

超高压液相色谱/质谱联用法测定地表水中特定污染物

刘浩, 邹塞

(徐州市环境监测中心站, 江苏 徐州 221006)

摘要: 采用超高压液相色谱/质谱联用法测定地表水特定项目中包括微囊藻毒素-LR 在内的 13 种污染物, 对测定条件进行优化, 使得各目标化合物均能在 3 min 内检测完毕。试验表明, 方法在各测定范围内线性良好, 相关系数均 > 0.99, 各目标化合物的方法检出限为 0.12 $\mu\text{g/L}$ ~ 8.40 $\mu\text{g/L}$, 地表水样的加标回收率在 62.0% ~ 104% 之间, 6 次平行测定的 RSD < 6%。用该方法测实际水样, 阿特拉津和马拉硫磷被检出, 质量浓度分别为 0.6 $\mu\text{g/L}$ 和 0.7 $\mu\text{g/L}$ 。

关键词: 特定污染物; 超高压液相色谱/质谱联用法; 地表水

中图分类号: O657.63 文献标识码: B 文章编号: 1006-2009(2014)02-0039-03

The Determination of Certain Pollutants in Surface Water using Ultra High Pressure Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry

LIU Hao ZOU Sai

(Xuzhou Environmental Monitoring Centre, Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

Abstract: 13 pollutants in surface water including *Microcystin-LR* were determined using ultra high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method (UPLC-MS/MS). The determination condition was optimized so that all the target compounds could be detected within 3 minutes. The results indicated that: all of the calibration curves showed good linear relationship with a correlation coefficient above 0.99. The determination limits of the targets were from 0.12 $\mu\text{g/L}$ to 8.40 $\mu\text{g/L}$ and the recovery rates of practical surface water samples were between 62.0% and 104%. 6 parallel samples were determined and the relative standard deviations (RSDs) were between 1.8% and 5.7%. When determining the practical water samples using this method, only atrazine and malathion were detected, with a mass concentration of 0.6 $\mu\text{g/L}$ and 0.7 $\mu\text{g/L}$ respectively.

Key words: Specific pollutants; Ultra high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry method; Surface water

自 2008 年以来, 环境监测部门将集中式生活饮用水地表水源地纳入日常监测工作中。目前, 地表水 109 项中有机污染物的分析, 多数采用气相色谱法、气质联用法和液相色谱法, 少数项目如吡啶、联苯胺等仍采用分光光度法, 这些方法在使用时存在一些不足^[1]。一是前处理繁琐, 多数半挥发性有机物的前处理以液液萃取和提取液浓缩为基础, 过程中用到大量有机溶剂, 对分析人员存有潜在危害; 二是检出限难以满足要求, 如用紫外分光光度法分析联苯胺, 用液相色谱法(紫外检测器)分析微囊藻毒素-LR, 方法检出限与《地表水环境质量标准》(GB 3838-2002)^[2]中规定的限值相当, 这

些污染物在实际样品分析中存在检出即超标的现象, 很难严谨地判断其在水体中的分布状态; 三是衍生过程复杂, 苦味酸和丙烯酰胺用气相色谱法分析前均需衍生化处理^[3], 操作繁琐且存在杂质干扰、衍生效果差等问题, 影响最终定量。

液质联用技术以其较高的灵敏度和准确的定性定量性能, 在日常分析中发挥着越来越大的作用^[4], 许多国家正逐步将此技术应用于环境监测领域。近年来, 国内也开始研究液质联用技术, 而

收稿日期: 2013-06-25; 修订日期: 2014-02-05

作者简介: 刘浩(1979—), 男, 江苏徐州人, 工程师, 本科, 主要从事有机污染物监测分析工作。

将该法应用于地表水分析的报道目前尚不多见。今采用超高压液相色谱/质谱联用法(UPLC-MS/MS)测定地表水样品中 13 种污染物(有机胺类:苯胺、联苯胺、丙烯酰胺;有机磷类:马拉硫磷、乐果、敌敌畏、敌百虫、内吸磷;爆炸物类:吡啶、苦味酸;农药类:甲萘威、阿特拉津;微囊藻毒素-LR 等),该方法操作便捷,定性定量准确,对测定相对分子质量大、热稳定性差、极性较强和离子化效率高的化合物具有优势^[5]。

