。EPA 方法 521 (2005) 是一种测定饮用水中亚硝胺类化合物的方法⁴。GC/IT 是方法 521 中使用的仪器，但这项技术已经过时。EPA 地下水和饮用水办公室 (OGWDW) 考虑在不改变样品前处理指南和灵敏度标准的前提下，替换为其他检测技术。

EEA-安捷伦方法 521.1 使用三重四极杆 GC/MS (GC/MS/MS) 作为替代技术进行开发，并经过了两部分的研究。在研究第 I 阶段，实验室 A 比较了 GC/IT 与 GC/MS/MS 的性能。在第 II 阶段中，实验室 A 将样品萃取物分发给实验室 B 和实验室 C，按照 EPA 方案采用 GC/MS/MS 进行三实验室验证研究。使用 GC/MS/MS 对方法 521 中列出的亚硝胺类化合物以及其他 NMOR (表 1) 进行了 LCMRL 与 DL 评估⁴。

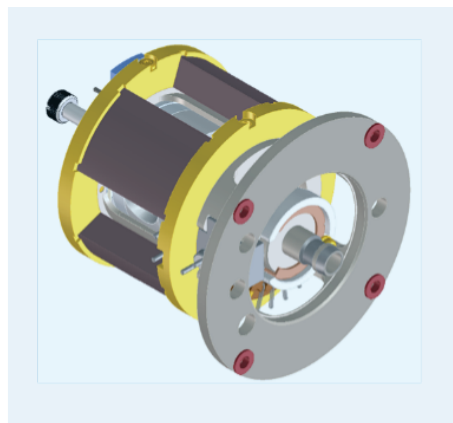
7010 和 7000 GC/MS/MS 系统分别配备了高效离子源 (HES) 和 Extractor 离子源。7010 HES 是一种全新设计的离子源，产生的离子是 7000 Extractor 离子源的 20 倍，灵敏度大大提高 (图 1)。在第 II 阶段中对这两种离子源进行研究，以确定满足方法 521 中的 LCMRL 和 DL 要求是否需要 HES。

本应用简报将介绍 EEA-安捷伦方法 521.1 的开发，该方法利用 GC/MS/MS 技术以电子电离 (EI) 模式代替方法 521 中指定的 CI 模式，对饮用水中的亚硝胺类化合物进行测定。方法 521 中与样品前处理和质量控制相关的程序和指南不发生改变⁴。

表 1. EEA-安捷伦方法 521.1 中研究的亚硝胺类化合物

分析物	化学文摘社 (CAS) 登记号
N-亚硝基二甲胺 (NDMA)	62-75-9
N-亚硝基甲基乙胺 (NMEA)	10595-95-6
N-亚硝基二乙胺 (NDEA)	55-18-5
N-亚硝基二正丙胺 (NDPA)	621-64-7
N-亚硝基吗啉 (NMOR)	59-89-2
N-亚硝基吡咯烷 (NPYR)	930-55-2
N-亚硝基哌啶 (NPIP)	100-75-4
N-亚硝基二正丁胺 (NDBA)	924-16-3

实验室 A 和实验室 B
7010 GC/MS/MS
高效离子源



实验室 C
7000 GC/MS/MS
Extractor 离子源

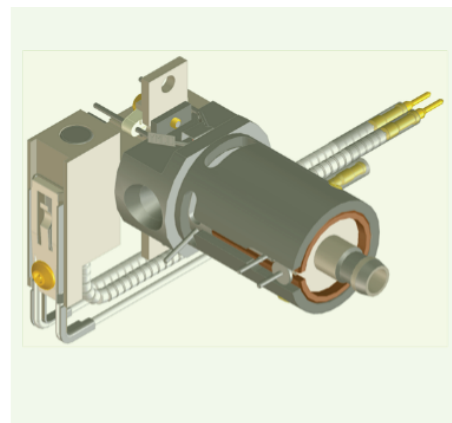


图 1. 7010 和 7000 GC/MS/MS 系统的离子源设计。7000 GC/MS/MS 配备 Extractor 离子源。7010 GC/MS/MS 配备高效离子源

实验部分

样品前处理

样品前处理的详细说明见 EEA-安捷伦方法 521.1¹⁴。将水样通过含椰壳活性炭的固相萃取 (SPE) 柱，萃取出分析物和替代物，并用二氯甲烷洗脱。将二氯甲烷萃取液浓缩致干，之后添加内标。使用 GC/MS/MS 或 GC/IT 对样品组分进行分离、鉴定和分析。

GC/MS/MS 系统

Agilent 7010 GC/MS/MS 和 7000 GC/MS/MS 系统各包含一台 Agilent 7890 气相色谱仪 (GC)，分别配备 7010 和 7000 三重四极杆质谱检测器。两台系统均配备 7693 自动液体进样器 (ALS) 和多模式进样口 (MMI)。不同实验室间的进样口温度与参数互不相同。

- 实验室 A 采用不分流程序升温进样
- 实验室 B 采用不分流恒温进样
- 实验室 C 采用脉冲不分流恒温进样

表 2-4 分别列出了进样器、GC 和 MSD 参数。表 5 列出了所有亚硝胺类化合物分析的多反应模式 (MRM) 离子对以及最佳碰撞能量。

第 I 阶段: GC/IT 与 GC/MS/MS 对比

实验室 A 对水样进行萃取，并将样品萃取物进样至 Varian 4000 GC/IT 和 7010 GC/MS/MS 进行对比。EPA 方法 521.4 中详细描述了 GC-IT 参数。

第 II 阶段: 使用 GC/MS/MS 进行实验室间验证研究

实验室 A 对水样进行萃取并将萃取物分发至实验室 B 和 C 进行方法验证。实验室 A 和 B 使用 7010 GC/MS/MS 对方法进行了验证。实验室 C 使用 7000 GC/MS/MS 对方法进行了验证。

GC/MS/MS 配置

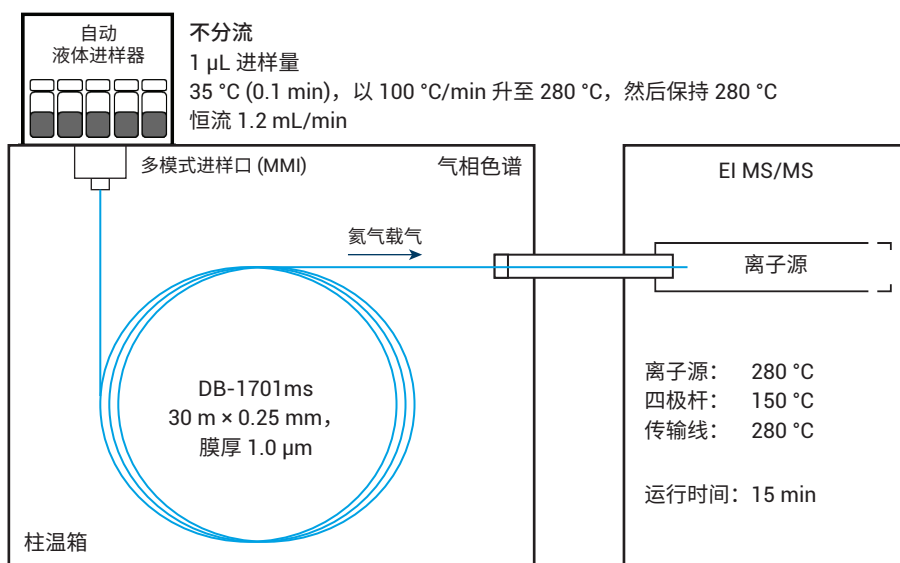


图 2. GC/MS/MS 系统配置。图中所示为实验室 A 的进样器参数。除进样口参数外，所有实验室采用相同的 GC/MS/MS 配置

GC/MS/MS 参数

表 2. 进样器参数

参数	设定值
进样口	多模式进样口
衬管	不分流双锥形超高惰性衬管 (部件号 5190-3983) *
进样量	1 µL
粘度延迟	2 s
载气	氦气
模式*	不分流或脉冲不分流*
温度*	程序升温或恒温*
压力	8.98 psi
总流速	104.2 mL/min
隔垫吹扫流速	3 mL/min
分流出口吹扫流速	100 mL/min (0.8 min 时)
实验室 A	
衬管	2 mm 浅凹坑不分流超高惰性衬管 (部件号 5190-2297)
温度	35 °C (保持 0.1 min) 速率 1: 以 100 °C/min 升至 280 °C
模式	不分流
实验室 B	
温度	260–280 °C
模式	不分流
实验室 C	
温度	260–280 °C
模式	脉冲不分流
进样脉冲压力	40 psi, 持续至 0.75 min

* 参见实验室 A、实验室 B 和实验室 C 的衬管、模式和温度设置

表 3. 气相色谱参数

参数	设定值
色谱柱	DB-1701 (部件号 122-0733)
色谱柱固定相	14% 氰丙基苯基, 86% 二甲基聚硅氧烷
色谱柱规格	30 m 长 × 250 µm 直径, 膜厚 1 µm
色谱柱配置	进样口到质谱检测器
流速	1.2 mL/min
柱温箱温度	初始: 33 °C (保持 1 min) 速率 1: 以 35 °C/min 升至 80 °C (保持 2 min) 速率 2: 以 10 °C/min 升至 140 °C 速率 3: 以 50 °C/min 升至 280 °C (保持 2 min)
平衡时间	3–5 min

表 4. MSD 参数

参数	设定值
离子源	EI
离子源温度	280 °C
四极杆 1 温度	150 °C
四极杆 2 温度	150 °C
传输线温度	260–280 °C
淬灭气体	氦气, 4 mL/min
碰撞气体	氮气, 1.5 mL/min
溶剂延迟	5.5 min
增益	3.0
峰宽	0.05
电子能量	70 eV

表 5. GC/MS/MS 在 EI 模式下的方法分析物定量的保留时间、建议 MRM 离子对和碰撞能量

分析物	保留时间 (min) ^a	片段	保留时间窗口 (min)	母离子 (m/z) ^b	子离子 (m/z) ^b	CE ^c	分辨率 ^d	驻留时间 (ms) ^e
NDMA-d6 (SUR)	7.02	1	5.8-7.6	80	50	8	Unit/Wide	75
				80	46	25	Unit/Wide	75
NDMA	7.05	1	5.8-7.6	74	44	6	Wide/Wide	75
				74	42	22	Wide/Wide	75
NMEA	8.58	2	7.6-9.0	88	71	4	Wide/Wide	150
				88	42	23	Wide/Wide	150
NDEA	9.79	3	9.0-11.4	102	85	4	Wide/Wide	150
				102	44	12	Wide/Wide	150
NDPA-d14 (IS)	11.78	4	11.4-11.9	144	126	10	Unit/Unit	50
				144	50	20	Unit/Unit	50
NDPA	11.83	4	11.4-11.9	130	43	10	Wide/Wide	100
				101	70	10	Wide/Wide	100
NMOR	12.09	5	11.9-12.15	116	86	2	Wide/Wide	150
				116	56	15	Wide/Wide	150
NPYR	12.3	6	12.15-12.28	100	55	7	Unit/Wide	100
				100	70	7	Unit/Wide	100
				100	43	10	Unit/Wide	100
NPIP	12.59	7	12.28-12.62	114	84	7	Wide/Wide	150
				114	55	25	Wide/Wide	150
NDBA	12.89	8	12.62-13.8	158	141	10	Wide/Wide	100
				158	99	10	Wide/Wide	100
				116	99	10	Wide/Wide	100

^a 按照表 2-4 中列出的参数在 7010 GC/MS/MS 上获得的保留时间。采用恒温进样条件。不同仪器的绝对保留时间可能有细微差别

^b 根据结构重要性和离子丰度选择母离子和子离子对。将丰度最高的离子选为定量离子

^c 根据离子丰度优化碰撞能量 (CE)，不同仪器可能有细微差别

^d MS 的 Unit 和 Wide 分辨率中半峰宽分别为 0.7 和 1.2 amu

^e 调整驻留时间，使每秒大约进行 3.3 次循环。驻留时间在定量离子和定性离子之间可能会不同，不同仪器之间也会有所变化

结果与讨论

第 I 阶段: GC/IT 与 GC/MS/MS 对比

在分析饮用水中的亚硝胺类化合物时, GC/MS/MS 比 GC/IT 更具优势。采用 GC/MS/MS 可获得更快的分析速度, 最后一个化合物 NDPA 在 12.9 分钟即可洗脱出来, 相比之下, 采用 GC/IT 需要 30.5 分钟 (图 3)。与 GC/IT 相比, GC/MS/MS 的分析时间更短, 可使实验室运行效率提高 2-3 倍。DB-1701 色谱柱可在 GC/MS/MS 上实现 NDPA、NPYR 和 NMOR 的基线分离, 而这在 GC/IT 中仍是一项挑战。从 GC/IT 的 10-20 μL 到 GC/MS/MS 的 1 μL , 更低的进样量可降低基质污染, 减少维护, 延长正常运行时间。使用 EI 代替 CI, 增加易用性和可靠性。GC/MS/MS 的高灵敏度能够实现萃取水样中亚硝胺类化合物的低浓度分析 (图 4)。在定量分析实际萃取水样中的亚硝胺类化合物时, GC/IT 和 GC/MS/MS 之间具有优异的相关性。图 5A 为实际水样分析中 NDMA 的相关性示例。图 5B 为从水样中萃取的 NDMA 的校准相关性。使用 GC/MS/MS 可以获得更低的 LCMRL 和 DL (图 6)。