1 试验

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 1290 型超高压液相色谱/6460 型三重

四级杆质谱联用仪,美国安捷伦有限公司;色谱柱:ZORBAX SB-C₁₈(2.1 mm × 50 mm, 1.8 μm)。

乙腈(色谱纯),Fisher 公司;甲醇(色谱纯),TEDIA 公司;乙酸(优级纯),上海安普科技公司;纯净水,屈臣氏公司。

1.2 水样前处理与测定

水样经 0.2 μm 滤膜过滤后,移取 1.00 mL 至样品瓶,直接进样测定,外标法定量。

1.3 仪器条件

UPLC-MS/MS 仪器参数见表 1。液相色谱的柱流量为 0.3 mL/min,进样体积 10 μL(苦味酸进样体积 1 μL)。质谱的干燥气温度为 325 °C,流量为 6 L/min;鞘气温度为 350 °C,流量为 8 L/min。

表 1 UPLC-MS/MS 仪器参数

Table 1 The instrument parameters of UPLC-MS/MS

目标化合物	流动相比例	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碎裂电压 <i>U</i> /V	碰撞能量 <i>Q</i> /eV	毛细管电压 <i>U</i> /kV	模式
微囊藻毒素-LR	乙腈(25%) 和 0.05% 乙酸水溶液(75%)	995.5	135 ^① 、107	210	80	4.5	(+)
甲萘威	乙腈(70%) 和 0.05% 乙酸水溶液(30%)	202	145 ^① 、127	60	10	4	(+)
阿特拉津	乙腈(70%) 和 0.05% 乙酸水溶液(30%)	216	174 ^① 、96	120	20	4	(+)
苯胺	乙腈(30%) 和 0.05% 乙酸水溶液(70%)	94.1	77.1 ^① 、51.1	40	20	4	(+)
联苯胺	乙腈(20%) 和 0.05% 乙酸水溶液(80%)	185.2	167.1 ^① 、151.1	120	30	4	(+)
丙烯酰胺	乙腈(15%) 和 0.05% 乙酸水溶液(85%)	72	55 ^① 、27	35	10	2	(+)
苦味酸	甲醇(70%) 和水(30%)	228	182 ^① 、198	120	15	3	(-)
吡啶	甲醇(70%) 和 0.05% 乙酸水溶液(30%)	80.1	53.1 ^① 、50	20	40	1	(+)
马拉硫磷	甲醇(80%) 和 0.05% 乙酸水溶液(20%)	331.1	127 ^① 、285	80	6	2	(+)
乐果	甲醇(80%) 和 0.05% 乙酸水溶液(20%)	230	125 ^① 、199	100	20	3	(+)
敌敌畏	甲醇(80%) 和 0.05% 乙酸水溶液(20%)	221	109 ^① 、145	120	10	3	(+)
敌百虫	甲醇(80%) 和 0.05% 乙酸水溶液(20%)	259	109 ^① 、222.8	100	10	3	(+)
内吸磷	甲醇(80%) 和 0.05% 乙酸水溶液(20%)	281.1	89.1 ^① 、61.1	130	10	3	(+)

①为定量离子。

2 结果与讨论

2.1 UPLC-MS/MS 条件优化

分别考察乙腈和 0.05% 乙酸水溶液、甲醇和 0.05% 乙酸水溶液两种流动相,采用全扫描方式得到各化合物的准分子离子。其中 2 种爆炸物和 5 种有机磷农药在甲醇和 0.05% 乙酸水溶液流动相中的离子峰形、离子稳定性较好。逐一改变各目标化合物的流动相比,在保证离子强度的前提下,达到最佳洗脱效果,使得 13 种目标化合物均能在 3 min 内检测完毕。