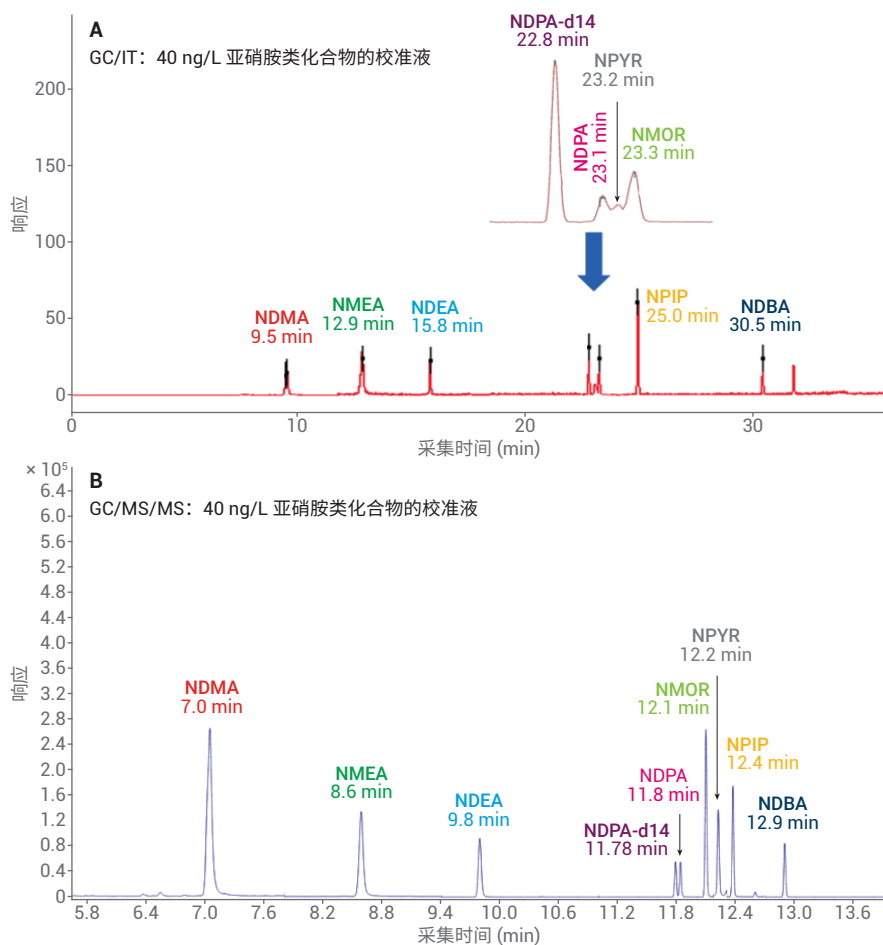


图 3. A) GC/IT: 40 ng/L 亚硝胺类化合物的校准液。B) GC/MS/MS: 40 ng/L 亚硝胺类化合物的校准液。GC/IT 参数参照方法 521⁴。GC/MS/MS 参数如表 2-5 所示

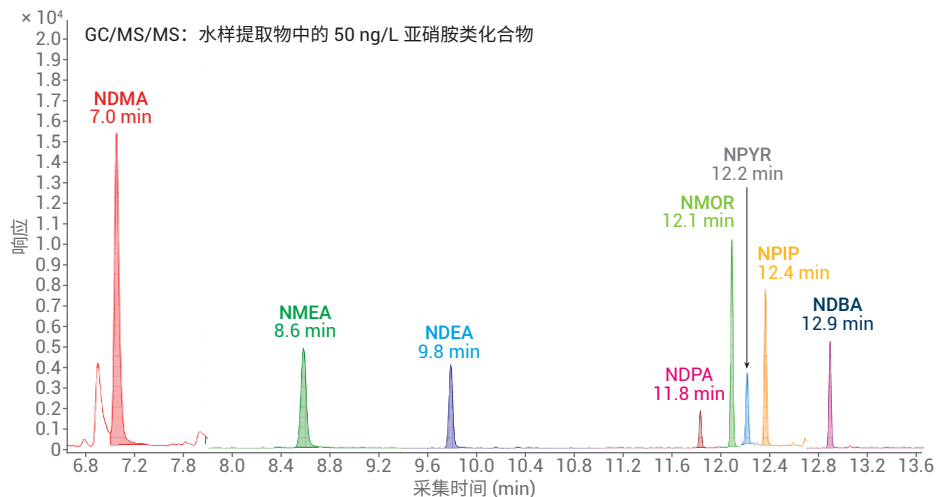


图 4. 水样中萃取的 0.5 ng/L 亚硝胺类化合物的定量离子 MRM

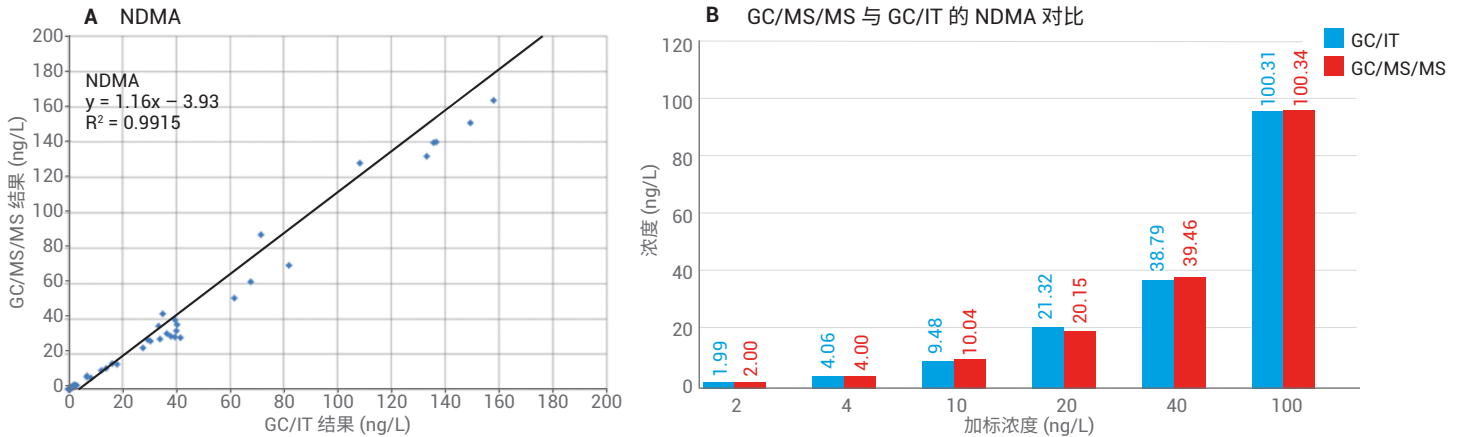


图 5. 实际水样萃取物中 NDMA 的 GC/MS/MS 分析结果与 GC/IT 分析结果的相关性 (A) 以及萃取水样的校准 (B)。使用相同的停留时间、标样、萃取流程和混合物通过 GC/MS/MS 和 GC/IT 对水样进行萃取和分析

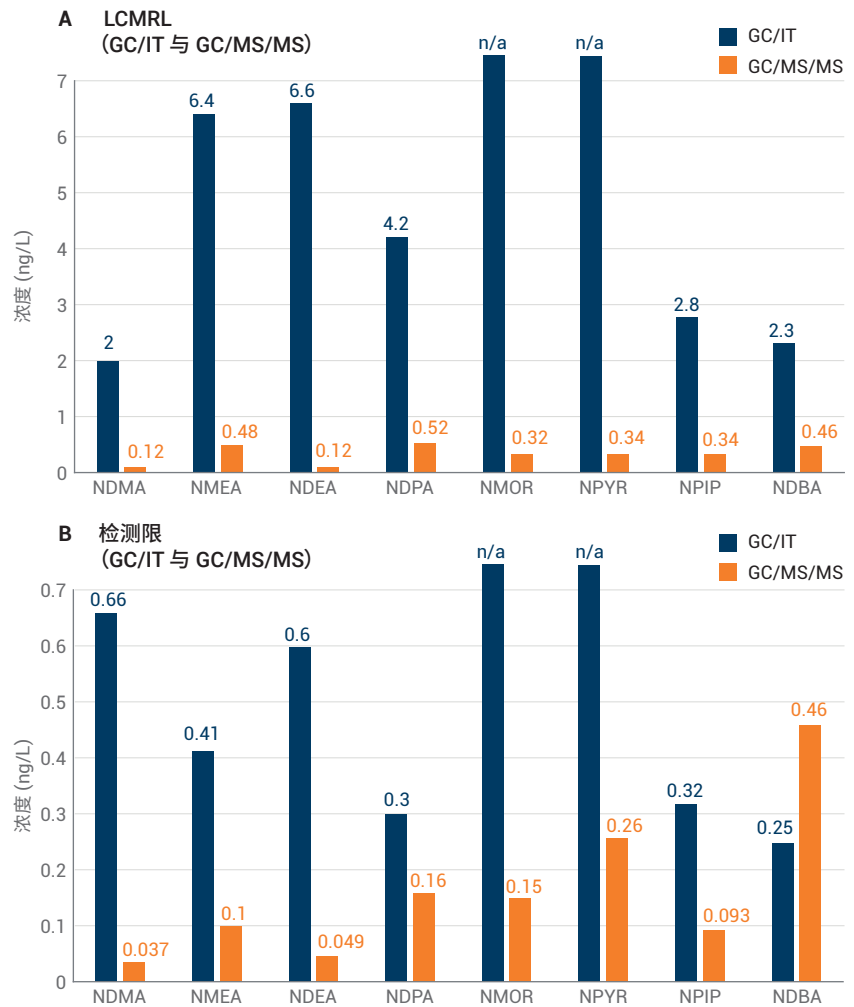


图 6. 使用 7010 GC/MS/MS 和 Varian 4000 GC/IT 获得的最低浓度最小报告限值 (A) 和检测限 (B) 对比。用于计算 LCMRL 和 DL 的加标浓度范围为 0.1-10 ng/L。n/a 表示 LCMRL 和 DL 高于最高加标浓度，或加标浓度超过了 NMOR 和 NPYR 的工作范围

第 II 阶段：实验室间验证研究

7010 和 7000 GC/MS/MS 系统均能满足甚至超出本研究中亚硝胺类化合物分析所需的灵敏度要求。对于实验室间验证研究，实验室 A 萃取了试剂加标水样并将萃取物分发到实验室 B 和 C，分别采用 7010 GC/MS/MS 和 7000 GC/MS/MS 进行分析。图 7A 和图 7B 为三个实验室分析的每种亚硝胺类化合物的 LCMRL 和 DL 数据图。7010 GC/MS/MS 的 LCMRL 在 0.12–0.67 ng/L 范围内，7000 GC/MS/MS 的 LCMRL 在 0.33–1.2 ng/L 范围内（图 7A），均低于方法 521 中 1.2–2.1 ng/L 的 LCMRL 范围。多实验室验证研究中，7010 GC/MS/MS 系统的 DL 在 0.037–0.46 ng/mL 范围内，7000 GC/MS/MS 系统的 DL 在 0.12–0.6 ng/L 范围内，均低于方法 521 中 0.26–0.66 ng/L 的 DL 范围（图 7B）。在 7010 和 7000 GC/MS/MS 系统上对 0.0625–100 ng/L 范围内的 11 个校准点进行线性曲线拟合，均获得了 $R^2 > 0.99$ 的线性结果（表 6）。7010 和 7000 GC/MS/MS 系统均满足 LCMRL 和 DL 的要求。7010 GC/MS/MS 能够获得的 LCMRL 和 DL 低于 7000 GC/MS/MS。

EEA-安捷伦方法 521.1 在进样上更具灵活性。实验室 A、B、C 分别采用了程序升温不分流、恒温不分流以及恒温脉冲不分流模式。实验室 A 采用 2 mm 浅凹坑不分流超高惰性衬管，而实验室 B 和 C 采用 4 mm 双锥形不分流超高惰性衬管。尽管三个实验室采用了不同的进样参数和衬管，但所有实验室以及 7010 和 7000 GC/MS/MS 系统均可满足 LCMRL 和 DL 要求。

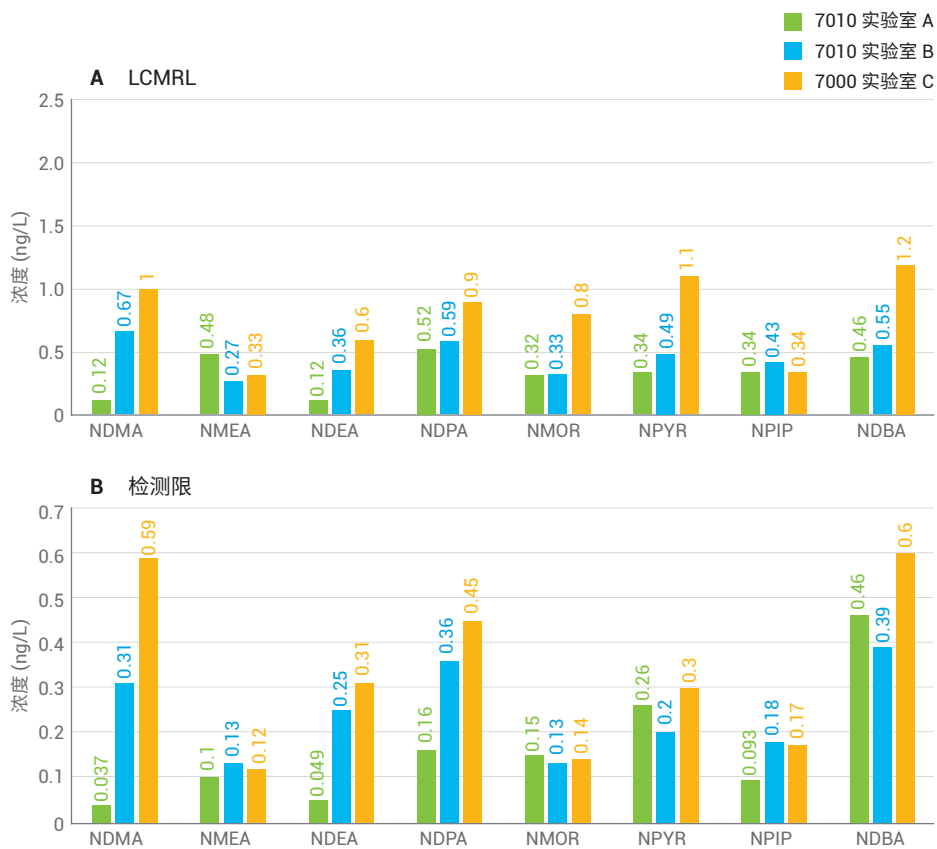


图 7. 实验室间验证研究得到的 LCMRL 和 DL。除实验室 C 的 NDMA 外，三个实验室的 LCMRL 和 DL 均由实验室加标空白 (LFB) 测得，其中分析物加标浓度依次为 0.1、0.25、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、8.0、10.0 ng/L（每个浓度 n = 4）。实验室 C 的 NDMA 由 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、8.0、10.0 ng/L 分析物（每个浓度 n = 4）的 LFB 加标浓度测得。实验室 A 和实验室 B 的 LCMRL 和 DL 数据由 7010 GC/MS/MS 获得。实验室 C 的数据由 7000 GC/MS/MS 获得

表 6. 实验室间验证比对的校准曲线线性*

分析物	7010 实验室 A	7010 实验室 B	7000 实验室 C
NDMA	0.9999	0.9979	0.9935
NMEA	0.9999	0.9983	0.9988
NDEA	0.9999	0.9993	0.9986
NDPA	0.9998	0.9987	0.9965
NMOR	1.0000	0.9993	0.9992
NPYR	0.9981	0.9994	0.9976
NPIP	0.9999	0.9993	0.9979
NDBA	0.9996	0.9990	0.9985

* R^2 通过 11 个校准点 (0.0625、0.125、0.25、0.50、1.0、2.0、4.0、10、20、40、100 ng/L) 的线性曲线拟合和 1/x 加权进行计算

结论

EEA-安捷伦方法 521.1 提供了一种用于饮用水中亚硝胺类化合物分析的流程，本方法使用 GC/MS/MS 技术代替了经批准但已过时的 GC/IT 技术。在对实际水样进行分析和校准时，GC/MS/MS 和 GC-IT 表现了良好的相关性。如分发样品组的实验室间验证研究结果所示，7010 和 7000 GC/MS/MS 系统可轻松满足 LCMRL 和 DL 要求，且进样量更低、分析时间更短，并对分析物实现基线完全分离。GC/MS/MS 方法稳定，衬管选择和参数设置灵活，可以满足 LCMRL 和 DL 要求。基于这些数据，EPA 已经正式批准使用该方法代替 GC/IT 进行亚硝胺类化合物的分析¹。

参考文献

1. Letter of Equivalency for EEA-Agilent 521.1 for The Analysis of Nitrosamines in Drinking Water by GC/MS/MS. *U.S. EPA Letter* March 13, **2018**
2. Magee, P. N. Toxicity of Nitrosamines: Their Possible Human Health Hazards. *Food Cosmet. Toxicol.* **1971**, 9(2), 207-218
3. Mitch, W. A.; et al. N-Nitrosodimethylamine (NDMA) as a Drinking Water Contaminant: A Review. *Environ. Eng. Sci.* **2003**, 20(5), 389-404
4. Munch, J. W. Method 521: Determination Of Nitrosamines In Drinking Water By Solid Phase Extraction And Capillary Column Gas Chromatography With Large Volume Injection And Chemical Ionization Tandem Mass Spectrometry (MS/MS). *U.S. Environmental Protection Agency*, Washington D.C. **2005**

应用 GC/MS/MS 测定超痕量多氯代二苯并-对-二噁英和多氯代二苯并呋喃

作者

徐驰、高丽荣和郑明辉
中国科学院生态环境研究中心
环境化学与生态毒理学国家
重点实验室
中国北京

王雯雯
安捷伦科技（中国）有限公司
中国北京

摘要

多氯代二苯并-对-二噁英 (PCDD) 和多氯代二苯并呋喃 (PCDF) 为剧毒的持久性有机污染物 (POPs)。由于在复杂样品中二噁英同类物的含量通常处于超痕量水平，因此它们的分析具有极大的挑战性。本研究开发了一种气相色谱三重四级杆质谱 (GC/MS/MS) 方法，用于分析 17 种 2,3,7,8-取代 PCDD/Fs 同类物。使用配备新型高效电子轰击电离源的 Agilent 7010 GC/MS/MS 进行分析，该离子源可实现痕量和超痕量分析物的高灵敏度检测，并提供可靠结果。

焚烧是环境中二恶英的主要来源之一。因此，分析垃圾焚烧飞灰样品中的二恶英对于控制二恶英的排放具有重要意义。使用 GC/MS/MS 对浓度为 2.1–32.6 pg (I-TEQ)/g 的 6 个飞灰样品进行了分析。GC/MS/MS 结果与使用 GC/HRMS 获得的结果一致。通过对鱼组织有证标准物质进行五次进样分析，对该方法进行了验证。对于所有同类物，GC/MS/MS 分析获得的平均结果均在认证的参考值范围内。所有同类物的相对标准偏差 (RSD) 均小于 10.0%。因此，该 GC/MS/MS 方法可作为 GC/HRMS 方法的一种可行且经济的替代选择。

前言

PCDD/Fs 因其毒性和在环境中的持久性而备受关注^[1]。由于在复杂环境样品中 PCDD/Fs 同类物的含量通常处于超痕量水平，因此它们的分析具有挑战性。GC/MS/MS 采用特异性多反应监测 (MRM) 模式，可生成 PCDD/Fs 的特异性片段。这种选择性反应可以减少干扰，提高灵敏度。因此，将气相色谱-串联质谱联用系统应用于 PCDD/Fs 分析。欧盟 (EU) 颁布的法规 (709/2014) 规定了可使用 GC/MS/MS 系统对食品和饲料中 PCDD 和 PCDF 的含量进行确证性试验，以满足 EU ML 的要求。这意味着三重四极杆质谱仪能够提供与 HRMS 系统类似的性能^[2]。本应用简报介绍了使用 Agilent 7010 三重四极杆 GC/MS 系统分析 17 种毒性 PCDD/Fs 的方法的灵敏度、选择性和精密度。表 1 列出了具体的化合物，以及指定的毒性当量因子 (TEF)、国际毒性当量因子 (I-TEF) 和世界卫生组织 TEF (WHO₂₀₀₅-TEF)，用于计算毒性当量 (TEQ)。本应用简报还表明，GC/MS/MS 结果与使用 GC/HRMS 获得的结果一致，从而为 GC/HRMS 提供了一种经济可行的替代方法。

实验部分

试剂与标准品

残留级正己烷、二氯甲烷和甲苯购自 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)。EPA 方法 1613 规定的 2,3,7,8-PCDD/Fs 标准溶液，包括 EPA-1613 CVS、LCS 和 ISS 的标准溶液及有证标准物质 WMF-01 (参比鱼组织) 由 Wellington Laboratories Inc (Ontario, Canada) 提供。

仪器

在 Agilent 7890B 气相色谱和 Agilent 7010 三重四极杆 GC/MS 系统上进行分析。仪器条件如表 2 所示。方法采用 MRM 模式进行数据采集。对于每种目标分析物，采用了安捷伦食品和饲料分析仪方法的两种特异性母离子以及两种相应的子离子和碰撞能量^[4]。表 3 提供了 MRM 离子对的完整列表。

表 1. PCDD/Fs 的各种毒性当量因子 (TEF)^[3]

PCDD/Fs	I-TEF	WHO ₂₀₀₅ -TEF
2,3,7,8-TCDD	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	0.5	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.01
OCDD	0.001	0.0003
2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	0.03
2,3,4,7,8-PeCDF	0.5	0.3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.01
OCDF	0.001	0.0003

表 2. 仪器条件

气相色谱条件	
色谱柱	Agilent J&W DB-5ms UI, 60 m × 0.25 mm, 0.25 μm
进样量	1 μL
柱温箱程序升温温度	在 150 °C 下保持 3 min, 以 20 °C/min 的速率升温至 230 °C, 保持 18 min 以 5 °C/min 的速率升温至 235 °C, 保持 10 min 以 4 °C/min 的速率升温至 320 °C, 保持 1 min
进样模式	不分流, 1.5 min 后开启吹扫
进样口温度	290 °C
载气	氮气
流速	1.0 mL/min
质谱条件	
运行模式	电子轰击电离 (EI), MRM
电离电压	70 eV
离子源温度	320 °C
接口温度	320 °C
四极杆温度	150 °C
溶剂延迟	10 min
MS1 分辨率	Unit
MS2 分辨率	Unit
碰撞池气体流速	氮气 1.5 mL/min, 氦气 4.0 mL/min

表 3. PCDD/Fs 的 MS/MS 分析的主要参数

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
TCDF	303.9	240.9	40
	305.9	242.9	40
¹³ C ₁₂ -TCDF	315.9	251.9	40
	317.9	253.9	40
TCDD	319.9	256.9	26
	321.9	258.9	26
¹³ C ₁₂ -TCDD	331.9	267.9	26
	333.9	269.9	26
PeCDF	337.9	274.9	40
	339.9	276.9	40
¹³ C ₁₂ -PeCDF	349.9	285.9	40
	351.9	287.9	40
PeCDD	353.9	290.9	26
	355.9	292.9	26
¹³ C ₁₂ -PeCDD	365.9	301.9	26
	367.9	303.9	26
HxCDF	373.8	310.9	40
	375.8	312.9	40
¹³ C ₁₂ -HxCDF	385.8	321.9	40
	387.8	323.9	40

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碰撞能量 (eV)
HxCDD	389.8	326.9	26
	391.8	328.8	25
¹³ C ₁₂ -HxCDD	401.8	337.9	26
	403.8	339.9	25
HpCDF	407.8	344.8	40
	409.8	346.8	40
¹³ C ₁₂ -HpCDF	419.8	355.8	40
	421.8	357.8	40
HpCDD	423.8	360.8	24
	425.8	362.9	24
¹³ C ₁₂ -HpCDD	435.8	371.8	24
	437.8	373.8	24
OCDF	441.7	378.8	40
	443.7	380.8	40
¹³ C ₁₂ -OCDF	455.8	391.8	40
	453.8	389.8	40
OCDD	457.7	394.8	24
	459.7	396.8	24
¹³ C ₁₂ -OCDD	469.7	405.8	24
	471.7	407.8	24