由于上述 13 种目标化合物在化学性质上存在很大差异,分离时所需仪器参数不同,故无法在单一模式下实现分离、测定。利用质谱的工作原理,逐一对各目标化合物的准分子离子进行碰撞反应,

确定各化合物的定量和辅助定性离子,再进行选择离子监测(MRM)。优化后的色谱峰达到最佳响应,灵敏度得到显著改善。

通过对流动相、流动相比、毛细管末端电压、碰撞池电压、毛细管电压、进样体积和毛细管压力等参数的优化,各目标化合物在 UPLC-MS/MS 中均能被逐一测定,测定时间短,分析效率高。

2.2 有机磷农药测定条件的选择

以甲醇(80%) 和 0.05% 乙酸水溶液(20%) 作流动相,对有机磷农药标准样品做 ESI 正离子模式全扫描,发现每种有机磷农药在产生 [M+H]⁺ 时,易产生很强的 [M+Na]⁺ 离子,一些 [M+Na]⁺ 离子强度甚至是 [M+H]⁺ 离子强度的数倍。当加入碰撞能量对 [M+Na]⁺ 离子做子离子扫描时,只有

内吸磷的子离子强度保持稳定,而马拉硫磷、乐果、敌敌畏和敌百虫的子离子强度明显减弱,且在多反应监测模式下线性关系变差,因此内吸磷选用 $[M + Na]^+$ 离子检测,其他4种化合物选用 $[M + H]^+$ 离子检测。另外,不同毛细管电压对马拉硫磷的离子化效率影响较大。分别在1 kV、2 kV、3 kV、4 kV、5 kV的电压下试验,结果表明,在2 kV电压下马拉硫磷的峰形和强度达到最佳,最终选取毛细管电压为2 kV。

2.3 苦味酸进样体积的选择

用100 $\mu\text{g/L}$ 的苦味酸标准溶液试验,当进样体积为10 μL 时,苦味酸的谱图出现拖尾甚至双峰现象,无法准确定量,见图1(a),这与色谱柱的耐受性能以及酚类化合物的化学性质有关^[6-7]。尝试将进样体积减少为1 μL ,拖尾和双峰现象明显改善,见图1(b)。因此,减少进样体积是改善苦味酸峰形的有效方法。

2.4 方法效能验证

配制系列标准溶液,在1.3条件下测定。以定量离子峰面积(y)对应标准溶液质量浓度(x)绘制校准曲线,结果见表2。

依据《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》(HJ 168-2010)的规定,平行测定7次各目标化合物的空白加标样品,并计算标准偏差 s ,按

$MDL = t_{(n-1, 0.99)} \times s$ 计算方法检出限[其中, $t_{(n-1, 0.99)}$ 为置信度99%、自由度($n-1$)时的 t 值, n 为重复测定的次数]。当 $n=7$ 时, $t_{(n-1, 0.99)}$ 取值3.143。各化合物的检出限见表2。