样品前处理

在进行仪器分析前，需要对样品进行复杂的萃取和净化程序。在萃取前，向样品中加入已知量的 EPA-1613 LCS ¹³C₁₂ 标记标准品，并平衡 12 小时。然后，使用正己烷和二氯甲烷 (1:1, V/V) 通过 Soxhlet 或 ASE 法萃取样品。浓缩后，提取物经三根色谱柱净化：酸化硅胶色谱柱、酸/碱/AgNO₃/中性多层硅胶色谱柱，以及活性炭色谱柱。用甲苯洗脱最终提取物，然后在柔和纯净氮气流下蒸发至适当体积。为进行回收率定量，在仪器分析前加入了 EPA-1613 ISS ¹³C₁₂ 标记标准品。图 1 所示为样品前处理步骤的汇总流程图。

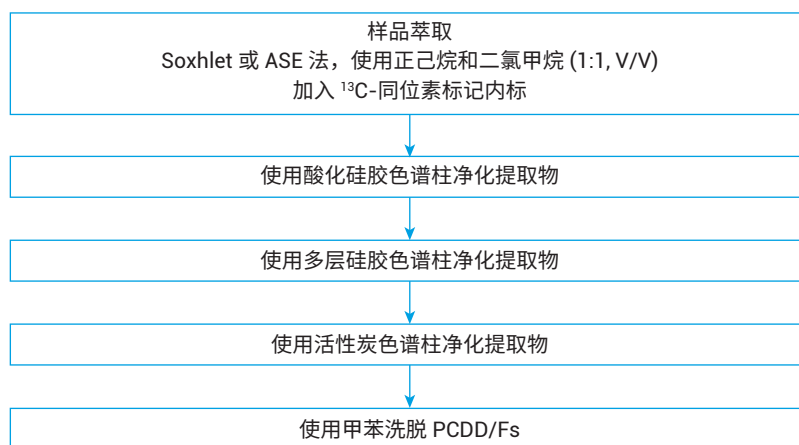


图 1. 样品萃取和净化程序的流程图

结果与讨论

二噁英/呋喃异构体的分离

图 2 所示为 17 种 PCDD/Fs 同类物的 MRM 色谱图，分析时间为 58 分钟。该图展示了 17 种 PCDD/Fs 同类物的出色分离，并对难以分离的六氯二苯并对二噁英/呋喃异构体进行了放大显示。

校准和平均相对响应因子

采用优化的 GC/MS/MS 方法对校准标样溶液 EPA-1613 CVS (CS1–CS5) 进行了分析 (表 4)。按照 EPA 方法 1613^[5]，通过 5 点校准曲线获得了各种 2,3,7,8-氯代 PCDD/Fs 同类物的相对响应因子 (RRF)。所有同类物的 RSD 均小于 3.0%，完全符合 EPA 小于 15% 的要求 (表 5)。

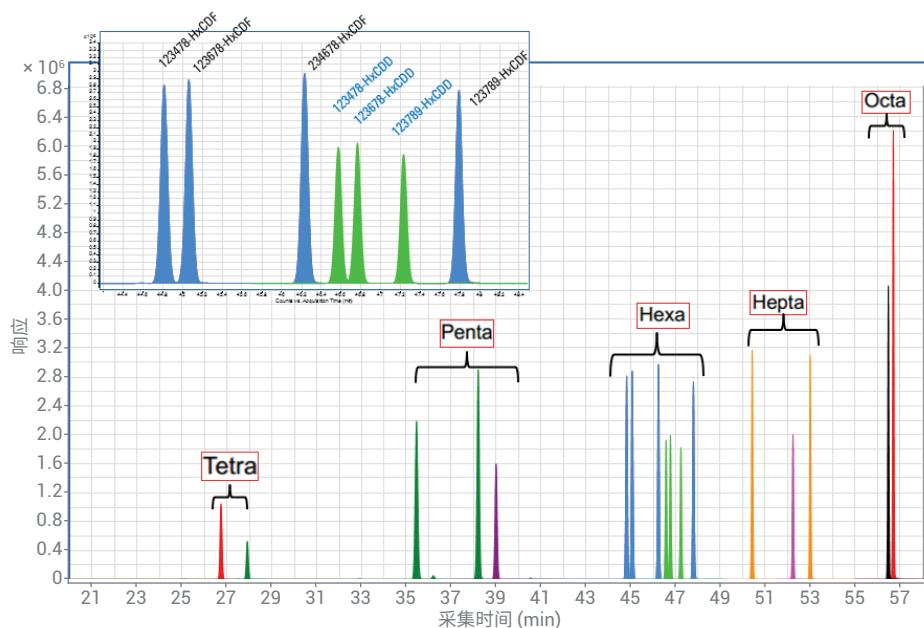


图 2. 17 种 PCDD/Fs 同类物的 MRM 色谱图

表 4. 校准溶液中各同类物的浓度 (ng/mL)

天然 PCDD/Fs	1613 CS1	1613 CS2	1613 CS3	1613 CS4	1613 CS5
2,3,7,8-TCDF	0.5	2	10	40	200
1,2,3,7,8-PeCDF	2.5	10	50	200	1000
2,3,4,7,8-PeCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,7,8-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,6,7,8-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
2,3,4,6,7,8-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,7,8,9-HxCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2.5	10	50	200	1000
OCDF	5.0	20	100	400	2000
2,3,7,8-TCDD	0.5	2	10	40	200
1,2,3,7,8-PeCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,7,8-HxCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,7,8,9-HxCDD	2.5	10	50	200	1000
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	2.5	10	50	200	1000
OCDD	5.0	20	100	400	2000

检测限 (LOD)

根据 US EPA 方法, 通过对低浓度 PCDD/Fs (稀释 10 倍的 CS1) 的标准溶液进行七次重复分析, 确定 PCDD/Fs 的 LOD。获得的 17 种 PCDD/Fs 同类物的 LOD 范围为 0.008–0.08 pg/μL, 表明 GC/MS/MS 方法具有出色的灵敏度, 足以用于 PCDD/Fs 的超痕量分析。分析结果如表 5 所示。图 3 所示为 17 种 PCDD 和 PCDF 同类物的 MRM 色谱图 (将 CS1 稀释 10 倍, 浓度范围从 0.05 pg/μL 至 0.5 pg/μL)。

表 5. 各同类物校准的平均 RRF 以及相应的 LOD

化合物名称	平均 RRF	RSD (%)	LOD (pg/μL)
2,3,7,8-TCDF	1.07	1.07	0.01
1,2,3,7,8-PeCDF	1.03	1.27	0.049
2,3,4,7,8-PeCDF	1.06	1.39	0.039
1,2,3,4,7,8-HxCDF	1.02	1.81	0.04
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1.01	1.89	0.04
2,3,4,6,7,8-HxCDF	1.08	1.36	0.04
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.95	1.46	0.04
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.99	1.56	0.04
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.98	1.17	0.04
OCDF	1.56	1.48	0.08
2,3,7,8-TCDD	1.15	0.86	0.008
1,2,3,7,8-PeCDD	1.07	1.96	0.04
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1.05	2.04	0.04
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.96	1.39	0.05
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.88	2.46	0.04
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.98	1.18	0.04
OCDD	1.00	0.95	0.08

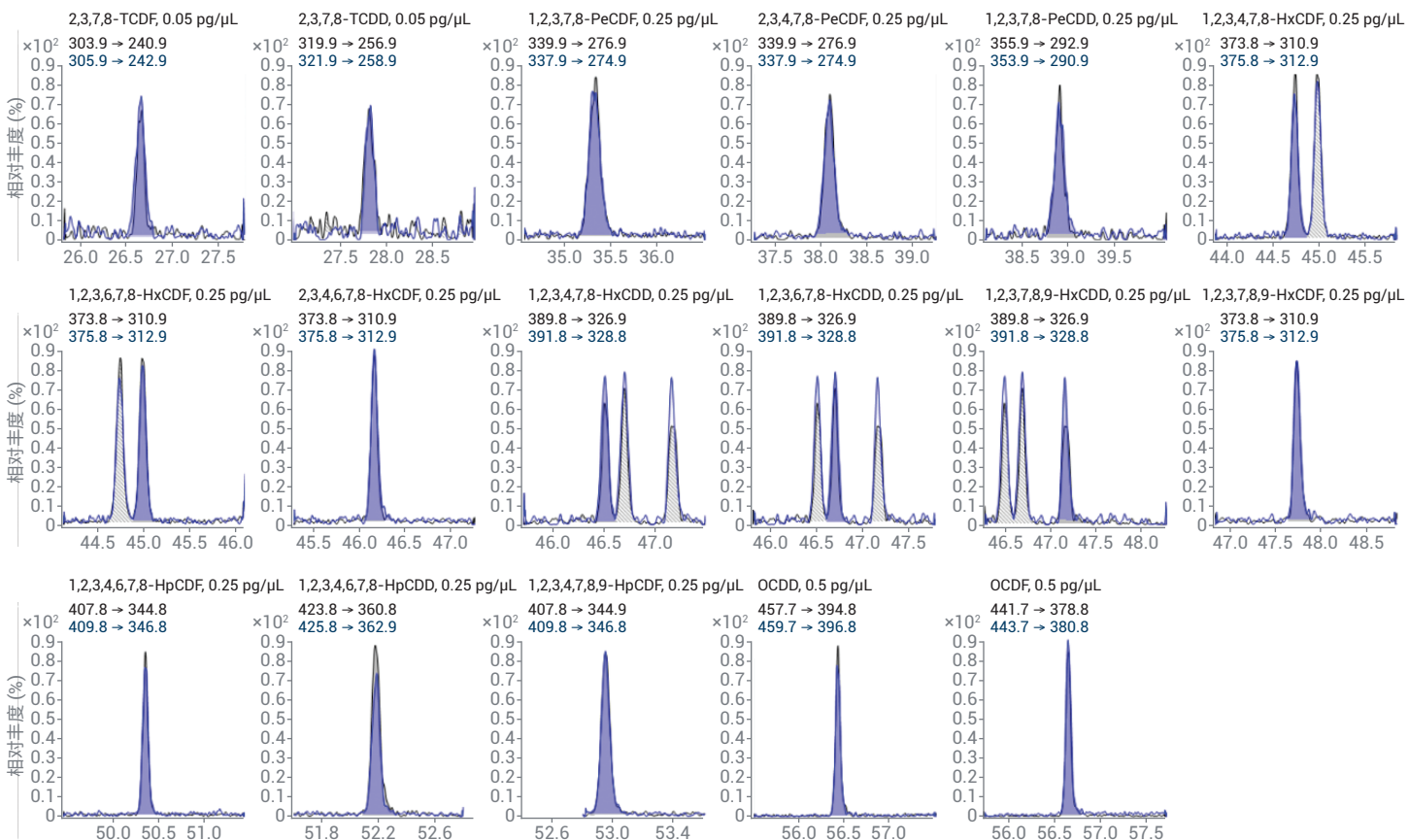


图 3. 17 种 PCDD 和 PCDF 同类物的 MRM 色谱图 (将 CS1 稀释 10 倍, 浓度范围从 0.05 pg/μL 至 0.5 pg/μL)

分析方法的评估

为评估所提出的 GC/MS/MS 方法的性能，使用该方法对有证标准物质 (CRM) 鱼组织进行了五次重复分析。由表 6 可知，鱼组织中 PCDD/Fs 的浓度范围为 0.23–13.6 pg/g，使用 GC/MS/MS 方法获得的所有同类物的平均结果均在认证的参考值范围内。GC/MS/MS 的总 I-TEQ 结果为 19.92 pg/g，与认证参考值 19.81 pg/g 接近。五次重复进样的 RSD 小于 10%。CRM 的 17 种 PCDD/Fs 同系物的平均离子丰度比（图 4）均在 CS1–CS5 的平均离子丰度的 ±15% 范围内，满足 EPA 1613 的要求。总体而言，所提出的分析方法具有良好的准确度和精密度。

表 6. 有证标准物质 (WMF-01) 中 PCDD/Fs 的分析

	认证参考值 (pg/g)	分析值 (n = 5)	
		平均值 (pg/g)	RSD (%)
2,3,7,8-TCDF	13.1 ± 4.9	12.97	1.0
1,2,3,7,8-PeCDF	1.53 ± 1.4	1.34	8.6
2,3,4,7,8-PeCDF	7.15 ± 2.2	6.43	3.3
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.86 ± 1.0	1.01	6.5
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.51 ± 0.7	0.62	6.0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.68 ± 1.2	0.67	3.9
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.25 ± 0.4	0.26	8.8
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1.01 ± 1.9	2.76	2.8
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.30 ± 0.5	0.61	3.8
OCDF	1.38 ± 2.1	2.94	8.7
2,3,7,8-TCDD	13.1 ± 4.4	13.6	2.4
1,2,3,7,8-PeCDD	2.72 ± 1.3	2.61	2.9
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.22 ± 0.3	0.27	7.4
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.88 ± 0.4	0.81	9.2
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.27 ± 0.4	0.23	7.6
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.59 ± 0.7	0.65	6.5
OCDD	3.91 ± 6.2	2.01	7.9
总 I-TEQ	19.81	19.92	

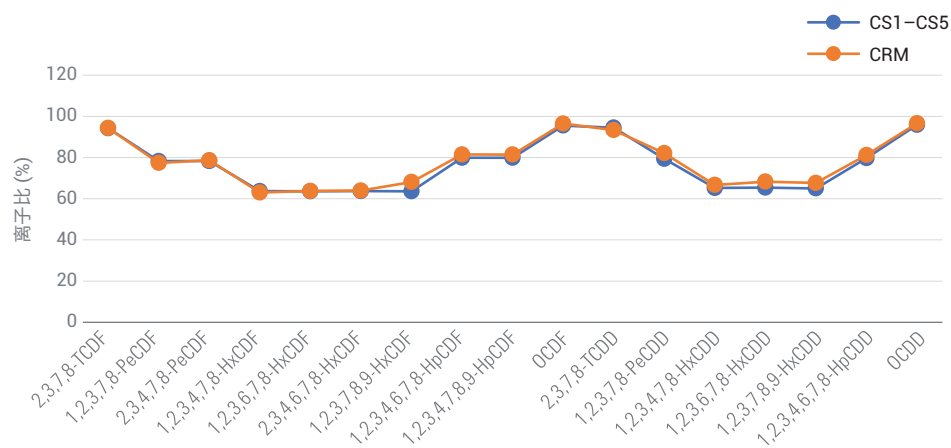


图 4. CS1–CS5 和 CRM 的 17 种 PCDD/Fs 同系物的平均离子丰度比对比

GC/HRMS 与 GC/MS/MS 分析飞灰样品中 PCDD/Fs 的比较

对 6 个飞灰样品进行了萃取处理，并使用 GC/HRMS 进行分析。随后，将同一样品转移至 GC/MS/MS 再次进行分析。图 5 展示了 GC/HRMS 和 GC/MS/MS 两组测定的样品结果对比（总 I-TEQ），所分析的 6 个飞灰样品浓度范围为 2.1–32.6 pg (I-TEQ)/g。GC/MS/MS 结果与使用 GC/HRMS 获得的结果具有很好的一致性。

结论

Agilent 7010 GC/MS/MS 系统对 17 种高毒性 PCDD/Fs 同系物实现了可重现的高灵敏度检测。将该方法应用于有证标准物质的分析，GC/MS/MS 获得的结果与认证参考值接近，证明其有很好的适用性。GC/HRMS 和 GC/MS/MS 分析结果比较的一致性，表明了 7010 GC/MS/MS 系统很好的适用性。

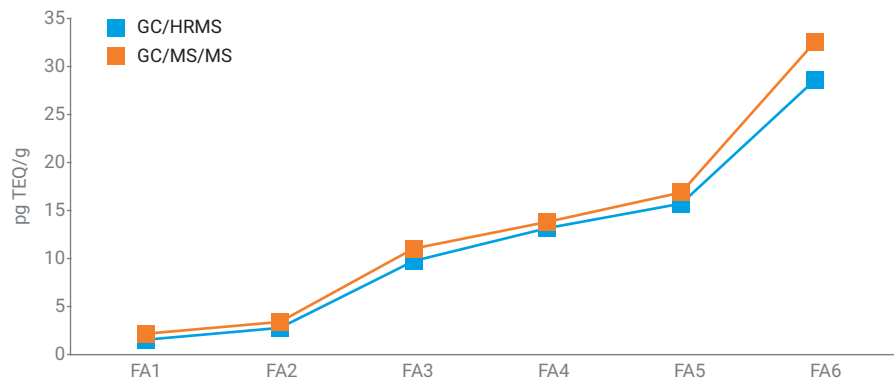


图 5. GC/HRMS 和 GC/MS/MS 两组测定的样品结果对比（总 I-TEQ）

参考文献

1. Zheng, G. J. et al. Polychlorinated Dibenzop-Dioxins and Dibenzofurans Pollution in China: Sources, Environmental Levels and Potential Human Health Impacts [J]. *Environment International* **2008**, 34(7), 1050–61
2. Union, P. O. of the E. Commission Regulation (EU) No 709/2014 of 20 June 2014 amending Regulation (EC) No 152/2009 as regards the determination of the levels of dioxins and polychlorinated biphenyls Text with EEA relevance, CELEX1 <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/d626811a-fdcc-11e3831f-01aa75ed71a1/language-en> (accessed Nov 16, 2018)
3. Bhavasar, S. P. et al. Converting Toxic Equivalents (TEQ) of Dioxins and Dioxin-Like Compounds in Fish From One Toxic Equivalency Factor (TEF) Scheme to Another [J]. *Environment International* **2008**, 34(7), 915–21
4. Riener, J, 二恶英及二恶英类 PCB 的 GC/MS/MS 确证方法的验证, 安捷伦科技公司应用简报, 出版号 5991-6590CHCN, **2016**
5. Method 1613, Tetra- Through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS. **1997**. *United States Environmental Protection Agency*

使用热裂解和 GC/MSD 定量分析环境样品中的微塑料

作者

George Dierkes,
Susanne Becher,
Heike Schumacher,
Corinna Földi
德国联邦水文研究所,
德国科布伦茨

Tim Lauschke,
Thomas Ternes
德国科布伦茨-兰道大学,
综合自然科学研究所

Joerg Reiner
安捷伦科技有限公司

摘要

环境样品中微塑料的定量分析正受到越来越多的关注。本应用简报介绍了一种利用加压液体萃取 (PLE) 配合热裂解气相色谱-质谱 (pyr-GC/MS) 的稳定分析方法, 可通过 Agilent 5977B GC/MSD、Agilent 7890B GC 和 Agilent MassHunter 工作站软件对环境基质中的低浓度聚乙烯 (PE)、聚丙烯 (PP) 和聚苯乙烯 (PS) 等微塑料进行定量分析。对实际环境样品的线性、定量限 (LOQs) 和重现性进行了评估。GC/MSD 解决了过往方法检测限较高的问题, 对 PE、PP 和 PS 微塑料的定量可低至 0.005 mg/g。在分析 0.005–1 mg/g 的校准样品时获得了出色的线性 ($R^2 > 0.97$)。加标样品和环境样品的相对标准偏差 (RSDs) 均低于 10%, 证明了系统出色的重现性和可靠性。

前言

微塑料通常指长度小于 5 mm 的塑料颗粒和碎片。这些颗粒从多种来源进入环境，并持续存在数百年或更长时间，从而增加了生物体摄入这些颗粒并在体内积累的风险。因此，人们越来越关注土壤、水和有机物等环境样品中微塑料的定量分析。

由于微塑料的分子量很高，且在大多数溶剂中溶解性较差，因此使用传统的 GC/MS 或 LC-串联 MS 方法定量分析环境样品中的微塑料一直面临着挑战。红外光谱 (IR) 等光谱技术可用于测量微塑料，并提供颗粒数量、化学性质以及尺寸和面积分布等信息。作为对这些技术的补充，热萃取与 GC/MS 联用可提供对监管和监测而言至关重要的质量浓度信息^[1,2]。尽管热裂解气相色谱-质谱 (pyr-GC/MS) 方法展现出了应用前景，但其以往存在检测限较高、受基质相关的背景干扰以及样品中微塑料颗粒分布不均匀等问题。

Dierkes 等人提出，可靠地测定环境样品中的微塑料所需的定量限应低于 1 mg/g^[3]。为了克服分析限制，他们开发了一种利用加压液体萃取 (PLE) 结合 pyr-GC/MS 的稳定分析方法，可定量分析土壤和污水污泥基质等复杂沉积物中低浓度的微塑料^[3]。作者设计的方法可对常见的微塑料，例如聚乙烯 (PE)、聚丙烯 (PP) 和聚苯乙烯 (PS) 进行相对高通量的分析。本应用

简报展示了使用 Agilent 5977B GC/MSD、Agilent 7890B GC 和 Agilent MassHunter 工作站软件执行该方法的适用性。我们还特别评估了 GC/MSD 的线性、定量限 (LOQs)、重现性以及实际环境样品中 PE、PP 和 PS 的检测和定量性能。除这类丰度较高的微塑料之外，这项技术还可以分析其他塑料类型，例如尼龙聚合物、聚氨酯 (PUR)、聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET)、乙烯-醋酸乙烯酯 (EVA)、聚氯乙烯 (PVC)、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯 (ABS) 和碳氟聚合物。

实验部分

标样和样品前处理

由于 PE 和 PP 在大多数溶剂中的溶解性较差，因此几乎无法通过稀释储备溶液的方法来制备校准溶液。此外，直接称量聚合物也不适用，因为称量极少量标准品配制低浓度校准样品时，容易产生称量误差。所以，我们使用惰性基质（煅烧海砂）连续稀释储备混合物来制备校准样品。将 PE、PS (PSS 聚合物) 和 PP (Sigma-Aldrich) 在低温研磨机中研磨，然后各取 250 mg 与煅烧海砂混合，以制得 10 g 储备混合物。然后将混合物在行星式研磨机中均质化 20 min。将 1-2 g 储备混合物与砂子混合以进行连续稀释，获得 0.005-10 mg/g 范围内的各个聚合物校准浓度。在每个稀释步骤后将混合物均质化。

进行 PLE 时，取 1 g 样品放入 10 mL 不锈钢萃取室中，并使用溶剂萃取仪器完成萃取。使用甲醇进行预萃取，以减少基质效应。使用四氢呋喃在 185 °C 和 100 bar 下萃取微塑料。将提取物收集至含 200 mg 煅烧硅胶的 60 mL 样品瓶中。萃取完成后，加入 10 μL 聚苯乙烯-d5 (270 μg/mL，溶于二氯甲烷，购自 Polymer Source) 作为内标。然后将溶剂蒸发，并使用硅胶捕获沉淀的聚合物。用二氯甲烷冲洗粘附在样品瓶上的微塑料，至少三次。然后将硅胶均质化 5 min。

Dierkes 等人发表的论文中提供了有关标样制备和样品前处理步骤的详细信息。

校准、方法验证（粒径实验除外）、空白（仅包含沙子）和环境样品均使用相同步骤进行萃取。

热裂解 GC/MS 分析和仪器

所有样品的热裂解 GC/MS 分析均使用 EGA/PY-3030D Multi-Shot 热裂解仪和 AS-1020E Auto-Shot 进样器 (Frontier Laboratories) 搭配 7890B 气相色谱仪和 5977B GC/MSD。分析每个样品时，称取 20 mg 均质硅胶置于 80 μL 热裂解杯中 (Eco-Cup LF, Frontier Laboratories)，并在 600 °C 下进行热裂解。

7890B 气相色谱仪配备 30 m × 0.25 mm 内径，0.25 μm 膜厚的色谱柱，固定相为 (5% 苯基)-甲基聚硅氧烷（例如 HP-5ms UI, 19091S-433UI）。安捷伦惰性 GC/MS 接

口流路设计用于提升对低浓度分析物的分析性能，扩展定量和检测范围。5977B GC/MSD 配备 Extractor EI 离子源，并在选择离子监测 (SIM) 模式下运行，以最大程度地提高灵敏度。Extractor EI 离子源可最大程度增加离子源产生并传输至四极杆质量分析器的离子数量。GC/MS 的运行时间为 29 min。表 1 和表 2 汇总了运行方法时采用的 GC/MS 系统配置和参数。

表 1. Agilent 7890B 气相色谱参数

参数	值
进样口	分流/不分流 (SSL)
模式	分流
分流比	20:1
总流速	28.2 mL/min
载气	氦气
进样口衬管	内径 4 mm, 分流, 带玻璃毛
进样口衬管部件号	5183-4711
进样口温度	320 °C
柱温箱	
初始柱温箱温度	40 °C
初始柱温箱温度保持时间	2 min
升温速率 1	20 °C/min
最终温度 1	320 °C
最终温度保持时间 1	13 min
总运行时间	29 min
色谱柱	
类型	5%-苯基-甲基聚硅氧烷固定相
长度	30 m
直径	0.25 mm
膜厚度	0.25 µm
控制模式	恒流
流速	1.2 mL/min
进样口连接	分流/不分流进样口 (SSL)
出口连接	MSD

表 2. Agilent 5977B GC/MSD 参数

参数	值
型号	5977B
离子源	XTR EI 350
调谐文件	EI-Atune.u
模式	SIM
溶剂延迟	2 min
电子倍增器电压增益模式	1
痕量离子检测	关闭
四极杆温度	150 °C
离子源温度	230 °C
传输线温度	280 °C
驻留时间	100 ms