对实际地表水样进行各目标化合物的加标回收试验,加标量均为各线性范围的最小值,试验结果见表2。

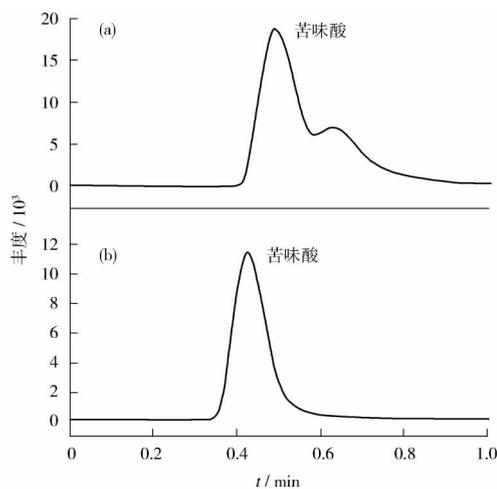


图1 苦味酸标准溶液(100 $\mu\text{g/L}$)色谱峰

Fig. 1 The chromatographic peak of picric acid standard solution

表2 方法效能验证试验结果

Table 2 The test results of method effectiveness validation

化合物	线性范围 $\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	回归方程	相关系数 r	检出限 $\rho/(\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	加标回收率/%	RSD/%
微囊藻毒素-LR	50.0 ~ 1 000	$y = 14.6x - 664$	0.998 9	8.40	71.2	3.3
甲萘威	10.0 ~ 100	$y = 19.5x + 27.6$	0.999 9	2.00	94.4	4.2
阿特拉津	2.00 ~ 50.0	$y = 1.40 \times 10^3 x - 1.98 \times 10^3$	0.999 9	0.21	91.8	1.8
苯胺	5.00 ~ 100	$y = 333x + 908$	0.997 6	0.53	83.0	5.4
联苯胺	2.00 ~ 50.0	$y = 84.2x + 226$	0.998 8	0.13	103	5.2
丙烯酰胺	2.00 ~ 20.0	$y = 317x + 1.74 \times 10^3$	0.996 9	0.22	62.0	3.9
吡啶	10.0 ~ 200	$y = 9.78x + 153$	0.990 5	1.60	89.3	5.7
苦味酸	5.00 ~ 100	$y = 326x + 411$	0.999 6	0.22	77.1	2.0
马拉硫磷	10.0 ~ 200	$y = 60.2x + 1.16 \times 10^3$	0.999 6	0.38	88.1	1.9
乐果	5.00 ~ 100	$y = 116x + 2.86 \times 10^3$	0.997 7	0.23	93.9	3.8
敌敌畏	5.00 ~ 100	$y = 157x + 309$	0.999 7	0.28	90.2	1.8
敌百虫	10.0 ~ 200	$y = 59.2x + 113$	0.999 8	1.00	104	2.0
内吸磷	5.00 ~ 100	$y = 543x + 8.84 \times 10^3$	0.999 3	0.12	93.3	2.4

由表2可见,方法在各线性范围内线性良好,相关系数均 >0.99 ,各目标化合物的方法检出限为0.12 $\mu\text{g/L}$ ~ 8.40 $\mu\text{g/L}$,实际地表水样的加标回收率在62.0% ~ 104%之间,基本满足地表水回收率

指标要求6次平行测定的RSD $<6\%$ 。

2.5 实际样品测试

在蔺家坝取水口采样,水样经0.2 μm 滤膜过
(下转第44页)

表 3 两种方法对不同含氮水样的测定结果对比
Table 3 Contrast of different samples in two methods

水样	测定值 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		相对偏差 / %
	本方法	国标方法	
5.00 mg/L 氯化铵溶液	4.85	4.95	1.0
2.00 mg/L L-谷氨酸溶液	1.88	1.95	1.8
生活污水	19.5	18.5	2.6
某制造公司总排口	58.2	63.2	4.1

3 结语

采用消解仪 - 麝香草酚分光光度法测定水样中总氮,方法的精密性、准确度良好。相同水样分别用国标方法与本方法测定,结果无统计学差异,表明该方法满足生活污水和工业废水中总氮含量的测定要求。

[参考文献]

- [1] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. 水和废水监测分析方法[M]. 4 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 254 - 257.
- [2] 环境保护部. HJ 636 - 2012 水质 总氮的测定 碱性过硫

(上接第 41 页)

滤后直接测定。结果,阿特拉津和马拉硫磷被检出,质量浓度分别为 0.6 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 0.7 $\mu\text{g}/\text{L}$,其余化合物均未检出。

3 结语

采用超高压液相色谱/质谱联用技术测定地表水中 13 种污染物,除微囊藻毒素 - LR 外,其余污染物检出限均能满足《地表水环境质量标准》(GB 3838 - 2002) [2] 限值要求。该方法灵敏度高,精密性、准确度良好,便捷快速,亦可用于应急监测中微囊藻毒素 - LR 的快速定性分析。该方法为地表水饮用水源地特定项目测定方法的完善提供了新思路,进一步提高了我国环境污染监测水平,在地表水和环境应急分析中的应用将会更加广泛。有研究表明,复杂基质水样加标回收率相对较低 [8 - 10],试验未对基质较复杂的水样分析,水质基体效应对质谱离子化效率的影响还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 胡冠九. 我国环境监测技术存在的问题及对策[J]. 环境监测管理与技术 2007, 19(4): 1 - 3.