数据采集和定量方法

采用 MassHunter 工作站软件修订版 B.07.00 进行数据采集和分析。在 SIM 模式下监测每种聚合物特定的热裂解产物，并通过 MassHunter 工作站软件进行定量。表 3 显示了所监测的聚合物热裂解产物的离子和保留时间。

使用 MassHunter 软件的定量分析工具以 1/x 权重因子拟合校准曲线，以进行定量。

表 3. 各聚合物和热裂解产物所监测的离子和保留时间

聚合物	热裂解产物	监测的离子 (m/z)	保留时间 (min)
聚丙烯	2,4-二甲基-1-庚烯	126, 70	4.89
聚乙烯	1,14-十五碳二烯	81	10.29
聚乙烯	1-十五碳烯	97	10.32
聚苯乙烯	苯乙烯	104, 91	5.54
聚苯乙烯-d5	苯乙烯-d5	109	5.50

蓝色：定量离子

方法评估与验证

萃取和分析未受微塑料污染的基质与海沙 (3 wt. %) 的混合物，以评估方法的选择性。基质包括樱桃木、月见草叶、紫杉针、腐殖酸、鲤鱼片、螯虾、机油和滤纸，代表了环境基质的常见成分，例如蛋白质、脂肪和多糖。

分析 1 g 含 3 wt % 腐殖酸的砂子 (加标 0.05 mg/g 和 0.75 mg/g PE、PP 和 PS)，确定方法的回收率。对经过数次萃取的 5 个环境样品进行重复分析，以确定方法的重现性。

在两种不同加标浓度下 (1 mg/g 和 10 mg/g)，分析两种不同粒径的 PE (10–50 µm 和 200–400 µm) 与砂子的混合物，以确定微塑料粒径对重现性的影响以及获得代表性试样所需的最小样品量。

为了评估方法对实际环境样品的有效性，采集各种基质至少 500 g，包括沉积物、河流悬浮物、路边土壤、盆栽土壤和污水污泥，进行风干、前处理、萃取，并按照上述流程进行至少 3 次重复分析。小心避免塑料工具和容器对样品的污染。

结果与讨论

线性和定量限

图 1 显示了 0.25 mg/g 混标的提取离子色谱图。

使用聚苯乙烯-d5 内标计算相对峰面积，以绘制校准曲线。所有聚合物均得到最低

0.005 mg/g 的线性校准曲线 ($R^2 > 0.97$)。PP 和 PS 的线性响应最高浓度为 1 mg/g。PE 线性响应的最高浓度为 10 mg/g。

由于塑料在大多数实验室中的使用非常普遍，因此存在微塑料的假阳性检测问题。因此，作者将 LOQs 定义为 95% 的空白样品显示较低信号的浓度。使用 11 个空

白样品的平均相对响应，计算出具有单侧置信区间 ($t_{(p=0.95; n-1=10)} = 1.812$) 的空白聚合物浓度作为 LOQs (表 4)。

表 4. 定量限

聚合物	LOQ (mg/g)
PP	0.007
PE (m/z 97)	0.007
PE (m/z 81)	0.16
PS	0.008

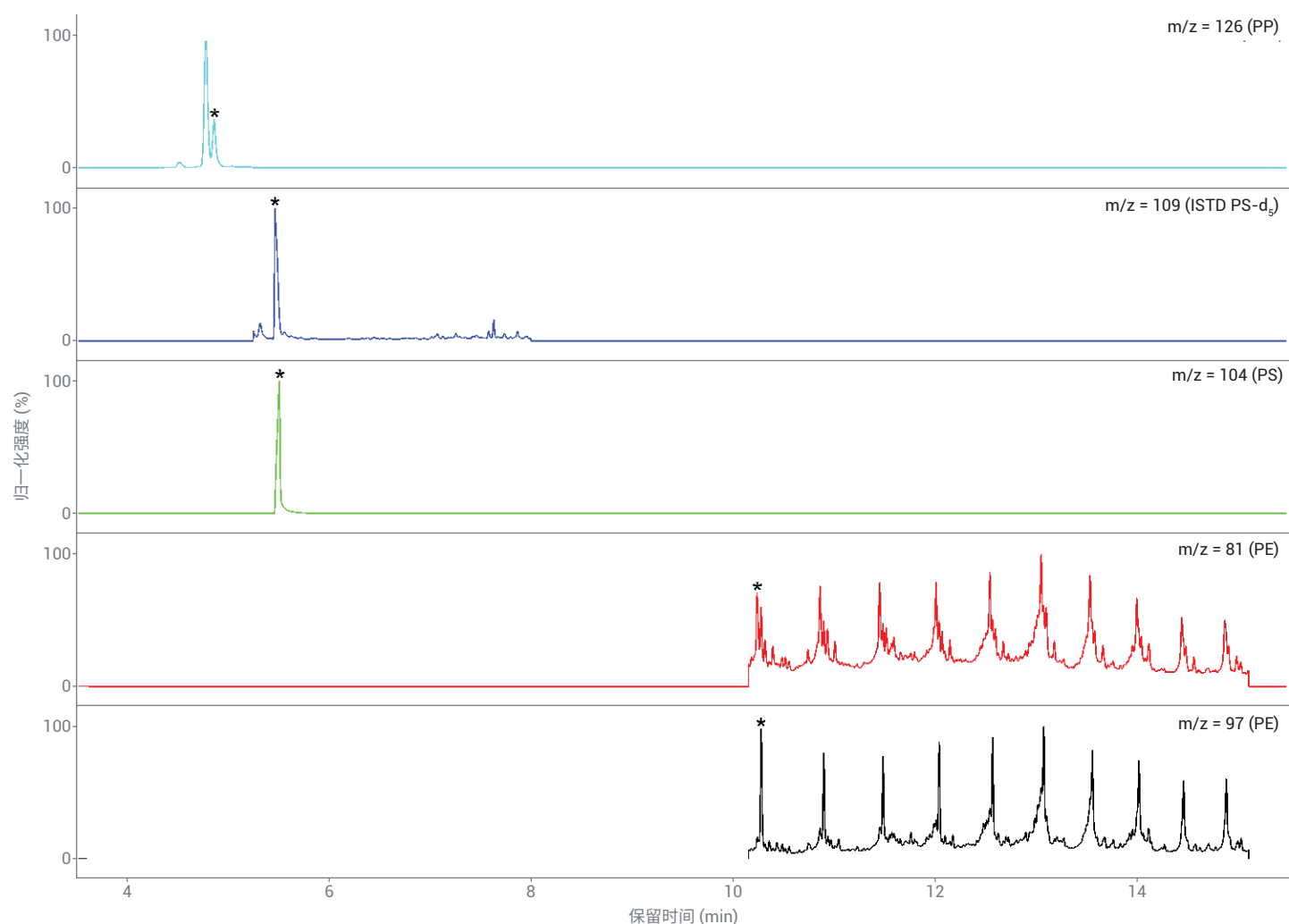


图 1. 0.25 mg/g 混标的提取离子色谱图

方法选择性

由于 pyr-GC/MS 定量方法基于对聚合物热裂解产物的间接定量 (表 3), 因此评估了未受污染的环境样品中基质成分产生的干扰。所测试的基质未显示对 PP 的干扰。木质基质使 PS 的背景信号增加 0.042 mg/g。尽管氨基酸苯丙氨酸是苯乙烯的热裂解前体, 但富含蛋白质的鱼类基质未产生干扰。在用甲醇预萃取的过程中已消除了蛋白质。因此, 只要不存在高比例的木质成分, 在对环境样品中的 PP 和 PS 进行 pyr-GC/MS 定量分析时, 因天然存在的物质导致分析结果出现明显偏差的可能性较低。但是, PE 的定量会受到干扰。例如, 30 mg 机油产生的离子强度近似于 1.1 mg PE 标准品。此结果表明, 当检测受石油或汽油污染的环境样品时可能会存在问题。总体而言, 使用甲醇进行预萃取、使用 THF 进行溶剂萃取并使用指示离子进行定量的方法具有很高的特异性, 能够对含有大量有机化合物的基质进行微塑料定量分析。

方法回收率和重现性

表 5 显示了腐殖酸和海砂中 PP、PS 和 PE 的回收率。考虑到 $\pm 20\%$ 的统计不确定性, 基质效应未造成问题。其他有机材料 (鱼片、鳌虾、树叶和针叶) 的回收率相似。相对标准偏差 (RSDs) 低于 10%, 证明方法具有出色的重现性和可靠性。

表 5. 不同聚合物和加标浓度下的回收率

聚合物	加标浓度 (mg/g)	平均回收率 (%) [*]
PP	0.05	95 ± 9
	0.75	85 ± 15
PS	0.05	77 ± 19
	0.75	118 ± 17
PE (m/z = 81)	0.05	< LOQ
	0.75	123 ± 1
PE (m/z = 97)	0.05	114 ± 35
	0.75	131 ± 15

^{*} 置信区间 $t_{(0.95, n-1=2)} = 4.303$

由于对 20 mg (80 μ L 热裂解杯可处理的最大样品量) 样品进行直接 (未萃取) pyr-GC/MS 分析时, RSDs 高达 50%, 因此将样品量增加至 1000 mg, 并使用四氢呋喃进行 PLE 处理。10–50 μ m 的颗粒在 200 mg 重量下的 RSDs < 10%, 而 200–400 μ m 的颗粒, 即使在 1000 mg 重量下 RSD 也高达 21%。这些结果表明, 如果样品含有大于 200 μ m 的微塑料颗粒, 则在 PLE 之前应在低温研磨机中研磨, 以获得均匀的颗粒分布。

表 6. 环境样品分析结果

样品	N	PE		PP		PS	
		平均值 (mg/g)	RSD%	平均值 (mg/g)	RSD%	平均值 (mg/g)	RSD%
土壤 1	7	0.79	6.0	0.039	7.4	0.054	9.6
土壤 2	6	0.85	7.3	0.040	9.2	0.057	7.9
污泥 1	7	3.03	6.8	0.100	12.3	0.61	4.1
污泥 2	7	3.27	4.2	0.081	10.0	0.50	4.0
盆栽土壤	7	2.81	7.1	< 0.007	不适用	< 0.008	不适用

方法对环境样品的分析性能

对沉积物、悬浮颗粒、土壤和污水污泥中的 PP、PE 和 PS 污染物进行了分析。分析结果如表 6 所示。值得注意的发现包括:

- 在河流沉积物中, 检测到的 PP 和 PE 浓度分别为 0.032 ± 0.001 mg/g 和 0.028 ± 0.006 mg/g, 而未在 LOQ (0.008 mg/g) 以上检测到 PS。在悬浮物中检测到的 PE 和 PP 最高浓度分别为 0.98 ± 0.02 mg/g 和 0.055 ± 0.010 mg/g
- 在污水污泥中检测到的所有 3 种聚合物的浓度范围为 0.08 ± 0.02 mg/g (PP) 至 3.3 ± 0.3 mg/g (PE)
- 盆栽土壤中的 PE 浓度与污水污泥相似, 但仅检测到痕量的 PP。未检测到 PS
- 在路边土壤中检测到了所有 3 种聚合物, 最高浓度达到 0.85 ± 0.07 mg/g (PE)

这些结果表明, 5977B GC/MSD 适用于对不同类型基质中的 PE、PP 和 PS 微塑料进行 pyr-GC/MS 检测和定量。

结论

本实验表明, Agilent 5977B GC/MSD 搭配 Agilent 7890B GC 和 Agilent MassHunter 工作站软件, 通过 Dierkes 等人发表的 pyr-GC/MS 方法可以对环境中的微塑料进行稳定、可靠的常规定量分析。GC/MSD 解决了以往方法所面临的检测限较高的问题。具体而言, 成功实现了对测试基质和实际环境样品中 PE、PP 和 PS 微塑料的低浓度定量分析 (最低至 0.005 mg/g)。在分析 0.005 mg/g–1 mg/g 的校准样品时, PE、PP 和 PS 均获得了出色的线性 ($R^2 > 0.97$)。PE 线性响应的最高浓度为 10 mg/g。加标样品和环境样品的相对标准偏差 (RSDs) 均低于 10%, 证明了系统出色的重现性和可靠性。

参考文献

1. Robey, D, 微塑料分析易如反掌, 安捷伦科技公司, 出版号 5994-1584ZHCN, **2019**
2. Scircle, A. et al. Occurrence of Microplastic Pollution at Oyster Reefs and Other Coastal Sites in the Mississippi Sound, USA: Impacts of Freshwater Inflows from Flooding. *Toxics* **2020**, 8(2), 35. <https://doi.org/10.3390/toxics8020035>
3. Dierkes, G. et al. Quantification of microplastics in environmental samples via pressurized liquid extraction and pyrolysis-gas chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **2019**, 411, 6959–6968. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02066-9>

Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统 微塑料定性 / 定量分析解决方案



摘要

目前国际上将直径小于 5 mm 的塑料纤维、颗粒或薄膜定义为微塑料。研究表明，粒径越小，比例越高。低于 100 微米的颗粒肉眼不可见，但是能够进入食物链中，给生物和人类健康带来潜在威胁。

海洋、河流、土壤、空气和饮用水中的微塑料污染问题引起人们越来越多的关注。研究人员致力于开发标准分析检测流程以表征微塑料颗粒的种类、尺寸、形状、数量以及总质量。

Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统可实现 10 微米以上微塑料的全自动检测：自动聚焦、自动定位微塑料，自动拍照、自动采集每颗微塑料的红外谱图，并通过谱图比对和检索，确定每颗微塑料的化学特性。在自动生成的最终检测报告中，包括颗粒照片、红外谱图、定性结果以及百分比、粒径和粒径分布等定量统计结果。

仪器与软件

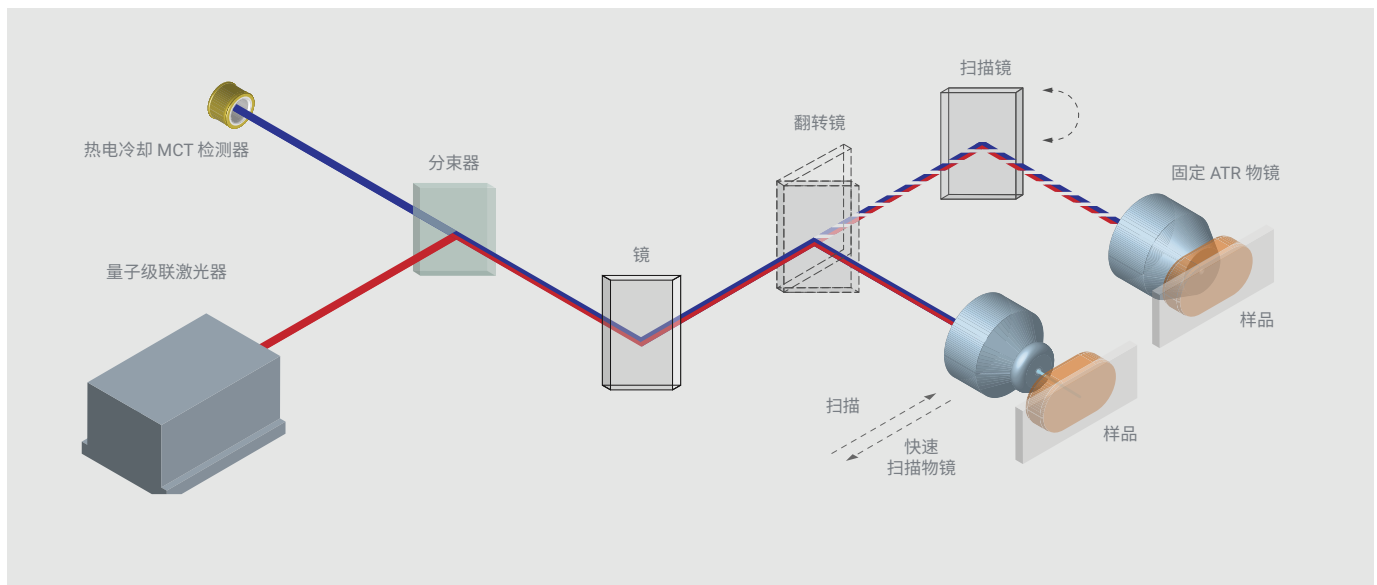
Agilent 8700 LDIR 突破了传统的傅立叶变换红外成像技术，其采用全新的激光红外成像，与专门开发的微塑料检测工作流程相结合，可极大地提高检测精度、简化工作流程并提高检测效率。

8700 LDIR 激光红外成像系统采用安捷伦专利量子级联激光器 (QCL) 作为光源，能量为传统傅立叶变换显微红外 / 红外成像系统的 10000 倍以上，且准直激光经过光路转换后直接照射到样品。即使微米级小样品，也能够获得信噪比足够高的红外谱图，从而实现准确性。

量子级联激光器可以在一定光谱范围内以极快的速度自动调节激发波长，得到样品的红外谱图。整个系统无需傅立叶变换红外光谱仪的干涉仪和分束器等器件，具有极高的稳定性和耐用性，对实验室环境的要求较低。



Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统



8700 LDIR 激光红外成像系统内部光路，其中红色线为从光源到样品的光路，蓝色线为从样品返回到检测器的信号光路

8700 LDIR 具有两种工作成像模式

衰减全反射 (ATR) 模式和反射模式。软件可以在这两种模式之间自动切换。ATR 模式适用于大颗粒样品 (大于 500 微米) 的定性分析。这些颗粒通常在肉眼下可轻松识别, 且很容易被提取出来逐一检测。常规实验室的台式红外光谱仪也可以轻松检测大颗粒样品, 不属于本白皮书讨论的内容。反射模式适用于小颗粒样品的全自动检测。仪器配备的高倍可见光相机可首先自动识别颗粒, 然后由反射物镜取得样品的红外谱图。

大视野高倍可见光相机可通过鼠标拖拽触发后进行自动变焦, 获得样品的完整视图和微塑料的精确形貌, 并得到样品的可见照片、尺寸和形状信息。

8700 LDIR 物镜和快速扫描结构具有极高的分辨率

在反射模式下, 分辨率可以在 1-40 微米之间自动调节; 在 ATR 模式下, 分辨率可以在 0.25-2 微米之间自动调节。借助如此高的分辨率, 可轻松实现微塑料颗粒的检测。

8700 LDIR 采用半导体制冷的 MCT 检测器

在中红外区域具有最佳的灵敏度和响应。同时克服了传统傅立叶显微红外 MCT 检测器需要液氮制冷的弊端。该系统即开即用, 在保持高灵敏度的同时, 具有极高的便利性和经济性。

微塑料全自动检测软件 Clarity

为提高微塑料的检测效率, 满足海量微塑料的检测需求, 安捷伦专门开发出微塑料全自动检测软件 Clarity。借助该软件, 只需点击几下鼠标, 即可完成微塑料的检测。即使没有任何化学背景和仪器操作经验的人员, 也可以在 15 分钟内熟练掌握微塑料的检测操作。



样品前处理

从环境中获取的样品中除包含微塑料颗粒以外，还夹杂有其他大量有机 / 无机物质。为避免影响检测结果，需要根据不同基质样品的特性采取不同的前处理方法。样品前处理的目标是去除微塑料颗粒以外的其他有机和无机杂质，从而获得准确、可靠的检测结果。

安捷伦与业内专家合作，按照样品来源不同，分别制定了用于土壤样品、河水 / 海水样品、污水样品、沉积物样品及动物样品的前处理流程。这些样品前处理流程仅供用户参考，用户需要根据其具体的样品特性选用合适的流程。

提示：

- a. 在前处理过程中，尽量选择金属或玻璃材质器皿，避免使用塑料材质带来交叉污染；
- b. 建议在前处理过程中，选用 10 μm 或 20 μm 孔径的金属滤膜；
- c. 样品前处理时间需要视样品特性而定，以最终萃取得到的包含微塑料的乙醇溶液澄清为准：如果溶液浑浊，则需要适当延长消解等过程的时间，或增加一次消解。



土壤样品前处理流程

1. 取土壤样品 2-3 kg，自然风干；
2. 研磨（采用手动研磨，以保证塑料不受剪切力破坏），然后依次过 5 mm 和 1 mm 筛网；
3. 取 50 g 过筛后的土壤样品，用 30% H_2O_2 消解 2-3 天，直至上层液体澄清；
4. 置于低于 35 °C 的烘箱中进行干燥；
5. 采用饱和 NaCl 溶液进行重力浮选（ $\rho < 1.2 \text{ g/cm}^3$ 的颗粒会浮起来），微塑料较轻，将漂浮在上清液中；
（注：也可选用 NaI 或 ZnCl_2 饱和溶液进行浮选。这两种溶液密度高于 NaCl，对一些高密度聚合物的分离效果更出色。NaCl 溶液的优势在于无毒、价廉，而 NaI 及 ZnCl_2 均有毒性，因此用户需要根据实际样品的特性评估试剂的选择。）
6. 虹吸上清液，并用 10 μm 金属滤膜进行过滤；
7. 用 30% H_2O_2 冲洗滤膜上的颗粒，继续消解几小时；
8. 再次经 10 μm 金属滤膜过滤。



河水 / 海水样品前处理流程

1. 取水样 5 L, 经 10 μm 金属滤膜过滤;
2. 消解: 用 30% H_2O_2 将滤膜上的颗粒冲到玻璃器皿中, 将玻璃器皿放入振荡培养箱中在 65 $^\circ\text{C}$ 下恒温振荡至澄清, 在振荡速度为 80 rpm/min 的条件下, 约需 1.5 天;
(注: 是否加热振荡, 需视实际样品及用户 SOP 而定。)
3. 再次经 10 μm 金属滤膜过滤。



沉积物样品前处理流程

1. 湿法筛分去除大块杂质: 使用 0.15 g/L 十二烷基硫酸钠 (SDS) 溶液, 通过 2 mm 筛对所有沉积物进行湿筛, 去除样品中较大的杂质, 如树枝、树叶和砾石。采用 Retsch AS 200 振动筛进行湿筛。将收集的液体置于室温下沉降一周。为减少液体量, 将大部分液体倒出, 并用 10 μm 不锈钢网进行过滤。将滤网置于一级超纯水中超声处理 15 min, 滤膜上的所有颗粒会萃取到水溶液中, 然后冲回沉降的样品浆中, 并用玻璃容器分装, 置于 -20°C 下冷冻干燥。
2. 消解有机质: 取干燥后的样品 10 g, 加入 150 mL 一级超纯水中, 搅拌 15 min; 缓慢加入 145 mL 30% w/w 的 H_2O_2 , 在 30 $^\circ\text{C}$ 下搅拌 48 h; 超纯水冲洗玻璃器皿的内部, 再沉降 48 h; 然后用 10 μm 滤膜对液体进行过滤。
3. 重力分离去除无机物颗粒: 将滤膜上萃取处的所有颗粒使用 11 M ZnCl_2 溶液 (密度为 1.7 kg/L) 作为分离介质, 进行浮选, 并采用 0.8 μm 滤膜过滤。首先将第 2 步 10 μm 滤膜上的沉积物全部转移到直的玻璃漏斗中 (该漏斗为专门进行重力浮选使用的改造漏斗装置), 并将滤膜置于 ZnCl_2 溶液中超声处理 15 min, 然后将萃取溶液转移至漏斗中加入 ZnCl_2 溶液至 600-700 mL, 从下方通气将样品搅拌 30 min。再用 ZnCl_2 溶液冲洗漏斗的内部, 冲掉粘附在玻璃壁上的颗粒。将漏斗放置 24 h, 之后将顶部大约 8 cm 溶液通过漏斗的侧孔排空, 再加入新的 ZnCl_2 溶液重新填充漏斗后, 重复浮选过程。总共重复充气 3 次。最后用 10 μm 滤膜过滤通过浮选序列获得的所有液体。用一级超纯水冲洗滤膜上的颗粒, 并在 0.15 g/L SDS 溶液中超声处理 15 min, 然后加入 0.15 g/L SDS 溶液至 150 mL。
4. 利用纤维素酶进行酶解。
5. 芬顿消解 (芬顿试剂: 110 mL 30% w/w H_2O_2 , 48 mL 0.1 M NaOH, 46 mL 0.1 M FeSO_4)。
6. 过滤。



污水样品前处理流程

1. 活性污泥处理：去除污水中的有机污染物（需静置几周）；
2. 经 10 μm 金属滤膜过滤；
3. 将过滤后的金属膜置于芬顿试剂中超声消解；
4. 重复上述步骤 2；
5. 利用饱和 NaCl 溶液进行密度分离，虹吸上清液；
6. 重复上述步骤 2；
7. 将滤膜置于 30% H_2O_2 中超声并搅拌，分离微塑料和杂质；
8. 用 10 μm 金属滤膜过滤上清液。



动物样品前处理流程

1. 将动物样品冷冻干燥为一整块生物样品。
2. 消化软组织：将冷冻干燥的生物放入烧杯中，每 1 g 干重添加 60 mL 5 M KOH。然后将溶液置于 45° C 下恒温搅拌 48 h。在终止消化之前，加入 100 mL 一级超纯水。将溶液再搅拌 15 min，用 10 μm 滤膜滤除未消化的颗粒。为防止滤膜堵塞，必要时用 300 mL 0.07 M 乙酸洗涤滤膜上的颗粒，再用 400 mL 一级超纯水进行洗涤。
3. 将滤膜上的颗粒置于 0.15 g/L SDS 溶液中，超声处理 15 min，去除滤膜上的颗粒。并用 SDS 溶液将体积调节至 150 mL。
4. 利用纤维素酶进行酶解。
5. 芬顿消解（芬顿试剂：110 mL 30% w/w H_2O_2 ，48 mL 0.1M NaOH，46 mL 0.1 M FeSO_4 ）。
6. 过滤。