酸钾消解紫外分光光度法[S]. 北京: 中国环境科学出版社 2012.

- [3] 曹群,孙鸿燕,许士雄. 水样总氮测定空白值偏高的探讨[J]. 环境监测管理与技术 2008, 20(3): 60 - 61.
- [4] 王立平. 水中总氮测定 - 前处理方法的改进及注意事项[J]. 宁夏农林科技 2012, 53(12): 153 - 154.
- [5] 韩耀宗,念宇,宋新山. 碱性过硫酸钾消解 - 离子色谱法测定水质总氮[J]. 中国环境监测, 2010, 26(4): 37 - 40.
- [6] 康勤书,周永强,陈浩. $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ - 离子色谱法测定水中总氮量[J]. 分析实验室 2008, 27(5): 112 - 114.
- [7] 莫怡玉,茅丽秋,吴卓智. 碱性过硫酸钾氧化 - 气相分子吸收光谱法测定水中总氮[J]. 环境监测管理与技术, 2010, 22(4): 47 - 49.
- [8] 朱卫东. 应用 MultiN/C3000 型总有机碳/总氮分析仪测定水中的总氮[J]. 北方环境 2012, 27(5): 212 - 213.
- [9] 赵洋甬,赵建平,黄绍荣,等. 闭管消解 - 萘乙二胺分光光度法测定水中总氮[J]. 中国环境监测 2012, 28(1): 57 - 59.
- [10] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5750.5 - 2006 生活饮用水标准检验方法 无机非金属指标[S]. 北京: 中国标准出版社 2006.
- [11] 赵天光. 生活饮用水中硝酸盐氮($\text{NO}_3^- - \text{N}$) 标准检验法之麝香草酚分光光度法的改进[J]. 中国供水卫生 2000, 8(3): 22 - 23.

- [2] 国家环境保护总局,国家质量监督检验检疫总局. GB 3838 - 2002 地表水环境质量标准[S]. 北京: 中国环境科学出版社 2002.
- [3] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5750.8 - 2006 生活饮用水标准检验方法 有机物指标[S]. 北京: 中国标准出版社 2006.
- [4] 宋俊密,吕康乐,常璐,等. 液相色谱/质谱联用技术在水环境分析中的应用[J]. 甘肃科技 2012, 28(1): 46 - 50.
- [5] 盛龙生,苏焕华,郭丹滨. 色谱质谱联用技术[M]. 北京: 化学工业出版社 2006.
- [6] 李瑞萍,黄骏雄. 高效制备液相色谱柱技术的研究进展[J]. 化学进展 2004, 16(2): 273 - 283.
- [7] 胡秋芬,杨光宇,黄章杰,等. 固相萃取 - 高效液相色谱法测定水中酚类物质[J]. 分析化学 2002, 30(5): 560 - 563.
- [8] VAN DE STEENE J C, MORTIER K A, LAMBERT W E. Tackling matrix effects during development of a liquid chromatographic-electrospray ionisation tandem mass spectrometric analysis of nine basic pharmaceuticals in aqueous environmental samples[J]. J Chromatography 2006, 1123(1): 71 - 81.
- [9] JAIN D S, SUBBAIAH G, SANTAL M, et al. Liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry validated method for the simultaneous quantification of sibutramine and its primary and secondary amine metabolites in human plasma and its application to a bioequivalence study[J]. Rapid Commun Mass Spectrom 2006, 20(23): 3509 - 3521.
- [10] 向平,沈敏,卓先义. 液相色谱 - 质谱分析中的基质效应[J]. 分析测试学报 2009, 28(6): 753 - 756.