注：a. 上述样品前处理流程也可用于其他检测仪器，例如傅立叶变换显微红外光谱仪 / 显微拉曼光谱仪等；

b. 如需了解有关前处理试剂、所用设备和操作步骤等更多详细信息，请拨打安捷伦服务热线座机：800-820-3278；手机：400-820-3278。

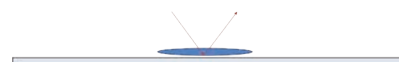
样品转移

Agilent 8700 LDIR 激光红外成像可对微塑料颗粒进行全自动扫描。为保证所有颗粒在反射模式下均获得高信噪比的红外谱图，需要将处理好的微塑料颗粒转移至 Kevley 窗片上。

Kevley 窗片在中红外区域具有极高的反射率。激光穿过其表面的微塑料并到达窗片表面后发生反射；反射回来的光再次穿过微塑料颗粒，并到达检测器，即激光两次穿过样品。因此，通过 8700 LDIR 采集得到的红外光谱与其他方式透射采集的红外光谱高度一致，可使用商业化红外谱库进行检索分析。而且，Agilent Clarity 软件自带微塑料红外谱库，通常无需额外采购谱库。

Kevley 窗片货号为：M7300-61042，尺寸为 75 x 25 mm，每盒包含 25 片；与该窗片搭配使用的窗片底座货号为：M7300-61037。

注：Kevley 窗片为常规实验室耗材，可重复使用。请通过超声清洗，不可触碰表面镀层，以免产生划痕，影响后续使用。



微塑料颗粒检测光路示意图

微塑料颗粒从滤膜转移至窗片的具体步骤如下：

1. 将滤膜置于盛有无水乙醇溶液的粗玻璃试管中（建议用户使用金属滤膜，以免有机膜造成交叉污染；所用的乙醇体积由滤膜大小决定，滤膜应完整浸入到乙醇中）。
2. 将试管超声处理 1-2 小时，将超声频率调至最低，温度低于 35 °C。
3. 如果所用乙醇体积较大，建议将滤膜取出后，对乙醇进行氮气吹扫，体积浓缩至低于 1 mL。浓缩过程可使用大烧杯将试管罩住，以防室内微塑料微尘造成交叉污染。
4. 将浓缩后的样品转移至 2mL 玻璃小瓶内，放入 4 °C 冰箱内冷藏；在取样检测之前，可以将玻璃瓶内的液体超声处理 10-20 min。

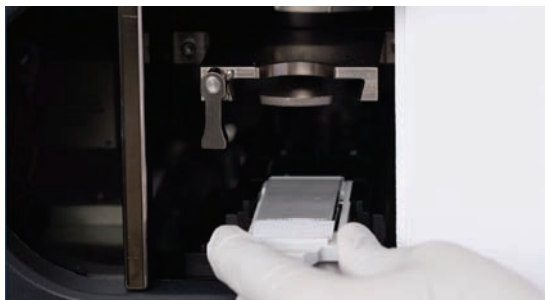
注：如样品前处理完全，则最终获得的乙醇溶液为澄清溶液。如果样品溶液浑浊，则表明样品前处理可能不彻底，需要重复前处理操作，否则样品中夹杂的杂质可能会对检测结果造成干扰。

5. 使用微量滴管移取 20 μ L 左右样品滴至 Kevley 窗片上，可以在窗片多个位置滴加乙醇溶液。静置，待乙醇完全挥发后进行检测。

注：

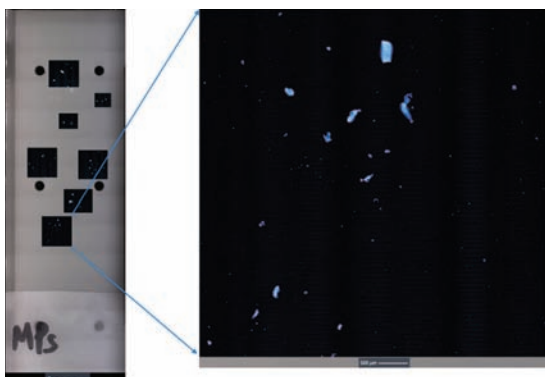
- a. 需要用马克笔将 Kevley 窗片的右侧涂黑。
- b. 干燥过程中可使用大烧杯将窗片完全罩住，以防污染。
- c. 如果微塑料颗粒较少，尽可能将样品溶液浓缩至更小的体积，以减少滴加到窗片上的次数，并提高颗粒聚集程度，从而节省检测时间。
- d. 如果微塑料颗粒较多，则建议将溶液适当稀释后再转移至窗片上，以使颗粒更好地分散在整个窗片，放置颗粒在窗片上发生堆叠。

检测流程及数据



将样品底座插入样品台上

1. 将已滴好微塑料样品的 Kevley 窗片放置在样品底座上，将底座插入样品台中。



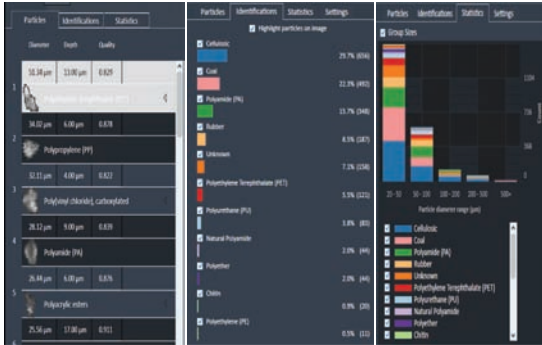
扫描选择区域后，软件自动识别出的微塑料颗粒分布

2. 启动 Clarity 软件微塑料检测模块，样品台自动运行至检测位置并完成自动对焦。
3. 在 Kevley 上选择微塑料所在的检测区域，软件将用 1800 cm^{-1} 处固定波数对选定面积进行快速精确扫描，并自动完成区域内微颗粒的识别、定位、拍照，识别精度可达 1 微米。

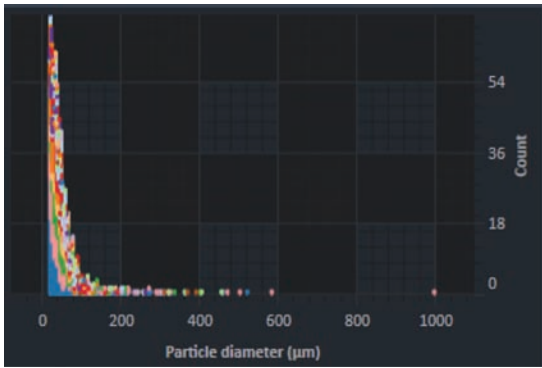


对识别出的颗粒采集自动采集可视化图像及红外全谱

4. 软件自动选择无颗粒空白区域，采集背景光谱，然后依次采集识别出的所有微颗粒的红外光谱，并完成光谱的定性检索。



从左至右依次为：颗粒定性结果、粒径、深度及谱库比匹配度的结果；各种颗粒的数量及占比结果；不同尺度的微塑料颗粒数量统计结果



不同种类的微塑料颗粒尺度分布

#	ID	Width	Height	Diameter	Aspect Rat/Area	Perimeter	Eccentricity	Circularity	Sphericity	Identification	Quality	Is Valid	
1	A1	381	391	203.1474	0.482957	32412.5	1.017699	0.7970193	0.3933288	0.76467188	Unknown	0.69794	TRUE
2	A2	20	20	21.11054	1	350	68.28427	0.3264709	0.94327116	1 Silica	0.680564	TRUE	
3	B1	100	100	135.7017	0.588511	14320	400.4241	0.8201158	0.5062153	0.84202086	Polypropylene (P)	0.949056	TRUE
4	B2	58	461	130.131	0.139351	13300	1112.548	0.973123	0.1392797	0.640192130	Unknown	0.62866	TRUE
5	B3	40	45	42.9674	0.898089	1450	146.5685	0.4688968	0.8882922	0.919877885	Silica	0.717731	TRUE
6	B4	45	40	43.26051	1.325	1337.5	133.6396	0.5699898	0.81462029	0.980092655	Cellulose	0.78331	TRUE
7	B5	45	35	45.0052	1.261714	1262.5	133.6396	0.5979396	0.88832291	0.980542124	Cellulose	0.744773	TRUE
8	B6	27	42	29.31851	0.611579	675	116.5085	0.3205185	0.6242902	0.87742957	Polyethylene Tern	0.875264	TRUE
9	B7	38	38	38.76834	1	620	96.50514	0.4220563	0.8709465	0.962907663	Rubber	0.664179	TRUE
10	B8	30	25	27.05798	1.2	375	92.42841	0.3769932	0.84883485	0.918331833	Chitin	0.673025	TRUE
11	B9	25	18	20.34284	1.4	325	72.42841	0.600043	0.7787304	0.962962963	Polyamide (PA)	0.756176	TRUE
12	C1	116	295	132.3796	0.398812	13762.5	1394.472	0.7612942	0.13309944	0.448202015	Unknown	0.448078	TRUE

导出为.csv格式的数据中包含的信息

5. 实时更新检测报告，其主要内容如下：

- “颗粒”项目下，包括所有颗粒的图片、尺寸、面积、定性结果等信息；
- “鉴别”项目下，包含每种微塑料的数目和百分比的定量信息；
- “统计”项目下，包括不同粒径范围内微塑料的种类分布等统计信息。

此外，所有原始谱图均可导出为 .SPC 格式的谱图。如果对自动比对结果存疑，可选择重新手动谱库比对，也可以将其导入到第三方的谱图检索和分析软件中进行二次确认。用户手动修正后的结果将在软件中进行标注。

所有统计数据也可导出为 .CSV 格式，其中将包含微塑料 ID、尺寸、定性结果以及用户是否对结果进行修正等信息。

注：定性结果的准确度取决于以下几点：

- 标准谱库中的谱图数量和质量。目前内置谱库中包含最常见的 41 种聚合物。同时，Clarity 软件支持用户自建谱库，用户可以购买标准品并采集谱图后，将其导入谱库中。安捷伦也将与用户合作，充实现有谱库并为所有的 Clarity 用户免费升级。
- 软件将匹配度高于 65% 的结果用于定性分析，如匹配度低于 65%，则标记为未检出。而匹配度取决于谱图的质量。为获得具有更高信噪比的谱图，即每个微塑料颗粒均能被清晰聚焦，建议用户采用不同孔径的滤膜（如 10–200 μm 和 200–500 μm ）对样品分级处理后进行检测。

结论

Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统可全自动完成微塑料颗粒的定性和定量分析，提供颗粒种类、数量、百分比、尺寸、面积、可见照片以及粒径分布等信息。其分辨率高且检测效率高，适用于环境、食品和生物体等领域的微塑料检测。

应用拓展

具有现场检测需求的用户可以选择 Agilent Cary 4500 便携式红外光谱系统或 Cary 4300 手持式红外光谱系统。以上两款仪器均标配 ATR 附件、内置电池和 Pad，可直接在现场快速定性检测大颗粒塑料样品。



左图: Cary 4500 便携红外现场检测塑料样品; 右图: Cary 4300 手持式红外检测塑料样品

在实验室中定性分析大颗粒塑料，也可以选择配备 ATR 附件的 Cary 630 FTIR。



在实验室中使用 Cary 630 FTIR 进行大颗粒塑料样品定性分析

附录

常见聚合物及其主要来源：

1. 聚乙烯 (PE)：塑料袋、储藏箱
2. 聚丙烯 (PP)：瓶盖、绳子、齿轮、皮带
3. 聚苯乙烯 (PS)：餐具、杯子、漂浮物、冷却器、集装箱
4. 聚酰胺 (Nylon, PA)：绳子、渔网、纺织品
5. 聚酯 (PES)：纺织品、船艇
6. 丙烯酸 (AC)：乳胶漆、大衣、医疗设备
7. 聚甲醛 (POM)：汽车零部件、电子设备
8. 聚乙烯醇 (PVA)：洗衣凝珠、鱼饵
9. 聚氯乙烯 (PVC)：塑料管道、电影胶片、集装箱
10. 聚甲基丙烯酸酯 (PMA)：薄片安全玻璃，比如汽车挡风玻璃
11. 聚对苯二甲酸二醇酯 (PET)：软饮料、纺织纤维
12. 醇酸树脂 (AKD)：树脂、涂料
13. 聚氨酯 (PU)：船舶漆、建筑材料、汽车零部件

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



微信搜一搜

安捷伦视界

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。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2021
2021年8月，中国出版
5994-3793ZHCN

